



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Jovana R. Čukuranović Kokoris

**MORFOMETRIJSKA I IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA
STRUKTURA ADENOHIPOFIZE KOJE SU SASTAVNI DEO
GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE
TOKOM STARENJA ČOVEKA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2017.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Jovana R. Čukuranović Kokoris

**MORPHOMETRIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL
ANALYSIS OF THE ADENOHYPHYSAL STRUCTURES
WHICH ARE THE COMPONENTS OF THE GONADOTROPIC
AND SOMATOTROPIC AXES DURING HUMAN AGING**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2017.

Posvećujem

SVOJIM RODITELJIMA

zbog usmeravanja svoje dece da teže ka intelektualnom

SVOM SUPRUGU

zbog ogromne podrške, strpljivosti, razumevanja i ljubavi

ĆERKI DROTEI

zbog toga što život čini vrednim

Zahvaljujem

SVOJIM UČITELJIMA

koji su mi pokazali lepotu i izazov anatomije

PROFESORU IVANU JOVANOVIĆU

koji me je uveo u svet nauke

Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor	Doc. dr Vesna Stojanović, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu
Naslov:	Morfometrijska i imunohistohemijska analiza struktura adenohipofize koje su sastavni deo gonadotropne i somatotropne osovine tokom starenja čoveka
Rezime:	<p>Kako iz podataka u literaturi proističe da ćelije adenohipofize sa vremenom menjaju svoju funkciju, cilj istraživanja je bio da se primenom morfometrijskog metoda izvrši kvantifikacija morfološkog supstrata luteinizirajućih (LH) gonadotropnih, somatotropnih (GH) i folikulostelatnih (FS) ćelija muškaraca tokom procesa starenja.</p> <p>Materijal je predstavljalo tkivo adenohipofize 14 kadavera muškog pola. Tkivni preseki adenohipofize su standardno histološki obrađivani i bojani imunohistohemijski monoklonalnim anti-LH antitelom, monoklonalnim anti-GH antitelom i poliklonalnim anti-S100 antitelom za detekciju LH, GH i FS ćelija. Digitalne slike vidnih polja imunohistohemijski obrađenih preseka adenohipofize su zatim morfometrijski analizirane pomoću ImageJ sistema. Statistička analiza je vršena pomoću SPSS statističkog paketa.</p> <p>Rezultati morfometrijske analize su pokazali da se zapreminska gustina LH i GH ćelija nije značajno menjala sa godinama, dok su njihova area, perimetar i Feret-ov dijametar statistički značajno rasli. Nuklearni morfometrijski parametri se nisu značajno menjali, a nukleocitoplazmatski odnos ovih ćelija je opadao sa starenjem, pri čemu je taj pad bio statistički značajan kod slučajeva starijih od 70 godina. Morfometrijskom analizom je konstatovan rast zapreminske gustine FS ćelija tokom starenja, statistički značajan kod slučajeva starijih od 70 godina. Na kraju, zapreminska gustina FS ćelija je značajno korelirala sa areom, perimetrom, Feret-ovim dijametrom i nukleocitoplazmatskim odnosom LH ćelija i samo sa nukleocitoplazmatskim odnosom GH ćelija. Takođe su međusobno značajno korelirali morfometrijski parametri LH i GH ćelija.</p> <p>Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se tokom starenja gustina LH i GH ćelija ne menja značajno, već da one hipertrofiraju. Dugotrajna hipertrofija ovih ćelija na kraju dovodi do njihovog funkcionalnog pada, koji postaje značajan nakon 70. godine života. Veličina i gustina FS ćelija sa starenjem značajno rastu, naročito posle 70. godine života, što ukazuje na pojačanu funkciju ovih ćelija. Značajna korelacija između morfometrijskih parametara LH i GH ćelija na jednoj strani i morfometrijskih parametara ovih ćelija i FS ćelija na drugoj, ukazuje na njihove međusobne interakcije tokom procesa starenja.</p>
Naučna oblast:	Medicina
Naučna disciplina:	Anatomija
Ključne reči:	Adenohipofiza, Luteinizirajuće gonadotropne ćelije, Somatotropne ćelije, Folikulostelatne ćelije, Morfometrija, Starenje
UDK:	611.814:612.67(043.3)
CERIF klasifikacija:	B440
Tip licence Kreativne zajednice:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor

Assist. Prof. Vesna Stojanović, MD, PhD, Faculty of Medicine, University of Niš

Title:

Morphometric and immunohistochemical analysis of the adenohipophyseal structures which are the components of the gonadotropic and somatotropic axes during human aging

Abstract:

Literature data show that adenohipophysis cells change their function with time, therefore, the aim of the research was to use the morphometric method to quantify the morphological substrate of luteinizing (LH) gonadotropic, somatotropic (GH) and folliculostellate (FS) cells in men during aging.

The material was adenohipophysis tissue taken from 14 male cadavers. For the detection of LH, GH and FS cells, the tissue cross-sections of adenohipophysis were histologically processed and stained with immunohistochemical monoclonal anti-LH antibody, monoclonal anti-GH antibody and polyclonal anti-S100 antibody. Digital images of immunohistochemically processed adenohipophysis sections were then analyzed morphometrically using ImageJ system. SPSS statistical package was used for statistical analysis.

The results of morphometric analysis showed that volume density of LH and GH cells did not change significantly with age, whereas their area, perimeter and Feret diameter statistically significantly increased. Nuclear morphometric parameters did not change significantly and nucleocytoplasmic relationship of these cells decreased with age whereby the decrease had statistical significance in patients over 70 years of age. Morphometric analysis showed an increase in volume density of FS cells with aging which is statistically significant in people over 70. Finally, the volume density of FS cells was significantly correlated with area, perimeter, Feret diameter and nucleocytoplasmic relationship of LH cells and only with nucleocytoplasmic relationship of GH cells. There was also a significant correlation between morphometric parameters of LH and GH cells. Based on the obtained results, it can be concluded that with aging the density of LH and GH cells does not change significantly but the cells become hypertrophic. Long-term hypertrophy of these cells eventually causes functional weakening which becomes significant after 70 years of age. The size and density of FS cells substantially increase after 70 years of age which points to their increased function. An important correlation between morphometric parameters of LH and GH cells on one side and FS cells on the other points to their mutual interactions during aging.

Scientific Field:

Medicine

Scientific Discipline:

Anatomy

Keywords:

adenohipophysis, luteinizing gonadotropic cells, somatotropic cells, folliculostellate cells, morphometry, aging

UDC:

611.814:612.67(043.3)

CERIF Classification:

B440

Creative Commons Licence Type:

CC BY-NC-ND

LISTA SKRAĆENICA

Ach	– Acetil-holin
ACTH	– Adrenokortikotropni hormon
ADH	– Antidiuretski hormon
AVP	– Arginin-vazopresin
BMI	– Indeks telesne mase
CATR	– Kokain-amfetamin - regulisani transkript
CNS	– Centralni nervni sistem
CRH	– Kortikotropin-rilizing hormon
DA	– Dopamin,
DNK	– Dezoksiribonukleinska kiselina
FFA	– Slobodne masne kiseline
FSH	– Foliklostimulirajući hormon
GABA	– γ -aminobuterna kiselina
GALP	– Galaninu sličan peptid
GFAP	– Glijalni kiseli fibrilarni protein
GH	– Hormon rasta
GHRH	– Somatotropin-rilizing hormon
GHRP	– Rilizing peptid hormona rasta
GnRH	– Gonadotropin-rilizing hormon
IGF-1	– Hepatični medijator ili somatomedin
LH	– Lutenizirajući hormon
MSH	– Melanocitno-stimulišući hormon
NE	– Norepinefrin
NPY	– Neuropeptid Y
PAP	– Metoda peroksidaze antiperoksidaze
POMC	– Proopiomelanokortin
PRL	– Prolaktin
PVN	– Paraventrikularno jedro hipotalamusa
RNK	– Ribonukleinska kiselina
SON	– Supraoptičko jedro hipotalamusa
SRIF	– Somatostatin
SST	– Somatotropin-inhibitorni hormon (somatostatin)
TRH	– Tirotropin-rilizing hormon
TSH	– Tirostimulirajući hormon (tirotropin)
5-HT	– Serotonin.

SADRŽAJ

UVOD	1
1. PREGLED LITERATURE	4
1.1. DEFINICIJA GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE ČOVEKA....	4
1.2. HIPOTALAMUSNE KOMPONENTE GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE	7
1.2.1. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE HIPOTALAMUSA	7
1.2.2. GRAĐA HIPOTALAMUSA	8
1.2.3. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA HIPOFIZIOTROPNOG GnRH HIPOTALAMUSA	11
1.2.4. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA HIPOFIZIOTROPNOG GHRH I SST SISTEMA HIPOTALAMUSA.....	12
1.2.5. KONTROLA SEKRECIJE GH DRUGIM FAKTORIMA	13
1.3. PITUITARNE KOMPONENTE GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE	14
1.3.1. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE HIPOFIZE	14
1.3.2. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE ADENOHIPOFIZE	15
1.3.3. HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE ADENOHIPOFIZE.....	16
1.3.4. FUNKCIONALNI ČELIJSKI TIPOVI ADENOHIPOFIZE.....	17
1.3.4.1. Gonadotropne ćelije.....	18
1.3.4.2. Somatotropne ćelije	18
1.3.4.3. Folikulostelatne ćelije.....	21
1.3.5. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE NEUROHIPOFIZE	21
1.3.6. VASKULARIZACIJA HIPOFIZE.....	22
1.3.7. INERVACIJA HIPOFIZE.....	23
1.4. GONADE KAO KOMPONENTE GONADOTROPNE OSOVINE.....	23
1.4.1. ANATOMSKE I FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE TESTISA	23
1.4.1.1. Spermatogeneza.....	24
1.4.1.2. Produkcija i lučenje testosterona	25
1.4.2. ANATOMSKE I FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE OVARIJUMA....	26
1.4.2.1. Funkcije hormona jajnika	27
1.5. STARENJE KAO BIOLOŠKI PROCES	29
1.5.1. TEORIJE STARENJA.....	30
1.5.1.1. Nestohastičke teorije starenja	30
1.5.1.2. Stohastičke teorije starenja	32
1.5.2. STARENJE KOD OSOBA MUŠKOG POLA	33
1.5.2.1. Hipotalamo-pituitarno-gonadotropna osovina i starenje	33
1.5.2.2. Hipotalamo-somatotropna osovina i starenje	35
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	38

3.	MATERIJAL I METODE	40
3.1.	MATERIJAL	40
3.2.	METODE.....	40
3.2.1.	DISEKCIONI POSTUPAK.....	40
3.2.2.	HISTOLOŠKA OBRADA	41
3.2.2.1.	Imunohistohemijsko bojenje LH gonadotropnih i somatotropnih ćelija adenohipofize	41
3.2.2.2.	Imunohistohemijsko bojenje folikulostelatnih ćelija adenohipofize	42
3.2.3.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA	43
3.2.3.1.	Astereološka analiza	43
3.2.3.2.	Stereološka analiza	44
3.2.4.	STATISTIČKA ANALIZA	45
4.	REZULTATI	46
4.1.	HISTOLOŠKA ANALIZA	46
4.1.1.	HISTOLOŠKA ANALIZA GONADOTROPNIH LH ĆELIJA	46
4.1.2.	HISTOLOŠKA ANALIZA SOMATOTROPNIH ĆELIJA	47
4.1.3.	HISTOLOŠKA ANALIZA FOLIKULOSTELATNIH ĆELIJA	49
4.2.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA	51
4.2.1.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA LH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE	51
4.2.2.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA LH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA VENTRALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE.....	58
4.2.3.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA LH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA DORZALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE	65
4.2.4.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA GH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE	74
4.2.5.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA GH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA VENTRALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE.....	81
4.2.6.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA GH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA DORZALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE	88
4.2.7.	MORFOMETRIJSKA ANALIZA S100 IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA VENTRALNE POLOVINE, DORZALNE POLOVINE I CELE ADENOHIPOFIZE	97
4.2.8.	KORELACIJA IZMEĐU MORFOMETRIJSKIH PARAMETARA GONADOTROPNIH LH I SOMATOTROPNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE	102
4.2.9.	KORELACIJA IZMEĐU PROSEČNE ZAPREMINSKE GUSTINE S100 I MORFOMETRIJSKIH PARAMETARA LH I GH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE.....	104
5.	DISKUSIJA	108
6.	ZAKLJUČCI	118
	LITERATURA	119
	BIOGRAFIJA AUTORA	132

UVOD

Starenje kao proces karakteriše postepeni pad telesnih funkcija, slabija reakcija čovekovog organizma na promene u okolini, pojačana sklonost ka bolestima karakterističnim za stare individue i konačno značajno viši mortalitet. Za razliku od genetski programiranog razvoja i rasta, starenje predstavlja kompleksan multifaktorijski proces, koji nije genetski programiran, već se pre može posmatrati kao vremenski zavistan pad telesnih funkcija usled nagomilavanja oštećenja molekularnih, celularnih i regulatornih sistema. Akumulirana oštećenja se konačno mogu manifestovati zdravstvenim problemima karakterističnim za podmakle godine. To sve ima za posledicu značajan pad opšteg blagostanja i niži potencijal starih osoba za kvalitetan i nezavistan život.

Sa endokrinološke tačke gledišta, starenje predominantno karakteriše pad funkcije onih sistema koji podupiru tkivni anabolizam. Kod muškog pola se to u najvećoj meri odnosi na dve veoma bitne komponente neuroendokrinog sistema: gonadotropnu i somatotropnu osovinu. Tako se pod terminima gonadopauza i somatopauza uglavnom podrazumeva pad biološke raspoloživosti testosterona (T) i hormona rasta (GH) i/ili IGF-1, respektivno. Ipak, napred navedeni procesi značajno variraju kod različitih individua, a na njihov intenzitet značajno utiču i faktori okoline i životne navike. Patofiziološki, gonadopauza ili kasni hipogonadizam se karakteriše progresivnom disregulacijom hipotalamo-pituitarno-gonadalne osovine, najverovatnije usled starošću uzrokovanog pada maksimalne hipotalamusne sekrecije gonadotropin rilizing hormona (GnRH), pada luteinizirajućim hormonom (LH) stimulisanе sekrecije T, pada maksimalne i prosečne amplitude LH pulsa uz očuvanje bazalne frekvencije LH pulsne sekrecije i, redukcije mehanizma negativne povratne sprege posredstvom T. Biohemijski se to manifestuje padom serumske koncentracije ukupnog T, bioraspoloživog T i slobodnog T, zatim umerenim porastom serumskog LH i FSH i konačno porastom serumskih nivoa globulina koji vezuje polne hormone. Napred navedene promene se klinički manifestuju simptomima koji su slični simptomima kod hipogonadizma mladih muškaraca, i dodatno nizom nespecifičnih manifestacija uključujući nervozu, iritabilnost, depresiju, oslabljenu memoriju, slabost, nesanicu, napade crvenila, periodično preznojavanje i gubitak seksualne snage. Za razliku od gonadopauze, uzroci i mehanizmi odgovorni za nastanak somatopauze ili kasnog hiposomatotropizma su znatno slabije istraženi i opisani u literaturi. Smatra se da u osnovi snižene sekrecije hormona rasta (GH) tokom starenja stoji višestruki neuroregulatorni

kolaps, kao što je kombinacija deficijentne sekrecije rilizing faktora (hormona) hormona rasta (GHRH) i/ili rilizing peptida hormona rasta (GHRP), tj. grelina, sa ekcesivnom sekrecijom somatostatina (SST). To na kraju rezultira padom, u najvećoj meri količine izlučenog GH po jednom sekretornom puls. Starenje ne utiče na frekvenciju pulsne sekrecije GH, bazalnu (konstitutivnu) GH sekreciju, poluživot GH, i kinetiku njegove eliminacije. Nasuprot hipogonadizmu, negativna povratna sprema posredovana GH i/ili IGF-1 postaje snažnija sa godinama. Posledicu napred navedenog predstavlja biohemijski hiposomatotropizam sa eksponencijalnim padom koncentracija GH i IGF-1 počevši od ranog adultnog perioda, koji se klinički manifestuje osteopenijom, sarkopenijom, intraabdominalnom gojaznošću, insulinskom rezistencijom, hiperlipidemijom, rizikom od ateroskleroze i lošijim kvalitetom života.

Prema tome, kako se klinički znaci kasnog hipogonadizma i hiposomatotropizma u velikoj meri preklapaju, pojedini autori su logično zaključili da oni proizilaze iz objedinjene patofiziologije, da pad sekrecije GH/IGF-1 pogoršava starošću izazvan pad LH – indukovane steroidogeneze i obratno, da opadanje nivoa androgena sa godinama oslabljuje rad hipotalamo – pituitarne GH/IGF-1 osovine. Ipak, u literaturi za hormon rasta uglavnom predominiraju podaci o njegovom učešću u reproduktivnoj funkciji žena, nešto manje muškaraca. Takođe, kada je u pitanju muški pol, pretežno se opisuje njegov značaj za polni sistem tokom rasta i puberteta, dok se o njegovom učešću u gonadopauzi malo piše. Tako se navodi da je on kritički važan za pravovremeni početak puberteta i indukciju seksualne maturacije, zatim da reguliše rast i funkciju sekundarnih seksualnih tkiva, kao što su prostata i semene kesice, da kod odraslih modulira sekreciju gonadotropina i da gonadotropin-zavisnim i gonadotropin-nezavisnim dejstvima utiče na steroidogenezu i gametogenezu. Uticaj muške gonadotropne osovine na funkciju somatotropne osovine tokom starenja je znatno više istraživano i detaljnije opisano u literaturi. Uočeno je da nedostatak polnih steroida, prvenstveno T i visceralna gojaznost zajedno, koreliraju i snažno statistički predviđaju GH i IGF-1 deficijenciju, što je empirijski indirektno potvrđeno činjenicom da nadoknada T tokom 2 nedelje do 6 meseci stimuliše GH produkciju kod starih i hipogonadalnih individua, ali ne i kod normalnih mladih muškaraca. Smatra se da se u osnovi napred navedenih pretpostavki može naći više mehanizama. Tako se razmatra mogućnost da nedostatak T naglašava efekat autonegativne povratne sprege GH, zatim da nedostatak T redukuje potencijal i/ili efikasnost GHRH, da nedostatak T pojačava hipotalamusnu sekreciju i/ili dejstvo SST, i da deprivacija T snižava aktivnost signalnog puta grelina kod starih muškaraca.

Konačno, na funkciju gonadotropne i somatotropne osovine sa starenjem mogu da utiču i folikulostelatne (FS) ćelije, koje sintezom i oslobađanjem citokina i faktora rasta u adenohipofizi, parakrinim putem mogu da regulišu sekreciju GH, FSH i LH.

Na osnovu napred navedenih, kao i podataka u literaturi jasno je da funkcionalni poremećaji tokom starenja na nivou dveju anaboličkih osovina čoveka, gonadotropne i somatotropne, u ovoj fazi razvoja nauke nemaju zadovoljavajuće definisan histomorfološki supstrat. Izuzetak čine samo relativno dobro izučene histomorfološke promene u testisu.

Sve napred navedeno nas je navelo da pretpostavimo da tokom procesa starenja u adenohipofizi dolazi do strukturnih promena, koje bi za posledicu mogle imati navedenu hormonsku disfunkciju. Pretpostavljene strukturne promene u adenohipofizi kadavera muškog pola želeli smo da detektujemo i kvantifikujemo primenom imunohistohemijske i morfometrijske metode, pomoću univarijantnih i multivarijantnih metoda statističke analize.

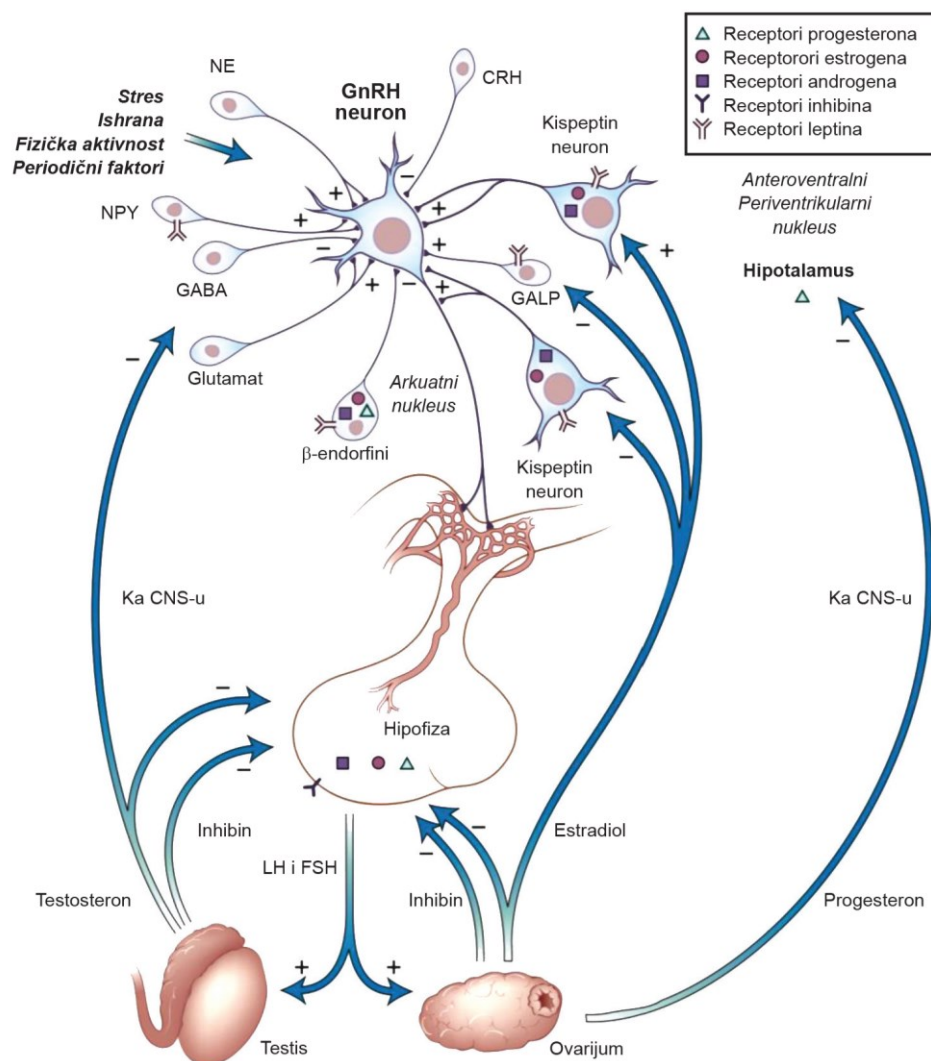
1. PREGLED LITERATURE

1.1. DEFINICIJA GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE ČOVEKA

Gonadotropna ili hipotalamo-pituitarno-gonadotropna osovina i Somatotropna ili hipotalamo-somatotropna osovina komponente su hipotalamo-pituitarog sistema, koji predstavlja mesto komunikacije između centralnog nervnog sistema (CNS) i endokrinog sistema. Preko hipotalamo-pituitarnog sistema različiti spoljašni (npr. dužina trajanja dana i stres) i unutrašnji faktori (npr. emocije) pokreću endokrine odgovore. Zajedno sa cirkumventrikularnim organima (*organum vasculosum laminae terminalis*, *organum subfornicale*, *neurohypophysis*, *eminentia mediana*, *glandula pinealis*, *organum subcommissurale*, *area postrema*), kao i tkivima na periferiji u kojima se odigrava interakcija između nervnih i endokrinih ćelija (gastrointestinalni sistem i njemu pridodate žlezde, npr. *pancreas*) hipotalamo-pituitarni sistem sačinjava neuro-endokrini sistem (Ferrari i sar., 2001; Goncharova i Lapin, 2002; Fink, 2012).

Gonadotropna i somatotropna osovina imaju anabolička dejstva, koja ostvaruju na različitim ciljnim organima.

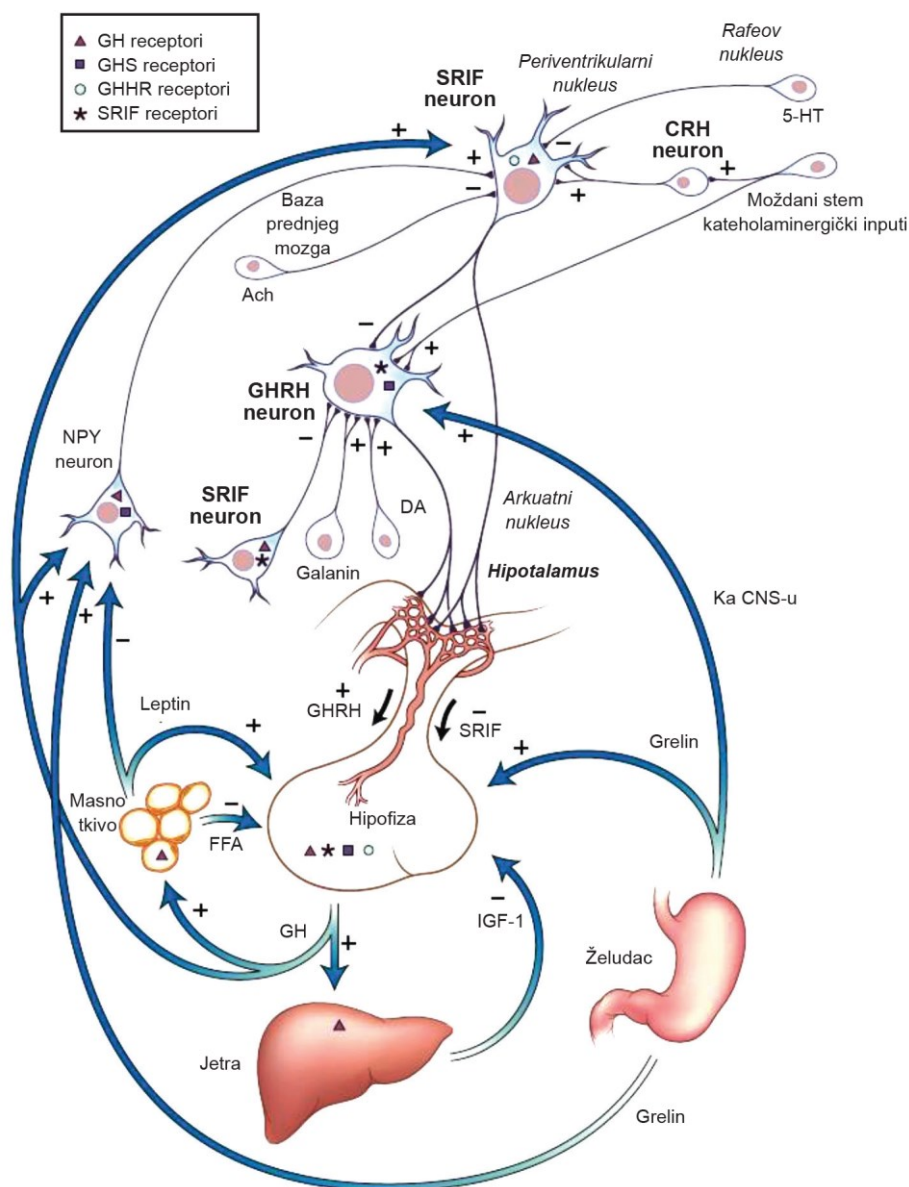
Gonadotropna osovina predstavlja vezu između hipotalamusa, adenohipofize i polnih žlezda kod oba pola, koja obavlja kontrolu nad funkcionisanjem ovih žlezda (sl. 1). Kontrolna funkcija gonadotropne osovine započinje sekrecijom gonadotropin-rilizing hormona (GnRH) iz ventromedijalnog, arkuatnog, dorzomedijalnog i paraventrikularnog jedra hipotalamusa. Ovaj hormon putem hipotalamo-hipofiznog portnog krvotoka dospeva do gonadotropnih ćelija adenohipofize, koje stimuliše da luče dva gonadotropna hormona: luteinizirajući hormon (LH) i folikulostimulirajući hormon (FSH). Kod muškaraca je LH primarni stimulus za sekreciju testosterona iz Lejdigovih ćelija, a FSH uglavnom stimuliše spermatogenezu u semenim kanalićima testisa. Kod žena, i LH i FSH stimulišu ciljne ćelije u jajnicima i produkciju progesterona i estrogena (Guyton i Hall, 2008; Veldhuis i sar, 2009).



Slika 1. Regulacija hipotalamo-pituitarno-gonadalne osovine. Šematski dijagram hipotalamo-pituitarno-gonadalne osovine prikazuje neuralne sisteme koji regulišu sekreciju gonadotropin-rilizing hormona (GnRH) i povratnu spregu gonadalnim steroidnim hormonima na nivou hipotalamusa i hipofize. CNS – centralni nervni sistem; CRH – kortikotropin-rilizing hormon; FSH – folukulostimulirajući hormon; GABA – γ -aminobuterna kiselina; GALP – galaninu sličan peptid; LH – luteinizirajući hormon; NE – norepinefrin; NPY – neuropeptid Y (Modifikovano prema: Melmed i sar., 2011).

Somatotropna osovina predstavlja vezu hipotalamusa sa adenohipofizom (sl. 2). Naime, somatotropin-rilizing hormon (GHRH), sekretovan iz infundibularnog i ventromedijalnog jedra hipotalamusa, hipotalamo-hipofiznim portnim krvotokom dospeva do somatotropnih ćelija adenohipofize, koje stimuliše da luče hormon rasta (GH). Ovaj hormon, za razliku od ostalih hormona adenohipofize, ne ispoljava dejstvo preko ciljane žlezde, već svoje efekte ispoljava na skoro sva tkiva tela, što direktno, a što posredstvom somatomedina-insulinu sličnih hormona rasta (IGF) nastalih u jetri.

Kao što se iz navedenog može videti centralno mesto u gonadotropnoj i somatotropnoj osovini, kao i u drugim osovinama hipotalamo-pituitarnog sistema (hipotalamo-pituitarno-tiroidnoj i hipotalamo-pituitarno-adrenalnoj osovini), ima adenohipofiza koja hormonima koje luči kontroliše aktivnost većine endokrinih žlezdi, kao i brojnih tkiva koja ne pripadaju endokrinom sistemu.



Slika 2. Regulacija somatotropne osovine. GHRH – rilizing hormon hormona rasta; SRIF – somatostatin; DA – dopamin, 5-HT – serotonin; Ach – acetil-holin; NPY – neuropeptid Y; FFA– slobodne masne kiseline. (Modifikovano prema: Melmed i sar., 2011)

Inače, funkcionisanje adenohipofize kontrolišu tri međusobno interagujuća elementa: hipotalamusni inputi (rilizing faktori ili hipofiziotropni hormoni), negativna povratna sprega cirkulišućim hormonima ciljnih žlezda i/ili produktima ciljnih tkiva, i parakrini, odnosno autokrini produkti same hipofize (Low, 2011).

1.2. HIPOTALAMUSNE KOMPONENTE GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE

Hipotalamus predstavlja deo mozga od esencijalnog značaja za održavanje homeostaze, zbog čega je njegova destrukcija inkompatibilna sa životom. Kontrolu homeostaze hipotalamus ostvaruje zahvaljujući sposobnosti svojih neurona da koordinišu endokrini, autonomni i bihevioralni odgovor na inpute iz spoljašnje (npr. svetlo, bol, temperatura, miris), odnosno unutrašnje sredine (npr. krvni pritisak, osmolarnost krvi, nivo šećera u krvi i koncentracije u krvi hormona kao što su glikokortikoidi, estrogeni, testosteron, tiroidni hormon) (Low, 2011).

Osnovnu strukturalnu i funkcionalnu jedinicu hipotalamusa čine neurohumoralne ili neurosekretorne ćelije, koje predstavljaju jedinstvenu kategoriju neurona čiji aksonski završeci ne ulaze u sastav sinapsi, već se preko njih produkti ovih ćelija, tj. hormoni, izlučuju direktno u krvotok.

Takve su ćelije magnocelularni neuroni paraventrikularnog (PVN) i supraoptičkog jedra (SON), koje su povezane sa neurohipofizom i hipofiziotropne ćelije, koje produkte svoje sekrecije izlučuju u krvne sudove središnjeg uzvišenja (*eminetia mediana*) i preko njih u adenohipofizu (Low, 2011).

1.2.1. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE HIPOTALAMUSA

Hipotalamus (*hypothalamus*) predstavlja ventralni deo međumozga (*diencephalon*). To je kompleksan region, koji integriše i koordinira mnoge nervne, endokrine, vegetativne i imunološke funkcije organizma. Hipotalamusu je pridodata hipofiza, žlezda koja zauzima važno mesto u endokrinom sistemu, pošto reguliše aktivnost većine drugih endokrinih žlezda.

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

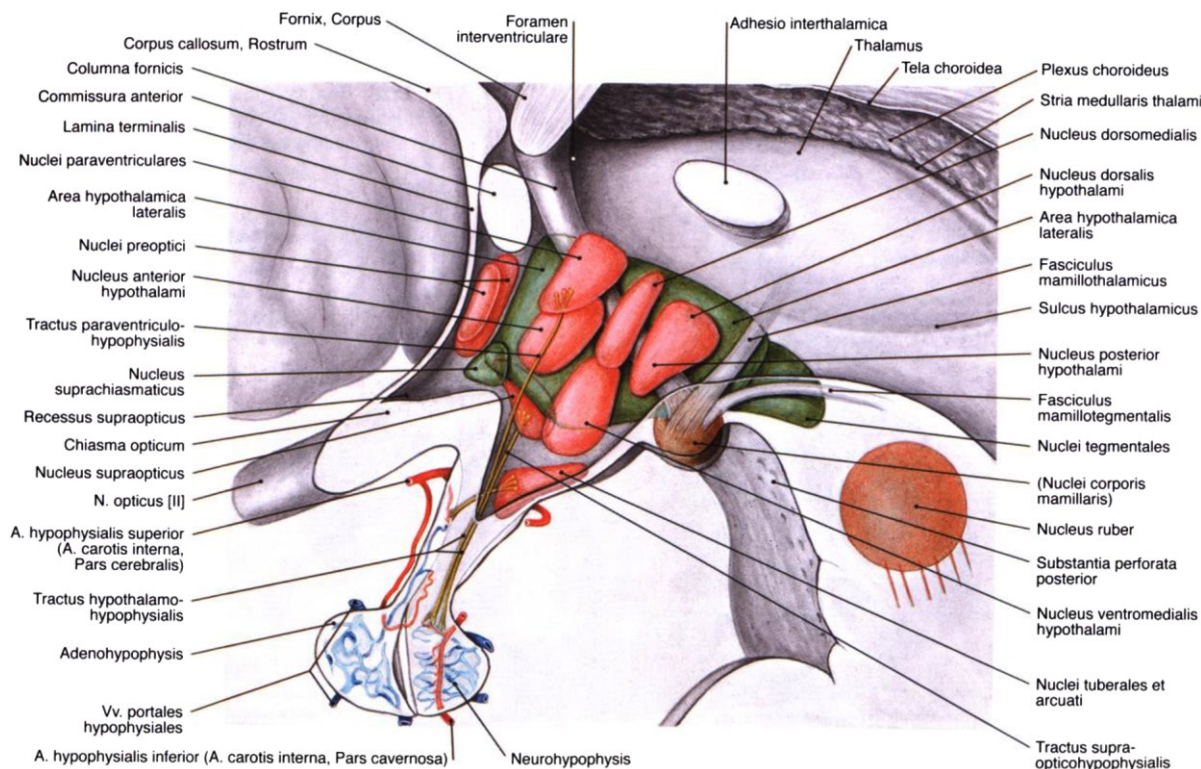
Hipotalamus se nalazi između hemisfera velikog mozga, a iznad srednjeg mozga (*mesencephalon*). Hemisfere velikog mozga ga okružuju spreda, bočno i odozgo, a njegova jedina slobodna i vidljiva ventralna strana naleže na gornju stranu tela klinaste kosti (*os*

sphenoidale). Hipotalamus predstavlja relativno mali deo međumozga, te mu je kod odrasle osobe težina oko 4 g, a dužina svega nekoliko santimetara. Granice su mu jasne samo na donjoj strani, koja gradi pod i donje delove bočnih zidova treće moždane komore (Kahle i Frotscher, 2002; Mills, 2007; Siegel i Sapru, 2011). Pruža se od napred prema pozadi, od *lamina 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 subtalamura, kapsulom internom i optičkom trakom, sa zadnje strane tegmentalnim delom subtalamura i tegmentumom mezencefalona, a sa gornje strane jedrima talamura. Pepeljasto ispupčenje (*tuber cinereum*) je levkasto ispupčenje sive mase, koje zauzima celu ventralnu stranu hipotalamura između optičke raskrsnice i mamilarnih tela. Ono predstavlja najniži deo treće moždane komore, a od njegovog srednjeg dela se ventralno pruža peteljka hipofize (*infundibulum*), koja se naniže nastavlja njenim nervnim delom, odnosno režnjem (*lobus nervosus s. pars nervosa*). Oko baze infundibuluma na pepeljastom ispupčenju nalazi se kružno, središnje uzvišenje (*eminentia mediana*), ograničeno plitkim tuberoinfundibularnim žlebom. Bočno se nalazi parno uzvišenje (*eminentia lateralis*), prouzrokovano lateralnim tuberalnim jedrima, a postoji i malo, središnje postinfundibularno uzvišenje.

1.2.2. GRADA HIPOTALAMUSA

Hipotalamus se sastoji iz sive i bele mase. Sivu masu čine brojna nejasno ograničena i funkcionalno povezana jedra (sl. 3). Vlasknima stubova moždanog svoda (*columnae fornicis*) hipotalamus je podeljen na medijalnu i lateralnu zonu (Mills, 2007; Standring i sar., 2008; Siegel i Sapru, 2011; FIPAT, 2011). **Lateralnu zonu** (*zona lateralis*), označenu i kao spoljašnja hipotalamusna oblast (*area hypothalamica lateralis*) čini veći broj nejasno ograničenih jedara, kao što su *nc. perifornicalis*, *nc. tuberomammillaris* i *ncc. tuberales laterales*. Između ovih jedara pružaju se vlakna medijalnog telencefaličnog snopa (*fasciculus telencephalicus medialis*). Jedra lateralne zone su sedišta važnih bihevioralnih centara, centra za glad i centra za unošenje tečnosti. **Medijalna zona** (*zona medialis*) hipotalamura, označena kao hipofiziotropna zona, sastoji se iz više grupa jedara sačinjenih od neurosekretornih ćelija čiji produkti regulišu sekretornu aktivnost hipofize (Siegel i Sapru, 2011). Ova jedra su sistematizovana u sledeće oblasti: prednju (*area hypothalamica anterior*), srednju ili tuberoinfundibularnu (*area hypothalamica intermedia*), zadnju ili mamilarnu (*area hypothalamica posterior*) i dorzalnu (*area hypothalamica dorsalis*) (Standring i sar., 2008; FIPAT, 2011). **Prednja hipotalamusna oblast** se sastoji iz preoptičke oblasti, koja obuhvata *nc. preopticus*

medianus, nc. preopticus periventricularis, nc. preopticus medialis i nc. preopticus lateralis i supraoptičke oblasti, kojoj pripadaju *nc. supraopticus, nc. suprachiasmaticus i nc. paraventricularis hypothalami*.



Slika 3. Glavna hipotalamusna jedra levog hipotalamusa. (Izvor: Putz i Pabst, 2009)

Medijalni deo prednje hipotalamusne oblasti učestvuje u regulaciji endokrinih funkcija i termoregulaciji, dok je funkcija lateralnog dela ove oblasti nedovoljno razjašnjena (Kahle i Frotscher, 2002; Mills, 2007; Standring i sar., 2008; Siegel i Sapru, 2011). **Tubero-infundibularna oblast** odgovara središnjem uzvišenju hipotalamusa (*eminentia mediana*). U njoj se neposredno iznad infundibuluma, a kaudalno od suprahijazmatskog jedra, nalazi infundibularno jedro (*nc. infundibularis s. arcuatus*). Ventralno u odnosu na ovo jedro nalazi se ventromedijalno jedro (*nc. ventromedialis*), a dorzalno u odnosu na njega je dorzomedijalno jedro (*nc. dorsomedialis*). Neposredno uz zid treće moždane komore smeštena su tuberalna jedra, sastavljena od neurona čiji aksoni obrazuju tuberoinfundibularni snop. Vlakna ovog snopa se završavaju u nivou fenestriranih kapilara primarnog pleksusa središnjeg uzvišenja, u koje oslobađaju produkovane hormone, koji potom preko hipotalamo-hipofiznih portnih vena dospevaju do endokrinih ćelija hipofize.

Zadnja ili mamilarna oblast medijalne zone nalazi se u nivou bradavičastih telašaca hipotalamusa. Ova oblast sadrži medijalno mamilarno jedro (*nc. mammillaris medialis*) naj-

krupnije i najznačajnije jedro, a takođe i nekoliko manjih jedara: lateralno mamilarno jedro (*nc. mammillaris lateralis*), premamilarna (*n. premammillaris ventralis et dorsalis*), zadnje jedro hipotalamusa (*nc. posterior hypothalami*) i supramamilarno jedro (*nc. supramammillaris*).

Dorzalna hipotalamusna oblast sadrži tri manja jedra: *nc. endopeduncularis*, *nc. ansae lenticularis* i *nc. dorsomedialis* (Kahle i Frotscher, 2002; Mills, 2007; Siegel i Sapru, 2011).

Neurosekretorne ćelije medijalnog hipotalamusa svojim produktima deluju dvojjako na sekretornu aktivnost endokrinih ćelija hipofize. Rilizing („releasing“) faktori ili hormoni stimulišu, a inhibitorni („inhibiting“) faktori ili hormoni inhibiraju endokrinu aktivnost ćelija hipofize (Kahle i Frotscher, 2002; Siegel i Sapru, 2011). Najznačajniji hormoni (faktori) hipotalamusa su (Mills, 2007):

- Tirotropin-rilizing hormon (TRH) – deluje na tirotropne ćelije adenohipofize i stimuliše sekreciju tirotropina (TSH), a veruje se da učestvuje i u regulaciji sekrecije prolaktina (PRL),
- Kortikotropin-rilizing hormon (CRH) deluje na kortikotropne ćelije adenohipofize i stimuliše sekreciju kortikotropina (adrenokortikotropnog hormona – ACTH),
- Somatotropin-rilizing hormon (GHRH) deluje na somatotropne ćelije adenohipofize i stimuliše sekreciju hormona rasta (GH),
- Somatotropin-inhibitorni hormon ili somatostatin (SST) – deluje na somatotrope adenohipofize inhibišući sekreciju GH,
- Gonadotropin-rilizing hormon (GnRH) – deluje na gonadotrope adenohipofize, stimulišući sekreciju i luteinizirajućeg (LH) i folikolostimulirajućeg (FSH) hormona,
- Dopamin – deluje na laktotrope adenohipofize i inhibira sekreciju PRL,
- Arginin-vazopresin (AVP) – deluje sinergistički sa CRH na kortikotrope adenohipofize stimulišući sekreciju ACTH.

Većina hormona hipotalamusa se može identifikovati imunohistohemijski. Tako je ustanovljeno da se TRH sintetiše mahom u ventromedijalnom, dorzomedijalnom, preoptičkom i paraventrikularnom jedru medijalnog hipotalamusa, a CRH u periventrikularnom i medijalnom delu paraventrikularnog jedra. GHRH sintetisu neuroni arkuatnog jedra, a SST neuroni periventrikularnog, paraventrikularnog i parvocelularnog dela arkuatnog jedra. GnRH se sintetise uglavnom u ventromedijalnom, dorzomedijalnom, arkuatnom i paraventrikularnom jedru, AVP u supraoptičkom i paraventrikularnom jedru, a Dopamin pozitivni neuroni su identifikovani u arkuatnom jedru (Mills, 2007; Kovacs i Ojeda, 2012). Iz navedenog proističe da se u nekim jedrima hipotalamusa može detektovati više rilizing hormona.

Navedeni hormoni (faktori) hipotalamusa su peptidi, izuzev dopamina koji je biogeni amin. Neki od njih učestvuju u regulaciji sinteze i sekrecije više od jednog pituitarnog hormona. Tako, na primer, TRH je veoma snažan rilizing hormon PRL i TSH, a pod određenim uslovima i ACTH i GH. Gonadotropin rilizing hormon stimuliše sekreciju i LH i FSH, a SST inhibiše oslobađanje GH i TSH. Dopamin, glavni inhibitor sekrecije PRL, inhibira i sekreciju TSH i gonadotropina, a pod određenim okolnostima i GH (Low, 2011).

Interesantno je da distribucija hipofiziotropnih hormona nije ograničena samo na hipotalamus. Većina njih se može detektovati i u nehipofiziotropnim neuronima hipotalamusa, u nekim ekstrahipotalamusnim regionima mozga, a takođe i u pojedinim perifernim organima. Na tim lokalitetima oni učestvuju u regulaciji funkcija koje nemaju veze sa hipofizom (npr. utiču na ponašanje i homeostazu). Pojedini hipofiziotropni hormoni, pored regulacije sekrecije hormona, mogu uticati i u kontroli diferencijacije i proliferacije pituitarnih ćelija (Mills, 2007; Low, 2011; Kovacs i Ojeda, 2012).

1.2.3. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA HIPOFIZIOTROPNOG

GnRH HIPOTALAMUSA

GnRH, identifikovan u neuronima ventromedijalnog, dorzomedijalnog, arkuatnog i paraventrikularnog jedra hipotalamusa, aksonima ovih neurona dospeva do eminencije medijane, gde se oslobađa u hipotalamo-hipofizni portni vaskularni sistem. Navedenom portnom cirkulacijom se transportuje u adenohipofizu, gde stimuliše sekreciju i oslobađanje dva gonadotropna hormona, LH i FSH.

GnRH je peptid sa 10 aminokiselina, koji se izlučuje intermitentno, svakih 1 do 3 sata, u trajanju od nekoliko minuta. Jačina stimulativnog dejstva GnRH zavisi od dva faktora: frekvencije njegovih sekretornih ciklusa i količine ovog hormona oslobođene u svakom ciklusu. Međutim, intermitentno izlučivanje GnRH dosta verno prati samo lučenje LH u adenohipofizi, koje je takođe ciklično. Nasuprot tome, izlučivanje FSH se samo blago povećava ili smanjuje u zavisnosti od kolebanja intenziteta sekrecije GnRH. Zbog znatno bolje korelacije između lučenja GnRH i LH, nego između GnRH i FSH, GnRH se često označava i kao LH-rilizing hormon (Guyton & Hall, 2008).

1.2.4. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA HIPOFIZIOTROPNOG GHRH I SST

SISTEMA HIPOTALAMUSA

Pulzatilnu sekreciju GH regulišu dva antagonistička neurohormonalna sistema: GHRH i SST (sl. 2). Hipofiziotropni GHRH neuroni su lokalizovani u ventrolateralnom delu infundibularnog jedra i perifernim delovima ventromedijalnog jedra. Međutim, SST neuroni su detektovani unutar većeg broja jedara hipotalamusa: rostralnom delu periventrikularnog, parvocelularnom delu PVN, takođe i u sastavu suprahijazmatskog, arkuatnog, ventromedijalnog i dorzomedijalnog jedra. Ipak, najbrojnija populacija SST neurona nalazi se u periventrikularnom jedru, čijih 70% ćelija su hipofiziotropne (Fodor i sar., 2006).

GHRH. U hipotalamusu čoveka post-translacijskom modifikacijom prohormonskog molekula dobijaju se dve molekularne forme GHRH: GHRH (1-44) - NH₂ i GHRH (1-40). Pomoću tipa IV dipeptidil-peptidaze u cirkulaciji se GHRH inaktivira u njegov stabilniji metabolit GHRH (3-44) - NH₂, koji predstavlja najveći deo imunoreaktivnog peptida u plazmi. Pored ekspresije u humanom hipotalamusu, GHRH gen je ektopično eksprimiran i u humanom ovarijumu, uterusu i placenti, u kojima njegova funkcija još uvek nije razjašnjena. Sekretovani GHRH brzo izaziva porast nivoa serumskog GH, koji dostiže svoj maksimum nakon 15-45 minuta, da bi se njegovi nivoi vratili na bazalne vrednosti nakon 90-120 minuta (Yeung i sar., 2006; Low, 2011).

Somatostatin. Somatostatin je ciklični peptid koji inhibira sekreciju GH. Nastaje razgradnjom prohormonskog molekula prohormon konvertazama, pri čemu se dobijaju njegove dve forme: prva, čiji se molekul sastoji iz 14 aminokiselina i koji je označen kao somatostatin-14 (SST-14) i druga, čiji molekul ima 28 aminokiselina i koja nosi naziv somatostatin-28 (SST-28), a koja može u pojedinim tkivima biti razgrađena na SST-14 molekule. Forma SST-14 je dominantno zastupljena u mozgu (uključujući hipotalamus), a SST-28 forma se nalazi pretežno u gastrointestinalnom traktu (naročito u duodenumu i jejunumu). U adenohipofizi SST inhibiše sekreciju GH, ali u određenim okolnostima i sekreciju TSH, PRL i ACTH. SST ispoljava inhibitorni efekat na sve endokrine i egzokrine ćelije pankreasa, creva, žučne kese i pljuvačnih žlezda, a u određenim uslovima inhibira i sekreciju parathormona i kalcitonina. Zbog svoje široke distribucije i širokog spektra regulatornih efekata SST se može označiti kao arhetipski pansistemski modulator. Takođe, dokazano je i postojanje dvosmernih sinaptičkih veza između GHRH i SST hipofiziotropnih neurona (Fodor i sar., 2006).

1.2.5. KONTROLA SEKRECIJE GH DRUGIM FAKTORIMA

Sekrecija GH može biti kontrolisana i širokim spektrom drugih neurotransmitera i neuropeptida hipotalamusa (sl. 2). Naime, dokazano je da 38% somatostatinergičkih neurona periventrikularnog jedra ko-lokalizira **CART** (kokain-amfetamin-regulisani transkript) neuropeptid, čiji se funkcionalni značaj u GH regulaciji još uvek istražuje. **Neuropepid Y (NPY)** je jedan od najpotentnijih oreksigenih neuropeptida neurona arkuatnog jedra. Za razliku od GHRH neurona, SST i NPY neuroni eksprimiraju GH receptore. Zbog toga GH mehanizmom negativne povratne spege deluje na NPY neurone, koji sekrecijom NPY indirektno, stimulacijom sekrecije SST, inhibiraju sekreciju GH. Takođe, dokazano je da **proopiomelanokortin (POMC)** pozitivni neuroni arkuatnog jedra eksprimiraju SSTR2 receptore i svojim aksonima inervišu SST neurone periventrikularnog jedra, te su na taj način indirektno uključeni u intrahipotalamusnu kontrolu rasta i metabolizma energije. **Grelin**, kao prirodni ligand receptora sekretagoga GH i stimulator sekrecije GH iz adenohipofize je najpre detektovan u želucu. Njegova lokalizacija u hipotalamusu još uvek je kontraverzna. Ipak, veruje se da postoji snažna ekspresija mRNA GH sekretagognog receptora u arkuatnom i ventromedijalnom jedru. Imunohistohemijski je pokazano da GHRH i SST neuroni periventrikularnog i arkuatnog jedra eksprimiraju TRH-R1 do sada jedini identifikovani TRH receptor, kao i da primaju **TRH input**. Nasuprot stimulatornom efektu na GH sekreciju na nivou adenohipofize TRH na nivou hipotalamusa dovodi do inhibicije sekrecije GH istovremenim delovanjem na SST i GHRH neurone (Fodor i sar., 2006).

Na GH sekreciju utiču i brojni ekstrahipotalamusni faktori, koji su povezani s energetske unosom i metabolizmom. Među najznačajnije **stimulatore za oslobađanje GH** spadaju pad koncentracije šećera u krvi, vežbanje, fizički i emocionalni stres i visok unos proteina. Oni svoj efekat ostvaruju inhibicijom sekrecije SST i posledičnom dezinhibicijom GH sekrecije. Takođe, brojni činioci dovode do **inhibicije sekrecije GH**: postprandijalna hiperglikemija, infuzija glukoze, povišeni nivoi slobodnih masnih kiselina, tip 2 dijabetes melitusa i gojaznost. **Polni steroidi** na sekreciju GH deluju veoma komplikovanim mehanizmima, zbog više mogućih ciljnih mesta njihovog delovanja na nivou proksimalnog dela hipotalamopituitarne osovine. Ekstremno visoki i niski nivoi **glikokortikoida** suprimiraju GH sekreciju. Niske doze glikokortikoida suprimiraju gensku ekspresiju i osetljivost somatotropa na GHRH, a visoke doze istovremeno povišavaju tonus SST i snižavaju tonus GHRH u hipotalamusu. Takođe, povišeni nivoi **tiroidnih hormona** deluju inhibitorno na sekreciju GH. Ovo postižu podizanjem tonusa SST i deficijencijom GHRH u hipotalamusu, kao i supresijom aktivnosti somatotropa u adenohipofizi (Low, 2011).

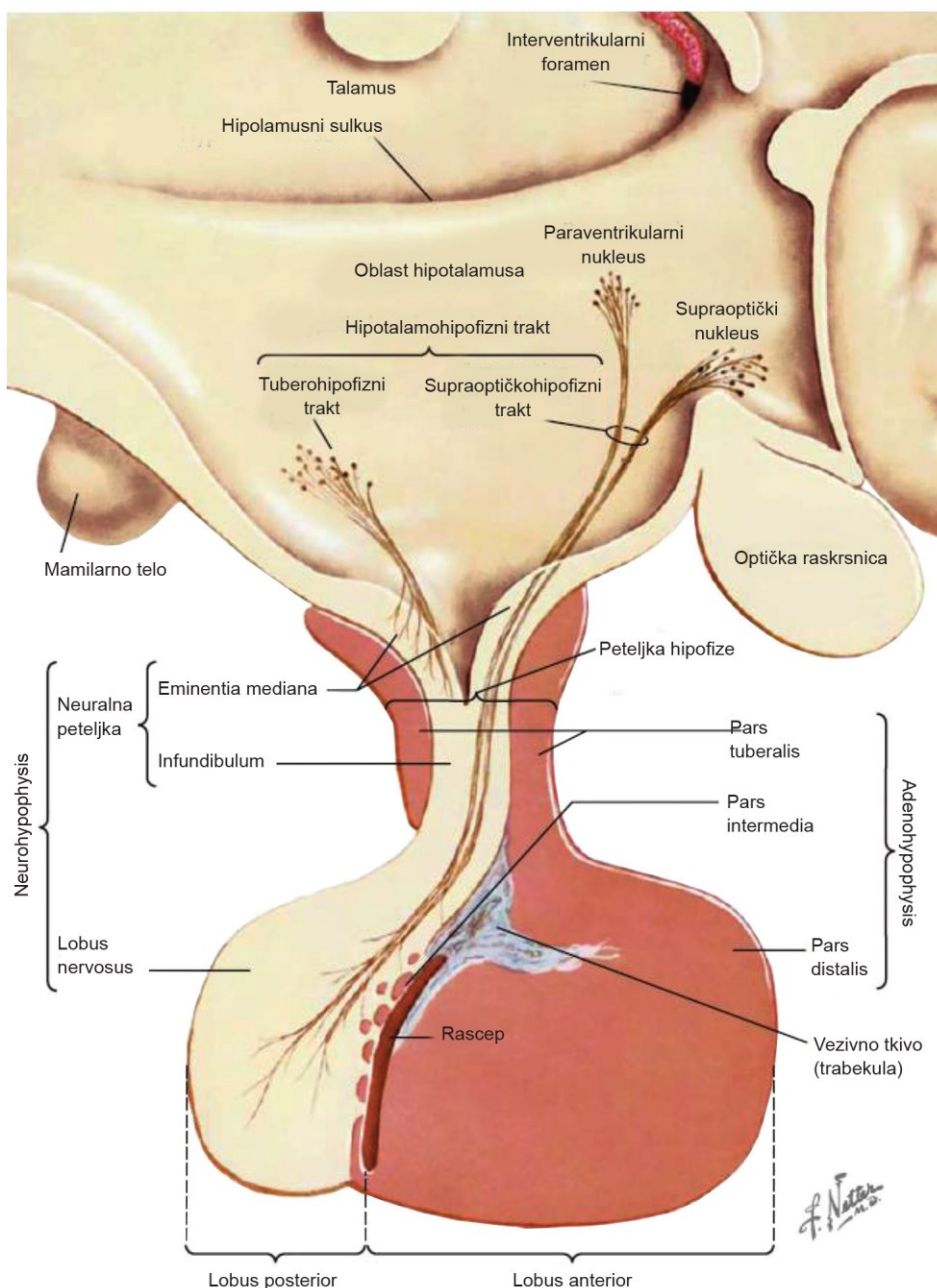
1.3. PITUITARNE KOMPONENTE GONADOTROPNE I SOMATOTROPNE OSOVINE

1.3.1. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE HIPOFIZE

Hipofiza (*hypophysis s. glandula pituitaria*) zauzima centralno mesto u endokrinom sistemu, pošto produktima svoje sekrecije, hormonima, regulise rad većine ostalih endokrinih žlezdi. Neki od njenih hormona, kao što je hormon rasta, mogu delovati direktno na određena ciljna tkiva koja ne pripadaju endokrinom sistemu. Inače, hipofiza reguliše brojne, važne procese u organizmu kao što su rast, metabolizam, fertilitet, stres, kao i imunološki odgovor organizma (Vankelecom, 2007; Ilić, 2009).

Hipofiza je mala endokrina žlezda smeštena u turskom sedlu (*sella turcica*), udubljenju na gornjoj strani tela sfenoidalne kosti. Prosečna težina adultne hipofize je oko 600 mg (400-900 mg). Njen poprečni dijametar iznosi oko 13 mm, anteroposteriorni dijametar oko 9 mm, a visina 6-9 mm. Dorzalno je od mozga odvojena duplikaturom tvrde moždanice (*diaphragma sellae*). Iznad i ispred dijafragme turskog sedla nalazi se optička raskrsnica (*chiasma opticum*). Ventralno je od desnog i levog sfenoidalnog sinusa odvojena tankim koštanim zidom turskog sedla. Lateralno od hipofize nalaze se desni i levi kavernozi sinus, kroz koji prolaze unutrašnja karotidna arterija i VI kranijalni živac, a u duplikaturi čijeg spoljašnjeg zida se nalaze III, IV, V1 i V3 moždani živci.

Hipofiza nastaje anatomskom integracijom 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 u anatomskom smislu adeno i neurohipofiza predstavljaju jedinstvenu celinu (sl. 4), njih karakteriše različito embrionalno poreklo, građa i funkcija (Gartner i Hiatt, 2007). Na ovaj način hipofiza predstavlja strukturalnu i funkcionalnu vezu između dva glavna regulaciona sistema (nervnog i endokrinog) u telu čoveka. Hipofiza je povezana sa mozgom neuralnim putevima i bogato je vaskularizovana sudovima koji snabdevaju mozak. Na taj način je lučenje skoro svih hormona hipofize je pod kontrolom hormonskih ili nervnih signala iz hipotalamusa, do koga stižu impulsi iz različitih delova centralnog nervnog sistema.



Slika 4. Sagitalni presek hipofize i donjeg dela hipotalamusa.

(Modifikovano prema: Netter, 2011)

1.3.2. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE ADENOHIPOFIZE

Adenohipofiza predstavlja 75% hipofize i idući odozgo naniže i napred sastoji se iz tri dela: tuberalnog (*pars tuberalis*) i srednjeg (*pars intermedia*), zakrčljalih kod humane adenohipofize, i distalnog (*pars distalis*) (sl. 4). **Pars tuberalis** je kranijalni nastavak levkastog oblika, koji okružuje infundibulum i zajedno sa njim obrazuje hipofiznu dršku. Sastoji se iz nepravilno razbacanih acinusa endokrinih ćelija između brojnih krvnih sudova portalnog

hipotalamno-hipofiznog krvotoka. Najveći broj njegovih ćelija ispoljava imunoreaktivnost na ACTH, FSH, LH (Junqueira i Corneiro, 2005; Mills, 2007). **Pars intermedia** nastaje od zadnjeg zida embrionalnog Ratkeovog špaga, priljubljen je uz zadnji reznaj hipofize, tj. neurohipofizu, dok je od distalnog dela odvojen većom ili manjom pukotinom. Na ovaj deo otpada 3% adenohipofize, a sastoji se iz bazofilnih ćelija, koje luče melanocitno-stimulišući hormon (MSH) (Kuehnel, 2003). Ovaj deo se karakteriše prisustvom koloidnih cista obloženi prostim kubičnim ili višeslojnim stratifikovanim epitelom, koje upućuju na zajedničko embrionalno poreklo ovog i distalnog dela adenohipofize od Ratkeovog špaga, koji polazi sa krova primitivne usne duplje (Kuehnel, 2003). **Pars distalis** nastaje od prednjeg zida Ratkeovog špaga i čini najveći deo adenohipofize. Ovaj deo ima građu tipične endokrine žlezde u kojoj se luči šest važnih hormona. Na koronalnim ili transverzalnim presecima razlikuju se središnji i dva lateralna dela (krila). Endokrine ćelije su raspoređene u vidu gredica između kojih se nalaze vezivno-tkivne pregrade koje sadrže bogatu mrežu fenestriranih sinusoidnih kapilara (Kuehnel, 2003; Mills, 2007; Young i sar., 2007; Eroschenko, 2008; Le Tissier i sar., 2012).

1.3.3. HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE ADENOHIPOFIZE

Prema afinitetu za boje, pri rutinskim histološkim metodama, među ćelijama adenohipofize jasno se razlikuju dva tipa ćelija: hromofilne, čija se citoplazma intenzivno boji i hromofobne, čija se citoplazma veoma slabo ili uopšte ne boji. **Hromofilne ćelije** čine oko 50% ćelijske populacije prednjeg reznja hipofize i mogu se podeliti na dve grupe: ćelije čija je citoplazma acidofilna i boji se crveno, označene kao *acidofili* i na koje otpada 40% i ćelije kod kojih je citoplazma bazofilna i boji se plavo, označene kao *bazofili*, kojima pripada 10% (Young i sar., 2007). Grupi acidofilnih ćelija pripadaju mamotropne i somatotropne, dok grupu bazofilnih ćelija čine gonadotropne, tireotropne i kortikotropne ćelije. Hromofilne ćelije su poligonalnog oblika, centralno postavljenog okruglog jedra i citoplazme u kojoj se nalaze dobro razvijene sekretorne organele za sintezu peptidnih hormona i sekretorne granule koje pod elektronskim mikroskopom, u zavisnosti od vrste ćelija, imaju različit broj, veličinu i stepen osmofilnosti. Na preparatima bojenim klasičnom H&E metodom, u središnjem delu adenohipofize uočava se veće prisustvo bazofilnih ćelija, koje predominantno sekretuju ACTH, TSH, LH i FSH, dok se u lateralnim delovima prednjeg reznja („lateralna krila”) nalaze acidofilne ćelije, koje najvećim delom sekretuju GH i znatno manje PRL.

Hromofobne (ne-endokrine) ćelije predstavljaju 5-10% ćelija pars distalis, normalno nisu sekretorno aktivne, ali pod određenim uslovima mogu da sekretuju male količine bilo kog hormona, kao i druge parakrine supstance koje mogu delovati na endokrne ćelije i modulirati njihovu aktivnost (Fauquier i sar., 2002; Gartner i Hiatt, 2007).

Folikulostelatne (FS) ćelije predstavljaju posebnu grupu nesekretornih ćelija adenohipofize. To su male ćelije, relativno velikog jedra, slabo bazofilne citoplazme i sa manjim ili većim brojem citoplazmatskih produžetaka. Slične su glija ćelijama, a pretpostavlja se da imaju nutritivnu, potpornu i fagocitnu ulogu (Lačković i sar., 2012; Pavlović i sar., 2013). Zbog karakterističnog zvezdastog oblika, kao i zbog osobine ovih ćelija da učestvuju u izgradnji zida folikula ispunjenih koloidom u adenohipofizi one se označavaju i kao folikulostelatne ćelije (Inoue i sar., 1999; Allaerts i Vankelecom, 2005; Devnath i Inoue, 2008; Perez-Castro i sar., 2012).

1.3.4. FUNKCIONALNI ĆELIJSKI TIPOVI ADENOHIPOFIZE

Na osnovu funkcionalnih karakteristika, mikroskopskog izgleda i imunohistohemijske reakcije, mogu se razlikovati najmanje pet tipova endokrinih ćelija adenohipofize. Sve se one mogu klasifikovati u dve grupe: (i) endokrine ćelije čiji hormoni deluju na ne-endokrino tkivo (somatotropi i laktotropi) i (ii) endokrine ćelije koje svojim hormonima regulišu rad drugih endokrinih žlezda (kortikotropi, tirotropi i gonadotropi) (Young i sar., 2007).

Somatotropi predstavljaju većinu pituicita (~50%) i sekretuju hormon rasta (GH). *Laktotropi* čine 15-20% pituicita i sekretuju prolaktin (PRL). I somatotropi i laktotropi su predominantno lokalizovani u lateralnim krilima distalnog dela adenohipofize. *Gonadotropi* čine 5-10% populacije pituicita, sekretuju folikulo-stimulirajući (FSH) i luteinizirajući hormon (LH) i ima ih u svim delovima prednjeg režnja. *Kortikotropi* predstavljaju između 15% i 20% pituicita prednjeg režnja, sekretuju kortikotropin (ACTH) i pretežno su lokalizovani u njegovom središnjem, klinastom delu. *Tirotropi* čine oko 5% pituicita, sekretuju tirostimulirajući hormon (TSH) i mahom su lokalizovani u prednjim partijama središnjeg, klinastog dela prednjeg režnja. Iako se verovalo da većina endokrinih ćelija adenohipofize mogu da sekretuju samo jedan hormon (npr. somatotropi mogu da sekretuju samo GH, a tirotropi samo TSH), danas se zna da pojedine ćelije mogu da produkuju i izlučuju više od jednog hormona. Naime, svaki od navedenih ćelijskih tipova poseduje i diskretne ćelijske subpopulacije (tzv. multireaktivne ćelije), koje su sposobne da odgovore na stimulus nekoliko hipotalamusnih rilizing hormona. Takođe, dokazano je da su pojedine ćelije adenohipofize

multifunkcionalne i da ih odlikuju dva posebna fenomena: *paradoksalna sekrecija* (sekrecija hormona izazvana neodgovarajućim rilizing hormonom) i *transdiferencijacija* (fenotipska zamena između različitih zrelih ćelijskih tipova bez prethodne ćelijske deobe). Multifunkcionalnost ćelija je češća kod osoba ženskog pola i objašnjava se cikličnim hormonskim promenama kod njih. Tako, npr. gonadotropi mogu da sekretuju i LH i FSH, a kortikotropi pored ACTH i B-lipotrofin i melanocitno-stimulirajući hormon (alfa-MSH i beta-MSH) (Yeung i sar., 2006; Kovach i Ojeda, 2012).

1.3.4.1. Gonadotropne ćelije

Gonadotropi, odnosno LH i FSH ćelije, predstavljaju desetak procenata ćelijske populacije prednjeg režnja hipofize. Ravnomerno su raspoređene u distalnom delu adenohipofize i ispoljavaju bazofiliju. Gonadotropi su ovalne ćelije sa okruglim jedrom i dobro razvijenim organelama. Citoplazma poseduje elektrono-guste sekretorne granule prečnika 200-250 nm, ispunjene hormonima (Anđelković i sar., 2009).

Luteinizirajući i folikulostimulirajući hormon. Glavni produkti sekrecije gonadotropa su luteinizirajući (LH) i folikulo stimulirajući (FSH) hormon. Stimulaciju produkcije i sekrecije ovih hormona vrši gonadotropni-rilizing hormon (GnRH), a inhibiciju, mehanizmom negativne povratne sprege, gonadalni steroidi, zatim inhibin, folistatin i aktivin.

LH kod žena učestvuje u ovulaciji i folikularnoj luteinizaciji, dok kod muškaraca stimuliše Lajdigove ćelije da sekretuju testosteron. FSH kod žena stimuliše sazrevanje folikula, dok kod muškaraca stimuliše Sertolijeve ćelije da sekretuju androgen-vezujući protein (Mills, 2007; Young i sar., 2007), koji vezuje i transportuje testosteron kroz germinativni epitel u lumen tubula. On na taj način pospešuje spermatogenezu u semenim kanalčićima testisa.

LH i FSH predstavljaju male glikoproteine, čija je molekulska masa oko 30.000. Oni ispoljavaju svoje dejstvo na ciljnim tkivima aktiviranjem cikličnog adenzin monofosfatnog sekundarnog glasničkog sistema, koji dalje aktivira specifične enzimske sisteme u odgovarajućim ciljnim ćelijama (Guyton i Hall, 2008).

1.3.4.2. Somatotropne ćelije

Somatotropne ćelije, kao što je napred rečeno, čine približno polovinu ćelijske populacije adenohipofize. Najzastupljenije su u lateralnim krilima, a samo manji broj se može naći u središnjem delu žlezde. Ove ćelije su najčešće srednje veličine, jedro je centralno postavljeno, nukleolus prominira, a granule u citoplazmi su acidofilne.

Inače, radi se o nehomogenoj ćelijskoj populaciji ako se ima u vidu njihov spoljašnji izgled i veličina sekretornih granula. Većina somatoropa ima ovoidni oblik i sferične, ravnomerno raspoređene elektrono-guste sekretorne granule, promera do 500 nm. Iregularne (poliedarne) forme ćelija su ređe, a njihove sekretorne granule su krupnije (dijametar preko 600 nm). Najzad, mogu se uočiti i sitnije, slabo granulirane ćelije, čije su GH imunoreaktivne granule promera 100-200 nm.

Za somatotrope se pretpostavlja da predstavljaju rezervni ćelijski tip, koji može preuzeti endokrinu funkciju drugih ćelijskih tipova. Ovim se objašnjava gestaciona hiperplazija PRL ćelija. Slična transdiferencijacija se može uočiti kod idiopatske ili sekundarne PRL hiperplazije. Zato se tranzicione ćelije koje su sposobne da se transformišu ili u čiste somatotrope ili u čiste laktotrope, označavaju kao mamosomatropi. Pojedine ćelije su sposobne da sekretuju i GH i PRL. Na ovaj način se može objasniti i transformacija GH ćelija u tirotrope kod hipotiroidnih osoba (Ooi i sar., 2004; Kontogeorgos i sar., 2012).

Hormon rasta. Glavni produkt sekrecije somatotropa je hormon rasta (GH), koji posredstvom hepatičnog medijatora ili somatomedina (IGF-1) deluje na periferna tkiva. Postoje dokazi da se hormon rasta može sekretovati i od strane ekstrapituitarnih tkiva (nervnog, okularog, reproduktivnog, imunog, kardiovaskularnog, mišićnog, kožnog i skeletnog) u kojima lokalno ostvaruje autokrino/parakrino dejstvo (Le Roith i sar., 2001; Perez-Ibave i sar., 2014). Hormon rasta karakteriše pulzatilni ritam sekrecije, koji kontrolišu GHRH i somatostatin. Rilizing faktor hormona rasta kontroliše njegovu sekreciju regulacijom transkripcije GH mRNK posredstvom cAMP-a. Somatostatin utiče na ritam i amplitudu lučenja hormona rasta, ali ne i na njegovu sintezu (Mills, 2007; Young i sar., 2007).

Fiziološki, GH sekreciju karakteriše smena snažnih sekretornih epizoda sa fazama sa minimalnom bazalnom sekrecijom, tokom kojih se GH praktično ne može detektovati u plazmi. Talasi GH sekrecije se javljaju približno na svaka tri sata, pri čemu se glavni talas pojavljuje tokom početne faze dubokog sna (Sherlock i Toogood, 2007). Intenzitet sekrecije GH varira u toku života. Ona raste tokom gestacije, a potom opada u toku neonatalnog perioda, zbog aktivnosti mehanizma negativne povratne sprege rastućim koncentracijama IGF-1. Sekrecija GH ostaje stabilna tokom detinjstva, raste tokom puberteta, a potom tokom adultnog perioda opada, ali sa nešto višim vrednostima kod žena u odnosu na muškarce (Melmed i sar., 2011).

Hormon rasta ispoljava širok spektar metaboličkih dejstava, kojim su obuhvaćena sva tkiva čoveka. Ipak, dominantan efekat ostvaruje na nivou koštanog i skeletno-mišićnog tkiva. Generalno, dejstva hormona rasta mogu se podeliti na direktna i indirektna (sl. 2).

Direktna dejstva se odnose na metabolizam belančevina, ugljenih hidrata i masti. Kao anabolički hormon, GH stimuliše sintezu proteina. Naime, on stimuliše preuzimanje amino-kiselina od strane ćelija (pre svega ćelija jetre, mišića i masnog tkiva) i inkorporaciju istih u sastav proteina mnogih organa čovekovog tela. GH dovodi i do porasta sinteze RNK i DNK, što rezultuje deobom ćelija. Ovo je od posebnog značaja tokom godina rasta, kada GH doprinosi rastu dužine kostiju i mase mekih tkiva. U to vreme pod uticajem GH dolazi i do diferencijacije fibroblasta u hondrocite unutar hrskavice (Kovach i Ojeda, 2012). Na metabolizam masti i ugljenih hidrata GH deluje dijabetogeno. On nivo glukoze u plazmi povišava na dva načina. Najpre tako što snižava stopu preuzimanja glukoze od strane ćelija (uglavnom mišićnog i masnog tkiva), a takođe i povećanjem stope glikogenolize u jetri. GH stimuliše razgradnju deponovanih masti u masnom tkivu i na taj način oslobađanje slobodnih masnih kiselina u krvnu plazmu. GH takođe reguliše metabolizam lipoproteina pojačanjem klirensa lipoproteina niske gustine (LDL) preko pojačane ekspresije hepatičnih LDL receptora. Navedena dejstva GH su važna za obezbeđivanje supstrata, koji nije ugljeno hidratni, za genezu ATP u tkivima kao što je mišićno, pogotovo tokom gladovanja (Melmed i sar., 2011; Kovacs i Ojeda, 2012).

Glavni *indirektni fiziološki efekat* GH jeste promocija linearnog skeletnog rasta u periodu od 3. godine do kraja adolescentnog perioda. Ovaj efekat GH ostvaruje posredstvom hepatičnog medijatora ili somatomedina (IGF-1), koji stimuliše ćelije hrskavice da se dele i izlučuju više hrskavičavog ekstracelularnog matriksa. Inače, rast dugih kostiju pod uticajem GH (direktnim i indirektnim) prestaje kada se epifizne ploče transformišu u kost na kraju adolescentnog perioda, kada i prestaje dalji porast visine tela (Kemp, 2011; Kovacs i Ojeda, 2012).

Regulacija funkcije somatotropne osovine ostvaruje se mehanizmima kratke i duge negativne povratne sprege, pomoću molekula GH ili IGF1 (sl. 2). Mehanizam *kratke negativne povratne sprege* podrazumeva direktno dejstvo GH na hipotalamus. Pri tome, izlučeni molekuli GH vezivanjem za GHR periventrikularnih SST neurona vrše njihovu aktivaciju i stimulišu sekreciju SST. Putem aksona ovih tuberoinfundibularnih neurona SST se transportuje do eminencije medijane i primarnog kapilarnog pleksusa. Odatle se pomoću hipofizno-pituitarnog portalnog krvotoka doprema do somatotropa adenohipofize na nivou kojih dovodi do inhibicije sekrecije GH. Izlučeni SST može i da se preko aksonskih kolarala periventrikularnih neurona transportuje do GHRH neurona infundibularnog jedra, veže za SSTR2 na njihovoj membrani i tako indirektno inhibira sekreciju GHRH, a samim tim i sekreciju GH. Mehanizam *duge negativne povratne sprege* ostvaruje se preko molekula IGF-1 ili drugih tkivnih produkata aktivnosti GH, kao što su slobodne masne kiseline i glukoza. U

ovom slučaju molekul IGF-1 deluje inhibitorno na sintezu GH u najvećoj meri vezujući se za IGF-1 receptore na nivou somatotropa adenohipofize (Low, 2011).

1.3.4.3. Folikulostelatne ćelije

Folikulostelatne ćelije čine 5-10% ćelijske populacije adenohipofize. Hromofobne su, zvezdastog oblika sa dugim, tankim nastavcima, koji se pružaju između endokrinih ćelija i kapilara. Međusobno su povezane i formiraju dvodimenzionalnu mrežu (Fauquier i sar., 2002; Acosta i sar., 2010). Otkrivene su u adenohipofizi pre 60-ak godina i prvobitno su bile razvrstane u dve grupe: „folikularne“ ćelije, koje grade zidove šupljina (folikula) ispunjenih koloidnim materijalom i „stelatne ćelije“, koje se odlikuju dugim nastavcima koji se pružaju između endokrinih ćelija. Kasnije je ustanovljeno da obe grupe ćelija ispoljavaju imunoaktivnost na S100 i glijalni kiseli fibrilarni protein (GFAP), što ukazuje na zajedničko porijeklo od astrocita i mikroglije. Ovo je bio razlog da se oba tipa ćelija objedine u jedinstvenu ćelijsku populaciju, koja je označena kao „folikulostelatne“ ćelije.

Radi se o agranularnim ne-endokrinih parenhimskim ćelijama adenohipofize čija uloga nije u potpunosti razjašnjena (Fauquier i sar., 2002; Gartner i Hiatt, 2007). Pretpostavlja se da imaju potpunu ulogu, da učestvuju u trofičkim procesima, transferu metabolita i jona i nutritivnim procesima. Prostorna organizacija, povezanost sa endokrinih ćelijama i krvnim kapilarima sugerišu moguću ulogu FS ćelija u parakrinoj regulaciji endokrine aktivnosti adenohipofize (Console i sar., 1997; Anđelković, 2009; Acosta, 2010).

1.3.5. ANATOMSKE KARAKTERISTIKE NEUROHIPOFIZE

Neurohipofiza ili zadnji režanj hipofize (*neurohypophysis s. lobus posterior*) predstavlja zadnju petinu hipofize (sl. 4). Direktno se nastavlja na hipotalamus i za razliku od adenohipofize nije sastavljena od sekretornih ćelija. Zbog toga ona nije prava endokrini žlezda, već ventralni izvirat centralnog nervnog sistema (Mills, 2007). Neurohipofiza svojom prednjom, konkavnom, stranom obuhvata zadnju, konveksnu stranu adenohipofize.

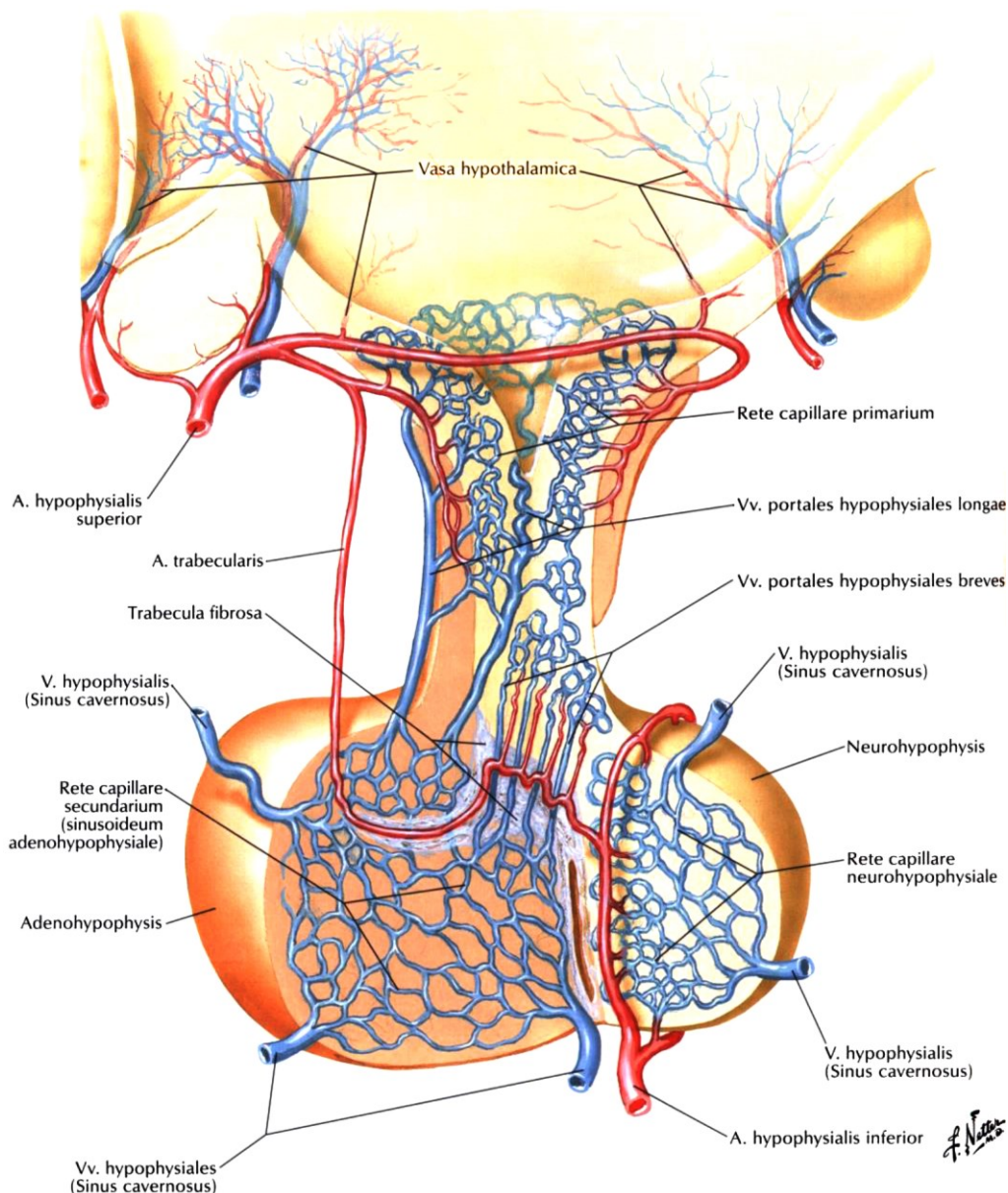
Neurohipofiza se sastoji se iz peteljke hipofize (*infundibulum*), koja se spušta sa ventralne strane tubera cinereuma i solidnog nervnog dela (*pars nervosa s. lobus nervosus*), kojim se naniže nastavlja infundibulum (Pavlović i sar., 2006).

Neurohipofiza je izgrađena iz pituicita (*pituicytus*), specijalizovanih glija ćelija, brojnih nervnih vlakana i razgranate mreže kapilara, dok neurona u njoj nema. Aferentna vlakna joj dolaze preko hipotalamo-hipofiznog puta (*tractus hypothalamohypophysialis*), koji sadrži vlakna

iz supraoptičkog i paraventricularnog jedra hipotalamusa. Duž ovih vlakana se transportuju oksitocin i vazopresin (antidiuretski hormon, ADH), hormoni koji se luče u pomenutim jedrima, a koji se putem guste kapilarne mreže iz neurohipofize odašilju u sistemska cirkulaciju.

1.3.6. VASKULARIZACIJA HIPOFIZE

Arterijsku vaskularizaciju hipofize obezbeđuju dve glavne arterije (sl. 5). Gornja hipofizna arterija (*a. hypophysialis superior*), bočna grana unutrašnje karotidne arterije, formira primarni kapilarni pleksus u središnjem uzvišenju. Iz ovog pleksusa polaze duge i kratke hipofizne portne vene, koje se pružaju niz hipofiznu dršku do adenohipofize. One se u adenohipofizi granaju i formiraju sekundarni kapilarni pleksus, kojim hipotalamusni oslobađajući i



Slika 5. Vaskularizacija hipofize. (Izvor: Netter, 2011)

inhibirajući hormoni doppevaju do endokrinih ćelija čiju funkciju regulišu. Hormoni endokrinih ćelija adenohipofize se potom izlučuju u vene hipofize, putem kojih doppevaju u sistemsku cirkulaciju. Za hipofizu je karakterističan i tzv. retrogradni tok krvi, od adenohipofize ka središnjem uzvišenju, koji pojačava bidirekionalne interakcije. Donja hipofizna arterija (*a. hypophysialis inferior*), takođe bočna grana unutrašnje karotidne arterije, vaskularizuje zadnji režanj hipofize (Melmed i sar., 2011).

1.3.7. INERVACIJA HIPOFIZE

Neuroni koji izgrađuju jedra tuberalnog regiona hipotalamusa svojim aksonima oblikuju *tuberoinfundibularni snop*, čija vlakna se završavaju u nivou primarnog kapilarnog pleksusa. U fenestrirane kapilare ovog pleksusa izlučuju se hipofiziotropni faktori pomenutih neurona. Ovi faktori preko hipofizno-pituitarnog portnog sistema doppevaju do adenohipofize na čije endokrine ćelije deluju (Kahle i Frotscher, 2002; Mills, 2007). U inervaciji prednjeg režnja hipofize učestvuju i postganglijska vlakna autonomnog nervnog sistema sa vazomotorom funkcijom (Ross i sar., 2003).

1.4. GONADE KAO KOMPONENTE GONADOTROPNE OSOVINE

Gonade su parne polne žlezde muškarca i žene u kojima se proizvode zrele oplodne ćelije (gameti), a istovremeno svojim hormonima deluju kao žlezde sa unutrašnjom sekrecijom. Kod muškarca to su semnici ili testisi (*testis s. orchis*), a kod žene jajnici ili ovarijumi (*ovarium*) (sl. 1).

1.4.1. ANATOMSKE I FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE TESTISA

Testis je parna muška polna žlezda, koja stvara muške polne ćelije (spermatozoide) i muške polne hormone, od kojih je najvažniji testosteron. Razvija se u retroperitoneumskom prostoru abdomena, a potom se spušta u mošnice (*scrotum*), u kojima je normalno na rođenju. Testis ima oblik bočno spljoštenog ovoidnog tela, sa uzdužnom osovinom koja se pruža koso nadole i nazad, te mu se opisuju spoljašnja i unutrašnja strana, prednja i zadnja ivica i gornji i donji pol (sl. 1). Prosečne dimenzije su 5 cm × 3,5 cm × 2,5 cm, a prosečna težina oko 20 g (Čukuranović i sar., 2013).

Testis je izgrađen iz strome i parenhima. **Stromu** sačinjavaju fibrozna čaura (*tunica albuginea*) spolja, vaskularni sloj (*tunica vasculosa*) pod njenom dubokom stranom, vezivne

pregrade (*septulae testis*) koje od fibrozne čaure kroz parenhim konvergiraju ka zadnjoj ivici testisa, gde se susiće i grade klinasto zadebljanje, Hajmorovo telo (*mediastinum testis*). **Parenhim** čine 160 do 200 režnjića (*lobuli testis*), između vezivnih pregrada, u kojima se nalaze izvijugane semene cevčice (*tubuli seminiferi contorti*) koje se, idući pozadi, spajaju u prave semene kanaliće (*tubuli seminiferi recti*), koji se anastomoziraju u Hajmorovom telu u Halerovu mrežu semenih kanalića (*rete testis*). Iz ove mreže polaze izvodni semeni kanalići (*ductuli efferentes testis*), gradeći režnjiće pasemnika (*lobuli epididymidis*).

Semeni tubuli predstavljaju egzokrinu komponentu testisa, pošto se u njima odvija proces spermatogeneze. Rastresito vezivno tkivo između tubula (intersticijum) čini endokrinu komponentu, zbog prisustva intersticijumskih Lajdigovih (Leydig) ćelija koje sekretuju testosteron. Ove se ćelije nalaze pojedinačno ili u grupama, ovalnog su ili poligonalnog oblika, sa granulisanom eozinofilnom citoplazmom, koja je bogata organelama karakterističnim za steroid-sekretujuće ćelije, a mogu se uočiti i glikogen, lipidne kapljice, lipofuscinske granule i karakteristični Reinke-ovi kristali. Lajdigove ćelije imaju okrugao vezikularni nukleus sa jednim do dva nukleolusa (Anđelković i sar., 2009).

1.4.1.1. Spermatogeneza

Spermatogeneza je proces maturacije i diferencijacije muških polnih ćelija, tj. spermatozoida. Ovo su ćelije koje okružuju lumen semene cevčice, a nastaju transformacijom niza prethodnih formi ćelija koje se nalaze u posebnim odeljcima zida cevčice, idući od spolja prema unutra: spermatogonije, primarni spermatociti, sekundarni spermatociti i spermataide. Kod čoveka postoje dva tipa spermatozoida: tip sa X-hromozomom, koji determiniše ženski pol i tip sa Y-hromozomom, koji opredeljuje muški pol. Proces stvaranja spermatozoida od spermatogonija kod čoveka traje od 64 do 72 dana. Spermatogeneza započinje u uzrastu oko 13 godina i nastavlja se tokom čitavog života, sa značajnim smanjenjem u starosti (Guyton i Hall, 2008).

Normalan proces spermatogeneze reguliše nekoliko hormona. *Testosteron*, koji luče Lajdigove ćelije, je neophodan za rast i deobu germinativnih ćelija testisa, što predstavlja prvi stadijum u formiranju spermatozoida. *Luteinizirajući hormon*, koji luči adenohipofiza stimuliše Lajdigove ćelije na lučenje testosterona. *Folikulostimulirajući hormon*, koji takođe luči adenohipofiza, stimuliše Sertolijeve ćelije i tako omogućava prelazak spermataida u spermatozoide. *Estrogeni*, koji nastaju od testosterona u Sertolijevim ćelijama pod dejstvom folikulostimulirajućeg hormona, imaju važnu ulogu u spermatogenezi. *Hormon rasta*, ne-

ophodan za kontrolu osnovnih metaboličkih funkcija testisa, pokreće ranu deobu spermatogonija. U nedostatku hormona rasta spermatogeneza je ozbiljno deficitarna ili potpuno izostaje, prouzrokujući neplodnost (Guyton i Hall, 2008).

1.4.1.2. Produkcija i lučenje testosterona

Testosteron je jedan od muških polnih hormona koje stvaraju testisi, a koji nose zajednički naziv androgeni. Ovim hormonima osim testosterona pripadaju dihidrotestosteron i androstenedion. Testosteron je najvažniji hormon testisa, pošto se luči u najvećoj količini, a u ciljnom tkivu skoro kompletno prelazi u aktivniji hormon dihidrotestosteron.

Testosteron, kao što je rečeno, proizvode Lajdigove intersticijalne ćelije, koje se nalaze u intersticijumu testisa, između semenih kanalića. Ove ćelije čine oko 20% mase testisa odraslih osoba. Lajdigovih ćelija skoro i nema tokom detinjstva, kada testisi i ne luče testosteron, ali su brojne u testisima dece nekoliko nedelja nakon rođenja i kod odraslog muškarca nakon puberteta, kada testisi luče velike količine ovog hormona. Testosteron, kao i ostali androgeni stvoreni u testisima ili na drugim mestima u telu (npr. u nadbubrežnim žlezdama), je steroidno jedinjenje koje može biti sintetisano iz holesterola ili direktno iz acetil-koenzima A. Oko 97% izlučenog testosterona se veže ili labavom vezom za albumine plazme ili čvršćom vezom za beta globuline i u tom obliku cirkuliše u krvi od 30 minuta do nekoliko sati. Veći deo testosterona se vezuje za tkiva i pretvara u dihidrotestosteron, a manji deo se razgrađuje u neaktivne supstance, koje se potom izlučuju preko žuči u creva ili bubrežima u urin (Guyton i Hall, 2008; Veljković i Radenković, 2016).

Generalno, testosteron je odgovoran za posebne polne karakteristike muškog tela. Konstantno stimulisani gonadotropinima iz placente, genitalni nabor, a potom testisi tokom čitavog fetalnog života, kao i desetak nedelja nakon rođenja stvaraju umerenu količinu testosterona. On je tada neophodan za formiranje muškog genitalnog trakta i istovremeno sprečavanje stvaranja ženskih polnih organa. Nakon toga, tokom detinjstva testosteron se skoro uopšte ne stvara sve do puberteta. Tada se njegovo stvaranje naglo povećava pod uticajem LH adenohipofize, što dovodi do višestrukog uvećanja muških genitalija, ali i razvoja sekundarnih polnih odlika muškarca. Jasno je da su navedene promene rezultat anaboličkog dejstva testosterona, tj. povećane sinteze proteina u ciljnim ćelijama (Guyton i Hall, 2008; Veljković i Radenković, 2016).

Kontrola sekrecije testosterona ostvaruje se mehanizmom *negativne povratne sprege* (sl. 1). To znači da preveliko izlučivanje testosterona iz testisa deluje inhibitorno na lučenje

LH iz adenohipofize, odnosno na lučenje GnRH iz hipotalamusa. Smanjeno lučenje GnRH za posledicu ima smanjeno lučenje LH i FSH iz adenohipofize. Smanjenje količine LH i u jednom i u drugom slučaju dovodi do smanjenog lučenja testosterona iz testisa. Obrnuto, nedovoljna količina testosterona omogućava hipotalamusu da luči veće količine GnRH, što rezultuje povećanjem izlučivanja LH i FSH iz adenohipofize i testosterona iz testisa.

1.4.2. ANATOMSKE I FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE OVARIJUMA

Ovarijum je parna ženska polna žlezda u kojoj nastaju zrele ženske oplodne ćelije (*gamet, ovocit*). On je i žlezda sa unutrašnjom sekrecijom, pošto svojim hormonima (*estrogen i progesteron*) utiče na pojavu sekundarnih seksualnih karakteristika ženskog pola i reguliše ciklusne promene na polnim organima i tok trudnoće. Jajnik je ovalnog, bademastog oblika, čvrste konzistencije (sl. 1). Njegove prosečne dimenzije su: dužina 4 cm, širina 3 cm, a debljina 1 cm. Težine je oko 10 g. Jajnik se nalazi u peritoneumskom spratu duplje male karlice, u plitkoj peritoneumskoj jamici (*fossa ovarica*) na bočnom zidu male karlice (Čukuranović i sar., 2013).

Jajnik je izgrađen iz spoljašnjeg epitelnog omotača i strome, odnosno parenhima, koji se nalaze u unutrašnjosti organa, unutar dve jasno izdvojene zone, kore i medule. Stroma ovarijuma se sastoji iz gustih kolagenih vlakana na površini organa (*tunica albuginea*) i rastresitog vezivnog tkiva u kori i meduli. Parenhim ovarijuma čine jajnički meškovi (*folliculi ovarici*) u različitim stadijumima sazrevanja odnosno involucije, kao i intersticijumske ćelije između meškova. Nalazi se isključivo u perifernom delu, odnosno kori ovarijuma (Anđelković i sar., 2009).

Ženski hormonski sistem ima tri hijerarhijski povezana nivoa: 1) Oslobođajući hormon hipotalamusa (GnRH), 2) Gonadotropni hormoni adenohipofize (LH i FSH), koji se luče pod uticajem GnRH, i 3) Hormoni koje luče jajnici (estrogen i progesteron) pod dejstvom gonadotropnih hormona adenohipofize. Interesantno je da se u toku mesečnog polnog ciklusa žene ovi hormoni ne izlučuju u konstantnim količinama, već da postoje izrazite razlike u toku pojedinih delova ciklusa. Količina izlučenog **GnRH** iz hipotalamusa tokom polnog ciklusa žene neznatno oscilira. On se izlučuje, kao i kod muškaraca, prosečno svakih 90 minuta. Međutim, tokom mesečnog ciklusa žene, postoji ciklično povećanje i smanjenje lučenja LH i FSH, što za posledicu ima ciklične promene u jajnicima.

U detinjstvu se **gonadotropni hormoni** adenohipofize skoro ne luče, te su i jajnici neaktivni. Počev od 9. godine adenohipofiza počinje progresivno da luči sve veće količine

LH i FSH, što u uzrastu između 11 i 15 godina rezultuje početkom normalnog mesečnog polnog ciklusa žene. Period navedenih promena naziva se *pubertet*, a prvi menstrualni ciklus *menarha* (Guyton i Hall, 2008).

LH i FSH stimulišu ciljne ćelije u jajnicima, vezujući se za specifične LH i FSH receptore u membrani ovih ćelija. Stimulisane ciljne ćelije povećavaju svoju sekreciju, a takođe dolazi i do njihovog rasta i proliferacije. Skoro svi stimulatorni efekti LH i FSH nastaju zbog aktivacije sistema adenzin monofosfatnog sekundarnog glasnika u citoplazmi ciljnih ćelija, koji dalje dovodi do stvaranja protein kinaze i mnogostruke fosforilacije ključnih enzima koji pokreću sintezu polnih hormona.

Tokom prvih nekoliko dana svakog mesečnog polnog ciklusa žene blago se povećava sekrecija FSH i LH iz adenohipofize, s tim što je porast FSH nešto veći i prethodi povećanju LH za nekoliko dana. Ovi hormoni, a posebno FSH dovode do transformacije folikula i potpunog sazrevanja samo jednog, kao i do pojačanog lučenja polnog hormona estrogena. Za nastanak ovulacije, obično 14 dana posle početka menstruacije, neophodna je značajno veća količina (6–10 puta) LH izlučenog iz adenohipofize, kao 2 do 3 puta veće lučenje FSH. Oba hormona sinergistički omogućavaju ovulaciju, a LH dodatno deluje na lučenje progesterona. LH ima presudnu ulogu u nastanku žutog tela (*corpus luteum*), zbog čega je i dobio naziv “luteinizirajući“. Ovaj hormon je odgovoran i za sekreciju progesterona i estrogena iz žutog tela. Ova dva hormona tokom luteinske faze ovarijalnog ciklusa mehanizmom *negativne povratne sprege* deluju na adenohipofizu, smanjujući izlučivanje LH i FSH, što za posledicu ima degeneraciju žutog tela (sl. 1). Ovome doprinosi i *inhibin*, hormon kojeg luče luteinske ćelije žutog tela, a koji smanjuje sekreciju gonadotropina iz adenohipofize. Konačna involucija ovog tela obično se javlja nakon 12 dana njegovog života, tj. 26-tog dana normalnog ženskog polnog ciklusa, a 2 dana pre početka menstruacije. U to vreme, izostanak lučenja estrogena, progesterona i inhibina iz žutog tela dovodi do prestanka dejstva negativne povratne sprege na adenohipofizu, dozvoljavajući joj da ponovo izlučuje rastuće količine FSH i LH. FSH i LH pokreću rast novog folikula i počinje novi ovarijalni ciklus. Tada smanjeno lučenje estrogena i progesterona dovodi do nastanka menstruacije iz uterusa.

1.4.2.1. Funkcije hormona jajnika

Estrogeni i progestini predstavljaju dva tipa polnih hormona koji se luče u jajnicima. Najvažniji hormon među estrogenima je *estradiol*, a među progestinima *progesteron*. Estrogeni dominantno podstiču proliferaciju i rast specifičnih ćelija tela, koje su odgovorne za

razvoj većine sekundarnih polnih odlika žene. Progestini su prevashodno odgovorni za konačnu pripremu materice za trudnoću i dojki za laktaciju.

Estrogeni. Kod zdrave žene van perioda trudnoće, estrogeni se u značajnim količinama luče samo u jajnicima, a u malim količinama i u kori nadbubrežnih žlezdi. Tokom trudnoće, posteljica luči velike količine estrogena.

U plazmi žene nalaze se u značajnim količinama samo tri estrogena: *beta- estradiol*, *estron* i *estriol*. Glavni estrogen jajnika je *beta- estradiol*. U jajnicima se luče i male količine estrona, a najviše tog hormona se stvara u perifernim tkivima iz androgena, koji luče kora nadbubrežne žlezde i ćelije jajnika. Estriol je slab estrogen, koji nastaje mahom u jetri kao oksidativni produkt estradiola i estrona.

Estrogeni su, kao i progesteron, steroidi koji se sintetišu u jajnicima, najvećim delom iz holesterola iz krvi, a u manjoj meri i iz acetil-koenzima A. Pri tome, obično prvi nastaju progesteron i testosteron, koji se tokom folikularne faze ovarijalnog ciklusa najvećim delom konvertuju u estrogene. Kasnije, tokom luteinske faze ciklusa, izlučuje se mnogo više progesterona nego što bi moglo biti konvertovano, te se velike količine ovog hormona ubacuju u cirkulišuću krv. U krv se izlučuje i višak testosterona.

Estrogeni se transportuju kroz krv uglavnom vezani za albumine plazme ili za njih specifične globuline. Ove veze su dovoljno slabe i omogućavaju stalni prelazak estrogena u tkiva u periodu od oko 30 minuta. Estrogeni se u jetri konjuguju, dajući glukuronide ili sulfate, da bi se oko 1/5 ovakvih produkata izlučila putem žuči, a ostatak preko urina. S druge strane, jetra konvertuje estradiol i estron u skoro neaktivan estriol. Zbog ovoga, smanjeno funkcionisanje jetre značajno povećava aktivnost estrogena u telu, što ponekad može rezultovati hiperestrogenizmom.

Glavno dejstvo estrogena je izazivanje ćelijske proliferacije i rasta u tkivima polnih organa i drugim tkivima koja su povezana sa reprodukcijom. Naročito je važan uticaj estrogena na matericu, spoljašnje polne organe žene, jajovode, dojke, skelet, na deponovanje proteina i masti u telu, na kožu, na metabolizam i elektrolitni balans (zadržavanje Na i vode).

Progestini. U jajnicima se proizvode dva progestina: progesteron i 17-alfa-hidroksiprogesteron, koji uglavnom imaju isto dejstvo. Zbog neuporedivo veće količine izlučenog progesterona, on se smatra jedinim praktično važnim progestinom. Kod žene koja nije trudna značajne količine progesterona luče se iz žutog tela samo u drugoj polovini ovarijalnog ciklusa. Tokom trudnoće velike količine progesterona luči posteljica, naročito nakon četvrtog meseca gestacije.

Kao što je napred navedeno, progesteron je steroid koji se sintetiše u jajnicima iz holesterola i acetil-koenzima A. U toku folikularne faze ovarijalnog ciklusa veći deo pro-

gesterona se konvertuje u estrogene. U toku luteinske faze ciklusa, izlučuje se mnogo više progesterona nego što se može konvertovati, te se velika količina ovog hormona luči u cirkulišuću krv. I progesteron se transportuje krvlju vezan za albumine plazme ili za specifične globuline. Ova veza je slaba i omogućava konstantan prelazak progesterona u tkiva. Nekoliko minuta nakon sekrecije, gotovo sav progesteron se razgradi na druge steroide, u čemu značajnu ulogu igra jetra. Glavni raspadni produkt progesterona je *pregnandiol*. Negde oko 10% nerazgrađenog progesterona izlučuje se urinom.

Najvažnija uloga progesterona je podsticanje sekretornih promena u endometrijumu *materice* u toku druge polovine mesečnog polnog ciklusa žene, kada se materica priprema za implantaciju oplodene jajne ćelije. Pored ovoga, progesteron smanjuje frekvenciju i intenzitet kontrakcija materice i tako sprečava izbacivanje oplodene jajne ćelije. Progesteron takođe podstiče pojačanu sekreciju iz mukoznog omotača *jajovoda*. Ona je neophodna za ishranu oplodene jajne ćelije, koja se deli u toku prolaska kroz jajovod pre implantacije. U *dojkama* progesteron podstiče razvoj lobulusa i alveola, dovodi do proliferacije i povećanja alveola, pri čemu one poprimaju sposobnost sekrecije. Međutim, progesteron ne izaziva lučenje mleka iz alveola, jer se ono luči tek kada su pripremljene dojke stimulisane *prolaktinom* iz adenohipofize.

1.5. STARENJE KAO BIOLOŠKI PROCES

Starenje kao proces karakteriše postepeni pad telesnih funkcija, slabija reakcija čovekovog organizma na promene u okolini, pojačana sklonost ka bolestima karakterističnim za stare individue i konačno značajno viši mortalitet (Kirkwood, 2005). Za razliku od genetski programiranog razvoja i rasta, starenje predstavlja kompleksan multifaktorijalni proces, koji se pre može posmatrati kao vremenski zavistan pad telesnih funkcija usled nagomilavanja oštećenja molekularnih, celularnih i regulatornih sistema. Akumulirana oštećenja se konačno mogu manifestovati zdravstvenim problemima karakterističnim za poodmakle godine, kao što su pogoršanje funkcije urinarnog trakta, hiperplazija prostate, erektilna disfunkcija i smanjeni fertilitet, osteoporoza i opšta slabost. To sve ima za posledicu značajan pad opšteg blagostanja i niži potencijal starih osoba za kvalitetan i nezavisan život (Hermann i Berger, 2001; Bakshi i Miller, 1999).

Iz navedene definicije starenja jasno je da uprkos velikom napretku nauke etiopatogenetski mehanizmi starenja još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni. Ipak, razvoj efikasnih metoda lečenja mnogih, pre svega infektivnih i hroničnih nezaraznih bolesti, izmenjen način života i higijensko-dijetetetskih navika, omogućili su da sve više ljudi umire usled starosti.

Zapravo, na ovaj način je povećan udeo starog stanovništva kako u svetskoj tako i u većini nacionalnih populacija (Weinert i Timiras, 2003). Interesantno je da je prosečna starost sada 85 godina, i da je ona za samo 2000 godina više nego udvostručena (Harman i sar., 2001).

Slabljenje funkcija organizma udruženo je sa strukturnim promenama, u čijoj osnovi je unakrsno povezivanje proteina ekstracelularnog matriksa, oksidacija proteina, nakupljanje lipofuscina, promenjen nivo genske ekspresije i drugo (Beck, 2002).

Mnogobrojne definicije starenja sa stanovišta biologije mogu se razvrstati na stohastičke i nestohastičke.

Stohastičke definicije podrazumevaju pojavu grešaka u kontrolnim mehanizmima i proces starenja objašnjavaju slučajnim događajima, tj. epigenetskim i genetskim izmenama regulatornih sekvenci genoma, pri čemu se starenje javlja kao posledica akumuliranja ovih grešaka.

Nestohastičke (razvojno-programske) definicije starenje tumače endogenim promenama, koje su unapred genski programirane. Značaj ovih definicija može se proceniti empirijski, kao i na osnovu broja fenotipskih karakteristika koje objašnjavaju (Schofield, 1999; Jin, 2010; Chinta i sar., 2015).

1.5.1. TEORIJE STARENJA

Starenje kao biološki fenomen razmatraju brojne teorije sa različitih aspekata, evolucionog, genetičkog, biohemijskog i fiziološkog. *Evolucione teorije* posmatraju starost kroz smanjenje reproduktivnih sposobnosti, propadanje organizma u zavisnosti od faktora sredine i fenotipske promene. *Genetičke teorije* se odnose na hipoteze koje obuhvataju identifikaciju gena starenja, akumulaciju grešaka u genetičkom aparatu, programirano starenje i telomere. *Biohemijske teorije* razmatraju ulogu energetskeg metabolizma, slobodnih radikala, brzine starenja i stanja mitohondrija. *Fiziološke teorije* uglavnom se odnose na endokrini sistem, tj. ulogu hormona u regulaciji brzine starenja ćelija (Kowald i Kirkwood, 1999; Yin i sar., 2014.). Ipak, moderne biološke teorije starenja mogu se grubo svrstati u dve kategorije: nestohastičke (programske) i stohastičke (teorije oštećenja ili greške).

1.5.1.1. Nestohastičke teorije starenja

Nestohastičke (programske) teorije smatraju da se starenje odvija prema određenom programu, koji reguliše i detinjstvo i odraslo doba. Pri tome, ova regulacija zavisi od promena u ekspresiji gena, koje pogađaju sisteme odgovorne za održavanje, reparaciju i odbrambene reakcije.

Teorija programirane dugovečnosti. Ova teorija starenje tumači kao posledicu sekvencioniranog isključivanja određenih gena, što rezultuje deficitima koji se definišu kao starosne promene (Davidović i sar., 2010). Smrt svake ćelije, prema ovoj teoriji, je genski programirana i ona umire nakon određenog broja deoba. Tako na primer, humani fibroblast umire nakon pedesetak deoba. Međutim, eksperimenti na nižim organizmima, kao što su vinska mušica i nemetoda *C. Elegans*, pokazali su da postoje geni koji povećavaju kritični broj deoba jedne ćelije. Gen sličan genu LAG-I kod kvasca, koji kodira jedan protein membrane i na još nepoznat način povećava broj deoba za oko 30%, nađen je i u genomu čoveka.

Teorija o telomerama snažno podupire teoriju o programiranoj smrti. Telomere su ponavljajuće sekvence DNK na krajevima hromozoma, koje ih štite od degradacije. Sa svakom ćelijskom deobom telomere se skraćuju i tako preostali životni vek jedne ćelije čine srazmerno kraćim. Međutim, neke reproduktivne ćelije i kancerske ćelije mogu se deliti beskonačno mnogo puta zahvaljujući telomerazi koja stalno dodaje nukleotide i tako nadoknađuje izgubljeni deo telomera. Inače, većina normalnih ćelija ne sintetiše ovaj enzim, pošto na putu kroz diferencijaciju gen koji ga kodira biva utišan, te i dolazi do sukcesivnog skraćivanja telomera. Na ovoj činjenici je počivala ideja da se regulisanjem ekspresije gena za telomerazu mogu lečiti tumori, odnosno produžiti život. Međutim, rezultati kod eksperimenata na životinjama u tom smislu za sada nisu zadovoljavajući, štaviše dolazilo je i do povećanja incidence maligniteta. Naime, nedostatak telomeraze u kombinaciji sa mutiranim tumor-supresornim genom p53 dovodi do hromozomske nestabilnosti (Bodnar i sar., 1998; Buseman i sar., 2012). Sve ovo ukazuje na kompleksnost regulacije procesa starenja.

Endokrina teorija starenja. Normalno je endokrini sistem odgovoran za regulaciju reproduktivnog ciklusa, rasta, energetskog metabolizma, deponovanje i oslobađanje hranljivih materija i reakciju na stres (Dilman i sar., 1986). Starost karakteriše iscrpljenje stvaranja hormona, pa i slabost regulatornih sistema koje oni kontrolišu. Kako se insulin/IGF-1 signalnim putem reguliše transkripcija faktora DAF-16/Foxo, koji uključuje gene odgovorne za otpornost na stres, to se prepreke na istom smatraju potencijalnim mehanizmom u osnovi starenja (Antebi, 2005; van Heemst, 2010).

Imunološka teorija starenja. Imuni sistem je programiran da vremenom slabi, što omogućava povećanu osetljivost na infektivne bolesti, smanjenje otpornosti na zapaljenje i razvoj autoimnih oboljenja, koja su praćena povećanjem nivoa proinflatornih supstanci (Effros i sar., 2009; Franceschi i sar. 2000). Naravno, imunološka teorija je tesno povezana sa endokrinom, pošto promene hormonskog statusa bitno utiču na imunološke snage organizma.

1.5.1.2. Stohastičke teorije starenja

Radi se o teorijama koje potenciraju uticaje sredine na živi organizam, koji dovode do promena čije kumulativno dejstvo uzrokuje oštećenja na različitim nivoima, koja za posledicu imaju starenje (Davidović i sar., 2010; Jin, 2010).

Teorija trošenja. Tokom života dolazi do konstantnog trošenja ćelija i tkiva, što rezultuje smanjenjem njihove vitalnosti i starenjem. Pri tome, sa starenjem dolazi do nagomilavanja u ćelijama različitih oksidativnih produkata metabolizma (kao što je lipofuscinski pigment) i proteinskih filamenata, koji opterećuju ćeliju i smanjuju njenu funkciju (Beckman i Ames, 1998).

Metabolička teorija. Radi se o teoriji koja pretpostavlja da intenzivan metabolizam skraćuje dužinu života, pošto svaki organizam ima ograničeni metabolički potencijal. Intenzivni metabolizam za posledicu može imati i povećano stvaranje slobodnih radikala koji dalje oštećuju proteine, nukleinske kiseline i lipide (Hulbert i sar., 2007).

Teorija slobodnih radikala. Stvaranje slobodnih radikala (kiseoničnih i radikala azota), kao visoko reaktivnih jedinjenja koja mogu da stupaju u reakcije s drugim hemijskim jedinjenjima (proteini, nukleinske kiseline, lipidi, ugljeni hidrati) dovodi do stvaranja novih slobodnih radikala. Ovakve lančane reakcije imaju za posledicu oštećenje strukture i funkcije različitih tkiva i organa, na celularnom i subcelularnom nivou. Dokazano je da postoje supstance (npr. sirtuini) koje mogu modulirati ćelijski odgovor na oksidativni stres i tako dovesti do produženja životnog veka kod ishrane bazirane na kalorijskoj restrikciji (Yin i sar., 2014; Merksamer i sar., 2013; Dai i sar., 2014).

Teorija unakrsnog povezivanja. Teorija koja starenje ćelija tumači kao posledicu akumulacije unakrsno povezanih proteina. Tako, unakrsno povezivanje molekula *kolagena* čini ga nerastvorljivim i rigidnim, što za posledicu ima promenu ćelijske propustljivosti za nutrijense. Unakrsno povezivanje molekula *elastina* menja strukturu vezivnog tkiva, koža postaje suva i manje elastična. Zahvatanje ovim procesom i strukturnih proteina koji učestvuju u deobi ćelija onemogućilo bi deobu DNK i mitozu. Unakrsno povezivanje proteina omogućeno je glikozilacijom aminokiselina na krajevima proteinskih lanaca. Normalno, ove AGE (advanced glycoxylation end) produkte u ekstracelularnom prostoru razgrađuju makrofagi. Kako je količina AGE produkata srazmerna glikemiji, to se njihovo stvaranje može redukovati restrikcijom glukoze i povećanjem fizičke aktivnosti. Utvrđeno je da neki od ovih produkata mogu delovati toksično kako inicijacijom stvaranja slobodnih radikala, tako i povećanjem podložnosti proteina proteolizi i degradaciji (Grillo i sar., 2008).

Teorija somatskih oštećenja DNK. Različiti endogeni ili egzogeni faktori mogu delovati na genomsku DNK i dovesti do mutacija na strukturnim i regulatornim genskim elementima. Kako su ovakve mutacije moguće i na reparatornim elementima, to greške na ovim prethodnim ne mogu uvek biti ispravljene. Akumulacija takvih oštećenja dovodi do starenja ćelija, ali i čitavog organizma (Weinert i Timiras, 2003). Starenje je praćeno i epigenetskim promenama, tj. utišavanjem gena procesima metilacije promotora i acetilacije histona. Primeenom DNK-demetilisućih agenasa i inhibitora deacetilacije histona može se uticati na proces starenja (Burzynski, 2003).

1.5.2. STARENJE KOD OSOBA MUŠKOG POLA

Sa endokrinološke taćke gledišta, starenje predominantno karakteriše pad funkcije onih sistema koji podupiru tkivni anabolizam. Kod osoba muškog pola to se u najvećoj meri odnosi na dve veoma bitne komponente neuroendokrinog sistema: gonadotropnu i somatotropnu osovinu. Tako se pod terminom gonadopauza uglavnom podrazumeva pad biološke raspoloživosti testosterona (T), a pod terminom somatopauza pad biološke raspoloživosti hormona rasta (GH) i/ili IGF-1. Ipak, napred navedeni procesi znaćajno variraju kod razlićitih osoba, a na njihov intenzitet znaćajno utiću i faktori okoline i životne navike.

1.5.2.1. Hipotalamo-pituitarno-gonadotropna osovina i starenje

Adenohipofiza muškarca poćinje da lući gonadotropne hormone sa pojavom puberteta i ono se, nakon puberteta, opadajućim intenzitetom nastavlja tokom celog života. Ipak, kod većine muškaraca postepeno slabljenje polnih funkcija poćinje da se ispoljava u kasnim 40-im ili 50-im godinama i ono je u korelaciji sa smanjenjem lućenja testosterona. Naime, lućenje testosterona znaćajno opada nakon 50. godine, da bi kod osamdesetogodišnjaka ono bilo između 20 i 50 procenata od kolićine testosterona u vreme maksimalne sekrecije. I pored toga, testikularna morfologija, spermatogeneza i fertilitet ispoljavaju marginalne promene kod starijih muškaraca (Guyton i Hall, 2008; Veljković i Radenković, 2016).

Gonadopauza ili kasni hipogonadizam se karakteriše progresivnom disregulacijom hipotalamo-pituitarno-gonadalne osovine, najverovatnije usled starošću uzrokovanog pada maksimalne hipotalamusne sekrecije GnRH, pada maksimalne i prosećne amplitude LH pulsa uz oćuvanje bazalne frekvencije LH pulsne sekrecije, pada luteinizirajućim hormonom (LH) stimulisane sekrecije testosterona i redukcije mehanizma negativne povratne sprege posredstvom testosterona (Keenan i sar., 2001). Posledicu napred navedenog predstavlja *biohemijski*

kasni hipogonadizam, sa padom serumske koncentracije ukupnog testosterona, bioraspolog živog testosterona i slobodnog testosterona, zatim umerenim porastom serumskog LH i FSH i konačno porastom serumskih nivoa globulina koji vezuju polne hormone (Feldman i sar., 2002). Kasni hipogonadizam se *klinički* manifestuje simptomima koji su slični sa istim kod hipogonadizma mladih muškaraca, uključujući pad koštane i mišićne mase, abdominalnu gojaznost, gubitak polne maljavosti i rasta brade. Dodatno, hipogonadizam rezultuje pojavom niza nespecifičnih simptoma uključujući nervozu, iritabilnost, psihološku depresiju, oštećenu memoriju, slabost, nesanicu, napade crvenila, periodično preznojavanje i gubitak seksualne snage (Feldman i sar., 2002).

Primarni mehanizmi koji posreduju u postepenoj depleciji testosterona kod starijih muškaraca jos uvek nisu poznati. Uz efekte lekova, komorbiditeta i interkurentnih bolesti, starosno opadanje serumskih koncentracija testosterona uglavnom je posledica smanjene produkcije, pošto su njegove stope klirensa iz plazme niže kod starijih u poređenju sa mlađim muškarcima. Opadanje produkcije testosterona moglo bi biti uzrokovano poremećenom funkcijom bilo kog od tri ključna kontrolna mesta na muškoj reproduktivnoj osovini: hipotalamusa, adenohipofize ili Lajdigovih ćelija testisa. Većina istraživača fokusira se na starosne promene suprapituitarnih struktura i slične promene na nivou tkiva testisa.

Na **suprapituitarnom nivou**, ultrastrukturne promene GnRH neurona smatraju se odgovornim za opadanje endogenog GnRH i posledično manje spontane pulseve LH kod starijih muškaraca. Na drugoj strani, **smanjena sposobnost LH da stimuliše testikularnu sekreciju testosterona**, kvalitativna razlika u profilima LH izoformi kod starijih muškaraca, pogoršana perfuzija Lajdigovih ćelija, opadanje ukupnog ćelijskog volumena i apsolutnog broja Lajdigovih ćelija, fuzija Lajdigovih ćelija sa formiranjem multinukleusnih ćelija, čija je funkcija nepoznata, ili kombinacija ovih poremećaja mogu uzrokovati poremećaj testikularne steroidogeneze kod muškaraca u procesu starenja (Mulligan i sar., 1999; Strauss i sar., 2009).

Prema podacima iz literature, starenje nije povezano sa merljivim **poremećajem gonadotropne sekrecije** bilo biološki aktivnog, bilo imunološki reaktivnog LH (Mulligan i sar., 1999). Ipak, umesto da doprinesu nekontrolisanoj sekreciji LH eliminisanjem negativne povratne sprege, niže koncentracije testosterona kod starijih muškaraca generalno su povezane sa očuvanom, nekada i povišenom, ali nepravilnom sekrecijom LH (Veldhuis i sar., 2007). Uzroci takve progresivno nepravilne sekrecije LH i oslobađanja testosterona sa starenjem nisu jasni. Poremećaj efikasnosti testosteronske povratne sprege zbog opadanja androgene receptorske ekspresije u mozgu i hipofizi starijih muškaraca možda je jedan od razloga (Veldhuis i sar., 2007; Veldhuis, 2008). Ipak, istovremeno prisustvo i drugih faktora koji (uz

GnRH) mogu dodatno direktno da stimuliraju sintezu LH na nivou hipofize ne može se isključiti. U svom radu, Schwartz i saradnici (1998) navode da funkcija adenohipofize verovatno predstavlja rezultat integracije višestrukih primljenih signala, uključujući hipotalamičke, periferne i intrapituitarne. Intrapituitarni faktori mogu da ispoljavaju stimulatorne ili inhibitorne efekte na produkciju hormona od strane adenohipofize. Produkcija i oslobađanje LH je takođe pod kontrolom različitih lokalno proizvedenih signalnih molekula koji formiraju složenu mrežu i učestvuju u autokrinoj/parakrinoj kontroli funkcije gonadotropa (Perez-Castro i sar., 2012). Prema Denefu (2008), gonadotropi učestvuju u interakciji i sa drugim hormonalnim (uglavnom laktotropima, somatotropima i kortikotropima) i sa ne-hormonalnim ćelijama. Folikulostelarne (FS) ćelije su ne-hormonske ćelije koje čine 5-10% ćelijske populacije adenohipofize. Morfologija ovih ćelija ukazuje na to da imaju ulogu u mikrocirkulaciji hranljivih materija, jona i otpadnih materija. One formiraju komunikacioni sistem unutar adenohipofize koji koordiniše oslobađanje hormona iz njenih različitih delova. Takođe, FS ćelije mogu da oslobađaju mnoge supstance u intercelularni matriks, koje mogu uticati na funkciju susednih hormonalnih ćelija na parakrini način. Unutrašnji hormonalni milje starijih muškaraca menja se sa godinama starosti (Deleidi i sar., 2015; Franceshi i sar., 2000), te pretpostavljamo da takve promene mogu stimulisati interakcije FS ćelija sa gonadotropima putem parakrinih sprega. Ove interakcije mogu posledično izmeniti funkciju gonadotropa, što bi konačno rezultovalo starosnim promenama nivoa LH u plazmi.

1.5.2.2. Hipotalamo-somatotropna osovina i starenje

Tokom života menja se aktivnost hipotalamo-somatotropne osovine. Tokom detinjstva i adolescencije njena anabolička svojstva su važna za linearni rast i somatski razvoj. Sekretacija GH kod ljudi dostiže vrhunac u pubertetu, a prate je vrlo visoki cirkulišući nivoi IGF-1. Tokom adultnog perioda aktivnost ove osovine postepeno opada. Nakon 30. godine nivo cirkulišućeg GH opada za 1% godišnje, te kod starih muškaraca oslobađanje GH može biti od 5 do 20 puta manje nego kod mlađih odraslih (Perrini i sar., 2010). Prema drugim podacima, produkcija GH opada za 14% po deceniji života, te je u starosti od 60 i više godina 35% muškaraca GH deficijentno (Sattler, 2013). Kod osoba starih 70 i više godina nivoi GH značajno opadaju i približno su 1/3 onih u kasnijem pubertetu (Goldspink, 2004; Adamo i Farar, 2006).

Uzroci i mehanizmi odgovorni za nastanak **somatopauze ili kasnog hiposomatotropizma** nisu dovoljno istraženi i opisani u literaturi. Smatra se da u osnovi snižene sekrecije hormona rasta tokom starenja stoji višestruki neuroregulatorni kolaps, kao što je kombinacija deficijentne

sekrecije rilizing faktora (hormona) hormona rasta (GHRH) i/ili rilizing peptida hormona rasta (GHRP), tj. Grelina, sa ekcesivnom sekrecijom somatostatina (SST). To na kraju rezultira padom količine izlučenog GH po jednom sekretornom pulsus. Starenje ne utiče na frekvenciju pulsne sekrecije GH, bazalnu sekreciju GH, poluživot GH i kinetiku njegove eliminacije (Veldhuis i sar., 2008). Navedene promene sekrecije GH sa starenjem verovatno su delom posledica odgo-varajućih strukturalnih promena na nivou hipotalamusa (Perrini i sar., 2010), a delom posledica promena na somatotropima adenohipofize, koje su nedovoljno izučene (Shimokawa i sar., 1996). Nasuprot hipogonadizmu, negativna povratna sprega posredovana GH i/ili IGF-1 postaje snažnija sa godinama. Posledicu napred navedenog predstavlja *biohemijski* hiposomatotropizam sa eksponencijalnim padom koncentracija GH i IGF-1 počevši od ranog adultnog perioda, koji se *klinički* manifestuje osteopenijom, sarkopenijom, intraabdominalnom gojaznošću, inzulinskom rezistencijom, hiperlipidemijom, rizikom od ateroskleroze i lošijim kvalitetom života.

Slabiji efekat GH sa starenjem objašnjava se padom reaktivnosti tkiva na IGF-1, odnosno opadanjem sadržaja IGF-1 receptora u njima, naročito kod osoba sa prisutnim proinformatornim stanjem, tj. centralnom i visceralnom gojaznošću (Sherlock i Toogood, 2007; Perrini i sar., 2010).

Do danas je identifikovano nekoliko faktora koji mogu uticati na sekreciju GH i promene u funkcionisanju GH/IGF-1 osovine tokom starenja. Ustanovljeno je da pulzatilna sekrecija GH negativno korelira sa količinom *intramuskularnog masnog tkiva*, a bazalna sekrecija GH na sličan način korelira sa količinom *visceralnog masnog tkiva*. Takođe je dokazana negativna korelacija i između maksimalne amplitude GH talasa i *indeksa telesne mase (BMI)*. Navedeni pad amplitude GH talasa sa porastom BMI nije razjašnjen, ali je sugerisana mogućnost pojačanog tonusa SST. Najzad, visoki nivoi slobodnih masnih kiselina (FFA) dovode do remećenja GH intracelularne signalizacije, što ograničava anaboličke efekte GH (Sherlock i Toogood, 2007; Perrini i sar., 2010).

Dužina trajanja dubokog sna pozitivno korelira sa količinom izlučenog GH, mada nije jasno da li duboki san stimuliše sekreciju GH ili su oba procesa posledica njihovih zajedničkih nervnih puteva unutar hipotalamusa. U svakom slučaju, promene koje se javljaju u arhitekturi sna sa starenjem, uključujući poteškoće u iniciranju sna, pad dužine dubokog sna i ukupne dužine sna, smanjenje efikasnosti spavanja i povećanu fragmentaciju spavanja, mogu uticati na opadanje sekrecije GH koja se javlja sa godinama (Sherlock i Toogood, 2007). Postoje dokazi da su intenzitet i trajanje *fizičkog vežbanja* važni za očuvanje normalne sekrecije GH tokom starenja. Nažalost, prema dostupnim podacima intenzitet vežbanja opada sa godinama i oko 70% starijih osoba je fizički neaktivno (Sherlock i Toogood, 2007).

Saznanja o funkcionisanju hipotalamo-somatotropne osovine tokom starenja uslovia su terapijsku primenu GH i drugih hormona kod starih osoba, kao eliksira mladosti. Međutim, izostali su očekivani rezultati, a incidence neželjenih efekata i potencijalni rizici od maligniteta kod starih osoba naveli su endokrinologe na zaključak da ne postoje valjani razlozi za kliničku primenu GH u cilju suzbijanja starosnih promena (Sherlock i Toogood, 2007). Naravno, buduća istraživanja mehanizama odgovornih za deficit GH tokom starenja, treba da razreše dileme koje se odnose na opravdanost njegove primene u borbi protiv starenja, a za produženje života.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Na osnovu napred navedenih literaturnih podataka jasno je da funkcionalni poremećaji tokom starenja na nivou dveju anaboličkih osovina čoveka, gonadotropne i somatotropne, u ovoj fazi razvoja nauke i struke nemaju zadovoljavajuće definisan histomorfološki supstrat. Izuzetak čine samo relativno dobro izučene histomorfološke promene u testisu.

Biohemijski kasni hipogonadizam, predstavljen umerenim porastom serumskog LH i FSH, kao i biohemijski kasni hiposomatotropizam, sa eksponencijalnim padom koncentracija GF i/ili IGF-1 počevši od ranog adultnog perioda, nemaju za sada valjano opisan morfološki supstrat u adenohipofizi.

Naučna hipoteza. Sve napred navedeno nas je navelo da pretpostavimo da tokom procesa starenja u adenohipofizi dolazi do strukturnih promena, koje bi za posledicu mogle imati navedenu hormonsku disfunkciju. Pretpostavljene strukturne promene u adenohipofizi bi se mogle ogledati u porastu broja i veličine gonadotropnih i FS ćelija, zatim u opadanju broja i veličine somatotropnih ćelija sa godinama i međusobnim korelacijama svih napred navedenih promena.

S obzirom na činjenicu da hipogonadizam i hiposomatotropizam tokom starenja mogu nastati kao posledica strukturalnih promena na svim nivoima gonadotropne, odnosno somatotropne osovine i da su starosne histomorfološke promene, kada su u pitanju ova dva regulatorna sistema dobro izučene samo kod testisa, cilj našeg istraživanja bi bio:

- Da se primenom imunohistohemijske i morfometrijske metode (meranjem zapreminske gustine, aree, perimetra, Feretovog dijametra i izračunavanjem nukleocitoplazmatskog odnosa) detektuju i kvantifikuju promene humanih gonadotropnih ćelija adenohipofize, kao komponente gonadotropne osovine, kod slučajeva različite životne dobi,
- Da se primenom imunohistohemijske i morfometrijske metode (meranjem zapreminske gustine, aree, perimetra, Feretovog dijametra i izračunavanjem nukleocitoplazmatskog odnosa) detektuju i kvantifikuju promene humanih somatotropnih ćelija adenohipofize, kao komponente somatotropne osovine, kod slučajeva različite životne dobi,

- Da se primenom imunohistohemijske i morfometrijske metode (merenjem zapreminske gustine) detektuju i kvantifikuju promene folikulostelatih ćelija adenohipofize, kao struktura koje parakrinim putem mogu da utiču na funkciju i gonadotropnih i somatotropnih ćelija adenohipofize, kod slučajeva različite životne dobi,
- Ispitati moguću povezanost napred navedenih promena tokom starenja čoveka primenom univarijantnih i multivarijantnih metoda statističke analize.

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno u Institutu za anatomiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu, kao i Zavodu za sudsku medicinu u Nišu i Centru za patologiju Kliničkog centra u Nišu, koji predstavljaju nastavne baze ovog fakulteta. Imunohistohemijska obrada histoloških preseka adenohipofize obavljena je u Institutu za biološka istraživanja “Siniša Stanković” u Beogradu.

3.1. MATERIJAL

Materijal je predstavljalo tkivo hipofize 14 kadavera muškog pola starosti od 41 do 87 godina. Tkivni uzorci su, u skladu sa etičkim normama propisanim za upotrebu kadaveričnog materijala u biomedicinskim istraživanjima Etičkog Komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu (odluka br. 12-2307-2/8, od 10. 3. 2016. godine), dobijeni tokom rutinskih autopsija izvedenih u Zavodu za sudsku medicinu u Nišu, Srbija, sa postsmrtnim periodom ne dužim od 24 sata. Kadaveri korišćeni u ovoj studiji su za života bili bez prethodno dijagnostikovanog neurološkog, psihijatrijskog ili endokrinog poremećaja. Vidljiva oštećenja mozga ili hipofize nisu uočena tokom autopsija. Takođe, patohistološka procena mozga i hipofize isključila je prisustvo moguće sakrivene ili pogrešno dijagnostikovane bolesti. Kadaveri su, prema starosnoj dobi, klasifikovani u tri starosne grupe: prva (I) koja je uključivala slučajeve od 30 do 49 godina, druga (II) sa slučajevima starim od 50 do 69 godina i, treća (III) u koju su svrstavani slučajevi starosti 70 godina i stariji.

3.2. METODE

Metodologija sprovedenih istraživanja podrazumeva odgovarajući disekcioni postupak uzimanja hipofiza i sledstvenu histološku obradu istih.

3.2.1. DISEKCIONI POSTUPAK

Metodom disekcije najpre je uklanjana prečaga turskog sedla (*diaphragma sellae*). Nakon toga je presecana drška hipofize (*infundibulum*), a zatim pažljivom preparacijom hipofiza odvajana od okolnih koštanih struktura turskog sedla i uzimana u celini.

3.2.2. HISTOLOŠKA OBRADA

Histološka analiza, u smislu utvrđivanja eventualnih promena strukture gonadotropnih, somatotropnih i folikulostelatnih ćelija adenohipofize tokom procesa starenja, bazirana je na svetlosno- mikroskopskoj proceni njihovih svojstava.

Dobijene hipofize su fiksirane tokom 24 sata u 10% puferisanom formalinu i nakon toga horizontalno presećane na dorzalnu i ventralnu polovinu, koje su na kraju kalupljene u parafinu. Nakon toga, dobijeni parafinski kalupi hipofiza su pomoću mikrotoma Leica 2235 korišćeni za pravljenje tkivnih preseka dorzalne i ventralne polovine hipofize, debljine do 5 µm, koji su bojeni rutinski Hematoksilin-Eozin (H&E) metodom, a zatim imunohistohe- mijski obrađivani. Imunohistohe mijskom analizom je utvrđivano prisustvo ćelija sa pozi- tivnom reakcijom na primenjene imunohistohe mijske markere. Imunohistohe mijska obrada je obuhvatala bojenje tkivnih preseka pomoću: (i) monoklonskog pacovskog anti-LH antitela (donated by Dr Parlow-a, NIH, Bethesda, Md., USA; PAP kit; 1:100) za detekciju LH gona- dotropnih ćelija (Medigović i sar., 2012), (ii) monoklonskog humanog anti-GH antitela (Dako, Dakopatts, Denmark; PAP kit; 1:200) za vizualizaciju somatotropnih ćelija (Milošević i sar., 1998) i (iii) poliklonskog anti-S100 antitela (Dako, polyclonal rabbit anti-cow S-100, code no. Z0311; Streptavidin HRP, Novocastra Peroxidase Detection System, Novocastra, UK; 1:400), za detekciju folikulostelatnih ćelija. Obojeni histološki preseći su zatim histološki analizirani svetlosnim mikroskopom pod uvećanjem objektiva 4× i 40×.

3.2.2.1. Imunohistohe mijsko bojenje LH gonadotropnih i somatotropnih ćelija adenohipofize

Za imunohistohe mijsko bojenje LH gonadotropnih i GH ćelija korišćena je metoda peroksidaze antiperoksidaze (PAP; Sternberger i sar. 1970). Imunocitohe mijske metode, t.j. specifična reakcija između primarnog antitela i antigena omogućava diferencijalno bojenje ćelija koje nose specifični antigen u ovom slučaju hormon. Nakon deparafinizacije i rehi- dratacije tkivnih preseka prvo je blokirana aktivnost endogene peroksidaze inkubacijom preseka u 0.3% H₂O₂ u metanolu, tokom 15 minuta. Potom su preseći isprani u 0.01M fosfatnom puferu (Phosphate Buffer Saline PBS; pH 7.6; 2x5 min.), a redukcija nespecifičnog bojenja postignuta je inkubacijom preseka u normalnom serumu svinje (Normal swine serum, Dako Dakopatts, Denmark; razblaženje 1:10 u PBS) tokom 1 časa.

Za detekciju LH gonadotropnih ćelija korišćena su primarna anti-LH (1:100) anti- pacovska antitela (poklon Dr Parlow-a; NIH, Bethesda, Md., USA) rastvorena u PBS-u

(Medigović i sar., 2012). Za detekciju GH ćelija korišćena su primarna anti-GH (1:200; rastvoreno u PBS-u) anti-humana antitela (Dako, Dakopatts, Denmark) (Milošević i sar., 1998). Inkubacija je trajala 24 časa na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije u primarnom antitelu, preseći su isprani u PBS-u (2x5 minuta) i potom inkubirani 1 čas u sekundarnom konjugovanom antitelu (Policlonal swine anti rabbit IgG (HRP)), Dako Dakopatts, Denmark; razblaženja 1:200 u PBS). Posle ispiranja u PBS-u vizualizacija je omogućena primenom DAB-a (Dako). Kontrastiranje je obavljeno Mayer-ovim hematoksilinom (Merck-Alkaloid, Alkaloid, Skoplje BJR Makedonija), dehidracija rastućom serijom etanola, a montiranje DPX om.

3.2.2.2. Imunohistohemijsko bojenje folikulostelatnih ćelija adenohipofize

Tkivni preseći debljine 3 um montirani su na predmetna stakla, a zatim sušeni 1 sat na 60 stepeni u termostatu. Nakon toga vršena je njihova deparafinizacija i rehidracija sukcesivnim provođenjem kroz rastvor ksilola (2 × 5 minuta) i rastvora etanola sa opadajućim koncentracijama (100% – 2 × 2 minuta, 96% – 2 minuta i 70% – 2 minuta) sve do destilovane vode. U sledećoj fazi vršeno je demaskiranje antigena. Priprema za primenu antitela za S-100 protein (DAKO, Denmark) je podrazumevala proteolitičku digestiju proteinazom K 10 minuta na sobnoj temperaturi. U daljem postupku vršena je blokada endogene peroksidaze tako što su pripremljeni preseći ispirani destilovanom vodom, inkubirani u 3% rastvoru H₂O₂ 10 minuta na sobnoj temperaturi zatim je vršeno njihovo ispiranje u destilovanoj vodi 5 minuta i na kraju u 0,1M PBS-u (fosfatni pufer) na pH 7,2.

Inkubacija poliklonalnim antitelima na S-100 protein (Polyclonal rabbit anticow S-100, 1:400) vršena je 30 minuta na sobnoj temperaturi u vlažnoj komori. Potom je vršeno ispiranje preseka u PBS-u 3x3 minuta, zatim njihova inkubacija sa biofiniziranim anti-zečjim, kada je u pitanju S-100 protein, sekundarnim antitelom, 30 minuta na sobnoj temperature u vlažnoj komori (Novocastra Biotynulated Secondary Antibody Novocastra Peroxidase Detection System, Novocastra, UK) i na kraju je ponovljeno ispiranje u PBS-u 3x3 minuta. Nakon toga preseći su 30 minuta na sobnoj temperaturi u vlažnoj komori inkubirani sa streptovidinskim konjugatom na peroksidazu rena (Streptovidin HRP, Novocastra Peroxidase Detection System, Novocastra, UK), a zatim isprani u PBS-u 3x3 minuta.

Sledeća faza je obuhvatala inkubaciju preseka u rastvoru supstrat-hromogena (H₂O₂ i 3-amino-9-etil-karbazol u N, N-dimetilformamidu; AEC+ supstrat-hromogen ili 3, 3-diaminobenzidin-DAB), 3-5 minuta na sobnoj temperaturi. Ispiranje tako obrađenih preseka je vršeno tekućom vodom, a kontrastno bojenje Mayer-ovim hematoksilinom trajalo je jedan

minut, nakon čega su preseći dodatno ispirani tekućom vodom. Njihova dalja dehidracija vršena je etanolom rastućih koncentracija (70%, 96% i 100%), nakon čega su potapani u ksilol i pokriveni odgovarajućom sintetskom smolom (dpx) i pokrovnim staklom. Ukoliko je kao hromogen korišćen AEC+, obojeni preseći su bez dehidracije tkiva prepokriveni vodenim medijumom i pokrovnim staklom. Pozitivna reakcija i prisustvo ispitivanih antigena su se manifestovali kao braon ili crveno obojeni precipitati hromagena (u zavisnosti od vrste hromogen supstrata) na mestima njihovog prisustva, za razliku od okolnog tkiva koje je bilo sa negativnom reakcijom i plavo prebojeno. Kao pozitivna kontrola u toku imunohistohe-mijskog bojenja korišćeni su uzorci tkiva za koje je prethodno potvrđeno da sadrže ispitivane antigene koje je moguće vizuelizovati metodom pripremljenom tokom sprovedenog istra-živanja. Negativnu kontrolu predstavljali su tkivni uzorci na koje je umesto primarnih antitela aplikovan neimuni serum.

3.2.3. MORFOMETRIJSKA ANALIZA

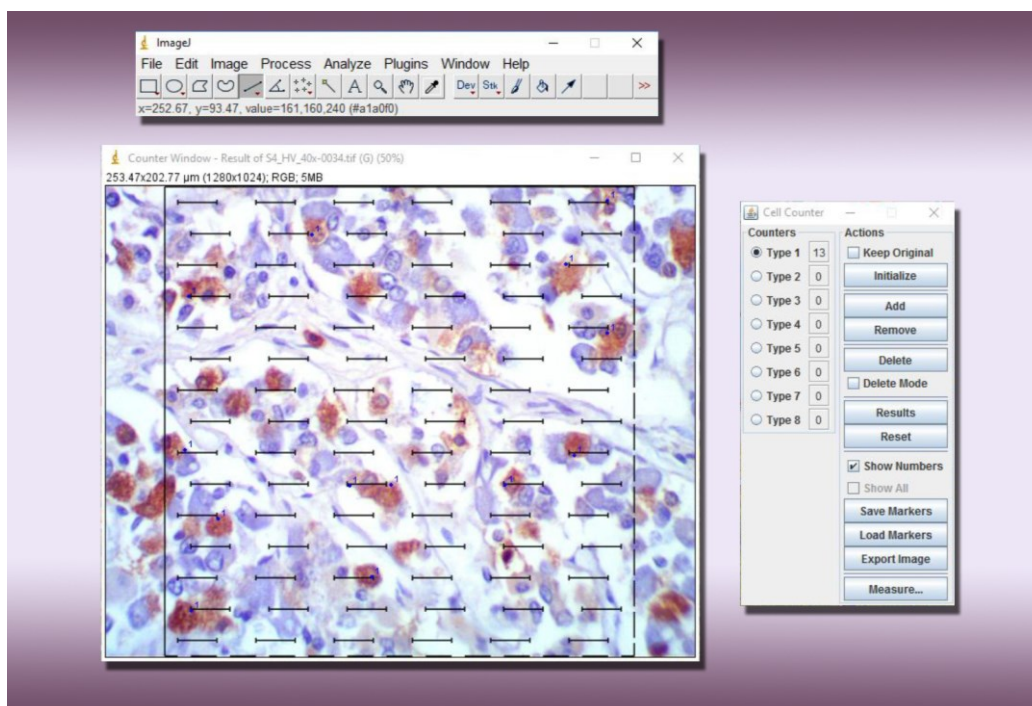
Morfometrijska analiza izvedena je pomoću digitalne slike snimljene digitalnom kamerom (1.3 megapiksela). Po trideset vidnih polja adenohipofize odabrano je iz dorzalne i ventralne polovine, ukupno 60 vidnih polja za svaki analizirani slučaj. Dobijeno je po 10 vidnih polja iz oba lateralna krila adenohipofize i 10 iz središnjeg dela kako dorzalne, tako i ventralne polovine svih analiziranih slučajeva (ili ukupno 20 vidnih polja iz svakog lateralnog krila adenohipofize i 20 iz središnjeg dela svakog analiziranog slučaja). Analiza slike izvršena je pomoću ImageJ sistema (<https://imagej.nih.gov/ij/>).

3.2.3.1. Astereološka analiza

U slučaju somatotropnih i gonadotropnih LH ćelija, astereološka analiza uključila je merenje njihove aree (AGH i ALH), perimetra (BGH i BLH) i Feret-ovog dijametra (Df_{GH} i Df_{LH}). Dodatno, svakoj od selektovanih somatotropnih i gonadotropnih LH ćelija merena je i area ($ANGH$ i $ANLH$), perimetar ($BNGH$ i $BNLH$) i Feret-ov dijametar (Df_{NGH} i Df_{NLH}) jedra. Nukleo-citoplazmatski odnos, kao parameter metaboličke aktivnosti i funkcionalnog statusa somatotropnih i gonadotropnih LH ćelija ($(N/C)_{GH}$ i $(N/C)_{LH}$), izračunavan je kao količnik aree jedra i aree citoplazme, pri čemu je area citoplazme dobijana kao razlika aree navedenih ćelija i aree njihovih jedara. Izvršeno je merenje 60 somatotropnih, kao i gonadotropnih LH ćelija, u dorzalnoj i ventralnoj polovini adenohipofize kod svih analiziranih slučajeva (ukupno 120 ćelija po slučaju).

3.2.3.2. Stereološka analiza

Stereološka analiza vršena je pomoću višenamenskog testnog sistema M168 ($d=17.88$ μm , $a=15.49$ μm^2 , $A_T=2601.54$ μm^2 , $L_T=1501.92$ μm), koji je postavljan preko analizirane digitalne slike histoloških preseka (sl. 6). Volumenska gustina somatotropnih (V_{VGH}), gonadotropnih LH ćelija (V_{VLH}) i folikulostelatnih ćelija (V_{VFSC}) je dobijena kao količnik broja tačaka testnog sistema koje su pogađale imunopozitivne ćelije (P_F) i ukupnog broja tačaka ovog sistema ($P_T=168$) (Russ i Dehoff, 2000), za svako analizirano polje dorzalne i ventralne polovine hipofize.



Slika 6. Određivanje volumenske gustine gonadotropnih LH ćelija adenohipofize.

Vrednosti aree, perimetra i Feret-ovog dijametra, zatim jedarne aree, perimetra i Feret-ovog dijametra, nukleo-citoplazmatskog odnosa i volumenske gustine somatotropnih i LH ćelija i volumenska gustina folikulostelatnih ćelija za svaki analizirani slučaj, dobijeni su kao prosek vrednosti svih izmerenih vidnih polja, respektivno.

3.2.4. STATISTIČKA ANALIZA

Statistička analiza je izvedena pomoću SPSS statističkog paketa (verzija 16). Korelacija između starosti i izmerenih morfometrijskih parametara, kao i između morfometrijskih parametara različitih tipova ćelija međusobno, ispitivana je izračunavanjem linearne korelacione i linearne regresione analize.

Preciznija dinamika vrednosti morfometrijskih parametara dobijenih starosnih grupa analizirana je pomoću One Way ANOVA i Tukey Kramer post hoc testa.

Za ispitivanje statističke značajnosti razlika između dva zavisna uzorka korišćen je T test.

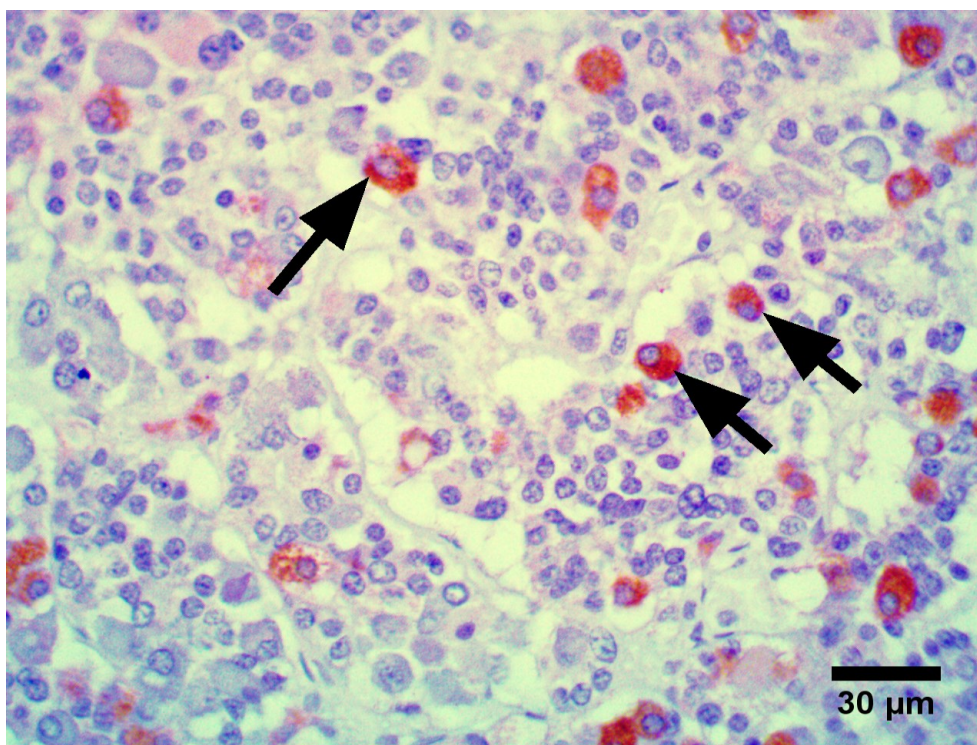
4. REZULTATI

4.1. HISTOLOŠKA ANALIZA

Histološka analiza gonadotropnih LH ćelija, somatotropnih ćelija i folikulostelatnih ćelija adenohipofize u toku procesa starenja obuhvatila je analizu preseka tkiva ove žlezde bojenih imunohistohemijskom metodom.

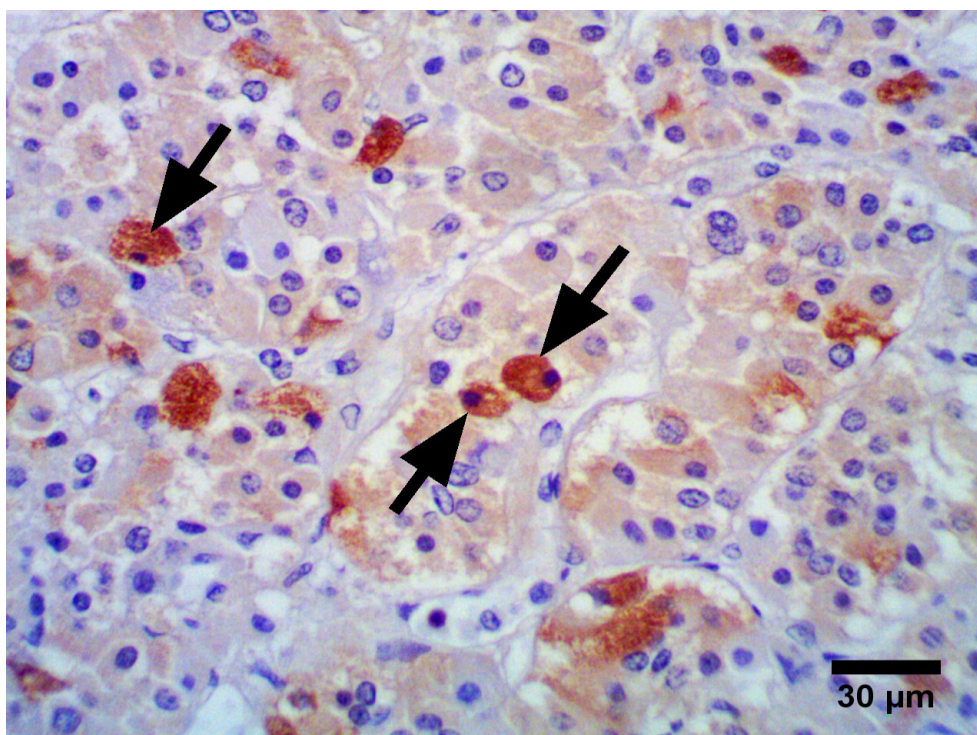
4.1.1. HISTOLOŠKA ANALIZA GONADOTROPNIH LH ĆELIJA

Slika 7 predstavlja gonadotropne LH ćelije adenohipofize slučaja starog 41 godinu. Kod mlađih slučajeva, gonadotropne ćelije su bile rasute po bočnim krilima adenohipofize, dok su u mukoidnom, klinastom delu žlezde ove ćelije bile lokalizovane unutar acinusnih formacija čiji je broj varirao u različitim slučajevima. Gonadotropne ćelije kod takvih slučajeva su bile ovalnog ili poligonalnog oblika i centralno ili češće ekscentrično postavljenog imunonegativno plavo prebojenog euhromatskog jedra. Njihova citoplazma je bila imunopozitivna, braon prebojena sa naglašenim zrnastim izgledom usled prisustva brojnih sekretornih granula.



Slika 7. Tkivni presek muškarca starog 41 godinu; imunopozitivne LH ćelije sa ekscentričnim ili centralno lociranim euhromatskim jedrom (označene strelicama); anti-LH antitelo; PAP, $\times 40$.

Slika 8 predstavlja gonadotropne ćelije *pars distalis-a* adenohipofize slučaja starog 87 godina. Osim intersticijalne fibroze različitog stepena i posledičnog smanjenja prisustva krvnih sudova, distribucija i prisustvo LH ćelija nisu se značajno razlikovali u odnosu na mlađe slučajeve. Gonadotropne ćelije su bile veće, češće ovalnog oblika i sa ekscentrično postavljenim, manjim, hiperhromatskim, imunonegativnim jedrima u odnosu na mlađe slučajeve. Imunopozitivna reakcija je bila slična kao kod istih gonadotropa mlađih slučajeva.

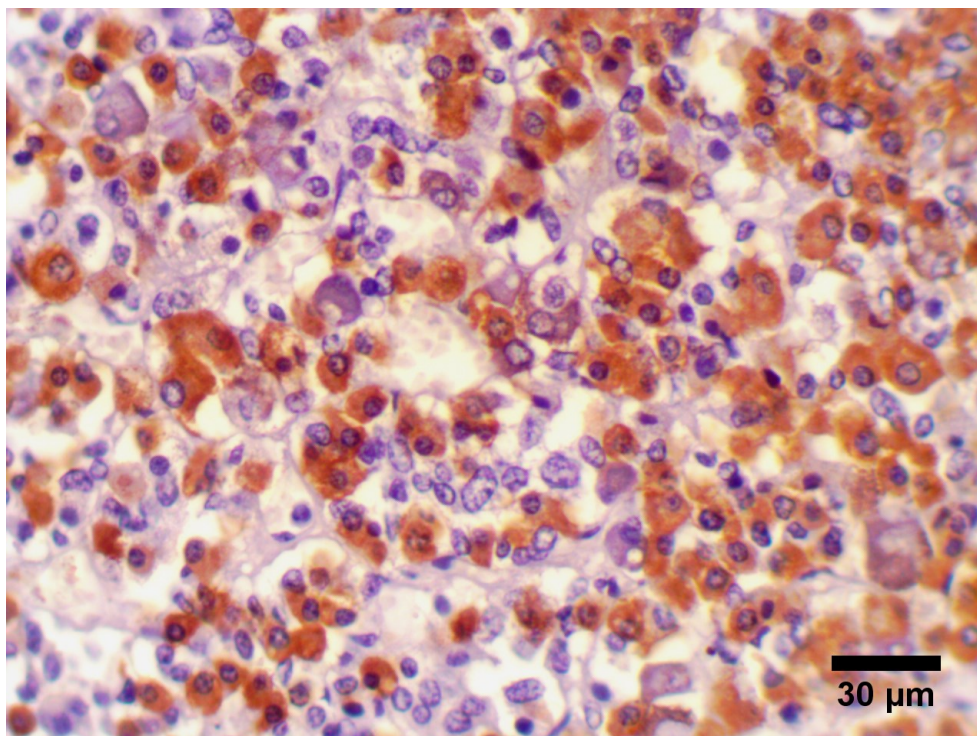


Slika 8. Tkivni presek muškarca starog 87 godina; imunopozitivne LH ćelije adenohipofize; krupne imunopozitivne LH ćelije sa malim ekscentrično lociranim hiperhromatskim jedrom (označene strelicama); anti-LH antitelo; PAP, $\times 40$.

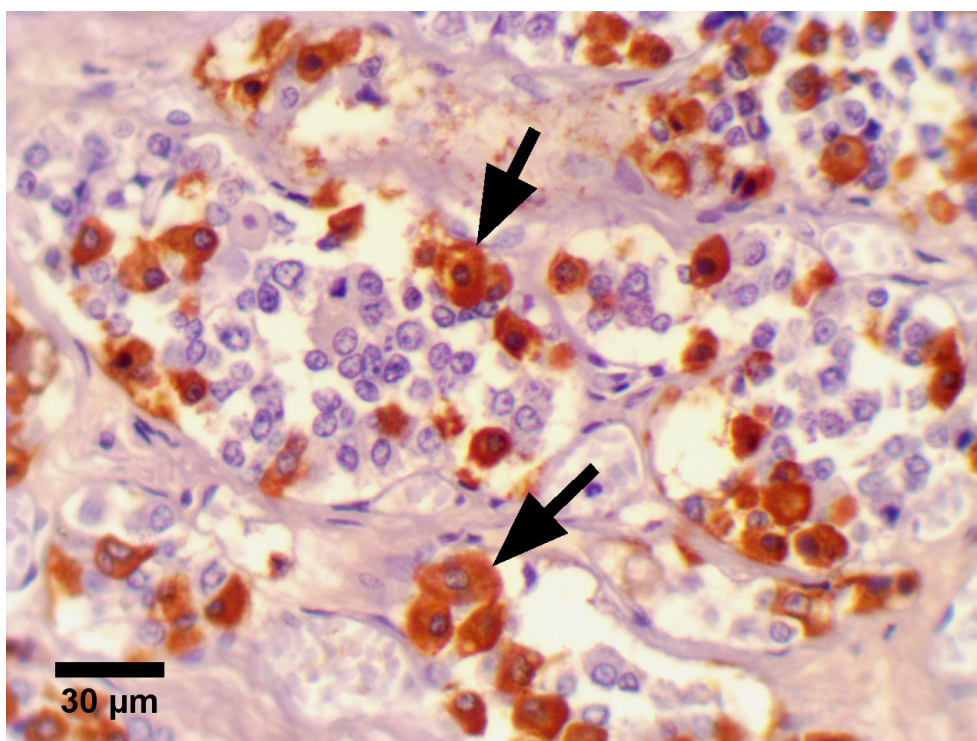
4.1.2. HISTOLOŠKA ANALIZA SOMATOTROPNIH ĆELIJA

Somatotropne ćelije kod mlađih slučajeva su retke i razbacane u *pars intermedia*, dok je njihovo prisustvo značajno veće u lateralnim krilima adenohipofize. One su se odlikovale pretežno poligonalnim oblikom i ekscentrično postavljenim euhromatskim jedrom sa, kod nekih ćelija, prominentnim jedarcima. Uočena je pozitivna imunohistohemijska reakcija u citoplazmi somatotropa, dok je u njihovim jedrima ona bila imunonegativna (Sl. 9).

Somatotropne ćelije kod starijih slučajeva su pokazale neznatno jaču imunopozitivnu reakciju u *pars intermedia* adenohipofize. Nasuprot gore opisanom, prisutan je značajan pad broja somatotropa, kako u *pars intermedia*, tako i u lateralnim krilima adenohipofize kod ovih



Slika 9. Tkivni presek adenohipofize mlađeg muškarca; somatotropne ćelije, pretežno poligonalnog oblika sa ekscentrično postavljenim euhromatskim jedrom; pozitivna imunohistohemijska reakcija u citoplazmi somatotropa, dok je u njihovim jedrima ona bila imunonegativna; anti-GH antitelo; PAP, $\times 40$.

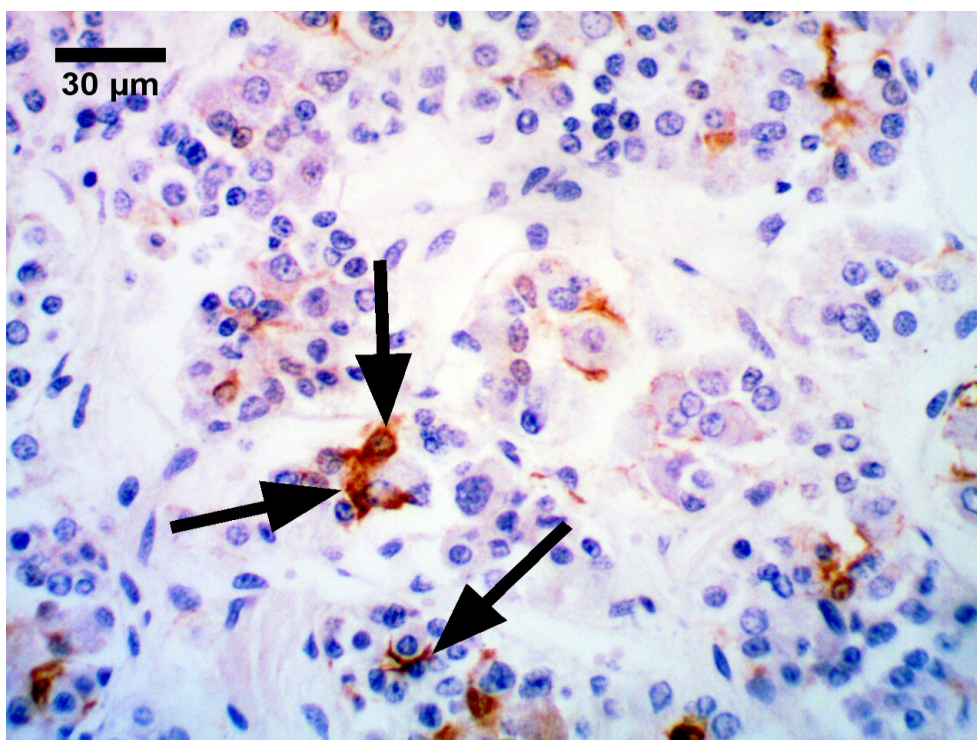


Slika 10. Tkivni presek adenohipofize starijeg muškarca; somatotropne krupne ćelije imunopozitivne citoplazme (označene strelicama) sa ekscentrično postavljenim hiperhromatskim imunonegativnim jedrom i mestimičnim prisustvom providnih citoplazmatskih vakuola; anti-GH antitelo; PAP, $\times 40$.

slučajeva. Somatotropne ćelije su bile veće sa ekscentrično postavljenim hiperhromatskim imunonegativnim jedrom i mestimičnim prisustvom providnih citoplazmatskih vakuola (Sl. 10). Imunopozitivna reakcija citoplazme je bila neznatno jača nego kod mlađih slučajeva, posebno kod somatotropnih ćelija u mukoidnom, klinastom delu žlezde.

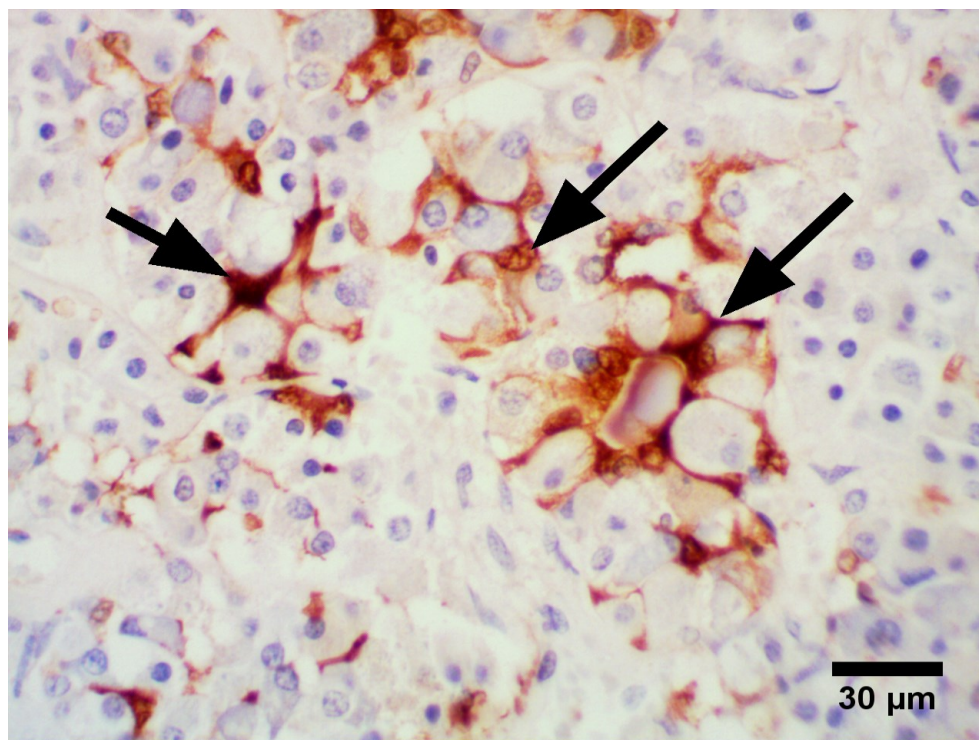
4.1.3. HISTOLOŠKA ANALIZA FOLIKULOSTELATNIH ĆELIJA

U adenohipofizi mlađih slučajeva folikulostelatne ćelije su se odlikovale zvezdolikim izgledom, sa imunopozitivnim ćelijskim telom i tankim nastavcima koji se pružaju između endokrinih ćelija. One su bile retke i nepravilno raspoređene u lateralnim krilima, kao i u mukoidnom, klinastom delu žlezde (Sl. 11). U mukoidnom, klinastom delu žlezde, tela folikulostelatnih ćelija ili njihovi nastavci su uočeni unutar zidova folikularnih formacija, između endokrinih ćelija.



Slika 11. Tkivni presek 45 godina starog muškarca; S100 imunopozitivne FS ćelije sa imunopozitivnim jedrom u telu ćelije i tankim nastavcima koji se pružaju od tela ćelije između imunonegativnih endokrinih ćelija (označene strelicama); anti-S100 antitelo; Novocastra Peroxidase Detection System, $\times 40$).

Ipak, kod starijih slučajeva prisutno je značajno povećanje broja FS ćelija i u intermedijarnom delu i u lateralnim krilima adenohipofize (Sl. 12). Iako nepravilan oblik njihovog tela otežava procenu veličine ćelija, može se generalno zaključiti da njihova tela postaju veća u podmaklim godinama.



Slika 12. Tkivni presek 87 godina starog muškarca; krupne i brojne S100 imunopozitivne FS ćelije (označene strelicama); anti-S100 antitelo; Novocastra Peroxidase Detection System, $\times 40$.

4.2. MORFOMETRIJSKA ANALIZA

4.2.1. MORFOMETRIJSKA ANALIZA LH IMUNOREAKTIVNIH

ĆELIJA ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Rezultati morfometrijske analize LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva

Slučaj	Starost	Grupa	A_{LH} (μm^2)	B_{LH} (μm)	D_{FLH} (μm)	A_{NLH} (μm^2)	B_{NLH} (μm)	D_{FNLH} (μm)	$(N/C)_{LH}$	V_{VLH} (%)	V_H (cm^3)
1	22	I	128.58	41.84	15.01	22.18	17.25	6.15	0.21	3.05	0.7
2	41	I	120.82	40.40	14.54	28.09	19.26	6.77	0.30	3.04	0.5
3	45	I	124.03	41.78	15.18	24.31	18.03	6.32	0.24	4.03	0.4
4	48	I	115.74	39.41	14.03	22.48	17.35	6.22	0.24	3.57	0.7
5	48	I	123.45	41.54	14.97	24.47	18.03	6.55	0.25	3.68	0.7
6	57	II	129.22	42.22	15.31	22.58	17.48	6.29	0.21	4.73	0.25
7	61	II	134.94	42.67	15.28	26.93	18.94	6.68	0.25	8.39	0.3
8	65	II	151.48	45.85	16.59	27.80	19.36	6.98	0.23	4.99	0.4
9	65	II	140.77	43.71	15.83	22.87	17.54	6.26	0.19	2.71	0.4
10	66	II	153.08	45.42	16.38	29.43	19.87	7.15	0.24	9.24	0.5
11	76	III	184.42	51.13	18.64	27.90	19.45	7.00	0.18	6.48	0.8
12	76	III	160.11	48.35	17.80	19.99	16.32	5.94	0.14	3.15	0.4
13	77	III	169.88	48.80	17.85	27.37	19.50	7.28	0.19	5.42	0.6
14	78	III	174.97	50.89	18.95	25.52	18.49	6.62	0.17	3.07	0.4
15	87	III	194.00	52.46	19.03	28.32	19.55	7.03	0.17	5.19	0.4

Iz dalje morfometrijske analize je isključen slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starosti i astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar), kao i nukleocitoplazmatskog odnosa LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva (Tabela 2).

Tabela 2. Korelaciona matrica starosti i vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva

Parametar		A_{LH}	B_{LH}	D_{FLH}	A_{NLH}	B_{NLH}	D_{FNLH}	$(N/C)_{LH}$	V_{VLH}
Starost	R	0.95	0.95	0.94	0.2	0.24	0.37	-0.86	0.22
	p	<0.001	<0.001	<0.001	0.5	0.4	0.2	<0.001	0.45
	N	14	14	14	14	14	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) gonadotropnih ćelija adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva (Tabela 3). Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12) = 112.36, p < 0.001$), perimetra ($F(1,12) = 102.48, p < 0.001$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,12) = 85.59, p < 0.001$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{LH} = 40.91 + \text{Starost} \times 1.69$, $B_{LH} = 27.13 + \text{Starost} \times 0.29$ i $D_{FLH} = 9.33 + \text{Starost} \times 0.11$. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar gonadotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja, pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 90% ukupne varijanse aree ($R^2=0,90$) (Grafikon 1), 90% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,90$) i 87% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2=0,87$) (Grafikon 2) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

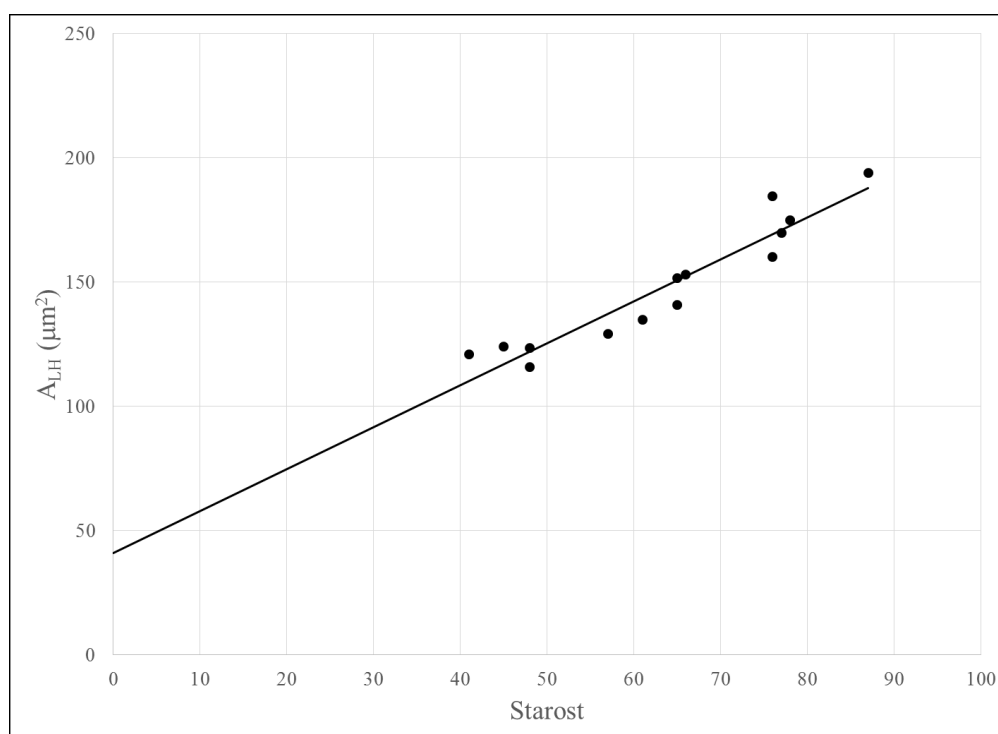
Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara gonadotropnih ćelija adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p > 0,05$).

Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleocitoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija adenohipofize ($F(1,12) = 32.29, p < 0.001$) (Tabela 3). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{LH} = 0.376 - \text{Starost} \times 0.0025$, što znači da vrednosti nukleocitoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 3). Starost objašnjava 86% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,86$), što predstavlja veliki efekat veličine.

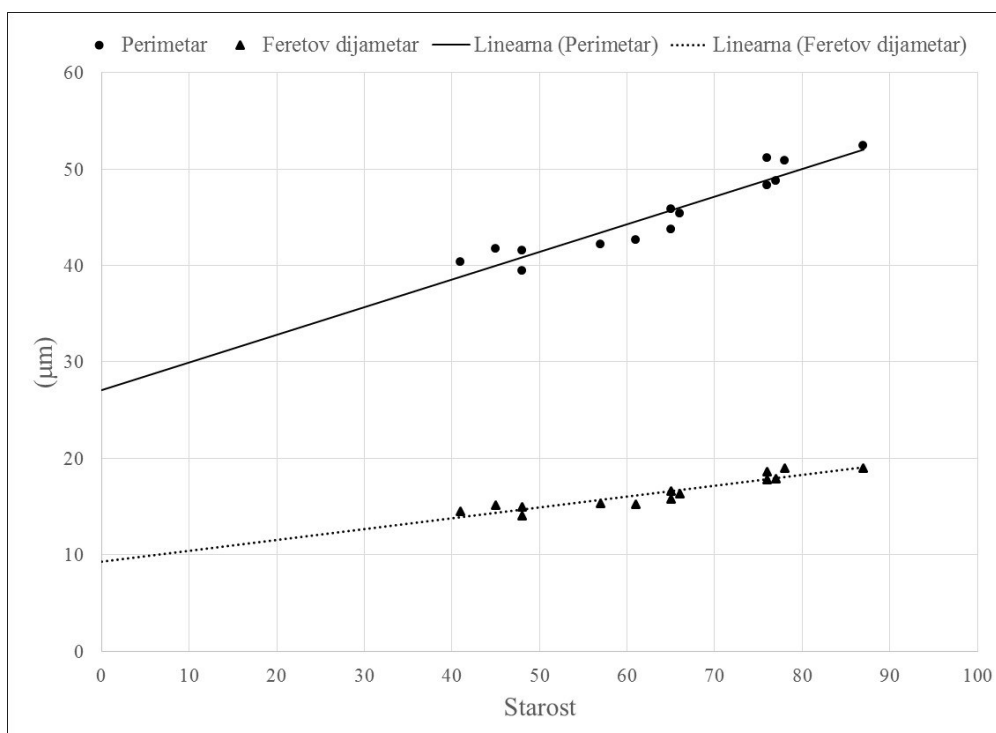
Starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada je u pitanju zapreminska gustina gonadotropnih ćelija adenohipofize kod istih slučajeva ($p > 0,05$).

Tabela 3. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

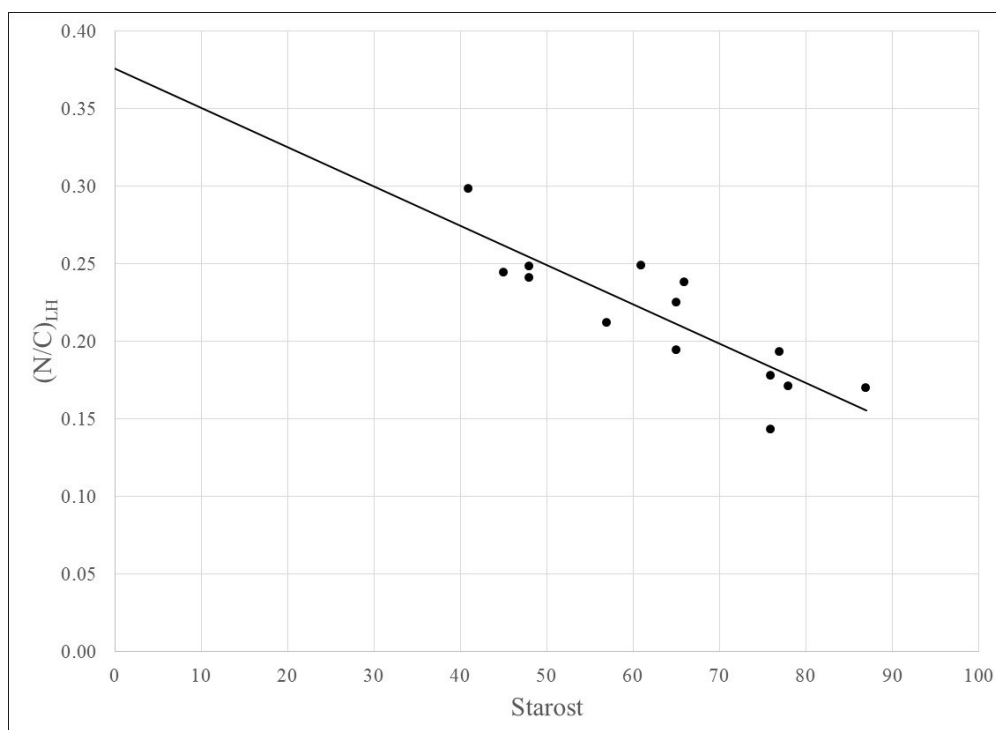
A_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	40.91	10.37		3.94	0.002
Starost	1.69	0.16	0.95	10.6	<0.001
$R^2 = 0.90$; $F(1,12) = 112.36$, $p < 0.001$; Model: $A_{LH} = 40.91 + \text{Starost} \times 1.69$					
B_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	27.13	1.84		14.74	<0.001
Starost	0.29	0.03	0.95	10.12	<0.001
$R^2 = 0.90$; $F(1,12) = 102.48$, $p < 0.001$; Model: $B_{LH} = 27.13 + \text{Starost} \times 0.29$					
D_{FLH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	9.33	0.79		11.85	<0.001
Starost	0.11	0.01	0.94	9.25	<0.001
$R^2 = 0.87$; $F(1,12) = 85.59$, $p < 0.001$; Model: $(N/C)_{LH} = 9.33 + \text{Starost} \times 0.11$					
$(N/C)_{LH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.376	0.028		13.51	<0.001
Starost	-0.0025	0.0004	-0.864	-5.94	<0.001
$R^2 = 0.86$; $F(1,12) = 32.29$, $p < 0.001$; Model: $(N/C)_{LH} = 0.376 - \text{Starost} \times 0.0025$					



Grafikon 1. Korelacija između starosti i aree LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.



Grafikon 2. Korelacija između starosti i, perimetra, odnosno Feretovog dijametra LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva



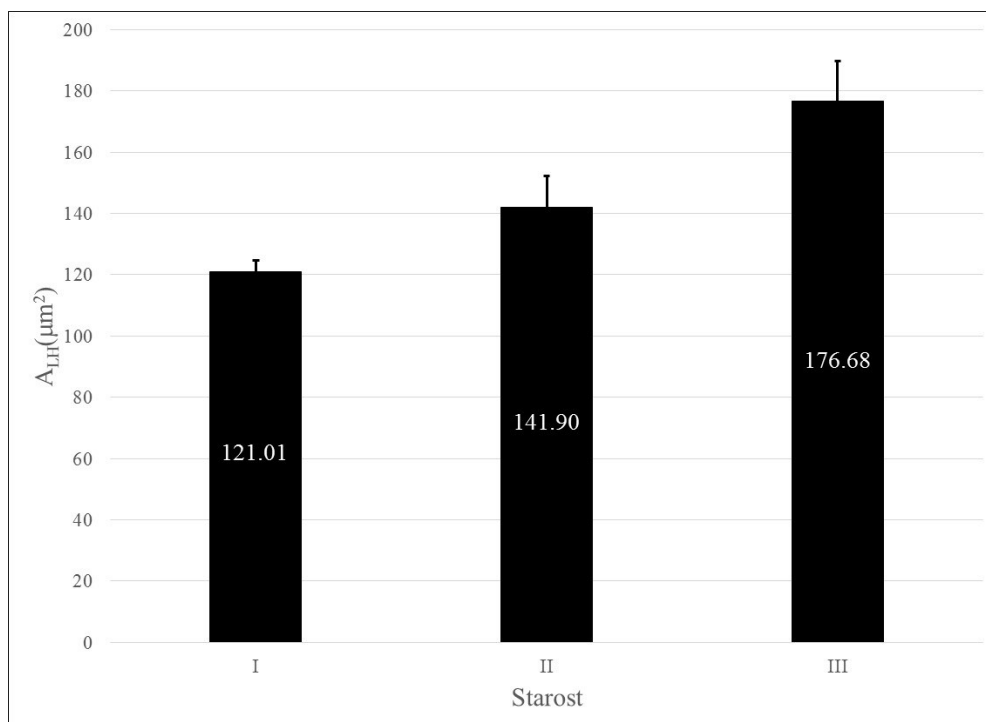
Grafikon 3. Korelacija između starosti i nukleocitoplazmatskog odnosa LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara gonadotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 4).

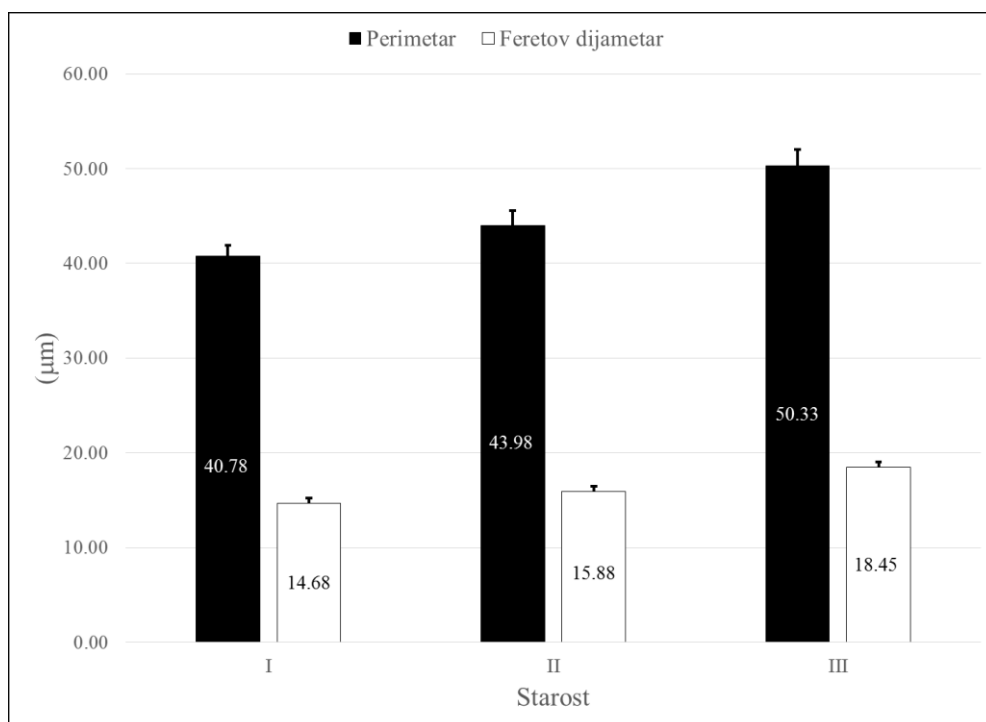
Tabela 4. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
A_{LH} (μm^2)	I	4	121.01	3.78	1.89	115.00	127.03	a,b
	II	5	141.90	10.34	4.62	129.06	154.73	a,c
	III	5	176.68	13.07	5.85	160.45	192.91	b,c
ANOVA				F(2,11) = 34.37, p < 0.001				
B_{LH} (μm)	I	4	40.78	1.10	0.55	39.04	42.53	a,b
	II	5	43.98	1.62	0.72	41.97	45.98	a,c
	III	5	50.33	1.71	0.77	48.20	52.45	b,c
ANOVA				F(2,11) = 46.15, p < 0.001				
D_{FLH} (μm)	I	4	14.68	0.51	0.25	13.87	15.49	a,b
	II	5	15.88	0.60	0.27	15.13	16.63	a,c
	III	5	18.45	0.60	0.27	17.71	19.19	b,c
ANOVA				F(2,11) = 51.65, p < 0.001				
A_{NLH} (μm^2)	I	4	24.84	2.35	1.18	21.10	28.58	/
	II	5	25.92	3.05	1.37	22.13	29.71	/
	III	5	25.82	3.43	1.53	21.56	30.08	/
ANOVA				F(2,11) = 0.17, p = 0.85				
B_{NLH} (μm)	I	4	18.17	0.80	0.40	16.90	19.44	/
	II	5	18.64	1.08	0.48	17.29	19.98	/
	III	5	18.66	1.38	0.62	16.95	20.38	/
ANOVA				F(2,11) = 0.26, p = 0.78				
D_{FNLH} (μm)	I	4	6.47	0.25	0.12	6.08	6.86	/
	II	5	6.67	0.40	0.18	6.18	7.17	/
	III	5	6.77	0.52	0.23	6.12	7.42	/
ANOVA				F(2,11) = 0.62, p = 0.56				
$(N/C)_{LH}$	I	4	0.26	0.03	0.01	0.22	0.30	b
	II	5	0.22	0.02	0.01	0.20	0.25	c
	III	5	0.17	0.02	0.01	0.15	0.19	b,c
ANOVA				F(2,11) = 17.78, p < 0.001				
V_{VLH} (%)	I	4	3.58	0.41	0.21	2.93	4.23	/
	II	5	6.01	2.72	1.22	2.63	9.39	/
	III	5	4.66	1.50	0.67	2.80	6.52	/
ANOVA				F(2,11) = 1.88, p = 0.20				
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna area (F(2,11) = 34.37, p < 0.001), zatim prosečan perimenter (F(2,11) = 46.15, p < 0.001) i prosečan Feret-ov dijametar (F(2,11) = 51.65, p < 0.001) gonadotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikoni 4 i 5).



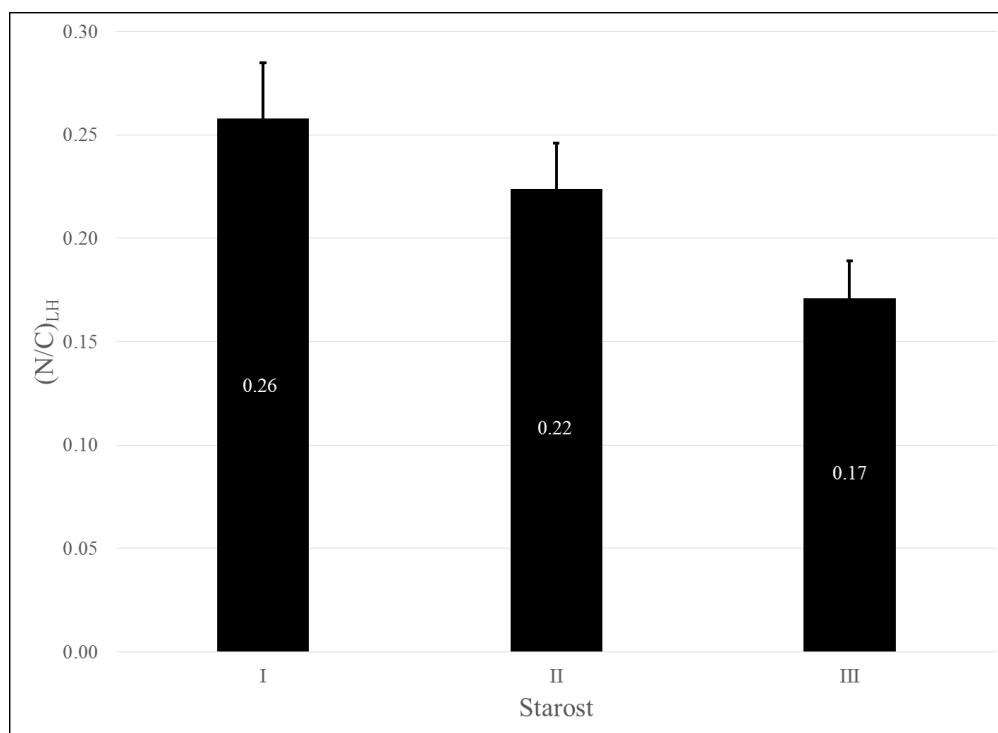
Grafikon 4. Prosečna area LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa



Grafikon 5. Prosečan perimetar i prosečan Feretov dijametar LH imunoreaktivnih 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 takođe statistički značajno više u odnosu na I starosnu grupu ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Prosečan nukleocitoplazmatski odnos gonadotropnih ćelija adenohipofize se statistički značajno razlikuje između I i III i između II i III analizirane starosne grupe, dok razlika između I i II nije statistički značajna ($F(2,11) = 17.78$, $p < 0.001$). Pri tome, nukleocitoplazmatski odnos opada od I ka III starosnoj grupi, ali je taj pad značajan u III starosnoj grupi, što sugerise opadanje funkcije gonadotropnih ćelija tokom procesa starenja, najintenzivnije nakon 70. godine života (Tabela 4, Grafikon 6).



Grafikon 6. Prosečan nukleocitoplazmatski odnos LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

4.2.2. MORFOMETRIJSKA ANALIZA LH IMUNOREAKTIVNIH ČELIJA VENTRALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize dati su u tabeli 5.

Tabela 5. Rezultati morfometrijske analize LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Slučaj	Starost	Grupa	A_{LH} (μm^2)	B_{LH} (μm)	D_{FLH} (μm)	A_{NLH} (μm^2)	B_{NLH} (μm)	D_{FNLH} (μm)	$(N/C)_{LH}$	V_{VLH} (%)	V_H (cm^3)
1	22	I	123.26	41.16	14.94	20.35	16.62	5.97	0.20	2.90	0.7
2	41	I	107.60	38.57	13.84	22.16	17.56	6.29	0.26	3.12	0.5
3	45	I	136.72	43.83	15.63	24.37	17.99	6.32	0.22	3.31	0.4
4	48	I	109.52	38.92	13.83	20.60	16.82	6.09	0.23	3.45	0.7
5	48	I	142.16	44.87	16.18	28.55	19.67	7.17	0.25	3.61	0.7
6	57	II	131.29	42.64	15.50	23.54	17.89	6.45	0.22	4.13	0.25
7	61	II	121.01	40.54	14.57	24.18	17.92	6.28	0.25	8.04	0.3
8	65	II	147.83	45.66	16.37	27.37	19.28	6.96	0.23	4.35	0.4
9	65	II	138.10	43.29	15.50	20.58	16.68	5.94	0.18	3.00	0.4
10	66	II	156.08	45.90	16.55	30.12	20.10	7.23	0.24	8.23	0.5
11	76	III	165.11	50.00	18.51	26.25	19.12	6.93	0.19	7.70	0.8
12	76	III	123.46	42.41	15.82	19.97	16.73	6.21	0.19	2.54	0.4
13	77	III	161.76	48.14	17.76	27.55	19.64	7.26	0.21	5.54	0.6
14	78	III	129.99	43.13	15.65	23.46	17.82	6.42	0.22	1.92	0.4
15	87	III	168.33	49.03	17.73	21.55	17.41	6.32	0.15	4.82	0.4

Iz dalje morfometrijske analize izuzet je slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starosti i astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar), kao i nukleocitoplazmatskog odnosa LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva (Tabela 6).

Tabela 6. Korelaciona matrica starosti i vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Parametar		A_{LH}	B_{LH}	D_{FLH}	A_{NLH}	B_{NLH}	D_{FNLH}	$(N/C)_{LH}$	V_{VLH}
	R	0.92	0.92	0.92	0.20	0.27	0.35	-0.86	0.25
Starost	p	<0.001	<0.001	<0.001	0.49	0.36	0.22	<0.001	0.38
	N	14	14	14	14	14	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) gonadotropnih LH ćelija ventralne polovine adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva (Tabela 7).

Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12) = 68.59, p < 0.001$), perimetra ($F(1,12) = 63.37, p < 0.001$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,12) = 62.67, p < 0.001$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{LH} = 28.83 + \text{Starost} \times 1.79$, $B_{LH} = 24.03 + \text{Starost} \times 0.32$ i $D_{FLH} = 8.04 + \text{Starost} \times 0.13$. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar gonadotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja, pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 85% ukupne varijanse aree ($R^2 = 0,85$) (Grafikon 7), 84% ukupne varijanse perimetra ($R^2 = 0,84$) i 84% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2 = 0,84$) (Grafikon 8) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

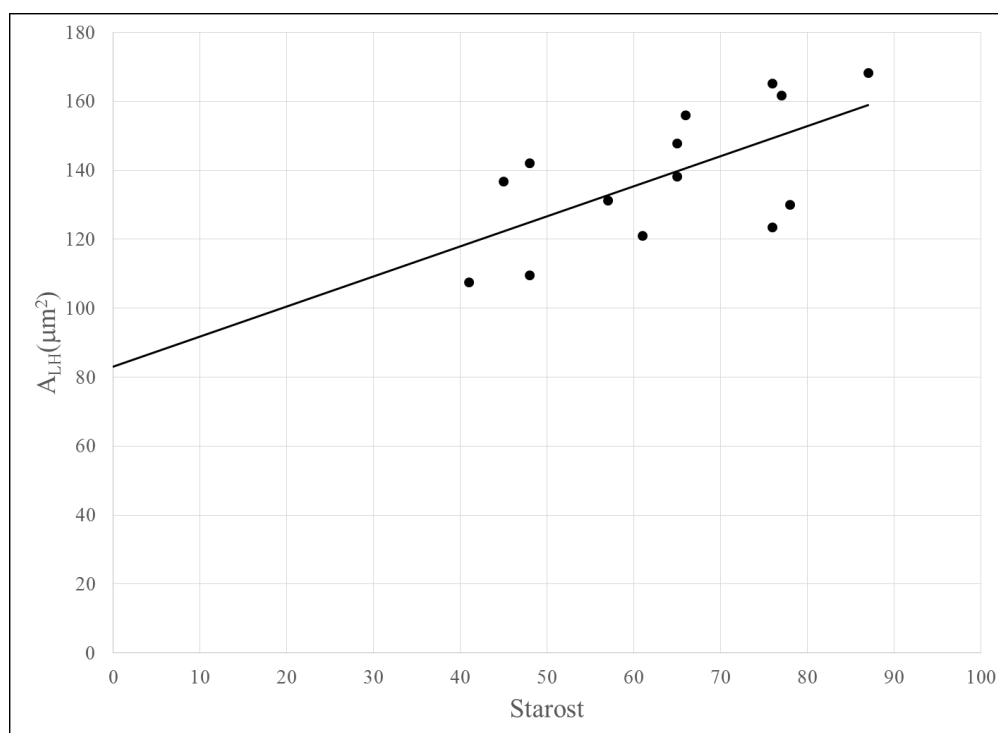
Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara gonadotropnih LH ćelija ventralne polovine adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p > 0,05$).

Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleocitoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija ventralne polovine adenohipofize ($F(1,12) = 32.53, p < 0.001$) (Tabela 7). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{LH} = 0.384 - \text{Starost} \times 0.003$, što znači da njegove vrednosti nukleocitoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 9). Starost objašnjava 73% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,73$), što predstavlja veliki efekat veličine.

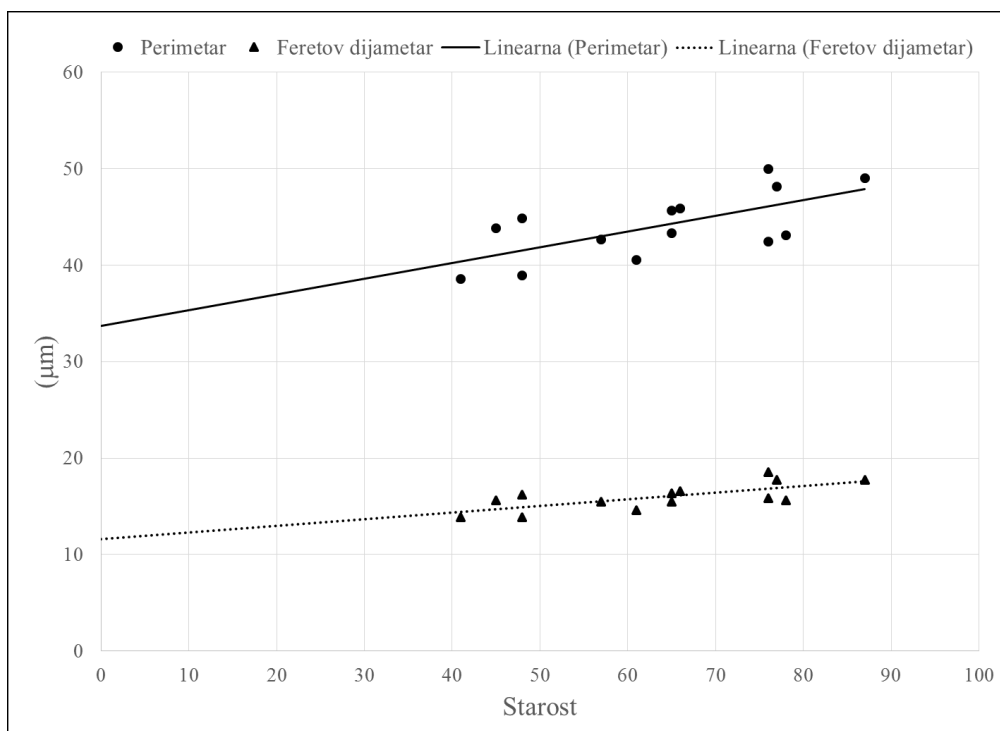
Starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada je u pitanju zapreminska gustina gonadotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize kod istih slučajeva ($p > 0,05$).

Tabela 7. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

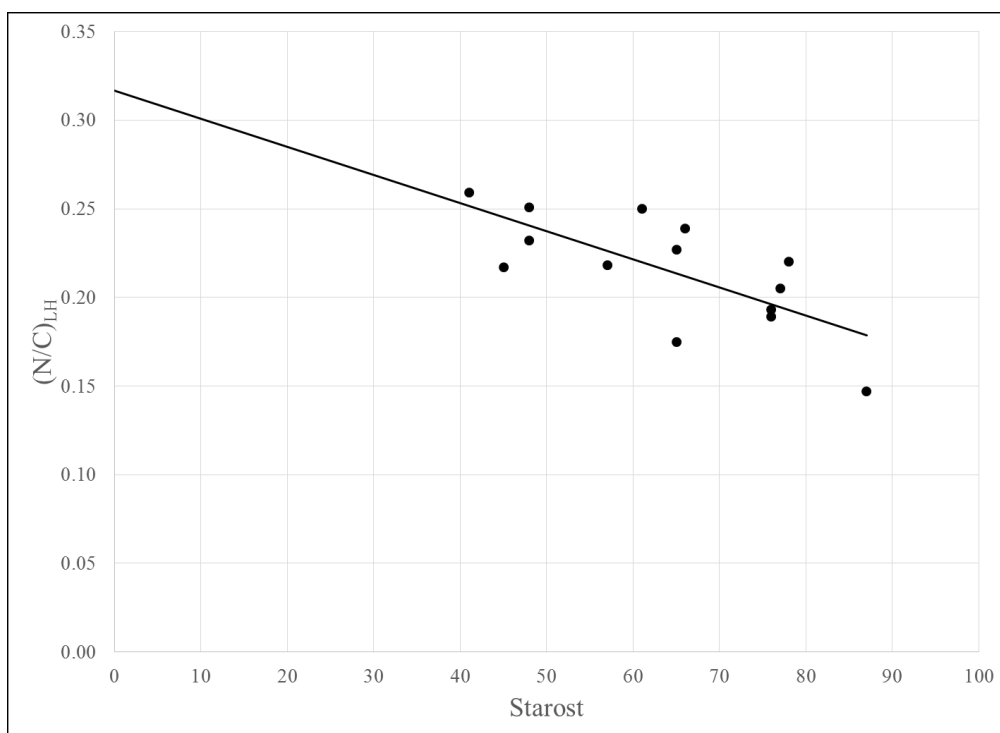
A_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	28.83	14.03		2.05	0.062
Starost	1.79	0.22	0.92	8.28	<0.001
$R^2 = 0.85$; $F(1,12) = 68.59$, $p < 0.001$; Model: $A_{LH} = 28.83 + \text{Starost} \times 1.79$					
B_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	24.03	2.64		9.09	<0.001
Starost	0.32	0.04	0.92	7.96	<0.001
$R^2 = 0.84$; $F(1,12) = 63.37$, $p < 0.001$; Model: $B_{LH} = 24.03 + \text{Starost} \times 0.32$					
D_{FLH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	8.04	1.05		7.67	<0.001
Starost	0.13	0.02	0.92	7.92	<0.001
$R^2 = 0.84$; $F(1,12) = 62.67$, $p < 0.001$; Model: $D_{FLH} = 8.04 + \text{Starost} \times 0.13$					
$(N/C)_{LH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.384	0.031		12.511	<0.001
Starost	-0.003	0.0005	-0.8547	-5.7036	<0.001
$R^2 = 0.73$; $F(1,12) = 32.53$, $p < 0.001$; Model: $(N/C)_{LH} = 0.384 - \text{Starost} \times 0.003$					



Grafikon 7. Korelacija između starosti i aree LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva



Grafikon 8. Korelacija između starosti i perimetra, odnosno Feretovog dijametra LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.



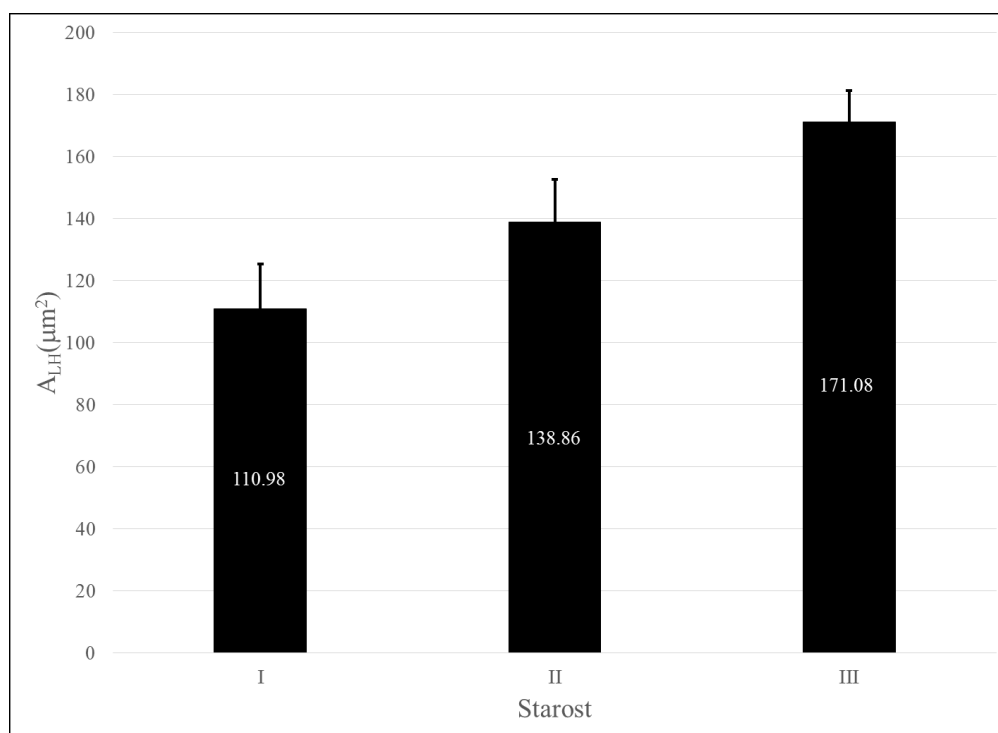
Grafikon 9. Korelacija između starosti i nukleocitoplazmatskog odnosa LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara gonadotropnih LH ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 8).

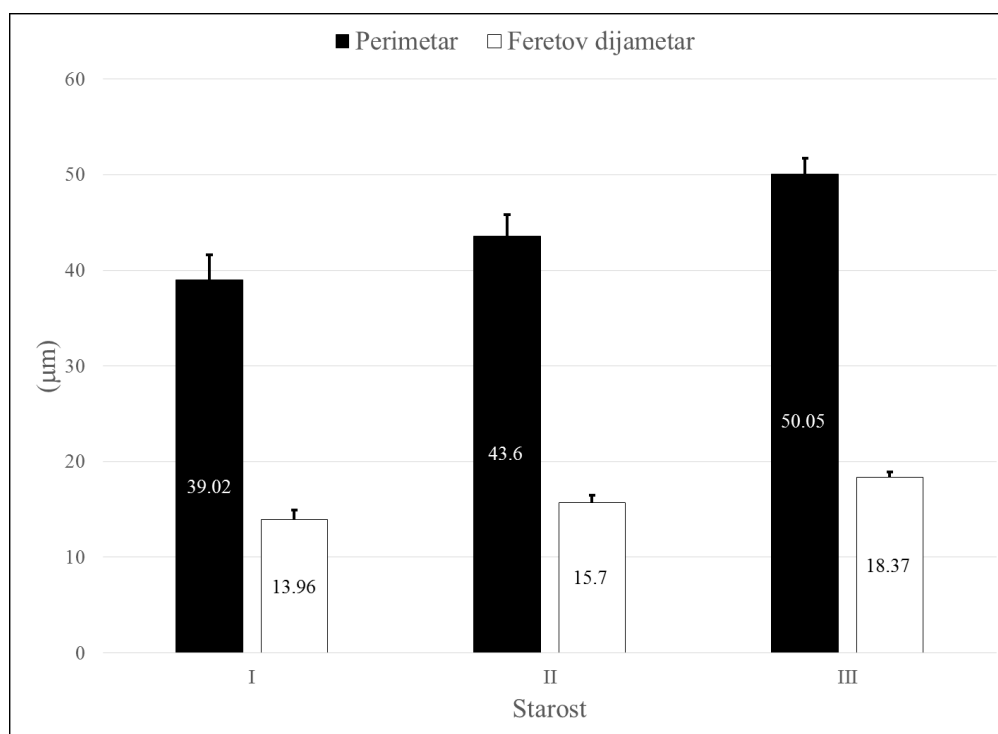
Tabela 8. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
A _{LH} (μm ²)	I	4	110.98	14.41	7.2	88.06	133.9	a,b
	II	5	138.86	13.72	6.14	121.82	155.9	a,c
	III	5	171.08	10.25	4.58	158.36	183.81	b,c
ANOVA				F(2,11) = 24.88, p < 0.001				
B _{LH} (μm)	I	4	39.02	2.62	1.31	34.85	43.19	a,b
	II	5	43.6	2.23	1	40.83	46.38	a,c
	III	5	50.05	1.64	0.73	48.01	52.08	b,c
ANOVA				F(2,11) = 29.82, p < 0.001				
D _{FLH} (μm)	I	4	13.96	0.95	0.48	12.45	15.48	a,b
	II	5	15.7	0.8	0.36	14.71	16.69	a,c
	III	5	18.37	0.57	0.25	17.66	19.08	b,c
ANOVA				F(2,11) = 37.61, p < 0.001				
A _{NLH} (μm ²)	I	4	22.87	3.67	1.83	17.04	28.71	/
	II	5	25.16	3.68	1.64	20.6	29.72	/
	III	5	24.37	2.89	1.29	20.78	27.96	/
ANOVA				F(2,11) = 0.51, p = 0.62				
B _{NLH} (μm)	I	4	17.5	1.22	0.61	15.55	19.45	/
	II	5	18.37	1.33	0.6	16.72	20.03	/
	III	5	18.27	1.27	0.57	16.69	19.84	/
ANOVA				F(2,11) = 0.60, p = 0.57				
D _{FNLH} (μm)	I	4	6.25	0.45	0.22	5.54	6.96	/
	II	5	6.57	0.52	0.23	5.93	7.22	/
	III	5	6.65	0.5	0.23	6.02	7.27	/
ANOVA				F(2,11) = 0.78, p = 0.48				
(N/C) _{LH}	I	4	0.26	0.02	0.01	0.23	0.29	b
	II	5	0.22	0.03	0.01	0.19	0.26	c
	III	5	0.17	0.02	0.01	0.14	0.2	b,c
ANOVA				F(2,11) = 16.26, p = 0.001				
V _{VLH} (%)	I	4	3.45	0.23	0.12	3.07	3.82	/
	II	5	5.55	2.42	1.08	2.55	8.55	/
	III	5	4.73	2.06	0.92	2.17	7.29	/
ANOVA				F(2,11) = 1.33, p = 0.30				
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna area ($F(2,11) = 24.88$, $p < 0.001$), zatim prosečan perimetar ($F(2,11) = 29.82$, $p < 0.001$) i prosečan Feret-ov dijametar ($F(2,11) = 37.61$, $p < 0.001$) gonadotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikoni 10 i 11).



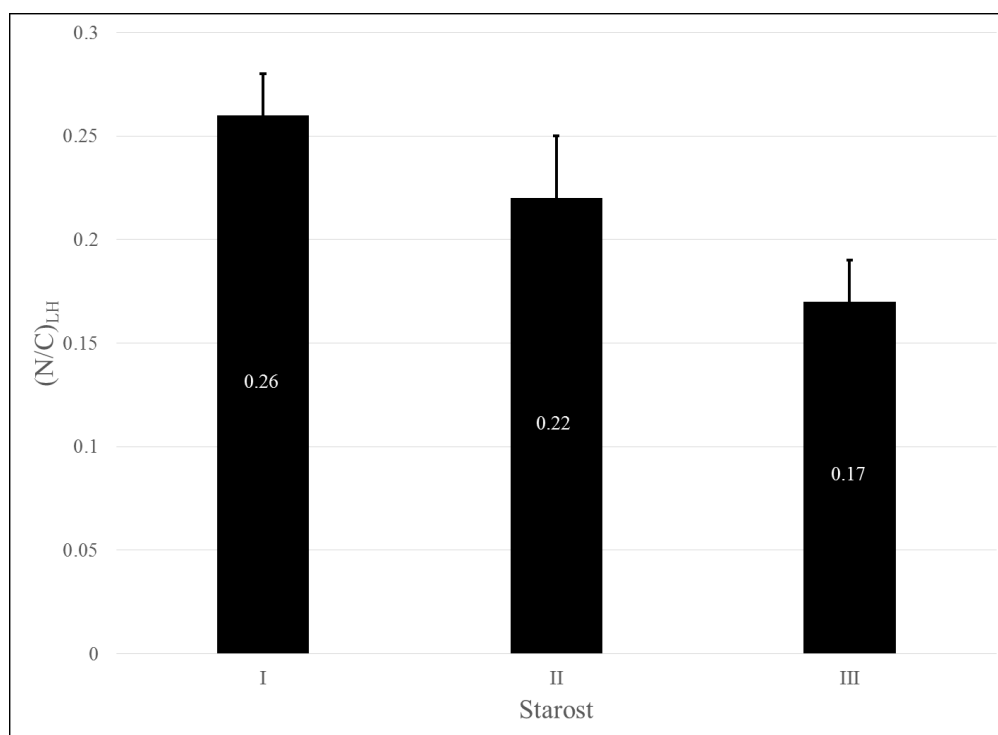
Grafikon 10. Prosečna area LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 11. Prosečan perimetar i prosečan Feretov dijametar LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine 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 takođe statistički značajno više u odnosu na I starosnu grupu ($p < 0,05$) (Tabela 8).

Prosečan nukleocitoplazmatski odnos gonadotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize se statistički značajno razlikuje između I i III i između II i III analizirane starosne grupe, dok razlika između I i II nije statistički značajna ($F(2,11) = 16.26$, $p = 0.001$). Pri tome, nukleocitoplazmatski odnos opada od I ka III starosnoj grupi, ali je taj pad značajan u III starosnoj grupi, što sugerise opadanje funkcije gonadotropnih ćelija tokom procesa starenja, najintenzivnije nakon 70. godine života (Tabela 8, Grafikon 12).



Grafikon 12. Prosečan nukleocitoplazmatski odnos LH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

4.2.3. MORFOMETRIJSKA ANALIZA LH IMUNOREAKTIVNIH ČELIJA DORZALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize prezentovani su u tabeli 9.

Tabela 9. Rezultati morfometrijske analize LH imunoreaktivnih slučajeva dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Slučaj	Starost	Grupa	A_{LH} (μm^2)	B_{LH} (μm)	D_{FLH} (μm)	A_{NLH} (μm^2)	B_{NLH} (μm)	D_{FNLH} (μm)	$(N/C)_{LH}$	V_{VLH} (%)	V_H (cm^3)
1	22	I	133.90	42.51	15.08	24.01	17.87	6.33	0.22	3.19	0.7
2	41	I	139.99	43.39	15.64	35.03	21.40	7.38	0.33	2.96	0.5
3	45	I	124.44	42.16	15.61	24.20	18.10	6.40	0.24	4.44	0.4
4	48	I	135.78	42.65	15.18	26.18	18.69	6.67	0.24	3.69	0.7
5	48	I	123.98	42.01	15.17	21.79	17.17	6.27	0.21	3.75	0.7
6	57	II	127.15	41.80	15.11	21.61	17.07	6.13	0.20	5.34	0.25
7	61	II	148.86	44.80	16.00	29.67	19.95	7.08	0.25	8.75	0.3
8	65	II	155.14	46.05	16.81	28.23	19.44	7.01	0.22	5.63	0.4
9	65	II	143.44	44.14	16.16	25.16	18.40	6.58	0.21	2.42	0.4
10	66	II	150.07	44.94	16.22	28.73	19.64	7.07	0.24	10.24	0.5
11	76	III	185.67	50.04	18.09	29.15	19.64	6.99	0.19	5.26	0.8
12	76	III	160.10	47.99	17.69	19.65	16.23	5.93	0.14	3.33	0.4
13	77	III	178.01	49.46	17.94	27.18	19.36	7.30	0.18	5.30	0.6
14	78	III	178.84	51.43	19.33	26.74	18.90	6.73	0.18	3.52	0.4
15	87	III	208.73	54.09	19.63	33.61	21.18	7.55	0.19	5.56	0.4

Iz dalje morfometrijske analize je isključen slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starosti i astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar), kao i nukleocitoplazmatskog odnosa LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva (Tabela 10).

Tabela 10. Korelaciona matrica starosti i morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Parametar		A_{LH}	B_{LH}	D_{FLH}	A_{NLH}	B_{NLH}	D_{FNLH}	$(N/C)_{LH}$	V_{VLH}
Starost	R	0.89	0.91	0.90	0.11	0.13	0.26	-0.75	0.18
	p	<0.001	<0.001	<0.001	0.72	0.66	0.37	0.002	0.54
	N	14	14	14	14	14	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva (Tabela 11). Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12) = 47.73$, $p < 0.001$), perimetra ($F(1,12) = 56.15$, $p < 0.001$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,12) = 50.48$, $p < 0.001$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{LH} = 52.99 + \text{Starost} \times 1.59$, $B_{LH} = 30.22 + \text{Starost} \times 0.25$ i $D_{FLH} = 10.63 + \text{Starost} \times 0.1$. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 80% ukupne varijanse aree ($R^2=0,80$) (Grafikon 13), 82% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,82$) i 81% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2=0,81$) (Grafikon 14) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

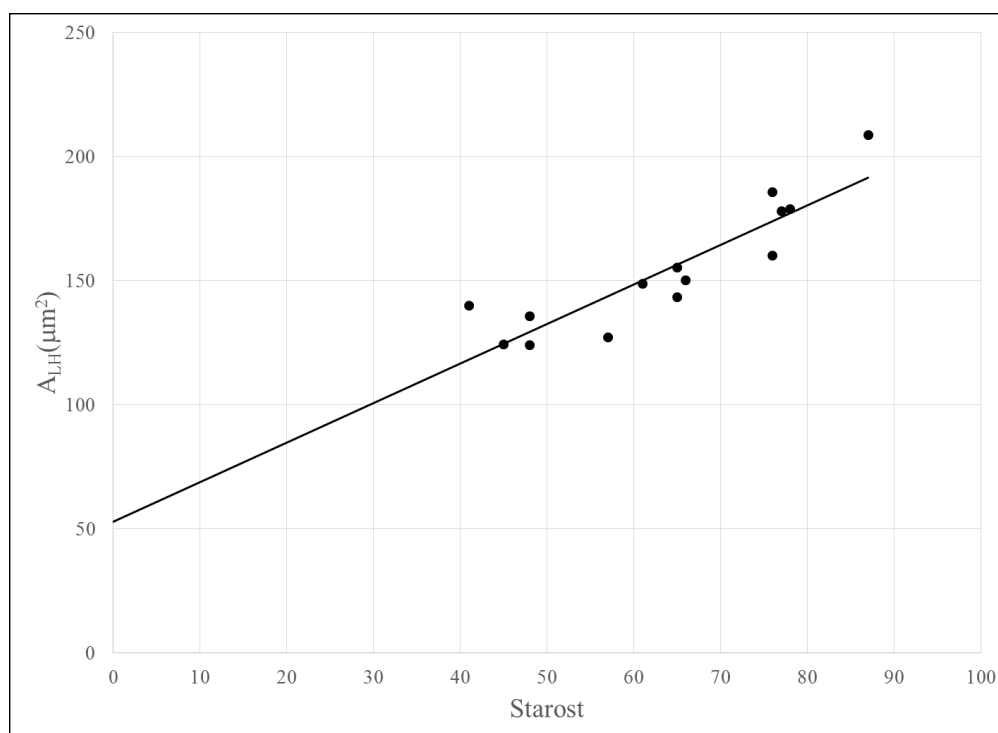
Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p > 0,05$).

Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleocitoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija dorzalne polovine adenohipofize ($F(1,12) = 15.58$, $p = 0.002$). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{LH} = 0.369 - \text{Starost} \times 0.002$, što znači da njegove vrednosti nukleocitoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 15). Starost objašnjava 57% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,57$), što predstavlja veliki efekat veličine.

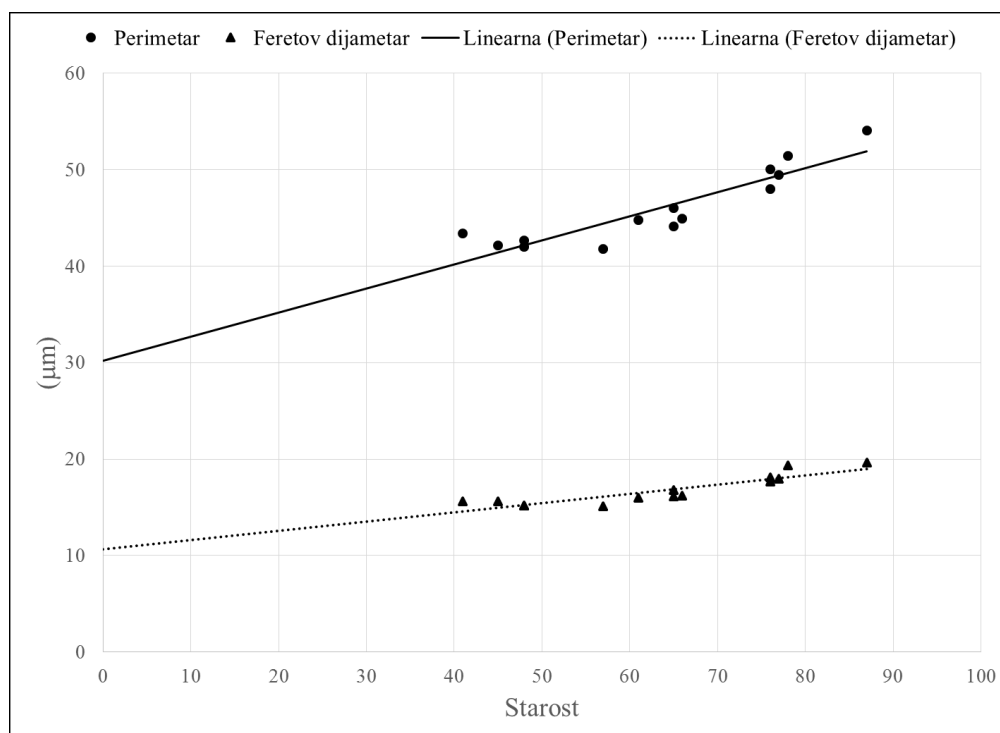
Starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada je u pitanju zapreminska gustina gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize kod istih slučajeva ($p > 0,05$).

Tabela 11. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

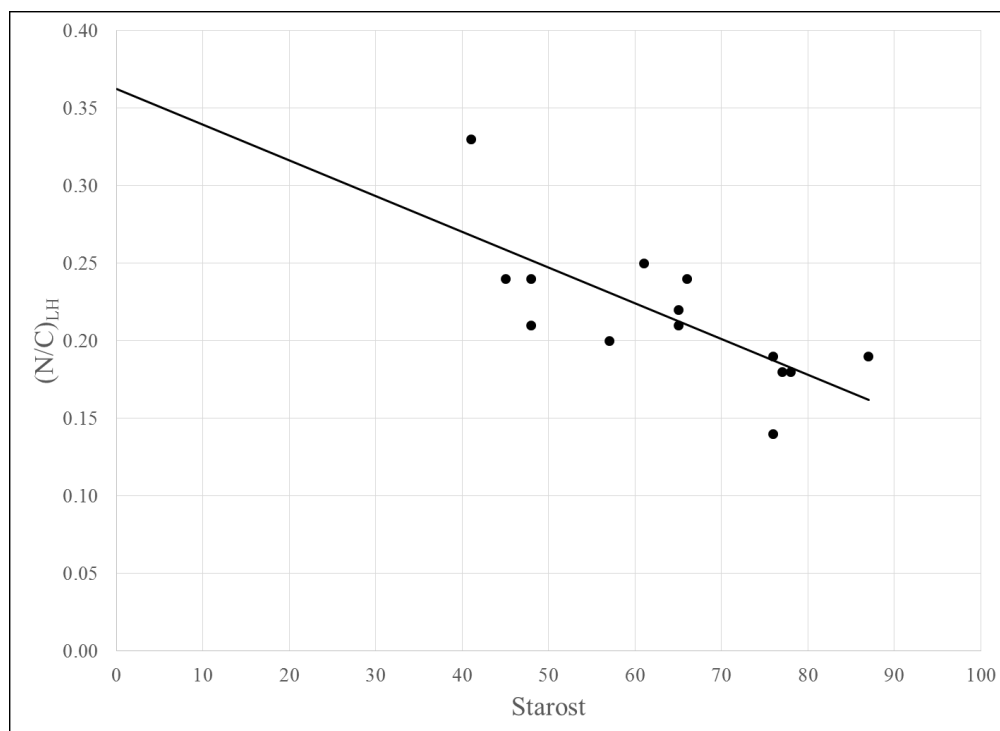
A_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	52.99	15		3.53	<0.001
Starost	1.59	0.23	0.89	6.91	<0.001
$R^2 = 0.80$; $F(1,12) = 47.73$, $p < 0.001$; Model: $A_{LH} = 52.99 + \text{Starost} \times 1.59$					
B_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	30.22	2.16		13.96	<0.001
Starost	0.25	0.03	0.91	7.49	<0.001
$R^2 = 0.82$; $F(1,12) = 56.15$, $p < 0.001$; Model: $B_{LH} = 30.22 + \text{Starost} \times 0.25$					
D_{FLH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	10.62	0.88		12.04	<0.001
Starost	0.1	0.01	0.9	7.1	<0.001
$R^2 = 0.81$; $F(1,12) = 50.48$, $p < 0.001$; Model: $D_{FLH} = 10.63 + \text{Starost} \times 0.1$					
$(N/C)_{LH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.37	0.04		9.33	<0.001
Starost	-0.002	0.001	-0.75	-3.95	0.002
$R^2 = 0.57$; $F(1,12) = 15.58$, $p = 0.002$; Model: $(N/C)_{LH} = 0.369 - \text{Starost} \times 0.002$					



Grafikon 13. Korelacija između starosti i aree LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.



Grafikon 14. Korelacija između starosti i perimetra, odnosno Feretovog dijametra LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.



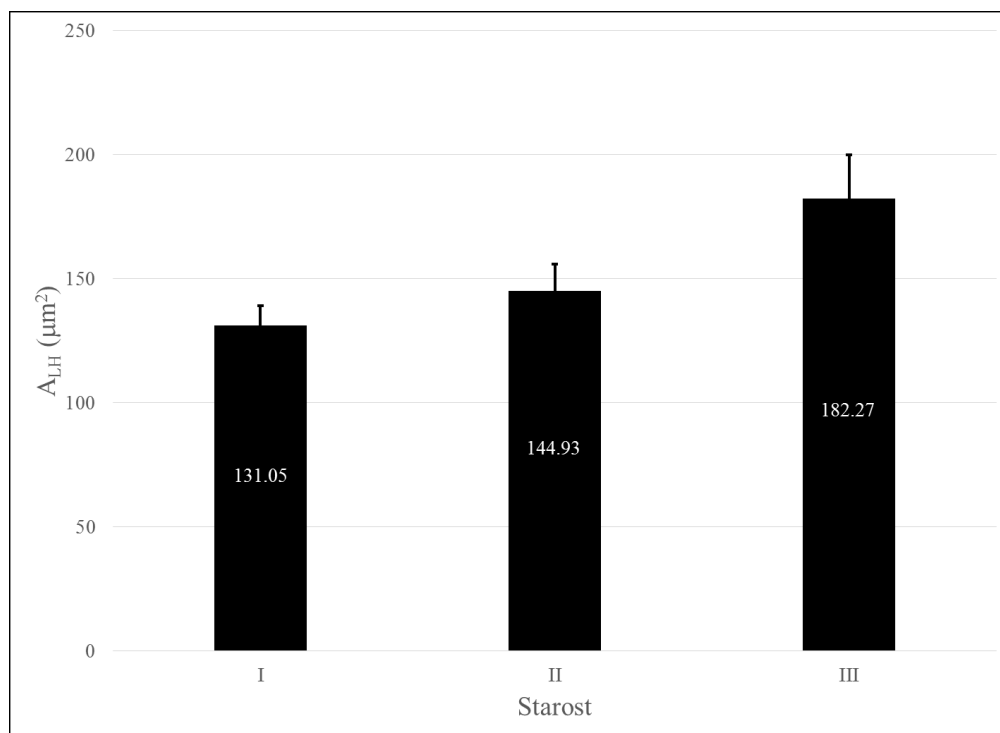
Grafikon 15. Korelacija između starosti i nukleocitoplazmatskog odnosa LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfolometrijskih parametara gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 12).

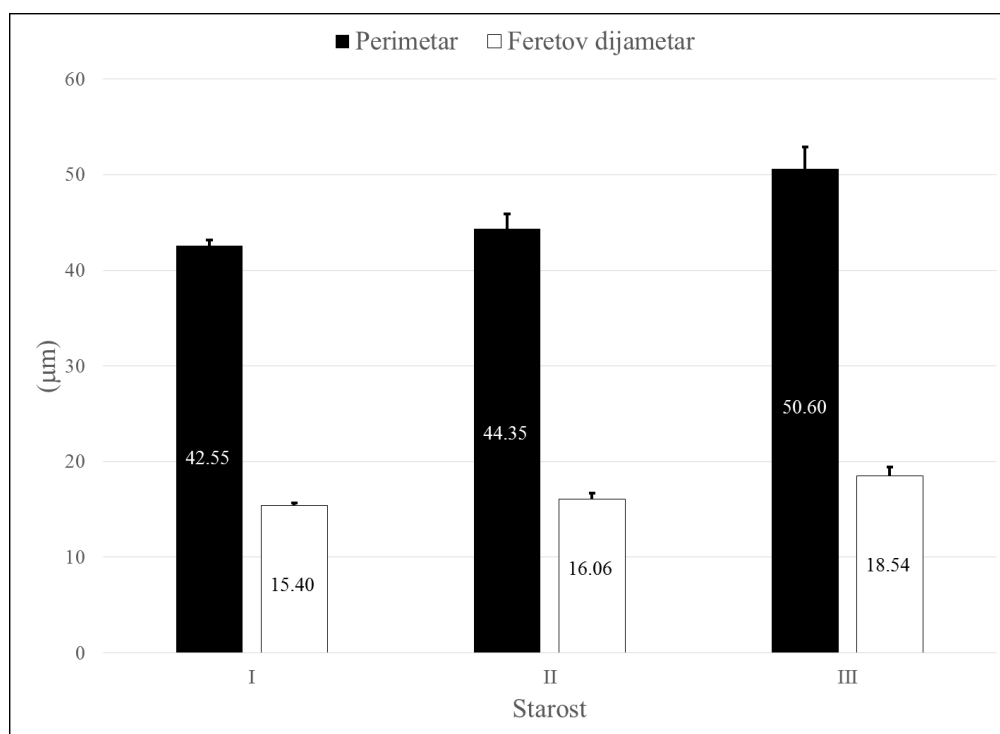
Tabela 12. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfolometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
A_{LH} (μm^2)	I	4	131.05	8.08	4.04	118.18	143.91	b
	II	5	144.93	10.78	4.82	131.55	158.31	c
	III	5	182.27	17.56	7.85	160.47	204.07	b,c
ANOVA				F(2,11) = 18.92, p < 0.001				
B_{LH} (μm)	I	4	42.55	0.62	0.31	41.56	43.54	b
	II	5	44.35	1.58	0.71	42.39	46.31	c
	III	5	50.60	2.31	1.03	47.74	53.47	b,c
ANOVA				F(2,11) = 28.34, p < 0.001				
D_{FLH} (μm)	I	4	15.40	0.26	0.13	14.99	15.81	b
	II	5	16.06	0.61	0.27	15.30	16.82	c
	III	5	18.54	0.88	0.39	17.44	19.63	b,c
ANOVA				F(2,11) = 29.34, p < 0.001				
A_{NLH} (μm^2)	I	4	26.80	5.77	2.89	17.61	35.98	/
	II	5	26.68	3.30	1.48	22.58	30.78	/
	III	5	27.27	5.05	2.26	20.99	33.54	/
ANOVA				F(2,11) = 0.02, p = 0.98				
B_{NLH} (μm)	I	4	18.84	1.82	0.91	15.95	21.74	/
	II	5	18.90	1.18	0.53	17.44	20.36	/
	III	5	19.06	1.80	0.81	16.83	21.30	/
ANOVA				F(2,11) = 0.02, p = 0.98				
D_{FNLH} (μm)	I	4	6.68	0.50	0.25	5.89	7.47	/
	II	5	6.77	0.42	0.19	6.26	7.29	/
	III	5	6.90	0.63	0.28	6.12	7.68	/
ANOVA				F(2,11) = 0.20, p = 0.82				
$(N/C)_{LH}$	I	4	0.26	0.05	0.03	0.17	0.34	b
	II	5	0.23	0.02	0.01	0.20	0.25	c
	III	5	0.17	0.02	0.01	0.15	0.20	b,c
ANOVA				F(2,11) = 7.55, p = 0.009				
V_{VLH} (%)	I	4	3.71	0.61	0.30	2.74	4.68	/
	II	5	6.48	3.07	1.37	2.66	10.29	/
	III	5	4.59	1.07	0.48	3.26	5.92	/
ANOVA				F(2,11) = 2.33, p = 0.14				
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna area ($F(2,11) = 18.92$, $p < 0.001$), zatim prosečan perimetar ($F(2,11) = 28.34$, $p < 0.001$) i prosečan Feret-ov dijametar ($F(2,11) = 29.34$, $p < 0.001$) gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikoni 16 i 17).



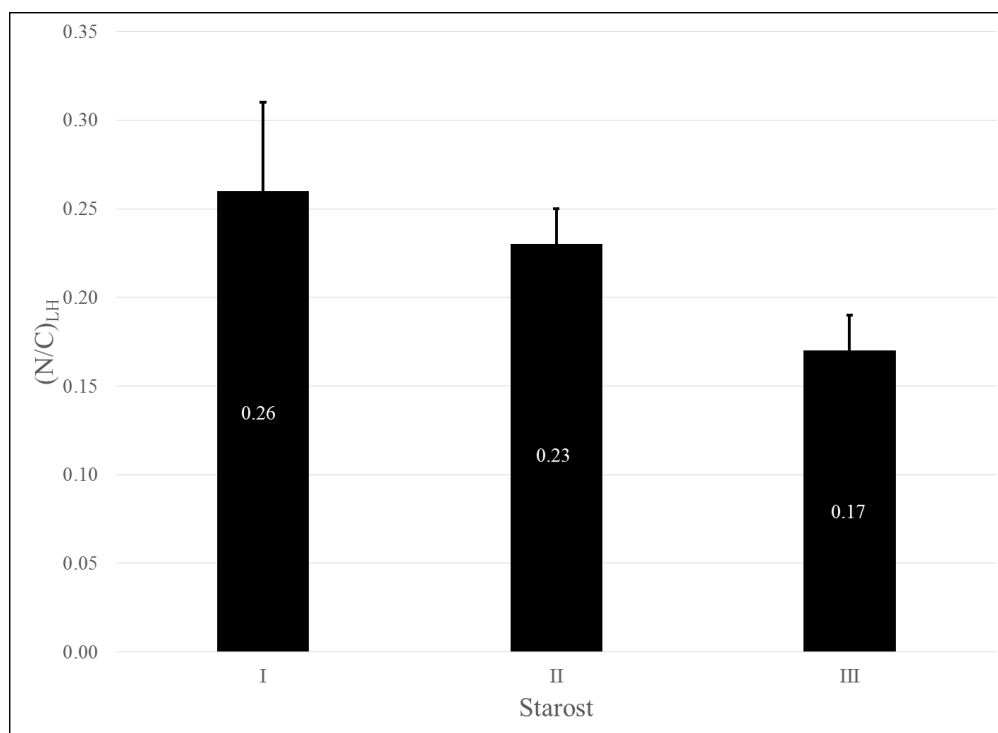
Grafikon 16. Prosečna area LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 17. Prosečan perimetar, odnosno, prosečan Feretov dijametar LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

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 ($p < 0,05$). Međutim, prosečne vrednosti ovih parametara II starosne grupe nisu bile statistički značajno više u odnosu na I starosnu grupu ($p > 0,05$) (Tabela 12).

Prosečan nukleocitoplazmatski odnos gonadotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize se statistički značajno razlikuje između I i III i između II i III analizirane starosne grupe, dok razlika između I i II nije statistički značajna ($F(2,11) = 7.55$, $p = 0.009$). Pri tome, nukleocitoplazmatski odnos opada od I ka III starosnoj grupi, ali je taj pad značajan u III starosnoj grupi, što sugerise opadanje funkcije gonadotropnih ćelija tokom procesa starenja, najintenzivnije nakon 70. godine života (Tabela 12, Grafikon 18).



Grafikon 18. Prosečan nukleocitoplazmatski odnos LH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

T test za dva zavisna uzorka u tri ispitivane starosne grupe nije pokazao statistički značajne razlike između ventralne i dorzalne polovine adenohipofize ni kod jednog od analiziranih parametara (Tabela 13, 14 i 15).

Tabela 13. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva prve starosne grupe.

Parametar	Polovina	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
A _{LH} (μm ²)	Ventralno	4	110.98	14.41	7.20	-1.82	3	0.17
	Dorzalno	4	131.05	8.08	4.04			
B _{LH} (μm)	Ventralno	4	39.02	2.62	1.31	-2.27	3	0.11
	Dorzalno	4	42.55	0.62	0.31			
D _{FLH} (μm)	Ventralno	4	13.96	0.95	0.48	-3.02	3	0.06
	Dorzalno	4	15.40	0.26	0.13			
A _{NLH} (μm ²)	Ventralno	4	22.87	3.67	1.83	-0.93	3	0.42
	Dorzalno	4	26.80	5.77	2.89			
B _{NLH} (μm)	Ventralno	4	17.50	1.22	0.61	-1.01	3	0.39
	Dorzalno	4	18.84	1.82	0.91			
D _{FNLH} (μm)	Ventralno	4	6.25	0.45	0.22	-1.06	3	0.37
	Dorzalno	4	6.68	0.5	0.25			
(N/C) _{LH}	Ventralno	4	0.26	0.02	0.01	0.08	3	0.94
	Dorzalno	4	0.26	0.05	0.03			
V _{VLH} (%)	Ventralno	4	3.45	0.23	0.12	-1.25	3	0.3
	Dorzalno	4	3.71	0.61	0.30			

Tabela 14. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva druge starosne grupe.

Parametar	Polovina	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
A_{LH} (μm^2)	Ventralno	5	138.86	13.72	6.14	-1.01	4	0.37
	Dorzalno	5	144.93	10.78	4.82			
B_{LH} (μm)	Ventralno	5	43.60	2.23	1.00	-0.78	4	0.48
	Dorzalno	5	44.35	1.58	0.71			
D_{FLH} (μm)	Ventralno	5	15.70	0.80	0.36	-1.07	4	0.34
	Dorzalno	5	16.06	0.61	0.27			
A_{NLH} (μm^2)	Ventralno	5	25.16	3.68	1.64	-1	4	0.37
	Dorzalno	5	26.68	3.30	1.48			
B_{NLH} (μm)	Ventralno	5	18.37	1.33	0.60	-0.92	4	0.41
	Dorzalno	5	18.90	1.18	0.53			
D_{FNLH} (μm)	Ventralno	5	6.57	0.52	0.23	-0.9	4	0.42
	Dorzalno	5	6.77	0.42	0.19			
$(N/C)_{LH}$	Ventralno	5	0.22	0.03	0.01	-0.36	4	0.74
	Dorzalno	5	0.23	0.02	0.01			
V_{VLH} (%)	Ventralno	5	5.55	2.42	1.08	-2.17	4	0.1
	Dorzalno	5	6.48	3.07	1.37			

Tabela 15. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva treće starosne grupe.

Parametar	Polovina	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
A_{LH} (μm^2)	Ventralno	5	171.08	10.25	4.58	-2.09	4	0.1
	Dorzalno	5	182.27	17.56	7.85			
B_{LH} (μm)	Ventralno	5	50.05	1.64	0.73	-0.60	4	0.58
	Dorzalno	5	50.60	2.31	1.03			
D_{FLH} (μm)	Ventralno	5	18.37	0.57	0.25	-0.42	4	0.70
	Dorzalno	5	18.54	0.88	0.39			
A_{NLH} (μm^2)	Ventralno	5	24.37	2.89	1.29	-1.42	4	0.23
	Dorzalno	5	27.27	5.05	2.26			
B_{NLH} (μm)	Ventralno	5	18.27	1.27	0.57	-1.23	4	0.29
	Dorzalno	5	19.06	1.80	0.81			
D_{FNLH} (μm)	Ventralno	5	6.65	0.50	0.23	-1.27	4	0.27
	Dorzalno	5	6.90	0.63	0.28			
$(N/C)_{LH}$	Ventralno	5	0.17	0.02	0.01	-0.70	4	0.53
	Dorzalno	5	0.17	0.02	0.01			
V_{VLH} (%)	Ventralno	5	4.73	2.06	0.92	0.22	4	0.83
	Dorzalno	5	4.59	1.07	0.48			

4.2.4. MORFOMETRIJSKA ANALIZA GH IMUNOREAKTIVNIH ČELIJA

ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize dati su u tabeli 16.

Tabela 16. Rezultati morfometrijske analize GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva

Slučaj	Starost	Grupa	A_{GH} (μm^2)	B_{GH} (μm)	D_{FGH} (μm)	A_{NGH} (μm^2)	B_{NGH} (μm)	D_{FNGH} (μm)	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH} (%)	V_H (cm^3)
1	22	I	133.86	42.48	15.13	24.64	18.02	6.26	0.23	24.36	0.7
2	41	I	159.34	46.06	16.38	30.63	19.99	6.86	0.24	19.87	0.5
3	45	I	139.40	43.60	15.96	29.69	19.70	6.83	0.27	15.20	0.4
4	48	I	142.15	43.29	15.45	30.18	19.91	6.96	0.27	19.56	0.7
5	48	I	125.41	41.71	15.24	25.70	18.42	6.46	0.26	21.43	0.7
6	57	II	133.90	42.20	15.17	23.55	17.53	6.13	0.21	11.71	0.25
7	61	II	140.17	43.61	15.79	29.14	19.60	6.84	0.26	19.72	0.3
8	65	II	139.75	43.64	15.75	26.11	18.61	6.62	0.23	25.35	0.3
9	65	II	152.05	46.23	16.97	21.31	16.86	5.94	0.16	26.35	0.4
10	66	II	186.59	50.63	18.38	34.84	21.37	7.46	0.23	19.65	0.5
11	76	III	166.12	47.66	17.24	26.78	18.80	6.60	0.19	28.32	0.7
12	76	III	165.66	48.56	17.74	20.12	16.41	5.79	0.14	22.69	0.4
13	77	III	177.44	49.56	18.21	33.35	20.98	7.36	0.23	19.35	0.6
14	78	III	166.67	48.78	17.75	23.11	17.64	6.26	0.16	13.42	0.4
15	87	III	186.39	50.12	18.19	30.16	19.88	6.95	0.19	22.74	0.4

Iz dalje morfometrijske analize isključen je slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starosti i astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar), kao i nukleocitoplazmatskog odnosa GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva (Tabela 17).

Tabela 17. Korelaciona matrica starosti i vrednosti morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva

Parametar	A_{GH}	B_{GH}	D_{FGH}	A_{NGH}	B_{NGH}	D_{FNGH}	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH}	
R	0.7	0.75	0.77	-0.15	-0.14	-0.07	-0.69	0.28	
Starost	p	0.005	0.002	0.001	0.62	0.64	0.81	0.006	0.33
	N	14	14	14	14	14	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) somatotropnih ćelija adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva (Tabela 18). Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12)=11,63$; $p=0,005$), perimetra ($F(1,12)=14,94$; $p=0,002$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,12)=17,22$; $p=0,001$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{GH} = 94,00 + \text{starost} \times 0,97$, $B_{GH} = 35,82 + \text{starost} \times 0,16$ i $D_{FGH} = 12,68 + \text{starost} \times 0,06$. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja, pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 49% ukupne varijanse aree ($R^2=0,49$) (Grafikon 19), 56% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,56$) i 56% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2=0,56$) (Grafikon 20) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

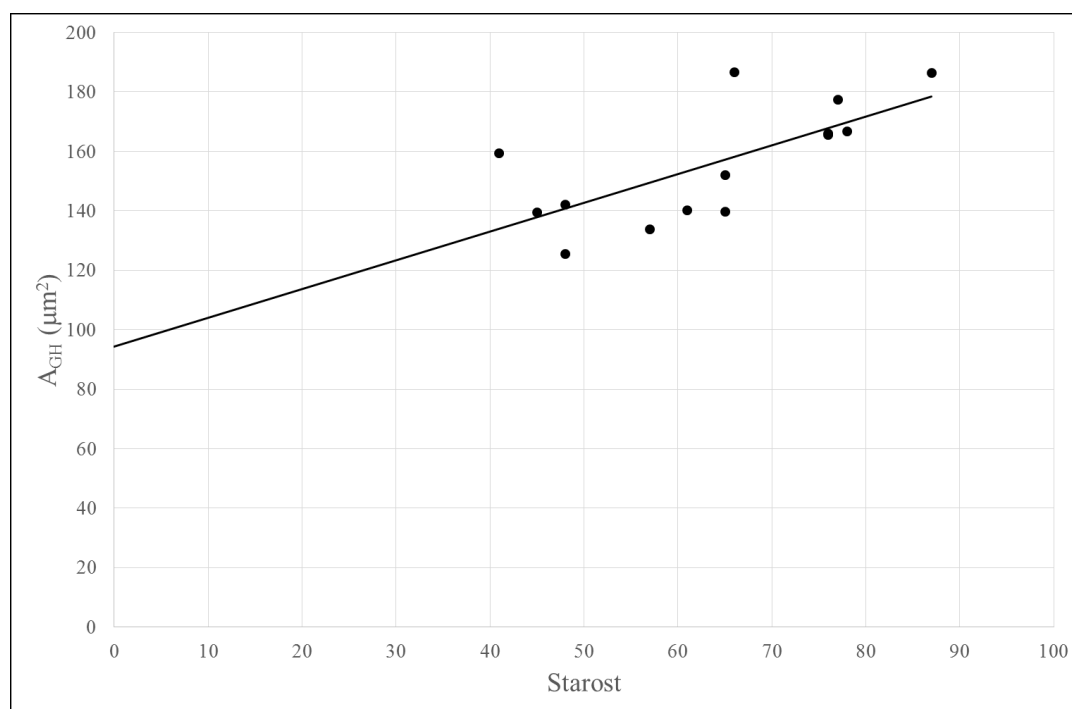
Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara somatotropnih ćelija adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p>0,05$).

Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleocitoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija adenohipofize ($F(1,12)=11,05$; $p=0,006$) (Tabela 18). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{GH} = 0,352 - 0,002 \times \text{starost}$, što znači da vrednosti nukleocitoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 21). Starost objašnjava 48% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,48$), što predstavlja veliki efekat veličine.

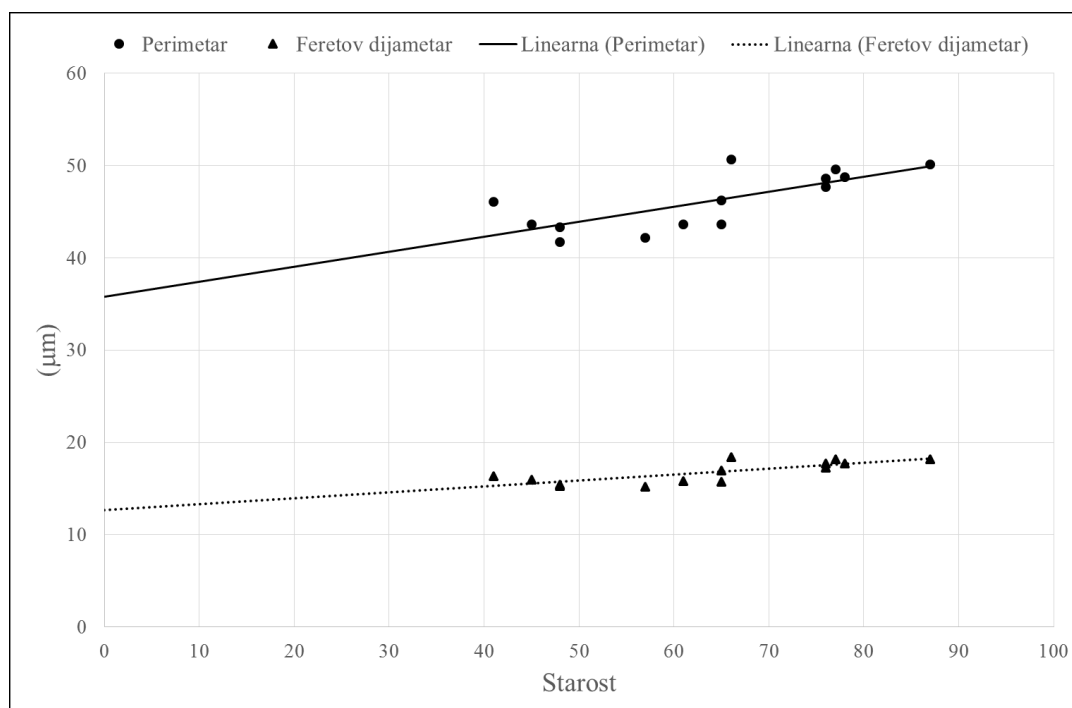
Starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada je u pitanju zapreminska gustina somatotropnih ćelija adenohipofize kod istih slučajeva ($p>0,05$).

Tabela 18. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

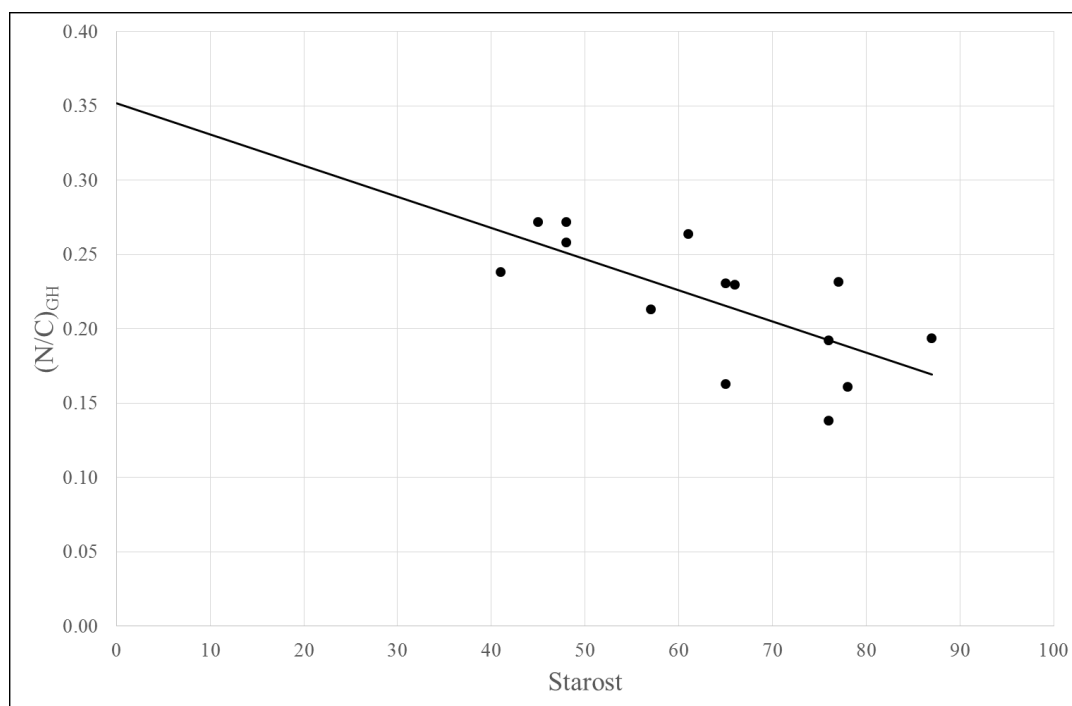
A_{GH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	94.00	18.53		5.07	<0.001
Starost	0.97	0.28	0.70	3.41	0.01
$R^2 = 0.49$; $F(1,12) = 11.63$, $p=0.005$; Model: $A_{GH} = 94.00 + \text{Starost} \times 0.97$					
B_{GH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	35.82	2.73		13.14	<0.001
Starost	0.16	0.04	0.74	3.87	0.002
$R^2 = 0.56$; $F(1,12) = 14.94$, $p=0.002$; Model: $B_{GH} = 35.82 + \text{Starost} \times 0.16$					
D_{FGH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	12.68	1.00		12.68	<0.001
Starost	0.06	0.02	0.77	4.15	0.001
$R^2 = 0.56$; $F(1,12) = 17.22$, $p=0.001$; Model: $D_{FGH} = 12.68 + \text{Starost} \times 0.06$					
$(N/C)_{GH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.35	0.04		8.57	<0.001
Starost	-0.002	0.0006	-0.69	-3.32	0.006
$R^2 = 0.48$; $F(1,12) = 11.05$, $p=0.006$; Model: $D_{FGH} = 0.352 - \text{Starost} \times 0.002$					



Grafikon 19. Korelacija između starosti i aree GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.



Grafikon 20. Korelacija između starosti i perimetra, odnosno Feretovog dijametra GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva



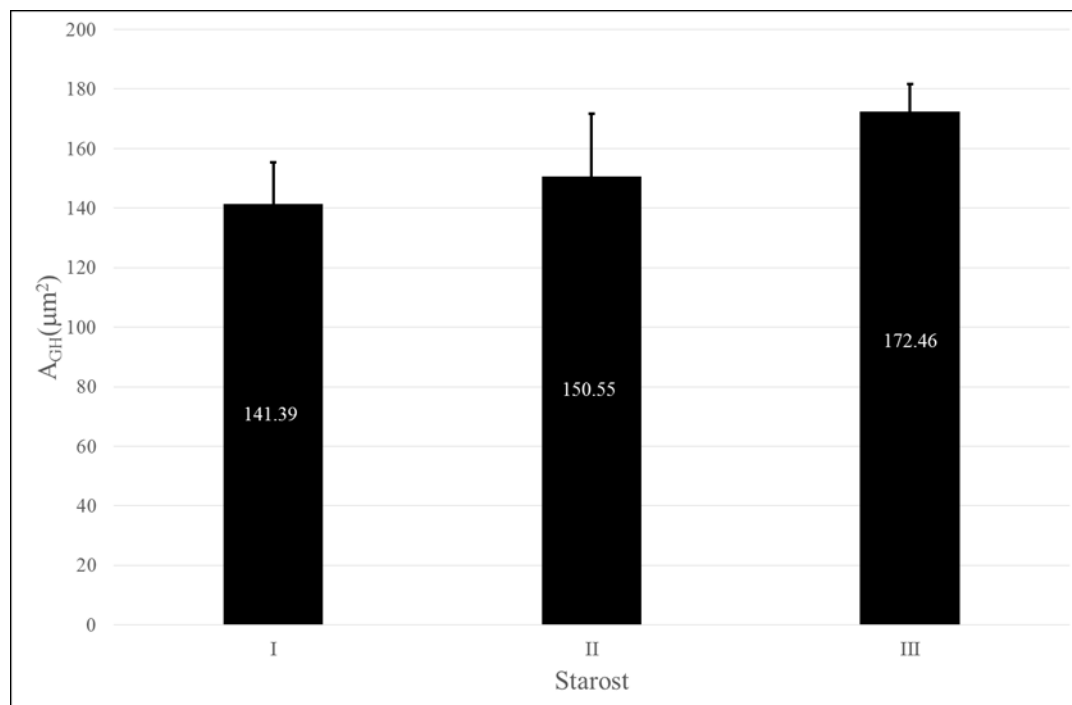
Grafikon 21. Korelacija između starosti i nukleocitoplazmatskog odnosa GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfolometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 19).

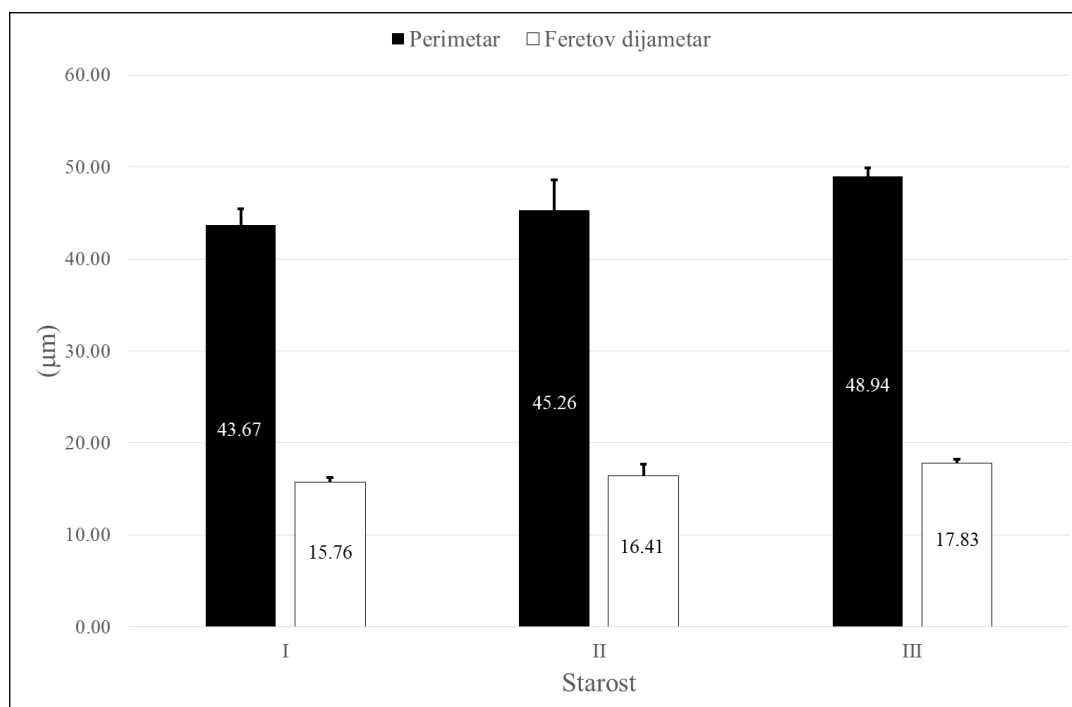
Tabela 19. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfolometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
A _{GH} (μm ²)	I	4	141.39	13.94	6.97	119.20	163.57	b
	II	5	150.55	21.18	9.47	124.26	176.85	/
	III	5	172.46	9.20	4.12	161.03	183.89	b
ANOVA				F(2,11) = 4.77, p = 0.03				
B _{GH} (μm)	I	4	43.67	1.80	0.90	40.81	46.52	b
	II	5	45.26	3.33	1.49	41.12	49.40	/
	III	5	48.94	0.95	0.42	47.76	50.11	b
ANOVA				F(2,11) = 6.43, p = 0.01				
D _{FGH} (μm)	I	4	15.76	0.51	0.26	14.94	16.57	b
	II	5	16.41	1.28	0.57	14.83	18.00	/
	III	5	17.83	0.40	0.18	17.33	18.32	b
ANOVA				F(2,11) = 7.12, p = 0.01				
A _{NGH} (μm ²)	I	4	29.05	2.27	1.13	25.44	32.66	/
	II	5	26.99	5.27	2.36	20.45	33.53	/
	III	5	26.70	5.30	2.37	20.12	33.29	/
ANOVA				F(2,11) = 0.32, p = 0.73				
B _{NGH} (μm)	I	4	19.51	0.73	0.37	18.34	20.67	/
	II	5	18.79	1.78	0.80	16.58	21.00	/
	III	5	18.74	1.80	0.81	16.50	20.98	/
ANOVA				F(2,11) = 0.32, p = 0.73				
D _{FNGH} (μm)	I	4	6.78	0.22	0.11	6.44	7.12	/
	II	5	6.60	0.60	0.27	5.85	7.35	/
	III	5	6.59	0.61	0.27	5.84	7.35	/
ANOVA				F(2,11) = 0.17, p = 0.84				
(N/C) _{GH}	I	4	0.26	0.02	0.01	0.23	0.29	b
	II	5	0.22	0.04	0.02	0.17	0.27	/
	III	5	0.18	0.04	0.02	0.14	0.23	b
ANOVA				F(2,11) = 6.38, p = 0.01				
V _{VGH} (%)	I	4	19.02	2.67	1.34	14.76	23.27	/
	II	5	20.55	5.84	2.61	13.31	27.80	/
	III	5	21.30	5.46	2.44	14.53	28.08	/
ANOVA				F(2,11) = 0.24, p = 0.79				
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna area ($F(2,11) = 4.77, p = 0.03$), zatim prosečan perimetar ($F(2,11) = 6.43, p = 0.01$) i prosečan Feret-ov dijametar ($F(2,11) = 7.12, p = 0.01$) somatotropnih ćelija adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikoni 22 i 23).



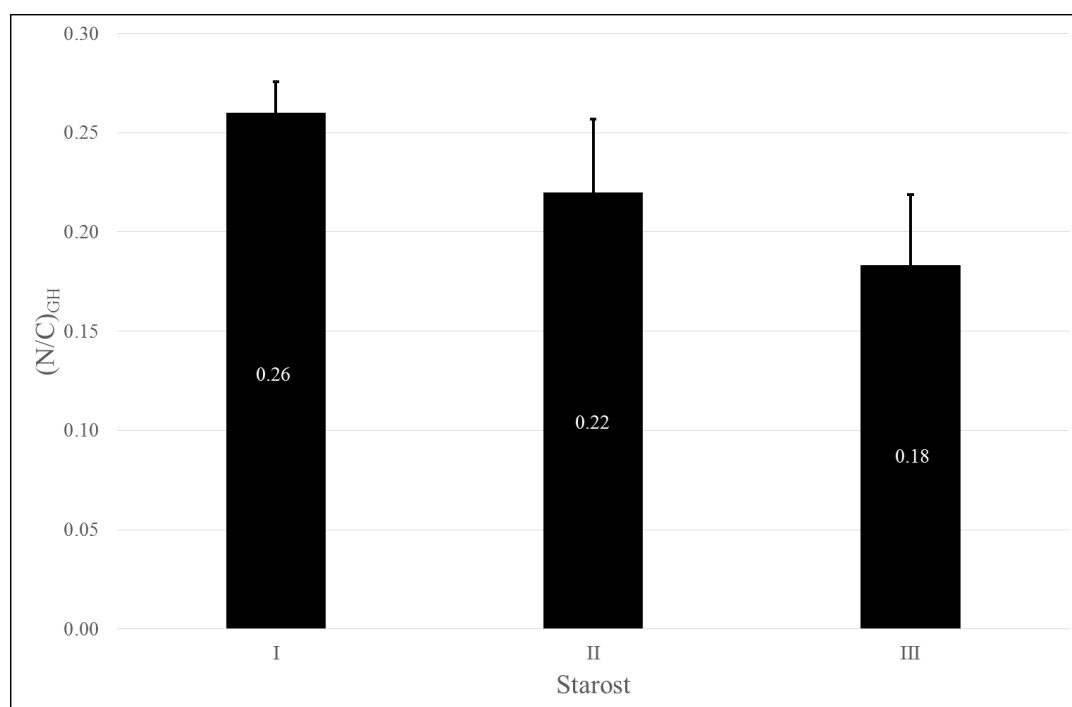
Grafikon 22. Prosečna area GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa



Grafikon 23. Prosečan perimetar i prosečan Feretov dijametar GH imunoreaktivnih 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 I starosnu grupu ($p < 0,05$), ali ne i u odnosu na II 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 ($p > 0,05$) (Tabela 19).

Prosečan nukleocitoplazmatski odnos somatotropnih ćelija adenohipofize se statistički značajno razlikuje samo između I i III starosne grupe ($F(2,11) = 6.38$, $p = 0.01$). Pri tome, nukleocitoplazmatski odnos ravnomerno opada od I ka III starosnoj grupi, što sugeriše ujednačeno opadanje funkcije somatotropnih ćelija tokom procesa starenja (Tabela 19, Grafikon 24).



Grafikon 24. Prosečan nukleocitoplazmatski odnos GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

4.2.5. MORFOMETRIJSKA ANALIZA GH IMUNOREAKTIVNIH ČELIJA

VENTRALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize dati su u tabeli 20.

Tabela 20. Rezultati morfometrijske analize GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Slučaj	Starost	Grupa	A_{GH} (μm^2)	B_{GH} (μm)	D_{FGH} (μm)	A_{NGH} (μm^2)	B_{NGH} (μm)	D_{FNGH} (μm)	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH} (%)	V_H (cm^3)
1	22	I	143.31	43.94	15.65	25.93	18.48	6.47	0.22	28.59	0.7
2	41	I	159.43	45.84	16.35	31.34	20.20	6.89	0.24	20.54	0.5
3	45	I	150.11	45.31	16.74	30.86	20.10	6.97	0.26	14.03	0.4
4	48	I	127.66	41.41	14.74	28.72	19.50	6.80	0.29	18.55	0.7
5	48	I	124.95	41.73	15.42	23.62	17.77	6.36	0.23	28.63	0.7
6	57	II	139.47	43.05	15.49	25.87	18.46	6.41	0.23	16.05	0.25
7	61	II	132.57	42.41	15.16	29.28	19.64	6.84	0.28	19.31	0.3
8	65	II	133.54	42.43	15.23	26.52	18.75	6.69	0.25	20.40	0.3
9	65	II	150.59	46.21	17.12	20.40	16.50	5.84	0.16	24.75	0.4
10	66	II	188.96	50.43	18.15	35.06	21.41	7.42	0.23	17.64	0.5
11	76	III	170.17	48.58	17.73	26.74	18.81	6.62	0.19	28.12	0.7
12	76	III	165.90	49.35	18.10	19.72	16.29	5.77	0.13	23.33	0.4
13	77	III	175.00	49.46	18.39	32.93	20.77	7.30	0.23	16.79	0.6
14	78	III	164.91	48.37	17.58	22.50	17.38	6.19	0.16	10.12	0.4
15	87	III	169.43	47.70	17.15	28.44	19.31	6.77	0.20	21.81	0.4

Iz dalje morfometrijske analize isključen je slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starosti i astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar), kao i nukleocitoplazmatskog odnosa GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva (Tabela 21).

Tabela 21. Korelaciona matrica starosti i vrednostimorfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Parametar		A_{GH}	B_{GH}	D_{FGH}	A_{NGH}	B_{NGH}	D_{FNGH}	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH}
Starost	R	0.59	0.65	0.63	-0.21	-0.21	-0.15	-0.63	0.02
	p	0.03	0.01	0.02	0.47	0.46	0.60	0.02	0.96
	N	14	14	14	14	14	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) somatotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva (Tabela 22). Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12) = 6.36$, $p=0.03$), perimetra ($F(1,12) = 8.71$, $p=0.01$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,12) = 7.95$, $p=0.02$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{GH} = 101.78 + \text{Starost} \times 0.82$, $B_{GH} = 36.67 + \text{Starost} \times 0.14$ i $D_{FGH} = 13.11 + \text{Starost} \times 0.06$. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 29% ukupne varijanse aree ($R^2=0,29$) (Grafikon 25), 37% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,37$) i 35% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2=0,35$) (Grafikon 26) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

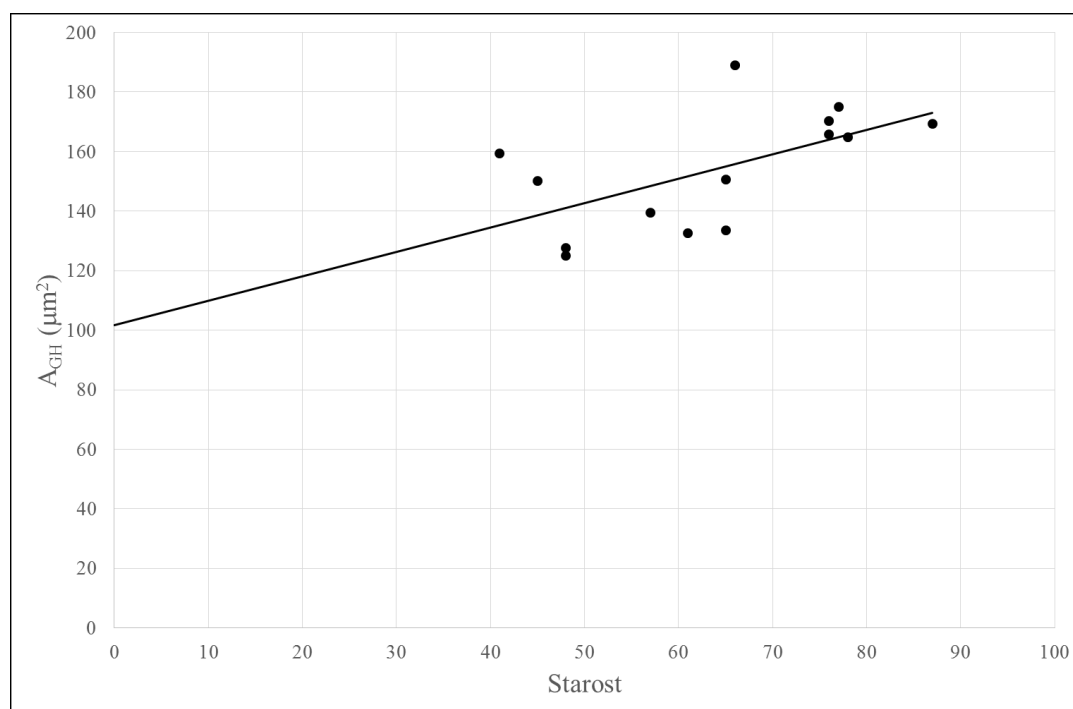
Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara somatotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p>0,05$).

Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleocitoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija adenohipofize ($F(1,12) = 7.70$, $p=0.02$) (Tabela 22). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{GH} = 0.351 - \text{Starost} \times 0.002$, što znači da vrednosti nukleocitoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 27). Starost objašnjava 34% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,34$), što predstavlja veliki efekat veličine.

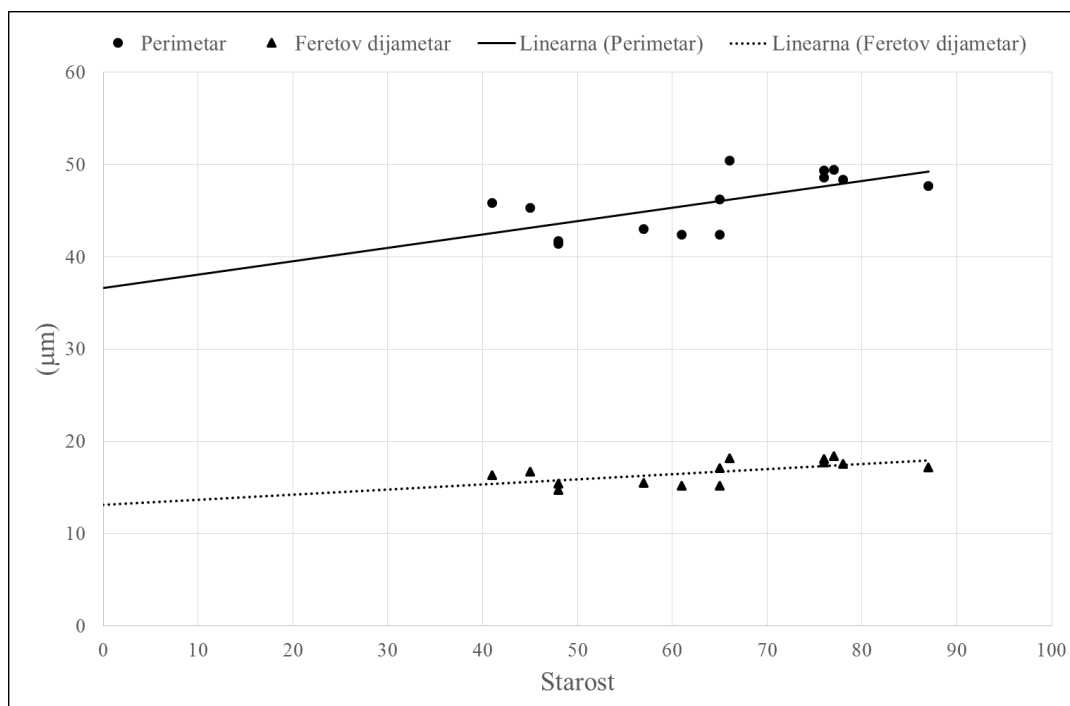
Starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada je u pitanju zapreminska gustina somatotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize kod istih slučajeva ($p>0,05$).

Tabela 22. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

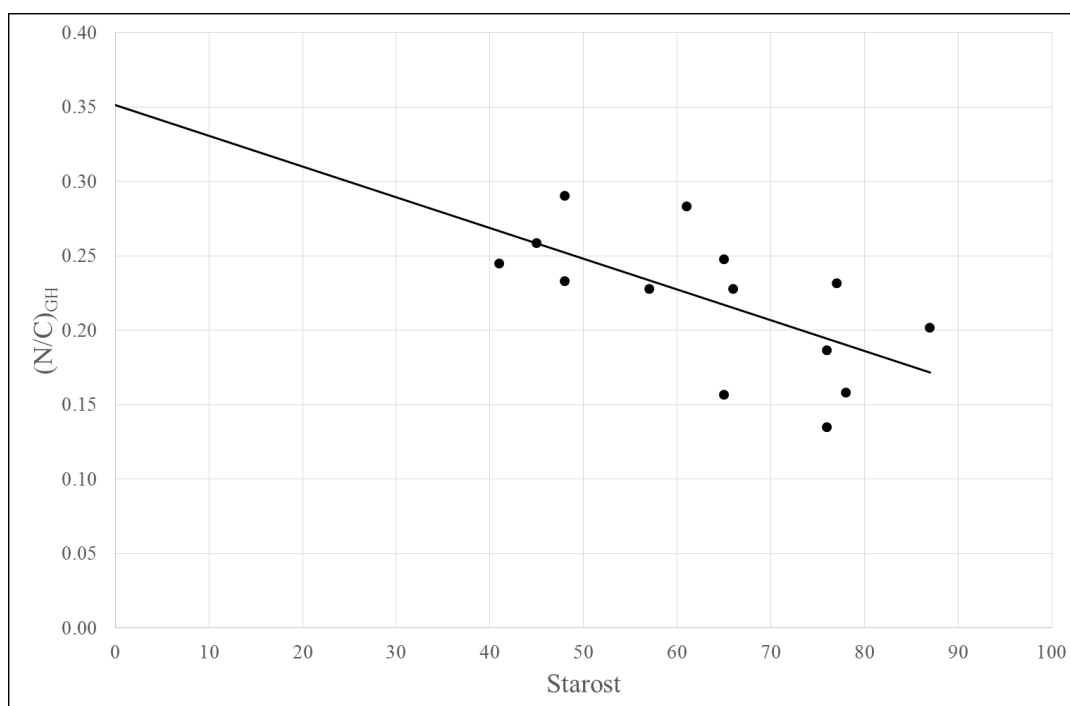
A_{GH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	101.78	21.08		4.83	<0.001
Starost	0.82	0.32	0.59	2.52	0.03
$R^2 = 0.29$; $F(1,12) = 6.36$, $p=0.03$; Model: $A_{GH} = 101.78 + \text{Starost} \times 0.82$					
B_{GH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	36.67	3.19		11.49	<0.001
Starost	0.14	0.05	0.65	2.95	0.010
$R^2 = 0.37$; $F(1,12) = 8.71$, $p=0.01$; Model: $B_{GH} = 36.67 + \text{Starost} \times 0.14$					
D_{FGH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	13.11	1.29		10.17	<0.001
Starost	0.06	0.02	0.63	2.82	0.020
$R^2 = 0.35$; $F(1,12) = 7.95$, $p=0.02$; Model: $D_{FGH} = 13.11 + \text{Starost} \times 0.06$					
$(N/C)_{GH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.35	0.05		7.26	<0.001
Starost	-0.0021	0.0007	-0.63	-2.78	0.020
$R^2 = 0.34$; $F(1,12) = 7.70$, $p=0.02$; Model: $D_{FGH} = 0.351 - \text{Starost} \times 0.002$					



Grafikon 25. Korelacija između starosti i aree GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva



Grafikon 26. Korelacija između starosti i, perimetra, odnosno Feretovog dijametra GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.



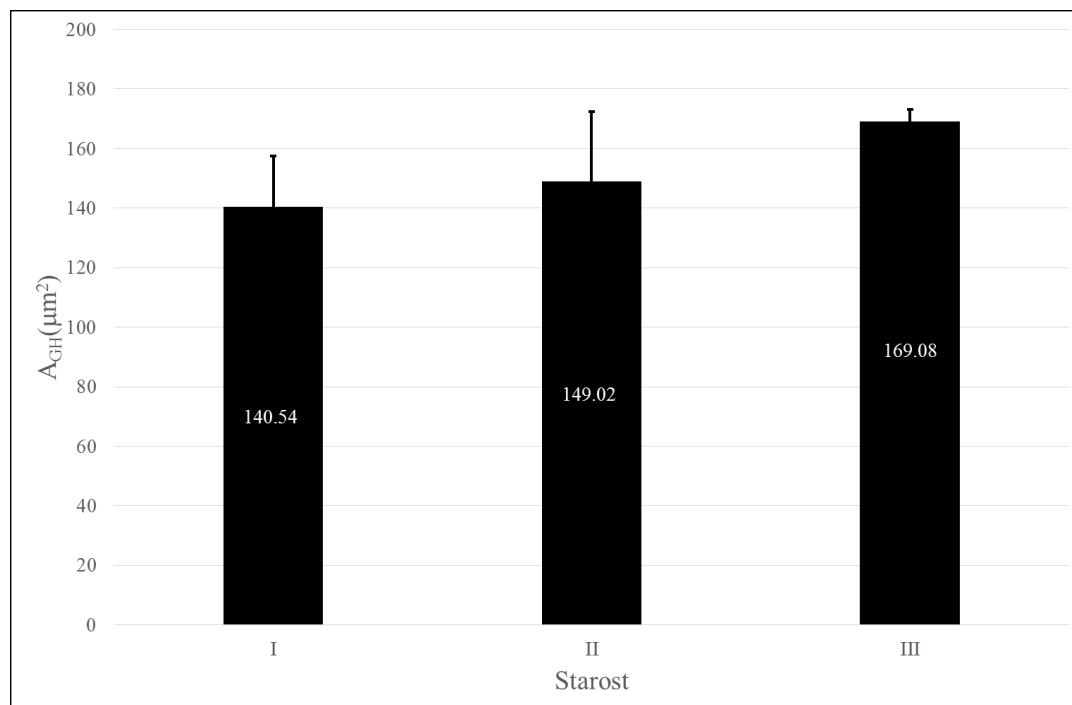
Grafikon 27. Korelacija između starosti i nukleocitoplazmatskog odnosa GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 23).

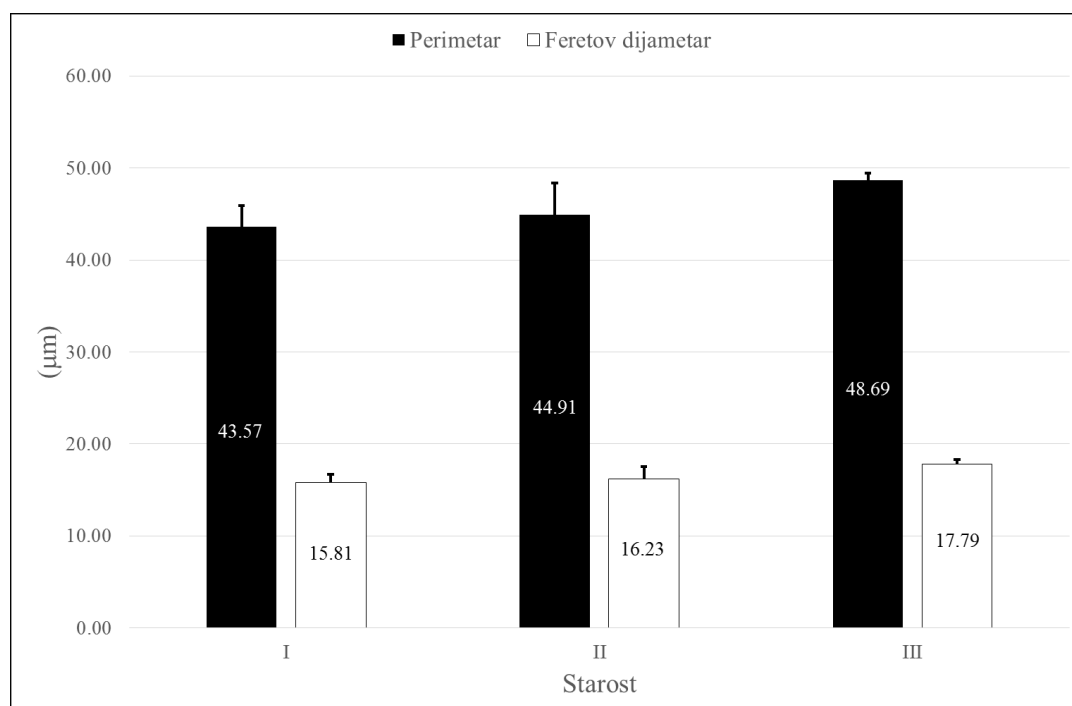
Tabela 23. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
A _{GH} (μm ²)	I	4	140.54	16.90	8.45	113.64	167.43	/
	II	5	149.02	23.45	10.49	119.91	178.14	/
	III	5	169.08	4.00	1.79	164.12	174.04	/
ANOVA				F(2,11) = 3.50, p = 0.07				
B _{GH} (μm)	I	4	43.57	2.33	1.16	39.87	47.28	b
	II	5	44.91	3.46	1.55	40.61	49.21	/
	III	5	48.69	0.73	0.33	47.79	49.60	b
ANOVA				F(2,11) = 5.44, p = 0.02				
D _{FGH} (μm)	I	4	15.81	0.91	0.45	14.37	17.25	b
	II	5	16.23	1.34	0.60	14.57	17.89	/
	III	5	17.79	0.48	0.21	17.20	18.39	b
ANOVA				F(2,11) = 5.32, p = 0.02				
A _{NGH} (μm ²)	I	4	28.64	3.53	1.77	23.02	34.25	/
	II	5	27.43	5.34	2.39	20.79	34.06	/
	III	5	26.07	5.15	2.30	19.67	32.46	/
ANOVA				F(2,11) = 0.32, p = 0.74				
B _{NGH} (μm)	I	4	19.39	1.13	0.56	17.60	21.18	/
	II	5	18.95	1.79	0.80	16.73	21.17	/
	III	5	18.51	1.73	0.78	16.36	20.67	/
ANOVA				F(2,11) = 0.33, p = 0.73				
D _{FNGH} (μm)	I	4	6.75	0.27	0.14	6.32	7.18	/
	II	5	6.64	0.58	0.26	5.92	7.36	/
	III	5	6.53	0.58	0.26	5.81	7.25	/
ANOVA				F(2,11) = 0.21, p = 0.81				
(N/C) _{GH}	I	4	0.26	0.02	0.01	0.22	0.30	b
	II	5	0.23	0.05	0.02	0.17	0.29	/
	III	5	0.18	0.04	0.02	0.14	0.23	b
ANOVA				F(2,11) = 4.37, p = 0.04				
V _{VGH} (%)	I	4	20.44	6.10	3.05	10.72	30.15	/
	II	5	19.63	3.31	1.48	15.52	23.73	/
	III	5	20.03	6.86	3.07	11.52	28.55	/
ANOVA				F(2,11) = 0.02, p = 0.98				
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna area ($F(2,11) = 3.50, p = 0.07$), zatim prosečan perimetar ($F(2,11) = 5.44, p = 0.02$) i prosečan Feret-ov dijametar ($F(2,11) = 5.32, p = 0.02$) somatotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikoni 28 i 29).



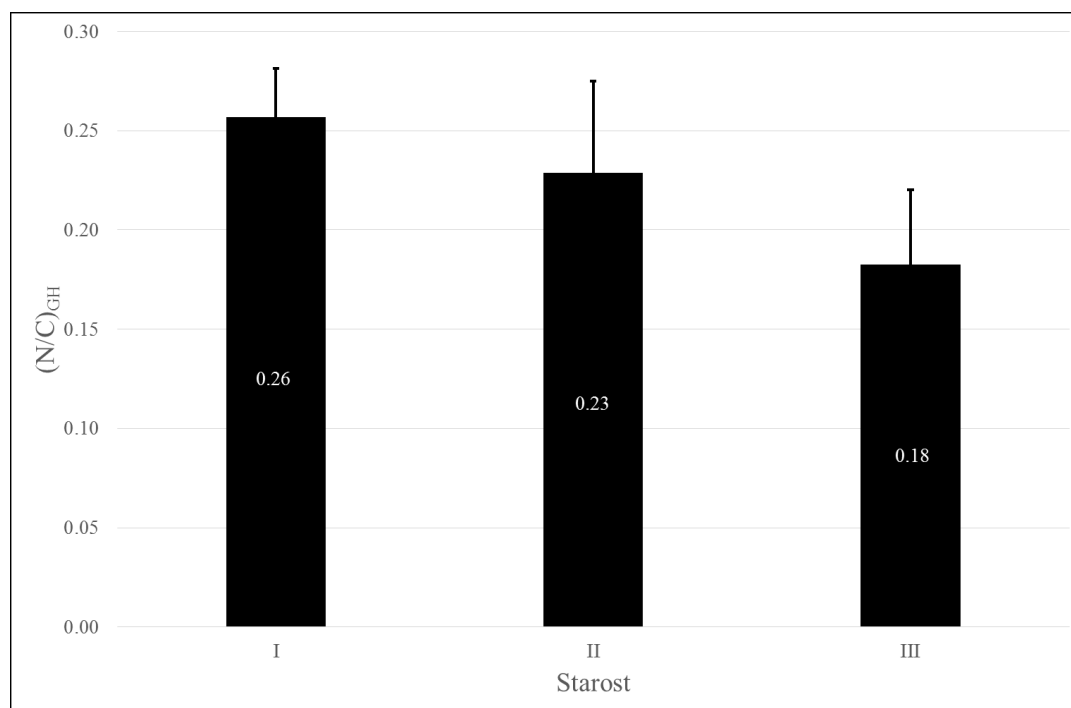
Grafikon 28. Prosečna area GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 29. Prosečan perimetar i prosečan Feretov dijametar GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Post hoc Tukey-Kramer test je ukazao da napred navedeni parametri pokazuju identičan trend tokom starenja, pri čemu su vrednosti perimetra i Feretovog dijametra u III starosnoj grupi bile statistički značajno više samo u odnosu na I starosnu grupu ($p < 0,05$). Prosečne vrednosti ovih parametara II starosne grupe su bile više u odnosu na I starosnu grupu, ali razlika između njih nije bila statistički značajna ($p > 0,05$) (Tabela 23).

Prosečan nukleocitoplazmatski odnos somatotropnih ćelija ventralne polovine adenohipofize se statistički značajno razlikuje između I i III starosne grupe ($F(2,11) = 4.37$, $p = 0.04$). Pri tome, nukleocitoplazmatski odnos ravnomerno opada od I ka III starosnoj grupi, što sugerise ujednačeno opadanje funkcije somatotropnih ćelija tokom procesa starenja (Tabela 23, Grafikon 30).



Grafikon 30. Prosečan nukleocitoplazmatski odnos GH imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

4.2.6. MORFOMETRIJSKA ANALIZA GH IMUNOREAKTIVNIH ČELIJA

DORZALNE POLOVINE ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva dati su u tabeli 24.

Tabela 24. Rezultati morfometrijske analize GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Slučaj	Starost	Grupa	A_{GH} (μm^2)	B_{GH} (μm)	D_{FGH} (μm)	A_{NGH} (μm^2)	B_{NGH} (μm)	D_{FNGH} (μm)	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH} (%)	V_H (cm^3)
1	22	I	124.41	41.03	14.62	23.34	17.55	6.06	0.23	20.12	0.7
3	41	I	159.25	46.27	16.40	29.93	19.77	6.83	0.23	19.21	0.5
5	45	I	128.69	41.89	15.18	28.52	19.31	6.70	0.28	16.37	0.4
2	48	I	156.63	45.18	16.16	31.64	20.33	7.11	0.25	20.58	0.7
4	48	I	125.88	41.70	15.06	27.78	19.08	6.57	0.28	14.23	0.7
8	57	II	128.34	41.36	14.85	21.24	16.59	5.85	0.20	7.36	0.25
9	61	II	147.76	44.80	16.43	29.01	19.56	6.84	0.24	20.14	0.3
6	65	II	145.97	44.84	16.27	25.69	18.48	6.55	0.21	30.30	0.3
7	65	II	153.51	46.25	16.82	22.22	17.22	6.04	0.17	27.94	0.4
10	66	II	184.22	50.83	18.60	34.62	21.34	7.50	0.23	21.67	0.5
11	76	III	162.07	46.73	16.76	26.82	18.79	6.57	0.20	28.53	0.7
12	76	III	165.43	47.77	17.37	20.51	16.53	5.80	0.14	22.04	0.4
13	77	III	179.89	49.65	18.02	33.77	21.19	7.42	0.23	21.90	0.6
15	78	III	168.44	49.20	17.91	23.72	17.89	6.33	0.16	16.73	0.4
14	87	III	203.36	52.55	19.23	31.88	20.44	7.13	0.19	23.67	0.4

Iz dalje morfometrijske analize je isključen slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starosti i astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar), kao i nukleocitoplazmatskog odnosa GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva (Tabela 25).

Tabela 25. Korelaciona matrica starosti i morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Parametar		A_{GH}	B_{GH}	D_{FGH}	A_{NGH}	B_{NGH}	D_{FNGH}	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH}
Starost	R	0.71	0.75	0.77	-0.07	-0.05	0.01	-0.71	0.42
	p	0.004	0.002	0.001	0.81	0.87	0.99	0.01	0.13
	N	14	14	14	14	14	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između astereoloških parametara (prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar) somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize i uzrasta analiziranih slučajeva (Tabela 26). Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12) = 12.48, p=0.004$), perimetra ($F(1,12) = 15.13, p=0.002$) i Feret-ovog dijametra ($F(1,12) = 17.93, p=0.001$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $A_{GH} = 86.95 + \text{Starost} \times 1.11$, $B_{GH} = 34.97 + \text{Starost} \times 0.18$ i $D_{FGH} = 12.24 + \text{Starost} \times 0.07$. Prosečna area, perimetar i Feret-ov dijametar somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja, pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 51% ukupne varijanse aree ($R^2=0,51$) (Grafikon 31), 56% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,56$) i 60% varijanse Feret-ovog dijametra ($R^2=0,60$) (Grafikon 32) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

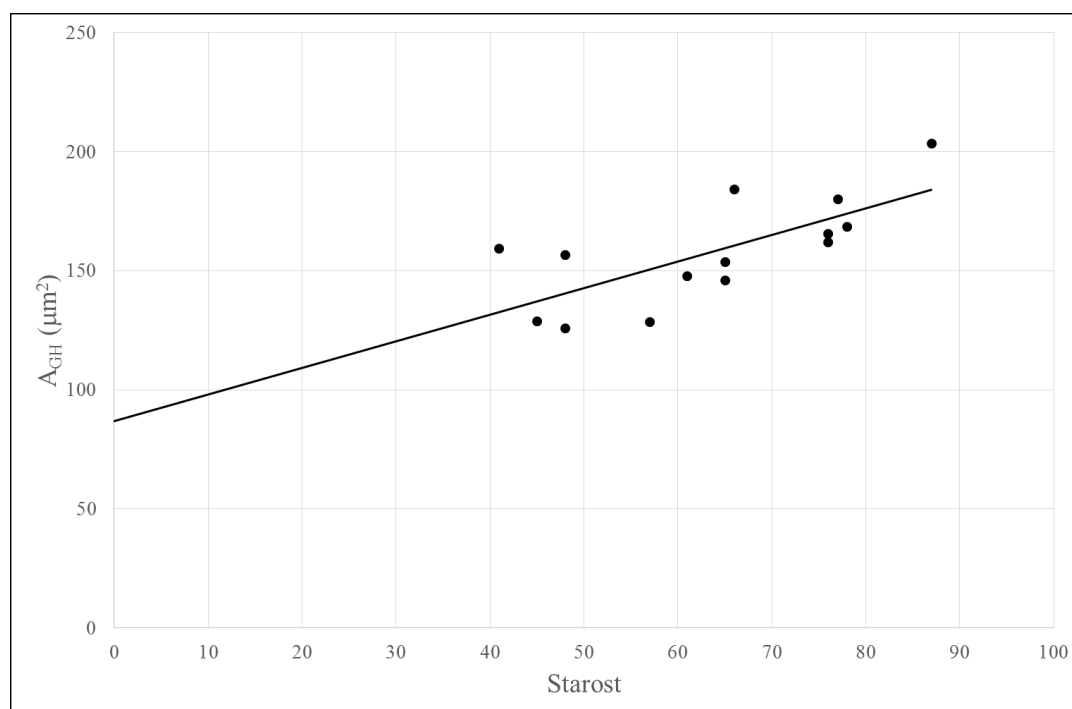
Suprotno napred navedenom, starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada su u pitanju astereološki parametri jedara somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize (area, perimetar i Feret-ov dijametar) ispitanih slučajeva ($p>0,05$).

Starost predstavlja statistički značajan prediktor prosečnog nukleocitoplazmatskog odnosa napred navedenih ćelija adenohipofize ($F(1,12) = 11.92, p=0.005$) (Tabela 26). Ovaj odnos može se identifikovati sledećim modelom $(N/C)_{GH} = 0.35 - \text{Starost} \times 0.002$, što znači da vrednosti nukleocitoplazmatskog odnosa statistički značajno opadaju tokom starenja (Grafikon 33). Starost objašnjava 50% ukupne varijanse ovog parametra ($R^2 = 0,50$), što predstavlja veliki efekat veličine.

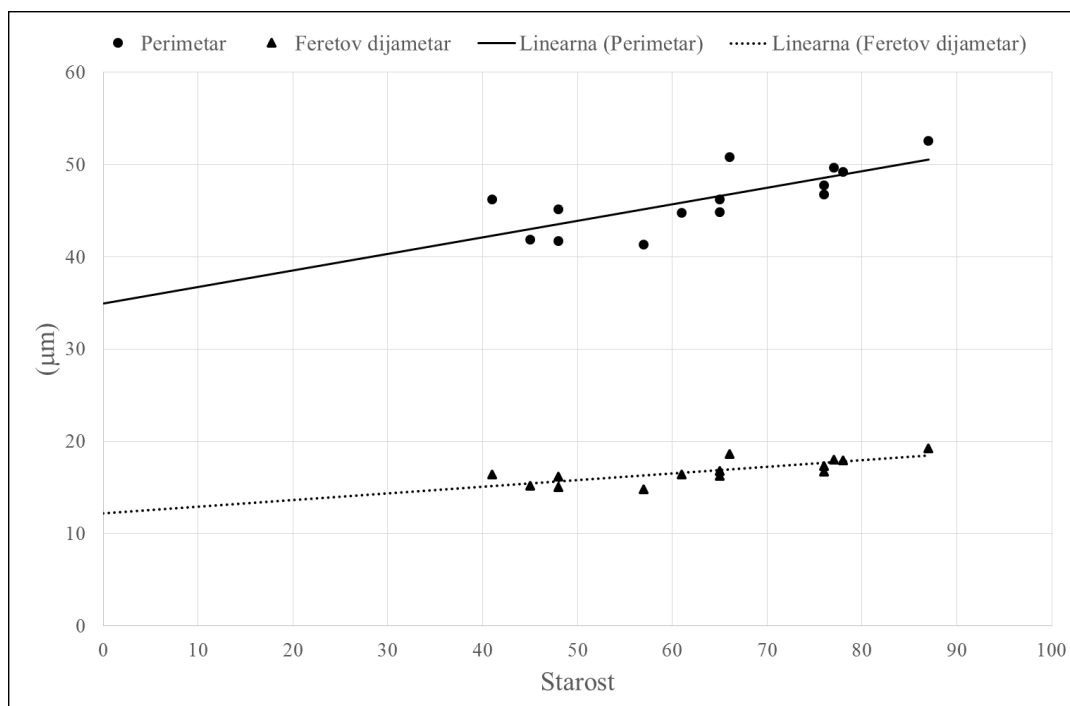
Starost ne predstavlja statistički značajan prediktor kada je u pitanju zapreminska gustina somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize kod istih slučajeva ($p>0,05$).

Tabela 26. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

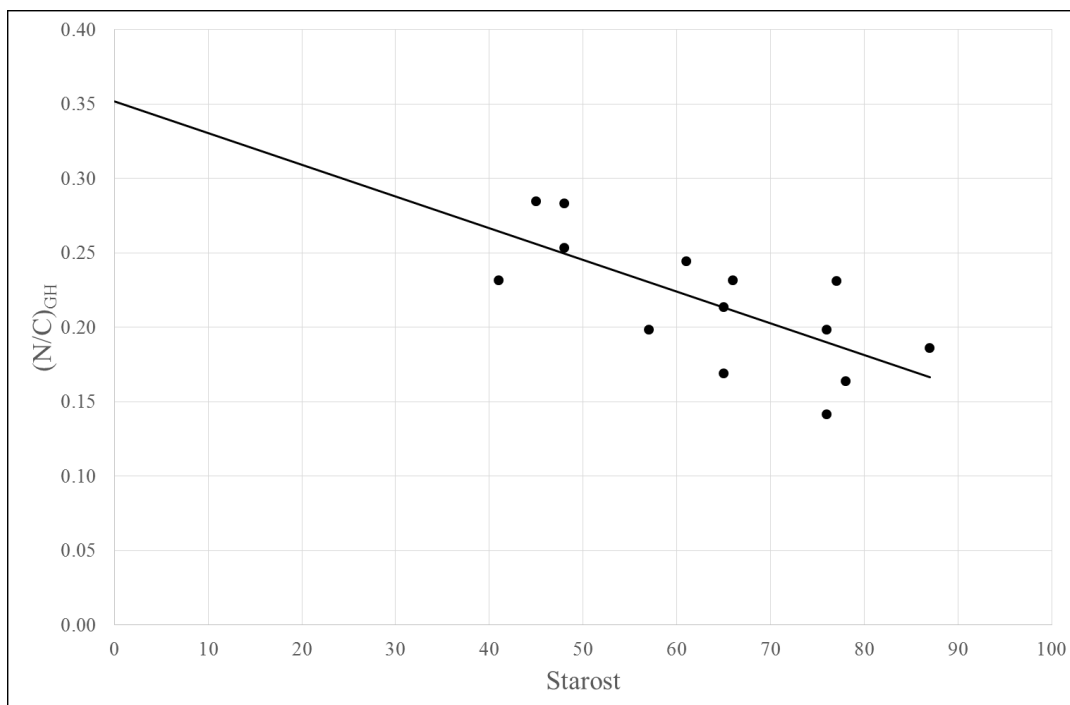
A_{GH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	86.95	20.52		4.24	0.001
Starost	1.11	0.32	0.71	3.53	0.004
$R^2 = 0.51$; $F(1,12) = 12.48$, $p=0.004$; Model: $A_{GH} = 86.95 + \text{Starost} \times 1.11$					
B_{GH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	34.97	2.99		11.68	<0.001
Starost	0.18	0.05	0.75	3.89	0.002
$R^2 = 0.56$; $F(1,12) = 15.13$, $p=0.002$; Model: $B_{GH} = 34.97 + \text{Starost} \times 0.18$					
D_{FGH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	12.24	1.10		11.12	<0.001
Starost	0.07	0.02	0.77	4.23	0.001
$R^2 = 0.60$; $F(1,12) = 17.93$, $p=0.001$; Model: $D_{FGH} = 12.24 + \text{Starost} \times 0.07$					
$(N/C)_{GH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.35	0.04		8.77	<0.001
Starost	-0.0021	0.0006	-0.71	-3.45	0.004
$R^2 = 0.50$; $F(1,12) = 11.92$, $p=0.005$; Model: $D_{FGH} = 0.35 - \text{Starost} \times 0.002$					



Grafikon 31. Korelacija između starosti i aree GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.



Grafikon 32. Korelacija između starosti i perimetra, odnosno Feretovog dijametra GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.



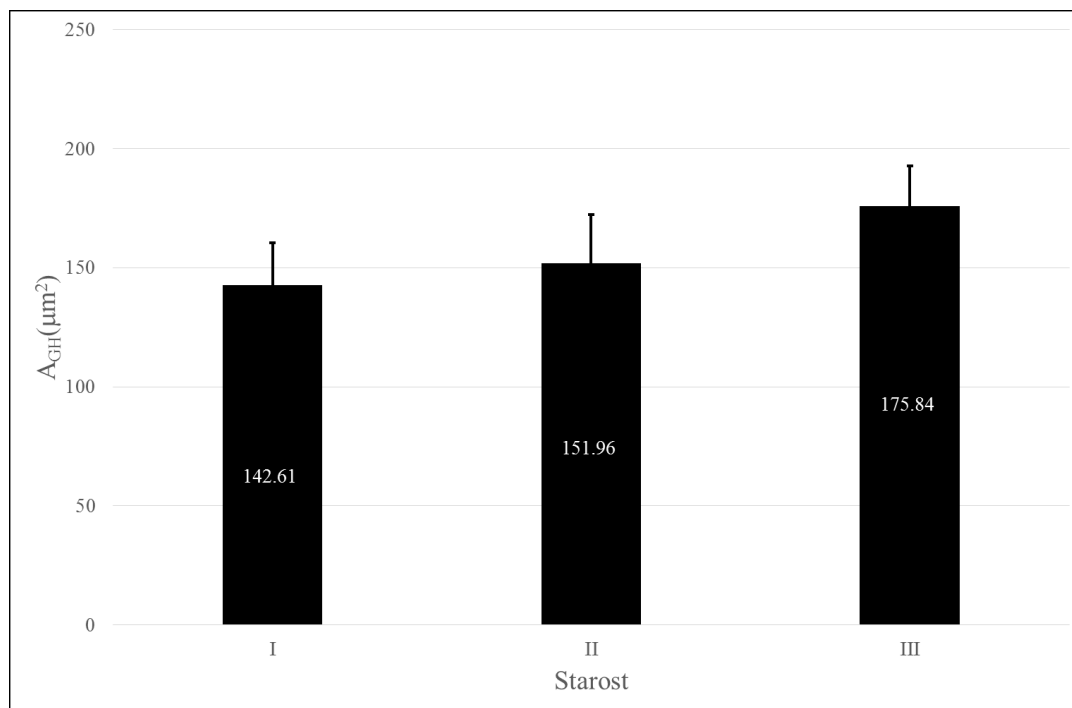
Grafikon 33. Korelacija između starosti i nukleocitoplazmatskog odnosa GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 27).

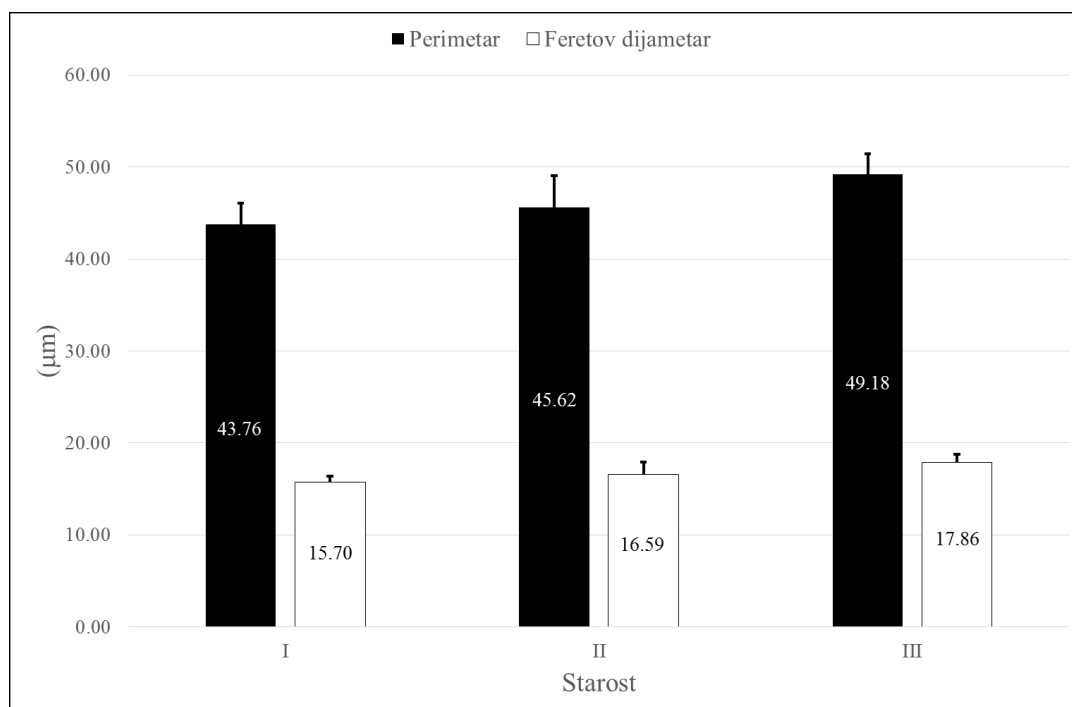
Tabela 27. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
A _{GH} (μm ²)	I	4	142.61	17.77	8.89	114.34	170.89	/
	II	5	151.96	20.34	9.10	126.71	177.21	/
	III	5	175.84	16.78	7.50	155.00	196.67	/
ANOVA				F(2,11) = 4.01, p = 0.049				
B _{GH} (μm)	I	4	43.76	2.31	1.16	40.08	47.44	b
	II	5	45.62	3.42	1.53	41.36	49.87	/
	III	5	49.18	2.21	0.99	46.43	51.93	b
ANOVA				F(2,11) = 4.64, p = 0.03				
D _{FGH} (μm)	I	4	15.70	0.68	0.34	14.62	16.78	b
	II	5	16.59	1.35	0.60	14.92	18.26	/
	III	5	17.86	0.92	0.41	16.72	19.00	b
ANOVA				F(2,11) = 4.87, p = 0.03				
A _{NGH} (μm ²)	I	4	29.47	1.70	0.85	26.76	32.18	/
	II	5	26.56	5.45	2.44	19.79	33.33	/
	III	5	27.34	5.52	2.47	20.48	34.20	/
ANOVA				F(2,11) = 0.43, p = 0.66				
B _{NGH} (μm)	I	4	19.62	0.55	0.28	18.74	20.50	/
	II	5	18.64	1.89	0.85	16.28	20.99	/
	III	5	18.97	1.89	0.85	16.62	21.31	/
ANOVA				F(2,11) = 0.41, p = 0.67				
D _{FNGH} (μm)	I	4	6.80	0.23	0.12	6.43	7.17	/
	II	5	6.56	0.66	0.29	5.74	7.37	/
	III	5	6.65	0.64	0.29	5.85	7.45	/
ANOVA				F(2,11) = 0.21, p = 0.81				
(N/C) _{GH}	I	4	0.26	0.03	0.01	0.22	0.30	b
	II	5	0.21	0.03	0.01	0.17	0.25	/
	III	5	0.18	0.03	0.02	0.14	0.23	b
ANOVA				F(2,11) = 7.69, p = 0.008				
V _{VGH} (%)	I	4	17.59	2.85	1.42	13.06	22.13	/
	II	5	21.48	8.95	4.00	10.36	32.60	/
	III	5	22.58	4.23	1.89	17.32	27.83	/
ANOVA				F(2,11) = 0.78, p = 0.48				
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna area ($F(2,11) = 4.01, p = 0.049$), zatim prosečan perimetar ($F(2,11) = 4.64, p = 0.03$) i prosečan Feret-ov dijametar ($F(2,11) = 4.87, p = 0.03$) somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize statistički značajno rastu tokom procesa starenja (Grafikoni 34 i 35).



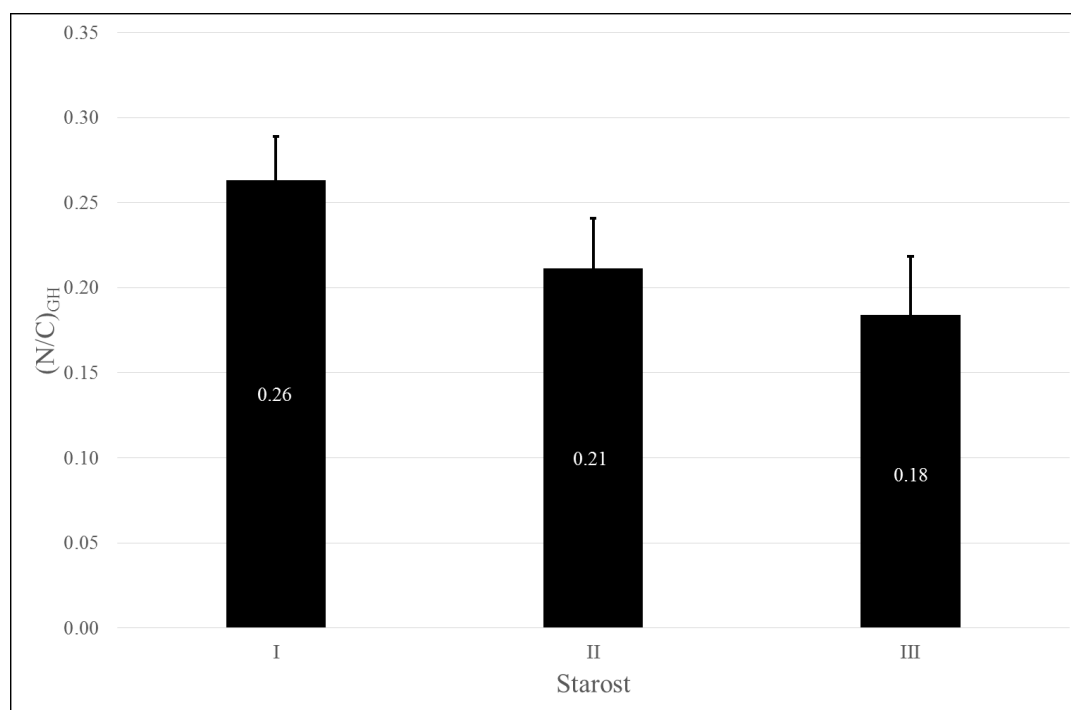
Grafikon 34. Prosečna area GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.



Grafikon 35. Prosečan perimetar, odnosno, prosečan Feretov dijametar GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva.

Post hoc Tukey-Kramer test je ukazao da napred navedeni parametri pokazuju identičan trend tokom starenja, pri čemu su vrednosti perimetra i Feretovog dijametra u III starosnoj grupi bile statistički značajno više samo u odnosu na I starosnu grupu ($p < 0,05$). Prosečne vrednosti ovih parametara II starosne grupe su bile više u odnosu na I starosnu grupu, ali razlika između njih nije bila statistički značajna ($p > 0,05$) (Tabela 27).

Prosečan nukleocitoplazmatski odnos somatotropnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize se statistički značajno razlikuje između I i III starosne grupe ($F(2,11) = 7.69$, $p = 0.008$). Pri tome, nukleocitoplazmatski odnos ravnomerno opada od I ka III starosnoj grupi, što sugerise ujednačeno opadanje funkcije somatotropnih ćelija tokom procesa starenja (Tabela 27, Grafikon 36).



Grafikon 36. Prosečan nukleocitoplazmatski odnos GH imunoreaktivnih ćelija dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

T test za dva zavisna uzorka u tri ispitivane starosne grupe nije pokazao statistički značajne razlike između ventralne i dorzalne polovine adenohipofize ni kod jednog od analiziranih parametara (Tabela 28, 29 i 30).

Tabela 28. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva prve starosne grupe.

Parametar	Polovina	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
A_{GH} (μm^2)	Ventralno	4	140.54	16.9	8.45	-0.20	3	0.85
	Dorzalno	4	142.61	17.77	8.89			
B_{GH} (μm)	Ventralno	4	43.57	2.33	1.16	-0.13	3	0.91
	Dorzalno	4	43.76	2.31	1.16			
D_{FGH} (μm)	Ventralno	4	15.81	0.91	0.45	0.18	3	0.87
	Dorzalno	4	15.70	0.68	0.34			
A_{NGH} (μm^2)	Ventralno	4	28.64	3.53	1.77	-0.52	3	0.64
	Dorzalno	4	29.47	1.7	0.85			
B_{NGH} (μm)	Ventralno	4	19.39	1.13	0.56	-0.46	3	0.68
	Dorzalno	4	19.62	0.55	0.28			
D_{FNGH} (μm)	Ventralno	4	6.75	0.27	0.14	-0.36	3	0.74
	Dorzalno	4	6.80	0.23	0.12			
$(N/C)_{GH}$	Ventralno	4	0.257	0.025	0.012	-0.33	3	0.77
	Dorzalno	4	0.263	0.026	0.013			
V_{VGH} (%)	Ventralno	4	20.44	6.1	3.05	0.72	3	0.52
	Dorzalno	4	17.59	2.85	1.42			

Tabela 29. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva druge starosne grupe.

Parametar	Polovina	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
A_{GH} (μm^2)	Ventralno	5	149.02	23.45	10.49	-0.59	4	0.59
	Dorzalno	5	151.96	20.34	9.10			
B_{GH} (μm)	Ventralno	5	44.91	3.46	1.55	-0.92	4	0.41
	Dorzalno	5	45.62	3.42	1.53			
D_{FGH} (μm)	Ventralno	5	16.23	1.34	0.60	-0.97	4	0.39
	Dorzalno	5	16.59	1.35	0.60			
A_{NGH} (μm^2)	Ventralno	5	27.43	5.34	2.39	0.83	4	0.45
	Dorzalno	5	26.56	5.45	2.44			
B_{NGH} (μm)	Ventralno	5	18.95	1.79	0.80	0.74	4	0.50
	Dorzalno	5	18.64	1.89	0.85			
D_{FNGH} (μm)	Ventralno	5	6.64	0.58	0.26	0.65	4	0.55
	Dorzalno	5	6.56	0.66	0.29			
$(N/C)_{GH}$	Ventralno	5	0.23	0.05	0.02	1.64	4	0.18
	Dorzalno	5	0.21	0.03	0.01			
V_{VGH} (%)	Ventralno	5	19.63	3.31	1.48	-0.61	4	0.57
	Dorzalno	5	21.48	8.95	4.00			

Tabela 30. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva treće starosne grupe.

Parametar	Polovina	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
A_{GH} (μm^2)	Ventralno	5	169.08	4.00	1.79	-0.94	4	0.40
	Dorzalno	5	175.84	16.78	7.50			
B_{GH} (μm)	Ventralno	5	48.69	0.73	0.33	-0.40	4	0.71
	Dorzalno	5	49.18	2.21	0.99			
D_{FGH} (μm)	Ventralno	5	17.79	0.48	0.21	-0.12	4	0.91
	Dorzalno	5	17.86	0.92	0.41			
A_{NGH} (μm^2)	Ventralno	5	26.07	5.15	2.30	-2.23	4	0.09
	Dorzalno	5	27.34	5.52	2.47			
B_{NGH} (μm)	Ventralno	5	18.51	1.73	0.78	-2.35	4	0.08
	Dorzalno	5	18.97	1.89	0.85			
D_{FNGH} (μm)	Ventralno	5	6.53	0.58	0.26	-1.71	4	0.16
	Dorzalno	5	6.65	0.64	0.29			
$(N/C)_{GH}$	Ventralno	5	0.183	0.038	0.017	-0.33	4	0.76
	Dorzalno	5	0.184	0.034	0.015			
V_{VGH} (%)	Ventralno	5	20.03	6.86	3.07	-1.74	4	0.16
	Dorzalno	5	22.58	4.23	1.89			

4.2.7. MORFOMETRIJSKA ANALIZA S100 IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA

VENTRALNE POLOVINE, DORZALNE POLOVINE I CELE ADENOHIPOFIZE

Rezultati morfometrijske analize S100 imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine, dorzalne polovine i cele adenohipofize dati su u tabeli 31.

Tabela 31. Rezultati morfometrijske analize S100 imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine, dorzalne polovine i cele adenohipofize analiziranih slučajeva.

Slučaj	Starost	Grupa	V _{VFSHV} (%)	V _{VFSHD} (%)	V _{VFSH} (%)	V _H (cm ³)
1	22	I	2.17	1.36	1.76	0.7
2	41	I	1.59	0.66	1.13	0.5
3	45	I	1.16	0.84	1.00	0.4
4	48	I	1.88	1.18	1.53	0.7
5	48	I	1.60	1.19	1.40	0.7
6	57	II	1.33	1.07	1.20	0.25
7	61	II	2.94	2.56	2.75	0.3
8	65	II	3.44	4.49	3.96	0.3
9	65	II	2.46	1.74	2.10	0.4
10	66	II	2.26	1.51	1.88	0.5
11	76	III	2.26	1.56	1.91	0.7
12	76	III	2.81	3.63	3.22	0.4
13	77	III	3.13	1.74	2.44	0.6
14	78	III	3.37	3.30	3.34	0.4
15	87	III	4.79	2.69	3.74	0.4

Iz dalje morfometrijske analize izuzet je slučaj pod rednim brojem 1, zbog velike razlike u godinama starosti u odnosu na ostale slučajeve grupe I.

Morfometrijska analiza imunohistohemijski obojenih preseka adenohipofize obuhvatala je kvantifikaciju prisustva S100 imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine, dorzalne polovine i cele adenohipofize kod slučajeva različite starosti. Dobijeni rezultati su prezentovani u tabeli 31.

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između starenja i prosečne zapreminske gustine S100 imunoreaktivnih ćelija ventralne polovine, dorzalne polovine i cele adenohipofize (Tabela 32).

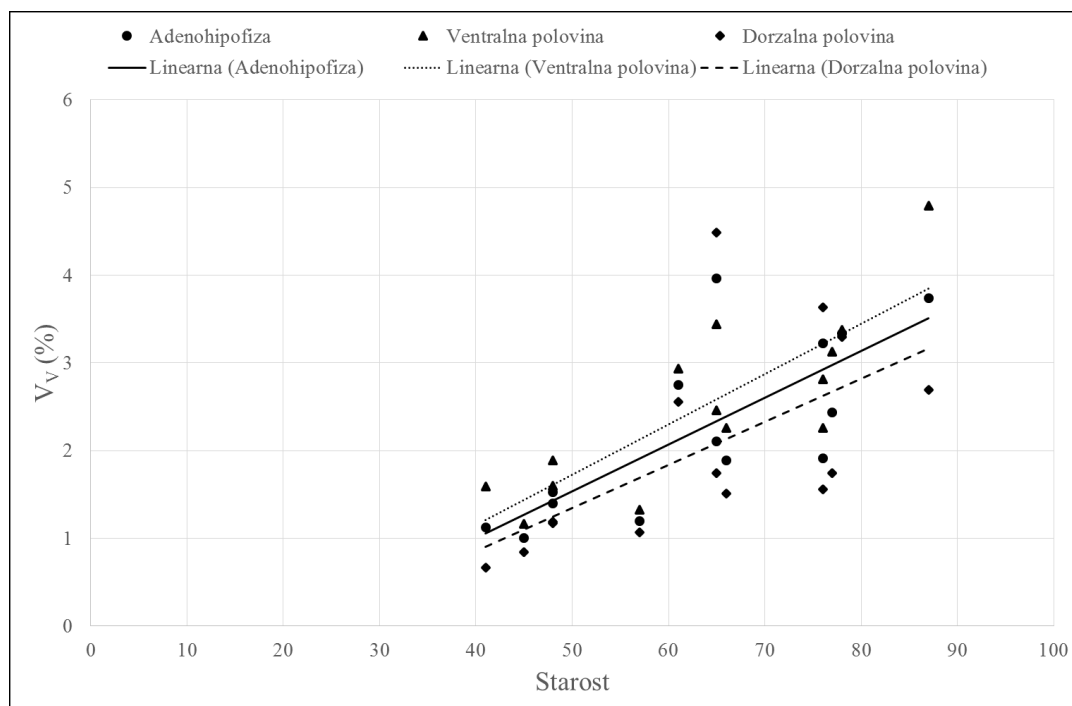
Tabela 32. Korelaciona matrica starosti i vrednosti morfometrijskih parametara S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva

Parametar		V _{VFSHV}	V _{VFSHD}	V _{VFSH}
Starost	R	0.80	0.59	0.75
	p	0.001	0.025	0.002
	N	14	14	14

Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli (Tabela 33). Rezultati su pokazali da starost ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor volumenske gustine cele adenohipofize ($F(1,12) = 15.21, p=0.002$), ventralne polovine adenohipofize ($F(1,12) = 21.32, p=0.001$) i dorzalne polovine adenohipofize ($F(1,12) = 6.50, p=0.03$), što se može predstaviti sa tri sledeća modela: $V_{VFSH} = \text{Starost} \times 0.05 - 1.10$, $V_{VFSHV} = \text{Starost} \times 0.06 - 1.06$ i $V_{VFSHD} = \text{Starost} \times 0.05 - 1.05$. Prosečna zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize statistički značajno raste tokom procesa starenja, pri čemu starost ispitanih slučajeva objašnjava 52% ukupne varijanse cele adenohipofize ($R^2=0,52$), 61% ukupne varijanse ventralne polovine ($R^2= 0,61$) i 30% ukupne varijanse dorzalne polovine adenohipofize ($R^2=0,30$) (Grafikon 37) i u sva tri slučaja predstavlja veliki efekat veličine.

Tabela 33. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između starosti kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

V_{VFSH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	-1.10	0.88		-1.24	0.24
Starost	0.05	0.01	0.75	3.90	0.002
$R^2 = 0.52; F(1,12) = 15.21, p=0.002; \text{Model: } V_{VFSH} = \text{Starost} \times 0.05 - 1.10$					
V_{VFSHV}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	-1.06	0.78		-1.37	0.20
Starost	0.06	0.01	0.80	4.62	0.001
$R^2 = 0.61; F(1,12) = 21.32, p=0.001; \text{Model: } B_{LH} = \text{Starost} \times 0.06 - 1.06$					
V_{VFSHD}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	-1.05	1.24		-0.85	0.41
Starost	0.05	0.02	0.59	2.55	0.030
$R^2 = 0.30; F(1,12) = 6.50, p=0.03; \text{Model: } D_{FLH} = \text{Starost} \times 0.05 - 1.05$					



Grafikon 37. Korelacija između starosti i zapreminske gustine S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

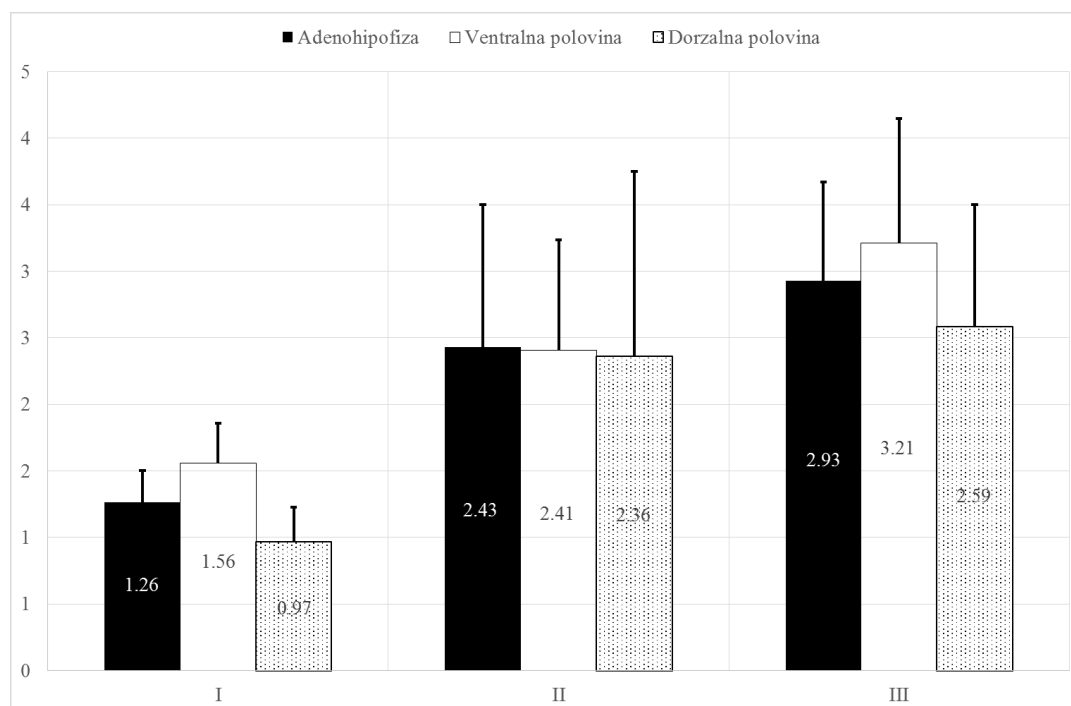
Detaljnija dinamika starosnih promena prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa ispitivana je pomoću **One Way ANOVA testa** (Tabela 34).

Tabela 34. Rezultati univarijantnog ANOVA testa između prosečnih vrednosti morfometrijskih parametara S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Grupa	N	Prosek	SD	SE	95% CI		Tukey post hoc test
						LB	UB	
V _{VFSH} (%)	I	4	1.26	0.24	0.12	0.88	1.65	b
	II	5	2.43	1.07	0.48	1.10	3.76	/
	III	5	2.93	0.74	0.33	2.01	3.85	b
ANOVA		F(2,11) = 5.01, p = 0.03						
V _{VFSHV} (%)	I	4	1.56	0.30	0.15	1.08	2.03	b
	II	5	2.41	0.83	0.37	1.37	3.44	/
	III	5	3.21	0.94	0.42	2.04	4.38	b
ANOVA		F(2,11) = 5.08, p = 0.03						
V _{VFSHD} (%)	I	4	0.97	0.26	0.13	0.56	1.38	/
	II	5	2.36	1.39	0.62	0.64	4.09	/
	III	5	2.59	0.92	0.41	1.45	3.73	/
ANOVA		F(2,11) = 3.22, p = 0.08						
a - I : II, p < 0.05; b - I : III, p < 0.05; c - II : III, p < 0.05								

Prosečna zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija za celu adenohipofizu ($F(2,11) = 5.01, p = 0.03$) i za ventralnu polovinu adenohipofize ($F(2,11) = 5.08, p = 0.03$) statistički značajno raste tokom procesa starenja (Grafikon 38). Međutim, prosečna zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija za dorzalnu polovinu adenohipofize ($F(2,11) = 3.22, p = 0.08$) iako raste ne pokazuje statistički značajan porast tokom procesa starenja (Grafikon 38).

Post hoc Tukey-Kramer test je ukazao da zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija pokazuje identičan trend tokom starenja kod cele adenohipofize i njene ventralne polovine, pri čemu su njene vrednosti u III starosnoj grupi bile statistički značajno više u odnosu na I starosnu grupu ($p < 0,05$), ali ne i u odnosu na II starosnu grupu ($p > 0,05$). Prosečna vrednost ovog parametra II starosne grupe je bila viša u odnosu na I starosnu grupu, ali ta razlika nije bila statistički značajna ($p > 0,05$). Nasuprot ovome, zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija kod dorzalne polovine adenohipofize ne pokazuje statistički značajne razlike između tri analizirane starosne grupe ($p > 0,05$).

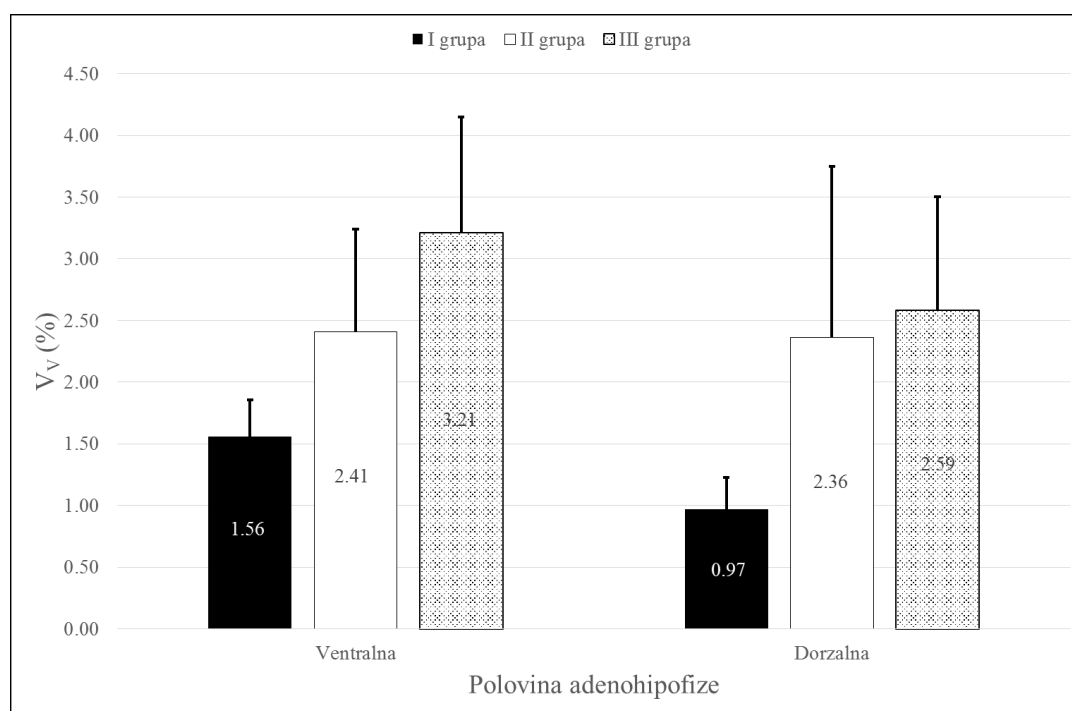


Grafikon 38. Prosečna zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize, ventralne polovine i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

T test za dva zavisna uzorka samo je u I starosnoj grupi pokazao statistički značajnu razliku zapreminske gustine S100 imunoreaktivnih ćelija između ventralne i dorzalne polovine adenohipofize ($p < 0,05$). Razlike ovog parametra između ventralne i dorzalne polovine adenohipofize nisu bile statistički značajne u II i III starosnoj grupi ($p > 0,05$) (Tabela 35 i Grafikon 39).

Tabela 35. Rezultati T – testa za dva zavisna uzorka i prosečne vrednosti morfometrijskih parametara S100 imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

Parametar	Polovina	Grupa	N	Prosek	SD	SE	T	SS	p
V _{VFS} (%)	Ventralna	I	4	1.56	0.30	0.15	4.25	3	0.02
	Dorzalna		4	0.97	0.26	0.13			
V _{VFS} (%)	Ventralna	II	5	2.41	0.83	0.37	0.15	4	0.89
	Dorzalna		5	2.36	1.39	0.62			
V _{VFS} (%)	Ventralna	III	5	3.21	0.94	0.42	1.25	4	0.28
	Dorzalna		5	2.59	0.92	0.41			



Grafikon 39. Prosečna zapreminska gustina S100 imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih starosnih grupa.

4.2.8. KORELACIJA IZMEĐU MORFOMETRIJSKIH PARAMETARA

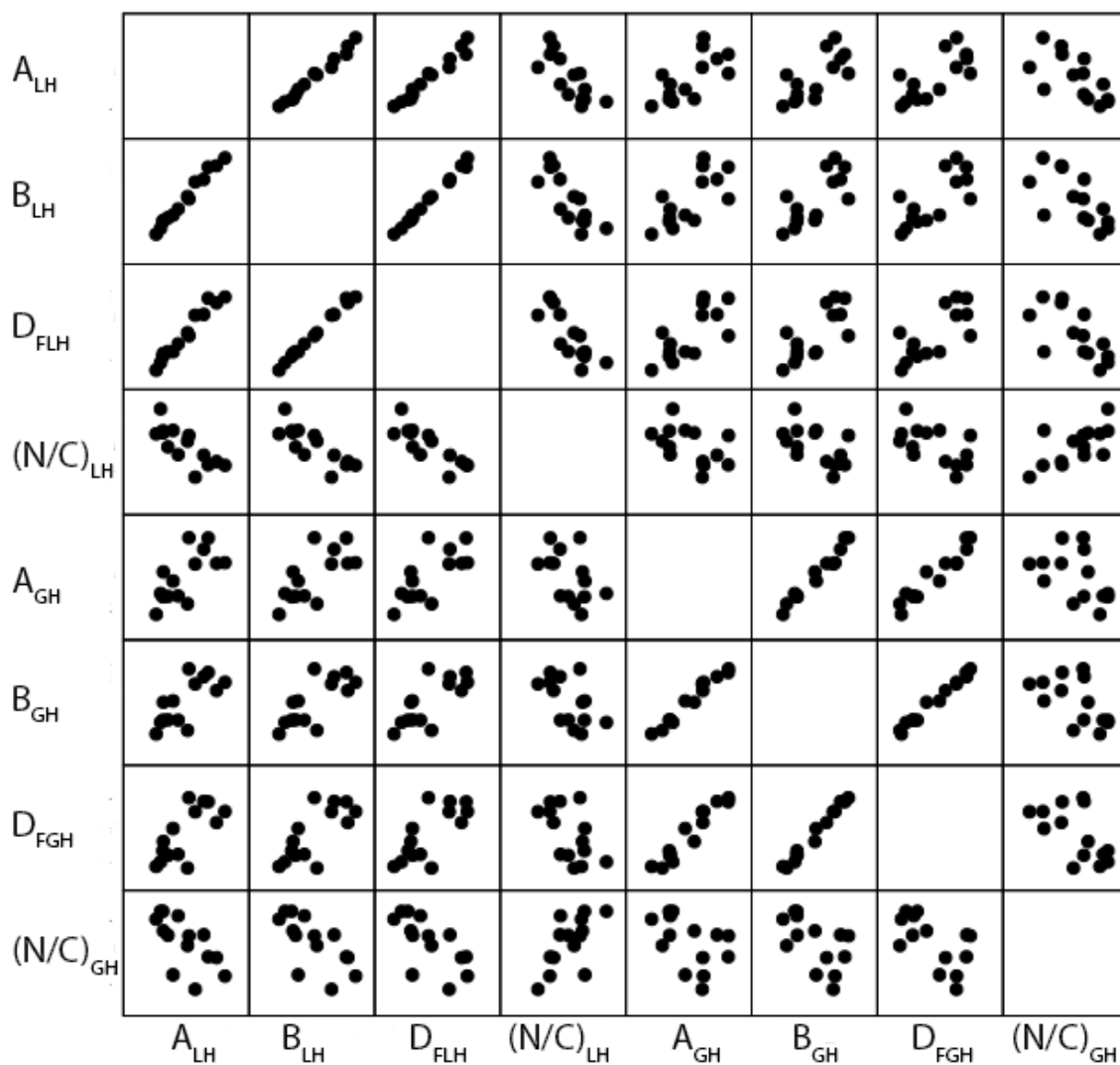
GONADOTROPNIH LH I SOMATOTROPNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE

Korelacija između morfolometrijskih parametara gonadotropnih LH i somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva data je u Tabeli 36 i Grafikonu 40.

Area, perimetar i Feretov dijametar LH ćelija statistički značajno koreliraju sa areom, perimetrom, Feretovim dijametrom i nukleocitoplazmatskim odnosom GH ćelija adenohipofize. Nukleocitoplazmatski odnos LH ćelija statistički značajno korelira samo sa perimetrom, Feretovim dijametrom i nukleocitoplazmatskim odnosom GH ćelija adenohipofize.

Tabela 36. Korelacija između morfolometrijskih parametara gonadotropnih LH i somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva

Parametar		A_{GH}	B_{GH}	D_{FGH}	A_{NGH}	B_{NGH}	D_{FNGH}	$(N/C)_{GH}$	V_{VGH}
A_{LH}	R	0.69	0.73	0.73	-0.1	-0.09	-0.05	-0.65	-0.02
	p	0.006	0.003	0.003	0.74	0.76	0.87	0.012	0.94
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
B_{LH}	R	0.71	0.74	0.74	-0.11	-0.11	-0.07	-0.67	-0.01
	p	0.004	0.002	0.003	0.7	0.72	0.81	0.009	0.97
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
D_{FLH}	R	0.73	0.75	0.74	-0.09	-0.09	-0.05	-0.67	0.01
	p	0.003	0.002	0.002	0.75	0.76	0.85	0.009	0.98
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
A_{NLH}	R	0.36	0.31	0.28	0.34	0.33	0.35	-0.01	-0.24
	p	0.2	0.28	0.33	0.24	0.24	0.22	0.96	0.41
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
B_{NLH}	R	0.38	0.33	0.3	0.36	0.36	0.38	-0.01	-0.23
	p	0.18	0.25	0.29	0.21	0.21	0.18	0.97	0.42
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
D_{FNLH}	R	0.44	0.4	0.39	0.38	0.38	0.41	-0.03	-0.27
	p	0.12	0.16	0.16	0.18	0.18	0.15	0.91	0.34
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
$(N/C)_{LH}$	R	-0.47	-0.54	-0.56	0.31	0.3	0.26	0.65	-0.14
	p	0.09	0.046	0.036	0.29	0.3	0.36	0.012	0.64
	N	14	14	14	14	14	14	14	14
V_{VLH}	R	0.38	0.41	0.42	0.06	0.05	0.08	-0.31	0.21
	p	0.18	0.15	0.13	0.83	0.86	0.8	0.28	0.47
	N	14	14	14	14	14	14	14	14



Grafikon 40. Matriksscatter dijagram korelacije između morfoloških parametara gonadotropnih LH i somatotropnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

4.2.9. KORELACIJA IZMEĐU PROSEČNE ZAPREMINSKE GUSTINE S100 I MORFOMETRIJSKIH PARAMETARA LH I GH IMUNOREAKTIVNIH ĆELIJA ADENOHIPOFIZE

Korelaciona analiza je ukazala na prisustvo statistički značajne korelacije između prosečne zapreminske gustine S100 imunoreaktivnih ćelija adenohipofize i aree, perimetra, Feretovog dijametra i nukleocitoplazmatskog odnosa gonadotropnih ćelija, a takođe i nukleocitoplazmatskog odnosa somatotropnih ćelija (Tabela 37).

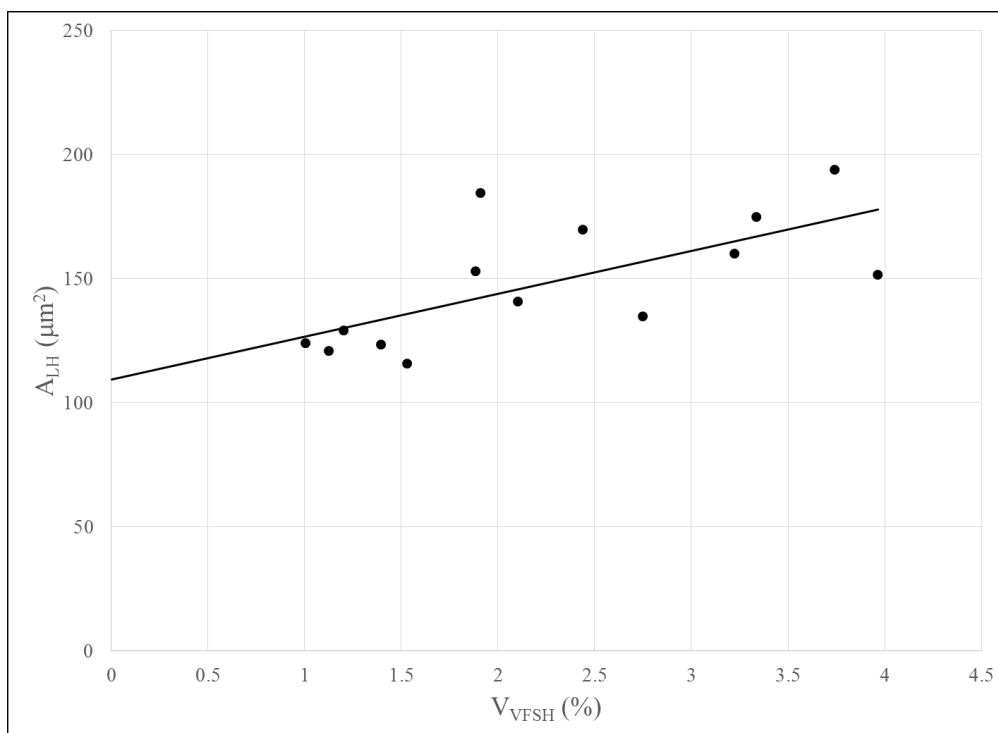
Tabela 37. Korelaciona matrica zapreminske gustine FS ćelija i vrednosti morfometrijskih parametara LH i GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

Parametar	A _{LH}	B _{LH}	D _{FLH}	A _{NLH}	B _{NLH}	D _{FNLH}	(N/C) _{LH}	V _{VLH}	A _{GH}	B _{GH}	D _{FGH}	A _{NGH}	B _{NGH}	D _{FNGH}	(N/C) _{GH}	V _{VGH}
R	0.68	0.69	0.68	0.18	0.19	0.26	-0.59	0.09	0.29	0.35	0.38	-0.49	-0.5	-0.48	-0.71	-0.33
V _{VFSH} p	0.007	0.006	0.007	0.53	0.51	0.37	0.03	0.76	0.31	0.22	0.18	0.07	0.07	0.08	0.005	0.25
N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14

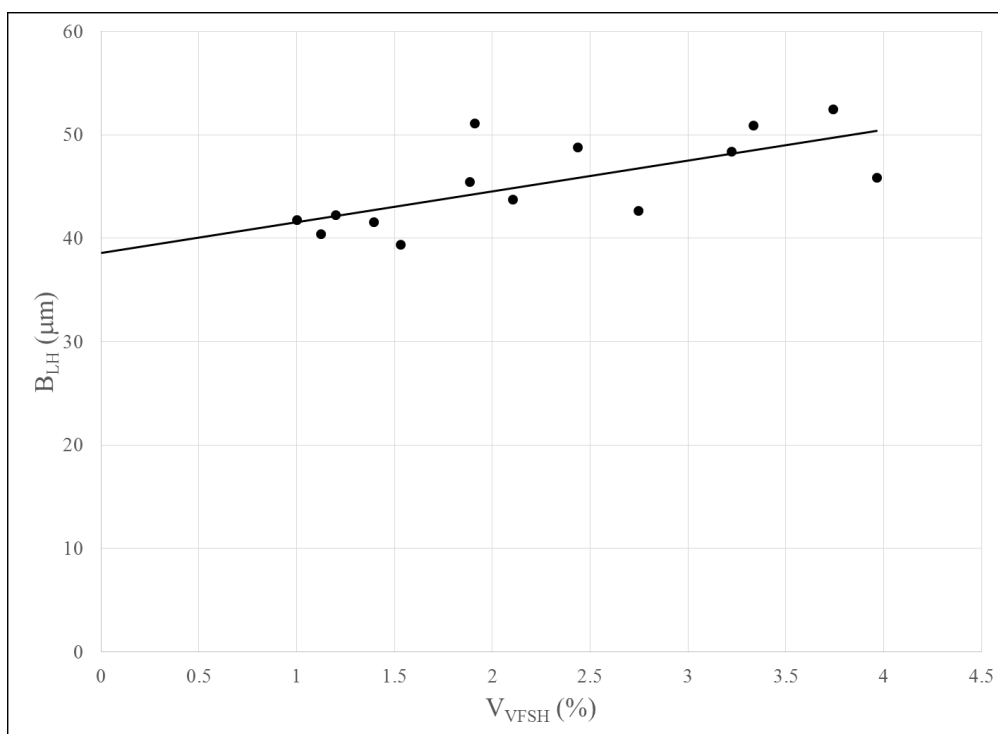
Linearna regresiona analiza je sprovedena u cilju ispitivanja veze između zapreminske gustine FS ćelija kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara LH i GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli (Tabela 38). Rezultati su pokazali da zapreminska gustina FS ćelija ispitanih slučajeva predstavlja statistički značajan prediktor aree ($F(1,12) = 10.33$, $p=0.007$), perimetra ($F(1,12) = 10.93$, $p=0.006$), Feretovog dijametra ($F(1,12) = 10.36$, $p=0.007$) i nukleocitoplazmatskog odnosa ($F(1,12) = 6.42$, $p=0.03$) LH ćelija i nukleocitoplazmatskog odnosa ($F(1,12) = 12.08$, $p=0.005$) GH ćelija, što se može predstaviti sledećim modelima: $A_{LH} = 109.42 + V_{VFSH} \times 17.25$, $B_{LH} = 38.60 + V_{VFSH} \times 2.98$, $D_{FLH} = 13.83 + V_{VFSH} \times 1.16$, $(N/C)_{LH} = 0.271 - V_{VFSH} \times 0.025$ i $(N/C)_{GH} = 0.287 - V_{VFSH} \times 0.031$. Porast zapreminske gustine FS ćelija adenohipofize je praćen statistički značajnim uvećanjem aree (Grafikon 41), perimetra (Grafikon 42) i Feretovog dijametra (Grafikon 43), odnosno statistički značajnim smanjenjem nukleocitoplazmatskog odnosa LH ćelija, kao i statistički značajnim smanjenjem nukleocitoplazmatskog odnosa GH ćelija (Grafikon 44), pri čemu zapreminska gustina FS ćelija ispitanih slučajeva objašnjava 42% ukupne varijanse aree ($R^2=0,42$), 43% ukupne varijanse perimetra ($R^2= 0,43$), 42% ukupne varijanse Feretovog dijametra ($R^2=0,42$) i 29% ukupne varijanse nukleocitoplazmatskog odnosa ($R^2= 0,29$) LH ćelija, a takođe i 46% ukupne varijanse nukleocitoplazmatskog odnosa ($R^2= 0,46$) GH ćelija i u svim slučajevima predstavlja veliki efekat veličine.

Tabela 38. Rezultati bivarijantne linearne regresione analize između zapreminske gustine FS ćelija kao nezavisne i analiziranih morfometrijskih parametara LH i GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize kao zavisno promenljivih varijabli.

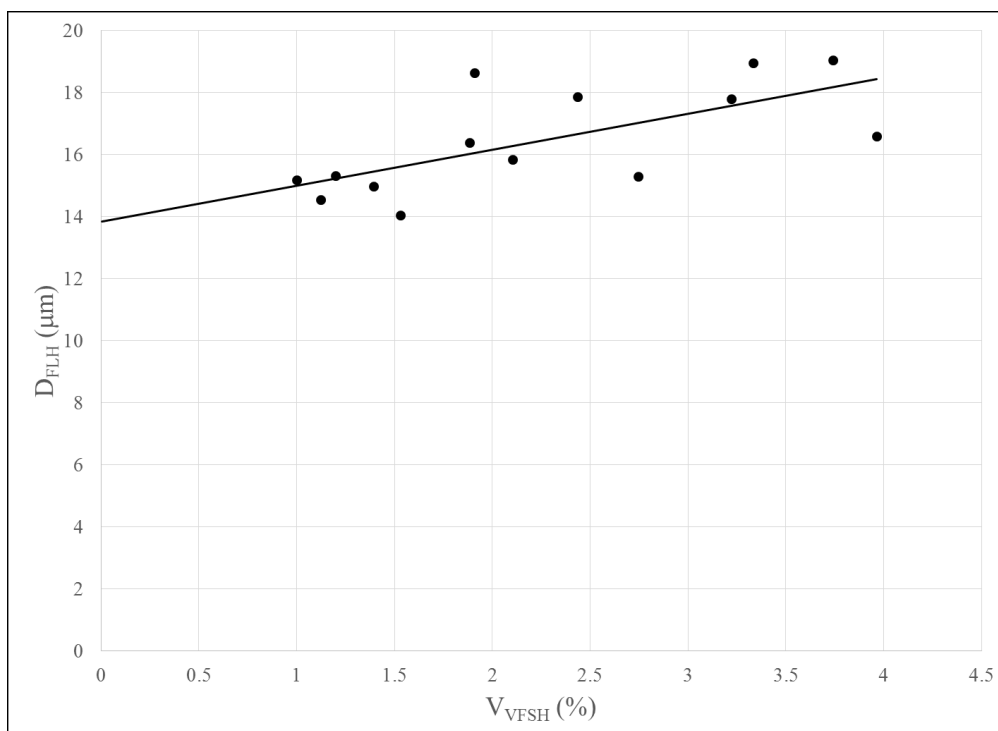
A_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	109.42	13.17		8.31	<0.001
$V_{VF\text{SH}}$	17.25	5.37	0.68	3.21	0.007
$R^2 = 0.42; F(1,12) = 10.33, p=0.007; \text{Model: } A_{LH} = 109.42 + V_{VF\text{SH}} \times 17.25$					
B_{LH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	38.60	2.21		17.45	<0.001
$V_{VF\text{SH}}$	2.98	0.90	0.69	3.31	0.006
$R^2 = 0.43; F(1,12) = 10.93, p=0.006; \text{Model: } B_{LH} = 38.60 + V_{VF\text{SH}} \times 2.98$					
D_{FLH}					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	13.83	0.89		15.62	<0.001
$V_{VF\text{SH}}$	1.16	0.36	0.68	3.22	0.007
$R^2 = 0.42; F(1,12) = 10.36, p=0.007; \text{Model: } D_{FLH} = 13.83 + V_{VF\text{SH}} \times 1.16$					
$(N/C)_{LH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.27	0.02		11.26	<0.001
$V_{VF\text{SH}}$	-0.02	0.01	-0.59	-2.53	0.03
$R^2 = 0.29; F(1,12) = 6.42, p=0.03; \text{Model: } (N/C)_{LH} = 0.271 - V_{VF\text{SH}} \times 0.025$					
$(N/C)_{GH}$					
Varijabla	B	SEB	β	t	p
Konstanta	0.29	0.02		13.30	<0.001
$V_{VF\text{SH}}$	-0.03	0.01	-0.71	-3.48	0.005
$R^2 = 0.46; F(1,12) = 12.08, p=0.005; \text{Model: } (N/C)_{GH} = 0.287 - V_{VF\text{SH}} \times 0.031$					



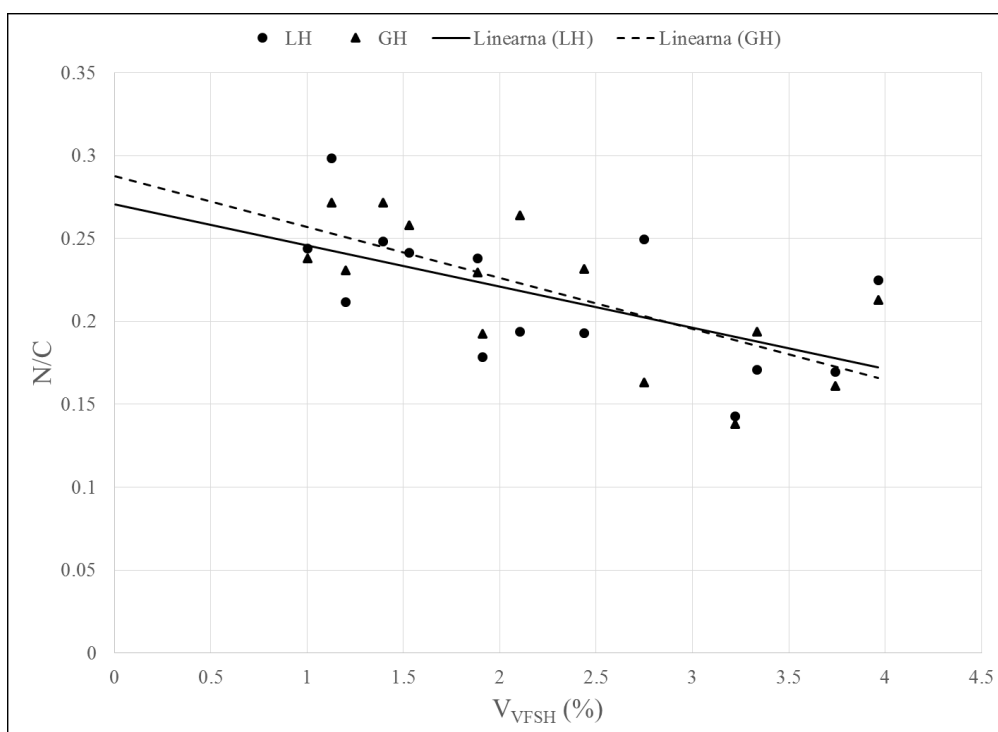
Grafikon 41. Korelacija između zapreminske gustine FS ćelija i aree LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.



Grafikon 42. Korelacija između zapreminske gustine FS ćelija i, perimetra LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva



Grafikon 43. Korelacija između zapreminske gustine FS ćelija i Feretovog dijametra LH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.



Grafikon 44. korelacija između zapreminske gustine FS ćelija i nukleocitoplazmatskog odnosa LH i GH imunoreaktivnih ćelija adenohipofize analiziranih slučajeva.

5. DISKUSIJA

S obzirom na to da morfometrijske metode sa pouzdanom tačnošću omogućuju kvantitativnu procenu dinamike promena u strukturama tela (Kališnik, 1985), u ovim istraživanjima imale su za cilj da posluže kao sredstvo za kvantifikovanje promena na nivou gonadotropnih, somatotropnih i folikulostelatih ćelija adenohipofize tokom procesa starenja. Utoliko pre što ove metode veoma egzaktno povezuju strukturne promene sa funkcijom pojedinih organa, kao što je to lepo definisao Wiebel: „Stereologija predstavlja most između strukture i funkcije, koje su samo dva aspekta istog životnog zbivanja“ (Elias i Hyde, 1980; Stefanović, 1987).

U ovom poglavlju rezultate našeg istraživanja analiziraćemo i pokušati da objasnimo u svetlu literaturnih podataka, koji se odnose na istraživanja istih struktura kod čoveka i životinja.

Nekoliko poslednjih decenija sve je više istraživača koji za brojne promene u organizmu tokom starenja smatraju odgovornim endokrini odnosno neuroendokrini sistem. Naime, i u endokrinim kao i u ostalim tkivima organizma tokom starenja nastaju strukturne promene, koje za posledicu imaju odgovarajuće funkcionalne abnormalnosti. Ove se, pak, ogledaju u poremećenoj sintezi i sekreciji hormona koji se stvaraju u pojedinim žlezdama. Pri tome se obrazac sekrecije hormona na različitim nivoima (hipotalamusu i perifernim žlezdanim tkivima) značajno razlikuje. Naime, sa starenjem se nivoi pojedinih hormona povećavaju, drugih opadaju, a nivoi nekih se bitno ne menjaju.

Starenje hipofize, u funkcionalnom pogledu, manifestuje se padom njene sekretorne aktivnosti, pre svega padom nivoa hormona rasta, prolaktina i tirostimulirajućeg hormona u krvi. Ove promene dovode do tzv. bolesti starenja koje predominantno zahvataju organe u kojima navedeni hormoni ispoljavaju svoje dejstvo (Rudman i sar., 1990; Herman i sar., 2001; Smith i sar., 2005). Navedene promene u adenohipofizi najčešće su samo karika u lancu promena, koje zahvataju tzv. hipotalamo-adenohipofizne osovine (hipotalamo-somatotropna (HSO ili GH) osovina, hipotalamo-pituitarno-gonadalna (HPG) osovina, hipotalamo-pituitarno-adrenalna (HPA) osovina i hipotalamo-pituitarno-tiroidna osovina). Naravno, navedene funkcionalne promene u osnovi imaju strukturne promene na različitim nivoima pomenutih osovina.

Na nivou hipotalamusa degenerativne promene koje se javljaju tokom fiziološkog starenja, pre svega se odnose na smanjenje broja neurona koji sačinjavaju jedra njegove sive

mase, ali i na povećanje rezistencije tih neurona na signale povratne sprege, posredstvom hormona ciljnih žlezdi čiji rad normalno regulišu. To za posledicu može imati pad nivoa hormona tih žlezdi, što može povećati rizik za nastanak tzv. bolesti starenja (Seeman i Robins, 1994). Tako, osobe koje su iz različitih razloga izgubile sposobnost sekrecije somatotropnog hormona ubrzano stare. Ovaj proces je najverovatnije posledica smanjenog depovanja proteina u većini tkiva u telu i posledičnog povećanog taloženja i stvaranja naslaga masti. Fiziološki, to se ispoljava pojačanim stvaranjem bora, opadanjem funkcije brojnih organa, kao i smanjenjem mišićne mase i snage. Pad sekrecije hormona rasta od strane somatotropnih ćelija adenohipofize prati i normalno, fiziološko starenje, ali su posledice njegove deficijencije sporije progredijentne.

Iako adenohipofiza ima važnu ulogu u održavanju ukupne homeostaze u organizmu i odlikuje se progresivnim opadanjem funkcionalnih sposobnosti tokom starenja, znanja o pratećim strukturnim promenama su nezadovoljavajuća. Naročito manjkaju informacije o kvantitetu i dinamici tih promena.

U dostupnoj literaturi dominiraju rezultati studija starijeg datuma, mahom sprovedenih na eksperimentalnim životinjama i primenom semikvantitativnih metoda (Weiss i Lansing, 1953; Sasaki, 1988; Allaerts i sar., 1997; Console i sar., 2000).

Sprovedene kvantitativne imunohistohemijske i elektrono-mikroskopske studije kao materijal su takođe uglavnom koristile hipofize eksperimentalnih životinja, naročito pacova (Takahashi i Kawashima, 1983; Console i sar., 1994, 1995, 1997, 2001; Jurado i sar., 1998).

Danilova i saradnici (1988) su analiziranjem ultrastrukturnih promena kod svih tipova endokrinih ćelija adenohipofize pacova tokom starenja konstatovali promene na gotovo svim ćelijskim organelama: jedrima, Goldžijevom aparatu, endoplazmatskom retikulumu, mitohondrijama i sekretornim granulama, a registrovali su i prisustvo mnogobrojnih lizozomskih telašaca i masnih vakuola. Starije životinje su se odlikovale i prisustvom većeg broja atrofično izmenjenih ćelija, što je ukazivalo na njihovu progresivnu degeneraciju sa starenjem. Kod naizgled morfološki normalnih ćelija ovih životinja uočeni su znaci ultrastrukturnih promena koji su ukazivali na njihovu pojačanu funkcionalnu aktivnost. Navedene promene su imale za cilj očuvanje nivoa sekrecije hormona, a dugoročno su za posledicu imale iscrpljivanje funkcionalnih rezervi endokrinih ćelija adenohipofize kod starijih slučajeva. Jasno je da bi se navedene promene u hipofizi tokom starenja mogle sagledavati u smislu kompenzatorne strukturalne reorganizacije, koja bi mogla omogućiti njenu normalnu funkciju i, samim tim, održavanje osnovnih mehanizama homeostaze u organizmu koji stari.

Console i saradnici (1993) su kvantitativnom imunohistohemijskom analizom hipofiza pacova ustanovili značajan pad broja, volumenske i površinske gustine, aree i perimetra somatotropnih ćelija sa starenjem. Oni su ustanovili i smanjenje broja 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. Takođe, ustanovili su značajan pad broja, volumenske i površinske gustine, kao i pad aree i perimetra tirotropnih ćelija, što je bilo praćeno porastom bazalnih serumskih nivoa TSH. Isti istraživači su 1997. i 2001. godine dokazali postojanje značajnog pada broja i veličine laktotropnih ćelija kod pacova muškog pola, dok su kod pacova ženskog pola registrovali samo pad ćelijske gustine istih. Tom prilikom je ustanovljen značajan porast nivoa prolaktina u serumu pacova ženskog pola, dok njegov nivo kod pacova muškog pola nije pokazivao značajnije promene.

Prva istraživanja humane hipofize odnosila su se na njene makromorfološke karakteristike u toku procesa starenja. Tako, Elster i saradnici (1990) konstatuju degenerativne promene na krvnim sudovima, ali i promenu oblika hipofize tokom starenja čoveka. Prema ovim autorima oblik hipofize se menja u zavisnosti od pritiska susednih anatomskih struktura, kao i zbog disproporcije između povećanja endokrine aktivnosti žlezde tokom života i ograničenih dimenzija intraselarnog prostora.

Potom su Kato i saradnici (2002) ustanovili da u pubertetu dolazi do značajnih promena dimenzija hipofize, a naročito do porasta njene visine koja dostiže maksimum krajem pete decenije. Ovo objašnjavaju promenama dimenzija kranijuma u navedenom periodu. Ovakvim strukturnim promenama u hipofizi objašnjavaju i najveću funkcionalnu aktivnost ove žlezde kod žene u to vreme, koje odgovara njenom reproduktivnom periodu.

Morfometrijske studije o ćelijskom sastavu adenohipofize, generalno, relativno su retke, naročito one koje se odnose na adenohipofize čoveka u toku procesa starenja.

Morfometrijske studije o starosnim promenama gonadotropa su takođe retke. Suprotno drugim hormonskim ćelijama adenohipofize koje skladište jedan hormon u posebne vrste ćelija, mnogi gonadotropi pokazuju imunoreaktivnost i za LH i za FSH. To dodatno otežava njihovu kvantifikaciju u procesu starenja, jer u tim ćelijama ekspresija FSH i LH može da bude prilično različita u različitim fazama postnatalnog perioda.

Meeran i saradnici (2003) su procenjivali promene subtipova gonadotropa u doba puberteta i adolescencije rezus majmuna i zaključili da se broj gonadotropa povećava kod odraslih u poređenju sa juvenilnim rezus majmunima, uglavnom zbog povećanja broja LH, kao i bihormonalnih ćelija.

Console i saradnici (1994) su izvršili morfometrijsku analizu gonadotropa mladih, starih i najstarijih pacova i ustanovili progresivno starosno smanjenje ćelijske gustine, volumenske gustine i površinske gustine LH ćelija. S druge strane, area i perimetar gonadotropa su se povećale i kod mladih i kod starih, ali su se drastično smanjile kod najstarijih pacova. Bazalni nivoi serumskog LH i FSH su pokazali istu tendenciju kao površina i obim gonadotropa.

Kurosumi i saradnici (1991) su klasifikovali gonadotrope pacova prema veličini njihovih sekretornih granula u dva tipa: tip I koji sadrži male i velike sekretorne granule i koji eksprimira i FSH i LH i tip II koji sadrži samo male granule imunopozitivne na LH. Oni su pronašli da su kod mladih odraslih pacova muškog pola gonadotropi tip I češći nego tip II. Kod sredovečnih pacova gonadotropi tip I su bili predominantni, ali je ekspresija FSH kod većine njih bila slaba. Kod starih pacova je odnos tipa I i tipa II bio obrnut u odnosu na mlade i sredovečne pacove, tj. gonadotropi tipa II su bili češće nalaženi. Kurosumi i saradnici su na kraju zaključili da, što su pacovi stariji, LH ćelije postaju predominantne u hipofizi muških pacova, što je praćeno značajnim padom FSH i sporim smanjenjem sadržaja LH.

U našoj studiji, gustina LH ćelija se nije značajno menjala sa starenjem. Međutim, za razliku od Console i saradnika (1994) area LH ćelija se značajno povećavala, čak i posle 70. godine života. Suprotno arei, nukleocitoplazmatski odnos se postepeno smanjivao sa godinama starosti, a to smanjenje je postalo značajno nakon 70. godine. Dakle, naši nalazi o relativno stabilnoj gustini LH ćelija i povećanju njihove veličine sa godinama starosti, uz prethodno navedeno starosno povećanje produkcije LH od strane nekih autora (van Beld i Lamberts, 2002), naveli su nas na zaključak da ove ćelije verovatno razviju hipertrofiju (Mitchell i sar., 2007) kod muškaraca tokom starenja. To može da ukazuje na njihovu izloženost povećanom funkcionalnom stresu tokom vremena, verovatno zbog oštećene testosteron povratne sprege, ili prekomernu stimulaciju nekim ekstra- ili intra-pituitarnim faktorima. Postepeno opadanje nukleocitoplazmatskog odnosa LH ćelija predstavlja znak njihovog funkcionalnog pada, što postaje značajno nakon 70. godine, najverovatnije zbog njihove iscrpljenosti uzrokovane dugotrajnom hipertrofijom. Ovo je u skladu sa rezultatima Kurosumija i saradnika (1991) koji su u svojoj studiji primetili lagano smanjenje LH sadržaja tokom starenja.

Rezultati T-testa za dva zavisna uzorka nisu pokazali statistički značajne razlike između prosečnih vrednosti analiziranih morfometrijskih parametara LH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva. Ovakvi rezultati ne ukazuju

na postojanje regionalnih razlika u promenama na nivou gonadotropnih LH ćelija tokom starenja čoveka.

Ipak, sa izuzetkom veće nepravilnosti i manje amplitude pulsa LH, kao što smo prethodno opisali, u naučnoj zajednici preovladava stav da se sekrecija LH ne samo neznatno menja, nego se može reći da se blago povećava sa godinama kod muškaraca (Bhasin i sar., 2000; Mulligan i sar., 1999; Strauss i sar., 2009). Ovo je suprotno nalazima smanjene sekrecije GnRH, kao i pretpostavci da oštećena testosteron povratna sprega na nivou hipofize i na hipotalamusnom nivou oslobađa sekreciju LH tokom procesa starenja (Veldhuis i sar., 2007; Veldhuis, 2008).

Retke su i morfometrijske studije o promenama somatotropnih ćelija u toku starenja. Među prvima je bila studija Console-a i saradnika (1993), koji su kvantitativnom imunohistohemijskom analizom hipofiza pacova konstatovali značajan pad broja, volumenske i površinske gustine, aree i perimetra somatotropnih ćelija tokom starenja.

Shimokawa i saradnici (1996) pokušali su da ustanove uticaj starenja na broj somatotropnih ćelija adenohipofize kod pacova različite starosti. Kod pacova starih 18 meseci navedeni autori su imunohistohemijski detektovali smanjenu gustinu somatotropnih ćelija adenohipofize i njihovu citoplazmatsku vakuolizaciju. Ovaj nalaz su morfometrijski potkrepili značajnim padom volumenske gustine, numeričke gustine i apsolutnog broja somatotropnih ćelija kod pacova starijih od 18 meseci. Pri tome, nisu ustanovljene značajne razlike prosečnog volumena somatotropnih ćelija između analiziranih starosnih grupa, dok se volumen njihovog jedra uvećavao. Na osnovu dobijenih rezultata Shimokawa i saradnici (1996) su zaključili da je smanjena gustina somatotropnih ćelija tokom starenja posledica njihovog progresivnog gubitka i smanjenog obnavljanja. Ovakav nalaz je u skladu sa već uočenim smanjenjem GH-m RNA, amplitude GH sekrecije, kao i usporenim reagovanjem somatotropnih ćelija na hipotalamusni rilizing faktor (GHRH).

Što se tiče istraživanja na humanim hipofizama, još 1984. godine Sun i saradnici imunohistohemijski konstatuju značajan pad broja i veličine somatotropnih ćelija sa starenjem. Studija sprovedena od strane Sano-a i saradnika (1993) pokušala je da opiše strukturne promene u adenohipofizi čoveka u toku starenja. Semikvantitativnim metodama je dokumentovano prisustvo intersticijalne, perivaskularne fibroze, koja se vremenom širi i zahvata parenhim adenohipofize kod 88% starih osoba, predominantno muškog pola. Ova studija je pokazala i pad broja somatotropa u lateralnim delovima adenohipofize sa starenjem, ali ne i dinamiku toga pada. Prema istoj studiji broj ostalih ćelija adenohipofize nije se značajnije menjao tokom starenja. U hipofizama slučajeva starijih od 90 godina sporadično je uočavano

i prisustvo fokalne nekroze ili ožiljnog tkiva, depozita gvožđa ili amiloida, bazofilne invazije, nakupina skvamoznih ćelija, adenoma i granularnih ćelija sličnih tumorskim.

Znatno kasnije Antić i saradnici (2015) svojom morfometrijskom studijom na adenohipofizama kadavera oba pola pokazuju značajno opadanje volumenske gustine somatotropnih ćelija sa godinama života, ukazujući na gubitak ovih ćelija sa starenjem. Takođe, konstatuju porast veličine somatotropnih ćelija, dok se veličina njihovih jedara nije menjala tokom starenja. Ovo je za posledicu imalo pad nukleo-citoplazmatskog odnosa, naročito kod slučajeva sa 70 godina i starijih, što je ukazivalo na smanjenu funkcionalnu sposobnost somatotropa, odnosno njihovo smanjeno lučenje hormona rasta. Dakle, opadanje broja somatotropa tokom starenja ima za posledicu kompenzatornu hipertrofiju preostalih, koji se vremenom funkcionalno iscrpljuju i luče manje količine hormona. Ovo je u skladu sa literaturnim podacima o funkcionalnom padu GH/IGF-1 osovine tokom starenja čoveka (Perrini i sar., 2010; Sattler, 2013; Goldspink 2004; Adamo i Farar, 2006).

Studija Antića i saradnika (2015), međutim, ukazuje na značajno višu prosečnu zapreminsku gustinu somatotropnih ćelija kod slučajeva muškog pola u odnosu na ženski pol. Takođe, i na više prosečne vrednosti aree, perimetra, Feret-ovog dijametra, prosečne nuklearne aree, perimetra i Feret-ovog dijametra kod slučajeva ženskog pola u odnosu na slučajeve muškog pola, mada uočene razlike nisu bile statistički značajne. Navedene razlike između slučajeva muškog i ženskog pola autori objašnjavaju statistički značajno većom prosečnom starošću slučajeva ženskog pola.

Rezultati naše morfometrijske studije na adenohipofizama kadavera muškog pola ukazuju na značajan porast veličine somatotropnih ćelija tokom starenja, pri čemu se veličina njihovih jedara nije menjala. Pri tome je porast veličine somatotropa spor i ujednačen tokom vremena, tako da se statistički značajne razlike javljaju samo između I i III starosne grupe. S druge strane, nukleo-citoplazmatski odnos ravnomerno opada sa godinama, tako da se statistički značajne razlike sreću tek između I i III starosne grupe. Dakle, na osnovu dobijenih rezultata u ovoj studiji moglo bi se zaključiti da su opadanje broja somatotropnih ćelija, kompenzatorna hipertrofija preostalih i njihovo funkcionalno iscrpljivanje spori i ujednačeni procesi tokom starenja, te da se njihove značajne razmere konstatuju tek posle 70. godine života. Ovakva dinamika strukturnih promena na nivou somatomotornih ćelija tokom starenja verovatno odgovara njihovom funkcionalnom značaju, kao komponente anaboličke somatotropne osovine. Porast veličine somatotropa tokom starenja, demonstriran u ovoj studiji, u suprotnosti je sa rezultatima Sun-a i saradnika (1984) koji su konstatovali smanjenje veličine ovih ćelija sa starenjem.

Rezultati naše studije su u saglasnosti sa porastom veličine somatotropnih ćelija u studiji Antića i saradnika (2015). Ipak, nismo mogli potvrditi značajno opadanje volumenske gustine somatotropnih ćelija sa starenjem, koje su ustanovili pomenuti autori.

Rezultati naše studije dokazuju da u osnovi funkcionalnog pada GH/IGF-1 osovine tokom starenja čoveka stoje i odgovarajuće strukturne promene somatotropnih ćelija. Naravno, da na dinamiku promena na nivou ovih ćelija tokom starenja utiču brojni, nedovoljno poznati, udaljeni ali i lokalni činioci, koji se nalaze u okruženju ovih ćelija, o kojima se takođe veoma malo zna. Nesporno je da se evidentirane starosne promene kod somatotropa bar delom mogu objasniti strukturalnim promenama na nivou hipotalamusa, koje se javljaju tokom starenja (Perrini i sar., 2010).

Rezultati T-testa za dva zavisna uzorka nisu pokazali statistički značajne razlike između prosečnih vrednosti analiziranih morfometrijskih parametara GH imunoreaktivnih ćelija ventralne i dorzalne polovine adenohipofize analiziranih slučajeva. Ovakvi rezultati ne ukazuju na postojanje regionalnih razlika u promenama na nivou somatotropnih ćelija tokom starenja čoveka.

Ustanovljena statistički značajna korelacija u ovoj studiji, između morfometrijskih parametara gonadotropnih LH i somatotropnih ćelija tokom starenja muškaraca, ide u prilog zaključcima bazičnih nauka, ali i kliničke prakse, koji ukazuju na to da GH i androgeni ispoljavaju anaboličku sinergiju u normalnim fiziološkim uslovima. Naime, opsežni klinički podaci potvrđuju da sekrecija GH i testosterona raste tokom puberteta, a opada tokom starenja (Copinschi i Van Cauter, 1994; Dudl i sar., 1973; Giustina i Veldhuis 1998; Corpas i sar., 1992; Fryburg i sar., 1997; Hartman i sar., 1991; Martha i sar., 1992; Mulligan i sar., 1999; Veldhuis i sar., 1991, 1995).

Takodje, ustanovljeno je da normalno testosteron stimuliše sekreciju GH i IGF-1 i pojačava tkivnu aktivnost IGF-1 (Fryburg i sar., 1997; Veldhuis i sar., 1997; Snyder i sar., 1999), a da GH i IGF-1 pojačavaju biosintezu i tkivna dejstva androgena (Balducci i sar., 1993; Guistina i Veldhuis 1998; Carani i sar., 1999).

Statistički značajna korelacija morfometrijskih parametara gonadotropnih LH i somatotropnih ćelija, demonstrirana u ovoj studiji, ukazuje i na funkcionalnu medjuzavisnost dveju pomenutih anaboličkih osovina tokom starenja.

U literaturi za hormon rasta predominiraju podaci o njegovom učešću u reproduktivnoj funkciji žena, manje je podataka koji se odnose na reproduktivnu funkciju muškaraca. Naime, kada je u pitanju muški pol, pretežno se opisuje značaj ovog hormona za polni sistem tokom rasta i puberteta, dok se o njegovom učešću u gonadopauzi malo zna (Melmed i sar., 2011).

Tako se navodi da je on kritički važan za pravovremeni početak puberteta i indukciju seksualne maturacije, zatim da reguliše rast i funkciju sekundarnih seksualnih tkiva, kao što su prostata i semene kesice, da kod odraslih modulira sekreciju gonadotropina i da gonadotropin-zavisnim i gonadotropin-nezavisnim dejstvima utiče na steroidogenezu i gametogenezu (Balducci i sar., 1993; Giustina i Velduis 1998; Carani i sar., 1999).

Uticaj muške gonadotropne osovine na funkciju somatotropne osovine tokom starenja je znatno više istraživani i detaljnije opisan u literaturi. Uočeno je da nedostatak polnih steroida, prvenstveno testosterona i visceralna gojaznost zajedno, koreliraju i snažno statistički predviđaju GH i IGF-1 deficijenciju, što je empirijski indirektno potvrđeno činjenicom da nadoknada testosterona tokom 2 nedelje do 6 meseci stimuliše GH produkciju kod starih i hipogonadalnih individua, ali ne i kod normalnih mladih muškaraca. Smatra se da se u osnovi napred navedenih pretpostavki može naći više mahanizama. Tako se razmatra mogućnost da nedostatak testosterona naglašava efekat autonegativne povratne sprege GH, zatim da nedostatak testosterona redukuje potencijal i/ili efikasnost GHRH, da nedostatak testosterona pojačava hipotalamusnu sekreciju i/ili dejstvo SST, i da deprivacija testosterona snižava aktivnost signalnog puta Grelina kod starih muškaraca (Veldhuis i sar., 2002).

Deficit jedne ili više prethodno pomenutih interakcija može doprineti patofiziologiji kombinovane, GH i androgenske, deficijencije tokom starenja. Ona, pak, podrazumeva da pad sekrecije GH/IGF-1 pogoršava starošću izazvan pad LH-stimulisane steroidogeneze i obratno, da opadanje nivoa androgena oslabljuje funkcionisanje hipotalamo-pituitarne GH/IGF-1 osovine. Kako se klinički znaci kasnog hipogonadizma i kasnog hiposomatotropizma u velikoj meri preklapaju, logično je zaključiti da slabljenje gonadotropne i somatotropne osovine ide istovremeno, da slabljenje jedne osovine potencira slabljenje one druge, a da obe mogu imati svoju morfološku prezentaciju i u promenama na nivou somatotropnih i gonadotropnih ćelija adenohipofize tokom starenja.

Pitanje mogućih interakcija između gonadotropne i somatotropne osovine tokom starenja je od ogromnog praktičnog značaja, s obzirom na to da se terapijskim delovanjem na nivou jedne, mogu ostvariti značajni efekti i na nivou druge osovine (Fryberg i sar., 1997, Snyder i sar., 1999, Urban i sar., 1995, Wennink i sar., 1990, Balducci i sar., 1993).

Što se tiče dinamike promena kod FS ćelija sa godinama starosti, rezultati morfoloških studija ne daju direktne odgovore. Međutim, većina studija ističe postnatalno povećanje njihovog broja. Tako su Soji i saradnici (1994) primetili da broj FS ćelija kod pacova raste do 40. dana, nakon čega dostiže plato. Zatim su sinhrono postnatalno povećanje broja FS ćelija u prednjem režnju hipofize kod mužjaka Wistar pacova zabeležili Allaerts i

saradnici (1997). Nasuprot ove dve navedene istraživačke grupe, Console i saradnici (2000) su otkrili progresivni pad broja FS ćelija kod oba pola pacova sa starenjem. Na kraju, rezultati morfometrijske studije koju su uradili Pavlović i saradnici (2013) na prednjim režnjevima hipofize muških i ženskih humanih kadavera su pokazali starosno povećanje gustine FS ćelija, što je bilo signifikantno u grupi slučajeva starijih od 80 godina.

Rezultati naše studije su uglavnom u skladu sa studijom Pavlovića i saradnika (2013) i studijom Allaerts i saradnika (1997). Međutim, osim činjenice da su slučajevi muškog pola koje su proučavali Pavlović i saradnici (2013) bili stariji i sa karakteristikama većih vrednosti volumenske gustine FS ćelija nego u našoj studiji, signifikantan porast volumenske gustine FS ćelija Pavlović i saradnici (2013) su objasnili simultanim povećanjem veličine i broja tih ćelija u mukoidnom klinastom delu adenohipofize u njihovoj najstarijoj grupi. Naša histološka analiza nije otkrila nikakve regionalne razlike u dinamici FS ćelija tokom procesa starenja. Rezultati naše studije su nas naveli da pretpostavimo da starosno povećanje volumenske gustine FS ćelija predstavlja proces koji se sastoji iz dve faze. Prva faza tog procesa, koja se verovatno javlja kod muškaraca starosti od 50 do 70 godina, bi predominantno mogla da bude posledica povećanja veličine FS ćelija, ili njihove hipertrofije, dok se u drugoj fazi, koja se javlja kod muškaraca starijih od 70 godina, javlja dalje povećanje veličine FS ćelija i simultano povećanje njihovog broja, dovodeći tako do značajnog povećanja njihove volumenske gustine. Navedene činjenice mogu indirektno da ukazuju na moguće povećanje funkcije FS ćelija kod starijih osoba.

Činjenica da se nastavci FS ćelija protežu na gonadotrope (Denef, 2008), zatim značajna korelacija između volumenske gustine FS ćelija i površine LH ćelija, kao i nukleocitoplazmatskog odnosa ovih ćelija u našem slučaju, ukazuju na poseban odnos između ova dva ćelijska tipa prednjeg režnja hipofize i sugerišu njihovu povećanu interakciju tokom procesa starenja. Ali, odgovora na pitanje o mogućim osnovnim mehanizmima i prirodi te interakcije još uvek nema.

Opšte promene endokrine homeostaze sa godinama starosti mogu da budu povezane sa promenama intrapituitarnih faktora kao lokalnih adaptivnih odgovora (Perez-Castro i sar., 2012). Folikulostelate ćelije pripadaju mreži dendritskih ćelija ljudskog organizma, imaju receptore za mnoge citokine i verovatno predstavljaju cilj za proinflamatorne citokine koji su povišeni kod starijih osoba, kao što su TNF- α i IL-1 (Deleidi i sar., 2015; Denef, 2008; Franceschi i sar., 2000; Minciullo i sar., 2016; Ray i Melmed, 1997). Dalje, ovi drugi navedeni citokini mogu da stimulišu FS ćelije za produkciju i oslobađanje različitih parakrinih agenasa, kao što su IL-6 (Ray i Melmed, 1997; Renner i sar., 2009; Yamaguchi i

sar., 1990), folistatin (Aroua i sar., 2012; Bilezikjian i sar., 2006, 2003; Coss i sar., 2005; Denef, 2008; Morris i Christian, 2011; Perez-Castro i sar., 2012), glutamin (Denef, 2008), IGF-1 (Denef, 1986; Schwartz, 2000; Winters i Moore, 2004) i NO (Denef, 2008; Gomariz i sar., 2006; McCann i sar., 2005; Perez-Castro i sar., 2012) koji u gonadotropima starijih muškaraca mogu da uspostave ravnotežu između LH i FSH sinteze i sekrecije u korist LH, kao što su ukazali Kurosumi i saradnici (1991).

Na kraju, na osnovu svih navedenih činjenica, zaključili smo da se kod muškaraca sa starenjem povećava gustina, veličina i verovatno funkcija FS ćelija prednjeg režnja hipofize. Uprkos u literaturi već utvrđenom poremećaju sekrecije hipotalamusnog GnRH, LH ćelije hipertrofišu tokom procesa starenja i njihova dugotrajna hipertrofija verovatno rezultira njihovim funkcionalnim padom nakon 70 godina starosti. Značajna korelacija morfometrijskih parametara između FS i LH ćelija tokom starenja može da ukaže na povećanu interakciju između ove dve grupe ćelija, verovatno zbog parakrine aktivnosti FS ćelija.

Činjenica da u našoj studiji postoji značajna korelacija volumenske gustine FS ćelija samo sa nukleocitoplazmatskim odnosom somatotropnih ćelija, ukazuje na slabiju interakciju između ova dva tipa ćelija tokom starenja muškaraca. Naravno, ni priroda ove interakcije još uvek nije razjašnjena.

Za verifikaciju izmenjenih parakrinih interakcija FS i endokrinih ćelija adenohipofize tokom starenja, buduće studije treba da se fokusiraju na evaluaciju topografskog rasporeda ovih ćelija i simultanu detekciju prisustva lokalnih parakrinih faktora tehnikama imunohistohemijskog bojenja hipofize u mlađoj kontrolnoj grupi i grupi zdravih starijih osoba. Direktni efekti tih parakrinih supstanci na oslobađanje hormona tokom procesa starenja treba da se odrede *in vitro*, njihovom aplikacijom u kulturi ćelija mlađih kontrolnih i zdravih starijih eksperimentalnih životinja.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata sprovedene studije mogli bi se izvesti sledeći zaključci:

1. Postoji relativno stabilna gustina i povećanje veličine gonadotropnih LH ćelija adenohipofize tokom starenja muškaraca, koje je verovatno odraz njihove hipertrofije u cilju održavanja normalne sekrecije hormona, a koje za posledicu ima njihovo funkcionalno slabljenje,
2. Gustina somatotropnih ćelija adenohipofize se nije značajnije menjala sa starenjem kod muškaraca, ali se postepeno povećavala njihova veličina, koja verovatno znači njihovu hipertrofiju kojom treba da obezbede normalnu sekreciju hormona,
3. Tokom starenja muškaraca značajno rastu veličina i gustina folikulostelatnih ćelija, što sugeriše njihovu pojačanu funkciju,
4. Sve navedene promene na nivou gonadotropnih LH, somatotropnih i folikulostelatnih ćelija adenohipofize muškaraca statistički su značajno izraženije nakon 70. godine života,
5. Postoji statistički značajna korelacija između morfometrijskih parametara gonadotropnih LH ćelija i somatotropnih ćelija adenohipofize, koja ukazuje na paralelno odvijanje adaptacionih, tj. kompenzatornih mehanizama ovih ćelija tokom starenja muškaraca ili na njihovu potencijalnu interakciju tokom procesa starenja.
6. Postoji statistički značajna korelacija između morfometrijskih parametara folikulostelatnih i gonadotropnih LH ćelija adenohipofize, koja ukazuje na njihovu eventualnu međusobnu interakciju tokom starenja muškaraca,
7. Postojanje statistički značajne, ali slabije korelacije između morfometrijskih parametara folikulostelatnih i somatotropnih ćelija adenohipofize ukazuje na manji stepen međusobne interakcije ovih ćelija tokom starenja muškaraca.

LITERATURA

1. Acosta M, Filippa V, Mohamed F. Folliculostellate cells in pituitary pars distalis of male viscacha: immunohistochemical, morphometric and ultrastructural study. *Eur J Histochem* 2010; 54(1): e1.
2. 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.
3. Allaerts W, Salomon B, Leenen PJ, van Wijngaardt S, Jeucken PH, Ruuls S, Klatzmann D, Drexhage HA. A population of interstitial cells in the anterior pituitary with a hematopoietic origin and a rapid turnover: a relationship with folliculo-stellate cells? *J Neuroimmunol* 1997; 78(1–2): 184–97.
4. Allaerts W, Vankelecom H. History and perspectives of pituitary folliculo-stellate cell research. *Eur J Endocrinol* 2005; 153(1): 1–12.
5. Anđelković Z, Somer Lj, Avramović V, Milosavljević Z, Tanasković I, Matavulj M, i dr. *Histologija*. Osmo izdanje. Niš: Impressum; 2009.
6. Antebi A. Physiology. The tick-tock of aging? *Science* 2005; 310: 1911–3.
7. Antić VM, Stefanović N, Jovanović I, Antić M, Milić M, Krstić M, Kundalić B, Milošević V. Morphometric analysis of somatotropic cells of the adenohypophysis and muscle fibers of the psoas muscle in the process of aging in humans. *Ann Anat* 2015; 200: 44–53.
8. Aroua S, Maugars G, Jeng S-R, Chang C-F, Weltzien F-A, Rousseau K, Dufour S. Pituitary gonadotropins FSH and LH are oppositely regulated by the activin/follistatin system in a basal teleost, the eel. *Gen Comp Endocrinol* 2012; 175(1): 82–91.
9. Bakshi S, Miller DK. Assessment of the aging man. *Med Clin North Am* 1999; 83(5): 1131–49.
10. Balducci R, Toscano V, Mangiantini A, Bianchi P, Guglielmi R, Boscherini B. The effect of growth hormone administration on testicular response during gonadotropin therapy in subjects with combined gonadotropin and growth hormone deficiencies. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993; 128(1): 19–23.
11. Beck KC. *Geriatrics review syllabus*. 5th edition. Blackwell Publishing; 2002.

12. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78(2): 547–81.
13. Bhasin S, Huang G, Travison TG, Basaria S. Age-Related Changes in the Male Reproductive Axis. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A, (Eds.). *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2014 Feb 14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278998/>.
14. Bilezikjian LM, Blount AL, Donaldson CJ, Vale WW. Pituitary actions of ligands of the TGF- β family: activins and inhibins. *Reproduction* 2006; 132(2); 207–15.
15. Bilezikjian LM, Leal AM, Blount AL, Corrigan AZ, Turnbull AV, Vale WW. Rat anterior pituitary folliculostellate cells are targets of interleukin-1 β and a major source of intrapituitary follistatin. *Endocrinology* 2003; 144(2): 732–40.
16. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, Harley CB, Shay JW, Lichtsteiner S, Wright WE. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998; 279(5349): 349–52.
17. Burzynski SR. Gene silencing - a new theory of aging. *Med Hypothesis* 2003; 60(4): 578–83.
18. Buseman CM, Wright WE, Shay JW. Is telomerase a viable target in cancer? *Mutat Res* 2012; 730(1–2): 90–7.
19. Carani C, Granata AR, De Rosa M, Garau C, Zarrilli S, Paesano L, Colao A, Marrama P, Lombardi G. The effect of chronic treatment with GH on gonadal function in men with isolated GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 1999; 140(3): 224–30.
20. Chinta SJ, Woods G, Rane A, Demaria M, Campisi J, Andersen JK. Cellular senescence and the aging brain. *Exp Gerontol* 2015; 68: 3–7.
21. Cónsole GM, Gómez Dumm 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.
22. Console GM, Gomez Dumm CL, Goya RG. Immunohistochemical and radioimmunological assessment of thyrotrophs in the pituitary of aging rats. *Acta Anat (Basel)* 1995; 152(1): 28–32.

23. Cónsole GM, Gómez Dumm CL, Goya RG. Immunohistochemical and radioimmunological study of pituitary gonadotrophs during aging in male rats. *Mech Ageing Dev* 1994; 73(2): 87–95.
24. Cónsole GM, Jurado SB, Oyhenart E, Ferese C, Pucciarelli H, Gómez Dumm CL. Morphometric and ultrastructural analysis of different pituitary cell populations in undernourished monkeys. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34(1): 65–74.
25. Console GM, Jurado SB, Riccillo FL, Gomez Dumm CL. Immunohistochemical and ultrastructural study of pituitary folliculostellate cells during aging in rats. *Cells Tissues Organs* 2000; 167(1): 25–32.
26. Console GM, Gomez Dumm 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.
27. Copinschi G, Van Cauter E. Pituitary hormone secretion in aging: roles of circadian rhythmicity and sleep. *Eur J Endocrinol* 1994; 131(5): 441–2
28. Corpas E, Harman SM, Piñeyro MA, Roberson R, Blackman MR. Growth hormone (GH)-releasing hormone-(1-29) twice daily reverses the decreased GH and insulin-like growth factor-I levels in old men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(2): 530–5.
29. Coss D, Thackray VG, Deng CX, Mellon PL. Activin regulates luteinizing hormone beta-subunit gene expression through Smad-binding and homeobox elements. *Mol Endocrinol* 2005; 19(10): 2610–23. doi:10.1210/me.2005-0047
30. Čukuranović R, Stefanović N, Bakić V. Anatomija čoveka. Karlica. Niš: Autori; 2013.
31. Dai DF, Chiao YA, Marcinek DJ, Szeto HH, Rabinovitch PS. Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan. *Longec Healthspan* 2014; 3: 6. doi: 10.1186/2046-2395-3-6. eCollection 2014.
32. 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. [in Russian]
33. Davidović M, Sevo G, Svorcan P, Milosevic DP, Despotović N, Erceg P. Old age as privilege of the "selfish ones". *Ageing Dis* 2010; 1(2): 139-46.
34. Deleidi M, Jäggle M, Rubino G. Immune ageing, dysmetabolism and inflammation in neurological diseases. *Front Neurosci* 2015; 9: 172. doi: 10.3389/fnins.2015.00172

35. Deneff C. Paracrine interactions in the anterior pituitary. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15(1): 1–32.
36. Deneff C. Paracrinicity: The story of 30 years of cellular pituitary crosstalk. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(1): 1–70.
37. Devnath S, Inoue K. An insight to pituitary folliculo-stellate cells. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(6): 687–91.
38. Dilman VM, Revskoy SY, Golubev AG. Neuroendocrine-ontogenetic mechanism of aging: toward an integrated theory of aging. *Int Rev Neurobiol* 1986; 28: 89–156.
39. Dudl RJ, Ensink JW, Palmer HE, Williams RH. Effect of age on growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37(1): 11–6.
40. Elias H, Hyde DM. An elementary introduction to stereology (quantitative microscopy). *Am J Anat* 1980; 159(4): 412–46.
41. 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.
42. Eroschenko VP. *di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. 11th ed. Baltimore: Wolters Kluwer Lippincott Williams and Wilkins; 2008.
43. Fauquier T, Lacampagne A, Travo P, Bauer K, Mollard P. Hidden face of the anterior pituitary. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13(7): 304–9.
44. Feldman HA, Longcope C, Derby CA, Johannes CB, Araujo AB, Coviello AD, Bremner WJ, McKinlay JB. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(2):589–98.
45. Ferrari E, Cravello L, Muzzoni B, Casarotti D, Paltro M, Solerte SB, Fioravanti M, Cuzzoni G, Pontiggia B, Magri F. Age-related changes of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: pathophysiological correlates. *Eur J Endocrinol* 2001; 144(4): 319–29.
46. Fink G. Neural Control of the Anterior Lobe of the Pituitary Gland (Pars Distalis). In: Fink G, Pfaff DW, Levine JE, eds. *Handbook of Neuroendocrinology*. 1st ed. London, Waltham, San Diego: Academic press, Elsevier; 2012. p. 97–138.
47. FIPAT (Federative International Programme on Anatomical Terminologies). 2nd ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2011.

48. Fodor M, Kordon C, Epelbaum J. Anatomy of the hypophysiotropic somatostatinergic and growth hormone-releasing hormone system minireview. *Neurochem Res* 2006; 31(2): 137–43.
49. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 908: 244–54.
50. Fryburg DA, Weltman A, Jahn LA, Weltman JY, Samojlik E, Hintz RL, Veldhuis JD. Short-term modulation of the androgen milieu alters pulsatile, but not exercise- or growth hormone (GH)-releasing hormone-stimulated GH secretion in healthy men: impact of gonadal steroid and GH secretory changes on metabolic outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(11): 3710–9.
51. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 3rd ed. Baltimore: Saunders Elsevier; 2007.
52. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 1998; 19(6): 717–97.
53. Goldspink G. Age-related muscle loss and progressive dysfunction in mechanosensitive growth factor signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1019: 294–8.
54. Gomariz RP, Juarranz Y, Abad C, Arranz A, Leceta J, Martinez C. VIP-PACAP system in immunity: new insights for multitarget therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1070: 51–74.
55. Goncharova ND, Lapin BA. Effects of aging on hypothalamic-pituitary-adrenal system function in non-human primates. *Mech Ageing Dev* 2002; 123(8): 1191–201.
56. Grillo MA, Colombatto S. Advanced glycation end-products (AGEs): involvement in aging and in neurodegenerative diseases. *Amino Acids* 2008; 35(1): 29–36.
57. Guyton A, Hall J. Medicinska fiziologija. 11. izdanje. Beograd: Savremena administracija; 2008.
58. Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR; Baltimore Longitudinal Study of Aging. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(2): 724–31.

59. Hartman ML, Faria AC, Vance ML, Johnson ML, Thorner MO, Veldhuis JD. Temporal structure of in vivo growth hormone secretory events in humans. *Am J Physiol* 1991; 260(1 Pt 1): E101–10.
60. Henrikson RC, Kaye GI, Mazurkiewicz JE. Histology. 1st ed. London: Williams & Wilkins. The science of review; 1997.
61. 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.
62. Hermann M, Berger P. Hormonal changes in aging men: a therapeutic indication? *Exp Gerontol* 2001; 36(7): 1075–82.
63. <https://imagej.nih.gov/ij/>
64. Hulbert AJ, Pamplona R, Buffenstein R, Buttemer WA. Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span off animals. *Physiol Rev* 2007; 87(4): 1175–213.
65. Ilić S. Interna medicina. Drugo izdanje. Niš: Galaksija; 2009.
66. Inoue K, Couch EF, Takano K, Ogawa S. The structure and function of folliculostellate cells in the anterior pituitary gland. *Arch Histol Cytol.* 1999; 62(3): 205–18.
67. Jin K. Modern biological theories of aging. *Aging Dis* 2010; 1(2): 72–4.
68. Junqueira LC, Carneiro J. Osnovi histologije – Tekst i atlas. Jedanaesto izdanje. Beograd: Data status; 2005.
69. 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.
70. Kahle W, Frotscher M. Color Atlas of Human Anatomy. Nervous System and Sensory Organs Vol 3. 5th ed. New York: Thieme; 2002.
71. 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.
72. Keenan DM, Licinio J, Veldhuis JD. A feedback-controlled ensemble model of the stress responsive hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(7): 4028–33.

73. Kemp SF. The Role of the Pituitary-Growth Hormone-IGF Axis in Glucose Homeostasis, Diabetes - Damages and Treatments. In: Rigobelo E, Editor. Diabetes - Damages and Treatments/ InTech; 2011. DOI: 10.5772/20698. Available from: <http://www.intechopen.com/books/diabetes-damages-and-treatments/the-role-of-the-pituitary-growth-hormone-igf-axis-in-glucose-homeostasis>
74. Kirkwood TB. Understanding the science of aging. *Cell* 2005; 120(4): 437–47.
75. Kontogeorgos G, Stefaneanu L, Kovacs K, Horvath E. Hypophysis. In: Mai JK, Paxinos G, editor. The Human Nervous System. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2012. p. 584–93.
76. Kovacs WJ, Ojeda SR. Textbook of Endocrine Physiology. 6th edition. Oxford, New York: Oxford University Press; 2012. p. 256–70.
77. Kowald A, Kirkwood TB. Modeling the role of mitochondrial mutations in cellular aging. *J Anti-Aging Med* 1999; 2(3): 243–53.
78. Kuehnel W. Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy. 4th ed. Stuttgart: Thieme; 2003.
79. Kurosumi K, Ozawa H, Akiyama K, Senshu T. Immunoelectron microscopic studies of gonadotrophs in the male and female rat anterior pituitaries, with special reference to their changes with aging. *Arch Histol Cytol* 1991; 54: 559–71.
80. Lačković V, Nikolić I, Todorović V. Osnovna i oralna histologija i embriologija. Prvo izdanje. Beograd: Data Status; 2012.
81. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 2001; 22(1): 53–74.
82. Le Tissier PR, Hodson DJ, Lafont C, Fontanaud P, Schaeffer M, Mollard P. Anterior pituitary cell networks. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33(3): 252–66.
83. Low MJ. Neuroendocrinology. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Konenbergh HM, editors. Williams Textbook of Endocrinology 12th ed. Philadelphia; Elsevier Saunders; 2011. p. 103–74.
84. Martha PM Jr, Gorman KM, Blizzard RM, Rogol AD, Veldhuis JD. Endogenous growth hormone secretion and clearance rates in normal boys, as determined by deconvolution analysis: relationship to age, pubertal status, and body mass. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74(2): 336–44.

85. McCann SM, Mastronardi C, De Laurentiis A, Rettori V. The nitric oxide theory of aging revisited. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1057: 64–84.
86. Medigović I, Manojlović-Stojanoski M, Trifunović S, Ristić N, Milošević V, Zikić D, Nestorović N. Effects of genistein on gonadotropic cells in immature female rats. *Acta Histochem* 2012; 114(3): 270–5.
87. Meeran D, Urbanski HF, Gregory SJ, Townsend J, Tortonese DJ. Developmental changes in the hormonal identity of gonadotroph cells in the rhesus monkey pituitary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6): 2934–42.
88. Melmed S, Kleinberg D, Ho K. Pituitary Physiology and Diagnostic Evaluation. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Konenberg HM, editors. *Williams Textbook of Endocrinology*. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 175–228.
89. Merkasmer PI, Liu Y, He W, Hirschry MD, Chen D, Verdin E. The sirtuins, oxidative stress and aging: an emerging link. *Aging (Albany NY)* 2013; 5(3): 144–50.
90. Mills SE. *Histology for pathologists*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2007.
91. Milošević V, Brkić B, Velkovski SD, Sekulić M, Lovren M, Starcević V, Severs WB. Morphometric and functional changes of rat pituitary somatotropes and lactotropes after central administration of somatostatin. *Pharmacology* 1998; 57(1): 28–34.
92. Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, Casciaro M, Crucitti A, Maltese G, Morabito N, Lasco A, Gangemi S, Basile G. Inflammaging and anti-inflammaging: the role of cytokines in extreme longevity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2016; 64(2): 111–26.
93. Mitchell RS, Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Basic Pathology. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN, editors. *Robbins Basic Pathology*. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 345.
94. Morris J, Christian H. Folliculo-stellate cells: paracrine communicators in the anterior pituitary. *Open Neuroendocrinol J* 2011; 4: 77–89.
95. Mulligan T, Iranmanesh A, Kerzner R, Demers LW, Veldhuis JD. Two-week pulsatile gonadotropin releasing hormone infusion unmasks dual (hypothalamic and Leydig cell) defects in the healthy aging male gonadotropic axis. *Eur J Endocrinol* 1999; 141(3): 257–266.

96. Netter FH. Atlas anatomiae hominis. 4 ed. Beograd: Data Status; 2011.
97. Ooi GT, Tawadros N, Escalona RM. Pituitary cell lines and their endocrine applications. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 228(1–2): 1–21.
98. 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.
99. Pavlović S, Stefanović N, Vučetić R, Antić S, Čukuranović R, Arsić S. Anatomija centralnog nervnog sistema i čula. Niš: Autori; 2006.
100. 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.
101. Pérez-Ibave DC, Rodríguez-Sánchez IP, Garza-Rodríguez Mde L, Barrera-Saldaña HA. Extrapituitary growth hormone synthesis in humans. *Growth Horm IGF Res* 2014; 24(2–3): 47–53.
102. 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.
103. Putz R i Pabst R, urednici. Sobotta Atlas of Human Anatomy. 14th Ed. München: Elsevier, Urban i Fischer; 2009.
104. Ray D, Melmed S. Pituitary cytokine and growth factor expression and action. *Endocr Rev* 1997; 18(2): 206–28.
105. Renner U, De Santana EC, Gerez J, Fröhlich B, Haedo M, Pereda MP, Onofri C, Stalla GK, Arzt E. Intrapituitary expression and regulation of the gp130 cytokine interleukin-6 and its implication in pituitary physiology and pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1153: 89–97.
106. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology - A text and atlas. Fourth edition. Baltimore: Lippincott, Williams & Wilkins; 2003.
107. 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 Eng Med J* 1990; 323(1): 1–6.

108. Russ JC, Dehoff RT. Practical Stereology. 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2000
109. Sano T, Kovacs KT, Scheithauer BW, Young WF Jr. Aging and the human pituitary gland. *Mayo Clin Proc* 1993; 68(10): 971–7.
110. Sasaki F. Changes with age in the number and size of anterior pituitary cells in female mice from suckling to adulthood. *J Endocrinol* 1988; 117(1): 5–10.
111. Sattler FR. Growth hormone in the aging male. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013; 27(4): 541–55.
112. Schofield I. Theories of ageing. In: Heath H, Schofield, eds. Healthy ageing: Nursing older people. Trento: Mosby; 1999. pp. 21–9.
113. Schwartz J, Pavert S, Clarke I, Ray A, Ray D, Vrana K. Paracrine interactions within the pituitary gland. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 839: 239–43.
114. Schwartz J. Intercellular communication in the anterior pituitary. *Endocr Rev* 2000; 21: 488–513.
115. Seeman TE, Robbins RJ. Aging and hypothalamic-pituitary-adrenal response to challenge in humans. *Endocr Rev* 1994; 15(2): 233–60.
116. Sherlock M, Toogood AA. Aging and the growth hormone/insulin like growth factor-I axis. *Pituitary* 2007; 10(2): 189–203.
117. 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.
118. Siegel A, Sapru HN. Essential Neuroscience. 2nd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
119. Smith RG, Betancourt L, Sun Y. Molecular endocrinology and physiology of the aging central nervous system. *Endocr Rev* 2005; 26(2): 203–50.
120. Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P, Berlin JA, Loh L, Lenrow DA, Holmes JH, Dlewati A, Santanna J, Rosen CJ, Strom BL. Effect of testosterone treatment on body composition and muscle strength in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(8): 2647–53.

121. Soji T, Sirasawa N, Kuroki C, Yashiro T, Herbert DC. Immunohistochemical study of the post-natal development of the folliculo-stellate cells in the rat anterior pituitary gland. *Tissue Cell* 1994; 26(1): 1–8.
122. Standring S, editor. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 40th ed. New York: Churchill Livingstone, Elsevier; 2008.
123. Stefanović S. Procena histoloških promena na ganglijskim ćelijama gornjeg vratnog ganglionu primenom stereoloških metoda u procesu starenja kod čoveka. Doktorska disertacija. Niš: Medicinski fakultet; 1987.
124. 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.
125. Strauss JF, Barbieri RL, Snyder PJ. Male Reproductive Aging. In: Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology. Philadelphia: Elsevier; 2009. pp. 357–363.
126. 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.
127. 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.
128. Urban RJ, Bodenbun YH, Gilkison C, Foxworth J, Coggan AR, Wolfe RR, Ferrando A. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. *Am J Physiol* 1995; 269(5 Pt 1): E820–6.
129. van Beld AW, Lamberts SW. Endocrine aspects of healthy ageing in men. *Novartis Found Symp* 2002; 242: 16–25.
130. van Heemst D. Insulin, IGF-1 and longevity. *Aging Dis* 2010; 1(2): 147–57.
131. Vankelecom H. Non-hormonal cell types in the pituitary candidate for stem cell. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18(4): 559–70.
132. Veldhuis J, Keenan D, Iranmanesh A, Takahashi P, Nehra A. The Ensemble Male Hypothalamo-Pituitary-Gonadal Axis. In: Timiras PS, editor. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 4th ed. CRC Press; 2007. pp. 185–203. <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.3109/9781420007091-14>

133. Veldhuis JD, Iranmanesh A, Ho KK, Waters MJ, Johnson ML, Lizarralde G. Dual defects in pulsatile growth hormone secretion and clearance subserve the hyposomatotropism of obesity in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72(1): 51–9.
134. Veldhuis JD, Iranmanesh A, Mulligan T, Bowers CY. Mechanisms of conjoint failure of the somatotrophic and gonadal axes in ageing men. *Novartis Found Symp* 2002; 242: 98–118; discussion 118–24.
135. 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.
136. Veldhuis JD, Liem AY, South S, Weltman A, Weltman J, Clemmons DA, Abbott R, Mulligan T, Johnson ML, Pincus S, et al. Differential impact of age, sex steroid hormones, and obesity on basal versus pulsatile growth hormone secretion in men as assessed in an ultrasensitive chemiluminescence assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80(11): 3209–22.
137. Veldhuis JD, Metzger DL, Martha PM Jr, Mauras N, Kerrigan JR, Keenan B, Rogol AD, Pincus SM. Estrogen and testosterone, but not a nonaromatizable androgen, direct network integration of the hypothalamo-somatotrope (growth hormone)-insulin-like growth factor I axis in the human: evidence from pubertal pathophysiology and sex-steroid hormone replacement. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(10): 3414–20.
138. Veldhuis JD. Aging and hormones of the hypothalamo-pituitary axis: gonadotropic axis in men and somatotrophic axes in men and women. *Ageing Res Rev* 2008; 7(3), 189–208.
139. Veljković S, Radenković M, urednici. Medicinska fiziologija. Niš: Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu; 2016.
140. Weinert BT, Timiras PS. Theories of aging. *J Appl Physiol (1985)* 2003; 95(4): 1706–16.
141. 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.
142. Wennink JM, Delemarre-van de Waal HA, Schoemaker R, Blaauw G, van den Braken C, Schoemaker J. Growth hormone secretion patterns in relation to LH and testosterone secretion throughout normal male puberty. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1990; 123(3): 263–70.

143. Winters SJ, Moore JP. Intra-pituitary regulation of gonadotrophs in male rodents and primates. *Reproduction* 2004; 128(1): 13–23.
144. Yamaguchi M, Matsuzaki N, Hirota K, Miyake A, Tanizawa O. Interleukin 6 possibly induced by interleukin 1 beta in the pituitary gland stimulates the release of gonadotropins and prolactin. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1990; 122(2): 201–5.
145. Yeung CM, Chan CB, Leung PS, Cheng CH. Cells of the anterior pituitary. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(9): 1441–9.
146. Yin F, Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial energy metabolism and redox signaling in brain aging and neurodegeneration. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20(2): 353–71.
147. Young B, Lowe JS, Stevens A, Heath JW. *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2007.

BIOGRAFIJA AUTORA

Medicinsku školu „Dr Milenko Hadžić“ u Nišu završila (2000-2004) sa prosečnom ocenom 5,00 (nosilac Vukove diplome).

Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, studijska grupa-Medicina, upisala 2004., a na istom diplomirala 2010. godine sa prosečnom ocenom 9,49; diplomski ispit iz Anatomije položila sa ocenom 10.

Demonstrator na predmetu Mikrobiologija i imunologija na Medicinskom fakultetu u Nišu bila je školske 2009/2010. godine.

Godine 2010. proglašena za najboljeg studenta 6. godine studijske grupe Medicina.

Tokom studiranja bila je stipendista grada Niša i Republike Srbije.

Stručni ispit za doktora medicine položila 27.04.2011. godine.

Akadske doktorske studije iz oblasti molekularne medicine na Medicinskom fakultetu u Nišu, upisala je novembra 2010. godine i sada je student četvrte godine studija.

Od 01.04. do 30.06.2011. godine bila je na studijskom boravku u Institutu za mikrobiologiju „Stefan Angelov“ pri Bugarskoj akademiji nauka i umetnosti, radi stručnog i naučnog usavršavanja iz oblasti virusologije.

Maja 2011. godine postaje stipendista Ministarstva prosvete i nauke i uključuje se u rad na projektu: *Etiologija, dijagnostika, prevencija i terapija endemske nefropatije i sa njom povezanih tumora urotela – značaj istraživanja genoma i proteoma*; ev. br. 175092, kojim je rukovodio akademik Vladislav Stefanović.

Od 01.09.2011. godine je u radnom odnosu na određeno vreme kao istraživač-pripravnik na Medicinskom fakultetu u Nišu, u svojstvu istraživača na pomenutom projektu Ministarstva nauke i tehnološkog razvoja RS.

Oktobra 2011. godine pohađala je kurs „Matične ćelije i savremena medicina“, prof. dr Zorana Ivanovića na Medicinskom fakultetu u Nišu.

U školskoj 2011/12. godini bila je angažovana na predmetu Mikrobiologija i imunologija Medicinskog fakulteta u Nišu za izvođenje praktične nastave kao saradnik - volonter, a u školskoj 2012/13. je u istom svojstvu bila angažovana na predmetu Anatomija.

Za saradnika u nastavi na UNO Anatomija Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu izabrana je 2013. godine. Ugovor u zvanje saradnika u nastavi produžen 30.12.2015. godine.

Dana 20. 02. 2017. godine Izorno veće Medicinskog fakulteta u Nišu donelo je odluku o izboru Jovane Čukuranović Kokoris u zvanje asistenta na UNO Anatomija.

Poseđuje odlično znanje govornog i pisanog engleskog jezika i ima položen nivo B2.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

"Морфометријска и имунохистохемијска анализа структура аденохипофизе које су саставни део гонадотропне и соматотропне осовине током старења човека"

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Јована Р. Чукурановић Кокорис

ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов дисертације:

"Морфометријска и имунохистохемијска анализа структура
аденохипофизе које су саставни део гонадотропне и соматотропне осовине
током старења човека"

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за
уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истоветан штампаном
облику.

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Јована Р. Чукурановић Кокорис

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

"Морфометријска и имунохистохемијска анализа структура аденохипофизе које су саставни део гонадотропне и соматотропне осовине током старења човека"

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

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Јована Р. Чукурановић Кокорис