



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Vladimir M. Antić

**MORFOMETRIJSKA I IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA
SOMATOTROPNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE I NJIHOVA
POVEZANOST SA PRISUSTVOM SARKOPENIJE TOKOM
STARENJA ČOVEKA**

- Doktorska disertacija -

Niš, 2015



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Vladimir M. Antić

**MORPHOMETRIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL
ANALYSIS OF SOMATOTROPIC CELLS IN THE
ADENOHYPHYSIS AND THEIR ASSOCIATION WITH
THE SARCOPENIA DURING HUMAN AGING**

- Doctoral thesis -

Niš, 2015

Mentor:

Vanredni profesor, Prof. dr Ivan Jovanović, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

Redovni profesor, Prof. dr Rade Čukuranovic, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Redovni profesor, Prof. dr Branislav Filipović, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Redovni profesor, Prof. dr Verica Avramović, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Vanredni profesor, Prof. dr Slađana Ugrenović, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Datum odbrane: _____

Svojim roditeljima, ocu Milanu i majci Svetlani dugujem sve što sam postigao do sada. Oni su me izveli na pravi put i naučili svim važnim stvarima u životu. Ova doktorska disertacija je samo mali deo zahvalnosti koju im dugujem.

*Veliku zahvalnost dugujem prof. dr Nataliji Stefanović
koja mi je nesebično prenosila svoje znanje i iskustvo i
naučila kako da istrajem do kraja.*

*Ovaj rad ne bi ugledao svetlo dana da me tokom njegove
izrade vrhunskim znanjem i umećem nije vodio mentor
prof. dr Ivan Jovanović.*

Naslov doktorske disertacije

Morfometrijska i imunohistochemijska analiza somatotropnih ćelija adenohipofize i njihova povezanost sa prisustvom sarkopenije tokom starenja čoveka

Rezime

Proces starenja praćen je promenama u svim organima i sistemima ljudskog organizma. Smatra se da postoji uzajamna veza između pada sekrecije hormona rasta, koji se luči u somatotropnim ćelijama adenohipofize, i smanjenja mišićne mase tj. sarkopenije kod zdravih starih osoba. S obzirom na ovu povezanost cilj istraživanja bio je da se detektuju i kvantifikuju promene humanih somatotropnih ćelija adenohipofize i promene mišićnih vlakana humanog psoasnog mišića, kod slučajeva različite životne dobi i pola primenom imunohistochemijske i morfometrijske analize (merenjem zapreminske gustine, aree, perimetra i Feretovog dijametra) radi sagledavanja njihove dinamike tokom starenja. Rezultati ovog istraživanja ukazali su na smanjenje prosečne zapreminske gustine somatotropnih ćelija i zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II tokom starenja; različitu dinamiku vrednost zapreminske gustine somatotropnih ćelija kod slučajeva suprotnog pola; pad prosečne aree, perimetra i Feretovog dijametra istih ćelija tokom starenja; prisustvo značajnih razlika napred navedenih astereoloških parametara između slučajeva suprotnog pola; pad prosečnog nukleo-citoplazmatskog odnosa somatotropnih ćelija tokom starenja; pad vrednosti astereoloških parametara mišićnih vlakana tip I i tip II slučajeva oba pola tokom starenja; korelaciju stereoloških i astereoloških parametara somatotropnih ćelija i starosti analiziranih slučajeva kao i da napred navedeni parametri u kombinaciji predstavljaju statistički značajne prediktore odgovarajućih stereoloških i astereoloških parametara mišićnih vlakana tip II tokom starenja.

Gljučne reči: sarkopenija, somatotropne ćelije, psoasni mišić, mišićna vlakna tip I, mišićna vlakna tip II, morfometrija

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Anatomija

Title of doctoral thesis

Morphometric and immunohistochemical analysis of somatotropic cells in the adeno-hypophysis and their association with sarcopenia during human aging.

Abstract

The process of aging is associated with changes in all organs and systems of the human body. It is believed that there is a relationship between a reduced secretion of growth hormone from somatotropic adeno-hypophyseal cells and loss of muscle mass, i.e. sarcopenia in healthy elderly individuals. Having in mind this relationship, this research was focused on the detection and quantification of changes in human somatotropic cells of the adeno-hypophysis and changes in the muscle fibers of the human psoas muscle in the examinees of different age and gender, using immunohistochemical and morphometric analysis (measurement of volume density, area, perimeter, and Feret's diameter) in order to get an insight into their dynamics during aging. The results of the study demonstrated a reduction of average volume density of somatotropic cells and volume density of type II muscle fibers with advancing age; different dynamics of volume density values of somatotropic cells in individuals of both sexes; drop of average area, perimeter, and Feret's diameter of the same cells with aging; presence of significant differences of the above stereologic parameters between genders; drop of the average nucleocytoplasmic ratio of somatotropic cells with aging; drop of values of stereologic parameters of type I and II muscle fibers in both genders with aging; correlation of stereologic and stereologic parameters of somatotropic cells and age of the analyzed cases, and that the above parameters in combination represent statistically significant predictors of the respective stereologic and stereologic parameters of type II muscle fibers during aging.

Key words: sarcopenia, somatotropic cells, psoas muscle, type I muscle fibers, type II muscle fibers, morphometrics

Scientific field: Medicine

Scientific discipline: Anatomy

Skraćenice

ATP - Adenozin tri fosfat
H-E - Hematoksilin Eozin
PAP - Peroksidaza-antiperoksidaza metoda
PAS - Periodic acid Schiff
PRS - Presinaptički
POS - Postsinaptički
GDF8 - Faktor 8 diferencijencije rasta
IGF-E - Insulinski faktor rasta
MGH - Mehano-faktor rasta
mRNK - Intramuskularna ribonukleinska kiselina
GH - Hormon rasta
DHEA - Dehidroepiandrosteron, prasteron
DHEAS - Dehidroepiandrosteron, sulfat
DNK - Dezoksiribonukleinska kiselina
IL - Interleukin
HLA - Human leukocitni antigen
CRP - C reaktivni protein
PRT - Trening progresivne rezistencije
TNF- α - faktor tumorske nekroze
VO₂ max - Volumen kiseonika
LM - Bezmasna masa
aLM - Apendikularna bezmasna masa
SARMs - Selektivni modulatori androgenih receptora
MSH - Melanocitno stimulirajući hormon
PRL - Prolaktin
ACTH - Adrenokortikotropni hormon
TSH - Tirotropni hormon
FSH - Folikulostimulirajući hormon
LH - Lutenizirajući hormon
HPG - Hipotalamo-pituitarna-gonadalna osovina
HPA - Hipotalamo-pituitarna-adrenalna osovina
HSO - Hipotalamo-somatotropna osovina
GHRH - Rilizing hormon rasta hipotalamusa
ADH - Antidiuretski hormon
Vv - Zapreminska gustina
A - Area, morfometrijski parametar
B - Perimetar, morfometrijski parametar
Df - Feret-ov dijametar
NADH - TR - NADH tetrazolijum reduktaza
Pax3 - Gen (Paired box-PAX) familije transkripcionih faktora

UVOD	1
1. PREGLED LITERATURE	3
1.1. SKELETNI MIŠIĆNI SISTEM	3
1.1.1. Skeletno mišićno tkivo	3
1.1.2. Embriologija i postnatalni razvoj skeletnih mišića	4
1.1.3. Apoptoza u skeletnim mišićima	6
1.1.4. Anatomija skeletnih mišića	7
1.1.5. Histološka građa skeletnih mišića	8
1.1.6. Vaskularizacija i inervacija skeletnih mišića	10
1.1.7. Uticaj pola, treninga i starenja na skeletne mišiće	13
1.1.8. Bedrenoslabinjski mišić	15
1.2. SARKOPENIJA	17
1.2.1. Uzroci nastanka sarkopenije	19
1.2.2. Morfologija mišića kod sarkopenije	27
1.2.3. Epidemiologija i zbrinjavanje sarkopenije	28
1.3. HIPOTALAMUS I HIPOFIZA	30
1.3.1. Anatomske karakteristike hipotalamusa	30
1.3.2. Građa hipotalamusa	31
1.3.3. Anatomske karakteristike hipofize	32
1.3.4. Anatomske karakteristike adenohipofize	33
1.3.5. Histološke karakteristike adenohipofize	33
1.3.6. Funkcionalni ćelijski tipovi adenohipofize	35
1.3.7. Hipotalamo - adenohipofizna osovina	36
1.3.8. Hipotalamo - somatotropna osovina i starenje	38
1.3.9. Anatomske karakteristike neurohipofize	39
1.3.10. Vaskularizacija i inervacija hipofize	40
1.4. STARENJE I TEORIJE STARENJA	41
1.4.1. Evolucionarne teorije	43
1.4.2. Sistemske teorije	44
1.4.3. Ćelijske teorije	44
2. PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA	46
3. MATERIJAL I METODE	48
3.1. MATERIJAL	48
3.2. METODE	48
3.2.1. Histološka analiza	49
3.2.2. Imunohistohemijska analiza	49
3.2.2.1. <i>Imunohistohemijska analiza somatotropnih ćelija adenohipofize</i>	50
3.2.2.2. <i>Imunohistohemijska analiza mišićnih vlakana</i>	50
3.3. MORFOMETRIJSKA ANALIZA	51
3.3.1. Morfometrijska analiza somatotropnih ćelija	53
3.3.2. Morfometrijska analiza mišićnih vlakana	53
3.4. STATISTIČKE METODE	54

4. REZULTATI	56
4.1. MORFOLOŠKA ANALIZA	56
4.1.1. Morfološka analiza somatotropnih ćelija adenohipofize	56
<i>4.1.1.1. Histološka analiza</i>	56
<i>4.1.1.2. Imunohistohemijska analiza</i>	58
4.1.2. Morfološka analiza psoasnog mišića	61
<i>4.1.2.1. Histološka analiza</i>	61
<i>4.1.2.2. Imunohistohemijska analiza</i>	63
4.2. MORFOMETRIJSKA ANALIZA	68
4.2.1. Morfometrijska analiza somatotropnih ćelija adenohipofize	68
4.2.2. Morfometrijska analiza mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića	79
4.2.3. Korelaciona analiza između morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize i morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića.	88
5. DISKUSIJA	99
6. ZAKLJUČCI	114
7. LITERATURA	116
Biografija	129
Izjava o autorstvu	130

Uvod

U većitoj težnji čoveka da sazna suštinu života i svog postojanja, fokus njegovog interesovanja oduvek je usmeren na istraživanja koja će dati odgovore šta je život, kako starimo i zašto umiremo. Ova problematika nije samo biološko medicinska već duboko zadire i u druge naučne oblasti kao što su psihologija, sociologija i ljudsko društvo u celini. Kao što je osobina nežive materije, o kojoj čovek i u današnjem vremenu malo zna, da je večna i besmrtna, tako je odlika žive materije da je konačna i smrtna; od ovog postulata, odkad postoji život, nije bilo odstupanja i verovatno nikada neće ni biti. Ljudski vek se danas ipak značajno produžio, ne samo u tehnološki visokorazvijenim zemljama, već i u zemljama u razvoju i u nerazvijenim zemljama tako da je u svetu sve više starih jedinki. Predviđa se da će u budućnosti ovaj trend još više biti izražen i da ljudskom rodu predstoji dominantnost stare populacije, što za sobom povlači mnogobrojne medicinske, psihološke i socioekonomske probleme.

Starenje, kome podležu sva živa bića, definiše se kao niz promena u strukturi i funkciji koje počinju nakon postignute reproduktivne zrelosti, manifestuju se u smanjenoj sposobnosti prilagođavanja i savlađivanja spoljašnjih i unutrašnjih uticaja na jedinku, što rezultira u povećanju mogućnosti za smrt. Fenomen starenja uključuje četiri osnovne kategorije, a to su univerzalnost (zahvaćena su sva živa bića), progresivnost i ireverzibilnost, inherentnost (starenje je prirodna osobina živog organizma) i neminovnost (uvek se završava smrtnim ishodom). U naučnom svetu prisutan je veliki broj teorija koje pokušavaju da daju odgovor i razjasne pitanje života, starenja i smrti, ali još uvek ni jedna od njih ne daje potpune odgovore; čini se da i pored velikog broja radova i teorija o starenju, navedena pitanja ostaju obavijena tajnom, a verovatno čovek nikada neće imati potpune odgovore na navedena pitanja.

Starenje za sobom povlači smanjenu mogućnost adaptacije na stresne faktore iz spoljašnje i unutrašnje sredine što uzrokuje niz bolesti koje su označene kao "bolesti stare životne dobi"; ostaje pitanje da li su one uzrokovane starenjem tkiva i organizma u celini, ili je starenje posledica nastanka navedenih oboljenja. Problematika koja će biti tretirana u našim istraživanjima su promene mišićnog sistema označene u naučnim i medicinskim krugovima kao sarkopenija. One najpre selektivno ali na kraju u celini zahvataju skeletni mišićni sistem dovodeći do gubitka mišićne mase, funkcionalne slabosti i samim tim nesposobnosti za samostalno obavljanje osnovnih životnih funkcija; to povlači zavisnost jedinke od drugih lica, hospitalizaciju i velike materijalne izdatke koje porodica i društvo moraju izdvajati za zbrinjavanje obolelih. Još uvek se ne zna pravi uzrok nastanka sarkopenije, a ona se označava kao multiuzročni fenomen stare životne dobi. U naučnim krugovima koji se bave ovom problematikom, ističe se njena povezanost sa deficitarnom funkcijom somatotropnih ćelija adenohipofize, odnosno smanjenim lučenjem GH (hormon rasta) hormona od strane navedenih ćelija. Ovako postavljen problem uklapa se u neuroendokrinu teoriju starenja i sigurno je da disregulacija funkcije hipotalamo-hipofizno-gonadalne i hipotalamo-hipofizno-

somatotropne osovine, odnosno smanjeno lučenje polnih hormona i hormona rasta, jedan su od presudnih uzroka nastanka sarkopenije. Neki radovi na animalnim modelima nedvosmisleno ukazuju na vezu neuroendokrinog sistema i sarkopenije; mi smo u našim israživanjima primenom morfometrijskih (stereoloških i astereoloških) metoda pokušali da kvantifikujemo promene na somatotropnim ćelijama i mišićnim vlaknima (tip I i tip II) slabinskog mišića kod čoveka u funkciji vremena, odnosno starenja. U daljem biće izloženi rezultati naših istraživanja koji će, nadamo se, dati naučni doprinos boljem razumevanju uzroka nastanka i patogeneze sarkopenije kao fenomena karakterističnog za staru životnu dob, a samim tim dati odgovor kako da se pristupi prevenciji i lečenju ovog procesa u cilju produženja aktivnog i adekvatnog života starih jedinki.

1. PREGLED LITERATURE

1.1. SKELETNI MIŠIĆNI SISTEM

Lokomotorni aparat, koga sačinjavaju kosti, zglobovi i mišići, je sistem koji omogućava kretanje ili u širem smislu pokrete tela. Kretanje i pokreti su suštinska funkcija i najbitnija osobina u životinjskom svetu; kosti i zglobovi daju potporu, osnovu i čvrstinu telu bez sposobnosti da ga samostalno pokreću, a mišići su njegov aktivni deo, koji ima sposobnost kontrakcije i dekontrakcije (relaksacije) i sposobnost aktivnog stvaranja snage. Mada se većina mišića pripaja na kostima i učestvuje u pokretanju skeletnih struktura, neki voljni mišići, kao što su mišići larinksa i ezofagusa, ne prijanjaju za koštano tkivo.

Od ukupne težine ljudskog tela mišićno tkivo je zastupljeno sa 40-50% (Mihalj i Obradović, 2004) i najveći je organ u odnosu na težinu i volumen. Svi mišići, pored zajedničkih svojstva, razlikuju se po veličini, obliku i funkciji, zatim po makroanatomskim i histološkim karakteristikama (Junqueira i Carneiro, 2005; Anđelković i sar., 2009). S obzirom na građu, inervaciju i način kontrakcije, mišićno tkivo se deli na: glatko, srčano i skeletno tkivo. Već je Levenhuk 1685. godine zapazio da postoje mišićna vlakna na kojima se posmatranjem na mikroskopu jasno opažaju poprečne pruge. Ova vlakna formiraju poprečno prugasto mišićno tkivo. Postoje dve vrste poprečno prugastih vlakana: vlakna koja se skraćuju pod uticajem volje i učestvuju u izgradnji mišića koji se najčešće pripajaju na kostima gradeći skeletnu muskulaturu i vlakna koja nisu pod uticajem naše volje i izgrađuju srčani mišić. Mišićna vlakna na kojima se ne zapaža poprečna ispruganost i ne podležu uticaju volje, čine glatko mišićno tkivo, koje se nalazi u unutrašnjim organima (Ross i sar., 2003; Mihalj i Obradović, 2004).

1.1.1. Skeletno mišićno tkivo

Osnovna karakteristika skeletnog mišićnog tkiva, zbog kojeg i nosi naziv „skeletno“ je njegova lokalizacija i predominantni pripoj za koštani, skeletni sistem; skeletni mišići se

ponekad pripajaju i za međukoštane membrane, za hrskavice ili zglobne čaure (Mihalj i Obradović, 2004).

Jedna od osnovnih osobina skeletnog mišićnog tkiva je ispruganost njegovih vlakana u poprečnom smeru. To predstavlja optički fenomen uslovljen molekularnom strukturom mišićnih vlakana (miofibrila) koja se nalaze u mišićnim vlaknima. Naime, na svakom vlaknu se naizmenično smenjuju tamna i svetla mesta, koja u svim, paralelno poređanim, vlaknima leže u istoj visini. Tako se stiče utisak da je čitavo mišićno vlakno poprečno isprugano (Heffner i Balos, 2012).

Osnovna strukturna jedinica skeletnog mišićnog tkiva je poprečno prugasto mišićno vlakno. Mišićna vlakna su višejedarna, a nastaju stapanjem jednojedarnih nezrelih embrionalnih mišićnih ćelija (mioblasta) u jedinstvenu masu citoplazme sa mnogo jedara. Ovalna jedra mišićnih vlakana smeštena su na periferiji, ispod ćelijske membrane (Anđelković i sar., 2009). Ovakav karakterističan položaj jedara pomaže da se razlikuje skeletno mišićno tkivo od srčanog i glatkog mišićnog tkiva, u kojima jedra imaju centralnu poziciju u ćeliji. Dijametar skeletnih mišićnih vlakana zavisi od vrste mišića, životne dobi, pola, uhranjenosti i fizičke aktivnosti. Najtanja mišićna vlakna imaju spoljašnji mišići očne jabučice a najdeblja mišići koji pripadaju mišićima ekstremiteta. Mišićna vlakna postaju deblja, hipertrofiraju, pod uticajem trajnog pojačanog mišićnog rada, treninga. Dužina mišićnih vlakana iznosi od 1 mm do 12 mm, a debljina od 10 do 100 mikrona (Bennington i sar., 1984).

1.1.2. Embriologija i postnatalni razvoj skeletnih mišića

U gestacionom periodu razvoj skeletnih mišića određuje mnoštvo gena, od kojih se neki još i danas otkrivaju. Ovi geni regulišu transformaciju mezenhima u mišićno tkivo, i reorganizuju ranije formirano tkivo kroz proces kao što je apoptoza. Skeletni mišić embriološki se razvija iz somatskog mezodermalnog tkiva. Paraaksijalni mezoderm prvobitno se uočava 17. dana i iz njega nastaju somiti, koji se potpuno formiraju do 30. dana. U to vreme, serija od 42 do 44 okruglih somita može se naći u blizini notohorde po središnjoj liniji. Do 4. nedelje, mezodermalni somiti dele se u dermatome i segmentalne miotome (Carlson, 2005; Sadler, 2010). Od ovih drugih nastaju mišići telesnog zida. Dorzalni deo miotoma, epimere, predstavljaju polazište za mišiće leđa, dok se hipomere ventralnog dela diferenciraju u lateralne i ventralne mišiće, uključujući međurebarne, abdominalne kose i infraoidne mišiće vrata. Mišići ekstremiteta nastaju iz pupoljaka ekstremiteta koji se formiraju iz lateralne ploče

mezoderma, koja je polazište i za kosti, tetive, ligamente i krvne sudove. U embrionu čoveka, mezenhim pupoljaka ekstremiteta javlja se oko 4. nedelje gestacije i subjekat je indukcije od strane somita. Na kraju 8. nedelje, mogu se uočiti zameci pojedinačnih mišića. Mišićno tkivo ne potiče direktno iz lateralne ploče mezoderma, kako se ranije mislilo, već iz somitskog mezoderma koji zauzima pupoljak ekstremiteta u 5. nedelji. Diferencijacija muskulature ekstremiteta odvija se cefalokaudalnom i proksimalno-distalnom progresijom. U svakom od ekstremiteta, somitski mezenhim deli se na dorzalnu i ventralnu masu s obzirom na skeletne elemente. Mišići ekstenzori, abduktori i supinatori potiču iz dorzalne mase, dok fleksori, aduktori i pronatori potiču iz ventralne mase (Carlson, 2005; Gilbert, 2010).

Mišićna vlakna se razlikuju od miotubula po tome što su im jedra periferno postavljena a filamentu su organizovani u sarkomere (Messina i sar., 2010; Gilbert, 2010). Nezrela mišićna vlakna imaju multipna inervaciona mesta, od kojih sva osim jednog, na kraju nestaju. Između 15. i 20. nedelje gestacije, javlja se primitivni progenitor obrasca šahovske table u kome svi miotubuli i mišićna vlakna imaju visoku aktivnost adenozin tri fosfataze (ATP-aze) i oksidativnih enzima; nakon 20. nedelje zadržava se visoka aktivnost oksidativnih enzima, a ATP-azna aktivnost smanjuje. Ova vlakna, koja su bazofilna na Hematoksilin Eozin (H&E) bojenju, jesu tzv. Wohlfart tip B vlakna i najraniji su primer mišićnih vlakana tip I otkrivenih u mišiću u razvoju. Preostalih 90% vlakana (Wohlfart tip A) odgovaraju mišićnim vlaknima tip II sa pojačanom aktivnošću ATP-aze. Mada mišićna vlakna tip IIa i IIb još uvek nisu vidljiva, prisutna su i mišićna vlakna tip IIc koja se boje tamno u reakcijama i acidne i alkalne ATP-aze. Zreliji histohemijski obrazac šahovske table, koji se stimuliše inervacijom vlakana, formira se između 26. i 30. nedelje gestacije. Prilikom rođenja, histohemijski mozaik počinje da podseća na onaj kod zrelog, odraslog mišića. Oko 80% vlakana jasno se identifikuje kao tip I ili tip II. Preostalih 20% su nediferentovana vlakna koja imaju dosta oksidativne enzimske aktivnosti i boje se tamno u rutinskim reakcijama ATP-aze. U vreme rođenja, preostalo je malo Wohlfart tip B vlakana. Vlakna tip IIc se ne nalaze (Volpi i sar., 2004; Heffner i Balos, 2012; Nilwik i sar., 2013).

Razvoj skeletnih mišića je pod kontrolom nekoliko kategorija gena i njihovih produkata, a među njima su transkripcioni faktori i signalni molekuli kao što su faktori rasta i njihovi receptori. Miogeneza otpočinje sa populacijom mezenhimalnih ćelija koje se postavljaju na mestu loža miogenih ćelija. U molekularnoj osnovi ove tranzicije nalazi se niz regulatornih faktora, a najjača ekspresija u embrionalnim mišićima je Pax-3 (Brooke i sar., 1970; Carnac, 2007).

Tokom prenatalnog perioda i detinjstva, mišićna vlakna nastavljaju svoj rast. Postojeće sarkomere se izdužuju, što dovodi do longitudinalnog rasta vlakana; ovaj mehanizam može biti odgovoran za 25% porasta dužine vlakana i ukazuje na to da postoji relativni „višak“ sarkomera koje se mogu izdužiti tokom perioda brzog rasta skeleta (Vandevoort, 2002; Bennington i sar., 1984). Mišićna vlakna podležu stvarnom longitudinalnom rastu dodavanjem novih sarkomera, što uključuje i sintezu kontraktilnih proteina (Welle i sar., 1993; Balagopal i sar., 1997; Rooyackers i sar., 1996). Nove sarkomere se dodaju na kraju vlakana, obično na miotendinoznim spojevima, a smatra se da se dodaju i unutar unutrašnjih segmenata. Da li se broj mišićnih vlakana povećava po rođenju pitanje je na koje nije dat definitivni odgovor. S obzirom da su mišićne ćelije postmitotske, do nedavno se smatralo da je populacija mišićnih vlakana relativno stabilna po rođenju i tokom života odrasle jedinke. Međutim, nekoliko novijih studija ukazuju na postepeni porast broja vlakana u periodu između rođenja i kraja 5. decenije života; u nekim mišićima ukupni porast vlakana može dostići 80%-100% od nivoa novorođenčeta (Brown, 1987; Degens i sar., 2006). S obzirom da su mišićne ćelije postmitotske i da se ne mogu deliti, mehanizam odgovoran za porast broja vlakana verovatno pripada populaciji matičnih ćelija koje se dele i kasnije podležu fuziji, te tako nastaju nova zrela vlakna. Pored izduživanja mišićnih vlakana po rođenju dolazi i do povećanja prečnika koji može biti i petostruko uvećan kod odrasle osobe; u mišićima noge, prosečni prečnik zrelih vlakana iznosi 45 μm , u poređenju sa 7 μm prilikom rođenja (Ito i sar., 1996; 2003; Kimura i sar., 2002). Prečnici vlakana povećavaju se sporo do puberteta, a tada dolazi do erupcije rasta; u gastroknemijusu vlakna se više nego utrostručuju od 12. godine (u proseku 19 μm) do 21. godine (u proseku 62 μm) (Kataoka, 1987).

Vezivno-tkivni elementi mišića izraženiji su prilikom rođenja, posebno perimizijalne komponente, pri čemu perimizijum čini do 20% površine poprečnog preseka mišića. Tokom ranog detinjstva, perimizijum i druge vezivno-tkivne komponente se smanjuju na manje od 5% poprečne površine, jer se mišićna vlakna uvećavaju (Basmajian, 1985).

1.1.3. Apoptoza u skeletnim mišićima

Današnja saznanja o apoptozi u skeletnim mišićima još uvek su u početnoj fazi, ali se medicinska literatura sve češće bavi apoptozom kao regulatornim procesom u normalnom razvoju mišića i njenom vezom sa mnogim patološkim stanjima, uključujući i starenje. Tokom embrionalnog života, proces apoptoze utiče i na neurone i na skeletne mišiće; više se

zna o programiranoj ćelijskoj smrti u nervnim ćelijama, uključujući motorne neurone, nego u mišićnom tkivu (Adhietty, 2003; Messina i sar., 2010). Embrionalni razvoj motornih neurona i mišića kulminira uspostavljanjem odnosa zreli nerv-mišić. Tokom embriogeneze, neophodno remodeliranje mišića događa se putem apoptoze, koja uklanja „neželjene“ ćelije ili strukture da bi se načinio prostor za dalje sazrevanje. U humanim fetalnim mišićima, programirana ćelijska smrt i primarnih i zrelih miotubula dešava se između 10. i 16. nedelje gestacije (O' Flaherty, 2006).

Sve je više informacija o apoptotičkim dešavanjima u postnatalnom i adultnom mišiću; ispituju se i različita stanja kao što su neaktivnost mišića, fizička aktivnost i vežbanje, ishemija, starenje i miopatije. Apoptoza skeletnih mišića razlikuje se u nekoliko aspekata od većine drugih tkiva, jer su mišićne ćelije višejedarne, a njihov mitohondrijalni sastav varira sa tipom vlakna i drugim faktorima, kao što je vežbanje (Adhietty i sar., 2003, O' Flaherty, 2006). Mišićne ćelije sadrže dve zasebne mitohondrijalne populacije, subsarkolemalne i intermiofibrilarne. Još uvek nije jasno da li se ekspresija pro i anti apoptotičkih agenasa razlikuje u ove dve populacije. Kako se radi o višejedarnoj ćeliji, mišićno vlakno ne podleže uvek apoptozi na isti način kao drugi tipovi ćelija. Oštećenje ograničeno na pojedinačne mionukleuse čini se da je češće od smrti cele ćelije, te kod denervacije, mionuklearni gubitak vodi atrofiji vlakana umesto smrti ćelije (Dirks, 2005). Povećana ekspresija endogenih inhibitora, kao što je kaspaza u mišićima čini se da pruža relativno veću rezistenciju na apoptozu mišićnog tkiva (Carnac, 2007).

1.1.4. Anatomija skeletnih mišića

U telu čoveka ima 434 mišića, koja podležu voljnoj aktivnosti. Oni čine 25% ukupne telesne težine na rođenju i 40-50% ukupne telesne težine u odraslom dobu (Mihalj i Obradović, 2004). Poznato je da muškarci imaju veću mišićnu masu od žena (Jansen i sar, 2000; Bevier i sar., 1989). Mišići pojedinačno znatno variraju po veličini; najmanji mišić u telu čoveka, stapedijus, dugačak je samo 2 mm, a sartorijus i ostali veliki mišići ekstremiteta dugački su i do 60cm. Razlike u broju vlakana skeletni mišići takođe su prisutne; lumbrikalni mišić ima 10.000 vlakana, a gastroknemični mišić (*m. gastrocnemius*) do 1.000.000 vlakana (Janssen, 2002).

Sa anatomskog aspekta spoljašnji izgled skeletnih mišića je raznovrstan. Najčešći oblik je vretenast ili fuziformni gde mišić ima trbuh i dve tetive, vlakna su paralelna i

konvergiraju prema tetivama. Ako skeletni mišić ima više trbuha, glava, radi se o dvoglavom, troglavom ili četvoroglavom mišiću. Prema obliku mišići su četvrtasti, trouglasti ili romboidni, zatim pljosnati sa širokim tetivama. Ako mišić ima centralnu dugačku tetivu kojoj vlakna pristupaju samo sa jedne strane radi se o unipenatnim mišićima (mišić poput pera ptice), ako vlakna pristupaju sa obe strane tetivi radi se o bipenatnim ili ako imaju više takvih jedinica o multipenatnim. Prema pravcu pružanja vlakana skeletni mišići mogu biti sa paralelnim, kosim, spiralnim, ukrštenim i kružnim vlaknima; ako su vlakna usmerena ka jednoj tetivi onda se radi o konvergentnim vlaknima, a ako se udaljavaju od jedne tetive govori se o divergentnom pružanju vlakana. (Mihalj i Obradović, 2004; Krmpotić i Marušić, 2007; Standing, 2008).

1.1.5. Histološka građa skeletnih mišića

Skeletni mišić se sastoji iz vezivno - tkivnog omotača koji ga obavija i označen je kao epimizijum i mnogobrojnih mišićnih fascikulusa koji su obmotani i odvojeni jedan od drugog vezivnim slojem koji je označen kao perimizijum. Perimizijum je vezivno tkivo koje nastaje od epimizijuma tako što se put unutra pružaju vezivno - tkivne pregrade, koje obavijaju snopove fascikulusa unutar mišića. Vezivno tkivo oko svakog snopa mišićnih vlakana je perimizijum. Mišićni fascikulus sastavljen je iz velikog broja mišićnih vlakana, koja su okružena nežnim slojem vezivnog tkiva - endomizijum. Mišićno vlakno sastavljeno je od velikog broja miofibrila koje sadrže paralelno postavljene kontraktilne proteine - aktin i miozin. (Brown, 1987; Junqueira i Carneiro, 2005).

Pod svetlosnim mikroskopom, na uzdužnom preseku kod mišićnih vlakana vidi se poprečna ispruganost tj. da se duž njih smenjuju tamne i svetle poprečne pruge. Tamne pruge nazivaju se A-pruge (anizotropne) a svetlije pruge nazivaju se I-pruge (izotropne). Pod elektronskim mikroskopom uočava se da je svaka I-pruga uzdužno podeljena na dva dela tamnom poprečnom Z-linijom. Najmanji funkcionalni segment mišićnog vlakna, sarkomera, proteže se između dve susedne Z-linije i u relaksiranom mišiću duga je oko 2,5 mikrometara (Junqueira i Carneiro, 2005).

Mišićno vlakno je multinuklearna, sincicijalna jedinica, oblika izduženog, uzanog cilindra. Na poprečnom preseku normalni adultni miocit nije idealno okrugao već poligonalan. Nukleusi su postavljeni subsarkolemalno, 4. do 6. po ćeliji na poprečnom preseku (Michael i sar., 2002). Hromatin jedra je fin i nalik na prašinu, nukleolusi su mali i u mnogim

vlaknima nisu vidljivi. Na parafinskim preseccima bojenim sa H&E sarkoplazma je svetlo ružičasta i teksturirana na poprečnim preseccima. Na smrznutim preseccima, kod biopsija koje se rade dijagnostički, Gomorijevim brzim trihromnim bojenjem, mišićna vlakna i vezivno tkivo boje se zeleno, dok su nukleusi plavo-crni. U nekim slučajevima mogu se identifikovati mitohondrije (posebno u mišićnim vlaknima tip I) kao sitne crvene granule unutar sarkoplazme (Volpi i sar., 2004; Nilwik i sar., 2013). Poprečne pruge moraju se posmatrati na uzdužnim preseccima i teško ih je detaljnije vizuelizovati bez specijalnih bojenja. Najbolje se uočavaju na preparatima bojenim periodic acid - Schiff (PAS) metodom. Proksimalni mišići, od kojih se zahteva snaga, imaju vlakna sa većim prosečnim prečnikom (85-90 μm); grupe manjih, distalnih i okularnih mišića od kojih se zahtevaju fino koordinisani pokreti, sačinjeni iz tanjih vlakana (20 μm). Veličina vlakana kod muškaraca prevazilazi onu kod žena, delom verovatno zbog androgenih hormonalnih uticaja i većih fizičkih zahteva. Kod oba pola fizičko vežbanje dovodi do hipertrofije vlakana. Mišićna vlakna su manja kod dece i starijih nego kod mladih, aktivnih odraslih osoba (Janssen i sar., 2000; Benben, 1991).

Crveni mišići, sa većim mitohondrijalnim i lipidnim sadržajem i većom kapilarnom gustinom, funkcionalno su namenjeni za održavanje posturalnog stava ili dugotrajnu aktivnost. Boja crvenih mišića posledica je relativno većeg sadržaja mioglobina u odnosu na bele mišiće, koji sadrže manji broj mitohondrija, ali dosta glikogena, što ih čini boljim za anaerobnu respiraciju kao i za nagle i povremene kontrakcije. Ljudski mišići sadrže i crvena i bela mišićna vlakna, te tipično imaju kombinovani, mozaički, raspored koji podseća na šahovsku tablu. U zavisnosti od anatomske lokacije i funkcije, proporcija mišićnih vlakana tip I i II varira, ali tipičan mišić sadrži više mišićnih vlakana tip II (60-65%) u odnosu na mišićna vlakna tip I (35-40%) (Dubowitz i sar., 2007).

Tipiziranje vlakana nije moguće izvršiti na rutinski H&E bojenim preparatima već se za detekciju mišićnih vlakana koriste dve komplementarne histohemijske procedure (Have-nith i sar., 1990). Najpouzdanija metoda za to je reakcija miofibrilarne ATP-aze. Promenom pH tokom procedure može se proizvesti spektar reakcija bojenja. U standardnoj ili alkalnoj reakciji ATP-aze, koja se izvodi na pH od 9,4 mogu se videti dva tipa vlakana. Mišićna vlakna tip II su tamna po intenzitetu bojenja, dok su mišićna vlakna tip I bleđa (Brooke i Kaiser, 1970; Dubowitz i sar., 2007). Ako se pH inkubirajućeg rastvora dovede u kiseli raspon (pH 4.6) u onome što se nekada zove obratna reakcija ATP-aze, javljaju se dve vrste mišićnih vlakana tip II. Mišićna vlakna tip IIa se bukvalno ne boje, mišićna vlakna tipa IIb se osrednje boje, dok su mišićna vlakna tip I ekstremno tamna. Sve oksidativne enzimske

reakcije, kao što je NADH - TR održava samo mitohondrijalni sadržaj mišićnih vlakana. Jako prebojena mišićna vlakna se označavaju kao oksidativna, tip I, a svetlija mišićna vlakna kao tip II. Većina oksidativnih enzimskih reakcija dalje deli mišićna vlakna tip II na tip IIb (analogan tipu IIx koji se nalazi kod glodara) vlakna, koja se slabo boje, i mišićna vlakna tip IIa, koja pokazuju srednji intenzitet bojenja, između mišićnih vlakana tip I i IIb. Glikogen i prateći enzim fosforilazu sadrže sva vlakna, ipak ima ih više u tip II (glikolitičkim) vlaknima. PAS bojenje, gruba metoda detekcije glikogena, i histoheimijska reakcija za fosforilazu mogu se koristiti kao način tipiziranja vlakana (Bossen, 1984; Nilwik i sar., 2013). Ipak, bojenje ovim tehnikama nije sasvim pouzdano za tipiziranje vlakana. Mišićna vlakna tip I bogata su lipidima, koji se mogu vizualizovati bojenjima za masti, kao što su „oil red O“; međutim, kao i PAS bojenje, bojenja za masti nisu tako pouzdana za tipiziranje vlakana kao enzimske reakcije (Volpi i sar., 2004).

U zoni inervacije na trbuhu mišića, intramuskularna nervna klupka ili ogranci posebno su brojni (Heffner i Balos, 2012). U jednom ogranku može biti prisutno do 10 mijelinisanih nervnih vlakana, koja se najbolje uočavaju na trihromno - bojenim preparatima, na kojima je mijelinski omotač svetlo crveno obojen i okružuje neobojeno nervno vlakno. Na dodirnoj površini između mišića i bilo koje fascije, ili tetive, mišićna vlakna postaju varijabilna, često mala, i sa brojnijim unutrašnjim nukleusima. Kada prijanjaju za tetivu ili fasciju, vlakna razdvajaju guste kolagenozne trabekule, gredice (Messina i sar., 2010).

U potpornom vezivnom tkivu nalaze se specijalizovane strukture, mišićna vretena; prvobitno su opisana u XIX veku, i smatrana su za patološkim nalazom. Danas se zna da se radi o mehano-receptorima koji percipiraju dužinu i tenziju skeletnog mišića, upravljajući integrisanom aktivnošću mišića (Kataoka, 1987). Mada se sreću u doslovno svim mišićima, češće se detektuju u manjim mišićima koji vrše fino koordinisane aktivnosti, kao što su mišići šake. Kvantitativne studije su pokazale da u jednom mišiću može biti 70 do 100 mišićnih vretena. Vretena obično leže u dubljim delovima mišića, posebno u trbuhu mišića, češće su prisutni tamo gde ima više mišićnih vlakana tip I i locirana su u perimizijumu.

1.1.6. Vaskularizacija i inervacija skeletnih mišića

Svaki mišić ima najmanje jedan arterijski i venski krvni sud. Prokrvljenost pojedinačnih skeletnih mišića nije dovoljno ispitana. Zna se da arterijski dotok krvi u mišiće donekle varira i kod iste osobe (Heffner i Balos, 2012). Generalno, češći je slučaj da skeletne

mišiće opslužuje više od jedne arterije, što ih čini prilično rezistentnim na ishemiju. Vaskularizacija skeletnih mišića može se odvijati na jedan od navedenih načina:

U mišić ulazi jedna arterija, koja se longitudinalno deli unutar mišića; primer ovakvog tipa vaskularizacije je u gastroknemičnom mišiću.

U mišić ulazi jedna glavna arterija u nivou njegovog trbuha i naknadno formira zrakastu strukturu kolaterala, kao što je kod bicepsa nadlaktka.

U mišić ulazi nekoliko zasebnih arterija koje pristupaju mišiću po njegovoj uzdužnoj osovini, a unutar mišića formiraju se anastomoze između vaskularnog područija svake od arterija; primer ovakvog tipa vaskularizacije je kod soleusnog mišića.

U mišićima kao što je prednji tibijalni mišić anastomozirajuće arkade potiču iz većeg broja, penetrirajućih arterija; smatra se da je ovaj vaskularni tip najefikasniji oblik vaskularizacije (Mihalj i Obradović, 2004; Starndring, 2008).

Manje efikasan tip anastomozirajućih arkada jeste pravougaoni oblik anastomoza koje formira serija penetrirajućih arterija; ovaj kvadrilateralni oblik srećemo kod dugog ekstenzora palca stopala.

Pošto glavna arterije ude u mišićno tkivo, grana se u određeni broj primarnih intramuskularnih arterija koje se distribuiraju u epimizijumu i perimizijumu, sa prečnikom raspona od 80 do 360 μm ; one daju brojne sekundarne arteriole koje se pružaju paralelno u odnosu na pravac mišićnih vlakana, često se anastomoziraju po tipu anastomoze arterija-arterija. Sekundarne arteriole granaju se i formiraju terminalne arteriole, čiji je prečnik od 15 do 50 μm . Distalni delovi terminalnih arteriola imaju prekapilarne sfinktere, koji se formiraju od glatko mišićnih ćelija medije, a nalaze u krvnim sudovima unutrašnjeg prečnika manjeg od 15 μm (Young i sar., 2007). Kao i u drugim tkivima, arteriole se završavaju u složenom sistemu kapilara, a za razliku od većine drugih organa, relativno je mali broj kapilara otvoren u mišiću kad je u relaksaciji. Tokom mišićne aktivnosti dolazi do značajnog porasta broja otvorenih kapilara, a samim tim i dotoka krvi. Prisutne su značajne razlike u kapilarnoj gustini u različitim mišićima, kao i kod treniranih za razliku od netreniranih osoba. Studije kapilarne gustine (Cael, 2010) otkrivaju da je prosečno pojedinačno mišićno vlakno okruženo sa 1,7 kapilara. Kapilarna gustina se takođe može izraziti kao broj kapilara po vlaknu, što je u proseku 0,7 po poprečnom preseku. Gustina kapilara odražava potrošnju kiseonika u mišiću, stoga je veći broj kapilara evidentan tamo gde je prisutan veliki broj mišićnih vlakana tip I.

Iz kapilarne arterijske mreže formira se venska kapilarna mreža od koje nastaju venule, i krupnije vene koje prate arterije, a odvede vensku krv iz mišića u venski sistem.

Nervi koji inervišu pojedinačne skeletne mišiće često ulaze na površini mišića u nivou trbuha i prate ih jedna ili više većih penetrirajućih arterija. Unutar glavnog nervnog stabla aksoni su sa i bez mijelina. Mijelinska eferentna, motorna, vlakna inervišu mišićna vlakna, a somatska aferentna, senzorna, vlakna polaze iz mišićnih vretena, neurotendinoznih vretena ili iz Goldžijevih organa i iz Paćinijevih telašca. Autonomna eferentna vlakna, koja dolaze do mišića su bez mijelina. Smatra se da je 50% vlakana, koja pripadaju mišiću po funkciji senzorno. Motorna vlakna koja inervišu miofibrile pokazuju bimodalnu distribuciju veličina; α -vlakna su velikog prečnika i inervišu brze motorne jedinice, dok se β -vlakna distribuiraju do sporih motornih jedinica i nekih intrafuzalnih vlakana mišićnog vretena; δ -vlakna, sa veoma malim prečnicima, inervišu ostatak vlakana mišićnog vretena. Nervi koji inervišu motorna vlakna su relativno uniformna po prečniku, koji iznosi 10-15 μm . Mala motorna vlakna variraju od 2-7 μm u prečniku (Lemoine i sar., 2003; Wiik, 2009; Verdijk i sar., 2012).

Kako se distalni motorni akson približava mišićnom vlaknu, on se transformiše u terminalni akson, koji predstavlja proksimalni deo neuromuskularnog spoja, neuromišićne sinapse (MEP). Neuromuskularni spoj, oko 50 μm u prečniku, sačinjen je iz presinaptičkog (PRS) dela ili terminalnog aksona i postsinaptičkog (POS) dela, koji je formiran od strane jedinstvenog regiona u mišićnom vlaknu (Vandervoort, 2002). PRS i POS domeni podeljeni su specijalizovanim, 50 μm širokim intercelularnim prostorom, sinaptičkom pukotinom.

Mijelinski motorni nerv završava se u regiji PRS kao nemijelinisani aksonalni segment koji je prekriven teloglijom, distalnim oblicima Švanovih ćelija. Terminalni akson i teloglija prekriveni su slojem endoneurijuma, koja postaje kontinualna sa endomizijumom mišićnog vlakna u zoni MEP. Brojne sinaptičke vezikule, svaka 45-50 nm u prečniku, nalaze se u terminalnom aksonu. Vezikule su najbrojnije oko zadebljanih zona povećane elektronske gustine na PRS membrani (Heffner i Balos, 2012).

U POS regiji mišićnog vlakna površina ćelije je izdignuta i formira Doyee-ovo brdašce ili takozvane soleplate (zaravnjenu nukleisanu masu meke granularne protoplazme koja okružuje završetak motornog nerva u poprečno-prugastom mišićnom vlaknu). Unutar ove mase sarkoplazma je granularna i često se vide klasteri sarkolemalnih nukleusa. Nukleusi su ovde „gojazni“ i vezikularni. Terminalni akson se grana u ovoj masi u seriju ogranaka koje se zovu telodendriti, koji nazubljuju površinu vlakna, proizvodeći useke ili prolaze. Prostori između nabora označavaju sekundarne sinaptičke pukotine. Kao rezultat formiranja ovih pukotina, površina POS membrane povećana je oko 10 puta u odnosu na površinu PRS (Kahle i Frotsher, 2002; Pavlović i sar., 2004; Heffner i Balos, 2012).

1.1.7. Uticaj pola, treninga i starenja na skeletne mišiće

Neke od najranijih studija koje se bave razlikama između muškaraca i žena s obzirom na veličinu i sastav mišićnih vlakana izveli su Brooke i saradnici (Brooke i Kaiser, 1970). U studiji bicepsa kod 6 pacijenata, oni su uspostavili određene principe koji ostaju generalno tačni u pogledu polnih razlika kod skeletnih mišića. Pojedinačna mišićna vlakna su veća kod muškaraca nego kod žena; mišićna vlakna tip II obično su kod muškog pola veća od mišićnih vlakana tip I, za razliku od žena kod kojih su mišićna vlakna tip I jednakog ili većeg prečnika. Smatra se da je razlika u veličini vlakana kod polova uslovljena time što su muškarci viši i teži od žena, sa većom mišićnom masom, fizički aktivniji i češće se fizički naprežu (Baumgartner i sar., 1999; Ito, 2003). Androgeni hormoni igraju ulogu u veličini mišićnih vlakana kod muškaraca, a poznato je da suplementna terapija testosteronom dovodi do mišićne hipertrofije (Solomon i Bouloux, 2006; Horstman i sar., 2012). Bennington, ističe da neke od razlika između muškaraca i žena zavise od ispitivanih mišića (Bennington i Krupp, 1984). Ispitivanje spoljašnjeg vastusnog mišića (Lexell i sar., 1988; Kobayashi, 1991) ne ukazuje na značajniju polnu razliku u prečniku između mišićnih vlakana tip I i tip II. Još jedan značajan zaključak iz ovih studija odnosi se na pitanje dominantnosti određenog tipa vlakana kod muškaraca i žena. Kada je u pitanju biceps nadlakta, muškarci imaju mnogo veći procenat mišićnih vlakana tip II, dok žena imaju skoro jednak procenat oba tipa. Za razliku od toga, kod spoljašnjeg vastusnog mišića, muškarci i žene imaju sličnu zastupljenost mišićnih vlakana tip I i II (Rooth, 2001).

Efekti vežbanja i treninga na muskulaturu skeleta ispitivani su u mnogim studijama u proteklih 25 godina (Lemmer i sar., 2000; Rooth, 2001). Rezultati ovih studija su protivrečni, ali su utvrđeni neki opšti principi. Jasno je da vežbanje i trening bilo koje vrste proizvodi povećanje prečnika mišićnih vlakana. Aktivnosti koje su u osnovi anaerobne dovode do hipertrofije mišićnih vlakana tip II, što je čest nalaz kod sprintera. Kod trkača na duge staze, kod kojih je aerobni metabolizam značajniji, mišićna vlakna tip I su obično veća. Većina autora se slaže da trening snage, kao što je dizanje tegova, rezultuje značajnom hipertrofijom mišićnih vlakana tip II, a manjom, ako je uopšte ima, mišićnih vlakana tipa I (Koopman, 2011). Poznato je da sprinteri uglavnom imaju veći broj mišićnih vlakana tip II u odnosu na sedentarne kontrole, a trkači na duge staze uglavnom imaju više mišićnih vlakana tip I u odnosu na netrenirane osobe. Mnogi autori smatraju da ove dve grupe trkača imaju genetski

determinisani sastav mišića u pogledu tipa vlakana, a da je konverzija tipa vlakana putem treninga neznatna, ako do nje uopšte i dolazi. Ipak, neke studije (Heffner i Balos, 2012) pokazuju da sigurno do konverzije mišićnih vlakana tip I u tip II ne dolazi. Određene aktivnosti, kao što je trčanje koje zahteva izdržljivost, u dužem vremenskom periodu mogu biti odgovorne za konverziju mišićnih vlakana tip II u tip IIa. Studije na životinjama ne doprinose razrešenju ovih pitanja, delom i zato što mišići životinja reaguju različito na vežbanje i trening u odnosu na mišiće čoveka.

U procesu starenja, počev od 6. decenije i nakon 70. godine života, dolazi do strukturalnih i funkcionalnih promena u skeletnim mišićima, tako da se do 75. godine života snaga mišića smanji za 30-50%. Delimični razlog ovom smanjenju snage je u smanjenju prečnika vlakana koji se evidentira. Prečnik vlakna u dobi od 75 godina smanjen je 80% od onoga u dobi od 25 godina. Kako snaga kontrakcije nije linearno povezana sa prečnikom vlakana, ali je proporcionalna površini njihovog poprečnog preseka, poluprečnik koji je 80% normalnog, izaziva 60%-ni gubitak snage mišića, odnosno sile kontrakcije. Smanjenje prečnika vlakna posledica je promena faktora rasta, od kojih je najvažniji miostatin, poznat i kao faktor-8 diferencijacije rasta (GDF8), koji je jedan od transformišućih faktora rasta. Miostatin je negativni mišićni regulator (Carnac, 2007), koji utiče i na broj i na veličinu vlakana: miostatin se vezuje za aktin II receptore, delujući preko receptor-vezanih proteina smad 1 i smad 3. i za miostatinsko signaliziranje indukuje inhibitorni protein smad 7. Miostatin postaje medijator kataboličkog mehanizma u mišićnim ćelijama, a za sada je nejasno šta aktivira miostatin u mišićima koji stare (Balagopal., 1977; Welle i sar., 1993).

Zbog smanjene elastičnosti, fleksibilnosti i bolesti u zglobovima različitog intenziteta, stariji pacijenti postaju i manje aktivni, što je praćeno redukcijom mišićnog volumena i kontraktilne snage. Ovome ide u prilog činjenica da osobe koje stare, kao i mlađe osobe koje ne koriste svoje mišiće (npr. zbog imobilizacije kod povreda/preloma), imaju selektivnu atrofiju mišićnih vlakana tip II (Borst, 2004). Efekti slabe ishrane kod starijih nisu dovoljno ispitani, mada se dobro zna da kaheksija prati i atrofija mišićnih vlakana tip II (Nilwik i sar., 2013).

Drugi problem kod starih je oštećenje motornih jedinica, posebno ćelija prednjih rogova kičmene moždine. Integritet mišićnog vlakna povezan je sa održavanjem njegove inervacije i bilo kakav produženi prekid inervacije od strane motornog neurona, rezultuje atrofijom denervisanog mišićnog vlakna (Verdijak, 2010). U ovom stadijumu, selektivna atrofija mišićnih vlakana tip II često je jedini patološki poremećaj, a sa progresivnom denervacijom, proporcija atrofičnih mišićnih vlakana tip I i II približno je jednaka. Bojenje este-

razom je vrlo korisno, zbog toga što se denervisana atrofična vlakna boje ekstremno tamno. Afinitet atrofičnih mišićnih vlakana za oksidativna enzimska bojenja znači da je reakcija ATP-aze poželjna za precizno tipiziranje malih vlakana, bez obzira na patogenezu atrofije vlakana (Vandervoort, 2002).

Znak podmakle denervacije je progresija iz atrofije pojedinačnih vlakana u atrofiju grupa vlakana, kod koje su u uzorku biopsije prisutne kolekcije malih angularnih ili ensiformnih vlakana (Dubowitz i Brooke, 1973; Heffner i Balos, 2012). U pokušaju da se ponovo uspostavi inervacija denervisanih mišićnih vlakana, intramuskularni nervi podležu kolateralnom grananju i sa atrofičnim vlaknima formiraju nove sinapse. Kako se motorne jedinice uvećavaju, reinervisana vlakna koja zauzimaju veliku površinu konvertuju se u jedan histohe-mijski tip. Fenomen grupisanja po jednom tipu objašnjava se činjenicom da su sva vlakna unutar jedne motorne jedinice istog tipa bilo tip I ili tip II i trofičkim uticajima sopstvenog aksona i kolaterala. Plastičnost mišićnih vlakana omogućava konverziju iz jednog u drugi histohe-mijski tip kada postoji reinervacija od strane motornog neurona suprotnog tipa. Odgo-varajuća „dobronamerna“ ciljna vlakna su prisutna u manje od 25% slučajeva neurogene atrofije.

1.1.8. Bedrenoslabiniski mišić

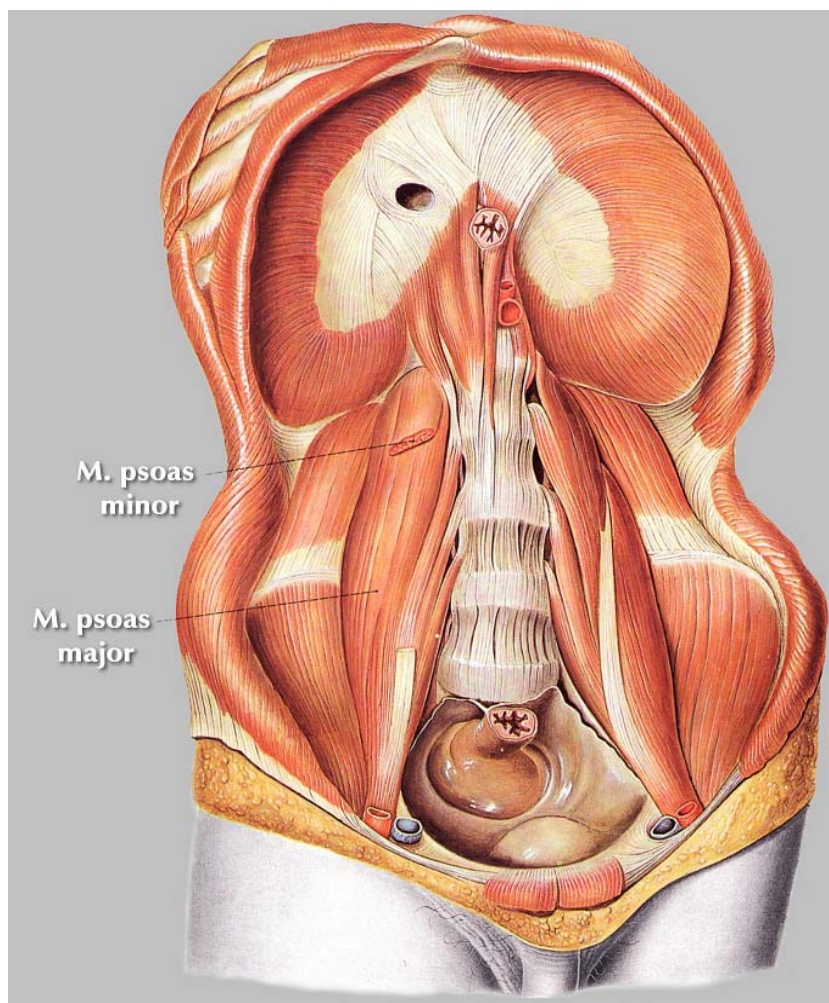
Bedrenoslabiniski mišić (*m. iliopsoas*) pripada unutrašnjoj grupi bedrenih mišića. Predstavlja složeni mišić koji se sastoji od velikog i malog slabinskog (*m. psoas major et minor*) i bedrenog mišića (*m. iliacus*). Oba mišića su u gornjem delu odvojena i ulaze u sastav zadnjeg trbušnog i karličnog zida (Slika 1). Spojeni donjim krajevima formiraju jedinstvenu završnu tetivu koja prolazi kroz mišićnu ložu subingvinalnog prostora i prelaze na prednju stranu buta (Gilroy, 2012; Stefanović, 2012).

Bedreni mišić (*m. iliacus*) pripaja se u bedrenoj jami (*fossa iliaca*), na unutrašnjoj strani krila bedrene kosti, a slabinski deo ovog mišića, veliki slabinski mišić (*m. psoas major*), pripaja se na poslednjem grudnom pršljenju i na prva četiri slabinska pršljenja, pomoću mišićnih jezičaka, koji se hvataju za prednje strane tela i poprečne nastavke pršljenova. Između pripojnih snopića ovog mišića provlače se grane slabinskog spleta.

Ove dve mišićne mase se spajaju svojim donjim krajevima i formiraju jedan mišić, bedrenoslabiniski (*m. iliopsoas*). Iliopsoasni mišić prolazi kroz mišićnu ložu (*lacuna musculorum*) potpreponskog zjapa (*hiatus subinguinalis*) i završava na malom trohanteru (*trochan-*

ter minor) butne kosti. Mali slabinski mišić (*m. psoas minor*) je varijabilan, i ako je prisutan nalazi se ispred velikog slabinskog mišića (Stefanović i sar., 2011).

Inervacija ovom mišiću dolazi od butnog živca (*n. femoralis*) i bočne mišićne grane slabinskog dela slabinsko-krsnog spleta (*pl. lumbosacralis*).



Slika 1. Bedrenoslabinški mišić (iz Gilroy, 2012)

Iliopsoasni mišić je glavni fleksor u zglobu kuka. Pri obostranoj kontrakciji podiže trup iz ležećeg u sedeći položaj. Ovaj mišić rotira but prema spolja (*rotatio externa*) i privodi ga (*adductor*). Kada je tačka oslonca na kičmenim i bedrenim pripojima, pregiba nogu pri hodu tako da slabost ovog mišića otežava hod. Ako je noga fiksirana, odnosno ako je tačka oslonca na butnoj kosti, on pregiba karlicu i lumbalni deo kičmenog stuba prema napred a trup okreće na suprotnu stranu. Pri obostranoj kontrakciji podiže trup iz ležećeg u sedeći položaj. Bederenoslabinški mišić snažno rotira but prema spolja (*rotatio externa*) i privodi ga (*adductio*).

Psoasni mišić je specifičan po tome što predstavlja vezu između trupa i donjih ekstremiteta (Petrosyan i sar., 2002), a s obzirom da se pripaja za kičmene pršljenove u sadejstvu sa drugim mišićima odgovoran je za uspravan stav i hod (Rice i sar., 1989; Ross i sar., 2002). Neke od studija (Rosenberg, 1997) koje su kompjuterizovanom tomografijom proučavale promene poprečnog preseka mišića pokazale su da sa starenjem dolazi do smanjenja poprečnog preseka psoasnog mišića a to se dešava i kod kvadricepsa i plantarnih fleksora (Imamura i sar., 1983).

Patohistološka analiza iliopsoasnog mišića na postmortalnom materijalu takođe pokazuje značajne promene mišića u toku procesa starenja (Shimokawa i sar., 1996). Morfometrijska analiza je uglavnom rađena na animalnim modelima (Eisenberg i sar., 1974; Hasegawa, 1987; Nilwik, 2013), a literaturni podaci pokazuju da psoasni mišić spada u grupu mišića, koji u odnosu na druge mišiće donjeg ekstremiteta, poseduje relativno manji broj i manju prosečnu areu preseka mišićnih vlakana (Imamura i sar., 1983; Janssen, 2002).

1.2. SARKOPENIJA

Sarkopenija ili oskudnost mesnog tkiva je termin koji je prvi primenio Irvin Rozenberg (Morley, 2012) da bi definisao gubitak mišićne mase do koje dolazi sa starenjem. Gubitak mišićnog tkiva u toku starenja prvi je uočio engleski neurolog Mekdonald Krucli, ističući da su promene najizraženije na šakama i stopalima. Danas se smatra da je sarkopenija nevoljni gubitak mišićne mase, snage i funkcije koji se javlja sa starenjem i da je taj gubitak dva puta manji od srednje vrednosti mišićne mase kod mlađih osoba (Morley, 2008). Sarkopenija se često poredi sa osteoporozom i smatra se da ono što je osteoporoza za kosti, sarkopenija je za mišiće. Ona je često praćena infiltracijom masnog tkiva u mišiće, što se definiše kao sarkopenična gojaznost (Rolland i sar., 2009, Narici i Maffuli, 2010), porastom količine vezivnog tkiva, promenama u telesnom sastavu, što se može povezati sa povećanom incidencijom insulinske rezistencije kod starih (Haren i sar., 2011). Uz to, koštana gustina opada, povećana je ukrućenost zglobova, a dolazi i do promene stava (kifoza) tela. Posle 30. godine života, mišićna masa opada približno 3-8% svakih deset godina, s tim da je opadanje brže nakon 60-te godine; tako da ono iznosi oko 5% kod osoba starih 65 godina, a oko 50% kod starijih od 80 godina (Janssen, 2002; 2010).

Gubitak skeletne mišićne mase koji nastaje kod sarkopenije vodi do gubitka fizičke snage i sposobnosti za obavljanje svakodnevnih životnih aktivnosti, te ovaj nevoljni gubitak mišićne mase, snage i funkcije predstavlja osnovni uzrok i faktor koji doprinosi fizičkoj ne-

moći starih (Fried i sar., 2004; Bauer i sar., 2008). To dovodi do povećanog rizika od padova i povređivanja, teškoća u oporavljanju od bolesti, produžetka hospitalizacije i može voditi funkcionalnoj zavisnosti od okoline i dugoročnoj nemoći, koja zahteva tuđu pomoć u svakodnevnom životu (Goldspink, 2004; Mühlberg i Sieber, 2004; Volpi i sar., 2004; Thompson, 2007). Smanjenje snage i moći mišića koji prate proces sarkopenije označava se terminom dinapenija (Clark i Manini, 2012).

Jedan broj istraživača koji se bavi sarkopenijom, pokušava da postigne konsenzus za definiciju sarkopenije, jer samo gubitak mišićne mase ne može u potpunosti objasniti ovaj klinički sindrom. Evropska radna grupa za sarkopeniju kod starih definiše sarkopeniju kao gubitak mase i funkcije mišića (Cruz-Jentoft i sar., 2010). Internacionalna asocijacija za nutricionizam i starenje na sličan način naglasava značaj funkcije u navedenoj definiciji (Fielding i sar., 2011). Obe definicije se preklapaju s obzirom na definisanje nemoći (Abellan van Kan i sar., 2008). Društvo za sarkopeniju i kaheksiju iznosi kompromisni predlog, tj. stav da sarkopenija predstavlja stanje ograničene pokretljivosti (Morley, 2011).

Definicija sarkopenije uključuje i sledeće aspekte: fizičke funkcije (npr. brzina hoda), jačina mišića i na kraju mišićnu masu. Termin sarkopenija koji se u početku koristio za gubitak mišićne mase zbog starosti, postao je sinonim za gubitak sile mišića zbog starosti kao i gubitak fizičke funkcije, takođe usled starosti. U literaturi se sreću podaci (Drey, 2011; Manini i Clark, 2012) da se gubitak snage mišića zbog starosti može delimično objasniti redukcijom mišićne mase, ali da i drugi fiziološki faktori mogu uticati na slabost mišića kod starijih pacijenata. U literaturi sve više se ističe da se gubitak sile i mišićne mase definišu nezavisno, odnosno da se termin sarkopenija koristi za opisivanje gubitka mišićne mase zbog starosti, a termin dinapenija, koji obuhvata gubitak sile mišića zbog starosti, za funkcionalnu aktivnost (Clark i Manini, 2008). Ova dva stanja dinapenija i sarkopenija, trebalo bi definisati nezavisno jedan od drugog. Argumenti u korist ove tvrdnje su: podaci iz različitih studija o starenju pokazuju da održavanje ili povećanje mišićne mase ne sprečavaju opadanje mišićne sile zbog starosti i da je mišićna slabost nezavisno povezana sa fizičkim invaliditetom i mortalitetom. Fiziološki mehanizmi slabljenja mišića zbog starosti su više dimenzionalni i proizilaze iz deficita u nervnoj aktivaciji redukcije unutrašnje sposobnosti mišića da generališu snagu kao i trošenje mišića (Manini i Clark, 2012).

1.2.1. Uzroci nastanka sarkopenije

Razmotrićemo i objasniti moguće i najčešće uzroke koji doprinose nastanku sarkopenije i to promene strukturne funkcije sa starenjem, promene biohemijskih i metaboličkih faktora sa starenjem kao i uloga neuroloških, inflamatornih faktora i fizičke aktivnosti/neaktivnosti. U literaturi se ističu različiti uzroci nastanka sarkopenije ali svi autori se slažu da se, do sada, ne može sa sigurnošću govoriti koji je primaran i dominantan u njenom nastanku. Uglavnom dominira stav da je sarkopenija multiuzročno, odnosno multifaktorijalno stanje čiji se nastanak još ispituje, kao i mogući terapijski pristupi u njenom sprečavanju i lečenju. Generalno, najočigledniji uzrok sarkopenije je fizička neaktivnost. Fizičko vežbanje (kontrahovanje mišića) dovodi do oslobađanja mišićnih faktora rasta: insulinskog faktora rasta (IGF-E) i mehano-faktora rasta (MGH) čime se aktiviraju satelitske ćelije i sinteza proteina što dovodi do regeneracije mišića (Morley, 2010). Etiologija sarkopenije nije tačno utvrđena. Fizička neaktivnost, pušenje i loša ishrana, promene u nivoima citokina vezane za starenje, pojačani oksidativni stres, gubitak alfa motornih neurona, apoptoza mišićnih ćelija i genetska podložnost značajni su faktori rizika. Na subcelularnom nivou, specifične starosne promene obuhvataju smanjenje broja mišićnih ćelija, redukciju vremena i snage grčenja mišića, volumena sarkoplazmatskog retikuluma i kapaciteta pumpanja kalcijuma. Uz promene vezane za same mišiće, i ostale promene u endokrinoj funkciji ili odgovoru na hormonske stimulse, ishrana ili reakcija na hranljive materije, kao i fizička aktivnost mogu biti odgovorne za razvoj i pogoršanje sarkopenije (Volpi i sar., 2004). Znači gubitku mišićne mase mogu doprineti i različite hormonske promene koje srećemo tokom starenja. Postoje podaci koji sa etiologijom i patogeneom sarkopenije povezuju insulin, estrogene, androgene, prolaktin, tiroidne hormone, kateholamine i kortikosteroide (Kamel i sar., 2002; Solomon i Bouloux, 2006; Giovanni i sar., 2008; Rolland i sar., 2008). Sarkopenija je tek nedavno prepoznata epidemija koja predstavlja veliku pretnju funkcionalnoj nezavisnosti i kvalitetu života starijih osoba. Sve je više dokaza koji povezuju sarkopeniju sa starosnim opadanjem produkcije testosterona, estrogena, hormona rasta i dehidroepiandrosterona. Terapija nadoknade testosteronom može imati pozitivan efekat kod hipogonadalnih muškaraca sa sarkopenijom. Ipak da bi se definisao odnos rizik/benefit takve terapije i da bi se ona preporučila, treba sprovesti istraživanja dužeg trajanja. Tretman sarkopenije je „u povoju“, pošto mehanizmi koji učestvuju u njenom razvoju i progresiji još uvek nisu dovoljno razjašnjeni.

Endokrini faktori. Poznato je da kod starih osoba, nivo anaboličkih hormona opada, dok nivo kataboličkih hormona raste. Primarni i najmoćniji anabolički steroid je testosteron, a u andropauzi kod oko 60% muškaraca starijih od 65 godina, nivoi testosterona smanjuju se na vrednosti niže od normalnih nivoa kod mladih. Za razliku od brzog opadanja estradiola u menopauzi, koncentracija testosterona tokom starenja opada postepeno, po stopi od oko 1% godišnje posle tridesete godine života. Kod žena, testosteron opada vrlo brzo između 20. i 45. godine života (Pery i sar., 2000; Kamel i sar., 2002). Kako testosteron pospešuje sintezu mišićnih proteina, mišićnu masu i snagu, pretpostavlja se da smanjenje testosterona može dovesti do smanjene mišićne sinteze proteina što vodi gubitku mišićne mase (Marcell i sar., 2001; Haren i sar., 2011). Povećanje nivoa testosterona kod starijih do nivoa cirkulišućeg testosterona koji se sreće kod mlađih muškaraca dovedio je do rasta mišićne mase ali nije rezultovalo funkcionalnim povećanjem snage (Wang i sar., 2008). Mehanizmi kojim testosteron utiče na mišiće, su prema Baumgartneru i saradnicima (1999) povećana sinteza proteina, povećane intramuskularne ribonukleinske kiseline (mRNK) koncentracije IGF-1 i smanjene koncentracije inhibitorynog IGF vezujućeg proteina 4. Sve ovo ukazuje na stimulaciju intramuskularnog IGF-1 sistema tokom primene testosterona. Gentili i saradnici (2002) su pretpostavili da intramuskularna primena 200 mg testosterona kod starijih muškaraca utiče na GH/IGF-1 osovinu, dovodeći do povećane mase, bazalne sekrecije kao i 24-časovnom ritmičnošću produkcije hormona rasta (GH), kao i povećanjem serumskih nivoa IGF-1. Nedavne studije pokazuju da primena suprafizioloških doza testosterona kod starijih muškaraca može značajno povećati snagu donjih ekstremiteta, kao i bezmasnu mišićnu masu. Mada kod starijih muškaraca se primenom visokih doza testosterona dolazi do značajnog porasta snage, potencijalni rizici mogu neutralisati pozitivne efekte. Rizici vezani za ovu terapiju obuhvataju agresivno ponašanje, trombozu, apneju tokom sna, periferni edem, ginekomastiju i povećan rizik za pojavu karcinoma prostate (Morley, 2007). Nadoknada testosterona do srednjih nivoa normalnih raspona rezultuje značajnim porastom mišićne mase, snage, mišićne sinteze proteina i koštane gustine. Rezultati, dakle, pokazuju da andropauza može biti činilac u razvoju sarkopenije. Ipak, tretman testosteronom za sada se ne preporučuje kod sarkopenije (Morley, 2010).

Efekat estrogena na mišiće kod žena može biti posredovan i njegovim modulatornim efektom na GH/IGF-1osovinu. Normalna menopauza je povezana sa promenama u telesnom sastavu i snazi mišića. Poehlman i saradnici (1995) su ispitivali u svojoj studiji promene u potrošnji energije i telesnom sastavu 35 žena koje su ušle u menopauzu u poređenju sa

ženama iste starosti koje to nisu. Studija je pokazala gubitak od 3 kg bezmasne mase, porast od 2,5 kg mase masti, pad 100 kcal na dan u brzini metabolizma u mirovanju, kao i porast odnosa struk - kuk, u periodu od 6 godina. Mada estrogen ima direktno anaboličko dejstvo na mišiće, njegovi efekti mogu biti posredovani i konverzijom u testosteron. I estrogen i testosteron inhibiraju produkciju kataboličkih citokina kao što su interleukin (IL-1 i IL-6), ukazujući na to da gubitak ovih gonadalnih hormona sa starenjem može imati i direktne i indirektno kataboličke efekte na mišićno tkivo. Estrogen ima pozitivan modulatoreni efekat na sekreciju GH. Da li je efekat menopauze na mišiće posledica hormonalnih promena i/ili promena u načinu života, tek treba utvrditi. Postoji malo podataka o efektima terapije nadoknade estrogena na mišićnu masu i snagu kod žena u menopauzi. Baumgartner i saradnici (1999) nisu uočili nikakvu povezanost terapijske nadoknade estrogena sa mišićnom masom ili snagom.

Hormon rasta (GH), za razliku od ostalih hormona, ne ispoljava dejstvo preko ciljane žlezde, već ispoljava svoje efekte direktno skoro na sva tkiva tela. Ovaj hormon, poznat kao somatotropni hormon ili somatotropin, je mali proteinski molekul koji sadrži 191 amino kiselinu u jednom lancu, a molekulska masa iznosi 22.005 (Guyton i Hall, 2008). Dovodi do povećanja veličine broja ćelije i povećanja mitoze. Sa razvojem povećanog broja ćelija nastaje i specifična diferencijacija određenih tipova ćelija, kao što su ćelije rasta kostiju i rane mišićne ćelije. Pored opšteg dejstva na rast, hormon rasta ispoljava mnogobrojna posebna metabolička dejstva, i to: povećava sintezu proteina u većini ćelija tela, povećava mobilizaciju masnih kiselina iz masnog tkiva, povećava slobodne masne kiseline u krvi i povećava njihovo korišćenje u energetske svrhe i smanjuje korišćenje glikoze u celom telu. Znači, ovaj hormon povećava količinu proteina u telu, troši rezerve masti, a čuva ugljene hidrate. Dejstvo hormona rasta na korišćenje masti, zajedno sa anaboličkim efektom na proteine, dovodi do porasta mišićne telesne mase. Serumski nivoi hormona rasta (GH) opadaju sa starenjem. Sa starenjem dolazi do sledećih promena prosečnih koncentracija hormona rasta u plazmi: od pet do dvadeset godina ona iznosi 6 ng/ml, od dvadeset do četrdeset 3 ng/ml a između četrdesete i sedamdesete godine je 1,6 ng/ml. Normalno starenje je praćeno poremećenom sposobnošću mišićnih ćelija da pravilno odgovaraju na cirkulišući insulin povećanjem sinteze proteina u mišićima. Takođe, GH/IGF-1 osovina, pokazuje postepeno opadanje tokom normalnog starenja. Ovaj proces je poznat kao somatopauza i praćen je štetnim promenama u telesnom sastavu, tj. smanjenjem mršave telesne mase, povećanjem adipoznosti i opadanjem mišićne mase i snage (Mühlberg i Siber, 2004; Volpi i sar., 2004; Giovannini i sar., 2008; Sattler,

2013) te se njegova nadoknada kod starih čini logičnim postupkom (Iranmanesh i sar., 1991). Primena GH kod starih jedinki poboljšava telesni sastav (povećava mišićnu masu, smanjuje masnu masu i brzinu demineralizacije u kostima), ali postoje dokazi da suplementacija GH ne dovodi do porasta snage, funkcionalnog kapaciteta ili pozitivnih metaboličkih promena (Papadakis i sar., 1996; Blackman i sar., 2002). Nus pojave ovakve terapije su značajne i često se javljaju, a kao najčešće navode se: sindrom karpalnog tunela, edemi, artralgijska, intolerancija glukoze, dijabet. Novi GH sekretogeni aktiviraju receptore pulzativnog endogenog liganda u hipotalamusu i hipofizi. Delujući kao funkcionalni antagonisti somatostatina, GH sekretogeni potenciraju delovanje GH-oslobađajućeg hormona na sekreciju GH, te pospešuju pulsativnu sekreciju GH tj. lučenje se povećava i smanjuje naizmenično. Nije jasno da li bi restauriranje aktivnosti GH/IGF-1 osovine na nivou kao kod mladih bilo od koristi kod starih. Ipak, ako se budu mogli prikazati pozitivni efekti na snagu, slični onima sa GH, GH sekretogeni bi mogli da budu klinički pristup u tretiranju i prevenciji sarkopenije koji se dobro podnose i koji bi možda mogli da uspore neizbežno opadanje funkcije kod starih osoba. Terapija nadoknade hormona rasta kod starih čini se da je od koristi u pogledu smanjenja mase masti, poboljšanja stanja lipida u krvi i povećanja mišićne mase, ali te promene ne moraju povećati snagu i funkciju mišića. U stvari, mišićna snaga raste samo kada se hormon rasta daje starim muškarcima koji su u programu sa dizanjem tegova (vežbe snage), u poređenju sa primenom ovog hormona kao jedine intervencije, ili kada se terapija nadoknade polnih hormona primenjuje zajedno sa hormonom rasta. Kao i za testosteron, nadoknada hormona rasta danas se ne preporučuje za lečenje sarkopenije zbog potencijalno veoma ozbiljnih nus pojava kao što su artralgijska, edemi, insulinska rezistencija, kardiovaskularni rizici (Bartke, 2009).

Dehidroepiandrosteron (DHEA-prasteron) i dehidroepiandrosteron sulfat (DHEAS) su prekursori adrenalnih polnih steroida, a njihovi nivoi se drastično smanjuju sa starenjem. Suplementacija DHEA prasteronom dovodi do povećanja serumskog DHEAS na nivoe koji se sreću kod mladih osoba. Gustina kosti, procenjena dvoenergetskim apsorciometrijom x - zraka, rasla je selektivno kod žena starijih preko 70. godina. Značajno poboljšanje primećeno je i pogledu stanja kože, posebno kod žena. Direktna biološka aktivnost adrenalnih androgena (androstenediona, DHEA i DHEAS) minimalna je, pošto oni funkcionišu primarno kao prekursori za perifernu konverziju u aktivne androgne hormone testosteron i dihidrotestosteron.

Promene na mitohondrijama. Biohemijske i metaboličke promene u organizmu, takođe, se dešavaju sa starenjem. Delecione mutacije mitohondrijske DNK, koje su posledica

oksidativnog oštećenja i smanjenja sinteze mitohondrijalnih proteina, verovatno su povezane sa smanjenjem aktivnosti glikolitičkih i oksidativnih enzima, rezervi kreatin fosfata i ATP-a unutar mišićnih ćelija, mitohondrijalnog volumena sa blagom redukcijom brzine celokupnog metabolizma (oko 10%). Kontrakcija mišića zavisi od produkcije ATP-a u mitohondrijama. Pošto se ATP koristi za skoro sve reakcije u ćeliji, uključujući kontrakciju mišića, promene u veličini mitohondrija, DNK unutar mitohondrija i mitohondrijalnih proteina direktno utiču na mišićnu kontrakciju starog mišića. Sa starenjem, DNK sadržaj u mitohondrijama i sinteza proteina smanjeni su, što dovodi do smanjenja mitohondrijalnih proteina (Rooyackers, 1996; Welle, 2003), a oni imaju i smanjenu aktivnost (Rooyackers, 1996). Smanjenje mitohondrijalnih proteina i njihove aktivnosti rezultuje 50%-nim smanjenjem oksidativnog kapaciteta i ATP-a dostupnog za mišićnu kontrakciju, što doprinosi smanjenju aerobnog kapaciteta u starosti (Conley, 2000). Opadanje sadržaja mitohondrijalne DNK, sinteze i aktivnosti proteina sa starenjem, možda je povezano sa produkcijom slobodnih radikala i oksidativnim oštećenjem DNK i mitohondrijalnih proteina (Short i sar., 2005). Dok se oštećena nuklearna DNK brzo reparira, oštećenje mitohondrijalne DNK ne može se lako reparirati (Larsen i sar., 2005). Oksidativno oštećenje mitohondrijalnih proteina, takođe, smanjuje proizvodnju ATP-a i oksidativni kapacitet u starom mišiću (Short, 2005). Navedene metaboličke promene u mišićima doprinose opštoj fizičkoj aktivnosti starih osoba i predstavljaju važnu komponentu smanjenja od oko 30% sposobnosti da se tokom fizičke aktivnosti/vežbanja iskoristi kiseonik (pr. VO_2 max).

Neurološki faktori. Starosne promene u neuromišićnom sistemu mogu igrati ulogu u pojavi sarkopenije. Broj motornih neurona i funkcionalnih motornih jedinica kičmene moždine opada sa starošću (Roth, 2001; Roubenoff, 2001). Prema podacima iz literature motorne jedinice su očuvane do 60. godine, a posle tog perioda dolazi do njihovog dramatičnog opadanja (Ling, 2009). Ljudske nervne ćelije, koje su postmitotičke, imaju određen životni vek, a smanjenje njihovog broja zavisi od lokacije u telu, starosti i prisustva bolesti (Vandervoort, 2002). Motorni neuroni su odgovorni za slanje signala iz mozga do mišića i za iniciranje pokreta. Motornu jedinicu čine motorni neuron i sva mišićna vlakna koje taj neuron inerviše, a broj vlakana koje motorni neuron inerviše zavisi od funkcije datog mišića. Mišić koji izvodi precizne pokrete, kao što su mišići oka, imaće motorne jedinice u kojima motorni neuron inerviše mali broj vlakana. Mišić koji ne izvodi tako precizne pokrete a od njega se zahteva velika snaga, ima motorne jedinice u kojima neuron inerviše stotine, pa čak i preko hiljadu mišićnih vlakana. Gubitak mišićnih vlakana počinje gubitkom motornih neurona. Morfološke

promene u prednjim rogovima kičmene moždine, kao i one u perifernom aksonu kod starijih ljudi i životinja, mogu se smatrati odgovornim za mišićnu atrofiju u starijem životnom dobu. Motorni neuroni će sa starošću umirati, što će za posledicu imati denervaciju mišićnih vlakana unutar date motorne jedinice. Ova denervacija dovodi do atrofije i kasnije smrti mišićnih vlakana, što vodi smanjenju mišićne mase (Roth, 2001). Kada motorni neuron "umre", susedni motorni neuron, obično sporo kontrahujući, može reinervisati mišićna vlakna sprečavajući atrofiju. Ovaj se proces naziva remodeliranjem motorne jedinice. Kada se uporede sa brzo kontrahujućim motornim jedinicama, sporo kontrahujuće jedinice proizvode mnogo manju silu, tako da remodeliranje sporo kontrahujućim motornim neuronima vodi manje efikasnim motornim jedinicama. Remodelirana sporo kontrahujuća motorna jedinica imaće manje preciznu kontrolu pokreta i manju proizvedenu silu (Roth, 2001; Roubenoff, 2003), što može da objasni gubitak ravnoteže i brzine pokreta sa starenjem. Brzina denervacije brzo kontrahujućih mišićnih vlakana može prevazići brzinu reinervacije od strane sporo kontrahujućih motornih neurona, što objašnjava atrofiju brzo kontrahujućih mišićnih vlakana kod starih osoba.

Inflamacija. Poznato je da mišićno tkivo reaguje na citokine, medijatore zapaljenja, a da neki od njih imaju katabolički efekat, kao što su interleukini (IL-1), interleukin 6 (IL6), faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α), (Reid, 2001; Schaap, 2009) i miostatin (Taylor i sar., 2001). Neki drugi imaju anabolički efekat, kao interleukin 15 (IL-15), (Quinn, 1995) i faktor rasta sličan insulinu (IGF-1), (Florini i sar., 1996). Mišićno tkivo može oslobađati određene citokine i druge regulatorne faktore, uključujući TNF- α , IL-1, IL-6, miostatin, interleukin 18, proteine klase I i II humanog leukocitnog antigena (HLA), (Lang, 2003; Steensberg, 2002). Značaj IL-6 kao medijatora sarkopenije prikazan je u longitudinalnoj studiji na 232 muškarca i 326 žena, starih od 72. do 92. godine. Celularna produkcija IL-6, kako se pokazalo, bila je značajan prediktor sarkopenije kod žena ali ne i kod muškaraca. Visoke koncentracije IGF-1, takođe, merenog u studiji, bile su povezane sa manjim gubljenjem bezmasne mase u poređenju sa niskim koncentracijama kod muškaraca, ali ne i kod žena. Prikazano je da je produkcija IL-6 značajan prediktor mortaliteta od svih uzroka tokom šestogodišnjeg posmatranja (Roubenoff, 2003). Veći gubitak bezmasne mase bio je, takođe, povezan sa povećanim mortalitetom, naglašavajući značaj sarkopenije kao faktora koji doprinosi kvantitetu kao i kvalitetu života kod starih (Harris, 1997; Payette, 2003).

Fizička neaktivnost i aktivnost. Još jedan faktor koji dovodi do sarkopenije je fizička neaktivnost. Mada je teško uzročno utvrditi relativni značaj neaktivnog, sedentarnog, načina

života u pogledu razvoja sarkopenije, dobro je poznato da kratkotrajna mišićna neaktivnost znatno redukuje mišićnu masu i snagu čak i kod mladih osoba, a tipični primer je duži boravak u postelji i u uslovima beztežinskog stanja. Takođe se smatra da se protiv ovih mišićnih promena može delovati fizičkom aktivnošću, tipično vežbama otpora koje povećavaju miofibrilarnu mišićnu sintezu proteina i kod mladih i kod starijih odraslih osoba. Progresivni trening sa vežbama otpora takođe indukuje mišićnu hipertrofiju i povećava snagu kod starih i fizički slabih odraslih osoba. Smatra se da redovna fizička aktivnost ima pozitivan uticaj na nivo inflamacije, što je evidentno u nekoliko studija (Geffken, 2001). Viši nivoi fizičke aktivnosti bili su povezani sa nižim serumskim koncentracijama nekoliko markera inflamacije, uključujući C-reaktivni protein (CRP), IL-6 i fibrinogen, kao i sa nižim brojem krvnih ćelija bele loze (Ford i sar., 2002; Taaffe i sar., 2000). Uz efekat de-treniranja, ovi podaci mogu da objasne štetan efekat fizičke neaktivnosti na mišiće kroz raspad sinteze proteina u ćeliji indukovano inflamacijom (Klitgaard i sar., 1990).

Dobro je poznato da se snaga mišića može poboljšati treningom, čak i kod starijih odraslih osoba (Latham, 2004). Najčešće korišćeni pristup u borbi protiv sarkopenije je trening progresivne rezistencije (PRT), koji podrazumeva da se učesnici fizički opiru nekoj spoljašnjoj sili, koja se povećava sa porastom snage mišića. Ipak, istraživanja su pokazala da trening rezistencije ima velike pozitivne efekte na snagu mišića kod starijih odraslih osoba, a ima mali do umereni uticaj na fizičku performansu (Latham, 2004). U novije vreme razne studije ukazuju na to da je moć mišića (generisanje mišićnog rada u jedinici vremena) jače povezana sa fizičkom performansom nego što je to snaga mišića (Bean, 2003). Zbog toga je poslednjih godina trening moći mišića kod starijih privukao veliku pažnju. Središnji element treninga moći je da koncentrični deo RT (podizanje ili guranje) treba završiti što je brže moguće, dok se ekscentični deo (spuštanje) mora završiti za oko 2-3 sekunde (Hazell i sar., 2007; Sayers i sar., 2007). Studije do sada objavljene a koje porede efekte treninga rezistencije i treninga moći nemaju konzistentne rezultate (Miszko, 2003; Bean, 2009; Reid, 2008). Uprkos neefikasnosti u povećanju mišićne mase, snage i funkcije, trening sa vežbama otpora može biti intervencija koja se teže primenjuje (zahteva opremu, adekvatan prostor, nadzor) i u nekim stanjima čestim kod starih nije indikovana (hipertenzija, moždani udar).

U nekim studijama je prikazano da aerobno vežbanje poboljšava volumen kiseonika (VO_2 max), mitohondrijalnu gustinu i aktivnost, insulinsku senzitivnost i potrošnju energije kod mlađih i starijih osoba. Mada aerobno vežbanje ne indukuje evidentnu mišićnu hipertrofiju, neke studije su pokazale da intenzivan aerobni trening može indukovati određen stepen

hipertrofije, na šta ukazuju povećan obim potkolenice, površina mišićnih vlakana i aktivacija satelitskih ćelija. Karakteristična građa maratonca (tipičnih aerobnih vežbača) može baciti senku na anaboličku efikasnost aerobnog vežbanja (Sheffield-Moore i sar., 2004). Važno je naglasiti da mišićima ovih sportista, mada nisu hipertrofični, ne nedostaje snaga i sila, što je slučaj sa sarkopeničnim odraslim osobama. U stvari, mišićna masa nije jedina determinanta mišićne funkcije, a aerobni trening može imati značajno pozitivan efekat na neuromuskularne adaptacije i posledično, kvalitet mišića, posebno kod osoba koje su bile sedentarne i sarkopenične pre intervencije fizičkim treningom. Pokazalo se da se kvalitet mišića značajno poboljšava sa treningom otpora (snage) kod starijih ljudi i kod mlađih kod kojih dolazi do propadanja mišićnog tkiva. Tako i vežbe snage i aerobno vežbanje mogu biti vrlo korisni u borbi protiv sarkopenije i pratećih metaboličkih promena mišića (Tracy i sar., 1999; Schroeder i sar., 2003).

Uticao ishrane. Adekvatan unos hranljivih materija je od ključnog značaja za održanje mišićne mase. Smanjenje unosa hrane sa starenjem, prema tome, igra određenu ulogu u razvoju sarkopenije. Dva najvažnija faktora odgovorna za razvoj sarkopenije čini se da su: deficit vitamina D i proteina. Studije različitih populacija pokazuju da je deficit vitamina D visoko prevalentan kod starijih odraslih osoba. Oko 80-100% korisnika usluga staračkih domova u Evropi, Australiji i Severnoj Americi ima deficit vitamina D (van der Wielen i sar., 1995). Jedna epidemiološka studija nehospitalizovanih starih osoba (71-76 godina života) u Evropi pokazuje da je deficit prisutan u 36% muškaraca i 47% žena. Smatra se da je ovaj deficit povezan sa sarkopenijom, slabošću mišića, slabim fizičkim performansama, problemima sa ravnotežom i padovima, mada su nalazi različitih studija u nekim aspektima kontradiktorni. Genomski efekat vitamina D rezultuje promenama u koncentraciji mRNK, što za posledicu ima de novo sintezu proteina u mišićnoj ćeliji. Negenomski efekti obuhvataju aktivaciju protein kinaze C, koja oslobađa Ca u citozolu, a to je ključno za kontrakciju mišića (Bischoff i sar., 2003; Latham i sar., 2004).

Održavanje mišićne mase, uz deficit vitamina D, čini se da kod starijih osoba zahteva adekvatan unos proteina. Pretpostavlja se da je starim osobama, da bi održavale svoju mišićnu masu, potrebno bar 1,2 gr/kg proteina na dan (Lord i sar., 2007). Jedan broj studija pokazuje da leucinom obogaćena kombinacija esencijalnih aminokiselina povećava sintezu proteina u većoj meri nego drugi oblici proteina; one to čine aktivirajući mišićne "mete" rapamicinskog mehanizma, koji je ključni regulator anabolizma. Proteini deluju sinergistički sa fizičkim vežbama u povećanju mišićne mase (Campbell i sar., 2001).

Epidemiološke studije pokazuju da je unos proteina proporcionalan očuvanju mišićne mase. U longitudinalnoj studiji Zdravlje, Starenje, i Telesni sastav, autori su identifikovali povezanost unosa proteina i promena bezmasne mase (LM) i apendikularne LM (aLM) u periodu od 3 godine. U ovoj studiji aLM je zbir bezmasne mase obe noge i ruke, dok je LM bezmasna masa celog tela. Saopšteno je da osobe u najvišem kvintilu unosa proteina gube približno 40% manje LM i aLM od onih u najnižem kvintilu. Ovi nalazi pokazuju da trenutno važeći preporučeni unos proteina (0,8 g/kg na dan) nije adekvatan za starije osobe. On ne uzima u obzir promene koje se dešavaju sa starenjem, kao što su smanjena mišićna masa, povećana masa masti, promene u unošenju hrane, smanjena fizička aktivnost i češće razboljevanje (Campbell i sar., 2001).

Razmatranje studija o ravnoteži azota pokazuje da je unos proteina od 1,0-1,3 g/kg na dan potreban da bi nadomestio tipično manji energetske unos i poremećen insulunski odgovor kod starijih odraslih osoba. Naknadne studije su pokazale da su od značaja ne samo globalni rast unosa proteina, već i količina proteina po obroku. Prikazano je da je starenje povezano sa nesposobnošću skeletnih mišića da reaguju na niže doze (oko 7,5 kg) esencijalnih aminokiselina, dok visoke doze (10-15 g) mogu da stimulišu mišićnu sintezu proteina u sličnoj meri kao kod mladih. Veća proporcija leucina u mešavini esencijalnih aminokiselina može preokrenuti oslabljeni odgovor mišićnih proteina kod starijih osoba. Pothranjenost vodi propadanju mišićnog tkiva. Prikazano je da je starenje povezano sa progresivnim smanjenjem unosa hrane što predstavlja predispoziciju za energetske-proteinsku pothranjenost. Nutriciona suplementacija koja se sastoji samo od aminokiselina ili proteina može biti od koristi u promovisanju rasta mišića stimulacijom mišićne sinteze proteina i povećanjem ukupnog dnevnog unosa kalorija, ali su u tom pogledu potrebna dalja istraživanja (Paddon-Jones, 2004).

1.2.2. Morfologija mišića kod sarkopenije

Skeletni mišići, kako je napred navedeno sastoje se od različitih tipova vlakana, a razlikuju se tri glavna tipa vlakana (tip I, IIa, IIb). Mišićna vlakna tip I su sporo kontrahujuća, na zamor rezistentna vlakna sa većim oksidativnim kapacitetom, većim mitohondrijalnim sadržajem kao i većom kapilarnom gustinom. Za razliku od njih mišićna vlakna tip II su brzo kontrahujuća, sa visokim glikolitičkim kapacitetom. Mišićna vlakna tip II dele se na tip IIa, sa srednjim oksidativnim i glikolitičkim kapacitetom i na zamor rezistentnija od tipa IIb, kod kojih dominira glikolitička aktivnost (Schiaffino i Reglani, 1996). Histološke humane post

mortem studije pokazuju gubitak vlakana sa starenjem; od 20. do 80. godine života ukupan broj vlakana se smanjuje za oko 50%, a gubitak je značajno brži posle 60. godine života. Uz to gubitak je selektivan, sa većim gubitkom brže kontrahujućih mišićnih vlakana tip II u poređenju sa sporo kontrahujućim mišićnim vlaknima tip I (Verdijk i sar., 2010; Goodpaster, 2006). Ove morfološke promene odražavaju se na funkciju mišića u pravcu smanjenja njegove snage za oko 20-40% kod osoba starih oko 70. godina u poređenju sa osobama od 20. godina. Gubitak mišićne snage čak raste na 50% kod osoba u 90. godinama života. Brzo kontrahujuće mišićno vlakno tip II učestvuje u generisanju mišićne snage, koja predstavlja proizvod sile i brzine mišićne kontrakcije. Mišićna moć se kao rezultat ovoga smanjuje brže od mišićne snage (Meter i sar., 1997). Ovakav nalaz ima klinički značaj, pošto su studije pokazale da je mišićna moć čvršće povezana sa fizičkim performansama, nego što je to mišićna snaga (Bean, 2003).

1.2.3. Epidemiologija i zbrinjavanje sarkopenije

Danas ne postoji nikakva efikasna i bezbedna terapija koja bi sprečila ili nadoknadila izgublenu mišićnu masu. Standard zbrinjavanja sarkopenije su ili nutricionistički suplementi i pojačivači apetita ili fizičko vežbanje u cilju održavanja ili povećavanja mišićne snage. Uprkos ovim terapijskim opcijama, mnoge stare osobe i dalje gube mišićnu snagu i funkciju i posledično, izložene su riziku nepovoljnih ishoda takve fizičke nemoći. Anabolički steroidi se ponekad propisuju, ali im je upotrebljivost ograničena zbog slabe efikasnosti i prisustva neželjenih posledica. Novije terapijske mogućnosti za sprečavanje i tretiranje sarkopenije mogu se podeliti u tri kategorije: unošenje i absorpcija hranljivih materija, skeletni mišići i endokrine strategije.

Poboljšanje absorpcije hranljivih materija predstavlja terapiju prvog reda u tretmanu sarkopenije, ali ima veoma ograničenu efikasnost. Značajan napredak ostvaruje se u fokusiranju na skeletne mišiće, npr. sa miostatinom (Tomonage, 1977; Balagopal i sar., 1997). Takođe, gubitak integriteta neuromuskularnog spoja može biti glavni faktor koji doprinosi sarkopeniji, a može da obuhvata i inervaciju mišića. Prisutne su i endokrine mogućnosti za tretman sarkopenije; endokrini pristup uključuje selektivne modulare androgenog receptora (SARMs) i sekretogoge hormona rasta (Lissett i Shalet, 2000; Kamel i sar., 2002). Nadoknada hormona rasta kod osoba sa deficitom povećava mišićnu masu, ali nije jasno da li je ovakva nadoknada efikasna i kod starih sarkopeničnih osoba.

Može se zaključiti da su terapijske mogućnosti za tretman i prevenciju sarkopenije još uvek u fazi istraživanja; buduće studije će utvrditi efikasnost ovih terapija da izmene tok sarkopenije i da li će poboljšanje telesnog sastava i fizičkih performansi doprineti povoljnim ishodima u populaciji starih, koja se sve više povećava.

Danas u SAD ima oko 34 miliona osoba starih od 65 i više godina - skoro 13% svih Amerikanaca a taj broj će narasti na približno 70 miliona do 2030. godine i činiće 20% ukupne populacije u SAD. Širom sveta (Nass, 2009), broj osoba nemoćnih zbog starosti dupliraće se sa 321 miliona u 1990. na 799 miliona u 2025. godini. Kao rezultat ekspanzije ovog dela populacije, uz sve duži životni vek, broj starih koji će postati sarkopenični, nemoćni i zahtevati institucionalno zbrinjavanje na duži rok podrazumevaće trošenje sve većih sredstava iz fondova zdravstvenog osiguranja. U SAD se svake godine hospitalizuje 1,5 miliona osoba starih preko 65 godina, a 33% takvih osoba smešta se u ustanove zdravstvene zaštite na duži rok zbog svoje fizičke nemoći i nesposobnosti da obavlja svakodnevne životne aktivnosti, s tim da se većina starih, nemoćnih osoba pred kraj života suočava i sa periodom dužim od 2 godine, kada se ne mogu starati ni sami o sebi. Brojne epidemiološke studije, koristeći različite metode merenja i granične vrednosti, pokušale su da ustanove prevalenciju sarkopenije (Rolland, 2008; von Haehling, 2010). Generalno, čini se da 5-13% osoba starih 60 do 70 godina i 11-50% osoba starih od 80 godina ima sarkopeniju. Procenjuje se da u SAD ima 3,6 miliona ljudi sa sarkopenijom. Sarkopenija je povezana sa visokom pojavom onesposobljenosti (Janssen, 2002; 2006; 2010). Ova povezanost je još izraženija kada je u pitanju sarkopenija gojaznih osoba. Dok neki sarkopenijom smatraju i gubitak mišićne mase kod kancera, on se u skoro svim slučajevima na bolji način klasifikuje kao kaheksija ili miopenija (von Haehling, 2010; Fearon i sar., 2011). Klinički, ultrazvuk je najbolji pristup u praćenju sarkopenije, a ima i dodatnu prednost da može da proceni i promene u tetivama. Magnetna rezonanca i skener daju odlična merenja mišića i prikaz masne infiltracije, ali su vrlo skupi. Merenja bioelektrične impedance imaju nepouzdana vrednosti u pojedinačnoj primeni, obzirom na neizvesnost u pogledu nivoa hidracije subjekta. Merenje obima mišića na sredini nadlaktice ili potkolenice jeftina je ali neprecizna metoda procene mišićne mase i snage.

1.3. HIPOTALAMUS I HIPOFIZA

Hipotalamus i hipofiza su delovi međumozga (*diencephalon*) i nalaze se na njegovom donjem delu. Hipotalamus (*hypothalamus*) predstavlja vrlo kompleksan region koji integriše i

koordinira mnoge endokrine, nervne, vegetativne i imunološke funkcije organizma. U njemu se nalaze jedra, odnosno sistem jedara koja su važna za neuroendokrine funkcije. Hipotalamusu je pridodata hipofiza, koja zauzima posebno mesto u endokrinom sistemu, jer reguliše aktivnost svih drugih endokrinih žlezda.

U toku embrionalnog razvoja, dijencefalon i hipotalamus, kao njegov deo, razvijaju se iz zadnjeg dela prozencefaličnog mehura, od čijeg prednjeg dela nastaje veliki mozak (*telencephalon*). Hipofiza vodi poreklo od ektoderma, ali iz dva različita izvora. Adenohipofiza nastaje od površnog ektoderma krova usne duplje koji raste ka podu dijencefalona (Ratkeov špag), u susret začetku neurohipofize. Neurohipofiza nastaje od neuroektoderma, izrastanjem produžetaka levkastog oblika (*infundibulum*) sa poda dijencefalona, koji se pruža ka začetku adenohipofize, sa kojom se spaja u jedinstveni organ - hipofizu.

1.3.1. Anatomske karakteristike hipotalamusa

Kako je već navedeno hipotalamus je deo međumozga, koji se nalazi između hemisfera velikog mozga, a iznad srednjeg mozga. Hemisfere velikog mozga pokrivaju bočne, gornju i prednju stranu dijencefalona, a jedina slobodna i vidljiva je njegova ventralna strana koja predstavlja hipotalamus i naleže na gornju stranu tela klinaste kosti. Hipotalamus uprkos ogromnom funkcionalnom značaju predstavlja relativno mali deo međumozga. Kod odrasle osobe težine je oko 4 gr i dužine svega nekoliko santimetara. U odnosu na ostale delove mozga granice hipotalamusa jasne su samo na donjoj strani, koja odgovara ventralnoj strani dijencefalona i unutrašnjoj površini, koja gradi pod i donje delove bočnih zidova treće moždane komore (Kahle i Frotscher, 2002; Mills, 2007; Siegel i Sapru, 2011). Pruža se idući od napred put pozadi, od *lamine terminalis* do frontalne ravni koja se nalazi iza mamilarnih tela a u visinu od hipotalamusnog žleba gore, naniže do njegove ventralne strane. Hipotalamus je bočno ograničen prednjim delom subtalamusa, kapsulom internom i optičkom trakom, pozadi tegumentalnim delom subtalamusa i tegumentumom mezencefalona, dok su dorzalno jedra talamusa.

Pepeljasto ispučenje (*tuber cinereum*) je levkasto ispučenje sive mase i najniži deo poda treće moždane komore. Zauzima celu ventralnu stranu hipotalamusa između optičke raskrsnice i mamilarnih tela. Ventralno od njegovog srednjeg dela se pruža peteljka (*infundibulum*) hipofize, koja se naniže nastavlja njenim nervnim režnjem (*pars nervosa s. lobus posterior*). Oko baze infundibuluma na pepeljastom ispučenju se nalazi kružno, središnje

uzvišenje (*eminentia mediana*), ograničeno plitkim tuberoinfundibularnim žlebom. Bočno je parno uzvišenje (*eminentia lateralis*), izazvano lateralnim tuberalnim jedrima, a prisutno je i malo, središnje postinfundibularno uzvišenje. Dva pomenuta dela hipofize (peteljka i nervni režanj) čine neurohipofizu ili zadnji režanj hipofize (*neurohipophysis s. lobus posterior*).

1.3.2. Građa hipotalamusa

Jedra hipotalamusa koja su mnogobrojna i još uvek nedovoljno jasno diferencirana, vlaknima stubova moždanog svoda (*fornix*) podeljena su na medijalnu i lateralnu oblast (Standring, 2008). U lateralnoj oblasti (*regio hypothalamicalateralis*) nalaze se sledeća jedra: *nucleus perifornicalis*, *nucleus tubero mammilaris* i *nuclei tuberales laterales* koja su razdvojena vlaknima medijalnog telencefalnog snopa (*fasciculus telencephalicus medialis*). U medijalnoj oblasti (*regio hypothalamica medialis*) nalazi se grupa jedara preko kojih se reguliše funkcija hipofize, pa se ova oblast označava kao hipofiziotropna zona (Siegel i Sapru, 2011). U topografskom i funkcionalnom pogledu ova oblast hipotalamusa podeljena je na prednju (*regio hypothalamica anterior*), srednju (*regio hypothalamica intermedia*), zadnju (*regio hypothalamica posterior*) i dorzalnu (*regio hypothalamica dorsalis*) regiju (Pavlović i sar., 2004; Standring, 2008).

Sistem magnocelularnih jedara sadrži tela krupnih neurona čiji aksoni se pružaju do zadnjeg reznja hipofize i formiraju hipotalamo-neurohipofizni sistem. U telima ovih neurona sintetišu se hormoni oksitocin i vazopresin koji preko aksona dospevaju do zadnjeg reznja hipofize gde se izlučuju u kapilare.

Sistem parvocelularnih jedara sastoji se od tela sitnih neurona od čijih aksona se formira hipotalamo-infundibularni (hipotalamoadenohipofizni) sistem. U telima ovih neurona sintetišu se i inhibirajući faktori (neurohormoni) koji preko aksona dolaze do spoljašnje zone eminencije medijane gde se završavaju i izlučuju u kapilarnu mrežu. Ovi faktori regulišu aktivnost adenohipofize (Lačković i sar., 2012).

Hipotalamus je deo centralnog nervnog sistema koji reguliše rad unutrašnjih organa, sekreciju endokrinih žlezdi, autonomni nervni sistem i emocije. U njemu su centri za regulaciju telesne temperature, seksualnih funkcija, centar za glad, žeđ kao i ispoljavanje agresivnog ili defanzivnog ponašanja jedinke (Siegel i Sapru, 2011). Njega čini posebna vrsta nervnih ćelija, neurosekretorne ćelije koje predstavljaju prelazni oblik ćelija između nervnih i sekretornih.

1.3.3. Anatomske karakteristike hipofize

Hipofiza (*hypophysis s.glandula pituitaria*) predstavlja glavnu žlezdu endokrinog sistema koja produktima svoje sekrecije, hormonima, reguliše rad većine ostalih endokrinih žlezdi. Neki od hormona, kao što je hormon rasta, mogu delovati i direktno na određena ciljna tkiva koja ne pripadaju endokrinom sistemu. Hipofiza reguliše mnogobrojne, važne, procese u organizmu kao što su rast, metabolizam, fertilitet, stres kao i imunološki odgovor organizma (Vankelecom, 2007; Ilić, 2009). Ona predstavlja strukturalnu i funkcionalnu vezu između dva glavna regulaciona sistema u čovečijem telu, nervnog i endokrinog sistema. Nastaje objedinjavanjem žlezdanog i nervnog tkiva u toku embrionalnog razvoja; žlezdano tkivo predstavlja njen prednji režanj ili adenohipofizu (*adenohypophysis s. lobus anterior*) a nervno tkivo njen zadnji režanj ili neurohipofizu (*neurohypophysis s. lobus posterior*), (Henrikson i sar., 1997; Anđelković, 2009). Iako adeno i neurohipofiza imaju zajedničku kapsulu i u anatomskom pogledu predstavljaju jedinstvenu celinu, ova dva dela hipofize se karakterišu različitim embrionalnim poreklom, građom i funkcijom (Gartner i Hiatt, 2007). Hipofiza je povezana sa mozgom neuralnim putevima, ima bogatu vaskularizaciju koju dobija od sudova koji snabdevaju mozak. Lučenje skoro svih hormona hipofize je pod kontrolom hormonskih ili nervnih signala iz hipotalamusa, do koga stižu impulsi iz različitih delova centralnog nervnog sistema i kontroliše autonomni nervni sistem.

Hipofiza je endokrina žlezda smeštena u osteofibroznj loži koju odozdo, napred i pozadi gradi jama turskog sedla (*sella turcica - fossa hypophysialis*), a odozgo duplikatura tvrde moždane opne, duralna prečaga (*diaphragma sellae*), na kojoj se nalazi otvor za prolaz peteljke (*infundibulum*) ove žlezde. Težina hipofize je oko 0,6 gr, a njene približne dimenzije su: transverzalna 12 mm, sagitalna 8 mm i vertikalna 6 mm.

1.3.4. Anatomske karakteristike adenohipofize

Adenohipofiza, koja se označava kao i prednji režanj hipofize (*adenohypophysis s. lobus anterior*), jeste prednji, veći deo hipofize i ona čini 75% žlezde. To je žlezda koja kontroliše sekreciju većine ostalih endokrinih žlezda, pod kontrolom je hipotalamusa koji joj preko hipotalamo-hipofizno portalnog venskog sistema šalje rilizing (oslobađajuće faktore). Idući odozgo naniže i napred u sastavu adenohipofize razlikuju se tri topografska dela:

tuberalni, srednji (intemedijalni) i distalni. Intermedijalni i tuberalni deo su zakržljali kod čoveka, tako da je endokrina aktivnost uglavnom vezana za njen distalni deo.

Tuberalni deo (*pars tuberalis*) u vidu prstena obuhvata proksimaln deo infundibuluma. Većina njegovih ćelija luči gonadotropne hormone (Junqueira, 2005).

Srednji ili intermedijalni deo (*pars intermedia*), nastao od zadnjeg zida embrionalnog Ratkeovog špaga, priljubljen je u zadnji režanj hipofize, neurohipofizu, a od distalnog dela prednjeg reznja je odvojen većom ili manjom pukotinom. Ovaj deo čini 3% adenohipofize i u njemu se nalaze bazofilne ćelije koje luče melanocitno stimulišući hormon (MSH). Za ovaj deo je karakteristično prisustvo koloidnih cista obloženih prostim kubičnim ili višeslojnim stratifikovanim epitelom koje ukazuju na zajedničko embrionalno poreklo ovog i distalnog dela prednjeg reznja adenohipofize od Ratkeovog špaga koji polazi sa krova primitivne usne duplje (Kuehnel, 2003).

Distalni deo (*pars distalis*) nastaje od prednjeg zida Rathe-ovog špaga i predstavlja najveći deo hipofize. Čine ga endokrine ćelije koje su organizovane u grupu ćelija okružene bazalnom laminom u čijoj su neposrednoj blizini smešteni fenestrirani kapilari, a u unutrašnjosti ovih grupa nalaze se folikulostelate ćelije (Pavlović i sar., 2013). Ovaj deo ustvari predstavlja klasičnu endokrinu žlezdu u kojoj se luče šest, veoma važnih hormona (Guyton i Hall, 2008; Anđelković, 2009). Strukture koje se mogu diferencirati u distalnom delu adenohipofize su: parenhimske ćelije, krvni sudovi, nervna vlakna i mreža kolagenih vlakana (Cross i Mercer, 1993; Young, 2007).

1.3.5. Histološke karakteristike adenohipofize

Prema afinitetu za boje, ćelije adenohipofize se dele na hromofilne (boje se rutinskim histološkim metodama) i hromofobne (ne boje se rutinskim histološkim tehnikama).

Hromofilne ćelije čine oko 50% prednjeg reznja hipofize i na osnovu svojstva bojenja njihovih sekretornih granula dele se na dve grupe: ćelije čija se citoplazma boji crveno, acidofilne, i na njih otpada 40%, ćelije čija citoplazma poseduje bazofilne karakteristike i boje se plavo, bazofilne ćelije, i na njih otpada 10%. U grupu acidofilnih ćelija spadaju mamotropne i somatotropne, dok grupu bazofilnih ćelija čine tireotropne, gonadotropne i kortikotropne ćelije. Karakteristika hromofilnih ćelija je da su poligonalnog oblika, sa centralno postavljenim okruglim jedrom i citoplazmom u kojoj se nalaze dobro razvijene sekretorne organele za sintezu peptidnih hormona i u kojoj su prisutne sekretorne granule koje pod

elektronskim mikroskopom, u zavisnosti od vrste ćelija, imaju različit broj, veličinu i stepen osmofilnosti. Somatotropne ćelije, imaju centralno jedro, umereni Goldži aparat, male mitohondrije u obliku štapica, obilni grub endoplazmatski retikulum i brojne sekretorne granule precnika 300-400 nm. Ove ćelije luče somatotropin hormon rasta (GH). Somatotropin utiče na povećanje ćelijskog metabolizma, odnosno na razvoj i formiranje koštano - zglobnog i mišićnog sistema. Ovaj hormon, takođe, utiče da ćelije jetre proizvode somatomedine (faktor rasta I i II sličan insulinu), koji stimuliše mitozu hondrocita epifizne ploče i utiču na izduženje dugih kostiju, a samim tim i na rast.

U funkcionalnom pogledu hromofilne ćelije se dele na one čiji produkti sekrecije deluju na neendokrina tkiva i na one čiji hormoni regulišu rad većine endokrinih žlezda (Young i sar., 2007). Ćelije čiji produkti sekrecije deluju na neendokrina tkiva su somatotropne ćelije koje sekretuju hormon rasta (GH); na njih otpada skoro 50% svih endokrinih ćelija distalnog dela adenohipofize. Do pojačane sinteze ovog hormona dolazi u pubertetu što dovodi do intenzivnog rasta dugih kostiju i celog organizma. Druga vrsta ćelija iz ove grupe su mamotropne ćelije koje sekretuju prolaktin (PRL), a on reguliše produkciju mleka u mlečnim žlezdama u toku dojenja i na njih otpada 20% svih endokrinih ćelija adenohipofize.

Hromofilne ćelije koje svojim produktima regulišu rad većine endokrinih žlezdi su: kortikotropne ćelije, koje sekretuju polipeptidni molekul propimelanokortin čijim enzimskim razlaganjem nastaju kortikotropin (ACTH), lipotropin, endorfini i različiti oblici melanocitno stimulišućeg hormona (MSH), a na ove ćelije otpada 20% svih endokrinih ćelija adenohipofize; tireotropne ćelije, na koje otpada 5% endokrinih ćelija adenohipofize, a luče tiroksin (TSH) koji učestvuje u regulaciji rada štitne žlezde i gonadotropne ćelije na koje otpada takođe 5% endokrinih ćelija prednjeg režnja, a odgovorne su za sekreciju folikulostimulišućeg (FSH) i luteinizirajućeg (LH) hormona.

Hromofobne ćelije verovatno predstavljaju neaktivne forme ostalih žlezdanih ćelija, slabo se boje klasičnim metodama i nemaju sekretorne granule. Međutim, postoje različita mišljenja, o tome koje kategorije ćelija sačinjavaju ovu populaciju, pa se tu ubrajaju matične ćelije, zatim degranulisane hromofilne ćelije i najzad slabo bazofilne ACTH ćelije (Young, 2007).

Folikulostelatne ćelije su posebna grupa nesekretornih ćelija adenohipofize. To su male ćelije sa relativno velikim jedrom, slabo bazofilnom citoplazmom i manjim ili većim brojem citoplazmatskih produžetaka. Slične su glija ćelijama a pretpostavlja se da imaju nutritivnu, potpurnu i fagocitnu ulogu (Lačković i sar., 2012; Pavlović i sar., 2013).

Na preparatima bojenim klasičnom H&E metodom (Mills, 2007), uočava se veće prisustvo bazofilnih ćelija u središnjem delu adenohipofize i one, predominantno, sekretuju ACTH, TSH, LH, FSH dok se u lateralnim delovima prednjeg režnja („lateralna krila”) nalaze se acidofilne ćelije, somatotropne, koje sekretuju, najvećim delom GH, a znatno manje prolaktina.

1.3.6. Funkcionalni ćelijski tipovi adenohipofize

Definitivno razlikovanje funkcionalnih tipova ćelija adenohipofize moguće je samo primenom imunohistohemijskih i elektrono-mikroskopskih metoda. Elektrono-mikroskopska metoda omogućava razlikovanje veličine elektronske gustine sekretornih granula kod različitih ćelijskih tipova. Somatotropne ćelije imaju sekretorne granule srednje veličine (300 nm), tireotropne imaju sitne granule (16-60 nm) smeštene u perifernim delovima ćelije, gonadotropne ćelije sadrže sekretorne granule od 300-400 nm, kortikotropne ćelije imaju retke sekretorne granule 200-500 nm, koje su smeštene na krajnjoj periferiji ćelije (Kuehnel, 2003; Young i sar., 2007).

Napred navedeni tip histološke organizacije adenohipofize poistovećuje se sa organizacijom difuznog neuroendokrinog sistema (Le-Tissier i sar., 2012) i predstavlja najnoviji pristup prikaza organizacije građe adenohipofize, koga karakteriše heterogena distribucija različitih funkcionalnih tipova endokrinih ćelija. U novijoj literaturi (Le-Tissier i sar., 2012) kod ovakve organizacije ističe se prisustvo morfološke povezanosti kortikotropnih i somatotropnih ćelija, tireotropnih i somatotropnih ćelija kao i laktotropnih i gonadotropnih ćelija. Ova percepcija adenohipofize, u vidu dezorganizovanog ćelijskog mozaika ukazuje da bi endokrine ćelije istog funkcionalnog tipa mogle oslobađati hormone u krvotok bez neke izrazite potrebe za međusobnom koordinacijom. Može se zaključiti da endokrine ćelije, u vidu sekundarnog oscilatora, izvršavaju „naredbe“ prispele preko hipofiznog portalnog krvotoka iz hipotalamusa (Fauquier i sar., 2002). Navedeni autori ističu da je verovatnoća da su endokrine ćelije adenohipofize razbacane bez nekog pravila unutar nje mala, što dodatno potvrđuje robustnost (sinteza i sekrecija hormona u slučaju težih poremećaja) i modularnost (održavanje normalne produkcije hormona u promenljivim fiziološkim uslovima) njene funkcije. To sve može ukazati na međusobnu povezanost homotipskih endokrinih ćelija, čak i prostorno udaljenih, kao i njihovu koordinaciju pomoću parakrinih faktora ili prenošenjem signala „gap” spojeva (Mollard i sar., 2012). Strukturalno, adenohipofiza bi se mogla prikazati

kao trodimenzionalni lavirint unutar koga vezivno tkivo, imune ćelije i fenestrirani kapilari grade „zidove” koridora koji ispunjavaju parenhimske ćelije (Fauquier i sar., 2002).

Funkcionalne mreže homotipskih endokrinih ćelija adenohipofize do sada, kod čoveka, nisu u potpunosti proučene za razliku od životinja. Do danas je ustanovljena povezanost kod četiri od pet funkcionalnih tipova endokrinih ćelija. Tako somatotropne ćelije formiraju klastere u lateralnim delovima prednjeg režnja, naročito razvijenih u periodu posle puberteta kod muškaraca. Klasteri iste ili suprotne strane prednjeg režnja povezani su ćelijskim gredicama sastavljenih iz jednog reda ćelija istog funkcionalnog tipa. Ćelije koje stvaraju propiomelanokortin, polipeptid koji će se kasnije pretvoriti u ACTH, javljaju se tokom razvoja najpre u obliku klastera u lateralnim delovima adenohipofize. Kortikotropne ćelije koje na tankim presecima izgledaju potpuno razdvojene poseduju tanke nastavke, citoneme, preko kojih se ostvaruje međusobna veza kao i veza sa krvnim sudovima. Melanotropne ćelije zauzimaju središnji deo prednjeg režnja, između infundibuluma i pituitarne pukotine. Gonadotropne kao i somatotropne ćelije se javljaju na ventralnoj strani prednjeg režnja i tokom razvoja prate kortikotropne ćelije sa kojima se i strukturalno povezuju. Laktotropne ćelije kao i somatotropne dominantno su prisutne u lateralnim delovima prednjeg režnja gde u adenohipofizi mladih osoba formiraju „saćaste” strukture, uočljivije kod žena u toku perioda laktacije (Le-Tisser i sar., 2012; Mollard i sar., 2012).

1.3.7. Hipotalamo - adenohipofizna osovina

Sekretorna aktivnost ćelija adenohipofize, kao što je napred pomenuto, nalazi se pod kontrolom rilizng hormona hipotalamusa, a izuzetak su mamotropne ćelije čija se sekretorna aktivnost nalazi pod inhibitornom kontrolom dopamina. Kontrolu sekrecije somatotropnih ćelija i njihovog produkta hormona rasta, vrše kako rilizing tako i inhibitorni (somatostatin) hormoni hipotalamusa (Young i sar., 2007). Kako navode (Yeung i sar., 2006) naizmenična sekrecija trofičkih hormona nalazi se pod kontrolom sinhronizovanog sekretornog obrasca hipotalamusnih hormona.

Hipotalamo-adenohipofizna osovina reguliše sintezu i sekreciju trofičnih hormona određenih ćelijskih tipova integracijom centralnih i perifernih signala. Pored hipotalamusnih hormona koji do adenohipofize stižu hipofizno-portalnim krvotokom, adenohipofizna sekretorna aktivnost može biti promenjena nivoima samih hormona koji su izlučeni, zatim cirka-dijalnim ritmom i na kraju mehanizmom negativne povratne sprege. Hipotalamusni rilizing

hormoni deluju na odgovarajući tip endokrinih ćelija vezujući se za receptore vezane za G - protein u njihovoj ćelijskoj membrani. To dovodi do pojačane transkripcije gena odgovornih za sintezu hormona i stabilizacije molekula RNK koji pritom nastaju. Hormoni vezivanjem za membranske receptore ciljnih adenohipofiznih endokrinih ćelija ubrzavaju sekreciju trofičnih hormona i aktivacijom adenil ciklaze (ciklični AMP) protein kinazu. Vezivanje hipotalamusnog rilizing hormona za specifični receptor aktivira AMP-protein kinazu, rezultira porastom nivoa kalcijuma u pituitarnim ćelijama prodorom ekstracelularnog Ca preko membranskih kalcijumovih kanala. Povišenje intracelularnog kalcijuma je neophodni preduslov za egzocitozu trofičnih adenohipofiznih hormona. Sekrecija hormona kao što su GH, ACTH, TSH i prolaktina vrši se pomoću AMP-protein kinaze, dok se pomoću fosfolipaze - protein kinaze vrši sekrecija gonadotropina i TSH (Yeung i sar., 2006). Hipotalamusni inhibitorni hormoni, somatostatin i dopamin deluju delimično inhibicijom aktivnosti adenil ciklaze, delimično preko mehanizma kojima snižavaju nivo intracelularnog kalcijuma.

Kao veza funkcije neuro i endokrinog sistema, odnosno hipotalamusa i hipofize izdvajaju se osovine kojima se ta funkcija odvija. Hipotalamo-pituitarna (hipofizarna)-gonadalna osovina (HPG) koja uključuje HPT (testosteron) kod muškog pola i HPLH i HPFSH kod ženskog pola, reguliše sekreciju polnih hormona (Veldhuis i sar., 2009). Druga osovina je hipotalamo-pituitarna-adrenalna (HPA) koja reguliše rad i sekreciju nadbubrežne žlezde (De Kloet i sar., 1998; Vedder, 2007). Kao treća osovina može se navesti hipotalamo-somatotropna (HSO) ili GH-osovina, veza hipotalamusa sa hipofizom i njenim somatotrofnim ćelijama koje luče hormon rasta, na njih utiče GH-rilizing hormon hipotalamusa (GHRH).

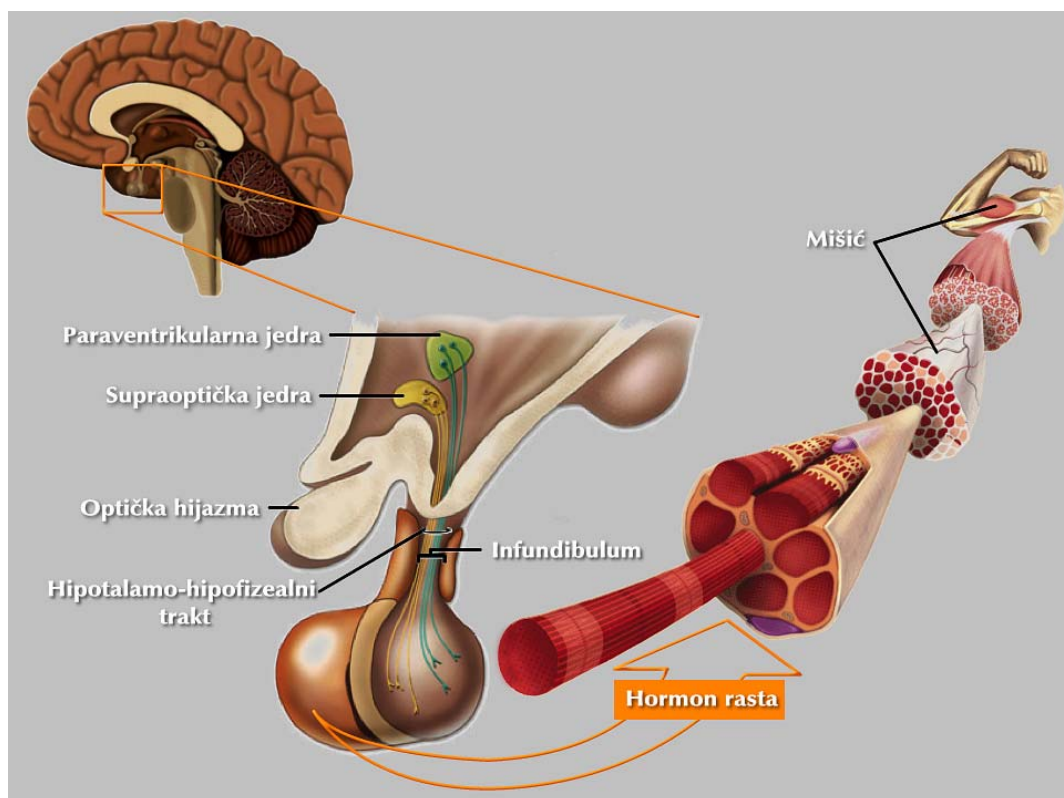
1.3.8. Hipotalamo - somatotropna osovina i starenje

Smatra se na osnovu dosadašnjih istraživanja da se sa starenjem smanjuje sekrecija hormona rasta (GH). Studije sa 24 - časovnim uzrokovanjem pokazale su smanjenje spontane sekrecije hormona rasta za 60% kod muškaraca starih od 40. do 65. godina u poređenju sa mlađom populacijom, što se može svrstati u raspon klasično GH-deficijentnih pacijenata. Većina dejstava GH posredovana je GH-zavisnim faktorom rasta, faktor rasta I sličan insulinu (IGF-I). Nivoi IGF-I se, takođe, progresivno smanjuju sa starenjem, na taj način da su srednje, serumske koncentracije IGF-I kod osoba u sedmoj deceniji života približno upola manje od koncentracije kod osoba u trećoj deceniji života. IGF-I odgovor na egzogenu GH

terapiju očuvan je sa starenjem što ukazuje na to da se, u stvari, radi o poremećenoj hipotalamo-somatotropnoj osovini (Chu i sar., 2001).

Analiza profila pulseva endogenog GH ukazuje na pogoršanje funkcije hipotalamo-somatotropne osovine sa starenjem. Neki istraživači su utvrdili da su smanjeni i amplituda i trajanje GH pulsa, ali ne i učestalost pulsa, dok su drugi utvrdili značajno smanjenje učestalosti pulsa i endogenog poluživota, ali ne i drugih parametara. Da li je primarni poremećaj u hipotalamusu ili somatotropima ne može se dati definitivan odgovor. Delimično, protivurečni podaci mogu biti rezultat razlika u osetljivosti testova, što za posledicu ima nemogućnost da se detektuju pulsevi niske amplitude kod starih. Mnoge studije pokazuju smanjen odgovor hipofize na rilizing hotmon rasta (GHRH) da maksimalno luči GH, što govori u prilog hipofiznoj patogenezi GH deficita kod starih. Međutim, pokazano je da hronični tretman sa GHRH vraća spontanu sekreciju GH i IGF-I na nivoe koje srećemo kod mladih. Uz to, kod starijih osoba, somatotropni odgovor na GHRH potpuno se vraća na nivo kod mladih smanjenjem hipotalamičnog somatostatinskog tonusa sa argininom.

Ove studije pokazuju da tokom starenja hipotalamička patogeneza, karakterisana i porastom somatostatinskog tonusa i smanjenjem GHRH stimulusa, leži u osnovi opadanja GH. Podaci, takođe, pokazuju da je GH rezerva u hipofizi očuvana sa starenjem. Uloga još neotkrivenog faktora sekrecije GH tokom starenja nije u potpunosti definisana. Ipak, ako su njegove uloge kao funkcionalnog somatostatinskog antagonista i potencijatora dejstva GHRH tačne, smanjenje ovog endogenog liganda može biti deo patologije starenja hipotalamo-somatotropne osovine.



Slika 2. Hipotalamo-somatotropna osovina.

Paralelno sa smanjenjem GH sa starenjem, dolazi do gubitka mišićne mase i snage koji dovodi do muskuloskeletnog opadanja funkcije i slabosti u podmaklim godinama života. Receptori GH su prisutni na mišićnom tkivu, a GH ima važan anabolički efekat na mišiće. Zbog toga, restauracija GH na nivoe koje srećemo kod mladih odraslih osoba može imati efekat na snagu i funkciju kod starih (Lissett i Shalet, 2000).

1.3.9. Anatomske karakteristike neurohipofize

Neurohipofiza ili zadnji režanj hipofize (*neurohypophysiss. lobus poterior*) je zadnji, znatno manji, deo hipofize na koji otpada jedna petina žlezde. Ona se direktno nastavlja na hipotalamus i za razliku od adenohipofize nije sastavljena od sekretornih ćelija. Svojom konkavnom, prednjom stranom obuhvata zadnju, konveksnu površinu prednjeg režnja hipofize tj. adenohipofize. Po svojoj strukturi ovaj deo hipofize ne predstavlja pravu endokrinu žlezdu već ventralni izvat centralnog nervnog sistema (Mills, 2007).

Hipotalamo-neurohipofizni trakt, koji povezuje neurohipofizu sa jedrima hipotalamusa, sastoji se od gusto pakovanih nemijelinizovanih aksona čiji broj iznosi oko 100.000. Potiču iz supraoptičkog paraventrikularnog jedra hipotalamusa gde su smeštena tela speci-

jalizovanih multipolarnih neurona (neurosekretornih ćelija). Trakt prolazi kroz eminenciju medijanu i infundibularnu peteljku i završava u *pars posterior* gde se oslobađaju hormoni (neurosekret). Sekretorne granule u kojima se nalaze hormoni oksitocin (izaziva kontrakciju materice u trudnoći) i vazopresin ili antidiuretici hormon (smanjuje količinu izlučene mokraće - diurezu, jer na nivou bubrežnih tubula pospešuje resorpciju natrijuma) akumuliraju se u aksonskim terminalima u vidu loptastih proširnja koja se nazivaju Heringova tela, koja se na optičkom mikroskopu prikazuju kao okrugla, bazofilna telašca (Lačković i sar., 2012).

Glavni strukturni elementi neurohipofize su pituiciti specijalizovane glia ćelije koje su međusobno povezane i nervni završeci hipotalamo-neurohipofiznog trakta, a krvni sudovi izgrađuju razgranatu kapilarnu mrežu. Neurona u njoj nema (Pavlović i sar., 2004; Mills, 2007; Anđelković, 2009). Pituiciti su najbrojnije ćelije neurohipofize i morfološki predstavljaju uni i bipolarne ćelije, sa čije spoljašnje površine polaze jedan ili dva duga nastavka koja se pružaju do vezivnog tkiva i krvnih sudova. Mills (2007) smatra da njihova fiziološka uloga nije u potpunosti objašnjena. Aksoni neurona čija se tela nalaze u supraoptičkom i paraventricularnom jedru predstavljaju, u najvećoj meri, amijelinska nervna vlakna neurohipofize, koja su povezana sa pituicitima. Prisutna su dva tipa neurosekretornih aksona: tip A, brojniji i sadrži sekretorne granule promera 100-300 nm i tip B sa sitnijim sekretornim granulama promera 50-100 nm. (Mills, 2007; Young i sar., 2007; Eroschenko, 2008).

Kako je već navedeno aferentna vlakna u neurohipofizu dolaze preko hipotalamo-hipofiznog puta (*tractus hypothalamohypophysialis*), koji sadrži vlakna iz supraoptičkog (*fibrae supraopticohypophysiales*) i paraventricularnog jedra hipotalamusa (*fibrae paraventriculohypophysiales*). Duž ovih vlakana se transportuju oksitocin i vazopresin (antidiuretski hormon, ADH) hormoni koje proizvode pomenuta jedra hipotalamusa, a koji se putem guste kapilarne mreže iz neurohipofize odašilju u sistemska cirkulaciju.

1.3.10. Vaskularizacija i inervacija hipofize

Hipofizu vaskularizuju gornja hipofizarna arterija (*a. hypophysialis superior*) i donja hipofizarna arterija (*a. hypophysialis inferior*), grane unutrašnje karotidne arterije (*a. carotis interna*). Gornje hipofizarne arterije ishranjuju eminenciju medijanu i gornji deo infundibuluma. Donje hipofizarne arterije se anastomoziraju u nivou središnje linije i formiraju središnji krug oko infundibuluma. Od tog kruga se izdvajaju grančice koje ulaze u neurohipofizu

i grade njenu kapilarnu mrežu. Kapilarna mreža eminencije medijane se drenira pomoću dugih portalnih sudova koji silaze prema adenohipofizi. Iz kapilarne mreže donjeg dela infundibuluma izdvajaju se kratki portalni sudovi, koji, takođe, silaze prema adenohipofizi. Oba tipa portalnih sudova se otvaraju u vaskularne sinusoidne koji se nalaze između sekretornih gredica adenohipofize. Portalni sistem adenohipofize donosi hormone i rilizing faktore, nastale u neuronima hipotalamusa, kojima hipotalamus kontroliše sekretornu aktivnost adenohipofize. Hipotalamusni neurosekretorni hormoni deponuju se u eminenciji medijani, prelaze u primarni kapilarni splet i odlaze u portalne vene hipofize, koje prolaze kroz infundibulum i spajaju se sa sekundarnim kapilarnim spletom u prednjem režnju. Neurosekretorni hormoni stimulišu ili inhibišu parenhimne ćelije i na taj način portalni sistem hipofize predstavlja vaskularni dovodni sistem koji učestvuje u hormonskoj regulaciji distalnog dela od strane hipotalamusa (Alves i sar., 2002; Perez-Castro i sar., 2012). Aksoni neurona koji potiču iz različitih delova hipotalamusa završavaju se u blizini kapilarnih spletova, a njihovi završeci se razlikuju od drugih aksona u organizmu po tome što umesto da dovode signal do druge ćelije, oni luče oslobađajuće ili inhibirajuće hormone direktno u primarnu kapilarnu mrežu. Ove hormone preuzima portalni sistem hipofize i prenosi ih do sekundarne kapilarne mreže distalnog dela gde regulišu lučenje adenohipofize. Može se reći da adenohipofizu krvlju pretežno snabdevaju vene, a neurohipofizu uglavnom arterije (Mills, 2007; Eroschenko, 2008; Standring, 2008; Anđelković, 2009).

U inervaciji adenohipofize učestvuju postganglijska vlakna autonomnog nervnog sistema sa vazomotornom funkcijom. Nervna vlakna koja stižu do infundibuluma i neurohipofize potiču iz hipotalamičnih jedara (Ross i sar., 2003).

1.4. STARENJE I TEORIJE STARENJA

Brojne teorije starijeg datuma o starenju: teorija o kolagenu (Carpenter, 1968), teorija unakrsnog imuniteta (Bjorksten, 1968), teorija genetskih mutacija (Goldstein, 1971) kao i novijeg datuma: evolucione teorije (Weinert i Timiras, 2003) molekularne teorije (Gorbunova i sar., 2007), celularne teorije (Campisi, 2003), sistemske teorije (Franceschi i sar., 2000) kao i mnoge druge, ukazuju na to da se radi o nedovoljno definisanom i do danas jos nedovoljno, naučno objašnjenom procesu.

Svi organski sistemi podležu uzrastnom razvoju, starenju u najširem smislu, koji počinje od samog začetka individualnog života. Mogu se uočiti dve bitno različite faze sta-

renja. U prvoj, organizam raste, napreduje kvalitativno i kvantitativno, većina vitalnih funkcija se pojačava. Posle perioda maksimalne vitalnosti, nastupa druga faza, u kojoj organizam kvalitativno i kvantitativno nazaduje, propada (Korenchevsky, 1961; Balistreri i sar., 2009). U prvoj fazi starenje je evolutivni a u drugoj involutivni proces. Veoma je teško odrediti granicu između ovih dveju faza.

Ekperimenti radioaktivnim izotopima pokazuju da aktivna protoplazmatska masa kod muškaraca počinje da se smanjuje već od dvadesete godine, a kod žena i ranije. Može se reći da kod čoveka starenje u užem smislu, započinje s prestankom rasta. Izrazita involucija počinje kasnije, ali postoji velika razlika između somatske i psihičke staračke regresije; većina organa i somatskih funkcija počinje da slabi oko 45. godine života.

Starenje je progredijentno i ireverzibilno menjanje struktura i funkcija živog organizma, koji posle određenog vremena dovodi do ograničavanja adaptacionih mogućnosti organizma. Ono stvara preduslove za razvoj patoloških stanja, tkz. bolesti starenja, koje dovode do skraćivanja života i većeg rizika smrti (Seeman i Robbins, 1994; Weinert i Timiras, 2003). Adaptaciono regulacioni mehanizmi usmereni na održavanje i produženje života mogu se odrediti kao proces vitaukt-a (viva - život, auct - produžiti).

Faktori koji uslovljavaju proces vitaukt-a mogu se svrstati u dve grupe.

Prva grupa obuhvata genotipske faktore (mitotski potencijal ćelije, regulatorna kontrola nad unutrašnjom sredinom organizma, sistem reparacije DNK i drugi) koji određuju sposobnost za život organizma (Goldstein, 1971). Sve ove genotipske promene integrisane u jedinstven proces, dovode do visokog stepena preživljavanja organizma, njegovu dugovremenu adaptaciju i značajan proizvodak života.

Drugu grupu čine fenotipske promene koje nastaju postepeno, kao odgovor na mnoge pojave starenja i imaju adaptivan karakter. One podrazumevaju povećanu glikolizu, oksidaciju i fosforilaciju miokarda, porast fosforilacije u ćelijama, ubranu biosintezu belančavina, pad aktivnosti fermenata nekih medijatora i hormona u uslovima njihove smanjene sinteze (Carlson i Riley, 1998).

Imajući u vidu značaj adaptacije za ostvarivanje jednog biološkog procesa, adaptivne promene koje nastaju u toku starenja mogu narušavati druge biološke procese. One pozitivno deluju u jednoj etapi starenja, negativno u drugoj i dovode do ubranog stvaranja uslova za nastanak tkz. bolesti starenja. Narušavanje morfološkog integriteta i funkcionalnog kapaciteta endokrinog, nervnog i imunog sistema, kao i njihova smanjena sposobnost da održi

homeostazu u organizmu predstavlja glavnu karakteristiku ovog procesa (Console i sar., 2000).

Biološki, proces starenja odvija se u svim sistemima živih bića i ne postoji jedna jedinstvena teorija koja bi mogla da objasni proces starenja. U literaturi su prisutni pokušaji kojima se žele objediniti i obrazložiti empirijski nalazi dobijeni kao rezultat istraživanja pojedinih naučnih disciplina čiji je predmet proučavanja starenje. Tako se srećemo sa biološkim, socijalnim i psihološkim teorijama starenja, koje nastoje da objasne faktore koji dovode do starenja.

Biološke teorije starenja pokušavaju da objasne uzroke i mehanizme starenja na nivou ćelija, organa i organizma kao celine. Ipak, ni jedna od mnogobrojnih bioloških teorija nije dala zadovoljavajući odgovor na pitanje zašto i kako ljudski organizam stari i umire. Permutter i Hall (1992) pod biološkim teorijama smatraju genetske i stohastičke teorije. Genetske teorije objašnjavaju proces starenja kao genetski programiran proces koji počinje odmah nakon dostizanja reproduktivne zrelosti jedinke a stohastičke kao rezultat akumulacije oštećenja koja nastaju slučajno tokom života i mogu ih izazvati kako unutrašnji tako i spoljašni faktori koji u ćelijama organizma mogu dovesti do direktnog oštećenja molekularnih proteina, odnosno DNK posredno formiranjem slobodnih radikala. U biološke teorije starenja mogu se svrstati evolucione, sistemske i ćelijske teorije.

1.4.1. Evolucione teorije

Evolucione teorije dužinu života različitih bioloških vrsta pokušavaju da objasne kao posledicu procesa mutacije i selekcije gena. Ovde spadaju:

Teorija akumulacije mutacija (Weinert i Timiras, 2003) - objašnjava proces starenja kao posledicu akumulacije grešaka u DNK molekulu somatskih ćelija, što je posledica oštećenja mehanizma za popravku DNK molekula.

Teorija antagonističke plejotropije (Gavrilov i Gavrilova, 2001) - objašnjava starenje kao dejstvo određenog gena na veći broj svojstava organizma (plejotropija) i da ovi plejotropni efekti mogu dovesti do različitog stepena prilagođenosti jedinke u različitim periodima njenog života.

Teorija smanjene regulacije somatskih ćelija (Kirkwood, 2005) - smatra da proces starenja nastaje zbog stalnog trošenja i smanjene regeneracije somatskih ćelija tokom života jedinke.

1.4.2. Sistemske teorije

Sistemske teorije, starenje objašnjavaju uzrocima koji se nalaze van ćelije. U ovu grupu teorija spadaju:

Imunološke teorije (McDade, 2003) - smatraju da se u osnovi procesa starenja nalaze smanjene sposobnosti imunog sistema da razlikuje sopstvene od stranih antigena što dovodi do pojave autoimunih bolesti kod starijih osoba.

Neuroendokrine teorije (Rubin i Faber, 1998; Lamberts i sar., 1997; Straub i sar., 2001) - tumače starenje kao rezultat promena, pre svega, na nivou ćelijskih sistema koji imaju regulatornu i kontrolnu ulogu u organizmu, kao što su ćelije nervnog, endokrinog i imunog sistema. Smatra se, prema ovim autorima, da je starenje posledica aktivnosti genetskog programa koji je zapisan u ćelijama CNS-a, koje kontrolišu funkcije ćelija perifernih tkiva preko signala koji se prenose nervnim impulsima i hormonima. Zna se da tokom starenja nastupa pad neuroendokrine funkcije hipotalamusa, a takođe, i hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine što se smatra najodgovornijim procesom koji dovodi promena u toku starenja.

Teorije stresa (Weinert i Timiras, 2003) - objašnjavaju da se sa starenjem smanjuje nivo antioksidativne zaštite, raste koncentracija slobodnih radikala u organizmu jedinke, što potencira oksidativni stres, oštećenja DNK i na kraju inicira proces mutageneze, karcinogeneze, starenje i na kraju smrt ćelije.

1.4.3. Ćelijske teorije

Ćelijske teorije objašnjavaju starenje tako što se smatra da se tokom života u ćelijama nakupljaju produkti oštećenja ćelija koji dovode do postepenog pada njihovog rasta i gubitka funkcije. Ova grupa teorija obuhvata sledeće teorije:

Membranske teorije (Kowald, 2001) u osnovi starenja vide poremećaj odnosa zasićenih i nezasićenih masnih kiselina, peroksidacije lipida i veće rigidnosti ćelijske membrane što dovodi do poremećene propustljivosti kako plazma membrane tako i subcelularnih struktura.

Mitohondrijske teorije starenja (Kowald, 2001) zasnivaju se na pretpostavci dugogodišnjeg taloženja mutacija mitohondrijske DNK, narušava integritet i funkciju ćelija, koje dovode do apoptoze i starenja organizma.

Teorije replikativne starosti (Leslie, 2001; Campisi, 2003) ističu da replikativnu starost određuje popuštanje molekularnog sata koji održava tok ćelijskih deobi.

Teorije telomera (Blackburn, 2000) smatraju da ćelije koje su prestale ili se sporije dele dominiraju u starijem organizmu. Starenjem se smanjuje aktivnost enzima telomeraze i skraćivanja terminalnih delova hromozoma. Posle određenog broja deobe telomere nestaju, takve ćelije se više ne dele što dovodi do njihovog propadanja i starenja organizma uopšte.

Može se reći da postojanje mnogobrojnih teorija o starenju govori da se radi o veoma složenom i do sada potpuno ne objašnjenom procesu. Sve ove teorije se međusobno ne isključuju, već dopunjuju jedna drugu i zajedno daju potpuniju sliku o procesu starenja živih bića. Sam proces starenja je veoma složen i najverovatnije predstavlja, kao što je već pomenuto, posledicu aktivnosti većeg broja procesa, i to kako naslednih i stečenih, tako i genetski programiranih i slučajnih i na kraju njihovih međusobnih interakcija u toku života.

2. PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA

Na osnovu napred navedenih podataka može se pretpostaviti da postoji uzajamna veza između starosnih promena somatotropnih ćelija adenohipofize i sarkopenije kod zdravih starih individua oba pola. Ipak, pokušaji njenog lečenja supsticionom terapijom hormonom rasta dali su kontraverzne rezultate. Naime, primena preparata hormona rasta kod zdravih starih individua je tokom određenih studija veoma brzo dovela do restauracije nivoa IGF-1 u perifernim tkivima, što je bilo praćeno povećanjem mišićne mase bez nagomilavanja masnog tkiva. Ipak, porast mišićne mase nije bio praćen adekvatnim porastom mišićne snage (Greenlund i Nair, 2003). S obzirom na epidemiološke podatke koji ukazuju na sve veći udeo starih u ljudskoj populaciji, zatim sve češće prisustvo sarkopenije sa njenim medicinskim, socijalnim i ekonomskim posledicama i, na kraju, kontradiktorni efekti supsticione terapije hormonom rasta navele su nas na pretpostavku da bi morfometrijska i nakon toga adekvatna statistička analiza starosnih promena somatotropnih ćelija adenohipofize i mišićnih vlakana tip I i tip II humanog sarkopenog mišića, omogućila bolje dinamičko sagledavanje ova dva procesa u toku starenja kod čoveka i njihovu eventualnu povezanost.

Naučna hipoteza

Na osnovu napred iznetih činjenica formulisali smo naučnu hipotezu: "Broj i veličina somatotropnih ćelija adenohipofize čoveka opada sa starenjem što je praćeno opadanjem broja i veličine naročito mišićnih vlakana tip II".

Ciljevi istraživanja

S obzirom na moguću povezanost smanjenog lučenja hormona rasta sa smanjenjem mišićne mase tokom procesa starenja čoveka, cilj našeg istraživanja bio je:

- Da se detektuje prisustvo i distribucija acidofilnih ćelija adenohipofize primenom hematoksilin - eozin metode kod slučajeva različite starosti i pola;

- Da se imunohistohemijskom analizom i primenom monoklalnog antitela za somatotropne ćelije detektuje prisustvo, morfološke karakteristike i distribucija somatotropnih ćelija adenohipofize tokom procesa starenja;
- Da se primenom stereološkog metoda, na presecima bojenim imunohistohemijskom metodom i monoklalnim antitelom, merenjem zapreminske gustine somatotropnih ćelija kvantifikuje dinamika njihovog prisustva u adenohipofizi tokom procesa starenja, kod osoba oba pola;
- Da se astereološkim metodom, merenjem aree, perimatra, Feret-ovog dijametra i nukleo-citoplazmatskog odnosa, kvantifikuju promene veličine i oblika somatotropnih ćelija adenohipofize kod slučajeva različite starosti i pola tokom starenja;
- Da se detektuje prisustvo i distribucija mišićnih vlakana tip I i tip II humanog psoasnog mišića primenom hematoksilin-eozin metode kod slučajeva različite starosti i pola;
- Da se imunohistohemijskom analizom i primenom monoklalnog antitela na miozin, detektuje prisustvo, morfološke karakteristike i distribucija mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića tokom procesa starenja;
- Da se primenom stereološkog metoda, na presecima bojenim imunohistohemijskim metodom i monoklalnim antitelom na miozin, merenjem zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića kvantifikuje dinamika njihovog prisustva tokom starenja;
- Da se astereološkim metodom, merenjem aree, perimetra i Feret-ovog dijametra kvantifikuju promene veličine i oblika mišićnih vlakana velikog bedrenog mišića tokom starenja kod osoba oba pola;
- Da se ispita moguća povezanost promena na somatotropnim ćelijama adenohipofize i psoasnog mišića tokom starenja čoveka primenom univarijantnih i multivarijantnih metoda statističke analize.

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno na Institutu za anatomiju, Institutu za histologiju i embriologiju, Institutu za patološku anatomiju i Institutu za sudsku medicinu, koji predstavljaju nastavne i naučne baze Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu. Imunohistohemijska obrada histoloških preseka adenohipofize i humanog bedreno-slabinskog tj. psoasnog mišića obavljena je na Institutu za biološka istraživanja "Siniša Stanković" u Beogradu.

3.1. MATERIJAL

Materijal su predstavljali tkivni uzorci hipofize i desnog bedreno-slabinskog mišića 30 odraslih kadavera (18 muškog i 12 ženskog pola), starosti od 30 do 90 godina, obdukovanih na Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Nišu, tokom perioda od januara do aprila 2013. godine. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa etičkim normama propisanih za upotrebu kadaveričnog materijala u biomedicinskim istraživanjima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu (odluka br. 01-9337-18). Rezultati obdukcija su potvrdili da uzrok smrti kadavera nisu bila oboljenja ili povrede mozga. Autopsijski nalazi nisu ukazali ni na prisustvo eventualnih patoloških promena, kao ni traumatskih oštećenja desnog bedreno-slabinskog mišića. Takođe, u pratećoj medicinskoj dokumentaciji nisu postojali podaci o prethodno dijagnostikovanim sistemskim poremećajima ili oboljenjima nervnog, endokrinog ili mišićnog sistema. Vremenski period od trenutka smrti do uzimanja uzoraka nije bio duži od 24 sata. Kadaveri su klasifikovani u tri starosne grupe: prva (I) koja je uključivala slučajeve od 30 do 49 godina (n=10), druga (II) sa slučajevima starim od 50 do 69 godina (n=10) i, treća u koju su svrstavani slučajevi starosti 70 godina i stariji (n=10).

3.2. METODE

Metodom disekcije izvršeno je najpre uklanjanje prečage turskog sedla (*diaphragma sellae*). Nakon toga je presecana drška (*infundibulum*) hipofize, koja je zatim pažljivo

preparacijom odvajana od okolnih koštanih struktura turskog sedla i uzimana u celini. Uzorci desnog velikog bedrenog mišića veličine 5x5x5 mm uzimani su tako što je pravljen rez upravno na mišić u nivou sredine distance između gornje ivice 12. grudnog i donje ivice 5. slabinskog pršljena.

3.2.1. Histološka analiza

Histološka analiza, kao i utvrđivanje eventualnih promena strukture somatotropnih ćelija adenohipofize i mišićnih vlakana desnog bedreno-slabinskog mišića tokom starenja bazirana je na svetlosno mikroskopskoj proceni njihovih svojstava.

Tkivo hipofize i psoasnog mišića je fiksirano u 10% puferisanom formalinu tokom narednih 24h. Nakon izvršene fiksacije hipofiza je horizontalno presećana u nivou središnjeg dela, pri čemu je tokom dalje histološke obrade korišćena ventralna polovina žlezde. Modelirani tkivni uzorci pituitarne žlezde i bedreno-slabinskog mišića su dalje rutinski obrađivani do dobijanja parafinskih kalupa.

Dobijeni parafinski kalupi hipofize su zatim uz pomoću mikrotoma Leica 2235, a velikog bedrenog mišića uz pomoću Leica 2245 mikrotoma korišćeni za dobijanje tkivnih preseka debljine do 5 µm. Za identifikaciju osnovnih struktura hipofize i psoasnog mišića korišćene su klasične Hematoksilin-Eozin (H&E) i PAS metoda. Obojeni histološki preseći su zatim analizirani svetlosnim mikroskopom pod uvećanjima objektiva 4x, 10x i 40x. Digitalne slike analiziranih preseka su dobijane uz pomoću digitalne kamere rezolucije 1,3 megapiksela.

3.2.2. Imunohistohemijska analiza

Imunohistohemijskom analizom utvrđivano je prisustvo ćelija sa pozitivnom reakcijom na primenjene imunohistohemijske markere i to peroksidaza-antiperoksidaza (PAP) metodom za somatotropne ćelije uz primenu monoklonskog antitela za detekciju somatotropnih ćelija (anti-human-GH antitelo; DAKO A/S, Glostrup, Denmark; 1:100) i ultravizion LP-HRP polymer (Cat. No. TL-125HL) detekcionom tehnikom za mišićna vlakna tip II primenom monoklonskog antitela na miozin (anti-Myosin, Sceletal Muscle, Clone, MYSNO2, Ready to Use, Termo Scientific Lab Vision, Ca, 1:320).

3.2.2.1. Imunohistohemijska analiza somatotrofnih ćelija adenohipofize

Somatotropne (GH) ćelije adenohipofize bojene su peroksidaza-antiperoksidaza (PAP), metodom (Sternberg, 1970). Radi izbegavanja nespecifične reakcije, na deparafinisanim i rehidriranim presecima hipofiza aktivnost endogene peroksidaze je inhibirana inkubacijom u 0,3% rastvoru vodonik peroksida u metanolu. Nakon toga su preseci ispirani u PBS - u (pH 7,4) dva puta po 5 minuta. Zatim je sledila inkubacija u normalnom svinjskom serumu (DAKO A/S, Glostrup, Danska) 1 h na sobnoj temperaturi u koncentraciji 1:10 u PBS-u (pH 7,4) radi sprečavanja nespecifičnog bojenja. Somatotropne ćelije su zatim bojene dodavanjem rastvorenog u PBS-u primarnog anti-humanog anti-GH antitela (1:100 u PBS-u DAKO A/S, Glostrup). Vreme trajanja inkubacije je iznosilo 24h na sobnoj temperaturi (Milošević i sar., 2002). Nakon reakcije u rastvoru primarnog antitela, svi preseci su tretirani identičnom procedurom (biotinylated link, LSAB System-HRP, DAKO A/S, Glostrup, Danska), ispiranjem u PBS-u 10 minuta na sobnoj temperaturi, zatim inkubiranjem u sistemu za vizualizaciju (Streptavidin-HRP, LSAB System-HRP, DAKO A/S, Glostrup, Danska) 10 minuta na sobnoj temperaturi i, na kraju ispiranjem preseka dva puta po 5 minuta u PBS-u (pH 7,4). Vizuelizacija kompleksa antigen-antitelo obavljena je uz pomoć hromogenskog supstrata, 3,3 diaminobenzedin-tetrahlorida (DAB, DAKO A/S, Glostrup, Danska). Nakon procedure imunohistohemijskog bojenja, preseci su kontrastirani u Mayer-ovom hematoksilinu (Merck-Alkaloid, Alkaloid, Skoplje, BJRM) i dehidrirani u seriji rastvora etanola rastuće koncentracije. Montiranje je obavljeno DPX-om (Mountant for Histology, Sigma-Aldrich USA). Specifičnost antitela je potvrđena izostavljanjem primarnog antitela tokom imunohistohemijske procedure, što je rezultiralo izostankom imunoreakcije.

3.2.2.2. Imunohistohemijska analiza mišićnih vlakana

Tkivni preseci velikog bedrenog mišića debljine 3 µm montirani su na predmetna stakla i zatim sušeni u termostatu jedan sat na 60°C. Nakon toga vršena je njihova deparafinizacija provođenjem kroz rastvor ksilola (2x5 min), hidratacija u opadajućim koncentracijama etanola (100% - 2x2 min, 96% - 2 min i 70% - 2 min) do destilovane vode.

Demaskiranje antigena vršeno je inkubacijom u 0,01M citratnom puferu pH 6, u mikrotalasnoj pećnici 20 min na 780 W, nakon čega je vršeno hlađenje preseka tokom narednih 20 minuta u istom puferu (Karen i sar., 2002). Potom je vršeno ispiranje destilovanom vodom, a zatim inkubacija u 3% vodenom rastvoru H₂O₂ - 10 min na sobnoj temperaturi u cilju blokade endogene peroksidaze i zatim ponovo ispiranje u destilovanoj vodi 5 min, a

zatim u 0,1M PBS (phosphate buffer saline) pH 7,2. Inkubacija primarnim antitelom (anti-Myosin, Skeleton Muscle, Clone, MYSNO2, Thermo Scientifictm Lab Vision, Ca 1:320) vršena je tokom 30 min, na sobnoj temperaturi u vlažnoj komori nakon čega je vršeno ispiranje preseka u PBS-u 3x3 min. Posle ispiranja sledila je inkubacija preseka sa Primary Antibody Enhancer komponentom 10 min. na sobnoj temperaturi u vlažnoj komori. Nakon toga preseci su isprani u 0,1M PBS (phosphate buffer saline) pH 7,2 - 3x3 min. U sledećoj fazi preseci su inkubirani u HRP Polymer reagensu 15 min na sobnoj temperaturi u vlažnoj komori i nakon toga isprani u 0,1 PBS pH 7,2 - 3x3 min. Konačno, inkubacijom preseka u rastvoru hromogena (3,3 - diamino benzidin - DAB), 3-5 min na sobnoj temperaturi izvršena je vizualizacija reakcije antigen-primarno antitelo, da bi zatim preseci bili isprani tekućom vodom i kontrastirani *Mayer*-ovim hematoksilinom jedan minut a zatim dodatno isprani u tekućoj vodi. Nakon toga je vršena dehidracija tkivnih preseka u rastvorima etanola rastuće koncentracije (70%, 96% i 100%), potapanje u ksilol i pokrivanje odgovarajućom sintetskom smolom (dpx) i pokrovnim staklom. Prisustvo traženog antigena potvrđivalo je prisustvo braon obojenih precipitata hromogena za razliku od okolnog tkiva koje je plavo prebojeno (Shi i sar., 1999; Petrosyan i sar., 2002).

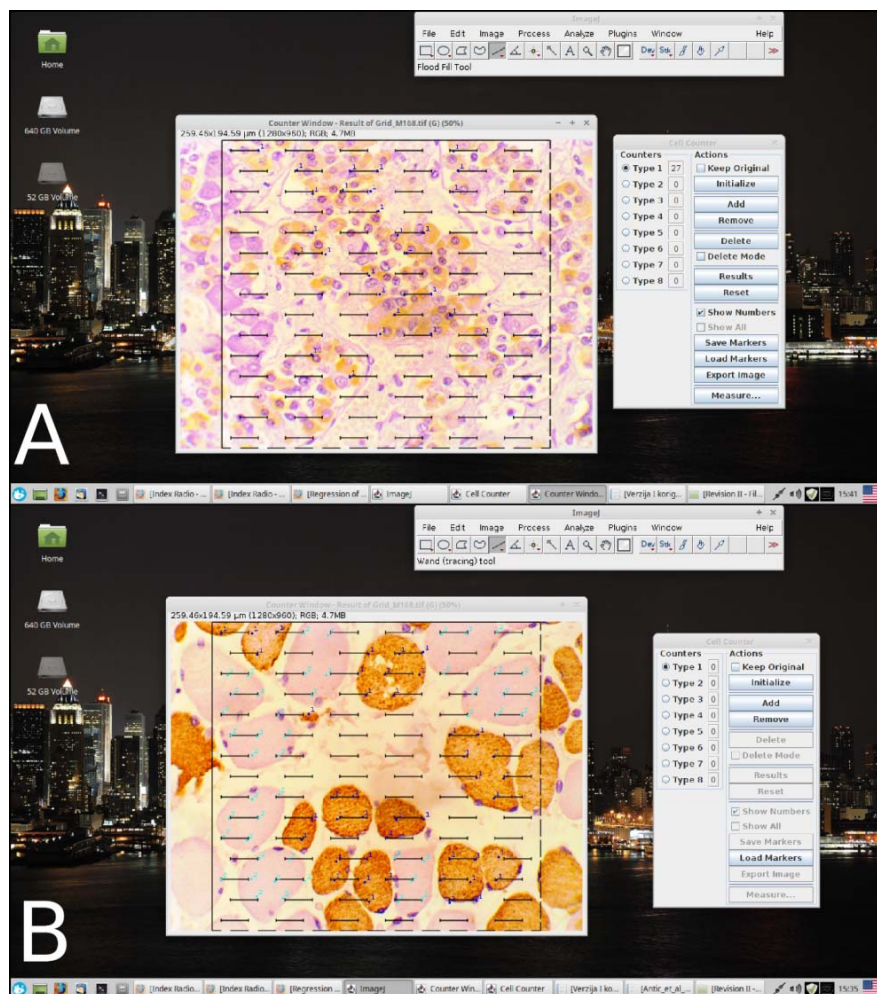
Negativnu kontrolu su i u ovom slučaju predstavljali preseci bojeni samo sekundarnim antitelom što je rezultiralo izostankom imunoreakcije.

3.3. MORFOMETRIJSKA ANALIZA

Morfometrijska analiza somatotropnih ćelija adenohipofize i mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića izvršena je uz pomoć sistema za analizu i procesiranje digitalne slike ImageJ (Abramoff, 2004).

Specijalna kalibracija sistema je vršena uz pomoću objektivnog mikrometra (1:100). Morfometrijska analiza se sastojala iz morfometrijske analize somatotropnih ćelija adenohipofize i morfometrijske analize mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića 27 od ukupno 30 ukupno analiziranih slučajeva. Najpre su načinjene digitalne fotografije imunohistohemijskim metodom obojenih preseka adenohipofize i velikog bedrenog mišića uz pomoću digitalne kamere rezolucije 1,3 megapiksela montirane na okular mikroskopa Olympus CHK2, pod povećanjem objektiva 40x. Stereološka analiza vršena je uz pomoću višenamenskog testnog sistema M168 koji je konstruisan uz pomoću Adobe Photoshop CS5 sistema. Superponiranje testnog sistema i digitalne slike analiziranog vidnog polja imunohistohemijski

obojenih preseka adenohipofize ili velikog bedrenog mišića vršeno je u ImageJ sistemu uz pomoću Process → Image Calculator → AND opcije. Karakteristike testnog sistema ($d=18,3 \mu\text{m}$, $L_t=1537,2 \mu\text{m}$, $A_t=48726,5 \mu\text{m}^2$) su izračunavane prema formulama Kališnika (1985). Broj tačaka koje su pogadale pozitivne strukture tokom stereološke analize histoloških preseka hipofize i, broj tačaka koje su pogadale pozitivna mišićna vlakna tip II i negativna tip I velikog bedrenog mišića je određivan uz pomoću Cell Counter - a ImageJ sistema (Slika 3 A i B).



Slika 3. A - Određivanje volumenske gustine somatotrofnih ćelija adenohipofize; B - Određivanje volumenske gustine mišićnih vlakana tip I i tip II *m. psoas major*-a.

Tačke testnog sistema koje su pogadale strukture od interesa koje su presecale isprekidane ivice testnog sistema nisu brojane. Astereološki parametri (area, perimetar i Feret-ov dijametar) somatotrofnih ćelija i njihovih jedara, kao i mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića određivana je u ImageJ sistemu. Naime, najpre su korišćenjem opcija Analize → Set

measurement opcije sistemu zadati parametri koji će biti mereni. Nakon toga korišćenjem poligonalne selekcije i opcija Analyze → Tools → ROI Manager → Measure vršeno je merenje selektovanih struktura. Stereološka analiza ispitivanih struktura obuhvatala je određivanje volumenske gustine (V_v) koja je izračunavana prema formuli Kališnika (1985) kao količnik broja tačaka koje su pogađale analizirane strukture i ukupnog broja tačaka testnog sistema. Izračunavana je vrednost volumenske gustine analiziranih struktura za svako vidno polje posebno, a zatim je iz dobijenih vrednosti volumenske gustine svih analiziranih vidnih polja izračunavana prosečna vrednost zapreminske gustine svakog slučaja posebno koja je izražavana u procentima.

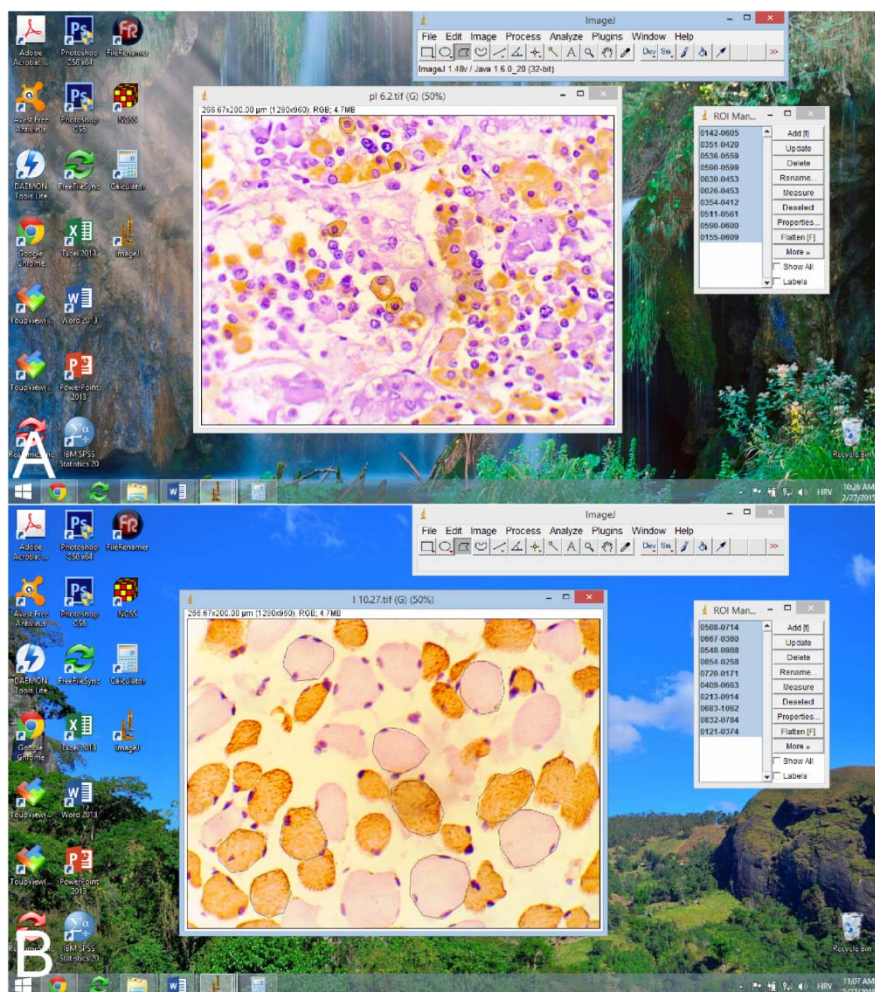
3.3.1. Morfometrijska analiza somatotropnih ćelija

Morfometrijska analiza somatotropnih ćelija izvedena je na 30 slučajno odabranih vidnih polja adenohipofize i to 10 slučajno odabranih vidnih polja iz središnjeg dela (*pars intermedia*) i po 10 slučajno odabranih vidnih polja iz oba „lateralna krila” žlezde (ukupno 810 vidnih polja kod svih 27 analiziranih slučajeva). Stereološka analiza je uključivala merenje zapreminske gustine somatotropnih ćelija selektovanih vidnih polja (V_{vGH}) uz pomoću višenamenskog testnog sistema M168 (slika 3A). Astereološka analiza je obuhvatala merenje aree (A_{GH}), perimetra (B_{GH}) i Feret-ovog dijametra (D_{FGH}) 5 slučajno odabranih somatotropnih ćelija svakog od 30 odabranih vidnih polja analiziranih slučajeva (ukupno 300 po jednom, odnosno 8100 somatotropnih ćelija kod svih 27 analiziranih slučajeva) (Slika 4A). Dodatno, svakoj od selektovanih ćelija merena je i area (A_{nGH}), perimetar (B_{nGH}) i Feret-ov dijametar (D_{FnGH}) jedra slika (4A). Nukleo-citoplazmatski odnos ($(N/C)_{GH}$), kao parametar metaboličke aktivnosti i funkcionalnog statusa somatotropnih ćelija izračunavan je kao količnik aree jedra i aree citoplazme, pri čemu je area citoplazme dobijana kao razlika aree somatotropnih ćelija i aree njihovog jedra (Čaruntu i sar., 2005).

3.3.2. Morfometrijska analiza mišićnih vlakana

Morfometrijska analiza mišićnih vlakana velikog bedrenog mišića vršena je na 10 slučajno odabranih vidnih polja svakog od analiziranih slučajeva (ukupno 270 vidnih polja kod svih 27 analiziranih slučajeva). Stereološka analiza mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih vidnih polja vršena je merenjem njihove zapreminske gustine uz pomoću višenamen-

skog testnog sistema M168 (slika 3B). Astereološka analiza mišićnih vlakana tip I i tip II vršena je merenjem aree (A_{MI} i A_{MII}), perimetra (B_{MI} i B_{MII}) i Feret-ovog dijametra (D_{FMI} i D_{FMI}) profila poprečno presečenih vlakana. Na svakom vidnom polju analizirano je po pet mišićnih vlakana tip I i pet mišićnih vlakana tip II velikog bedrenog mišića, tj. ukupno 50 mišićnih vlakana tip I i 50 mišićnih vlakana tip II kod svakog od analiziranih slučajeva (ukupno 1350 mišićnih vlakana tip I i 1350 mišićnih vlakana tip II kod svih 27 analiziranih slučajeva) (slika 4B).



Slika 4. A - Astereološka analiza somatotrofnih ćelija i njihovih jedara kod analiziranih slučajeva; B - Astereološka analiza mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.

3.4. STATISTIČKE METODE

Dobijene vrednosti morfometrijskih parametara su statistički analizirane uz pomoću statističkog paketa NCSS-PASS verzija 2007 (<http://wwwncss.com/>). Veza između dobijenih

vrednosti stereoloških i astereoloških parametara somatotrofnih ćelija i stereoloških i astereoloških parametara mišićnih vlakana tip I i tip II velikog bedrenog mišića, kao i povezanost napred navedenih stereoloških i astereoloških parametara i starosti analiziranih slučajeva je ispitivana izračunavanjem Pearson-ovog koeficijenta linearne korelacije i uz pomoću linearne regresione analize. Preciznija dinamika vrednosti stereoloških i astereoloških parametara sa starenjem je ispitivana upoređivanjem značajnosti razlika između analiziranih starosnih grupa uz pomoću One Way ANOVA testa. Homogenost varijansi analiziranih grupa je u okviru One Way ANOVA testa ispitivana Levene-ovim testom. Naknadne razlike stereoloških i astereoloških parametara analiziranih grupa međusobno su, na osnovu rezultata Levene-ovog testa, ispitivane odgovarajućim post hoc testovima. U slučaju statistički značajnog Levene-ovog testa korišćen je Games-Howell-ov, dok je u slučaju odsustva statistički značajnog Levene-ovog testa korišćen Tukey-Kramer post hoc test. Značajnost razlika stereoloških i astereoloških parametara između slučajeva suprotnog pola je ispitivana uz pomoć t-testa za nezavisne uzorke, dok su razlike stereoloških i astereoloških parametara između mišićnih vlakana tip I i tip II unutar analiziranih grupa ispitivana uz pomoću t-testa za više uzorka.

Veza između odgovarajućih stereoloških i astereoloških parametara somatotrofnih ćelija adenohipofize, stereoloških i astereoloških parametara mišićnih vlakana tip II i starosti ispitivanih slučajeva ispitana je metodom multiple regresione analize. Rezultati morfometrijske i statističke analize su prikazani tabelarno i grafički u programu MS Excel.

4. REZULTATI

U ovom poglavlju izloženi su rezultati našeg istraživanja do kojih smo došli tokom izvršene morfološke i morfometrijske analiza somatotropnih ćelija adenohipofize i mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića.

4.1. MORFOLOŠKA ANALIZA

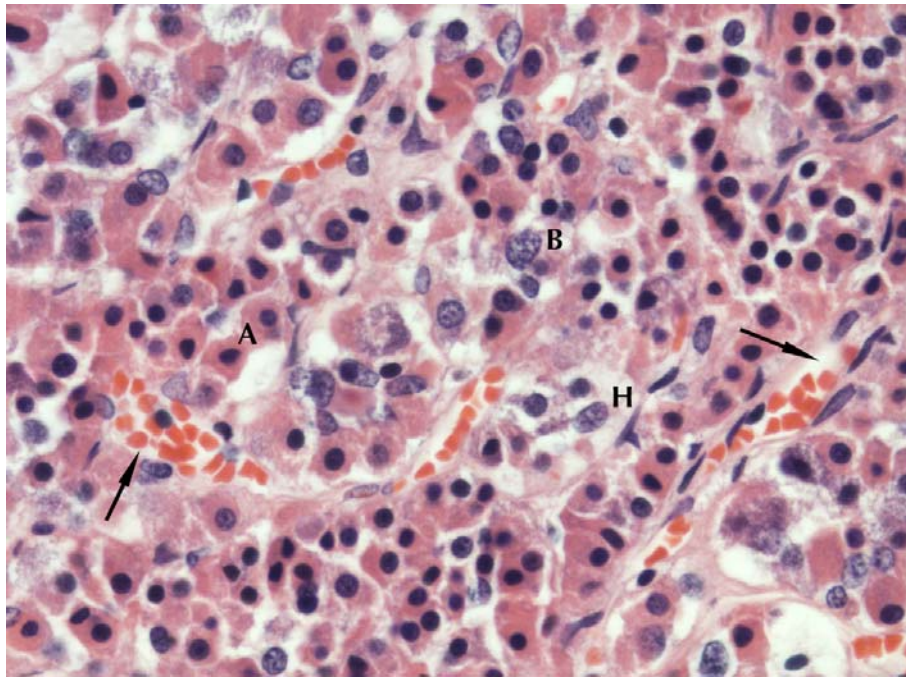
Morfološka analiza obuhvatala je histološku analizu preseka tkiva adenohipofize bojени H&E i PAS metodom, analizu preseka tkiva adenohipofize bojени imunohistohemijskom PAP metodom, kao i histološku analizu poprečnih preseka tkiva psoasnog mišića bojени H&E i PAS metodom i analizu poprečnih preseka tkiva psoasnog mišića bojени imunohistohemijskom ultravision LP-HRP polymer detekcionom tehnikom.

4.1.1. Morfološka analiza somatotropnih ćelija adenohipofize

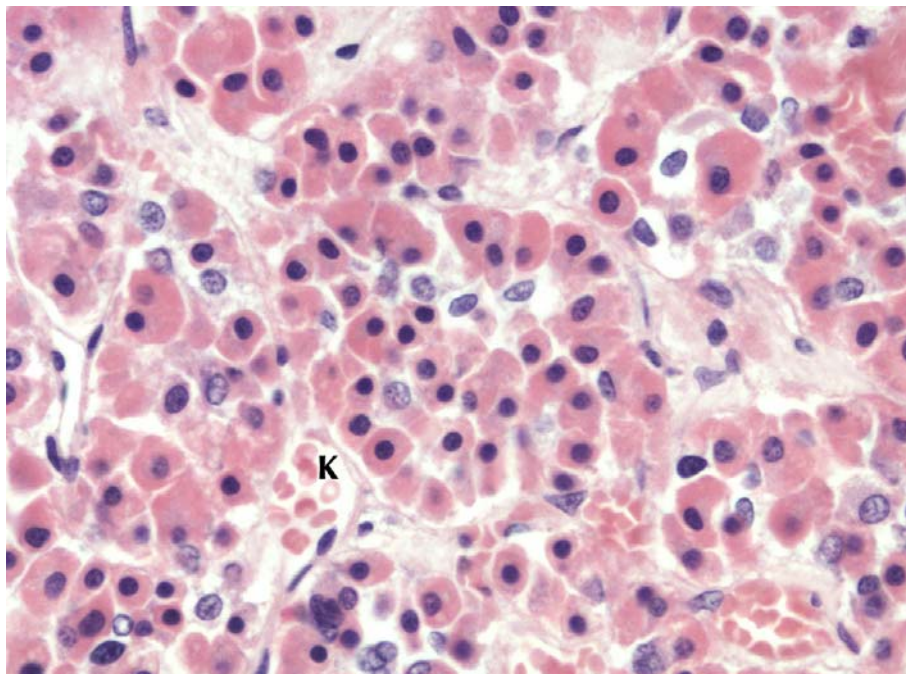
Morfološka analiza somatotropnih ćelija adenohipofize obuhvatala je histološku analizu preseka tkiva adenohipofize bojени H&E i PAS metodom kao i analizu preseka tkiva adenohipofize bojени imunohistohemijskom metodom.

4.1.1.1. *Histološka analiza*

Na presecima adenohipofize bojениm Hematoksilinom i Eozinom (H&E) uočavaju se tri tipa ćelija: acidofilne, bazofilne i hromofobne. Somatotropne ćelije pripadaju acidofilnim ćelijama, koje su ovalnog oblika, sa okruglim jedrima centralno ili ekscentrično lokalizovanim. Acidofilne ćelije se nalaze u većim ili manjim grupama, zajedno sa bazofilnim i hromofobnim ćelijama, a između tih grupa su sinusoidni kapilari, koji su u bliskom kontaktu sa ćelijama adenohipofize (Slike 5, 6, 7).

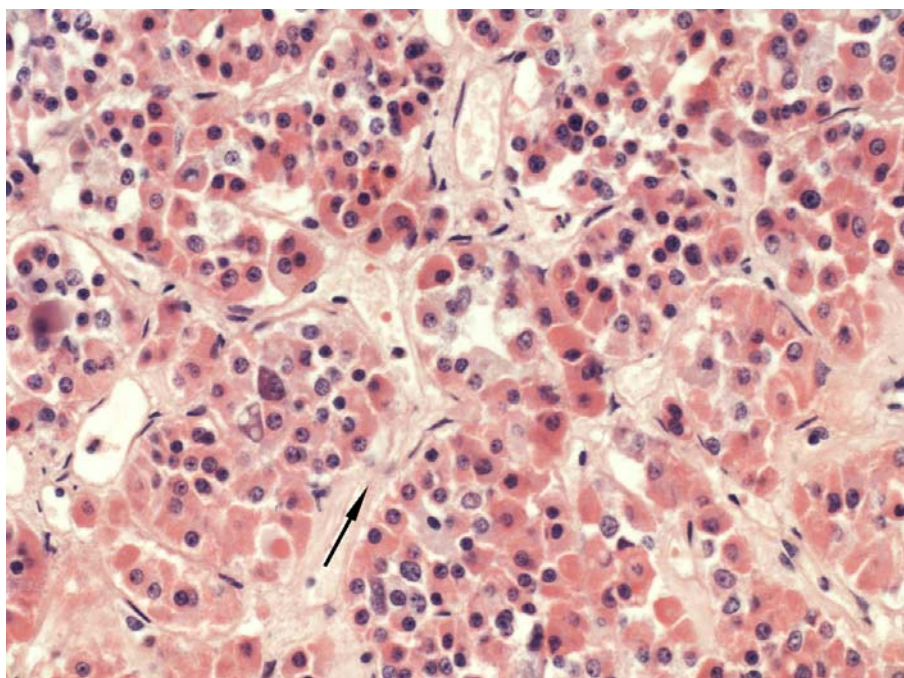


Slika 5. Deo *pars distalis* adenohipofize muškarca starog 18 godina: Trake ćelija su u bliskom kontaktu sa sinusoidnim kapilarima (strelice) u kojima se vide crveno obojeni eritrociti. U ovom odabranom regionu adenohipofize najbrojnije su acidofilne ćelije (A) sa crveno obojenom citoplazmom i okruglim tamnim jedrima koja su centralno ili ekscentrično lokalizovana. Vide se i bazofilne (B) i hromofobne (H) ćelije. H&E. x400.



Slika 6. Deo *pars distalis* adenohipofize žene stare 55 godina: U ovom regionu adenohipofize acidofilne ćelije su brojnije u odnosu na bazofilne i hromofobne ćelije. Ćelije su grupisane u gomilice između kojih su sinusoidni kapilari (K). H&E. x400.

Histološkom analizom je uočeno smanjenje veličine acidofilnih ćelija, neznatno povećanje količine vezivnog tkiva i slabija vaskularizovanost kod ispitanika treće starosne grupe (Slika 7), u poređenju sa ispitanicima prve (Slika 5) i druge starosne grupe (Slika 6).



Slika 7. Deo *pars distalis* adenohipofize muškarca starog 73 godine: Vide se grupe ćelija u kojima su najbrojnije acidofilne ćelije. Ćelijske grupe su odvojene širim vezivnim trakama (strelica) koje prožimaju parenhim adenohipofize. H&E. x400.

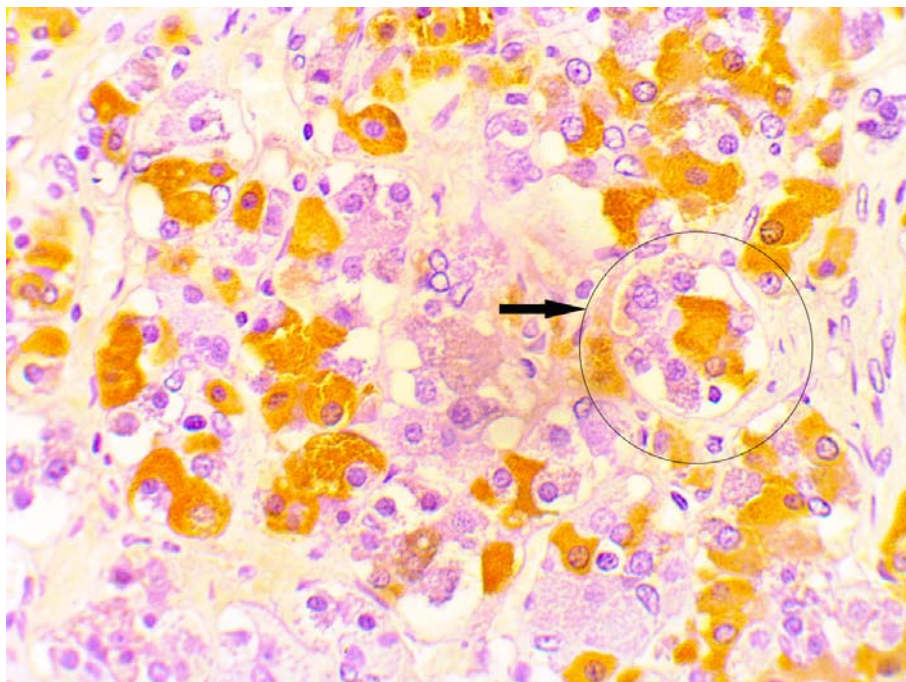
4.1.1.2. Imunohistohemijska analiza

Somatotropne ćelije *pars distalis* adenohipofize identifikovane su primenom antičlanog GH (Grow hormon) - antitela, sa pozitivnom reakcijom u citoplazmi u kojoj se boji sadržaj sekretiranih granula.

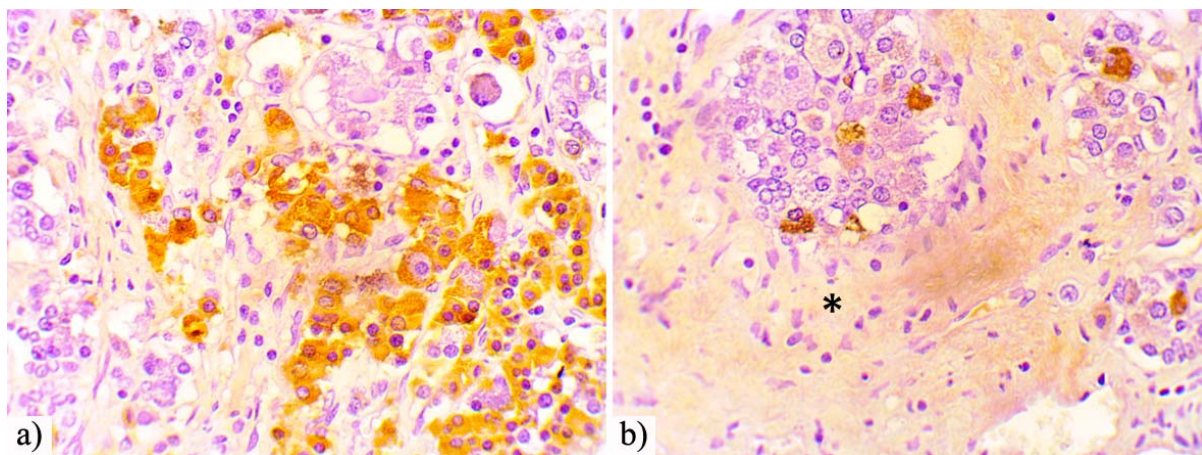
U svim analiziranim uzorcima, svih starosnih grupa, imunopozitivne ćelije su bile organizovane u manje ili veće grupe, zajedno sa ostalim ćelijama adenohipofize, koje ne pokazuju pozitivnu reakciju. Imunopozitivne ćelije su pokazivale različitu distribuciju unutar *pars distalis* adenohipofize, pa su se uočavali regioni u kojima ih ima mnogo i regioni u kojima se vide kao pojedinačne malobrojne ćelije.

Na tkivnim uzorcima ispitanika prve starosne grupe imunopozitivne ćelije su pokazivale polimorfizam veličine i oblika i jaku imunopozitivnu reakciju.

Jedra ćelija su euhromatska sa vidljivim jedarcima i najčešće su ekscentrično postavljena (Slike 8 i 9).

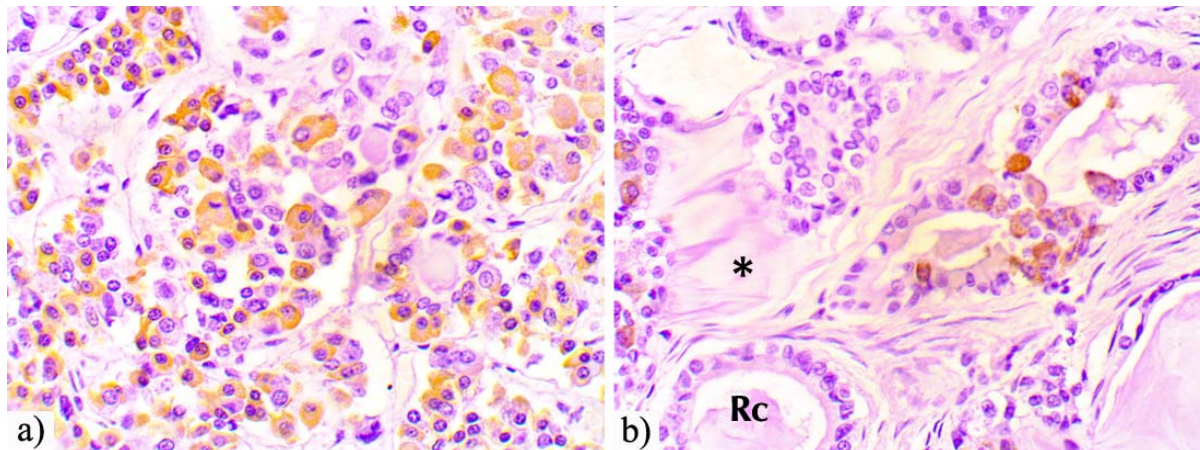


Slika 8. Somatotropne ćelije u *pars distalis* adenohipofize muškarca starog 32 godine: Uočavaju se ovalne strukture (strelica) u kojima se vide imunopozitivne ćelije različite veličine, sa okruglim euhromatskim ekscentričnim jedrima i citoplazmatskim granulama koje pokazuju jaku imunopozitivnu reakciju. PAP. X400.



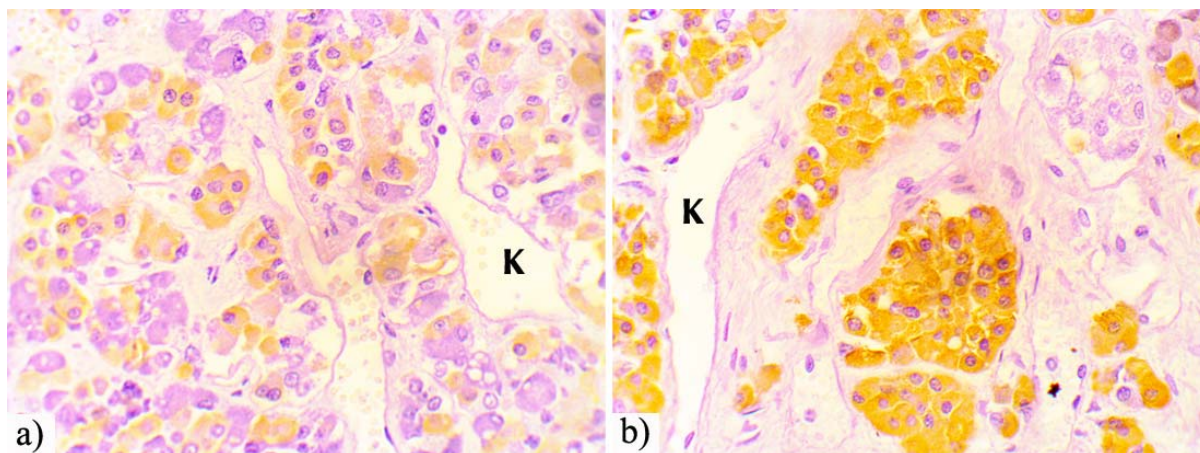
Slika 9. Somatotropne ćelije u regionu uz *pars intermedia* adenohipofize muškarca starog 32 godine: a) Ćelije su u manjim ili većim grupama, različite su veličine i sa citoplazmatskim granulama koje pokazuju jaku imunopozitivnost; b) Vide se pojedinačne ćelije unutar grupa u kojima dominiraju ćelije koje ne pokazuju imunopozitivnu reakciju; vezivni elementi (zvezdica) su jače izraženi. PAP. X400.

U drugoj starosnoj grupi ispitanika, somatotropne ćelije su se uočavale u grupama ili pojedinačno, ujednačene su veličine i sa imunopozitivnom reakcijom srednjeg intenziteta (Slika 10).



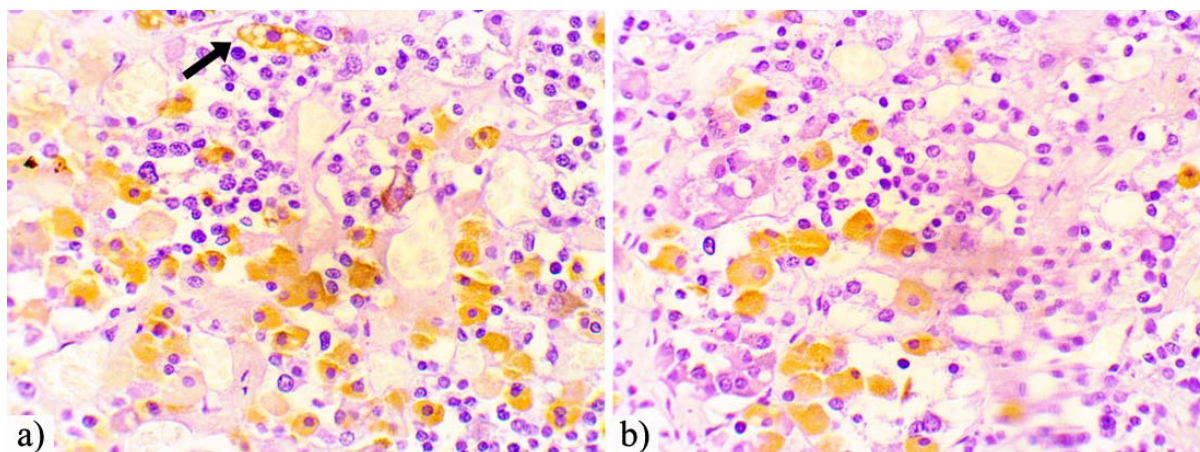
Slika 10. Somatotropne ćelije *pars distalis* adenohipofize žene stare 56 godina: a) Ćelije su slične veličine i pokazuju imunopozitivnu reakciju umerenog intenziteta; b) u regionu uz *pars intermedia* vide se retke pojedinačne imunopozitivne ćelije između Ratkeovih cisti (Rc) i vezivni elementi (zvezdica). PAP. x400.

U grupi ispitanika starijih od 70 godina uočen je polimorfizam oblika i veličine imunopozitivnih ćelija sa jedrima koja su u nekim ćelijama pokazivala heterohromaziju. Izražene su regionalne razlike zastupljenosti somatotropnih ćelija intenziteta imunopozitivne reakcije (Slike 11 i 12).



Slika 11. Somatotropne ćelije *pars distalis* adenohipofize muškarca starog 73 godine: a) Uočavaju se trake i grupice ćelija koje su odvojene sinusoidnim kapilarima (K); b) Vide se ćelijske grupe sačinjene samo od somatotropnih ćelija i obimnije vezivno tkivo u kome su kapilari (K). PAP. x400

U citoplazmi nekih somatotropnih ćelija uočene su vakuole (Slika 10 a).



Slika 12. Somatotropne ćelije *pars distalis* adenohipofize žene stare 90 godina: a) Pored sitnijih imunopozitivnih ćelija uočava se velika ćelija sa vakuoliziranom citoplazmom (strelica); b) U regionu blizu *pars intermedia* adenohipofize vide se malobrojne ćelije sa pozitivnom reakcijom slabijeg intenziteta. PAP. x400

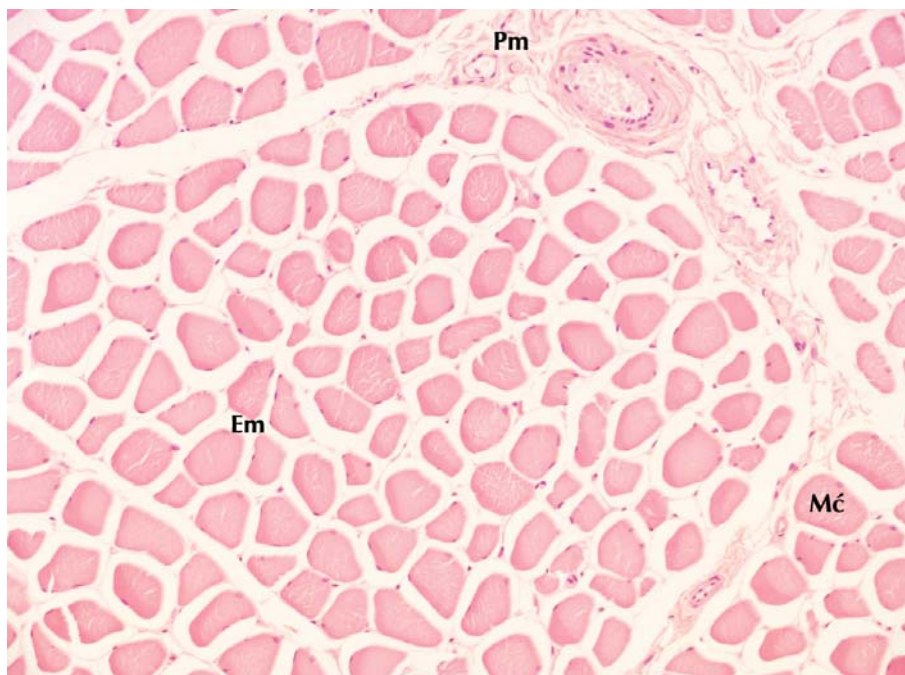
4.1.2. Morfološka analiza psoasnog mišića

Morfološka analiza obuhvatala je histološku analizu poprečnih preseka tkiva bedrenoslabinog mišića (*m. psoas major*) bojenih H&E i PAS metodom kao i analizu njihovih poprečnih preseka bojenih imunohistohemijskom metodom.

4.1.2.1. Histološka analiza

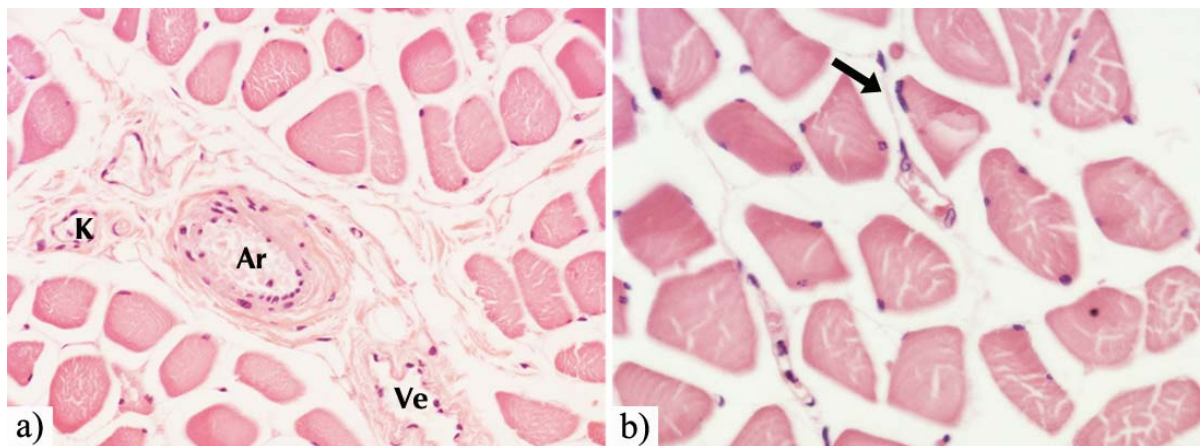
Na poprečnim presecima *m. psoas*-a, bojenim hematoksilinom i eozinom (H&E), u svim uzrastnim grupama uočena je klasična fascikularna građa skeletnih mišića (Slika 13).

Vezivni omotači u mišiću imaju uobičajenu organizaciju i sadržaj; u obimnijem vezivnom tkivu perimizijuma nalaze se nervni elementi, arteriole i venule (Slike 13 i 14a), dok nežno vezivno tkivo endomizijuma sadrži kapilare i retke ćelije sa tankim produžecima koji obavijaju pojedinačne mišićne ćelije (Slika 14b).



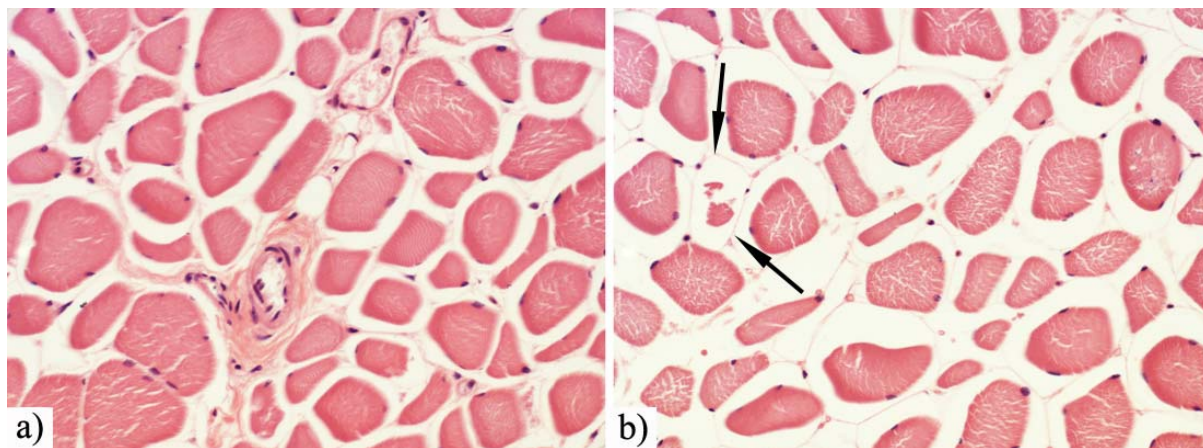
Slika 13. Mikrografija poprečnog preseka *m. psoas*-a muškarca starog 52 godine. Skeletne mišićne ćelije (Mć) unutar fascikulusa su poligonalnog oblika sa perifernom lokalizacijom jedara i približno su iste debljine. U endomizijumu (Em) se vide retke ćelije sa nežnim produžecima u vidu mišićnih vlakana, dok se u vezivnom tkivu perimizijuma (Pm) uočavaju arteriole i venule. H&E x200.

Skeletne mišićne ćelije su poligonalnog oblika sa jedrima na periferiji (Slike 14 i 15).



Slika 14. Mikrografija poprečnog preseka *m. psoas*-a: a) muškarca starog 52 godine. Vide se delovi nekoliko fascikulusa odvojenih vezivnim tkivom perimizijuma, u kojem se uočavaju kapilari (K), arteriola (Ar) i venula (Ve); ćelije su poligonalnog oblika sa perifernom lokalizacijom jedara. H&E x400. **b) muškarca starog 33 godine.** Uočava se poligonalni oblik skeletnih mišićnih ćelija različite debljine, a u endomizijumu se vide malobrojne ćelije sa nežnim produžecima u vidu mišićnih vlakana kao i kapilari (strelica). H&E x630.

Polimorfizam oblika i debljine ćelija karakteriše, pre svega, najstariju uzrastnu grupu; izražene promene oblika i dijametra uočene su kod mišićnih ćelija unutar pojedinačnih fascikulusa (Slika 15).



Slika 15. Mikrografija poprečnog preseka *m. psoas* - a žene stare 80 godina: a) Uočava se inter-fascikularno vezivno tkivo sa krvnim sudovima i ćelije unutar fascikulusa koje pokazuju polimorfizam oblika i debljine. b) Endomizijum sadrži malobrojne ćelije sa nežnim citoplazmatskim produžecima u vidu tankih vlakana (strelica) koja obavijaju pojedinačne mišićne ćelije. H&E x630.

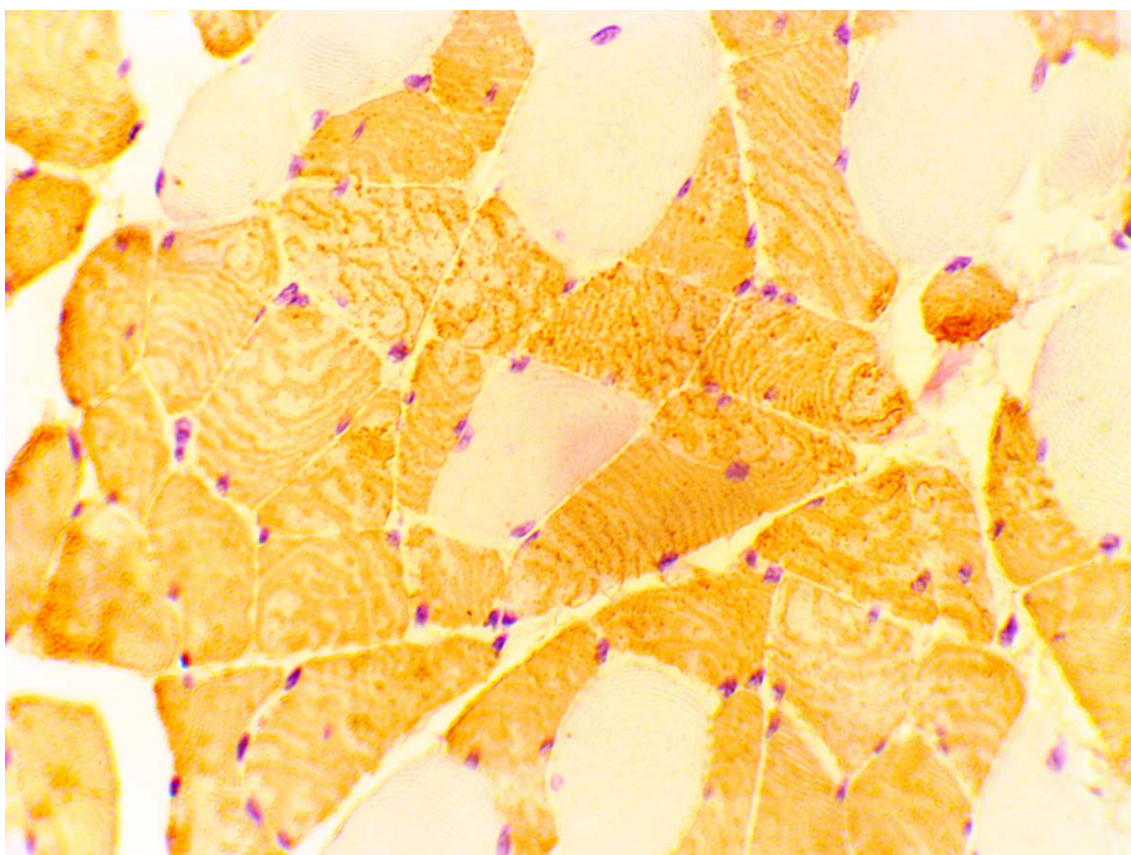
4.1.2.2. Imunohistohemijska analiza

Identifikacija mišićnih vlakana tip II na poprečnim presecima psoasnog mišića sprovedena je upotrebom anti-MYSN02 antitela a imunopozitivnost se uočavala kao sitno zrnasta reakcija sarkoplazme braon boje.

U prvoj uzrastnoj grupi, MYSN0-imunopozitivna mišićna vlakna - tip II, nalaze se u grupama, retko pojedinačno, a između njih su manje brojna mišićna vlakna tip I, koja ne pokazuju pozitivnu reakciju.

Na poprečnim preseccima mišića, mišićna vlakna tip I i tip II imaju nepravilan poligonalan oblik, s tim što su mišićna vlakna tip II sa oštrijim uglovima.

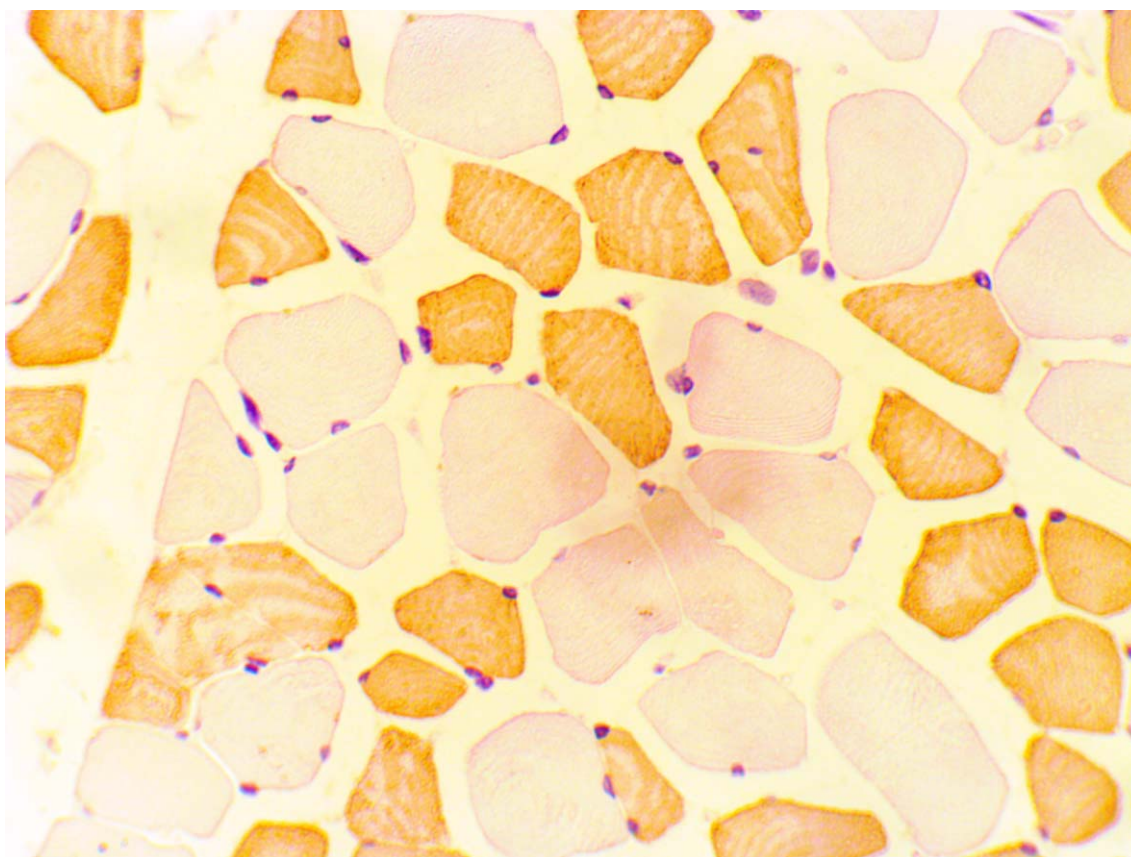
Oba tipa mišićnih vlakana su približno istog dijametra i sa jedrima koja su tipično izduženog oblika ili su ovalna (Slika 16).



Slika 16. Mikrografija poprečnog preseka *m. psoas*-a muškarca starog 33 godine. Imunopozitivna mišićna vlakna tip II nalaze se u većim grupama unutar fascikulusa a između njih su pojedinačna mišićna vlakna tip I koje se ne boje. Mišićna vlakna tip II su nepravilnog poligonalnog oblika, različite debljine i sa lamelarnim rasporedom miofibrila u sarkoplazmi. Anti-MYSN02, LP-HRP. x400.

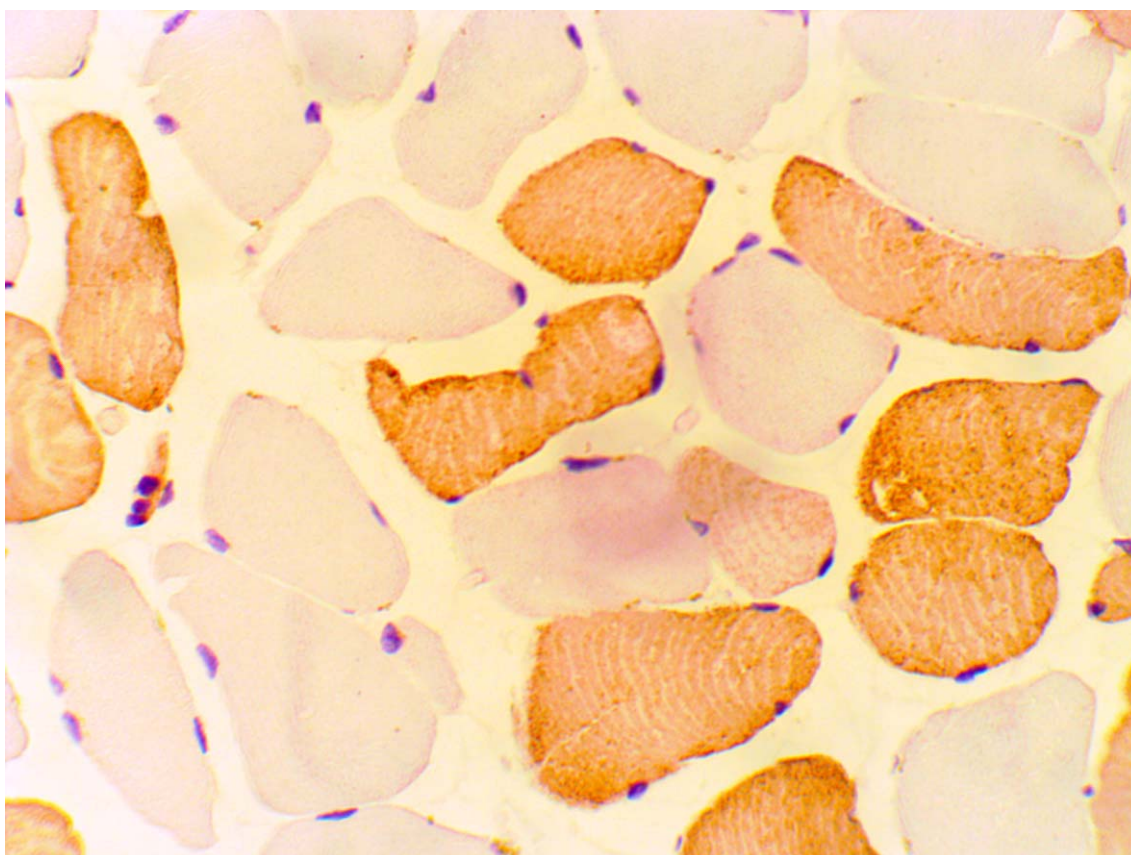
U drugoj uzrastnoj grupi MYSN02-imunopozitivna mišićna vlakna - tip II su približno podjednako zastupljena kao i ne obojena mišićna vlakna tip I. Mišićna vlakna tip II su uglavnom poligonalnog oblika sa oštrim uglovima, za razliku od mišićnih vlakana tip I koja su više ovalnog oblika.

Na nekim poprečnim presecima mišića, pojedinačna mišićna vlakna tip II su imala karakterističan lamelarni raspored miofibrila u sarkoplazmi, dok se kod većine mišićnih vlakana tip II imunopozitivnost manifestovala kao sitnozrnasta reakcija u sarkoplazmi (Slika 17).



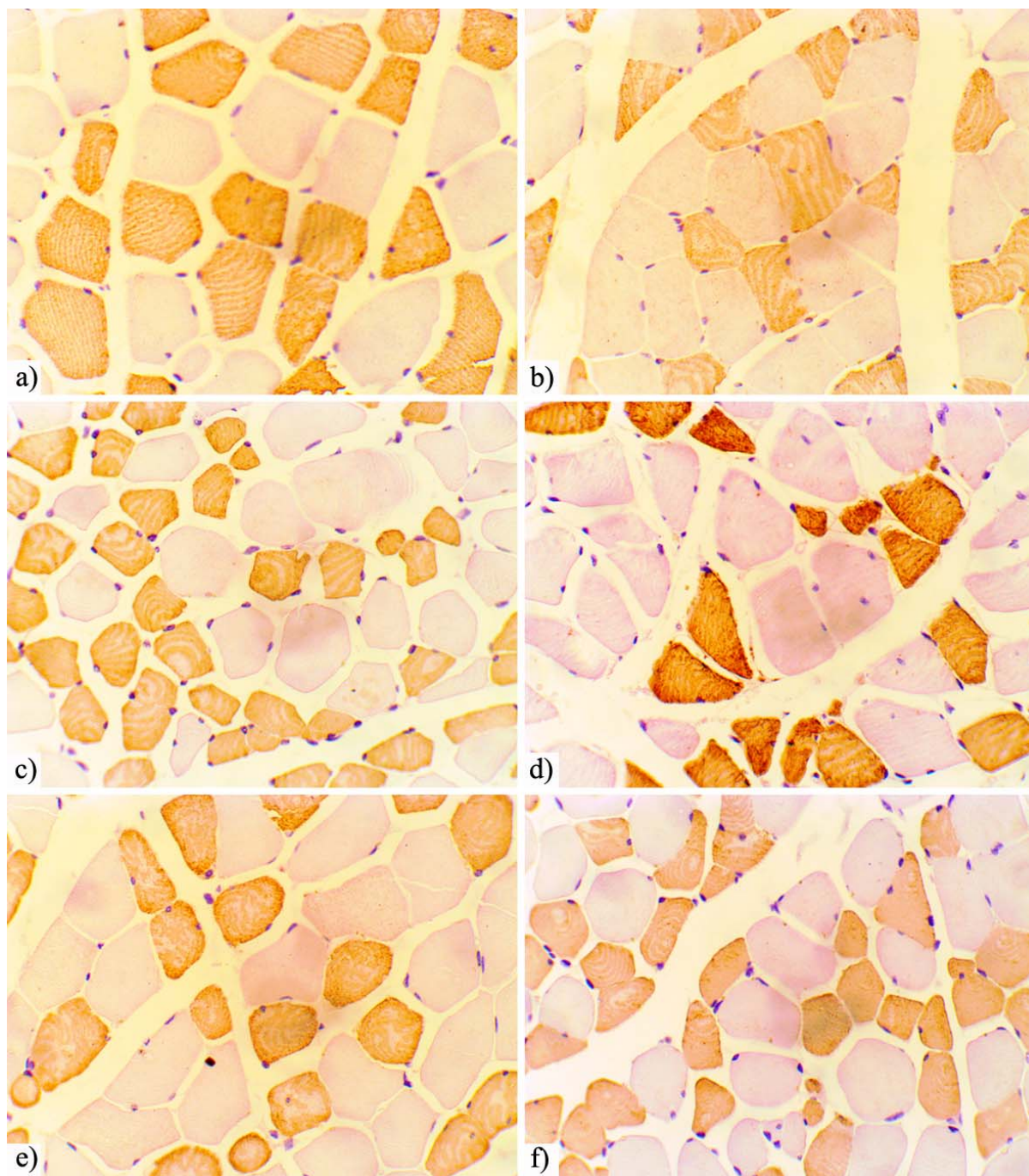
Slika 17. Mikrografija poprečnog preseka *m. psoas*-a muškarca starog 52 godine. Imunopozitivnost je prisutna u mišićnim vlaknima različitog dijametra i poligonalnog oblika sa oštrim uglovima; unutar fascikulusa a vlakna se nalaze u grupama između neobojenih mišićnih vlakana većeg dijametra. Anti-MYSN02, LP- HRP. x400.

U trećoj uzrastnoj grupi MYSN02-imunopozitivna mišićna vlakna-vlakna tip II, pokazuju polimorfizam oblika i debljine - ćelije su ovalne i manjeg dijametra u poređenju sa neobojenim mišićnim vlaknima tip I. Imunopozitivna mišićna vlakna nepokazuju pravilnu distribuciju u vidu izolovanih grupa, kao što je to u mladim uzrastnim grupama, već su nepravilno raspoređena između neobojenih mišićna vlakna tip I (Slika 18).



Slika 18. Mikrografija poprečnog preseka *m. psoas-a* žene stare 82 godine. Imunopozitivna mišićna vlakna tip II su različitog oblika i debljine, za razliku od neobojenih mišićnih vlakana tip I koja su poligonalna ili ovalna i u glavnom ujednačene debljine. Imunopozitivna reakcija se vidi kao sitnozrnasta ili pokazuje lamelarni raspored sadržaja sarkoplazme. Unutar fascikulusa prostor između mišićnih vlakana je uvećan. Anti-MYSN02, LP-HRP. x400.

U svim ispitivanim uzrastnim grupama zapažen je manji broj MYSN02-imunopozitivnih mišićnih vlakana - tip II kod ženskog pola, u poređenju sa muškim polom (Slika 19).



Slika 19. MYSN02-imunopozitivnost na poprečnim preseccima *m. psoas-a* po uzrastnim grupama i prema polu: a) muškarac star 31 godinu; b) žena stara 35 godina; c) muškarac star 52 godine; d) žena stara 56 godina; e) muškarac star 73 godine; f) žena stara 75 godina. Uočava se smanjenje broja i debljine imunopozitivnih mišićnih vlakana - tip II sa starenjem, prevashodno kod muškog pola, i manji broj mišićnih vlakana tipa II kod ženskog pola, u poređenju sa muškim polom. LP-HRP. x400.

4.2. MORFOMETRIJSKA ANALIZA

4.2.1. Morfometrijska analiza somatotropnih ćelija adenohipofize

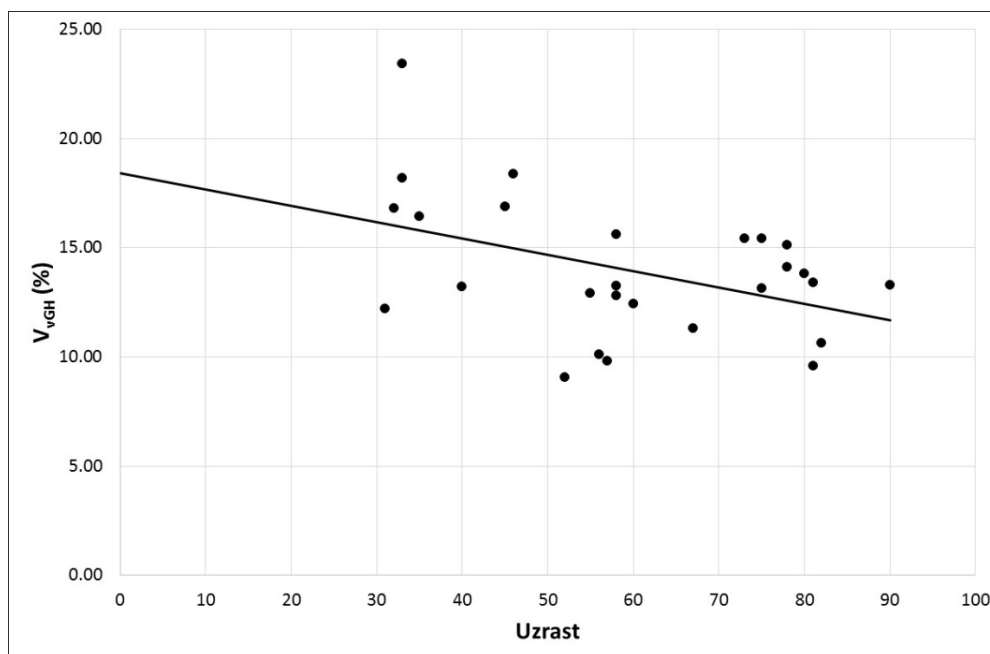
Rezultati morfometrijske analize somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva prezentovani su u tabeli 1.

Tabela 1. Vrednosti morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize svih 27 analiziranih slučajeva.

Br.	Uzrast	Pol	Gr.	V _{VGH} (%)	A _{GH} (μm^2)	B _{GH} (μm)	D _{FGH} (μm)	A _{nGH} (μm^2)	B _{nGH} (μm)	D _{FnGH} (μm)	(N/C) _{GH}
1	31	M	I	12,21	70,49	31,43	11,42	17,82	15,39	5,32	0,34
2	32	M	I	16,80	84,08	34,45	12,35	21,93	16,92	5,82	0,35
3	33	M	I	23,45	82,58	34,84	12,72	22,52	17,30	6,03	0,37
4	33	M	I	18,21	89,91	36,11	12,95	21,60	16,77	5,76	0,32
5	35	Ž	I	16,43	95,47	36,13	12,86	31,77	20,42	7,03	0,50
6	40	M	I	13,21	85,48	34,82	12,62	24,86	17,85	6,15	0,41
7	45	M	I	16,90	98,72	37,58	13,55	20,41	16,41	5,74	0,26
8	46	M	I	18,39	89,22	35,56	12,89	21,75	17,20	6,11	0,32
9	52	M	II	9,05	86,70	35,34	12,64	24,81	18,04	6,30	0,40
10	55	Ž	II	12,92	87,47	35,27	12,80	23,97	17,62	6,10	0,38
11	56	Ž	II	10,12	79,86	34,59	12,49	22,22	17,28	6,13	0,39
12	57	Ž	II	9,82	100,59	37,72	13,63	30,26	20,02	6,96	0,43
13	58	M	II	13,27	105,08	39,34	14,23	28,31	19,43	6,81	0,37
14	58	Ž	II	12,80	80,52	33,84	12,23	23,13	17,52	6,11	0,40
15	58	M	II	15,60	88,15	35,81	12,98	20,99	16,64	5,87	0,31
16	60	Ž	II	12,44	82,93	34,70	12,66	20,32	16,54	5,80	0,32
17	67	Ž	II	11,31	105,16	39,36	14,18	26,83	18,88	6,60	0,34
18	73	M	III	15,42	107,58	39,47	14,20	23,50	17,67	6,13	0,28
19	75	Ž	III	15,42	96,66	38,29	13,80	20,63	16,46	5,68	0,27
20	75	Ž	III	13,15	115,02	41,83	14,86	23,85	17,64	6,09	0,26
21	78	M	III	15,12	96,81	38,01	13,68	22,54	17,39	6,11	0,30
22	78	M	III	14,11	93,47	38,08	13,76	21,16	16,81	5,92	0,29
23	80	Ž	III	13,81	88,36	35,90	12,82	19,99	16,19	5,60	0,29
24	81	Ž	III	13,39	104,22	40,00	14,11	21,90	16,95	5,90	0,27
25	81	Ž	III	9,58	119,60	42,73	15,24	26,33	18,72	6,56	0,28
26	82	Ž	III	10,65	95,05	38,63	13,91	20,45	16,44	5,73	0,27
27	90	Ž	III	13,29	103,36	39,68	14,41	19,58	16,23	5,71	0,23

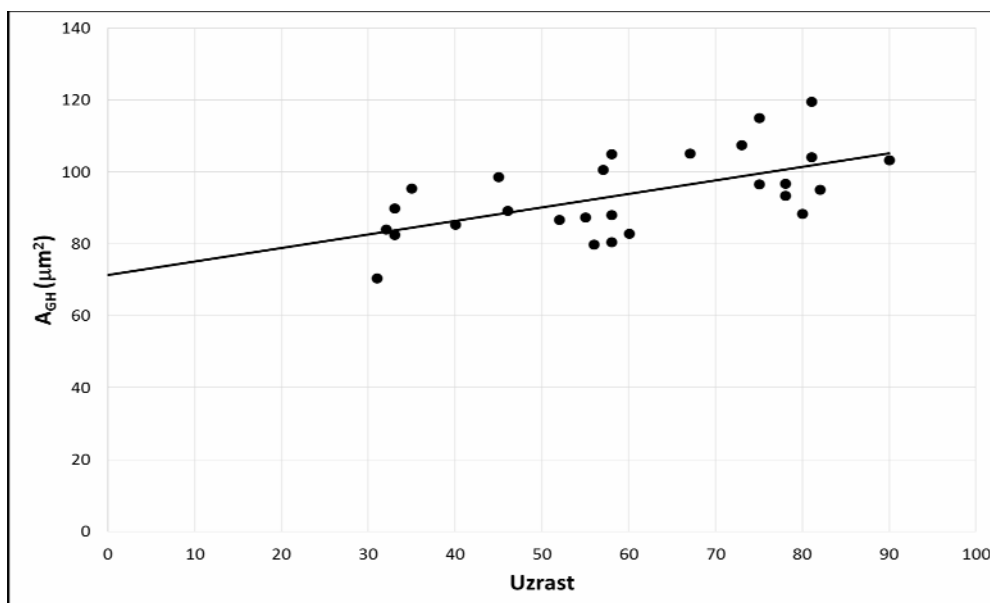
Linearna regresiona analiza je pokazala da starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečne zapreminske gustine somatotropnih ćelija adenohipofize ($F(1,25)=5,65$; $p=0,025$). Prosečna zapreminska gustina somatotropnih ćelija adenohipofize tokom starenja

statistički značajno opada što se može predstaviti sledećim modelom $V_{vGH} = 18,42 - 0,08 \times$ uzrast. Prema napred navedenom modelu starost ispitanih slučajeva objašnjava 15% ukupne varijanse ($R^2 = 0,15$) zapreminske gustine somatotropnih ćelija adenohipofize i predstavlja umereno veliki efekat (Grafikon 1).

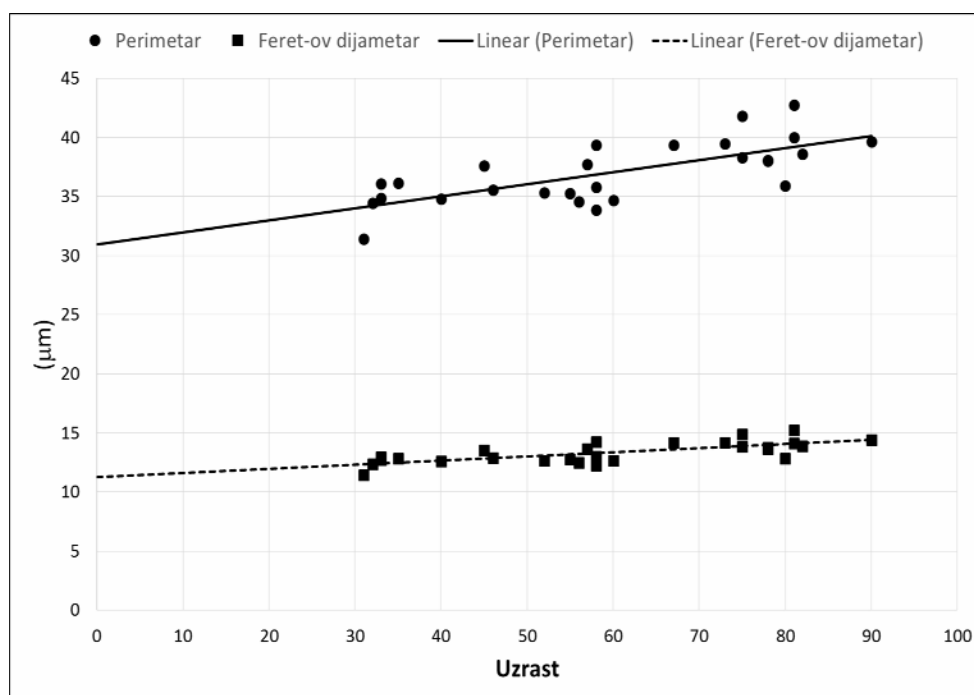


Grafikon 1. Korelacija između uzrasta i zapreminske gustine somatotropnih ćelija adenohipofize ispitanih slučajeva.

Linearna regresiona analiza je, takođe, sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) somatotropnih ćelija adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva. Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,25)=14,21$; $p=0,001$), perimetra ($F(1,25)=25,92$; $p<0,0001$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,25)=26,8$; $p<0,0001$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{GH} = 71,4 + 0,38 \times$ starost, $B_{GH} = 30,93 + 0,10 \times$ starost i $D_{FGH} = 11,24 + 0,04 \times$ starost. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 34% ukupne varijanse aree ($R^2=0,34$) (Grafikon 2), 49% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,49$) (Grafikon 3) i 50% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2=0,50$) (Grafikon 3) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.



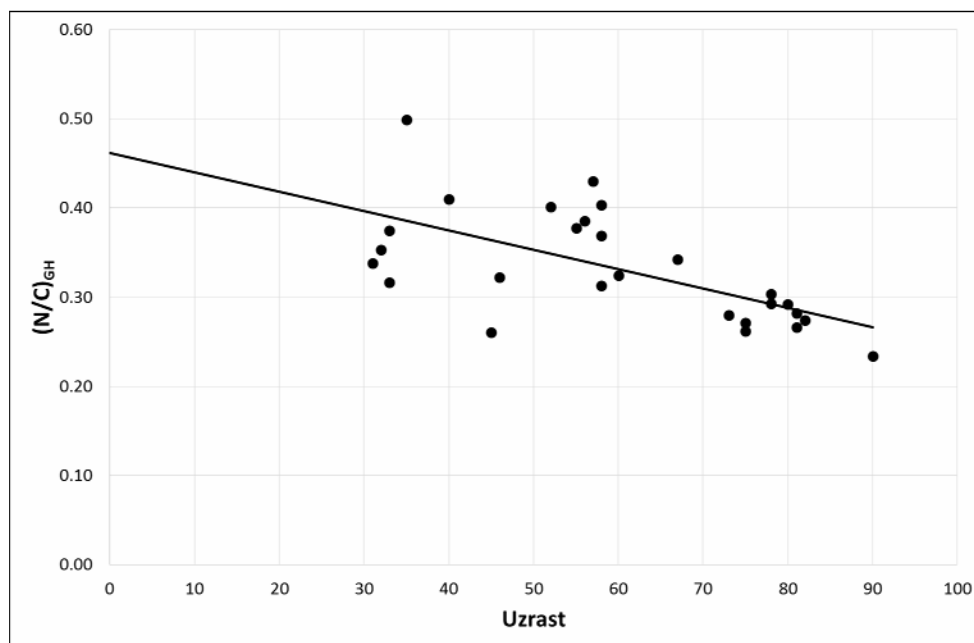
Grafikon 2. Korelacija između starosti i prosečne aree somatotropnih ćelija adenohipofize ispitanih slučajeva.



Grafikon 3. Korelacija između starosti i prosečnog perimetra i starosti i prosečnog Feret-ovog dijametra somatotropnih ćelija adenohipofize.

Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara somatotropnih ćelija adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p > 0,05$). Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleo-citoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija adenohipofize

($F(1,25)=16,61$; $p<0,0001$). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{GH} = 0,46 - 0,002 \times \text{starost}$, što znači da njegove vrednosti nukleo-citoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 4). Starost objašnjava 38% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,38$), što predstavlja veliki efekat veličine.



Grafikon 4. Korelacija između starosti i prosečnog nukleo - citoplazmatskog odnosa somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfoloških parametara somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa (Tabela 2.) ispitivana je uz pomoću One Way ANOVA testa.

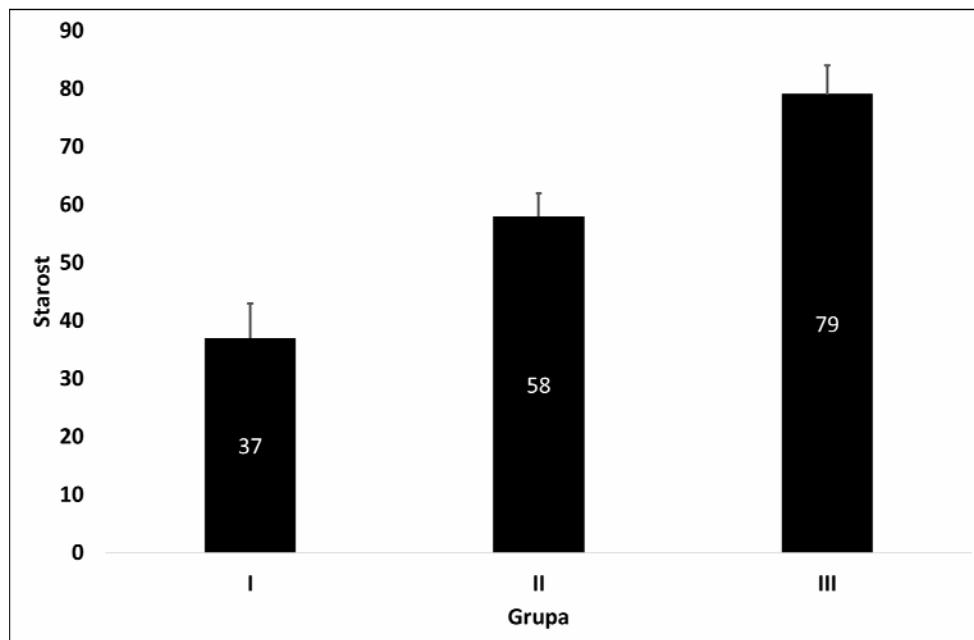
Tabela 2. Prosečna starost i prosečne vrednosti morfoloških parametara somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD
Starost	I	8	37	6
	II	9	58	4
	III	10	79	5
V _{VGH} (%)	I	8	16,95	3,44
	II	9	11,93	2,05
	III	10	13,39	1,94
A _{GH} (µm ²)	I	8	87,00	8,66
	II	9	90,72	10,17
	III	10	102,01	9,89
B _{GH} (µm)	I	8	35,12	1,79
	II	9	36,22	2,07
	III	10	39,26	1,97
D _{FGH} (m)	I	8	12,67	0,61
	II	9	13,09	0,74
	III	10	14,08	0,67
A _{nGH} (µm ²)	I	8	22,83	4,11
	II	9	24,54	3,36
	III	10	21,99	2,10
B _{nGH} (µm)	I	8	17,28	1,46
	II	9	18,00	1,21
	III	10	17,05	0,81
D _{F_nGH} (µm)	I	8	6,00	0,50
	II	9	6,30	0,41
	III	10	5,94	0,29
(N/C) _{GH}	I	8	0,36	0,07
	II	9	0,37	0,04
	III	10	0,27	0,02

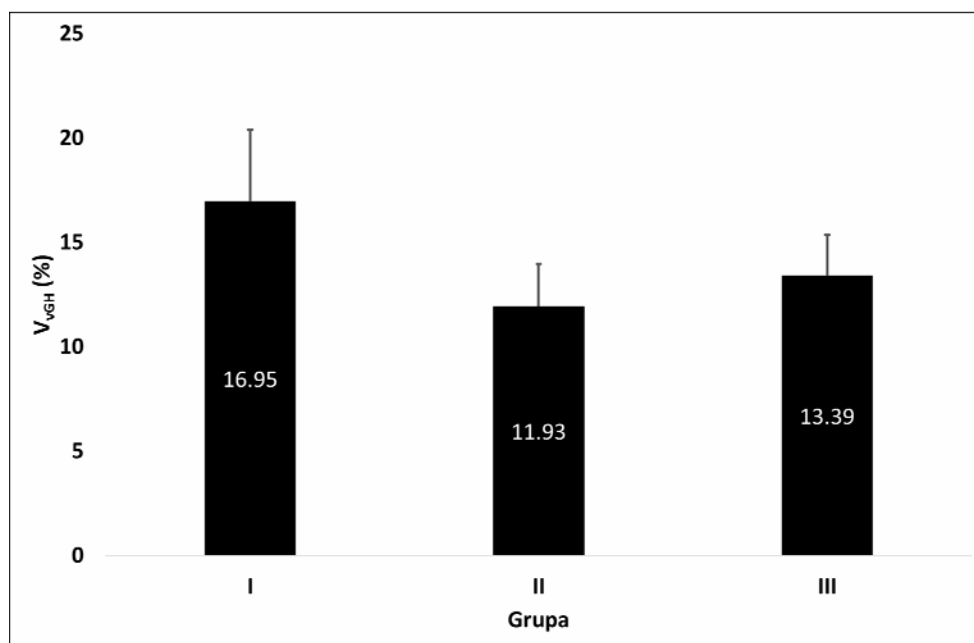
Univarijantna ANOVA je ukazala da se prosečna starost ispitivanih grupa statistički značajno razlikuje ($F(2,24)=162,43$; $p<0.0001$) (Grafikon 5). Tukey-Kramer post hoc test je dodatno ukazao da je prosečna starost I starosne grupe statistički značajno niža u odnosu II ($p<0,05$), zatim II statistički značajno niža u odnosu na III ($p<0,05$) i konačno I statistički značajno niža u odnosu na III starosnu grupu ($p<0,05$).

Rezultati One Way ANOVA testa su ukazali da prosečna zapreminska gustina somatotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno opada tokom starenja ($F(2,24)=8,94$; $p=0,001$) (Grafikon 6). Tukey-Kramer post hoc test je dodatno ukazao da je prosečna zapre-

minska gustina I starosne grupe statistički značajno viša u odnosu na iste II i III starosne grupe ($p < 0,05$). Prosečna zapreminska gustina somatotropnih ćelija II i III starosne grupe se ne razlikuju statistički značajno ($p > 0,05$).



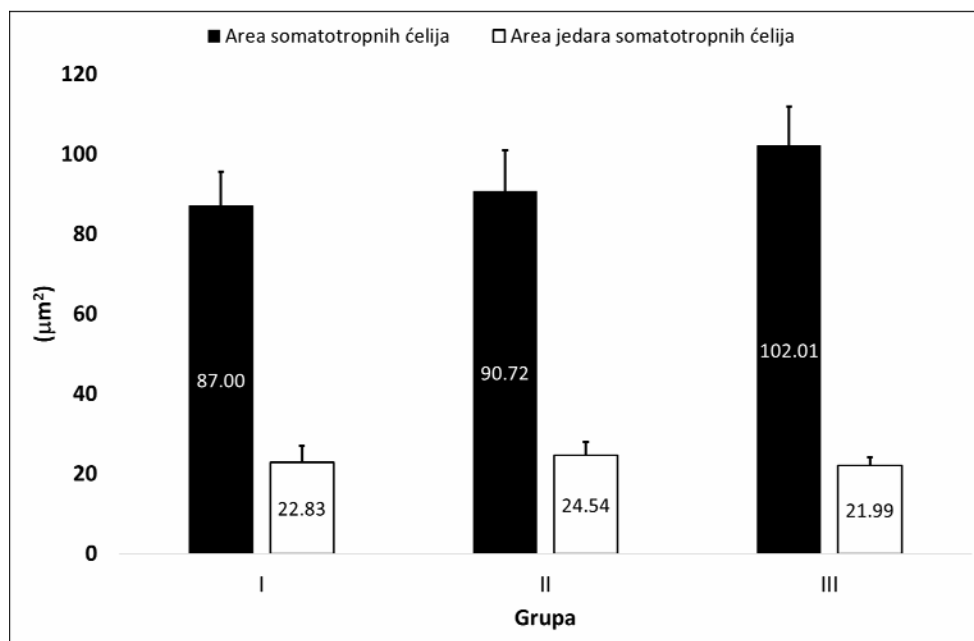
Grafikon 5. Prosečna starost analiziranih starosnih grupa.



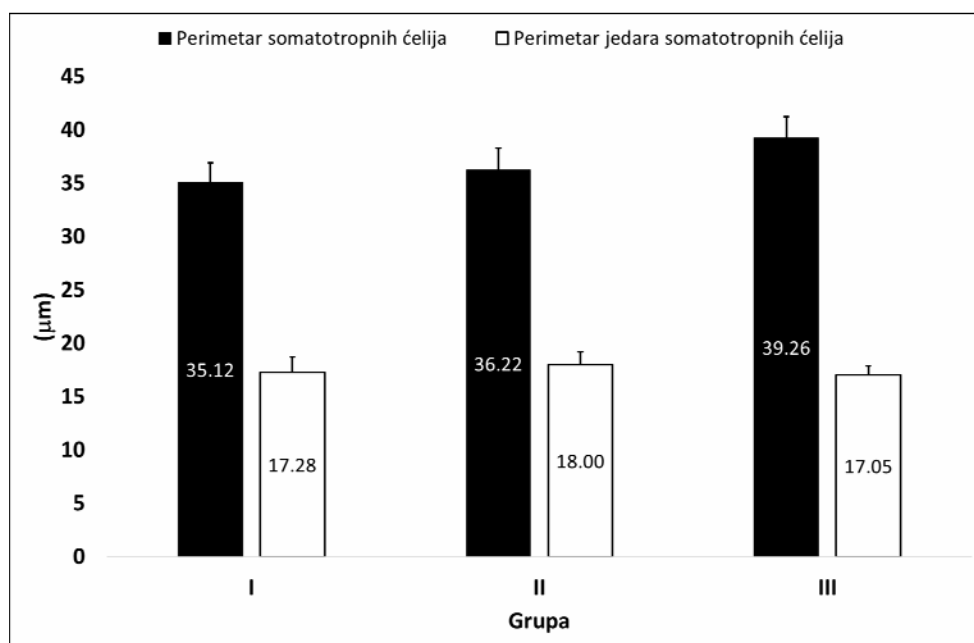
Grafikon 6. Prosečna zapreminska gustina somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Nasuprot napred navedenom, prosečna area ($F(2,24)=6,08$; $p=0,007$), zatim prosečan perimetar ($F(2,24)=11,14$; $p < 0,0001$) i prosečan Feret-ov dijametar ($F(2,24)=10,54$; $p=0,001$)

somatotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikon 7, 8 i 9).



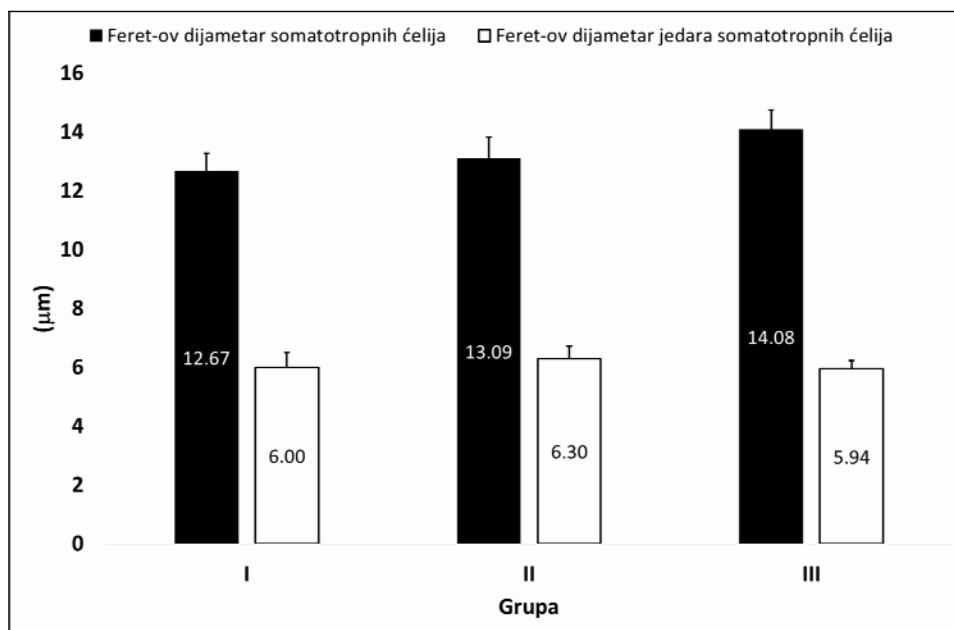
Grafikon 7. Prosečna area i prosečna nuklearna area somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.



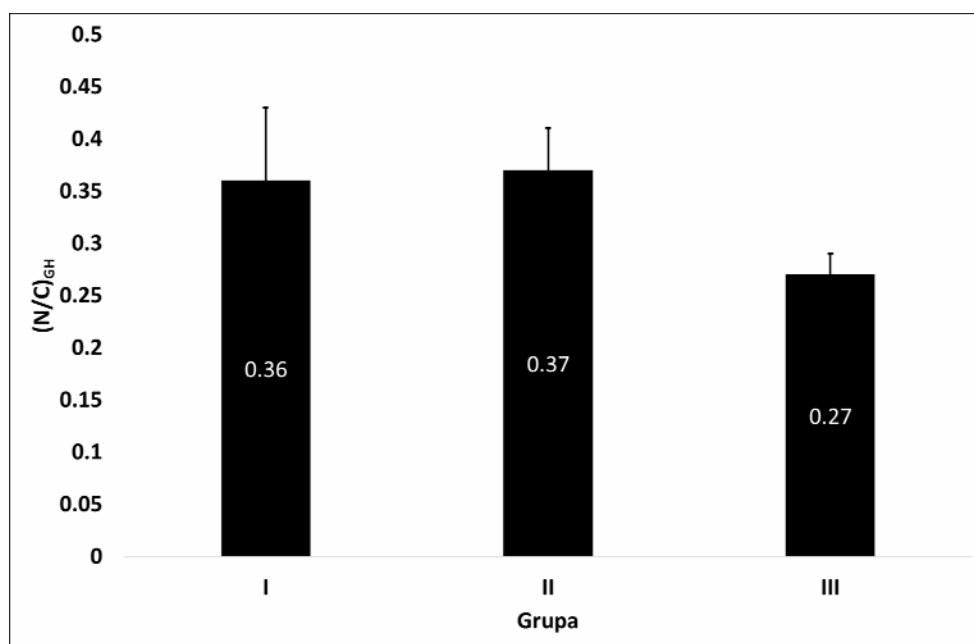
Grafikon 8. Prosečan perimetar i prosečan nuklearni perimetar somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Post hoc Tukey-Kramer test je ukazao da napred navedeni parametri pokazuju identičan trend tokom starenja pri čemu su njihove vrednosti u III starosnoj grupi bile statistički značajno više u odnosu na II i I starosnu grupu ($p < 0,05$). Prosečne vrednosti ovih parametara

II starosne grupe su bile više u odnosu na I starosnu grupu, ali ta razlika nije bila statistički značajna ($p > 0,05$).



Grafikon 9. Prosečan Feret-ov dijametar i prosečan nuklearni Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 10. Prosečan nukleo-citoplazmatski somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Nuklearna area, perimetar i Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija adenohipofize se nisu statistički značajno razlikovale između analiziranih starosnih grupa ($p > 0,05$) (Grafikoni 7, 8 i 9). Prosečan nukleo-citoplazmatski odnos somatotropnih ćelija adenohipofize se statis-

tički značajno razlikuje između analiziranih starosnih grupa ($F(2,24)=13,8$; $p<0,0001$) (Grafikon 10).

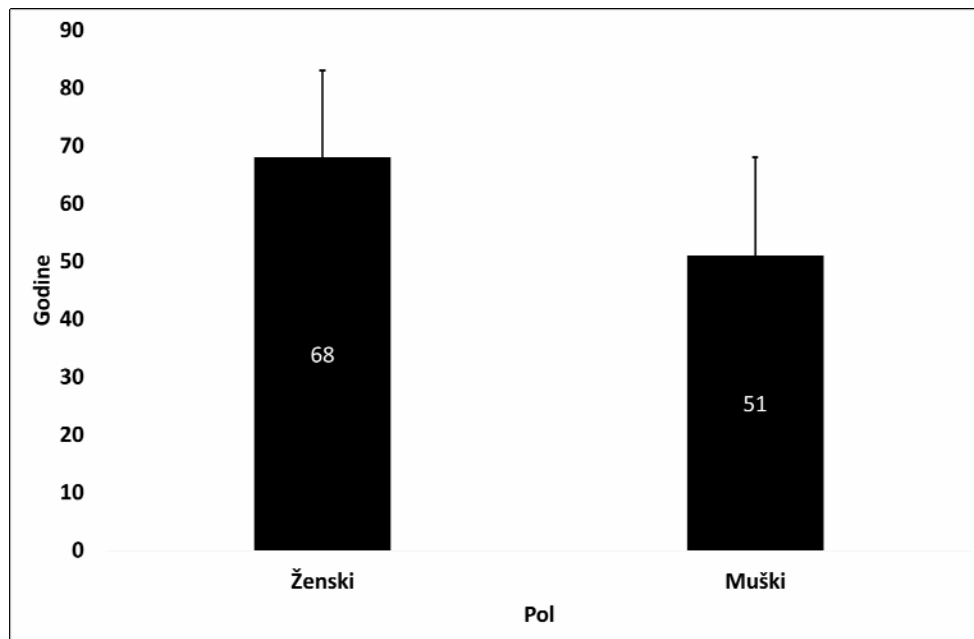
Vrednosti ovog parametra slučajeva I starosne grupe su statistički značajno više u odnosu na III starosnu grupu ($p<0,05$). Prosečan nukleo-citoplazmatski odnos slučajeva II starosne grupe je viši u odnosu na iste slučajeve I i III starosne grupe, ali ta razlika nije statistički značajna ($p>0,05$). Prema tome, može se zaključiti da nukleo-citoplazmatski odnos u celini opada od I ka III starosnoj grupi, ali taj pad postaje statistički značajan tek u III starosnoj grupi. To znači da funkcija somatotropnih ćelija opada tokom procesa starenja, ali taj pad postaje statistički značajan tek nakon 70. godine života.

Funkcija somatotropnih ćelija adenohipofize kod slučajeva II starosne grupe je očuvana najverovatnije zahvaljujući njihovoj hipertrofiji.

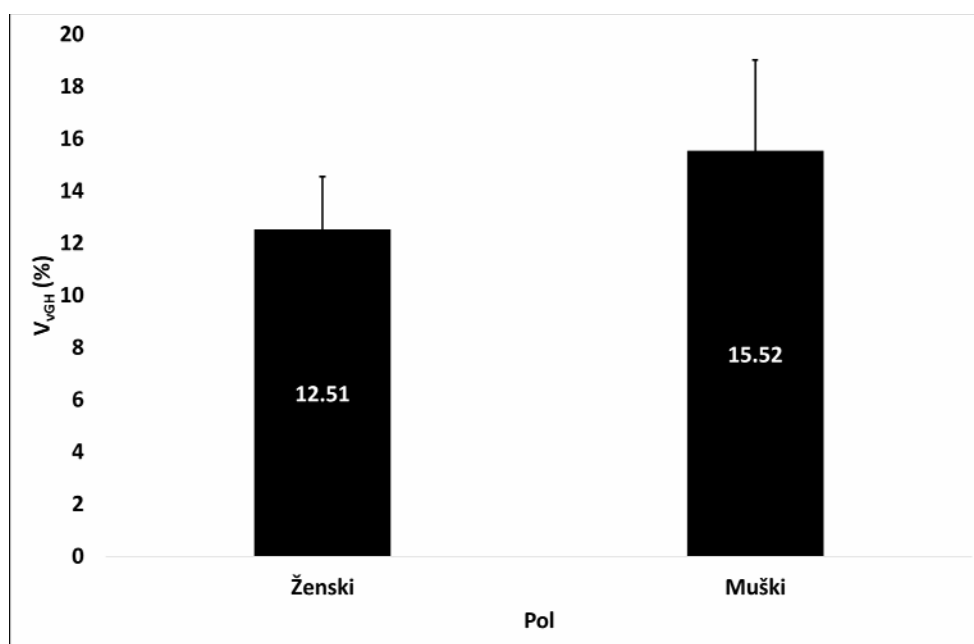
Prosečne vrednosti morfometrijskih parametara analiziranih slučajeva muškog i ženskog pola su prezentovane u tabeli 3.

Prosečna starost slučajeva ženskog pola je statistički značajno viša u odnosu na istu starost slučajeva muškog pola ($T=2,80$; $SS=25$; $p=0,01$) (Grafikon 11), što značajno utiče na interpretaciju uočenih razlika po polu kada su u pitanju morfometrijski parametri somatotropnih ćelija adenohipofize.

Prosečna zapreminska gustina somatotropnih ćelija adenohipofize slučajeva muškog pola je statistički značajno viša u odnosu na ženski pol ($T=2,75$; $SS=25$; $p=0,011$) (Grafikon 12).



Grafikon 11. Prosečna starost slučajeva muškog i ženskog pola.



Grafikon 12. Prosečna zapreminska gustina somatotropnih ćelija slučajeva muškog i ženskog pola.

Tabela 3. Prosečna starost i prosečne vrednosti morfolometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize slučajeva muškog i ženskog pola.

Parametar	Pol	N	Prosek	SD
Starost	Ženski	14	68	15
	Muški	13	51	17
V _{vGH} (%)	Ženski	14	12,51	2,04
	Muški	13	15,52	3,50
A _{GH} (μm ²)	Ženski	14	96,73	12,22
	Muški	13	90,64	9,88
B _{GH} (μm)	Ženski	14	37,76	2,78
	Muški	13	36,22	2,24
D _{FGH} (μm)	Ženski	14	13,57	0,94
	Muški	13	13,07	0,79
A _{nGH} (μm ²)	Ženski	14	23,66	3,85
	Muški	13	22,48	2,54
B _{nGH} (μm)	Ženski	14	17,64	1,38
	Muški	13	17,22	0,96
D _{FnGH} (μm)	Ženski	14	6,14	0,47
	Muški	13	6,01	0,35
(N/C) _{GH}	Ženski	14	0,331	0,078
	Muški	13	0,332	0,046

Nasuprot prosečnoj zapreminskoj gustini, prosečne vrednosti aree, perimetra, Feret-ovog dijametra, prosečne nuklearne aree, perimetra i Feret-ovog dijametra su više kod slučajeva ženskog u odnosu na iste slučajeve muškog pola, ali napred navedene razlike nisu statistički značajne ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Prosečan nukleo-citoplazmatski odnos somatotropnih ćelija adenohipofize slučajeva muškog i ženskog pola se, takođe, ne razlikuje statistički značajno ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Napred navedeno ukazuje da su uočene polne razlike prosečne zapreminske gustine somatotropnih ćelija adenohipofize verovatno posledica starenja, kao i na to da je kod slučajeva ženskog pola prisutan određen stepen hipertrofije somatotropnih ćelija, zbog čega se vrednosti nukleo-citoplazmatskog odnosa ovih slučajeva održavaju na približno istom nivou u odnosu na iste slučajeve muškog pola.

4.2.2. Morfometrijska analiza mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića

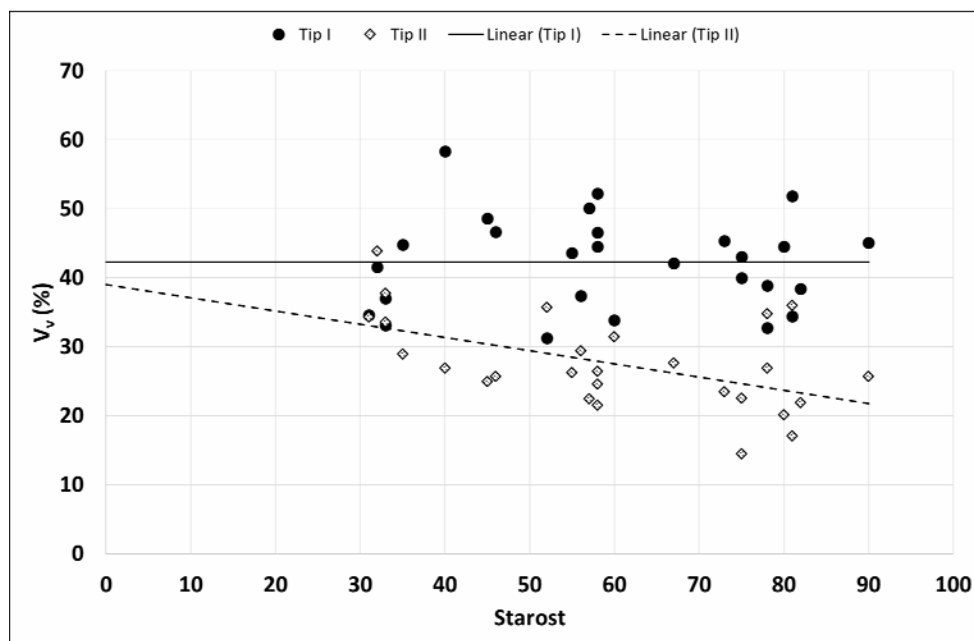
Rezultati morfometrijske analize mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića analiziranih slučajeva prezentovani su u tabeli 4.

Tabela 4. Vrednosti morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II ispitanih slučajeva.

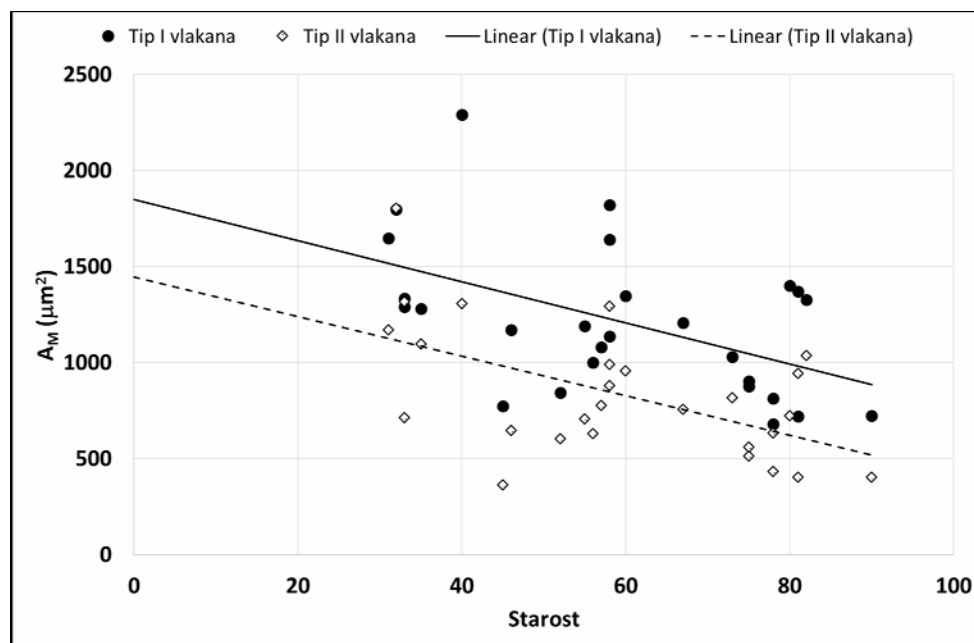
Br.	Uzrast	Pol	Gr.	V _{vI} (%)	V _{vII} (%)	A _{M I} (μm^2)	B _{M I} (μm)	D _{FM I} (μm)	A _{M II} (μm^2)	B _{M II} (μm)	D _{FM II} (μm)
1	31	M	I	34,64	34,35	1648,49	153,49	57,14	1172,67	131,07	49,26
2	32	M	I	41,55	43,93	1799,09	162,14	59,48	1803,87	163,34	60,99
3	33	M	I	37,02	33,63	1291,30	136,79	51,93	712,80	107,49	42,33
4	33	M	I	33,10	37,74	1335,69	141,08	53,30	1317,83	142,31	54,53
5	35	Ž	I	44,82	28,99	1281,63	137,53	51,56	1098,74	130,69	50,48
6	40	M	I	58,33	26,90	2291,29	183,81	70,35	1308,39	150,30	59,36
7	45	M	I	48,63	24,94	773,94	105,05	39,73	365,65	73,70	28,12
8	46	M	I	46,67	25,71	1170,57	132,33	51,21	646,52	106,94	43,14
9	52	M	II	31,25	35,71	845,52	109,57	41,26	605,38	96,07	36,78
10	55	Ž	II	43,57	26,31	1191,41	132,76	50,18	709,26	103,28	39,37
11	56	Ž	II	37,38	29,40	1001,63	121,32	46,04	631,33	96,46	36,02
12	57	Ž	II	50,12	22,44	1080,35	126,68	48,33	776,37	111,46	43,79
13	58	M	II	52,20	21,55	1641,24	153,53	57,98	992,64	130,87	52,04
14	58	Ž	II	46,61	26,49	1136,35	128,01	47,70	879,99	110,17	39,89
15	58	M	II	44,58	24,58	1820,67	163,53	61,88	1293,60	142,12	55,46
16	60	Ž	II	33,87	31,43	1348,79	143,34	55,96	958,96	124,00	48,62
17	67	Ž	II	42,14	27,62	1207,04	140,68	55,50	759,06	111,87	44,16
18	73	M	III	45,42	23,51	1029,95	125,29	48,18	816,10	109,92	41,24
19	75	Ž	III	43,04	22,56	878,97	111,23	41,08	514,28	88,33	33,64
20	75	Ž	III	40,00	14,52	904,21	115,32	44,25	559,97	92,50	36,27
21	78	M	III	38,87	34,76	815,35	107,64	40,09	635,13	96,92	36,73
22	78	M	III	32,80	26,90	681,93	98,24	36,95	434,29	77,55	28,58
23	80	Ž	III	44,58	20,18	1402,22	139,82	51,58	724,31	104,34	40,47
24	81	Ž	III	34,40	36,01	720,35	100,51	36,94	405,36	74,94	27,81
25	81	Ž	III	51,90	17,08	1372,30	136,38	50,02	945,63	118,36	45,59
26	82	Ž	III	38,45	21,90	1329,60	139,96	53,43	1038,06	124,95	47,73
27	90	Ž	III	45,06	25,71	725,43	100,12	36,93	404,10	76,36	28,96

Linearna regresiona analiza je ukazala da se zapreminska gustina mišićnih vlakana tip I ne menja statistički značajno tokom procesa starenja ($F(1,25)=0$, $p=0,998$) (Grafikon 13). Nasuprot napred navedenim mišićnim vlaknima tip I, zapreminska gustina mišićnih vlakana tip II je statistički značajno opadala tokom procesa starenja ($F(1,25)=9,22$; $p=0,006$), što se može predstaviti sledećim modelom: $V_{vII} = 38,9 - 70,19 \times \text{starost}$. Prema tome starost

individue predstavlja značajan prediktor zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II i objašnjava 24% njene ukupne varijanse što predstavlja veliki efekat veličine ($R^2 = 0,24$).



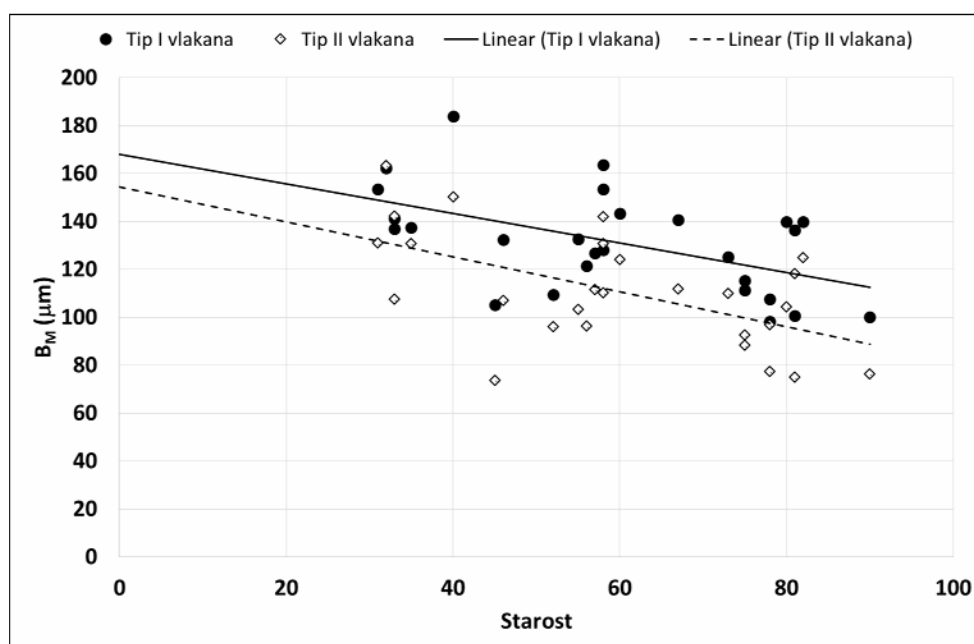
Grafikon 13. Korelacija između zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I i zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II i starosti ispitanih slučajeva.



Grafikon 14. Korelacija između prosečne aree mišićnih vlakana tip I i prosečne aree mišićnih vlakana tip II i starosti ispitanih slučajeva.

Astereološki parametri mišićnih vlakana tip I i tip II pokazuju sličan trend tokom procesa starenja. Tako prosečna area mišićnih vlakana tip I ($F(1,25)=8,38'$ $p=0,008$) i pro-

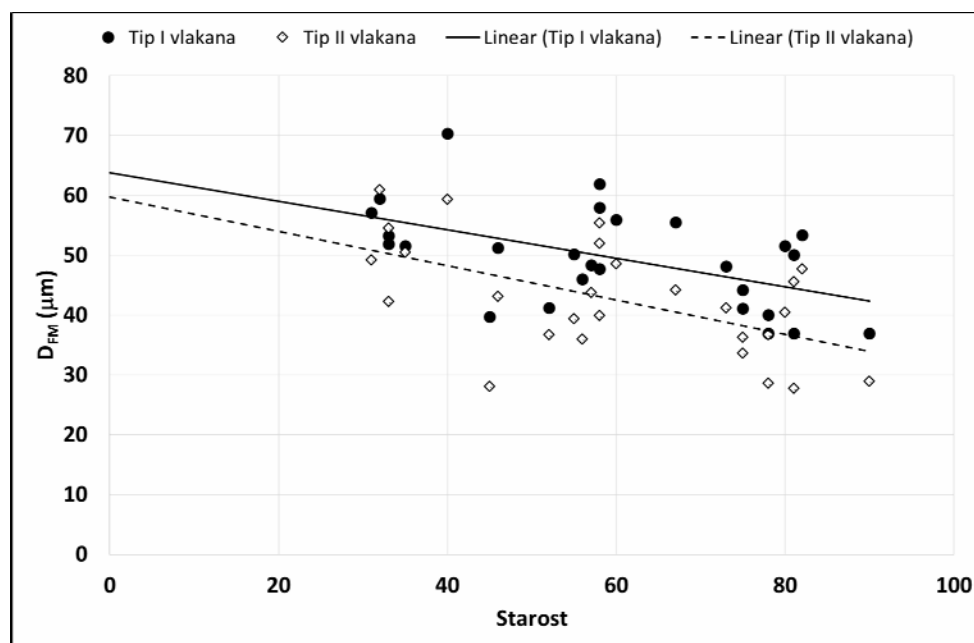
sečna area mišićnih vlakana tip II ($F(1,25)=10,76$; $p=0,003$) statistički značajno opadaju tokom procesa starenja (Grafikon 14). Starost predstavlja značajan prediktor u oba slučaja i taj odnos se može prikazati uz pomoću sledeća dva modela: $A_{MI} = 1848,97 - 10,69 \times \text{starost}$ i $A_{MII} = 1446,84 - 10,29 \times \text{starost}$. Starost objašnjava 22% ($R^2=0,22$) ukupne varijanse aree mišićnih vlakana tip I i 27% ($R^2=0,27$) ukupne varijanse mišićnih vlakana tip II što predstavlja veliki efekat veličine u oba slučaja. Linearna regresiona analiza je ukazala da starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog perimetra mišićnih vlakana tip I ($F(1,25)=9,52$; $p=0,005$) i mišićnih vlakana tip II ($F(1,25)=11,61$; $p=0,002$). Njegova vrednost u oba slučaja statistički značajno opada tokom procesa starenja (Grafikon 15) i napred navedeni odnos se može identifikovati uz pomoću sledeća dva modela: $B_{MI} = 168,04 - 0,62 \times \text{starost}$ i $B_{MII} = 157,43 - 0,73 \times \text{starost}$. Starost objašnjava 25% ($R^2=0,25$) ukupne varijanse prosečnog perimetra mišićnih vlakana tip I i 29% ($R^2=0,29$) ukupne varijanse prosečnog perimetra mišićnih vlakana tip II, što u oba slučaja predstavlja veliki efekat veličine.



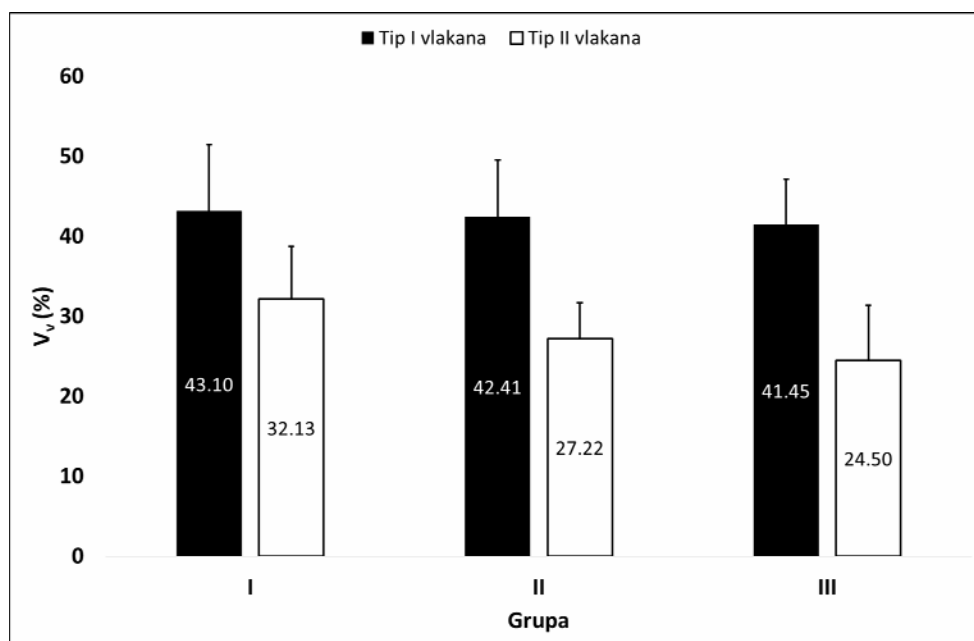
Grafikon 15. Korelacija između perimetra mišićnih vlakana tip I i perimetra mišićnih vlakana tip II i starosti ispitanih slučajeva.

Rezultati linearne regresione analize su ukazali da starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I ($F(1,25)=9,37$, $p=0,005$) i mišićnih vlakana tip II ($F(1,25)=11,46$, $p=0,002$). Vrednosti napred navedenog parametra statistički značajno opadaju tokom procesa starenja (Grafikon 16) što se može predstaviti uz pomoć sledeća dva modela: $D_{FMI} = 63,74 - 0,24 \times \text{starost}$ i $D_{FMI} = 59,76 -$

0,29 x starost. Starost objašnjava 24% ($R^2=0,24$) ukupne varijanse prosečnog Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I i 29% ($R^2=0,29$) ukupne varijanse prosečnog Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip II, što u oba slučaja predstavlja veliki efekat veličine.



Grafikon 16. Korelacija između Feret - ovog dijametra mišićnih vlakana tip I i Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip II i starosti ispitanih slučajeva.



Grafikon 17. Prosečna zapreminska gustina mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih starosnih grupa.

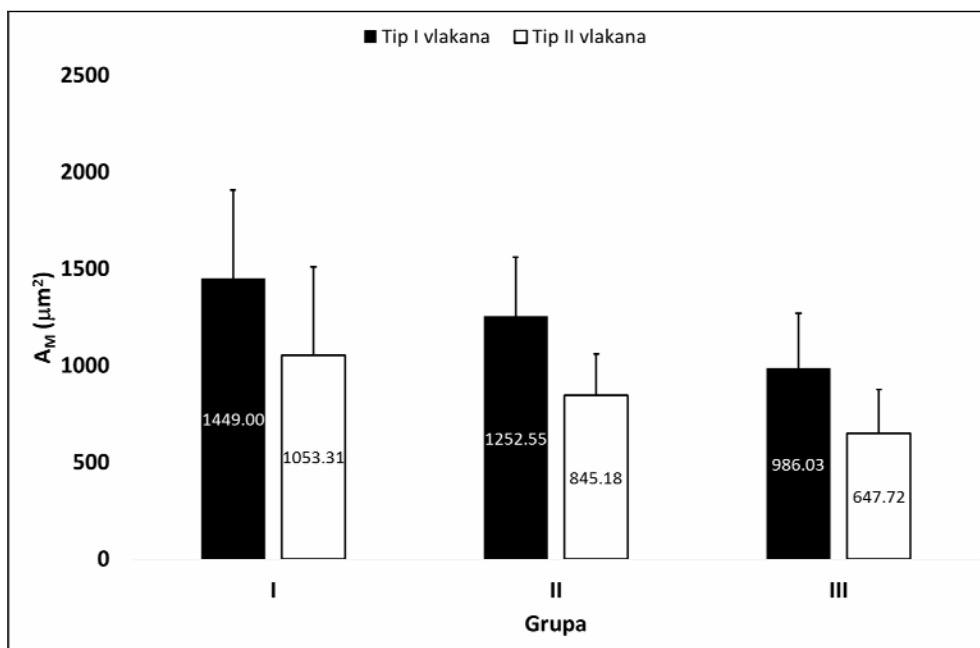
Prosečne vrednosti morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II velikog bedrenog mišića analiziranih starosnih grupa su prikazane u tabeli 5.

Tabela 5. Prosečne vrednosti morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih starosnih grupa.

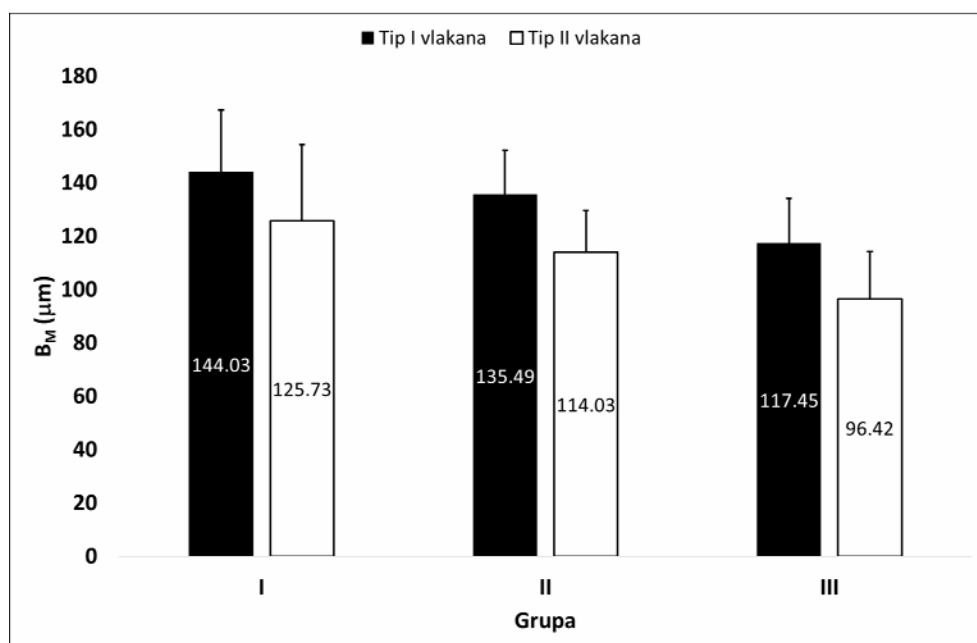
Parametar	Grupa	N	Prosek	SD
V_vI (%)	I	8	43,10	8,36
	II	9	42,41	7,09
	III	10	41,45	5,70
V_vII (%)	I	8	32,13	6,62
	II	9	27,22	4,44
	III	10	24,50	6,88
A_MI (μm²)	I	8	1449,00	458,38
	II	9	1252,55	308,36
	III	10	986,03	282,97
B_MI (μm)	I	8	144,03	23,18
	II	9	135,49	16,63
	III	10	117,45	16,74
D_{FM}I (μm)	I	8	54,34	8,69
	II	9	51,65	6,58
	III	10	43,94	6,44
A_MII (μm²)	I	8	1053,31	458,10
	II	9	845,18	215,30
	III	10	647,72	227,22
B_MII (μm)	I	8	125,73	28,63
	II	9	114,03	15,59
	III	10	96,42	17,77
D_{FM}II (μm)	I	8	48,52	10,67
	II	9	44,01	6,82
	III	10	36,70	7,07

Rezultati One Way ANOVA testa su ukazali na statistički značajan pad prosečne zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II ($F(2,24)=3,52$; $p=0,046$), dok se ista mišićna vlakna tip I nije statistički značajno razlikovala između analiziranih starosnih grupa ($F(2,24)=0,13$; $p=0,883$) (Grafikon 17). Tukey-Kramer post hoc test je dodatno ukazao da su vrednosti prosečne zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II u I starosnoj grupi statistički značajno više u odnosu na istu slučajeva III starosne grupe ($p<0,05$). Vrednosti napred navedenog parametra I starosne grupe su više u odnosu na istu II starosne grupe, dok su vrednosti

prosečne zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II druge starosne grupe više u odnosu na iste III starosne grupe, ali napred navedene razlike nisu statistički značajne ($p > 0,05$).



Grafikon 18. Prosečna area mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 19. Prosečan perimetar mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih starosnih grupa.

Trend astereoloških parametara tokom procesa starenja mišićnih vlakana tip I i tip II je veoma sličan.

Prosečna area mišićnih vlakana tip I ($F(2,24)=3,96$; $p=0,033$) i tip II ($F(2,24)=3,82$; $p=0,036$) se statistički značajno razlikuje između analiziranih grupa (Grafikon 18). Tukey-Kramer post hoc test je dodatno ukazao da su, slično kao i u slučaju prosečne zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II, prosečne vrednosti napred navedenih parametara statistički značajno više u I u odnosu na III starosnu grupu ($p<0,05$). Vrednosti ovih parametara I starosne grupe su više u I u odnosu na II, zatim u II u odnosu na III starosnu grupu, ali te razlike nisu statistički značajne ($p>0,05$). Prosečan perimetar mišićnih vlakana tip I ($F(2,24)=4,76$, $p=0,018$) i tip II ($F(2,24)=4,50$; $p=0,022$) (Grafikon 19), kao i prosečan Feret-ov dijametar mišićnih vlakana tip I ($F(2,24)=5,17$; $p=0,014$) i tip II ($F(2,24)=4,79$; $p=0,018$) (Grafikon 20) se statistički značajno razlikuju između analiziranih starosnih grupa. Tukey-Kramer post hoc test je dodatno ukazao da napred navedeni parametri imaju identičan trend prosečnim vrednostima aree mišićnih vlakana tip II. Naime vrednosti napred navedenih parametara su bile statistički značajno više u I u odnosu na III starosnu grupu ($p<0,05$), dok sve ostale razlike nisu statistički značajne ($p>0,05$).

T test za dva zavisna uzorka je ukazao da su u prvoj starosnoj grupi prosečne vrednosti zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I više u odnosu na istu tip II, ali da ta razlika nije statistički značajna ($p>0,05$) (Grafikon 17). Prosečna area ($T=3,42$, $SS=7$, $p=0,011$) (Grafikon 18), zatim perimetar ($T=3,56$; $SS=7$; $p=0,009$) (Grafikon 19) i Feret-ov dijametar ($T=3,003$; $SS=7$; $p=0,02$) (Grafikon 20) mišićnih vlakana tip I je statistički značajno viši u odnosu na iste tipa II u napred navedenoj grupi. U II starosnoj grupi su pored prosečne aree ($T=9,14$; $SS=8$; $p<0,0001$) (Grafikon 18), prosečnog perimetra ($T=11,48$, $SS=8$; $p<0,0001$) (Grafikon 19), prosečnog Feret-ovog dijametra ($T=8,86$, $SS=8$, $p<0,0001$) (Grafikon 20) i vrednosti prosečne zapreminske gustine ($T=3,99$; $SS=8$; $p=0,004$) (Grafikon 17) mišićnih vlakana tip I statistički značajno više u odnosu na iste tip II. Konačno u III starosnoj grupi prosečna zapreminska gustina ($T=4,81$; $SS=9$; $p=0,001$) (Grafikon 17), prosečna area ($T=7,66$, $SS=9$, $p<0,001$) (Grafikon 18), prosečan perimetar ($T=9,65$, $SS=9$, $p<0,0001$) (Grafikon 19) i prosečan Feret-ov dijametar ($T=10,09$, $SS=9$, $p<0,0001$) mišićnih vlakana tip I i tip II zadržavaju identičan trend istim u II starosnoj grupi sa statistički značajno višim vrednostima napred navedenih parametara mišićnih vlakana tip I u odnosu na iste tip II.

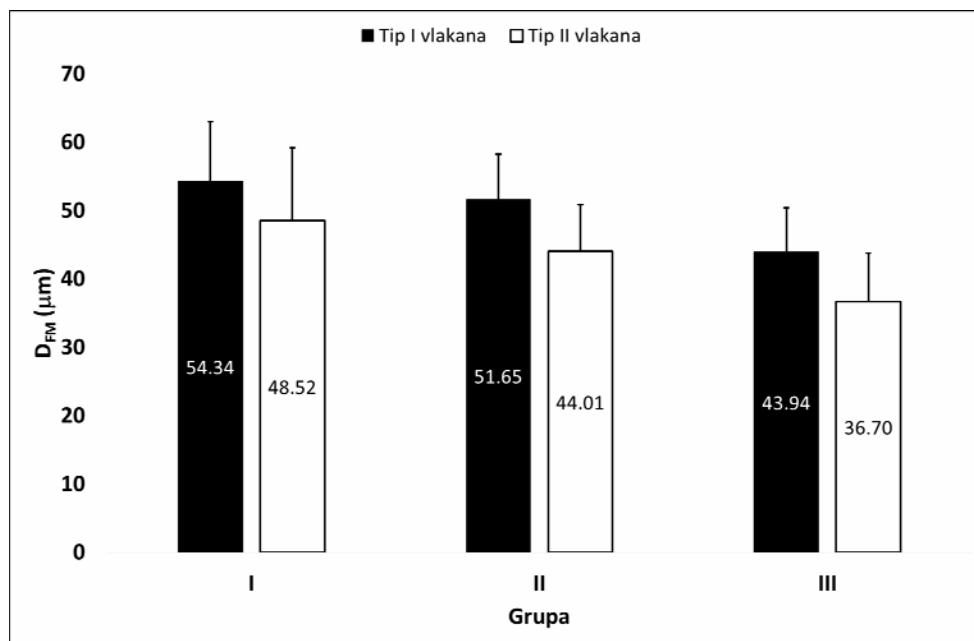
Prosečne vrednosti morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II slučajeva muškog i ženskog pola su prikazane u tabeli 6.

Tabela 6. Prosečne vrednosti morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II slučajeva muškog i ženskog pola.

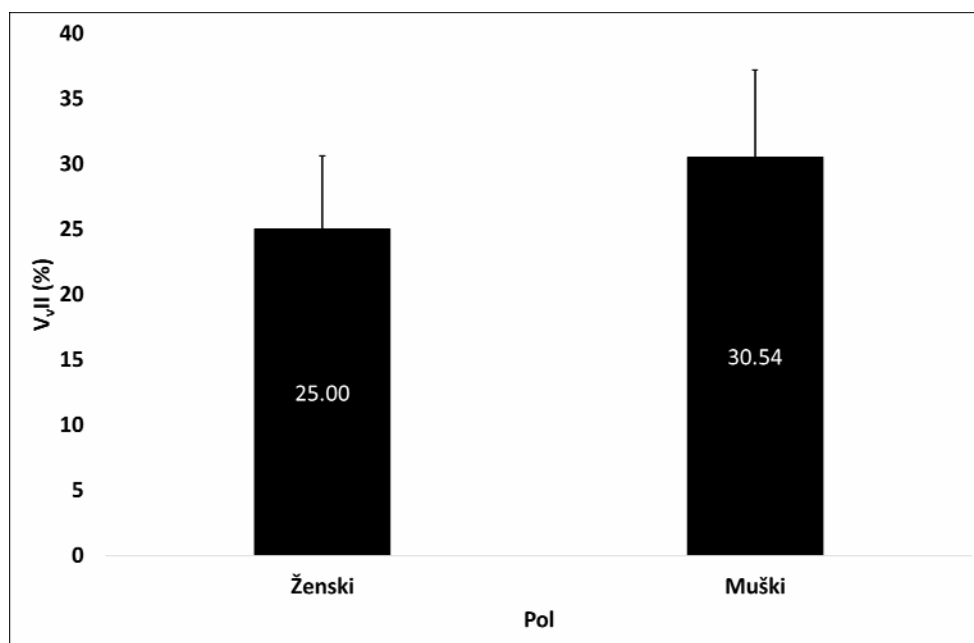
Parametar	Pol	N	Prosek	SD
V_VI (%)	Ženski	14	42,57	5,34
	Muški	13	41,93	8,28
V_VII (%)	Ženski	14	25,00	5,63
	Muški	13	30,54	6,67
A_MI (μm²)	Ženski	14	1112,88	234,29
	Muški	13	1318,85	493,91
B_MI (μm)	Ženski	14	126,69	14,83
	Muški	13	136,34	26,43
D_{FM}I (μm)	Ženski	14	47,82	6,16
	Muški	13	51,50	10,00
A_MII (μm²)	Ženski	14	743,25	223,62
	Muški	13	931,14	423,21
B_MII (μm)	Ženski	14	104,84	17,43
	Muški	13	117,58	28,03
D_{FM}II (μm)	Ženski	14	40,20	7,06
	Muški	13	45,27	10,97

Rezultati T - testa za dva nezavisna uzorka su ukazali da su vrednosti prosečne aree, perimetra, Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I i tip II više kod slučajeva muškog pola, ali te razlike nisu statistički značajne ($p > 0,05$). Prosečna zapreminska gustina mišićnih vlakana tip I je viša kod slučajeva ženskog pola, ali kao i u slučaju gore navedenih parametara ta razlika nije statistički značajna ($p > 0,05$).

Konačno, prosečna zapreminska gustina mišićnih vlakana tip II je statistički značajno viša kod slučajeva muškog pola ($T=2,34$; $SS=25$; $p=0,028$) (Grafikon 21). Ipak, kako su slučajevi ženskog pola statistički značajno stariji od slučajeva muškog pola ne može se pouzdano zaključiti da li je uočena razlika posledica procesa starenja ili polnih razlika.



Grafikon 20. Prosečan Feret-ov dijametar mišićnih vlakna tip I i tip II analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 21. Prosečna zapreminska gustina mišićnih vlakana tip II kod slučajeva muškog i slučajeva ženskog pola.

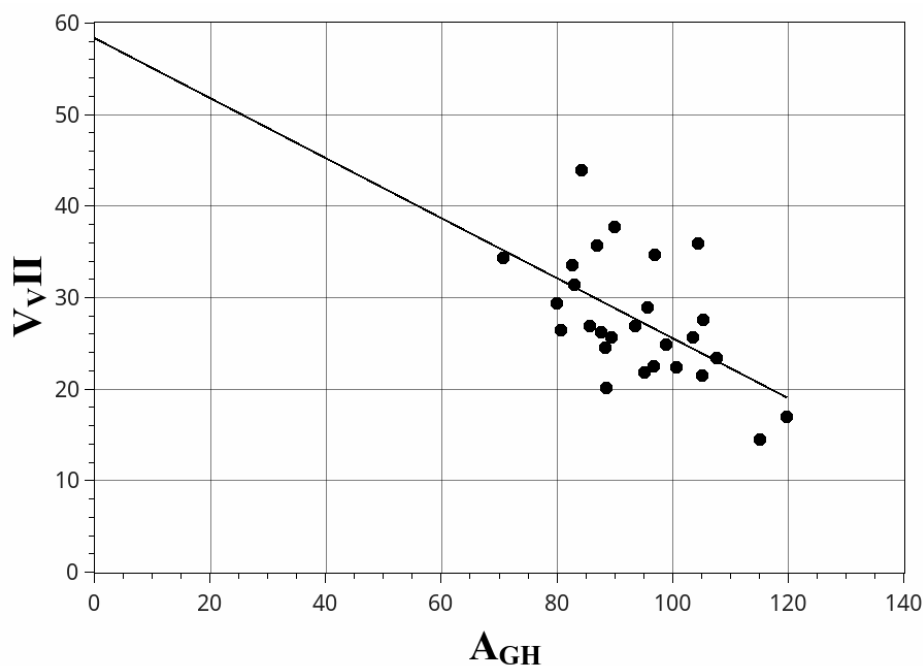
4.2.3. Korelaciona analiza između morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize i morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića.

Rezultati korelacione analize između morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize i morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II velikog bedrenog mišića su prikazani u tabeli 7.

Tabela 7. Korelacije između morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize i morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II velikog bedrenog mišića analiziranih slučajeva.

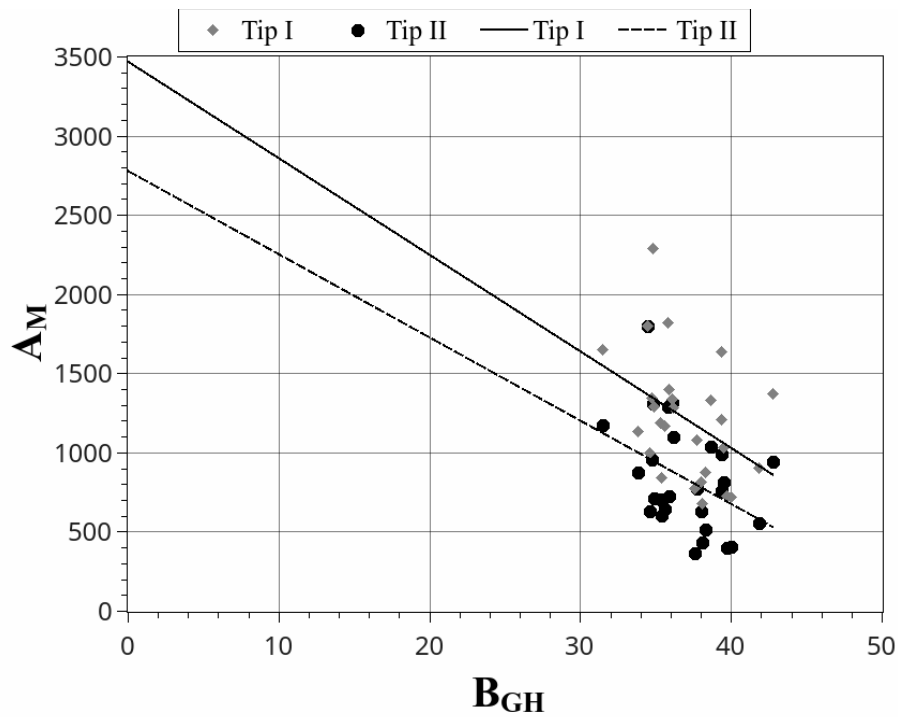
Varijabla	Parametar	V _V I	V _V II	A _M I	B _M I	D _{FM} I	A _M II	B _M II	D _{FM} II
A _{GH}	R	0,32	-0,56	-0,35	-0,35	-0,34	-0,33	-0,31	-0,28
	p	0,10	<0,001	0,08	0,08	0,09	0,09	0,11	0,16
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
B _{GH}	R	0,21	-0,55	-0,41	-0,42	-0,41	-0,40	-0,39	-0,36
	p	0,29	<0,001	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,06
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
D _{FGH}	R	0,24	-0,57	-0,40	-0,41	-0,39	-0,41	-0,39	-0,36
	p	0,23	<0,001	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,06
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
A _{nGH}	R	0,43	-0,20	0,10	0,14	0,16	0,11	0,20	0,24
	p	0,02	0,31	0,61	0,48	0,42	0,58	0,31	0,23
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
B _{nGH}	R	0,42	-0,21	0,06	0,11	0,13	0,07	0,17	0,21
	p	0,03	0,29	0,75	0,59	0,52	0,72	0,39	0,30
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
D _{FnGH}	R	0,42	-0,23	0,03	0,07	0,10	0,02	0,12	0,16
	p	0,03	0,24	0,90	0,72	0,63	0,93	0,54	0,41
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
(N/C) _{GH}	R	0,16	0,26	0,38	0,42	0,43	0,38	0,45	0,45
	p	0,44	0,18	0,05	0,03	0,03	0,05	0,02	0,02
	N	27	27	27	27	27	27	27	27
V _{VGH}	R	-0,05	0,29	0,07	0,08	0,07	0,10	0,09	0,11
	p	0,82	0,14	0,72	0,70	0,73	0,62	0,64	0,60
	N	27	27	27	27	27	27	27	27

Prosečna area somatotropnih ćelija adenohipofize je statistički značajno i snažno negativno korelirala sa zapreminskom gustinom mišićnih vlakana tip II (Tabela 7; Grafikon 22). Negativna korelacija umerenog intenziteta je uočena i između prosečne aree somatotropnih ćelija i prosečne aree, perimetra i Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I, kao i prosečne aree, perimetra i Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip II, ali napred navedene korelacije nisu bile statistički značajne (Tabela 7).

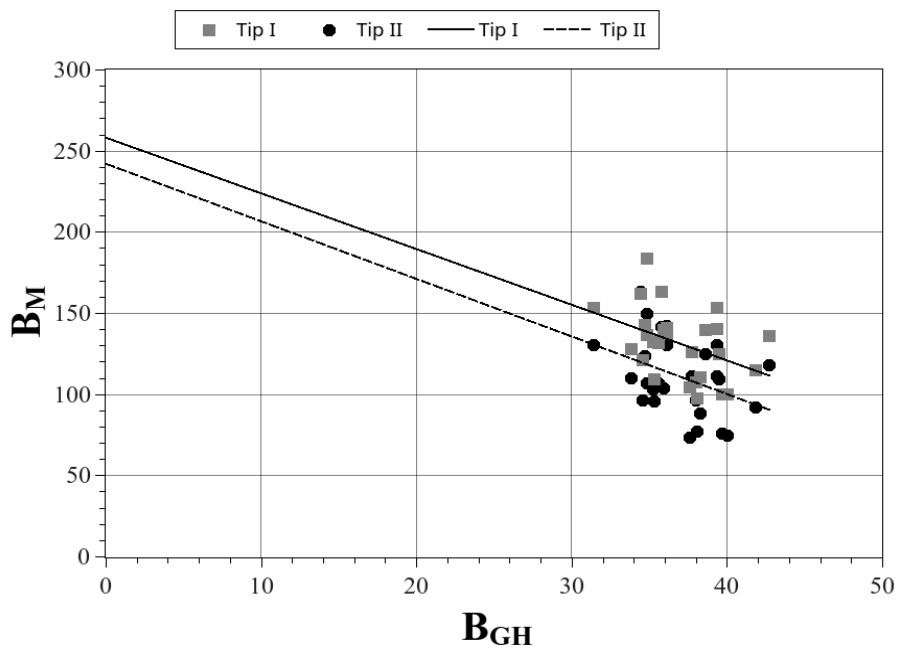


Grafikon 22. Korelacija između aree somatotrofnih ćelija adenohipofize i zapremnske gustine mišićnih vlakana tip II analiziranih slučajeva.

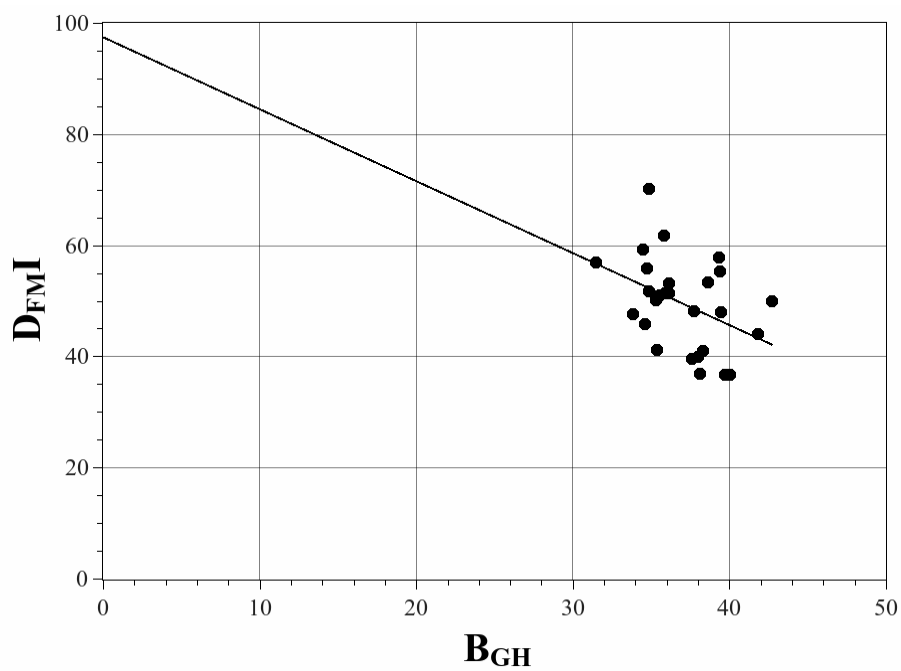
Nasuprot aree, prosečan perimetar i Feret-ov dijametar somatotrofnih ćelija adenohipofize pokazuju identičan trend. Naime, snažna statistički značajna negativna korelacija (Tabela 7) uočena je između prosečnog perimetra somatotrofnih ćelija i zapremnske gustine mišićnih vlakana tip II (Grafikon 22), zatim aree (Grafikon 23), perimetra (Grafikon 24) i Feret-ovog dijametra (Grafikon 25) mišićnih vlakana tip I i, aree (Grafikon 23) i perimetra (Grafikon 25) mišićnih vlakana tip II analiziranih slučajeva. Kao i u slučaju perimetra, snažna statistički značajna negativna korelacija (Tabela 7) uočena je i između Feret-ovog dijametra somatotrofnih ćelija i zapremnske gustine mišićnih vlakana tip II (Grafikon 26), kao i između Feret-ovog dijametra somatotrofnih ćelija i prosečne aree (Grafikon 27), perimetra (Grafikon 28) i Feret-ovog dijametra (Grafikon 29) mišićnih vlakana tip I i prosečne aree (Grafikon 27) i perimetra (Grafikon 28) mišićnih vlakana tip II analiziranih slučajeva.



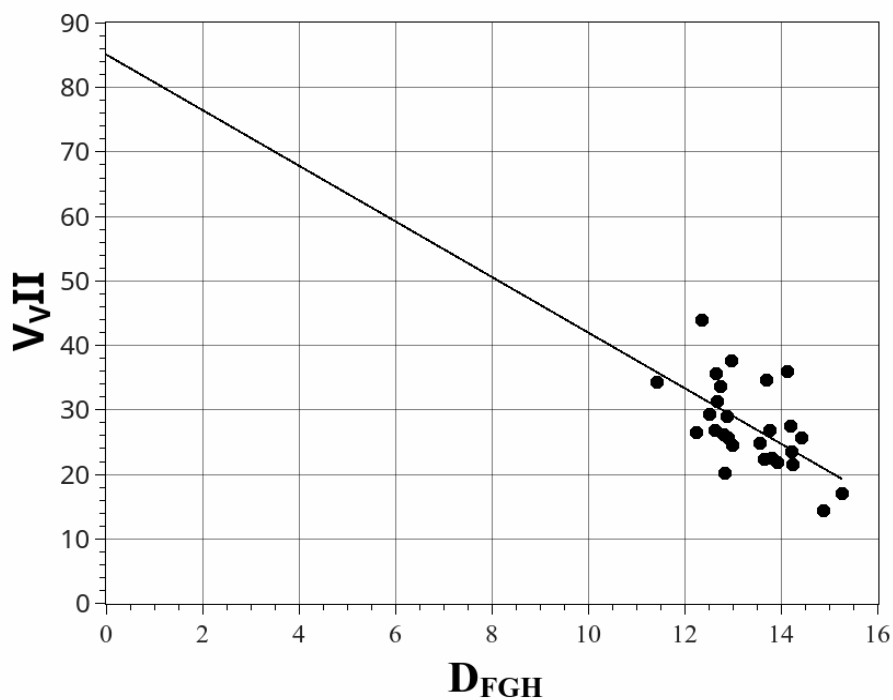
Grafikon 23. Korelacija između perimetra somatotropnih ćelija adenohipofize i aree mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.



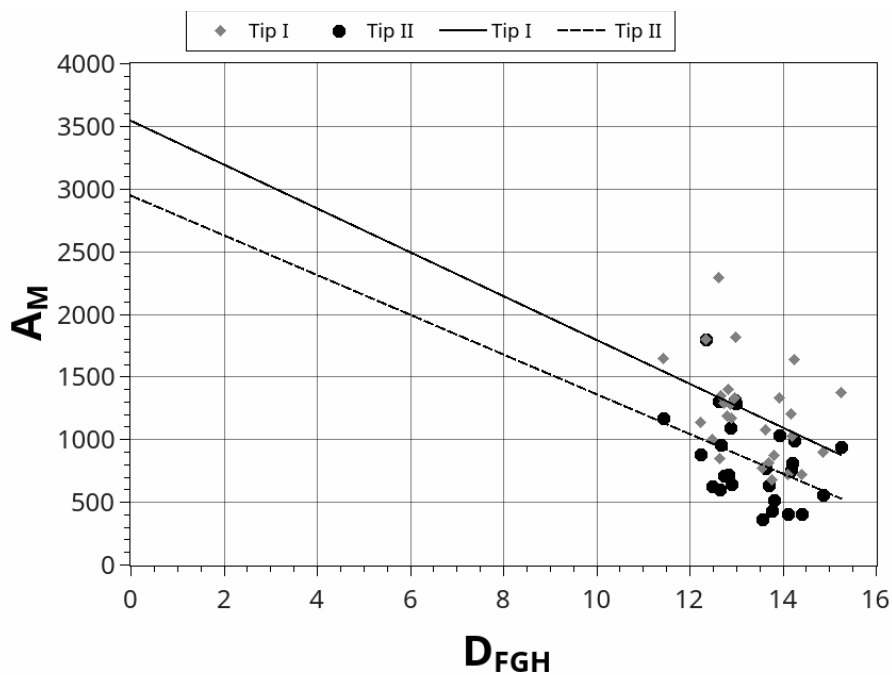
Grafikon 24. Korelacija između perimetra somatotropnih ćelija adenohipofize i perimetra mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.



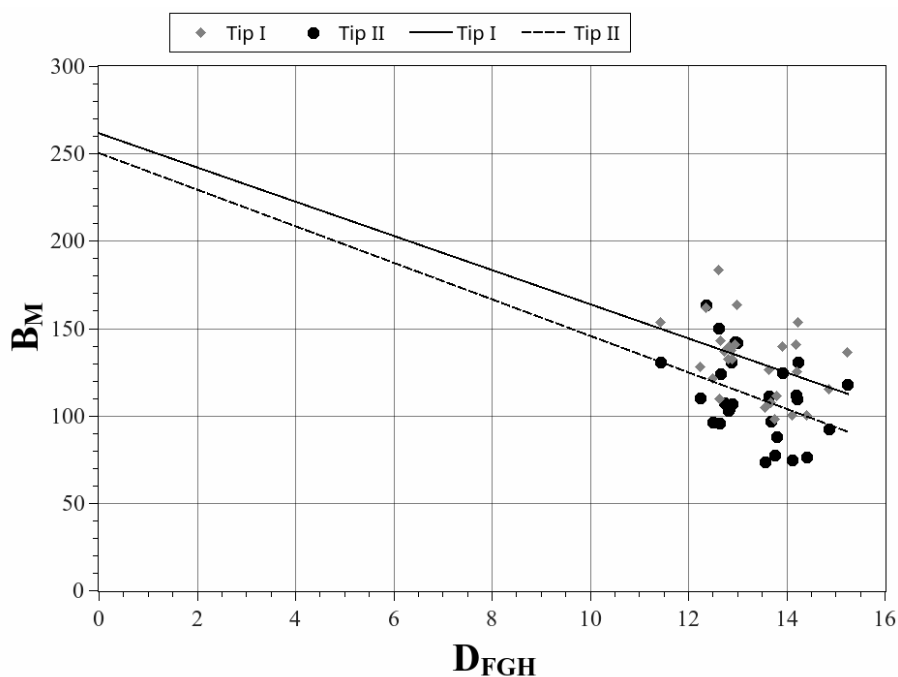
Grafikon 25. Korelacija između perimetra somatotropnih ćelija adenohipofize i Feret - ovog dijametra mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva.



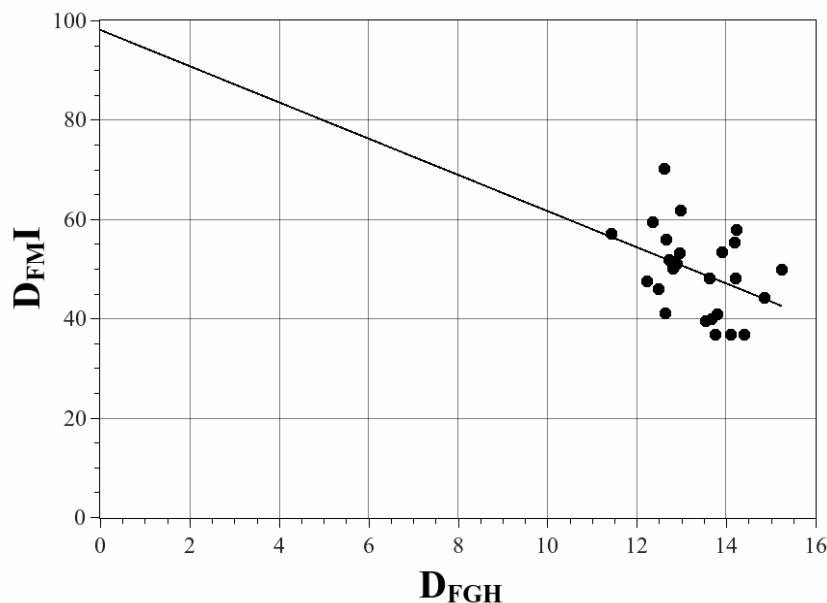
Grafikon 26. Korelacija između Feret-ovog dijametra somatotropnih ćelija adenohipofize i i zapreminske gustine mišićnih ćelija tip II analiziranih slučajeva.



Grafikon 27. Korelacija između Feret - ovog dijametra somatotropnih ćelija adenohipofize i aree mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.

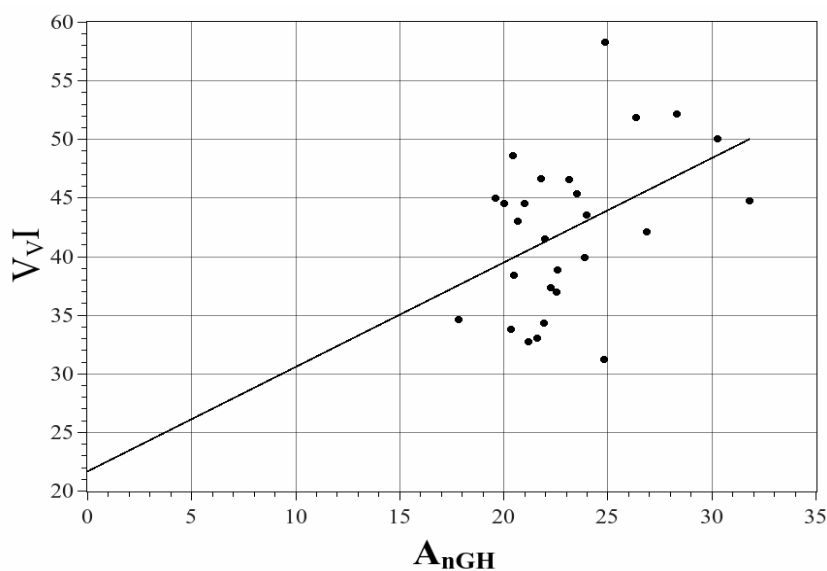


Grafikon 28. Korelacija između Feret - ovog dijametra somatotropnih ćelija adenohipofize i perimetre mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.

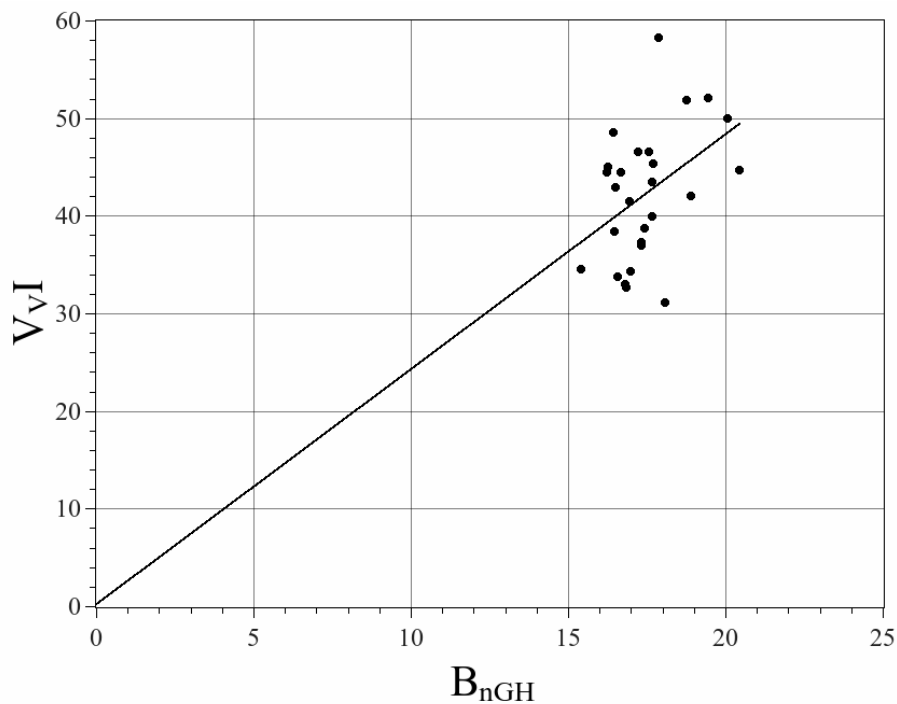


Grafikon 29. Korelacija između Feret-ovog dijametra somatotropnih ćelija adenohipofize i Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva.

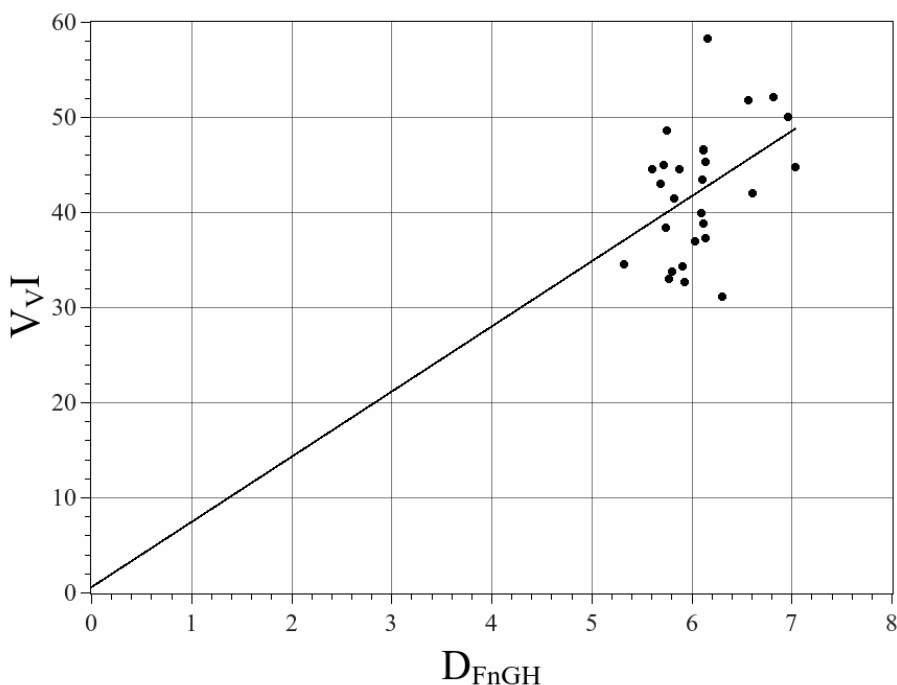
Kada su u pitanju morfometrijski parametri jedara somatotropnih ćelija adenohipofize, jaka statistički značajna korelacija (Tabela 7) je uočena između nuklearne aree (Grafikon 30), perimetra (Grafikon 31) i Feret-ovog dijametra (Grafikon 32) somatotropa i zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva.



Grafikon 30. Korelacija između nuklearne aree somatotropnih ćelija adenohipofize i zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva.



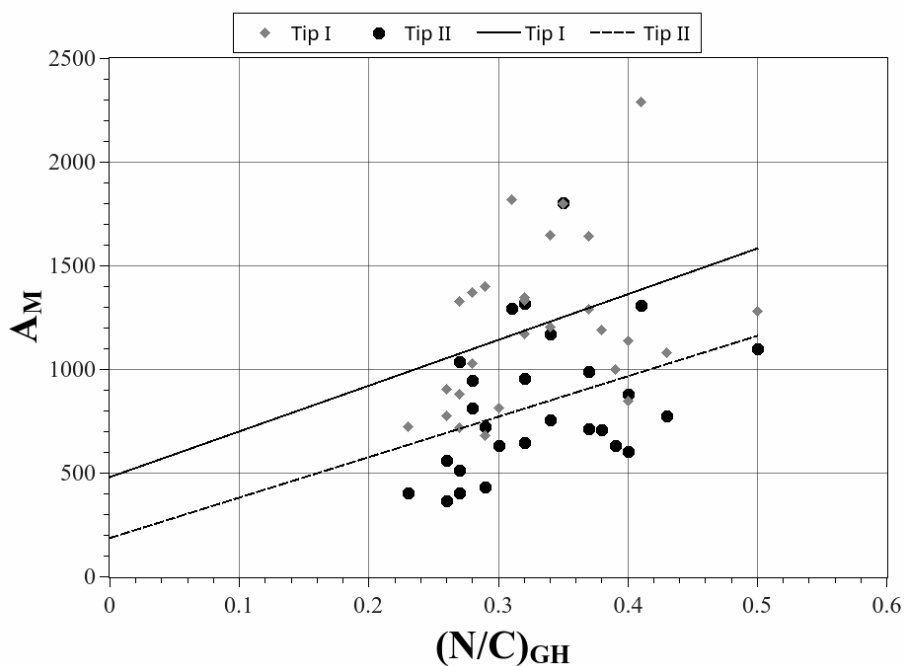
Grafikon 31. Korelacija između nuklearnog perimetra somatotropnih ćelija adenohipofize i zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva.



Grafikon 32. Korelacija između nuklearnog Feret-ovog dijametra somatotropnih ćelija adenohipofize i zapreminske gustine mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva.

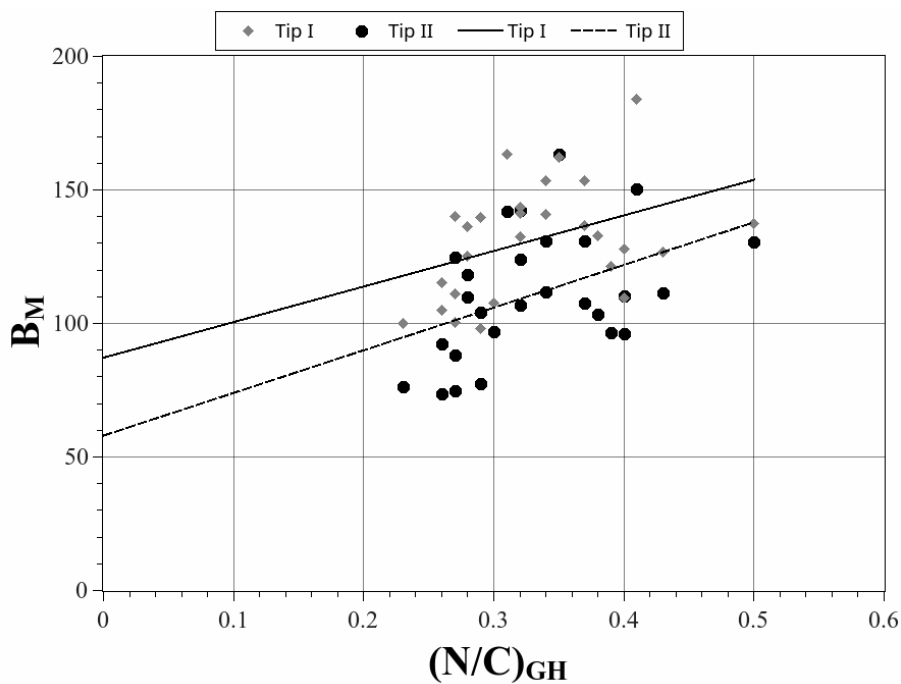
Nukleo-citoplazmatski odnos somatotropa adenohipofize umereno snažno signifikantno korelira sa areom mišićnih vlakana tip I i areom mišićnih vlakana tip II (Tabela 7; Grafi-

kon 33). Dodatno, jaka, statistički signifikantna korelacija je uočena između njegovih vrednosti i vrednosti perimetra (Tabela 7; Grafikon 34), odnosno Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I (Tabela 7; Grafikon 35), kao i između njegovih vrednosti i vrednosti perimetra (Tabela 7; Grafikon 34) i Feret-ovog dijametra (Tabela 7; Grafikon 35) mišićnih vlakana tip II analiziranih slučajeva.

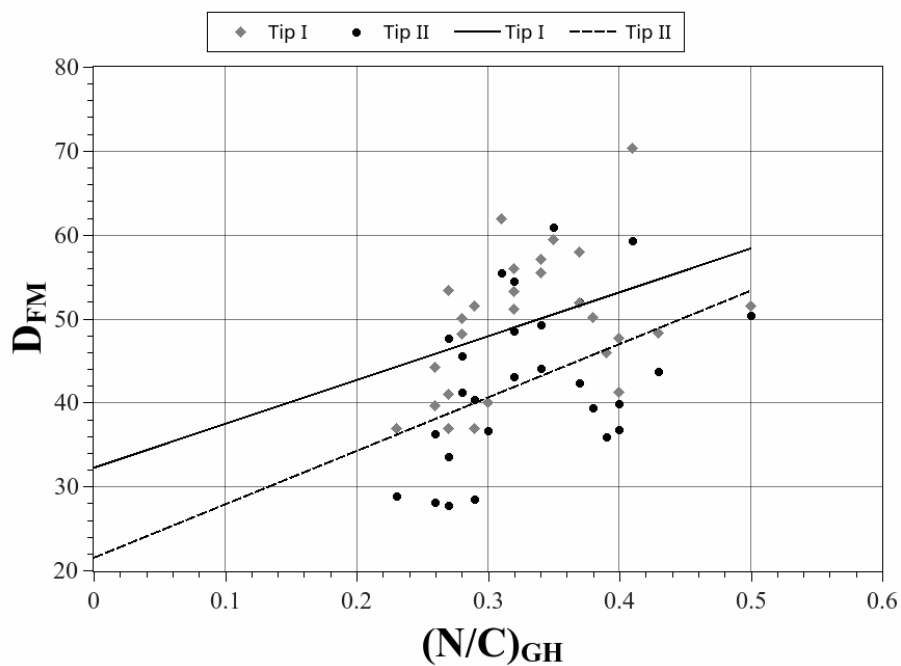


Grafikon 33. Korelacija između nukleo-citoplazmatskog odnosa somatotropnih ćelija adenohipofize i aree mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.

Rezultati linearne regresione analize su dodatno ukazali da area somatotropnih ćelija predstavlja statistički značajan prediktor zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II ($F(1,25)=11,28$; $p=0,003$). Taj odnos se može identifikovati sledećim modelom: $VV_{II} = 58.31 - 0.33 \times AGH$. Area somatotropnih ćelija adenohipofize može da objasni 31% ($R^2 = 0.31$) ukupne varijanse zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II, što predstavlja veliki efekat veličine.



Grafikon 34. Korelacija između nukleo-citoplazmatskog odnosa somatotropnih ćelija adenohipofize i perimetra mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.



Grafikon 35. Korelacija između nukleo-citoplazmatskog odnosa somatotropnih ćelija adenohipofize i Feret - ovog dijametra mišićnih vlakana tip I i tip II analiziranih slučajeva.

Nasuprot arei, perimetar somatotropnih ćelija adenohipofize predstavlja statistički značajan prediktor zapreminske gustine ($F(1,25)=10,87$; $p=0,003$; identifikovani model: $V_{vII} = 79,80 - 1,41 \times B_{GH}$), aree ($F(1,25)=4,79$; $p=0,038$; identifikovani model: $A_{MII} = 2779,36 - 52,56 \times B_{GH}$) i perimetra ($F(1,25)=4,53$; $p=0,043$; identifikovani model: $B_{MII} = 242,17 - 3,54 \times B_{GH}$) mišićnih vlakana tip II, kao i aree ($F(1,25)=5,03$; $p=0,034$; identifikovani model: $A_{MI} = 3469,66 - 60,99 \times B_{GH}$), perimetra ($F(1,25)=5,31$; $p=0,03$; identifikovani model: $B_{MI} = 258,25 - 3,43 \times B_{GH}$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,25)=4,97$; $p=0,035$; $D_{FMI} = 97,49 - 1,29 \times B_{GH}$) mišićnih vlakana tip I analiziranih slučajeva. Perimetar objašnjava 30% ($R^2=0,30$) ukupne varijanse zapreminske gustine, 16% ($R^2=0,16$) ukupne varijanse aree i, 15% ($R^2=0,15$) ukupne varijanse perimetra mišićnih vlakana tip II, kao i 17% ($R^2=0,17$) ukupne varijanse aree, 18% ($R^2=0,18$) ukupne varijanse perimetra i 17% ($R^2=0,17$) ukupne varijanse Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I. To u slučaju zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II predstavlja veliki, dok kada su ostali gore navedeni parametri mišićnih vlakana tip I i tip II u pitanju predstavlja umereni efekat veličine. Identičan trend se uočava i kada je u pitanju Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija adenohipofize. On predstavlja statistički značajan prediktor zapreminske gustine ($F(1,25)=12,31$; $p=0,002$; identifikovani model: $V_{vII} = 85,02 - 4,31 \times D_{FGH}$), aree ($F(1,25)=5,14$; $p=0,032$; identifikovani model: $A_{MII} = 2945,15 - 158,37 \times D_{FGH}$) i perimetra ($F(1,25)=4,61$; $p=0,042$; identifikovani model: $B_{MII} = 250,31 - 10,45 \times D_{FGH}$) tipa II, kao i aree ($F(1,25)=4,78$; $p=0,038$; identifikovani model: $A_{MI} = 3542,64 - 174,81 \times D_{FGH}$), perimetra ($F(1,25)=4,99$; $p=0,035$; identifikovani model: $B_{MI} = 261,73 - 9,78 \times D_{FGH}$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,25)=4,53$; $p=0,043$; identifikovani model: $D_{FMI} = 98,15 - 3,64 \times D_{FGH}$) mišićnih vlakana tip I. Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija adenohipofize objašnjava 33% ($R^2=0,33$) ukupne varijanse zapreminske gustine, zatim 17% ($R^2=0,17$) ukupne varijanse aree, 16% ($R^2=0,16$) ukupne varijanse perimetra mišićnih vlakana tip II, kao i 16% ($R^2=0,16$) ukupne varijanse aree, 17% ($R^2=0,17$) ukupne varijanse perimetra i 15% ($R^2=0,15$) ukupne varijanse Feret-ovog dijametra tipa I mišićnih vlakana. Kao i u slučaju perimetra somatotropnih ćelija, to predstavlja veliki efekat veličine samo u slučaju zapreminske gustine mišićnih vlakana tip II, dok u slučaju ostalih morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II predstavlja umereni efekat veličine. Kada su u pitanju nuklearni morfometrijski parametri somatotropnih ćelija, rezultati linearne regresione analize su ukazali da nuklearna area ($F(1,25)=5,72$; $p=0,025$; identifikovani model: $V_{vI} = 21,66 + 0,89 \times A_{nGH}$), zatim nuklearni perimetar ($F(1,25)=5,45$; $p=0,028$; identifikovani model: $V_{vI} = 0,35 + 2,40 \times A_{nGH}$) i nuklearni Feret-ov dijametar ($F(1,25)=5,39$; $p=0,029$;

identifikovani model: $V_{VI} = 0,40 + 6,89 \times A_{nGH}$) predstavljaju statistički značajne prediktore zapremine gustine mišićnih vlakana tip I. Tako, nuklearna area objašnjava 19% ($R^2=0,19$), nuklearni perimetar 18% ($R^2=0,18$), a nuklearni Feret - ov dijamer 18% ($R^2=0,18$) ukupne varijanse zapremine gustine mišićnih vlakana tip I, što u sva tri slučaja predstavlja umereni efekat veličine. Konačno, nukleo-citoplazmatski odnos somatotropnih ćelija adenohipofize predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,25)=4,34$; $p=0,48$; identifikovani model: $A_{MI} = 142,27 + 4314,69 \times (N/C)_{GH}$), perimetra ($F(1,25)=5,42$; $p=0,028$; identifikovani model: $B_{MI} = 66,78 + 260,37 \times (N/C)_{GH}$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,25)=5,60$; $p=0,026$; identifikovani model: $D_{FMI} = 24,23 + 102,30 \times (N/C)_{GH}$) mišićnih vlakana tip I, kao i aree ($F(1,25)=40,24$, $p=0,05$; identifikovani model: $A_{MII} = 3759,83 \times (N/C)_{GH} - 98,31$), perimetra ($F(1,25)=6,41$; $p=0,018$; identifikovani model: $B_{MII} = 34,68 + 307,73 \times (N/C)_{GH}$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,25)=6,52$; $p=0,017$; identifikovani model: $D_{FMII} = 12,25 + 122,59 \times (N/C)_{GH}$). To na kraju znači, da nukleo-citoplazmatski odnos somatotropnih ćelija objašnjava 15% ($R^2=0,15$) ukupne varijanse aree, 18% ($R^2=0,18$) ukupne varijanse perimetra, 18% ($R^2=0,18$) ukupne varijanse Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip I, kao i 15% ($R^2=0,15$) ukupne varijanse aree, 20% ($R^2=0,20$) ukupne varijanse perimetra i, 21% ($R^2=0,21$) ukupne varijanse tipa Feret-ovog dijametra mišićnih vlakana tip II analiziranih slučajeva.

5. DISKUSIJA

Starenje, kao univerzalni proces koji zahvata sva živa bića i neminovno vodi u smrt, bilo je a i danas je u žiži interesovanja brojnih istraživača u svetu i kod nas. Kada je u pitanju biomedicinski aspekt, do danas nije formulisana jasna i opšte prihvaćena definicija procesa starenja. Savremena medicina još uvek slabo razaznaje i razdvaja patološke poremećaje koji se češće javljaju kod starih individua od bioloških promena koje se normalno javljaju tokom starenja. Među brojnim pitanjima za koje medicina i biogerontologija, kao njen deo koji se bavi biološkim osnovama starenja, nisu dale precizan odgovor. Kada je u pitanju proces starenja najbitnija su ona suštinska, zašto i kako starimo? Možda čovek nikada neće saznati zašto stari jer to pitanje zadire u sferu suštine života i našeg postojanja, ali će uvek težiti da shvati kako i koliko stare pojedini organi i tkiva našeg tela. Saznanja o tome kako, koliko i kada naša tkiva ispoljavaju morfološku, a samim tim i funkcionalnu regresiju sigurno će doprineti otkrivanju metoda kojima će se starenje ublažiti i usporiti što će sigurno dalje doprineti boljem kvalitetu života u dubokoj starosti. Istraživanja u navedenom pravcu su danas sve više opravdana kada se zna da je u svim zemljama naše planete, a naročito onim najrazvijenijim, ljudski vek sve duži i da u ljudskoj populaciji počinju da dominiraju jedinke starije životne dobi.

Rezultati našeg istraživanja, koji su izloženi u prethodnom poglavlju, predstavljaju paralelnu morfološku i morfometrijsku analizu promena na somatotrofnim ćelijama adenohipofize i mišićnim vlaknima psoasnog mišića u toku procesa starenja, kod slučajeva starih od trideset do devedeset godina života. Morfološka analiza navedenih tkiva neminovno ukazuje da su u starijoj životnoj dobi prisutne promene kako na somatotrofnim ćelijama, tako i na mišićnim vlaknima, posebno na mišićnim vlaknima tip II. Napred navedene promene su kvantifikovane tokom morfometrijske analize i nakon toga statistički analizirane, što je omogućilo sagledavanje obima njihovog prisustva kod slučajeva različite životne dobi, praćenje njihove dinamike i analizu njihove uzajamne veze tokom starenja.

Morfometrija, stereologija i asterologija kao njeni delovi, je multidisciplinarna metoda koja iz dvodimenzionalnih preseka neke strukture procenjuje kvantitativni aspekt njene građe. Za početak primene stereologije u biološkim istraživanjima uzima se 1943. godina,

kada je američki histolog Chalkey prvi primenio metodu „pogodaka” u svojim ispitivanjima. Intezivan razvoj stereologije počinje 1961. godine osnivanjem Međunarodnog udruženja za stereologiju (International Society for Stereology). Morfolozima, koji su uglavnom primenjivali opisne analize ili semikvantitativne metode, savremena stereologija omogućila je kvantitativno opisivanje unutrašnje strukture pojedinih tkiva, kao i pouzdano utvrđivanje razlika tkivnih promena sa potrebnom tačnošću. Pouzdano utvrđivanje razlika samo na osnovu kvalitativnih analiza veoma je teško, a ponekad i nemoguće. Morfometrijske metode, međutim, sa pouzdanom tačnošću omogućuju kvantitativno opisivanje dinamike promena u strukturama (Kališnik, 1985). Ova metoda povezuje strukturne promene sa funkcijom i kao što je to naveo Weibel: “Stereologija predstavlja most između strukture i funkcije, koje su samo dva aspekta istog životnog zbivanja” (Elias, 1980; Stefanović, 1987).

U ovom poglavlju rezultate našeg istraživanja sagledaćemo i objasniti u svetlu literaturnih podataka o rezultatima dosadašnjih istraživanja o smanjenju mišićne mase, odnosno o sarkopeniji kao rezultatu procesa starenja, kao i dovesti u vezu napred navedene starosne promene psoasnog mišića sa starosnim promenama somatotropnih ćelija adenohipofize.

Poslednjih decenija sve je veći broj istraživača koji smatra da su za pojedine promene u organizmu koje nastaje tokom procesa starenja odgovorne endokrine žlezde. Šezdesetih godina dvadesetog veka veliki napredak u shvatanju hipotalamusnih regulatornih mehanizama predstavljao je razvoj teorija koje su isticale u prvi plan ulogu oštećenja neuroendokrinih regulatornih mehanizama tokom starenja. U endokrinim, kao i svim ostalim tkivima organizma tokom starenja nastaju strukturalne promene sličnog karaktera koje su praćene promenama u njihovoj funkcionalnoj aktivnosti. Funkcionalne promene u endokrinim žlezdama manifestuju se, pre svega, u promenama sekrecije njihovih produkata tj. hormona. Pri tome, obrazac sekrecije hipotalamusnih i perifernih hormona značajno se razlikuje. Starenjem nivoi pojedinih hormona se povećavaju, drugih opadaju dok se nivoi nekih bitno ne menjaju. Starenje hipofize u funkcionalnom pogledu se manifestuje, pre svega, padom njene sekretorne aktivnosti, što je potvrđeno rezultatima nekih studija u kojima je uočen pad nivoa hormona rasta, prolaktina, tireostimulišućeg hormona i gonadotropina u krvi. Ovakav poremećaj ravnoteže u funkcionisanju endokrinih žlezdi sa starenjem neminovno dovodi do pojave tkz. bolesti starenja koje uključuju mnogobrojne promene, pre svega pad fizioloških funkcija onih organa u kojima napred navedeni hormoni ispoljavaju svoje dejstvo (ciljni organi) (Landfield i sar., 1980; Rudman i sar., 1990; Herman i sar., 2001; Smith i sar., 2005).

U toku starenja uočene su značajne morfološke i funkcionalne promene na različitim nivoima hipotalamo-adenohipofiznih osovina (hipotalamo-pituitarna-gonadalna (HPG), hipotalamo-pituitarna-adrenalna (HPA) i hipotalamo-somatotropna (HSO ili GH) osovina). Degenерativne promene na nivou hipotalamusa, pre svega značajno smanjenje broja neurona i kompenzatorna gliozna, koje se javljaju tokom fiziološkog starenja, mogu biti odgovorne za promene koje nastaju u gore navedenim osovinama. Strukture hipotalamusa, pre svega nervne ćelije koje sačinjavaju jedra njegove sive mase, postaju rezistentnije na signale negativne povratne sprege posredstvom hormona ciljnih žlezdi, čiji rad normalno regulišu. To lančano može preko niza reakcija dovesti do pada nivoa hormona gore navedenih žlezdi, što može povećati rizik za nastanak određenih patoloških stanja tzv. bolesti starenja koja se češće javljaju kod starih individua (Seeman i Robins, 1994). Osobe koje su, usled različitih uzroka, izgubile sposobnost sekrecije somatotropnog hormona ubrzano stare. Na primer, osoba stara pedeset godina, kojoj hormon rasta nedostaje tokom dužeg perioda, verovatno će izgledati kao da ima šestdeset pet godina (Guyton i Hall, 2008). Najverovatnije, da te promene uglavnom predstavljaju posledicu smanjenog deponovanja proteina u većini tkiva u telu, i posledičnog povećavanog taloženja i stvaranja naslaga masti. Fiziološke posledice toga su pojačano stvaranje bora, pad funkcije pojedinih organa, kao i smanjenje mišićne mase i snage. Pad sekrecije hormona rasta od strane somatotropnih ćelija adenohipofize dešava se u određenoj meri i tokom normalnog, fiziološkog starenja. Prvi pokušaji kliničke primene humanog hormona rasta u terapijske svrhe kod starih, inače zdravih individua ukazali su na prisustvo tri veoma značajna njegova efekta koji potencijalno mogu da uspore starenje. To su povećano deponovanje proteina u telu, naročito u mišićima, smanjenje sadržaja masti i, na kraju subjektivni osećaj povećane snage i energije.

Uprkos činjenici da adenohipofiza ima važnu ulogu u održavanju homeostaze u organizmu, studije o njenim strukturnim promenama tokom starenja su veoma oskudne, naročito kvantitativne, koje bi mogle da nam ukažu na intenzitet i dinamiku tih promena. U dostupnoj literaturi predominiraju rezultati studija starijeg datuma koje su sprovedene na eksperimentalnim životinjama, ređe čoveku i uključivale uglavnom primenu semikvantitativnih metoda. Među njima treba istaći istraživanje Sano-a i saradnika (1993) koji su ustanovili prisustvo pada broja somatotropnih ćelija sa starenjem, ali pri tome nisu izneli detaljnije opis dinamike tog pada. Treba istaći i to da su do sada sprovedene kvantitativne imunohistohemijske i elektrono-mikroskopske studije kao materijal tokom istraživanja koristile hipofize eksperimen-

mentalnih životinja, naročito pacova (Takahashi i Kawashima, 1983; Console i sar., 1994, 1995, 1997, 2001; Jurado i sar., 1998).

Kato i sar. (2002) su proučavali morfološke promene hipofize slučajeva različitog uzrasta i pola, sa starenjem. Napred navedeni autori su došli do zaključka da u pubertetu dolazi do promena njenih dimenzije tj. do porasta visine hipofize, sa najvišim vrednostima od treće do pete decenije života. To ima objašnjenje u činjenici da su dimenzije kranijuma manje u prvoj i drugoj deceniji života i da one uslovljavaju manje dimenzije svih struktura unutar kranijuma, a samim tim i hipofize. Ističe se i da je hipofiza najaktivnija kod žena u reproduktivnom periodu između treće i pete decenije. Treba imati u vidu da sa starenjem često dolazi do degenerativnih promena na krvnim sudovima i slabije prokrvljenosti hipofize (Elster i sar., 1990). Isti autori su uočili i promene oblika hipofize sa starenjem što bi moglo biti uslovljeno pritiskom anatomskih struktura koje se nalaze u okolini turskog sedla (*sella turcica*) s jedne, kao i disproporcije između izrazitog povećanja endokrine aktivnosti u tom periodu života uprkos nedovoljnom volumenu intraselarnog prostora, s druge strane.

Starosne promene hipofize, na mikroskopskom nivou, predstavljaju čest predmet interesovanja brojnih istraživača. U centru njihovog interesovanja je dinamika njene celularnosti, prisustva vezivnog tkiva kao i njena prokrvljenost.

Nasuprot prethodnim studijama, koje su istraživale vezu između promena hipotalamusa sa starenjem i prisustva sarkopenije, ovo istraživanje predstavlja pokušaj da se pomoću kvantifikacije somatotropnih ćelija prednjeg režnja hipofize i mišićnih vlakana tip I i tip II psoasnog mišića kod osoba različite životne dobi, izvrši evaluacija korelacije između promena adenohipofiznih somatotropnih ćelija i mišićnih vlakana oba tipa psoasnog mišića sa starenjem.

Shimokawa i saradnici (1996) pokušali su da utvrde uticaj starenja na broj somatotropnih ćelija adenohipofize kod pacova različite starosti. Oni su kod pacova starih 18 meseci imunohistohemijski detektovali citoplazmatsku vakuolizaciju i smanjenu gustinu somatotropnih ćelija adenohipofize. Ovaj nalaz su morfometrijski potvrdili značajnim padom volumenske gustine, numeričke gustine i apsolutnim brojem somatotropnih ćelija kod pacova starijih od 18 meseci. Napred navedeni autori utvrdili su odsustvo značajnih razlika prosečnog volumena somatotropnih ćelija između analiziranih starosnih grupa, dok se volumen njihovog jedra uvećavao nakon osamnaest meseci života. Na osnovu iznetih činjenica Shimokawa i saradnici (1996) su došli do zaključka da je smanjena gustina somatotropnih ćelija posledica njihovog ubrzanog gubitka i smanjenog obnavljanja.

Rezultati Shimokawa-e i saradnika (1996) su u skladu sa već uočenim smanjenjem GH-mRNA, amplitude GH sekrecije, kao i usporenim reagovanjem somatotropnih ćelija na hipotalamusni rilizing faktor (GHRH). Kod čoveka, sekrecija hormona rasta dostiže vrhunac u pubertetu i praćena je visokim nivoima IGF-1 u cirkulaciji. Sa starenjem, nivo hormona rasta opada. Kod starijih muškaraca, dnevno lučenje hormona rasta je 5-20 puta manje nego kod mlađih muškaraca (Perrini i sar., 2010). Drugim rećima, lućenje hormona rasta opada 14% po dekadi, i nakon 60-te godine 35% muškaraca su GH deficijentni (Sattler, 2013). Kod osoba starijih od 70 godina nivoi hormona rasta znaćajno opadaju i iznose približno jednu trećinu u odnosi na nivoe prisutne kod mlađih individua (Goldspink, 2004; Adamo i Farrar, 2006). Prirodno, hormon rasta ima pulsativnu sekreciju. Sa starenjem se znaćajno smanjuje amplituda, dok frekvenca pulsa, poluživot hormona rasta i bazalno lućenje hormona rasta ostaje nepromenjeno (Veldhuis, 2009). Pad sinteze i lućenja hormona rasta praćen je smanjenjem sistemskih IGF-1 nivoa i oštećenjem signalizacije preko IGF-1 receptora usled pada njihove gustine i afiniteta za IGF-1 sa godinama. Štaviše, serumski nivoi IGFBP-4 rast, dok isti IGFBP-3 i IGFBP-5 opadaju sa starenjem, što može dovesti do smanjenja biološke potencije IGF-1 (Giovannini i sar., 2008; Perrini i sar., 2010; Puche i Castilla-Cortazar, 2012; Gong i sar., 2014). Lokalno, mišić koji stari sposoban je da sintetiše IGF-1, ali može biti manje osetljiv na IGF-1, i može imati sposobnost da sintetiše izoformu IGF-1 izazivajući proliferaciju satelitskih ćelija (Rolland i sar., 2008). Goldspink (2004) i Adamo i Farrar (2006) su uočili znaćajno smanjenje lućenja mehanićkim stimulusima indukovane forme IGF-1 ("mehano" hormona rasta - MGH) i bez znaćajnih promena nivoa IGF-1 Ea u skeletnim mišićima zdravih starijih osoba. Takođe, smanjenje sekrecije endogenog hormona rasta tokom starenja praćeno je istovremenom povećanom ekspresijom miostatina u skeletnim mišićima, što funkcionalno vodi ka smanjenju aktivnosti satelitskih ćelija, inhibicije sinteze DNK i proteina, kao i pada ćelijske proliferacije. To sve na kraju rezultira razvojem sarkopenije kod starih individua (Marcell i sar., 2001).

Rezultati naše morfometrijske analize ukazali su na znaćajan porast velićine somatotropnih ćelija, dok je velićina njihovih jedara ostala nepromenjena sa godinama. Porast prosećne aree somatotropnih ćelija u drugoj starosnoj grupi najverovatnije predstavlja znak njihove hipertrofije u cilju održavanja normalnih nivoa sekrecije GH. Porast velićine somatotropnih ćelija i odsustvo praćećeg porasta velićine njihovih jedara rezultira znaćajnim padom njihovog nukleo-citoplazmatskog odnosa, i to naroćito kod slućajeva 70 godina i starijih, što ukazuje na njihovu smanjenu funkcionalnu aktivnost, odnosno smanjeno lućenje hormona

rasta. Nasuprot napred navedenom, volumenska gustina somatotropnih ćelija značajno opada sa godinama života. To, zajedno sa porastom aree somatotropnih ćelija može indirektno da ukaže na gubitak somatotropnih ćelija sa starenjem, pri čemu bi, gore opisana hipertrofija somatotropnih ćelija predstavljala kompenzatornu adaptaciju preostalih somatotropnih ćelija u cilju očuvanja sekrecije hormona rasta. Ipak, kako izgubljene somatotropne ćelije ne bivaju zamenjene novim, preostale hipertrofične ćelije se vremenom funkcionalno iscrpljuju i luče manje količine hormona rasta, što indirektno potvrđuje pad nukleo-citoplazmatskog odnosa kao njihovog funkcionalnog parametra. Zajedno, hipertrofija i funkcionalni pad somatotropnih ćelija postaju značajni nakon 70. godine starosti, što je u skladu sa navedenim literaturnim podacima o funkcionalnom padu GH/IGF-1 osovine i gubitkom i atrofijom mišićnih vlakana tip II. Štaviše, korelaciona i linearna regresiona analiza potvrdile su prisustvo od ume-rene do veoma snažne veze između gubitka, hipertrofije i opadanja funkcionalnih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize i atrofije mišićnih vlakana tip I i tip II, kao i gubitak mišićnih vlakana tip II tokom starenja kod čoveka.

Slično nama Sun i saradnici (1984) su tokom svog istraživanja na humanim hipofizama uočili značajan pad broja i veličine somatotropnih ćelija. Console i saradnici (1993) su proučavajući hipofize pacova, kvantitativnom imunohistohemijskom analizom ustanovili značajan pad broja, volumenske i površinske gustine, kao i blaži, ali ipak signifikantni pad vrednosti aree i perimetra somatotropnih ćelija. Gore navedeni autori (Console i sar., 1994) su uočili smanjenje broja i drugih ćelijskih tipova adenohipofize, kao što su npr. Gonadotropne ćelije (FSH i LH) pri čemu ovaj pad nije bio praćen odgovarajućim padom nivoa LH i FSH. Console i saradnici (1995) su takođe izneli podatak da sa starenjem dolazi do značajnog pada broja, volumenske i površinske gustine kao i pad aree i perimetra tireotropnih ćelija što je praćeno porastom bazalnih serumskih nivoa TSH. Isti istraživači su 1997. i 2001. godine dokazali i prisusvo značajnog pada broja i veličine laktotropnih ćelija kod pacova muškog pola dok su kod pacova ženskog pola registrovali samo pad celularne gustine istih. Nivoi prolaktina su u serumu tokom starenja pokazali značajan porast kod ženskog, dok kod muškog pola nisu uočene značajne promene.

Danilova i sar. (1988) su analiziranjem ultrastrukturnih promena svih tipova endokrinih ćelija adenohipofize pacova uočili promene na svim ćelijskim organelama sa starenjem: na njihovim jedrima, Goldžijevom aparatu, endoplazmatskom retikulumu, mitohondrijama, sekretornim granulama, kao i prisustvo mnogobrojnih lizozomalnih telašaca i masnih vakuola. Kod starijih životinja registrovano je i prisustvo većeg broja atrofično izmenjenih ćelija

što je ukazivalo na njihovu progresivnu degeneraciju sa starenjem. Kod preostalih, morfološki normalnih ćelija uočeni su znaci ultrasrukturnih promena koji su ukazivali na njihovu pojačanu funkcionalnu aktivnost. Sve ove promene su imale za posledicu očuvanje nivoa sekrecije hormona što je posledično dovodilo do iscrpljivanja funkcionalnih rezervi adenohipofiza kod starijih slučajeva. Na osnovu svega navedenog može se zaključiti da se sa starenjem u hipofizi dešavaju promene u smislu kompenzatorne strukturalne reorganizacije s ciljem održavanja njene normalne funkcije što bi u izvesnoj meri vodilo ka održavanju osnovnih mehanizama homeostaze u organizmu koji stari.

Na osnovu napred iznetih činjenica može se zaključiti da kod većine funkcionalnih tipova endokrinih ćelija adenohipofize dolazi do pada njihovog broja sa starenjem. Ipak, slično hormonu rasta, sekrecija odgovarajućih hormona se dugo bitnije ne menja što ukazuje na kompenzatornu hipertrofiju preostalih ćelija kojim ljudski organizam pokušava da nadoknadi prethodni gubitak funkcionalnih ćelija i u saglasnosti je sa porastom veličine ćelija adenohipofize koji smo i mi uočili kod starijih slučajeva tokom našeg istraživanja.

Danilova i sar. (1988) u svojim istraživanjima ne iznose podatke o prisustvu polnih razlika sa starenjem. Mi smo uočili da je prosečna volumenska gustina somatotropnih ćelija adenohipofiza kod slučajeva muškog pola značajno viša u odnosu na slučajeve ženskog pola. Nasuprot tome vrednosti astereoloških parametara su više kod slučajeva ženskog pola ali bez statističke značajnosti. Vrednosti prosečnog nukleo-citoplazmatskog odnosa se kod muškaraca i žena nisu bitno razlikovale. Napred izneti podaci, koje smo uočili tokom našeg istraživanja ukazuju da su uočene polne razlike verovatno posledica starenja kod oba pola. Kako su slučajevi ženskog pola bili znatno stariji od slučajeva muškog pola, ne možemo pouzdano zaključiti da li su uočene promene rezultat starenja ili polnih razlika.

Termin sarkopenija označava nevoljni gubitak mišićne mase, snage i funkcije tokom starenja. Sam naziv je grčkog porekla i znači „gubitak tkiva”. Inače, sarkopenija je često udružena sa osteopenijom ili osteoporozom (Solomon i Bouloux, 2006) i jedan je od najupečatljivijih znakova starenja. Mišićna masa opada približno 3-8% po dekadi nakon tridesete godine života. Taj pad postaje još izrazitiji nakon 60. godine. Ovaj nevoljni gubitak mišićne mase, snage i funkcije je osnovni uzrok i faktor koji doprinosi fizičkoj nemoći starih ljudi. Sarkopenija povećava rizik od padova i povređivanja i vodi funkcionalnoj zavisnosti individue od okoline. Smanjenje mišićne mase je, takođe, praćeno progresivnim porastom mase masnog tkiva i promenama u telesnom sastavu, što se dovodi u vezu sa povećanom incidencijom insulinske rezistencije kod starih. Uz to, koštana gustina opada, povećava se ukočenost

zglobova, a dolazi i do manje redukcije stava (kifoza). Smanjenje mišićne mase u toku starjenja zahvata sve mišiće ljudskog tela ali Arbanas i sar., (2010) kao i Nilwik i sar., (2013) smatraju da je to smanjenje najizraženije na mišićima donjih ekstremiteta.

Veliki slabinski mišić (*m. psoas major*) koji je bio predmet našeg istraživanja, je mišić donjeg ekstremiteta. Njegovo polazište je složeno i obuhvata bočne strane trupa i pripadajuće intervertebralne diskuse od dvanasetog grudnog do petog lumbalnog pršljena. Distalno, mišić se spaja sa bedrenim mišićem gradeći bedreno-slabinski mišić (*m. ilopsoas*) koji se svojom završnom tetivom pripaja za malu kvrgu (*trochanter minor*) butne kosti (*femur*). Veliki slabinski mišić ima ulogu fleksora, a u sadejstvu sa okolnim mišićima učestvuje i u spoljašnjoj rotaciji i abdukciji u zglobu kuka (Ito i sar., 2003; Arbanas i sar., 2009). S toga, psoasni mišić ima važnu dinamičku i aktivnu posturalnu funkciju i pripada mišićima donjih ekstremiteta koji su važni za svakodnevne aktivnosti, kao što je hodanje, penjanje uz stepenice, ustajanje sa stolice. Prema tome, detekcija starosnih promena na psoasnom mišiću je od velikog značaja za očuvanje mobilnosti individue i prevenciju invaliditeta.

Arbanas i saradnici (2009) su imunohistohemijski i morfometrijski analizirali uzorke psoasnog mišića 15 muškaraca, starosti između 18 i 35 godina, u cilju istraživanja sastava mišićnih vlakana. Godine starosti ovih slučajeva se delimično poklapaju sa godinama prve starosne grupe našeg istraživanja. Gore pomenuti autori naveli su da se psoasni mišić uglavnom sastoji od mišićnih vlakana tip II (60%) koja su brzo kontrahujuća, glikolitička i brzo se umaraju, u poređenju sa mišićnim vlaknima tip I (40%) koja predstavljaju sporo kontrahujuća, oksidativna i ne umaraju se brzo. Oni su utvrdili da mišićna vlakna tip I karakteriše značajno viša area poprečnog preseka u odnosu na mišićna vlakna tip II, kao i tip IIx, što smo uočili i mi tokom našeg istraživanja. Na osnovu takvog sastava mišićnih vlakana velikog slabinskog mišića, Arbanas i saradnici (2009) zaključili su da taj mišić ima kompleksne dinamičke i posturalne funkcije. Rezultati naše morfometrijske analize su otkrili neznatno više vrednosti volumenske gustine mišićnih vlakana tip I u odnosu na mišićna vlakna tip II psoasnog mišića. Ovo može ukazati na moguću dominaciju mišićnih vlakana tip I u našem slučaju. Međutim, volumenska gustina predstavlja stereološki parametar na čije vrednosti utiču broj i area analizirane strukture (u ovom slučaju odgovarajući tip mišićnog vlakna). Činjenica da mišićna vlakna tip I imaju značajno višu areu poprečnog preseka nasuprot mišićnim vlaknima tipa II i, da je prisustvo mišićnih vlakana tipa I bilo približno jednako sa prisustvom mišićnih vlakana tipa II, može da objasni neznatno višu vrednost njihove volumenske gustine u odnosu na mišićna vlakna tip II u našoj prvoj starosnoj grupi. To znači da

naši rezultati ukazuju da je prisustvo mišićnih vlakana tip I i tip II najverovatnije jednako u prvoj i najmlađoj starosnoj grupi u našem istraživanju, što se ne slaže sa rezultatima Arbanasa i sar. (2009).

Histološke promene koje se mogu uočavati na skeletnim mišićima u starijih individua, uključuju smanjenje mišićne mase sa istovremenim povećanjem masnog i vezivnog tkiva, kao što smo i mi uočili tokom našeg istraživanja. Veličina mišićnih vlakana tip II se smanjuje, dok veličina mišićnih vlakana tip I ostaje nepromenjena. Smanjenje veličine mišićnih vlakana sa godinama može se pripisati gubitku teških miozinskih lanaca (Arbanas i sar., 2010; Nilwik i sar., 2013). Dodatno, u mišićima tokom procesa starenja mogu se uočiti i akumulacija „prstenastih” (eng. *ring*), zatim „pocepanih” (eng. *ragged*) mišićnih vlakana, onda akumulacija lipofuscina i nemijelinskih štapićastih struktura kao i smanjenje broja krvnih sudova. Neuromišićne alteracije uključuju povećanje veličine motorne jedinice i smanjenje broja motornih neurona u prednjim rogovima sive mase kičmene moždine. Takođe, proces starenja je povezan sa smanjenom produkcijom novih mišićnih vlakana, što predstavlja posledicu smanjene aktivnosti satelitskih ćelija mišića. Na ćelijskom nivou, mišićne alteracije povezane sa starenjem uključuju proliferaciju sarkoplazmatskog retikuluma i t-tubularnog sistema i dezorganizacija sarkomera, miofilamenata i Z-linija (Kamel i sar., 2002; Volpi i sar., 2004).

Kod ljudi, mišićna masa i snaga počinju intenzivnije da opadaju oko pedesete godine života. Potom se mišićna masa smanjuje za oko 15% po deceniji između 50. i 70. godine života. Između 70. i 80. godine života gubi se oko 30% mišićne mase (Arbanas i sar., 2010). Prema Nilwik-u i saradnicima (2013) i danas je aktuelna dilema da li je značajan gubitak mase skeletnih mišića tokom starenja posledica gubitka ili atrofije mišićnih vlakana (posebno mišićnih vlakana tip II). Oni su analizirali i uporedili promene četvoroglavog mišića buta (*m. quadriceps femoris*) sa starenjem u grupi starijih i mlađih slučajeva i otkrili da je prosečna vrednost veličine mišićnih vlakana kvadricepsa bila za oko 20% manja kod starih muškaraca u poređenju sa mlađim. Takođe, kod starijih slučajeva uočen je i neznatno niži procenat mišićnih vlakana tip II, kao i značajno niži aree mišića sa predominacijom napred navedenog tipa mišićnih vlakana u poređenju sa mlađim. Na osnovu svega gore navedenog, Nilwik i saradnici (2013) su zaključili da je sarkopenija koja se javlja sa starenjem pre posledica smanjenja veličine, odnosno atrofije mišićnih vlakana tip II nego promena broja mišićnih vlakana. Adamo i Farrar (2006) i Drey (2011) su pretpostavili da su dva osnovna procesa koja mogu izazvati smanjenje mišićne mase kod starih individua gubitak mišićnih vlakana i pad

aree poprečnog preseka postojećih vlakana. U periodu između 20. i 80. godine prisutan je gubitak od oko 40% vlakana, pri čemu se 25% vlakana gubi do 72. godine (Adamo i Farrar, 2006). Drey (2011) je uočio da tokom istog perioda života (20. do 80. godine), ukupan pad broja mišićnih vlakana iznosi oko 50% i da on postaje sve intenzivniji sa godinama i to naročito nakon navršene 60. godine. Procenat mišićnih vlakana tip I povećava se od 20. do 90. godine, dok procenat mišićnih vlakana tip II opada tokom istog perioda života. Dalje, dok prosečna area poprečnog preseka mišićnih vlakana tip I ne opada sa godinama, pad prosečne aree poprečnog preseka mišićnih vlakana tip II i gubitak oba tipa mišićnih vlakana zajedno rezultiraju sporijom kontrakcijom i produženjem vremena relaksacije što konačno vodi ka gubitku mišićne mase i snage kod starih (Adamo i Farrar, 2006; Arbanas i sar., 2010; Drey, 2011).

Frontera i saradnici (2008) su analizirali promene u distribuciji različitih tipova mišićnih vlakana tokom starenja. Isti autori su ustanovili da mišićna vlakna tip I nisu ispoljavala promene dijametra aree poprečnog preseka sa godinama. Trend porasta maksimalne snage uočen je kod mišićnih vlakana tip I i tip IIa, dok je specifična snaga ispoljila isti trend kada su u pitanju mišićna vlakna tip I (Frontera i sar., 2008). Arbanas i saradnici (2010) su analizirali promene sastava velikog slabinskog mišića sa starenjem upoređivanjem veličine i distribucije različitih tipova mišićnih vlakana između 15 mlađih (mlađih od 35 godina) i 15 starijih (starijih od 65. godina) slučajeva muškog pola. Rezultati njihove imunohistohemijske analize ukazali su da procenat mišićnih vlakana tip IIa značajno opada, dok se isti mišićnih vlakana tip I i tip IIx ne menjaju značajno sa godinama. Prema njima, veliki slabinski mišić čoveka trpi normalan obrazac atrofije povezane sa starenjem, sa značajno višom areom poprečnog preseka mišićnih vlakana mladih u odnosu na starije individue. Atrofija u najvećoj meri pogađa mišićna vlakna tipa IIa, a najmanje mišićna vlakna tipa I. U obe starosne grupe, mišićna vlakna tipa I su posedovala značajno višu areu poprečnog preseka u poređenju sa vlaknima tip IIa i tipa IIx (Arbanas i sar., 2010). Značajno smanjenje površine poprečnog preseka mišićnih vlakana tip I i tip II sa starenjem, uočeno tokom našeg istraživanja, potvrđuje prisustvo atrofije oba tipa mišićnih vlakana sa starenjem. Značajno viša površina poprečnog preseka mišićnih vlakana tip I u odnosu na mišićna vlakna tip II u sve tri starosne grupe sa sličnim vrednostima efekta veličine te razlike u sve tri grupe, ukazuje na sličan stepen atrofije oba tipa mišićnih vlakana sa starenjem. Međutim, prosečna volumenska gustina mišićnih vlakana tip I bila je značajno viša u odnosu na istu mišićnih vlakana tip II samo u drugoj i trećoj starosnoj grupi, sa višim efektom veličine takve razlike u trećoj starosnoj

grupi. Uzimajući u obzir činjenicu da na vrednost volumenske gustine utiče broj i veličina analiziranih mišićnih vlakana i trend gore navedenih morfometrijskih parametara, sve napred navedeno navodi na zaključak da je smanjenje volumenske gustine mišićnih vlakana tip II sa starenjem kako posledica atrofije tako i gubitka ovih vlakana. Relativno stabilne vrednosti volumenske gustine mišićnih vlakana tip I mogu, iz istih razloga, biti objašnjene odsustvom njihovog gubitka tokom procesa starenja. Rezultati našeg istraživanja ukazuju da se značajna atrofija mišićnih vlakana tip I i tip II i značajan gubitak mišićnih vlakana tip II javljaju nakon 70. godine života i uskladu su sa napred navedenim literaturnim podacima.

Značajno viši gubitak mišićnih vlakana tip II u odnosu na isti tip I može se objasniti i promenama neuromišićnog sistema vezanim za starenje, kao i smanjenjem broja i funkcije satelitskih ćelija kao miogenih stem ćelija koje se mogu diferencirati u nova mišićna vlakna (Rolland i sar., 2008; Drey 2011). S druge strane, smanjena efikasnost osovine hormon rasta/insulinu sličan faktor rasta (GH/IGF-1) može uticati na prisustvo alteracija strukture i funkcije skeletnih mišića. Smanjenje broja receptora hormona rasta i nivoa IGF-1 mRNA u biopsijskom materijalu skeletnih mišića dobijenog od starijih muških osoba, kao i IGF-1 signalnih molekula, smatra se da doprinosi atrofiji mišićnih vlakana tip I i naročito vlakana tip II (Adamo i Farrar, 2006; Perrini i sar., 2010; Sattler, 2013).

Dobijene vrednosti astereoloških parametara mišićnih vlakana tip I i tip II, tokom našeg istraživanja, bile su više kod slučajeva muškog u odnosu na ženski pol, ali te razlike nisu statistički bile značajne. Dodatno, prosečna volumenska gustina mišićnih vlakana tip I bila je viša kod slučajeva ženskog pola, ali kao i slučaju napred navedenih parametara ta razlika, takođe nije bila statistički značajna. Nasuprot tome, prosečna zapreminska gustina mišićnih vlakana tip II je bila statistički značajno viša kod slučajeva muškog pola. U literaturi su prisutni podaci o različitoj distribuciji mišićnih vlakana tip I i tip II kod slučajeva suprotnog pola (Brooke i sar., 1970). Ističe se da je kod muškaraca veća mišićna masa kao i veličina mišićnih vlakana. Pojedinačna mišićna vlakna su veća kod muškaraca nego kod žena. Mišićna vlakna tip II obično su veća kod muškaraca, ali su zato mišićna vlakna tip I jednakog ili većeg prečnika kod slučajeva ženskog pola. Smatra se da je razlika između polova uslovljena time što su muškarci teži i viši od žena sa većom mišićnom masom kao i intenzivnijom fizičkom aktivnošću (Baumgartner i sar., 1999). Ne može se zanemariti ni uticaj muških polnih hormona. Tako, androgeni hormoni utiču na veličinu mišićnih vlakana kod muškaraca i poznato je da terapija testosteronom dovodi do mišićne hipertrofije (Solomon i Boulox, 2006; Horstman i sar., 2012). Bennington (1984) ističe da neke od razlika između muškaraca

i žena zavise i od mišića koji je analiziran. Na primer, dvoglavi mišić nadlaktka muškaraca je sa mnogo višim procentom mišićnih vlakana tip II, dok je kod žena skoro isti procenat oba tipa mišićnih vlakana u datom mišiću. I mi smo tokom našeg istraživanja uočili izvesne razlike između pojedinih parametara mišićnih vlakana slučajeva muškog i ženskog pola. Ipak, osim kada je u pitanju zapreminska gustina tip II mišićnih vlakana, ostale razlike između većine parametara nisu bile statistički značajne. Kako su slučajevi ženskog pola bili statistički značajno stariji od slučajeva muškog pola ne možemo sa sigurnošću zaključiti da li je uočena razlika u sadržaju tip II mišićnih vlakana posledica procesa starenja ili polnih razlika.

U normalnim uslovima, sinteza i razlaganje proteina u skeletnim mišićima nalaze se u ravnoteži tako da nema značajnijih promena mase skeletnih mišića. Tokom starenja dolazi do neravnoteže između brzine/stope sinteze i razlaganje proteina. Smatra se da, na molekularnom nivou sarkopenija predstavlja uglavnom posledicu smanjenje sinteze mišićnih proteina. Prema podacima iz literature (Salminen i Kaarniranta, 2010) imuni sistem čoveka trpi izvesne promene sa starenjem. Ponovljeni stres tokom života jedinke dovodi do aktiviranja odbrambenih mehanizama i aktivacije inflamatornog odgovora što na kraju dovodi do pojave hronične inflamatorne aktivnosti niskog intenziteta u pojedinim ili svim organima i tkivima organizma starih individua. Ovaj proces se može registrovati prisustvom povišenih nivoa inflamatornih medijatora u krvi kao i porastom broja neutrofila (Franceschi i sar., 2000; Salminen i sar., 2012). Smatra se da hronična inflamacija niskog intenziteta praćena povišenim nivoima citokaina kao što su IL-1, IL-6 i TNF- α i smanjenim kalorijskim unosom, mogu voditi ka intenziviranju kataboličkih procesa koji mogu doprineti pojačanoj razgradnji proteina (Rolland i sar., 2008). Napred navedeno indirektno potvrđuje i činjenica da ekvivalentni trening izaziva različit intenzitet inflamatornog odgovora u mišićima starijih u odnosu na mlađe slučajeve. Posle 45-minutnog trčanja nizbrdo na 75% VO_2 max mišićni interleukin IL-6 i koncentracije transformišućeg faktora rasta TGF- β 1 nisu pokazivale intenzivniji porast kod starijih u odnosu na mlađe subjekte. Sve je više dokaza koji upućuju na ulogu lokalno generisanog IL-6 koji stimuliše proliferaciju satelitskih ćelija tokom regeneracije mišića nakon povrede. Opadanje anaboličkih hormona i redukcija mononukleara putem inflamatornih ili mehanizama sličnih apoptozi predstavljaju alternativno objašnjenje sarkopenije. Hormon rasta funkcioniše kao glavni metabolički hormon kod odraslih osoba. On optimizuje telesni sastav pospešujući lipolizu i korišćenje slobodnih masnih kiselina, kao i fizičke performanse tela. Učešće GH u anabolizmu proteina predstavlja jednu od njegovih glavnih

funkcija. Naime, GH izaziva anaboličke efekte bilo direktno kroz aktivaciju specifičnih GH receptora (GHR) ili indirektno, putem IGF-1 (Le Roith i sar., 2001; Perrini i sar., 2010). Receptora hormona rasta ima puno u jetri, a manje u mišićima i masnom tkivu. Hormon rasta stimuliše hepatičku produkciju i oslobađanje IGF-1 u cirkulaciju (cirkulišući ili endokrini IGF-1) i njegov transport do ciljnih tkiva (Le Roith i sar., 2001; Melmed i sar., 2011). U slučaju skeletnih mišića, IGF-1 promovira dopremanje amino kiselina, suprimira proteolizu, štiti od oštećenja nakon snažne mišićne kontrakcije ublažavajući inflamaciju i fibrozu i olakšava oporavak nakon oštećenja ili povređivanja (Liu i sar., 2006; Sattler, 2013). Takođe, GH indukuje diferencijaciju i lokalnu produkciju IGF-1. Lokalna produkcija IGF-1 u tkivima čini više od polovine ukupna produkcije IGF-1 i čini se da je, putem autokrinih i prekrinih mehanizama, značajnija za mišićni rast i reparaciju (Le Roith i sar., 2001; Marcell i sar., 2001). IGF-1 lokalno proizveden od strane humanih kortikotropa, somatotropa i gonadotropa može posredovati u para ili autokrinoj regulaciji endokrinih ćelija (Jevdjovic i sar., 2007). Skeletni mišići ispoljavaju dva različita lokalna faktora rasta. Mehano faktor rasta (MGF; IGF-1Ec ili IGF-1Eb kao forma kod glodara) proizvodi se lokalno kao odgovor mišića na fizičku aktivnost, oštećenje, rastezanje ili preopterećenje, uzrokujući na taj način povećanu sintezu i hipertrofiju miofibrilarnih proteina. Pored mehano faktora rasta, IGF-1Ea koji je sličan endokrinom tipu IGF-1, izlučuju se lokalno kao odgovor na hipertrofične stimuluse i stimuliše proliferaciju satelitskih ćelija i donaciju nukleusa mišićnim vlaknima (Giovanni i sar., 2008; Sattler, 2013). Cirkulišući i lokalno proizvedeni oblici IGF-1 vezuju se za porodicu od šest visoko afinitetnih IGF-vezujućih proteina (IGFBP-1 do IGFBP-6). U tkivima, IGF se oslobađa iz kompleksa sa IGFBP bilo proteolizom, bilo vezivanjem IGFBP za ekstracelularni matriks. Kasnije, IGF-1 deluje vezujući se za IGF-1 receptor (Le Roith i sar., 2001). IGF-1 je najznačajniji medijator mišićnog rasta kroz aktivaciju proliferacije i diferencijacije satelitskih ćelija i ushodne regulacije sinteze proteina u postojećim mišićnim vlaknima. Anaboličko dejstvo GH u mišićima može biti dodatno posredovano putem smanjene ekspresije miostatina, inhibitora mišićnog rasta i promotera adipogeneze (Marcell i sar., 2001; Goldspink, 2004; Solomon i Bouloux, 2006; Perrini i sar., 2010; Melmed i sar., 2011; Puche i Castilla-Cortazar, 2012). Prema tome, starosno smanjenje GH i IGF-1 u krvi, naknadno poremećena aktivnost anaboličkih signalnih mehanizama koji se vrše preko GHR i IGF-1 receptora, povezani su sa atrofijom mišića i redukcijom njihove snage, smanjenom sintezom proteina i povećanom ćelijskom apoptozom (Perrini i sar., 2010).

Uprkos činjenici da se nijedan tretman sarkopenije nije pokazao efikasnim kao što je to trening snage, ovakav vid vežbanja i programa fizičke aktivnosti može biti vrlo rizičan kod fizički slabih starijih osoba. Rezultati u pogledu efikasnosti primene proteinske suplementacije, testosterona, estrogena i tibolona, suplementacije vitamina D, kreatina, ACE inhibitora i citokinskih inhibitora, protivurečni su i neubedljivi, dok će inhibitori kaspaze i antagonisti miostatina predstavljati u budućnosti potencijalnu terapiju kojom bi se povećavala mišićna masa i snaga kod starijih. Uz sve druge potencijalne modalitete tretmana sarkopenije, starosne promene endokrine funkcije ili sposobnosti odgovora na hormonske stimuluse potencijalno se mogu tretirati farmakološkim agensima. Nekoliko studija je dokazalo da supstitucionu terapiju testosteronom može biti korisna intervencija kod hipogonadalnih starijih muškaraca, kod kojih dovodi do porasta mišićne mase i snage. Terapija nadoknade hormona u andropauzi, kako se čini, ima marginalan ili nikakav pozitivan efekat na masu i snagu mišića (Volpi i sar., 2004; Rolland i sar., 2008). Mišljenja o potencijalnoj upotrebljivosti GH, GH sekretagoga i IGF-1 u tretmanu sarkopenije veoma su kontroverzna zbog mnoštva podataka iz kliničkih studija koji ukazuju na nepovoljan odnos rizika i pozitivnih efekata kod endokrinološki normalnih, starijih osoba (Bartke, 2009). Primena GH kao monoterapije ili u kombinaciji sa IGF-1 kod starijih, čini se da ima pozitivan efekat u smislu povećanja mišićne mase, poboljšanja lipidnog statusa u krvi i povećanja čiste telesne mase. I pored toga, ove promene ne moraju dovesti do porasta mišićne snage i funkcije. Snaga mišića povećavala se u slučajevima u kojima je GH primenjivan kod starijih muškaraca u kombinaciji sa fizičkim treningom ili sa supstitucionom terapijom polnim hormonima (Volpi i sar., 2004). Mišići služe kao dinamičko metaboličko skladište ljudskog organizma i značajni su za održavanje normalnog sastava koštanog tkiva, normalne telesne temperature i, za proizvodnju proteina u prevenciji tkivne kaheksije i metabolita potrebnih za održavanje acidobazne ravnoteže tokom trauma starih individua (Goldspink, 2004; Rolland i sar., 2008). Uprkos odsustvu porasta mišićne snage, porast mišićne mase daje primeni GH kod sarkopeničnih starih osoba još jedan značajan aspekt i zaslužuje dalje ispitivanje.

Autori većine studija smatraju da je starosno opadanje sekrecije GH posledica promena do kojih dolazi na nivou hipotalamusa. Oni smatraju da nepoznati faktori uzrokuju opadanje nivoa faktora koji oslobađa hormon rasta (GHRH) i porast sekrecije somatostatina, što posledično dovodi do smanjene sekrecije GH iz adenohipofize (Perrini i sar., 2010). Ipak, prema nalazima Shimokawa-e i saradnika (1996) i Kamel-a i saradnika (2002), značajne promene, takođe, se beleže i u sposobnosti odgovora hipofize na GHRH, sa smanjenom senzitiv-

nošću somatotropnih ćelija na GHRH u starijih. Generalno, u savremenoj literaturi nema dovoljno podataka o kvantifikaciji starosnih promena somatotropnih ćelija adenohipofize. Takođe, istraživanja koja bi povezivala ove starosne promene sa promenama u broju i veličini različitih tipova mišićnih vlakana su još oskudnija. Naše istraživanje povezuje imunohistohe-mijske i morfometrijske starosne promene somatotropnih ćelija prednjeg režnja hipofize sa odgovarajućim promenama mišićnih vlakana tip I i tip II velikog slabinskog mišića. Takođe, smatramo da je morfometrijska analiza i kvantifikacija promena u toku starenja put kojim se može izdiferencirati tanka linija koja deli starosne promene od morfološkog supstrata takozvanih bolesti stare životne dobi. Pitanje koje se postavlja da li one nastaju na terenu tkivnog starenja ili su one te koje vode u brže i intenzivnije starenje, predstavlja dilemu koja još uvek nije u potpunosti razrešena. Patoanatomske promene su identične i kod starenja i kod bolesti stare životne dobi, pri čemu se čini da intenzitet promena, što se može utvrditi samo morfometrijskom analizom, može razgraničiti patološke forme od sarkopenije koja se javlja normalno tokom procesa starenja skeletnih mišića. Naša istraživanja su takođe pokazala paralelizam u promenama na somatotrofnim ćelijama adenohipofize i mišićnim vlaknima tip II psoasnog mišića što može ukazati na moguću povezanost nastanka sarkopenije sa promenama u ćelijama prednjeg režnja hipofize koje luče hormon rasta neophodnog za održavanje i funkciju mišićne mase. Promene su intenzivirane i na nivou adenohipofize i na nivou mišića posle 70. godine života, pri čemu svi parametri koreliraju sa starenjem. Sigurno da GH nije jedini i najbitniji uzročnik nastanka sarkopenije, na šta može ukazati i delimičan uspeh u njegovoj primeni u lečenju sarkopenije. Smatramo da su potrebna dalja istraživanja u tom pravcu koja bi razjasnila mnoge dileme u nastanku, razvoju i posledicama do kojih dovodi sarkopenija.

S obzirom na epidemiološke podatke koji ukazuju na sve veći udeo starih u ljudskoj populaciji, sve veće prisustvo sarkopenije sa njenim medicinskim, socijalnim i ekonomskim posledicama i na kraju s obzirom na kontradiktorne efekte supstitucione terapije hormonom rasta smatramo da rezultati našeg istraživanja mogu doprineti boljem razumevanju bioloških osnova sarkopenije prisutne kod zdravih starih individua i dati objašnjenje za češću pojavu pojedinih bolesti mišićnog sistema tokom starenja. Takođe, rezultati ove studije bi mogli da ukažu na eventualnu opravdanost ili neopravdanost primene hormona rasta kao supstitucione terapije u lečenju sarkopenije koja nastaje kao rezultat procesa starenja što može biti značajno i u pogledu eventualne dalje primene humanog GH u tretmanu takvih stanja u budućnosti.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu napred navedenog može se zaključiti sledeće:

1. Starenje je praćeno gubitkom somatotropnih ćelija u lateralnim krilima adenohipofize i to intenzivnije kod slučajeva ženskog u odnosu na muški pol.
2. Gubitak somatotropnih ćelija adenohipofize postaje značajan tek nakon navršene 70. godine života.
3. Gubitak somatotropnih ćelija tokom starenja je praćen kompenzatornom hipertrofijom preostalih ćelija u približno istom obimu i kod muškog i kod ženskog pola, a u cilju održavanja normalne sekrecije hormona rasta.
4. Kompenzatorna hipertrofija preostalih somatotropnih ćelija praćena je razvojem funkcionalnog pada istih, koji postaje, na osnovu vrednosti parametara funkcionalnog statusa, značajan nakon 70. godine života kod oba pola.
5. Paralelno sa gubitkom, zatim hipertrofijom preostalih i na kraju funkcionalnim deficitom somatotropnih ćelija, dolazi do gubitka mišićnih vlakana tip II, koji je nešto izraženiji kod slučajeva ženskog pola i postaje značajan nakon navršene 70. godine života.
6. Gubitak mišićnih vlakana tip II je praćen kontinuiranom i približno istog intenziteta atrofijom mišićnih vlakana tip I i tip II i kod muškog i ženskog pola.
7. Gubitak, zatim razvoj hipertrofije i funkcionalni pad somatotropnih ćelija i gubitak mišićnih vlakana tip II, kao i atrofija mišićnih vlakana tip I i tip II ispoljavaju veoma sličnu dinamiku kod oba pola tokom procesa starenja.

8. Pored uzrasta, stereološki i astereološki parametri somatotropnih ćelija predstavljaju značajne prediktore odgovarajućih stereoloških i astereoloških parametara mišićnih vlakana tip I i naročito tip II.
9. Identična dinamika starosnih promena somatotropnih ćelija, zatim starosnih promena mišićnih vlakana tip I i naročito tip II, kao i postojanje umerene do jake korelacije između morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize i odgovarajućih morfometrijskih parametara mišićnih vlakana tip I i tip II ukazuju na moguće učešće somatotropnih starosnih promena u razvoju gubitka mišićne mase, odnosno sarkopenije kod inače zdravih starih individua.

7. LITERATURA

1. Abellan van Kan G, Rolland Y, Bergman H, Morley JE, Kritchevsky SB, Vellas B. The I. A. N. A. Task Force on frailty assessment of older people in clinical practice. *J Nutr Health Aging* 2008;12(1):29-37.
2. Abellan van Kan G, Rolland YM, Morley JE, Vellas B. Frailty: toward a clinical definition. *J Am Med Dir Assoc* 2008;9(2):71-2.
3. Abramoff MD, Magelhaes PJ, Ram SJ. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 2004;11(7):36-42.
4. Adamo ML, Farrar RP. Resistance training, and IGF involvement in the maintenance of muscle mass during the aging process. *Ageing Res Rev* 2006;5(3):310-31.
5. Adhihetty PJ, Hood DA. Mechanisms of apoptosis in skeletal muscle. *Basic Appl Myol* 2003;13(4):171-9.
6. Alves LM, Werneck CC, Martins Rd Rde C, Silva LC, Taffarel M, Borojevic R, Nasciutti LE. A continuous lineage of rat adenohypophysis stromal cells: characterisation and effects on GH(3)B(6) prolactin-secreting cell behaviour. *Biol Cell* 2002; 94(7-8):519-33.
7. Anđelković Z, Somer LJ, Avramović V, Milosavljević Z, Tanasković I, Matavulj M. Histologija, Osmo izdanje. Impressum, Niš; 2009.
8. Arbanas J, Klasan GS, Nikolić M, Jerković R, Miljanović I, Malnar D. Fibre type composition of the human psoas major muscle with regard to the level of its origin. *J Anat* 2009;215(6):636-41.
9. Arbanas J, Klasan GS, Nikolić M, Cvijanović O, Malnar D. Immunohistochemical analysis of the human psoas major muscle with regards to the body side and aging. *Coll Antropol* 2010;34(Suppl 2):169-73.
10. Balagopal P, Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA, Nair KS. Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. *Am J Physiol* 1997;273(4 Pt 1):E790-800.
11. Balistreri CR, Colonna-Romano G, Lio D, Candore G, Caruso C. TLR4 polymorphisms and ageing: implications for the pathophysiology of age-related diseases. *J Clin Immunol* 2009;29(4):406-15.
12. Bartke A. The somatotrophic axis and aging: mechanisms and persistent questions about practical implications. *Exp Gerontol* 2009;44(6-7):372-4.
13. Basmajian JV. Human locomotion. In Basmajian JV. ed. *Muscles alive*. Williams and Wilkins, Baltimore; 1985:367-88.
14. Bauer JM, Kaiser MJ, Sieber CC. Sarcopenia in nursing home residents. *J Am Med Dir Assoc* 2008;9(8):545-51.
15. Baumgartner RN, Waters DL, Gallagher D, Morley JE, Garry PJ. Predictors of skeletal muscle mass in elderly men and women. *Mech Ageing Dev* 1999;107(2):123-36.
16. Bean JF, Leveille SG, Kiely DK, Bandinelli S, Guralnik JM, Ferrucci L. A comparison of leg power and leg strength within the InCHIANTI study: which influences mobility more? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003;58(8):728-33.

17. Bean JF, Kiely DK, LaRose S, O'Neill E, Goldstein R, Frontera WR. Increased velocity exercise specific to task training versus the National Institute on Aging's strength training program: changes in limb power and mobility. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009;64(9):983-91.
18. Benben MG, Massey BH, Benben DA, Misner JE, Boilean RA. Isometric muscle force production as a function age in healthy 20- to 74-yr-old men. *Med Sci Sports Exere* 1991;23(11):1302-10.
19. Bennigton JL, Krupp M. Morfometric analysis of muscle. In: Heffner RR. ed. Muscle pathology, NV: Churchill Livngstone, New York; 1984:43-71.
20. Bevier WC, Wiswell RA, Puke G, Koznak KC, Newhall KM, Marcus R. Relationship of body composition muscle strenght and aerobic capacity to bone mineral density in older men and women. *J Biol Miner Res* 1989;4(3):421-32.
21. Bischoff HA, Stähelin HB, Dick W, Akos R, Knecht M, Salis C, Nebiker M, Theiler R, Pfeifer M, Begerow B, Lew RA, Conzelmann M. Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res* 2003;18(2):343-51.
22. Bjorksten J. The crosslinkage theory of ageing. *J Amer Geriat Soc* 1968;16(4):408-27.
23. Blackman MR, Sorkin JD, Münzer T, Bellantoni MF, Busby-Whitehead J, Stevens TE, Jayme J, O'Connor KG, Christmas C, Tobin JD, Stewart KJ, Cottrell E, St Clair C, Pabst KM, Harman SM. Growth hormone and sex steroid administration in healthy aged women and men: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288(18): 2282-92.
24. Blackburn EH. Telomere states and cell fates. *Nature* 2000;408(6808):53-6.
25. Borst SE. Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people. *Age Ageing* 2004;33(6):548-55.
26. Bossen EN. Collection and preparation of the muscle biopsy. In: Heffner RR. ed. Muscle Pathology. Vol 3. NV: Churchill Livingstone, New York; 1984:11-14.
27. Brooke MH, Kaiser KK. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol* 1970;23(4):369-79.
28. Brose A, Parise G, Tarnopolsky MA. Creatine supplementation enhances isometric strength and body composition improvements following strength exercise training in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003;58(1):11-9.
29. Brown M. Change in fiber size, not number, in ageing sceletal muscle. *Age Ageing* 1987;16(4):244-8.
30. Cael C. Functional Anatomy: Musculoskeletal Anatomy. Kineosiology And Palpation for manual therapists, Wolters Kluwer, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia; 2010:335-6.
31. Campbell WW, Trappe TA, Wolfe RR, Evans WJ. The recommended dietary allowance for protein may not be adequate for older people to maintain sceletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56(6):M373-80.
32. Campisi J. Cellular sence and cell death. In: Physiological basis of aging and geriatrics (3rd ed), edited by Timaras PS. Boca Raton, FL: CRC; 2003:47-59.
33. Carlson BM. Human embriology and developmental biology. Mosby, Philadelphia PA; 2005.
34. Carlson JC, Riley JC. A consideration of some notable ageing theories. *Exp Gerontol* 1998;33(1-2):127-34.
35. Carnac G, Vernus B, Bonnieu A. Myostatin in the pathohystology of skeletal muscle. *Curr Genomisc* 2007;8(7):415-22.
36. Carpenter E, Loynd JA. An integratef theory of aging. *J Amer Geriatr Soc* 1968;16(13):1307-22.

37. Căruntu ID, Bălan R, Vișan C. Quantitative versus qualitative in the analysis of cervical squamous cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2005;46(2):149-54.
38. Chapman JM, Visvanathan R, Hammond AJ, Morley JE, Field JB, Tai K, Belobrajdic DP, Chen RY, Horowitz M. Effect of testosterone and/or a nutritional supplement, alone and combination, on hospital admissions in undernourished older men and women. *Am J Clin Nutr* 2009;89(3):880-9.
39. Chu LW, Lam KS, Tam SC, Hu WJ, Hui SL, Chiu A, Chiu KC, Ng P. A randomized controlled trial of low-dose recombinant human growth hormone in the treatment of malnourished elderly medical patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(5):1913-20.
40. Clark BC, Manini TM. Sarcopenia \neq dynapenia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2008;63(8):829-34.
41. Clark BC, Manini TM. What is dynapenia? *Nutrition* 2012;28(5):495-503.
42. Conley KE, Jubrias SA, Esselman PC. Oxidative capacity and ageing in human muscle. *J Physiol* 2000;526:203-10.
43. Console GM, Gomez Dummm CL, Goya RG. Impact of aging on the morphology and function of the somatotroph cell population in rats. *Mech Ageing Dev* 1993;70(1-2):45-51.
44. Console GM, Gómez Dummm CL, Goya RG. Immunohistochemical and radioimmunological study of pituitary gonadotrophs during aging in male rats. *Mech Ageing Dev* 1994;73(2):87-95.
45. Console GM, Gomez Dummm CL, Goya RG. Immunohistochemical and radioimmunological assessment of thyrotrophs in the pituitary of aging rats. *Acta Anat (Basel)* 1995;152 (1):28-32.
46. Console GM, Gomez Dummm CL, Brown OA, Ferese C, Goya RG. Sexual dimorphism in the age changes of the pituitary lactotrophs in rats. *Mech Ageing Dev* 1997;95(3):157-66.
47. Console GM, Jurado SB, Rulli SB, Calandra RS, Gómez Dummm CL. Ultrastructural and quantitative immunohistochemical changes induced by nonsteroid antiandrogens on pituitary gonadotroph population of prepubertal male rats. *Cells Tissues Organs* 2001;169(1):64-72.
48. Cross PC, Mercer KL. Cell and tissue ultrastructure. First edition. W.H. Freeman and company, New York; 1993.
49. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM, Topinková E, Vandewoude M, Zamboni M; European Working Group on Sarcopenia in Older People. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 2010;39(4):412-23.
50. Danilova OV, Koziritskiĭ VG, Gordienko VM, Baĭmut FT. Comparative ultrastructural characteristics of the anterior lobe of the hypophysis, thyroid and gonads in mammals during aging. *Tsitol Genet* 1988;22(2):11-7.
51. De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joëls M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998;19(3):269-301.
52. Degens H, Alway SE. Control of muscle size during disuse, disease and aging. *Int J Sports Med* 2006;27(2):94-9.
53. Dirks AJ, Leeuwenburgh C. The role of apoptosis in age-related skeletal muscle atrophy. *Sports Med* 2005;35(6):473-83.
54. Drey M. Sarcopenia - pathophysiology and clinical relevance. *Wien Med Wochenschr* 2011;161(17-18):402-8.
55. Dubowitz V, Brooke MH. Muscle Biopsy. A Modern Approach. WB Saunders, Philadelphia BA; 1973.

56. Dubowitz V, Sewrey CA. Muscle Biopsy. A Modern Approach. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA; 2007.
57. Eisenberg B, Kuda A, Peter J. Stereological analysis of mammalian skeletal muscle. I. Soleus muscle of the adult guinea pig. *J Cell Biol* 1974;60(3):732-54.
58. Elias H, Hyde DM. An elementary introduction to stereology (quantitative microscopy). *Am J Anat* 1980;159(4):412-46.
59. Elster AD, Chen MY, Williams DW 3rd, Key LL. Pituitary gland: MR imaging of physiologic hypertrophy in adolescence. *Radiology* 1990;174(3 Pt 1):681-5.
60. Eroschenko VP. di Fiore s Atlas of Histology with Functional Correlations. 11th ed. Wolters Kluwer Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore; 2008.
61. Evans WJ. Exercise training guidelines for the elderly. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31(1):12-7.
62. Fauquier T, Lacampagne A, Travo P, Bauer K, Mollard P. Hidden face of the anterior pituitary. *Trends Endocrinol Metabol* 2002;13(7):304-9.
63. Fearon K, Evans WJ, Anker SD. Myopenia-a new universal term for muscle wasting. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2011;2(1):1-3.
64. Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, Bhasin S, Morley JE, Newman AB, Abellan van Kan G, Andrieu S, Bauer J, Breuille D, Cederholm T, Chandler J, De Meynard C, Donini L, Harris T, Kannt A, Keime Guibert F, Onder G, Papanicolaou D, Rolland Y, Rooks D, Sieber C, Souhami E, Verlaan S, Zamboni M. Sarcopenia: un undiag nossed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc* 2011; 12(4):249-56.
65. Florini JR, Ewton DZ, Coolican SA. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocr Rev* 1996;17(5):481-517.
66. Ford ES. Does exetcise reduce inflammation? Physical activity and C-reactive protein among U.S. adults. *Epidemiology* 2002;13(5):561-8.
67. Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Oliveri F, De Luca M, Ottavini E, Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci* 2000;908:244-54.
68. Fried LP, Ferrucci L, Darer J, Williamson JD, Anderson G. Untangling the concepts of disability, frailty, and comorbidity: implications for improved targeting and care. *J Gerontol A Biol Sci Med* 2004;59:255-63.
69. Frontera WR, Reid KF, Phillips EM, Krivickas LS, Hughes VA, Roubenoff R, Fielding RA. Muscle fiber size and function in elderly humans: a longitudinal study. *J Appl Physiol* 2008;105:637-42.
70. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 3rd edition. Baltimore: Saunders Elsevier; 2007.
71. Gavrilov LA, Gavrilova NS. The reliability theory of aging and longevitu. *J Theor Biol* 2001;213(4):527-45.
72. Geffken DF, Cushman M, Burke GL, Polak JF, Sakkinen PA, Tracy RP. Assotiation between physical activity and markers of inflamation in a healthy elderly population. *Am J Epidemiol* 2001;153(3):242-50.
73. Gentili A, Mulligan T, Godschalk M, Clore J, Patrie J, Iranmanesh A, Veldhuis JD. Unequal impact of short-term testosterone repletion on the somatotropic axis of young and older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(2):825-34.
74. Giovannini S, Marzetti E, Borst SE, Leeuwenburgh C. Modulation of GH/IGF-1axis: potential strategies to counteract sarcopenia in older adults. *Mech Ageing Dev* 2008; 129(10):593-601.
75. Gilbert SF. Development Biology. Sinauer, Sunderland MA; 2010.

76. Gilroy A, MacPherson B, Ross L. Atlas anatomije. Prevod sa engleskog jezika knjige. Atlas of Anatomy. Data status, Beograd; 2012.
77. Goldspink G. Age-related muscle loss and progressive dysfunction in mechanosensitive growth factor signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1019:294-8.
78. Goldstein S. The biology of aging. *N Eng J Med* 1971;285(20):1120-9.
79. Gong Z, Kennedy O, Sun H, Wu Y, Williams GA, Klein L, Cardoso L, Matheny RW Jr, Hubbard GB, Ikeno Y, Farrar RP, Schaffler MB, Adamo ML, Muzumdar RH, Yakar S. Reductions in serum IGF-1 during aging impair health span. *Aging Cell* 2014;13(3):408-18.
80. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, Simonsick EM, Tylavsky FA, Visser M, Newman AB. The loss of skeletal strength mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006;61(10):1059-64.
81. Gorbunova V, Seluanov A, Mao Z, Hine C. Changes in DNA repair during aging. *Nucleic Acids Res* 2007;35(22):7466-74.
82. Greenlund LJ, Nair KS. Sarcopenia-consequences, mechanisms, and potential therapies. *Mech Ageing Dev* 2003;124(3):287-99.
83. Guyton A, Hall J. Medicinska fiziologija. 11. izdanje. Savremena administracija, Beograd; 2008.
84. Haren MT, Siddiqui AM, Armbrecht HJ, Kevorkian RT, Kim MJ, Haas MJ, Mazza A, Kumar VB, Green M, Banks WA, Morley JE. Testosterone modulates gene expression pathways regulating nutrient accumulation, glucose metabolism and protein turnover in mouse skeletal muscle. *Int J Androl* 2011;34(1):55-68.
85. Harris TB, Kiel D, Roubenoff R, Langlois J, Hannan M, Havlik R, Wilson P. Association of insulin-like growth factor-1 with body composition, weight history, and past health behavior in the very old: the Framingham Heart Study. *J Am Gerian Soc* 1997;45(2):133-9.
86. Hasegawa M. On the myofibrous organization of human iliopsoas muscle (psoas major muscle and ilacus muscle). *J Showa Med Assoc* 1987;47(6):833-42.
87. Havenith MG, Visser R, Schrijvers-van Schendel JM, Bosman FT. Muscle fibers typing in routinely processed skeletal muscle with monoclonal antibodies. *Histochemistry* 1990;93(5):497-9.
88. Hazell T, Kenno K, Jacobi J. Functional benefit of power training for older adults. *J Aging Phys Act* 2007;15(3):349-59.
89. Heffner R, Balos L. Histology and pathologist. 4th ed. Stacey E. Mills (editor) Lippincott Williams and Wilkins; 2012;211-232. Saunders Elsevier; 2007.
90. Henrikson RC, Kaye GI, Mauzurkiewicz JE. Histology. 1st ed., Williams and Wilkins. The science of review, London; 1997.
91. Herman JP, Larson BR, Speert DB, Seasholtz AF. Hypothalamo-pituitary-adrenocortical dysregulation in aging F344/Brown-Norway F1 hybrid rats. *Neurobiol Aging* 2001;22(2):323-32.
92. Horstman AM, Dillon EL, Urban RJ, Sheffield-Moore M. The role of androgens and estrogens on healthy aging of longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012;67(11):1140-52.
93. Ilić S. Interna medicina. Drugo izdanje. Galaksija, Niš; 2009.
94. Imamura K, Aschida H, Ischikawa T, Fuji M. Human major psoas muscle and sacrospinalis muscle in relation to age: a study by computed tomography. *J Gerontol* 1983;38(6):678-81.
95. Iranmanesh A, Lizarralde G, Veldhuis JD. Age and relative adiposity are specific negative determinants of the frequency and amplitude of growth hormone (GH) secre-

- tory bursitis and the half-life on endogenous GH in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73(5):1081-8.
96. Ito J. Morphological analysis of the human lower extremity based in the relative muscle weight. *Okajimas Folia Anat Jpn* 1996;73(5):247-51.
 97. Ito J, Moriyama H, Inokuchi S, Goto N. Human lower limb muscles: an evaluation of weight and fiber size. *Okajimas Folia Anat Jpn* 2003;80(2-3):47-55.
 98. Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88yr. *J Appl Physiol* 2000;89(1):81-8.
 99. Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J Am Geriatr Soc* 2002;50(5):889-96.
 100. Janssen I. Influence of sarcopenia on the development of physical disability: the Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 2006;54(1):56-52.
 101. Janssen I. Evolution of sarcopenia research. *Appl Physiol Nutr Metab* 2010;35(5):707-12.
 102. Jovanović I. Imunohistohemijska i morfometrijska analiza psamomatoznih telašaca horoidnog spleta u toku starenja čoveka. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet, Niš; 2006.
 103. Jevdjovic T, Bernays RL, Eppler E. Insulin like growth factor-I mRNA and peptide in the human anterior pituitary. *J Neuroendocrinol* 2007;19(5):335-341.
 104. Junqueira LC, Carneiro J. Osnovi histologije - tekst i atlas. Jedanaesto izdanje. Data Status, Beograd; 2005.
 105. Jurado S, Cónsole G, Gomez Dumm C. Sexually dimorphic effects of aging on rat somatotroph cells. An immunohistochemical and ultrastructural study. *J Vet Med Sci* 1998;60(6):705-11.
 106. Kahle W, Frotscher M. Color atlas of human anatomy nervous sistem and sensory organs. 5th ed., vol 3, Thieme, New York; 2002.
 107. Kališnik M. Temelji stereologije. 1st ed. Stereološka sekcija Zveze društev anatomov Jugoslavije, Ljubljana; 1985.
 108. Kamel H, Maas D, Duthie E. Role of hormones in the pathogenesis and management of sarcopenia. *Drugs Aging* 2002;19(11):865-77.
 109. Kataoka J. Comparative studies of muscle structure of the m. triceps surae and m. plantaris in man and monkey. *J Scowa Med Assoc* 1987;47(6):851-61.
 110. Kimura T, Hamai T, Shiraishi Y. Age-related functional and morphological changes in the anterior tibial muscle of men: muscular atrophy and decrease in the number of muscle fibers. *Anthropological Sci* 2002;110(4):403-13.
 111. Kirkwood TB. Understanding the science of aging. *Cell* 2005;120(4):437-47.
 112. Klitgaard H, Mantoni M, Schiaffino S, Ausoni S, Gorza L, Laurent-Winter C, Schnohr P, Saltin B. Functional, morphology and protein expresion of ageing skeletal muscle: a cross-sectional study of elderly men with different training backgrounds. *Acta Physiol Scand* 1990;140(1):41-54.
 113. Kobayashi K. Myofibrous organization in human quadriceps femoris muscle. *J Showa Med Assoc* 1991;51(2):186-96.
 114. Koopman R. Dietary protein and exercise training in ageing. *Proc Nutr Soc* 2011; 70(1):104-13.
 115. Korenchevsky V. Psychological and pathological ageing. Editor: Bourne GH., Karger, 1961.
 116. Kowald A. The mitochondrial theory of aging. *Biol Signals Recept* 2001;10(3-4):162-75.

117. Krmpotić-Nemanić J, Marušić A. Anatomija čoveka. Medicinska knjiga, Zagreb; 2007.
118. Kuehnel W. Color atlas of cytology, histology, and microscopic anatomy. 4th ed. Thieme, Stuttgart, 2003.
119. Kato K, Saeki N, Yamaura A. Morphological changes on MR imaging of the normal pituitary gland related to age and sex: main emphasis on pubescent females. *J Clin Neurosci* 2002;9(1):53-6.
120. Lačković V, Nikolić I, Todorović V. Osnovna i oralna histologija i embriologija, first edition. Data Status, Belgrade; 2012:157-61.
121. Lamberts SWJ, Van den Beld AW, Van der Lely AJ. The endocrinology of aging. *Science* 1997;278(5337):419-24.
122. Landfield PW, Sundberg DK, Smith MS, Eldridge JC, Morris M. Mammalian aging: Theoretical implications of changes in brain and endocrine system during mid - and late-life in rats. *Peptides* 1980;1:185-96.
123. Lang CH, Silvis C, Deshpande H, Nystrom G, Frost RA. Endotoxin stimulates in vivo expression of inflammatory cytokines tumor necrosis factor alfa, interleukin-1beta, -6, and high-mobility-group protein-1 in skeletal muscle. *Shock* 2003;19(6):538-46.
124. Larsen NB, Rasmussen M, Rasmussen LJ. Nuclear and mitochondrial DNA repair: similar pathways. *Mitochondrion* 2005;5(2):89-108.
125. Latham NK, Bennett DA, Stretton CM, Anderson CS. Systematic review of progressive resistance strenght traing in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59(1):48-61.
126. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 2001;22(1):53-74.
127. Le Tissier PR, Hodson DJ, Lafont C, Fontanaud P, Schaeffer M, Mollard P. Anterior pituitary cell networks. *Front Neuroendocrinol* 2012;33(3):252-66.
128. Lemmer JT, Hurlbut DE, Martel GH, Tracy BL, Ivey FM, Metter EJ, Pozard JL, Fleg JL, Hurley BF. Age and gender responses to strenght training and detraing. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(8):1505-12.
129. Lemoine S, Granier P, Tiffocche C, Rannou-Bekono F, Thieulant ML, Delamarche P. Estrogen receptor alpha mRNA in human sceletal muscles. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(3):439-43.
130. Leslie M. Aging research grows up. *Sci Aging Knowledge Environ* 2001;2001(1):oa1.
131. Lexell J, Taylor CC, Sjöström M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci* 1988;84(2-3):275-94.
132. Ling SM, Conwit RA, Ferrucci L, Metter EJ. Age-associated changes in motor unit physiology: observation from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Arch Phys Med Rehabil* 2009;90(7):1237-40.
133. Lippert LS. Clinical kinesiology and anatomy, fourth edition. FA Davis Company, Philadelphia; 2006:238-9.
134. Lipsey MW, Wilson DB. Practical meta-analysis, first edition. SAGE Publications London; 2001.
135. Lissett CA, Shalet SM. Effects of growth hormone on bone and muscle. *Growth Horm IGF Res* 2000;10(Suppl. B):S95-101.
136. Liu Z, Long W, Fryburg DA, Barrett EJ. The regulation of body and skeletal muscle protein metabolism by hormones and amino acids. *J Nutr* 2006;136(1Suppl):212S-7S.
137. Lord C, Chaput JP, Aubertin-Leheudre M, Labonté M, Dionne IJ. Dietary animal protein intake: association with muscle mass index in older womwn. *J Nutr Health Aging* 2007;11:383-7.

138. Manini TM, Clark BC. Dynapenia and aging: An Update. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012;67(1):28-40.
139. Marcell TJ, Harman SM, Urban RJ, Metz DD, Rodgers BD, Blackman MR. Comparison of GH, IGF-I, and testosterone with mRNA of receptors and myostatin in skeletal muscle in older men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;281(6):E1159-64.
140. McDade TW. Life history theory and the immune system: steps toward a human ecological immunology. *Am J Phys Anthropol* 2003;Suppl 37:100-25
141. Melmed S, Kleinberg D, Ho K. Pituitary Physiology and Diagnostic Evaluation. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Konenberg HM. (Eds.) *Williams Textbook of Endocrinology*, 12th edition. Elsevier Saunders, Philadelphia 2011;175-228.
142. Messina G, Biressi S, Monteverde S, Magli A, Cassano M, Perani L, Roncaglia E, Tagliafico E, Starnes L, Campbell CE, Grossi M, Goldhamer DJ, Gronostajski RM, Cossu G. Nfix regulates fetal-specific transcription in developing skeletal muscle. *Cell* 2010;140(4):554-66.
143. Metter EJ, Conwit R, Tobin J, Fozard JL. Age-associated loss of power and strength in the upper extremities in women and men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1997;52(5):B267-76.
144. Michael R, Gordon K, Wojciech P. *Histology*. 4th ed. 2002;646-650.
145. Mihalj M, Obradović D. *Opšta anatomija*. Novi Sad; 2004:48-60.
146. Mills SE. *Histology for pathologists*. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia; 2007.
147. Millward DJ, Fereday A, Gibson NR, Cox MC, Pacy PJ. Efficiency of utilization of wheat and milk protein in healthy adults and apparent lysine requirements determined by a single-meal [1-13C]leucine balance protocol. *Am J Clin Nutr* 2002;76(6):1326-34.
148. Milošević V, Brkić B, Velkovski S, Starčević V. Somatostatin-induced changes of the ACTH and STH cells in the hypophysis of the male rats. *J Med Biochem* 1994;13:102-6.
149. Milošević V, Nestorović N, Terzić M, Starčević V. Changes of somatotropes in female rats after multiple and chronic treatment with somatostatin. *Arch Biol Sci* 2002;54(1-2):3P-4P.
150. Miszko TA, Cress ME, Slade JM, Covey CJ, Agrawal SK, Doerr CE. Effect of strength and power training on physical function in community-dwelling older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003;58(2):171-5.
151. Mollard P, Hodson DJ, Lafont C, Rizzoti K, Drouin J. A tridimensional view of pituitary development and function. *Trends Endocrinol Metabol* 2012;23(6):261-9.
152. Morley JE. Anorexia, sarcopenia and aging. *Nutrition* 2001;17(7-8):660-3.
153. Morley JE. Weight loss in older persons: new therapeutic approaches. *Cur Pharm Des* 2007;13(35):3637-47.
154. Morley JE. Sarcopenia: diagnosis and treatment. *J Nutr Health Aging* 2008;12(7):452-6.
155. Morley JE. Developing novel therapeutic approaches to frailty. *Curr Pharm Des* 2009;15(29):3384-95.
156. Morley JE. Anabolic steroids and frailty. *J Am Med Dir Assoc* 2010a;11(8):533-6.
157. Morley JE, Argiles JM, Evans WJ, Bhasin S, Cella D, Deutz NE, Doehner W, Fearon KC, Ferrucci L, Hellerstein MK, Kalantar-Zadeh K, Lochs H, MacDonald N, Mulligan K, Muscaritoli M, Ponikowski P, Posthauer ME, Rossi Fanelli F, Schambelan M, Schols AM, Schuster MW, Anker SD; Society for Sarcopenia, Cachexia, and Wasting Disease. National recommendations for the management of sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc* 2010b;11(6):391-6.

158. Morley JE, Abbatecola AM, Argiles JM, Baracos V, Bauer J, Bhasin S, Cederholm T, Coats AJ, Cummings SR, Evans WJ, Fearon K, Ferrucci L, Fielding RA, Guralnik JM, Harris TB, Inui A, Kalantar-Zadeh K, Kirwan BA, Mantovani G, Muscaritoli M, Newman AB, Rossi-Fanelli F, Rosano GM, Roubenoff R, Schambelan M, Sokol GH, Storer TW, Vellas B, von Haehling S, Yeh SS, Anker SD; Society on Sarcopenia, Cachexia and Wasting Disorders Trialist Workshop. Sarcopenia with limited mobility: an international consensus. *J Am Med Dir Assoc* 2011;12:403-9.
159. Morley JE. Sarcopenia in the elderly. *Fam Pract* 2012;29 Suppl 1:i44-8.
160. Mühlberg W, Sieber C. Sarcopenia and frailty in geriatric patients: implications for training and prevention. *Z Gerontol Geriatr* 2004;37(1):2-8.
161. Narici MV, Maffulli N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. *Br Med Bull* 2010;93:139-59.
162. Nass R, Johannsson O, Christiansen JS, Kopchick JJ, Thomer MO. The aging population-is there a role for endocrine interventions? *Growth Horm IGF Res* 2009;19(2):89-100.
163. Nilwik R, Snijders T, Leenders M, Groen BB, van Kranenburg J, Verdijk LB, van Loon LJ. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size. *Exp Gerontol* 2013;48(5):492-8.
164. O' Flaherty J, Mei Y, Freer M, Weyman CM. Signaling through the trail receptor DR5/FADD pathway plays a role in the apoptosis associated with skeletal muscle myoblast differentiation. *Apoptosis* 2006;11(12):2103-13.
165. Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Zhang XJ, Volpi E, Wolf SE, Aarsland A, Ferrando AA, Wolfe RR. Amino-acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(3):E321-8.
166. Papadakis MA, Grady D, Black D, Tierney MJ, Gooding GA, Schambelan M, Grunfeld C. Growth hormone replacement in healthy older men improves body composition but non functional ability. *Ann Intern Med* 1996;124(8):708-16.
167. Pavlović M, Jovanović I, Ugrenović S, Vasović LJ, Krstić M, Bakić M, Živković V, Stojanović V. Morphometric analysis of the human anterior pituitary's folliculostellate cells during the aging process. *Ann Anat* 2013;195(3):231-7.
168. Pavlović S, Stefanović N, Vučetić R, Antić S, Čukuranović R, Arsić S. Anatomija centralnog nervnog sistema i čula. Niš; 2004.
169. Payette H, Roubenoff R, Jacques PF, Dinarello CA, Wilson PW, Abad LW, Harris T. Insulin-like growth factor-1 and interleukin 6 predict sarcopenia in very old community-living men and women: the Framingham Heart Study. *J Am Geriatr Soc* 2003;51(9):1237-43.
170. Perez-Castro C, Renner U, Haedo MR, Stalla GK, Arzt E. Cellular and molecular specificity of pituitary gland physiology. *Physiol Rev* 2012;92(1):1-38.
171. Permuter M, Hall E. Adult development and aging. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York; 1992.
172. Pery HM 3rd, Miller DK, Patrick P, Morley JE. Testosterone and leptin in older African-American men: relationship to age, strength, function and season. *Metabol Clin Exper* 2000;49(8):1085-91.
173. Perrini S, Laviola L, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *J Endocrinol* 2010;205(3):201-10.
174. Petrosyan K, Tamayo R, Joseph D. Sensitivity of a novel biotin-free detection reagent (Powervision+y) for immunohistochemistry. *J Histotechnol* 2002;25:247-50.

175. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Suppan K, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H. Effects of a long term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals. *Osteoporosis Int* 2009; 20(2):315-22.
176. Poehlman ET, Toth MJ, Gardner AW. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. *Ann Intern Med* 1995;123(9):673-5
177. Puche JE, Castilla-Cortázar I. Human conditions of insulin-like growth factor I (IGF-I) deficiency. *J Transl Med* 2012;10:224.
178. Quinn L, Haugk K, Grabstein K. Interleukin-15: a novel anabolic cytokine for skeletal muscle. *Endocrinology* 1995;136(8):3669-72.
179. Reid MB, Li YP. Tumor necrosis factor-alpha and muscle wasting: a cellular perspective. *Respir Res* 2001;2(5):269-72.
180. Reid KF, Callahan DM, Carabello RJ, Phillips EM, Frontera WR, Fielding RA. Lower-extremity power training in elderly subjects with mobility limitations: a randomized controlled trial. *Aging Clin Exp Res* 2008;20(4):337-43.
181. Rice CL, Cunningham DA, Paterson DH, Lefcoe MS. Arm and leg composition determined by computed tomography in young and elderly men. *Clin Physiol* 1989; 9(3):207-20.
182. Rolland Y, Czerwinski S, Abellan Van Kan G, Morley JE, Cesari M, Onder G, Woo J, Baumgartner R, Pillard F, Boirie Y, Chumlea WM, Vellas B. Sarcopenia: its assessment, etiology, pathogenesis, consequences and future perspectives. *J Nutr Health Aging* 2008;12(7):433-50.
183. Rolland Y, Lauwers-Cances V, Cristini C, Abellan van Kan G, Janssen I, Morley JE, Vellas B. Difficulties with physical function associated with obesity, sarcopenia, and sarcopenic-obesity in community-dwelling elderly women: the EPIDOS (EPIDemiologie de l'Osteoporose) Study. *Am J Clin Nutr* 2009;89(6):1895-900.
184. Roth SM, Ferrell RF, Hurley BF. Strength training for the prevention and treatment of sarcopenia. *J Hum Health Ageing* 2000;4(3):143-55.
185. Roth SM, Ivey FM, Martel GF, Lemmer JT, Hurlbut DE, Siegel EL, Metter EJ, Fleg JL, Fozard JL, Kostek MC, Wernick DM, Hurley BF. Muscle size responses to strength training in young and older men and women. *J Am Geriatr Soc* 2001;49(11):1428-33.
186. Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA, Nair KS. Effect of age in vivo rates of mitochondrial protein synthesis in human skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93(26):15364-9.
187. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr* 1997;127(5Suppl):990S-991S.
188. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology, 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia: 2002:646-50.
189. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology - A text and atlas. 4th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore; 2003.
190. Roubenoff R. Origins and clinical relevance of sarcopenia. *Can J Appl Physiol* 2001; 26(1):78-89.
191. Roubenoff R, Parise H, Payette HA, Abad LW, D'Agostino R, Jacques PF, Wilson PW, Dinarello CA, Harris TB. Cytokines, insulin-like growth factor 1, sarcopenia, and mortality in very old community-dwelling men and women: the Framingham Heart Study. *Am J Med* 2003;115(6):429-35.
192. Rubin E, Farber JL. editors. Pathology, 2nd ed., Lippincott - Raven Co, Philadelphia; 1998.

193. Rudman D, Feller AG, Nagraj HS, Gergans GA, Lalitha PY, Goldberg AF, Schlenker RA, Cohn L, Rudman IW, Mattson DE. Effects of human growth hormone in men over 60 years old. *N Engl J Med* 1990;323(1):1-6
194. Russ JC, Dehoff RT. Practical Stereology, second edition. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York; 2000
195. Sadler TW. Medical Embriology. Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia PA; 2010.
196. Salminen A, Kaarniranta K. Genetics vs. entropy: longevity factors suppress the NF - KappaB-driven entropic aging process. *Ageing Res Rev* 2010;9(3):298-314.
197. Salminen A, Kauppinen A, Kaarniranta K. Emerging role of NF-kb signaling in the induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP). *Cell signaling* 2012; 24(4):835-45.
198. Sano T, Kovacs KT, Scheithauer BW, Young WF Jr. Aging and the human pituitary gland. *Mayo Clin Proc* 1993;68(10):971-7.
199. Sattler FR. Growth hormone i the aging male. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013;27(4):541-55.
200. Sayers SP. High-speed power traing: a novel approach to resistance traing in older men and women. A brief review and pilot study. *J Strenght Cond Res* 2007;21(2): 518-28.
201. Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Harris TB, Kritchevsky SB, Newman AB, Colbert LH, Pahor M, Rubin SM, Tylavsky FA, Visser M; Health ABC Study. Higher inflammatory marker levels in older persons: associations with 5-year change in muscle mass and muscle strength. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009;64(11):1183-9.
202. Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol Rev* 1996;76(2):371-423.
203. Schroeder ET, Terk M, Sattler FR. Androgen therapy improves muscle mass and strength but not muscle quality: results from two studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285(1):E16-24.
204. Seeman TE, Robbins RJ. Aging and hypothalamic-pituitary-adrenal response of challenge in humans. *Endoc Rev* 1994;15(2):233-60.
205. Sheffield-Moore M, Yeckel CW, Volpi E, Wolf SE, Morio B, Chinkes DL, Paddon-Jones D, Wolfe RR. Postexercise protein metabolism in older and younger men following moderate-intensity aerobic exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287(3):E513-22.
206. Shi SR, Guo J, Cote RJ, Young LL, Hawes D, Shi Y, Thu S, Taylor CR. Sensitivity and detection efficiency of a novel two-step detection system (Power Vision) for immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 1999;7(3):201-8.
207. Shimokawa I, Yu BP, Higami Y, Ikeda T. Morphometric analysis of somatotrophs: effects of age and dietary restriction. *Neurobiol Aging* 1996;17(1):79-86.
208. Short KR, Bigelow ML, Kahl J, Singh R, Coenen-Schimke J, Raghavakaimal S, Nair KS. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102(15):5618-23.
209. Siegel A, Sapru HN, Essential Neuroscience. 2nd ed. Wolters Kluwer Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia; 2011.
210. Smith RG, Betancourt L, Sun Y. Molecular endocrinology and physiology of the aging central nervous system. *Endocr Rev* 2005;26(2):203-50.
211. Solomon AM, Bouloux PM. Modifying muscle mass-the endocrine perspective. *J Endocrinol* 2006;191(2):349-60.

212. Stefanović S. Procena histoloških promena na ganglijskim ćelijama gornjeg vratnog ganglionu primenom stereoloških metoda u procesu starenja kod čoveka 1987; Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Niš.
213. Stefanović N, Antić S, Pavlović S. Anatomija donjeg ekstremiteta. Drugo izdanje. Sven, Niš, 2011.
214. Stefanović N. Anatomija čoveka. Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja, Niš, 2012.
215. Sternberger LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* 1970;18(5):315-33.
216. Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Osada T, Febbraio MA, Pedersen BK. IL-6 and TNF-alfa expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;283(6):E1272-8.
217. Strandring S, editor. Gray's Anatomy: The anatomical basis of clinical practice. 40th ed. Churchill Livingstone Elsevier; 2008.
218. Straub RH, Cutolo M, Zietz B, Schölmerich J. The process of aging changes interplay of the immune, endocrine and nervous system. *Mech Ageing Dev* 2001;122(14):1591-611.
219. Sun YK, Xi YP, Fenoglio CM, Pushparaj N, O' Toole KM, Kledizik GS, Nette EG, King DW. The effect of age on the number of pituitary cells immunoreactive to growth hormone and prolactin. *Hum Pathol* 1984;15(2):169-80.
220. Taaffe DR, Harris TB, Ferrucci L, Rowe J, Seeman TE. Cross-sectional and prospective relationships of interleukin-6 and C-reactive protein with physical performance in elderly persons: MacArthur studies of successful aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000;55(12):M709-15.
221. Takahashi S, Kawashima S. Age-related changes in prolactin cells in male and female rats of the Wistar/Tw strain. *J Sci Hiroshima Univ* 1983;31:185-91.
222. Taylor WE, Bhasin S, Artaza J, Byhower F, Azam M, Willard DH Jr, Kull FC Jr, Gonzalez-Cadavid N. Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C2C12 muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280(2):E221-8.
223. Thomas DR. Loss of skeletal muscle mass in aging: examining the relationship of starvation, sarcopenia and cachexia. *Clin Nutr* 2007;26(4):389-99.
224. Thompson DD. Aging and sarcopenia. *J Musculoskeletal Neuronal Interact* 2007;7(4):344-5.
225. Tomonaga M. Histochemical and ultrastructural changes in senile human skeletal muscle. *J Am Geriatr Soc* 1977;25:123-31.
226. Tracy BL, Ivey FM, Hurlbut D, Martel GF, Lemmer JT, Siegel EL, Metter EJ, Fozard JL, Fleg JL, Hurley BF. Muscle quality. II. Effects of strength training in 65 - to 75-yr-old men and women. *J Appl Physiol* 1999;86:195-201.
227. Tranel D, Brady DR, Van Hoesen GW, Damasio AR. Parahippocampal projections to posterior auditory association cortex (area Tpt) in Old-World monkeys. *Exp Brain Res*. 1988;70(2):406-16.
228. Vankelecom H. Non-hormonal cell types in the pituitary candidate for stem cell. *Semin Cell Dev Biol* 2007;18(4):559-70.
229. van der Wielen R, Lowik M, Van den Berg. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995;346(8969):207-10.
230. Vandervoort AA. Aging of the human neuromuscular system. *Muscle Nerve* 2002;25(1):17-25.
231. Vedder H. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Neuroimmun Biol* 2007;7:17-31.

232. Veldhuis JD, Keenan DM, Liu PY, Iranmanesh A, Takahashi PY, Nehra AX. The aging male hypothalamic-pituitary-gonadal Axis: pulsatility and feedback. *Mol Cell Endocrinol* 2009;299(1):14-22.
233. Verdijk LB, Snijders T, Beelen M, Savelberg HH, Meijer K, Kuipers H, Van Loon LJ. Characteristics of muscle fibers type are predictive of skeletal muscle mass and strength of elderly men. *J Am Geriatr Soc* 2010;58(11):2069-75.
234. Verdijk LB, Dirks MJ, Snijders T, Prompers JJ, Beelen EM, Jonkers RA, Thijssen DH, Hopman MT, Van-Loon LJ. Reduced satellite cell numbers with spinal cord injury and aging in humans. *Med Sci Sport Exercs* 2012;44:2322-30.
235. Volpi E, Nazemi R, Fujita S. Muscle tissue changes with aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7(4):405-10.
236. von Haehling S, Anker SD. Cachexia as a major underestimated and unmet medical need: facts and numbers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2010;1(1):1-5.
237. von Haehling S, Morley JE, Anker SD. An overview of sarcopenia facts and numbers on prevalence and clinical impact. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2010;1(2):129-33.
238. Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros JJ, Lunenfeld B, Morales A, Morley JE, Schulman C, Thompson IM, Weidner W, Wu FC. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA and ASA recommendations. *Eur J Endocrinol* 2008;159(5):507-14.
239. Waters DJ, Qualls CR, Dorin RI, Veldhuis JD, Baumgartner RN. Altered growth hormone, cortisol, and leptin secretion in healthy elderly persons with sarcopenia and mixed body composition phenotypes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2008;63(5):536-41.
240. Weinert BT, Timiras PS. Theories of aging. *J Appl Physiol* 2003;95(4):1706-16.
241. Weiss J, Lansing AI. Age changes in the fine structure of anterior pituitary of the mouse. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953;82(3):460-6.
242. Welle S, Bhatt K, Shah B, Needler N, Delehanty JM, Thornton CA. Reduced amount of mitochondrial DNA in aged human muscle. *J Appl Physiol* 2003;94(4):1497-88.
243. Welle S, Thornton C, Jozefowicz R, Statt M. Myofibrillar protein synthesis in young and old men. *Am J Physiol* 1993;264(5Pt1):E693-8.
244. Wiik A, Ekman M, Johansson O, Jansson E, Esbjörnsson M. Expression of both oestrogen receptor alpha and beta in human skeletal muscle tissue. *Histochem Cell Biol* 2009;131(2):181-9.
245. Yeung CM, Chan CB, Leung PS, Cheng CH. Cells of the anterior pituitary. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38(9):1441-9.
246. Yonker JA, Chang V, Roetker NS, Hauser TS, Hauser RM, Atwood CS. Hypothalamic-pituitary-gonadal axis homeostasis predict longevity. *Age (Dordr.)* 2013;35(1):129-38.
247. Young B, Lowe JS, Stevens A, Heath JW. Wheater's functional histology: A Text and colour atlas. 5th ed. Elsevier Livingstone, Philadelphia; 2007.

Biografija

Dr Vladimir Antić, rođen je 18. 02. 1985. godine u Nišu. Osnovnu školu i gimnaziju “Svetozar Marković” u Nišu završio sa odličnim uspehom. 2004. godine upisao je Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, smer medicina. Diplomirao je 08. 10. 2010. godine. Prosečna ocena tokom studiranja je bila 9,53 i odbranjen diplomski rad iz anatomije sa ocenom 10. U toku studija učestvovao je na studentskim kongresima studenata medicine kako u zemlji tako i u inostranstvu. 19. 12. 2011. godine upisao je Akademske doktorske studije na Medicinskom fakultetu u Nišu - smer molekularna medicina. Obavio je pripravnički staž u Kliničkom centru Niš i Domu zdravlja Niš. 2011. godine položio je stručni ispit pri Ministarstvu zdravlja. Služi se engleskim jezikom i poseduje znanje rada na računaru. Zasnovao je radni odnos 28. 12. 2012. na Fakultetu sporta i fizičkog vaspitanja u Nišu u zvanju asistenta na predmetu Anatomija na kome se i danas nalazi.



Univerzitet u Nišu

Izjava 1.

IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem da je doktorska disertacija, pod naslovom
**MORFOMETRIJSKA I IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA SOMATOTROPNIH
ĆELIJA ADENOHIPOFIZE I NJIHOVA POVEZANOST SA PRISUSTVOM
SARKOPENIJE TOKOM STARENJA ČOVEKA**

koja je odbranjena na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu:

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da ovu disertaciju, ni u celini, ni u delovima, nisam prijavljivao na drugim fakultetima, niti univerzitetima;
- da nisam povredio autorska prava, niti zloupotrebio intelektualnu svojinu drugih lica.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci, koji su u vezi sa autorstvom i dobijanjem akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada, i to u katalogu Biblioteke, Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Nišu, kao i u publikacijama Univerziteta u Nišu.

U Nišu, _____ 2015. godine

Autor disertacije: **dr Vladimir Antić**

Potpis autora disertacije:



Univerzitet u Nišu

Izjava 2.

IZJAVA

O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKE DISERTACIJE

Ime i prezime autora: **dr Vladimir Antić**

Naslov disertacije: **MORFOMETRIJSKA I IMUNOHISTOHEMIJSKA
ANALIZA SOMATOTROPNIH ČELIJA
ADENOHIPOFIZE I NJIHOVA POVEZANOST SA
PRISUSTVOM SARKOPENIJE TOKOM STARENJA
ČOVEKA**

Mentor: **Prof. dr Ivan Jovanović**

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji, koju sam predao za unošenje u **Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu.**

U Nišu, _____ 2015. godine

Potpis autora disertacije:



Univerzitet u Nišu

Izjava 3.

IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Nikola Tesla“ da, u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu, unese moju doktorsku disertaciju, pod naslovom:

MORFOMETRIJSKA I IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA SOMATOTROPNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE I NJIHOVA POVEZANOST SA PRISUSTVOM SARKOPENIJE TOKOM STARENJA ČOVEKA

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

Moju doktorsku disertaciju, unetu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu, mogu koristiti svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons), za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. **Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)**
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerade (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da podvučete samo jednu od šest ponuđenih licenci; opis licenci dat je u nastavku teksta).

U Nišu, _____ 2015. godine

Autor disertacije: **dr Vladimir Antić**

Potpis autora disertacije:
