



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**Драгица В. Селаковић**

**Бихевиорални ефекти хроничне примене супрафизиолошких  
доза андрогених анаболичких стероида и програмираног  
тренажног процеса код пацова**

**ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА**

**Ментор: др сци. мед. Гвозден Росић, редовни професор**

**Крагујевац, 2018. године**

## Апстракт

**Увод:** У овој студији су испитивани бихевиорални ефекти хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (ААС) и програмираног тренажног процеса код пацова.

**Материјал и методе:** Студија је спроведена на 64 пацова Wistar albino соја, старости 3 месеца, телесне масе 350-400 g, подељених у 6 група: контролна, група са вежбањем (В), нандролон-деканоат група (НД), комбинована група за НД, тестостерон-енантат група (ТЕ) и комбинована група за ТЕ (В+ТЕ). ААС су примењивани у дози од 20 mg/kg недељно, док је протокол физичке активности спровођен у форми једносатног пливања (5 дана недељно). Протоколи су трајали по шест недеља, након чега су вршени бихевиорални тестови, а потом су животиње жртвоване у циљу добијања узорака за серолошке и хистолошке анализе.

**Резултати:** Резултати бихевиоралног испитивања су показали да ААС доводе до испољавања анксиогеног и продепресантног ефекта, уз смањење когнитивних функција и толеранције бола. Хронични протокол физичке активности је доводио до супротних бихевиоралних манифестација. Сви примењени протоколи су доводили до повећања серумских концентрација полних хормона. Супрафизиолошке дозе ААС су узроковале смањење броја парвалбумин позитивних интернеурона и повећање броја рецептора за андрогене хормоне у хипокампусу. Физичка активност је доводила до повећања парвалбумин позитивних интернеурона и естроген  $\alpha$  рецептора, уз смањење рецептора за андрогене хормоне у хипокампусу. Параметри за процену оксидативног оштећења у ткиву хипокампуса су се повећавали након третмана ААС и смањивали након протокола физичке активности.

**Закључак:** Анксиогени и продепресантни ефекат, уз смањење когнитивних функција, након примене супрафизиолошких доза ААС је био повезан са смањењем броја парвалбумин позитивних интернеурона и повећањем броја рецептора за андрогене хормоне у хипокампусу. Супротни бихевиорални ефекти добијени након хроничног тренажног процеса су били удружени са истовременим смањењем броја андрогених и повећањем броја естроген  $\alpha$  рецептора, уз значајно повећање броја парвалбумин позитивних интернеурона у хипокампусу.

**Кључне речи:** андрогени анаболички стероиди, физичка активност, бихевиорални тестови, рецептори за полне хормоне, хипокампус

## **Abstract**

**Introduction:** In this study we evaluated behavioral effects of chronic administration of supraphysiological doses of androgenic anabolic steroids (AASs) and program of exercise protocol in rats.

**Material and methods:** The study was performed on 64 Wistar albino rats, 3 months old, weighting 350-400 g, divided into 6 groups: control, exercise group (E), nandrolon-decanoate group (ND), combined group for ND, testosterone-enanthate group (TE), and combined group for TE. AASs were administered in a dose of 20 mg/kg weekly, exercise protocol was performed by means of 1 hour of swimming (5 days per week). All protocols lasted for six weeks, and were followed by behavioral testing, and then the animals were sacrificed in order to obtain the samples for serological and histological analyses.

**Results:** The results of behavioral testing showed AASs-induced anxiogenic and prodepressant effect accompanied with decline of cognitive functions and pain tolerance. Chronic exercise protocol resulted in the opposite behavioral manifestations. All applied protocols resulted in increase in sex hormones serum levels. Supraphysiological doses of AASs induced decrease the number of parvalbumin positive interneurons and increase in number of androgen receptors in hippocampus. Exercise protocol resulted in increased number of parvalbumin positive interneurons and estrogen  $\alpha$  receptors, accompanied with decreased number of androgen receptors in hippocampus. Parameters for evaluation of oxidative damage in hippocampal tissue were elevated following AASs treatment, and decrease after exercise protocol.

**Conclusion:** Anxiogenic and prodepressant effect, with decline in cognitive functions, following administration of supraphysiological doses of AASs was accompanied with decreased number of parvalbumin positive interneurons and increased number of androgen receptors in hippocampus. The opposite behavioral effects achieved following exercise protocol were accompanied with simultaneous decline in number of androgen and increase in number of estrogen  $\alpha$  receptors, with significant augmentation of parvalbumin positive interneurons number in hippocampus.

**Key words:** androgenic anabolic steroids, exercise, behavioral tests, sex hormones receptors, hippocampus

## САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1. Андрогени анаболички стероиди.....	2
1.1.1. Дефиниција и историјат .....	2
1.1.2. Злоупотреба ААС-а.....	3
1.1.3. Синтеза и метаболизам андрогених хормона.....	5
1.1.4. Класификација ААС-а.....	8
1.1.5. Механизам дејства ААС-а.....	9
1.1.6. Специфични механизми деловања ААС-а у ЦНС-у.....	11
1.1.7. Терапијске индикације за примену ААС-а.....	12
1.1.8. Нежељени ефекти ААС-а.....	14
1.1.9. Бихевиорални ефекти ААС-а.....	18
1.1.11. Утицај ААС-а на оксидативно оштећење.....	27
1.2. Бихевиоралне промене које се повезују са физичком активношћу.....	27
1.2.1. Утицај физичке активности на испољавање анксиозности .....	28
1.2.2. Утицај физичке активности на испољавање депресивности .....	29
1.2.3. Утицај физичке активности на когнитивне функције .....	31
1.2.4. Утицај физичке активности на ноцицепцију.....	33
1.2.5. Утицај физичке активности на параметре физичке способности .....	34
1.2.6. Утицај физичке активности на оксидативно оштећење.....	37
1.3. Бихевиорална тестирања на анималним моделима.....	38
1.3.1. Тестови за процену степена анксиозности .....	39
1.3.2. Тестови за процену нивоа депресивности .....	41
1.3.3. Тестови за процену когнитивних функција .....	41
1.3.4. Тестови за процену ноцицепције.....	43
1.3.5. Тестови за испитивање квалитета моторних функција.....	44
2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА .....	46
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....	48

3.1. Услови под којима су животиње чуване током трајања експерименталних протокола .....	49
3.2. Експерименталне групе и третман.....	50
3.3. Параметри за процену антропометријских карактеристика и фактора који на њих утичу .....	52
3.3.1. Праћење дневног уноса хране .....	52
3.3.2. Праћење дневног уноса воде .....	52
3.3.3. Праћење промена телесне масе .....	52
3.4. Бихевиорална тестирања.....	53
3.4.1. Тест отвореног поља (ОП тест) .....	53
3.4.2. Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ тест) .....	56
3.4.3. Тестови ходања по греди.....	58
3.4.4. Ротарод тест (РР тест).....	61
3.4.5. Тест држања за жицу .....	62
3.4.6. Тест качења за реп (ТКР) .....	63
3.4.7. Тест Барнсовог лавиринта - Барнсов тест .....	65
3.4.8. Тест вруће плоче (ВП тест).....	67
3.4.9. Снимање и анализа видео записа .....	68
3.5. Прикупљање узорака за одређивање хормонског статуса, параметара оксидативног стреса и имунохистохемијску анализу .....	69
3.5.1. Одређивање концентрације хормона у крви .....	69
3.6. Одређивање параметара оксидативног стреса у ткиву хипокампуса.....	71
3.6.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (изражен као TBARS) у хипокампусу .....	71
3.6.2. Одређивање активности супероксид-дисмутазе (SOD) у хипокампусу.....	72
3.6.3. Одређивање укупног глутатиона (GSH) у хипокампусу.....	74
3.6.4. Одређивање количине укупних протеина у хомогенату ткива .....	75
3.7. Имунохистохемијска испитивања ткива хипокампуса .....	77
3.7.1. Припрема препарата .....	77
3.7.2. Бојење препарата.....	77
3.7.3. Бројање имунореактивних неурона.....	80
3.8. Статистичка анализа података .....	83

4. РЕЗУЛТАТИ .....	84
4.1. Параметри за процену антропометријских карактеристика и фактора који на њих утичу .....	85
4.1.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на дневни унос хране.....	85
4.1.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на дневни унос воде.....	88
4.1.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на телесну масу .....	89
4.1.3. Анализа величине утицаја различитих фактора на промене телесне масе .....	92
4.2. Бихевиорални тестови.....	93
4.2.1. Тест отвореног поља (ОП тест) .....	93
4.2.2. Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЈ тест) .....	111
4.2.2. Тестови ходања по греди.....	129
4.2.3. Тест провоцираног ходања по греди (ПХГ тест).....	131
4.2.4. Ротарод тест (РР тест).....	135
4.2.5. Тест држања за жицу .....	137
4.2.6. Тест качења за реп (ТКР) .....	139
4.2.7. Барнсов тест (БТ) .....	147
4.2.8. Тест вруће плоче (ВП тест).....	151
4.2.9. Анализа утицаја експерименталних протокола на специфичне бихевиоралне модалитете .....	153
4.3. Промене хормонског статуса узроковане хроничним протоколима .....	158
4.3.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације тестостерона.....	158
4.3.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације дихидротестостерона (ДХТ).....	160

4.3.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације естрадиола .....	162
4.4. Промене оксидативног статуса у хипокампусу узроковане хроничним протоколима .....	164
4.4.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на индекс липидне пероксидације (изражен као TBARS) у хипокампусу .....	164
4.4.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на активност супероксид-дисмутазе (SOD) у хипокампусу .....	166
4.4.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на укупни глутатион (GSH) у хипокампусу .....	168
4.4.4. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре оксидативног стреса у хипокампусу .....	170
4.5. Имунохистохемијска испитивања ткива хипокампуса .....	171
4.5.1. Анализа броја и дистрибуције имунореактивних PV неурона у хипокампусу ..	171
4.5.2. Анализа међусобне повезаности бихевиоралних тестова, хормонских анализа и имунохистохемијске анализе PV имунореактивних неурона .....	181
4.5.3. Анализа броја и дистрибуције AR имунореактивних неурона у хипокампусу ..	188
4.5.4. Анализа међусобне повезаности бихевиоралних тестова, хормонских анализа и имунохистохемијске анализе AR имунореактивних неурона .....	197
4.5.5. Анализа броја и дистрибуције ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу	205
4.5.6. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима, хормонским анализама и имунохистохемијском анализом ER $\alpha$ имунореактивних неурона .....	213
4.5.7. Анализа броја и дистрибуције ER $\beta$ имунореактивних неурона у хипокампусу	220
4.5.8. Анализа односа броја AR и ER $\alpha$ имунореактивних неурона (AR/ER $\alpha$ индекс) у хипокампусу .....	221
4.5.9. Анализа међусобне повезаности параметара бихевиоралних тестова, хормонских анализа и имунохистохемијске анализе AR/ER $\alpha$ индекса .....	229
5. ДИСКУСИЈА .....	237
5.1. Утицај ААС-а и физичке активности на промене степена анксиозности .....	240

5.2. Утицај ААС-а и физичке активности на промене степена депресивности.....	245
5.3. Утицај ААС-а и физичке активности на промене когнитивних способности.....	247
5.4. Утицај ААС-а и физичке активности на ноцицепцију.....	250
5.5. Утицај ААС-а и физичке активности на параметре физичке способности .....	251
5.6. Утицај ААС-а и физичке активности на промене серумских концентрација полних хормона.....	254
5.7. Утицај ААС-а и физичке активности на број PV имунореактивних неурона у хипокампусу.....	257
5.8. Утицај ААС-а и физичке активности на број AR имунореактивних неурона у хипокампусу.....	258
5.9. Утицај ААС-а и физичке активности на број ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу.....	260
5.10. Утицај ААС-а и физичке активности на AR/ER $\alpha$ индекс у хипокампусу .....	261
5.11. Утицај ААС-а и физичке активности на оксидативно оштећење у хипокампусу ..	262
5.12. Нумеричка анализа повезаности регистрованих параметара.....	266
5.12.1. Претпостављени механизам промена степена анксиозности .....	266
5.12.2. Претпостављени механизам промена степена депресивности.....	267
5.12.3. Претпостављени механизам промена когнитивних способности.....	267
6. ЗАКЉУЧЦИ.....	268
7. ЛИТЕРАТУРА.....	271
СКРАЋЕНИЦЕ .....	308



# **1. УВОД**

## 1.1. Андрогени анаболички стероиди

### 1.1.1. Дефиниција и историјат

Андрогени анаболички стероиди (ААС) представљају заједнички назив за групу синтетских деривата мушког полног хормона - тестостерона. Тестостерон се ствара у Лајдиговим ћелијама тестиса. Годинама уназад је познато да кастрација изазива губитак одређених секундарних мушких полних карактеристика. Почетком 20. века било је више покушаја проналажења супстанце која има слична својства и ефекте као тестостерон. Крајем двадесетих година 20. века проналазак активне супстанце је омогућио започињање производње синтетских андрогена (1935. године) (1, 2). Током Другог светског рата синтетски андрогени су давани немачким војницима како би повећали агресивност (3). У то доба један од циљева је био раздвојити андрогена од анаболичких својстава, што се није показало као могуће. Данас постоји широк спектар препарата са преодминантним андрогеним или анаболичким карактеристикама. Андрогена својства се огледају у развоју мушких полних карактеристика (повећање мишићне снаге, мушки тип маљавости, продубљивање гласа...), док се анаболичка дејства остварјују стимулацијом синтезе протеина и инхибиције разградње протеина. ААС испољавају значајну анаболичку активност са смањеном андрогеном активношћу.

*Charles E. Brown-Séguard* је 1889. године супкутано применио екстракт узет од пса и тестиса заморчића и ефекат који је доживео описао је као „еликсир за подмлађивање” који може да повећа мишићну снагу и интелектуалне функције (4). Данас се сматра да је описани ефекат заправо резултат плацебо ефекта. *F. C. Koch* и *L. McGee* су 1927. године применили тестостерон из говеда и забележено је побољшање карактеристика мишића у неколико животињских врста након кастрације (5). *E. Laqueur* и *A. Butenandt* су 1935. године изоловали тестостерон из хуманог тестиса и описали његову хемијску структуру. Исте године, тестостерон је први пут синтетисан у две независне истраживачке групе. За то достигнуће је додељена Нобелова награда *A. Butenandt* и *L. Ruzicka* 1939. године (6).

### 1.1.2. Злоупотреба ААС-а

Први подаци о злоупотреби ААС-а потичу из педесетих година 20. века. Тада су се, на светском такмичењу у дизању тегова у Аустрији (1954. године), прошириле гласине да су руски спортисти користили ААС у циљу побољшања моторних способности. Након тога, *John Ziegler* је започео са тестирањем ефеката тестостерона код дизача тегова у Америци. Запазио је да је добијање мишићне масе врло скромно, као и да постоји низ нежељених дејстава. У сарадњи са фармацеутском кућом (*Ciba Pharmaceuticals*) успео је да синтетише анаболички стероид – метандростенолон, који се појавио на тржишту под именом *Dianabol*, и веома брзо је стигао до крајњих корисника (бодибилдера). Упркос значајном повећању мишићне масе и снаге, многа нежељена дејства су била присутна (хепатотоксичност и стерилитет) (3). Након што је сазнао за многа нежељена дејства, *Ziegler* се осетио кривим и на самрти (1983. године) је рекао: „*All those young kids... what a terrible price they'll pay. If only I'd known it would come to this.*” (ср. „Сва та млада деца... Како страшно велику цену плаћају. Да сам само знао до чега ће ово довести.”) (3).

У анкети која је спроведена 2006. године приближно 100% испитаника (корисници ААС-а) се изјаснило да су имали неке од нежељених дејстава: акне, атрофија тестиса, несаница, сексуална дисфункција, бол на месту апликације, стрије, ретенција течности, гинекомастија, као и честе промене расположења (7). Такође, забележени су веома озбиљни нежељени ефекти (индуковани коришћењем ААС-а) у кардиоваскуларном систему, а било је и случајева изненадне срчане смрти код наизглед здравих спортиста (8).

Међународни олимпијски комитет је започео организовану борбу против допинга шездесетих година двадесетог века. Прва допинг контрола је била 1968. године на Олимпијским играма у Мексику, док су се ААС нашли на листи забрањених супстанци 1976. године. Деценију касније, Међународни олимпијски комитет је донео одлуку да се започне са допинг контролом и ван такмичења јер су спортисти масовно користили различите допинг супстанце (нарочито ААС) током тренинга (9). Злоупотреба ААС-а није резервисана само за професионалне спортисте, веома је распрострањена и међу аматерским и рекреативним спортистима, као и у адолесцентској популацији.

Студије спроведене у Сједињеним Америчким Државама су показале да се профил особа које злоупотребљавају ААС током протеклих двадесетак година знатно изменио. Протеклих деценија типичан корисник ААС-а је најчешће био мушкарац са ниским нивоом самопоуздања, нижег образовног нивоа, са израженим антисоцијалним понашањем, такође и са компонентама насилничког и агресивног понашања (10, 11). Супротно томе, студија која је спроведена 2007. године је показала да су типични корисници ААС-а заправо тридесетогодишњи мушкарци беле расе, високог образовног нивоа, запослени, који су мотивисани да користе андрогене у циљу побољшања свог изгледа и атрактивности (12).

Два главна аспекта која карактеришу коришћење ААС-а (као „ерогених супстанци“) су дозирање и начин примене. Терапијске дозе андрогена (на пример код особа са хипогонадизмом) су у распону од 6 до 10 mg дневно, и на тај начин је омогућено одржавање физиолошких концентрација хормона. Супротно томе, дозирање код особа које злоупотребљавају ове супстанце превазилази оквире терапијског режима, супрафизиолошке дозе које су у употреби могу да буду 40 до 100 пута веће од физиолошких. Дуготрајна употреба супрафизиолошких доза ААС-а може да проузрокује неочекиване, па чак и супротне ефекте, при чему може доћи и до поремећаја у функционисању ендокриног система (на пример, супресија продукције фоликулостимулирајућег и лутеинизирајућег хормона, као и гонадотропин ослобађајућег хормона) уз многобројна нежељена дејства (13).

Корисници који злоупотребљавају ААС-е чешће користе ААС-е у циклусима него континуирано. Коришћење ових супстанци у циклусима („*cycling*“) подразумева узимање ААС-а током неколико недеља или месеци, затим следи период када престаје узимање истих, и након тога поновно враћање на коришћење стероида. У циљу повећања ефикасности ових супстанци, често долази до комбиновања различитих стероида што се означава као „*stacking*“. Овај начин коришћења омогућава да се истовремено комбинују разноврсна фармакокинетичка и биолошка својства различитих молекула. Најчешћи начин злоупотребе ААС-а је по типу коришћења супрафизиолошких доза у трајању од 4 до 18 недеља, након чека следи период „одмора“ када особе паузирају са узимањем стероида (обично тај период траје од једног до дванаест месеци). Главни циљ који заправо наводи

кориснике да прекину коришћење стероида јесте ублажавање нежељених дејстава, као и стабилизовање рада ендокриног система, а не сме се занемарити и чињеница да на тај начин смањују шансу да буду откривени током антидопинг контрола. Повремено се може запазити да корисници постепено смањују дозу пре потпуног престанка узимања стероида, та појава се описује као „*pyramiding*” (13).

### 1.1.3. Синтеза и метаболизам андрогених хормона

Основни разлог због чега се тестостерон назива мушким хормоном је базиран на чињеници да је концентрација тестостерона десет пута већа код мушкараца у односу на жене. Ипак, треба напоменути да су жене знатно осетљивије на ефекте тестостерона од мушкараца (14). Највећи део тестостерона се ствара у гонадама и сржи надбубрега, иако се синтеза може одвијати и у мозгу (неуростероиди, 15).

Синтеза тестостерона почиње из холестерола (прекурсор свих стероидних хормона) променом на бочном ланцу угљеника под дејством ензима дезмолазе, при чему настаје прегненолон (основни C21 стероид, и прохормон за све остале стероиде). Даља обрада прегненолона се одвија у митохондријама или ендоплазматском ретикулуму. 17 $\alpha$ -хидроксилаза претвара прегненолон у 17 $\alpha$ -хидроксипрегненолон, а потом у адреналном кортексу 17,20-лиаза катализује његову конверзију у дехидроепиандростерон (DHEA), који прелази у циркулацију (најчешће у стабилном сулфатисаном, облику DHEA-S). Под дејством 3 $\beta$ -хидроксистероид дехидроксиогеназе, из DHEA настаје андростендион, који се потом (под дејством 17 $\beta$ -хидроксистероид дехидроксиогеназе) претвара у тестостерон.

Најважнији природни андроген - тестостерон, током своје биотрансформације у организму, подлеже низу оксидоредуктивних реакција у положају C3, C4, C5 и C17. Први корак у метаболизму тестостерона представља реакција редукције двоструке везе (C4,5) која доводи до формирања 5 $\alpha$  и 5 $\beta$  деривата, при чему долази до настанка различитих просторних конфигурација услед различитог позиционирања (изнад и испод равни молекула) водоника у положају C5. Тип просторне конфигурације има кључну улогу у

дефинисању биолошке активности деривата тестостерона, па тако  $17\beta$ -хидрокси- $5\alpha$  деривати, као што је  $5\alpha$ -дихидротестостерон ( $5\alpha$ -ДХТ), показују андрогену активност, док  $5\beta$  стероиди немају андрогена својства.  $5\alpha$ -ДХТ настаје у одређеним ткивима (као што су мозак и репродуктивни систем) под утицајем ензима  $5\alpha$ -редуктазе (16, 17, 18), а  $5\beta$ -редуктаза у другим ткивима (јетра) доводи до синтезе  $5\beta$  стероида (19).

Редукција двоструке везе C4,5 у молекулу тестостерона је иреверзибилна реакција. Молекул тестостерона, као и његови поједини деривати са незасићеном везом C4,5 ( $5\alpha$ -естри тестостерона), се у појединим ткивима (мозак и масно ткиво) могу претворити у естрадиол под утицајем ензима ароматазе, док се ДХТ и остали  $5\alpha$  синтетски деривати не могу конвертовати у естрогене. Након редукције двоструке везе C4,5, 3-кето група  $5\alpha$  изомера подлеже брзој редукцији под дејством  $3\alpha$ -хидроксистероид дехидрогеназе или  $3\beta$ -хидроксистероид дехидрогеназе. Након оралне, или интрамускуларне примене, тестостерон се највећим делом метаболише до  $3\alpha$ -хидрокси изомера, при чему се стварају мале количине  $3\beta$ -хидрокси- $5\alpha$  метаболита (20).

Значајан метаболички пут тестостерона представља и оксидација  $17\beta$ -хидрокси групе D-прстена, под утицајем ензима  $17\beta$ -хидрокси дехидрогеназе, што доводи до настанка 17-кето метаболита. Овај метаболички пут представља повратну реакцију (под утицајем истог ензима). 17-кето деривати тестостерона, као што су андростерон и етиохоналон, представљају главне метаболите тестостерона у урину. На тај начин, након оралне или парентералне примене,  $17\beta$ -хидрокси група подлеже брзој оксидацији уз формирање поларних молекула који представљају метаболите без биолошке активности (20).

Како би се спречила исувише брза биотрансформација тестостерона и синтетисали облици са продуженом активношћу и/или једињења са мањом андрогеном и већом анаболичком активношћу које је могуће орално примењивати, развијено је више од стотину синтетских стероида. Најчешће примењиване интервенције у циљу поправљања фармаколошких карактеристика синтетских деривата тестостерона су  $17\alpha$ -алкилација и  $17\beta$ -естерификација.

## 17 $\alpha$ -алкилација

Молекул тестостерона се модифукује током процеса 17 $\alpha$ -алкилације, при чему се метил (CH<sub>3</sub>) група обично налази у положају C17 $\alpha$ . Метилтестостерон, синтетисан 1935. године, је један од првих синтетисаних 17 $\alpha$ -алкилирајућих андрогена (21). Такође, у ту групу се убрајају и оксиметолон, оксандролон, као и станозолол. Норетандролон, етилестренол и норболетон, такође 17 $\alpha$ -алкилирајући андрогени, у положају C17 $\alpha$  имају етил (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) групу.

Процес 17 $\alpha$ -алкилације значајно успорава инактивацију тестостерона у јетри, и на тај начин је омогућено да се ови препарати могу орално узимати. Сви андрогени који своју активност испољавају након *per os* употребе припадају групи 17 $\alpha$ -алкилирајућих андрогена, изузетак представља метенолон (процес алкилације се одвија у положају C1, 20).

## 17 $\beta$ -естерификација

Процес естерификације 17-хидрокси групе са дуголанчаним молекулима угљоводоника омогућава успоравање процеса биоразградње тестостерона до кето стероида. Препарати који подлежу овом процесу су активни само након парентералне примене. Трајање анаболичког дејства је дефинисано врстом киселине која ацидификује 17 $\beta$ -хидрокси групу. Кратколанчани естри (на пример C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>) у основи имају краткотрајно дејство, док дуголанчани естри (на пример C<sub>7</sub>-C<sub>10</sub>) представљају дугоделујуће супстанце. Овај тип деривата тестостерона, као и сам тестостерон, показује високу андрогену активност, али захваљујући присуству двоструке везе у положају C4,5 могу да подлегну процесу ароматизације.

19-нортестостерон (нандролон) настаје услед супституције водоника метил групом у положају C19. Таква супституција водоника има идентичну  $\beta$  конфигурацију као метил група тестостерона. Процес естерификације 17-хидрокси групе са фенилпропионичном киселином (при чему настаје нандролон фенилпропионат), или циклопентилпропионатом (при чему настаје нандролон ципионат), доприноси томе да на тај начин естерификовани стероиди буду стабилнији и да имају више анаболичких својстава. Естерификација 17-хидрокси групе у молекулу нандролон деканоичном киселином (дуголанчана масна

киселина), омогућава настанак нандролон деканоата (НД). НД се примењује интрамускуларно и полако се отпушта у циркулацију, и своју оптималну анаболичку активност испољава током 6 до 7 дана. Упркос присуству двоструко незасићене везе у положају C4,5, деривати 19-нортестостерона имају значајно мање андрогених својстава у поређењу са естрима тестостерона (20).

#### 1.1.4. Класификација ААС-а

ААС, као и ендогени андрогени, имају структуру која се састоји од четири прстена и садрже 19 C атома. Различите модификације структуре доприносе продужавању полуживота, а самим тим и ефикасности синтетских препарата. У складу са тим, ААС су подељени у три главне класе.

Прву класу чине естри тестостерона који су створени током процеса естерификације  $17\beta$ -хидрокси групе у молекулу тестостерона. У ову групу спадају: тестостерон-ципионат, тестостерон-пропионат, тестостерон-енантат, метенолон. Сви припадници ове класе се парентерално примењују. Естерификација успорава разлагање и продужава дејство након парентералне примене хормона који се полако отпушта у циркулацију (22, 20). Ови естри могу да подлегну процесу хидролизе при чему настаје „слободан” тестостерон, могу да се редукују до  $5\alpha$ -дихидротестостерона - андроген са већом биолошком активношћу у мозгу где се везује за андрогене рецепторе (17, 23, 24), такође могу и да се у процесу ароматизације претворе у естрогене (23, 24). Молекули који су  $5\alpha$ -редуковани не могу да се метаболишу до естрогена, али могу да се метаболишу до других андрогених једињења као што је  $3\alpha$ -андростенедиол.

Друга класа ААС-а представља андрогене естре који су, заправо, деривати 19-нортестостерона. Припадници ове групе се, такође, парентерално примењују. Ова једињења имају метил групу у положају C19 (22, 20). Супституција водоника метил групом је омогућила да полуживот стероидима ове класе буде дужи него када би били само естерификовани (20). Представници ове класе су нандролон-деканоат (НД) и тренболон. Упркос присуству двоструке везе у положају C4-C5 у молекулу НД-а, ово



једињење има редуковану андрогену активност (на андрогеним рецепторима) у поређењу са дихидротестостероном (25, 23, 20). НД, као и естри тестостерона из прве класе, може да буде ароматизован до 17 $\beta$ -естрадиола, иако само са 20% ефикасности у поређењу са тестостероном (25, 23). Представници и прве и друге класе могу да подлегну процесу ароматизације, па тако своје дејство у централном нервном систему (ЦНС) могу да остварују, поред везивања за андрогене рецепторе, и преко метаболита естрогена и естрогених рецептора (26).

Трећу класу чине једињења која су добијена процесом алкилације у положају С17 (17 $\alpha$ -метилтестостерон, матандростенолон, станозолол, оксиметолон). Ова група стероида је активна и након оралне примене, јер сам процес алкилације успорава метаболизам који се одвија у јетри (22). До сада није познато да се било који од 17 $\alpha$ -алкилирајућих стероида не може конвертовати (у јетри) у дихидротестостерон или 17 $\beta$ -естрадиол, иако могу настати други метаболити андрогена и естрогена (23).

### 1.1.5. Механизам дејства ААС-а

Прецизни механизам дејства ААС-а још увек није потпуно разјашњен, те из тог разлога и даље представља предмет многих истраживања. Представљено је више различитих механизма којима се може објашњавати деловање ААС-а, а сложеност овог питања се додатно повећава због чињенице да постоје значајне разлике у механизму деловања ААС-а у различитим ткивима и органима. Основни механизам деловања ААС-а се разликује у зависности од врсте анаболика, односно молекулске структуре ових стероида. Структуралне варијације се сматрају одговорним за специфичности везивања за рецепторске протеине, или за интеракцију са различитим ензимима који су укључени у метаболизам стероида (26, 27, 28). На пример, анализирајући интеракцију андрогена са интрацелуларним протеинским рецептором за стероиде, могу се уочити три потпуно различита исхода:

- везивање са високим афинитетом за андрогене рецепторе, што ову групу анаболика (19 нортестостерон, метенолон), дефинише као јаке андрогене (29, 30)

- везивање са ниским афинитетом за андрогене рецепторе, што ову групу анаболика (станозолол и флуоксиместерон), дефинише као слабе андрогене (29, 30)
- функција андрогена (оксиметолон), који се уопште не везују за андрогене рецепторе (29). Претпоставља се да андрогени који припадају овој групи могу да остварују активност након биотрансформације или деловањем преко неких других механизма (26, 31).

Такође, андрогени интрацелуларно могу доживети различите облике биотрансформације. Тако се, непосредно након уласка у ћелију, понекад и пре везивања за рецептор, тестостерон може под дејством ензима 5 $\alpha$ -редуктазе трансформисати у знатно активнији облик - дихидротестостерон (26). Тако се долази у ситуацију да исти супстрат (тестостерон) може да делује на два различита рецептора и са различитим интензитетом ефекта (30), при чему се овај процес завршава коначним трансфером комплекса стероид-рецептор у једру и последичним променама на нивоу ДНК и РНК (32, 33). Биотрансформација тестостерона под утицајем 5 $\alpha$ -редуктазе представља основни процес метаболичке конверзије у бројним ткивима и органима (мушке полне жлезде, простата, плућа, масно ткиво...).

Други потенцијални метаболички пут биотрансформације тестостерона подразумева ефекте ензима ароматазе, иако се сматра да је овај метаболички пут мање заступљен у физиолошким условима. Ароматаза представља интрацелуларни ензим који доводи до конверзије ААС-а у женске полне хормоне, као што су естрадиол и естрон. На тај начин формиран женски полни хормон се везују за естрогене рецепторе формирајући естроген-рецептор комплексе. Ови хормон-рецептор комплекси узрокују даље ефекте у масном ткиву, Лејдиговим и Сертолијевим ћелијама, као и у појединим деловима централног нервног система. Претпоставка је да се овакав механизам конверзије андрогена у естрогене дешава у ситуацијама када постоји сатурација андрогених рецептора. При супрафизиолошким серумским вредностима ААС-а долази до сатурације и *down*-регулације андрогених рецептора, уз испољавање антиестрогеног ефекта. Такође, вишак андрогена ће почети да се везује за слободне естрогене рецепторе, или да чак компетитивно смањује везу између естрогена и естрогених рецептора. Ипак, сумарни ефекат примене супрафизиолошких доза анаболика није једноставно проценити (34).

Интересантно је да механизам дејства андрогена, поред компетитивног антагонизма са естрогеним рецепторима показује и сличан компетитивни антагонизам са глукокортикоидним рецепторима, што објашњава механизам антиглукокортикоидног ефекта ААС-а (35). Познато је да глукокортикоиди показују катаболичка својства, која укључују и повећану разградњу протеина након тешког физичког или менталног стреса. Везујуће се за глукокортикоидне рецепторе, ААС спречавају смањење ткивних количина протеина (36).

### **1.1.6. Специфични механизми деловања ААС-а у ЦНС-у**

Рецептори за полне хормоне (андрогене, естроген  $\alpha$  и  $\beta$ ) се налазе у готово свим регионима мозга, укључујући и делове који су одговорни за контролу понашања, попут хипокампуса. Локализација рецептора за полне хормоне у хипокампаљним неуронима може бити нуклеарна, али се могу наћи и на екстрануклеарним локализацијама, као што су: ћелијска мембрана, митохондрије и синаптичке везикуле (37). Рецептори за полне хормоне у хипокампусу су, такође, потврђени и на олигодендроцитима и астроглији, што и ове ћелије чини циљним ћелијама за дејство полних хормона (38, 39). Региони мозга који су задужени за контролу понашања, поред рецептора за полне хормоне, садрже и велики број ензима за синтезу и трансформацију стероида. Стога је потребно да се приликом анализе ефеката полних хормона пажња обрати на оба ова елемента. Значај функције рецептора за полне хормоне у контроли испољавања агресије је недвосмислено потврђен у експериментима са генетски модификованим мишевима за андрогене рецепторе (40, 41, 42). Ипак, у контроли испољавања агресије под утицајем ААС-а, поред андрогених рецептора, значајну улогу има и њихова способност да индиректно мењају сигнални пут преко естрогених рецептора услед алостеричке инхибиције ароматазе која доводи до смањења ендогених естрогена (42). Део утицаја андрогена на испољавање анксиозности и агресивности се може остваривати и механизмима који нису посредовани рецепторима, као што је смањење биосинтезе ендогених неуростероида (43, 44, 45).

Хипокампус је структура која игра кључну улогу у когнитивном и емоционалном процесуирању. Хипокампаљна формација садржи две групе неурона: главни неурони,

одговорни за везе других структура мозга са хипокампусом, и интернеурони (доминантно габаергички) који су саставни део неуронских мрежа унутар хипокампуса (46). Гама-аминобутерна киселина (GABA) представља главни инхибиторни неуротрансмитер у мозгу сисара. Такође, GABA интернеурони су веома широко распрострањени у различитим регионима мозга. Ови интернеурони имају значајну улогу у модулирању локалних норадренергичких, допаминергичких, серотонергичких и глутаматергичких неуронских кругова. Дисфункција габаергичког система се доводи у везу са појавом депресивних симптома (47), различитим поремећајима расположења (48), биполарног поремећаја (49), као и са патогенезом пост-трауматског стрес синдрома (50). Према специфичној имунореактивности, хипокампадни габаергички интернеурони су подељени на следеће субпопулације: неуропептид Y-, соматостатин-, динорфин- и парвалбумин-позитивни интернеурони. Парвалбумин (PV) припада групи калцијум-везујућих протеина и специфичан је за кичмењаке (51). Парвалбумин-позитивни неурони су широко заступљена популација ћелија у читавом мозгу, са значајним бројем у хипокампусу (52). Обзиром да се активација GABA<sub>A</sub> рецептора у хипокампусу сматра кључним медијатором у регулацији равнотеже између анксиолитичких и анксиогених реакција, претпоставка је да алостеричка модификација ових рецептора изазвана ААС-има представља основни механизам утицаја на промене степена анксиозности (53).

### **1.1.7. Терапијске индикације за примену ААС-а**

Прве идеје о могућим терапијским применама мушких полних хормона се везују за име славног француског физиолога *Charl Eduard Brown-Sequard*, који је предложио примену екстракта са високим садржајем андрогена у циљу повећања физичке снаге и интелектуалне енергије. Изоловање мушких полних хормона, као и синтеза њихових деривата су повећали могућност за њихову терапијску примену. Андрогени анаболици се често користе у третману кахексије, у циљу постизања анаболичког ефекта кроз повећану синтезу протеина. Оваква терапијска примена је нарочито честа код оболелих од AIDS-а (54). Интересантно је да су ефекти суплементације ААС-има код ових пацијената значајно варирали у зависности од иницијалног имунолошког налаза. Забележено је да успех

терапије са надокнадом андрогена у многоне зависи и од начина примене, као и од администриране дозе (54). Губитак телесне масе који се среће код хроничне опструктивне болести плућа (и значајно је удружен са степеном морталитета), представља нову терапијску могућност за примену ААС-а. Дуготрајна примена ААС-а (станозолол током 27 недеља) је довела до значајног повећања телесне масе, индекса телесне масе и мишићне масе, али без значајних промена на нивоу плућне вентилације, као ни размене гасова која би се одразила на побољшање аеробног капацитета (55). ААС се примењују и код пацијената са малнутрицијом хепатичке етиологије. Показано је да симултана администрација ААС-а (оксандролон) са висококалоријском суплементацијом код оштећења јетре алкохолне етиологије побољшава функције јетре, као и стопу преживљавања (56). Анаболички ефекти ААС-а се примењују и током процеса зарастања рана, односно постоперативног опоравка. *In vitro* студије су потврдиле да станозолол значајно повећава продукцију колагена (57). Комплетно зарастање рана уз примену ААС-а је убрзано и према резултатима клиничких студија (58). Иако су резултати који говоре о ефектима примене андрогене суплементације код канцерске кахексије доста различити и дискутабилни, описано је да примена ААС-а у овој клиничкој индикацији може имати неке секундарно корисне ефекте попут повећања концентрације хемоглобина и запремине еритроцита (59, 60). Примена анаболика у терапији кардиоваскуларних пацијената се, такође, показала оправданом. Тако је применом оксиметолоне дошло до значајног повећања ејекционе фракције и корекције димензија леве коморе код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, као и са кардиомиопатијом (61). Клиничке студије спроведене код пацијената у терминалном стадијуму бубрежне инсуфицијенције показују да примена анаболичких стероида може утицати и на поправљање општег стања пацијента (верификовано кроз поправљање параметара квалитета живота), као и кроз повећање еритропоезе (62, 63). Једна од најстандарднијих и најчешћих терапијских индикација за примену супституционалне терапије ААС-а остаје спектар стања повезаних са хипогонадизмом, иако се у последње време уочавају покушаји за андрогеном суплементацијом и у еугонадалним условима (64). Примена оксандролоне се показала ефикасном у третману поремећаја раста у пубертету (65) као и Тарнеровог синдрома (66).

### **1.1.8. Нежељени ефекти ААС-а**

Већ је добро позната чињеница да употреба ААС-а са собом носи низ нежељених дејстава, како реверзibilних, тако и ирреверзibilних. Који ће се нежељени ефекат испољити, зависи од врсте стероида који се користи, као и од дужине трајања коришћења стероида. Нежељени ефекти могу бити акутни и хронични.

#### **1.1.8.1. Акутни нежељени ефекти**

Нежељени ефекти са неспецифичним (благим) карактеристикама су: главобоља, задржавање течности (нарочито у екстремитетима), гастроинтестиналне тегобе, бол у желуцу, као и масна кожа. Нешто озбиљнији акутни нежељени ефекти подразумевају појаву жутице, неправилности менструалног циклуса и хипертензију. Локално, на месту апликације, се могу јавити инфекције, бол, понекад и апсцес (67).

#### **1.1.8.2. Хронични нежељени ефекти**

Већина терапијских индикација за примену ААС-а подразумева протоколе који трају више недеља, или чак месеци. Због тога се у клиничкој пракси велика пажња придаје управо нежељеним ефектима који настају услед дуготрајне администрације ААС-а.

##### **1.1.8.2.1. Нежељени ефекти који се испољавају на нивоу репродуктивног система**

Коришћење ААС-а код мушкараца узрокује смањење концентрације лутеинизирајућег хормона, фоликулостимулирајућег хормона, што доводи до смањеног стварања тестостерона, смањене сперматогенезе, као и последичне атрофије тестиса. Атрофија тестиса, олигоспермија или азоспермија се могу нормализовати након прекида употребе ААС-а, али број и морфолошке карактеристике сперматозоида могу да буду

изван физиолошких оквира и до 6 месеци (68, 69, 70). Хипертрофија простате, пријапизам, и веома ретко карцином простате, могу бити удружени са коришћењем ААС-а (71). Појава гинекомастије је резултат периферне конверзије андрогена у естрадиол и естрон. Ова појава може да буде наглашена код особа које имају оштећену функцију јетре, па се јавља проблем метаболизма андрогена или естрогена. Гинекомастија се може повући након престанка узимања стероида (72, 73). ААС код жена узрокују промене менструалног циклуса, као и маскулинизацију. То се код жена испољава кроз појаву акни, хирзутизма, продубљивање гласа, хипертрофију клиториса, ћелавост мушког типа. Поједини од наведених андрогених ефеката могу да буду иреверзибилни (72, 73).

#### **1.1.8.2.2. Нежељени ефекти у хепатобилијарном систему**

Услед употребе ААС-а може доћи до појаве повишених нивоа ензима који су индикатори функције јетре (аспартат аминотрансфераза, аланин аминотрансфераза, лактат дехидрогеназа). Хепатична дисфункција се најчешће повезује са коришћењем 17 $\alpha$ -алкилирајућих стероида (74). Повремено се може појавити холестатичка жутица, која обично има транзиторне карактеристике. Тумори јетре (како бенигни, тако и малигни) могу настати као последица употребе ААС-а (пример никада неповезаних околности између налаза високог нивоа ААС-а у крви и малигног тумора јетре код Флоренс Грифит Џојнер, светске и олимпијске рекордерке у трци на 100 m). Хепатоцелуларни карцином је најчешће удружен са коришћењем оксиметолонa и метил тестостерона (75). Постоји ризик и од појаве пелиозе јетре која може бити фатална (76).

#### **1.1.8.2.3. Нежељени ефекти у кардиоваскуларном систему**

Током употребе ААС-а може доћи до промена липидног статуса, при чему се уочава значајно смањење HDL холестерола, док је истовремено присутно повећање концентрација LDL холестерола. Из тих разлога особе које користе стероиде имају

повећан ризик од настанка атеросклеротских промена. Након престанка узимања ААС-а постоји могућност нормализовања липидног профила (77).

Хипертензија, инфаркт миокарда, као и мождани удар, могу бити последице дуготрајног коришћења ААС-а (78). Такође, коришћење анаболика се доводи у везу са појавом концентричне хипертрофије леве коморе (79).

#### **1.1.8.2.4. Нежељени дерматолошки ефекти**

Андрогени рецептори се налазе и у кожи, па је присуство акни и фоликулитиса честа појава код корисника ААС-а (80). Биопсијом коже је утврђено да постоји хипертрофија лојних жлезда, повећан садржај липида у површинском слоју коже, и запажено је повећано присуство *Propionibacterium acnes* и *Staphylococcus aureus* (81). Након престанка узимања стероида, такође, долази до повлачења акни.

#### **1.1.8.2.5. Нежељени ефекти који се испољавају на мишићно-скелетном систему**

Описано је да андрогени анаболици повећавају мишићну масу и снагу, према обрасцу где се скелетни мишићи брже адаптирају на ефекат анаболика у односу на везивно ткиво, што се манифестује кроз појаву да ткиво тетива није способно да прати оптерећења изазвана несразмерно брзим повећањем мишићне масе (82). Из тог разлога је комбинована примена ААС-а и физичке активности удружена са веома великим ризиком од повреде тетива. Нежељени ефекат који је резервисан само за ААС који подлежу процесу ароматизације је прерано затварање епифиза код корисника тинејџерског узраста, што онемогућава раст у висину (83).

Говорећи о уоченим негативним последицама злоупотребе ААС-а на физичку активност, недавно је откривен механизам којим ААС могу негативно да утичу на моторне неуроне. Злоупотреба ААС-а се доводи у везу са настанком амиотрофичне латералне



склерозе код фудбалера (84). Постоји недовољно података који потврђују да ААС могу утицати на метаболизам колагена типа 1 (85).

#### **1.1.8.2.6. Нежељени ефекти на нивоу урогениталног тракта**

Употреба стероида се доводи у везу са порастом серумске концентрације креатинина, уреје, као и мокраћне киселине. Углавном се овакав статус нормализује након прекида третмана стероидима (86).

Описана је и акутна инсуфицијенција бубрега, компликација која је настала услед рабдомиолизе, код бодибилдера који су користили стероиде (87). Комбинована примена ААС-а и креатинина, честа код бодибилдреа, може да узрокује оштећење бубрежног паренхима. Забележен је и случај мембранопролиферативног гломерулонефритиса (88).

#### **1.1.8.2.7. Нежељени ефекти у имунском систему**

Забележени су случајеви појаве хепатитиса В или С, као и HIV-а услед неправилног руковања, као и услед заједничког коришћења шприцева и игли. Такође, ризик од инфекција је присутан уколико се користе ААС недовољно испитаног и тестираног квалитета (89).

#### **1.1.8.2.8. Нежељени ефекти у ендокрином систему**

Коришћење ААС-а, пре и током пубертета, узроковаће убрзано сазревање, као и развијање секундарних полних карактеристика. Присуство инсулинске резистенције, интолеранција глукозе, као и смањене концентрације тиреоидних хормона могу да буду неки од нежељених ефеката (20). Губитак косе у темпоралном делу, као и алопесија, су саставни део дуготрајне употребе ААС-а, како код мушкараца, тако и код жена.

### 1.1.9. Бихевиорални ефекти ААС-а

Злоупотреба ААС-а је удружена са манифестацијама које су класификоване у психијатрији, као и различитим бихевиоралним променама који могу да варирају од неких блажих облика који су друштвено прихавтљиви, па све до неконтролисаног, импулсивног понашања, уз испољавање агресије, анксиозности, хипоманије, повремено и маничних епизода (90). Учесталост појаве ових ефеката зависи од примењене дозе, дужине трајања, структуре личности корисника, као и од окружења у коме се налази. Многи корисници испољавају параноидну љубомору, екстремну иритабилност, смањену моћ расуђивања која проистиче из осећаја непобедивости. Такође, могу да се јаве акутне психозе, конфузна стања, појава или погоршање већ постојећих тикова. Дуготрајни корисници ААС-а често испољавају нарцизам и хистерично понашање. Супрафизиолошке дозе ААС-а могу да узрокују појаву маничних симптома, честе промене расположења, који могу бити удружени са насиљем и агресијом (90, 67).

Термин „*roid rage*” се користи да опише испољавање беса и агресије код особа које злоупотребљавају ААС, и представља изненадано и веома агресивно понашање изазвано минималном провокацијом (91).

Многи мушкарци користе ААС како би само побољшали свој изглед, што је често удружено са појавом мишићне дисморфије (патолошко стање у коме мишићавост представља главну преокупацију). Такав тип људи је склон покушајима самоубиства, има лош квалитет живота, и подложен је злоупотреби и других супстанци (92).

На основу истраживања спроведених на анималним моделима, као и хуманој популацији, показана је веза између мушких полних хормона и психолошких функција и/или понашања. У неколико студија које су спроведене на анималним моделима потврђена је повезаност између концентрације тестостерона и агресивног понашања, док су резултати добијени у хуманој популацији били другачији (93). Постоје и клиничке студије које су показале да ниво ендогеног тестостерона није у директној вези са испољавањем агресивног понашања (94, 95).

Примена ААС-а може бити удружена са појавом шизофреније (96), зависности од стероида (97), афективних и психотичних симптома (90), убистава и покушаја убиства (98). У литератури су забележене и промене менталног здравља и понашања током злоупотребе ААС-а као што су хипоманичне епизоде (99), насилна убиства (100), злостављање деце (99, 101) и супружника (101).

### **1.1.9.1. Бихевиоралне промене које се повезују са злоупотребама ААС-а**

Неуропсихијатријски и бихевиорални ефекти злоупотребе ААС-а су добро познати и описани у литератури. Дуготрајна примена одређених ААС-а код глодара изазива бихевиоралне и неурохемијске промене које су еквивалентне сличним бихевиоралним модификацијама какве се срећу код људи након злоупотребе ААС-а. Потврђено је да медицински неоправдана употреба ААС-а доводи до неуродегенеративних промена (102).

### **1.1.9.2. Церебрални механизми којим ААС доводе до испољавања анксиозности и агресивности**

Већина података из литературе повезује промене типа појачане анксиозности и/или агресивности са алтерацијама на нивоу лимбичког система. Студије извођене на пацовима мушког пола су показале да продужено излагање ААС-има у супрафизиолошким дозама може доводити до појачања анксиозности, при чему је овај ефекат био умањен применом (интрацеребровентрикуларна инјекција) антагонисте CRH рецептора типа 1 (анталармин), (103). Описани анксиогени ефекат је био значајно измењен применом пикротоксина, антагонисте GABA<sub>A</sub> рецептора типа 1. Повећање CRH иРНК је, такође, уочено и на нивоу амигдала након хроничне примене ААС-а. Претпоставља се да је редослед догађаја који доводе до појачања анксиозности изазване ААС-има следећи: ААС повећавају пресинаптичко ослобађање GABA посредством CRH рецептора типа 1 из централних амигдала у околне структуре што за последицу има успостављање инхибиторног утицаја централних амигдала на околне структуре, при чему долази до настанка неравнотеже која доводи до повећања анксиозности (104). Иако постоји 16 различитих гена за субјединице

за GABA<sub>A</sub> рецепторе, изгледа да се најјаче промене габаергичке функције, које могу бити узрок повећане анксиозности, остварују преко GABA<sub>A</sub> рецептора који имају  $\alpha 2$  субјединицу (105).

Промене у понашању које се манифестују кроз повећање агресивности се, углавном, анатомски везују за (латеро-антериорну) област хипоталамуса, што је потврђено повећаном молекуларном експресијом естрогених рецептора  $\alpha$  или  $\beta$ , након примене ААС-а, у наведеном делу мозга који се сматра одговорним за контролу агресивности (106). Описано је да пролонгирана примена ААС-а доводи до значајних промена на нивоу различитих система (серотонергичког, допаминергичког и глутаматергичког), што за резултат има повећање анксиозности и агресивности (107, 108). Описано је да је смањење концентрације серотонина било повезано са испољавањем импулсивне агресивности, како на анималним моделима, тако и код људи (109). С тим у вези, показано је да хронична примена ААС-а може довести до смањења експресије 5-НТ<sub>1A</sub> рецептора, уз истовремено повећање активности 5-НТ<sub>2A</sub> рецептора у поменутом региону хипоталамуса (110, 111). Управо се промена односа ове две врсте серотонергичких рецептора сматра кључним догађајем који ће за резултат имати повећање агресивног понашања. Сличне промене на нивоу серотонергичког система су описане и у хипокампусу, септуму, амигдалама и неокортексу. Интересантно је да се након коришћења ААС-а код адолесцената, у истом региону (латеро-антериорна област хипоталамуса), уочавају значајне промене на нивоу глутаматергичког система (112, 113). Показано је да примена ААС-а доводи до фосфорилације NMDA (N-метил D-аспартат) рецептора, што за последицу има повећање ексцитаторне неуротрансмисије код глодара и за резултат има повећање агресивности и импулсивности код пацова различите старосне доби (114), уз посебно изражен ефекат на сигма-1 рецепторима (115). Агресивност изазвана коришћењем ААС-а се, такође, повезује и са променама на допаминским рецепторима у латеро-антериорној области хипоталамуса (116, 107). Анаболицима изазвано повећање агресивности се може директно повезати са активношћу допаминских D<sub>2</sub> рецептора (индиректно и са допаминским D<sub>5</sub> рецепторима) у овом региону. Промене на нивоу ових допаминских рецептора, и њихов утицај н понашање, се остварују индиректно – преко измене функције габаергичких неурона (117, 118, 119).

### 1.1.9.3. Церебрални механизми којим ААС доводе до испољавања депресивности

Основне претпоставке о неуропсихијатријским последицама које настају након примена ААС-а су утврђене на основу резултата експеримената у којима су код пацова примењиване велике дозе ААС-а. Показано је да примена станозолола доводи до смањења нивоа BDNF-а (енгл. *brain-derived neurotrophic factor*) у хипокампусу и префронталном кортексу. Истовремено, забележено је и смањење експресије глукокортикоидних рецептора ниског афинитета у хипокампусу, као и повећање јутарњих вредности кортикостерона у плазми (120). Смањена продукција BDNF-а се дешава у склопу маладаптивног одговора на стрес, који се повезује са смањењем волумена хипокампуса и префронталног кортекса, што одговара променама које се срећу у депресији (121). Хронична примена ААС-а и код пацова доводи до модификација хипоталамо-питуитарно-адреналне (HPA) осовине уз смањење нивоа BDNF-а, што се уклапа у важећу патофизиолошку основу депресије (120). Ова претпоставка је тестирана у смислу испитивања биохемијских промена у различитим регионима мозга код животиња третираних станозололом (122). За разлику од концентрација серотонина које су биле смањене у свим деловима мозга, примена станозолола је утицала на допаминергички систем пацова у префронталном кортексу и хипокампусу, док није показала значајан ефекат у стријатуму и нуклеусу акумбенсу. Конкретно, хронична администрација станозолола је смањила ниво допамина у префронталном кортексу, што може да представља неурохемијску основу депресије (122). Специфични ефекти примене високих доза ААС-а у појединим регионима мозга су се манифестовали и кроз повећање нивоа NGF-а (енгл. *nerve growth factor*) у хипокампусу и септуму (123), при чему се ниво NGF-а смањивао у базалним деловима предњег мозга (124). Анализирајући наведене податке из литературе, стиче се утисак да поремећаји који настају на нивоу неуротрофичких фактора могу у великој мери бити повезани са поремећајима понашања.

#### 1.1.9.4. Церебрални механизми којим ААС доводе до промена когнитивних функција

Хипокампус има недвосмислено кључну улогу у бројним функцијама учења и памћења (просторно мапирање и памћење, радна меморија, упознавање простора, повратно учење...), како код животиња тако и код људи. Иако у пракси постоји велики број бихевиоралних тестова за испитивање когнитивних функција, далеко највећи број података је добијен испитивањем просторног памћења животиња, које се врши према стандардизованим процедурама (125, 126). Примена ААС-а је према бројним подацима из литературе имала значајан утицај на квалитет когнитивних способности. Тако је описано да примена НД-а доводи до значајног смањења просторног учења и памћења (127). Негативан утицај на когнитивне функције пацова је забележен и након примене ТЕ-а (128). Специфични утицај ААС-а на когнитивне функције које се дерминишу у хипокампусу је потврђен и подацима да се сличан тип одговора на примену ААС-а уочава након парентералне апликације (127), као и након директног администрирања ААС-а у хипокампус или чак директно у поједине регионе хипокампуса, као што је СА1 регион (128). Директна веза између нивоа ААС-а и когнитивних функција је, такође, потврђена и резултатима експеримената у којима су примењивани антагонисти андрогена (129). Ипак, иако у литератури доминирају подаци који говоре о негативном ефекту ААС-а на когнитивне функције, мора се признати да су забележене и околности при којима ААС доводе до побољшања когнитивних функција (130). Забележене разлике које се односе на сумарне ефекте ААС-а на когнитивне функције се морају посматрати у светлу огромних разлика у методолошком приступу које су укључивале: различите врсте и дозе анаболика, различито трајање протокола, различите старосне категорије животиња, као и најчешће, истовремене примене различитих анаболика („*stacking*”).

Ипак, већина података из литературе је усаглашена по питању ефеката ААС-а на когнитивне функције у ситуацијама када су исти примењивани у супрафизиолошким дозама. Резултати ранијих испитивања показују да полни хормони могу утицати на меморијске процесе на тај начин што доводе до промена на нивоу различитих неуротрансмитерских система. Тако је описано да ААС утичу на ацетилхолин (131), допамин (132), норадреналин (132), глутамат (133) и серотонин (134). Потврђено је да

полни хормони веома брзо утичу на ниво неуронске активности услед повећања афинитета за везивање неуротрансмитера, или директно мењајући пропустљивост ћелијске мембране за јоне у појединим структурама мозга, укључујући и хипокампус (135, 131). Показано је да полни хормони значајно утичу на холинергичку функцију у мозгу, утичући на тај начин и на меморијске процесе (136, 131). Забележено је да ААС повећавају ослобађање ацетилхолина у хипокампусу (137). Такође, описано је и да администрација тестостерона доводи до смањења серумских концентрација гонадотропина (138) и андрогених прекурсора, као што су DHEA и DHEA-S (139). DHEA-S активира алостеричко место на габаергичком рецептору, што спречава отварање хлоридних канала, и тиме повећава ексцитабилност неурона (140). Примена DHEA-S, негативног алостеричког модулятора GABA<sub>A</sub> рецептора, доводи до повећаног ослобађања ацетилхолина у хипокампусу, за кога је познато да је повезан са меморијским функцијама (141). Исто тако, тестостерон, делујући као неселективни антагониста сигма рецептора, може да доведе до продуженог смањења функције сигма рецептора и последичног смањења функције NMDA рецептора (142). Управо се смањење функције NMDA рецептора сматра одговорним за слабење просторног памћења (142, 143). Сложеност анализе утицаја ААС-а на когнитивне функције је повећана чињеницом да се део ААС-а у појединим регионима мозга може конвертовати (ароматизација) у естрогене, и затим своје ефекте остваривати преко естрогених рецептора (144). Интересантно је да повећање нивоа естрадиола побољшава когнитивне функције (145, 131). Посебно је интересантна чињеница да сама конверзија тестостерона у естрадиол има позитивно повратно дејство, па се при анализи утицаја супрафизиолошких доза ААС-а на когнитивне функције мора имати у виду чињеница да финални ефекат анаболика на когницију настаје као резултанта два супротна феномена - негативног ефекта анаболика и позитивног утицаја естрадиола на когнитивне функције.

### 1.1.9.5. Утицај ААС-а на ноцицепцију

Испитивање ноцицепције, изражене у смислу способности толеранције бола (различите врсте, интензитета и степена), представља један од веома честих протокола који се примењују у бихевиоралним испитивањима супстанци које могу испољавати своје ефекте у нервном систему. Утицај ефеката примене ААС-а на ноцицепцију већ дуго заокупља пажњу истраживача. Иако је забележено да примена ААС-а (НД) није имала значајног утицаја на толеранцију бола (146), у међувремену су акумулирани бројни подаци који нам дају увид у промене ноцицепције изазване различитим протоколима администрације ААС-а. *Pourukhalili* и сарадници су у својој студији показали да хронична примена супрафизиолошких доза НД-а смањује толеранцију бола у тесту повлачења репа, што је било нарочито изражено након спровођења протокола физичке активности (мање разлике су добијене у седентарним условима, 147). Остварени хипералгезијски ефекат ААС-а је објашњен карактеристичним променама на нивоу система ендогених опијата. Двонедељна примена НД-а је резултовала смањењем како бета ендорфина, тако и метенкефалина. С друге стране, акутна примена тестостерона је показивала другачији утицај на толеранцију бола. Док администрација малих доза тестостерона није показивала значајан утицај на ноцицепцију, примена средњих и великих доза тестостерона је за резултат имала хипоалгезијски ефекат (148).

Иако не постоји потпуна сагласност у вези са механизмима који су укључени у контролу ноцицепције од стране ААС-а, описане су неке теоријске претпоставке (поткрепљене одговарајућим подацима) које нам могу дати бољи увид у утицај ААС-а на ноцицепцију. Поједини региони мозга, нарочито периакведуктална сива маса, који су укључени у десцендентну инхибицију бола и морфинску антиноцицепцију садрже и андрогене (149) и естроген алфа рецепторе (150, 149). Такође, рецептори за полне хормоне су пронађени и у лумбосакралном делу кичмене мождине (151). У литератури је описано више механизма утицаја полних хормона на опиоидни систем. Тако је потврђено да естрадиол повећава енкефалинску иРНК у кичменој мождини (152), као и генску експресију пре-проенкефалина у хипоталамусу (153). Потврђено је и да се густина капа опиоидних рецептора мења током еструсног циклуса женки пацова (154). Исто тако,



показано је да естрадиол смањује способност појединих опиоидних рецептора да активирају интрацелуларне механизме секундарних гласника (155). Коначно, потврђено је и да полни хормони модулирају метаболизам мофрина у јетри (156, 157).

#### **1.1.10. Утицај ААС-а на физичку способност**

Убрзо након почетка примене синтетских ААС-а (на почетку од стране спортиста), почели су се прикупљати подаци о утицајима деловања ААС-а на телесну грађу и резултате који се остварују у физичкој активности.

##### **1.1.10.1. Утицај ААС-а на антропометријске параметре**

Иако постоје студије које показују да примена супрафизиолошких доза ААС-а доводи до повећања телесне масе (просечно 10-15 kg), верује се да су овакви резултати пре свега последица неадекватно дизајнираних студија. Истраживања спровођена према стриктним методолошким критеријумима су показала да краткотрајна примена ААС-а (мање од 10 недеља) доводи до повећања телесне масе за 2-5 kg (158, 159). С друге стране, далеко је мањи број података о утицају дуготрајне примене ААС-а на телесну масу, и сведе се на јединствен податак о повећању од 12.7 kg након двогодишње примене ААС-а (160). Подаци о утицајима примене ААС-а на телесну грађу су прилично контрадикторни, и крећу се од података да није било никаквих значајних промена (161), до оних који показују промене телесних пропорција у свим параметрима (162). Ипак, највећи број аутора се слаже да је примена ААС-а најчешће удружена са повећањем обима врата, грудног коша, рамена и горњих екстремитета, у зависности од врсте и дужине примене анаболика (163, 162). Обзиром да резултати већине истраживања нису показали значајан утицај примене ААС-а на телесну композицију, претпоставка је да се највећи део повећања телесне масе може повезати са променама које се не односе на заступљеност масног ткива (34).

Иако је најчешћи мотив за коришћење ААС-а жеља за повећањем мишићне масе, показано је да примена тестостерона у седентарним условима доводи до минималног повећања масе, пре свега на нивоу великих мишића (*m. quadriceps* и *m. triceps brachii*), са јасно израженом дозном зависношћу (164). С друге стране, симултана примена анаболика са програмом за увећање снаге се много више манифестовала, у смислу повећања мишићне масе (у групама великих мишића, такође) за приближно 15% (164). Интересантно је да је посебно велика промена у смислу повећања мишићне масе уочена код мишићних влакана типа 1, без значајних промена у запремини код мишићних влакана типа 2 (165).

#### **1.1.10.2. Утицај ААС-а на мишићну снагу и мишићну издржљивост**

Резултати квалитетно спроведених студија показују да примена ААС-а може повећати мишићну снагу, када се ААС примењују истовремено са предвиђеним протоколом тренинга. Повећање мишићне снаге се показивало у широком опсегу (5-20%), али су резултати нехомогени услед примена различитих врста ААС-а, у различитим дозама и са различитим временом администрације (162). Интересантно је да је само једна до сада спроведена студија показала да се мишићна снага може повећати након интрамускуларне апликације тестостерона (600 mg недељно), чак и без пратећег програма физичке активности (164).

Полазећи од чињенице да је једна од иницијално претпостављених терапијских индикација за примену ААС-а био третман анемије, и да је потврђено да дуготрајна примена ААС-а може повећати серумске концентрације хемоглобина (166), није се морало дуго чекати на покушај да се овакав ефекат ААС-а искористи у циљу илегалног повећања аеробног капацитета спортиста. Ипак, супротно очекивањима, већина спроведених студија није потврдила могућност да примена ААС-а омогући побољшање резултата у тестовима издржљивости (167, 168).

### **1.1.11. Утицај ААС-а на оксидативно оштећење**

Подаци из литературе упућују на интересантан закључак да ААС не показују једноставан утицај на оксидативни статус у мозгу. Наиме, андрогени анаболици могу деловати неуропротективно при ниском степену оксидативног оштећења, али могу показати и неуротоксично дејство при високом степену оксидативног оштећења (169, 170). Синтетски деривати ААС-а, попут станозолола, доводе до повећања вредности маркера оксидативног стреса (ОС) у мозгу (171). Неуротоксични ефекти ААС-а се могу повезати са бројним механизмима, укључујући и различите путеве који доводе до повећања апоптозе у појединим регионима мозга. Индукција апоптозе може бити иницирана многим различитим унутарћелијским околностима које укључују оштећење ДНК, повећање ОС-а, и унутарћелијску рекомпозицију протеинске структуре (102). Специфични пут који индукује неуронску смрт, који укључује прекомерни инфлукс калцијума (екцитотоксичност) који се дешава преко NMDA рецептора, какав је описан након примене различитих ААС-а се, такође, убраја у механизме неуротоксичности изазване применом ААС-а (172).

### **1.2. Бихевиоралне промене које се повезују са физичком активношћу**

Примена различитих протокола физичке активности је показала значајне ефекте на ментално здравље људи. Савремени терапијски приступи подразумевају широку, али и планску (прецизно дефинисану по интензитету, дужини трајања...) примену физичке активности у превенцији настанка бројних психичких дисфункција. Такође, поједини програми физичке активности се у стандардној клиничкој пракси примењују већ деценијама током медикаментозног третмана психијатријских болести. Важно је истаћи да континуирана физичка активност показује значајне резултате и у смислу продужавања периода ремисије, као и ублажавања егзацербација психијатријских поремећаја.

Стална потреба за унапређењем приступа, превенцији и третману психичких дисфункција намеће потребу за бољим упознавањем механизма благотворног дејства физичке активности на психичке функције. Тако, посебан значај добијају претклиничка истраживања у којима је могуће тражити прецизне одговоре за бихевиоралне ефекте програмиране физичке активности на анималним моделима.

### **1.2.1. Утицај физичке активности на испољавање анксиозности**

Користан ефекат физичке активности на физичко и ментално здравље је у савременој медицини толико неспоран да физичка активност често представља први корак у променама начина живота које могу бити корисне у превенцији и третману постојећих болести (173). Обзиром да анксиозни поремећаји у 29% случајева улазе у категорију која дугорочно има негативан утицај на индивидуалне и економске параметре, јасно је да постоји оправдана жеља да се каузално суочимо са оваквом појавом епидемијских размера. Како се контролисана физичка активност сматра првом линијом одбране у ситуацијама одступања од физиолошких оквира, чини се легитимним покушај да се примарна интервенција у циљу смањења анксиозности спроведе управо таквим нефармаколошким протоколима. Показано је да регуларна физичка активност смањује активност симпатичког нервног система, као и реактивност НРА осовине (174). Интервенција на нивоу НРА осовине има кључно место у развоју адаптивног одговора према физичком или психичком стресу (175), па се претпоставља да одржавање физиолошког статуса може бити веома значајно за спречавање анксиозних реакција (176). Обзиром да је потврђено да се промене у форми смањења функције на нивоу моноаминског система (серотонин – 177, и епинефрин – 178) доводе у везу са читавим низом форми испољавања анксиозности, подаци добијени на анималним моделима да физичка активност у аеробном рангу повећава концентрације серотонина и норадреналина, се могу повезати са могућим механизмима анксиолитичког ефекта физичке активности (179). Забележено је да одређени протоколи физичке активности доводе до повећаног екстранеуроналног преузимања норадреналина, као и до повећања садржаја норадреналина у хипокампусу глодара (180, 181). Као резултат оваквих протокола физичке активности је забележено повећање синтезе, метаболизма и

ослобађања серотонина. Имајући у виду чињеницу да је смањење активности опиоидног система (пре свега централних и периферних  $\beta$ -ендорфина) повезано са психичким поремећајима (182), податак да повећано ослобађање и везивање  $\beta$ -ендорфина (ендогених опијата) након спровођења протокола физичке активности може довести до анксиолитичког ефекта, уз претходно описано изазивање еуфоричног стања и смањење бола (183). Како је претходно потврђено да повећање нивоа BDNF-а може за резултат имати антидепресивни ефекат праћен смањењем анксиозности, не изненађује податак да повећање концентрације BDNF-а након протокола физичке активности у хипокампусу (184) може резултовати анксиолитичким ефектом. И независно од потврђене улоге BDNF-а, читав систем фактора који утичу на неурогенезу (нарочито у хипокампусу) може имати значајне импликације на испољавање анксиозности (185). Обзиром да су студије на анималним моделима показале да одговарајући програм физичке активности побољшава хипокампаљну неурогенезу (186), побољшање неурогенезе се, такође, може сматрати као један од значајних анксиолитичких ефеката физичке активности.

### **1.2.2. Утицај физичке активности на испољавање депресивности**

Подаци из литературе недвосмислено показују да примена физичке активности заједно са медикаментозним приступом може значајно поправити клиничку слику током третмана симптома депресије. Штавише, корисни терапијски ефекат симултане примене протокола физичке активности уз медикаментозни третман се потврдио чак и шест недеља након иницијалног фармаколошког приступа (187). Иако постоје резултати који потврђују да је примена физичке активности високог интензитета значајно ефикаснија од вежбања мањег интензитета у третману депресије (188), постоје и супротна мишљења која упућују на то да чак ни тип физичке активности није одлучујући фактор у детерминисању корисних ефеката физичке активности у смањењу симптома депресије (189). Начелно потврђени корисни ефекти физичке активности у третману депресивних стања су побудили пажњу научне јавности, те иницирали истраживања којима би се омогућило утврђивање конкретних механизма антидепресантног ефекта физичке активности. Полазне основе за утврђивање каузалне повезаности су се базирале на чињеници да се у

раним фазама појава депресије повезивала са структурним променама на нивоу појединих региона мозга (хипокампус, амигдала, стријатум и фронтални кортекс, 190), што је најпрецизније демонстрирано кроз смањење запремине хипокампалне формације (191). Овакви подаци добијају посебан значај када се има у виду чињеница да је повећање нивоа BDNF-а у хипокампусу директно повезано са смањењем анксиозности (190). Имајући у виду чињеницу да су волумски детерминисане карактеристике поменутих региона мозга директно повезане са степеном депресивности, као и да је волумен наведених структура непосредно условљен нивоима фактора који учествују у неурогенези, *Ernst* и сарадници су установили хипотезу којом се претпоставља да физичком активношћу повећана неурогенеза може довести до смањења клиничког испољавања депресије (192). Као могуће модулаторе повећане неурогенезе који би након физичке активности довели до антидепресантног ефекта (као последица повећане хипокампалне неурогенезе), потенцирали су значај  $\beta$ -ендорфина („ендорфинска хипотеза”, 193), васкуларног ендотелног фактора раста (енгл. *vascular endothelial growth factor* - VEGF), BDNF-а, серотонина, допамина и норадренергичког система. Алтернативно, иако без директне везе са базичним постулатом неурогенезе, предложени су и антидепресантни ефекти физичке активности који настају услед повећања концентрације ендоканабиноида (194), промена на нивоу НРА осовине (који укључују повећану продукцију АСТН и смањену продукцију кортизола, 195).

Неуротрофична хипотеза антидепресантног ефекта физичке активности се повезује са *ир*-регулацијом неуротрофина (196), и квантификована је повећањем BDNF иРНК у хипокампусу миша након 1-3 недеље спровођења физичке активности (нарочито изражено у грануларном слоју дентатног гируса). Основне претпоставке ове студије су потврђене исходом егзогене администрације BDNF-а (197). Иако већина претпостављених механизма којима се објашњава антидепресантни ефекат физичке активности налази утемељење у директним неуротрофичким променама, по својој сложености се нарочито истиче контрибуција допаминског система као део механизма антидепресантног ефекта физичке активности. Спровођење протокола физичке активности (у трајању од 8 недеља код пацова) је довело до повећања концентрације допамина у možданом ткиву, које је било праћено смањењем експресије допаминских рецептора (198). Интрацеребрално повећање калцијума, које је настало као последица протокола физичке активности је било удружено

са повећањем концентрације калцијума (како у серуму, тако и у мозданом ткиву), што је утицало на калцијум-калмодулином регулисану синтезу допамина преко активације ензима тирозин хидроксилазе (199). Такође, физичка активност је утицала и на афинитет везивања допамина за допаминске рецепторе (200). Потврда да серотонински систем има значајну улогу у антидепресантном ефекту физичке активности се може пронаћи у чињеници да се продепресантни ефекат прераног одвајања од мајке (праћен повећањем 5HT<sub>1A</sub> хипокампаљних рецептора), може кориговати продуженом физичком активношћу (201).

Недвосмислено потврђени позитиван ефекат физичке активности у третману депресивних стања се експлицитно манифестује у форми става Америчког удружења психијатара, према коме се (иако не као појединачна или самостална интервенција) физичка активност препоручује као придружени терапијски протокол у третману депресије (202, 203).

### **1.2.3. Утицај физичке активности на когнитивне функције**

Иако позната максима која повезује однос духа и тела сеже чак до времена цивилизације античке Грчке, научна истраживања која се баве односом између физичке активности и когниције се појављују тек тридесетих година прошлога века. Ипак, докази о корисном утицају физичке активности и брзине времена реакције су понуђени током претходних неколико деценија (204, 205). Систематични приступ утврђивању односа између физичке активности и когнитивних способности је почетком седамдесетих година прошлог века потврдио да физичка активност омогућава продужено очување психомоторне брзине упркос процесу старења (иако тај однос није уочен код млађих људи, 206, 207).

Највећи број покушаја за каузално повезивање физичке активности и побољшања појединих мозданих функција (укључујући и когнитивне функције) се заснива на иницијалном, несумњивом, повећању минутног волумена током физичке активности. Повећање минутног волумена, на нивоу читавог организма, истовремено омогућава и

значајно повећање величине протока у мозгу (208). Повећање локалног протока крви у мозгу за последицу има и повећање укупног церебралног волумена крви, са нарочито значајним променама запремине крви на нивоу дендратног гируса хипокампуса (209). Уочено регионално повећање запремине крви је корелирало са унапређењем вербалног учења и меморије. Интересантно, повећање хипокампадног волумена крви је деловало стимулаторно и на неурогенезу у хипокампусу, региону мозга који се сматра непосредно одговорним за контролу когнитивних функција (210, 211). Индиректну потврду значаја неурогенезе (изражену преко броја неурона) у хипокампусу за одвијање основних когнитивних функција можемо наћи и у чињеници да код различитих облика деменција (укључујући и Алцхајмерову болест) долази до значајног смањења броја хипокампадалних неурона (212). Неурогенеза, као кључни фактор у контроли пластичности хипокампуса, као и последичних ефеката на когницију, представља сложено регулисани процес у коме учествује већи број фактора раста. Ипак, међу њима се кључна улога приписује BDNF-у. BDNF се сматра одговорним за стварање и опстанак неурона, као и за њихову отпорност према стресу. Сва три наведена ефекта BDNF-а у хипокампусу доводе до фасилитације процеса учења. Управо из тог разлога, поједини аутори BDNF називају „*Miracle Gro*” (*miracle growth factor for the brain*). Непосредна веза између физичке активности и BDNF-а се испољава на нивоу интрацелуларних сигналних система, укључујући и калцијум-калмодулин киназу 2 и митоген активирајућу протеин киназу, што за коначну последицу има синтезу и функцију CREB (*cAMP response element binding protein*). Ефекат физичке активности се манифестује и кроз утицај на митохондрије у форми очувања енергетске хомеостазе, одржавању хомеостазе калцијума, продукције АТФ-а и контроле стварања слободних радикала (208).

Студије у којима је примењиван неуроимидинг су, такође, потврдиле значајан утицај физичке активности на ЦНС. Спектрална анализа EEG записа је показала активацију тета, алфа и бета таласа, као и повећање средње фреквенције делта таласа након аеробне физичке активности (213, 214, 215). На бази оваквих резултата је претпостављено да промене основне електричне функције кортекса могу бити објашњење променама когнитивних функција (213, 214, 215). Примена функционалне магнетне резонанце је још специфичније и селективније потврдила да протокол физичке активности (спровођен у облику пешачења током шест месеци) доводи до нарочито значајног



повећања активности у средњем фронталном гирусу и горњем паријеталном кортексу (216).

Постоје подаци о бројним другим регулаторним механизмима, чије су промене условљене физичком активношћу, за које се може успоставити веза са когнитивним функцијама. Тако је описано да се промена нивоа естрогена, кортикостероида и IGF-1 повезују са нивоом BDNF иРНК у хипокампусу пацова (217). Обзиром да је улога серотонинског система у контроли когнитивних функција одавно позната, као и да су промене на нивоу овог система удружене са когнитивним поремећајима попут Алцхајмерове болести (218, 219), испитиван је утицај програма физичке активности на функцију серотонинског система. Побољшана способност учења, која настаје као последица физичке активности, је била удружена са *down*-регулацијом 5HT<sub>1A</sub> рецептора и/или *up*-регулацијом 5HT<sub>2A</sub> рецептора (220, 221, 222), што се манифестовало преко промена нивоа cAMP – кључног момента за процесе учења и памћења (223).

#### **1.2.4. Утицај физичке активности на ноцицепцију**

Утицај физичке активности на перцепцију бола се никако не сме поистоветити са директним ефектима јер се болне сензације могу у значајној мери модулирати променама расположења (стрес и/или депресивност) те се као јединствена целина могу испољавати у условима хроничног бола (224). Значај физичке активности у третману бола се нарочито манифестује у светлу чињеница да савремени трендови упућују на неопиоидне и нефармаколошке третмане (225). Чак и у контролним условима, физичка активност подиже праг експериментално изазваног бола (224), док се у клиничким студијама протоколи физичке активности спроводе у циљу постизања аналгезије код лумбоисхијадичног синдрома, остеоартритиса, миофасцијалног бола и фибромијалгије. Ипак, треба имати у виду и да физичка активност може довести до појачања болних сензација под околностима када је претходно настао коштано мишићни бол. Иако постоје два одвојена приступа анализи обраде болних сензација, који укључују периферне и централне аналгетске механизме, подаци из литературе упућују да се модулаторни ефекат физичке активности на опиоидне механизме углавном испољава на нивоу централних

механизама, како у клиничким студијама, тако и на анималним експерименталним моделима (226). Већина података који се односе на повећану толеранцију бола изазвану програмима физичке активности се може поделити на системско повећање концентрације ендогених опиоида (227) и/или промене на нивоу  $\mu$ -опиоидних рецептора у хипокампусу (228). Исто тако, промене концентрације серотонина изазване програмима физичке активности се могу уочити у различитим деловима možданог ткива (229). Постоје подаци да се опиоидни и серотонергички механизми независно активирају као последица физичке активности, али да показују значајну интеракцију која се манифестује као аналгетски ефекат. Претпоставка је да се утицај ова два система на контролу бола остварује кроз интеракцију  $\mu$ -опиоидних рецептора и серотонинског транспортера одговорног за аналгетски ефекат (230). Ендогени канабиноиди, такође, имају значајну улогу у аналгетском ефекту физичке активности (231). Ендоканабиноидни рецептори су експримирани у различитим регионима мозга одговорним за контролу бола, као и у кичменој мождини (232). Имајући у виду чињеницу да је потврђена синергистичка интеракција ендоканабиноидних и опиоидних рецептора у механизму антиноцицепције (233), претпоставка је да утицај физичке активности на експресију ових рецептора може бити једно од објашњења утицаја физичке активности на ноцицепцију.

### **1.2.5. Утицај физичке активности на параметре физичке способности**

За разлику од не тако давних времена, када су се ефектима физичке активности и њиховим утицајима на врхунске спортске резултате бавио узак број стручњака задужених за рад са професионалним спортистима, савремене околности физичку активност посматрају у потпуно другом смислу. Наиме, свест о корисним ефектима физичке активности на људско здравље, која укључује све нивое (превенција болести, побољшање клиничке слике и резултата током лечења, као и брзина и квалитет опоравка након медицинских третмана) постала је, током последњих деценија, нераскидиви део сваког озбиљног приступа у савременој медицини. Обзиром на све масовнију примену протокола физичке активности у људској популацији, осетила се потреба да се направи систем и класификација протокола физичке активности за које се претпоставља да могу имати

оптималне ефекте за људско здравље. Класификације протокола физичке активности у смислу дефинисања препоручених врста, интензитета, дужине трајања и начина извођења су, на основу бројних студија, од стране најкомпетентнијих истраживача дефинисане за различите категорије у популацији. Тако постоје препоруке о пожељним врстама физичке активности за здраве људе различитих животних доба (правилан раст и развој код младе популације, смањивање фактора ризика и спречавање настанка болести код средовечних људи и продужетак оптималног физиолошког статуса код припадника старије популације). Поред тога, посебни тимови стручњака су дефинисали заједничке ставове о карактеристикама физичке активности која се може сматрати корисном за време третмана различитих поремећаја људског здравља. Из наведеног се јасно уочава да и поред несумњивог консензуса по питању позитивног утицаја физичке активности на људско здравље, постоје и врло прецизни оквири за дефинисање и дозирање физичке активности у неким посебним околностима, што се може спроводити искључиво под надзором лекара.

#### **1.2.5.1. Утицај физичке активности на антропометријске параметре**

Поред раније познатих чињеница да су вредности бројних антропометријских параметара јасно повезане са генетском предиспозицијом (234), последњих деценија је потврђено да и предиспозиције за спровођење протокола физичке активности, такође, имају генску основу (235, 236). Значај међусобног утицаја два генетски предиспонирајућа фактора (антропометријски и предиспозиција за физичку активност), као и финални резултат који се може фенотипски пратити, су најбоље испитани у студијама спроведеним на једнојајчаним близанцима (237). Међутим, упркос генетским лимитима евидентирано је да спровођење адекватних протокола активности, према препорукама надлежних институција (238), ипак може да доведе до значајних промена у вредностима појединих антропометријских параметара. Адекватна примена одговарајућег протокола физичке активности је доводила до статистички значајног смањења телесне масе, уз спорије повећање телесне масе, као и до значајног смањења индекса телесне масе, односно обима струка (237). Интересантно је да ниједна од бројних студија које су се бавиле овом проблематиком није потврдила значајан утицај физичке активности на телесну висину, па

се овај антропометријски параметар и даље сматра искључиво дефинисаним „антропометријским генима”.

Утицај физичке активности на антропометријске карактеристике се може и суптилније анализирати у смислу праћења промена састава унутар организма. Тако је уочено да одговарајући протоколи физичке активности могу довести до рекомпозиције телесног састава, што се најчешће изражава кроз повећање мишићне масе, смањење садржаја (укупног и регионалног – специфичног) масног ткива, повећање масе и густине костију (239)...

#### **1.2.5.2. Утицај физичке активности на мишићну снагу и мишићну издржљивост**

Обзиром да већина најпопуларнијих (колективних) спортова има елементе за које је неопходно испољавати максималне домете, како у смислу испољавања мишићне снаге, тако и у смислу одржавања продужене издржљивости, током припремног периода се у пракси најчешће примењују протоколи који имају за циљ симултано подизање перформанси у обе категорије. Веома слично томе, имајући у виду не само програмирану физичку активност, већ и ону спонтану (која се одвија током боравка у одговарајућим условима) у окружењу других јединки, и физичка припрема за експерименте који се примењују на анималним моделима има веома много сличности са комбинованим (снага и издржљивост) протоколима. Иако су комбиновани протоколи јако еволуирали током времена, и даље се као резултат њихове примене уочава јасна правилност која упућује на закључак да се далеко бољи ефекти остварују са аспекта издржљивости (240). Сматра се да елементи комбинованог тренинга који су предвиђени за повећање мишићне снаге не могу да остваре свој пуни ефекат пре свега због уочених измена на нивоу нерава, односно моторних јединица (241, 242). Претпоставка је да тренинг издржљивости фаворизује просторну сумацију моторних јединица, што за последицу има (због прераспоређивања оптерећења) омогућавање продужетка физичке радње, али истовремено и „штеди” иницијално укључена мишићна влакна, односно спречава их да раде максималним интензитетом и тако значајно ограничава повећање мишићне снаге (243). Исто тако, уочено је да током понављаног комбинованог тренинга долази до значајног смањења

нивоа гликогена у мишићима (244), које се продужава са трајањем тренинга (245). Обзиром на добро познату чињеницу да је елемент мишићне снаге у великој мери непосредно повезан са расположивом количином гликогена у мишићном влакну, претпоставља се да и описани хронични дефицит гликогена који настаје као последица адаптације мишића изазване комбинованим тренингом у значајној мери онемогућава побољшање елемента мишићне снаге током комбинованог тренинга (246). Различити ефекти на мишићну снагу и издржљивост који настају током спровођења протокола комбинованог тренинга се могу анализирати и са аспекта трансформације у различитим типовима мишићних влакана. Описано је да код тренинга снаге долази до значајне хипертрофије брзих мишићних влакана, у поређењу са slabим ефектом који се уочава код спорих влакана (247, 248). Комбиновани тренинг доводи до смањења брзине брзоконтрахујућих влакана, што се доказује променама концентрације миозин АТРаза, и за резултат може имати чак и смањење релативног броја брзоконтрахујућих влакана (249, 248). Наведени дисбаланс на нивоу промена у различитим типовима мишићних влакана се нарочито потенцира у случајевима „претренираности”, што је веома чест случај у тренинзима типа издржљивости. И коначно, сматра се да и измене на нивоу метаболизма протеина могу имати снажан утицај на разлике које се испољавају у ефектима на мишићну снагу и издржљивост. Иако је од раније познато да физичка активност генерално смањује синтезу протеина током трајања, постоје подаци да се након тренинга издржљивости смањена синтеза протеина може продужити и по неколико сати (250). Имајући у виду да садржај протеина у мишићним влакнима значајно више афектира испољавање мишићне снаге (велики утицај броја контрактилних филамената, као и садржаја енергетских извора – гликогена) него мишићне издржљивости, јасно је да ће поново доћи до испољавања разлика на штету мишићне снаге.

### **1.2.6. Утицај физичке активности на оксидативно оштећење**

Резултати студија који говоре о повезаности физичке активности и параметара за процену оксидативног оштећења у различитим органским системима су веома неконзистентни. Већина разлика у подацима добијеним из литературе се може тумачити

као последица недостатка стандардизованог приступа који би подразумевао прецизно дефинисање карактеристика физичке активности (врста, интензитет, трајање...). Подаци који говоре о позитивном утицају физичке активности на морфофункционалне карактеристике можданог ткива, овакав ефекат физичке активности повезују са променама оксидативног статуса (192). Позитиван ефекат физичке активности на мождано ткиво, исказан у форми смањења оксидативног оштећења, се потврђује смањењем липидне пероксидације, као и повећањем укупног антиоксидантног капацитета (251).

### **1.3. Бихевиорална тестирања на анималним моделима**

Бихевиор (понашање) животиња представља мост између молекулских и физиолошких аспеката биологије и екологије. Понашање се може посматрати као специфични резултат везе између нервног система организма и животне средине, као и екосистема. Понашање је једно од најважнијих својстава животиња јер игра кључну улогу у биолошкој адаптацији и представља саставни део реакције организма који је у интеракцији са окружењем. У последњих неколико година бихевиорална истраживања анималних експерименталних модела заузимају значајно место, као новије научно поље, у многим истраживачким лабораторијама. Бихевиор представља целокупност индивидуе, посебно онај њен сегмент који је подложен (спољашњој) опсервацији. Бихевиорални тестови и модели су основа за истраживања и у областима психофармакологије. Бихевиорална истраживања могу бити заснована на испитивању неусловљеног, или спонтаног понашања животиње. У основи овог типа понашања, се налази биолошки феномен експлорације, као бихевиоралне активности подстакнуте непознатом околином. Бихевиорална истраживања могу бити заснована и на испитивању условљеног понашања, када се успоставља веза између перцепције одређеног стимулуса (условна драж) и награде или казне (безусловна драж). У оваквим испитивањима бихевиорална активност је усмерена ка стицању награде или избегавању казне.

Различити аспекти експерименталног дизајна, технике посматрања и фокусирање на невербалну комуникацију су елементи који су присутни у студијама на анималном

моделу понашања пре њихове примене у бихевиоралним студијама људи. Бихевиоралне студије хумане популације данас би имале мали значај уколико се претходно не спроведу истраживања на животињама.

Постоји широк спектар бихевиоралних тестова који су погодни за лабораторијске животиње, почев од основних тестова за испитивање локомоторног система и сензорних функција, па све до тестова којима се анализирају сложенији облици понашања који су у вези са когницијом и емоционалним понашањем.

### **1.3.1. Тестови за процену степена анксиозности**

Базични принципи тестова који се примењују у циљу анализирања степена анксиозности су базирани на индуковању унутрашњег конфликта између две урођене антагонизоване карактеристике глодара – изражене тежње према експлорацији новог окружења и природне тежње да се избегавају светле и отворене површине. Као резултат судара два супростављена природна нагона се формира моторичка манифестација која се, у зависности од врсте теста, може анализирати у циљу процене степена анксиозности на основу конкретних параметара.

Историјски гледано, први тест чији су се параметри могли сматрати довољно валидним за испитивање анксиозности представља тест отвореног поља (тест ОП). Уз коришћење веома једноставне апаратуре (отворена кутија квадратног облика) у тесту отвореног поља се током трајања теста (најчешће 5 минута) уочавају одређени моторички обрасци (и правила) који се могу користити за евалуацију степена анксиозности. За прве и најексплицитније параметре за процену анксиозности се сматрају два параметра која се анализирају у самом центру арене – број улазака и укупно време проведено у централној зони лавиринта. Обзиром на урођени страх глодара од отворених и светлих површина (недостатак заштите од потенцијалних предатора у природи), свако повећање анксиозности ће за резултат имати смањење вредности ова два параметра и испољавање тигмотаксије (кретање уз ивице лавиринта). Међутим, поред ова два параметра, за процену степена анксиозности се могу узимати и параметри који изворно служе за процену

локомоторних карактеристика и експлоративне активности. Сви параметри за квантификацију локомоторне активности (пређени пут, брзина и укупно трајање кретања) ће се смањивати са повећањем анксиозности испитиване животиње. Слично томе, и експлоративна активност (изражена кроз број усправљања) ће се, такође, смањивати при већој анксиозности јер такве животиње заузимају природно дефанзиван став – сва четири екстремитета се налазе на подлози, како би животиња била спрема за потенцијално потребни бег од опасности (252, 253).

Ипак, најчешћи тест који се користи за процену степена анксиозности је тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ). Иако је основни принцип теста (формирање унутрашњег конфликта у непознатом простору) исти као код теста ОП, структура лавиринта за УКЛ тест омогућава манифестније испољавање образаца понашања које је карактеристично за повећану анксиозност. Наиме, овај лавиринт има два типа елемената који су кључни за испољавање емоционалног статуса животиња – „безбедни” део лавиринта (чине га затворени краци) и „небезбедни” део лавиринта (отворени краци), при чему је разлика између ова два дела лавиринта додатно појачана чињеницом да се комплетна платформа налази одигнута на један метар од земље (фаворизује се и урођени страх глодара од висине). Оваква структура лавиринта омогућава поуздану анализу степена анксиозности на основу упоређивања времена проведеног у „безбедним” и „небезбедним” одељцима, па ће појачана анксиозност за исход имати драстично смањење времена боравка (и броја улазака) у отвореним крацима. Такође, овај лавиринт омогућава и комплексније испољавање експлоративне активности јер, поред усправљања, животиње могу и да се нагињу када су у отвореним крацима, што се сматра поузданим индикатором смањене анксиозности (254, 255).

Све веће потребе тржишта за напретком у терапији анксиозности су довеле и до појаве разних других тестова за процену анксиозности, али се код већине њих примењују стандардни базични принципи, као код претходно описаних тестова.



### **1.3.2. Тестови за процену нивоа депресивности**

Све већа потреба за проналажењем препарата којима би се могло утицати на промену степена депресивности код људи је довела до етаблирања два основна теста који се у претклиничким студијама примењују за процену нивоа депресивности – тест форсираног пливања и тест качења за реп – ТКР (256, 257). Базични принцип оба теста који се спроводе на глодарима је да се имобилност као манифестација користи за меру „бихевиоралног очаја”, односно одустајања од даљих покушаја за избављење из неугодне позиције у коју је животиња претходно доведена. Током теста форсираног пливања, животиња иницијално плива и покушава да се успење уз глатке зидове суда испуњеног водом у коме се налази. Након тога долази до испољавања реакције плутања, што се тумачи као имобилност. Пандан овом тесту је тест качења за реп који се не изводи у воденом окружењу. Уместо страха од давлeња (главни мотив за покушај избављења у тесту форсираног пливања), у тесту качења за реп се животиња постави да виси главом на доле. Такав неприродни положај изазива тренутну реакцију која се манифестује покушајима исправљања и пењања у циљу враћања у нормалан положај. И у овом тесту, пре или касније, животиња одустаје од даљих покушаја и настаје стање имобилности. Сви параметри изведени из ових тестова, уствари, служе за квантификацију имобилности - време до појаве прве имобилности, број епизода имобилности и укупно трајање имобилности.

### **1.3.3. Тестови за процену когнитивних функција**

Истраживања усмерена на процесе учења и памћења представљају значајан сегмент у проучавању неуролошких поремећаја са акцентом на когнитивну компоненту (на пример, шизофренија и Алцхајмерова болест). Најчешће коришћени тест за процену когнитивних функција глодара је Морисов тест (258). Током извођења овог теста животиња се поставља у базен са замућеном водом, у којем је испод површине постављена платформа до које животиња треба да дође користећи визуелни знак који се налази позициониран на одређеном одстојању и висини, у правцу платформе. Главни показатељи,

помоћу којих се процењује учење и памћење, су време и растојање које је животињи потребно да стигне до циља, као и брзина кретања. Примарно је овај тест коришћен у студијама које су се бавиле бихевиоралним манифестацијама оштећења хипокампуса, и конструисан је за непосредну процену степена оштећења просторног учења (259). Варијација овог теста је Барнсов лавиринт, који се састоји од кружног лавиринта који је уздигнут од пода, и на коме се (дуж ивице обода) налазе отвори, такође, кружног облика. Испод једног од отвора се налази кутија која представља уточиште и циљ који животиња треба да достигне. И у овом тесту се когнитивне способности процењују на основу времена, дистанце и брзине кретања до постизања циља. Предност извођења овог теста, у поређењу са Морисовим тестом, јесте изостајање пливања које чини овај тест мање стресним за животиње (260). Тест Барнсовог лавиринта је коришћен за процену просторног учења током проучавања генетских алтерација које су у вези са Алцхајмеровом болешћу, као и код трауматског оштећења мозга (261, 262).

Тест препознавања новог објекта је такав тип теста у коме се животиње не ослањају на визуелне знаке (који предствљају смернице за достизање циља у претходно поменути тестовима). У оквиру овог теста животиња учи да препознаје одређене објекте. Током извођења овог теста, у првом акту, се поставе два идентична објекта које животиња слободно истражује. Затим се, у фази тестирања, један објекат замени неким новим предметом. Здрава животиња, у тој фази, проводи више времена истражујући нови предмет у односу на већ познати објекат (263). У оквиру овог теста животиње могу да, током фазе тренинга, науче да разликују нове од познатих мириса, укуса, као и животиња са којима су у контакту.

Интересантно је да студије у којима се примењују тестови за процену когнитивних функција показују минималне разлике у методологији непосредног извођења теста. Истовремено, постоји велики број различитих методолошких приступа на нивоу претретмана животиње. Варијације се крећу од веома кратких припрема, до продужених (вишемесечних) претретмана. Тестирања у којима се очекују брзе информације о акутним алтерацијама когнитивних функција подразумевају једнократну (или двократну) епизоду током које се животиња у одговарајућем лавиринту упознаје са новим окружењем за веома кратко време. Обзиром да се финално тестирање изводи, такође, јако брзо након

краткотрајне припреме, сматра се да су параметри добијени са оваквим експерименталним дизајном нарочито валидни за испитивање брзине реакције и сналажења у простору, те се могу користити пре свега за процену брзине учења. Примена протокола са дуготрајним претретманима животиња, које подразумевају вишеструка понављања тестова у дужем временском периоду, са друге стране омогућавају резултате чија је највећа вредност у процени ефеката појединих фактора на биохемизам процеса у мозгу (хипокампус) који за резултат имају продужене ефекте на когнитивне функције (дуготрајно памћење). Треба напоменути и да још увек не постоји (оправдано!?) консензус ни око јединица којима се предстваљају вредности параметара добијених у овим тестовима. Оно што је најчешће присутно у литератури као израз квантификације су проценти промена мерених параметара, који настају као последица различитих утицаја на когнитивне функције. Ипак важно је напоменути да се процентуални односи дефинишу из различитих основних података. Тако се понегде анализира проценат скраћења времена оствареног између два узастопна теста, док други аутори прибегавају приказивању процента скраћења дистанце остварене између два узастопна теста. Све наведене разлике у претретману и начину анализе добијених резултата могу бити основни разлог за неконзистентне закључке који постоје у литератури.

#### **1.3.4. Тестови за процену ноцицепције**

Испитивање ноцицепције се убраја у групу тестова за испитивање сензоричких функција. Постоји више различитих тестова, али сви имају неке заједничке кључне карактеристике. У свим тестовима ноцицепције постоји болна сензација (различите врсте) која представља довољно јак стимулус да би се изазвала очекивана реакција животиње (264, 265). Квантификација резултата тестова ноцицепције се, по правилу, реализује мерењем времена од иницијације болног стимулуса до постизања манифестне форме очекиване реакције, и по правилу се изражава у јединицама времена. У зависности од специфичности студија за изазивање болне сензације се најчешће примењују термички стимулуси, непријатно висока (50-55 °C) или ниска (од -5 до +5 °C) температура (*hot plate* и *cold plate*). Постоје и друге верзије тестова за испитивање ноцицепције, код којих се болна сензација постиже механичким путем, као на фон Фрејевом апарату. Важно је напоменути

да се током примена било ког теста ноцицепције јачина стимулуса дефинише тако да поуздано иницира очекивану реакцију, али да при том не дође до оштећења ткива или трајне повреде. Ови тестови су веома значајни у испитивањима фактора који могу да утичу на акутни или хронични бол.

### **1.3.5. Тестови за испитивање квалитета моторних функција**

Ротарорд тест је један од најчешће коришћених тестова за испитивање моторне координације и равнотеже. Принцип функционисања овог теста је изнуђено одржавање животиња на ротирајућем ваљку, уз периодично (временски прецизно детерминисано) повећање брзине ротације. Основни мотив који приморава животињу да се креће (и прати све промене брзине ротације) представља покушај да се избегне пад са висине, на површину која се налази 30 cm испод доње површине ваљка. Овим тестом се може испитивати и моторно учење. Обзиром на протокол и потенцијалну дужину трајања теста, ротарорд тест се истовремено може користити за процену издржљивости. Основна примена овог теста је у истраживањима нежељених ефеката појединих фармаколошких (и нефармаколошких) третмана који се испољавају у форми поремећаја моторне координације и равнотеже (266).

Концепцијски сличан ротарорд тесту је тест ходања по греди (267). И у овом тесту се животиња поставља у непријатан положај (уска греда на којој нема довољно простора за стабилно ослањање сва четири екстремитета), што је приморава да пронађе начин да се уклони из иритантне позиције. Коначно, безбедно уточиште, животиња може да пронађе само на супртноном крају греде, али долазак до њега подразумева прелазак преко целе дужине уске греде. Управо такво кретање омогућава анализу моторне координације и равнотеже.

За разлику од претходна два теста, код којих финални исход пре свега зависи од моторне координације и равнотеже која се остварује доминантно захваљујући функцији задњих екстремитета, постоје и тестови где се акценат ставља на исте такве

карактеристике горњих екстремитета. Најчешће коришћен тест за испитивање моторне координације и равнотеже горњих екстремитета представља тест држања за жицу.

## **2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА**

На основу претходно изнетих података и резултата истраживања већег броја аутора, постављени су следећи циљеви овог истраживања:

1. Утврђивање бихевиоралних ефеката хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон деканоата и тестостерон енантата) код пацова.
2. Утврђивање бихевиоралних ефеката дуготрајног програмираног тренажног процеса код пацова.
3. Утврђивање бихевиоралних ефеката симултане администрације андрогених анаболичких стероида и дуготрајног програмираног тренажног процеса код пацова.
4. Дефинисање хистоморфолошке основе (промене у експресији рецептора полних хормона у специфичним регионима мозга) за промене у понашању пацова индуковане хроничним третманом андрогеним анаболичким стероидима и/или дуготрајним тренажним процесом.
5. Дефинисање могуће хистоморфолошке основе (промене у експресији парвалбумина у специфичним регионима мозга) за промене у понашању пацова индуковане хроничним третманом ААС-а и/или дуготрајним тренажним процесом.

### **3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ**



### 3.1. Услови под којима су животиње чуване током трајања експерименталних протокола

У овој студији су коришћени мужјаци пацова Wistar albino соја, старости 3 месеца, телесне масе 350-400 g. Животиње су чуване у стандардним транспарентним кавезима од плексигласа (59x38x20 cm), по 4 животиње у сваком кавезу. Животиње су имале приступ храни и води без ограничења (*ad libitum*). Величина уноса хране и воде је одређивана на дневном нивоу (просечна вредност по кавезу – за 4 животиње). Амбијентални услови су били константни и подразумевали су одржавање температуре на  $23\pm 1$  °C, док је влажност ваздуха била одржавана на  $55\pm 5$  %, а циклус светлост/тама је био подешен на 12 сати (почетак светле фазе је био у 8:00). Интензитет светла у виваријуму је био 120 лукса. Сви третмани су спровођени током светле фазе. Током целокупног третмана је било обезбеђено одсуство свих звучних, механичких и светлосних сензација које би могле да неповољно утичу на понашање животиња. Кавези су чишћени два пута недељно уз минималне манипулације животињама. Приликом сваког другог чишћења кавеза мерена је телесна маса (једном недељно). Животиње су набављене из Одељења за узгој лабораторијских и експерименталних животиња, Војномедицинска академија Београд. Током експерименталног протокола животиње су чуване у виваријуму Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

При експерименталном раду су поштоване одредбе прописаних аката (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC*) и принципа етичности. Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора за добробит експерименталних животиња Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

### 3.2. Експерименталне групе и третман

Истраживање је обухватило 64 животиње које су биле подељене у шест експерименталних група:

1. контролна група (К, n=16)
2. група са вежбањем (В, n=16)
3. нандролон-деcanoат група (НД, n=8)
4. комбинована група за нандролон-деcanoат (В+НД, n=8)
5. тестостерон-енантат група (ТЕ, n=8)
6. комбинована група за тестостерон-енантат (В+ТЕ, n=8)

#### Третман

Групе третирне нандролон-деcanoатом (*DEKA 300, SteroxLab, EU*) су имале супкутану администрацију (на медијалној линији леђа, 1.5-2 cm изнад репа) нандролон-деcanoата (20 mg/kg телесне масе), раствореног у стерилисаном рафинисаном маслиновом уљу, максималне укупне запремине од 3 ml, једном недељно, током 6 недеља.

Групе третиране тестостерон-енантатом (*Testosteron depo, Galenika a.d., Србија*) су имале супкутану администрацију (на медијалној линији леђа, 1.5-2 cm изнад репа) тестостерон-енантата (20 mg/kg телесне масе), раствореног у стерилисаном рафинисаном маслиновом уљу, максималне укупне запремине од 3 ml, једном недељно, током 6 недеља.

Супрафизиолошке дозе ААС-а су коришћене у циљу прављења паралеле са дозама које се срећу код злоупотребе ААС-а у хуманој популацији, па су дозе примењене у овом истраживању биле еквивалентне дозама које су забележене код злоупотреба ових супстанци код људи (268, 269).

Групама које су пливале је омогућен период адаптације који је подразумевао свакодневно пливање у трајању од 20 минута током 7 дана (пре почетка шестонедељног протокола). Период адаптације је био значајан у смислу смањивања стреса изазваног излагањем животиња воденом окружењу (270), као део постепене припреме за хронични тренажни протокол. Протокол физичке активности је подразумевао пливање у базену (60x75x100 cm) са загрејаном водом ( $32\pm 1$  °C) у трајању од 60 минута, 5 узастопних дана са 2 дана паузе, током 6 недеља. Животиње су пливале у групама од по четири. Трајање пливања је дефинисано на основу претходних истраживања где је овакав протокол изазвао имунохистохемијске промене у одређеним деловима мозга код пацова (271). Пливање је, иначе, урођени облик понашања међу глодарима (272), па се овај тип протокола често користи као оптимални модел тренинга издржљивости (273). Током целокупног трајања протокола је био обезбеђен континуирани мониторинг. Након пливања, животиње су сушене пешкиром и феном, након чега су враћане у своје чисте кавезе.

Код комбинованих група (В+НД, В+ТЕ) је симултано примењивана администрација ААС-а (идентичан протокол примене ААС-а као и код седентарних животиња третираних ААС-има) са протоколом пливања који је спровођен на начин описан за групу код које је искључиво спровођен протокол физичке активности.

Да би све групе биле изложене истим манипулативним условима, контролна група, као и група са физичком активношћу, је примала (супкутано, на медијалној линији леђа, 1.5-2 cm изнад репа) стерилисано рафинисано маслиново уље у запремини од 2-3 ml, једном недељно, током 6 недеља. На тај начин су избегнуте могуће разлике услед стресогеног ефекта самог чина администрације. Такође, животиње из контролне групе, као и седентарних група третираних ААС (НД, ТЕ) су стављане у мали базен испуњен водом исте температуре као и за програм пролонгиране физичке активности (дубине 7 cm) у трајању од 2 минута, сваког дана током 6 недеља. Овим поступком су елиминисане разлике између група које су имале хронични тренажни протокол и група са седентарним условима.

### **3.3. Параметри за процену антропометријских карактеристика и фактора који на њих утичу**

#### **3.3.1. Праћење дневног уноса хране**

Пре почетка хроничних третмана, животињама је утврђен дневни унос хране, као просечна вредност по кавезу – за 4 животиње. Средња вредност уноса хране на недељном нивоу је дефинисана као просечна вредност дневног уноса током сваке недеље трајања третмана. Промене уноса хране по недељама су изражене у процентима у односу на унос хране регистрован пре почетка спровођења протокола. Промене уноса хране на недељном нивоу током трајања третмана су упоређиване унутар група, као и између група.

#### **3.3.2. Праћење дневног уноса воде**

Пре почетка хроничних третмана, животињама је утврђен дневни унос воде, као просечна вредност по кавезу – за 4 животиње. Средња вредност дневног уноса воде на недељном нивоу је дефинисана као просечна вредност дневног уноса током сваке недеље трајања третмана. Промене дневног уноса воде по недељама су изражене у процентима у односу на унос воде регистрован пре почетка спровођења протокола. Промене уноса воде током трајања третмана су упоређиване унутар група, као и између група.

#### **3.3.3. Праћење промена телесне масе**

Увид у промене антропометријских карактеристика је остварен кроз анализу промене телесне масе (% промене ТМ) током шест недеља третмана. Животињама је појединачно измерена телесна маса пре почетка спровођења хроничних протокола, као и на крају сваке недеље током трајања третмана. Последње мерење телесне масе је обављено непосредно пред жртвовање животиња. Промене телесне масе су изражене у

процентима у односу на почетне вредности (пре почетка третмана), за сваку недељу трајања третмана. Промене телесне масе су упоређиване унутар група, као и између група.

### **3.4. Бихевиорална тестирања**

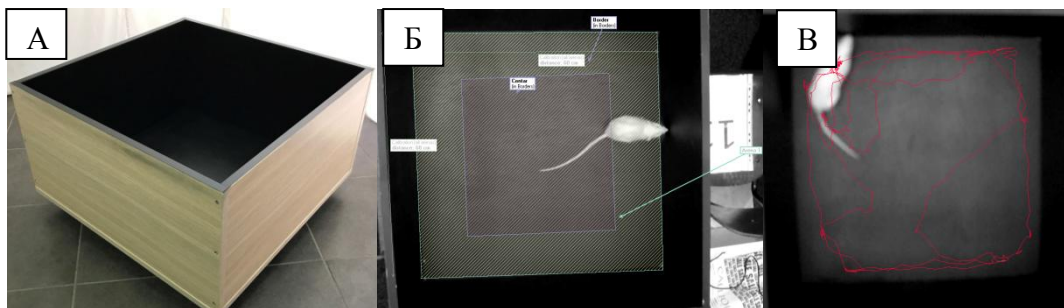
Два дана након завршетка протокола животиње су пребациване у просторију у којој се спроводило тестирање (8 сати ујутру), при чему је храна уклањана 12 сати пре почетка бихевиоралних тестова (8 сати увече) у складу са стандардним процедурама које се спроводе у циљу одржавања мотивационог статуса за спровођење бихевиоралних тестирања (274), где су проводиле 1-2 сата како би се адаптирале на услове окружења пре почетка извођења бихевиоралних тестова.

#### **3.4.1. Тест отвореног поља (ОП тест)**

Тест отвореног поља је првобитно коришћен за процену промена расположења (252, 253), али је такође и један од најчешће коришћених тестова за процену опште локомоторне активности у анималним моделима (275). Лавиринт се састојао од црне, дрвене четвртасте арене (димензија 60x60x30 cm). Арена је виртуелно подељена на централну и периферну зону (Слика 3.1.). На почетку теста животиње су постављане у централни део арене и њихова спонтана активност је снимана током петоминутог трајања теста. Током извођења теста експериментатор није био присутан у соби у којој се изводило тестирање. Извођење овог теста се реализовало у условима адекватног осветљења и тишине. Активност животиње се снимала дигиталном видео камером која је постављена на одговарајућој висини изнад арене, а видео записи су накнадно анализирани уз коришћење одговарајућег софтвера. Након сваког снимања лавиринт је чишћен (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.

Параметри који су били праћени у тесту отвореног поља су:

1. укупни пређени пут (УПП) – укупна раздаљина пређена током пет минута трајања теста, изражена у cm;
2. проценат времена кретања током трајања теста (% ВК) – проценат времена трајања мобилности животиње у односу на укупно трајање теста;
3. просечна брзина кретања (ПБК) – средња вредност брзине кретања током теста, изражена у cm/s;
4. укупно време проведено у централној зони (УВЦЗ) – време проведено у виртуелној зони, димензија 20x20 cm, која се налазила у средини арене ОП теста, изражено у s;
5. број улазака у централну зону (БУЦЗ) – број посета виртуелној централној зони арене ОП теста;
6. број усправљања (БУ) – број подизања на задње шапе;
7. број тимарења (БТ) – број карактеристичних покрета предњих екстремитета који обухватају манифестације чешања и/или трљања крзна у региону главе и врата;
8. број уринирања;
9. број дефекација.



**Слика 3.1. Приказ теста отвореног поља.** А – лавиринт; Б – виртуелна подела лавиринта на одговарајуће зоне; В – путања пређена током трајања теста добијена обрадом видео записа у одговарајућем програму (*Ethovision software version XT 10 base*).

Образац кретања у арени говори о анксиозном статусу животиње. Уколико се животиња слободно кретала у свим зонама арене, и уколико је слободно улазила и боравила у централној зони (повећање УВЦЗ и БУЦЗ), може се рећи да таква животиња показује мањи степен анксиозности. Животиње које највише времена проведу у угловима арене и у периферним зонама, показују повећан степен анксиозности. Параметри, као што су УПП, ПБК и % ВК, описују локомоторну активност и уколико су наведени параметри смањени то говори о смањеној локомоторној активности животиње, као и (индиректно) о повећаном степену анксиозности. БУ описује експлоративну активност животиње, и уколико дође до повећања овог параметра може се закључити да је животиња подстакнута новом околином и да је мотивисана да истражује. Такође, умањена експлоративна активност (смањење БУ) се може сматрати индиректним показатељем повећана степена анксиозности. БТ је параметар који се сматра за један од индикатора анксиозности, при чему се повећање БТ узима као (индиректна) потврда повећаног степена анксиозности.

### 3.4.2. Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ тест)

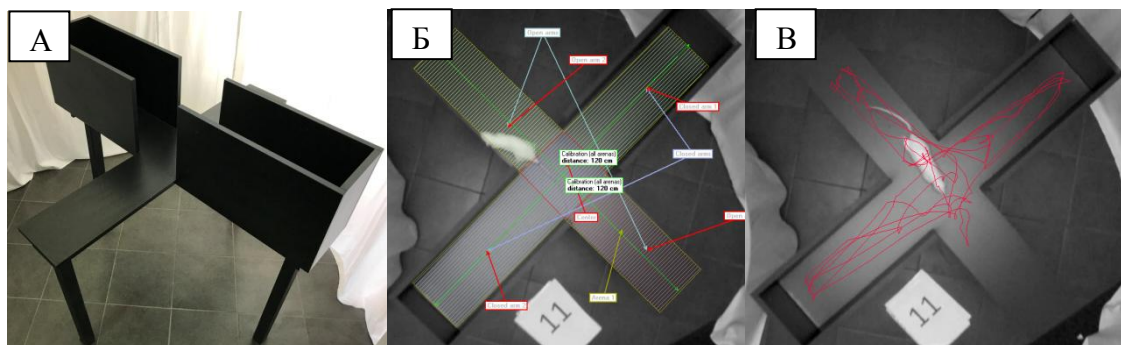
Тест уздигнутог крстастог лавиринта се током историје показао као један од најбољих тестова за процену анксиозног понашања животиња (254, 255). Овај тест је веома погодан за извођење јер пацови имају природну тенденцију да истражују ново окружење. Лавиринт се састоји од два отворена (димензија 50×20 cm) и два затворена крака (50×20×30 cm), који су спојени под углом од 90 степени, и уздигнут је 100 cm од пода (Слика 3.2.). Животиње су постављане у центар арене главом окренутом ка отвореном краку. Животињама је омогућено да током пет минута слободно истражују простор арене. У овом лавиринту животиње су имале избор да ли ће истраживати затворене (безбедне) или отворене (небезбедне) краке. Активност животиње је снимана дигиталном видео камером која је постављена на висини од 250 cm изнад уздигнутог крстастог лавиринта. Током извођења теста експериментатор није био присутан у просторији у којој се вршило тестирање. Извођење овог теста је спровођено у условима адекватног осветљења и тишине. Након сваког снимања лавиринт је чишћен (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.

Параметри који су били праћени у тесту уздигнутог крстастог лавиринта су:

1. укупно време проведено у отвореним крацима (УВОК) – време проведено у деловима лавиринта без бочних зидова, изражено у s;
2. број улазака у отворене краке (БУОК) – број посета деловима лавиринта без бочних зидова;
3. укупни пређени пут (УПП) – укупна раздаљина пређена током пет минута трајања теста, изражена у cm;
4. просечна брзина кретања (ПБК) – средња вредност брзине кретања током теста, изражена у cm/s;
5. проценат времена кретања током трајања теста (% ВК) – проценат времена трајања мобилности животиње у односу на трајање теста;



6. број усправљања (БУ) – број подизања на задње шапе;
7. број нагињања (БН) – број савијања главе испод површине основе отворених кракова лавиринта;
8. број епизода укупне експлоративне активности (УЕА) – збир БУ који се региструје углавном у затвореним крацима и БН који се уочава искључиво у отвореним крацима (276);
9. број тимарења (БТ) – број карактеристичних покрета предњих екстремитета који обухватају манифестације чешања и/или трљања крзна у региону главе и врата.



**Слика 3.2. Приказ теста уздигнутог крстстог лавиринта.** А – лавиринт; Б – виртуелна подела лавиринта на одговарајуће зоне; В – путања пређена током трајања теста добијена обрадом видео записа у одговарајућем програму (*Ethovision software version XT 10 base*).

Анксиозне животиње су више времена проводиле у затвореним крацима (смањење УВПОК) и имале су мањи број улазака у отворене краке (БУОК). Повећан степен анксиозности се манифестовао и преко смањења експлоративне активности (смањење БУ, БН и УЕА). Параметри као што су УПП, ПБК и % ВК су се примарно користили за процену локомоторне активности животиња. Смањење вредности наведених параметара је сматрано и за (индиректан) показатељ повећаног степена анксиозности. Обзиром да се БТ сматра индикатором анксиозности, повећање вредности овог параметра је тумачено као (индиректна) потврда повећаног степена анксиозности.

### 3.4.3. Тестови ходања по греди

#### 3.4.3.1. Класични тест ходања по греди (ХГ тест)

Класични тест ходања по греди (ХГ тест) се користи за процену моторне координације, интеграције, равнотеже и моторних вештина (277, 278). ХГ тест је извођен на конструкцији која се састојала од греде која је направљена од нерђајућег челика (димензија 100x3x2 cm). Греда је била обложена гумом, како би се спречили падови животиња током извођења теста, и фиксирана између две крајње тачке (на висинама од 100 и 60 cm изнад пода) помоћу вертикалних челичних стубова, што је формирало висинску разлику од 40 cm на растојању од једног метра. На вишем крају греде се налазила дрвена кутија (20x20x20 cm) са отвором (довољно велики за улазак животиње), која је представљала сигурно склониште и, уједно, била мотив животињама да пређу греду (у потрази за безбедном локацијом, Слика 3.3.). Комплетна конструкција за извођење теста је постављена изнад јастучића који су представљали заштиту од могућег пада животиње.



Слика 3.3. Апаратура за извођење тестова ходања по греди.

Животиње су пре финалног тестирања имале четири тренинг сесије (два дана пре коначног тестирања), са по 15 минута одмора (у матичном кавезу) између сесија. Пре самог почетка тренинга, животиње су стављане у склониште како би се привikle на нови амбијент и уочиле да постоји безбедно место. На почетку извођења финалног теста, животиње су појединачно постављане на почетак греде (нижи крај, супротно од краја на коме се налазило склониште) и мерило се време преласка греде (верификовано уласком у склониште). На основу овог параметра се вршила процена локомоторних способности животиња. Осим тога, праћено је и понашање животиња током преласка греде у циљу утврђивања (евентуалних) епизода клизања или падова. Током тестирања спроведеног у овој студији нису забележене такве ситуације. Извођење овог теста се одиграло у условима адекватног осветљења и тишине. Након сваког теста, апаратура је чишћена (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.

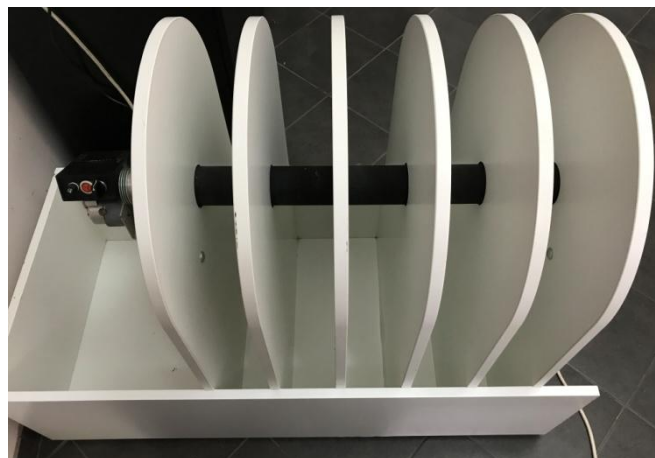
#### **3.4.3.2. Тест провоцираног ходања по греди (ПХГ тест)**

Тест провоцираног ходања по греди је коришћен у циљу испитивања емоционалне реакције животиња, у присуству додатног анксиогеног стимулуса, на време преласка греде у претходно описаном класичном тесту ходања по греди (279, 274). Овај тест се изводио на истој апаратури као и класични тест ходања по греди (Слика 3.3.). Такође, претходна припрема животиња за извођење овог теста није била потребна, обзиром да се изводио на истој апаратури и подразумевао исте вештине које су савладане тренингом за класични тест ходања по греди. Петнаест минута након завршетка класичног теста, животиње су појединачно постављане на исту стартну позицију и експериментатор је истовремено започињао да производи звучне сензације и вибрације ударањем металним штапом по конструкцији стуба (приближно сваке секунде) продукујући, на тај начин, додатни провоцирајући (анксиогени) стимулус. Придružена анксиогена сензација је примењивана све до завршетка теста (улазак животиње у склониште). Током извођења овог теста су праћени следећи параметри: време преласка греде (ВП, изражено у s) и проценат скраћења времена између времена преласка греде у класичном и провоцираном тесту ходања по

греди (% СВП). На основу ових параметара је вршена (индиректна) процена степена анксиозности животиња. Смањење ВП и повећање % СВП су тумачени као показатељи повећаног степена анксиозности. Извођење овог теста се одиграло у условима адекватног осветљења и тишине. Након сваког теста, апаратура је чишћена (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.

#### 3.4.4. Ротарод тест (РР тест)

Ротарод тест се користи за процену моторне координације и равнотеже у анималним бихевиоралним моделима, превасходно код глодара (280, 281). Тест је извођен на ротирајућем дрвеном ваљку, обложеном слојем гуме са рељефом (у циљу превенције клизања), уздигнутом на 50 cm од подлоге (Слика 3.4.). Простор испод ротирајућег ваљка је био адекватно обезбеђен како не би дошло до повреда при евентуалном паду животиње. Тест је започињао при брзини од 5 обртаја у минути, затим се брзина постепено повећавала за 5 обртаја у минути на сваких 30 секунди, све до максималне брзине од 60 обртаја у минути. Овај тест се заснива на урођеном страху животиња од пада са висине, тако да су животиње биле мотивисане за извођење самог теста (што дуже одржавање на ваљку). Припрема животиња је обављана током две тренинг сесије у трајању од по 30 минута, два дана пре финалног тестирања. На сам дан тестирања, животиње су имале три покушаја, и најбољи остварени резултати (најдуже време проведено на ваљку) су узети у обзир за даљу анализу. Параметар који је праћен у ротарод тесту је време проведено на ротирајућем ваљку (изражено у s). Извођење овог теста се одиграло у условима адекватног осветљења и тишине. Након сваког теста, апарат је чишћен (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.



Слика 3.4. Апаратура за извођење ротарод теста.

### 3.4.5. Тест држања за жицу

Тест држања за жицу је коришћен са циљем процене мишићне снаге и баланса код глодара (282). У овом тесту је коришћен четвртасти метални рам (димензија 15x15 cm), са дебљином жице од 5 mm. Животињама је омогућавано да се (само) својим предњим шапама ухвате за жицу оквира (манипулација је извођена од стране експериментатора) који је био уздигнут 30 cm од пода (Слика 3.5.). Простор испод рама за извођење теста је био адекватно обезбеђен како би се спречиле повреде при евентуалном паду животиње. Тестирање је извршено у стандардним условима околине. Овај тест се заснива на урођеном страху животиња од пада са висине, тако да су животиње биле мотивисане за извођење самог теста (што дуже држање за жицу). Два дана пре финалног тестирања животиње су имале две тренинг сесије у трајању од по 30 минута. На дан финалног тестирања, животиње су имале три покушаја и најбољи резултат (најдуже време држања за жицу) је бележен и узет за даљу анализу. Параметар који је праћен у тесту држања за жицу је трајање држања за жицу (изражено у s). Након сваког теста, апарат је чишћен (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.



Слика 3.5. Техника извођења теста држања за жицу.

### 3.4.6. Тест качења за реп (ТКР)

Тест качења за реп (ТКР) је установљен као скрининг тест за процену поремећаја расположења код глодара (257), при чему се у актуелним истраживањима превасходно користи за испитивање степена депресивности (283). Апарат за извођење овог теста се састојао од металног оквира (60x60 cm), са централно постављеним делом за фиксирање животиње (помоћу адхезивне траке). Да би се избегло пењање животиње ка репу, постављена је пластична циркуларна баријера (пречника 25 cm) на 1 cm испод места качења репа (Слика 3.6.). Током тестирања животиња је висила (окачена о реп) са главом окренутом на доле. ТКР се заснива на чињеници да ће животиња, која је доведена у неприродну позицију и изложена краткотрајној, безизлазној ситуацији, покушати да пронађе излаз из таквог положаја, те да ће после одређеног времена одустати од даљих покушаја и доћи у стање имобилности. За имобилност се сматрало стање у коме је животиња била без видљивих вољних покрета (обим покрета мањи од 1 cm) главе, тела или екстремитета у трајању од најмање 5 секунди. Неволно љуљање се сматрало, такође, за облик имобилности. Тест је трајао 6 минута. Током трајања тестирања животиње су показивале наизменичне периоде моторне активности и имобилности. Извођење теста је снимано дигиталном видео камером. Тестирање је вршено у условима тишине. Након сваког теста, апарат је чишћен (вода и раствор 70% етил-алкохола) да би се елиминисале могуће мирисне сензације које су могле да утичу на понашање, и животиње су враћане у своје кавезе.

Параметри који су били праћени у ТКР су:

1. време до појаве прве имобилности (ВППИ) – латенца до првог одустајања од покушаја да се изађе из новонастале ситуације, изражена у s;
2. број епизода имобилности (БЕИ) – укупан број периода одсуства активног супростављања неприродној позицији;
3. укупно време имобилности (УВИ) – збирно време пасивних реакција животиње на постојеће околности, изражено у s;

4. просечно трајање епизоде имобилности (ПТЕИ) – средња дужина трајања епизоде пасивног положаја, изражена у s.

Повећање вредности за БЕИ, УВИ и ПТЕИ, као и скраћење ВППИ су сматрани за индикаторе који потврђују повећан ниво депресивности код животиња.



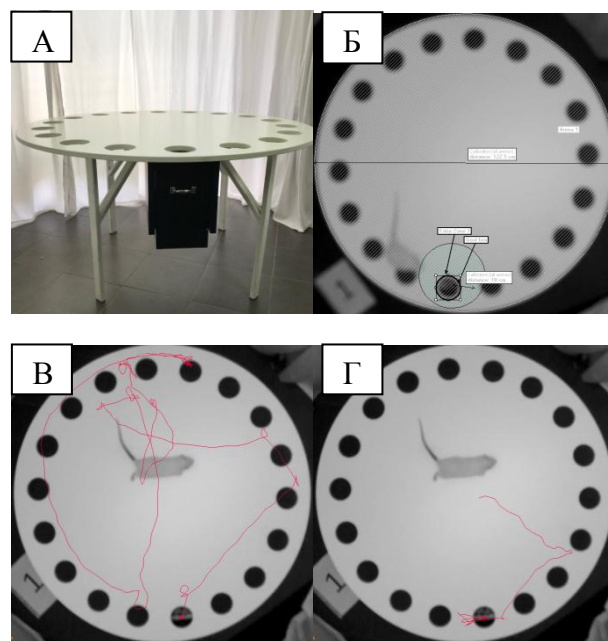
**Слика 3.6. Апаратура за извођење теста качења за реп.**



### 3.4.7. Тест Барнсовог лавиринта - Барнсов тест

Барнсов тест (125) представља тест за процену когнитивних функција у смислу просторне оријентације, учења и памћења. Тест се заснива на чињеници да глодари имају урођену склоност ка мрачним и затвореним просторима. Сматра се да је извођење Барнсовог тест мање стресогено за животиње, јер не подразумева пливање, у поређењу са извођењем Морисовог теста воденог лавиринта у коме је пливање неопходно (126). Тест је извођен у лавиринту облика круга (пречника 122.5 cm), са површином беле боје, уздигнутим на висину од 100 cm. На 5 cm од ивице кружнице, дуж читавог лавиринта се, на истоветном одстојању, налазило осамнаест отвора кружног облика (пречника 10 cm). Испод једног од отвора се налазило безбедно уточиште (кутија црне боје, отворена са горње стране, димензија 30x15x15 cm, спојена са доњом површином подлоге). На бочном зиду (параван од белог платна), који је ограничавао простор у коме се налазио лавиринт (1 m од ивице лавиринта), је постављан јасно уочљив маркер (љубичасти круг од картона, пречника 20 cm, на висини од 50 cm изнад површине лавиринта), у правцу скривене кутије (Слика 3.7.). Лавиринт се налазио у звучно изолованом простору. Извођење овог теста је засновано на чињеници да глодари имају урођен страх од отворених и светлих површина, као и од висине. Есенцијални карактер овог теста је подразумевао првобитно проналажење скривене кутије, уз оријентацију према истакнутом маркеру, уз праћење времена и пређене дистанце до постизања циља (верификовано тренутком уласка животиње у скривено уточиште). Након успешног проналажења кутије (у првом покушају), протокол се понављао у циљу утврђивања (евентуалних) промена (скраћења) времена и пређеног пута до поновног проналажења скривене кутије. Величина скраћења времена и/или дистанце између два узастопна покушаја је коришћена за процену установљеног просторног памћења, при чему је већи проценат скраћења (времена и/или дистанце) директно пропорционалан квалитету когнитивних способности. Експериментална процедура је подразумевала вишеструко понављање протокола (2 узастопна дана, недељу дана пре тестирања) са успешним исходом. Током тестирања, животињама су омогућена два (успешна) покушаја, у размаку од пет минута, која су снимана видео камером, постављеном на одговарајућој висини (250 cm од центра кружне површине лавиринта), од почетка теста (тренутак постављања животиње у центар

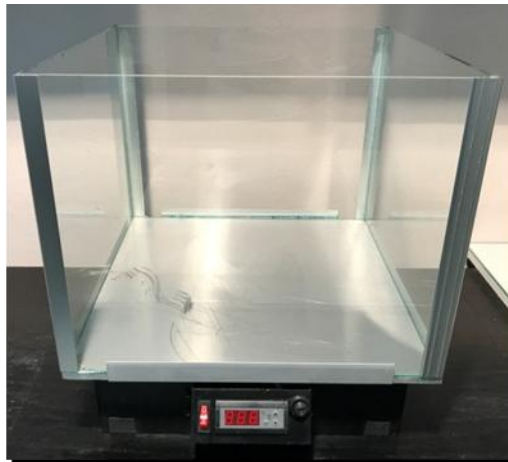
лабиринта). Параметри који су добијени анализом видео записа Барнсовог теста су: проценат скраћења времена (између два тестирања) и проценат скраћења пређеног пута (између два тестирања). Током извођења тестова, експериментатор није био присутан у дефинисаном простору. Након сваког завршеног тестирања, животиња је враћена у кавез, а лабиринт је детаљно очишћен водом и раствором 70% етил-алкохола, у циљу елиминисања мириса претходно тестиране животиње, који би потенцијално могао да утиче на резултате истраживања.



**Слика 3.7. Приказ Барнсовог теста.** А – лабиринт; Б – виртуелна подела лабиринта на одговарајуће зоне; путања пређена током трајања првог (В) и другог (Г) покушаја извођења теста добијена обрадом видео записа у одговарајућем програму (*Ethovision software version XT 10 base*).

### 3.4.8. Тест вруће плоче (ВП тест)

Тест вруће плоче се користи за процену брзине реакције на термални стимулус (284). Апарат се састојао од четвртасте металне плоче (димензија 43x43 cm) и стаклених зидова (висине 30 cm, Слика 3.8.). Животиње су појединачно постављане на централни део плоче, чија је температура током тестирања одржавана на  $51\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Време трајања теста је временски дефинисано појавом карактеристичне реакције на термални стимулус, која је подразумевала: лизање задње шапице, трешење задње шапице или одскакивање од подлоге (са сва четири екстремитета истовремено). Време прекидања теста је ограничено на 180 секунди, како би се спречио настанак опектоина (285). Параметар који је праћен у тесту вруће плоче је време до реакције (изражено у s). Скраћење времена до реакције животиње на термални стимулус је карактерисано као хипералгезијски ефекат.



Слика 3.8. Апаратура за извођење теста вруће плоче.

### **3.4.9. Снимање и анализа видео записа**

Извођење тестова је снимано дигиталном видео камером, а добијени видео записи су обрађивани помоћу одговарајућег софтверског пакета (*Ethovision software [version XT 10 base] Noldus Information Technology, the Netherlands*), у циљу добијања нумеричких параметара за квантификацију бихевиоралних манифестација.

### **3.5. Прикупљање узорака за одређивање хормонског статуса, параметара оксидативног стреса и имунохистохемијску анализу**

После завршеног бихевиоралног тестирања, животиње су, након анестезије (интраперитонеално примењена комбинација кетамина – 10 mg/kg и ксилазина – 5 mg/kg) жртвоване декапитацијом на гилјотини. Узорци крви из трупа су узети у циљу одређивања хормонског статуса, док су узорци можданог ткива истовремено узимани ради хистолошке верификације промена изазваних наведеним третманима, као и за одређивање параметара оксидативног стреса у хипокампусу.

#### **3.5.1. Одређивање концентрације хормона у крви**

Одговарајућа запремина крви (7-8 ml) из трупа је скупљана и одвајана у (расхлађене на 0°C) епрувете (по 1 ml) за различите хормонске анализе, и центрифугирана (1700×g, 10 минута, на 4°C) до издвајања серума. Узорци серума су складиштени на -80°C до одређивања концентрација хормона: тестостерона (Т), дихидротестостерона (ДХТ) и естрадиола (Е).

##### **3.5.1.1. Одређивање серумске концентрације тестостерона**

Одређивање концентрације тестостерона у узорцима серума је вршено методом електрохемилуминесценције (ECLIA) уз коришћење стандардних комерцијалних китова (*Elecsys Testosterone II, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany*) на апарату Elecsys 2010. Концентрација тестостерона у серуму је изражавана у ng/ml. Сензитивност есеја за тестостерон је била 0.025 ng/ml. Коефицијент варијансе за интересеј је износио 3.8%, док је за интраесеј износио 5%.

### **3.5.1.2. Одређивање серумске концентрације дихидротестостерона**

Одређивање концентрације дихидротестостерона у узорцима серума је вршено методом ELISA уз коришћење сензитивних китова (*ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA*). Концентрација дихидротестостерона је изражавана у pg/ml. Сензитивност есеја за дихидротестостерон је била 6.0 pg/ml. Коефицијент варијансе за интересеј је износио 5.9%, док је за интраесеј износио 3.9%.

### **3.5.1.3. Одређивање серумске концентрације естрадиола**

Одређивање концентрације естрадиола у узорцима серума је вршено методом електрохемилуминесценције (ECLIA) уз коришћење стандардних комерцијалних китова (*Elecsys Estradiol III, Roche Diagnostics, Mannheim, Немачка*) на апарату Elecsys 2010. Концентрација естрадиола у серуму је изражавана у pg/ml. Сензитивност есеја за естрадиол је била 5 pg/ml. Коефицијент варијансе за интересеј је износио 2.2%, док је за интраесеј износио 3.9%.

### 3.6. Одређивање параметара оксидативног стреса у ткиву хипокампуса

Узорци ткива хипокампуса добијени пажљивом дисекцијом (на леду) од осталих структура мозга су хомогенизовани у раствору фосфатног пуфера (PBS – *Phosphate Buffered Saline*, 10 mM фосфатни пуфер, 138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, pH = 7.4), уз претходно дефинисање величине узорка (запремина у ml). Хомогенати су центрифугирани на 4000 обртаја у минути, током 15 минута на температури од 4°C. Издвојени супернатанти су коришћени за одређивање параметара оксидативног стреса: индекса липидне пероксидације, супероксид-дисмутазе и укупног глутатиона.

#### 3.6.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (изражен као TBARS) у хипокампусу

Индекс липидне пероксидације у узорцима ткива хипокампуса одређен је по методи коју су описали *Ohkawa* и сарадници (286). Метода је заснована на одређивању количине продуката липидне пероксидације присутних у хомогенату ткива који реагују са 2-тиобарбитурном киселином (ТВА) на високој температури (90-100°C) и у киселој средини. Супстанце које реагују са тиобарбитурном киселином (TBARS) граде обојен комплекс, чија се концентрација мери спектрофотометријски и изражава се у еквивалентима малондиалдехида (MDA), који представља производ липидне пероксидације полинезасићених масних киселина у ткивима.

Реагенси:

1. 8.1% натријум додецил сулфат (SDS, *Sigma–Aldrich CHEMIE GmbH*, Немачка)
2. 20% сирћетна киселина (pH 3.5)
3. 0.8% 2-тиобарбитурна киселина (ТВА, *ABCR GmbH*, Немачка) растворена у 0.5 М NaOH
4. Основни раствор стандарда 1,1,3,3-тетраетоксипропана (*ACROS ORGANICS*, Белгија) концентрације 1 mmol/L

Поступак: У 0.1 ml хомогената додати 0.2 ml раствора SDS-а, 1.5 ml раствора сирћетне киселине, 1.5 ml раствора ТВА и 0.7 ml воде, загревати узорке на 95 °C 60

минута. Узорци се центрифугирају након хлађења на 4000 грм 10 минута, а затим мерити апсорбанцу на 535 nm. За мерење апсорбанце коришћен је двозрачни UV–Vis спектрофотометар Halo DB-20S (*Dynamica GmbH*, Швајцарска).

Израчунавање: Концентрација MDA у узорцима израчуната је коришћењем стандардне праве 1,1,3,3-тетраетоксипропана у опсегу концентрација од 1-10  $\mu\text{mol/L}$ . Количина TBARS изражене је у еквивалентима MDA ( $\text{nmol MDA}$  по 1 mg протеина) коришћењем следеће једначине:

$$\text{nmol MDA/mg протеина} = \frac{\text{nmol MDA/L}}{C_{\text{протеина}} \text{ mg/L}}$$

где је:  $\text{nmol MDA/L}$ , концентрација MDA очитана са стандардне праве;  $C_{\text{протеина}}$  mg/L, концентрација протеина изражена у милиграмима у 1 L хомогената.

### 3.6.2. Одређивање активности супероксид-дисмутазе (SOD) у хипокампусу

Активност ензима супероксид-дисмутазе у хомогенату ткива хипокампуса одређена је по методи коју су описали *Misra* и *Fridovich* (287). Метода је заснивана на способности SOD-е да неутралише супероксил анјон радикала ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) који настаје спонтаном аутооксидацијом адреналина (епинефрина) у базној средини на pH 10.2. Оксидација адреналина се иницира у базном раствору, при чему долази до стварања адренохрома чија је боја ружичаста до браон, за разлику од епинефрина који је безбојан. Степен оксидације епинефрина у базној средини зависи од количине присутног супероксил анјон радикала, који се ствара приликом оксидације епинефрина, и већа количина овог радикала убрзава процес аутооксидације. Присуство SOD-е смањује количину супероксил анјон радикала који настаје и самим тим успорава оксидацију епинефрине, што се може пратити спектрофотометријски на 485 nm смањењем интензитета боје раствора у односу на узорак у коме се одвија аутооксидација епинефрина без присуства SOD-е. Релативна јединица активности SOD-е је дефинисана као она активност која доводи до 50% инхибиције аутооксидације епинефрина под одређеним условима.



Реагенси:

1. 0.020 M HCl
2. 0.050 M NaHCO<sub>3</sub>-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> пуфер, pH 10.20 до 10.25 са 1.00 x 10<sup>-4</sup> M EDTA
3. 0.0100 M раствор епинефрина (*Sigma–Aldrich CHEMIE GmbH*, Немачка) у 0.020 M HCl

Поступак: Одређивање  $V_o$ . У 925  $\mu$ L пуфера (HCO<sub>3</sub><sup>3-</sup>/CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, pH 10.20) додаје се 50  $\mu$ L PBS-а, који је коришћен за прављење хомогената, у кивету за мерење на спектофотометру и помућу ње се подеси нула на апарату. У исту кивету затим додати 25  $\mu$ L 0.0100 M раствора епинефрина, измешати и одмах мерити апсорбанцу на 485 nm. Вредности апсорбанце се бележе у временском интервалу од 10 секунди, у периоду од 6 минута. Након мерења конструише се криву зависности апсорбанце од времена и одредити промена апсорбанце у току једног минута ( $\Delta A/\text{min}$ ) на линеарном делу криве. Промена апсорбанце у минути треба да буде у опсегу  $0.025 \pm 0.001 \text{ min}^{-1}$  и у случају добијања друге вредности треба подесити концентрацију епинефрина док се не добије потребна вредност промене апсорбанце у минути. Ова вредност представља  $V_o$ . Одступања од добијених вредности при узастопним мерењима не би требало да прелазе 5%, варијација 5-10% је прихватљива. Овако припремљен раствор епинефрина се даље користи у одређивању  $V_{\text{SOD}}$  (брзине оксидације епинефрина у присуству SOD-е).

Одређивање  $V_{\text{SOD}}$ . Помешати 925  $\mu$ l пуфера (HCO<sub>3</sub><sup>3-</sup>/CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, pH 10.20) и 50  $\mu$ l хомогената ткива, измешати и подесити нулу на спектрофотометру са овом киветом. Затим додати 25  $\mu$ l раствора епинефрина чија је концентрација подешена при одређивању  $V_o$ , одмах измешати и мерити апсорбанцу на 485 nm на сваких 10 секунди у периоду од 6 минута.  $V_{\text{SOD}}$  представља  $\Delta A/\text{мин}$  у истом временском интервалу који је коришћен за израчунавање  $V_o$ . Сваки узорак се мери у три понављања, при чему су одступања при мерењима прихватљива у опсегу 5-10%. За мерење апсорбанце коришћен је двозрачни UV–Vis спектрофотометар Halo DB-20S (*Dynamica GmbH*, Швајцарска).

Израчунавање: Релативна јединица активности SOD-е је дефинисана као она активност која доводи до 50% инхибиције аутооксидације епинефрина под одређеним условима. Брзина аутооксидације епинефрина без присуства SOD-е је  $V_o$  ( $\approx 0.025$ ), примењујући дефиницију релативне јединице активности ензима SOD-е, јединична активност овог ензима би довела до 50%-ног смањења апсорбанце, што представља

половину вредности  $V_0$  ( $\approx 0.0125$ ). Активност SOD-е у релативним јединицама израчунава се из следеће формуле:

$$U_{\text{SOD}} = \frac{V_0 - V_{\text{SOD}}}{V_0/2}$$

Активност SOD-е у интернационалним ензимским јединицама по 1 L испитиваног хомогената ткива добија се из формуле:

$$U_{\text{SOD}}/\text{L} = U_{\text{SOD}} \times \frac{V_{\text{ук}}}{V_{\text{уз}}} \times 1000,$$

где је:  $V_{\text{ук}}$ , укупна запремина у кивети (1.00 ml);  $V_{\text{уз}}$ , запремина додатог узорка хомогената ткива (0.05 ml).

Активност SOD-е изражена у интернационалним јединицама (U) по 1 mg протеина у хомогенату добија се из следеће формуле:

$$U_{\text{SOD}}/\text{mg протеина} = \frac{U_{\text{SOD}}/\text{L}}{C_{\text{протеина}} \text{ mg/L}},$$

где је :  $U_{\text{SOD}}/\text{L}$ , каталитичка активност SOD-е изражена у интернационалним јединицама (U) по 1 L хомогената;  $C_{\text{протеина}} \text{ mg/L}$ , концентрација протеина изражена у милиграмима по 1 L хомогената.

### 3.6.3. Одређивање укупног глутатиона (GSH) у хипокампусу

Садржај GSH у хомогенату ткива одређен је методом која се заснива на реакцији 2,2'-динитро-5,5'-дитио-добензојеве киселине (DTNB) са алифатичним тиолним једињењима (-SH група) у базној средини (pH 9.0) (288). Производ реакције је *p*-нитрофенол анјона ( $\text{TNB}^{2-}$ ) који је у базној средини јако жуто обојен, мерење апсорбације добијеног производа се врши на 412 nm.

Реагенси:

1. 0.2 mol/L  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 2 mmol/L EDTA, pH 9.0
2. 10 mmol/L DTNB (2,2'-динитро-5,5'-дитио-добензојева киселина, *Sigma-Aldrich CHEMIE GmbH*, Немачка), растворен у 50 mmol/L фосфатном пуферу, pH 7.0

3. Раствор редукованог L-глутатиона у води (GSH, *Sigma–Aldrich CHEMIE GmbH*, Немачка) концентрације 100 mg/mL

Поступак: У кивети за спектрофотометар помеша се 0.9 mL раствора  $K_2HPO_4$ , 0.05 mL узорка и 0.02 mL DTNB реагенса. Кивете се инкубирају 25 минута на 25°C, у мраку, а затим чита апсорбанцу на 412 nm према слепој проби. Слепа проба се припрема на исти начин као и узорак, уместо узорка додаје се иста количина пуфера који је коришћен за припрему хомогената. За мерење апсорбанце коришћен је двозрачни UV–Vis спектрофотометар Halo DB-20S (*Dynamica GmbH*, Швајцарска).

Израчунавање: Концентрација GSH се рачуна помоћу стандардне праве конструисане коришћењем воденог раствора глутатиона (GSH) као стандарда. Од основног раствора глутатиона концентрације 100 mg/mL праве се водени раствори нижих концентрација (0.300 – 0.030 mg/ml). Концентрација GSH у хомогенату ткива изражава се у mg GSH по 1 g протеина. Концентрација GSH изражена у mg/L хомогената добија се из формуле:

$$GSH \text{ mg/L} = C_{GSH} \times \frac{V_{ук}}{V_{уз}} \times 1000$$

где је:  $C_{GSH}$ , концентрација GSH очитана са стандардне праве изражена у mg/ml;  $V_{ук}$ , укупна запремина (0.97 ml);  $V_{уз}$ , запремина узорка (0.05 ml).

Концентрација GSH у хомогенату ткива изражена у mg GSH по 1 g добија се из формуле:

$$GSH \frac{\text{mg}}{\text{g}} \text{ протеина} = \frac{GSH \text{ mg/L}}{C_{\text{протеина}} \text{ g/L}}$$

где је: GSH mg/L, концентрација GSH изражена у милиграмима по 1 L хомогената;  $C_{\text{протеина}}$  g/L, концентрација протеина изражена у грамима по 1 L хомогената.

#### 3.6.4. Одређивање количине укупних протеина у хомогенату ткива

Количина укупних протеина у хомогенатима ткива хипокампуса одређен је методом по *Lowry-ју* (289). Метода се базира на биуретској и *Folin–Ciocalteu* реакцији.

Производ реакције је плаво обојен производ, а интензитет боје зависи од количине укупних протеинима у узорку.

Реагенси:

1. Реагенс А: 50 mL 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  помешан са 50 mL 0.1 N раствора NaOH
2. Реагенс Б: 10 mL 1.56%  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  помешан са 10 mL 2.37% раствором  $\text{KNa}$ -тартарата
3. Радни реагенс: помешати 2 ml реагенса Б са 100 ml реагенса А
4. 1N *Folin – Ciocalteu* реагенс (*Sigma–Aldrich CHEMIE GmbH*, Немачка): 2 ml комерцијалног реагенса (2N) разблажити са истом запремином воде
5. Раствор концентрације 1mg/ml говеђег серумског албумина (BSA, *Sigma–Aldrich CHEMIE GmbH*, Немачка)

Поступак: Помешати 0.2 ml испитиваног узорка протеина (у зависности од количине протеина у узорцима, направити одговарајућа разблажења) са 2 ml радног реагенса (бакар сулфатног реагенса). Узорци се затим инкубирају на собној температури 10 минута. Потом се дода 0.2 ml *Folin – Ciocalteu* реагенса и инкубира на собној температури 30 минута. Абсорбанца се мери на 750 nm. Мерење апсорбанце вршено је коришћењем двозрачног UV–Vis спектрофотометара Halo DB-20S (*Dynamica GmbH*, Швајцарска).

Израчунавање: Конструисана је стандардна права помоћу раствора концентрације од 0.1 до 1.0 mg/ml BSA. Концентрацију укупних протеина непознатог узорка очитати са стандардне праве.

### 3.7. Имунохистохемијска испитивања ткива хипокампуса

#### 3.7.1. Припрема препарата

Након декапитације, мозак пацова је (непосредно након брзе екстракције из лобање) третиран према следећој процедури: фиксација у 4% формалдехиду (неутрални рН), дехидратација и калупљење. Обрада ткива, дехидратација, испирање и импрегнација, су обављени коришћењем ткивног процесора. Обрађено ткиво је укалупљено у парафинске блокове и помоћу микротоме исечено на ткивне пресеке дебљине ~5  $\mu\text{m}$ . Парафински исечци (коронарни пресеци мозданог ткива дебљине ~5  $\mu\text{m}$ ), претходно загрејани у термостату на +56°C у трајању од 45 минута, су потапани у ксилол (3 пута по 5 минута) у циљу депарафинизације. Затим је спроведен поступак рехидратације ткива испирањем у опадајућим концентрацијама етил алкохола: 2 пута по 5 минута у апсолутном алкохолу, потом 5 минута у 96% алкохолу, 5 минута у 70% алкохолу и на крају 5 минута у дестилованој води. Потом су препарати третирани у цитратном пуферу (рН 6.0) у микроталасној пећници 21 минут на 800 W ради демаскирања антигена. Након хлађења, препарати су интензивно испрани у PBS-у три пута. Активност ендogene пероксидазе је блокирана помоћу 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , а инкубација на собној температури је трајала 15 минута. Неспецифично везивање је блокирано комерцијалним протеинским блоком (*Novocastra, UK*). После инкубације од 15 минута на собној температури, препарати су три пута опрани у PBS-у (по 5 минута).

#### 3.7.2. Бојење препарата

##### 3.7.2.1. Парвалбумин

На препарате је наносен *Normal Horse Serum* разблажен у PBS-у (1:67), уз 50 минута инкубације у влажној комори на собној температури. Након испирања препарата у PBS-у (три пута по 5 минута) наносено је примарно антитело *Mouse monoclonal anti-PV* (1:1000, *Sigma-Aldrich*) и препарати су одлагани у влажну комору током ноћи на собној

температури. Након инкубације и интензивног испирања у PBS-у (три пута по 5 минута), на препарате је наношено одговарајуће секундарно (*biotin-conjugated antimouse*) антитело (разблажење 1:200 у PBS-у), а потом *Streptavidin-Horseradish Peroxidase* (инкубирана 10 минута на собној температури). Након испирања 3 пута по 5 минута у PBS-у, наношен је *avidin-biotin-peroxidase* комплекс (разблажење 1:50 у PBS-у) уз инкубацију од 50 минута у влажној комори (на собној температури).

После испирања 3 пута по 5 минута у PBS-у, апликовано је 2-3 капи DAB раствора претходно добијеног разблаживањем 50µl *DAB Chromagen*-а у 1 ml одговарајућег пуфера, (*Peroxidase Detection System RE 7120-K, Novocastra, UK*). Развијање реакције је праћено под микроскопом, а реакција је прекинута испирањем у PBS-у. Препарати су испрани у дестилованој води (5 минута), након тога контрастрирани хематоксилином по *Mayer*-у 2 минута, а затим интензивно опрани текућом водом, и остављани у дестилованој води 5 минута. Након истека времена урађен је поступак дехидратације и просветљивања препарата. За процес дехидратације су коришћене растуће концентрације алкохола и то: 5 минута у 70% алкохолу, 5 минута у 96% алкохолу и на крају 2 пута по 5 минута у апсолутном алкохолу. Након поступка дехидратације, добијени препарати су просветљени потапањем 5 минута у ксилолу (3 пута). Обојени препарати су покривени медијумом за покривање DPX (*Sigma Aldrich*) и покривним стаклом.

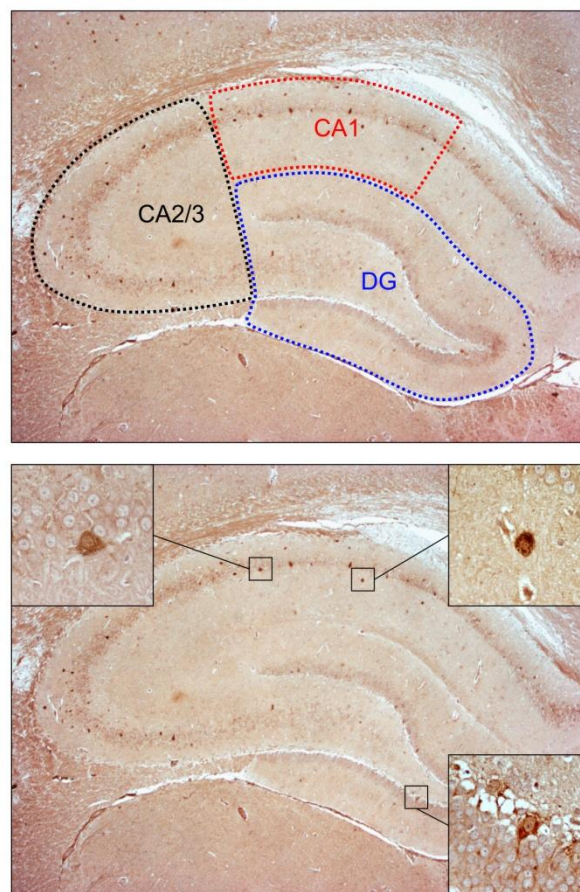
### **3.7.2.2. Рецептори за полне хормоне у хипокампусу: андрогени рецептори (AR), естроген рецептор алфа (ER $\alpha$ ) и естроген рецептор бета (ER $\beta$ )**

Имунохистохемијско бојење андрогених рецептора (AR) и естрогених рецептора алфа и бета (ER $\alpha$ , ER $\beta$ ) је изведено коришћењем *EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC Kit (ab80437, Abcam)* комплекта за детекцију по упутству произвођача. Након припреме препарата, депарафинизације и рехидратације које су изведене по претходно описаној процедури, на препарате је нанесен *Hydrogen Peroxide Block* и препарати су инкубирани у трајању од 10 минута. Препарати су испрани два пута у PBS-у, а затим је извршено демаскирање антигена. Демаскирање је извршено у цитратном пуферу (pH 6.0) у микроталасној пећници 21 минут на 800 W. Након хлађења, препарати су испрани у

PBS-у три пута. Затим је на препарате нанесен *Protein Block*, а након инкубације на собној температури у трајању од 10 минута, препарати су једном испрани у PBS-у. На препарате су након прања нанешена примарна антитела: *Androgen Receptor Monoclonal Antibody (AN1-15, MA1-150, Thermo Fisher scientific)* у разблажењу од 4 µg/ml, *Estrogen Receptor beta Polyclonal Antibody (PA1-310B, Thermo Fisher scientific)* у разблажењу 1:50 и *Anti-Estrogen Receptor alpha antibody [E115] (ab32063, Abcam)* у разблажењу 1:200. Сва примарна антитела су разблажена у *Antibody Diluent (003118, Thermo Fisher scientific)*. Након наношења антитела, препарати су стављени у влажну комору и инкубирани 90 минута на собној температури. Након инкубације, препарати су три пута испрани у PBS-у. На препарате на које је претходно стављено AR примарно антитело, стављено је секундарно *Rabbit Anti-Rat IgG H&L (ab6703, Abcam)* антитело, разблажено 1:1000 у *Antibody Diluent*-у и инкубирано је на собној температури 45 минута. Ови препарати су након инкубације опрани 3 пута у PBS-у и на њих је стављено *HRP conjugate* антитело, које је затим инкубирано 15 минута на собној температури. На препарате на које су стављена ER $\alpha$  и ER $\beta$  примарна антитела, стављено је *HRP conjugate* секундарно антитело и инкубирано је на собној температури 15 минута. Сви препарати су након инкубације са *HRP conjugate* антителом испрани 4 пута у PBS-у. Затим је на препарате додат DAB раствор који је добијен растварањем 30 µl *DAB Chromogen* у 1,5 ml *DAB Substrate*. Развијање реакције DAB хромагена и пероксидазе је контролисано помоћу микроскопа и трајало је од 1 до 5 минута. Ензимска реакција је прекинута испирањем препарата у PBS-у. Препарати су испрани у дестилованој води (1 минут), а након тога су контрастирани раствором хематоксилина по *Mayer*-у у трајању од 2 минута. Препарати су испрани у млакој текућој води у трајању од 10 минута. Након тога, уследио је поступак дехидратације. За процес дехидратације су коришћене растуће концентрације алкохола и то: 2 пута по 5 минута у 96% алкохолу и 2 пута по 5 минута у апсолутном алкохолу. Након поступка дехидратације, добијени препарати су просветљени потапањем у ксилол 2 пута по 5 минута. Обојени препарати су покривени *Canada balsam* медијумом за покривање и покровним стаклом. Пре анализе, препарати су се сушили на собној температури око 24 сата.

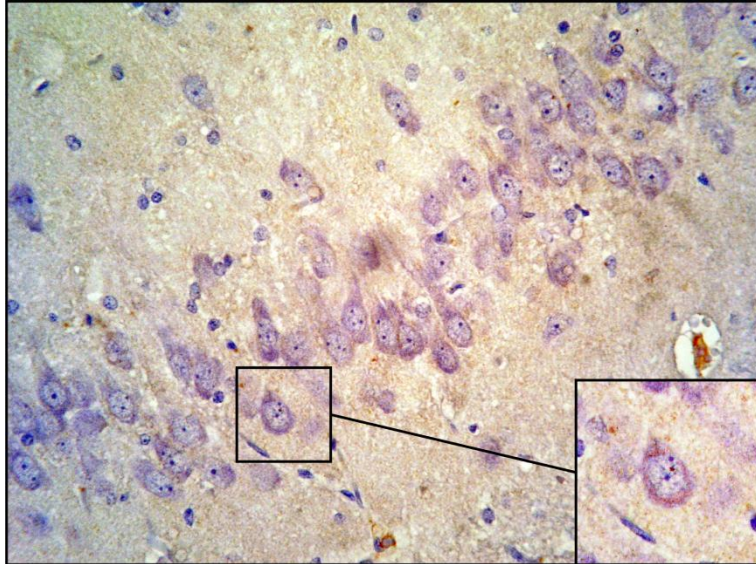
### 3.7.3. Бројање имунореактивних неурона

Бројање PV, AR и ER $\alpha$  имунореактивних неурона у дорзалном хипокампусу (3.8 mm од бреге, Сlike 3.9. – 3.11.) је реализовано уз коришћење светлног микроскопа (Carl Zeiss, Axioscop 40) на  $\times 60$  увељачању. Фотомикрографије су направљене за сва три циљана региона хипокампуса (CA1, CA2/3 и DG) коришћењем одговарајуће камере (Canon PC 1089). Број позитивно обојених ћелија по јединици површине (1 mm<sup>2</sup>) је израчунаван за сваки од наведених региона појединачно уз коришћење програма ImageJ (290).

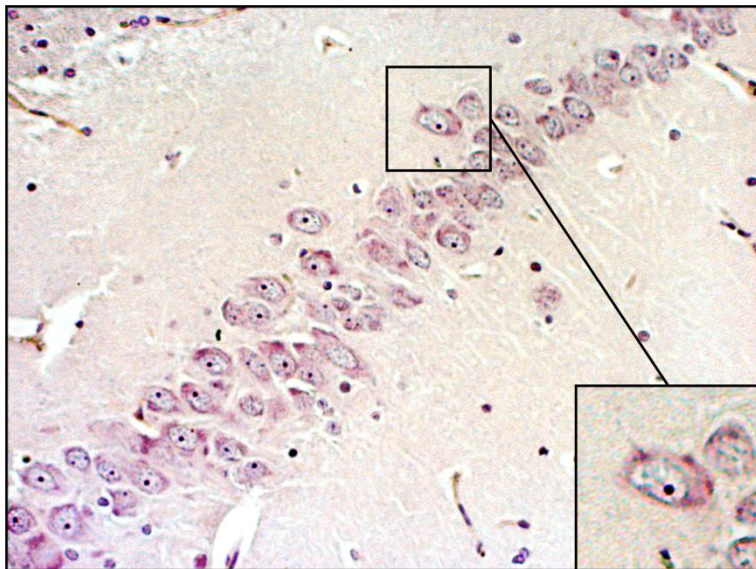


**Слика 3.9. Имунохистохемијска експресија PV позитивних интернеурона у хипокампусу пацова.** На горњем делу слике су представљени региони хипокампуса у којима је вршено одређивање броја PV интернеурона. На доњем делу слике су представљени појединачни PV позитивни интернеурони из различитих региона хипокампуса (са одговарајућим увељачањем).





**Слика 3.10.** Имунохистохемијска експресија AR позитивних неурона у хипокампусу пацова. На слици су представљени појединачни AR позитивни неурони из анализираних региона хипокампуса (са одговарајућим увељичањем).



**Слика 3.11.** Имунохистохемијска експресија ERα позитивних неурона у хипокампусу пацова. На слици су представљени појединачни ERα позитивни неурони из анализираних региона хипокампуса (са одговарајућим увељичањем).

Након утврђивања броја рецептора за полне хормоне у ткиву хипокампуса, одређиван је нумерички однос експресије AR и ER $\alpha$  у испитиваним регионима хипокампуса и вредност овог индекса је изражавана као: AR/ER $\alpha$  индекс = (број AR имунореактивних неурона/број ER $\alpha$  имунореактивних неурона) x 100.

### 3.8. Статистичка анализа података

Статистичка обрада података је вршена на следећи начин:

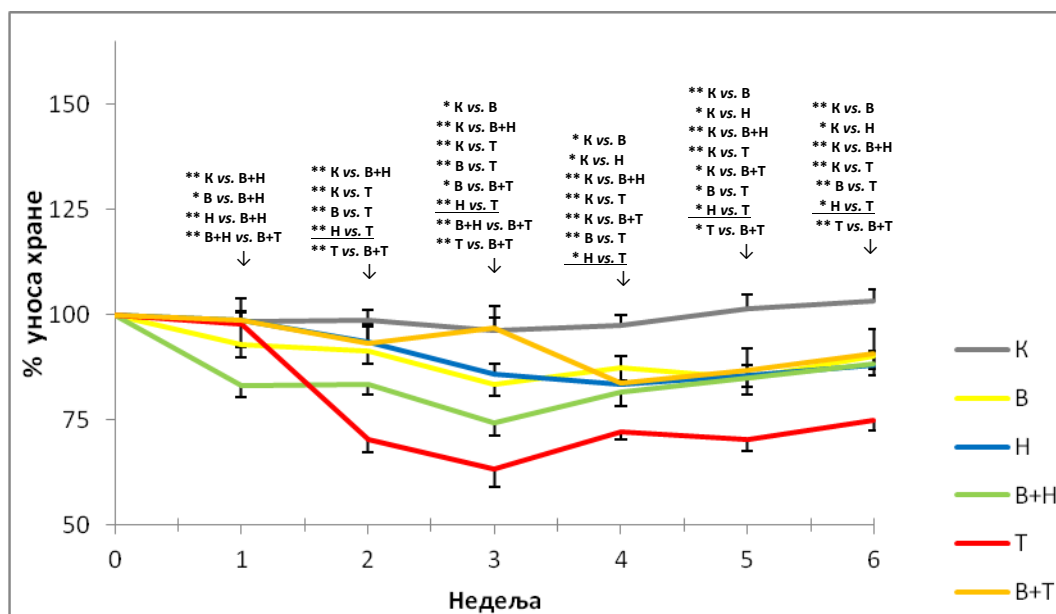
1. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, коришћени су: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, медијана, стандардна девијација, стандардна грешка, ранг и 95% интервали поверења.
2. За испитивање нормалности расподеле користили су се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapiro Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3. За тестирање разлика између група, за испитиване параметре, коришћена је једнофакторска анализа варијансе са одговарајућом *post hoc* анализом.
4. Испитивање значајности повезаности фактора и исхода, као и величине ефеката појединих фактора је урађено уз примену *General Linear* модела (*уни-* и *мултиваријабилни*).
5. Модел линеарне (*simple*) регресије је коришћен за анализу повезаности параметара добијених применом различитих метода.
6. Статистичка обрада података је изведена у статистичком пакету *SPSS 18.0 for Windows*.

## **4. РЕЗУЛТАТИ**

## 4.1. Параметри за процену антропометријских карактеристика и фактора који на њих утичу

### 4.1.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на дневни унос хране

На Слици 4.1. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на дневни унос хране. Сви наведени протоколи су значајно утицали на дневни унос хране ( $F=3.029-8.575$ ,  $df=5$ ). Дневни унос хране животиња у контролној групи ( $32.69 \pm 0.72$  g, пре почетка протокола) се није статистички значајно мењао током шест недеља трајања протокола (повећање од  $3.11 \pm 2.92\%$ ).



Слика 4.1. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на дневни унос хране (изражен као % промене уноса хране у односу на вредност регистровану пре почетка спровођења протокола). К – контрола ( $n=16$ ), В – вежбање ( $n=16$ ), Н – нандролон-деканоат ( $n=8$ ), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат ( $n=8$ ), Т – тестостерон-енантат ( $n=8$ ), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат ( $n=8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Као што је представљено у Табели 4.1., програмирани тренажни протокол је узроковао статистички значајно смањење дневног уноса хране, почевши од прве недеље ( $p<0.05$ ), при чему се статистички значајно мањи унос у односу на контролну групу запажа од треће недеље ( $p<0.05$ ) и траје све до завршетка шестонедељног протокола ( $p<0.01$ ).

Дневни унос хране по недељама (%)						
	1. недеља	2. недеља	3. недеља	4. недеља	5. недеља	6. недеља
Контрола (n=16)	98.33 ± 2.15	98.60 ± 2.43	96.12 ± 3.20	97.31 ± 2.59	101.32 ± 3.47	103.11 ± 2.92
Вежбање (n=16)	92.89 ± 2.96*	91.25 ± 2.89**	83.32 ± 2.64**	87.37 ± 2.94**	85.03 ± 4.18**	90.14 ± 3.00**
Нандролон (n=8)	98.71 ± 2.10	93.34 ± 4.31	85.81 ± 2.42**	83.33 ± 3.61**	85.52 ± 2.60**	88.06 ± 3.24**
Вежбање + Нандролон (n=8)	83.13 ± 2.67**	83.47 ± 2.48**	74.31 ± 3.00**	81.55 ± 3.20**	85.05 ± 2.20**	88.15 ± 2.48**
Тестостерон (n=8)	97.68 ± 5.48	70.41 ± 2.99**	63.18 ± 4.15**	72.13 ± 1.79**	70.21 ± 2.56**	74.77 ± 2.43**
Вежбање + Тестостерон (n=8)	98.61 ± 5.34	93.10 ± 4.11	96.77 ± 5.24	83.61 ± 6.57**	86.74 ± 5.09**	90.71 ± 5.86

**Табела 4.1. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на дневни унос хране (изражен као % промене уноса хране у односу на вредност регистровану пре почетка спровођења протокола). Вредности су изражене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ .**

Хронична администрација НД-а је доводила до значајног смањења дневног уноса хране ( $p<0.01$ ), у односу на иницијалне вредности, почевши од треће недеље третмана (Табела 4.1.), док се значајно смањење дневног уноса у поређењу са контролном групом уочава од четврте до шесте недеље ( $p<0.05$ ). Дуготрајни третман супрафизиолошким дозама ТЕ-а је узроковао значајно смањење дневног уноса хране у односу на иницијалне

вредности, почевши од друге недеље третмана (за 30%,  $p < 0.01$ ), уз истовремено испољавање значајног смањења дневног уноса хране у поређењу са контролном групом ( $p < 0.01$ ). Такође, значајан ефекат ТЕ-а на смањење дневног уноса хране се испољавао и у односу на нандролонску групу ( $p < 0.01$ ), већ од друге недеље. Ефекат комбинованих протокола на дневни унос хране се у нандролонској групи уочава од почетка до краја шестонедељног третмана, како у односу на почетни дневни унос ( $p < 0.01$ ), тако и у односу на контролну групу. Симултано спровођење третмана ТЕ-ом и протокола физичке активности је доводило до значајног смањења дневног уноса хране и у поређењу са иницијалним вредностима ( $p < 0.01$ ), и у односу на контролну групу ( $p < 0.01$ ), тек од четврте недеље протокола.

Као што је приказано у Табели 4.2., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су утицали на смањење дневног уноса хране. ТЕ је показао најјачи (негативан) утицај на величину дневног уноса хране (просечни недељни  $\eta^2$  је износио 0.110) током читавог трајања експерименталних протокола. Међу интеракцијама појединачних фактора је нарочито значајна интеракција ТЕ-а и физичке активности.

Трајање третмана		1 недеља	2 недеље	3 недеље	4 недеље	5 недеља	6 недеља
Појединачни фактори	Н	0.078	0.003	0.026	0.026	0.005	0.009
	Т	0.045	0.128	0.042	0.154	0.114	0.126
	В	0.099	0.052	0.069	0.009	0.008	0.016
Интеракције	Н-В	0.063	0.044	0.047	0.001	0.003	0.001
	Т-В	0.023	0.299	0.396	0.099	0.176	0.206

**Табела 4.2. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на дневни унос хране.**

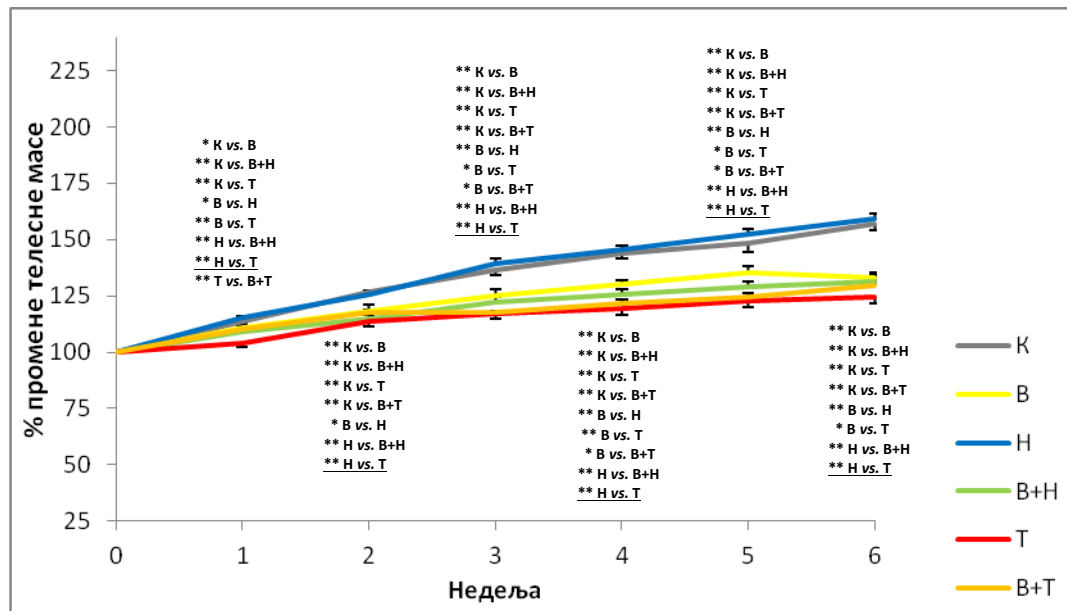
#### **4.1.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на дневни унос воде**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата нису доводили до значајних промена дневног уноса воде ( $F=0.357$ ,  $df=5$ ). Током шест недеља, колико су трајали сви експериментални протоколи спроведени у овој студији, дневни унос воде животиња у контролној групи (са иницијалних  $45.75 \pm 1.75$  ml) се није мењао. Ниједан од фактора, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, није значајно утицао на промену дневног уноса воде.



#### 4.1.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на телесну масу

На Слици 4.2. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на телесну масу. Наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F= 5.574 - 29.545, df=5$ ).



**Слика 4.2. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на телесну масу (изражен као % промене телесне масе у односу на иницијалну вредност). К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .**

Током шест недеља, колико су трајали сви експериментални протоколи спроведни у овој студији, телесна маса животиња у контролној групи (са иницијалних  $315 \pm 5$  g) се повећала за 55-60%, при чему се статистички значајно повећање ( $13.93 \pm 1.07\%$ ) учавало већ након прве недеље (Табела 4.3.,  $p < 0.01$ ). Програмирани тренажни протокол је

узроковао статистички значајно повећање телесне масе, почевши од прве недеље ( $p < 0.05$ ), све до завршетка експерименталног протокола ( $p < 0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Седентарне групе животиња третиране супрафизиолошким дозама ААС-а су показале различите ефекте анаболика на промену телесне масе, у поређењу са контролном групом, током шестонедељних протокола. Хронична примена НД-а није доводила до значајних промена телесне масе, у поређењу са контролном групом, током трајања читавог експерименталног протокола. За разлику од НД-а, администрација ТЕ-а је узроковала статистички значајно мање повећање телесне масе, почевши од прве недеље ( $p < 0.01$ ), све до завршетка експерименталног протокола ( $p < 0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Симултано спровођење протокола физичке активности и апликације ААС-а је потврдило доминантан ефекат продуженог тренинга на промену телесне масе, у поређењу са контролном (седентарном) групом. Тако је, поред комбиноване тестостеронске групе ( $p < 0.01$ ), и у комбинованој нандролонској групи забележено значајно мање повећање телесне масе, како у поређењу са контролном групом ( $p < 0.01$ ), тако и у односу на седентарну нандролонску групу ( $p < 0.01$ ).

Као што је приказано у Табели 4.4., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су утицали на промену телесне масе. Програмирани тренажни процес је имао значајан (негативан) утицај на промену телесне масе који се уочавао већ од прве недеље. За разлику од НД-а (слаб ефекат), ТЕ је показао најјачи, такође негативан, утицај на промену телесне масе (просечни недељни  $\eta^2$  је износио 0.350) током читавог трајања експерименталних протокола. Међу интеракцијама појединачних фактора је нарочито манифестна интеракција ТЕ-а и физичке активности.

Повећање телесне масе по недељама (%)						
	1. недеља	2. недеља	3. недеља	4. недеља	5. недеља	6. недеља
Контрола (n=16)	113.93 ± 1.07**	127.02 ± 1.51**	136.31 ± 2.00**	143.74 ± 2.18**	148.22 ± 3.63**	157.15 ± 2.80**
Вежбање (n=16)	110.78 ± 1.32**	118.24 ± 2.94**	124.79 ± 3.05**	130.12 ± 2.02**	135.15 ± 3.10**	133.11 ± 2.42**
Нандролон (n=8)	115.33 ± 0.85**	125.86 ± 1.56**	139.43 ± 1.94**	145.57 ± 1.72**	152.65 ± 2.18**	159.34 ± 2.23**
Вежбање + Нандролон (n=8)	108.99 ± 1.07**	114.87 ± 1.58**	122.41 ± 2.13**	125.43 ± 2.62**	128.99 ± 2.61**	131.12 ± 3.01**
Тестостерон (n=8)	103.95 ± 1.89	113.96 ± 2.82**	116.87 ± 2.33**	119.19 ± 2.84**	122.98 ± 2.95**	124.32 ± 2.74**
Вежбање + Тестостерон (n=8)	110.38 ± 0.79	117.39 ± 1.41	117.44 ± 0.94	121.85 ± 1.23*	124.51 ± 1.55*	129.66 ± 1.71**

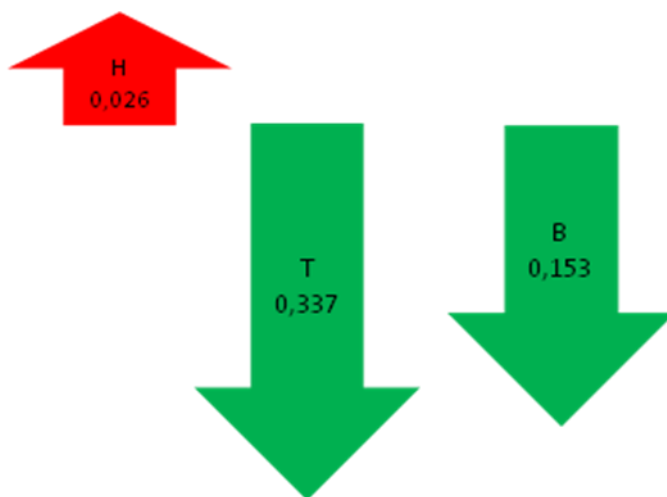
**Табела 4.3. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на телесну масу (изражен као % промене телесне масе у односу на иницијалну вредност). Вредности су изражене као % у односу на иницијалну телесну масу (пред почетак протокола) и представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .**

Трајање третмана		1 недеља	2 недеље	3 недеље	4 недеље	5 недеља	6 недеља
Појединачни фактори	Н	0.018	<0.001	0.043	0.028	0.028	0.041
	Т	0.230	0.116	0.394	0.477	0.346	0.457
	В	0.042	0.087	0.164	0.198	0.154	0.272
Интеракције	Н-В	0.073	0.026	0.041	0.059	0.062	0.053
	Т-В	0.244	0.125	0.125	0.234	0.123	0.376

**Табела 4.4. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на промену телесне масе.**

#### 4.1.3. Анализа величине утицаја различитих фактора на промене телесне масе

Као што је приказано на Слици 4.3., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на промене телесне масе показује да је најјачи (негативан) ефекат остварен под утицајем ТЕ-а ( $\eta^2=0.337$ ).



Слика 4.3. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на промену телесне масе.

## 4.2. Бихевиорални тестови

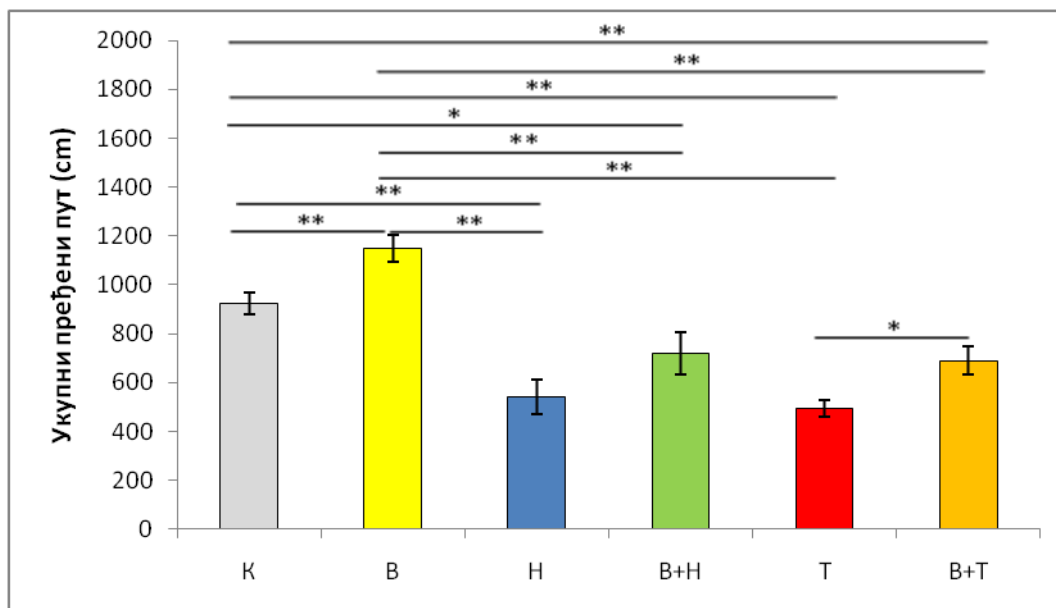
### 4.2.1. Тест отвореног поља (ОП тест)

#### 4.2.1.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на вредности укупног пређеног пута (УПП)

На Слици 4.4. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности УПП у тесту отвореног поља. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена УПП ( $F=19.425$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни третман са оба анаболичка стероида је доводио до значајног смањења УПП (приближно 40%,  $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Пролонгирана физичка активност је имала супротан ефекат на УПП, доводећи до значајног повећања вредности (приближно 25%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролом. Физичка активност, спровођена паралелно са применом анаболичких стероида, је умањивала негативни ефекат изазван применом НД-а и ТЕ-а, што је узроковало статистички значајно повећање ( $p<0.05$ ) у односу на групу третирану тестостерон-енантатом у седентарним условима. Ипак, корисни ефекти програмираног тренажног процеса нису били довољно велики да у потпуности анулирају негативне ефекте анаболичких стероида на УПП, па су вредности овог параметра у комбинованим групама биле статистички значајно мање у односу на контролу ( $p<0.05$  за В+Н и  $p<0.01$  за В+Т).

Као што је приказано у Табели 4.5., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су значајно утицали на вредност УПП у тесту отвореног поља. Ефекат анаболичких стероида, који се испољавао кроз смањење УПП, је био изразито велики, док је ефекат пролонгиране физичке активности био супротан (повећање) и мањег интензитета. Највећи утицај на промену вредности УПП је имао хронични третман тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.229$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину

ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



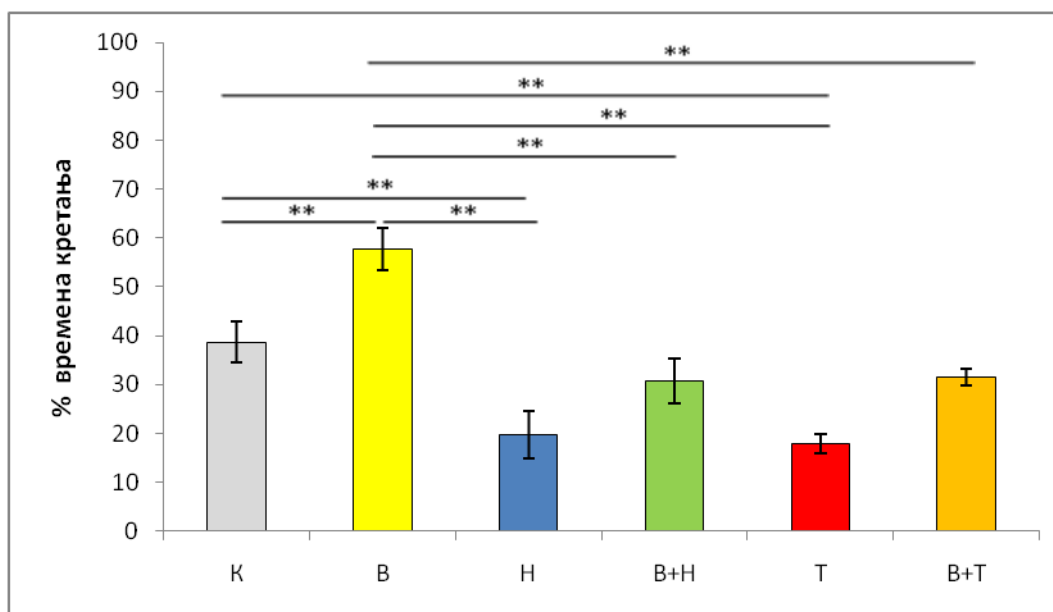
**Слика 4.4. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на вредности укупног пређеног пута (cm) у тесту отвореног поља. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓	↓↓↓	↑↑
	0.156	0.229	0.106

**Табела 4.5. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни пређени пут у тесту отвореног поља.**

#### 4.2.1.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на проценат времена кретања (% ВК)

Као што је приказано на Слици 4.5., спроведени појединачни и комбиновани протоколи су доводили до значајних промена процента времена кретања у тесту отвореног поља ( $F=12.871$ ,  $df=5$ ). Хронична примена супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је скраћивала укупно трајање мобилности током петоминутног теста (приближно 50%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Шестонедељни програм физичке активности је доводио до повећања % ВК (приближно 50%,  $p<0.01$ ) у односу на контролу. Корисни ефекат физичке активности на мобилност животиња у ОП тесту се манифестовао и кроз повећање % ВК у комбинованим групама, у којима се вредност овог параметра није статистички значајно разликовала од контролних резултата.



Слика 4.5. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на проценат времена кретања у тесту отвореног поља. К – контрола ( $n=16$ ), В – вежбање ( $n=16$ ), Н – нандролон-деканоат ( $n=8$ ), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат ( $n=8$ ), Т – тестостерон-енантат ( $n=8$ ), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат ( $n=8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\*  $p<0.01$ .

У Табели 4.6. су приказане величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на вредности процента времена кретања у тесту отвореног поља. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз повећање % ВК. Супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај на мобилност у ОП тесту. Ефекат нандролон-деканата и тестостерон-енантата се манифестовао као смањење % ВК. Највећа величина ефекта уочена је код животиња третираних тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.149$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓ 0.135	↓↓↓ 0.149	↑↑ 0.128

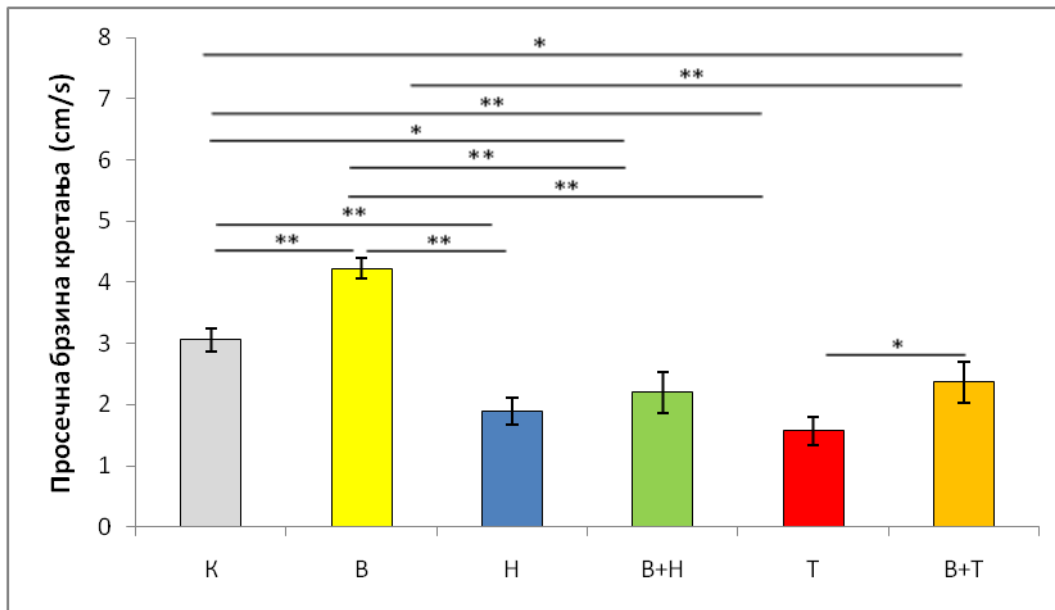
**Табела 4.6. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат времена кретања у тесту отвореног поља.**



#### **4.2.1.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на вредности просечне брзине кретања (ПБК)**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности ПБК у тесту отвореног поља су приказани на Слици 4.6. Сви наведени протоколи су значајно утицали на промену вредности ПБК ( $F=19.125$ ,  $df=5$ ). Протокол који је подразумевао примену анаболичких стероида је узроковао значајно смањење ПБК (приближно 30%,  $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Дуготрајна физичка активност је имала супротан ефекат на ПБК, при чему је дошло до значајног повећања вредности (приближно 30%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Физичка активност, у групама у којима је примењивана комбиновано са анаболичким стероидима, је умањивала негативни ефекат изазван применом НД-а и ТЕ-а, што је узроковало статистички значајно повећање ( $p<0.05$ ) само у односу на седентарну групу третирану тестостерон-енантатом. Ипак, корисни ефекти програмираног тренажног процеса нису били довољно велики да у потпуности анулирају негативне ефекте анаболичких стероида на ПБК, па су вредности овог параметра у комбинованим групама биле статистички значајно мање у односу на вредности забележене у контролној групи ( $p<0.05$ ).

У Табели 4.7. су представљени фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и сви фактори су значајно мењали вредност ПБК у тесту отвореног поља. Ефекат анаболичких стероида, који се испољавао кроз смањење ПБК, је био изразито велики, док је супротни ефекат (повећање) забележен код пролонгиране физичке активности али је био мањег интензитета. Највећи утицај на промену вредности ПБК је имао хронични третман ТЕ-ом ( $\eta^2=0,197$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.6. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на вредности просечне брзине кретања (cm/s) у тесту отвореног поља. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .**

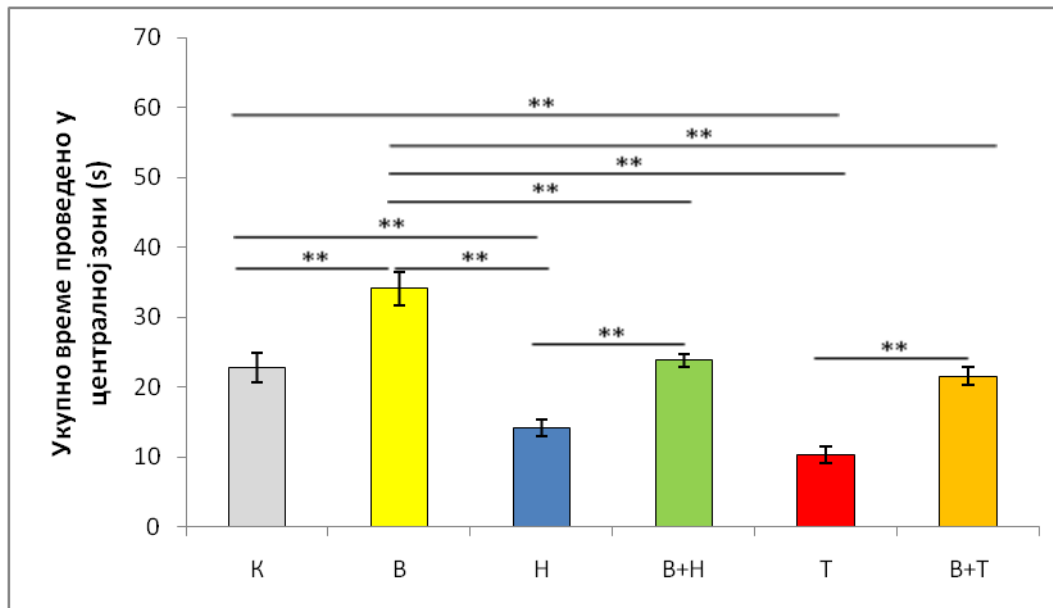
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓	↓↓↓	↑↑
	0.168	0.197	0.098

**Табела 4.7. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на вредности просечне брзине кретања у тесту отвореног поља.**

#### **4.2.1.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на укупно време проведено у централној зони (УВПЦЗ)**

На Слици 4.7. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на укупно време проведено у централној зони у тесту отвореног поља. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=16.442$ ,  $df=5$ ). Хронична примена супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је узроковала да животиње које су биле изложене том третману значајно мање времена проводе у централној зони ( $p<0.01$ ) у односу на животиње из контролне групе. Програмирани тренажни процес током шест недеља је имао супротан ефекат на УВПЦЗ, при чему се уочава значајно повећање вредности (приближно 50%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролом. Животиње код којих су истовремено примењивани комбиновани протоколи (В+Н и В+Т) су проводиле статистички значајно више времена у централној зони ( $p<0.01$ ) у односу на групе које су третиране анаболичким стероидима у седентарним условима (Н и Т). Корисни ефекат физичке се манифестовао и кроз повећање УВПЦЗ у комбинованим групама, у којима се вредност овог параметра није статистички значајно разликовала од вредности које су забележене у контролној групи.

У Табели 4.8. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на вредност УВПЦЗ у тесту отвореног поља. Ефекат анаболичких стероида, који се испољавао кроз смањење УВПЦЗ, је био изразито велики, док се, такође, велики ефекат пролонгиране физичке активности манифестовао кроз повећање вредности овог параметра. Највећи утицај на промену вредности УВПЦЗ је имао програмирани тренажни процес ( $\eta^2=0.255$ ), док је што се ефекта анаболичких стероида тиче јачи ефекат на УВПЦЗ је показао хронични третман тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.220$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.7. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупно време проведено у централној зони (s) у тесту отвореног поља.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

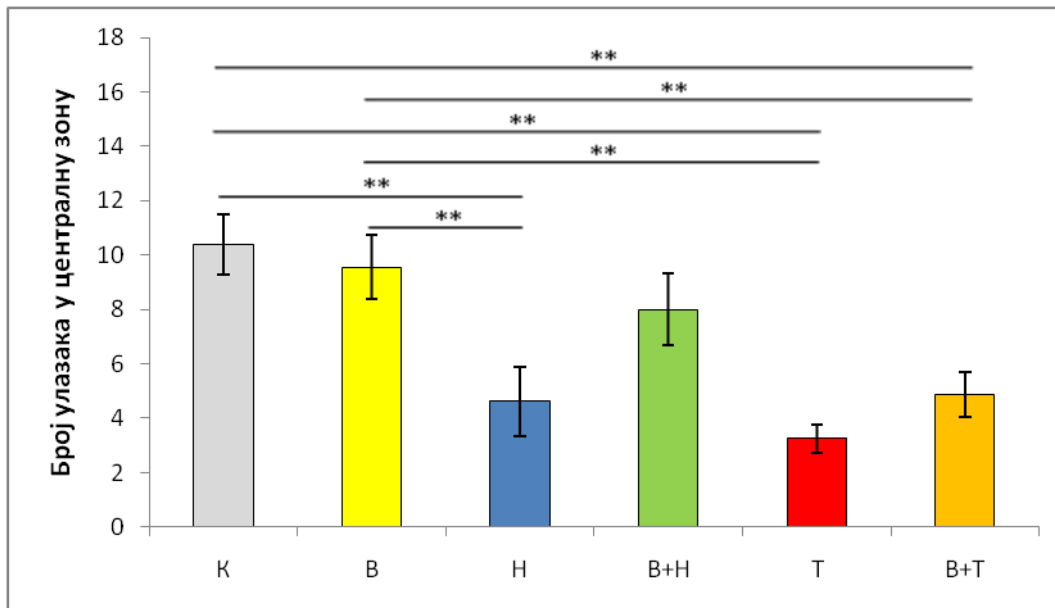
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓	↓↓↓	↑↑↑
	0.071	0.220	0.255

**Табела 4.8. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупно време проведено у централној зони у тесту отвореног поља.**

#### **4.2.1.5. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број улазака у централну зону (БУЦЗ)**

На Слици 4.8. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на број улазака у централну зону у тесту отвореног поља. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=6.137$ ,  $df=5$ ). Хронична примена супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је доводила до статистички значајног смањена броја улазака у централну зону ( $p<0.01$ ) у односу на вредности у контролним условима. Самостални шестонедељни програмирани тренажни процес није променио БУЦЗ у односу на контролну групу, али је узроковао статистички значајно повећање ( $p<0.01$ ) у поређењу са групама које су третиране само анаболичким стероидима. Ипак, корисни ефекти програмираног тренажног процеса нису били довољно велики да у потпуности анулирају негативне ефекте ТЕ-а на БУЦЗ, па су вредности овог параметра у комбинованој групи (В+Т) биле статистички значајно мање у односу на контролну, као и на групу која је била подвргнута само физичкој активности ( $p<0.01$ ).

Као што је приказано у Табели 4.9., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су утицали на вредност БУЦЗ у тесту отвореног поља. Ефекат анаболичких стероида се испољавао кроз смањење БУЦЗ, док се ефекат пролонгиране физичке активности манифестовао кроз повећање вредности овог параметра. Највећи утицај на промену вредности БУЦЗ је показао хронични третман тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.197$ ), док је ефекат примене нандролон-деканоата био знатно мањег интензитета ( $\eta^2=0.026$ ). Такође, програмирани тренажни процес је испољио ефекат слабијег интензитета ( $\eta^2=0.020$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су истовремено примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.8. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на број улазака у централну зону у тесту отвореног поља.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

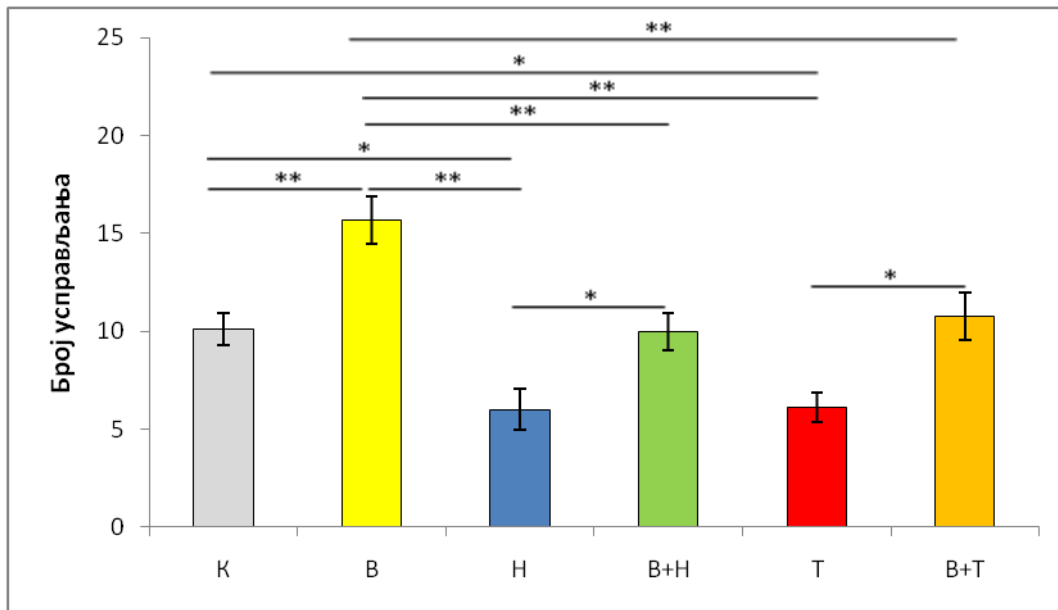
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓ 0.026	↓↓↓ 0.197	↑ 0.020

**Табела 4.9. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број улазака у централну зону у тесту отвореног поља.**

#### **4.2.1.6. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број усправљања (БУ)**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности БУ у тесту отвореног поља су приказани на Слици 4.9. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена БУ ( $F=11.548$ ,  $df=5$ ). Протокол пливања који је примењен у овом истраживању је свој ефекат испољавао кроз повећање броја усправљања, које је било статистички значајно ( $p<0.01$ ) у поређењу са вредностима у контролној групи. Ефекат анаболичких стероида је био супротан. Примена супрафизиолошких доза, како нандролон-деканата, тако и тестостерон-енантата, значајно је изменила овај тип експлоративне активности у тесту ОП у смислу статистички значајног смањења БУ ( $p<0.01$ ) у односу на контролну, као и на групу која је била подвргнута програмираном тренажном процесу. Животиње у комбинованим групама су имале статистички значајно мањи број усправљања ( $p<0.01$ ) у поређењу са групом која је, током шест недеља, имала програм физичке активности. Истовремено, протокол пливања примењен код животиња у комбинованим групама је узроковао значајно повећање ( $p<0.05$ ) овог параметра у односу на седентарне животиње третиране анаболичким стероидима.

Као што је приказано у Табели 4.10., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су значајно утицали на вредност БУ у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Ефекат пролонгиране физичке активности се манифестовао кроз повећање БУ, док је ефекат анаболичких стероида био супротан (смањење). Убедљиво највећи утицај на промену вредности БУ је имао шестонедељни протокол пливања ( $\eta^2=0.213$ ). Ефекат НД-а је био интензивнији ( $\eta^2=0.126$ ) у односу на ефекат који је испољио ТЕ. Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.9. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број усправљања у тесту отвореног поља.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓↓ 0.126	↓↓ 0.087	↑↑↑ 0.213

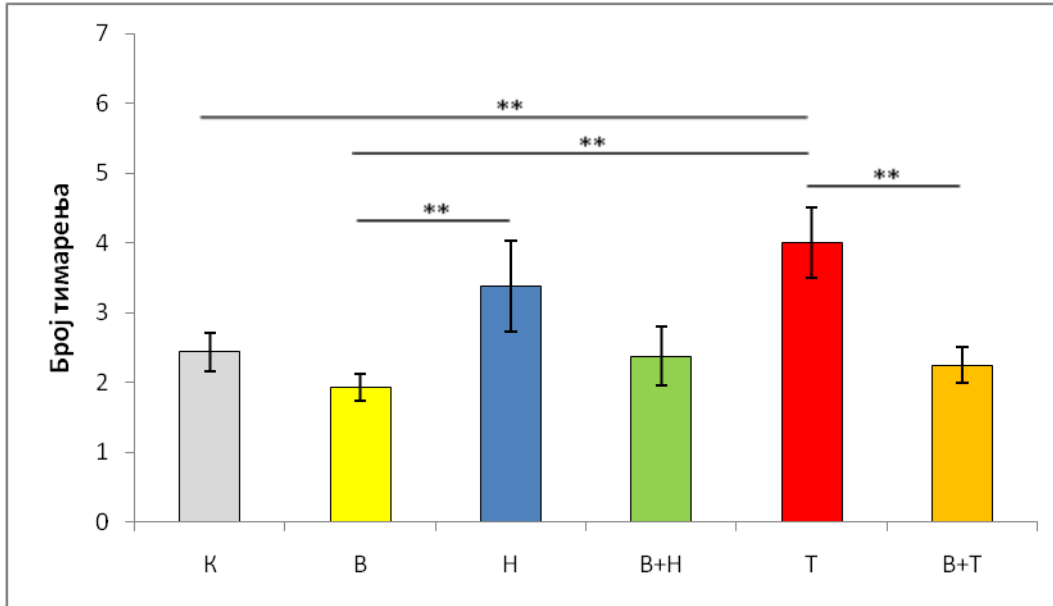
**Табела 4.10. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број усправљања у тесту отвореног поља.**



#### **4.2.1.7. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број тимарења (БТ)**

Као што је приказано на Слици 4.10., спроведени појединачни и комбиновани протоколи су доводили до значајних промена броја тимарења у тесту отвореног поља ( $F=4.352$ ,  $df=5$ ). Хронична администрација супрафизиолошких доза тестостерон-енантата је повећавала број тимарења током извођења овог теста (приближно 60%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Такође, група која је примала НД, као и група која је примала ТЕ, имала је статистички значајно повећање броја тимарења у односу на групу која је била физички активна ( $p<0.01$ ). Ефекат физичке активности на БТ у ОП тесту се манифестовао кроз статистички значајно смањење ( $p<0.01$ ) БТ у комбинованој групи (са тестостерон-енантатом), док смањење овог параметра у комбинованој групи која је третирана НД-ом није било статистички значајно.

У Табели 4.11. су представљене величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на број тимарења у тесту отвореног поља. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз смањење БТ. Супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај на овај параметар у ОП тесту. Највећа величина ефекта уочена је код животиња које су током шест недеља биле укључене у програмирани тренажни процес ( $\eta^2=0.140$ ). Ефекат нандролон-деканата и тестостерон-енантата се манифестовао као повећање БТ. Поредњи величине ефектата анаболичких стероида, тестостерон-енантат је испољио јачи утицај ( $\eta^2=0.067$ ), док је нандролон-деканат имао ефекат нешто слабијег интензитета ( $\eta^2=0.018$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



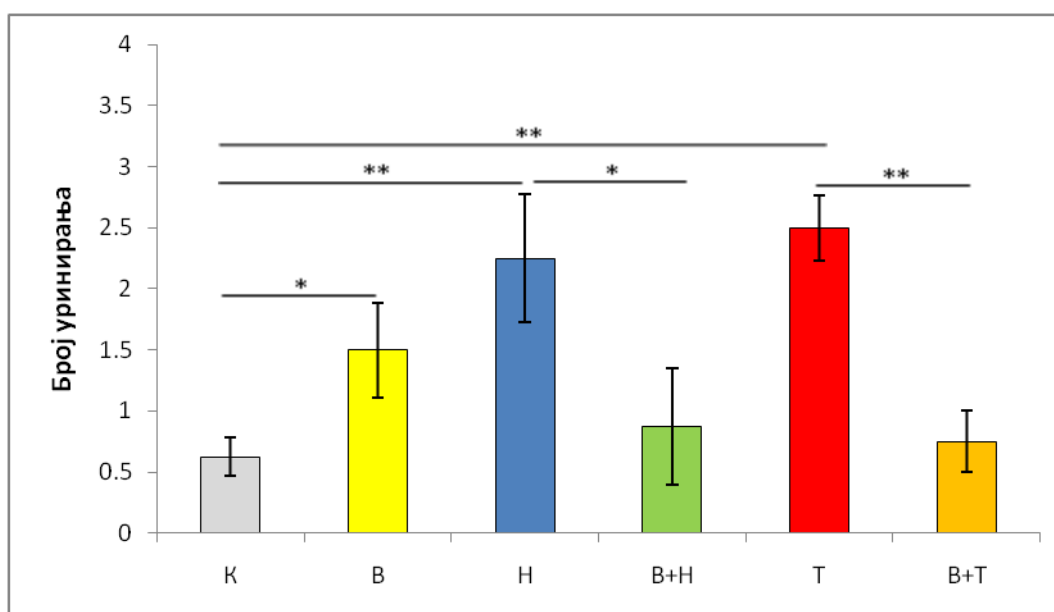
**Слика 4.10.** Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број тимарења у тесту отвореног поља. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑	↑↑	↓↓↓
	0.018	0.067	0.140

**Табела 4.11.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број тимарења у тесту отвореног поља.

#### 4.2.1.8. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број уринарања

Као што је представљено на Слици 4.11., спроведени појединачни и комбиновани протоколи су доводили до значајних промена броја уринарања у тесту отвореног поља ( $F=4.555$ ,  $df=5$ ). Хронична примена супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је повећавала број уринарања током извођења теста ( $p<0.01$ ) у поређењу са вредностима у контролним условима. Шестонедељни програм физичке активности је, такође, доводио до повећања броја уринарања ( $p<0.05$ ) у односу на контролу. Ефекат физичке активности на броја уринарања у ОП тесту се манифестовао и кроз смањење броја уринарања у комбинованим групама, у којима се вредност овог параметра није статистички значајно разликовала од контролних резултата.



Слика 4.11. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број уринарања у тесту отвореног поља. К – контрола ( $n=16$ ), В – вежбање ( $n=16$ ), Н – нандролон-деканат ( $n=8$ ), В+Н – вежбање и нандролон-деканат ( $n=8$ ), Т – тестостерон-енантат ( $n=8$ ), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат ( $n=8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ .

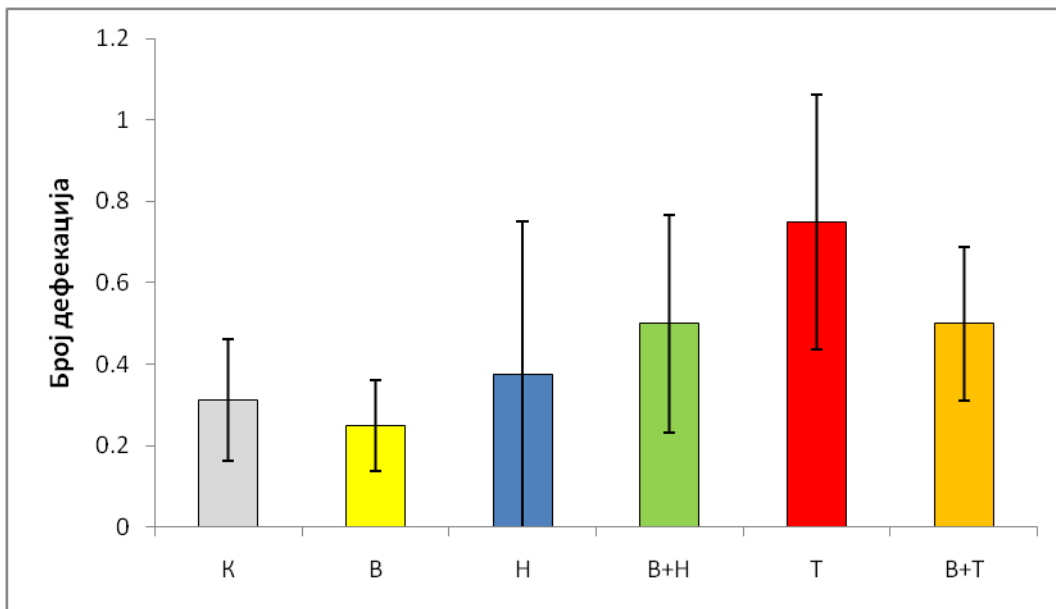
У Табели 4.12. су приказане величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на број уринирања у тесту отвореног поља. Оба спроведена протокола су свој ефекат остваривали кроз повећање броја уринирања. Највећа величина ефекта уочена је код животиња које су биле физички активне ( $\eta^2=0.066$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑ 0.012	↑ 0.020	↑↑ 0.066

**Табела 4.12. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број уринирања у тесту отвореног поља.**

#### 4.2.1.9. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број дефекација

На Слици 4.12. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на број дефекација у тесту отвореног поља. Ниједан од наведених протокола није узроковао статистички значајне промене овог параметра ( $F=0.678$ ,  $df=5$ ).



**Слика 4.12. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број дефекација у тесту отвореног поља.** К – контрола ( $n=16$ ), В – вежбање ( $n=16$ ), Н – нандролон-деканат ( $n=8$ ), В+Н – вежбање и нандролон-деканат ( $n=8$ ), Т – тестостерон-енантат ( $n=8$ ), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат ( $n=8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ .

У Табели 4.13. су приказане величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на број дефекација у тесту отвореног поља. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз смањење броја дефекација.

Супрафизиолошке дозе тестостерон-енантата, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај на овај параметар у ОП тесту. Иста величина ефекта уочена је код животиња третираних тестостерон-енантатом, као и код животиња које су само биле физички активне ( $\eta^2=0.035$ ). Величина утицаја нандролон-деканата је била занемарљива ( $\eta^2<0.001$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	<0.001	↑ 0.035	↓ 0.035

**Табела 4.13. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број дефекација у тесту отвореног поља.**

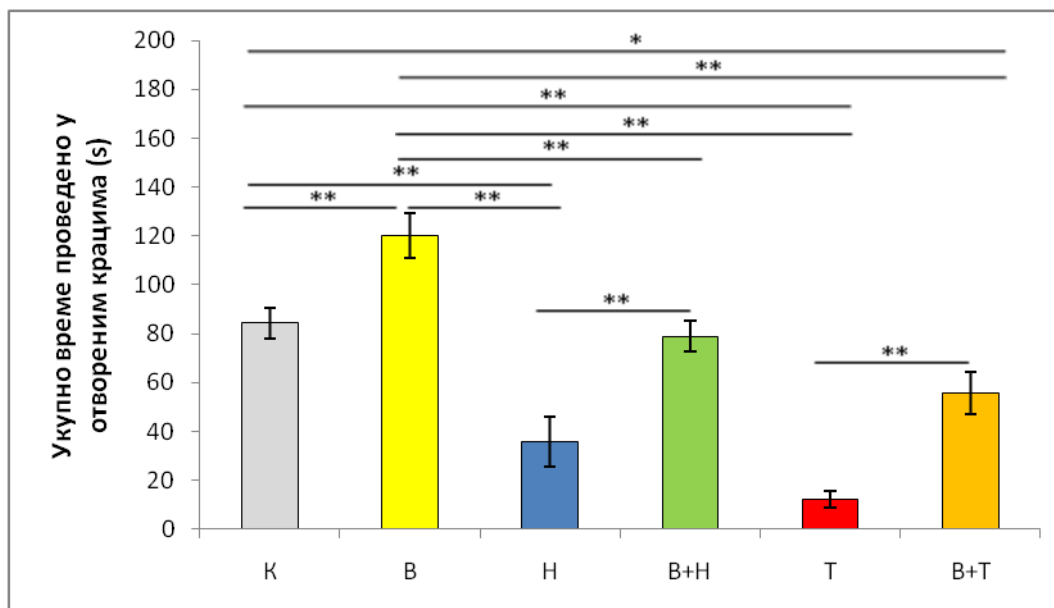
## 4.2.2. Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ тест)

### 4.2.2.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на укупно време проведено у отвореним крацима (УВПОК)

На Слици 4.13. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на укупно време проведено у отвореним крацима у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=22.262$ ,  $df=5$ ). Шестонедељна администрација супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је доводила до тога да животиње које су биле изложене том третману значајно мање времена проводе у отвореним крацима ( $p<0.01$ ) у односу на животиње из контролне групе. Шестонедељни протокол пливања је имао супротан ефекат на УВПОК, при чему се уочава статистички значајно повећање вредности овог параметра (приближно 50%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролним вредностима. Животиње које су припадале комбинованим групама су проводиле статистички значајно више времена у отвореним крацима ( $p<0.01$ ) у односу на групе које су третиране само анаболичким стероидима и нису биле физички активне. У комбинованој групи са тестостерон-енантатом уочава се статистички значајно смањење времена проведеног у отвореним крацима ( $p<0.05$ ) у односу на контролне услове.

У Табели 4.14. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на вредност укупног времена проведеног у отвореним крацима у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Ефекат ААС-а се манифестовао кроз смањење УВПОК, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз повећање вредности овог параметра. Највећи (негативан) утицај на промену вредности УВПОК је имала хронична примена тестостерон-енантата ( $\eta^2=0.348$ ). Такође, (позитиван) утицај дуготрајне физичке активност је био велики ( $\eta^2=0.209$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне

ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.13. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на укупно време проведено у отвореним крацима (s) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓	↓↓↓	↑↑↑
	0.060	0.348	0.209

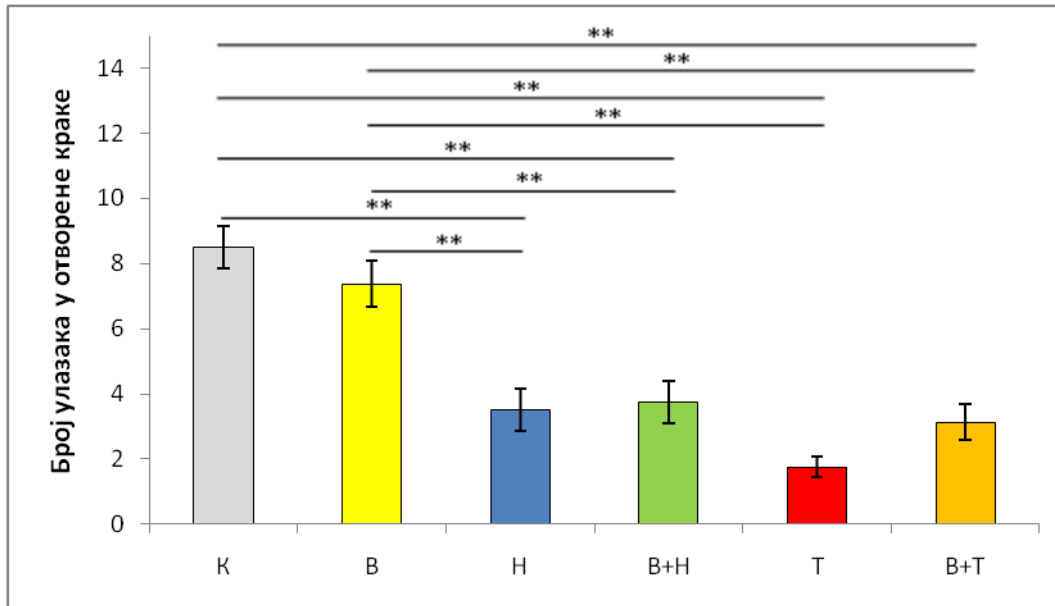
**Табела 4.14. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупно време проведено у отвореним крацима у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**



#### **4.2.2.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканонат, тестостерон-енантат) на број улазака у отворене краке (БУОК)**

Слика 4.14. приказује ефекте програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоната и тестостерон-енантата на број улазака у отворене краке у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=16.596$ ,  $df=5$ ). Пролонгирана администрација анаболичких стероида у супрафизиолошким дозама је узроковала статистички значајно смањење броја улазака у отворене краке ( $p<0.01$ ) у односу на животиње из контролне групе. Пролонгирана физичка активност није доводила до промене БУОК у односу на контролну групу. Такође, протокол пливања у комбинацији са анаболичким стероидима није за резултат имао статистички значајну промену вредности овог параметра у односу на седентарне групе третиране анаболицима, и вредности су остале статистички значајно мање у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.15. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на вредност броја улазака у отворене краке у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Анаболички стероиди су испољавали свој ефекат кроз смањење БУОК, при чему је највећи утицај имао тестостерон-енантат ( $\eta^2=0.287$ ). Пролонгирана физичка активности је имала ефекат у виду повећања вредности овог параметра, али је утицај био мањег интензитета ( $\eta^2=0.015$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.14. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број улазака у отворене краке у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

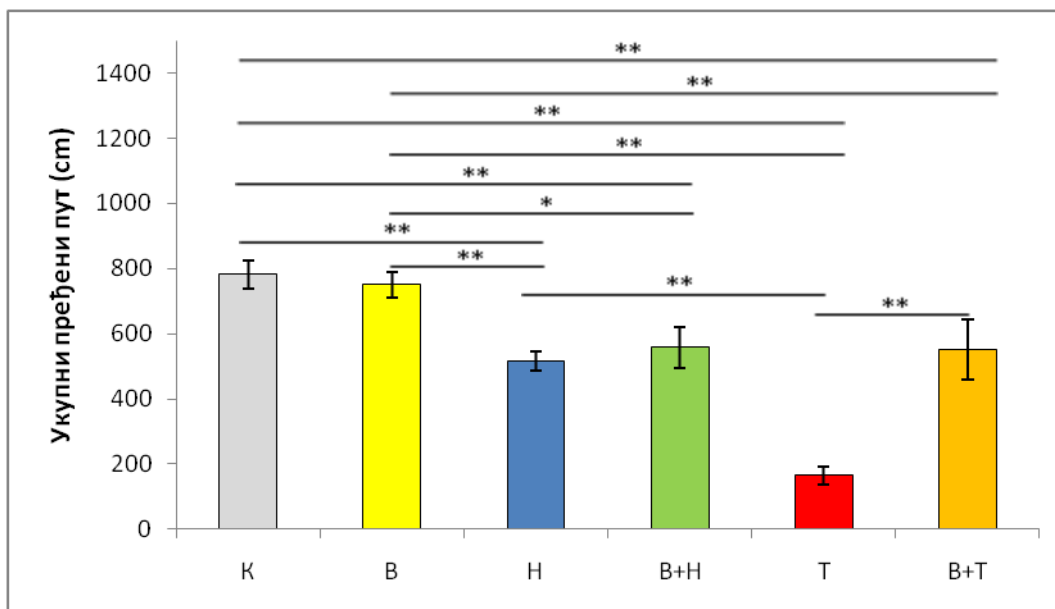
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓	↓↓↓	↑
	0.105	0.287	0.015

**Табела 4.15. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број улазака у отворене краке у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**

#### **4.2.2.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на вредности укупног пређеног пута (УПП)**

На Слици 4.15. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности УПП у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена УПП ( $F=17.379$ ,  $df=5$ ). Примена супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата је узроковала статистички значајно смањење (30 и 70%,  $p<0.01$ ) овог параметра, како у поређењу са контролном, тако и у поређењу са групом где је спровођен тренажни протокол. Шестонедељни третман тестостерон-енантатом је изазвао статистички значајно смањење (приближно 60%,  $p<0.01$ ) укупне пређене дистанце у односу на групу која је третирана нандролон-деканатом. Иако протокол вежбања није значајно изменио вредности УПП у односу на контролне услове, пливање у комбинацији са тестостерон-енантатом је статистички значајно повећало ( $p<0.01$ ) вредност УПП у поређењу са седентарним животињама које су примале ТЕ.

Сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су значајно утицали на вредност УПП у тесту отвореног поља и приказани су у Табели 4.16. Ефекат анаболичких стероида се испољавао кроз смањење УПП, док је ефекат пролонгираног протокола пливања био супротан. Највећи утицај на промену вредности УПП је имао хронични третман тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.371$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.15. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на вредности укупног пређеног пута (cm) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓ 0.026	↓↓↓ 0.371	↑↑ 0.090

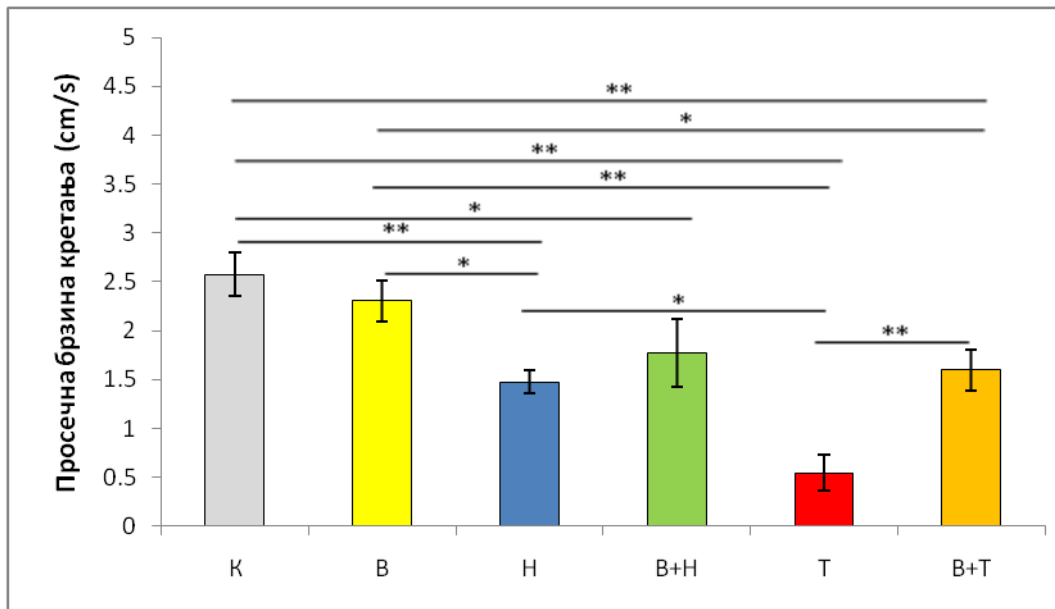
**Табела 4.16. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни пређени пут у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**

#### **4.2.2.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на вредности просечне брзине кретања (ПБК)**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности ПБК у тесту уздигнутог крстастог лавиринта су приказани на Слици 4.16. Сви наведени протоколи су значајно утицали на промену вредности ПБК ( $F=9.274$ ,  $df=5$ ). Протокол који је подразумевао примену НД-а узроковао је значајно смањење ПБК (приближно 40%,  $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Такође, хронична примена ТЕ-а је изазвала статистички значајно смањење вредности овог параметра (приближно 80%,  $p<0.01$ ) у односу на контролу. Животиње у комбинованој групи која је третирана ТЕ-ом су имале значајно мању ПБК ( $p<0.05$ ) у односу на групу где је спровођен само тренажни протокол. Седентарна група која је третирана ТЕ-ом је показала статистички значајно мању вредност ПБК (приближно 60%,  $p<0.05$ ) у односу на вредности забележене у групи третираној НД-ом која је током третмана, такође, била у седентарним условима. Пролонгирана физичка активност није доводила до промене ПБК у односу на контролну групу. Ипак, ефекат пливања се манифестовао кроз повећање вредности овог параметра ( $p<0.01$ ) у комбинацији са ТЕ-ом у односу на седентарну тестостеронску групу. Оваква промена није регистрована у нандролонским групама, при чему су вредности овог параметра у обе групе у којима је симултано спровођена администрација ААС-а и тренажни протокол биле значајно мање у односу на контролне вредности ( $p<0.05$  за групу В+Н и  $p<0.01$  за групу В+Т).

Фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су представљени у Табели 4.17. Сви фактори су значајно мењали вредност ПБК у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Анаболички стероиди су свој ефекат испољавали кроз смањење вредности ПБК, док је супротни ефекат (повећање) забележен у протоколу пролонгиране физичке активности. Највећи утицај на промену вредности ПБК је имао хронични третман тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.257$ ), док је утицај шестонедељног пливања био мањег интензитета ( $\eta^2=0.038$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и

физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.16. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на вредности просечне брзине кретања (cm/s) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.**

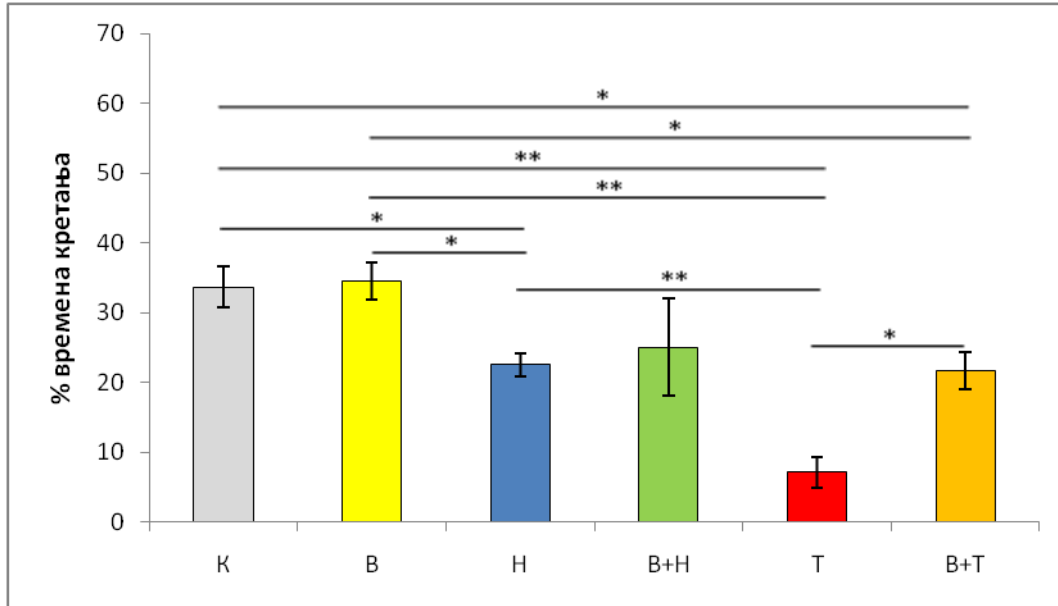
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓ 0.026	↓↓↓ 0.257	↑↑ 0.038

**Табела 4.17. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на вредности просечне брзине кретања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**

#### **4.2.2.5. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на проценат времена кретања (% ВК)**

Као што је приказано на Слици 4.17., спроведени појединачни и комбиновани протоколи су доводили до значајних промена процента времена кретања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта ( $F=8.221$ ,  $df=5$ ). Хронична примена супрафизиолошких доза нандролон-деканоата, као и тестостерон-енантата, је скраћивала укупно трајање мобилности током петоминутног теста (приближно 30%,  $p<0.05$  за НД и 75%,  $p<0.01$  за ТЕ) у поређењу са контролном групом. Животиње у групи чији је протокол подразумевао примену тестостерон-енантата без тренажног протокола су се статистички значајно мање времена кретале (приближно 60%,  $p<0.01$ ) у односу на групу третирану нандролон-деканоатом у седентарним условима. Иако пролонгирана физичка активност није доводила до промене % ВК у односу на контролну групу, протокол пливања у комбинацији са тестостерон-енантатом је узроковао статистички значајно повећање вредности овог параметра ( $p<0.05$ ) у односу на седентарну ТЕ групу, иако је вредност овог параметра остала значајно мања у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Овакав ефекат се не уочава у нандролонским групама.

У Табели 4.18. су приказане величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на вредности процента времена кретања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз повећање мобилности. Супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај на вредност % ВК у УКЛ тесту. Ефекат нандролон-деканоата и тестостерон-енантата се манифестовао као смањење % ВК. Највећа величина ефекта уочена је код животиња третираних тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.273$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.17.** Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на проценат времена кретања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓ 0.014	↓↓↓ 0.273	↑↑ 0.049

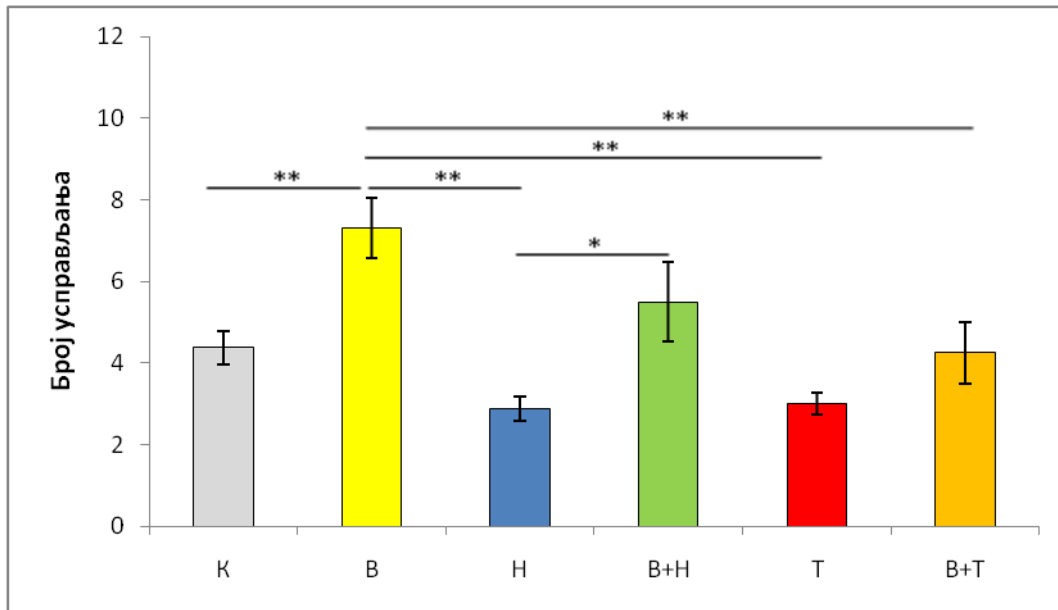
**Табела 4.18.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат времена кретања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.



#### **4.2.2.6. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број усправљања (БУ)**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности БУ у тесту уздигнутог крстастог лавиринта су приказани на Слици 4.18. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена БУ ( $F=7.281$ ,  $df=5$ ). Спроведени протокол пливања (у трајању од шест недеља) је свој ефекат манифестовао кроз повећање броја усправљања, које је било статистички значајно ( $p<0.01$ ) у поређењу са вредностима у контролној групи. Ефекат анаболичких стероида је био доминантан и значајно је изменио овај тип експлоративне активности у тесту УКЛ у смислу статистички значајног смањења БУ ( $p<0.01$ ) у односу на групу која је била подвргнута програмираном тренажном процесу, без статистички значајне разлике у односу на контролу. Животиње у комбинованој групи са нандролон-деканатом су имале статистички значајно већи број усправљања ( $p<0.05$ ) у односу на седентарне животиње третиране истим анаболичким стероидом. Корисни ефекат вежбања није био довољан да надомести ефекте тестостерон-енантата, у комбинованој групи, па је и даље било евидентно значајно смањење БУ у овој групи у поређењу са групом која је спроводила шестонедељни протокол пливања ( $p<0.01$ ).

Као што је приказано у Табели 4.19., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су значајно утицали на вредност БУ у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Ефекат пролонгиране физичке активности се манифестовао кроз повећање БУ, док је ефекат анаболичких стероида био супротан (смањење). Највећи утицај на промену вредности БУ је имао шестонедељни програмирани тренажни процес ( $\eta^2=0.167$ ). Ефекат ТЕ-а је био интензивнији ( $\eta^2=0.102$ ) у односу на ефекат који је испољио НД. Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.18. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број усправљања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓	↓↓↓	↑↑↑
	0.030	0.102	0.167

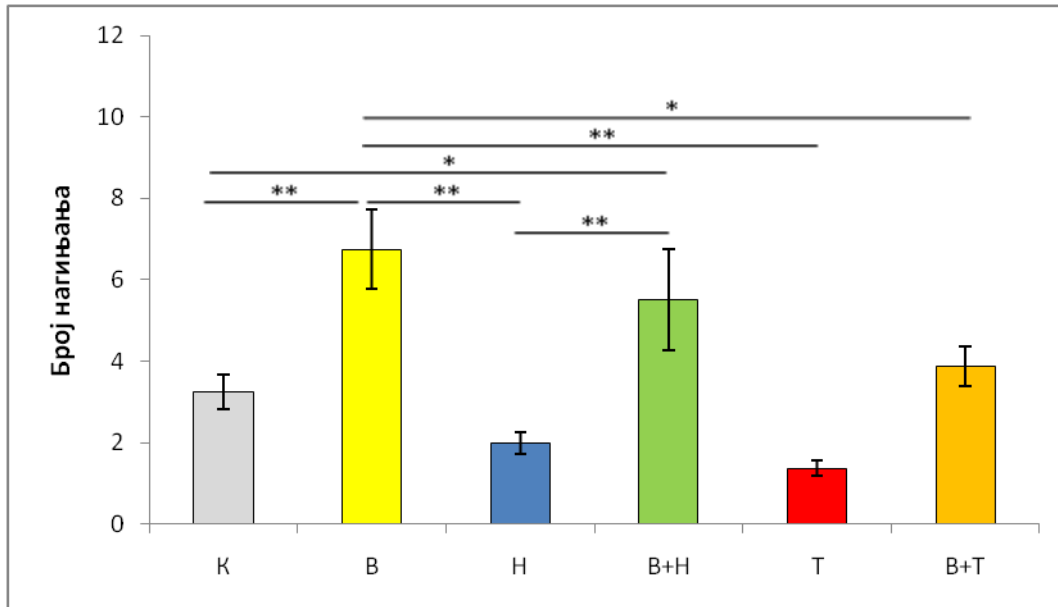
**Табела 4.19. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број усправљања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**

#### **4.2.2.6. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број нагињања (БН)**

На Слици 4.19. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности БН у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена БН ( $F=7.343$ ,  $df=5$ ). Спроведени протокол програмираног тренажног процеса (у трајању од шест недеља) је свој ефекат манифестовао кроз повећање броја нагињања, које је било статистички значајно ( $p<0.01$ ) у поређењу са вредностима које су забележене у контролној групи. Оба примењена анаболичка стероида су испољила свој ефекат кроз статистички значајно смањење ( $p<0.01$ ) ове врсте експлоративне активности у тесту УКЛ у поређењу са групом која је била изложена програмираној физичкој активности, без уочавања значајних разлика у односу на контролну групу. Симултана примена НД-а и пливања је узроковала статистички значајно повећање БН у поређењу са контролом ( $p<0.05$ ), као и у поређењу са седентарним животињама које су третиране НД ( $p<0.01$ ). Истовремено спроведени протокол пливања и примене ТЕ-а је потврдио да пливањем узроковано повећање БН у комбинованој групи није било статистички значајно у односу на седентарну ТЕ и контролну групу, па је вредност овог параметра остала значајно мања у односу на групу где је примењен само протокол пливања ( $p<0.05$ ).

У Табели 4.20. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност броја нагињања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Ефекат пролонгиране програмиране физичке активности се манифестовао кроз повећање БН, док су примењени анаболички стероиди испољавали свој ефекат кроз смањење вредности овог параметра. Највећи утицај на промену вредности БН је имао шестонедељни програмирани тренажни процес ( $\eta^2=0.227$ ). Што се тиче утицаја анаболичких стероида, утицај ТЕ-а је био интензивнији ( $\eta^2=0.106$ ) у односу на ефекат НД-а који није био значајан. Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи

(анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефекта појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.19.** Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на број нагињања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓	↓↓↓	↑↑↑
	0.006	0.106	0.227

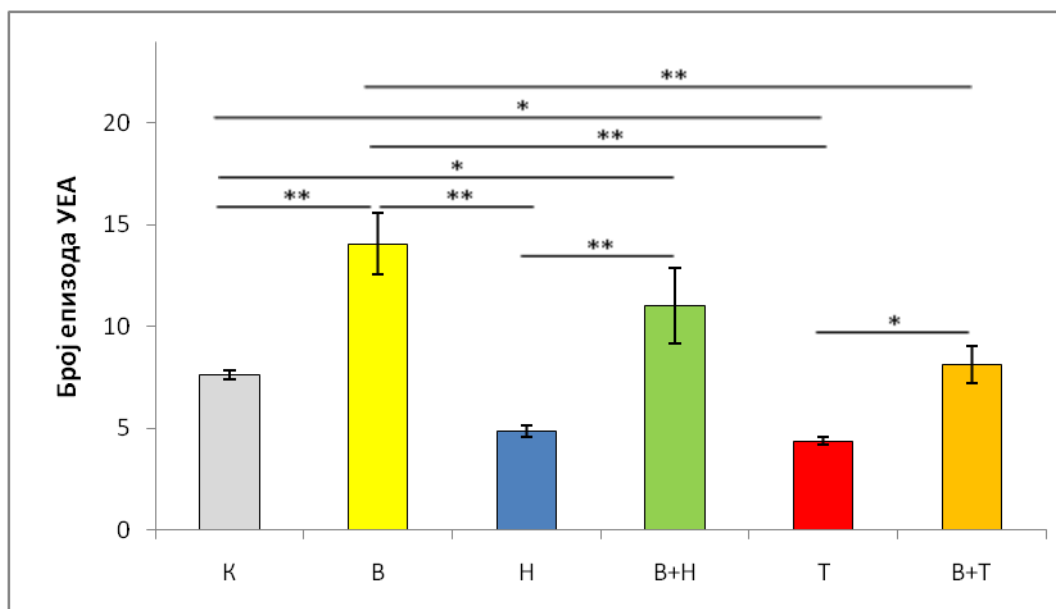
**Табела 4.20.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број нагињања у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.

#### **4.2.2.7. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број епизода укупне експлоративне активности (УЕА)**

На Слици 4.20. су представљени ефекти спроведених појединачних и комбинованих протокола који су доводили до значајних промена у броју епизода укупне експлоративне активности у тесту уздигнутог крстастог лавиринта ( $F=11.590$ ,  $df=5$ ). Уочава се негативан ефекат оба анаболичка стероида, који се испољава кроз статистички значајно смањење броја епизода УЕА ( $p<0.01$ ) у односу на вредности забележене у групи где је примењиван програмирани тренажни процес. Такође, примена тестостерон-енантата у седентарној групи је показала и статистички значајно смањење броја епизода УЕА ( $p<0.05$ ) у односу на контролне вредности. Сам процес дуготрајног тренинга је узроковао статистички значајно повећање ( $p<0.01$ ) овог параметра у односу на контролну групу. Позитиван ефекат дуготрајног пливања се уочава у групама у којима су симултано примењивани анаболички стероиди и тренажни процес. Шестонедељни тренажни третман је узроковао, у групи која је истовремено примала НД уз протокол пливања, статистички значајно повећање броја епизода УЕА ( $p<0.01$ ) у односу на седентарну групу третирану истим анаболичким стероидом. Иста значајност ( $p<0.05$ ) је забележена и у повећању у односу на вредности у контролној групи. Вредности овог параметра у комбинованој групи (са тестостерон-енантатом) су биле статистички значајно веће ( $p<0.05$ ) у односу на вредности забележене у седентарној групи третираној истим анаболичким стероидом, иако су вредности у овој комбинованој групи биле статистички значајно мање ( $p<0.01$ ) у односу на групу у којој је само примењиван протокол пливања.

Збирни приказ свих фактора чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност броја епизода укупне експлоративне активности у тесту уздигнутог крстастог лавиринта је представљен у Табели 4.21. Ефекат пролонгиране програмиране физичке активности се манифестовао кроз повећање броја епизода УЕА, док су примењени анаболички стероиди испољавали свој ефекат кроз смањење вредности овог параметра. Највећи утицај на промену вредности броја епизода УЕА је имао шестонедељни програмирани тренажни процес ( $\eta^2=0.271$ ). Што се тиче утицаја анаболичких стероида, утицај ТЕ-а је био интензивнији

( $\eta^2=0.152$ ) у односу на ефекат НД-а који је био мањег интензитета. Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефекта појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.20. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број епизода укупне експлоративне активности у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

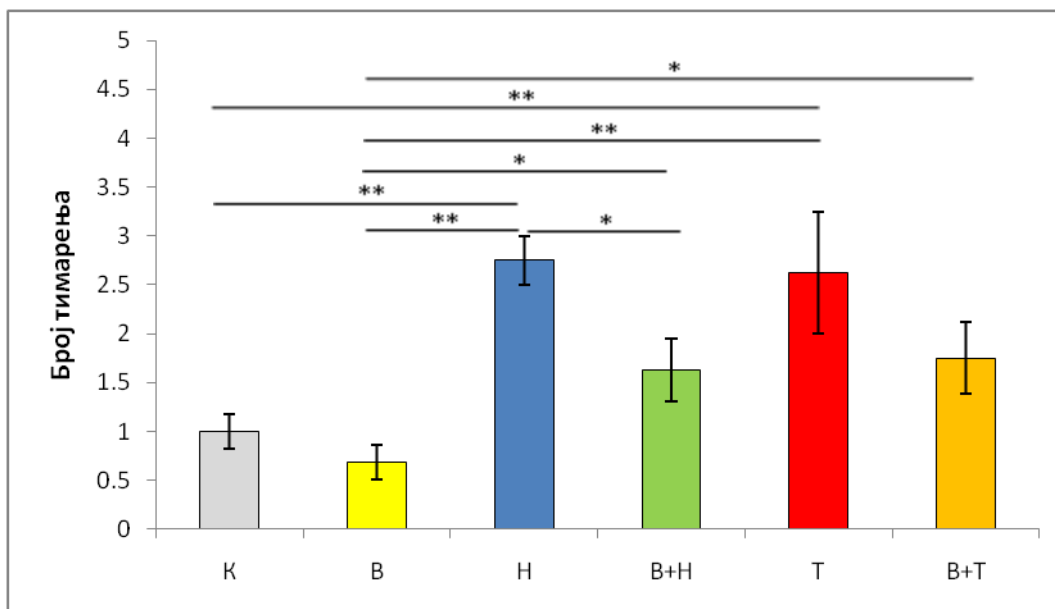
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓	↓↓↓	↑↑↑
	0.022	0.152	0.271

**Табела 4.21. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број епизода укупне експлоративне активности у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**

#### **4.2.2.8. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број тимарења (БТ)**

Као што је приказано на Слици 4.21., спроведени појединачни и комбиновани протоколи су доводили до значајних промена броја тимарења у тесту уздигнутог крстастог лавиринта ( $F=8.091$ ,  $df=5$ ). Хронична администрација супрафизиолошких доза анаболичких стероида је доводила до повећања БТ током извођења овог теста (преко 100%,  $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом, као и са групом где је примењиван само тренажни процес. Самостално спроведен тренажни процес није узроковао статистички значајну промену у односу на контролну групу. Животиње које су симултано учествовале у протоколу пливања и примене НД-а су показивале статистички значајно смањење ( $p<0.05$ ) овог параметра у односу на седентарне животиње третиране НД-ом, иако су вредности и даље показивале статистички значајно повећање ( $p<0.05$ ) у односу на групу која је била изложена шестонедељном тренажном процесу.

У Табели 4.22. су представљене величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на број тимарења тесту уздигнутог крстастог лавиринта. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз смањење БТ. Супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај на овај параметар у УКЛ тесту. Највећа величина ефекта уочена је код животиња које су током шест недеља биле третиране НД-ом ( $\eta^2=0.115$ ). Ефекат нандролон-деканоата и тестостерон-енантата се манифестовао као повећање БТ. Величина утицаја шестонедељне програмиране физичке активности је била нешто слабијег интензитета ( $\eta^2=0.087$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.21. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број тимарења у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -деканат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑↑↑ 0.115	↑↑↑ 0.114	↓↓ 0.087

**Табела 4.22. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број тимарења у тесту уздигнутог крстастог лавиринта.**

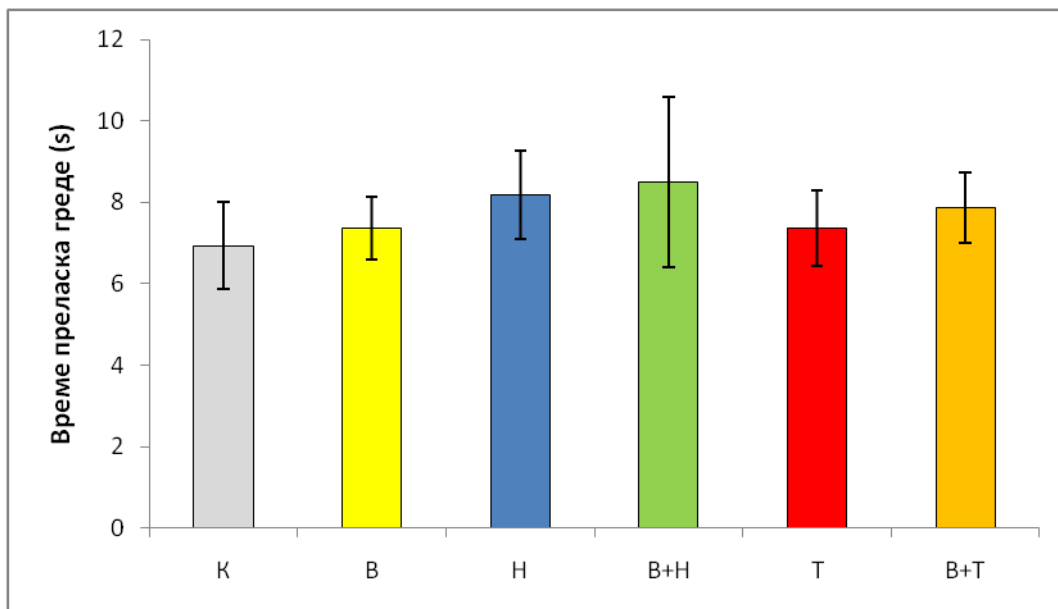


## 4.2.2. Тестови ходања по греди

### 4.2.2.1 Класични тест ходања по греди (ХГ тест)

#### 4.2.2.1.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на време преласка гредe (ВП)

На Слици 4.22. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на време преласка гредe у тесту ходања по греди. Наведени протоколи нису доводили до значајних промена овог параметра ( $F=0.253$ ,  $df=5$ ).



**Слика 4.22. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на време преласка гредe (s) у тесту ходања по греди.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ .

У Табели 4.23. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола. Ниједан од наведених фактора није значајно утицао на вредност време преласка греде у тесту ходања по греди. Величина утицаја свих фактора није била од значаја ( $\eta^2 < 0.001$ ). Интеракција између појединачних фактора, такође, није била значајна.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	<0.001	<0.001	<0.001

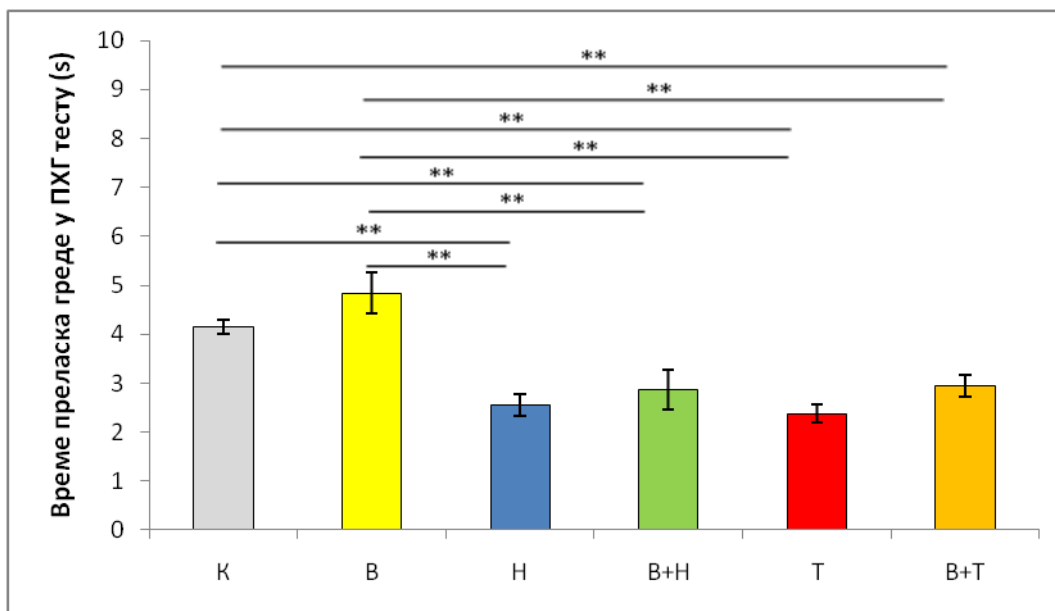
**Табела 4.23. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време преласка греде у тесту ходања по греди.**

### 4.2.3. Тест провоцираног ходања по греди (ПХГ тест)

#### 4.2.3.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на време преласка гредe (ВП)

На Слици 4.23. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на укупно време преласка гредe у тесту провоцираног ходања по греди. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=10.962$ ,  $df=5$ ). Пролонгирана примена супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је узроковала да су животиње које су биле изложене том третману за значајно краће време прелазиле греду, како у односу на животиње из контролне групе (приближно 30%,  $p<0.01$ ), тако и у поређењу са вредностима које су постигнуте у групи где је примењиван самостални протокол физичке активности (приближно 45%,  $p<0.01$ ). Сам протокол пролонгираног програмираног вежбања није доводио до значајних промена у поређењу са контролним условима. Ефекат симултане примене протокола пливања и администрације анаболичких стероида је показао да пролонгирана физичка активност није била довољна да се анулира ефекат ААС-а, па су вредности овог параметра остале непромењене у односу на седентарне групе третиране ААС-а и статистички значајно мање у односу на контролну и групу са самосталним протоколом вежбања ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.24. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на вредност ВП гредe у тесту провоцираног ходања по греди. Ефекат анаболичких стероида, који се испољавао кроз смањење овог параметра, је био изразито велики, док се ефекат пролонгиране физичке активности манифестовао кроз продужавање времена потребног за прелазак гредe. Највећи утицај на промену вредности овог параметра је имала пролонгирана употреба тестостерон-енантата ( $\eta^2=0.164$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



Слика 4.23. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на време преласка греде (s) у тесту провоцираног ходања по греди. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

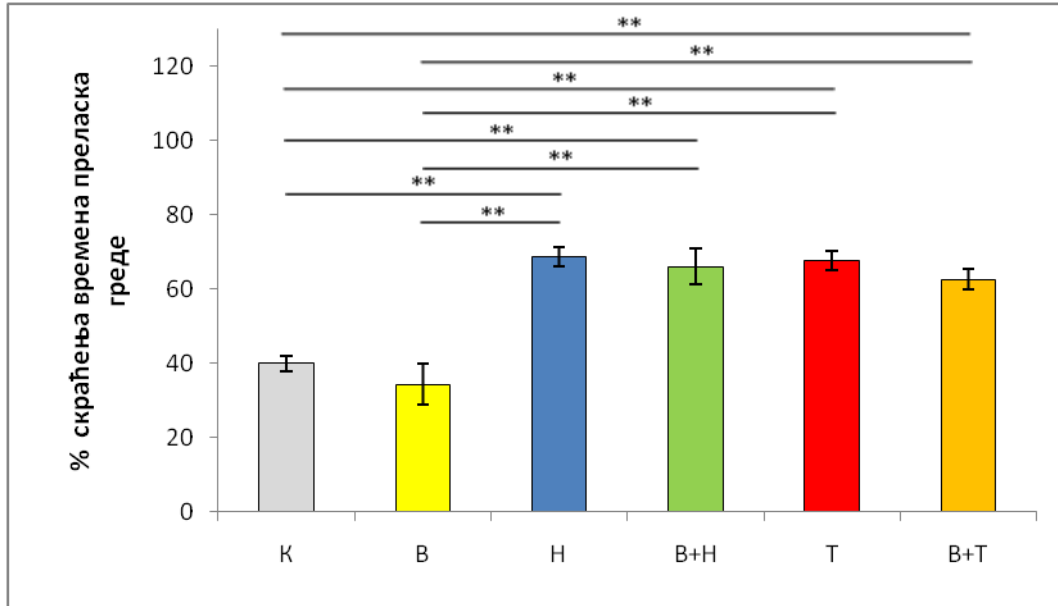
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓↓ 0.143	↓↓↓ 0.164	↑ 0.033

Табела 4.24. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време преласка греде у тесту провоцираног ходања по греди.

#### **4.2.3.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на % скраћења времена преласка греде (% СВП)**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на % скраћења времена преласка греде у тесту провоцираног ходања по греди су представљени на Слици 4.24. Описани протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=14.808$ ,  $df=5$ ). Супрафизиолошке дозе НД-а и ТЕ-а, примењене самостално, као и у комбинацији са шестонедељним пливањем, узроковале су статистички значајно повећање ( $p<0.01$ ) % скраћења времена преласка греде у односу на контролне вредности, као и у поређењу са групом која је током истраживања била изложена физичком тренингу. Протокол хроничног вежбања није доводио до значајних промена вредности овог параметра, било да је спровођен самостално, или у симултано са администрацијом ААС-а.

У Табели 4.25. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на вредност % скраћења времена преласка греде у тесту провоцираног ходања по греди. Примењени анаболички стероиди су свој ефекат испољавали као повећање % СВП греде, док је програмирани тренажни процес показивао супротан ефекат. Највећи утицај на промену вредности овог параметра су остварили анаболички стероиди, и то нандролон-деканат ( $\eta^2=0.212$ ) и тестостерон-енантат ( $\eta^2=0.157$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



Слика 4.24. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на % скраћења времена преласка греде у тесту провоцираног ходања по греди. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑↑↑ 0.212	↑↑↑ 0.157	↓ 0.012

Табела 4.25. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на % скраћења времена преласка греде у тесту провоцираног ходања по греди.

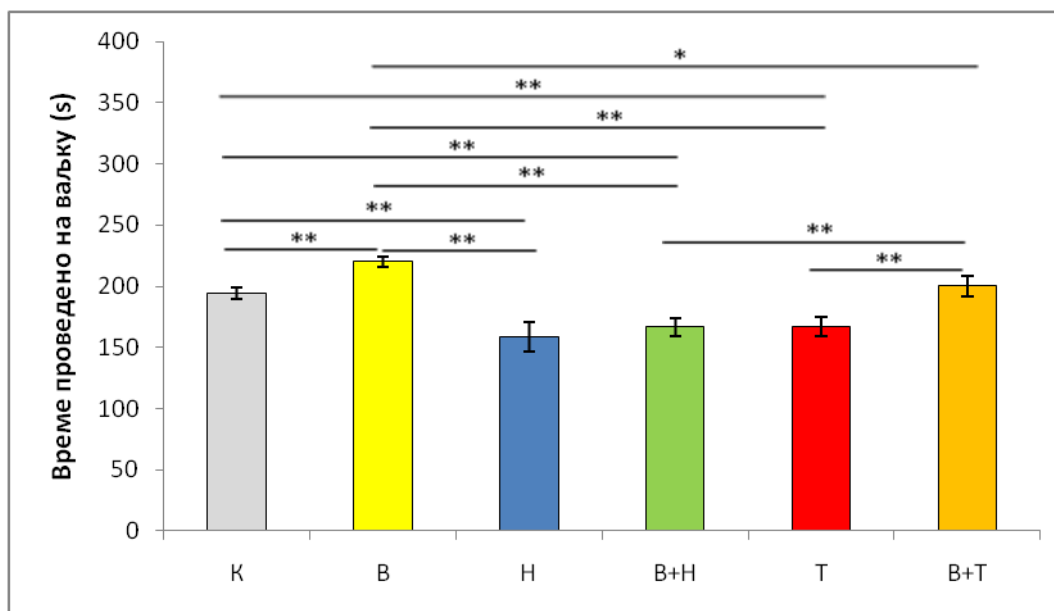
#### 4.2.4. Ротарод тест (РР тест)

##### 4.2.4.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на време проведено на ваљку (ВПВ)

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на време проведено на ваљку у ротарод тесту су сумирани на Слици 4.25. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена ВПВ ( $F=12.786$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни протокол програмираног пливања (самостално) је манифестовао свој користан ефекат кроз статистички значајно продужавање ( $p<0.01$ ) времена проведеног на ротирајућем ваљку у односу на забележене вредности у контролним условима. Анаболички стероиди који су коршћени у овом истраживању су показали супротне ефекте у односу на програмирани тренажни процес. Утицај примене НД-а, као и ТЕ-а, се манифестовао кроз статистички значајно смањење ( $p<0.01$ ) овог параметра у односу на контролну групу, као и у поређењу са животињама које су учествовале у протоколу пливања. Истовремена примена ТЕ-а и дуготрајног пливања је узроковала статистички значајно повећање ВПВ у односу на седентарну тестостеронску и групу са симултаном администрацијом НД-а ( $p<0.01$ ), али су вредности овог параметра у наведеној групи остале значајно мање у поређењу са групом која је током шест недеља имала тренинге пливања ( $p<0.05$ ). Комбинована група (В+Т) је показала статистички значајно повећање ( $p<0.01$ ) у односу на седентарну групу тестирану истим анаболичким стероидом. Ефекат хроничног тренажног протокола се у групи са симултаном администрацијом НД-а се није значајно разликовао у поређењу са седентарном НД групом.

Као што је приказано у Табели 4.26., сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су значајно утицали на време проведено на ваљку у ротарод тесту. Утицај анаболичких стероида се манифестовао кроз скраћење времена проведеног на ваљку. Ефекат пролонгиране физичке активности је био супротан, и испољио се као повећање ВПВ. Убедљиво највећи утицај на промену времена проведеног на ваљку је имао шестонедељни третман ТЕ-ом ( $\eta^2=0.316$ ), док је ефекат примене НД-а

био знатно мањег интензитета ( $\eta^2=0.017$ ). Уочава се и значајан утицај пливања на промену ВПВ ( $\eta^2=0.122$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.25. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на време проведено на ваљку у ротарод тесту.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓↓↓ 0.316	↓ 0.017	↑↑↑ 0.122

**Табела 4.26. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време проведено на ваљку у ротарод тесту.**

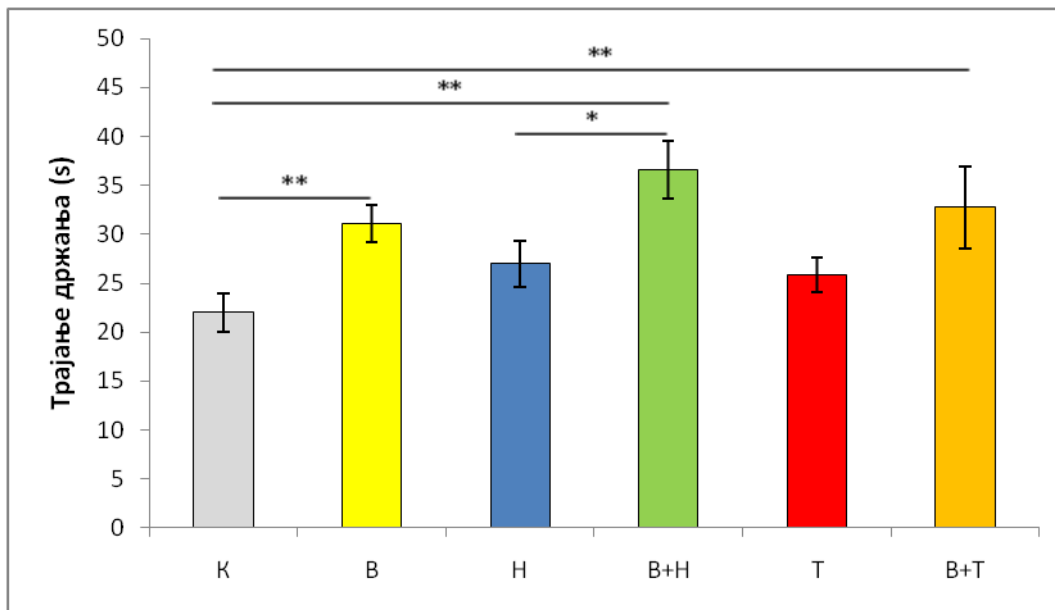


#### 4.2.5. Тест држања за жицу

##### 4.2.5.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на трајање теста држања за жицу

На Слици 4.26. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на трајање теста држања за жицу. Примењени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=4.716$ ,  $df=5$ ). Користан ефекат вежбања, у групи у којој су животиње имале само протокол пливања, је показан кроз статистички значајно повећање ( $p<0.01$ ) овог параметра у односу на контролне вредности. Иако примена ААС-а код седентарних животиња није значајно мењала вредност овог параметра, симултана примена анаболика са програмираним тренажним процесом је допринела да су животиње у комбинованим групама (В+Н и В+Т) статистички значајно више времена ( $p<0.01$ ) проводиле држећи се за жицу у поређењу са контролним вредностима. Симултана администрација НД-а и протокола вежбања је показала повећање вредности овог параметра у односу на одговарајућу седентарну групу ( $p<0.05$ ).

Збирни приказ свих фактора чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност броја епизода укупне експлоративне активности у тесту држања за жицу је представљен у Табели 4.27. У случају овог теста ефекти пролонгиране програмиране физичке активности и анаболичких стероида су били истоветни. Наиме, оба примењена протокола су за ефекат имала продужење трајања држања за жицу. Највећи утицај на промену дужине трајања држања за жицу је имао шестонедељни програмирани тренажни процес ( $\eta^2=0.181$ ). Што се тиче утицаја анаболичких стероида, утицај НД-а је био интензивнији ( $\eta^2=0.056$ ) у односу на ефекат ТЕ-а који је био мањег интензитета. Интеракција између појединачних фактора није била значајна иако су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали исте ефекте.



**Слика 4.26. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на трајање теста држања за жицу (s).** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑↑ 0.056	↑ 0.003	↑↑↑ 0.181

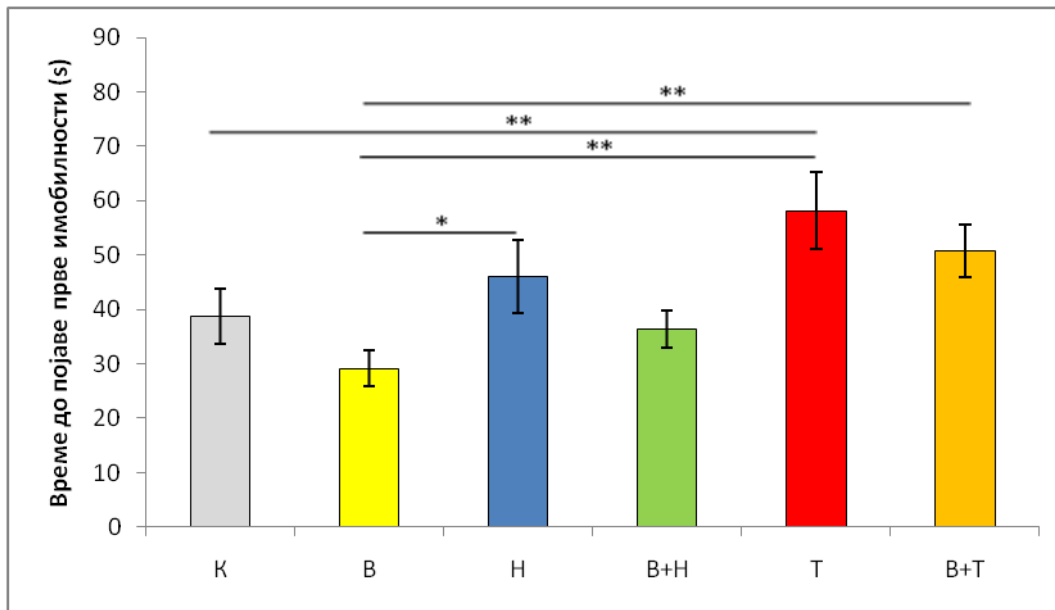
**Табела 4.27. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на трајање теста држања за жицу.**

#### 4.2.6. Тест качења за реп (ТКР)

##### 4.2.6.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на време до појаве прве имобилности (ВПИ)

На Слици 4.27. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на време до појаве прве имобилности у тесту качења за реп. Сви поменути протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=4.200$ ,  $df=5$ ). Пролонгирана употреба супрафизиолошких доза НД-а је узроковала статистички значајно повећање овог параметра у односу на животиње које су припадале групи где је самостално спровођен тренажни процес (приближно 50%,  $p<0.05$ ). Примена ТЕ-а код седентарних животиња је довела до статистички значајног продужавања времена до појаве прве имобилности ( $p<0.01$ ), како у поређењу са контролним вредностима, тако и у односу на вредности забележене у групи која је само имала тренажни процес. Комбинована група са ТЕ-ом (В+Т) је показала статистички значајно повећање ВПИ у односу на вредности остварене у групи где је самостално спровођен протокол пливања ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.28. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на време до појаве прве имобилности у тесту качења за реп. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање овог параметра, док је ефекат пролонгиране физичке активности био супротан. Највећи утицај на промену вредности овог параметра је имала пролонгирана употреба ТЕ-а ( $\eta^2=0.191$ ), док величина утицаја НД-а није била од значаја. Величина утицаја примењеног протокола вежбања је била мањег интензитета у односу на ТЕ ( $\eta^2=0.049$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



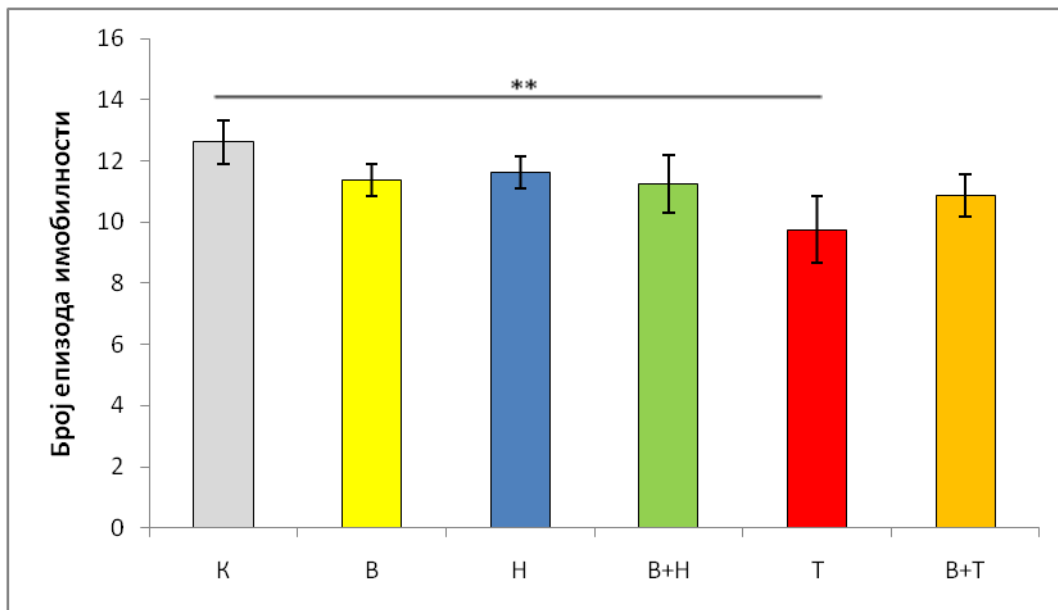
**Слика 4.27. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на време до појаве прве имобилности (s) у тесту качења за реп. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	<0.001	↑↑↑ 0.191	↓↓ 0.049

**Табела 4.28. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време до појаве прве имобилности у тесту качења за реп.**

#### 4.2.6.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број епизода имобилности (БЕИ)

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на број епизода имобилности у тесту качења за реп су представљени на Слици 4.28. Једино је протокол са ТЕ-ом довео до значајних промена овог параметра ( $F=1.620$ ,  $df=5$ ). Пролонгирана употреба супрафизиолошких доза ТЕ-а је изазвала статистички значајно смањење овог параметра у односу на животиње у контролној групи ( $p<0.01$ ).



Слика 4.28. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број епизода имобилности у тесту качења за реп. К – контрола ( $n=16$ ), В – вежбање ( $n=16$ ), Н – нандролон-деканоат ( $n=8$ ), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат ( $n=8$ ), Т – тестостерон-енантат ( $n=8$ ), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат ( $n=8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\*  $p<0.01$ .

У Табели 4.29. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на број епизода имобилности у тесту качења за реп. Ефекат анаболичких стероида и програмираног тренажног процеса је био истоветан, и испољавао се кроз смањење овог параметра. Највећи утицај на промену вредности овог параметра је имала пролонгирана употреба ТЕ-а ( $\eta^2=0.071$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна иако су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали исте ефекте.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	<0.001	↓↓ 0.071	↓ 0.003

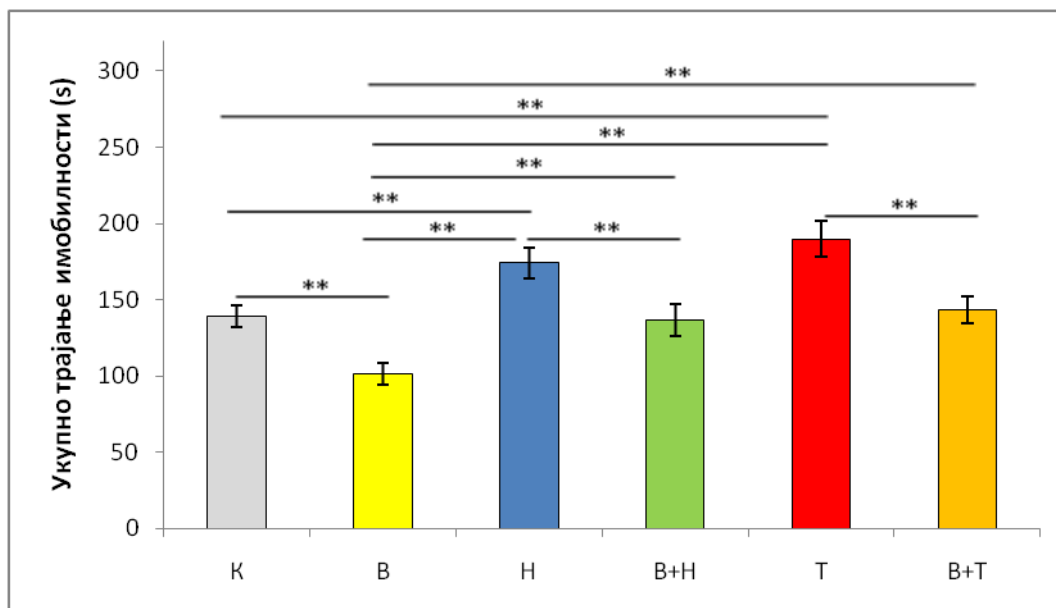
**Табела 4.29. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број епизода имобилности у тесту качења за реп.**

#### **4.2.6.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупно трајање имобилности (УТИ)**

На Слици 4.29. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на укупно трајање имобилности у тесту качења за реп. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=12.686$ ,  $df=5$ ). Дуготрајни програмирани тренажни процес (примењен самостално) је статистички значајно скратио трајање имобилности у поређењу са вредностима у контролној групи ( $p<0.01$ ). Примењене супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, код седентарних животиња, су узроковале статистички значајно продужавање времена имобилности у односу, како на контролну, тако и на групу где је примењиван само тренажни протокол ( $p<0.01$ ). Симултана примена оба протокола је узроковала да су животиње у комбинованим групама статистички значајно мање времена проводиле у имобилном стању у односу на одговарајуће седентарне животиње ( $p<0.01$ ). Истовремено, животиње у комбинованим групама су статистички значајно више времена биле имобилне током тестирања у односу на групу која је имала третман програмираног тренажног процеса ( $p<0.01$ ). Вредности овог параметра у комбинованим групама се нису статистички значајно разликовале у односу на контролне вредности.

У Табели 4.30. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на вредност укупног трајања имобилности у тесту качења за реп. Користан ефекат тренажног процеса се манифестовао кроз смањење трајања имобилности, док је примена анаболичких стероида узроковала супротне ефекте. Најинтензивнији утицај на промену вредности укупног трајања имобилности је имала дуготрајна физичка активност ( $\eta^2=0.232$ ), док је величина утицаја примењеног ТЕ-а била, такође, веома значајна ( $\eta^2=0.187$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали

величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.29. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енанат) на укупно трајање имобилности (s) у тесту качења за реп. К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -деканат (n=8), Т – тестостерон-енанат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енанат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑↑ 0.061	↑↑↑ 0.187	↓↓↓ 0.232

**Табела 4.30. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупно трајање имобилности у тесту качења за реп.**

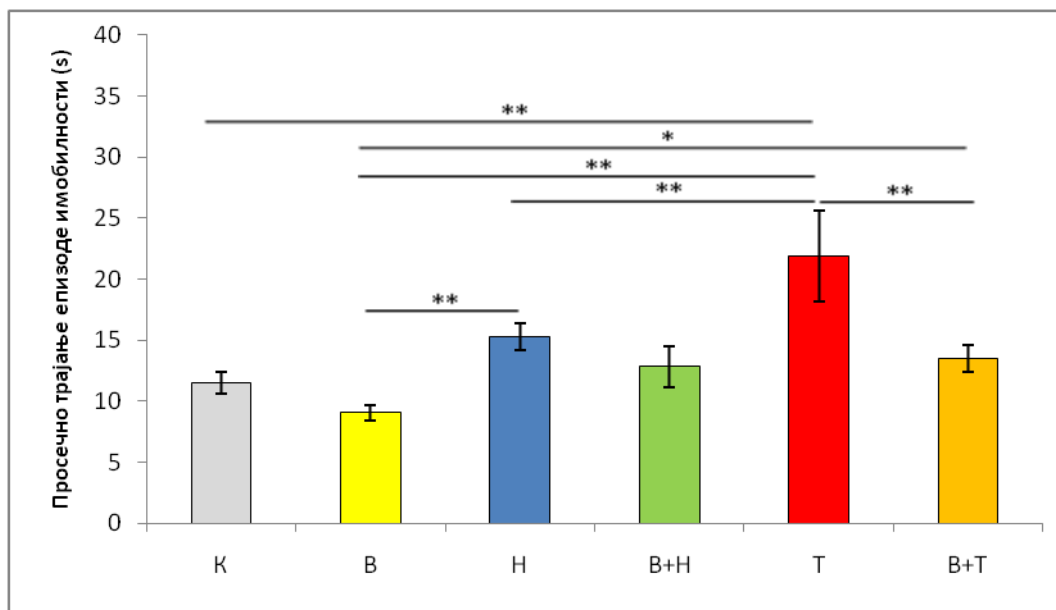


#### **4.2.6.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на просечно трајање епизоде имобилности (ПТЕИ)**

На Слици 4.30. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на в просечно трајање епизоде имобилности у тесту качења за реп. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=8.264$ ,  $df=5$ ). Дуготрајна употреба супрафизиолошких доза анаболичких стероида је узроковала статистички значајно повећање овог параметра у односу на животиње које су припадале групи где је самостално спровођен тренажни процес ( $p<0.01$ ), док су седентарне животиње третиране ТЕ-ом показивале статистички значајно повећање овог параметра и у поређењу са вредностима у контролним условима ( $p<0.01$ ). Животиње у групи са симултаном администрацијом ТЕ-а и пливањем су показале статистички значајно скраћење ПТЕИ ( $p<0.01$ ) у поређењу са седентарним животињама третираним истим анаболичким стероидом. Истовремено, комбинована В+Т група је показала статистички значајно повећање ПТЕИ у односу на групу са самосталним протоколом вежбања ( $p<0.05$ ). Уочава се и статистички значајна разлика између седентарних животиња третираних различитим анаболичким стероидима, при чему су просечне епизоде имобилности у групи која је примала ТЕ биле значајно дуже у поређењу са Н групом ( $p<0.01$ ).

Табела 4.31. представља сумарни приказ свих фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на просечно трајање епизоде имобилности у тесту качења за реп. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз продужавање просечног трајања епизоде имобилности, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз скраћивање овог параметра. Највећи утицај на промену вредности овог параметра је имала пролонгирана употреба ТЕ-а ( $\eta^2=0.232$ ), док величина утицаја НД-а није била од значаја. Величина утицаја примењеног протокола вежбања је била нешто мањег интензитета у односу на ТЕ ( $\eta^2=0.129$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне

ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.30. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканеоат, тестостерон-енантат) на просечно трајање епизоде имобилности (s) у тесту качења за реп.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканеоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканеоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

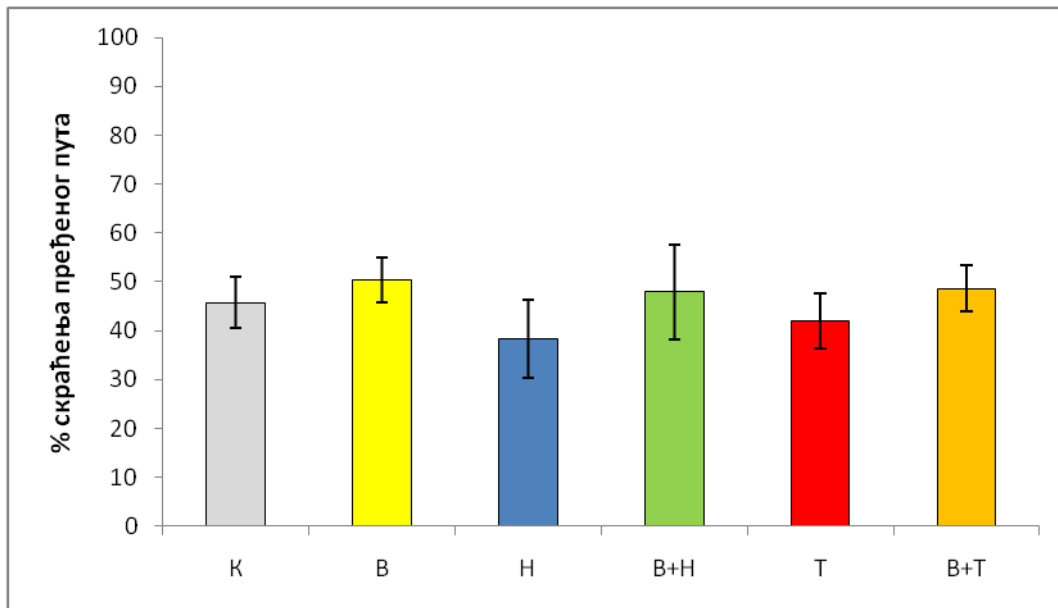
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑ 0.010	↑↑↑ 0.232	↓↓↓ 0.129

**Табела 4.31. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на просечно трајање епизоде имобилности у тесту качења за реп.**

#### 4.2.7. Барнсов тест (БТ)

##### 4.2.7.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на % скраћења пређеног пута у Барнсовом тесту (% СШ)

На Слици 4.31. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на проценат скраћења пређеног пута у Барнсовом тесту. Наведени протоколи нису доводили до значајних промена овог параметра ( $F=0.494$ ,  $df=5$ ).



**Слика 4.31. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на % скраћења пређеног пута у Барнсовом тесту** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ .

У Табели 4.32. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на % скраћења пређеног

пута у Барнсовом тесту. Једини фактор који је показивао значајну величину утицаја на проценат скраћења пређеног пута је био програмирани хронични тренажни процес ( $\eta^2=0.025$ ). Величина утицаја ААС-а је била знатно мањег интензитета у односу физичку активност. Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.

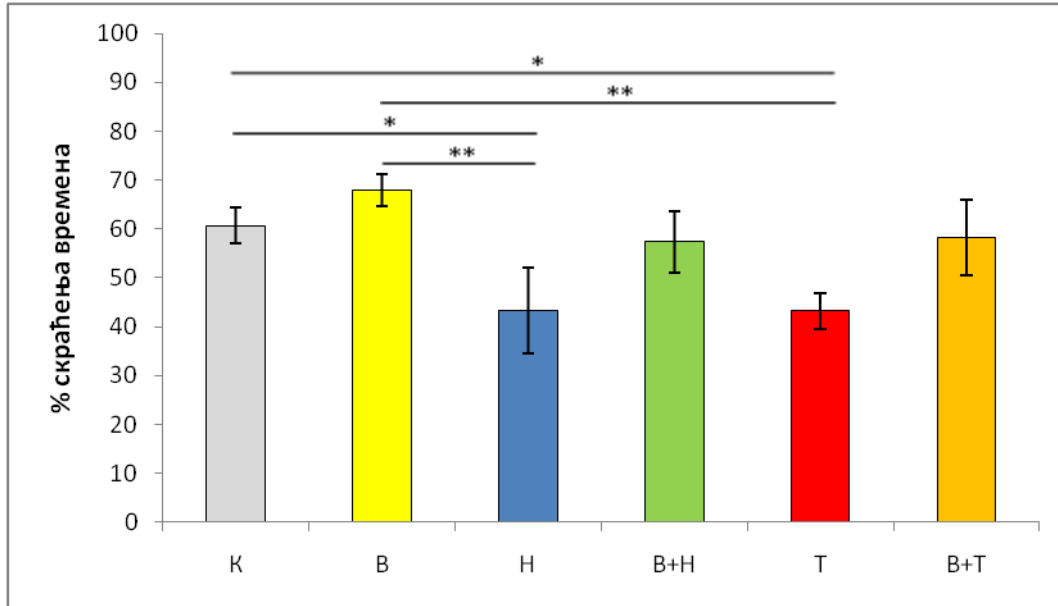
Појединачни фактори	Надролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑ 0.008	↑ 0.001	↓ 0.025

**Табела 4.32. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на % скраћења пређеног пута у Барнсовом тесту.**

#### **4.2.7.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на % скраћења времена у Барнсовом тесту (% СВ)**

На Слици 4.32. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на проценат скраћења времена у Барнсовом тесту. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=3.605$ ,  $df=5$ ). Примењене супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, код седентарних животиња, су узроковале статистички значајно мањи % скраћења времена у односу, како на контролну ( $p<0.05$ ), тако и на групу где је самостално спровођен хронични тренажни протокол ( $p<0.01$ ). Иако дуготрајни програмирани тренажни процес (примењен самостално) није статистички значајно повећао % скраћења времена у поређењу са вредностима у контролној групи, симултана примена оба протокола је узроковала да животиње у комбинованим групама повећају % скраћења времена, тако да се вредност овог параметра у обе комбиноване групе није статистички значајно разликовала у односу на контролне вредности.

У Табели 4.33. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на проценат скраћења времена у Барнсовом тесту. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз мањи проценат скраћења времена у Барнсовом тесту. Највећи утицај на промену вредности овог параметра, у форми повећања процента скраћења времена, је имао хронични програм физичке активности ( $\eta^2=0.096$ ). Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



**Слика 4.32. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на % скраћења времена у Барнсовом тесту** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↑↑	↑↑	↓↓↓
	0.054	0.049	0.096

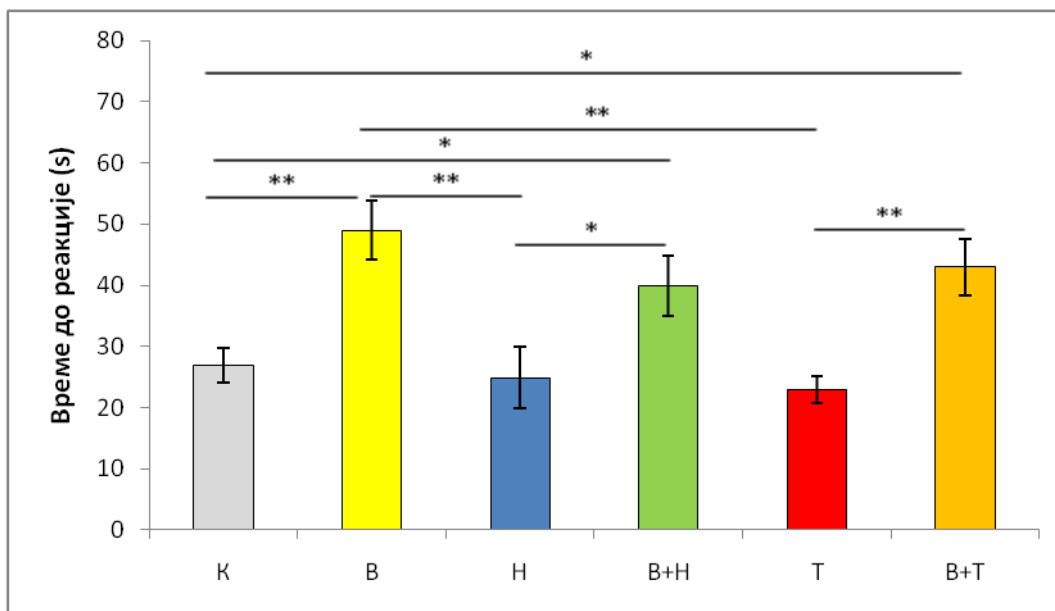
**Табела 4.33. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на % скраћења времена у Барнсовом тесту.**

#### 4.2.8. Тест вруће плоче (ВП тест)

##### 4.2.8.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на време до реакције у ВП тесту (ВР)

На Слици 4.33. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на време до реакције у тесту вруће плоче. Сви примењени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=6.804$ ,  $df=5$ ). Дуготрајни програмирани тренажни процес (самостално) је узроковао статистички значајно продужење времена до реакције у поређењу са контролним условима (приближно 100%,  $p<0.01$ ). Самостална примена анаболичких стероида је доводила до статистички значајног скраћења времена које је било потребно да животиње одреагују на примењени термални стимулус ( $p<0.01$ ) у односу на животиње које су припадале групи која је била у протоколу програмиране физички активности. Хипоалгезијски ефекат пливања се уочава и у комбинованим групама. Наиме, вежбање је допринело да се ублаже хипералгезијски ефекти анаболичких стероида, па се тако уочава статистички значајно продужење ВР у односу на седентарне групе третиране истим анаболичким стероидима ( $p<0.05$  за В+Н и  $p<0.01$  за В+Т). Такође, животињама из комбиноване групе са ТЕ-ом је било потребно статистички значајно више времена ( $p<0.05$ ) да одреагују на стимулус у односу на контролне животиње.

Сумарни приказ свих фактора чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола који су значајно утицали на време до реакције у тесту вруће плоче је у Табели 4.34. Програмирана физичка активност је свој ефекат испољавала кроз продужавање времена до реакције, док је ефекат анаболичких стероида био супротан. Најинтензивнији утицај на промену ВР у овом тесту је имао шестонедељни протокол пливања ( $\eta^2=0.266$ ). Знатно слабији утицај је забележен услед дејства анаболичких стероида. Интеракција између појединачних фактора није била значајна јер су симултано примењивани протоколи (анаболички стероид и физичка активност) имали супротне ефекте, који су анулирали величину ефеката појединачних фактора, при чему различити стероиди нису примењивани на истим животињама.



Слика 4.33. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на време до реакције у тесту вруће плоче (s). К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	↓	↓	↑↑↑
	0.015	0.010	0.266

Табела 4.34. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време до реакције у тесту вруће плоче.



#### 4.2.9. Анализа утицаја експерименталних протокола на специфичне бихевиоралне модалитете

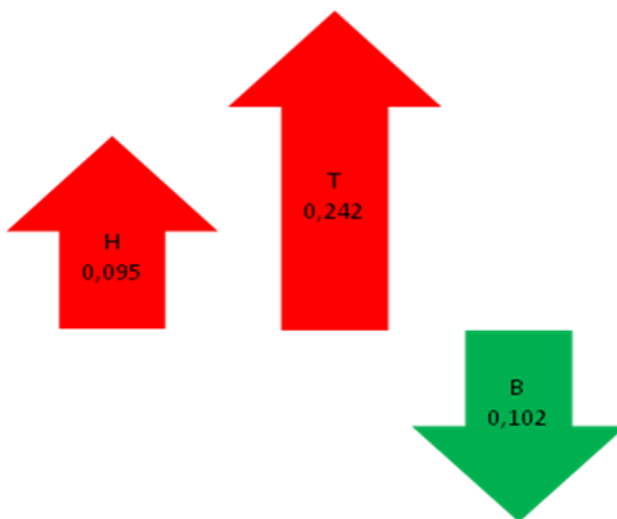
##### 4.2.9.1. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности

Анализа утицаја пет различитих фактора представљених кроз вредности параметара за непосредну процену степена анксиозности, добијених у одговарајућим тестовима (ОП, УКЛ и ПХГ тест), је представљена у Табели 4.35.

Као што је приказано на Слици 4.34., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности показује да је најјачи (негативан) ефекат остварен под утицајем хроничне примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.242$ ).

Параметар	H ( $\eta^2$ )	T ( $\eta^2$ )	B ( $\eta^2$ )
Укупно време проведено у ЦЗ у тесту ОП	0.071	0.220	0.254
Број улазака у ЦЗ у тесту ОП	0.026	0.197	0.020
Укупно време проведено у ОК у тесту УКЛ	0.060	0.348	0.209
Број улазака у ОК у тесту УКЛ	0.105	0.287	0.015
% скраћења времена у ПХГ тесту	0.212	0.157	0.012

Табела 4.35. Величина утицаја различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности.



Слика 4.34. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности.

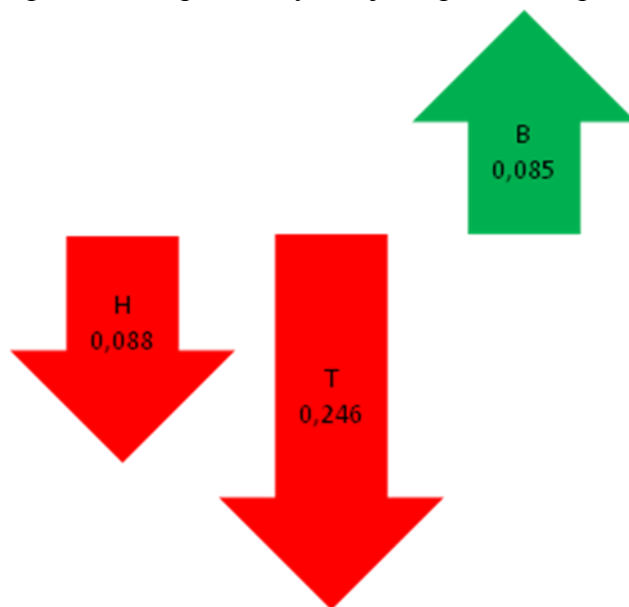
#### 4.2.9.2. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену локомоторне активности

У Табели 4.36. је представљена анализа утицаја шест различитих фактора представљених кроз вредности параметара за процену локомоторне активности, добијених у одговарајућим тестовима (ОП и УКЛ тест).

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )
Укупни пређени пут у тесту ОП	0.156	0.229	0.106
Средња брзина кретања у тесту ОП	0.168	0.197	0.098
% времена кретања у тесту ОП	0.135	0.149	0.128
Укупни пређени пут у тесту УКЛ	0.026	0.371	0.090
Средња брзина кретања у тесту УКЛ	0.026	0.257	0.038
% времена кретања у тесту УКЛ	0.014	0.273	0.049

**Табела 4.36. Величина утицаја различитих фактора на параметре локомоторне активности.**

Као што је приказано на Слици 4.35., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену локомоторне активности показује да је најјачи (негативан) ефекат остварен под утицајем хроничне примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.246$ ).



**Слика 4.35. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену локомоторне активности.**

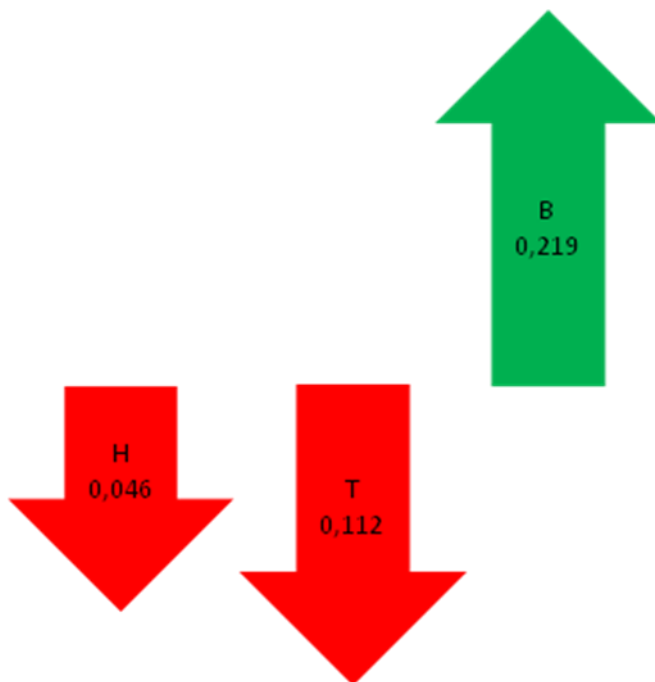
#### 4.2.9.3. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену експлоративне активности

Као што је представљено у Табели 4.37., четири параметра добијена у ОП и УКЛ тесту су коришћена за процену величине утицаја различитих фактора за процену експлоративне активности.

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )
Број усправљања у тесту ОП	0.126	0.087	0.213
Број усправљања у тесту УКЛ	0.030	0.102	0.167
Број нагињања у тесту УКЛ	0.006	0.106	0.226
Укупна експлоративна активност у тесту УКЛ	0.022	0.152	0.271

Табела 4.37. Величина утицаја различитих фактора на параметре експлоративне активности.

На Слици 4.36. је приказана просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену експлоративне активности. Најјачи (позитиван) ефекат остварен под утицајем програмираног тренажног процеса ( $\eta^2=0.219$ ).



Слика 4.36. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену експлоративне активности.

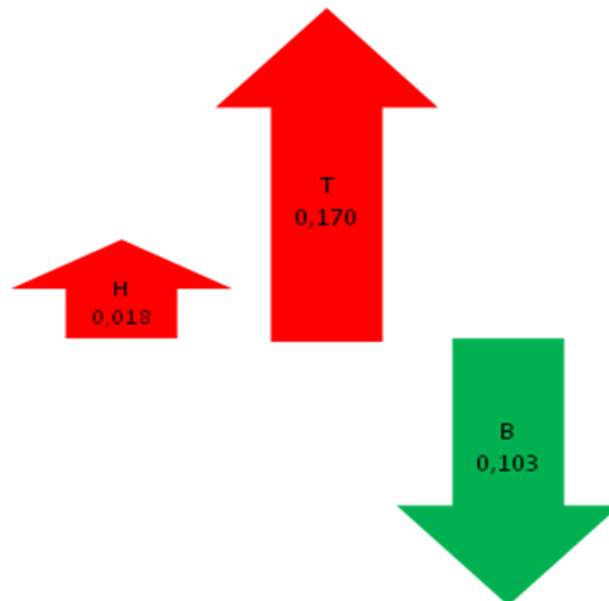
#### 4.2.9.4. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену степена депресивности

Анализа утицаја четири различита фактора представљених кроз вредности параметара за непосредну процену степена депресивности, добијених у ТКР тесту, је представљена у Табели 4.38.

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )
Време до појаве прве имобилности у ТКР	0	0.191	0.049
Број епизода имобилности у ТКР	0	0.071	0.002
Укупно трајање имобилности у ТКР	0.061	0.187	0.231
Просечно трајање епизоде имобилности у ТКР	0.010	0.232	0.128

**Табела 4.38. Величина утицаја различитих фактора на параметре за процену степена депресивности.**

Као што је приказано на Слици 4.37., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена депресивности показује да је најјачи (негативан) ефекат остварен под утицајем ТЕ-а ( $\eta^2=0.170$ ).



**Слика 4.37. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена депресивности.**

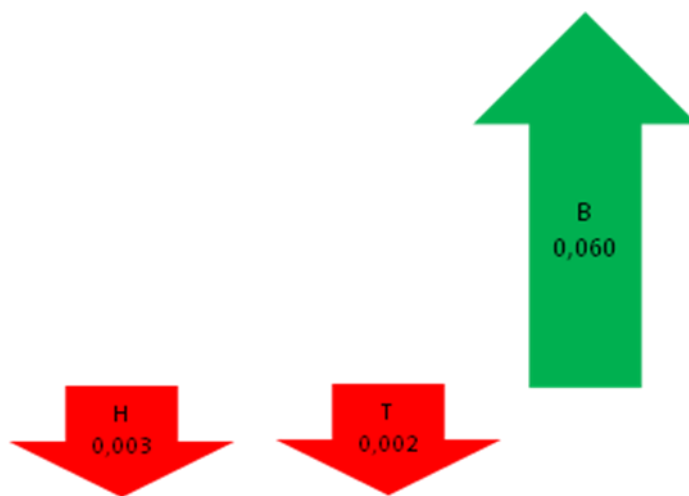
#### 4.2.9.5. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности

У Табели 4.39. су представљене вредности два параметра, добијених у Барнсовом тесту, за процену когнитивних способности.

Параметар	H ( $\eta^2$ )	T ( $\eta^2$ )	B ( $\eta^2$ )
% скраћења растојања у Барнсовом тесту	0.008	0.001	0.025
% скраћења времена у Барнсовом тесту	0.054	0.049	0.096

Табела 4.39. Величина утицаја различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности.

Као што је приказано на Слици 4.38., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности показује да је најјачи (позитиван) ефекат остварен под утицајем програмиране физичке активности ( $\eta^2=0.060$ ).



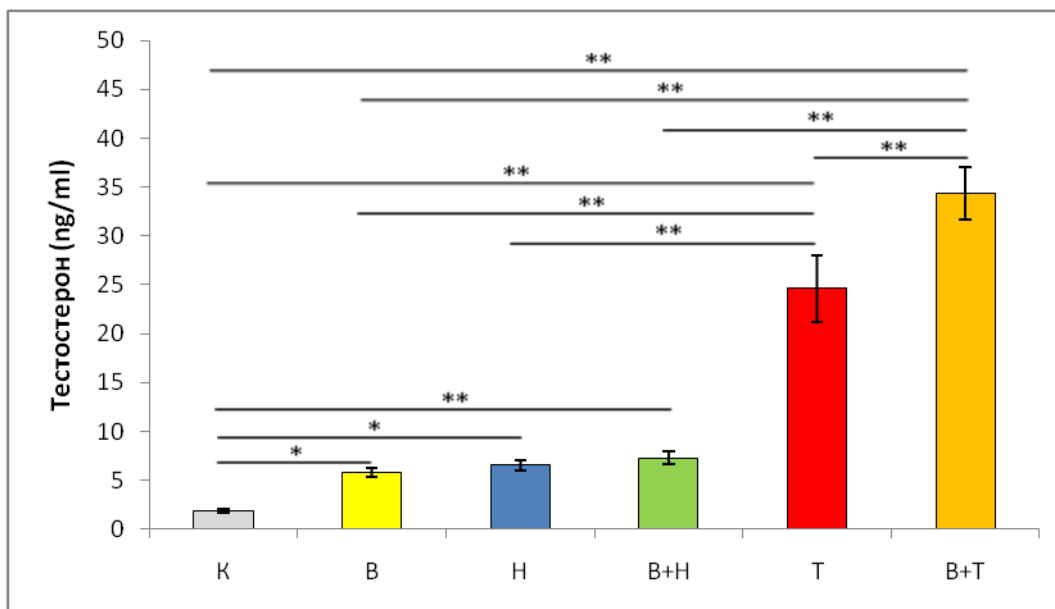
Слика 4.38. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности.

### 4.3. Промене хормонског статуса узроковане хроничним протоколима

#### 4.3.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације тестостерона

На Слици 4.39. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности серумске концентрације тестостерона. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена концентрације тестостерона у серуму ( $F=77.441$ ,  $df=5$ ). Оба примењена анаболичка стероида су испољила свој ефекат кроз статистички значајно повећање серумске концентрације тестостерона ( $p<0.01$ ), при чему је администрација НД-а повећавала ниво тестостерона 3-4 пута, док је примена ТЕ-а 10-15 пута повећала концентрацију тестостерона у серуму у поређењу са контролном групом. Концентрација тестостерона у серуму у тестостеронској групи је била готово 4 пута већа него у нандролонској групи ( $p<0.01$ ). Спроведени протокол програмираног тренажног процеса (у трајању од шест недеља) је, такође, доводио до статистички значајног повећања серумског нивоа тестостерона (300%) у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Утицај пролонгиране физичке активности на повећање нивоа тестостерона у серуму се уочавао и након симултане администрације анаболичких стероида у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ). Највеће вредности тестостерона у серуму су забележене у комбинованој тестостеронској групи (готово 20 пута веће вредности у односу на контролу), где је ниво тестостерона био за 40% већи у односу на сопствену седентарну групу ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.40. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност концентрације тестостерона у серуму. Сви примењени протоколи су показали исти ефекат, који се манифестовао кроз повећање вредности, на серумски ниво тестостерона. Највећи утицај на промену вредности концентрације тестостерона у серуму је имао шестонедељни третман ТЕ-ом ( $\eta^2=0.848$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је највећи ефекат остварен као резултат здруженог утицаја ТЕ-а и физичке активности.



**Слика 4.39.** Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације тестостерона (ng/ml). К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон -decanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
Појединачни фактори		↑↑ 0.042	↑↑↑ 0.848	↑↑↑ 0.141
Интеракције	Н-В	↑ 0.009		
	Т-В	↑↑↑ 0.098		

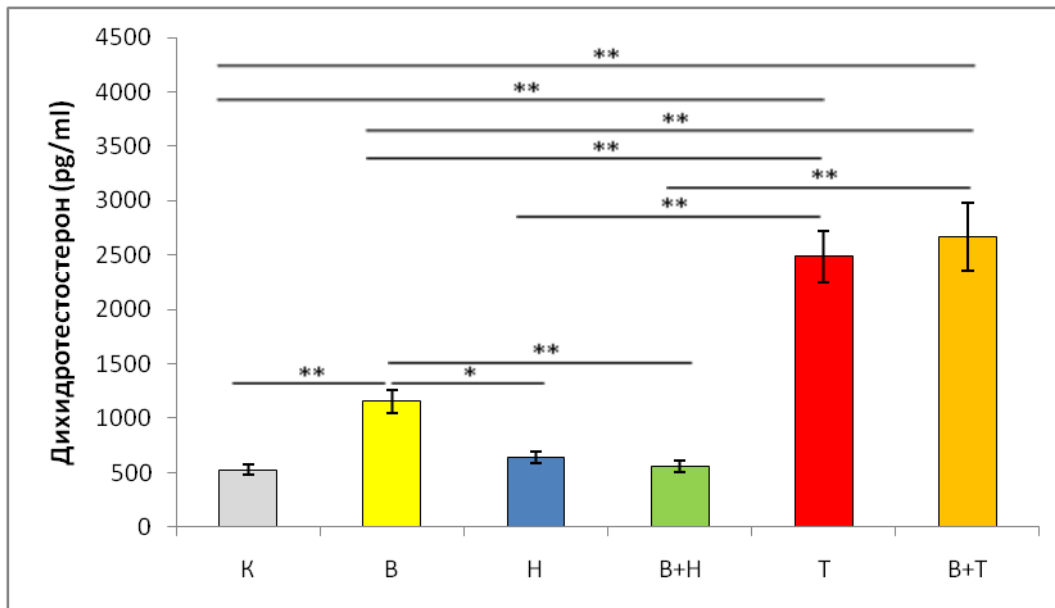
**Табела 4.40.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на серумске концентрације тестостерона.

#### **4.3.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енанат) на серумске концентрације дихидротестостерона (ДХТ)**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енаната на вредности серумске концентрације дихидротестостерона су представљени на Слици 4.40. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена концентрације тестостерона у серуму ( $F=41.831$ ,  $df=5$ ). За разлику од хроничне администрације НД-а која није имала значајног утицаја на серумски ниво ДХТ-а, пролонгирани третман ТЕ-ом је доводио до петоструког повећања концентрације ДХТ-а у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Концентрација ДХТ-а у серуму у тестостеронској групи је била 4 пута већа него у нандролонској групи ( $p<0.01$ ). Самостално спроведени програмирани тренажни процес је, такође, доводио до повећања (преко 100%) ДХТ у серуму, у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Међутим, стимулаторни ефекат физичке активности се није уочавао током симултане администрације ААС-а, у односу на одговарајуће седентарне групе, иако је комбинована тестостеронска група (попут седентарне тестостеронске групе) доводила до вишеструког повећања концентрације ДХТ-а у серуму у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.41. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност концентрације дихидротестостерона у серуму. Сви примењени протоколи су показали исти ефекат, који се манифестовао кроз повећање вредности, на серумски ниво дихидротестостерона. Највећи утицај на промену вредности концентрације тестостерона у серуму је имао шестонедељни третман ТЕ-ом ( $\eta^2=0.738$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему су оба анаболика остварила сличан здружени ефекат са физичком активношћу.





**Слика 4.40. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације дихидротестостерона (pg/ml).** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканоат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

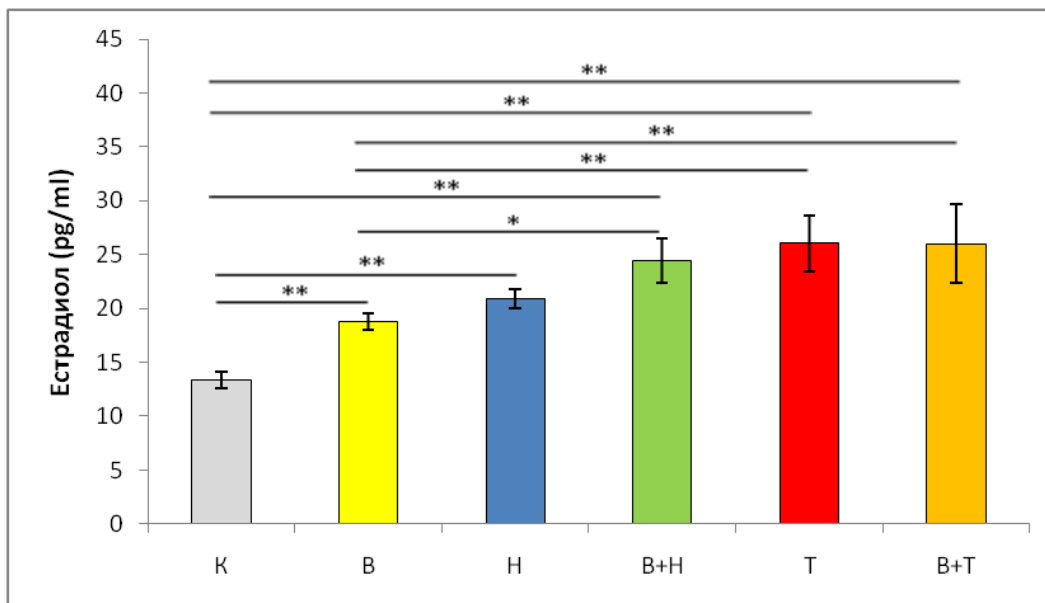
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.153	↑↑↑ 0.738	↑ 0.037
Интеракције	Н-В	↑ 0.021		
	Т-В	↑ 0.010		

**Табела 4.41. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на серумске концентрације дихидротестостерона.**

### **4.3.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације естрадиола**

На Слици 4.41. су приказани ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности серумске концентрације естрадиола. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена концентрације тестостерона у серуму ( $F=10.000$ ,  $df=5$ ). Оба примењена анаболика су након шестонедељне администрације доводила до значајног повећања серумске концентрације естрадиола (НД за 50%, ТЕ за 100 %) у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Самостално спроведени програмирани тренажни процес је, такође, доводио до повећања (приближно 40%) концентрације естрадиола у серуму, у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Међутим, утицај физичке активности на повећање серумског естрадиола се није уочавао током симултане администрације ААС-а, у односу на одговарајуће седентарне групе, иако су вредности естрадиола у комбинованим групама биле значајно веће (за 80-90%) у односу на контролну, као и на групу са самосталним програмом физичке активности ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.42. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност концентрације естрадиола у серуму. Сви примењени протоколи су показали исти ефекат, који се манифестовао кроз повећање вредности, на серумски ниво естрадиола. Највећи утицај на промену вредности концентрације тестостерона у серуму је имао шестонедељни третман ТЕ-ом ( $\eta^2=0.248$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је највећи ефекат остварен као резултат здруженог утицаја ТЕ-а и физичке активности.



**Слика 4.41. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на серумске концентрације естрадиола (pg/ml).** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
Појединачни фактори		↑↑ 0.044	↑↑↑ 0.248	↑↑ 0.041
Интеракције	Н-В	<0.001		
	Т-В	↑↑ 0.031		

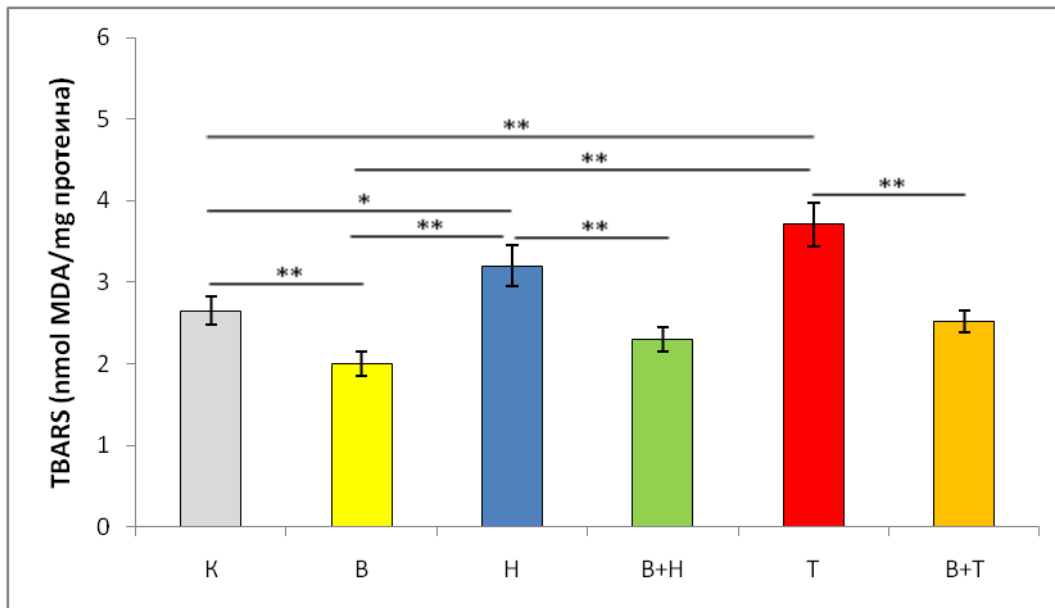
**Табела 4.42. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на серумске концентрације естрадиола.**

#### **4.4. Промене оксидативног статуса у хипокампусу узроковане хроничним протоколима**

##### **4.4.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на индекс липидне пероксидације (изражен као TBARS) у хипокампусу**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредности индекса липидне пероксидације (изражен као TBARS) у хипокампусу су представљени на Слици 4.42. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена индекса липидне пероксидације у хипокампусу ( $F=10.050$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни програмирани тренажни процес је узроковао статистички значајно смањење TBARS вредности у поређењу са контролним вредностима ( $p<0.01$ ). Оба примењена анаболичка стероида су испољавала свој ефекат кроз статистички значајно повећање индекса липидне пероксидације у хипокампусу у односу на контролну групу (за Н групу  $p<0.05$  и за Т групу  $p<0.01$ ), као и односу на групу где је примењиван само тренажни протокол ( $p<0.01$ ). Утицај пролонгиране физичке активности на смањење нивоа липидне пероксидације у хипокампусу се уочавао и након симултане администрације анаболичких стероида у поређењу са одговарајућим седентарним групама (приближно 30%,  $p<0.01$ ).

У Табели 4.43. су представљени сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на вредност индекса липидне пероксидације у хипокампусу. Програмирана физичка активност је свој ефекат испољавала кроз смањивање вредности TBARS, док је ефекат анаболичких стероида био супротан. Најинтензивнији утицај на промену TBARS-а у хипокампусу је имао шестонедељни протокол пливања ( $\eta^2=0.274$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени ефекат ТЕ са физичком активношћу био нешто јачи у односу на НД.



**Слика 4.42. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на индекс липидне пероксидације (TBARS, nmol MDA/mg протеина) у хипокампусу.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деcanoат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

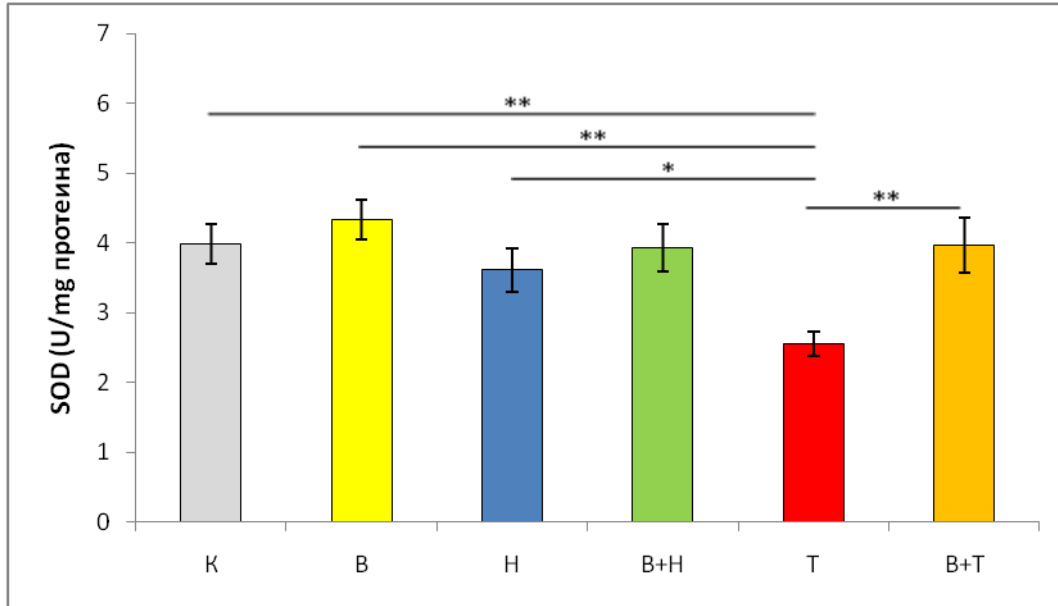
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑ 0.011	↑↑↑ 0.170	↓↓↓ 0.274
Интеракције	Н-В	0.001		
	Т-В	↓↓ 0.026		

**Табела 4.43. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на индекс липидне пероксидације (TBARS) у хипокампусу.**

#### **4.4.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енанат) на активност супероксид-дисмутазе (SOD) у хипокампусу**

На Слици 4.43 су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на активност супероксид-дисмутазе (SOD) у хипокампусу. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена активности SOD-е у ткиву мозга ( $F=3.315$ ,  $df=5$ ). Шестонедељна администрација супрафизиолошких доза ТЕ-а узроковала је статистички значајно смањење активности SOD-е у хипокампусу, како у поређењу са контролом ( $p<0.01$ ), тако и у односу на групу где је примењиван програмирани тренажни протокол ( $p<0.01$ ). Уочава се статистички значајна разлика у седентарним групама које су третиране анаболичким стероидима у смислу значајног смањења активности SOD-е у групи која је третирана ТЕ-ом у поређењу са НД-ом ( $p<0.05$ ). Иако ефекат самосталног тренинга није утицао на промену активности SOD-е у односу на контролу, у комбинацији са ТЕ-ом је утицао на статистички значајно повећање активности SOD-е у поређењу са седентарном тестостеронском групом ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.44. су приказани сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, и који су значајно утицали на активност SOD-е. Најинтензивнији утицај на промену SOD активности у хипокампусу је имао хронични протокол примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.098$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени ефекат ТЕ-а са физичком активношћу био нешто јачи у односу на НД.



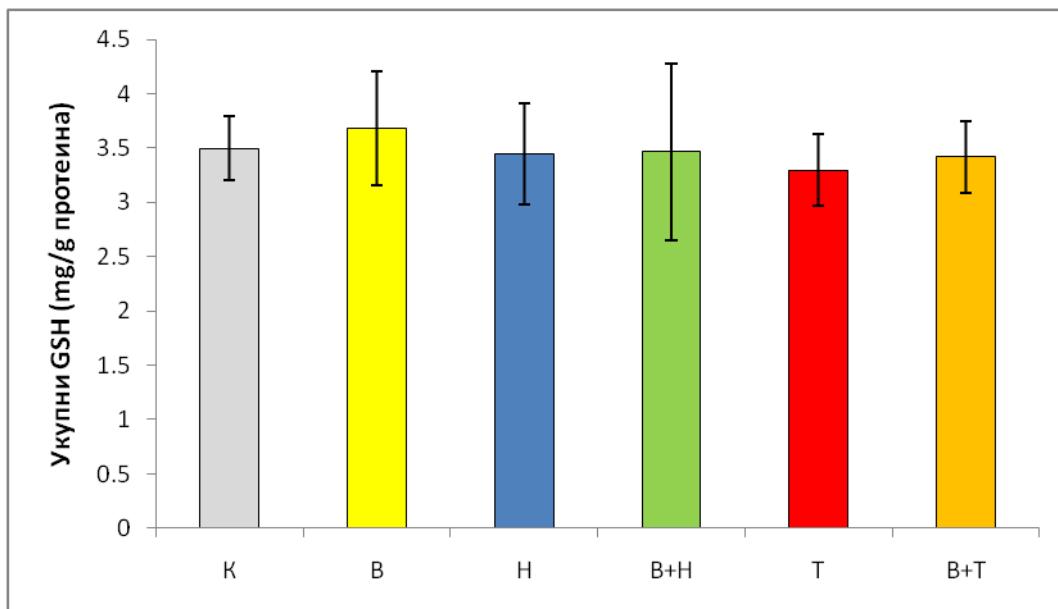
**Слика 4.43. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на активност супероксид-дисмугазе SOD (U/mg протеина) у хипокампусу.** К – контрола (n=16), В – вежбање (n=16), Н – нандролон-деканат (n=8), В+Н – вежбање и нандролон-деканат (n=8), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↓	↓↓↓	↑↑↑
		0.001	0.098	0.082
Интеракције	Н-В	0.006		
	Т-В	0.051		

**Табела 4.44. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на активност супероксид-дисмугазе (SOD) у хипокампусу.**

#### 4.4.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупни глутатион (GSH) у хипокампусу

На Слици 4.44. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на укупни глутатион у хипокампусу. Наведени протоколи нису доводили до значајних промена овог параметра ( $F=0.073$ ,  $df=5$ ).



Слика 4.44. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупни глутатион (GSH, mg/g протеина) у хипокампусу. К – контрола ( $n=16$ ), В – вежбање ( $n=16$ ), Н – нандролон-деканоат ( $n=8$ ), В+Н – вежбање и нандролон -деканоат ( $n=8$ ), Т – тестостерон-енантат ( $n=8$ ), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат ( $n=8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ .

У Табели 4.45. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола. Ниједан од наведених фактора није значајно утицао на концентрацију укупног глутатиона у хипокампусу. Величина утицаја свих фактора није била од значаја. Интеракција између појединачних фактора, такође, није била значајна.



Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
	0	0.003	0.001

**Табела 4.45. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни глутатион (GSH) у хипокампусу.**

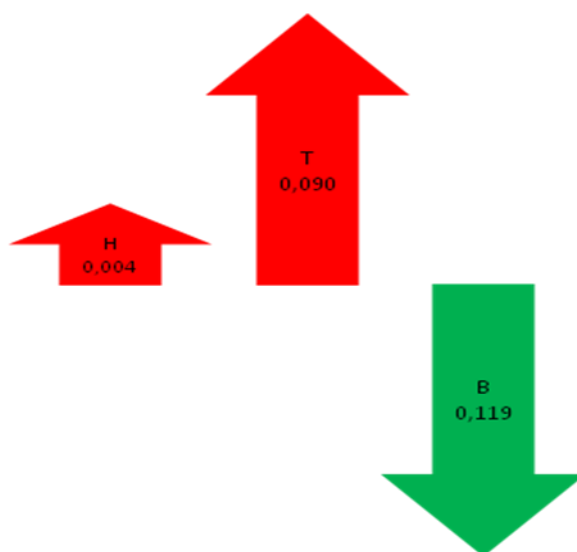
#### 4.4.4. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре оксидативног стреса у хипокампусу

Анализа утицаја три различита фактора представљених кроз вредности параметара за процену степена оксидативног стреса (TBARS, активност SOD и укупни GSH) у хипокампусу је представљена у Табели 4.46.

Параметар	H ( $\eta^2$ )	T ( $\eta^2$ )	B ( $\eta^2$ )
TBARS	0.011	0.170	0.274
Активност SOD	0.001	0.098	0.082
Укупни GSH	0	0.003	0.001

Табела 4.46. Величина утицаја различитих фактора на параметре оксидативног стреса у хипокампусу.

Као што је приказано на Слици 4.45., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену величине оксидативног стреса показује да је најјачи (позитиван) ефекат остварен под утицајем дуготрајног програмираног тренажног процеса ( $\eta^2=0.119$ ), док су анаболички стероиди показали негативан утицај слабијег интензитета.



Слика 4.45. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре оксидативног стреса у хипокампусу.

## **4.5. Имунохистохемијска испитивања ткива хипокампуса**

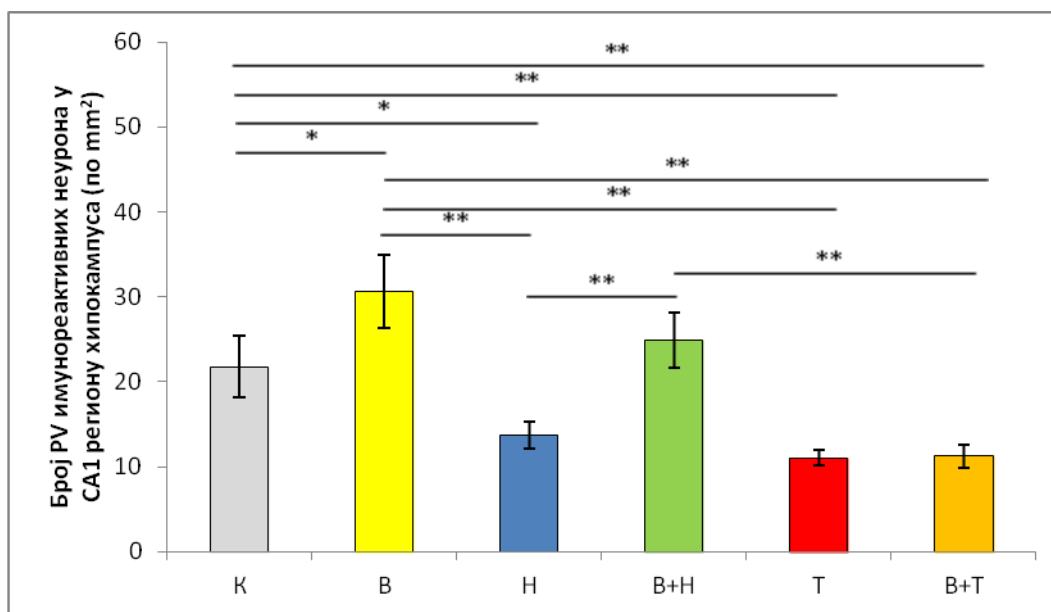
### **4.5.1. Анализа броја и дистрибуције имунореактивних PV неурона у хипокампусу**

#### **4.5.1.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса**

На Слици 4.46. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на број имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=8.279$ ,  $df=5$ ). Шестонедељна администрација супрафизиолошких доза оба анаболичка стероида је доводила до тога да животиње које су биле изложене том третману имају значајно мање имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса ( $p<0.05$  за Н групу,  $p<0.01$  за Т групу) у односу на животиње из контролне групе. Такође, седентарне групе третиране ААС-има су имале статистички значајно мање PV неурона у СА1 региону у односу на животиње код којих је примењен само тренажни процес ( $p<0.01$ ). Шестонедељни протокол пливања је имао супротан ефекат на број имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса, при чему се уочава статистички значајно повећање вредности овог параметра ( $p<0.05$ ) у поређењу са вредностима забележеним у контролној групи. Животиње које су припадале комбинованој групи са нандролон-деканатом су имале статистички значајно већи број имунореактивних PV неурона у СА1 региону ( $p<0.01$ ) у односу на седентарну групу третирану истим анаболичким стероидом. У комбинованој групи са тестостерон-енантатом уочава се статистички значајно смањење броја имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролне услове, као и у односу на групу која је подвргнута програмираном тренажном процесу ( $p<0.01$ ), без значајног повећања у односу на седентарну тестостеронску групу (за разлику од нандролона).

У Табели 4.47. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на број имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао

кроз смањење броја имунореактивних PV неурона у СА1 региону, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз повећање вредности овог параметра. Највећи (негативан) утицај на промену вредности броја имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса је имала хронична примена тестостерон-енантата ( $\eta^2=0.349$ ). Такође, (позитиван) утицај дуготрајне физичке активност је био велики ( $\eta^2=0.100$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени (негативан) ефекат ТЕ са физичком активношћу био нешто јачи ( $\eta^2=0.081$ ) у односу на НД ( $\eta^2=0.033$ ) где је уочен позитиван ефекат.



**Слика 4.46. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на број имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса.** К – контрола (n=8), В – вежбање (n=7), Н – нандролон-деcanoат (n=7), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=7), Т – тестостерон-енантат (n=7), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↓ 0.001	↓↓↓ 0.349	↑↑↑ 0.100
Интеракције	Н-В	↑ 0.033		
	Т-В	↓↓ 0.081		

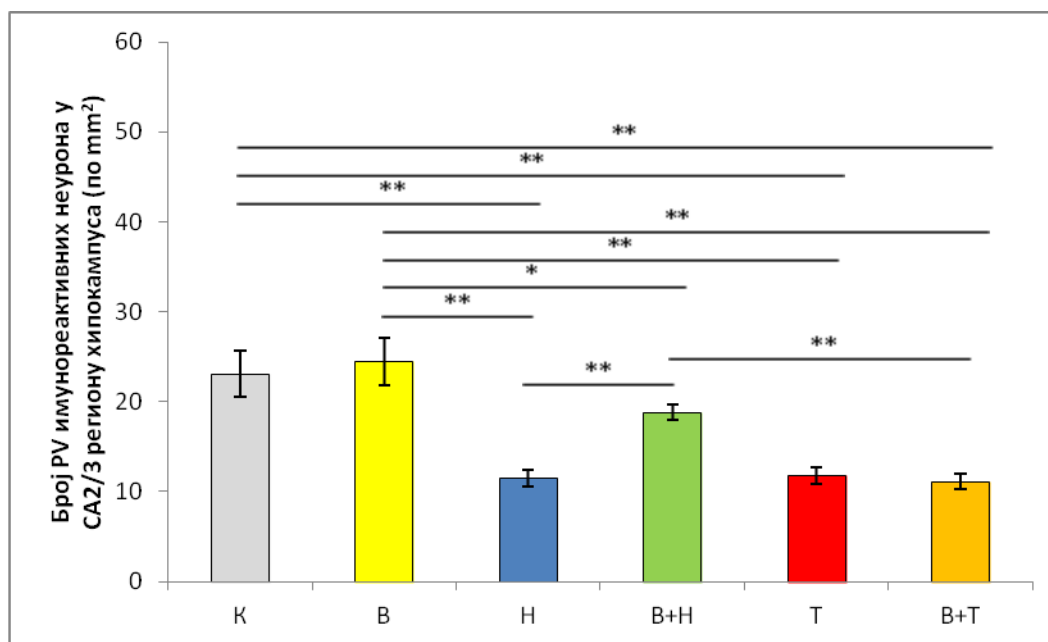
**Табела 4.47. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних PV неурона у СА1 региону хипокампуса.**

#### **4.5.1.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса**

Ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на број имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса су приказани на Слици 4.47. Сви наведени протоколи су значајно утицали на промену броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $F=12.406$ ,  $df=5$ ). Протоколи који су подразумевали примену ААС-а узроковали су значајно смањење броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Такође, хронична примена како НД-а, тако и ТЕ-а, у седентарним условима, је доводила до статистички значајног смањења броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону ( $p<0.01$ ) у односу на животиње које су припадале групи која је подразумевала шестонедељну физичку активност. Животиње у комбинованој групи која је третирана ТЕ-ом су имале значајно мањи број имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну, као и у односу на групу где је спровођен само тренажни протокол ( $p<0.01$ ). Пролонгирана физичка активност није доводила до промене броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса у односу на контролну групу. Ипак, ефекат пливања се манифестовао кроз повећање вредности овог параметра ( $p<0.01$ ) у комбинацији са НД-ом у односу на седентарну нандролонску групу. Оваква промена није регистрована у тестостеронским групама. У групама у којима је симултано примењиван тренажни процес у комбинацији са ААС се уочава статистички значајно смањење броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса у односу на животиње које су током шест недеља имале искључиво програмирани тренажни процес.

Фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола су представљени у Табели 4.48. Сви фактори су значајно мењали број имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса. Анаболички стероиди су свој ефекат испољавали кроз смањење вредности броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону

хипокампуса, док је супротни ефекат (повећање) забележен у протоколу пролонгиране физичке активности. Највећи утицај на промену броја имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону је имао хронични третман тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.311$ ), док је утицај шестонедељног пливања био мањег интензитета ( $\eta^2=0.146$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени (негативан) ефекат ТЕ-а са физичком активношћу био нешто јачи ( $\eta^2=0.047$ ) у односу на интеракцију НД-а са пливањем ( $\eta^2=0.037$ ) где је уочен позитиван ефекат.



**Слика 4.47. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на број имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса.** К – контрола (n=8), В – вежбање (n=8), Н – нандролон-деcanoат (n=7), В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат (n=7), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон-енантат (n=7). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↓↓	↓↓↓	↑↑↑
		0.032	0.311	0.146
Интеракције	Н-В	↑↑ 0.047		
	Т-В	↓↓ 0.037		

**Табела 4.48. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних PV неурона у СА2/3 региону хипокампуса.**

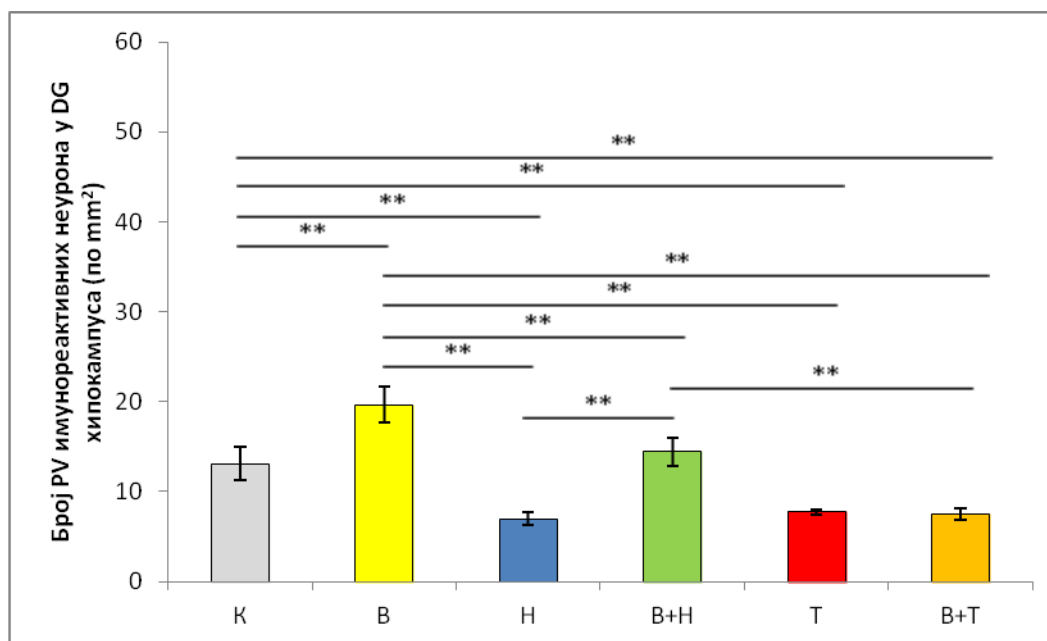


#### **4.5.1.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса**

Као што је приказано на Слици 4.48., спроведени појединачни и комбиновани протоколи су доводили до значајних промена броја имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса ( $F=13.823$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни програмирани тренажни процес је изазвао статистички значајно повећање броја имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Хронична примена супрафизиолошких доза нандролон-деканата, као и тестостерон-енантата, је смањивала број имунореактивних PV неурона у DG, како у поређењу са контролном групом, тако и поређењу са групом која је била подвргнута физичкој активности ( $p<0.01$ ). Протокол пливања у комбинацији са нандролон-деканатом је узроковао статистички значајно повећање вредности овог параметра ( $p<0.01$ ) у односу на седентарну Н групу, док такав тип промена није забележен у тестостеронским групама. Комбинована тестостеронска група је показала статистички значајно смањење броја PV неурона у DG у поређењу са контролном групом, као и са групом која је имала физичку активност током целокупног трајања третмана ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.49. су приказане величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на број имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз повећање броја имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса ( $\eta^2=0.147$ ). Супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај на број имунореактивних PV неурона у DG. Ефекат нандролон-деканата и тестостерон-енантата се манифестовао као смањење броја PV неурона. Највећа величина ефекта уочена је код животиња третираних тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.328$ ). Уочене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени (негативан) ефекат ТЕ-а са физичком активношћу био интензивнији ( $\eta^2=0.141$ ) у

односу на интеракцију НД-а са програмираним тренажним процесом ( $\eta^2=0.046$ ) где је забележен позитиван ефекат.



**Слика 4.48. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса.** К – контрола (n=8), В – вежбање (n=7), Н – нандролон-деканат (n=7), В+Н – вежбање и нандролон-деканат (n=7), Т – тестостерон-енантат (n=7), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↓	↓↓↓	↑↑↑
		0.011	0.328	0.147
Интеракције	Н-В	↑↑ 0.046		
	Т-В	↓↓↓ 0.141		

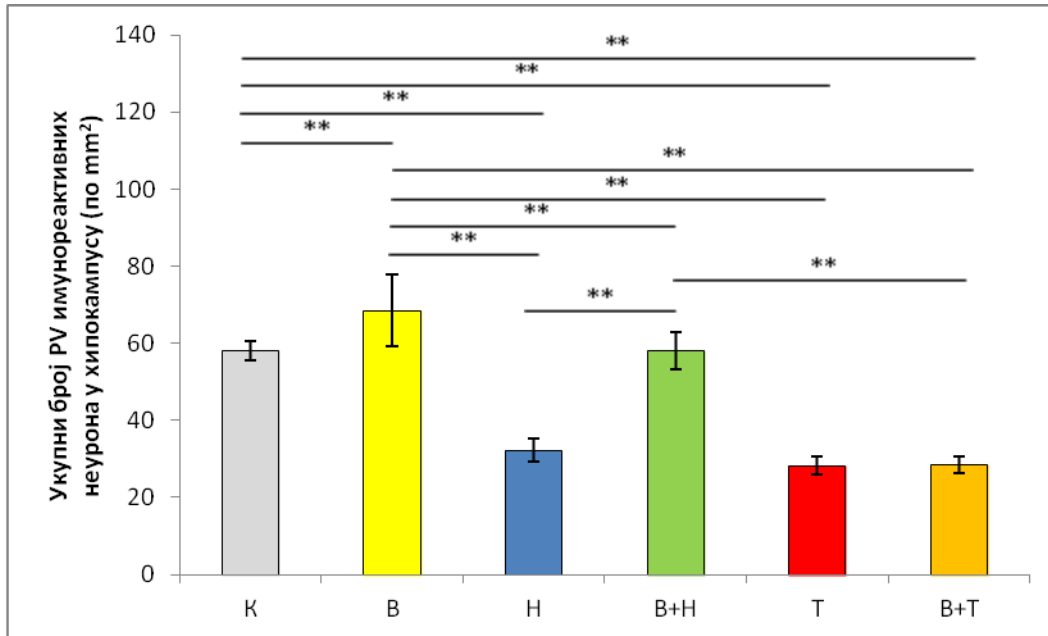
**Табела 4.49. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних PV неурона у DG региону хипокампуса.**

#### **4.5.1.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на укупни број имунореактивних PV неурона у хипокампусу**

На Слици 4.49. су представљени резултати добијени након спроведених појединачних и комбинованих протокола, а који су доводили до значајних промена укупног броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу ( $F=27.458$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни протокол пливања је изазвао статистички значајно повећање броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на контролне услове. Дуготрајна примена супрафизиолошких доза нандролон-деканата, као и тестостерон-енантата, је смањивала број имунореактивних PV неурона, како у поређењу са контролном групом, тако и поређењу са групом која је била подвргнута физичкој активности ( $p<0.01$ ). Комбинована нандролонска група је имала статистички значајно већи број имунореактивних PV неурона у хипокампусу у односу на седентарну групу третирану НД-ом ( $p<0.01$ ), док овакав тип промене није уочен у тестостеронским групама. Протокол пливања у комбинацији са ТЕ-ом је узроковао статистички значајно смањење броја хипокампаљних PV неурона ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу, као и у поређењу са животињама из групе где је спроведен протокол пливања. У групи у којој су симултано примењивани НД и пливање уочава се статистички значајно смањење броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на групу третирану искључиво пливањем.

У Табели 4.50. су приказане величине ефеката појединачних фактора који су кроз спроведене протоколе утицали на укупни број имунореактивних PV неурона у хипокампусу. Програмирани тренажни процес је свој ефекат остваривао кроз повећање укупног броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу ( $\eta^2=0.123$ ). Супрафизиолошке дозе анаболичких стероида, примењиване током шест недеља, су показивале супротан утицај (смањење) на укупни број хипокампаљних имунореактивних PV неурона. Највећа величина ефекта уочена је код животиња третираних тестостерон-енантатом ( $\eta^2=0.496$ ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени (негативан) ефекат ТЕ-а са физичком активношћу био велики ( $\eta^2=0.145$ ). Код интеракције

НД-а са програмираним тренажним процесом забележен је слабији, позитиван ефекат ( $\eta^2=0.062$ ).



**Слика 4.49. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупни број имунореактивних PV неурона у хипокампусу.** К – контрола (n=8), В – вежбање (n=8), Н – нандролон-деканоат (n=7), В+Н – вежбање и нандролон-деканоат (n=7), Т – тестостерон-енантат (n=8), В+Т – вежбање и тестостерон -енантат (n=8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.

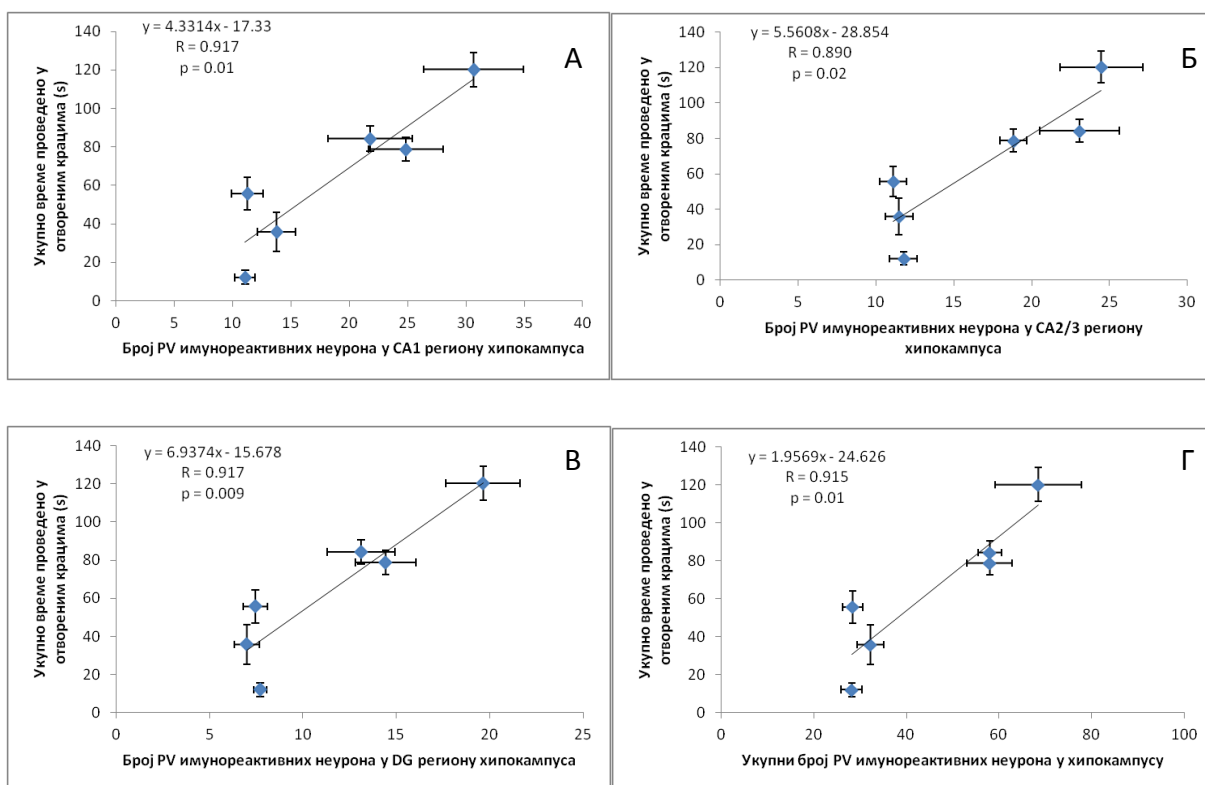
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↓ 0.004	↓↓↓ 0.496	↑↑↑ 0.123
Интеракције	Н-В	↑↑ 0.062		
	Т-В	↓↓↓ 0.145		

**Табела 4.50. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни број имунореактивних PV неурона у хипокампусу.**

## 4.5.2. Анализа међусобне повезаности бихевиоралних тестова, хормонских анализа и имунохистохемијске анализе PV имунореактивних неурона

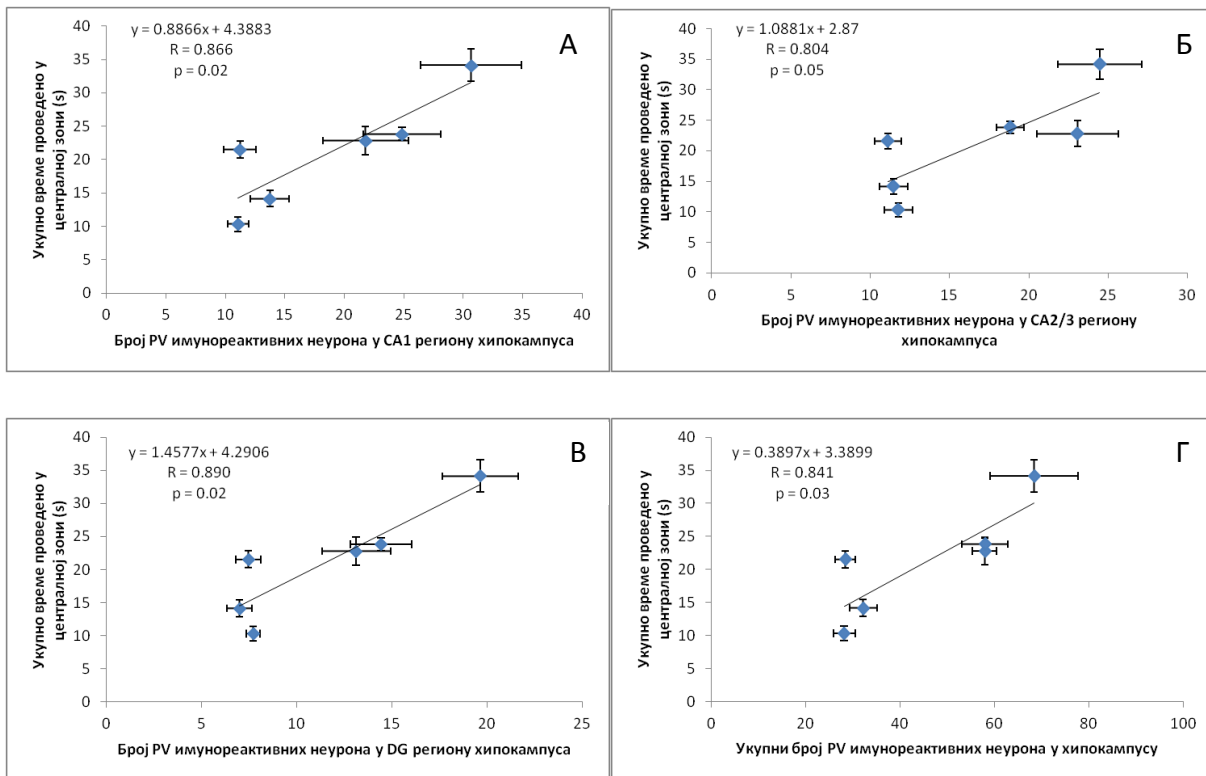
### 4.5.2.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и бихевиоралних индикатора за процену степена анксиозности

На Слици 4.50. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ-а (поуздани индикатор за процену степена анксиозности). Анализа показује да у свим појединачним регионима, као и на укупној површини пресека, постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних PV неурона и укупног времена проведеног у отвореним крацима ( $R \sim 0.9$ ,  $p \sim 0.01$ ).



Слика 4.50. Анализа међусобне повезаности броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – СА1 регион, Б – СА2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

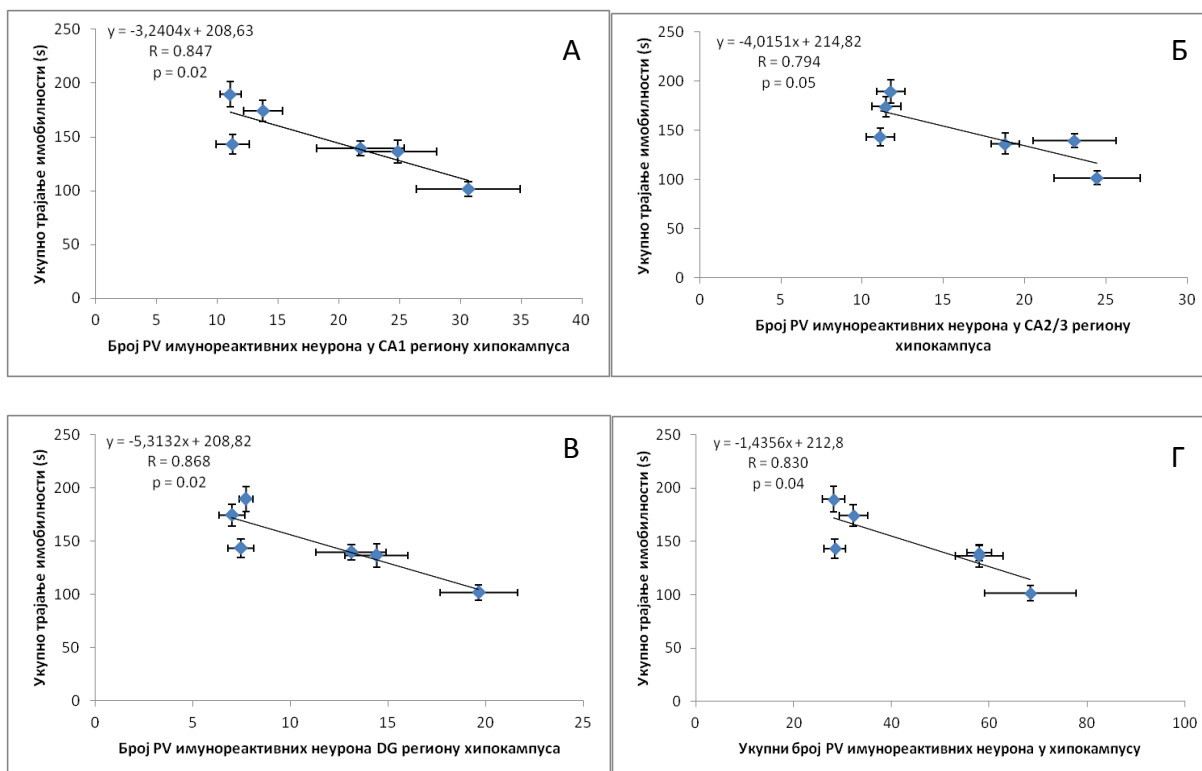
Међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (поуздани индикатор за процену степена анксиозности) је приказана на Слици 4.51. Анализа показује да у свим појединачним регионима, као и на укупној површини пресека, постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних PV неурона и укупног времена проведеног у централној зони ( $R \sim 0.85$ ,  $p < 0.05$ ).



**Слика 4.51.** Анализа међусобне повезаности броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у централној зони теста отвореног поља. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.2.2. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и бихевиоралног индикатора за процену степена депресивности

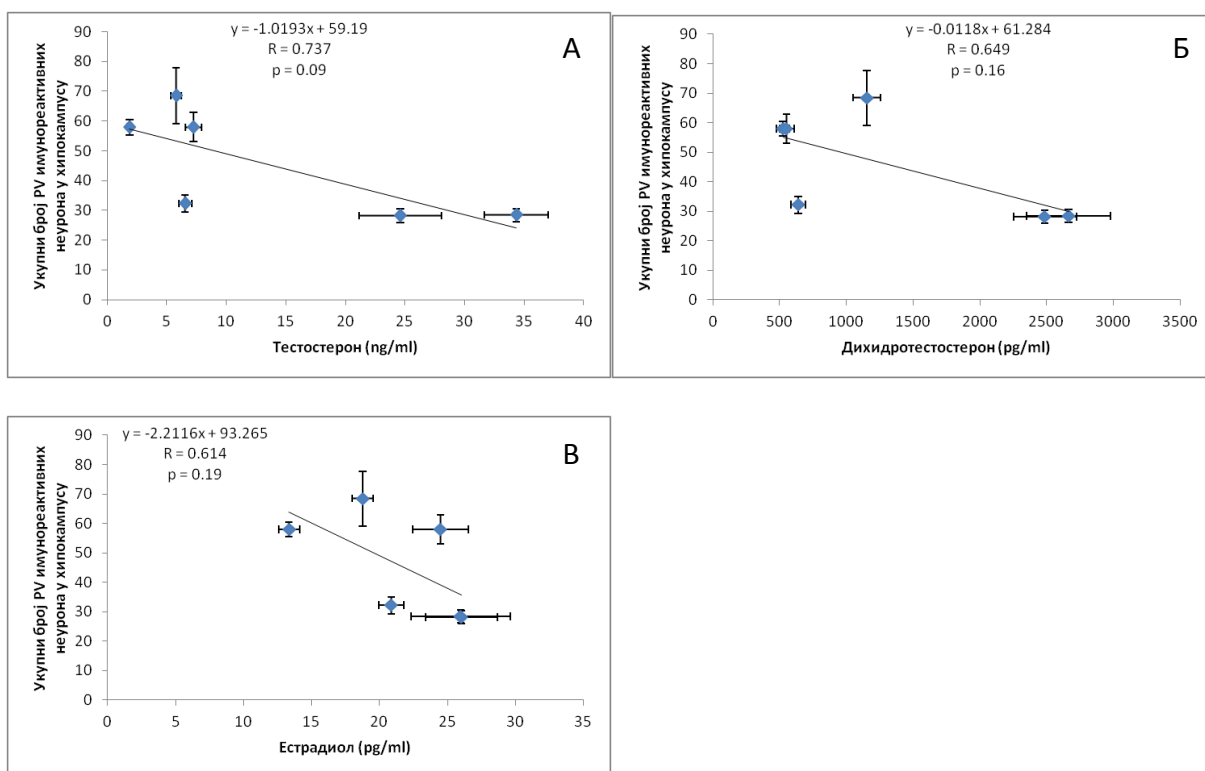
Међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и укупног трајања имобилности у ТКР (један од најчешће коришћених индикатора за процену степена депресивности) је приказана на Слици 4.52. Анализа показује да у свим појединачним регионима, као и на укупној површини пресека, постоји јака, негативна корелација између броја имунореактивних PV неурона и укупног трајања имобилности ( $R \sim 0.85$ ,  $p < 0.05$ ).



Слика 4.52. Анализа међусобне повезаности броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног трајања имобилности у тесту качења за реп. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

### 4.5.2.3. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и хормонских анализа

На Слици 4.53. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и хормонских анализа (тестостерон, дихидротестостерон и естрадиол). Анализа показује да постоји негативна корелација између укупног броја имунореактивних PV неурона и серумских концентрација различитих хормона ( $R \sim 0.7$ , без статистичке значајности).

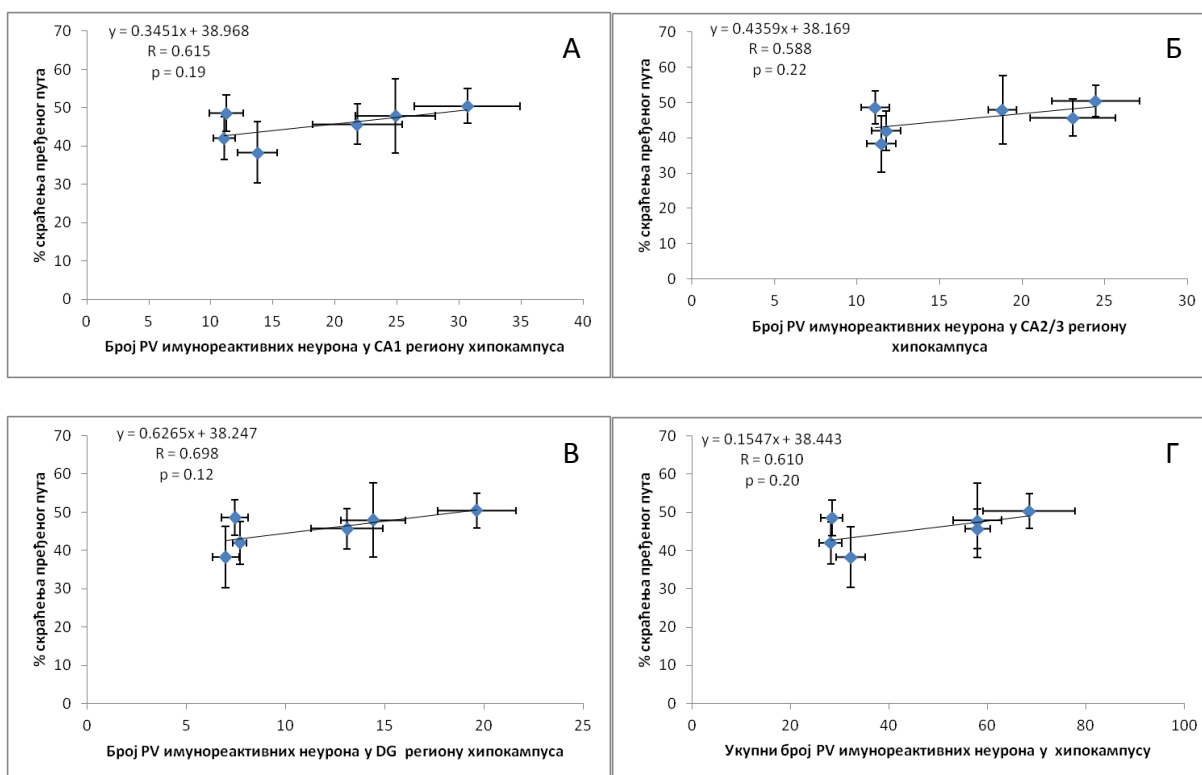


Слика 4.53. Анализа међусобне повезаности укупног броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу и серумских концентрација хормона (А – тестостерон, Б – дихидротестостерон, В – естрадиол). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.



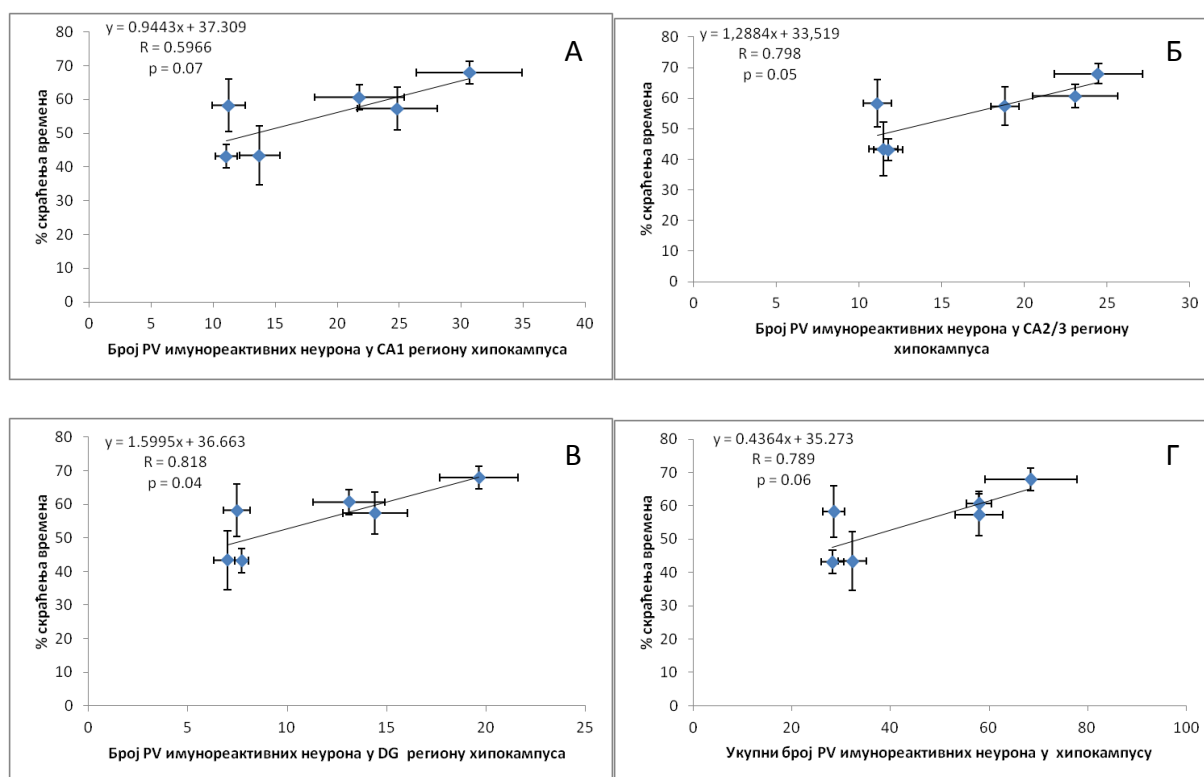
#### 4.5.2.4. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и параметара за процену когнитивних способности

Међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта је приказана на Слици 4.54. Анализа показује да у свим појединачним регионима, као и на укупној површини пресека, постоји позитивна корелација између броја имунореактивних PV неурона и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта ( $R \sim 0.6$ , без статистичке значајности).



Слика 4.54. Анализа међусобне повезаности броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

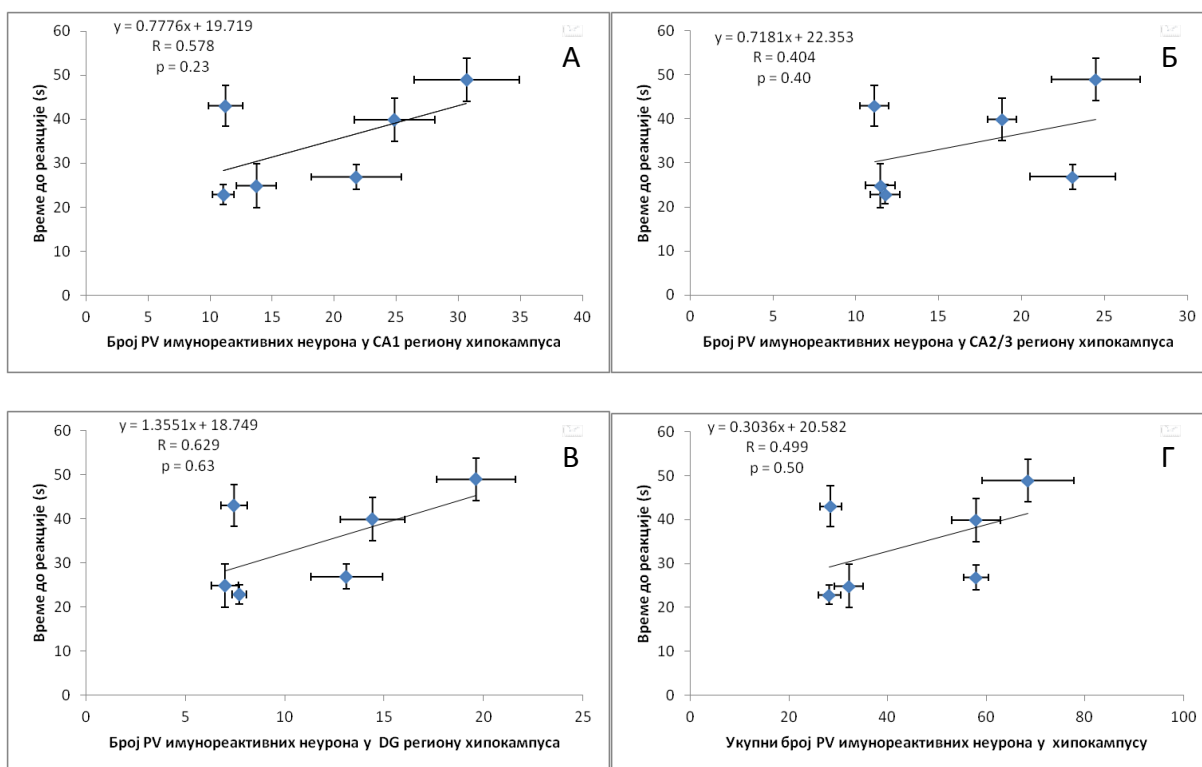
На Слици 4.55. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и процента скраћења времена у Барнсовом тесту. Анализа показује да у свим појединачним регионима, као и на укупној површини пресека, постоји позитивна корелација између броја имунореактивних PV неурона и процента скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта ( $R \sim 0.75$ ,  $p < 0.05$  за регионе CA2/3 и DG).



**Слика 4.55.** Анализа међусобне повезаности броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.2.5. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и параметра за процену ноцицепције

На Слици 4.56. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних PV неурона у хипокампусу и времена до реакције у тесту вруће плоче. Анализа показује да постоји позитивна корелација између укупног броја имунореактивних PV неурона (у појединачним регионима, као и на укупној површини пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче ( $R \sim 0.5$ , без статистичке значајности).



Слика 4.56. Анализа међусобне повезаности броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

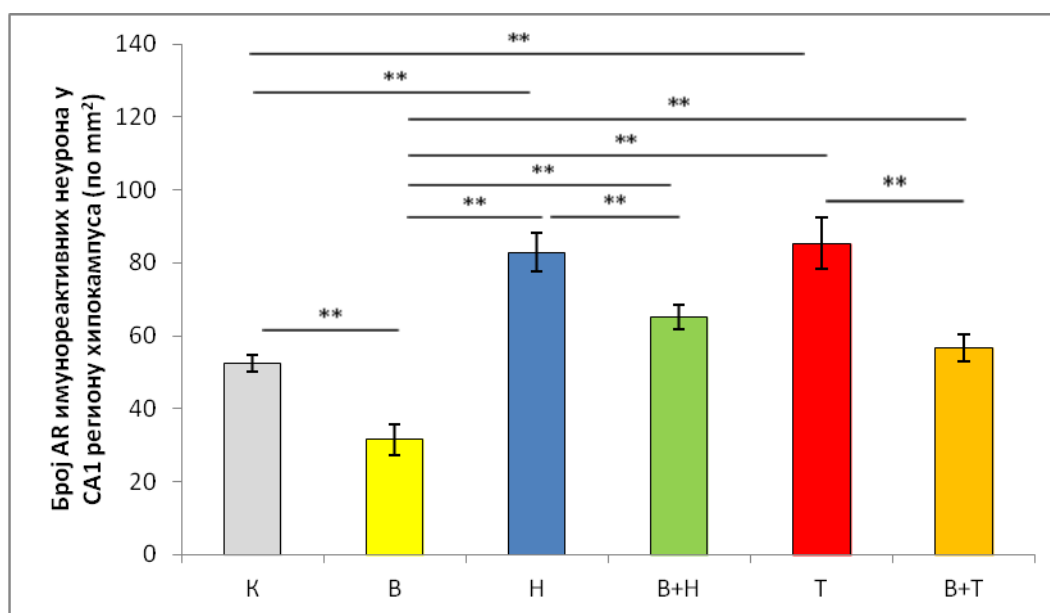
### **4.5.3. Анализа броја и дистрибуције AR имунореактивних неурона у хипокампусу**

#### **4.5.3.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број AR имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса**

На Слици 4.57. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на број имунореактивних неурона који експримирају AR у СА1 региону хипокампуса. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=19.262$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни протокол физичке активности је доводио до значајног смањења експресије AR у СА1 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронични третман супрафизиолошким дозама оба анаболичка стероида је доводио до тога да животиње које су биле изложене том третману имају значајно више AR имунореактивних неурона у СА1 региону ( $p<0.01$ ) у односу на животиње из контролне групе. Такође, седентарне групе третиране ААС-има су имале статистички значајно више AR имунореактивних неурона у овом региону у односу на животиње код којих је примењен само тренажни процес ( $p<0.01$ ). Животиње које су припадале комбинованим групама (физичка активност примењивања симултано са нандролон-деканатом, као и тестостерон-енантатом) су имале статистички значајно мањи број AR имунореактивних неурона у СА1 региону ( $p<0.01$ ) у односу на седентарну групу третирану одговарајућим анаболичким стероидом. Број AR имунореактивних неурона у СА1 региону је, истовремено, и даље био значајно већи од броја AR у односу на групу код које је примењиван искључиво протокол физичке активности ( $p<0.01$ ), при чему се број AR у комбинованим групама није значајно разликовао од вредности добијених у контролној групи.

У Табели 4.51. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на број AR имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање броја AR имунореактивних неурона у СА1 региону, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз смањење вредности овог

параметра. Највећи (негативан у нумеричком смислу) утицај на промену вредности броја AR имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса је имала хронична примена пролонгираног тренажног процеса ( $\eta^2=0.300$ ). Утицај дуготрајне примене нандролон-деcanoата је био велики ( $\eta^2=0.215$ ), док је примена тестостерон-енантата имала мало слабији ефекат ( $\eta^2=0.120$ ) на повећање броја AR имунореактивних неурона у СА1 региону. Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени ефекат (позитиван у нумеричком смислу) ТЕ-а са физичком активношћу био нешто јачи ( $\eta^2=0.017$ ) у односу на НД ( $\eta^2=0.011$ ).



**Слика 4.57. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на број AR имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса.**  $n=6$  по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деcanoат, В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.215	↑↑ 0.120	↓↓↓ 0.300
Интеракције	Н-В	↑ 0.011		
	Т-В	↑ 0.017		

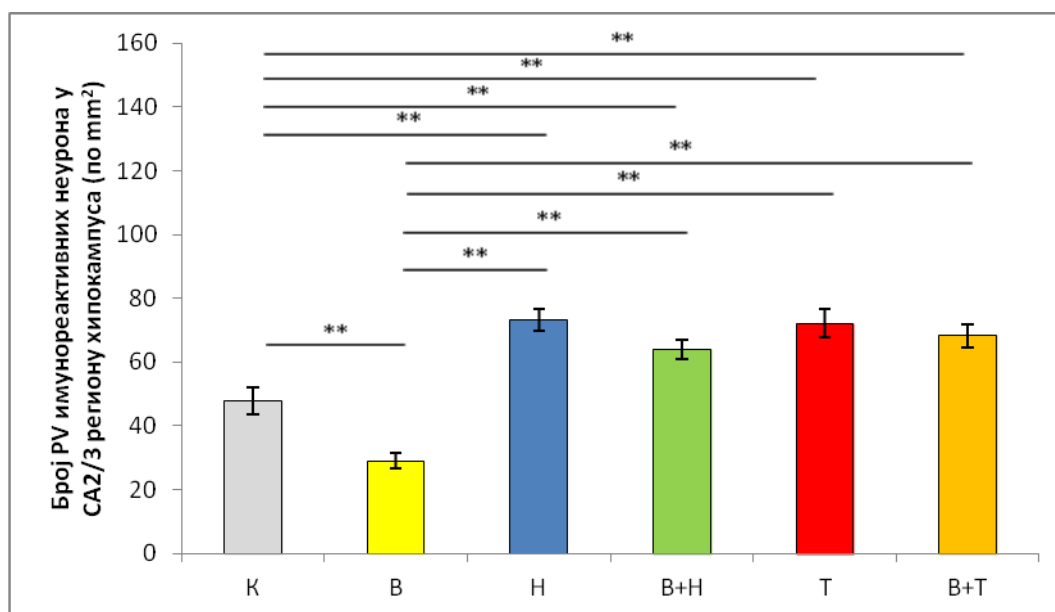
**Табела 4.51. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број AR имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса.**

#### **4.5.3.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса**

Ефекти шестонедељног програмираног тренажног процеса и примене супрафизиолошких доза ААС-а на број AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса су представљени на Слици 4.58. Наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=22.998$ ,  $df=5$ ). Протокол физичке активности је изазвао значајно смањење броја AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронична примена оба анаболичка стероида је резултовала значајним повећањем броја AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону ( $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Истовремено, седентарне групе третиране ААС-има су имале статистички значајно више AR имунореактивних неурона у овом региону у односу на животиње код којих је примењван само тренажни процес ( $p<0.01$ ). Дуготрајна примена нандролон-деканата, као и тестостерон-енантата, у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом доводила је до статистички значајног повећања броја AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону ( $p<0.01$ ) у односу на групу код које је примењиван само тренажни протокол, као и у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ).

Табела 4.52. приказује факторе чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на број AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање броја AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз смањење вредности овог параметра. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности броја AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса је имала хронична примена тестостерон-енантата ( $\eta^2=0.218$ ), док је исти тип промене забележен након примене нандролон-деканата ( $\eta^2=0.157$ ). Утицај дуготрајног тренажног процеса на смањење броја

AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса је био мали ( $\eta^2=0.083$ ). Интеракције између поменутих фактора нису биле значајне.



**Слика 4.58. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на број AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса.  $n=6$  по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деcanoат, В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\*  $p < 0.01$ .**

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑ 0.157	↑↑↑ 0.218	↓ 0.083
Интеракције	Н-В	↑ 0.001		
	Т-В	↑ 0.025		

**Табела 4.52. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број AR имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса.**

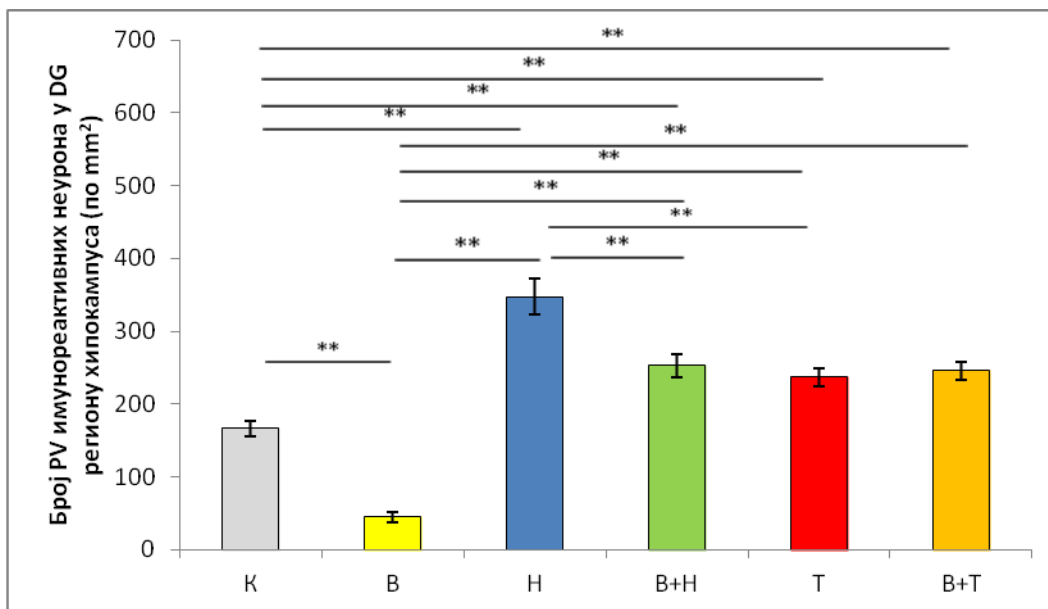


#### **4.5.3.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број AR имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса**

Слика 4.59. приказује промене у броју AR имунореактивних неурона у DG хипокампуса након хроничне примене програмираног тренажног процеса и/или примене супрафизиолошких доза ААС-а. Наведени третмани су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=47.550$ ,  $df=5$ ). Протокол физичке активности је доводио до значајног смањења броја AR имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронична примена супрафизиолошких доза оба ААС-а је изазивала значајно повећање броја AR имунореактивних неурона у DG ( $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Животиње код којих је самостално примењиван НД су имале статистички значајно већи AR имунореактивних неурона у DG хипокампуса у односу на групу третирану ТЕ-ом ( $p<0.01$ ). Поред тога, протокол вежбања је, у комбинацији са применом НД-а, ублажио ефекат НД-а на повећање броја AR имунореактивних неурона у DG хипокампуса ( $p<0.01$ ), док се овај ефекат није регистровао у комбинованој тестостеронској групи. Ефекат примене високих доза нандролон-деканоата, као и тестостерон-енантата у комбинованим групама на повећање броја AR имунореактивних неурона у DG региону је био забележен и кроз значајну разлику у односу на групу код које је самостално примењиван тренажни протокол, као и у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ).

У табели 4.53. је представљен утицај фактора чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на број AR имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса. Анаболички стероиди су остварили ефекат кроз повећање броја AR имунореактивних неурона у DG региону, док се ефекат пролонгираног тренинга испољавао кроз смањење вредности овог параметра. Највећи (негативан у нумеричком смислу) утицај на промену вредности броја AR имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса је имао дуготрајни тренажни процес ( $\eta^2=0.448$ ). Супротан ефекат је забележен након примене нандролон-деканоата

( $\eta^2=0.423$ ), док је исти тип промене знатно слабијег утицаја остварен након примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.043$ ). Интеракције између поменутих фактора нису биле значајне.



**Слика 4.59. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканеоат, тестостерон-енантат) на број AR имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса.**  $n=6$  по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деканеоат, В+Н – вежбање и нандролон-деканеоат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.423	↑ 0.043	↓↓↓ 0.448
Интеракције	Н-В	↑ 0.016		
	Т-В	↑ 0.093		

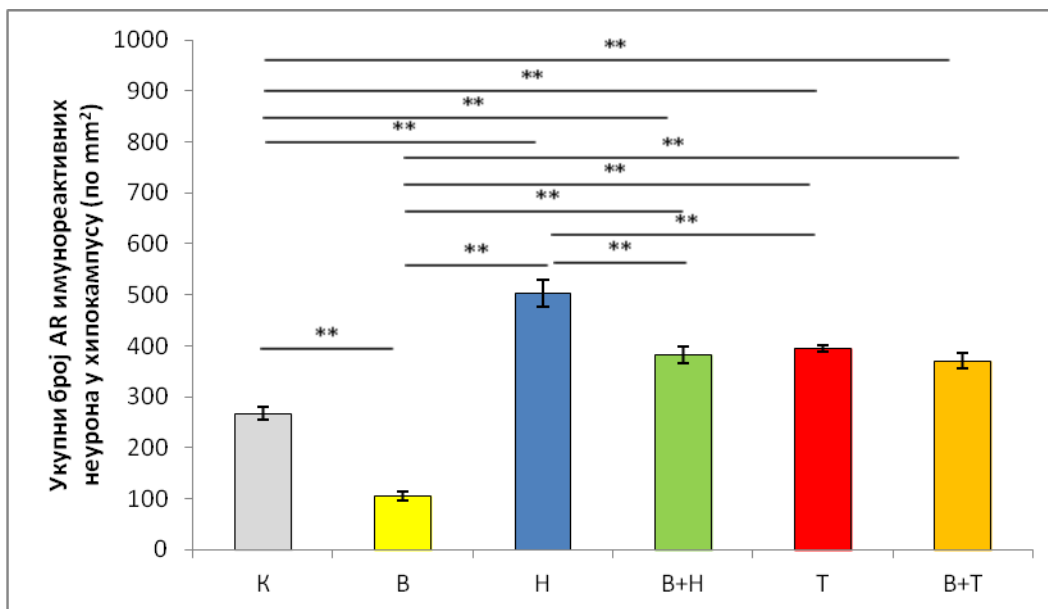
**Табела 4.53. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број AR имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса.**

#### **4.5.3.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупни број AR имунореактивних неурона у хипокампусу**

На Слици 4.60. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на број имунореактивних неурона који експримирају AR у хипокампусу. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=61.385$ ,  $df=5$ ). Шестонедељни протокол физичке активности је доводио до значајног смањења експресије AR у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на вредности забележене у контролној групи. Хронични третман супрафизиолошким дозама оба анаболичка стероида је доводио до тога да животиње које су биле изложене том третману имају значајно више AR имунореактивних неурона у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на животиње из контролне групе. Примена НД-а је доводила до статистички значајног повећања укупног броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу, у односу на групу третирану ТЕ-ом ( $p<0.01$ ). Такође, седентарне групе третиране ААС-има су имале статистички значајно више AR имунореактивних неурона у односу на животиње код којих је примењиван само тренажни процес ( $p<0.01$ ). Животиње које су припадале комбинованој нандролонској групи (физичка активност примењивања симултано са НД-ом) су имале статистички значајно мањи број AR имунореактивних неурона у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на седентарну групу третирану истим анаболиком. Ефекат примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата, као и тестостерон-енантата у комбинованим групама на повећање укупног броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу је био забележен и кроз статистички значајну разлику у односу на групу код које је самостално примењиван тренажни протокол, као и у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.54. су приказани сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на укупни број AR имунореактивних неурона у хипокампусу. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање броја AR имунореактивних неурона, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз смањење вредности овог параметра у хипокампусу. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену броја AR имунореактивних неурона

у хипокампусу је имала хронична примена НД-а ( $\eta^2=0.402$ ). Ефекат примене високих доза ТЕ-а у току шест недеља третмана је био знатно слабији ( $\eta^2=0.069$ ). Утицај примене дуготрајног тренажног процеса је био значајан ( $\eta^2=0.155$ ). Забележене интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени ефекат (позитиван у нумеричком смислу) ТЕ-а са физичком активношћу био нешто јачи ( $\eta^2=0.063$ ) у односу на НД ( $\eta^2=0.008$ ).



**Слика 4.60. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на укупни број AR имунореактивних неурона у хипокампусу.**  $n=6$  по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деcanoат, В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон -енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ , \*\*  $p < 0.01$ .

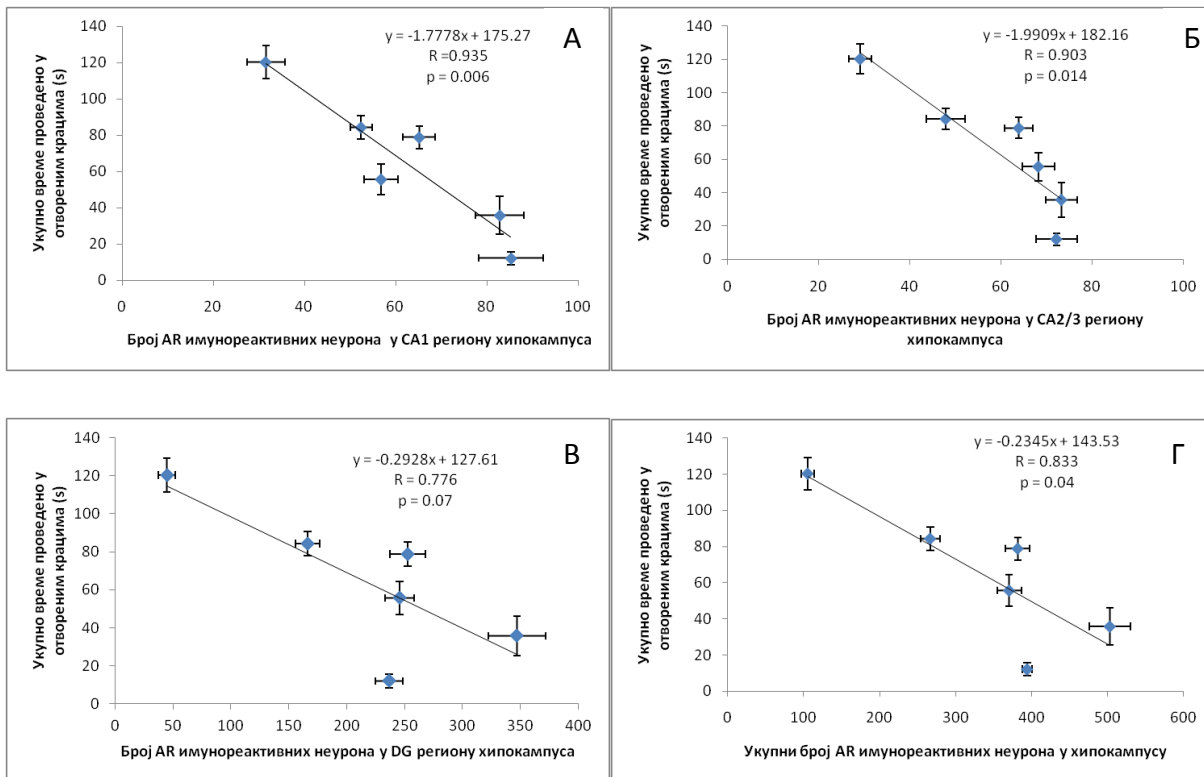
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.402	↑ 0.069	↓↓ 0.155
Интеракције	Н-В	↑ 0.008		
	Т-В	↑ 0.063		

**Табела 4.54. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни број AR имунореактивних неурона у хипокампусу.**

#### 4.5.4. Анализа међусобне повезаности бихевиоралних тестова, хормонских анализа и имунохистохемијске анализе AR имунореактивних неурона

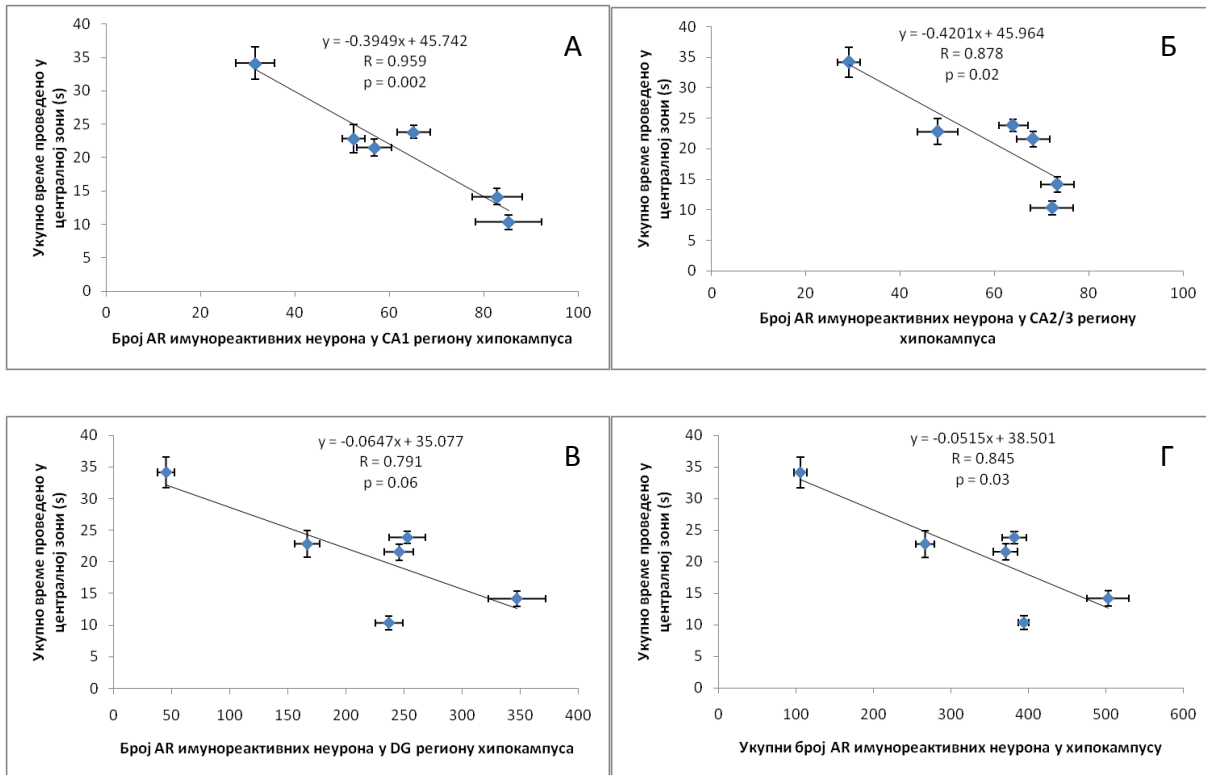
##### 4.5.4.1. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и бихевиоралних индикатора за процену степена анксиозности

Слика 4.61. приказује међусобну повезаност броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЈ-а. Анализа показује да у свим појединачним регионима (осим у DG,  $p=0.07$ ), као и на укупној површини пресека, постоји јака, негативна корелација између броја AR имунореактивних неурона и укупног времена проведеног у отвореним крацима ( $R\sim 0.9$ ,  $p<0.01$  за CA1,  $p<0.05$  за CA2/3 и укупну површину пресека хипокампуса).



Слика 4.61. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЈ. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

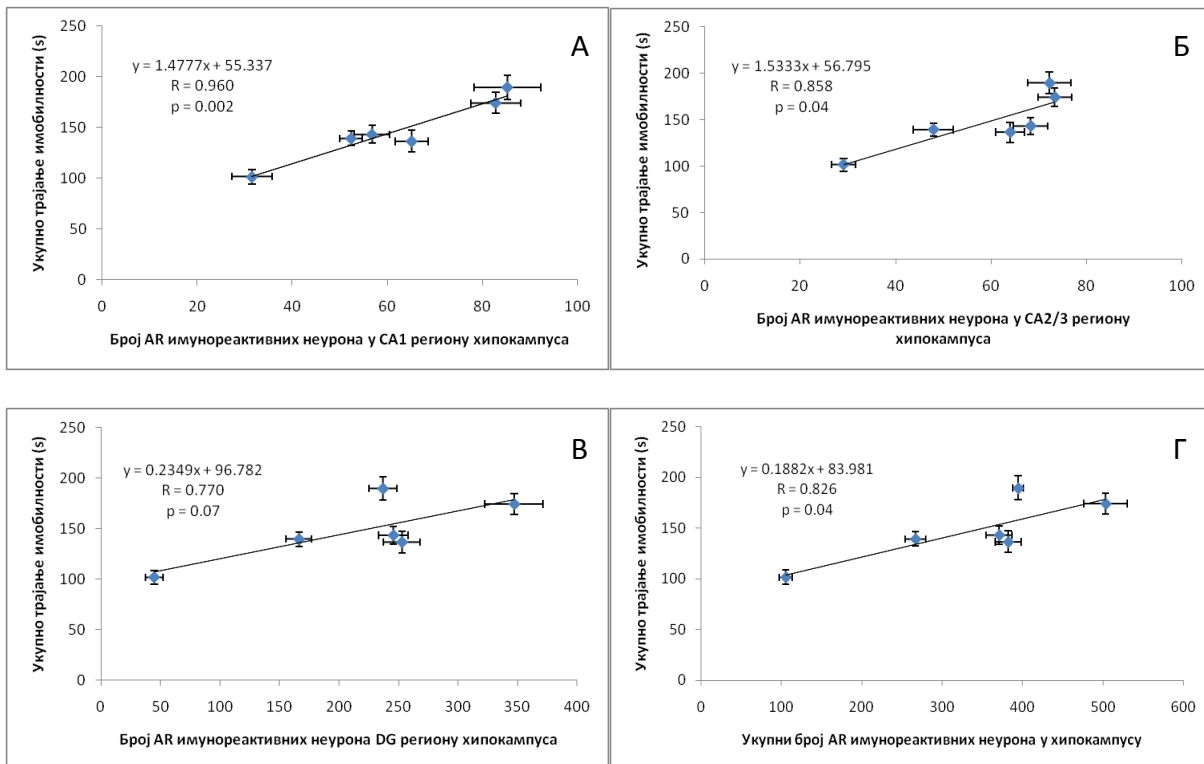
Међусобна повезаност броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (поуздани индикатор за процену степена анксиозности) је приказана на Слици 4.62. Анализа показује да у свим појединачним регионима (изузев у DG  $p=0.06$ ), као и на укупној површини пресека, постоји јака, негативна корелација између броја AR имунореактивних неурона и укупног времена проведеног у централној зони ( $R\sim 0.9$ ,  $p<0.01$  за CA1,  $p<0.05$  за CA2/3 и укупну површину пресека хипокампуса).



**Слика 4.62.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних AR неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у централној зони теста отвореног поља. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.4.2. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и бихевиоралног индикатора за процену степена депресивности

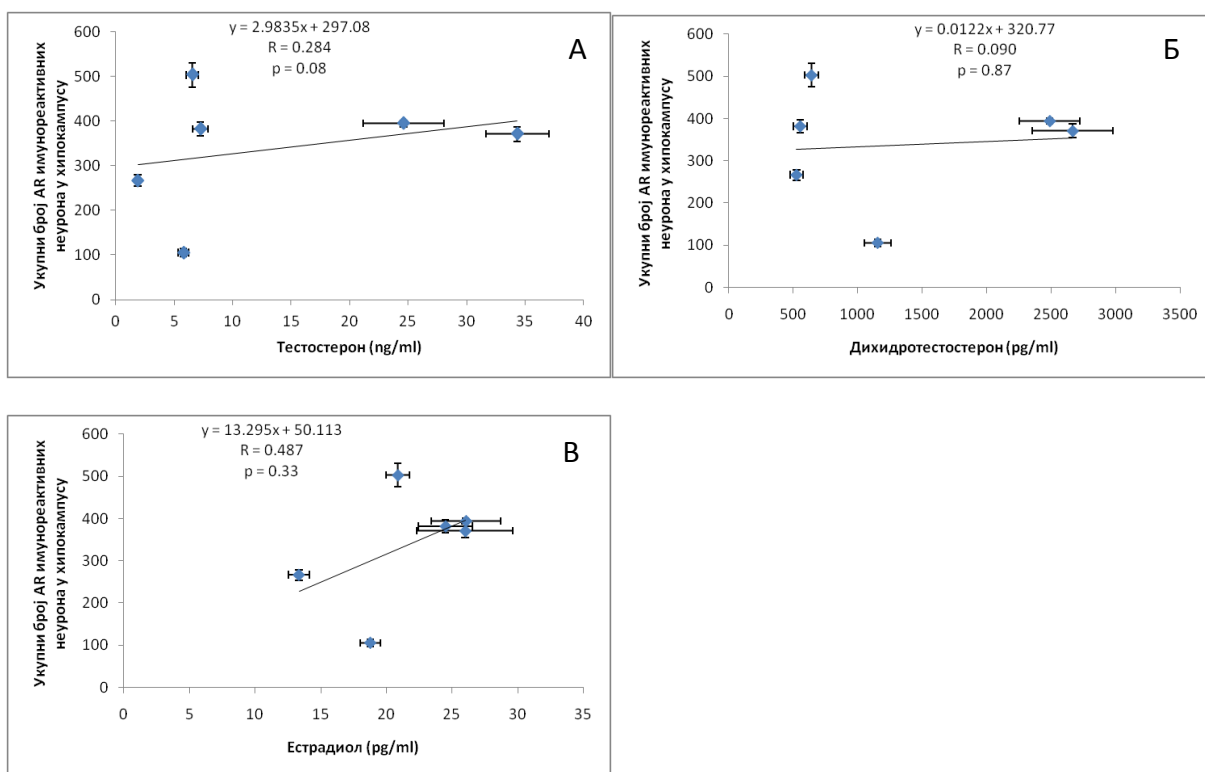
Међусобна повезаност броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног трајања имобилности у ТКР (један од најчешће коришћених индикатора за процену степена депресивности) је приказана на Слици 4.63. Анализа показује да у свим појединачним регионима (осим у DG,  $p=0.07$ ), као и на укупној површини пресека, постоји јака, позитивна корелација између броја AR имунореактивних неурона и укупног трајања имобилности ( $R=0.85$ ,  $p<0.01$  за CA1,  $p<0.05$  за CA2/3 и укупну површину пресека хипокампуса).



Слика 4.63. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног трајања имобилности у тесту качења за реп. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.4.3. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и хормонских анализа

На Слици 4.64. је представљена међусобна повезаност броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и хормонских анализа (тестостерон, дихидротестостерон и естрадиол). Анализа показује да не постоји корелација између укупног броја AR имунореактивних неурона и серумских концентрација различитих хормона ( $R \sim 0.3$ , без статистичке значајности).

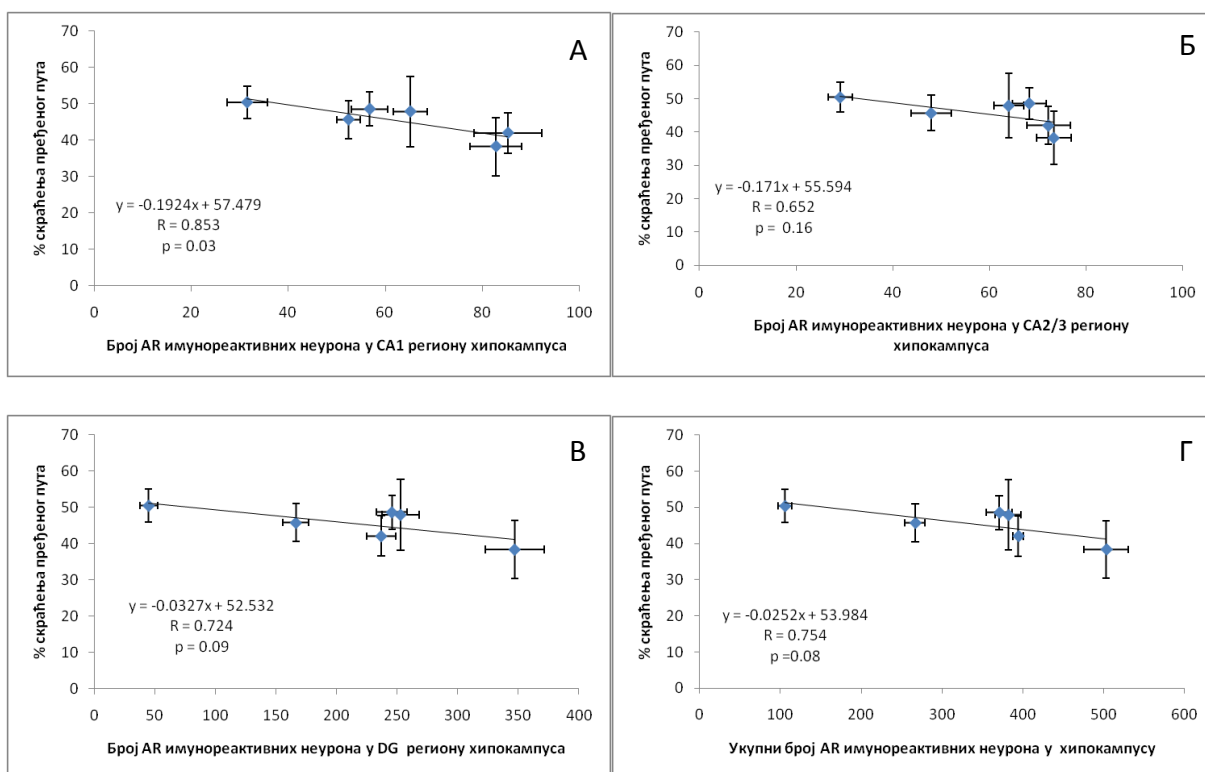


Слика 4.64. Анализа међусобне повезаности укупног броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и серумских концентрација хормона (А – тестостерон, Б – дихидротестостерон, В – естрадиол). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.



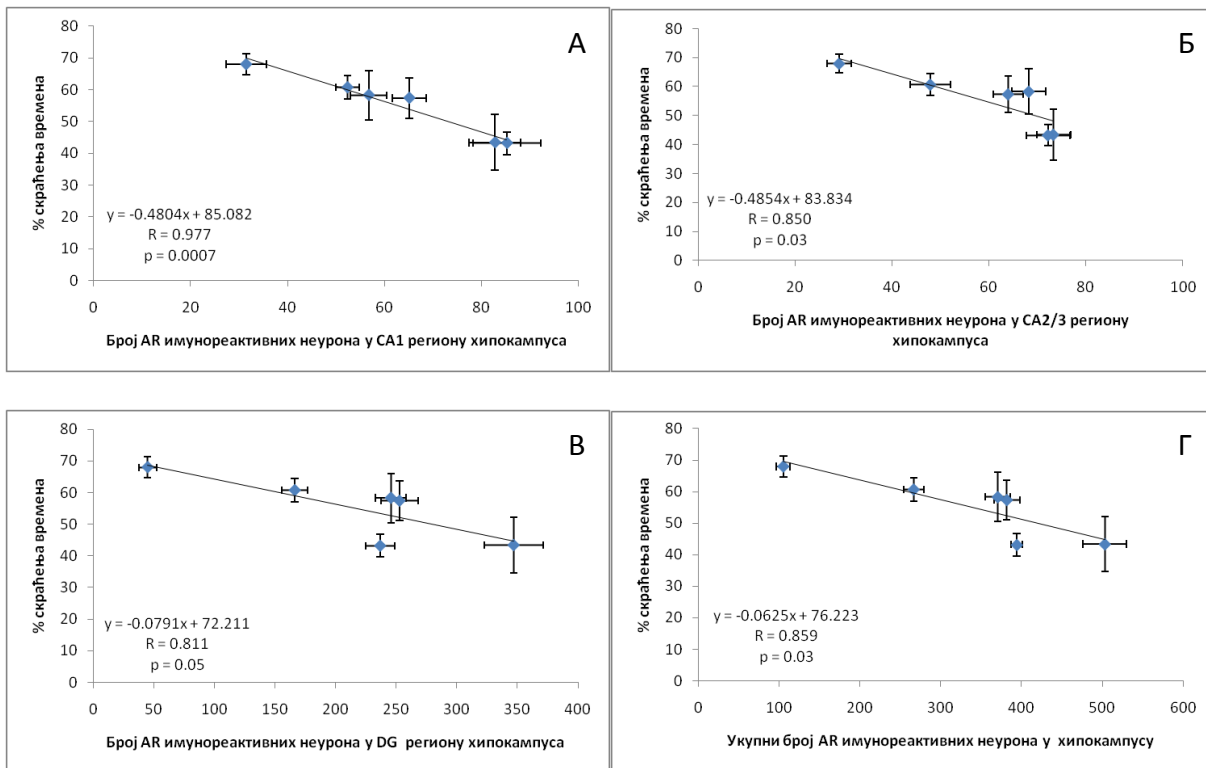
#### 4.5.4.4. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и параметара за процену когнитивних способности

Међусобна повезаност броја имунореактивних AR неурона у хипокампусу и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта је приказана на Слици 4.65. Анализа показује да у једино у CA1 региону хипокампуса постоји значајна, негативна, јака корелација између броја имунореактивних AR неурона и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта ( $R=0.85$ ,  $p<0.05$ ).



Слика 4.65. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

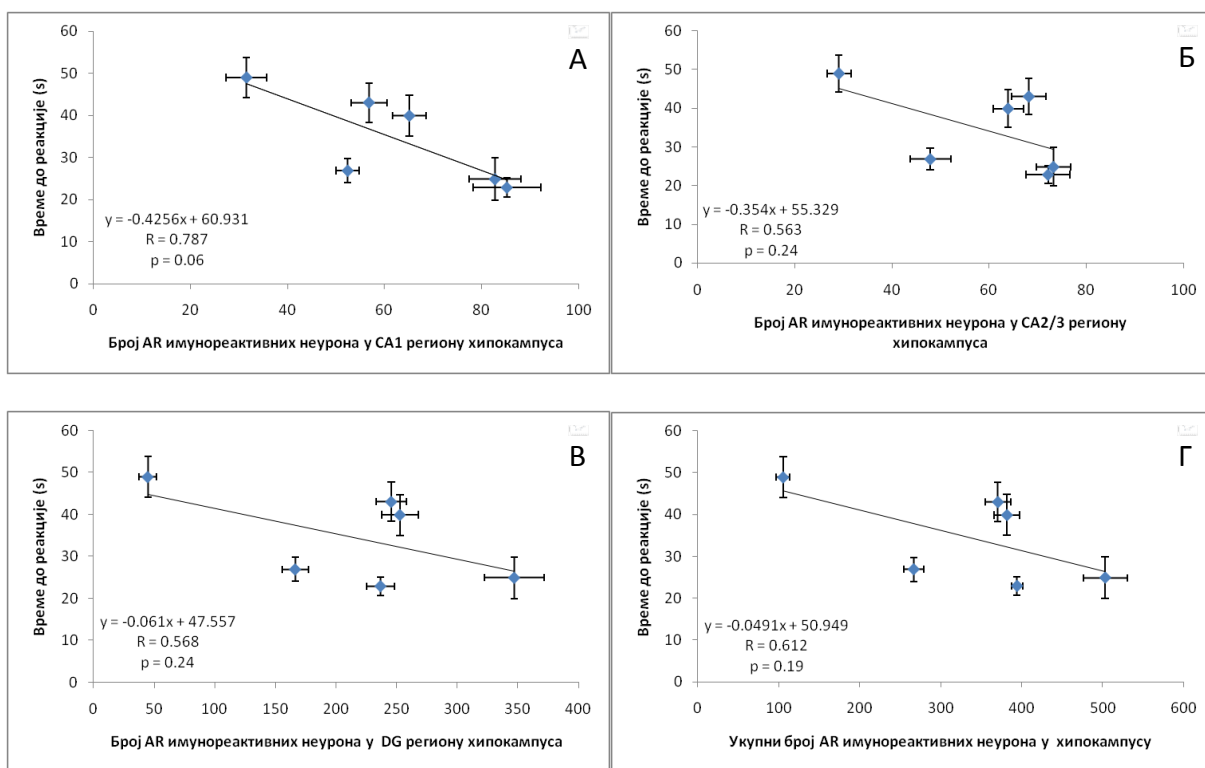
На Слици 4.66. је представљена међусобна повезаност броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и процента скраћења времена у Барнсовом тесту. Анализа показује да у свим појединачним регионима, као и на укупној површини пресека, постоји негативна корелација између броја AR имунореактивних неурона и процента скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта ( $R \sim 0.9$ ,  $p < 0.01$  за CA1,  $p < 0.05$  за остале испитиване пресеке).



**Слика 4.66.** Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.4.5. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и параметра за процену ноцицепције

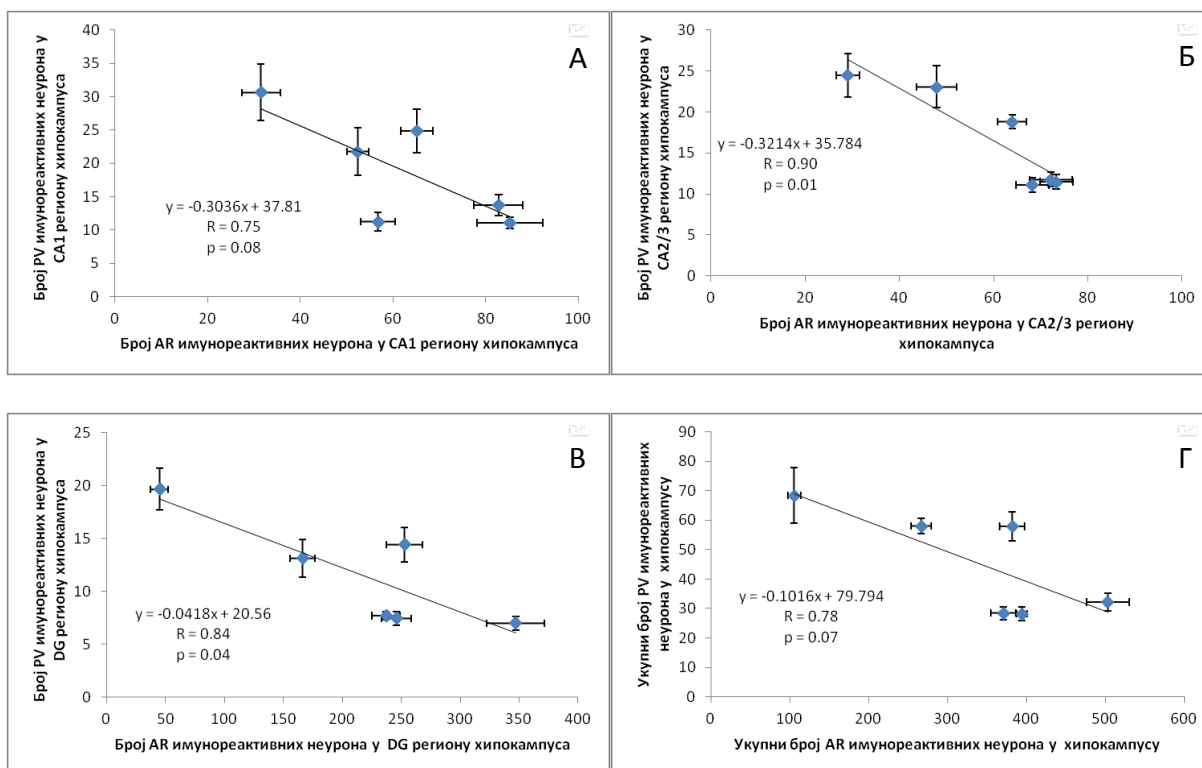
На Слици 4.67. је представљена међусобна повезаност броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу и времена до реакције у тесту вруће плоче. Анализа показује да не постоји корелација између укупног броја AR имунореактивних неурона (у појединачним регионима, као и на укуној површини пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче ( $R \sim 0.3$ , без статистичке значајности).



Слика 4.67. Анализа међусобне повезаности броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.4.6. Анализа међусобне повезаности броја AR и PV имунореактивних неурона у хипокампусу

На Слици 4.68. је представљена међусобна повезаност броја AR и PV имунореактивних неурона у хипокампусу. Анализа показује да постоји снажна, негативна корелација између броја AR и PV имунореактивних неурона у регионима CA2/3 и DG ( $R \sim 0.82$ ,  $p = 0.01$  за CA2/3,  $p < 0.05$  за DG).



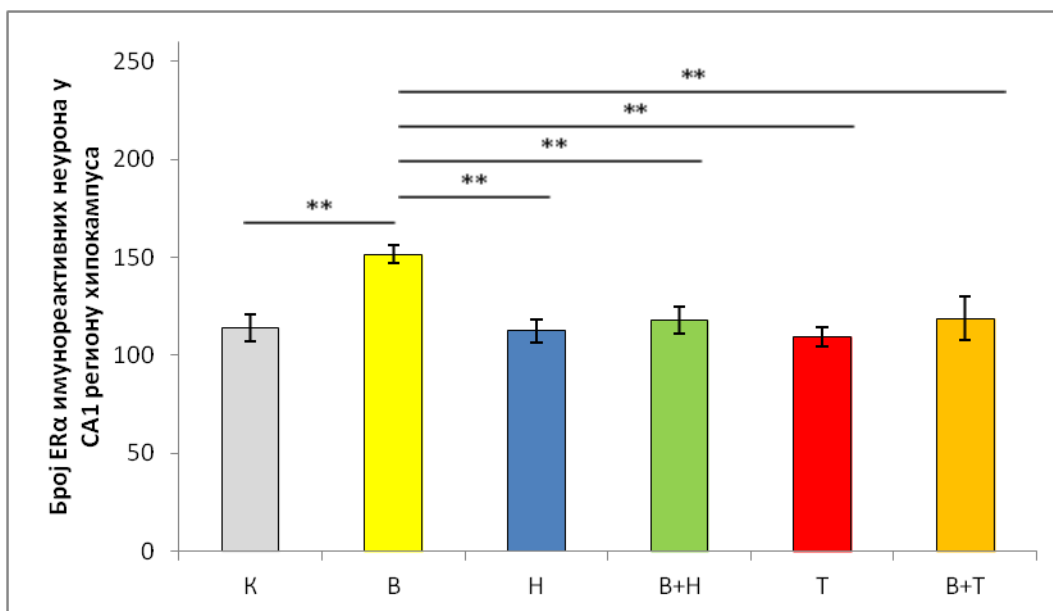
**Слика 4.68.** Анализа међусобне повезаности броја AR и PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.5. Анализа броја и дистрибуције ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу

##### 4.5.5.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број ER $\alpha$ имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса

На Слици 4.69. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на број имунореактивних неурона који експримирају ER $\alpha$  у СА1 региону хипокампуса. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=4.815$ ,  $df=5$ ). Програмирани тренажни процес у трајању од шест недеља је доводио до значајног повећања експресије ER $\alpha$  у СА1 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у поређењу са вредностима у контролној групи. Хронични третман супрафизиолошким дозама оба анаболичка стероида није значајно утицао на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 региону у односу на животиње из контролне групе. Животиње које су припадале седентарним групама које су третиране ААС-има, као и комбинованим групама, су имале статистички значајно мање ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса у односу на животиње код којих је примењен само протокол пливања ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.55. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на број AR имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса. Ефекат пролонгиране физичке активности се манифестовао кроз повећање броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 региону, док се ефекат примењених анаболичких стероида није значајно мењао вредности овог параметра. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса је имала хронична примена пролонгираног тренажног процеса ( $\eta^2=0.125$ ). Дуготрајна примена ААС-а је имала слабији ефекат ( $\eta^2=0.042$  за НД,  $\eta^2=0.061$  за ТЕ). Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени ефекат НД-а са физичком активношћу био нешто јачи ( $\eta^2=0.052$ ) у односу на НД ( $\eta^2=0.022$ ).



**Слика 4.69. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса. n=6 по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деканат, В+Н – вежбање и нандролон-деканат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.**

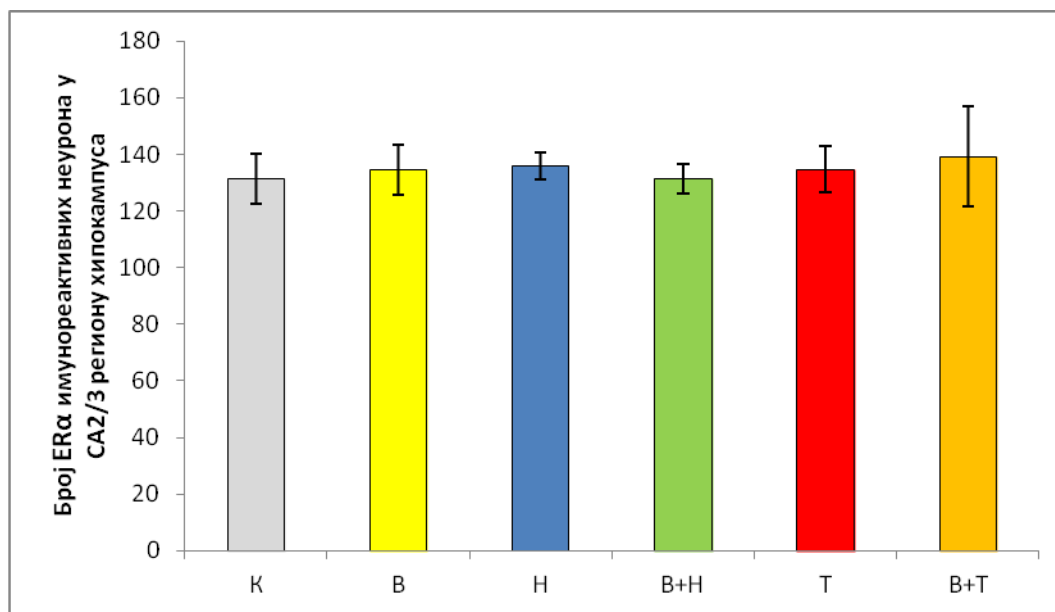
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↓	↓	↑↑↑
		0.042	0.061	0.125
Интеракције	Н-В	↓ 0.052		
	Т-В	↓ 0.022		

**Табела 4.55. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса.**

#### 4.5.5.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број ER $\alpha$ имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса

Ефекти шестонедељног програмираног тренажног процеса и примене супрафизиолошких доза ААС-а на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса су представљени на Слици 4.70. Наведени протоколи нису доводили до значајних промена овог параметра ( $F=0.090$ ,  $df=5$ ).

Табела 4.56. приказује факторе чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола. Ниједан од испитиваних фактора није значајно утицао на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса. Такође, нису забележене значајне интеракције између испитиваних фактора.



Слика 4.70. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса.  $n=6$  по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деканоат, В+Н – вежбање и нандролон-деканоат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ .

Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		0.001	0.006	0.001
Интеракције	Н-В	0.008		
	Т-В	0.003		

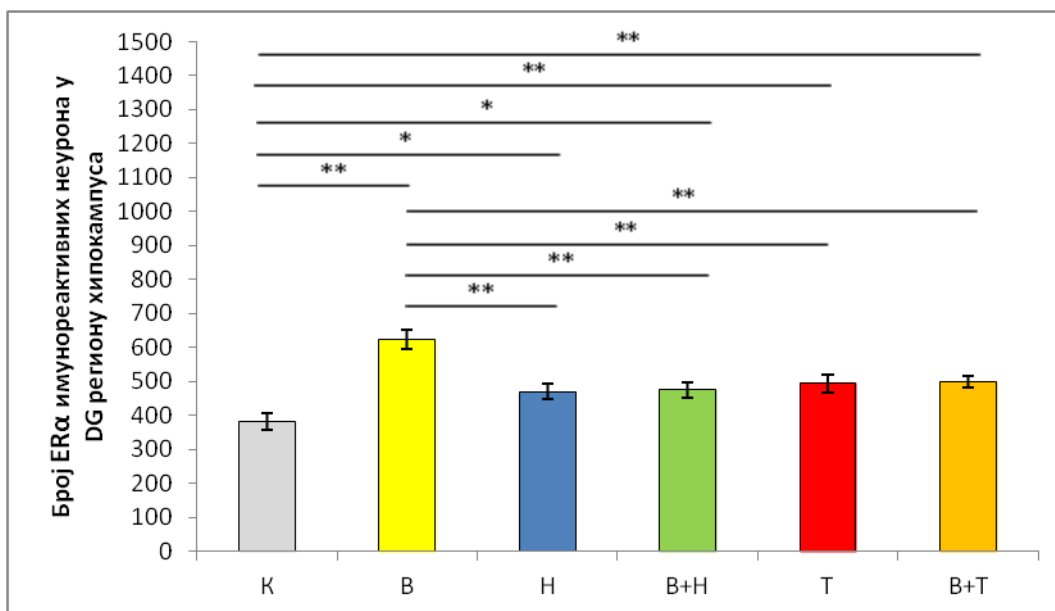
**Табела 4.56. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса.**



#### **4.5.5.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на број ER $\alpha$ имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса**

На слици 4.71. приказане су промене у броју ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG хипокампуса након хроничне примене програмираног тренажног процеса и/или примене супрафизиолошких доза ААС-а. Наведени третмани су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=10.363$ ,  $df=5$ ). Протокол пролонгиране физичке активности је доводио до значајног повећања броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролне вредности. Хронична примена супрафизиолошких доза оба ААС је, такође, изазивала значајно повећање броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG ( $p<0.05$  за НД,  $p<0.01$  за ТЕ) у односу на контролну групу, при чему је број ER $\alpha$  био значајно мањи од вредности у групи са физичком активношћу ( $p<0.01$ ). Исто тако, број ER $\alpha$  рецептора у комбинованим групама је био значајно већи од контролних вредности ( $p<0.01$ ), али и значајно мањи у поређењу са групом где је самостално спровођен протокол пливања ( $p<0.01$ ).

Табела 4.57. приказује утицај фактора чији су ефекти испитивани након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса је имао дуготрајни тренажни процес ( $\eta^2=0.148$ ). Анаболички стероиди нису остварили значајан ефекат у смислу промене броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG региону. Забележене су и значајне интеракције између поменутих фактора (здружени ефекти НД-а и ТЕ-а са тренажним процесом,  $\eta^2=0.131$  и  $\eta^2=0.123$ ), са доминантним утицајем физичке активности.



**Слика 4.71. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса. n=6 по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деканоат, В+Н – вежбање и нандролон-деканоат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.**

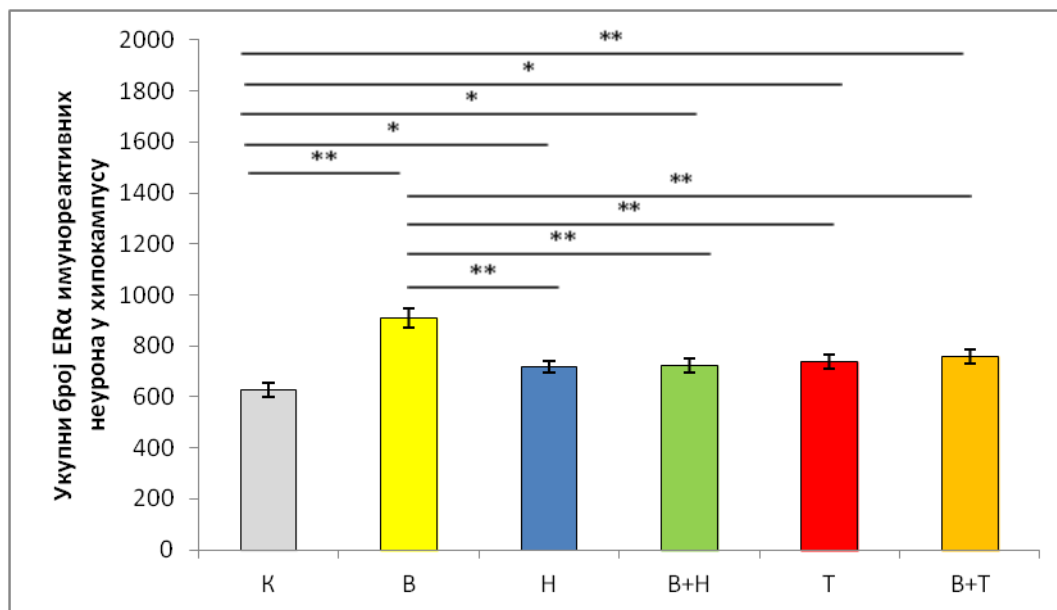
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		0.032	0.004	↑↑↑ 0.148
Интеракције	Н-В	↑↑↑ 0.131		
	Т-В	↑↑↑ 0.123		

**Табела 4.57. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG региону хипокампуса.**

#### **4.5.5.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на укупни број ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу**

На Слици 4.72. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканоата и тестостерон-енантата на број имунореактивних неурона који експримирају ER $\alpha$  у хипокампусу. Утицај примењених протокола на број ER $\alpha$  је у највећој мери осликавао ефекте уочене у DG региону хипокампуса ( $F=10.062$ ,  $df=5$ ). Протокол пролонгиране физичке активности је доводио до значајног повећања експресије ER $\alpha$  у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на вредности забележене у контролној групи. Хронични третман супрафизиолошким дозама оба анаболичка стероида је доводио до тога да животиње које су биле изложене том третману имају значајно више ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу ( $p<0.05$ ) у односу на животиње из контролне групе, док је примена анаболика за резултат имала смањење броја ових неурона у хипокампусу у односу на групу са вежбањем ( $p<0.01$ ). Иако је симултана примена одговарајућих AAC-а са пролонгираним тренажним процесом доводила до значајног смањења ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу у односу на групу код које је самостално спровођен протокол вежбања ( $p<0.01$ ), број ER $\alpha$  рецептора у комбинованим групама је и даље био значајно већи у односу на контролну групу ( $p<0.05$  за НД,  $p<0.01$  за ТЕ).

У Табели 4.58. су представљени фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на укупни број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у свим анализираним регионима хипокампуса је имао дуготрајни тренажни процес ( $\eta^2=0.160$ ). Анаболички стероиди нису остварили значајан ефекат у смислу промене укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу. Забележене су и значајне интеракције између поменутих фактора (здружени ефекти НД-а и ТЕ-а са тренажним процесом,  $\eta^2=0.142$  и  $\eta^2=0.098$ ), са доминантним утицајем физичке активности.



Слика 4.72. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на укупни број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу.  $n=6$  по групи, K – контрола, B – вежбање, H – нандролон-деканат, B+H – вежбање и нандролон-деканат, T – тестостерон-енантат, B+T – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

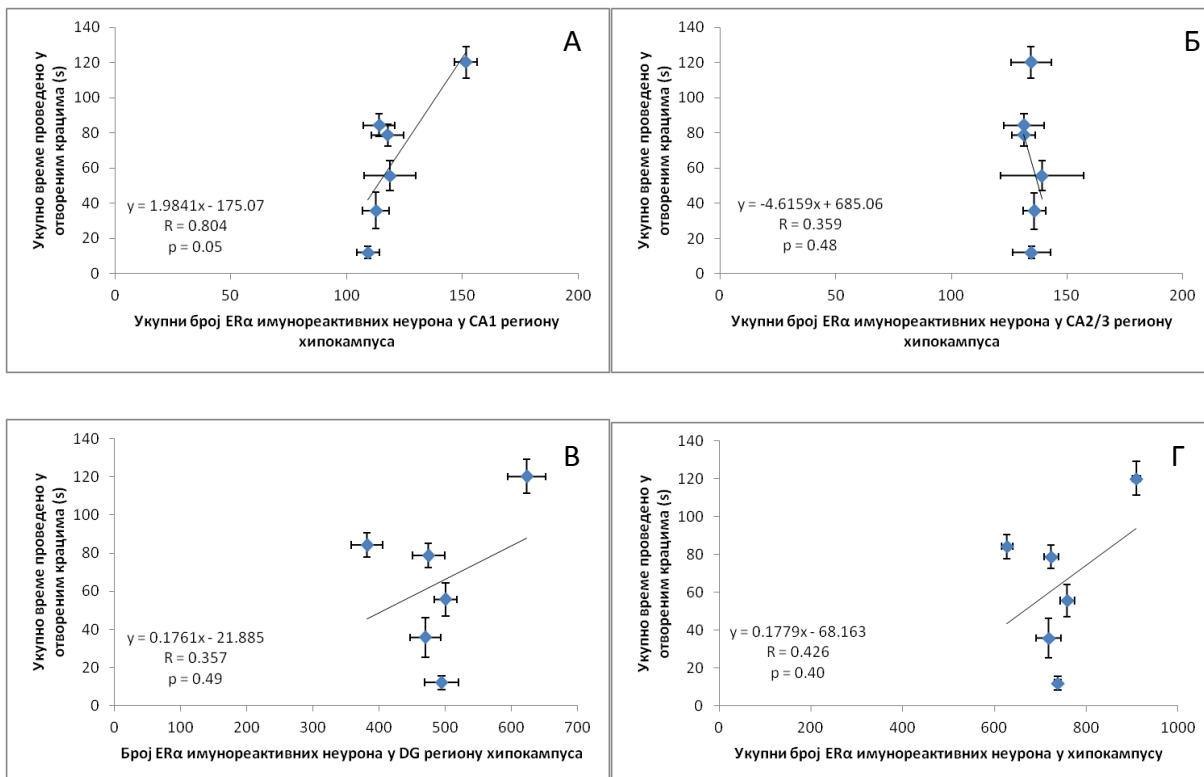
Појединачни фактори		Нандролон (H)	Тестостерон (T)	Вежбање (B)
		0.042	0	$\uparrow\uparrow\uparrow$ 0.160
Интеракције	H-B	$\uparrow\uparrow\uparrow$ 0.142		
	T-B	$\uparrow\uparrow$ 0.098		

Табела 4.58. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу.

#### 4.5.6. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима, хормонским анализама и имунохистохемијском анализом ERα имунореактивних неурона

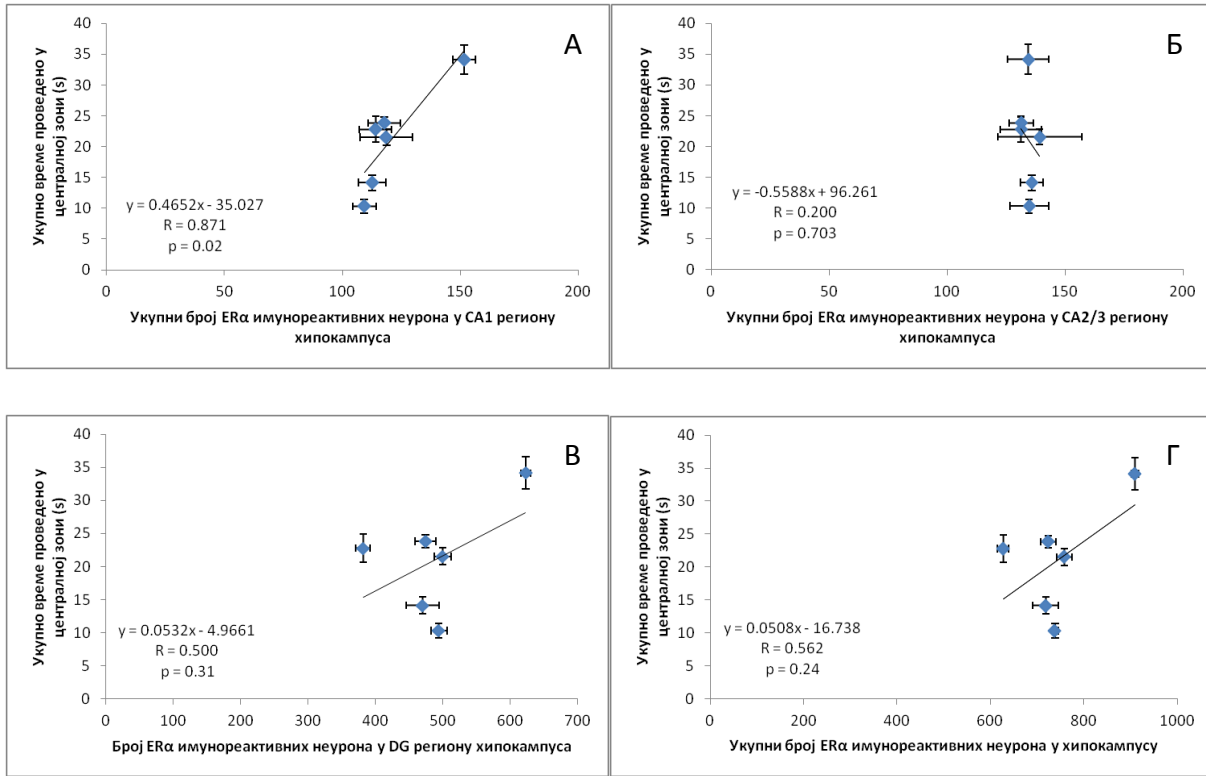
##### 4.5.6.1. Анализа међусобне повезаности броја ERα имунореактивних неурона у хипокампусу и бихевиоралних индикатора за процену степена анксиозности

Слика 4.73. приказује међусобну повезаност броја ERα имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ-а (поуздани индикатор за процену степена анксиозности). Анализа показује да у СА1 региону хипокампуса постоји јака, позитивна корелација између броја ERα имунореактивних неурона и укупног времена проведеног у отвореним крацима ( $R=0.8$ ,  $p<0.05$ ).



Слика 4.73. Анализа међусобне повезаности броја ERα имунореактивних неурона у хипокампусу (А – СА1 регион, Б – СА2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

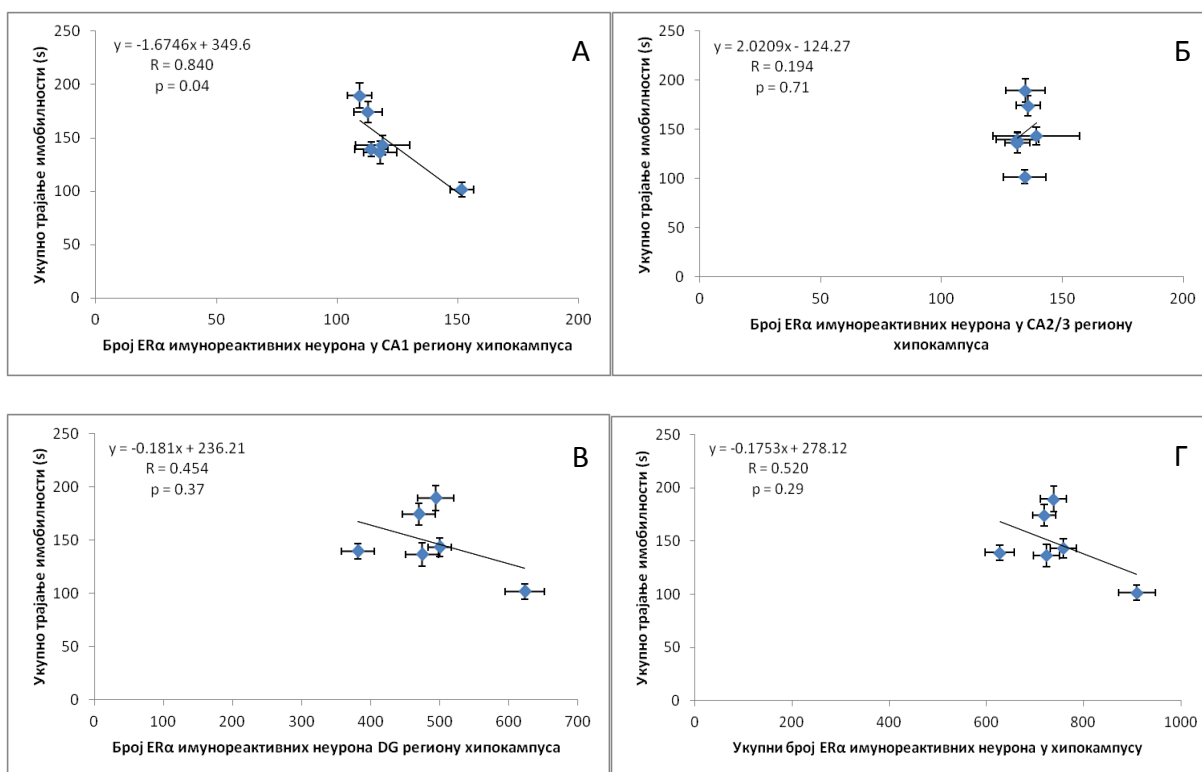
Међусобна повезаност броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (поуздани индикатор за процену степена анксиозности) је приказана на Слици 4.74. Анализа показује да у CA1 региону хипокампуса, постоји јака, позитивна корелација између броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона и укупног времена проведеног у централној зони ( $R \sim 0.9$ ,  $p < 0.05$ ).



**Слика 4.74.** Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у централној зони теста отвореног поља. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.6.2. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу и бихевиоралног индикатора за процену степена депресивности

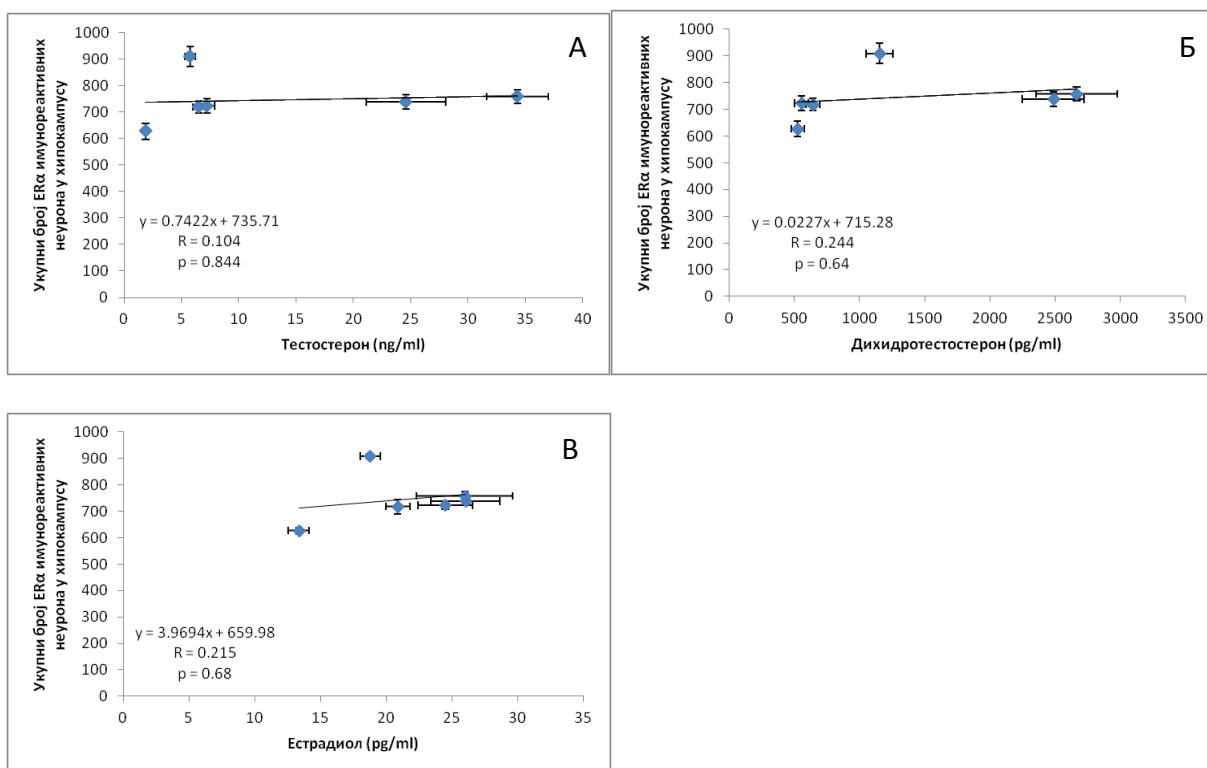
Међусобна повезаност броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног трајања имобилности у ТКР (један од најчешће коришћених индикатора за процену степена депресивности) је приказана на Слици 4.75. Анализа показује да у CA1 региону хипокампуса постоји јака, негативна корелација између броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона и укупног трајања имобилности ( $R=0.84$ ,  $p<0.05$ ).



**Слика 4.75.** Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу (A – CA1 регион, B – CA2/3 регион, C – DG регион, D – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног трајања имобилности у тесту качења за реп. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

### 4.5.6.3. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу и хормонских анализа

На Слици 4.76. је представљена међусобна повезаност броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и хормонских анализа (тестостерон, дихидротестостерон и естрадиол). Анализа показује да не постоји корелација између укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона и серумских концентрација различитих хормона ( $R \sim 0.2$ , без статистичке значајности).

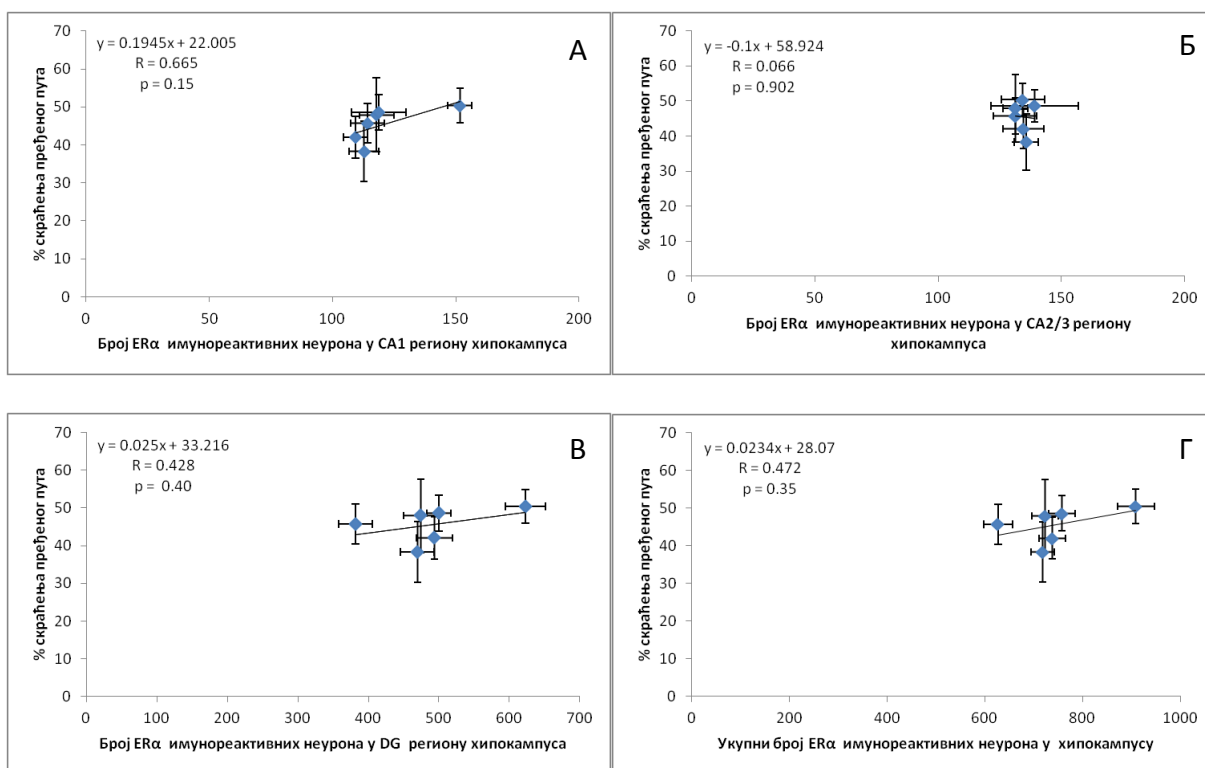


Слика 4.76. Анализа међусобне повезаности укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и серумских концентрација хормона (А – тестостерон, Б – дихидротестостерон, В – естрадиол). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.



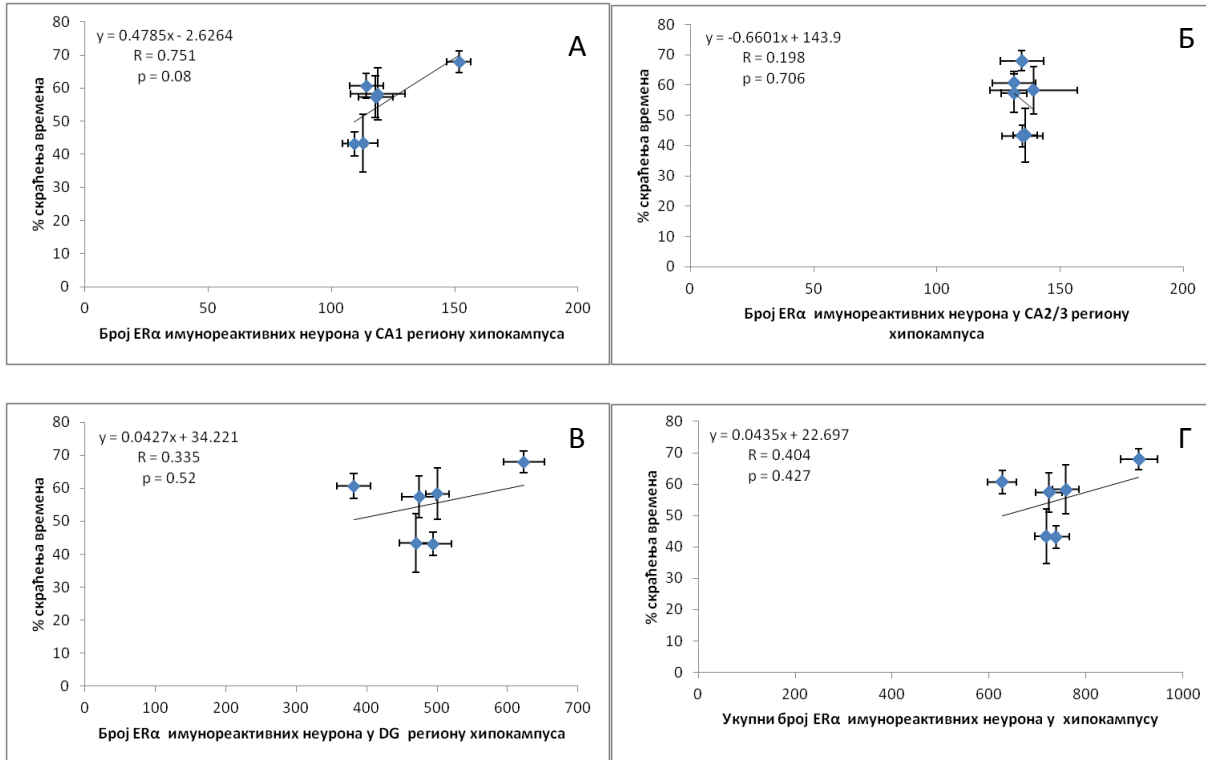
#### 4.5.6.4. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу и параметара за процену когнитивних способности

Међусобна повезаност броја имунореактивних ER $\alpha$  неурона у хипокампусу и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта је приказана на Слици 4.77. Анализа показује да не постоји корелација између броја имунореактивних ER $\alpha$  неурона и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта ( $R=0.4$ , без статистичке значајности).



Слика 4.77. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

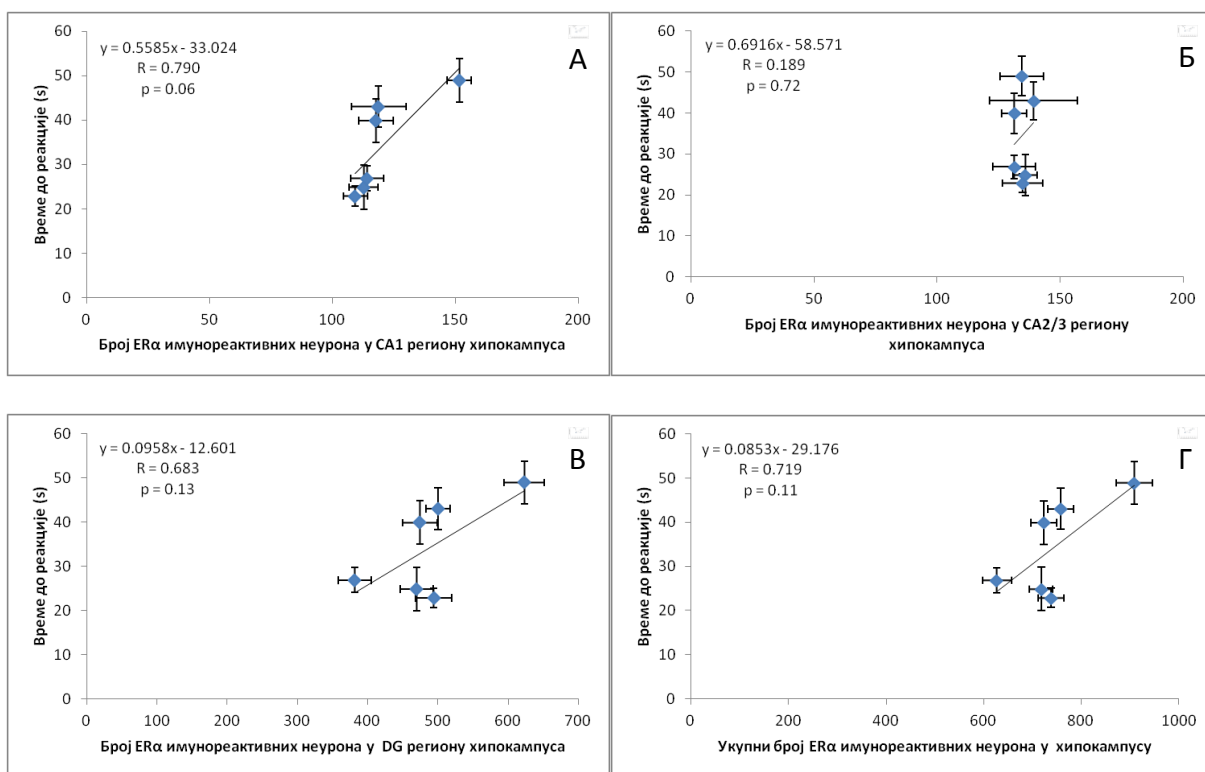
На Слици 4.78. је представљена међусобна повезаност броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и процента скраћења времена у Барнсовом тесту. Анализа показује не постоји корелација између броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона и процента скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта ( $R=0.4$ , без статистичке значајности).



**Слика 4.78.** Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.6.5. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу и параметра за процену ноцицепције

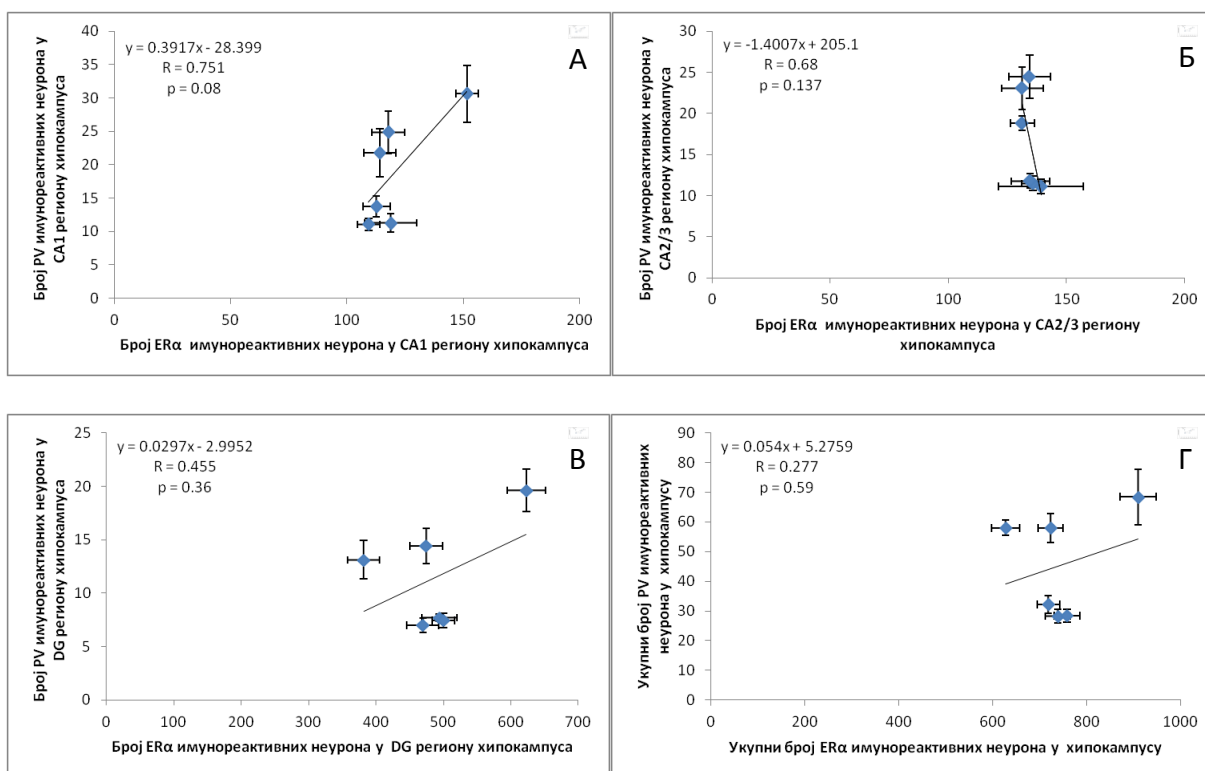
На Слици 4.79. је представљена међусобна повезаност броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и времена до реакције у тесту вруће плоче. Анализа показује да не постоји корелација између укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона (у појединачним регионима, као и на укуној површини пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче ( $R \sim 0.6$ , без статистичке значајности).



Слика 4.79. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.6.6. Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$ и PV имунореактивних неурона у хипокампусу

На Слици 4.80. је представљена међусобна повезаност броја ER $\alpha$  и PV имунореактивних неурона у хипокампусу. Анализа показује да не постоји корелација између укупног броја ER $\alpha$  PV имунореактивних неурона (у појединачним регионима, као и на укупној површини пресека хипокампуса,  $R \sim 0.55$ , без статистичке значајности).



**Слика 4.80.** Анализа међусобне повезаности броја ER $\alpha$  и PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – СА1 регион, Б – СА2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.7. Анализа броја и дистрибуције ER $\beta$ имунореактивних неурона у хипокампусу

Описана метода за детекцију ER $\beta$  имунореактивних неурона у хипокампусу није довела до специфичног везивања антитела, па квантификација није могла да буде спроведена.

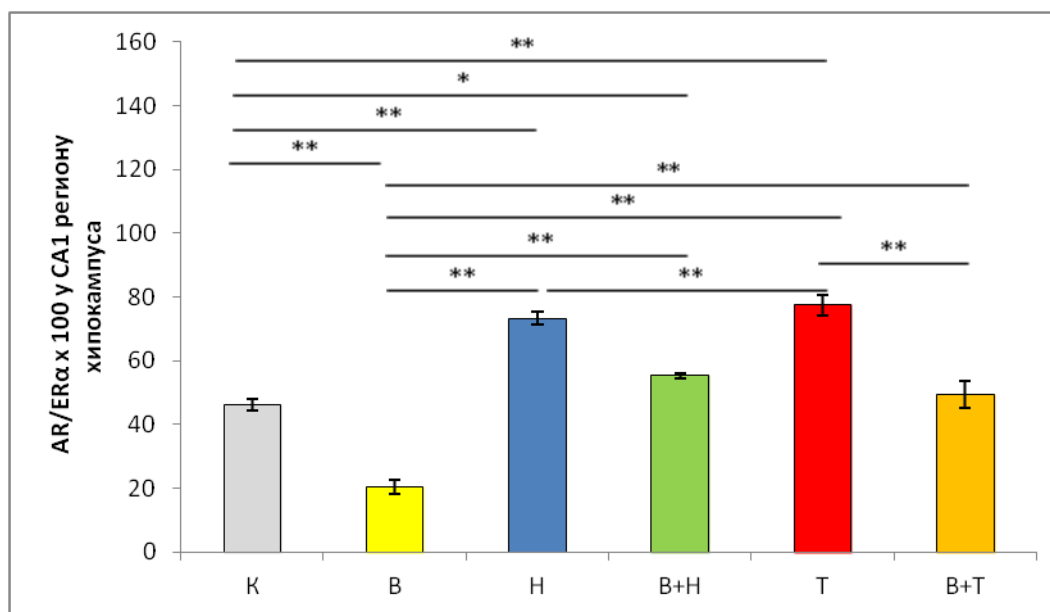
#### **4.5.8. Анализа односа броја AR и ER $\alpha$ имунореактивних неурона (AR/ER $\alpha$ индекс) у хипокампусу**

##### **4.5.8.1. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ER $\alpha$ индекса у CA1 региону хипокампуса**

На Слици 4.81. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на AR/ER $\alpha$  индекс у CA1 региону хипокампуса. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=63.979$ ,  $df=5$ ). Пролонгирани протокол физичке активности је доводио до значајног смањења AR/ER $\alpha$  индекса у CA1 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронични третман супрафизиолошким дозама оба анаболичка стероида је доводио до тога да животиње које су биле изложене том третману имају значајно већи AR/ER $\alpha$  индекс у CA1 региону ( $p<0.01$ ) у односу на животиње из контролне групе. Комбинована нандролонска група је имала статистички значајно већи AR/ER $\alpha$  индекс у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ), као и у односу на групу код које је самостално спровођен тренажни процес ( $p<0.01$ ), док је комбинована тестостеронска група показала значајно већи AR/ER $\alpha$  индекс у поређењу са групом која је вежбала ( $p<0.01$ ), као и у односу на седентарну тестостеронску групу ( $p<0.01$ ). Група третирана ТЕ-ом је имала значајно већи AR/ER $\alpha$  индекс у CA1 региону хипокампуса у односу на седентарну нандролонску групу ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.59. су приказани сви фактори, чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на AR/ER $\alpha$  индекс у CA1 региону хипокампуса. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање AR/ER $\alpha$  индекса у CA1 региону, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз смањење вредности овог параметра. Највећи (негативан у нумеричком смислу) утицај на промену AR/ER $\alpha$  индекса у CA1 региону хипокампуса је имала хронична примена пролонгираног тренажног процеса ( $\eta^2=0.397$ ). Утицај дуготрајне примене нандролон-деканата је био велики ( $\eta^2=0.235$ ), док је примена тестостерон-енантата имала слабији ефекат ( $\eta^2=0.194$ ) на повећање AR/ER $\alpha$  индекса у CA1 региону.

Забележене су интеракције између појединачних фактора, при чему је здружени ефекат (позитиван у нумеричком смислу) НД-а са физичком активношћу био нешто јачи ( $\eta^2=0.024$ ) у односу на ТЕ ( $\eta^2=0.011$ ).



**Слика 4.81. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ERα индекса у СА1 региону хипокампуса.** n=6 по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деcanoат, В+Н – вежбање и нандролон -деcanoат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон -енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

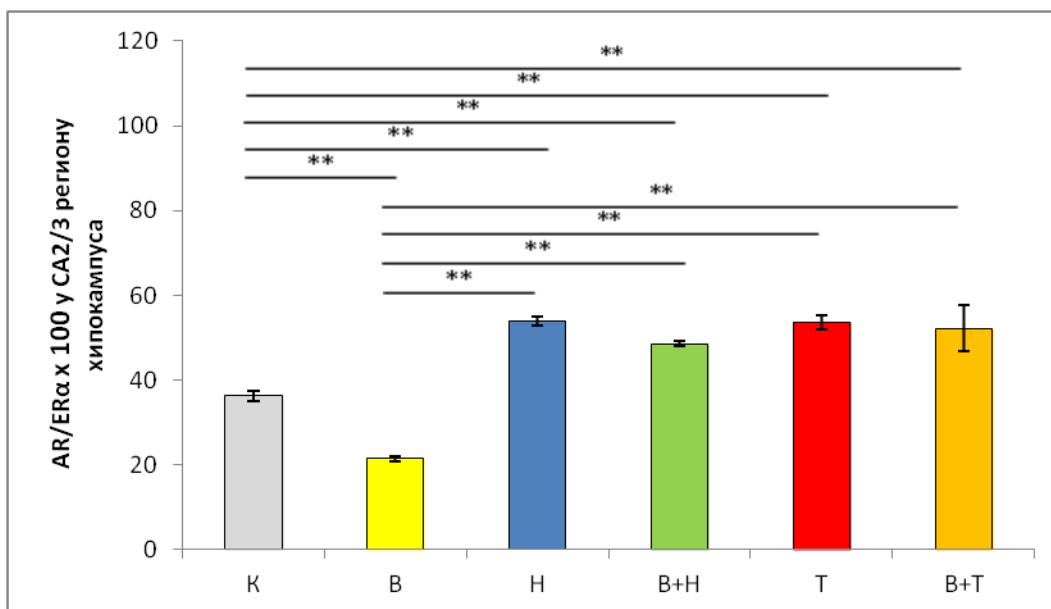
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.235	↑↑ 0.194	↓↓↓ 0.397
Интеракције	Н-В	↑ 0.024		
	Т-В	↑ 0.011		

**Табела 4.59. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на вредност AR/ERα индекса у СА1 региону хипокампуса.**

#### 4.5.8.2. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ER $\alpha$ индекса у СА2/3 региону хипокампуса

Ефекти пролонгираног тренажног процеса и примене супрафизиолошких доза ААС на AR/ER $\alpha$  индекс у СА2/3 региону хипокампуса су представљени на Слици 4.82. Сви примењени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=28.730$ ,  $df=5$ ). Протокол физичке активности је изазвао значајно смањење AR/ER $\alpha$  индекса у СА2/3 региону хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронична примена оба анаболичка стероида је резултовала значајним повећањем AR/ER $\alpha$  индекса у СА2/3 региону у односу на контролну, као и групу са вежбањем ( $p<0.01$ ). Дуготрајна примена нандролон-деканоата, као и тестостерон-енантата, у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом доводила је до статистички значајног повећања AR/ER $\alpha$  индекса у СА2/3 региону ( $p<0.01$ ) у односу на групу код које је примењиван само тренажни протокол, као и у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ).

Табела 4.60. приказује факторе чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на AR/ER $\alpha$  индекс у СА2/3 региону хипокампуса. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање AR/ER $\alpha$  индекса у СА2/3 региону, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз смањење вредности овог параметра. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности AR/ER $\alpha$  индекса у СА2/3 региону хипокампуса је имала хронична примена тестостерон-енантата ( $\eta^2=0.239$ ), док је исти тип промене забележен након примене нандролон-деканоата ( $\eta^2=0.152$ ). Утицај дуготрајног тренажног процеса на смањење AR/ER $\alpha$  индекса у СА2/3 региону хипокампуса је био мали ( $\eta^2=0.064$ ). Интеракције између поменутих фактора нису биле значајне.



Слика 4.82. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у CA2/3 региону хипокампуса. n=6 по групи, K – контрола, B – вежбање, H – нандролон-деcanoат, B+H – вежбање и нандролон -деcanoат, T – тестостерон-енантат, B+T – вежбање и тестостерон -енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ , \*\* p<0.01,.

Појединачни фактори		Нандролон (H)	Тестостерон (T)	Вежбање (B)
		↑↑ 0.152	↑↑↑ 0.239	↓ 0.064
Интеракције	H-B	↑ 0.003		
	T-B	↑ 0.034		

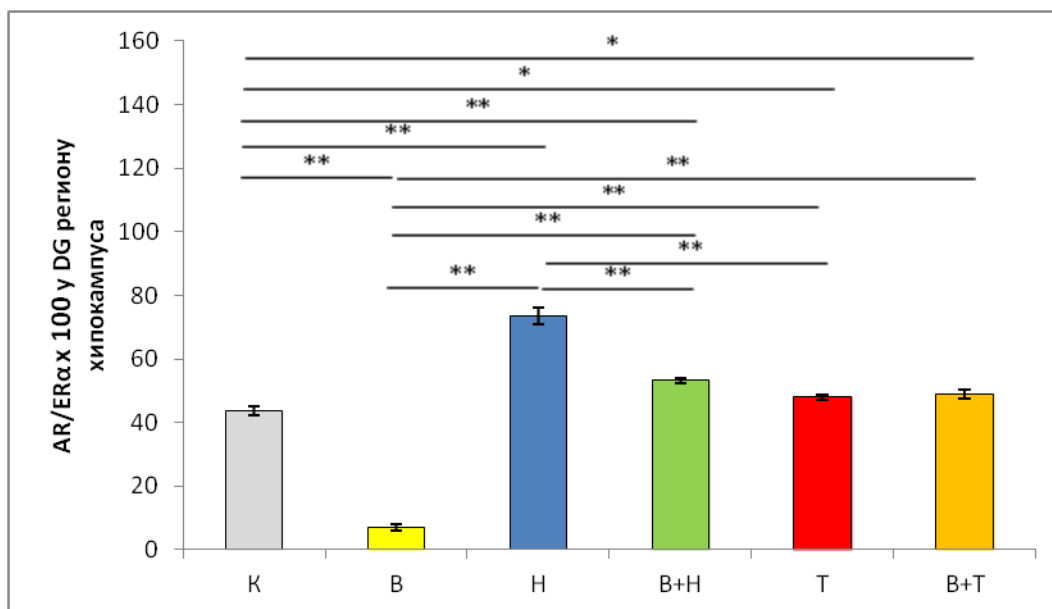
Табела 4.60. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у CA2/3 региону хипокампуса.



#### 4.5.8.3. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканоат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ER $\alpha$ индекса у дентатном гирусу хипокампуса

Слика 4.83. приказује промене AR/ER $\alpha$  индекса у DG хипокампуса након хроничне примене програмираног тренажног процеса и/или примене супрафизиолошких доза ААС-а. Наведени третмани су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=219.231$ ,  $df=5$ ). Протокол физичке активности је доводио до значајног смањења AR/ER $\alpha$  индекса у дентатном гирусу хипокампуса ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронична примена оба анаболичка стероида је резултовала значајним повећањем AR/ER $\alpha$  индекса у дентатном гирусу у односу на контролну, као и групу са вежбањем ( $p<0.01$  за НД,  $p<0.05$  за ТЕ), при чему је повећање вредности AR/ER $\alpha$  индекса изазвано применом НД-а било значајно веће и у односу на повећање изазвано применом ТЕ-а ( $p<0.01$ ). Дуготрајна примена нандролон-деканоата, као и тестостерон-енантата, у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом доводила је до статистички значајног повећања AR/ER $\alpha$  индекса у дентатном гирусу ( $p<0.01$ ) у односу на групу код које је примењиван само тренажни протокол ( $p<0.01$ ), као и у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Смањење вредности AR/ER $\alpha$  индекса након физичке активности се манифестовало и кроз значајно смањење индекса у нандролонској комбинованој групи у односу на седентарну нандролонску групу ( $p<0.01$ ).

У табели 4.61. представљен је утицај фактора чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у DG региону хипокампуса. Анаболички стероиди су остварили ефекат кроз повећање AR/ER $\alpha$  индекса у DG региону, док се ефекат пролонгираног тренинга испољавао кроз смањење вредности овог параметра. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности AR/ER $\alpha$  индекса у DG региону хипокампуса је имала примена нандролон-деканоата ( $\eta^2=0.493$ ). Исти тип промене знатно слабијег утицаја је остварен након примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.015$ ). Супротан ефекат је забележен након протокола физичке активности ( $\eta^2=0.236$ ). Забележена је значајна интеракција између ТЕ-а и физичке активности ( $\eta^2=0.155$ ).



Слика 4.83. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у DG региону хипокампуса. n=6 по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деканат, В+Н – вежбање и нандролон-деканат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p<0.05, \*\* p<0.01.

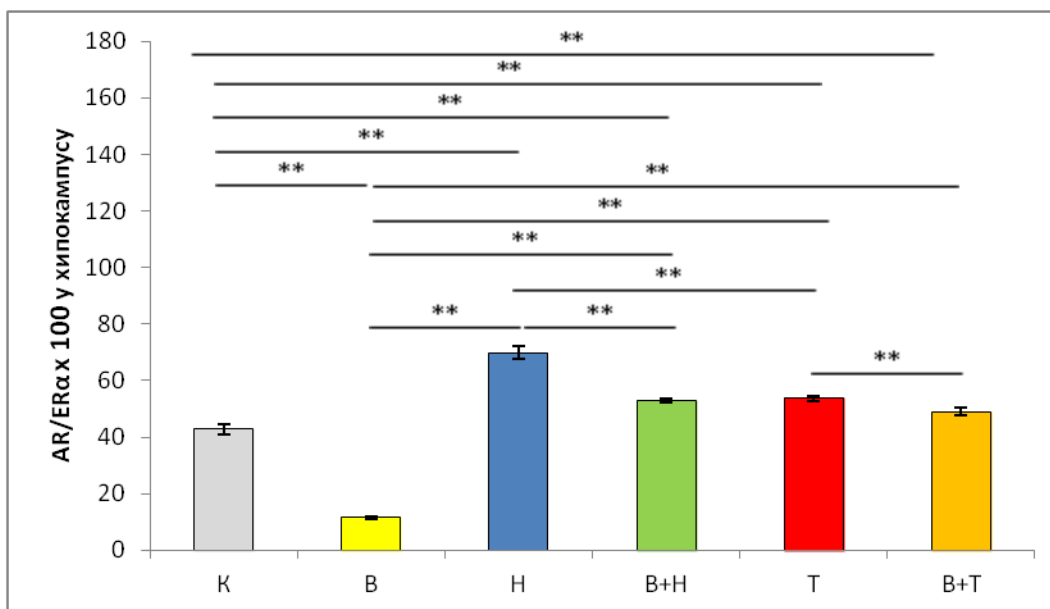
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.493	↑ 0.015	↓↓↓ 0.236
Интеракције	Н-В	↑ 0.002		
	Т-В	↑↑ 0.155		

Табела 4.61. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у DG региону хипокампуса.

#### **4.5.8.4. Утицај програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деканат, тестостерон-енанат) на вредност AR/ER $\alpha$ индекса у хипокампусу**

На Слици 4.84. су представљени ефекти програмираног тренажног процеса и хроничне примене супрафизиолошких доза нандролон-деканата и тестостерон-енантата на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу. Сви наведени протоколи су доводили до значајних промена овог параметра ( $F=180.505$ ,  $df=5$ ). Протокол физичке активности је доводио до значајног смањења AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу ( $p<0.01$ ) у односу на контролну групу. Хронична примена оба анаболичка стероида је резултовала значајним повећањем AR/ER $\alpha$  индекса у односу на контролну, као и групу са вежбањем ( $p<0.01$ ), при чему је повећање вредности AR/ER $\alpha$  индекса изазвано применом НД-а било значајно веће и у односу на повећање изазвано применом ТЕ-а ( $p<0.01$ ). Дуготрајна примена нандролон-деканата, као и тестостерон-енантата, у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом је доводила до статистички значајног повећања AR/ER $\alpha$  индекса ( $p<0.01$ ) у односу на групу код које је примењиван само тренажни протокол, као и у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Смањење вредности AR/ER $\alpha$  индекса након физичке активности се манифестовало и кроз значајно смањење индекса у комбинованим групама у односу на седентарне групе третиране одговарајућим ААС-ом ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.62. су приказани сви фактори чији је ефекат испитиван након спровођења одговарајућих протокола, који су значајно утицали на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу. Ефекат анаболичких стероида се манифестовао кроз повећање вредности AR/ER $\alpha$  индекса, док се ефекат пролонгиране физичке активности испољавао кроз смањење вредности овог параметра у хипокампусу. Највећи (позитиван у нумеричком смислу) утицај на промену вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу је имала хронична примена НД-а ( $\eta^2=0.442$ ). Ефекат примене високих доза ТЕ-а у току шест недеља третмана је био знатно слабији ( $\eta^2=0.049$ ). Утицај примене дуготрајног тренажног процеса је био значајан ( $\eta^2=0.255$ ). Забележена је значајна интеракција једино између ТЕ-а и физичке активности ( $\eta^2=0.090$ ).



**Слика 4.84. Утицај физичке активности и хроничне примене супрафизиолошких доза андрогених анаболичких стероида (нандролон-деcanoат, тестостерон-енантат) на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу. n=6 по групи, К – контрола, В – вежбање, Н – нандролон-деcanoат, В+Н – вежбање и нандролон-деcanoат, Т – тестостерон-енантат, В+Т – вежбање и тестостерон-енантат. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p<0.01.**

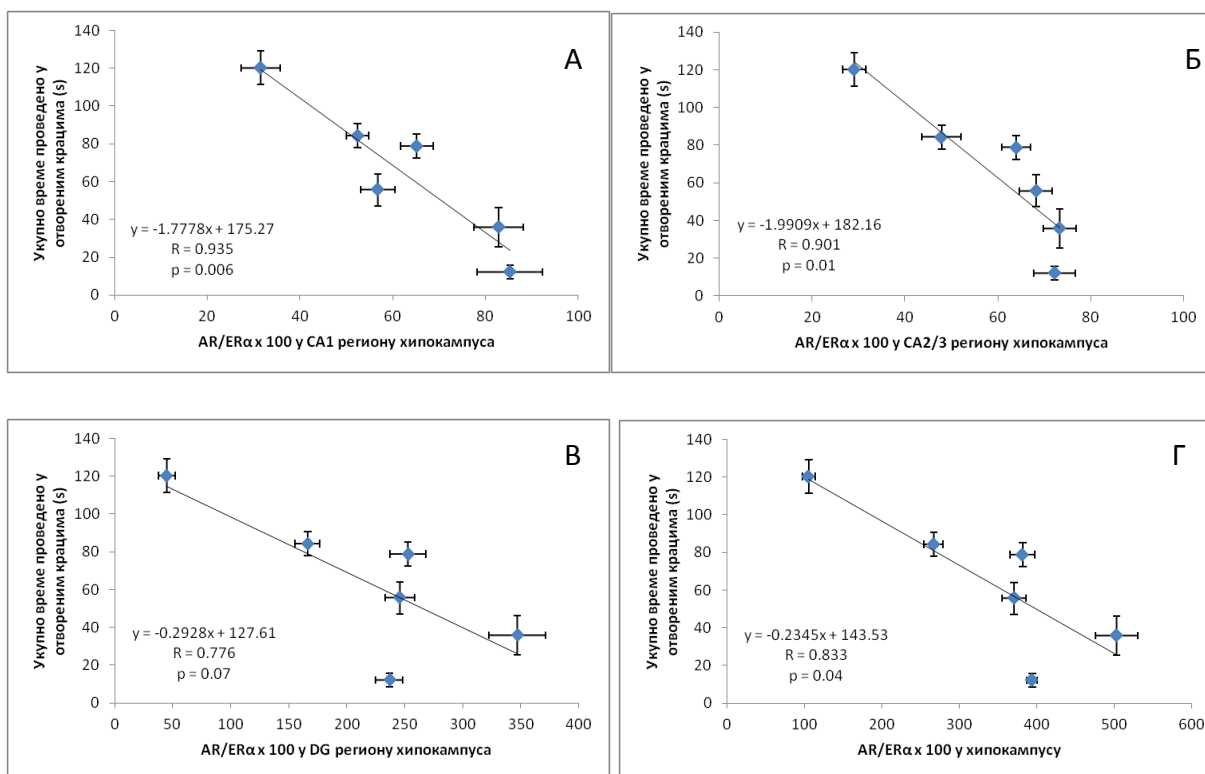
Појединачни фактори		Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)
		↑↑↑ 0.442	↑ 0.049	↓↓↓ 0.255
Интеракције	Н-В	0		
	Т-В	↑ 0.090		

**Табела 4.62. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на вредност AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу.**

#### 4.5.9. Анализа међусобне повезаности параметара бихевиоралних тестова, хормонских анализа и имунохистохемијске анализе AR/ER $\alpha$ индекса

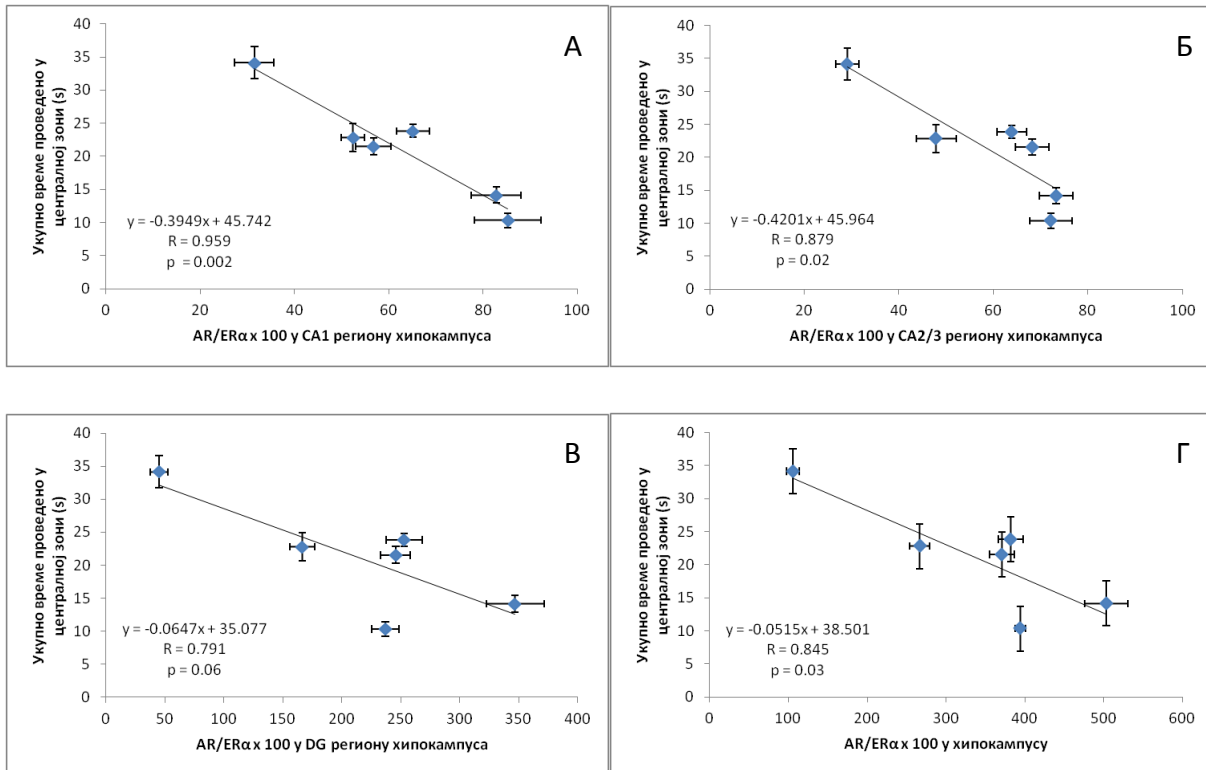
##### 4.5.9.1. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$ индекса у хипокампусу и бихевиоралних индикатора за процену степена анксиозности

Слика 4.85. приказује међусобну повезаност вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЈ-а. Анализа показује да у свим регионима хипокампуса (осим у дентатном гирусу,  $R=0.776$ ,  $p=0.07$ ) постоји јака, негативна, корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и укупног времена проведеног у отвореним крацима ( $R=0.935$ ,  $p<0.01$  за CA1,  $R=0.901$ ,  $p<0.01$  за CA2/3 и  $R=0.833$ ,  $p<0.05$  за укупну површину пресека хипокампуса).



Слика 4.85. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЈ. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

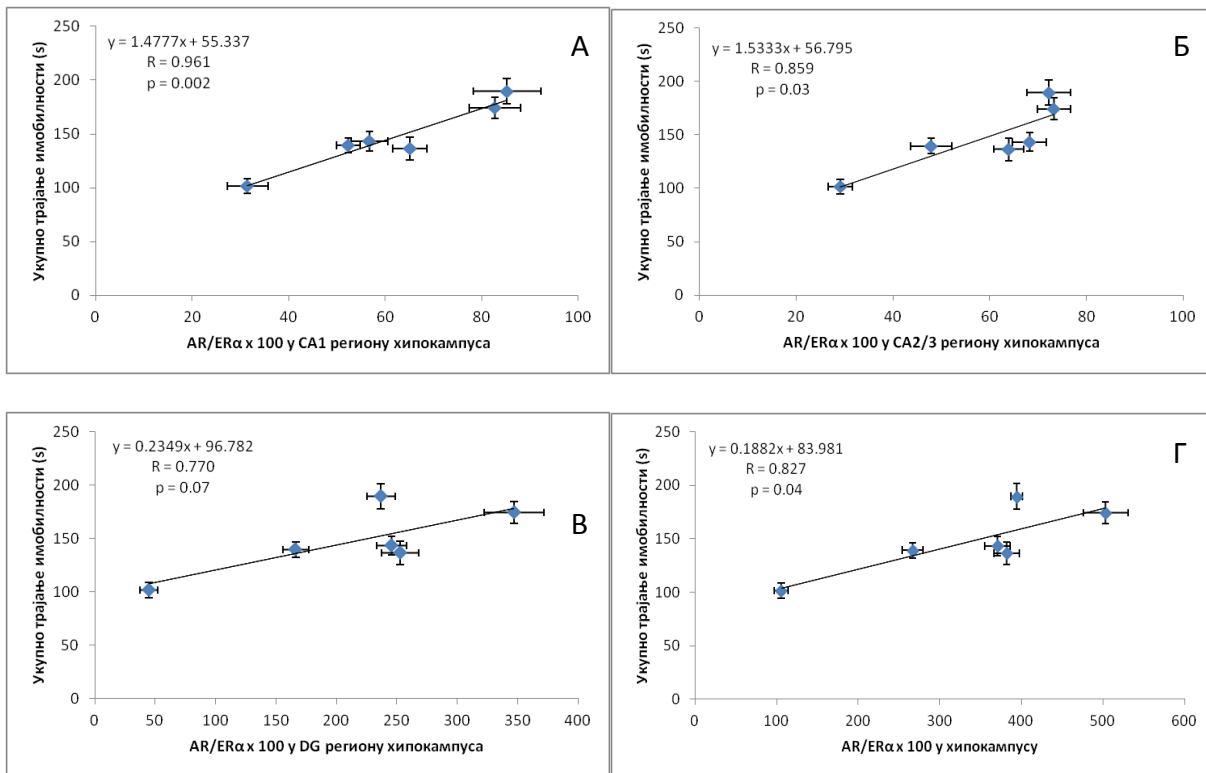
Међусобна повезаност броја вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (поуздани индикатор за процену степена анксиозности) је приказана на Слици 4.86. Анализа показује да у свим анализариним регионима (осим у дентантном гирусу R=0.791, p=0.06), постоји јака (негативна) корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и укупног времена проведеног у централној зони (R=0.959, p<0.01 за CA1, R=0.879, p<0.05 за CA2/3 и R=0.845, p<0.05 за укупну површину пресека хипокампуса).



**Слика 4.86.** Анализа међусобне повезаности броја вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног времена проведеног у централној зони теста отвореног поља. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.9.2. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$ индекса у хипокампусу и бихевиоралног индикатора за процену степена депресивности

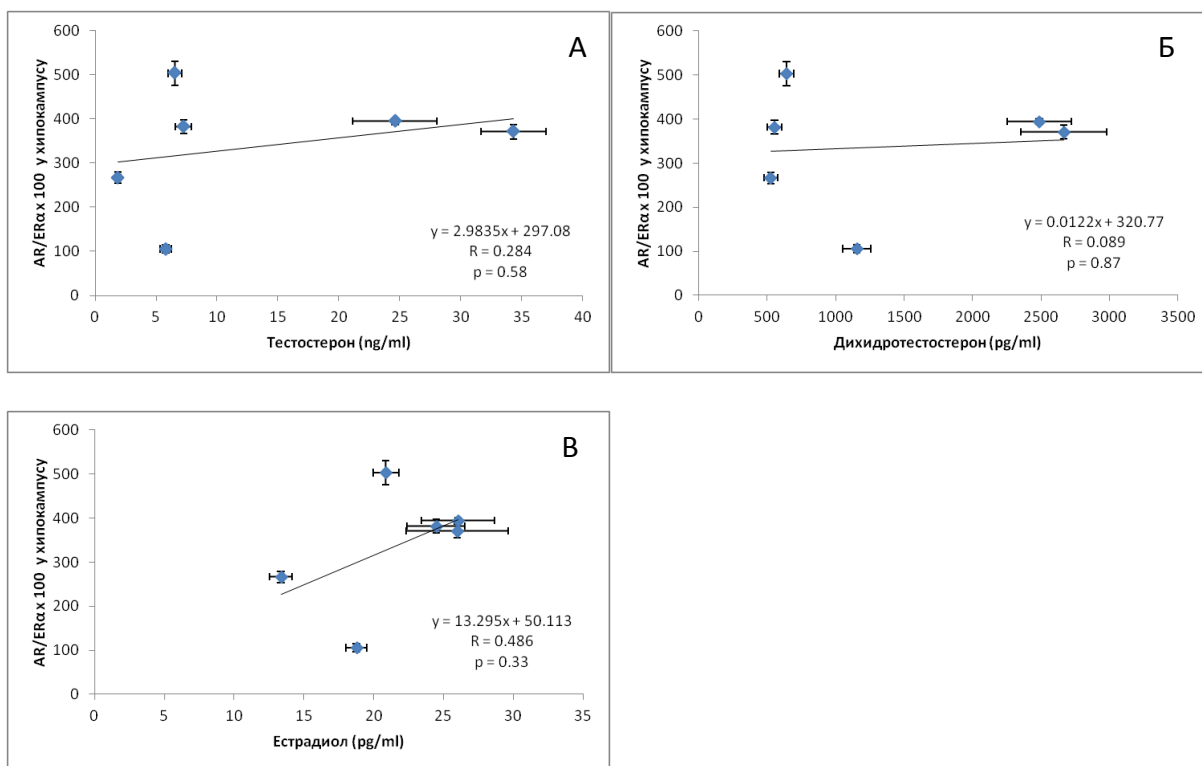
Међусобна повезаност броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу и укупног трајања имобилности у ТКР (један од најчешће коришћених индикатора за процену степена депресивности) је приказана на Слици 4.87. Анализа показује да у свим испитиваним регионима (осим у дентантном гирусу R=0.770, p=0.07), постоји јака (негативна) корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и укупног времена проведеног у централној зони (R=0.961, p<0.01 за CA1, R=0.859, p<0.05 за CA2/3 и R=0.827, p<0.05 за укупну површину пресека хипокампуса).



Слика 4.87. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и укупног трајања имобилности у тесту качења за реп. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

### 4.5.9.3. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$ индекса у хипокампусу и хормонских анализа

На Слици 4.88. је представљена међусобна повезаност вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и хормонских анализа (тестостерон, дихидротестостерон и естрадиол). Анализа показује да не постоји корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и серумских концентрација различитих хормона ( $R \sim 0.3$ , без статистичке значајности).

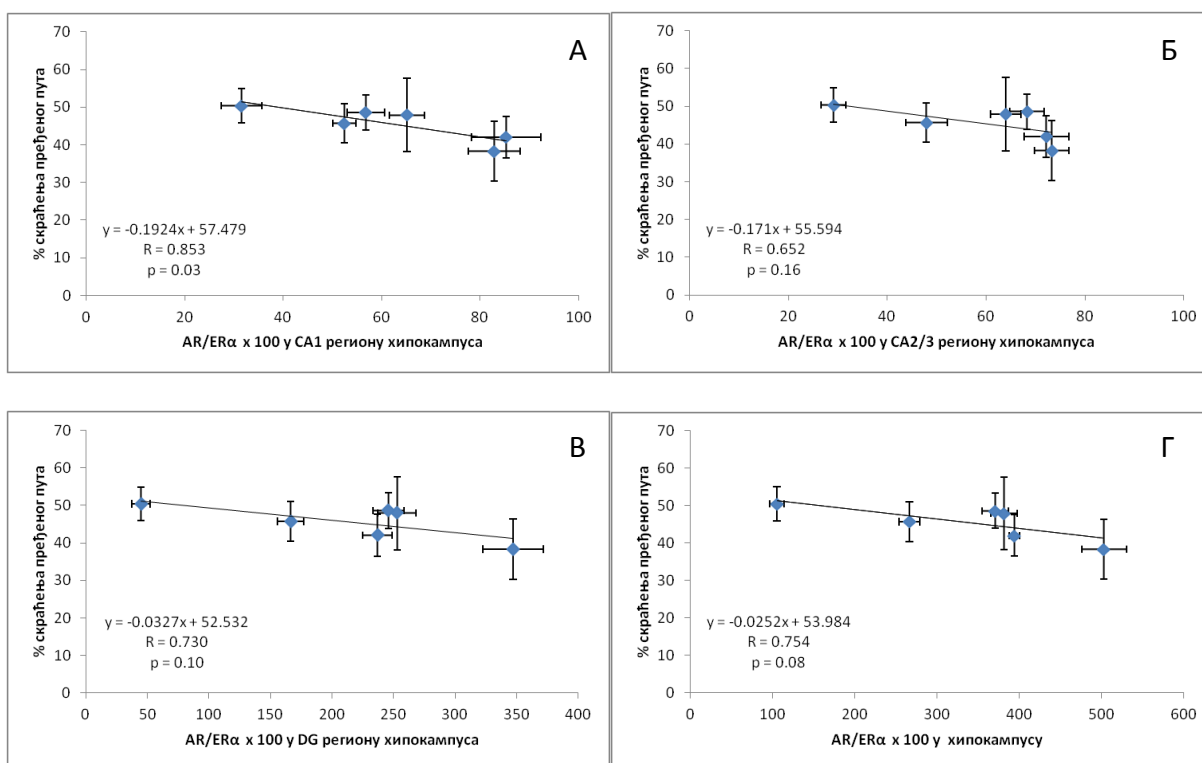


Слика 4.88. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и серумских концентрација хормона (А – тестостерон, Б – дихидротестостерон, В – естрадиол). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.



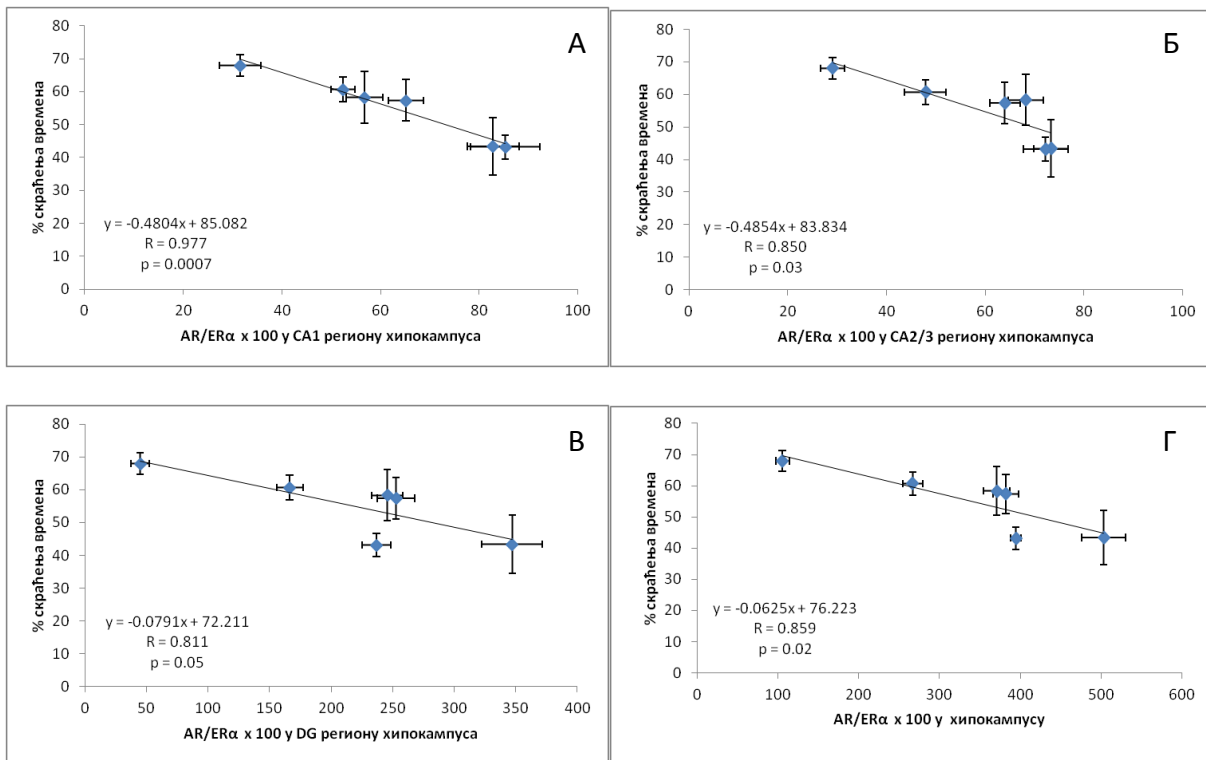
#### 4.5.9.4. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$ индекса у хипокампусу и параметара за процену когнитивних способности

Међусобна повезаност вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта је приказана на Слици 4.89. Анализа показује да у CA1 региону постоји негативна корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и процента скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта ( $R=0.853$ ,  $p<0.05$ ).



Слика 4.89. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења пређеног пута у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

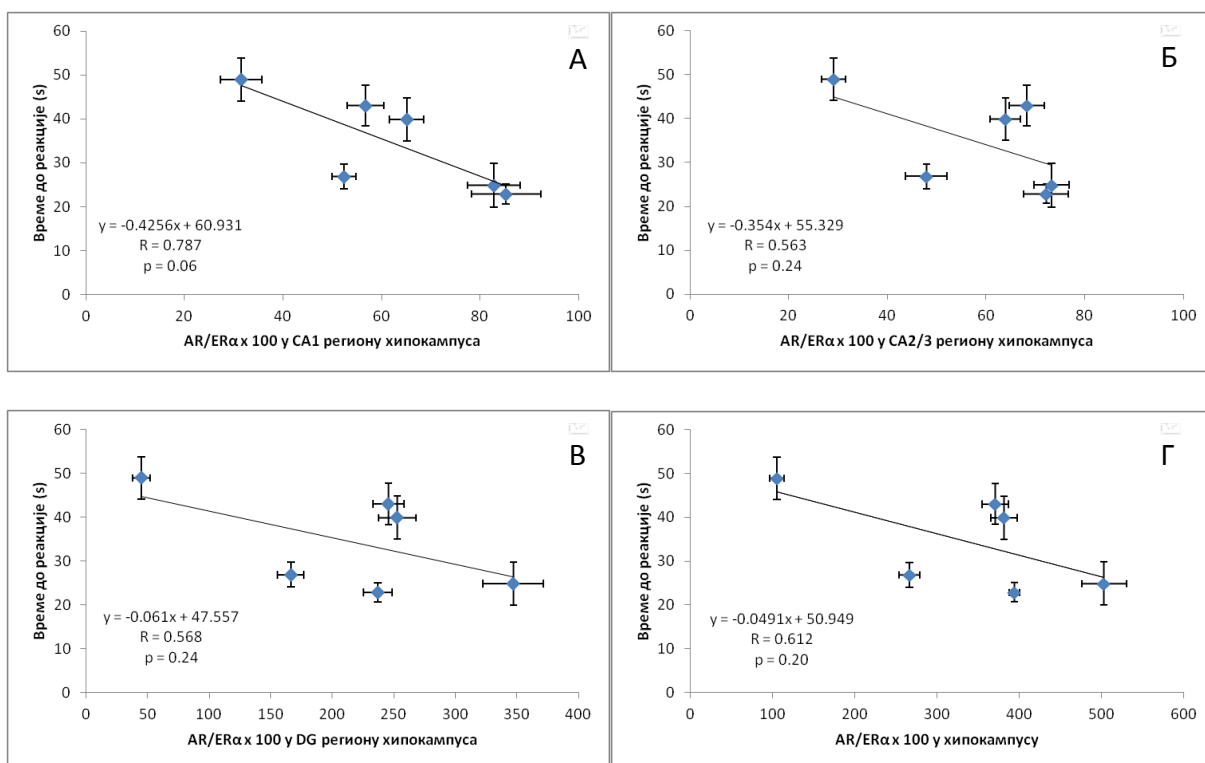
На Слици 4.90. је представљена међусобна повезаност вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и процента скраћења времена у Барнсовом тесту. Анализа показује да у свим анализарним регионима постоји јака (негативна) корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и процента скраћења времена у Барнсовом тесту ( $R=0.977$ ,  $p<0.01$  за CA1,  $R=0.850$ ,  $p<0.05$  за CA2/3,  $R=0.811$ ,  $p=0.05$  за DG и  $R=0.859$ ,  $p<0.05$  укупну површину пресека хипокампуса).



**Слика 4.90.** Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и % скраћења времена у тесту Барнсовог лавиринта. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.9.5. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$ индекса у хипокампусу и параметра за процену ноцицепције

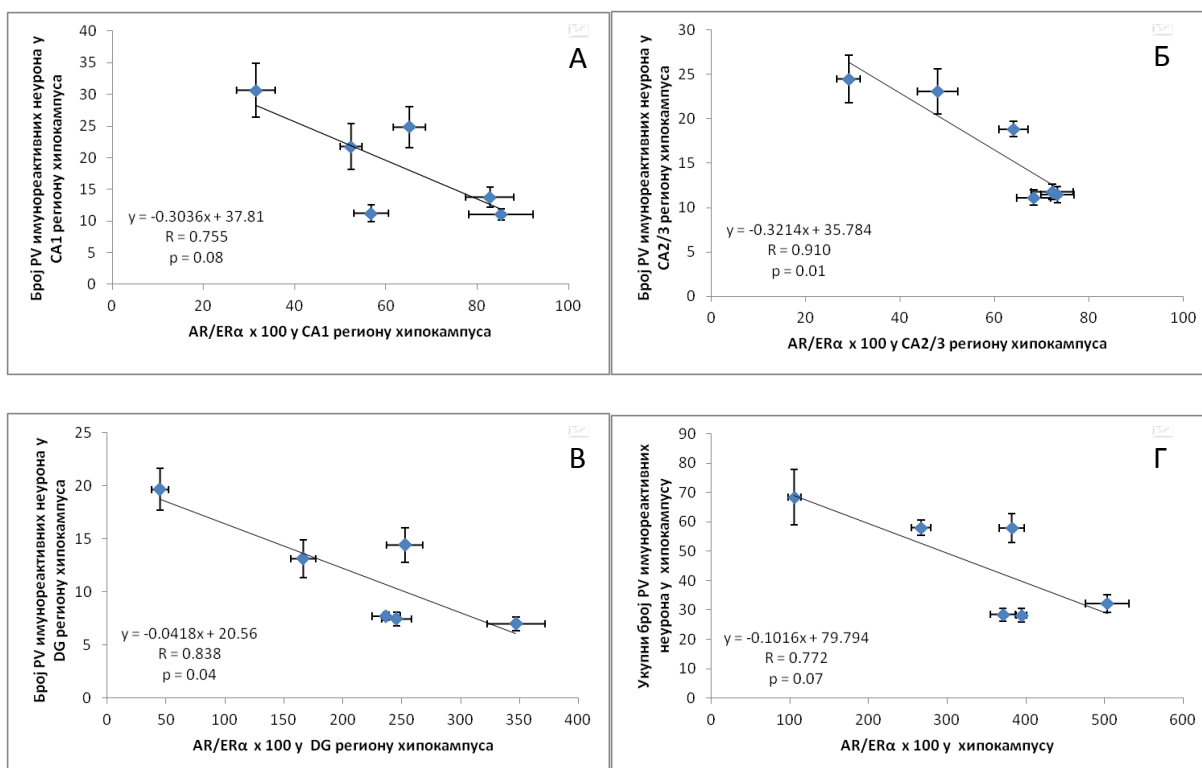
На Слици 4.91. је представљена међусобна повезаност вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу и времена до реакције у тесту вруће плоче. Анализа показује да не постоји корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса (у појединачним регионима, као и на укупној површини пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче ( $R \sim 0.6$ , без статистичке значајности).



Слика 4.91. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса) и времена до реакције у тесту вруће плоче. Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

#### 4.5.9.6. Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$ индекса и броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу

На Слици 4.92. је представљена међусобна повезаност вредности AR/ER $\alpha$  индекса и броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу. Анализа показује да постоји снажна, негативна корелација између вредности AR/ER $\alpha$  индекса и броја PV имунореактивних неурона у регионима CA2/3 и DG хипокампуса ( $R \sim 0.82$ ,  $p = 0.01$  за CA2/3,  $p < 0.05$  за DG).



**Слика 4.92.** Анализа међусобне повезаности вредности AR/ER $\alpha$  индекса и броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (А – CA1 регион, Б – CA2/3 регион, В – DG регион, Г – укупна површина пресека хипокампуса). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$  SEM.

## **5. ДИСКУСИЈА**

Ова екстензивно конципирана студија је спроведена са циљем да се боље уп бихевиорални елементи проблема са којим се све чешће сусреће савремено друш злоупотребом андрогених анаболичких стероида. Епидемијске размере овог проблема савременог друштва, упркос непотпуним подацима који би потврдили инциденцу, показују тренд који је крајње неповољан за људско здравље. Наиме, циљна група у популацији, и генерација која је највише изложена ризику појаве нежељених ефеката немедицинског и неконтролисаног коришћења анаболика из естетско-психолошких разлога, су адолесценти, односно управо група која се и по другим (једнако лошим) критеријумима сматра нарочито вулнерабилном за успостављање статуса зависника (291).

Према томе, пратећи податке из литературе, за узорак су узете животиње које по старосној структури одговарају адолесцентима и на њима су примењивани андрогени анаболички стероиди (који се најчешће помињу код злоупотреба ААС-а) и то у супрафизиолошким дозама, дакле дозама које се најчешће препоручују на „црном” тржишту са циљем постизања што бржих ефеката. Примењене дозе ААС-а, дакле, одговарају управо оним дозама које се најчешће описују код злоупотреба међу људима (292). Имајући у виду да, супротно лаичким очекивањима, чак ни енормно високе дозе ААС-а не могу постићи довољно брзо жељене ефекте на промене физичког изгледа корисника, супрафизиолошке дозе су примењиване током пролонгираног третмана, како би се стекао увид у манифестације хроничне примене ових препарата. Вођени основном идејом да се на примењеном анималном моделу готово у потпуности симулирају околности које се срећу у хуманој популацији, примењиван је и одговарајући протокол физичке активности, имајући у виду да се злоупотреба ААС-а најчешће доводи у везу са симултаним спровођењем програма тренинга, а све у циљу постизања коначног циља - корекције физичког изгледа (293).

Непосредни циљ ове студије је био испитивање бихевиоралних ефеката хроничне администрације супрафизиолошких доза ААС-а, као и утврђивање неурохуморалних промена на нивоу организма које би могле бити повезане са испољеним променама понашања.

Сви протоколи примењени у овој студији су доводили до значајних промена у понашању. Треба истаћи и да је истовремено долазило до промена физиолошких осовина полних хормона, које су се манифестовале како разликама у серумским концентрацијама полних хормона, тако и по утицају на експресију рецептора за полне хормоне у хипокампусу, региону мозга који се сматра кључним за контролу бројних бихевиоралних функција, укључујући и оне које су испитиване у овој студији. Осим промена на нивоу броја рецептора за полне хормоне, у хипокампусу је након спроведених протокола долазило и до промена на нивоу габаергичког система, што је квантификовано на основу броја парвалбумин позитивних интернеурона. Осим наведених кључних разлика, треба нотирати и да је уочен и низ неспецифичних промена, које су настале као последица примењених третмана, попут промена у телесној маси, као и у уносу хране и воде. Резултат примењених третмана се манифестовао и кроз значајне и карактеристичне промене параметара оксидативног оштећења у хипокампусу.

Анализирајући ефекте шестонедељних третмана, кроз којих су примењивани различити протоколи у овој студији, као што је представљено на Слици 4.2., учавало се континуирано повећање телесне масе код животиња у контролној групи. Овај резултат је у складу са очекиваном променом телесне масе у тој старосној доби животиња. Сличан ефекат у квантитативном смислу је уочен и у НД групи, повећање телесне масе од готово 50%, што је у складу са подацима из литературе, где је примена истог ААС-а (у сличним дозама и са сличном дужином трајања протокола) доводила до повећања телесне масе (без значајних промена у заступљености телесних масти, 158). Очекивано, и у складу са бројним подацима из литературе, сви протоколи где је самостално или у комбинацији са администрацијом ААС-а спровођен протокол физичке активности су за резултат имали значајно умањено повећање телесне масе (15-25%) у поређењу са контролном групом. Интересантно је да примена другог анаболика, ТЕ, није доводила до повећања телесне масе какво је уочено након третмана НД-ом. Овако велика разлика у ефектима на промену телесне масе између НД-а и ТЕ-а (Слика 4.3.) се може објаснити значајним разликама у фармакодинамским карактеристикама ова два анаболика. Наиме, НД своју оптималну анаболичку активност испољава током 6 до 7 дана, у доброј мери и захваљујући и супституцији водоника метил групом која доприноси продужењу анаболичког дејства НД-а (20). С друге стране, метаболизам ТЕ-а се одвија на значајно другачији начин, обзиром

да долази до готово комплетне ароматизације у естрогене, за разлику од НД-а где се ароматизује свега 20% (25, 23), чиме се значајно смањују анаболичке карактеристике ТЕ-а. Обзиром да у литератури не постоје подаци који би могли бити коришћени за поређење са резултатима за унос хране добијених у овој студији (Слика 4.1.), претходно описане разлике у механизмима дејства између НД-а и ТЕ-а се вероватно могу применити и за објашњење ефеката који се остварују на нивоу централних регулаторних механизма за регулацију уноса хране у хипоталамусу.

### **5.1. Утицај ААС-а и физичке активности на промене степена анксиозности**

Анаболички стероиди примењени у супрафизиолошким дозама су доводили до значајног повећања степена анксиозности на основу вредности параметара добијених у тестовима који су специфични за испитивање ове врсте бихевиоралних промена. Вредности параметара који се обично сматрају за најпоузданије индикаторе за процену анксиозности су били значајно повећани код обе седентарне групе животиња са хроничном администрацијом ААС-а. Као што је приказано (Слике 4.7. и 4.8.), и администрација НД-а и примена ТЕ-а су доводиле до значајног скраћења времена проведеног у централној зони, као и броја улазака у централну зону ОП теста, при чему је ефекат тестостерона био значајно већи за оба наведена параметра (Табеле 4.8. и 4.9.). Параметри добијени у УКЛ тесту који се, такође, сматрају директним индикаторима за процену степена анксиозности, укупно време проведено у отвореним крацима лавиринта, као и број улазака у отворене краке су, такође, били значајно смањени након хроничне примене оба анаболичка стероида (Слике 4.13. и 4.14.). Попут ситуације уочене у ОП тесту, и овде је негативан ефекат примене ТЕ-а био значајно већи у поређењу са еквимоларним дозама НД-а (Табеле 4.14. и 4.15.). Обзиром да у литератури постоје подаци да промена степена анксиозности има значајне реперкусије на локомоторну активност (253), за потврду промена нивоа анксиозности изазваних спроведеним протоколима, у овој студији су коришћени индикатори локомоторне активности добијени у ОП и УКЛ тесту. Укупни пређени пут, просечна брзина кретања, као и проценат времена кретања су били значајно смањени у оба наведена теста након хроничног третмана анаболичким



стероидима (Слике 4.4. – 4.6. и Слике 4.15. – 4.17.). Иако се уочава да је по критеријумима параметара локомоторне активности примена ТЕ-а имала далеко већи ефекат у односу на остале групе у ОП тесту (Табеле 4.5. – 4.7.), као и у УКЛ тесту (Табеле 4.16. – 4.18.), уочава се да статистички значајна разлика у поређењу ефеката ова два анаболичка стероида постоји само у УКЛ тесту (Слике 4.15. – 4.17.). За експлоративну активност, као специфични бихевиорални образац је, такође, потврђено да је директно у вези са променама нивоа анксиозности (253), на специфично дефинисан начин – смањење експлоративне активности се може сматрати индиректном потврдом повећања степена анксиозности. Примена оба анаболика је изазвала смањење експлоративне активности у тесту ОП (Слика 4.9.), уз значајно већи ефекат НД-а (Табела 4.10.). Смањење експлоративне активности изазвано супрафизиолошким дозама анаболика регистровано у УКЛ тесту, према параметрима броја усправљања и нагињања, није било статистички значајно у поређењу са контролном групом (Слике 4.18. и 4.19.), али је УЕА била статистички значајно мања у поређењу са контролном групом након хроничне администрације ТЕ-а (Слика 4.20.). Овакав ефекат није постигнут након третмана НД-ом, па је, очекивано, примена ТЕ-а имала значајно већи ефекат (Табела 4.21.). Резултати теста провоцираног ходања по греди потврђују статистички значајне анксиогене ефекте оба примењена анаболичка стероида (Слика 4.24.), уз незнатно јачи остварени ефекат хроничне примене НД-а (Табела 4.25.).

Резултати ове студије су у складу са претходно описаним анксиогеним ефектом НД-а у УКЛ тесту (294). Слични резултати су добијени и у студији у којој је примењиван исти анаболик у различитом распону концентрација, такође након вишенедељног третмана, где је анксиогени ефекат ААС-а испитиван у ОП тесту (295). Сличан анксиогени ефекат добијен применом ААС-а на адолесцентској популацији је описан и у бројним другим студијама (296, 297, 298). У прилог резултатима ове студије иду и подаци добијени у студији изведеној код спортиста, уз коришћење више врста ААС-а (299). Претпостављени механизам настанка анксиогеног ефекта ААС-а се најчешће повезује са повећаним пресинаптичким ослобађањем ГАВА (преко CRH-1) из локалних структура које окружују хипокампус (104). Уочени дисбаланс који доводи до појаве анксиозности се вероватно одвија преко ГАВА-А рецептора који поседују  $\alpha 2$  субјединицу (105). До појаве анксиозности могу довести и промене на нивоу различитих система, попут

серотонергичког, допаминергичког и глутаминергичког. Сасвим конкретно, уочено је да анксиозност настала након хроничне примене ААС-а може бити повезана са смањењем експресије 5-НТ<sub>1А</sub> и/или повећањем активности 5-НТ<sub>2А</sub> рецептора (111, 110). Повећана ексцитабилност неурона у овом региону мозга, која се може манифестовати као анксиозност, до које долази применом ААС-а, може бити и последица повећане фосфорилације NMDA рецептора (114). Свакако треба напоменути да у литератури постоје и подаци који указују на супротан, анксиолитички ефекат примене ААС-а. У поређењу са овом студијом, треба уочити да се ради о акутним ефектима (апликација 30 минута пре тестирања, 300) или о примени анаболика који припадају другим групама на другој животињској врсти (301). Ипак, за валидацију резултата који се односе на утицај ААС-а на промене степена анксиозности, чини се најпримеренијим поређење са резултатима који су добијени са истом врстом анаболика и приближно истом дужином третмана, у студији где је добијен истоветни, анксиогени ефекат анаболика (302).

Супротно ефектима уоченим након хроничне примене супрафизиолошких доза ААС-а, пролонгирани тренажни протокол (утврђен према подацима из литературе који говоре да је овакав протокол довољан да изазове значајне промене на нивоу хипокампуса (271) са карактеристикама оптималног тренинга издржљивости у аеробном опсегу, 273), је имао анксиолитичке последице према резултатима оствареним у тестовима специфичним за детекцију промена степена анксиозности. Анализирајући кардиналне показатеље промене нивоа анксиозности, продужени протокол физичке активности је доводио до анксиолитичког ефекта израженог у виду продужења времена у централној зони ОП (Слика 4.7.), као и до продужења временаведеног у отвореним крацима УКЛ (Слика 4.13.), иако није било статистички значајне разлике у смислу повећања како броја улазака у централну зону ОП, тако ни броја улазака у отворене краке УКЛ (Слике 4.8. и 4.14.). Треба истаћи да је анксиолитички ефекат вежбања, према критеријумима ова два кључна индикатора анксиозности, био више изражен у ОП тесту (Табела 4.8.), него у УКЛ тесту (Табела 4.14.). Анксиолитички ефекат хроничног протокола физичке активности је потврђен и кроз повећање свих параметара на основу којих је процењивана експлоративна активност у ОП и УКЛ тесту. Тако је уочено да програмирана физичка активност доводи до повећања броја усправљања у ОП тесту (Слика 4.9.), док је тренажни циклус, према параметрима експлоративне активности у УКЛ тесту, доводио до статистички значајног

повећања броја усправљања (Слика 4.18.), броја нагињања (Слика 4.19.), као и УЕА (Слика 4.20.). Најснажнији ефекат програма физичке активности на експлоративну активност је изражен кроз утицај на УЕА (Табела 4.21.). Управо утврђена највећа величина утицаја оваквог протокола на експлоративну активност, потврђује значај коришћења параметра установљеног у лабораторији где је спровођен експериментални део бихевиоралних истраживања ове студије (276). Протокол физичке активности спровођен у овој студији, према параметрима локомоторне активности, није доводио до значајних промена у УКЛ тесту (Слике 4.15. – 4.17.), иако је уочљиво значајно повећање свих параметара локомоторне активности у ОП тесту, у поређењу са контролном групом (Слике 4.4. – 4.6.). Величина утицаја спроведеног протокола физичке активности највише се одразила на проценат времена кретања у ОП тесту (Табела 4.6.).

Уочени анксиолитички ефекат програмираног тренажног процеса у овој студији је у складу са подацима из литературе, који говоре о анксиолитичком ефекту протокола физичке активности спроведених на покретној траци (303) и након спроведеног протокола пливања (304). Могућа објашњења за анксиолитички ефекат физичке активности се могу пронаћи у подацима да аеробни тренинг повећава концентрације серотонина и норадреналина (179), са нарочито значајним повећањем норадреналина у хипокампусу (180, 181). Истовремено, уочено је и повећано ослобађање серотонина, односно, активности опиоидног система – нарочито  $\beta$ -ендорфина (182). Наравно, као генерално објашњење за корисне ефекте физичке активности на понашање, укључујући и анксиозност, треба поменути и значајно повећање концентрације BDNF-а и последично повећање неурогенезе, нарочито у хипокампусу (185). У појединим студијама није потврђен анксиолитички ефекат програма физичке активности (305), али се разлике добијене у смислу утицаја физичке активности на промене степена анксиозности могу објаснити недостатком стандардизованих протокола (различит тип физичке активности – изнуђен или неизнуђен, различита дужина трајања протокола и дозирање степена оптерећења), што се на различите начине може финално испољавати кроз разнолике бихевиоралне консеквенце (306).

Симултана примена два типа протокола са супротним ефектима на степен анксиозности је потврдила да је пролонгирана физичка активност доводила до смањења

анксиогеног ефекта изазваног хроничном применом високих доза ААС-а. Истовремена примена анаболичких стероида и програма физичке активности је потврдила, на бази директних индикатора анксиозности, да физичка активност доводи до статистички значајног ублажавања анксиогеног ефекта анаболика испољеног у ОП и УКЛ тесту. Тако је протокол физичке активности за резултат имао враћање вредности укупног времена проведеног у централној зони (Слика 4.7.) и укупног времена проведеног у отвореним крацима (Слика 4.13.) до нивоа контролних вредности. Локомоторна активност редукована применом супрафизиолошких доза ТЕ-а, изражена кроз укупни пређени пут и просечну брзину кретања, се уз симултано спровођење протокола пливања статистички значајно повећавала у поређењу са седентарном ТЕ групом у ОП тесту (Слике 4.4. и 4.6.). Исти ефекат физичке активности је забележен код сва три параметра локомоторне активности у УКЛ тесту (Слике 4.15. – 4.17.), при чему симултано спровеђен протокол физичке активности и администрације НД-а није доводио до корекције анксиогеног ефекта уоченог у седентарној НД групи (Слике 4.4. – 4.6. и Слике 4.15. – 4.17.). Симултана примена ААС-а и протокола физичке активности је доводила до значајног ублажавања анксиогеног ефекта ААС-а, према критеријумима параметра експлоративне активности у ОП тесту, доводећи до враћања нивоа експлоративне активности до вредности забележених у контролној групи (Слика 4.9.). Резултати добијени у УКЛ тесту показују да је протокол физичке активности компензовао анксиогени ефекат НД-а према броју усправљања, броју нагињања, као и УЕА (Слике 4.18. – 4.20.). С друге стране, симултана примена протокола физичке активности, заједно са администрацијом ТЕ-а није била довољна да анулира анксиогени ефекат ТЕ-а у смислу броја усправљања и нагињања, али је УЕА ипак била статистички значајно повећана у поређењу са седентарном ТЕ групом (Слика 4.20.).

Подаци из литературе који говоре о утицају симултане примене протокола физичке активности и хроничног третмана ААС-има указују на чињеницу да супрафизиолошке дозе ААС-а могу значајно смањити анксиолитички ефекат остварен протоколом физичке активности (275).

Веома специфични образац понашања – тимарење (енгл. *grooming*), се према подацима из литературе (307) може довести у везу са променама степена анксиозности, је

такође био значајно измењен спроведеним протоколима. Хронична примена супрафизиолошких доза оба ААС-а је доводила до повећања тимарења у ОП и УКЛ тесту у односу на контролну групу (није статистички значајно у ОП тесту за НД), као што је представљено на Сликама 4.10. и 4.21. Иако самостално спровођење протокола физичке активности није доводило до статистички значајног смањења вредности овог параметра, симултана примена протокола пливања са ААС-а је показала да се број епизода тимарења након протокола физичке активности статистички значајно смањивао у односу на седентарну тестостеронску групу у ОП тесту (Слика 4.10.), односно седентарну нандролонску групу у УКЛ тесту (Слика 4.21.). Остварени резултати се не могу поредити са резултатима претходних студија, обзиром да у литератури нису описане овакве промене.

## **5.2. Утицај ААС-а и физичке активности на промене степена депресивности**

Протоколи спроведени у овој студији су имали значајан утицај на испољени степен депресивности, према параметрима добијеним у ТКР. Иако су најдискретније промене уочене у броју епизода имобилности (статистички значајно смањење у седентарној тестостеронској групи, Слика 4.28.), сви остали параметри су потврдили продепресантни ефекат хроничне администрације ААС-а. Анализирајући време до појаве прве имобилности (Слика 4.27.), уочава се да су оба анаболика продужавала латентни период (није статистички значајно за НД). Изоловано посматрано (независно од осталих параметара), овакав ефекат би се могао назавти антидепресантним. Међутим, имајући у виду закључке наше претходне студије (274), према којима се у случају преклапања етиопатогенезе и временске линије пресека бихевиоралних манифестација два патофизиолошка ентитета – анксизности и депресивности, не може се поуздано ослонити на вредност појединачног параметра (308), већ се анализа мора реализовати посматрањем већег броја параметара (по могућству и из различитих тестова). Финална категоризација ефеката примене ААС-а на време до појаве прве имобилности у овој студији се треба посматрати у ширем контексту. Већ на основу резултата који показују укупно трајање имобилности (Слика 4.29.), који се сматра кључним индикатором за процену степена депресивности у ТКР, се јасно уочава продепресантни ефекат хроничне примене

супрафизиолошких доза ААС-а. Потврда снажног продепресантног ефекта администрације ААС-а се може видети и према вредностима просечног трајања епизоде имобилности (Слика 4.30.). Сумирајући резултате који дефинишу утицај хроничног третмана ААС-а на степен депресивности у ТКР, може се уочити да упркос истовременом испољавању два различита типа промена понашања (анксиозност и депресивност), у квантитативном смислу апсолутно доминирају нумерички подаци који потврђују продепресантни ефекат ААС-а.

Резултати који се односе на утицај хроничног третмана ААС-а добијени у овој студији су у сагласности са претходним студијама у којима је испитиван ефекат двонедељне (302) или четворонедељне примене НД-а и станозолола (120), где је, такође, добијен продепресантни утицај ААС-а код пацова, иако овакав ефекат није потврђен код мишева (309). Постоје докази да примена одговарајућих ААС-а доводи до смањења нивоа BDNF-а у хипокампусу, последично и до смањења волумена хипокампуса, што се доводи у везу са патогenezом депресије (121). Поред тога, могуће објашњење продепресантног ефекта примене ААС-а се може наћи и у смањењу нивоа серотонина у свим деловима мозга, као и у смањењу нивоа допамина у регионима мозга одговорним за контролу депресивности (122). У форми готово универзалног објашњења механизма који доводе до бихевиоралних промена, и по питању регулације степена депресивности, треба навести (негативан) утицај ААС-а на концентрације нервних фактора раста у хипокампусу (123), што за последицу има смањење неурогенезе и последичну прогресију депресије.

Пролонгирани протокол физичке активности није доводио до статистички значајне промене времена до појаве прве имобилности, као ни броја епизода имобилности (Слике 4.27. и 4.28.). Међутим, антидепресантни ефекат програмиране физичке активности је потврђен статистички значајним скраћењем укупног трајања имобилности (Слика 4.29.). Антидепресантни ефекат шестонедељног протокола пливања је био потврђен у комбинованим групама статистички значајним смањењем укупног трајања имобилности у поређењу са седентарним групама код којих су администрирани анаболици. Антидепресантни ефекат пролонгиране физичке активности се уочава и кроз вредност просечног трајања епизоде имобилности у комбинованој групи са ТЕ-ом (Слика 4.30.). Смањење степена депресивности изазвано физичком активношћу у комбинованим

групама је потврђено враћањем вредности просечног трајања епизоде имобилности до нивоа ученог у контролној групи. Потврда да је пролонгирани протокол вежбања имао снажан антидепресантни ефекат се може уочити у поређењу са величинама ефеката анаболичких стероида на укупно трајање имобилности (Табела 4.30.).

Антидепресантни ефекат хроничног протокола физичке активности, какав је добијен у овој студији, је у сагласности са претходно добијеним резултатима у истраживању спроведеном на мишевима (310) и пацовима (311). Слични резултати који се односе на антидепресантни ефекат уочен након аеробног вежбања су потврђени у клиничким студијама, заједно са побољшањем когнитивних функција (312).

Подаци из различитих студија објашњавају антидепресантни ефекат физичке активности углавном структуралним променама (укључујући и повећање волумена) у појединим регионима мозга који су одговорни за регулацију степена депресивности (190), што је потврђено супротним ефектима изазваним смањењем запремине хипокампуса (191). Промене структуре хипокампуса и њихове функционалне консеквенце су повезиване са садржајем BDNF-а у хипокампусу (190). Каузална веза је успостављена преко утицаја неурогенезе на клиничко испољавање депресије (192). Као могући модулатори алтерација на нивоу неурогенезе који се могу повезати са антидепресантним ефектом физичке активности се најчешће описују ендорфини ( $\beta$ -ендорфини, „ендорфинска хипотеза”, 193). Важно је поменути да промена неурогенезе која може бити повезана са антидепресантним ефектом физичке активности може настати и као последица повећане концентрације ендоканабиноида (194), односно промена на нивоу НРА осовине (које укључују повећану продукцију АСТН и смањену продукцију кортизола, 195).

### **5.3. Утицај ААС-а и физичке активности на промене когнитивних способности**

Анализирајући утицај спроведених протокола на когнитивне функције у Барнсовом тесту, показало се да кључни фактор у детерминисању когнитивних алтерација представља избор индикатора (параметра) који је коришћен за тумачење добијених резултата. Анализа ефеката хроничних третмана анаболицима, као и физичке активности

(процењиваних на основу процента скраћења пређеног пута), је показала да ниједан од спроведених протокола није довео до значајних промена когнитивних способности испољених у Барнсовом тесту (Слика 4.31.). Међутим, анализа вршена на основу процента скраћења времена између два покушаја је показала да анаболички стероиди доводе до смањења просторног памћења (Слика 4.32.).

Резултати ове студије су у складу са претходно публикованим резултатима који су, такође, показали да хронична администрација НД-а, са дозама приближно истим као у овој студији (313), као и са тестостероном (314) је, такође, доводила до умањења когнитивних способности код пацова. Слични резултати су добијени и директном интрахипокампаљном администрацијом ААС-а код пацова (129). Резултати клиничких студија су потврдили да и код људи са анамнестичким подацима о дуготрајној злоупотреби ААС-а долази до значајног смањења когнитивних функција (315, 316). У литератури су понуђена бројна објашњења за негативни утицај ААС-а на когнитивне функције. Међу новијим потенцијалним механизмима којима примена ААС-а умањује когнитивне способности је наведено повећање експресије иРНК за продинорфин у хипокампусу (313), за који је показано да има негативан утицај на когницију. Когнитивне дисфункције изазване применом ААС-а се доводе у везу и са променама садржаја (и функције) ацетилхолина (131), допамина (132), норадреналина (132), глутамата (133) и серотонина (134). Важно је напоменути да се укупни утицај ААС-а на когнитивне функције не може дефинисати у потпуности на основу резултата добијених у студијама (попут ове) где су примењиване супрафизиолошке дозе ААС-а са циљем опонашања клиничке слике каква се среће код злоупотреба ААС-а. Треба рећи да примена ААС-а у малим дозама може имати позитиван утицај на когнитивне функције (317). Штавише, постоје покушаји да се супституцијом уз примену малих доза ААС-а успоре когнитивна оштећења која се развијају паралелно са старењем (318) или прогресијом неуродегенеративних болести (319). Имајући у виду претходно описане бихевиоралне ефекте примене супрафизиолошких доза ААС-а (повећање анксиозности и депресивности), који се у значајној мери могу поистоветити са бихевиоралним манифестацијама какве се испољавају као реакција на стрес, није без основа повезати чињеницу да хронични стрес доводи до оштећења габаергичке мреже у хипокампусу (320, 321, 322), и да управо оштећење на нивоу габаергичког система може за последицу имати



смањење когнитивних функција (323). Сумирајући разнолике резултате, једино што се са сигурношћу може закључити је да повезаност ААС-а и когнитивних функција не подразумева једноставан механизам, већ да на финални ефекат у великој мери утичу бројне детерминанте, попут: пола, старости, животињске врсте, физиолошког стања централног нервног система, врсте и дозе примењеног ААС-а, као и дужине експозиције.

Иако спроведени протокол физичке активности није доводио до значајног побољшања когнитивних способности у поређењу са контролном групом, корисни утицај протокола пролонгиране физичке активности се јасно манифестовао у поређењу са ефектима добијеним у седентарним групама које су третиране само ААС-има (Слика 4.32.). Тако је шестонедељни програм пливања, симултано спровођен са администрацијом ААС-а довео до значајног ублажавања негативних ефеката ААС-а на когницију који су уочени у седентарним групама. Позитиван ефекат физичке активности је потврђен чињеницом да су се параметри когнитивних функција, у обе комбиноване групе, враћали на ниво контролних вредности. Сумарно гледано, величина утицаја програма физичке активности на когнитивне функције је била значајно већа у поређењу са оба примењена анаболика (Табела 4.33.).

Резултати који дефинишу утицај физичке активности на побољшање когнитивних способности, који су добијени у овој студији су, у сагласности са претходно публикованом студијом у којој је показано да аеробна физичка активност спречава смањење когнитивних способности изазваних старењем код пацова различитих старосних категорија (324). Већина аутора се слаже да је најважнији утицај физичке активности на побољшање когнитивних функција повећање неурогенезе у коме кључно место припада BDNF-у (210, 211, 212). Сматра се да непосредну везу између физичке активности и повећане неурогенезе треба тражити у чињеници да последично повећање минутног волумена (које се дешава током физичке активности) истовремено доводи и до значајног повећања величине протока у мозгу (208), са посебно израженим повећањем волумена крви у хипокампусу (209). Дакле, управо описана редистрибуција крви са елементима регионалне реваскуларизације се може сматрати тригером за повећање неурогенезе, која ће довести до побољшања когнитивних функција.

#### 5.4. Утицај ААС-а и физичке активности на ноцицепцију

Резултати добијени у овој студији показују да хронични третман ААС-има није имао значајан утицај на ноцицепцију изражен кроз време реакције у тесту вруће плоче (Слика 4.33.). Квантификација ефеката примене супрафизиолошких доза ААС-а уочена у овој студији је у сагласности са резултатима претходне студије у оба стандардна теста за испитивање ноцицепције код пацова оба пола – тест вруће плоче и тест повлачења репа (146). Сличан закључак је добијен и у студији у којој је испитиван утицај ААС-а код седентарних пацова (147).

Антиноцицептивни ефекат пролонгираног програма физичке активности забележен у овој студији је био манифестован значајним продужењем времена до реакције у тесту вруће плоче (Слика 4.33.). Хипоалгезијски ефекат шестонедељног програма пливања је потврђен статистички значајним повећањем латентног периода до реакције у обе комбиноване групе, при чему је симултана примена ТЕ-а и протокола физичке активности за резултат имала продужење времена до реакције, чак и изнад контролних вредности. Јачина ефекта пролонгиране физичке активности је нумерички потврђена у Табели 4.34.

Појачана толеранција бола изазвана програмом пролонгиране физичке активности се може објаснити системским повећањем концентрације ендогених опиоида (227), односно променама на нивоу  $\mu$ -опиоидних рецептора у хипокампусу (228). Описано је да на степен толеранције бола могу утицати и промене концентрације серотонина (настале као последица спровођења одговарајућих програма физичке активности) у деловима мозга који су укључени у контролу ноцицепције (229). Ноцицептивни систем укључује опиоидне и серотонергичке механизме, који могу имати значајан синергистички аналгетски ефекат, који се остварује кроз интеракцију  $\mu$ -опиоидних рецептора и серотонинског транспортера одговорног за аналгетски ефекат (230). Антиноцицептивни ефекат физичке активности је базиран и на ендогеним канабиноидима (231), обзиром да су њихови рецептори експримирани у различитим регионима мозга одговорним за контролу бола, као и у кичменој мождини (232).

## 5.5. Утицај ААС-а и физичке активности на параметре физичке способности

Пролонгирани протокол физичке активности спроведен у овој студији се показао адекватним да доведе до повећања обе карактеристике које смо користили за процену физичке способности – мишићне снаге и издржљивости. Шестонедељни програм пливања је доводио до повећања мишићне снаге (мерено кроз дужину времена држања за жицу) у односу на контролну групу (Слика 4.26.). Истовремено, и симултана примена оба анаболичка стероида заједно са протоколом физичке активности је за резултат имала повећање мишићне снаге у односу на контролне вредности. С друге стране, самостална примена ААС-а у седентарним условима није доводила до значајног повећања мишићне снаге. Потврда о доминантном утицају програма физичке активности на промене мишићне снаге током шестонедељног третмана се уочава у далеко највећој величини ефекта (Табела 4.27.).

Побољшање физичких способности изазвано пролонгираним протоколом физичке активности се уочава и са аспекта издржљивости, што је потврђено продужењем временаведеног на ваљку (ротарод тест), у односу на контролне вредности (Слика 4.25.). Супротно томе, администрација ААС-а је доводила до значајног смањења издржљивости за оба анаболика. Интересантно је да је негативан ефекат ААС-а на мишићну издржљивост био анулиран симултаним спровођењем протокола физичке активности. То је за резултат имало враћање вредности овог параметра до нивоа контролних вредности у комбинованој групи са тестостероном, док се ефекти симултане примене два протокола нису уочавали у нандролонским групама. Снажан негативни утицај НД-а на мишићну издржљивост се манифестовао и кроз значајну величину ефекта, довољно велику да анулира снажан позитиван ефекат вежбања (Табела 4.26.).

Резултати који се односе на утицај спроведених протокола на мишићну снагу у овој студији су у сагласности са подацима из литературе који, такође, потврђују да изолована администрација ААС-а не оставља значајан ефекат на мишићну снагу. Истовремено, када се примена ААС-а врши паралелно са одговарајућим протоколима тренинга, уочава се да

је могуће постићи повећање мишићне снаге (5 – 20%, 162). Иако су се бројна истраживања бавила овом проблематиком, резултате ових студија је веома тешко систематизовати услед примене различитих врста ААС-а, у различитим дозама и са различитим временом администрације. У постојећој литератури постоји само један податак који одудара од резултата ове студије (повећање мишићне снаге), који је добијен након администрације енормно високе концентрације ААС-а (интрамускуларна апликација тестостерона у дози од 600 mg недељно), чак и без пратећег програма физичке активности (164). Недостатак података који се односе на утицај примене ААС-а за побољшање мишићне издржљивости се може тумачити кроз чињеницу да обе циљне групе код којих се потенцијално очекује злоупотреба ААС-а (врхунски спортисти и адолесценти вођени естетским поривима) не препознају разлоге за њихово коришћење. Тако се врхунски спортисти, у циљу повећања издржљивости, радије одлучују за друге врсте забрањених протокола, попут крвног допинга. С друге стране, злоупотреба ААС-а у циљу задовољавања специфичних естетских критеријума је мотивисана повећањем мишићне масе, што се пре може довести у везу са мишићном снагом него са мишићном издржљивошћу.

При анализирању резултата добијених у овој студији који се односе на утицај физичке активности на мишићну снагу и издржљивост, долази се до озбиљног проблема базираног на чињеници да се код спортиста готово увек паралелно спроводе тренинзи снаге и издржљивости (иако не увек истовремено), док је на анималним моделима немогуће направити специјалне тренинге за снагу и/или издржљивост. Тако се у анализи резултата добијеној у овој студији морамо ослонити на поређења са подацима који се односе на ефекте комбинованих тренинга (снага плус издржљивост) на параметре физичке спремности. Генерални закључак добијен на основу резултата бројних студија је да комбиновани протоколи физичке активности остварују далеко боље ефекте са аспекта издржљивости, него што утичу на поправљање параметара мишићне снаге (240). Претпоставка је да елементи комбинованог тренинга који су предвиђени за повећање мишићне снаге не могу да остваре свој пуни ефекат пре свега због уочених измена на нивоу нерава, односно моторних јединица (241, 242). Једно од могућих објашњења је да тренинг издржљивости фаворизује просторну сумацију моторних јединица и интрамускуларно прераспоређивање оптерећења, што омогућавава продужетак физичке радње, али истовремено и „штеди” иницијално укључена мишићна влакна, односно

спречава постизање максималног интензитета у моторним јединицама и тако значајно ограничава повећање мишићне снаге (243). Потврђено је да током понављаног комбинованог тренинга долази до значајног смањења нивоа гликогена у мишићима (244), које се продужава са трајањем тренинга (245). Обзиром на добро познату чињеницу да елемент мишићне снаге директно (позитивно) корелира са расположивом количином гликогена у мишићном влакну, хронични дефицит гликогена који настаје као последица адаптације мишића изазване комбинованим тренингом у значајној мери онемогућава побољшање елемента мишићне снаге током комбинованог тренинга (246). У могућа објашњења за уочљиве разлике у ефектима комбинованог тренинга на мишићну снагу и издржљивост се могу убројати и трансформације у различитим типовима мишићних влакана. Код тренинга снаге долази до значајне хипертрофије брзих мишићних влакана, у поређењу са slabим ефектом који се уочава код спорих влакана (247, 248). Комбиновани тренинг доводи до смањења брзине брзоконтрахујућих влакана, што се доказује променама концентрације миозин АТРаза, и за резултат може имати чак и смањење релативног броја брзоконтрахујућих влакана (249, 248). Промена односа између типова мишићних влакана се посебно фаворизује код „претренираности” (честа појава у тренинзима издржљивости). Алтерације на нивоу анаболизма протеина могу имати снажан утицај на разлике које се испољавају у ефектима на мишићну снагу и издржљивост. Иако је од раније познато да се током трајања физичке активности смањује синтеза протеина, описано је да се смањена синтеза протеина може продужити и по неколико сати након тренинга издржљивости (250). Обзиром да укупни садржај протеина у мишићним влакнима има далеко већи утицај на елементе мишићне снаге (велики утицај броја контрактилних филамената, као и садржаја енергетских извора – гликогена) него мишићне издржљивости, јасно је да ће поново доћи до испољавања разлика на штету мишићне снаге.

## **5.6. Утицај ААС-а и физичке активности на промене серумских концентрација полних хормона**

Сви протоколи примењени у овој студији су доводили до значајних промена серумских концентрација полних хормона (тестостерон, дихидротестостерон, естрадиол). У односу на контролне вредности, концентрација тестостерона у серуму (~2 ng/ml), шестонедељна примена супрафизиолошких доза ААС-а је доводила до статистички значајног повећања серумских концентрација тестостерона. Повећање концентрације тестостерона након администрирања ТЕ-а у седентарним условима је била статистички значајно већа у односу на ефекте НД-а у седентарним условима (Слика 4.39.). Истовремено и протокол пролонгиране физичке активности је доводио до (статистички значајног) троструког повећања серумских концентрација тестостерона. Интересантно је да је упркос истоветном утицају свих наведених протокола адитивни ефекат симултане примене ААС-а и пролонгиране физичке активности био евидентан само у комбинацији са ТЕ-ом, па се и комбиновани ефекат физичке активности са ТЕ-ом значајно разликовао (био је већи) у односу на комбиновани ефекат НД-а. Овај податак о доминантном ефекту ТЕ-а на серумске концентрације тестостерона је верификован упадљиво највећом величином ефекта (Табела 4.40.).

Резултати који показују повећање серумских концентрација тестостерона у овој студији су у сагласности са подацима из литературе, где је забележено да се концентрација тестостерона у серуму повећава након акутне (325) и хроничне (326, 327, 328, 329) администрације, са јасно израженом дозном зависношћу (330), различитих деривата тестостерона код пацова. Ефекат континуиране администрације деривата тестостерона на серумске концентрације тестостерона је додатно потврђен резултатима студије са уградњом спороослобађајућих импланта (329). Повећање концентрације тестостерона у крви, као што је уочено у овој студији, се може објаснити повећањем продукције тестостерона услед стимулације ендogene продукције у Лајдиговим ћелијама (331), као и могућношћу да се (услед техничких ограничења методе детекције) истовремено детектују концентрације ендogenous и (аплицираног) екзогеног тестостерона

(326, 294). Интересантно је да је на хуманој популацији, попут резултата добијених у овој студији, тестостеронска суплементација довела до вишеструког повећања серумског тестостерона у поређењу са хроничном администрацијом нандролоне (332).

Поред промена описаних на нивоу серумских концентрација тестостерона, споровђење описаних протокола је утицало и на концентрације дихидротестостерона у серуму. За разлику од утицаја на серумски тестостерон, примењени ААС-и су имали различите ефекте на серумске концентрације ДХТ-а (Слика 4.40.). За разлику од администрације нандролоне, која није имала значајног утицаја на серумску концентрацију ДХТ-а, хронична примена ТЕ-а је доводила до петоструког повећања серумских вредности ДХТ-а. Истовремено, иако је самостално спровођен протокол пролонгиране физичке активности доводио до значајног повећања серумских концентрација ДХТ-а, симултано спровођење протокола физичке активности са администрацијом анаболика није довело до адитивног ефекта, па се вредности у комбинованим групама нису значајно разликовале у односу на седентарне групе код којих су администрирани ААС-и. Очекивано, упоређујући ефекте спроведених протокола, јасно се уочава да је примена ТЕ-а имала далеко највећи ефекат на серумске концентрације ДХТ-а. Иако су резултати који се односе на вредности серумских концентрација ДХТ-а након администрације ААС-а доста ретки, забележено је да самостална администрација НД-а не доводи до значајних промена серумских концентрација ДХТ-а, као што је добијено и у овој студији (326). Већина података у литератури који се односе на утицај хроничне администрације ААС-а су базирани на примени различитих врста ААС-а на серумске концентрације ДХТ-а, па их је тешко упоређивати са резултатима добијеним у овој студији (326).

Примена свих наведених протокола је доводила до повећања серумских концентрација естрадиола (Слика 4.41.). У квантитативном смислу није било разлика у повећању серумског естрадиола између НД-а и ТЕ-а. Такође, иако је самостално спровођен протокол физичке активности доводио до повећања естрадиола у серуму, није уочен никакав адитивни ефекат у поређењу са седентарним групама код којих су примењивани ААС-и. Резултати који се односе на серумске концентрације естрадиола добијени у овој студији су у сагласности са подацима из литературе који се односе на ефекте хроничне администрације ААС-а на серумски естрадиол (326, 332). Изузетак

представља студија у којој је примењиван станозолол, у којој није добијено повећање естрадиола након хроничне администрације (332). Уочена разлика се може објаснити чињеницом да ова врста деривата тестостерона не подлеже процесу ароматизације, те се не може ни очекивати повећана конверзија супрафизиолошких концентрација андрогена у естрогене (332).

Самостално спровођење протокола физичке активности је доводило до статистички значајног повећања серумских концентрација тестостерона, ДХТ-а, и естрадиола (Слике 4.39. – 4.41.). Симултана примена протокола физичке активности са анаболичким стероидима је доводила до статистички значајног повећања серумских концентрација тестостерона у комбинацији са ТЕ-ом, без значајног утицаја у комбинацији са НД-ом. Јачина ефекта симултане примене ТЕ-а и протокола пролонгиране физичке активности, када се анализира серумска концентрација тестостерона, је била манифестна и у поређењу са комбинованом групом где је администриран НД. Разлика у серумским концентрацијама између комбинованих група са НД-ом и ТЕ-ом је била статистички значајна и према критеријумима серумске концентрације ДХТ-а и истоветна (уз петоструко веће вредности у тестостеронској комбинованој групи). Самостално спроведени протокол пролонгиране физичке активности је доводио до статистички значајног повећања серумске концентрације естрадиола али, упркос истоветном ефекту ААС-а, није било статистички значајног адитивног ефекта ова два типа протокола.

Подаци из литературе који се односе на концентрације полних хормона у крви су доста разнолики. Забележено је да вежбање умереног интензитета не утиче на концентрације тестостерона и ДХТ-а у плазми (333), али је евидентирано и да програм интензивне физичке активности може довести до смањења серумске концентрације тестостерона (334). Резултати добијени у овој студији потврђују да је повећање серумских концентрација полних хормона, као последица пролонгираног протокола физичке активности, у сагласности са описаним повећањем тестостерона (327) и естрадиола (335) уочених након постепеног повећања интензитета физичке активности код пацова.



## 5.7. Утицај ААС-а и физичке активности на број PV имунореактивних неурона у хипокампусу

Хронични третман ААС-а је доводио до значајног смањења укупног броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (Слика 4.49.). Протокол пролонгиране физичке активности је имао супротан ефекат и доводио је до повећања укупног броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу. Квантификација супротних ефеката протокола физичке активности и администрације ААС-а је омогућила врло интересантну анализу збирних ефеката, где се види да је симултано спровођење оба протокола у нандролонској групи потврдило да физичка активност може да повећа број PV имунореактивних неурона у хипокампусу до нивоа контролних вредности, док је у комбинованој тестостеронској групи број ових неурона остао непромењен (на нивоу седентарне ТЕ групе), уз статистички значајно мање вредности у поређењу са комбинованом нандролонском групом. Ова опсервација је потврђена чињеницом да, у условима супротних последица примене ААС-а и протокола физичке активности, највећи ефекат је био постигнут применом ТЕ-а (Табела 4.50.).

Анализа ефеката протокола примењених у овој студији показује да се негативни утицај администрације ААС-а уочавао у сва три испитивана региона хипокампуса - СА1, СА2/3 и DG (Слике 4.46. – 4.48.). С друге стране, ефекат спроведеног протокола физичке активности, изражен кроз повећање броја PV имунореактивних неурона, се манифестовао у СА1 региону и DG, док у СА2/3 региону није дошло до статистички значајног повећања броја PV имунореактивних неурона. Интересантно је да је симултана примена анаболика са програмом физичке активности у свим групама комбинованим са НД-ом (у свим регионима) доводила до статистички значајног повећања броја PV имунореактивних неурона, за разлику од комбинованих тестостеронских група где није дошло до значајне промене броја ових неурона ни у једном испитиваном региону хипокампуса. Констатацију да је кључна детерминанта у дефинисању броја PV имунореактивних неурона у сва три појединачна региона хипокампуса била администрација ТЕ-а, потврђују резултати о величини појединачних ефеката (Табеле 4.47. – 4.49.).

Обзиром да у литератури не постоје подаци других аутора који се односе на утицај ААС-а на број PV имунореактивних неурона у хипокампусу, једино поређење се може направити са резултатима студије спроведене у Лабораторији за бихевиорална истраживања (Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу), која показују да шестонедељна администрација НД-а доводи до промене броја PV имунореактивних неурона са израженим регионалним варијацијама у хипокампусу (336).

Позитиван утицај физичке активности (десетодневни програм аеробног вежбања) на повећање броја PV имунореактивних неурона у хипокампусу (забележен у грануларном слоју, као и у хилусу дентатног гируса, 337) је у складу са резултатима добијеним након спроведеног протокола физичке активности у овој студији. Слични резултати су представљени у студији у којој је примењиван аеробни тренинг током 5 недеља (30 минута дневно), са повећањем броја PV имунореактивних неурона у CA1 и CA2/3 регионима хипокампуса, без значајних промена у DG (338). Истоветне промене (повећање броја PV имунореактивних неурона у CA1 и CA2/3 регионима хипокампуса) добијене су и у студији у којој је током развојног периода спроведен протокол физичке активности на покретној траци између 21. и 60. постнаталног дана код пацова (339). Позитиван утицај физичке активности на хипокампалну формацију габаергичког система, изражен преко PV имунореактивних неурона, се објашњава специфичном ћелијском пролиферацијом и неурогенезом (337), иако постоји дилема да ли се ефекат остварује на већ постојећим ћелијама, или се ради о *de novo* неурогенези (340).

### **5.8. Утицај ААС-а и физичке активности на број AR имунореактивних неурона у хипокампусу**

Сви протоколи који су примењивани у спроведеној студији значајно су утицали на промену броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу. Оба примењена анаболичка стероида доводила су до значајног повећања укупног броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (Слика 4.60.). Супротни ефекат, смањење укупног броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу, остварен је након спроведеног хроничног

протокола физичке активности. Ефекат пролонгиране физичке активности се манифестовао и кроз значајно смањење броја AR имунореактивних неурона у комбинованој нандролонској у односу на седентарну групу, док у комбинованој тестостеронској групи такав ефекат није регистрован. Треба напоменути да је примена НД-а у еквимоларним концентрацијама, са истом дужином експозиције, довела до статистички значајно већег повећања укупног броја AR имунореактивних неурона, у односу на примену ТЕ-а. Снажнији утицај администрације НД-а на промену укупног броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу, у односу на друге примењене протоколе, је потврђен нумеричким изражавањем величине ефекта (Табела 4.54.).

Анализирајући утицај спроведених протокола на број AR имунореактивних неурона у појединачним регионима хипокампуса, може се уочити да је хронична администрација оба ААС-а доводила до значајног повећања броја AR имунореактивних неурона у односу на контролне вредности у свим испитиваним регионима – CA1, CA2/3 и DG (Слике 4.57. – 4.59.), уз напомену да је повећање броја AR имунореактивних неурона у DG региону било значајно веће у нандролонској групи у поређењу са тестостеронском групом. Пролонгирана физичка активност је доводила до статистички значајног смањења броја AR имунореактивних неурона у свим испитиваним регионима хипокампуса. Ипак, анализирајући ефекте симултане администрације ААС-а и протокола физичке активности, уочава се да је у CA1 региону пролонгирана физичка активност смањивала број AR имунореактивних неурона у поређењу са обе седентарне групе, у денатном гирусу само у комбинацији са НД-ом, док у CA2/3 региону ефекат физичке активности није био довољан да статистички значајно смањи број AR имунореактивних неурона у односу на обе седентарне групе. Интересантно је да се описани утицаји различитих спроведених протокола могу објаснити великим разликама у величини ефекта, где су поред континуирано снажног негативног (у нумеричком смислу) ефекта вежбања на број AR имунореактивних неурона у свим испитиваним регионима, ефекти примењених ААС-а варирали у зависности од региона хипокампуса, тако што је утицај НД-а био већи у CA1 региону и DG, док је ефекат ТЕ-а био доминантан у CA2/3 региону (Табеле 4.51. – 4.53.).

Резултати ове студије, који се односе на ефекте ААС-а на број AR имунореактивних неурона у хипокампусу, су у сагласности са резултатима истраживања

која су спроведена на гонадектомисаним пацовима, где је суплементацијом у различитим дозама (интрацеребровентрикуларна апликација тестостерона) добијено повећање броја AR имунореактивних неурона у хипокампусу (341). Подаци из литературе не пружају довољно информација на основу којих би се могао прецизно објаснити механизам утицаја AAC-а на број AR имунореактивних неурона у хипокампусу. Са прилично сигурности се може тврдити да утицај на експресију AR у хипокампусу укључује алтерације у продукцији BDNF-а (342), али је ове ефекте тешко анализирати правећи компарацију између гонадектомисаних животиња са суплементацијом AAC-а и интактних животиња где су примењивале супрафизиолошке дозе AAC-а (343). *Okamoto* и сарадници су потврдили да двонедељни програм умерене аеробне физичке активности доводи до повећања иРНК за AR у хипокампусу пацова (333). Претпостављени механизам повећања AR у хипокампусу (333) би обухватио промене на нивоу три процеса значајна за неурогенезу: пролиферација (изражена преко маркера Ki67), диференцијација (изражена преко маркера *doublecortin*), као и преживљавање неурона (изражено преко маркера BrdU/NeuN). Експериментална потврда самосталног утицаја физичке активности на неурогенезу је добијена специфичном блокадом AR у хипокампусу (уз примену флутамида), која је резултовала повећањем пролиферације хипокампалних неурона (333).

### **5.9. Утицај AAC-а и физичке активности на број ER $\alpha$ имунореактивних неурона у хипокампусу**

Сви протоколи примењени у овој студији су доводили до значајног повећања укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу (Слика 4.72.). Пролонгирана физичка активност је доводила до повећања укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у хипокампусу, које је било статистички значајно веће и у односу на ефекат постигнут у седентарним анаболичким групама. Интересантно је да у комбинованим групама није уочен никакав кумулативни ефекат два спроведена протокола. Доминантни утицај вежбања је потврђен величином утицаја представљеном у Табели 4.58.

Утицај хроничне администрације ААС-а на број ER $\alpha$  имунореактивних неурона у СА1 и СА2/3 региону хипокампуса није био статистички значајан (Слике 4.69. и 4.70.), за разлику од протокола физичке активности који је у СА1 региону хипокампуса узроковао статистички значајно повећање броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона. Промена броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона у DG (Слика 4.71.) је у највећој мери осликавала промене укупног броја ER $\alpha$  имунореактивних неурона на нивоу хипокампуса. Величина утицаја појединих ефеката је, такође, варијала у зависности од испитиваног региона (Табеле 4.55. – 4.57.).

Подаци у литератури показују да је програмирани процес аеробне физичке активности доводио до повећања експресије иРНК за ER $\alpha$  у хипокампусу. Поред тога, иста студија је показала да је симултана примена блокатора ER (тамоксифена) и протокола физичке активности у трајању од две недеље за резултат имала повећање сва три процеса који су доводили до повећања броја неурона у хипокампусу: пролиферација, диференцијација, као и преживљавање неурона (333).

Експериментална потврда самосталног утицаја физичке активности на неурогенезу је добијена специфичном блокадом ER (уз примену тамоксифена) у хипокампусу, која је резултовала повећањем пролиферације хипокампаљних неурона (333).

#### **5.10. Утицај ААС-а и физичке активности на AR/ER $\alpha$ индекс у хипокампусу**

Чињеница да су сви наведени протоколи имали значајног утицаја истовремено и на број AR и ER $\alpha$ , као и да је експресија обе врсте рецептора показала значајну повезаност са бихевиоралним манифестацијама, била је довољно индикативна за успостављање нумеричке релације између експресије ове две врсте рецептора и анализирање утицаја на праћене параметре.

Утицај пролонгираног протокола физичке активности је доводио до значајног смањења AR/ER $\alpha$  индекса у ткиву хипокампуса (Слика 4.84.). Примена анаболичких стероида је узроковала повећање вредности овог индекса у односу на контролну групу,

при чему је ефекат примене НД-а био статистички значајно већи у односу на ТЕ групу. Симултана примена ААС-а у супрафизиолошким дозама и пролонгираног тренажног процеса је за резултат имала перзистентно повећање AR/ER $\alpha$  индекса у ткиву хипокампуса. Поредећи величину ефекта различитих спроведених протокола, који су имали супротне ефекте (физичка активност је смањивала вредност индекса, док су анаболици повећавали вредност индекса), уочава се да је највећи ефекат на вредност AR/ER $\alpha$  индекса имала администрација нандролоне (Табела 4.62.).

Анализирајући регионалне разлике у ефектима спроведених протокола на AR/ER $\alpha$  индекс, уочава се правилност по којој је пролонгирани протокол физичке активности смањивао вредност индекса, док је администрација анаболика повећавала вредност овог параметра (Слика 4.81. – 4.84.). Иако је ефекат примене ТЕ-а био већи у поређењу са ефектом НД-а у региону СА2/3 (Табела 4.60.), далеко већи ефекат НД-а на вредност AR/ER $\alpha$  индекса се уочава у СА1 региону (Табела 4.59.), и нарочито у региону дентатног гируса (Табела 4.61.).

Доступни подаци из литературе нису омогућили анализу односа изражену као AR/ER $\alpha$  индекс, као ни могуће импликације различите експресије ових рецептора на бихевиоралне манифестације.

### **5.11. Утицај ААС-а и физичке активности на оксидативно оштећење у хипокампусу**

Протоколи примењени у овом истраживању су изазвали значајне промене степена липидне пероксидације (израженог као TBARS) у хипокампусу (Слика 4.42.). Оба примењена анаболика су значајно повећала TBARS у хипокампусу пацова у поређењу са вредностима у контролној групи. Супротан ефекат је забележен у групи која је имала дуготрајни тренажни процес. Ефекат физичке активности на смањење степена липидне пероксидације је био уочљив и у комбинованим групама у поређењу са одговарајућим седентарним групама код којих је самостално примењиван НД или ТЕ. Анализирајући појединачне факторе, запажено је да је највећу величину утицаја на TBARS имао програмирани тренажни протокол (Табела 4.43.).

Резултати ове студије су у сагласности са претходно публикованим резултатима студије спроведене на пацовима након дуготрајне примене супрафизиолошких доза НД-а (344). У поменутој студији, степен липидне пероксидације (процењиван као MDA) у хипокампусу је био значајно већи након примене НД-а. Поред тога, друга студија која описује ефекте ААС-а (болденон) на оксидативни статус у хипокампусу (345) је, такође, у сагласности са резултатима овог истраживања. Оксидативно оштећење у хипокампусу је потврђено кроз статистички значајно повећање MDA након примене болденона.

Протокол дуготрајног пливања примењиван код пацова је доводио до промена у оксидативном статусу у мозгу (251), у виду значајног смањења MDA, што је у складу са резултатима ове студије. Иако протоколи физичке активности, који су трајали краће од 4 недеље, нису успели да умање степен липидне пероксидације у хипокампусу (346), резултати добијени у овом истраживању указују да је ефекат пролонгиране физичке активности у комбинованим групама био довољан да ублажи оксидативно оштећење настало применом анаболика.

Активност SOD-е у хипокампусу се значајно мењала под утицајем различитих протокола примењених у овој студији (Слика 4.43.). Наиме, група третирана ТЕ-ом је показала статистички значајно смањење овог параметра у поређењу са контролном групом, док НД није остварио такав ефекат. Треба нагласити да је забележена разлика у утицају на активност SOD-е између седентарних група третираним анаболицима, при чему је ТЕ значајно смањив активност овог ензима у поређењу са НД-ом. Иако протокол физичке активности самостално није доводио до статистички значајног повећања SOD-е, у комбинованој тестостеронској групи се ефекат вежбања манифестовао кроз значајно повећање активности овог ензима у односу на контролну групу третирану ТЕ-ом. Иако супротног дејства, приближно иста величина утицаја је забележена применом ТЕ-а и вежбања, уз нешто израженији утицај ТЕ-а (Табела 4.44.).

Студија у којој је спроведен третман болденоном је показала да је активност SOD-е у хипокампусу била значајно мања у поређењу са контролним условима (345), што је у складу и са резултатима овог истраживања. Супротно овим резултатима, студија у којој је примењиван станозолол је резултовала повећањем активности укупне SOD-е у мозгу

(171), вероватно због чињенице да је примењивана двоструко мања доза ААС-а у поређењу са овом студијом.

Резултати студије коју су спровели *Nonato* и сарадници су показали да је дуготрајни протокол пливања (30 минута дневно, током 8 недеља) доводио до повећања активности SOD-е у мозгу пацова (251). Супротно томе, као што је забележено и у овој студији, резултати других истраживачких група указују да протокол физичке активности не утиче на укупну активност SOD-е у мозгу (347), као ни на одговарајуће изоформе овог ензима – Mn-SOD и Cu/Zn-SOD (171). Објашњење за неслагање у резултатима који се тичу ефеката физичке активности на активност SOD-е (и других ензима антиоксидантне заштите) се може наћи у примени различитих протокола физичке активности. Наиме, промене у оксидативном статусу у мозгу (као одговор на физичку активност) настају као последица појачаног стварања слободних радикала (348, 349), па је кључна детерминанта која ће дефинисати финални ефекат последица основног утицаја различитих протокола физичке активности на продукцију слободних радикала (и последично активације одговарајућих ензима антиоксидантне заштите).

Супрафизиолошке дозе два различита анаболика, као ни дуготрајни програмирани тренажни процес, у овој студији нису значајно утицали на концентрацију укупног глутатиона у хипокампусу (Слика 4.44., Табела 4.45.).

У литератури не постоји довољно података који говоре о утицају ААС-а на ниво укупног глутатиона. Зато се резултати ове студије једино могу упоредити са резултатима студија у којима није дошло до значајне промене нивоа GSH у хипокампусу пацова (346), као ни промена у укупном антиоксидантном кацитету (251).

Подаци из литературе потврђују да високе концентрације тестостерона могу да узрокују оксидативно оштећење у тестису пацова и зечева (350, 351), мишићима пацова (352), као и у људској плаценти (353). Такође, забележен је и неуротоксични ефекат примене тестостерона услед интензивнијег нарушавања оксидативне равнотеже, иако постоје подаци да при мањем степену оксидативног оштећења, примена тестостерона има неуропротективни ефекат (169, 170). Један од механизма неуротоксичности изазване применом ААС-а је ексцитотоксична неуронска смрт која је посредована NMDA



рецепторима (172). Екситотоксичност представља специфични пут активације неуронске смрти, који подразумева стимулацију глутаматних рецептора, резултујући прекомерним накупљањем јона калцијума унутар неурона (354). Друга група истраживача је дошла до закључка да физиолошке дозе андрогена индукују неуротоксичност допаминергичких неурона у култури ћелија (355). У овом експерименталном моделу је показано да се андрогени везују за интрацелуларне андрогене рецепторе и индукују оксидативно оштећење које води ка дисфункцији митохондрија. Отупштање цитохрома С са митохондрија активира каскаду реакција које финално воде ка апоптози ћелије. Овакав механизам индукције апоптозе описан је у допаминергичким неуронима, иако није потврђен у другим врстама неурона (GnRH неурони, 355). Поред апоптозе, која је забележена након примене НД-а, постоје докази који упућују на смањење броја неурона у паријеталном кортексу, префронталном кортексу, као и хипокампусу (356).

Иако постоје различити подаци у литератури о дејству физичке активности на оксидативни статус у мозгу, треба имати у виду да су поменуте разлике углавном узроковане специфичностима примењених протокола физичке активности (врста, дужина трајања, интензитет, оптерећење...). Позитиван утицај физичке активности се огледа, између осталог, и у смањењу оксидативног оштећења које карактерише смањен степен липидне пероксидације, као и повећање активности ензима одговорних за антиоксидантну заштиту (251). Физичка активност екстремно високог интензитета доводи до повећане продукције слободних радикала, што за последицу може имати смањен капацитет антиоксидантног одбрамбеног система да одржи редокс хомеостазу у мозгу (357). Ефекат физичке активности на мозак је веома комплексан и подразумева утицај на процес неурогенезе посредством повећаног стварања неуротрофичких фактора, појачане васкуларизације у мозгу, смањеног оксидативног оштећења, као и смањења деградације протеина. Модулација нивоа слободних радикала посредством физичке активности има битну улогу у одржавању укупног садржаја протеина, експресије BDNF-а, тирозин киназе В, и последично повећаној неурогенези. Корисни ефекти физичке активности се огледају кроз повећање отпорности неурона према оксидативном стресу, као и кроз могућност лакшег опоравка након оксидативног оштећења (358).

## 5.12. Нумеричка анализа повезаности регистрованих параметара

### 5.12.1. Претпостављени механизам промена степена анксиозности

Иако су сви примењени протоколи доводили до повећања серумских вредности полних хормона (Слике 4.39. – 4.41.), концентрације хормона нису корелирале са експресијом рецептора за полне хормоне у хипокампусу (Слике 4.64. и 4.76.). Независно од серумских вредности полних хормона, спроведени протоколи су имали значајан утицај на број рецептора за полне хормоне у хипокампусу. ААС-и су доводили до повећања броја AR у свим регионима хипокампуса (Слика 4.60.), уз дискретније изражену промену броја ER $\alpha$  (Слика 4.72.). Физичка активност је за резултат имала драстично смањење броја AR у свим регионима хипокампуса (Слика 4.60.), као и дискретније изражено повећање укупног броја ER $\alpha$  у хипокампусу (Слика 4.72.).

Број AR у хипокампусу је показао снажну, негативну повезаност са бројем имунореактивних PV неурона, статистички значајно у CA2/3 и DG регионима хипокампуса (Слика 4.68.), док експресија ER $\alpha$  није показала значајну повезаност са бројем имунореактивних PV неурона у испитиваним регионима хипокампуса (Слика 4.80.). Однос између експримираних AR и ER $\alpha$ , изражен као AR/ER $\alpha$  индекс, је показао веома снажну, негативну корелацију са бројем имунореактивних PV неурона, статистички највише изражену у CA2/3 и DG регионима хипокампуса (Слика 4.92.). Иако се показало да сам број ER $\alpha$  не утиче значајно на број имунореактивних PV неурона у хипокампусу, за разлику од AR, потврђено је да је финални утицај на број имунореактивних PV неурона у највећем степену зависио од односа у броју AR и ER $\alpha$ .

Број имунореактивних PV неурона у сва три појединачна региона хипокампуса, као и на укупној површини пресека хипокампуса је показао снажну, позитивну корелацију са најпоузданијим индикаторима анксиозности у УКЛ (Слика 4.50.) и тесту ОП (Слика 4.51.), што указује на могућност да степен анксиозности непосредно зависи од нивоа експресије габаергичког система у хипокампусу.

### **5.12.2. Претпостављени механизам промена степена депресивности**

Утицај спроведених протокола се, на већ описан начин, одражавао на промене броја рецептора за полне хормоне, као и на њихов однос према броју имунореактивних PV неурона у хипокампусу.

Број имунореактивних PV неурона у сва три појединачна региона хипокампуса, као и на укупној површини пресека хипокампуса је показао снажну, негативну корелацију са најпоузданијим индикатором депресивности у ТКР (Слика 4.52.), што такође указује на могућност да је степен депресивности непосредно афектиран степеном експресије габаергичког система у хипокампусу.

### **5.12.3. Претпостављени механизам промена когнитивних способности**

Промене у броју имунореактивних PV неурона у хипокампусу, настале као последица утицаја промена броја рецептора за полне хормоне, индукованих спроведеним протоколима су се одразиле на когнитивне способности.

Број имунореактивних PV неурона у CA2/3 и DG регионима хипокампуса је показао снажну, позитивну корелацију са најпоузданијим индикатором за процену просторног памћења у Барнсовом тесту (Слика 4.55.), на основу чега се може претпоставити да се квалитет когнитивних функција директно доводи у везу са степеном експресије габаергичког система у појединим регионима хипокампуса.

## **6. ЗАКЉУЧЦИ**

## **Промене степена анксиозности**

Хронична примена андрогених анаболичких стероида (НД, ТЕ) у супрафизиолошким дозама је доводила до повећања анксиозности, док је пролонгирани програм физичке активности имао анксиолитички ефекат.

Сви наведени протоколи су доводили до повећања серумских вредности полних хормона (Т, ДХТ и естрадиол), али су имали различит утицај на број рецептора за полне хормоне у хипокампусу. Анаболички стероиди су повећавали број андрогених и смањивали број естрогених  $\alpha$  рецептора, а тренажни процес је имао супротан ефекат – смањење броја андрогених рецептора и повећање броја естрогених рецептора  $\alpha$ .

Повећање броја андрогених рецептора је негативно утицало на број габаергичких неурона у хипокампусу, што се може директно довести у везу са уоченим анксиогеним ефектом анаболика. Промена експресије естрогених рецептора у хипокампусу није значајно утицала на број габаергичких неурона.

Од свих праћених параметара, највећи степен повезаности са нивоом анксиозности је показао однос између броја андрогених и естрогених рецептора  $\alpha$ .

## **Промене степена депресивности**

Физичка активност и суплементација синтетским дериватима тестостерона су имале супротне ефекте на вредности параметара за процену степена депресивности. Хронична примена андрогених анаболичких стероида у супрафизиолошким дозама је доводила до повећања депресивности, док је пролонгирани програм физичке активности имао антидепресантни ефекат.

Продепресантни ефекат анаболика је био повезан са повећањем броја андрогених рецептора, као и са смањењем броја естрогених рецептора  $\alpha$  и габаергичких неурона у хипокампусу.

Од свих праћених параметара, највећи степен повезаности са степеном депресивности је показао однос између броја андрогених и естрогених рецептора  $\alpha$ .

### **Промене когнитивних способности**

Хронична примена андрогених анаболичких стероида у супрафизиолошким дозама је доводила до смањења когнитивних способности, док пролонгирани програм физичке активности није значајно утицао на когницију. Негативан утицај анаболика на меморијски процес је био повезан са повећањем броја андрогених рецептора, као и са смањењем броја естрогених рецептора  $\alpha$  и габаергичких неурона у хипокампусу.

### **Промене ноцицепције**

Пролонгирани тренажни процес је имао значајан антиноцицептивни ефекат, док самостална примена ААС-а није имала значајан утицај на ноцицепцију. Промене у толеранцији бола изазваног термичким стимулусом нису биле значајно повезане са променама хормонског статуса, праћеног преко серумских нивоа полних хормона, као и броја рецептора за полне хормоне у хипокампусу.

## **7. ЛИТЕРАТУРА**

1. Kopera H. The history of anabolic steroids and a review of clinical experience with anabolic steroids. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*. 1985;271:11-8.
2. Kochakian CD. History, chemistry and pharmacodynamics of anabolic-androgenic steroids. *Wien Med Wochenschr*. 1993;143(14-15):359-63.
3. Fitzpatrick F. Where steroids were all the rage: A doctor's curiosity and a businessman's love of weightlifting set off a revolution in York. Philadelphia, PA: Philadelphia Inquirer; 2002.
4. Brown-Séguard CE. Note on the effects produced on man by subcutaneous injections of a liquid obtained from the testicles of animals. *Lancet*. 1889;2:105-7.
5. Koch FC. The male sex hormones. *Physiological Reviews*. 1937;17:153-238.
6. Hoberman JM, Yesalis CE. The history of synthetic testosterone. *Sci Am*. 1995;272:76-81.
7. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(4):644-51.
8. Fineschi V, Riezzo I, Centini F, Silingardi E, Licata M, Beduschi G, Karch SB. Sudden cardiac death during anabolic steroid abuse: morphologic and toxicologic findings in two fatal cases of bodybuilders. *Int J Legal Med*. 2007;121(1):48-53.
9. International Olympic Committee. Statistics 1997 of the IOC HIV-related wasting myopathy. *South Med J* 1993; 86: 865-6 accredited laboratories. Lausanne: International Olympic 27.
10. DuRant RH, Escobedo LG, Heath GW. Anabolic-steroid use, strength training, and multiple drug use among adolescents in the United States. *Pediatrics*. 1995;96(1 Pt 1):23-8.
11. Bahrke MS, Yesalis CE, Kopstein AN, Stephens JA. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. *Sports Med*. 2000;29(6):397-405.
12. Cohen J, Collins R, Darkes J, Gwartney D. A league of their own: demographics, motivations and patterns of use of 1,955 male adult non-medical anabolic steroid users in the United States. *J Int Soc Sports Nutr*. 2007;4:12.



13. Hall RC, Hall RC. Abuse of supraphysiologic doses of anabolic steroids. *South Med J*. 2005;98(5):550-5.
14. Durdiakova J, Ostatnikova D, Celec P. Testosterone and its metabolites--modulators of brain functions. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2011;71(4):434-54.
15. Melcangi RC, Garcia-Segura LM, Mensah-Nyagan AG. Neuroactive steroids: state of the art and new perspectives. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65(5):777-97.
16. Wilson JD, Gloyna RE. The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction. *Recent Prog Horm Res*. 1970;26:309-36.
17. Martini L. The 5 $\alpha$ -reduction of testosterone in the neuroendocrine structures. Biochemical and physiological implications. *Endocr Rev*. 1982;3(1):1-25.
18. Celotti F, Melcangi RC, Martini L. The 5  $\alpha$ -reductase in the brain: molecular aspects and relation to brain function. *Front Neuroendocrinol*. 1992;13(2):163-215.
19. Clark AF. Steroid A4-reductase. Their physiological role and significance. In: Hobkirk R, ed. *Steroid Biochemistry*. Vol 1. Boca Raton, Fla: CRC Press; 1979:1-27.
20. Shahidi NT. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clin Ther*. 2001;23(9):1355-90.
21. Ruzicka L, Goldberg MW, Rosenberg HR. Sexualhormone X Herstellung des 17-Methyltestosteron und anderer Androsten und Androstanderivate. Zusammenh~inge zwischen chemischer Konstitution und mannlicher Hormonwirkung. *Helv Chim Acta*. 1935;18:1487-98.
22. Basaria S, Wahlstrom JT, Dobs AS. Clinical review 138: anabolicandrogenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(11):5108–17.
23. Winters S. Androgens: endocrine physiology and pharmacology. *NIDA Res Monographs* 1990;102:113–30.
24. Kochakian C. Anabolic-androgenic steroids: a historical perspective and definition. In: Yesalis C, editor. *Anabolic steroids in sport and exercise*. Champaign: Human Kinetics; 1993;4–33.

25. Ryan KJ. Biological aromatization of steroids. *J Biol Chem* 1959; 234:268–72.
26. Wilson J. Androgen abuse by athletes. *Endocrinol Rev* 1988;9:181–99.
27. Bartsch W. Anabolic steroids--action on cellular level. *Wien Med Wochenschr.* 1993;143(14-15):363-6.
28. Creutzberg EC, Schols AM. Anabolic steroids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999;2: 243-53.
29. Saartok T, Dahlberg E, Gustafsson JA. Relative binding affinity of anabolic-androgenic steroids: comparison of the binding to the androgen receptors in skeletal muscle and in prostate, as well as to sex hormone-binding globulin. *Endocrinology.* 1984;114(6):2100-6.
30. Tóth M, Zakár T. Relative binding affinities of testosterone, 19-nortestosterone and their 5 alpha-reduced derivatives to the androgen receptor and to other androgen-binding proteins: a suggested role of 5 alpha-reductive steroid metabolism in the dissociation of "myotropic" and "androgenic" activities of 19-nortestosterone. *J Steroid Biochem.* 1982;17(6):653-60.
31. Lombardo JA. Anabolic-androgenic steroids. *NIDA Res Monogr.* 1990;102:60-73.
32. Wilson J. Androgens. In: Hardman J, Limbird L, editors. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.* 9th ed. New York: McGraw-Hill. 1996;1441-57
33. Chang C, Saltzman A, Yeh S, Young W, Keller E, Lee HJ, Wang C, Mizokami A. Androgen receptor: an overview. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 1995;5(2):97-125.
34. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 2004;34(8):513-54.
35. Mayer M, Rosen F. Interaction of anabolic steroids with glucocorticoid receptor sites in rat muscle cytosol. *Am J Physiol.* 1975;229(5):1381-6.
36. Hickson RC, Czerwinski SM, Falduto MT, Young AP. Glucocorticoid antagonism by exercise and androgenic-anabolic steroids. *Med Sci Sports Exerc.* 1990;22(3):331-40.

37. Tabori NE, Stewart LS, Znamensky V, Romeo RD, Alves SE, McEwen BS, Milner TA. Ultrastructural evidence that androgen receptors are located at extranuclear sites in the rat hippocampal formation. *Neuroscience*. 2005;130(1):151-63.
38. Finley SK, Kritzer MF. Immunoreactivity for intracellular androgen receptors in identified subpopulations of neurons, astrocytes and oligodendrocytes in primate prefrontal cortex. *J Neurobiol*. 1999;40(4):446-57.
39. Jung-Testas I, Baulieu EE. Steroid hormone receptors and steroid action in rat glial cells of the central and peripheral nervous system. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1998;65(1-6):243-51.
40. Scordalakes EM, Rissman EF. Aggression in male mice lacking functional estrogen receptor alpha. *Behav Neurosci*. 2003;117(1):38-45.
41. Choleris E, Ogawa S, Kavaliers M, Gustafsson JA, Korach KS, Muglia LJ, Pfaff DW. Involvement of estrogen receptor alpha, beta and oxytocin in social discrimination: A detailed behavioral analysis with knockout female mice. *Genes Brain Behav*. 2006;5(7):528-39.
42. Robinson S, Penatti CA, Clark AS. The role of the androgen receptor in anabolic androgenic steroid-induced aggressive behavior in C57BL/6J and Tfm mice. *Horm Behav*. 2012;61(1):67-75.
43. Pinna G, Costa E, Guidotti A. Changes in brain testosterone and allopregnanolone biosynthesis elicit aggressive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(6):2135-40.
44. Pinna G, Agis-Balboa RC, Pibiri F, Nelson M, Guidotti A, Costa E. Neurosteroid biosynthesis regulates sexually dimorphic fear and aggressive behavior in mice. *Neurochem Res*. 2008;33(10):1990-2007.
45. Penatti CA, Porter DM, Henderson LP. Chronic exposure to anabolic androgenic steroids alters neuronal function in the mammalian forebrain via androgen receptor- and estrogen receptor-mediated mechanisms. *J Neurosci*. 2009;29(40):12484-96.
46. Campbell S, Macqueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *J Psychiatry Neurosci*. 2004;29(6):417-26.

47. Holm MM, Nieto-Gonzalez JL, Vardya I, Henningsen K, Jayatissa MN, Wiborg O, Jensen K. Hippocampal GABAergic dysfunction in a rat chronic mild stress model of depression. *Hippocampus*. 2011;21(4):422-33.
48. Brambilla P, Perez J, Barale F, Schettini G, Soares JC. GABAergic dysfunction in mood disorders. *Mol Psychiatry*. 2003;8(8):721-37, 715.
49. Heckers S, Stone D, Walsh J, Shick J, Koul P, Benes FM. Differential hippocampal expression of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 messenger RNA in bipolar disorder and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59(6):521-9.
50. Liu FF, Yang LD, Sun XR, Zhang H, Pan W, Wang XM et al. NOX2 Mediated-Parvalbumin Interneuron Loss Might Contribute to Anxiety-Like and Enhanced Fear Learning Behavior in a Rat Model of Post-Traumatic Stress Disorder. *Mol Neurobiol*. 2016;53(10):6680-89.
51. Schwaller B, Meyer M, Schiffmann S. 'New' functions for 'old' proteins: the role of the calcium-binding proteins calbindin D-28k, calretinin and parvalbumin, in cerebellar physiology. Studies with knockout mice. *Cerebellum*. 2002;1(4):241-58.
52. Zaletel I, Filipović D, Puškaš N. Chronic stress, hippocampus and parvalbumin-positive interneurons: what do we know so far? *Rev Neurosci*. 2016;27(4):397-409.
53. Möhler H. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*. 2012;62(1):42-53.
54. Süttmann U, Ockenga J, Selberg O, Hoogestraat L, Deicher H, Müller MJ. Incidence and prognostic value of malnutrition and wasting in human immunodeficiency virus-infected outpatients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1995;8(3):239-46.
55. Ferreira IM, Verreschi IT, Nery LE, Goldstein RS, Zamel N, Brooks D, Jardim JR. The influence of 6 months of oral anabolic steroids on body mass and respiratory muscles in undernourished COPD patients. *Chest*. 1998;114(1):19-28.
56. Mendenhall CL, Moritz TE, Roselle GA, Morgan TR, Nemchausky BA, Tamburro CH, Schiff ER, McClain CJ, Marsano LS, Allen JI, et al. Protein energy malnutrition in severe

alcoholic hepatitis: diagnosis and response to treatment. The VA Cooperative Study Group #275. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1995;19(4):258-65.

57. Falanga V, Greenberg AS, Zhou L, Ochoa SM, Roberts AB, Falabella A, Yamaguchi Y. Stimulation of collagen synthesis by the anabolic steroid stanozolol. *J Invest Dermatol.* 1998;111(6):1193-7.

58. Demling R, De Santi L. Closure of the "non-healing wound" corresponds with correction of weight loss using the anabolic agent oxandrolone. *Ostomy Wound Manage.* 1998;44(10):58-62, 64, 66 passim.

59. Cunningham GR, Silverman VE, Thornby J, Kohler PO. The potential for an androgen male contraceptive. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979;49(4):520-6.

60. Kennedy BJ, Gilbertsen AS. Increased erythropoiesis induced by androgenic-hormone therapy. *N Engl J Med.* 1957;256(16):719-26.

61. Tomoda H. Effect of oxymetholone on left ventricular dimensions in heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy or to mitral or aortic regurgitation. *Am J Cardiol.* 1999;83(1):123-5, A9.

62. Johansen KL, Mulligan K, Schambelan M. Anabolic effects of nandrolone decanoate in patients receiving dialysis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 1999;281(14):1275-81.

63. Gaughan WJ, Liss KA, Dunn SR, Mangold AM, Buhsmer JP, Michael B, Burke JF. A 6-month study of low-dose recombinant human erythropoietin alone and in combination with androgens for the treatment of anemia in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1997;30(4):495-500.

64. Strawford A, Barbieri T, Van Loan M, Parks E, Catlin D, Barton N, Neese R, Christiansen M, King J, Hellerstein MK. Resistance exercise and supraphysiologic androgen therapy in eugonadal men with HIV-related weight loss: a randomized controlled trial. *JAMA.* 1999;281(14):1282-90.

65. Wilson DM, McCauley E, Brown DR, Dudley R. Oxandrolone therapy in constitutionally delayed growth and puberty. Bio-Technology General Corporation Cooperative Study Group. *Pediatrics*. 1995;96(6):1095-100.
66. Joss EE, Mullis PE, Werder EA, Partsch CJ, Sippell WG. Growth promotion and Turner-specific bone age after therapy with growth hormone and in combination with oxandrolone: when should therapy be started in Turner syndrome? *Horm Res*. 1997;47(3):102-9.
67. van Amsterdam J, Opperhuizen A, Hartgens F. Adverse health effects of anabolic-androgenic steroids. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010;57(1):117-23.
68. Boyadjiev NP, Georgieva KN, Massaldjieva RI, Gueorguiev SI. Reversible hypogonadism and azoospermia as a result of anabolic-androgenic steroid use in a bodybuilder with personality disorder A case report. *J Sports Med Phys Fitness*. 2000;40:271-4.
69. Dohle GR, Smit M, Weber RF. Androgens and male fertility. *World J Urol*. 2003;21:341-5.
70. Eklof AC, Thurelius AM, Garle M, Rane A, Sjoqvist F. The anti-doping hot-line, a means to capture the abuse of doping agents in the Swedish society and a new service function in clinical pharmacology. *Eur J Clin Pharmacol*. 2003;59:571-7.
71. Wemyss-Holden SA, Hamdy FC, Hastie KJ. Steroid abuse in athletes, prostatic enlargement and bladder outflow obstruction - is there a relationship? *Br J Urol*. 1994;74(4):476-8.
72. American Academy of Pediatrics. Adolescents and Anabolic Steroids: a subject Review. *Pediatrics*. 1997;99:904-8.
73. Elliot DL, Goldberg L. Women and anabolic steroids. In: Yesalis, CE (Ed.), *Anabolic Steroids in Sport and Exercise*, second ed. Human Kinetics, Champaign. 2000;25-246.
74. Friedl KE. Effect of anabolic steroids on physical health. In: Yesalis, C.E. (Ed.), *Anabolic Steroids in Sport and Exercise*, second. Human Kinetics, Champaign. 2000;175-225.
75. Velazquez I, Alter BP. Androgens and liver tumors: Fanconi's anemia and non-Fanconi's conditions. *Am J Hematol*. 2004;77:257-67.

76. Pavlatos AM, Fultz O, Monberg MJ, Vootkur A, Pharmd. Review of oxymetholone: a 17alpha-alkylated anabolic-androgenic steroid. *Clin Ther.* 2001;23(6):789-801.
77. Hartgens F, Rietjens G, Keizer HA, Kuipers H, Wolffenbuttel BH. Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a). *Br J Sports Med.* 2004;38(3):253-9.
78. Ferencik GS. Are androgenic steroids thrombogenic? *N Engl J Med.* 1990;322(7):476.
79. Urhausen A, Albers T, Kindermann W. Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? *Heart.* 2004;90(5):496-501.
80. Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med.* 2004;32(2):534-42.
81. Zomorodian K, Rahimi MJ, Taheri M, Ghanbari Asad A, Khani S, Ahrari I, Pakshir K, Khashei R. The cutaneous bacterial microflora of the bodybuilders using anabolic-androgenic steroids. *Jundishapur J Microbiol.* 2014 Dec 6;8(1):e12269.
82. Seynnes OR, Kamandulis S, Kairaitis R, Helland C, Campbell EL, Brazaitis M, Skurvydas A, Narici MV. Effect of androgenic-anabolic steroids and heavy strength training on patellar tendon morphological and mechanical properties. *J Appl Physiol (1985).* 2013;115(1):84-9.
83. Silberberg R, Silberberg M. Epiphyseal growth and development in mice following administration of a protein-anabolic steroid (17-ethyl-19-nortestosterone). *Anat Rec.* 1961;139:51-8.
84. Belli S, Vanacore N. Proportionate mortality of Italian soccer players: is amyotrophic lateral sclerosis an occupational disease? *Eur J Epidemiol.* 2005;20(3):237-42.
85. Pärssinen M, Karila T, Kovanen V, Seppälä T. The effect of supraphysiological doses of anabolic androgenic steroids on collagen metabolism. *Int J Sports Med.* 2000;21(6):406-11.
86. Juhn M. Popular sports supplements and ergogenic aids. *Sports Med.* 2003;33(12):921-39.
87. Hageloch W, Appell HJ, Weicker H. Rhabdomyolysis in a bodybuilder using anabolic steroids. *Sportverletz Sportschaden.* 1988;2:122-5.

88. Revai T, Sapi Z, Benedek S, Kovacs A, Kaszas I, Viranyi M, Winkler G. Severe nephrotic syndrome in a young man taking anabolic steroid and creatine long term. *Orv Hetil.* 2003;144:2425–7.
89. Rogol AD, Yesalis CE. Anabolic-androgenic steroids and the adolescent. *Pediatr Ann.* 1992;21:175–88.
90. Pope HG Jr, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. *Am J Psychiatry.* 1988;145(4):487-90.
91. Wood RI, Armstrong A, Fridkin V, Shah V, Najafi A, Jakowec M. 'Roid rage in rats? Testosterone effects on aggressive motivation, impulsivity and tyrosine hydroxylase. *Physiol Behav.* 2013;110-111:6-12.
92. Goldman A, Basaria S. Adverse health effects of androgen use. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;pii: S0303-7207(17)30336-2.
93. Bahrke MS, Yesalis CE 3rd, Wright JE. Psychological and behavioural effects of endogenous testosterone levels and anabolic-androgenic steroids among males. A review. *Sports Med.* 1990;10(5):303-37.
94. Archer J. The influence of testosterone on human aggression. *Br J Psychol.* 1991;82 (Pt 1):1-28.
95. Wu FW. Treatment of infertility: infertility in men. *Prescr J* 1996;36:55-61.
96. Annitto WJ, Layman WA. Anabolic steroids and acute schizophrenic episode. *J Clin Psychiatry.* 1980;41:143-4.
97. Brower KJ, Blow FC, Eliopoulos GA, Beresford TP. Anabolic androgenic steroids and suicide. *Am J Psychiatry.* 1989;146(8):1075.
98. Pope HGJ, Katz DL. Homicide and near-homicide by anabolic steroid users. *J Clin Psychiatry.* 1990;51:28-31.
99. Driessen M, Muessigbrodt H, Dilling H, Driessen B. Child sexual abuse associated with anabolic androgenic steroid use. *Am J Psychiatry.* 1996;153(10):1369.



100. Corrigan B. Anabolic steroids and the mind. *Med J Aust* 1996;165:222-6.
101. Schulte HM, Hall MJ, Boyer M. Domestic violence associated with anabolic steroid abuse. *Am J Psychiatry*. 1993;150(2):348.
102. Pomara C, Neri M, Bello S, Fiore C, Riezzo I, Turillazzi E. Neurotoxicity by synthetic androgen steroids: oxidative stress, apoptosis, and neuropathology: A review. *Curr Neuropharmacol*. 2015;13(1):132-45.
103. Kindlundh AM, Lindblom J, Bergström L, Nyberg F. The anabolic-androgenic steroid nandrolone induces alterations in the density of serotonergic 5HT1B and 5HT2 receptors in the male rat brain. *Neuroscience*. 2003;119(1):113-20.
104. Oberlander JG, Henderson LP. The Sturm und Drang of anabolic steroid use: angst, anxiety, and aggression. *Trends Neurosci*. 2012;35(6):382-92.
105. Henderson LP. Steroid modulation of GABAA receptor-mediated transmission in the hypothalamus: effects on reproductive function. *Neuropharmacology*. 2007;52(7):1439-53.
106. Melloni RH Jr, Ricci LA. Adolescent exposure to anabolic/androgenic steroids and the neurobiology of offensive aggression: a hypothalamic neural model based on findings in pubertal Syrian hamsters. *Horm Behav*. 2010;58(1):177-91.
107. Schwartz JJ, Ricci LA, Melloni RH Jr. Interactions between the dopaminergic and GABAergic neural systems in the lateral anterior hypothalamus of aggressive AAS-treated hamsters. *Behav Brain Res*. 2009;203(1):15-22.
108. Toth M, Fuzesi T, Halasz J, Tulogdi A, Haller J. Neural inputs of the hypothalamic "aggression area" in the rat. *Behav Brain Res*. 2010;215(1):7-20.
109. Seo D, Patrick CJ, Kennealy PJ. Role of Serotonin and Dopamine System Interactions in the Neurobiology of Impulsive Aggression and its Comorbidity with other Clinical Disorders. *Aggress Violent Behav*. 2008;13(5):383-95.

110. Schwartz JJ, Ricci LA, Melloni RH Jr. Adolescent anabolic-androgenic steroid exposure alters lateral anterior hypothalamic serotonin-2A receptors in aggressive male hamsters. *Behav Brain Res.* 2009;199(2):257-62.
111. Ricci LA, Rasakham K, Grimes JM, Melloni RH Jr. Serotonin-1A receptor activity and expression modulate adolescent anabolic/androgenic steroid-induced aggression in hamsters. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006;85(1):1-11.
112. Fischer SG, Ricci LA, Melloni RH Jr. Repeated anabolic/androgenic steroid exposure during adolescence alters phosphate-activated glutaminase and glutamate receptor 1 (GluR1) subunit immunoreactivity in Hamster brain: correlation with offensive aggression. *Behav Brain Res.* 2007;180(1):77-85.
113. Carrillo M, Ricci LA, Melloni RH Jr. Adolescent anabolic androgenic steroids reorganize the glutamatergic neural circuitry in the hypothalamus. *Brain Res.* 2009;1249:118-27.
114. Rossbach U, Steensland P, Nyberg F, Le Grevès P. Nandrolone-induced hippocampal phosphorylation of NMDA receptor subunits and ERKs. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;357(4):1028-33.
115. Busardò FP, Frati P, Sanzo MD, Napoletano S, Pinchi E, Zaami S, Fineschi V. The impact of nandrolone decanoate on the central nervous system. *Curr Neuropharmacol.* 2015;13(1):122-31.
116. Seamans JK, Durstewitz D, Christie BR, Stevens CF, Sejnowski TJ. Dopamine D1/D5 receptor modulation of excitatory synaptic inputs to layer V prefrontal cortex neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(1):301-6.
117. Gies U, Theodosis DT. Synaptic plasticity in the rat supraoptic nucleus during lactation involves GABA innervation and oxytocin neurons: a quantitative immunocytochemical analysis. *J Neurosci.* 1994;14(5 Pt 1):2861-9.
118. Kindlundh AM, Lindblom J, Nyberg F. Chronic administration with nandrolone decanoate induces alterations in the gene-transcript content of dopamine D(1)- and D(2)-receptors in the rat brain. *Brain Res.* 2003;979(1-2):37-42.

119. Gardoni F, Bellone C. Modulation of the glutamatergic transmission by Dopamine: a focus on Parkinson, Huntington and Addiction diseases. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:25.
120. Matrisciano F, Modafferi AM, Togna GI, Barone Y, Pinna G, Nicoletti F, Scaccianoce S. Repeated anabolic androgenic steroid treatment causes antidepressant-reversible alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, BDNF levels and behavior. *Neuropharmacology.* 2010;58(7):1078-84.
121. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* 2008;455(7215):894-902.
122. Tucci P, Morgese MG, Colaianna M, Zotti M, Schiavone S, Cuomo V, Trabace L. Neurochemical consequence of steroid abuse: stanozolol-induced monoaminergic changes. *Steroids.* 2012;77(3):269-75.
123. Tirassa P, Thiblin I, Agren G, Vigneti E, Aloe L, Stenfors C. High-dose anabolic androgenic steroids modulate concentrations of nerve growth factor and expression of its low affinity receptor (p75-NGFr) in male rat brain. *J Neurosci Res.* 1997;47(2):198-207.
124. Pieretti S, Mastriota M, Tucci P, Battaglia G, Trabace L, Nicoletti F, Scaccianoce S. Brain nerve growth factor unbalance induced by anabolic androgenic steroids in rats. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(1):29-35.
125. Barnes CA. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol.* 1979;93(1):74-104.
126. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* 1984;11(1):47-60.
127. Tanekar F, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Sameni HR, Haghghi S, Miladi-Gorji H, Motamedi F, Akhavan MM, Bavarsad K. Voluntary exercise does not ameliorate spatial learning and memory deficits induced by chronic administration of nandrolone decanoate in rats. *Horm Behav.* 2013;63(1):158-65.

128. Moradpour F, Naghdi N, Fathollahi Y. Anastrozole improved testosterone-induced impairment acquisition of spatial learning and memory in the hippocampal CA1 region in adult male rats. *Behav Brain Res.* 2006;175(2):223-32.
129. Naghdi N, Nafisy N, Majlessi N. The effects of intrahippocampal testosterone and flutamide on spatial localization in the Morris water maze. *Brain Res.* 2001;897(1-2):44-51.
130. Frye CA, Koonce CJ, Edinger KL, Osborne DM, Walf AA. Androgens with activity at estrogen receptor beta have anxiolytic and cognitive-enhancing effects in male rats and mice. *Horm Behav.* 2008;54(5):726-34.
131. Packard MG, Kohlmaier JR, Alexander GM. Posttraining intrahippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: interaction with cholinergic systems. *Behav Neurosci.* 1996;110(3):626-32.
132. Handa RJ, Hejna GM, Lorens SA. Androgen inhibits neurotransmitter turnover in the medial prefrontal cortex of the rat following exposure to a novel environment. *Brain Res.* 1997;751(1):131-8.
133. Wong M, Moss RL. Patch-clamp analysis of direct steroidal modulation of glutamate receptor-channels. *J Neuroendocrinol.* 1994;6(3):347-55.
134. Bonson KR, Johnson RG, Fiorella D, Rabin RA, Winter JC. Serotonergic control of androgen-induced dominance. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;49(2):313-22.
135. Kerr JE, Beck SG, Handa RJ. Androgens selectively modulate C-fos messenger RNA induction in the rat hippocampus following novelty. *Neuroscience.* 1996 Oct;74(3):757-66.
136. Vázquez-Pereyra F, Rivas-Arancibia S, Loeza-Del Castillo A, Schneider-Rivas S. Modulation of short term and long term memory by steroid sexual hormones. *Life Sci.* 1995;56(14):PL255-60.
137. Lapchak P, Araujo D, Quirion R, Beaudet A. Chronic estradiol treatment alters central cholinergic function in the female rat: effect on choline acetyltransferase activity, acetylcholine content, and nicotinic autoreceptor function. *Brain Res.* 1990;525(2):249-255.

138. Flood JF, Farr SA, Kaiser FE, La Regina M, Morley JE. Age-related decrease of plasma testosterone in SAMP8 mice: replacement improves age-related impairment of learning and memory. *Physiol Behav.* 1995;57(4):669-73.
139. Flood JF, Roberts E. Dehydroepiandrosterone sulfate improves memory in aging mice. *Brain Res.* 1988;448(1):178-81.
140. McCarthy MM, Frank A. Beach Award. Functional significance of steroid modulation of GABAergic neurotransmission: analysis at the behavioral, cellular, and molecular levels. *Horm Behav.* 1995;29(2):131-40.
141. Rhodes ME, Pui-Kai LI, Flood JF, Johnson DA. Enhancement of hippocampal acetylcholine release by the neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.* 1996;733:284-6.
142. Debonnel G, Bergeron R, de Montigny C. Potentiation by dehydroepiandrosterone of the neuronal response to N-methyl-D-aspartate in the CA3 region of the rat dorsal hippocampus: an effect mediated via sigma receptors. *J Endocrinol.* 1996;150 Suppl:S33-42.
143. Kus L, Handa RJ, Hautman JM, Beitz AJ. Castration increases [125I]MK801 binding in the hippocampus of male rats. *Brain Res.* 1995;683(2):270-4.
144. Michael RP, Rees HD, Bonsall RW. Sites in the male primate brain at which testosterone acts as an androgen. *Brain Res.* 1989;502(1):11-20.
145. Luine V, Rodriguez M. Effects of estradiol on radial arm maze performance of young and aged rats. *Behav Neural Biol.* 1994;62(3):230-6.
146. Philipova T, Ivanova T, Pavlova E, Kasakov L, Vlaskovska M. Nandrolone modulates the non-opioid and opioid analgesia and tolerance/dependence: role of sexual dimorphism. *Arch Physiol Biochem.* 2003;111(5):429-36.
147. Pourkhalili K, Mohebbi M, Kesmati M, Hossein Mohebbi G, Akbarzadeh S, Akbari Z. The effect of anabolic steroid nandrolone decanoate on exercise-induced hypoalgesia: Role of opioid peptides. *J Chem Pharm Res.* 2015;7(1):671-677.

148. Gharaghozlu N, Ahmadi R, Khakpour B, Alvany A, and Keshavarz X. Effects of Testosterone on Pain Threshold. International Conference on Chemical, Agricultural and Medical Sciences (CAMS-2014) May 2-3, 2014 Antalya (Turkey):23-24.
149. Murphy AZ, Shupnik MA, Hoffman GE. Androgen and estrogen (alpha) receptor distribution in the periaqueductal gray of the male Rat. *Horm Behav.* 1999;36(2):98-108.
150. VanderHorst VG, Schasfoort FC, Meijer E, van Leeuwen FW, Holstege G. Estrogen receptor-alpha-immunoreactive neurons in the periaqueductal gray of the adult ovariectomized female cat. *Neurosci Lett.* 1998;240(1):13-6.
151. VanderHorst VG, Meijer E, Schasfoort FC, Van Leeuwen FW, Holstege G. Estrogen receptor-immunoreactive neurons in the lumbosacral cord projecting to the periaqueductal gray in the ovariectomized female cat. *Neurosci Lett.* 1997;236(1):25-8.
152. Amandusson A, Hallbeck M, Hallbeck AL, Hermanson O, Blomqvist A. Estrogen-induced alterations of spinal cord enkephalin gene expression. *Pain.* 1999;83(2):243-8.
153. Zhu YS, Cai LQ, You X, Duan Y, Imperato-McGinley J, Chin WW, Pfaff DW. Molecular analysis of estrogen induction of preproenkephalin gene expression and its modulation by thyroid hormones. *Brain Res Mol Brain Res.* 2001;91(1-2):23-33.
154. Chang PC, Aicher SA, Drake CT. Kappa opioid receptors in rat spinal cord vary across the estrous cycle. *Brain Res.* 2000;861(1):168-72.
155. Kelly MJ, Lagrange AH, Wagner EJ, Rønnekleiv OK. Rapid effects of estrogen to modulate G protein-coupled receptors via activation of protein kinase A and protein kinase C pathways. *Steroids.* 1999;64(1-2):64-75.
156. South SM, Wright AW, Lau M, Mather LE, Smith MT. Sex-related differences in antinociception and tolerance development following chronic intravenous infusion of morphine in the rat: modulatory role of testosterone via morphine clearance. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;297(1):446-57.
157. Baker L, Ratka A. Sex-specific differences in levels of morphine, morphine-3-glucuronide, and morphine antinociception in rats. *Pain.* 2002;95(1-2):65-74.

158. Johnson LC, Fisher G, Silvester LJ, Hofheins CC. Anabolic steroid: effects on strength, body weight, oxygen uptake and spermatogenesis upon mature males. *Med Sci Sports*. 1972;4(1):43-5.
159. Kuipers H, Wijnen JA, Hartgens F, Willems SM. Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. *Int J Sports Med*. 1991;12(4):413-8.
160. Kilshaw BH, Harkness RA, Hobson BM, Smith AW. The effects of large doses of the anabolic steroid, methandrostenolone, on an athlete. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1975;4(5):537-41.
161. Golding LA, Freydinge JE, Fishel SS. Weight, size and strength: unchanged with steroids. *Phys Sportsmed* 1974;2:39-43
162. Giorgi A, Weatherby RP, Murphy PW. Muscular strength, body composition and health responses to the use of testosterone enanthate: a double blind study. *J Sci Med Sport*. 1999;2(4):341-55.
163. Hartgens F, Van Marken Lichtenbelt WD, Ebbing S, Vollaard N, Rietjens G, Kuipers H. Body composition and anthropometry in bodybuilders: regional changes due to nandrolone decanoate administration. *Int J Sports Med*. 2001;22(3):235-41. Erratum in: *Int J Sports Med* 2001;22(5):336.
164. Bhasin S, Storer TW, Berman N, Callegari C, Clevenger B, Phillips J, Bunnell TJ, Tricker R, Shirazi A, Casaburi R. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med*. 1996;335(1):1-7.
165. Hartgens F, Kuipers H, Wijnen JA, Keizer HA. Body composition, cardiovascular risk factors and liver function in long-term androgenic-anabolic steroids using bodybuilders three months after drug withdrawal. *Int J Sports Med*. 1996;17(6):429-33.
166. Hinterberger W, Vierhapper H. Anabolic steroids and blood cell production. *Wien Med Wochenschr*. 1993;143(14-15):380-2.
167. Johnson LC, O'Shea JP. Anabolic steroid: effects on strength development. *Science*. 1969;164(3882):957-9.

168. Fahey TD, Brown CH. The effects of an anabolic steroid on the strength, body composition, and endurance of college males when accompanied by a weight training program. *Med Sci Sports*. 1973;5(4):272-6.
169. Holmes S, Abbassi B, Su C, Singh M, Cunningham RL. Oxidative Stress Defines the Neuroprotective or Neurotoxic Properties of Androgens in Immortalized Female Rat Dopaminergic Neuronal Cells. *Endocrinology*. 2013;154(11):4281-92.
170. Cunningham RL, Singh M, O'Bryant SE, Hall JR, Barber RC. Oxidative stress, testosterone, and cognition among Caucasian and Mexican-American men with and without Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2014;40(3):563-73.
171. Camiletti-Moirón D, Aparicio VA, Nebot E, Medina G, Martínez R, Kapravelou G, Andrade A, Porres JM, López-Jurado M, Aranda P. High-intensity Exercise Modifies the Effects of Stanozolol on Brain Oxidative Stress in Rats. *Int J Sports Med*. 2015;36(12):984-91.
172. Orlando R, Caruso A, Molinaro G, Motolese M, Matrisciano F, Togna G, Melchiorri D, Nicoletti F, Bruno V. Nanomolar concentrations of anabolic-androgenic steroids amplify excitotoxic neuronal death in mixed mouse cortical cultures. *Brain Res*. 2007;1165:21-9.
173. Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry*. 2013;4:27.
174. Rimmele U, Zellweger BC, Marti B, Seiler R, Mohiyeddini C, Ehlert U, Heinrichs M. Trained men show lower cortisol, heart rate and psychological responses to psychosocial stress compared with untrained men. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(6):627-35
175. de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(6):463-75.
176. Steckler T, Holsboer F, Reul JM. Glucocorticoids and depression. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 1999;13(4):597-614.
177. Petty F, Kramer G, Wilson L. Prevention of learned helplessness: in vivo correlation with cortical serotonin. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992;43(2):361-7.



178. Petty F, Kramer G, Wilson L, Chae YL. Learned helplessness and in vivo hippocampal norepinephrine release. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993;46(1):231-5.
179. Meeusen R, De Meirleir K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med.* 1995;20(3):160-88.
180. Dunn AL, Reigle TG, Youngstedt SD, Armstrong RB, Dishman RK. Brain norepinephrine and metabolites after treadmill training and wheel running in rats. *Med Sci Sports Exerc.* 1996;28(2):204-9.
181. Dishman RK. Brain monoamines, exercise, and behavioral stress: animal models. *Med Sci Sports Exerc.* 1997;29(1):63-74.
182. Darko DF, Risch SC, Gillin JC, Golshan S. Association of beta-endorphin with specific clinical symptoms of depression. *Am J Psychiatry.* 1992;149(9):1162-7.
183. Thorén P, Floras JS, Hoffmann P, Seals DR. Endorphins and exercise: physiological mechanisms and clinical implications. *Med Sci Sports Exerc.* 1990;22(4):417-28.
184. Russo-Neustadt A, Beard RC, Cotman CW. Exercise, antidepressant medications, and enhanced brain derived neurotrophic factor expression. *Neuropsychopharmacology.* 1999;21(5):679-82.
185. Eisch AJ. Adult neurogenesis: implications for psychiatry. *Prog Brain Res.* 2002;138:315-42.
186. Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25(6):836-44.
187. Mather AS, Rodriguez C, Guthrie MF, McHarg AM, Reid IC, McMurdo ME. Effects of exercise on depressive symptoms in older adults with poorly responsive depressive disorder: randomised controlled trial. *Br J Psychiatry.* 2002;180:411-5.
188. Singh NA, Stavrinou TM, Scarbek Y, Galambos G, Liber C, Fiatarone Singh MA. A randomized controlled trial of high versus low intensity weight training versus general

practitioner care for clinical depression in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005;60(6):768-76.

189. Doyne EJ, Ossip-Klein DJ, Bowman ED, Osborn KM, McDougall-Wilson IB, Neimeyer RA. Running versus weight lifting in the treatment of depression. *J Consult Clin Psychol*. 1987;55(5):748-54.

190. Bjørnebekk A, Mathé AA, Brené S. The antidepressant effect of running is associated with increased hippocampal cell proliferation. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2005;8(3):357-68.

191. Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry*. 2000;157(1):115-8.

192. Leite HR, Mourão FA, Drumond LE, Ferreira-Vieira TH, Bernardes D, Silva JF, Lemos VS, Moraes MF, Pereira GS, Carvalho-Tavares J, Massensini AR. Swim training attenuates oxidative damage and promotes neuroprotection in cerebral cortical slices submitted to oxygen glucose deprivation. *J Neurochem*. 2012;123(2):317-24.

193. Dinas PC, Koutedakis Y, Flouris AD. Effects of exercise and physical activity on depression. *Ir J Med Sci*. 2011;180(2):319-25.

194. De Moor MH, Beem AL, Stubbe JH, Boomsma DI, De Geus EJ. Regular exercise, anxiety, depression and personality: a population-based study. *Prev Med*. 2006;42(4):273-9.

195. Wittert GA, Livesey JH, Espiner EA, Donald RA. Adaptation of the hypothalamopituitary adrenal axis to chronic exercise stress in humans. *Med Sci Sports Exerc*. 1996;28(8):1015-9.

196. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006;59(12):1116-27.

197. Hoshaw BA, Malberg JE, Lucki I. Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects. *Brain Res*. 2005;1037(1-2):204-8.

198. de Castro JM, Duncan G. Operantly conditioned running: effects on brain catecholamine concentrations and receptor densities in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 1985;23(4):495-500.

199. Sutoo D, Akiyama K. Regulation of brain function by exercise. *Neurobiol Dis.* 2003;13(1):1-14.
200. MacRae PG, Spirduso WW, Walters TJ, Farrar RP, Wilcox RE. Endurance training effects on striatal D2 dopamine receptor binding and striatal dopamine metabolites in presenescent older rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987;92(2):236-40.
201. Maniam J, Morris MJ. Voluntary exercise and palatable high-fat diet both improve behavioural profile and stress responses in male rats exposed to early life stress: role of hippocampus. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(10):1553-64.
202. American Psychiatric Association. Practice Guideline for the Treatment of Patients with Major Depressive Disorder (2nd ed.). Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.
203. Kaiser Permanente Medical Care Program. Care Management Institute. Clinical practice guidelines for the management of depression in primary care [monograph on the Intranet]. Oakland, CA: Kaiser Permanente Medical Care Program, Care Management Institute; 2006. Retrieved from: <http://cl.kp.org/pkc/national/cmi/programs/depression/guideline/index.html>
204. Burpee RH, Stroll W. Measuring reaction time of athletes. *Res Quart*. 1936;7:110–8.
205. Pierson WR, Montoye HJ. Movement time, reaction time, and age. *J Gerontol*. 1958;13(4):418-21.
206. Spirduso WW. Reaction and movement time as a function of age and physical activity level. *J Gerontol*. 1975;30(4):435-40.
207. Spirduso WW, Clifford P. Replication of age and physical activity effects on reaction and movement time. *J Gerontol*. 1978;33(1):26-30.
208. Gligoroska JP, Manchevska S. The Effect of Physical Activity on Cognition – Physiological Mechanisms. *Materia Socio-Medica*. 2012;24(3):198-202.
209. Pereira AC, Huddleston DE, Brickman AM, Sosunov AA, Hen R, McKhann GM, Sloan R, Gage FH, Brown TR, Small SA. An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(13):5638-43.

210. van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci.* 1999;2(3):266-70.
211. Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van Praag H, Winkler J, Gage FH, Kuhn HG. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci.* 2003;17(10):2042-6.
212. Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(1):58-65.
213. Dustman RE, LaMarche JA, Cohn NB, Shearer DE, Talone JM. Power spectral analysis and cortical coupling of EEG for young and old normal adults. *Neurobiol Aging.* 1985;6(3):193-8.
214. Dustman RE, Emmerson RY, Ruhling RO, Shearer DE, Steinhaus LA, Johnson SC, Bonekat HW, Shigeoka JW. Age and fitness effects on EEG, ERPs, visual sensitivity, and cognition. *Neurobiol Aging.* 1990;11(3):193-200.
215. Lardon MT, Polich J. EEG changes from long-term physical exercise. *Biol Psychol.* 1996;44(1):19-30.
216. Colcombe SJ, Kramer AF, Erickson KI, Scalf P, McAuley E, Cohen NJ, Webb A, Jerome GJ, Marquez DX, Elavsky S. Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(9):3316-21.
217. Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* 2000;23(12):639-45.
218. Reynolds GP, Mason SL, Meldrum A, De Keczer S, Parnes H, Eglen RM, Wong EH. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)<sub>4</sub> receptors in post mortem human brain tissue: distribution, pharmacology and effects of neurodegenerative diseases. *Br J Pharmacol.* 1995;114(5):993-8.
219. Meltzer CC, Smith G, DeKosky ST, Pollock BG, Mathis CA, Moore RY, Kupfer DJ, Reynolds CF 3rd. Serotonin in aging, late-life depression, and Alzheimer's disease: the emerging role of functional imaging. *Neuropsychopharmacology.* 1998;18(6):407-30.

220. Chen HI, Lin LC, Yu L, Liu YF, Kuo YM, Huang AM, Chuang JI, Wu FS, Liao PC, Jen CJ. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;89(4):489-96.
221. Chennaoui M, Grimaldi B, Fillion MP, Bonnin A, Drogou C, Fillion G, Guezennec CY. Effects of physical training on functional activity of 5-HT<sub>1B</sub> receptors in rat central nervous system: role of 5-HT-moduline. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000;361(6):600-4.
222. Renoir T, Pang TY, Zajac MS, Chan G, Du X, Leang L, Chevarin C, Lanfumey L, Hannan AJ. Treatment of depressive-like behaviour in Huntington's disease mice by chronic sertraline and exercise. *Br J Pharmacol.* 2012;165(5):1375-89.
223. Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 2004;27(10):589-94.
224. Bement MKH & Sluka KA. (2016). Chapter 10. Exercise-induced analgesia: An evidence-based review. In *Pain Mechanisms and Management for the Physical Therapist*. IASP Press, Wolters Kluwer.
225. Dowell D, Haegerich TM, Chou R. (2016). CDC guideline for prescribing opioids for chronic pain— United States, 2016. *JAMA* 315, 1624-45.
226. Koltyn KF. Analgesia following exercise: a review. *Sports Med.* 2000;29(2):85-98.
227. Bidari A, Ghavidel-Parsa B, Rajabi S, Sanaei O, Toutounchi M. The acute effect of maximal exercise on plasma beta-endorphin levels in fibromyalgia patients. *Korean J Pain.* 2016;29(4):249-54.
228. de Oliveira MS, da Silva Fernandes MJ, Scorza FA, Persike DS, Scorza CA, da Ponte JB, de Albuquerque M, Cavalheiro EA, Arida RM. Acute and chronic exercise modulates the expression of MOR opioid receptors in the hippocampal formation of rats. *Brain Res Bull.* 2010;83(5):278-83.
229. Korb A, Bonetti LV, da Silva SA, Marcuzzo S, Ilha J, Bertagnolli M, Partata WA, Faccioni-Heuser MC. Effect of treadmill exercise on serotonin immunoreactivity in medullary raphe

nuclei and spinal cord following sciatic nerve transection in rats. *Neurochem Res.* 2010;35(3):380-9.

230. Lima LV, Abner TSS, Sluka KA. Does exercise increase or decrease pain? Central mechanisms underlying these two phenomena. *J Physiol.* 2017;595(13):4141-50.

231. Dietrich A, McDaniel W. Endocannabinoids and exercise. *British Journal of Sports Medicine.* 2004;38(5):536-41.

232. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci.* 1991;11(2):563-83.

233. Navarro M, Chowen J, Rocío A Carrera M, del Arco I, Villanúa MA, Martin Y, Roberts AJ, Koob GF, de Fonseca FR. CB1 cannabinoid receptor antagonist-induced opiate withdrawal in morphine-dependent rats. *Neuroreport.* 1998;9(15):3397-402.

234. Austin MA, Friedlander Y, Newman B, Edwards K, Mayer-Davis EJ, King MC. Genetic influences on changes in body mass index: a longitudinal analysis of women twins. *Obes Res.* 1997;5(4):326-31.

235. Bouchard C, Dionne FT, Simoneau JA, Boulay MR. Genetics of aerobic and anaerobic performances. *Exerc Sport Sci Rev.* 1992;20:27-58.

236. Stubbe JH, Boomsma DI, De Geus EJ. Sports participation during adolescence: a shift from environmental to genetic factors. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37(4):563-70.

237. Waller K, Kaprio J, Kujala UM. Associations between long-term physical activity, waist circumference and weight gain: a 30-year longitudinal twin study. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(2):353-61.

238. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(8):1423-34.

239. Andreoli A, Monteleone M, Van Loan M, Promenzio L, Tarantino U, De Lorenzo A. Effects of different sports on bone density and muscle mass in highly trained athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33(4):507-11.
240. Nader GA. Concurrent strength and endurance training: from molecules to man. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(11):1965-70.
241. Dudley GA, Djamil R. Incompatibility of endurance- and strength-training modes of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1985;59(5):1446-51.
242. Chromiak JA, and Mulvaney DR. The effects of combined strength and endurance training on strength development. *J. Appl. Sports Sci. Res.* 1990;4:55-60.
243. Häkkinen K, Alén M, Kraemer WJ, Gorostiaga E, Izquierdo M, Rusko H, Mikkola J, Häkkinen A, Valkeinen H, Kaarakainen E, Romu S, Erola V, Ahtiainen J, Paavolainen L. Neuromuscular adaptations during concurrent strength and endurance training versus strength training. *Eur J Appl Physiol.* 2003;89(1):42-52.
244. Costill DL, Bowers R, Branam G, Sparks K. Muscle glycogen utilization during prolonged exercise on successive days. *J Appl Physiol.* 1971;31(6):834-8.
245. Tesch PA, Colliander EB, Kaiser P. Muscle metabolism during intense, heavy-resistance exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1986;55(4):362-6.
246. Creer A, Gallagher P, Slivka D, Jemiolo B, Fink W, Trappe S. Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99(3):950-6.
247. Häkkinen K, Pakarinen A, Alén M, Kauhanen H, Komi PV. Relationships between training volume, physical performance capacity, and serum hormone concentrations during prolonged training in elite weight lifters. *Int J Sports Med.* 1987;8(Suppl 1):61-5.
248. Staron RS, Malicky ES, Leonardi MJ, Falkel JE, Hagerman FC, Dudley GA. Muscle hypertrophy and fast fiber type conversions in heavy resistance-trained women. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1990;60(1):71-9.

249. Luginbuhl AJ, Dudley GA, Staron RS. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. *Histochemistry*. 1984;81(1):55-8.
250. Rennie MJ, Tipton KD. Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition. *Annu Rev Nutr*. 2000;20:457-83.
251. Nonato LF, Rocha-Vieira E, Tossige-Gomes R, Soares AA, Soares BA, Freitas DA, Oliveira MX, Mendonça VA, Lacerda AC, Massensini AR, Leite HR. Swimming training attenuates oxidative damage and increases enzymatic but not nonenzymatic antioxidant defenses in the rat brain. *Braz J Med Biol Res*. 2016;49(10):e5310.
252. Hall CS. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*. 1934;18(3):385-403.
253. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *European Journal of Pharmacology*. 2003;463(1–3):3-33.
254. Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*. 1986;24(3):525-9.
255. Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 1997;21(6):801-10.
256. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977;266(5604):730-2.
257. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 1985;85(3):367-70.
258. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev*. 2001;36(1):60-90.
259. Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. 1982;297(5868):681-3.



260. Harrison FE, Reiserer RS, Tomarken AJ, McDonald MP. Spatial and nonspatial escape strategies in the Barnes maze. *Learn Mem.* 2006;13(6):809-19.
261. Fox GB, Fan L, LeVasseur RA, Faden AI. Effect of traumatic brain injury on mouse spatial and nonspatial learning in the Barnes circular maze. *J Neurotrauma.* 1998;15(12):1037-46.
262. Reiserer RS, Harrison FE, Syverud DC, McDonald MP. Impaired spatial learning in the APPSwe + PSEN1DeltaE9 bigenic mouse model of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav.* 2007;6(1):54-65.
263. Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31(5):673-704.
264. Fuchs H, Gailus-Durner V, Adler T, Aguilar-Pimentel JA, Becker L, Calzada-Wack J, Da Silva-Buttkus P, Neff F, Götz A, Hans W, Höltner SM, Horsch M, Kastenmüller G, Kemter E, Lengger C, Maier H, Matloka M, Möller G, Naton B, Prehn C, Puk O, Rácz I, Rathkolb B, Römisch-Margl W, Rozman J, Wang-Sattler R, Schrewe A, Stöger C, Tost M, Adamski J, Aigner B, Beckers J, Behrendt H, Busch DH, Esposito I, Graw J, Illig T, Ivandic B, Klingenspor M, Klopstock T, Kremmer E, Mempel M, Neschen S, Ollert M, Schulz H, Suhre K, Wolf E, Wurst W, Zimmer A, Hrabě de Angelis M. Mouse phenotyping. *Methods.* 2011;53(2):120-35.
265. Mogil JS, Wilson SG, Bon K, Lee SE, Chung K, Raber P, Pieper JO, Hain HS, Belknap JK, Hubert L, Elmer GI, Chung JM, Devor M. Heritability of nociception II. 'Types' of nociception revealed by genetic correlation analysis. *Pain.* 1999;80(1-2):83-93.
266. Stemmelin J, Cohen C, Terranova JP, Lopez-Grancha M, Pichat P, Bergis O, Decobert M, Santucci V, Françon D, Alonso R, Stahl SM, Keane P, Avenet P, Scatton B, le Fur G, Griebel G. Stimulation of the beta3-Adrenoceptor as a novel treatment strategy for anxiety and depressive disorders. *Neuropsychopharmacology.* 2008;33(3):574-87.
267. Crawley JN, Gerfen CR, Rogawski RA, Sibley DR, Skolnick P, Wray S, editors. *Short protocols in neuroscience: systems and behavioral methods.* Hoboken (NJ): John Wiley & Sons, Inc.; 2007.

268. Long SF, Wilson MC, Sufka KJ, Davis WM. The effects of cocaine and nandrolone co-administration on aggression in male rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1996;20(5):839-56.
269. Kurling S, Kankaanpää A, Ellermaa S, Karila T, Seppälä T. The effect of sub-chronic nandrolone decanoate treatment on dopaminergic and serotonergic neuronal systems in the brains of rats. *Brain Res*. 2005;1044(1): 67-75.
270. Contarteze RV, Machado FB, Gobatto CA, De Mello MA. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2008;151(3):415-22.
271. Liu X, Yang le J, Fan SJ, Jiang H, Pan F. Swimming exercise effects on the expression of HSP70 and iNOS in hippocampus and prefrontal cortex in combined stress. *Neurosci Lett*. 2010;476(2):99-103.
272. Sugizaki MM, Dal Pai-Silva M, Carvalho RF, Padovani CR, Bruno A, Nascimento AF, Aragon FF, Novelli EL, Cicogna AC. Exercise training increases myocardial inotropic response in food restricted rats. *Int J Cardiol*. 2006;112(2):191-201.
273. Garciaarena CD, Pinilla OA, Nolly MB, Laguens RP, Escudero EM, Cingolani HE, Ennis IL. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat: conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension*. 2009;53(4):708-14.
274. Rosic G, Joksimovic J, Selakovic D, Milovanovic D, Jakovljevic V. Anxiogenic effects of chronic exposure to nandrolone decanoate (ND) at supraphysiological dose in rats: a brief report. *Neuro Endocrinol Lett*. 2014;35(8):703-10.
275. Bento-Silva MT, Martins MCC, Torres-Leal FL, Barros TL, Carvalho ILNF, Filho HAC, Almeida FRC. Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical exercise: effects on the estrous cycle, motor behavior and morphology of the liver and kidney. *Braz J Pharm Sci*. 2010;46(1):79-89.
276. Selakovic D, Joksimovic J, Obradovic D, Milovanovic D, Djuric M, Rosic G. The adverse effects of exercise and supraphysiological dose of testosterone-enanthate (TE) on exploratory

activity in elevated plus maze (EPM) test - indications for using total exploratory activity (TEA) as a new parameter for ex. *Neuro Endocrinol Lett.* 2016;37(5):383-8.

277. Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, Chopp M. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke.* 2001;32(4):1005-11.

278. Ohlsson AL, Johansson BB. Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats. *Stroke.* 1995;26(4):644-9.

279. Selakovic D, Joksimovic J. Behavioural effects of short-term total food restriction in rats. *Ser J Clin Res.* 2014;15(3):129-37.

280. Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW. The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 1994;11(2):187-96.

281. Deacon RMJ. Measuring Motor Coordination in Mice. *Journal of Visualized Experiments : JoVE.* 2013;(75):2609.

282. Crawley JN. Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: experimental design and evaluation of general health, sensory functions, motor abilities, and specific behavioral tests. *Brain Res.* 1999;835(1):18-26.

283. Chermat R, Thierry B, Mico JA, Steru L, Simon P. Adaptation of the tail suspension test to the rat. *J Pharmacol.* 1986;17(3):348-50.

284. Melo AS, Monteiro MC, da Silva JB, de Oliveira FR, Vieira JL, de Andrade MA, Baetas AC, Sakai JT, Ferreira FA, Cunha Sousa PJ, Maia Cdo S. Antinociceptive, neurobehavioral and antioxidant effects of *Eupatorium triplinerve* Vahl on rats. *J Ethnopharmacol.* 2013;147(2):293-301.

285. Bannon AW, Malmberg AB. 2007. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr Protoc Neurosci.* Chapter 8, Unit 8.9.

286. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95:351-8.
287. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972;247:3170-5.
288. Ellman GL. Tissue sulphhydryl group. *Arch Biochem Biophys.* 1959;82:70-7.
289. Lowry OH, Rosebrough NL, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193:265-75.
290. Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2016.
291. Kindlundh AM, Hagekull B, Isacson DG, Nyberg F. Adolescent use of anabolic-androgenic steroids and relations to self-reports of social, personality and health aspects. *Eur J Public Health.* 2001;11(3):322-8.
292. Kanayama G, Hudson JI, Pope HG Jr. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: a looming public health concern? *Drug Alcohol Depend.* 2008;98(1-2):1-12.
293. Bahrke MS, Yesalis CE. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. *Curr Opin Pharmacol.* 2004;4(6):614-20.
294. Rocha VM, Calil CM, Ferreira R, Moura MJ, Marcondes FK. Influence of anabolic steroid on anxiety levels in sedentary male rats. *Stress.* 2007;10(4):326-31.
295. Minkin DM, Meyer ME, van Haaren F. Behavioral effects of long-term administration of an anabolic steroid in intact and castrated male Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993;44(4):959-63.
296. Costine BA, Oberlander JG, Davis MC, Penatti CA, Porter DM, Leaton RN, Henderson LP. Chronic anabolic androgenic steroid exposure alters corticotrophin releasing factor expression and anxiety-like behaviors in the female mouse. *Psychoneuroendocrinology.* 2010;35(10):1473-85.

297. Oberlander JG, Henderson LP. Corticotropin-releasing factor modulation of forebrain GABAergic transmission has a pivotal role in the expression of anabolic steroid-induced anxiety in the female mouse. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(6):1483-99.
298. Ricci LA, Morrison TR, Melloni RH Jr. Serotonin modulates anxiety-like behaviors during withdrawal from adolescent anabolic-androgenic steroid exposure in Syrian hamsters. *Horm Behav*. 2012;62(5):569-78.
299. Pagonis TA, Angelopoulos NV, Koukoulis GN, Hadjichristodoulou CS. Psychiatric side effects induced by supraphysiological doses of combinations of anabolic steroids correlate to the severity of abuse. *Eur Psychiatry*. 2006;21(8):551-62.
300. Aikey JL, Nyby JG, Anmuth DM, James PJ. Testosterone rapidly reduces anxiety in male house mice (*Mus musculus*). *Horm Behav*. 2002;42(4):448-60.
301. Rojas-Ortiz YA, Rundle-González V, Rivera-Ramos I, Jorge JC. Modulation of elevated plus maze behavior after chronic exposure to the anabolic steroid 17alpha-methyltestosterone in adult mice. *Horm Behav*. 2006;49(1):123-8.
302. Rainer Q, Speziali S, Rubino T, Dominguez-Lopez S, Bambico FR, Gobbi G, Parolaro D. Chronic nandrolone decanoate exposure during adolescence affects emotional behavior and monoaminergic neurotransmission in adulthood. *Neuropharmacology*. 2014;83:79-88.
303. Fulk LJ, Stock HS, Lynn A, Marshall J, Wilson MA, Hand GA. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med*. 2004;25(1):78-82.
304. Cruz JN, Lima D., Dal Magro DD, Cruz JG. Anxiolytic effects of swimming exercise and ethanol in two behavioral models: beneficial effects and increased sensitivity in mice. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2012;33(1):115-23.
305. Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res*. 2004;1019(1-2):84-96.
306. Leasure JL, Jones M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience*. 2008;156(3):456-65.

307. Kalueff AV, Stewart AM, Song C, Berridge KC, Graybiel AM, Fentress JC. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nat Rev Neurosci.* 2016;17(1):45-59.
308. Krishnan V, Nestler EJ. Animal Models of Depression: Molecular Perspectives. *Curr Top Behav Neurosci.* 2011;7:121-147.
309. Ambar G, Chiavegatto S. Anabolic-androgenic steroid treatment induces behavioral disinhibition and downregulation of serotonin receptor messenger RNA in the prefrontal cortex and amygdala of male mice. *Genes Brain Behav.* 2009;8(2):161-73.
310. Duman CH, Schlesinger L, Russell DS, Duman RS (2008) Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Res.* 2008;1199:148–58.
311. Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, Maier SF, Fleshner M. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci.* 2003;23:2889–98.
312. Fox KR. The influence of physical activity on mental well-being. *Public Health Nutr.* 1999;2:411–8.
313. Magnusson K, Hånell A, Bazov I, Clausen F, Zhou Q, Nyberg F. Nandrolone decanoate administration elevates hippocampal prodynorphin mRNA expression and impairs Morris water maze performance in male rats. *Neurosci Lett.* 2009;467(3):189-93.
314. Wallin KG, Wood RI. Anabolic-androgenic steroids impair set-shifting and reversal learning in male rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2015;25(4):583-90.
315. Su TP, Pagliaro M, Schmidt PJ, Pickar D, Wolkowitz O, Rubinow DR. Neuropsychiatric effects of anabolic steroids in male normal volunteers. *JAMA.* 1993;269(21):2760-4.
316. Daly RC, Su TP, Schmidt PJ, Pagliaro M, Pickar D, Rubinow DR. Neuroendocrine and behavioral effects of high-dose anabolic steroid administration in male normal volunteers. *Psychoneuroendocrinology.* 2003;28(3):317-31.

317. Cherrier MM, Matsumoto AM, Amory JK, Johnson M, Craft S, Peskind ER, Raskind MA. Characterization of verbal and spatial memory changes from moderate to supraphysiological increases in serum testosterone in healthy older men. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(1):72-9.
318. Wahjoepramono EJ, Asih PR, Aniwiyanti V, Taddei K, Dhaliwal SS, Fuller SJ, Foster J, Carruthers M, Verdile G, Sohrabi HR, Martins RN. The Effects of Testosterone Supplementation on Cognitive Functioning in Older Men. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2016;15(3):337-43.
319. Verdile G, Asih PR, Barron AM, Wahjoepramono EJ, Ittner LM, Martins RN. The impact of luteinizing hormone and testosterone on beta amyloid (A $\beta$ ) accumulation: Animal and human clinical studies. *Horm Behav*. 2015;76:81–90.
320. Czeh B, Simon M, van der Hart MG, Schmelting B, Hesselink MB, Fuchs E. Chronic stress decreases the number of parvalbumin-immunoreactive interneurons in the hippocampus: prevention by treatment with a substance P receptor (NK1) antagonist. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30(1):67-79.
321. Hu W, Zhang M, Czéh B, Flügge G, Zhang W. Stress impairs GABAergic network function in the hippocampus by activating nongenomic glucocorticoid receptors and affecting the integrity of the parvalbumin-expressing neuronal network. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(8):1693-707.
322. Czeh B, Varga ZK, Henningsen K, Kovács GL, Miseta A, Wiborg O. Chronic stress reduces the number of GABAergic interneurons in the adult rat hippocampus, dorsal-ventral and region-specific differences. *Hippocampus*. 2015;25(3):393-405.
323. Bast T, Pezze M, McGarrity S. Cognitive deficits caused by prefrontal cortical and hippocampal neural disinhibition. *Br J Pharmacol*. 2017;174(19):3211-25.
324. Pietrelli A, Lopez-Costa J, Goñi R, Brusco A, Basso N. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience*. 2012;202:252-66.

325. Minerly AE, Wu HB, Weierstall KM, Niyomchai T, Kemen L, Jenab S et al. Testosterone differentially alters cocaine-induced ambulatory and rearing behavioral responses in adult and adolescent rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010;94(3):404-9.
326. Takahashi M, Tatsugi Y, Kohno T. Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. *Endocr J.* 2004;51(4):425-34.
327. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *Int J Health Sci (Qassim).* 2013;7(1):47-60.
328. Frankenfeld SP, de Oliveira LP, Ignacio DL, Coelho RG, Mattos MN, Ferreira AC et al. Nandrolone decanoate inhibits gluconeogenesis and decreases fasting glucose in Wistar male rats. *J Endocrinol.* 2014;220(2):143-53.
329. Zhang XW, Zhang C, Zhang W, Yang D, Meng S, Wang P et al. Suppression of spermatogenesis by testosterone undecanoate-loaded injectable in situ-forming implants in adult male rats. *Asian J Androl.* 2016;18(5):791-7.
330. Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Jagsz S, et al. High-Dose Testosterone Propionate Treatment Reverses the Effects of Endurance Training on Myocardial Antioxidant Defenses in Adolescent Male Rats. *Cardiovasc. Toxicol.* 2011;11(2):118-27.
331. Pomara C, Barone R, Marino Gammazza A, Sangiorgi C, Barone F, Pitruzzella A et al. Effects of Nandrolone Stimulation on Testosterone Biosynthesis in Leydig Cells. *J Cell Physiol.* 2016;231(6):1385-91.
332. Lumia AR, McGinnis MY. Impact of anabolic androgenic steroids on adolescent males. *Physiol Behav.* 2010;100(3):199-204.
333. Okamoto M, Hojo Y, Inoue K, Matsui T, Kawato S, McEwen BS et al. Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(32):13100-5.



334. Manna I, Jana K, Samanta PK. Intensive swimming exercise-induced oxidative stress and reproductive dysfunction in male wistar rats: protective role of alpha-tocopherol succinate. *Can J Appl Physiol.* 2004;29(2):172-85.
335. Ghanbari-Niaki A. Plasma obestatin, estradiol, and liver ATP concentrations in response to endurance exercise training at different durations in male rats. *Int J Endocrinol Meta.* 2010;8(3):147-52.
336. Selakovic D, Joksimovic J, Zaletel I, Puskas N, Matovic M, Rosic G. The opposite effects of nandrolone decanoate and exercise on anxiety levels in rats may involve alterations in hippocampal parvalbumin-positive interneurons. *PloS One.* 2017. Accepted for publication.
337. Arida RM, Scorza CA, da Silva AV, Scorza FA, Cavalheiro EA. Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neurosci Lett.* 2004;364(3):135-8.
338. Nguyen JC, Killcross AS, Jenkins TA. Effect of low-intensity treadmill exercise on behavioural measures and hippocampal parvalbumin immunoreactivity in the rat. *Behav Brain Res.* 2013;256:598-601.
339. Gomes da Silva S, Doná F, da Silva Fernandes MJ, Scorza FA, Cavalheiro EA, Arida RM. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. *Brain Dev.* 2010;32(2):137-42.
340. Eilam R, Davidson A, Gozes I, Segal M. Locomotor activity causes a rapid up-regulation of vasoactive intestinal peptide in the rat hippocampus. *Hippocampus.* 1999; 9(5):534-41.
341. Moghadami S, Jahanshahi M, Sepehri H, Amini H. Gonadectomy reduces the density of androgen receptor-immunoreactive neurons in male rat's hippocampus: testosterone replacement compensates it. *Behavioral and Brain Functions : BBF.* 2016;12:5.
342. Atwi S, McMahon D, Scharfman H, MacLusky NJ. Androgen Modulation of Hippocampal Structure and Function. *Neuroscientist.* 2016;22(1):46-60.
343. Menard CS, Harlan RE. Up-regulation of androgen receptor immunoreactivity in the rat brain by androgenic-anabolic steroids. *Brain Res.* 1993;622(1-2):226-36.

344. Turillazzi E, Neri M, Cerretani D, Cantatore S, Frati P, Moltoni L, Busardò FP, Pomara C, Riezzo I, Fineschi V. Lipid peroxidation and apoptotic response in rat brain areas induced by long-term administration of nandrolone: the mutual crosstalk between ROS and NF- $\kappa$ B. *J Cell Mol Med*. 2016;20(4):601-12.
345. Tousson E, Hafez E, Massoud A, Elfeky A. Ameliorating effect of propolis and moringa extract against equigan induced neurotoxicity and oxidative stress on rat hippocampus. *JBSAR*. 2016;2(1):30–7.
346. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res*. 2010;208(2):545-52.
347. Aguiar JR, Aderbal S, Pinho Ricardo A. Effects of physical exercise over the redox brain state. *Rev Bras Med Esporte*. 2007;13(5):355-60.
348. Radák Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *J Appl Physiol (1985)*. 1995;79(1):129-35.
349. Somani SM, Ravi R, Rybak LP. Effect of exercise training on antioxidant system in brain regions of rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 1995;50(4):635-9.
350. Chainy GBN, Samantaray S, Samanta L. Testosterone induced changes in testicular antioxidant system. *Andrologia*. 1997;29:343–9.
351. Aydılek N, Aksakal M, Karakilcik AZ. Effects of testosterone and vitamin E on the antioxidant system in rabbit testis. *Andrologia*. 2004;36:277–81.
352. Pansarasa O, D'Antona G, Gualea MR, Marzani B, Pellegrino MA, Marzatico F. “Oxidative stress”: effects of mild endurance training and testosterone treatment on rat gastrocnemius muscle. *Eur J Appl Physiol*. 2002;87:550-5.
353. Zhu XD, Bonet B, Knopp RH. 17 $\beta$ -estradiol, progesterone, and testosterone inversely modulate lowdensity lipoprotein oxidation and cytotoxicity in cultured placental trophoblast and macrophages. *Am J Obstet Gynec*. 1997;177:196–209.

354. Lipton SA. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5(2):160-70.
355. Cunningham R, Giuffrida A, Roberts JL. Androgens induce dopaminergic neurotoxicity *via* caspase-3-dependent activation of protein kinase C delta. *Endocrinology.* 2009;150(12):5539–48.
356. Tugyan K, Ozbal S, Cilaker S, Kiray M, Pekcetin C, Ergur BU, Kumral A. Neuroprotective effect of erythropoietin on nandrolone decanoate-induced brain injury in rats. *Neurosci Lett.* 2013;533:28–33.
357. Aguiar AS, Boemer G, Rial D, Cordova FM, Mancini G, Walz R, de Bem AF, Latini A, Leal RB, Pinho RA, Prediger RDS. High-intensity physical exercise disrupts implicit memory in mice: Involvement of the striatal glutathione antioxidant system and intracellular signaling. *Neuroscience.* 2010;171:1216–27.
358. Radak Z, Marton O, Nagy E, Koltai E, Goto S. The complex role of physical exercise and reactive oxygen species on brain. *J Sport Health Sci.* 2013;2(2):87-93.

## СКРАЋЕНИЦЕ

AAS – андрогени анаболички стероиди

DHEA – дехидроепиандростерон

DHEA-S – дехидроепиандростерон-сулфат

ДХТ – дихидротестостерон

НД – нандролон-деканоат

ЦНС – централни нервни систем

GABA – гама-аминобутерна киселина

PV – парвалбумин

CRH – кортикотропин ослобађајући хормон

NMDA – N-метил D-аспартат

BDNF - неуротрофични фактор пореклом из мозга

HPA осовина – хипоталамо-питуитарно-адренална осовина

NGF – нервни фактор раста

OC – оксидативни стрес

VEGF – васкуларни ендотелни фактор раста

CREB – cAMP response element binding protein

ATP – аденозин трифосфат

EEG – електроенцефалографија

ОП тест – тест отвореног поља

УКЛ – уздигнути крстасти лавиринт

ТКР – тест качења за реп

ТЕ – тестостерон-енантат

УПП – укупни пређени пут

ВК – време кретања

ПБК – просечна брзина кретања

УВЦЗ – укупно време проведено у централној зони

БУЦЗ – број улазака у централну зону

БУ – број усправљања

БТ – број тимарења

УВОК – укупно време проведено у отвореним крацима

БУОК – број улазака у отворене краке

БН – број нагињања

УЕА – број епизода укупне експлоративне активности

ХГ тест – класични тест ходања по греди

ПХГ тест – тест провоцираног ходања по греди

ВП – време преласка

СВП – скраћење времена преласка

РР тест – ротарод тест

ВППИ – време до појаве прве имобилности

БЕИ – број епизода имобилности

УВИ – укупно време имобилности

ПТЕИ – просечно трајање епизоде имобилности

ВП тест – тест вруће плоче

T – тестостерон

E – естрадиол

ECLIA – електрохемилуминесценција

PBS – раствор фосфатног пуфера

TBARS – тиобарбитурна киселина

MDA – малондиалдехид

SDS – натријум додецил сулфат

SOD – супероксид-дисмутаза

GSH – глутатион

DTNB – 2,2'-динитро-5,5'-дитио-добензоева киселина

AR – андрогени рецептор

ER – естрогени рецептор

ВПВ – време проведено на ваљку

BP – време до реакције

DG – денгатни вирус