



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

**УТИЦАЈ АНДРОГЕНИХ АНАБОЛИЧКИХ СТЕРОИДА НА  
БИХЕВИОРАЛНЕ МАНИФЕСТАЦИЈЕ УЗРОКОВАНЕ  
РЕСТРИКЦИЈОМ УНОСА ХРАНЕ КОД ПАЦОВА**

**ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА**

**др Јована Н. Јоксимовић**

**Ментор: проф. др Гвозден Росић**

**Крагујевац, 2018. године**

## САДРЖАЈ

1. УВОД .....	6
1.1. Регулација уноса хране и фактори који су укључени у одржавање калоријске хомеостазе .....	8
1.1.1. Бихевироални ефекти фактора који учествују у регулацији уноса хране .....	10
1.1.2. Бихевиорални ефекти промене режима уноса хране .....	15
1.2. Андрогени анаболички стероиди (ААС) .....	16
1.2.1. Метаболизам ААС-а .....	17
1.2.2. Механизам дејства .....	19
1.2.3. Класификација ААС .....	19
1.2.4. Медицинске индикације за примену ААС.....	20
1.2.5. Нежељени ефекти примене супрафизиолошких доза ААС .....	22
1.2.6. Бихевиорални ефекти ААС-а.....	24
1.3. Бихевиорални ефекти старења.....	26
1.4. Бихевиорални ефекти физичке активности .....	27
1.4.1. Утицај физичке активности на промене расположења .....	27
1.4.2. Утицај физичке активности на когнитивне способности.....	29
1.4.3. Утицај физичке активности на ноцицепцију.....	29
1.5. Бихевиорална тестирања на анималним моделима .....	30
1.5.1. Тестови за процену степена анксиозности .....	31
1.5.2. Тестови за процену степена депресивности .....	33
1.5.3. Тестови за процену когнитивних способности .....	34
1.5.4. Тестови за процену ноцицепције.....	36
2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА .....	39
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	41
3.1. Услови под којима су животиње чуване током трајања експерименталних протокола ...	42
3.2. Групе и третман животиња .....	42
3.3. Бихевиорална тестирања .....	46
3.3.1. Тест отвореног поља (ОП тест) .....	46
3.3.2. Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ тест) .....	48
3.3.3. Тест качења о реп (ТКР тест).....	50
3.3.4. Тест вруће плоче (ВП тест) .....	51
3.3.1. Тест Барнсовог лавиринта (Барнсов тест) .....	52
3.4. Биохемијске и лабораторијске анализе крви .....	54

3.4.1. Анализе хормона у серуму .....	54
3.4.2. Одређивање концентрације глукозе у крви и вредности хематокрита .....	55
3.4.3. Испитивање промена телесне масе .....	56
3.5. Имунохистохемија .....	56
3.6. Статистичка анализа података .....	61
4. РЕЗУЛТАТИ.....	62
4.1. Бихевиорални тестови .....	63
4.1.1. Тест отвореног поља (ОП тест) .....	63
4.1.2. Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ тест) .....	84
4.1.3. Тест качења о реп (ТКР тест).....	111
4.1.4. Тест вруће плоче (ВП тест) .....	123
4.1.5. Барнсов тест (БТ) .....	126
4.1.6. Анализа утицаја експерименталних протокола на специфичне бихевиоралне модалитете .....	132
4.2. Хормонски статус и вредности гликемије.....	137
4.2.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију неуропептида Y (NPY) у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране.....	137
4.2.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију алфа- меланостимулишућег хормона ( $\alpha$ MSH) у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране	140
4.2.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију кортизола у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране.....	143
4.2.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију инсулина у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране.....	146
4.2.5. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију глукозе у крви узроковану рестрикцијом уноса хране.....	149
4.3. Антропометријске вредности и хематокрит.....	152
4.3.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на проценат промене телесне масе (% промене ТМ) током шестонедељних третмана .....	152
4.3.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на промене вредности хематокрита током шестонедељних третмана.....	154
4.4. Имунохистохемијска испитивања ткива хипокампуса .....	156
4.4.1. Имунохистохемијска испитивања експресије NPY имунореактивних неурона у ткиву хипокампуса .....	156
4.4.2. Имунохистохемијска испитивања експресије MC4R имунореактивних неурона у ткиву хипокампуса.....	164
4.4.2.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на број MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса током шестонедељних третмана .....	164
4.4.3. Имунохистохемијска испитивања односа NPY имунореактивних интернеурона и MC4R имунореактивних неурона у ткиву хипокампуса (NPY/MC4R индекс) .....	171

4.5. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима, серолошким анализама и бројем NPY имунореактивних неурона у хипокампусу .....	179
4.5.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена анксиозности .....	180
4.5.2. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и параметра за процену степена депресивности.....	188
4.5.3. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену когнитивних способности .....	192
4.5.4. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и ноцицепције .....	200
4.5.5. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу .....	204
4.5.6. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY индикатора за процену анксиозности .....	208
4.5.7. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY индикатора за процену депресивности .....	209
4.5.8. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY параметра за процену ноцицепције.....	210
4.6. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима, серолошким анализама и бројем MC4R имунореактивних неурона у хипокампусу .....	211
4.6.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена анксиозности .....	212
4.6.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена депресивности .....	220
4.6.3. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена когнитивних способности .....	224
4.6.4. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену ноцицепције.....	232
4.6.5. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у хипокампусу .....	236
4.6.6. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и параметра за процену степена анксиозности .....	240
4.6.7. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и параметра за процену степена депресивности .....	241
4.6.8. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и параметра за процену ноцицепције.....	242
4.6.9. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у хипокампусу .....	243
4.7. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима и NPY/MC4R индекса .....	247



4.7.1. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена анксиозности.....	248
4.7.2. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена депресивности.....	256
4.7.3. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену когнитивних способности.....	260
4.7.4. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену ноцицепције .....	268
5. ДИСКУСИЈА.....	272
5.1. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене нивоа анксиозности код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране.....	275
5.2. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене нивоа депресивности код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране .....	287
5.3. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене когнитивних функција код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране .....	292
5.4. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене ноцицепције код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране .....	298
6. ЗАКЉУЧЦИ .....	303
7. ЛИТЕРАТУРА.....	306

# **1. УВОД**

Злоупотреба андрогених анаболичких стероида (ААС), синтетичких деривата ендогеног мушког полног хормона - тестостерона, је иницијално представљала спорадичну појаву међу спортистима. Током неколико претходних деценија ова појава се не само проширила на велики број врхунских (и не само врхунских) спортиста, већ и у значајним деловима популације која се не бави спортским активностима (1, 2), што је довело до тога да се проблемом злоупотреба ААС више не баве само међународна спортска удружења и антидопинг агенције, већ је злоупотреба ААС (обзиром на све већу учесталост) постала медицински и шири друштвени проблем. Иако у популацији која злоупотребљава ААС значајну већину и даље чине мушкарци (3, 4, 5), примећује се да и овде долази до прерасподеле преваленце међу различитим старосним категоријама. Тако се стереотип формиран око потенцијалних кандидата за злоупотребу ААС-а који је иницијално формиран на основу података да су први налази откривени код мале групе врхунских спортиста (старости 20-30 година), у међувремену изменио до те мере да се сада злоупотреба ААС најређе уочава у овој категорији (последица строгих контрола од стране спортских организација), али је проблем злоупотребе еволуирао у смислу обухватања млађих делова популације (адолесценти, 6), као и старијих делова популације (средовечни и старји мушкарци, 7). Тако се циљна група за злоупотребу ААС-а усмерила са професионалних спортиста на једноставно, појединце који желе да буду мускулознији (8). Као основни мотив нове циљне групе се уочава тежња за промене мишићне масе и облика тела, а према естетским стандардима које представљају медијски промовисани прототипови. Овакав императив за остваривање актуелних естетских идеала је, поред злоупотребе ААС, довео до све учесталије појаве читавог низа измена животних навика које појединачно, али и у комбинацији са ААС, представљају све већи медицински проблем савременог друштва.

Као најчешће појаве које прате злоупотребу ААС се уочавају ригорозне рестрикције уноса хране и спровођење екстремно тешких програма физичке активности (9). Рестрикције уноса хране по правилу представљају хаотичне дијететске програме уз примену суплемената са циљем смањивања садржаја телесних масти и повећања мишићне масе. Управо је жеља за повећањем мишићне масе основни разлог за примену програма тренинга снаге (10, 11), уз евидентан недостатак неопходне аеробне физичке активности, као и спровођење тренинга издржљивости.

Померање сатросне категорије код злоупотребе ААС је довело и до драматично различитих последица - тако се уместо примарне намене да врхунски спортисти, у својим двадесетим и тридесетим годинама, остварују боље спортске резултате (додуше, на неспортски начин), дошло до тога да се повећа инциденца виолентног понашања код адолесцената (12), док се у популацији старијој од 40 година уз злоупотребу ААС као пратећа појава уочава појачана агресивност, повећано конзумирање алкохолних пића, већа инциденца зависности од лекова и различите врсте анксиозних поремећаја (7).

### **1.1. Регулација уноса хране и фактори који су укључени у одржавање калоријске хомеостазе**

Механизми за контролу уноса хране представљају сложени систем у коме се одвијају кључне интеракције између мозга, дигестивног тракта и масног ткива. Међусобна комуникација органа који су нарочито одговорни за енергетску хомеостазу у организму подразумева интернеуронске комуникације (укључујући и значајну улогу парасимпатичког и симпатичког система), као и сигнале који се преносе хуморалним факторима, што све заједнички представља један сложени неуроендокрини систем задужен за регулацију једне од фундаменталних функција људског организма регулације уноса хране (13). Највећи број интеракција између фактора укључених у регулацију уноса хране се остварује на нивоу аркуатног једра хипоталамуса. Унутар аркуатног једра се својим функционалним значајем у регулацији уноса хране издвајају две групе неурона, са супротним ефектима на величину уноса хране. Орксигена група неурона синтетише неуропептид Y (NPY) и Agouti-related peptide (AgRP) чији ефекат се манифестује повећањем уноса хране (NPY/AgRP неурони). Други тип ћелија повезан са регулацијом уноса хране који је описан у аркуатном једру (POMC/ $\alpha$ MSH неурони), који секретује кључни анорексигени пептид меланокортин ( $\alpha$ MSH, који спада у групу продуката проопиомеланокортинског гена). Обе групе неурона имају пројекције у хипоталамусу и другим једрима мозга који учествују у регулацији уноса хране. Интересантно је да између ове две групе неурона са супротним ефектима постоји узајамна инхибиција, која се испољава у зависности од ефеката бројних фактора који се остварују преко рецептора на њиховим ћелијским мембранама (14). Према подацима из литературе, најзначајнији ефекти се остварују

преко меланокортинских рецептора типа 4 (MC4). MC4 рецептор, припада групи коју чине 5 типова меланокортинских рецептора (MC1-5). MC4 рецептор је углавном локализован у централном нервном систему (15). Нарочито велика експресија MC4 рецептора је уочена у možданом стаблу, хипоталамусу, таламусу, стријатуму, септуму, хипокампусу, кортексу, амигдалама и кичменој možдини (16, 17). Међу најважније централне функције које се повезују са функцијом MC4 рецептора се убрајају регулација телесне масе, контрола бола и сексуални аспекти понашања (18). Значај MC4 рецептора у регулацији уноса хране је дефинитивно потврђен у експериментима који су спровођени са генетски измењеним серијама мишева (избрисан ген за MC4 рецептор), што је за резултат имало драстино испољавање гојазности уз испољавање хиперфагије и хиперинсулинемије (19, 15) Мутације које погађају MC4 рецепторе се сматрају релативно честим узроком тешке гојазности код деце (20), које су праћене значајним променама хормоског састава (21, 22).

Као што је претходно поменуто, осим кључних структура лоцираних у аркуатном једру (NPY/AgRP и POMC/ $\alpha$ MSH неурони са MC4 рецепторима) у регулацији уноса хране учествују и бројни други фактори са супротним дејствима (стимулација или инхибиција уноса хране) који могу бити различитог порекла (из ЦНС-а или из периферних органа). Обзиром на велики број, сви неуропептиди и хормони који учествују у контроли уноса хране су систематизовани у четири основне групе: стимулатори уноса хране пореклом из ЦНС-а, стимулатори уноса хране пореклом из периферних органа, фактори који инхибирају унос хране пореклом из ЦНС-а и фактори који инхибирају унос хране пореклом из периферних органа (23, 24, 25). У стимулаторе уноса хране пореклом из ЦНС-а спадају NPY, AgRP, орексин А, орексин В, меланоконцентришући хормон, галанин, GnRH,  $\beta$  ендорфин, динорфин, ГАВА, и норадреналин. Главни стимулатор уноса хране пореклом из периферних органа (желудац) је грелин. У факторе који инхибирају унос хране пореклом из ЦНС-а спадају:  $\alpha$ MSH, cocaine and amphetamine regulated transcript (CART), кортикотропин рилизинг хормон и урокотини, тиреотропин рилизинг хормон, неуротензин, пептид сличан галанину, окситоцин, глукагону лсичан пептид 1, серотонин, пролактин и неуромедин U. У анорексигене са периферије спадају: лептин, обестатин, адипонектин, инсулин, амлилин, холецистокинин, пептид YY, глукагону лсичан пептид 2, гастрични инхибиторни пептид, естрогени, као и већа група цитокина (IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , IFN). Већ на основу броја фактора који су сукључени у регулацију уноса хране, а

поготово имајући у виду њихове бројне интеракције (укључујући синергистичка и антагонистичка дејства), може се стећи јасна слика о сложености механизма који су укључени у регулацију уноса хране. Нарочито треба истаћи чињеницу да, поред улоге у калоријској хомеостази, бројни наведени фактори имају и читав низ других значајних ефеката у организму. У овој студији, испитивани су бихевиорални ефекти појединих фактора из групе орексигена (NPY) и анорексигена ( $\alpha$ MSH).

### **1.1.1. Бихевирални ефекти фактора који учествују у регулацији уноса хране**

#### **1.1.1.1. Бихевиорални ефекти NPY**

NPY је први пут идентификован у узорцима možданог ткива захваљујући С терминаној тирозинској амидној структури. NPY је линеарнио полипептид који садржи 36 аминокислеинских остатака (26), и показује веома сличну структуру са пептидом YY и панкреатичним полипептидом. NPY имунореактивност је први пут потврђена у периферним нервима (27), да би се потом велика експресија NPY имунореактивности потврдила у симпатичким ганглијама, као и ткивима са значајном симпатичком инервацијом. На основу тога је закључено да NPY представља главни пептид симпатичког нервног система (28). У периферним органима значајан садржај NPY је откривен у неуронима црева и панкреаса. Распрострањеност NPY имунореактивности у ЦНС-у је толико велика да се сматра најзаступљенијим неуропептидом у мозгу (29). Ипак, и у мозгу постоје значајне регионалне разлике, па се највећи садржај NPY детектује у паравентрикуларном хипоталамичком једру, хипоталамичком аркуатном једру, супрахијазматичком једру, еминенцији медијани, дорзомедијалном хипоталамичком једру и паравентрикуларном хипоталамичком једру (30). Са аспекта бихевиоралних ефеката NPY, нарочито је значајна чињеница да је велики степен NPY имуноекспресје уочен у амигдалама и хипокампусу (31).

NPY остварује своја дејства везујући се за специфичне рецепторе, који су класификовани у 6 типова - Y1-6, и сви припадају групи класи G протринских рецептора. Иницијална полседница стимулације Y1 рецептора се манифестује кроз инхибицију аденилат циклазе и мобилизацију интрацелуларног калцијума. Иако се може наћи на различитим локализацијама у организму (попут крвних судова), највећи

степен експресије Y1 рецептора се уочава у постсинаптичким неуронима у регионима мозга који су повезани са контролом емоционалног стања и когнитивних функција, као што је хипокампус (32). Претпоставка је да су Y1 рецептори укључени у реакцију на стрес, и да се њиховом стимулацијом остварује антидепресантни (32) и анксиолитички ефекат NPY (33). Y2 рецептори су лоцирани на пресинаптичким неуронима који садрже NPY и њиховом стимулацијом долази до смањеног ослобађања NPY (34). Обзиром на чињеницу да активација Y2 рецептора доводи до смањеног ослобађања NPY из пресинаптичких неурона, претпоставка је да је ово основни механизам анксиогеног ефекта преко Y2 рецептора (35). Y3 рецептори су углавном лоцирани ван ЦНС, са изузетком *nc. tractus solitarius* и ареа постrema, тако да се улога Y3 рецептора у мозгу углавном повезује са реакцијама вегетативног нервног система (брадикаридја, хипотензија) (36, 37). Y4 рецептори су значајно заступљени у органима дигестивног тракта (црево и панкреас, 38) где учествују у регулацији гастроинтестиналног мотилитета и доводе до смањеног уноса хране (39, 40). Показано је да немају значајну улогу у когнитивним функцијама (41), али је потврђено да елиминација Y4 рецептора код генетски модификованих мишева доводи до снажног антидепресантног дејства (39). Y5 рецептори су познати и као “рецептори за храњење”, јер блокада Y5 рецептора узрокује анорексигени ефекат (42). Утицај стимулације Y5 рецептора има за последицу анксиолитички ефекат (43), попут описаног за Y1 рецепторе. Истоветни ефекат који се постиже стимулацијом ова два типа рецептора је повезан и са њиховом честом колокализацијом у појединим регионима мозга (44). Y6 рецептори нису експримирани код свих животињских врста. Тако је забележено да постоје код мишева, док су одсутни код пацова (45). Иако је експресија Y6 рецептора забележена и у људском мозгу, на основу досадашњих података из литературе се сматра да су нефункционални (45).

Први подаци који говоре о анксиолитичком ефекту NPY датирају из 1960. (46) и 1971. (47) године, из студија које су у „тесту конфликта” показале да примена NPY има веома сличне резултате са администрацијом бензодиазепина и барбитурата. У међувремену је показано да дефицијенција NPY код глодара изазива анксиогени ефекат (48), али и да животиње са мањим садржајем NPY показују снажнију анксиолитичку реакцију након администрације NPY (49). У највећем броју радова се за локализације преко којих се остварује анксиолитички ефекат NPY сматрају амигдала, локус церулеус, латерални септум и хипокампус (50). Тако је потврђено да инфузија

NPY у базолатералне делове амигдала смањује социјалну анксиозност (51), док апликација у централна једра амигдала за резултат има антиконфликтни ефекат (52). Смањење анксиозности је добијено и након инјектовања NPY у локус церулеус (53). Као могуће објашњење анксиолитичког ефекта NPY је наведено смањење ангиогеног утицаја изазваног кортикотропин рилизинг фактором, као и његовим агонистима (54). У анксиолитичком ефекту NPY вероватно учествује и интеракција са локалним норадренергичким системом, обзиром да примена антагониста  $\alpha 2$  антагониста смањује анксиолитички ефекат NPY (55). Анксиолитички ефекат NPY који је детаљно анализиран у бихевиоралним студијама на анималним моделима се, по правилу, одвијао стимулацијом Y1 и/или Y5 рецептора односно блокадом Y2 и/или Y4 рецептора. Повезаност концентрације NPY у цереброспиналној течности и степена анксиозности, која је показана у клиничкој студији (56), потврђује да и код људи смањење NPY доводи до повећања анксиозности.

У литератури је описано да неколико неуропептида, укључујући и NPY, могу бити укључени у процесе који леже у основи развоја и испољавања депресивног синдрома (56). Хронични третман антидепресантима је доводио до повећања концентрације NPY у многим деловима мозга (57), нарочито у регионима где је јако експримиран серотонергички систем, као што је *nuclei raphe* (58). Централна администрација NPY на дозно зависан начин смањује депресивност, према вредностима параметара добијених у тестовима за процену степена депресивности (59). Испитивањем прецизнијег рецепторског механизма преко кога NPY остварује утицај на промену степена депресивности је показано да блокада Y2 рецептора узрокује антидепресантни ефекат, док блокада Y1 рецептора самњује антидепресантни ефекат NPY (60). Слични резултати су добијени и у студијама спроведеним на генетски модификованим мишевима тако је делеција Y1 рецептора за резултат имала продепресантни ефекат (61), док је одсуство Y2 и Y4 рецептора довело до антидепресантног ефекта у ТКР (39). Интересантно је да је истовремена делеција Y2 и Y4 рецептора додатно појачавала антидепресантни ефекат NPY (39). Постоје подаци да антидепресантна својства NPY могу бити последица интеракције са серотонинским системом, обзиром да је администрација инхибитора триптофан хидроксилазе спречила антидепресантни ефекат NPY (59). Као могући механизам антидепресантног дејства NPY је наведен и индиректни утицај који се остварује преко хипокампадне неурогенезе. Тако је показано да повећање неурогенезе у хипокампусу узроковано



администрацијом NPY (и серотонина) доводи до повећање ћелијске пролиферације у дентатном гирусу хипокампуса и за резултата има антидепресантну ефикасу (62). Резултати који показују да блокада Y5 рецептора доводи до антидепресантног ефекта, указује на могућност да је и овај тип рецептора укључен у контролу степена депресивности (63).

Висок садржај NPY у регионима мозга који су одговорни за контролу учења и памћења, заједно са неуромодулаторним и неуротрофичким ефектима NPY, упућује на закључак да NPY има значајну улогу у когнитивним процесима. Описано је да директна администрација NPY у септум и рострални део хипокампуса доводи до побољшања когниције (64). Интересантно је да је апликација NPY у каудални део хипокампуса и амигдале имала супротна утица на когнитивне функције (64). Могуће објашњење за овако велике разлике у добијеним резултатима се може наћи у податку да веће дозе NPY у СА1 региону хипокампуса доводе до смањења просторног памћења углавном услед инхибиције глутаматергичке трансмисије која се остварује преко пресинаптичких Y2 рецептора (65). С друге стране, описано је да примена NPY или селективних агониста Y1 рецептора има позитивне ефекте на когнитивне функције, што је потврђено резултатима везаним за просторно памћење који су добијени након примене селективних Y1 антагониста (66).

Улога NPY је снажно повезана са механизмима који учествују у контроли бола и инфламације. Испитивања спроведена на генетски модификованим сојевима мишева су показала да након делеције Y1 рецептора животиње постају много осетљивије на бол изазван термичким или хемијским стимулусима (67). Новија истраживања су показала да су и Y1 и Y2 рецептори укључени у процес трансмисије бола у мозгу (68), при чему је директан аналгетски ефекат полсеидца стимулације Y1 рецептора (69). Овакви описани ефекти се углавном везују за околности при којима се болна сензација апликује на површину коже. Површински ефекти NPY у контроли бола су у највећој мери опредељени типом рецептора који су укључени. Примена агониста Y2 рецептора доводи до хипералгезијског ефекта (након деловања термичких и хемијских стимулуса), док примена агониста Y1 рецептора за резултат има смањење бола изазваног термалним стимулусом, а повећање изазвано механичким стимулусом (70). Пратећи усходно трансмисију бола уочава се да у дорзалним ганглијама кичмене мождине такође постоје Y1 и Y2 рецептори који су укључени у процесуирање бола (71) уз претпоставку да би примена антагониста Y2 рецептора могла имати аналгетски

ефекат у дорзалним ганглијама (68). На нивоу трансмисије бола у кичменој мождини, описано је да примена агониста Y1 рецептора има хипоалгезијски ефекат (72). Иако улога NPY система у процесуирању бола на супраспиналном нивоу још увек није детаљно разјашњена, треба напоменути да је забележено да директна апликација агониста Y1 и Y5 рецептора у одређеним регионима мозга (интрацеребровентрикуларно и интратекално ) постиже аналгетски ефекат чак и у веома малим дозама (73).

### 1.1.1.2. Бихевиорални ефекти $\alpha$ MSH

$\alpha$ MSH је неуропептид који настаје из мултифункционалног прекурсорског протеина, проопиомеланокортин - POMC (74, 75). Биосинтеза пептида пореклом POMC, као и других неуропептидних хормона код сисара, је у складу са “теоријом прохормона“. Процесом транслације POMC мРНК долази до стварања великог неактивног прекурсорског полипептида који подлеже процесу интрацелуларног трансфера у Голџијев комплекс, да би на крају дошло до формирања секреторних гранула у којима су ускладиштени финални молекули, пре него што дође до њиховог ослобађања процесом егзоцитозе (76). Функција POMC неурона је регулисана од стране неколико фактора из циркулације, укључујући и хормоне (лептин и инсулин), и нутритивне, попут глукозе.

Подаци из литературе који се односе на бихевиоралне ефекте  $\alpha$ MSH су, нажалост, веома оскудни. Према расположивим резултатима, веза између промене емотивних стања (анксиозност и депресија) и  $\alpha$ MSH, се остварује на комплексан начин. Тако је показано да продужена изолација, као познати стресогени фактор, доводи до испољавања повећане анксиозности и депресивности, те да су такве бихевиоралне реакције удружене са значајним смањењем броја  $\alpha$ MSH имунореактивних неурона (уз истовремено повећање броја MC4 рецептора) у следећим регионима мозга: паравентрикуларно аркуатно, дорзално и вентрално дорзомедијално хипоталамичко једро, као и у централном једру амигдала (77). Након ресоцијализације животиња, симултано је долазило до поправљања бихевиоралних параметара и повећања броја  $\alpha$ MSH имунореактивних неурона у наведеним регионима мозга (77). Треба поменути и резултате студије који показују да примена  $\alpha$ MSH (или његових аналога) умањује

бихевиоралне промене изазване стресом (78, 79), смањује експлоративну активност у новом окружењу (80) и смањује унос хране (81, 82). Описано је и да интрацеребровентрикуларна администрација  $\alpha$ MSH доводи до смањења анксиогеног ефекта изазваног IL-1 $\beta$  (83). С друге стран, системска администрација  $\alpha$ MSH је доводила до јаког анксиогеног одговора код глодара (84, 85). Интересантно је да антагонисти MC4 рецептора ублажавају стресом индуковану анксиозност и депресивност (86), али се показало да није било могуће анулирање анксиогеног ефекта изазваног применом  $\alpha$ MSH (87).

### 1.1.2. Бихевиорални ефекти промене режима уноса хране

Савремене друштвене околности карактеришу до сада незабележено лака доступност храни, са јасно испољеним трендом смањења физичке активности. Наведене околности у епидемијским размерама доводе до различитих врста развојних и телесних поремећаја, укључујући и централну гојазност, инсулинску резистенцију, дислипидемију и хипертензију (метаболички синдром, 88). У циљу корекције наведених поремећаја почела је масовна примена програма калоријске рестрикције уз жељу да се поправи квалитет живота и продужи животни век. Нажалост, фокус научне јавности је био усмерен према свега према корекцијама функције појединих органских система, што је за последицу имало занемаривање значаја испитивања ефеката дијететских протокола на ментално здравље. Ипак, у последње време научна јавност се све више усмерава према испитивању општих ефеката различитих дијететских протокола на фундаменталне основе хомеостазе у ЦНС-у (као што су неурогенеза, пластичност мозга, повезаност са променама које прате старење, оксидативно оштећење мозга...), као основ за анализу појединачних промена у понашању (89). Најбоља потврда великог значаја режима исхране и (његових последица) се добија кроз резултате радова који показују да су децу са ADHD двоструко чешће рађале мајке које су током трудноће припадале категорији гојазних (90, 91). Подаци добијени на анималним моделима показују да исхрана са повећаним садржајем масти током трудноће код пацова за резултат има повећану анксиозност код новорођених животиња (92), која се повезује са повећањем нивоа серотонина у вентралном хипокампусу (93). Ови подаци показују да чак и исхрана током интраутериног живота може имати значајне последице на ментално здравље.

Калоријска рестрикција се дефинише смањењем калоријског уноса за 30-40%, уз одржавање одговарајућег уноса протеина, витамина, минерала и воде. Описано је да калоријска рестрикција значајно смањује негативне појаве у понашању, као што су тензија, љутња и конфузија, и да појачава осећај еуфорије (94). Рестрикција калоријског уноса од 25%, током 6 месеци, смањује депресивне синдроме, без уочавања негативних утицаја на понашање (95). Велика калоријска рестрикција (250 калорија дневно током два дана) је код пацијената са хроничним болом за резултат имала, између осталог, антидепресантни ефекат код 80% испитаника (96), уз повећање нивоа серотонина и ендогених опијата (97). И на анималним моделима је показана да десетодневна калоријска рестрикција доводи до значајног антидепресантног ефекта глодара (98). Преглед литературе омогућава увид у могуће механизме анзидепресантног ефекта калоријске рестрикције. Антидепресантни ефекат постигнут десетодневном калоријском рестрикцијом је био повезан са активацијом орексинске сигнализације (98). Такође, рестрикција уноса хране је доводила и до активације BDNF и повећане неурогенезе, што је за резултат поново имало антидепресантни ефекат (99, 100). Дијетом изазвано повећање BDNF је истовремено за последицу имало повећање нивоа серотонина и синаптичке пластичности, што је поправљало когнитивне функције (101, 102). Калоријске ретстрикције у трајању од 5 до 10 дана су доводиле до повећања ендогених ендорфина (103). У позитивне метаболичке ефекте који настају током рестрикције калоријског уноса се може убројати повећање продукције кетонских тела (антидепресантни ефекат, 104, 105). Треба обратити пажњу и на чињеницу да се у пракси примењују протоколи рестрикције уноса хране различите дужине трајања. Подаци из литературе показују да чак и при истом степену калоријске рестрикције (50%), дужина трајања дијете може бити од одлучујућег утицаја на исход према бихевиоралним критеријумима. Тако је тронедељна дијета (50% рестрикције) имала анксиолитичку ефекат, за разлику од тродневног режима (50% рестрикције) који је за резултат имао појачање анкиозности (106).

## **1.2. Андрогени анаболички стероиди (ААС)**

Тестостерон представља основни андрогени стероид, и код мужјака се доминантно синтетише у тестису. Откривен је изолацијом из тестиса бика 1935. године (107) али му структура није идентификована. Дефинисање структуре и синтеза

тестостерона је исте године изведена од стране два тима Батенант и Ханиш (108) односно Ружичка и Бетштај (109). За овај проналазак им је додељена Нобелова награда 1939. године. Медицински интерес за примену тестостерона је био базиран на његовим анаболичким и андрогеним карактеристикама, односно на способности да стимулише анаболичку активност. Први покушај примене тестостерона у терапијске сврхе су били неуспешни јер се након оралне администрације или парентералне инјекције тестостерон веома брзо апсорбовао у порталну циркулацију и метаболисао у јетри. Управо је овај проблем представљао главни мотив за настајак хемијски модификованих облика - синтетских ААС-а, уз истовремене покушаје да се појача анаболички а смањи андрогени ефекат тестостерона.

### 1.2.1. Метаболизам ААС-а

Метаболичке промене које доживљава молекул тестостерона у организму се класификују према делу структуре молекула (А-Д) перхидроциклопентанофенатренског прстена (који је основна структурна јединица свих стероида) у коме се измене дешавају и подељене су у две фазе (110). Реакције фазе 1 метаболизма ААС подразумевају ензимски катализоване реакције оксидације, редукције и хидроксилације у више поларизована једињења у циљу инактивације супстанце и њене елиминације из организма. У фази 1 метаболизма ААС учествују три групе ензима: алфа-кето редуктазе, цитохром Р450 и естеразе. Алфа-кето редуктазе (AKR1C) се деле у 3 групе, међу којима припадници AKR1C групе (AKR1C1-4, AKR1D1) имају значајну улогу у метаболизму стероида (111). Генетске варијације у овој групи могу узроковати промене у локалним концентрацијама стероидних хормона. AKR1C3 учествује у стварању и инактивацији тестостерона, док су Glu77Gly измене удружене са нивоом серумске концентрације тестостерона (112). Цитохром Р450 је најважнији ензим у метаболизму анаболика током фазе 1. Сматра се да он учествује у метаболизму преко 60% ових деривата. Поједини припадници ове ензимске групе су такође значајни и у катаболичким процесима стероида. Интересантно је да у овој групи ензима постоје велике индивидуалне разлике које се могу објаснити генским полиморфизмом, што такође може утицати на серумска концентрације тестостерона. Цитохром Р17 иницира активност 17 $\alpha$  хидроксилазе, 17,20- лиазае, уз коришћење прегненолона и прогестерона као супстрата. Претпоставља се да је цитохром Р17

укључен у синтезу епитестострона (113). Због тога се као последица полиморфизма код ових ензима уочавају разлике у концентрацијама епитестостерона у урину. цитохром P19, у литератури чешће означавањем као ароматаза, учествује у формирању естрогена из тестостерона. Примена великих доза ААС-а је често удружена са инхибицијом ароматазе (или преко антагониста естрогених рецептора) са циљем да се спречи гинекомастија. Генетске варијације овог ензима могу представљати ризик за развој гинекомастије код злоупотребе ААС (114, 115). Естеразе су ензими који имају све већи значај обзиром да су на тржишту ААС све чешће естерификоване форме са циљем да се постигне успорено ослобађање. Неопходно је да се овакви метаболити хидролизују пре активације. Показано је да је PDE7B укључена у хидролизу нандролон деканоата и тестостерон енетата (116), те на тај начин утиче на серумске концентрације и биорасположивост ових ААС. Значај ових естераза се огледа у чињеници да могу значајно утицати на серумске концентрације тестостерона, и на тај начин омогућити снажан андрогени ефекат преко рецептора циљних органа. Реакције друге фазе метаболизма ААС-а су реакције коњугације којима се анаболички стероиди или њихови метаболити везују за глукуронску киселину или сулфате. Ензими који су укључени у фазу 2 метаболизма ААС су уридин глукуронозил трансферазе (UGT) и сулфотрансферазе (SULT). UGT ензими се сматрају за главне инактивационе ензиме и одговорни су за квантитативну метаболичку елиминацију стероидних хормона. Потврђено је да је UGT 2B17 кључни ензим у глукуронидацији активности тестостерона у *in vivo* и *in vitro* условима (117, 118). Иако глукуронизација представља основни тип коњугације андрогених метаболита, многи стероиди подлежу сулфатацији у различитом обиму. За поједине стероиде, као што је DHEA сулфатација представља главни метаболички пут фазе 2. Значај овог податка се огледа у чињеници да DHEA и DHEAS представљају најзаступљенији прекурзор андрогена у циркулацији. Коњугација помаже у елиминацији стероида из организма. Обе реакције коњугације су ензимски контролисане: глукуронидација укључује UDP глукуронску киселину као супстрат, а сулфатација 3'-фосфоаденозин 5'-фосфосулфат. Део метаболита се излучује у некоњугованом облику.

Читава прича о метаболизму ААС би била некомплетна без навођења значаја генетског фактора. Генске варијације на нивоу гена који укључени у синтезу, разградњу и елиминацију андрогена могу значајно утицати биорасположивост (како код ендогеног тестостерона, тако и код егзогено администрираних ААС), и на тај

начин могу променити интензитет анаболичких и токсичких ефеката ААС-а. Штавише, и генетске варијације андрогених рецептора могу мењати фармакодинамски ефекат ААС. Као последица свега овога некоико поменутих полиморфизама могу довести до промена серумских концентрација ААС и екскреције њихових метаболита урином. Управо из тог разлога подаци о генетским варијацијама представљају веома значајан додатни извор елемената који могу бити значајни приликом тестирања на допинг (119).

### **1.2.2. Механизам дејства**

ААС испољавају своје дејство преко неколико различитих механизма. Ови механизми укључују: модулацију експресије андрогених рецептора која настаје као последица интрацелуларног метаболита или директним утицајем на топологију андрогених рецептора и последичну интеракцију са коактиваторима и транскрипционим факторима. Други механизми дејства укључује антикатаболичке ефекте који се остварују преко пормене експресије глукокортикоидних рецептора или преко негеномских, као и геномских механизма (који у ЦНС резултују бихевиоралним променама, 120). Треба нагласити да физиолошки значај негеномског дејства андрогена још увек није довољно проучен укључујући и андрогеном изазване промене ћелијског циклуса. Интересантан податак је да се активација сигналне каскаде секундарних гласника под утицајем строида обично дешава за неколико секунди или минута за разлику од ефеката који се остварују преко генома за које је потребно 30-60 минута. Негеномски механизми дејства андрогена укључују ефекте преко мембранског рецептора (глобулин) за полне хормоне, рецептора повезаног са G протеином за који се андрогени директно везују и стимулацијом нерепторске тирозин киназе (121, 122). Претпоставка је да су бројни негеномски и геномски механизми дејства ААС међусобно повезани, са изузетком веома брзог повећања интрацелуларне концентрације калцијума у цитоплазми.

### **1.2.3. Класификација ААС**

Обзиром да је до сада евидентирано око 100 врста ААС-а, према хемијској структури метаболитом полуживоту и физиолошким ефектима, јавила се потреба да

се направи њихова класификација. ААС који припадају првој групи су деривати естерификације  $17\beta$ -хидроксилне групе тестостерона, у коју се убрајају тестостерон пропионат, тестостерон ципионат и тестостерон енантат. Естри тестостерона се могу хидролизovati до природног тестостерона, редуковати до  $5\alpha$ -дихидротестостерона или ароматизовати до естрогена (123, 124, 125). Молекули који су редуковани у  $5\alpha$  положају се не могу метаболисати у естрогене, мада се могу метаболисати у друге андрогене, као што је  $3\alpha$ -андростенедиол (123, 125). У другој категорији ААС се налазе  $19$ -нор деривати тестостерона, као што је нандролон. И ови ААС су често естерификовани али уз коњугацију са другим ланцима, они имају супституцију водоника метил групама у положају  $C19$  (126, 127). Слично тестостеронским естрима из прве групе,  $19$ -нор тестостеронски деривати се могу ароматизовати до  $17\beta$  естрадиола, иако не у тој мери као тестостерон. Трећу групу ААС представљају анаболици који су алкилирани у положају  $C17$  (попут  $17\alpha$ -метилтестостерона и станозолола). Обзиром да алкилација успорава метаболизам у јетри, ови ААС, з аразлику од ААС из групе 1 и 2 се могу орално примењивати (126). Ниједан од  $17\alpha$  алкилираних стероида се не може конвертовати у дихидротестостерон или ароматизовати до  $17\beta$  естрадиола (125, 128, 129), иако се ови облици могу конвертовати у друге андрогене и естрогене метаболите (130, 131).

Сви ААС показују биолошку активност према стандардним андрогеним рецепторима, иако уз значајне разлике у активности (132, 133, 134). ААС који се могу ароматизовати до естрогених метаболита (125, 128, 129, 134, 135, 136, 137) имају способност везивања за обе врсте естрогених рецептора, такко да могу изазивати физиолошке ефекте који се остварују преко естрогених рецептора, као преко андрогених рецептора (138, 139, 140, 141). Треба истаћи да ААС, чак и без метаболичке конверзије се могу везивати за оба естрогена, као и за прогестеронски рецептор (142, 143). Ипак, треба напоменути да је ефекат везивања ААС за естрогене рецепторе значајно мањи него ефекат који остварује  $17\beta$ -естрадиол (143).

#### **1.2.4. Медицинске индикације за примену ААС**

Терапијске индикације за примену ААС-а су веома бројне. Осим најраније примене у корекцији бројних компликација повезаних са хипогонадизмом (144),



администрација ААС се показала корисном и постала је саставни део терапијског приступа у третману бројних поремећаја. Тако се суплементација ААС примењује и код неспецифичних стања попут кахексије, заједно са хормоном раста, висококалоријским суплементима и одговарајућим протоколима физичке активности (126). ААС се примењују и у кахексији/анорексији код AIDS-а, обзиром да је неравнотежа између енергетског уноса и базалне енергетске потрошње чест проблем код HIV пацијената. Значај анаболичког ефекта који се остварује применом ААС се огледа у чињеници да је спречавање смањења телесне масе веће од 10 % снажан индикатор морталитета код HIV-ом заражених људи (145). Слична ситуација се уочава и код плућних болести. Наиме, смањење телесне масе код пацијената са хроничном опструктивном болешћу плућа је директно повезана са степеном морталитета (146). ААС суплементација, такође, има примену и код пацијената са хепатитисом који је повезан са малнутрицијом. Тако је код пацијената са алкохолним хепатитисом, примена ААС, заједно са висококалоријском суплементацијом, статистички значајно поправила функције јетре и проценат преживљавања (147). Суплементација ААС је део терапијског приступа код зарастања рана и постоперативног опоравка. Примена ААС (станозозол) је у *in vitro* условима значајно повећала синтезу колагена код хуманих фибробласта (148). Примена ААС се показала корисном и код пацијената код којих није дошло до спонтаног зарастања рана (149). Такође, код пацијената са тешким опекотинама је уочено значајно смањење концентрације тестостерона. Обзиром на катаболичку структуру оваквих пацијената, супституција ААС је показала, заједно са високопротеинском исхраном, добре терапијске ефекте (150). У третману опекотина, супституција ААС је показала боље резултате од примене хормона раста (151). Анорексија праћена губитком телесне масе представља стандардну слику код пацијената са малигним болестима. Иако досадашња претклиничка истраживања нису показала побољшање стања уз примену ААС (152), претпоставља се да би примена ААС, као корекциони фактор за хипогонадизам изазван малигном болешћу (описано код карцинома панкреаса), могла бити од значаја у третману таквих пацијената (153). Могућа терапијска примена ААС, у форми супституције би могла бити и код терминалне фазе бубрежне инсуфицијенције (154). Прелиминарни резултати показују да примена ААС током шест месеци поправља серумске налазе код оваквих пацијената (155), али је посебно интересантно да супституција ААС доводи до значајног побољшања еритропоезе (156, 157).

### **1.2.5. Нежељени ефекти примене супрафизиолошких доза ААС**

Администрација ААС је често удружена са бројним нежељеним ефектима који афектирају многе органске системе. Систематизација нежељених ефеката ААС би подразумевала следеће категорије:

#### **Нежељени ефекти на нивоу кардиоваскуларног система**

Иако рандомизација нежељених ефеката дугорочне примене ААС не постоји, подаци који се односе на оштећења кардиоваскуларног система који су повезани са ААС су базирани на приказима случајева. Уз напомену да постоји мали број података о корисним ефектима примене ААС на кардиоваскуларни систем (побољшање ендотелне функције, коронарна вазодилатација, смањење отпора васкуларних глатких мишића, 158), забележен је низ нежељених ефеката који се односе на функције кардиоваскуларног система. Примена ААС је повезана са дислипидемијом, повећањем маркера инфламације и ендотелном дисфункцијом, што свеукупно може утицати на васкуларну функцију. Повећање нивоа LDL-а, смањење нивоа HDL-а и повећање концентрације триглицерида (159) се уочавају након неколико месеци примене ААС (160). Овакве промене убрзавају атеросклерозу и могу бити узрок срчаних исхемија и код врхунских спортиста (161). Нормализација липидног статуса се након престанка администрације ААС може очекивати тек након пет месеци (160). Током физичке активности, забележене су потенцијално леталне вентрикуларне аритмије код људи који су користили ААС (162, 163). Описано је да се ради о атријалној фибрилацији, вентрикуларној или суправентрикуларној тахикардији и вентрикуларним екстрасистолама (164). Аутопсијски налази су потврдили да није било присуства тромба или атерома код ових корисника ААС (162, 163). Код других аутопсија показано је да постоје различити типови фиброзе миокарда, која се сматра фактором ризика за леталне аритмије (165). Друге студије су показале да на нивоу леве коморе није постојала фиброза, већ хипертрофија миокарда (166). Примени ААС се приписује и анатомско ремоделовање срца, које за резултат може имати дијастолну дисфункцију, и понекад фатални исход (167). Примена ААС често за последицу има и појаву хипертензије (сistolне и дијастолне) која се пропорционално увећава са дужином

коришћења ААС (168). Постоје и подаци да је примена ААС удружена са појавом тромбозе (169).

### **Нежељени ефекти на нивоу репродуктивног система**

Примена егзогеног тестостерона, за последицу може имати гонадотропинску супресију и смањену сперматогенезу. Ово доводи до атрофије тестиса, андрогене дефицијенције и смањења фертилитета (170).

### **Нежељени ефекти на нивоу функције јетре**

Нежељени ефекти које администрација ААС остварује утицајем на функције јетре се углавном односе на оралну примену 17 $\alpha$ -алкилираних деривата. Описане су цистичне промене на јетри, холецистична жутица и (ретке) неоплазме, у зависности од кумулативне дозе и дужине примене ААС (171).

### **Нежељени дерматолошки ефекти**

Услед коришћења ААС може доћи до појаве акни и фоликулитиса (172). Биопсија кожних промена насталих услед примене високих доза ААС је показала хипертрофију лојних жлезда, повећање липида у површинском слоју коже, као и присуство одређених бактерија на површини коже (173).

### **Нежељени ефекти на мускулоскелетном систему**

Подаци из литературе говоре да примена супрафизиолошких доза ААС може бити фактор који учествује у повећању преваленце амиотрофичне латералне склерозе код спортиста (174).

### 1.2.6. Бихевиорални ефекти ААС-а

Примена ААС у физиолошким дозама има минимални утицај на раопсложене , или чак показује корисне ефекте код дистимије и рефракторне депресије (175, 176, 177, 178). Ипак, примена супрафизиолошких доза ААС доводи до појаве депресије, хипоманије и маније (179). С друге стране, и прекид конзумирања високих доза ААС-а, нарочито након дужег коришћења за резултат има бројне симптоме повезане са депресивним стањем: апатија, анхедонија, губитак концентрације, поремећаји спавања и смањење либида (180, 181). Тежина ових симптома је обично директно пропорционална величини примењених доза ААС-а и дужини трајања третмана. Слични резултати су добијени и на анималним моделима када се ради о ефектима примене високих доза ААС-а на поремећаје расположења. Промене које су уочене на одраслим пацовима мушког пола показују да ААС смањују ниво BDNF у хипокампусу и префронталном делу мозга. Такође, смањује се и експресија глукостероидног рецептор малог афинитета у хипокампусу уз повећање јутарње концентрације кортикостерона у плазми (182). У другој студији су такође након примене супрафизиолошких доза, показане неурохемијске промене које се могу повезати са депресијом као што су повећање концентрације допамина у хипокампусу и смањење у префронталном кортексу. Концентрација серотонина се смањивала у префронталном кортексу, нуклеусу акумбенсу, стријатуму и хипокампусу, док се норепинефрин смањивао у нуклеусу акумбенсу (183).

Примене супрафизиолошких доза ААС-а код адолесцената има много више драматичне последице у односу на одрасле (обзиром да афектира поједине регионе мозга који се још увек развијају и показују високу хормонско-неуромодулаторску сезитивност), што за последицу има испољавање појачање анксиозности и реакције на стрес (184). Претпоставка је да се анксиогени ефекат ААС-а испољава преко негативног утицаја на габаергичком систему, укључујући и смањење габаергичких неурона, у појединим деловима мозга који су одговорни за контролу понашања, а нарочито у хипокампусу (185).

Иако ААС примењени у појединачној дози, са коцентрацијама нешто већим од физиолошких нису значајно утицали на когнитивне функције (186) поновљене супрафизиолошке дозе егзогеног тесостерона администриране интрацеребрално су довеле до дозно зависног смањења просторног памћења (187). Претпостављено

објашњењем механизма преко кога супрафизиолошке дозе ААС утичу на смањење когнитивних функција полази од чињенице да је у регионима мозга одговорним за контролу когнитивних функција (хипокампус) присутан велики број андрогених рецептора, па је та околност предиспонирајући фактор за остваривање утицаја ААС на когницију (188). Потврда за овакву претпоставку је добијена у студији где је након администрације ААС, блокадом андрогених рецептора (флутамид), дошло до побољшања когнитивних функција (187). Поред тога, постоје и објашњења и утицаја ААС на когнитивне функције која су базирана на повећању експресије иРНК за продинорфин у хипокампусу (189), као и да ови стероиди утичу на ниво ацетилхолина, преко регулације активности ацетилхолин трансферазе и ацетилхолин естеразе (190).

Према подацима из литературе, недвосмислено се уочава да се коришћење аналгетика значајно повећава са злоупотребама ААС. У недостатку свих релевантних података остаје дилема да ли је повећано коришћење аналгетика последица примарног ефекта ААС на ноцицепцију или је више узроковано удруженим протоколима који најчешће прате злоупотребу ААС, као што је прекомерна физичка активност. У сваком случају, однос између примене супрафизиолошких доза ААС и толеранције бола је тема која захтева посебно разматрање. Постоје подаци да ААС могу довести до значајне модификације ноцицептивне сензитивности, како код људи тако и код лабораторијских животиња (191). Резултати из литературе показују да администрација ААС у дозама које су двоструко мање од примењених у овој студији нема значајног утицаја на ноцицепцију код пацова (192). Хипералгезијски ефекат након администрације супрафизиолошких доза ААС описан је код пацова у тесту повлачења репа, уз смањење серумских концентрација  $\beta$  ендорфина (193). Утицај примене ААС на промену толеранције бола се углавном објашњавају ефектима хроничне примене ААС на нивое опиоидних пептида, динорфина В и МЕАР-а у специфичним регионима мозга (194), услед чега настаје неравнотежа између два опиоидна система која су генетски различито детерминисана (195). Поред тога, описано је да ААС (директно или индиректно) повећавају нивое допамина у нуклеус акумбнесу (196) интерагујући са ендогеним опиоидним системом (197). С друге стране, забележено је да ААС повећавају ниво  $\beta$  ендорфина у вентралном тегменталном подручју код пацова мушког пола што је у складу са повећањем активности допаминергичког система (198).

### 1.3. Бихевиорални ефекти старења

Поремећаји понашања су чести у старијој животној доби и њихова преваленца се повећава са укупним старењем популације. Обзиром на велику учесталост, као и на тежину последица, поремећаји понашања повезани са старењем се сматрају за значајан здравствени проблем (199). Поремећаји расположења представљају најчешћи клинички ентитет у психијатријској популацији старијих особа. Ови поремећаји укључују најсечће униполарни (депресија) и биполарни тип (манично-депресивни). Депресија се среће код 10-38% старије популације, и она се класификује према тежини клиничке слике, при чему свега једна трећина оваквих случајева показује благу клиничку слику (200). Овај проблем постаје још већи имајући у виду чињеницу да 40-60% оваквих случајева остаје недијагностиковано (201). Биполарни поремећај се среће много ређе (до 0.5%, 202), али често са далеко тежом клиничком сликом (203). Неуробиолошка основа оваквих поремећаја се може наћи у више патофизиолошких механизма. Међу основне поремећаје који доводе до испољавања депресивног синдрома у старијој животној доби се убраја поремећај на нивоу хипоталамо-хипофизно-адrenalне (НРА) осовине. Степен оштећења НРА осовине чак показује значајну корелацију са суицидалним понашањем, па се примењује и за предвиђање ризика (204). Као фактори ризика се нарочито истичу повећани нивои кортизола и промене гена за ангиотензин-конвертујући ензим (205). Савремена дијагностика, укључујући и неуроимидинг, је потврдила значајно смањење волумена и метаболичке промене у везама између кортекса и субкортикалних структура у фронталном делу мозга (206). Код старијих особа са дијагнозом депресије се уочавају смањење запремине хипокампуса и значајни знаци атрофије фронталног кортекса (207). И утицај промена на нивоу церебралне васкуларизације доводи до низа нежељених промена у структури и функцији појединих делова мозга (208) које до те мере могу бити повезане са повећањем ризика за настанак депресије и/или смањење когнитивних функција, да се у клиничкој пракси све чешће користи израз „васкуларна депресија”. Испољавање депресије у старијој животној доби се повезује и са значајним смањењем неуротрофичних фактора. Сматра се да је смањење концентрације BDNF један од патофизиолошких механизма који доводи до појаве депресије у старијој животној доби (209). Претпоставка да инфламаторни механизми значајно учествују у патогенези поремећаја понашања код старих особа је потврђена подацима да код пацијената са великим депресивним поремећајем постоји значајно повећање TNF $\alpha$  и IL-6 (210).

Посебно треба истаћи чињеницу да су епизоде акутне депресије код старијих људи обично праћене оштећењем когнитивних функција (211).

У основи промена које се повезују са повећањем степена анксиозности (у клиничким студијама и на анималним моделима) се налазе поремећаји који су повезани са старењем. Тако је описано да се и код повећане анксиозности и са старењем паралелно јавља смањење неурогенезе, неуродегенеративне промене, поремећаји на структурном, функционалном, ћелијском нивоу (212). Осим тога, подаци из литературе показују да долази до смањења сиве масе мозга, промена у белој маси, и у функционисању основних неуронских мрежа (212). Значај испољавања анксиозног синдрома, упркос блажој клиничкој слици у поређењу са раније наведеним поремећајима не треба потцењивати због чињенице да је често (независно) од депресије удружен са механизмима одговорним за убрзано смањење когнитивних функција. Заједнички патофизиолошку супстрат за поремећаје расположења и драматично смањивање когнитивних функција повезаних са старењем представљају: скраћење теломера, накопљање бета амилоида у мозгу, неуроинфламаторни процеси, као и оксидативни стрес (212).

#### **1.4. Бихевиорални ефекти физичке активности**

##### **1.4.1. Утицај физичке активности на промене расположења**

Корисни ефекти физичке активности за људско здравље су у последње време постали опште место у различитим областима савремене медицине. Анализирајући утицај примене супрафизиолошких доза ААС на бихевиоралне манифестације, јасно се уочава да је једна од најчешће описиваних последица повећање степена анксиозности. Из тог разлога је у овој студији посебна пажња усмерена ка механизмима који су укључени у могућа објашњења утицаја физичке активности на промене степена анксиозности. Имајући у виду да НРА осовина има веома значајну улогу у формирању адаптације као одговора на физичке или психолошке стресове (213), поремећај на нивоу ове осовине се често повезују са испољавањем анксиозности и депресије (214, 215). Резултати претклиничких студија су показали да физичка активност (одговарајућих карактеристика) утиче на функцију НРА осовине тако што повећава ослобађање CRF и

АСТН из аденохипофизе (216), што може може представљати механизам којим физичка активност модулира интегритет НРА осовине у стресним ситуацијама и код анксиозних реакција. Патофизиолошка основа читавог низа анксиозних поремећаја је повезана са поремећајима функције моноаминског система. Подаци из литературе показују да стрес доводи до смањеног ослобађања серотонина у фронталном кортексу (217) и смањења нивоа норепинефрина (218) што за финални резултат има недовољну продукцију моноамина (219). Студије спроведене на анималним моделима показују да аеробна физичка активност доводи до повећања нивоа серотонина и норепинефрина у мозгу, што је слично ефекту који остварују антидепресанти (220). Посебно су потенцирани резултати који показују да се повећава концентрација норепинефрина у хипокампусу и фронталном кортексу након спроведеног протокола физичке активности (221, 222), као и повећање нивоа серотонина (222). Осим повећања концентрација, физичка активност је за резултат имала и повећање активности серотонергичких неурона у дорзалном рафе једру, чија је улога нарочито значајна у неконтролисаном стресу (223). Моноамински систем је позитивно афектиран физичком активношћу и преко повећане генске експресије галанина, којој се приписује неуромодулаторна улога у норадренергичкој реакцији на стрес (224). Обзиром да је потврђено да ендогени опоидни систем укључен у регулацију расположења и емоционалних одговора на тај начин (225) на тај начин што се централно и периферно смањење концентрација  $\beta$  ендорфина уочава код депресије (226), сасвим је могуће да повећано ослобађање и везивање  $\beta$  ендорфина за своје рецепторе може утицати на смањење анксиозности. Оваква последица физичке активности за резултат може имати испољавање еуфорије и смањење бола (227). Потврда да се анксиолитички ефекат ендогених ендорфина може сматрати за механизам који поправља расположење након протокола физичке активности је постигнута применом опиоидних антагониста (228). У литератури најчешће помињано објашњење механизма на који физичка активност изазива анксиолитичко и антидепресантно дејство се односи на концентрације неуротрофичких фактора, пре свега BDNF у хипокампусу (229). И коначно, студије спроведене на анималним моделима потврђују да физичка активност доводи до повећања неурогенезе у хипокампусу (230). Обзиром да је смањење неурогенезе повезано са психијатријским манифестацијама које укључују депресију и анксиозност (231), корисни ефекат физичке активности на овај тип испољавања реакција на стрес се може приписати повећању броја неурона у специфичним регионима мозга.



#### **1.4.2. Утицај физичке активности на когнитивне способности**

Подаци из литературе показују да различити модалитети физичке активности могу побољшати како краткорочно, тако и дугорочно памћење (232). Такође, вољна и форсирана физичка активност побољшавају способност просторног памћења које је повезано са променама у смислу повећања нивоа BDNF-а у специфичним регионима мозга (232). Резултати наведене студије су у складу са подацима да претходно спроведени програм физичке кативности омогућава постизање вишег новог аквизиције, консолидације и ретенције просторног памћења (233, 234). Описани ефекти на програм декларативне меморије се везују за функцију хипокампуса (235).

Чињеница да мозак има огромну способност модификације сопствене структуре и функције у складу са факторима из окружења се најбоље манифестује на нивоу хипокампуса који има кључну улогу у процесуирању памћења. Како физичка активност има једну од најзначајнијих улога у биолошкој адаптацији, њени ефекти, који су у великој мери повезани са енергетском хомеостазом базираном на променама метаболичких параметара, који у значајној мери зависе од величине снабдевања можданог ткива нутритивним, и директно је пропорционално продукцији неуротрофичких фактора раста (величина протока, 236), позитивни ефекти физичке активности се у литератури најчешће објашњавају кроз једноставну форму која се назива “метаболички мозак“ (237).

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

У поређењу са подацима из литературе који се односе на претходно наведене бихевиоралне ефекте, где постоји приближна сагласност о корисним ефектима физичке активности, анализа утицаја оваквог програма на толеранцију бола је далеко мање симплификована. Разлози за неконзистентне резултате се могу пронаћи у различитим карактеристикама физичке активности (као модулирајућем фактору), као и у начину индуковања сензације која ће бити перцепирана као болни стимулус. Ипак, обзиром да постоји недвосмислена жеља да се физичка активност укључи у категорију нестандартних процедура за третирање бола, у овој студији је фокус усмерен на

пролонгиране протоколе аеробне физичке активности и њихов утицај на ноцицепцију. Према расположивим подацима из литературе деветодневни тренинг пливањем (90 минута дневно) је смањио инфламаторни и периферни неуропаткси бол код мишева и пацова (238). Обзиром да је у поменутој студији хипоалгезијски ефекат физичке активности био анулиран системском администрацијом антагонисте опиоидних рецептора (налуксон), да се закључити да је према резултатима овог истраживања доминантна улога у антиноцицептивном ефекту физичке активности припада променама на нивоу опиоидног система изазваних вежбањем. Резултати студије где је уз примену сличног протокола добијено повећање толеранције бола код мишева (239), поред претходно описаног механизма који укључује систем ендогених опијата као могући хипоалгезијски ефекат физичке активности укључује и промене на нивоу серотонергичког система. Новији резултати остављају могућност да су промене ноцицепције изазване физичком активношћу непосредно укључени NMDA рецептори, задужени за континуирану контролу опиоидних рецептора у кичменој моздини (240). Ипак, утицај физичке активности на ноцицепцију може бити различит у зависности од примењених протокола физичке активности (интензитет, дужина трајања...), па се тако у литератури могу пронаћи потпуно супротни резултати (241).

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

Анимални модели имају централну улогу у свим истраживачим пољима биомедицинских наука. Иако се већ дуги низ година користе у испитивању (пато)физиолошких процеса који леже у основи различитих неуропсихијатријских поремећаја, као и поремећаја понашања, и даље постоји тенденција за развијањем и евалуацијом одговарајућих модела који би задовољили бројне научне и етичке критеријуме (242). Такође, развијен је широки спектар бихевиоралних парадигми у циљу да се омогући што бољи увид у основе неуробихевиоралних поремећаја код људи. Бихевиорална тестирања су најчешће спровођена на пацовима, који су били глодари избора дуги низ година. Међутим, развој молекуларне генетике омогућава да различити сојеви генетски модификованих мишева заузму примат у овој категорији истраживања.

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

Варијабле које се могу добити тестирањем животиња у смислу процене степена анксиозности су физиолошки и бихевиорални одговори животиња када се оне нађу у мање или више природним, потенцијално анксиогеним ситуацијама, у строго контролисаним, експерименталним условима.

#### **Open field test – OF тест**

Још 1934. године, тест отвореног поља (Open field test – OF тест) је развијен као модел (тест) за испитивање емоционалног статуса код пацова (243). Овај стандардизовани тест омогућава да се истовремено систематично приступи евалуацији експлорације новог окружења и укупне локомоторне активности, и представља иницијални скрининг у добијању информација о постојању стања сличних анксиозности код глодара (244). Тестирање се изводи у лавиринту који може имати арену различитог облика (најчешће квадратног), постављањем животиње у центар и регистровањем њеног понашања у одређеном временском интервалу (најчешће 5 минута). Регистровање понашања животиње се може изводити непосредним посматрањем и/или помоћу видео камере, након чега се приступа обради података. Резултати OF теста омогућавају процену степена анксиозности на основу директних параметара (укупно време проведено у централном делу арене и број посета централној зони), као и на основу бројних индиректних показатеља степена анксиозности. Индиректни показатељи степена анксиозности и овом тесту су промене локомоторне активности, просечне брзине кретања, као и процента времена кретања током тестирања. Истовремено, смањење експлоративне активности (вертикална активност – уздицање на задње ноге), односно, смањење интересовања за истраживањем новог простора (урођена карактеристика), може, такође, бити један од индиректних знакова повећане анксиозности.

#### **Тест уздигнутог крстастог лавиринта – ЕРМ тест**

Поред OF теста, тест уздигнутог крстастог лавиринта (Elevated plus maze test – ЕРМ тест), представља добро утврђену парадигму за испитивање степена анксиозности

(245). Конструкција лавиринта омогућава још прецизније тестирање и добијање информација о емоционалном статусу животиње. Тест се изводи на платформи уздикутој од нивоа пода (најчешће 100 cm) и састоји се из 2 отворена и 2 затворена крака, постављена под правим углом. У овом тесту, животињи је омогућен избор да проводи време у отвореним (незаштићеним) деловима лавиринта или у затвореним (заштићеним) деловима који представљају сигурно место за животињу. По природи, глодари избегавају отворене просторе, тако да више времена проводе у затвореним крацима. Међутим, урођена жеља за истраживањем новог окружења их наводи да излазе у отворене краке, тако да се приликом тестирања у ЕРМ код животиња јавља конфликт “прилазак-избегавање” који корелира са физиолошким маркерима стреса (246). Уколико се, непосредно пре тестирања, животињи администрира лек из групе бензодиазепина, или неки други анксиолитик, доћи ће до повећања експлорације отворених кракова лавиринта, без смањења укупне локомоторне активности, што дефинитивно потврђује значај овог теста у процени степена анксиозности. Директни показатељи повећаног степена анксиозности у ЕРМ тесту су смањено време проведено у отвореним крацима лавиринта, као и смањен број улазака у отворене краке. Поред тога, укупна локомоторна активност, просечна брзина кретања, као и проценат времена кретања током тестирања, се, као и у OF тесту, могу сматрати индиректним параметрима за процену степена анксиозности. Експлоративна активност у ЕРМ тесту (број уздицања на задње ноге, број нагињања преко ивице отворених делова лавиринта, као и укупна експлоративна активност (247)) може бити, такође, индиректан показатељ анксиозности код животиња. Претеча ЕРМ теста, тест светла-тамна кутија, такође, даје поуздане информације о степену анксиозности (248). Као и код ЕРМ теста, тест светла-тамна кутија се изводи тако што се животиња постави у ситуацију да бира да ли ће боравити у тамном (заштићеном) делу кутије, или у светлом (незаштићеном) делу. Нераздвојива жеља за експлорацијом и избегавање ризика ствара конфликт код животиња, иако доминира потреба за сигурношћу у тамном делу кутије. Кључни параметар за процену степена анксиозности је тенденција да животиња врши експлорацију светлог дела кутије (изражена као број посета и време проведено светлом делу кутије), током десетоминутног тестирања.

## Тест социјалне интеракције

Тест социјалне интеракције је први тест којим се процењује степен анксиозности код животиња, а базира се на етиолошки релевантном концепту (249). У овом тесту, који се изводи у арени квадратног облика (слично као OF тест), пацови који раније никада нису били у контакту се постављају у два супротна краја арене и допушта се интеракција. Интеракцијом се сматра сваки контакт два пацова на раздаљини која није већа од дужине репа. Уколико је продужено време интеракције, сматра се да се степен анксиозности мањи, и супротно, смањење социјалне интеракције говори у прилог повећаној анксиозности.

### 1.5.2. Тестови за процену степена депресивности

Иако се психијатријски аспект депресивних поремећаја не може у потпуности пренети на анимални модел глодара или нехуманих примата, одређени аспекти депресије ипак могу прецизно бити симулирани и ефектно ублажени антидепресивном терапијом на анималном моделу. Тако се беспомоћност, анхедонија, очајање, као и друге неуровегетативне промене попут промена ритма будност-спавање и регулација апетита (250) могу евалуирати код животиња у циљу процене степена депресивности. У скоро свим анималним моделима депресије постоји тенденција да се квантитативно представи неки облик експериментално изазваног пораза или очајања код животиње, иако је овакав аспект депресивног стања више окарактерисан као физиолошки (адаптивни), него као патолошки. Поред тога, иако се очајање код животиње поистовећује са стањем сличним депресији, процедуре за изазивање стреса истовремено доводе до стања сличног анксиозности – “реакција бежи или бори се“ (смањена експлоративна активност, стресом изазвана хипертермија, феномен замрзавања...). Симптоми депресије и анксизности се често преплићу у клиничкој пракси, па је, такође, веома тешко раздвојити стресом индуковано стање слично депресији и стање слично анксиозности на анималном моделу, пототово што оба стања могу бити ефикасно ублажена применом антидепресантне терапије (250). Два најчешће коришћена теста која се у претклиничким студијама користе за испитивање антидепресива су тест форсираног пливања (Forced swim stress, Порсолтов тест) и тест качења о реп (Tail suspension test). Поред тога, ови тестови се могу користити за

процену депресивности на терену различитих претретмана у зависности од дизајна експерименталне студије. Приликом извођења теста форсираног пливања, животиња (пацов или миш) се убаца у стаклени цилиндар напуњен водом, и региструје се њено понашање у одређеном временском периоду. Животиња се, најпре, на сваки начин бори да се ослободи непријатне ситуације, труди се да исплива, покушава да се попне уз зидове цилиндра, и у једном тренутку одустаје – што се огледа у имобилности, односно, периодима беспомоћног плутања (251). Уколико животиња раније одустане од борбе, и уколико су периоди имобилности дужи то значи да је степен депресивности израженији. Други тест за испитивање степена депресивности код животиња, тест качења о реп, се изводи на тај начин што се животиња доведе у непријатну ситуацију безболном суспензијом репа о конструкцију апарата на коме се врши тестирање. Након периода борбе да се ослободи, животиња показује знаке одустајања, периоде непокретности, који се могу квантитативно изразити у циљу процене степена депресивности (252). Укупно време имобилности током шестоминутног тестирања се сматра најиндикативнијим параметром за евалуацију степена депресивности код животиња. Предност теста качења о реп у односу на Порсолтов тест форсираног пливања је што неки специфични претретмни у експерименталном дизајну (на пример програм програмираног тренажног процеса у виду пливања), могу утицати на резултате теста (животиње које су као претретман имале пливање биће фамилијарне са воденим окружењем и физички спремније да издрже тестирање у Порсолтовом тесту).

### **1.5.3. Тестови за процену когнитивних способности**

Бихевиорални тестови за процену учења и памћења (као и других аспеката когнитивних функција, на пример когнитивне координације), представљају моћно средство у рукама истраживача који се баве анималним моделима неуропсихијатријских обољења. Такође, оваква тестирања су изузетно важна у испитивање ефеката потенцијално прокогнитивних супстанци. Просторна оријентација и навигација имају централно место у испитивању когнитивног дефицита на анималним моделима. Одређене врсте просторне навигације су у основи детерминисане функцијом хипокампуса, како код пацова (253) тако и код људи (254). Заправо, у хипокампусу и придруженим структурама (енторинеални кортекс) постоје специфичне врсте ћелија које окидају акционе потенцијале у зависности од

комплексности окружења (просторна позиција - 255, или правац кретања 256, 257). Морисов водени лавиринт (Morris water maze - MWM) предстаља класични, вероватно најчешће коришћен тест за процену просторног учења и памћења. Овај тест је развијен од стране Ричарда Мориса (258, 259). MWM предстаља базен кружног облика, дијаметра 180 cm, испуњен замућеном водом. Животиња (најчешће пацов) се убацује у базен са различитих локација на периферији и допушта јој се да плива како би пронашла скривену платформу која се налази испод површине воде. Тестирање се завршава када животиња пронађе платформу (након чега јој се допушта да на њој проведе неко време) или након неког предефинисаног временског интервала (уколико животиња не пронађе платформу). Тест је јединствен по томе што елиминише олфакторне елементе за навигацију и животињи је омогућено да једино уз помоћ спољашњих маркера који су постављени изван базена креира когнитивну мапу како би запамтила локацију скривене платформе. Поред мерења времена до проналаска скривене платформе – анализа когнитивних функција, у овом тесту се могу добити још неки параметри који могу послужити за анализирање сензорног и моторног дефицита као и мотивације (брзина пливања, дужина пређеног пута). Иако пацови имају урођену способност пливања, што смањује стрес који настаје у контакту са водом приликом тестирања (260, 261), постоје и други тестови за процену учења и памћења који се изводе без потребе да се животиње излажу воденом окружењу. Барнсов лавиринт је први пут описан од стране Карола Барнса 1978. године. Он се најчешће састоји од кружне површине беле боје, која на ободу има (најчешће) 18 отвора који представљају потенцијално скровиште за животињу. Међути, само један од тих отвора заиста предстаља скривено уточиште у које се животиња може сакрити. Обзиром на чињеницу да глодари имају урођени страх од отворених и светлих површина, управо је то искоришћено као мотивационо средство да траже скривено уточиште у једном од отвора на ободу лавиринта. Као и код MWM, постоји екстерна ознака која сугерише животињи у ком правцу се налази сигурно место. Иако је мање стресан за животиње у односу на MWM (обзиром да се изводи на сувом), тестирање у Барнсовом лавиринту ипак може бити довести до подизања нивоа кортикостерона код мишева (262). MWM може бити сензитивнији у испитивању генетски модификованих сојева (263), док се Барнсов лавиринт чешће користи у неких специфичним претретманима (264, 265). Свакако, избор лавиринта пре свега зависи од дизајна експерименталне студије, као и од специфичности претретмана животиња. Тест препознавања новог објекта (266) предстаља још један вид евалуације когнитивних функција који је у широкој употреби

у бројним истраживачким лабораторијама. Тест се заснива на урођеној особини пацова (или мишева) да врше експлорацију новог објекта. У првој фази тестирања, животињи се представљају 2 идентична објекта и допушта се да се она фамилијаризује са њима у одређеном временском интервалу. Затим се један објекат замени неким другачијим, различитим од првог објекта, и поново се допушта експлорација у познатом окружењу са једним новим и једним старим објектом. Уколико су когнитивне функције очуване, животиња ће више времена проводити у истраживању новог објекта. Тест испитује визуелно учење и памћење, а структуре мозга које су укључене у извођење овог теста су хипокампус, парахипокампални регион, као и енторинеални кортекс (267).

#### **1.5.4. Тестови за процену ноцицепције**

Бихевиорална тестирања на глодарима у циљу испитивања ноцицепције су широко заступљена у бројним лабораторијама. Данас је доступан је велики број тестова којима се испитује ноцицепција, тако да се лако могу спроводити одговарајући тестови којима се процењује перцепција болних стимулуса и/или процесуирање информација које се преносе на више мождане структуре. Болне сензације се спроводе од рецептора који се налазе у кожи или појединим органима до кичмене мождине. Већина ових аферентних влакана стиже до дорзалних рогова кичмене мождине, где се улазни сигнал преноси на интернеуроне. Инхибиторна или ексцитаторна модулација улазног сигнала на нивоу кичмене мождине настаје пре него што се он пренесе даље кроз кичмену мождину према одговарајућим регионима мозга (268). Понекад, и пре него што сигнал стигне до мозга, еферентна влакна кичмене мождине која инервишу мишиће регије у којој се десио примарни болни стимулус, изазивају рефлексно удаљавање од извора бола. Различити путеви који су укључени у пренос и модулирање болних сензација са периферије до мозга садрже комплексне неуронске мреже и системе неуротрансмитера који делују, како на нивоу кичмене мождине, тако и на нивоу виших можданих центара (269). На нивоу кичмене мождине, два главна неуротрансмитера – глицин (ексцитаторни) и ГАВА (инхибиторни), модулирају информације које стижу са периферије пре него што се пренесу до мозга. Поред тога, бројни други неуротрансмитери су укључени модулацију ноцицепције. Обзиром на хијерархијску организацију периферног и централног нервног система, развијени су и тестови којима се може мање или више проценити ноцицепција до нивоа кичмене



мождине или изнад нивоа кичмене мождине. Различити тестови се могу користити за испитивање термалног, механичког или хемијског бола, као и акутног, односно, хроничног бола (270). Инјекција формалина у шапу пацова се обично користи као акутни модел ноцицепције. Формалински тест се састоји из две фазе, прве фазе која подразумева иницијални болни стимулус са периферије који се преноси С влакнима, и друге фазе која подразумева инфламацију и централну сензитизацију дорзалних рогова кичмене мождине (271, 272). Тест повлачења репа најчешће се користи за испитивање дејства неке фармаколошке супстанце на праг бола код глодара (мишева и пацова). Ефекат примењене супстанце се процењује према томе колико је трајао контакт између репа животиње и средине са потенцијално ноксичним дејством (врућа вода, зрачање топлотом), пре реакције повлачења репа (273). Овај тест је врло једноставан за извођење, осим што захтева да животиња буде потпуно мирна током извођења теста, како би се успешно завршило регистровање времена до повлачења репа. Док се тест повлачења репа користи за процену спиналних рефлекса на ноцицептивне стимулусе, тест вруће плоче укључује и могућност процене функције супраспиналних нивоа централног нервног система који учествују у процесуирању ноцицептивних информација (274). Тест вруће плоче подразумева да се животиња постави на загрејану металну подлогу (најчешће 55°C), која је окружена стакленим зидовима да би се посматрала реакција животиње током трајања теста (275). Температура подлоге је довољна да изазове болну сензацију, без оштећења ткива и изазивања опекотина. Тестирање се прекида када дође до реакције животиње у виду одскакања од подлоге или лизања задње шапе, након чега се животиња уклања са вруће металне плоче. Међутим, продужено време до реакције типа лизања задње шапе је примећено једино у експериментима са применом опиоида, док је реакција типа скакања од подлоге продужена након примене мање ефикасних аналгетских супстанци, као што су парацетамол и ацетилсалицилна киселина (276). Тестирање на врућој плочи подразумева истовремено стимулисање сва четири екстремитета, као и реп, тако да таква мултицентрична стимулација несумњиво дифузно утиче на комплексне инхибиторне механизме, што може довести до дискрепанци у одговору животиње на термални стимулус.

Имајући у виду све наведене манифестације злоупотреба ААС-а, као и појединачне ефекте појава које су најчешће удружене са злоупоребама ААС, циљ ове студије је био да се, након спровођења одговарајћих протокола, испитају појединачни

ефекти свих наведених претретмана (примена супрафизиолошких доза различитих ААС, пролонгирани протокол физичке активности, рестрикција уноса хране и утицај старења на резултате добијене наведеним протоколима), ефекти њихових удружених дејстава, као и међусобни утицаји ових фактора (уз квантификовање удела појединачних фактора) на промене бихевиоралних манифестација у анималном експерименталном моделу.

## **2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА**

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

1. Утврђивање бихевиоралних манифестација након рестрикције уноса хране код пацова млађе и средње животне доби.
2. Утврђивање бихевиоралних манифестација након рестрикције уноса хране после хроничног третмана супрафизиолошким дозама андрогених анаболичких стероида (нандролон деканоата и тестостерон енантата) код пацова млађе и средње животне доби.
3. Утврђивање бихевиоралних манифестација након рестрикције уноса хране после дуготрајног програмираног тренажног процеса код пацова млађе и средње животне доби.
4. Утврђивање бихевиоралних манифестација након рестрикције уноса хране после симултане администрације супрафизиолошких доза ААС и дуготрајног програмираног тренажног процеса код пацова млађе и средње животне доби.
5. Дефинисање могуће хистоморфолошке основе (промене у експресији интернеурона који садрже NPY у специфичним регионима мозга) за промене у понашању пацова индуковане хроничним третманом ААС 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 пацови мушког пола, *Wistar Albino* соја, старости 3 и 18 месеци, просечне телесне масе 350 – 400 g, односно, 900 – 1000 g, са Одељења за узгој лабораторијских и експерименталних животиња Војномедицинске академије у Београду. Пацови су држани у стандардним стандардним кавезима од плексигласа (59 x 38 x 20 cm), у групама од по 4 животиње у кавезу, смештеним у виваријуму Факултета медицинских наука у Крагујевцу. У виваријуму су одржавани контролисани услови температуре ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) и циклуса светлост / тама (12 h / 12 h, осветљење од 8 h до 20 h, 120 lx). Храна и вода су узимани *ad libitum*, до почетка спровођења одговарајућих протокола рестрикције калоријског уноса, уз мерење вредности на дневном нивоу. Током целокупног боравка у виваријуму је било обезбеђено одсуство свих звучних, механичких и светлосних сензација које би могле да узрокују нежељене ефекте на понашање животиња. Све манипулације животињама, током претретмана и тестирања, су вршене за време светле фазе дневног циклуса. Чишћење кавеза је спровођено 2 пута недељно, уз минималне манипулације животињама. Приликом сваког другог чишћења кавеза, мерена је телесна маса животиња (једном недељно). Све експерименталне процедуре су спровођене у складу са прописаним актима (EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC) и принципима етичности.

### 3.2. Групе и третман животиња

Животиње су подељене у осамнаест (18) група. Као што је представљено у Табели 3.1., пацови су разврстани према старосној доби, примењеном хроничном протоколу (администрација нандролон-деканата, тестостерон-енантата и/или спровођење пролонгираног тренажног процеса), као и према приступу храни. Контролне групе (за обе старосне категорије) и група код које је самостално спровођен пролонгиран тренинг процес су бројале по 16 животиња<sup>1</sup>, док су остале експерименталне групе бројале по 8 животиња у групи.

<sup>1</sup> Контролна група (за обе старосне категорије), као и група са пролонгираним тренингом процесом су постојале у два одвојена протокола за испитивање ефеката анаболичких стероида, са по 8 животиња у групи. Обзиром да се вредности параметара у овим групама нису статистички значајно разликовале, резултати су обједињени тако да је укупан број животиња у овим групама износио 16.

Младе животиње (старе 3 месеца)		Одрасле животиње (старе 18 месеци)	
Слободан приступ храни	Ограничен приступ храни	Слободан приступ храни	Ограничен приступ храни
Контролна група К <sup>*,**</sup>	Контролна група К <sup>*,**#</sup>	Контролна група К <sup>*,**</sup>	Контролна група К <sup>*,**#</sup>
Нандролон- деканоат група НД <sup>*</sup>	Нандролон- деканоат група НД <sup>*#</sup>	Нандролон- деканоат група НД <sup>*</sup>	Нандролон- деканоат група НД <sup>*#</sup>
Тестостерон- енантат група ТЕ <sup>*</sup>	Тестостерон- енантат група ТЕ <sup>*#</sup>	Тестостерон- енантат група ТЕ <sup>*</sup>	Тестостерон- енантат група ТЕ <sup>*#</sup>
Група са вежбањем В <sup>**</sup>	Група са вежбањем В <sup>**#</sup>	Одрасле животиње нису биле способне за спровођење протокола пролонгиране физичке активности	
Група са симултаном апликацијом НД и вежбањем НД + В	Група са симултаном апликацијом НД и вежбањем НД + В <sup>#</sup>		
Група са симултаном апликацијом ТЕ и вежбањем ТЕ + В	Група са симултаном апликацијом ТЕ и вежбањем ТЕ + В <sup>#</sup>		

**Табела 3.1. Експерименталне групе.** \* животиње из ових група су стављане у базен (под истим условима као и групе са вежбањем) у трајању од 30 секунди, током 6 недеља. \*\* животиње из ових група су имале супкутану администрацију стерилисаног рафинисаног маслиновог уља у запремини од 2-3 ml, једном недељно, током 6 недеља. # 48 сати пре тестирања је количина хране редукована на 25% од просечног уноса хране у претходној недељи.

Животиње старосне доби од 3 месеца су одговарале адолесцентној доби у хуманој популацији, док су животиње старости од 18 месеци одговарале хуманој популацији од 40 до 50 година старости (277).

Хронични третмани администрације андрогених анаболичких стероида су спровођени током 6 недеља. Групе којима је администриран нандролон-деканоат (НД), имале су супкутану администрацију нандролон-деканоата (ДЕКА 300, SteroxLab, EU) у дози од 20 mg/kg телесне масе, раствореног у стерилисаном рафинисаном маслиновом уљу, максималне укупне запремине до 3 ml, једном недељно, током 6 недеља. Групе којима је администриран тестостерон-енантат (ТЕ), имале су супкутану администрацију тестостерон-енантата (Testosteron depo, Galenika AD, Србија) у дози од

20 mg/kg телесне масе, раствореног у стерилисаном рафинисаном маслиновом уљу, максималне укупне запремине до 3 ml, једном недељно, током 6 недеља. Примењене супрфизиолошке дозе ААС-а (50-100 пута веће од физиолошких концентрација андрогених хормона у крви пацова) су коришћене да би се симулирале дозе ААС-а које се срећу код злоупотребе ових супстанци у хуманој популацији (278). Контролне групе (обе старосне категорије), као и група код које је спровођен пролонгирани тренажни процес, су подвргнуте супкутаној администрацији стерилисаног рафинисаног маслиновог уља у запремини од 2-3 ml, једном недељно, током 6 недеља, у циљу анулирања могућег утицаја манипулативног третмана на резултате истраживања.

Код група које су подвргнуте процесу пролонгираног тренажног процеса је спровођен протокол пливања (60 минута дневно, 5 узастопних дана у недељи и 2 дана паузе) током 6 недеља. Вежбање је спровођено у стакленом базену (60 x 75 x 100 cm) напуњеном водом (до 60 cm) загрејаном на  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , у групи од по 4 животиње. Седам дана пре почетка протокола вежбања, у циљу адаптирања на контакт са водом, животиње су потапане у мали базен напуњен водом, дубине 7 cm, током 15 минута једном дневно. Ова процедура је омогућавала да се стрес узрокован контактом са водом сведе на минимум, што је потврђено минималним променама физиолошких параметара повезаним са тренажним процесом (279). Трајање појединачног пливачког протокола (60 минута дневно) је изабрано због потврђених имунохистохемијских промена у мозгу насталих применом оваквог тренажног процеса (280). Током читавог протокола пливања, експериментатор је био присутан у просторији, посматрајући реализацију тренажног процеса. Дефинисане групе младих животиња су биле способне за спровођење целокупног протокола пролонгиране физичке активности. Групе одраслих пацова нису биле способне за извођење пливачког протокола, због чега у овој старосној категорији не постоје групе са протоколом пролонгиране физичке активности.

Групе код којих је симултано спровођен протокол администрације супрафизиолошких доза ААС-а и пролонгираног тренажног процеса (НД+В и ТЕ+В), порвргнуте су идентичним протоколима којима су подвргнуте одговарајуће групе код којих су ови протоколи спровођени самостално.



Супкутана администрација ААС-а (или маслиновог уља) је спровођена првог дана након завршеног протокола пливања (шестог дана третмана, сваке недеље), да би се избегле потенцијалне локалне компликације парентералне апликације након боравка у воденом окружењу. Седентерне групе су сваког дана предвиђеног за пливачки протокол потапане у базен са водом, у којем се спроводио и протокол пролонгиране физичке активности, током 30 секунди. Ова процедура је спроведена у циљу елиминисања разлика између група које вежбају и седентерних група, у односу на ефект стреса који би могао настати у контакту са водом. Након завршетка протокола пливања, животиње су осушене сувим пешкиром и феном, и враћене у чист кавез.

Након завршетка хроничних протокола, приступило се спровођењу акутних протокола за контролу уноса хране, у складу са стандардним процедурама уклањања хране са циљем одржавања мотивационог статуса потребног за спровођење бихевиоралних испитивања (281). На тај начин, све животиње су подељене у две (једнаке по броју) категорије са различитим дијететским протоколом:

1. Животиње са слободним приступом храни (храна је укинута 12 сати пре тестирања, што је стандардна процедура пре извођења експеримената у бихевиоралним истраживањима),
2. Животиње са ограниченим приступом храни
  - 36 сати делимичне рестрикције калоријског уноса за 75% (омогућен је унос 25% од просечног дневног уноса хране у претходној недељи), након чега је следило
  - 12 сати тоталне рестрикције калоријског уноса, непосредно пре тестирања, што је омогућавало модификовану величину уноса хране у укупном трајању од 48 сати.

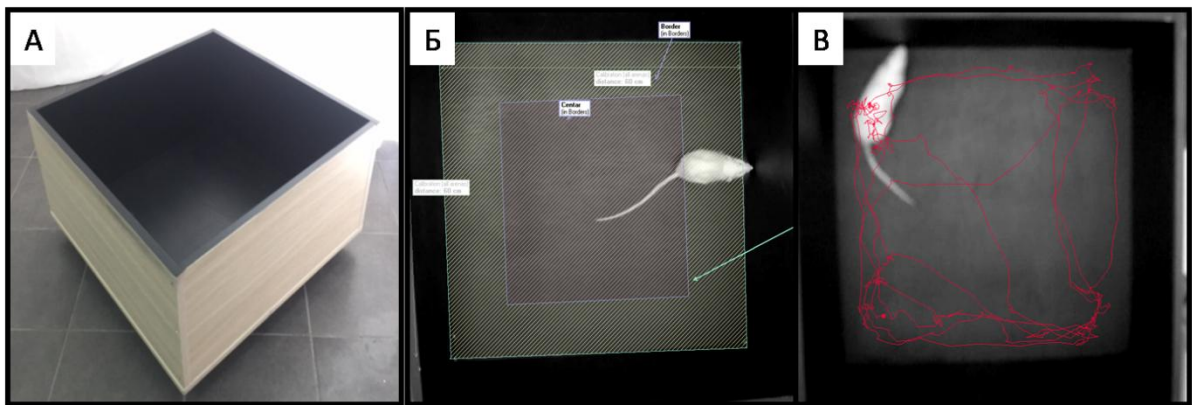
### 3.3. Бихевиорална тестирања

Два дана након завршетка предвиђених протокола животиње су смештене у просторију у којој се врше бихевиорална тестирања (у 8 сати ујутру), како би се прилагодиле условима околине током 1- 2 сата непосредно пред тестирање.

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

Тест отвореног поља (ОП тест) је један од најчешће коришћених тестова у бихевиоралним истраживањима. ОП тест се користи за процену укупне локомоторне активности, експлоративне активности, као и анксиозности код глодара (282). Тестирање је извођено у лавиринту са квадратном основом (арена 60 x 60 cm) и зидовима висине (30 cm), направљеном од дрвета пребојеног црном бојом. Боја лавиринта је изабрана да би се омогућили услови тестирања који не изазивају стрес, обзиром да глодари имају урођену аверзију према светлим површинама. На почетку извођења теста, животиње су појединачно постављане на средину арене и омогућено им је слободно кретање (понашање), током 5 минута. Понашање пацова је снимано видео камером, постављеном на 150 cm изнад арене, након чега су видео записи анализирани помоћу одговарајућег софтвера. Параметри који су добијени анализом видео записа су: укупни пређени пут (УПП, укупна раздаљина пређена током пет минута трајања теста, изражена у cm), проценат времена кретања (% ВК, проценат времена трајања мобилности животиње у односу на трајање теста), просечна брзина кретања (ПБК, средња вредност брзине кретања током теста, изражена у cm/s), укупно време проведено у централној зони (УВПЦЗ, време проведено у виртуелној зони, димензија 20 x 20 cm, која се налазила у средини арене ОП теста, изражено у s), број улазака у централну зону (БУЦЗ, број посета виртуелној централној зони арене ОП теста), број усправљања (БУ, број подизања на задње шапе) и број тимарења (БТ, број карактеристичних покрета предњих екстремитета који обухватају манифестације чешања и/или трљања крзна у региону главе и врата). Параметри који су се користили за процену локомоторне активности су били УПП, %ВК и ПБК. Смањење вредности ових параметара је ишло у прилог смањењу укупне локомоторне активности животиње, и (индиректно) повећању степена анксиозности. УВПЦЗ и БУЦЗ су параметри који су коришћени за директну процену нивоа анксиозности. Више времена

проведеног у централној зони арене ОП теста, као и већи број улазака у централну зону су сматрани за показатеље смањења нивоа анксиозности код животиња (282). БУ је параметар који се користи за процену експлоративне активности, при чему се смањење БУ тумачи као смањење експлоративне активности, и (индиректно) повећање степена анксиозности. БТ се може користити за процену експлоративне активности, као и за процену нивоа анксиозности. Повећање БТ је, по правилу, повезано са смањењем експлоративне активности и повећањем степена анксиозности. Лавиринт се налазио у визуелно и звучно изолованом простору, а експериментатор није био присутан током тестирања. Након сваког завршеног петоминутног тестирања, животиња је враћена у кавез, а арена је детаљно очишћена водом и раствором 70% етил-алкохола, у циљу елиминисања мириса претходно тестиране животиње, који би потенцијално могао да утиче на резултате истраживања.

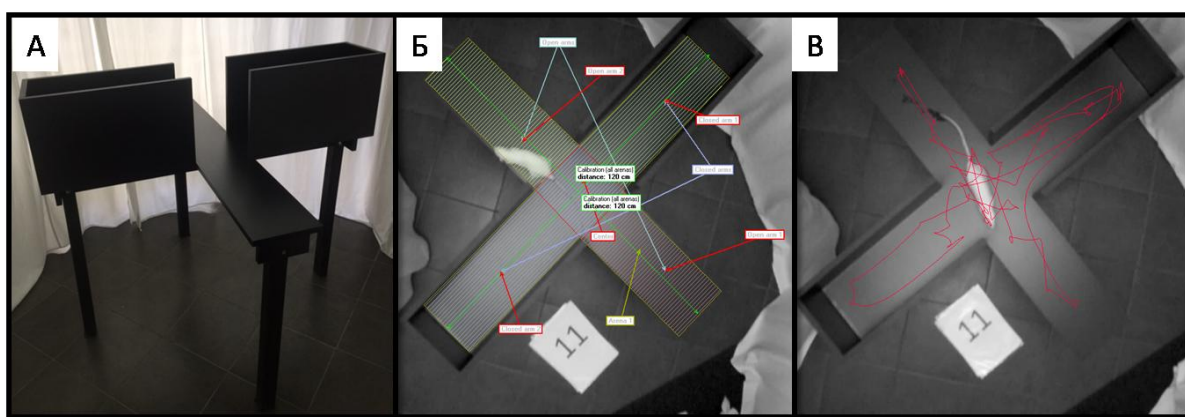


Слика 1. Техника примењивана за извођење теста отвореног поља. А. Приказ лавиринта. Б. Приказ арене лавиринта са виртуелном поделом на одговарајуће зоне. В. Приказ пређене путање остварене током извођења теста након обраде у одговарајућем програму за анализу видео записа.

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

Тест уздигнутог крстастог лавиринта (УКЛ тест) служи за процену степена анксиозности (283), као и за процену укупне локомоторне и експлоративне активности код глодара. УКЛ тест се изводи у лавиринту који се састоји из два отворена (50 x 20 cm) и два затворена, зидовима ограђена, крака (50 x 20 x 30 cm), постављених под правим углом (у хоризонталној равни) на висини 100 cm од пода. Извођење овог теста је засновано на чињеници да глодари имају урођен страх од отворених површина и висине, што их наводи на понашање окарактерисано као тигмотаксија (дуже задржавање уз зидове лавиринта). Конфликт настаје због супротних реакција, природне аверзије од издигнутог и незаштићеног простора и урођеног нагона за експлорацијом у новом окружењу. Животиње су појединачно постављане у централни део лавиринта и допуштано им је да се слободно крећу током пет минута (укупно трајање теста). Камера је била постављена на одговарајућој висини (250 cm). Добијени видео записи су накнадно анализирани. Параметри који су добијени у УКЛ тесту су: укупно време проведено у отвореним крацима (УВПОК, време проведено у деловима лавиринта без бочних зидова, изражено у s), број улазака у отворене краке (БУОК, број посета деловима лавиринта без бочних зидова), укупни пређени пут (УПП, укупна раздаљина пређена током пет минута трајања теста, изражена у cm), просечна брзина кретања (ПБК, средња вредност брзине кретања током теста, изражена у cm/s), проценат времена кретања (% ВК, проценат времена трајања мобилности животиње у односу на трајање теста), број усправљања (БУ, број подизања на задње шапе), број нагињања (БН, број савијања главе испод површине основе отворених кракова лавиринта), укупна експлоративна активност (УЕА, збир БУ који се региструје углавном у затвореним крацима и БН који се уочава искључиво у отвореним крацима) и број тимарења (БТ, број карактеристичних покрета предњих екстремитета који обухватају манифестације чешања и/или трљања крзна у региону главе и врата). Директни показатељи степена анксиозности су били УВПОК и БУОК, при чему смањење вредности ових параметара говори у прилог повећања анксиозности. Параметри за процену локомоторне активности били су УПП, ПБК и % ВК, при чему је смањење вредности поменутих параметара указивало на смањење локомоторне активности, и (индиректно) повећање степена анксиозности. Експлоративна активност је процењивана на основу вредности параметара: БУ, БН и УЕА. Смањење вредности БУ, БН и УЕА је било знак смањења експлоративне активности, као и повећаног

степенa анксиозности. БТ се може користити за процену експлоративне активности, као и за процену нивоа анксиозности. Повећање БТ је, по правилу, повезано са смањењем експлоративне активности и повећањем степена анксиозности. И овај лавиринт се налазио у визуелно и звучно изолованом простору, а експериментатор није био присутан током тестирања. Након сваког завршеног тестирања, животиња је враћена у кавез, а лавиринт 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 2. Техника примењивана за извођење теста уздигнутог крстастог лавиринта. А. Приказ лавиринта. Б. Приказ арене лавиринта са виртуелном поделом на одговарајуће зоне. В. Приказ пређене путање остварене током извођења теста након обраде у одговарајућем програму за анализу видео записа.

### 3.3.3. Тест качења о реп (ТКР тест)

Један од најчешће коришћених тестова за процену степена депресивности код пацова је тест качења о реп (ТКР тест). Извођење овог теста је базирано на претпоставци да ће животиња активно покушавати да се ослободи непријатне ситуације у коју је доведена качењем о реп, у кратком временском периоду (284). Конструкција апаратуре за извођење овог теста се састојала од металног рама (60 x 60 cm) и пластичног диска (25 cm) са централно постављеним отвором (1.5 cm), кроз који је провучен реп пацова (1 cm испод места качења) у циљу елиминисања пењања уз реп. Пацови су били окачени о реп лепљивом траком, тако да им је тело висило у ваздуху главом окренутом на доле, у визуелно и звучно изолованом простору. Извођење теста је трајало шест минута. Током тестирања животиње су показивале периоде активне борбе, који су се смењивали са периодима имобилности. За имобилност је сматрано потпуно одсуство покрета (више од 1 cm) главе, тела и екстремитета, које је трајало дуже од 5 секунди. Параметри који су добијени у ТКР тесту су: време до појаве прве имобилности (ВППИ, латенца до првог одустајања од покушаја да се изађе из новонастале ситуације, изражена у s), број епизода имобилности (БЕИ, укупан број периода одсуства активног супростављања неприродној позицији), укупно време имобилности (УВИ, збирно време пасивних реакција животиње на постојеће околности, изражено у s) и просечно трајање епизоде имобилности (ПТЕИ, средња дужина трајања епизоде пасивног положаја, изражена у s). ПТЕИ је израчунавано као количник УВИ и БЕИ. Повећање вредности за БЕИ, УВИ и ПТЕИ, као и скраћење ВППИ су сматрани за индикаторе који потврђују повећан ниво депресивности код животиња.



Слика 3. Апаратура за извођење теста качења о реп.

### 3.3.4. Тест вруће плоче (ВП тест)

Тест вруће плоче (ВП тест) се изводио на четвртастој металној плочи (43 x 43 cm), ограђеној стакленим зидовима (висине 30 cm) који спречавају да животиња побегне, а дозвољавају посматрање понашања животиње током тестирања. Тестирање ноцицепције, проценом брзине одговора на термални стимулус, се спроводило према стандарно утврђеној, раније описаној, процедури (285). Пацови су постављани плочу загрејану на  $51 \pm 0.5$  °C. Ова температура се сматра довољном да изазове реакцију, без ризика од настанка оштећења ткива (опекотина) у контакту са загрејаном подлогом. Максимално дозвољено време тестирања је било ограничено на 180 секунди (286). Параметар који је добијен у овом тесту је време до реакције (ВР). Реакција је представљала одговор животиње на дејство термалног стимулуса, у виду лизања задње шапе, трешења задње шапе, или скока (све четири шапе истовремено одигнуте од подлоге). Скраћење ВР је тумачено као хипералгезијска манифестација. Тест је извођен у звучно изолованом простору. Експериментатор је уклањао животињу са загрејане површине непосредно након уочавања наведених реакција. Након сваког завршеног тестирања, животиња је враћена у кавез, а апарат 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.



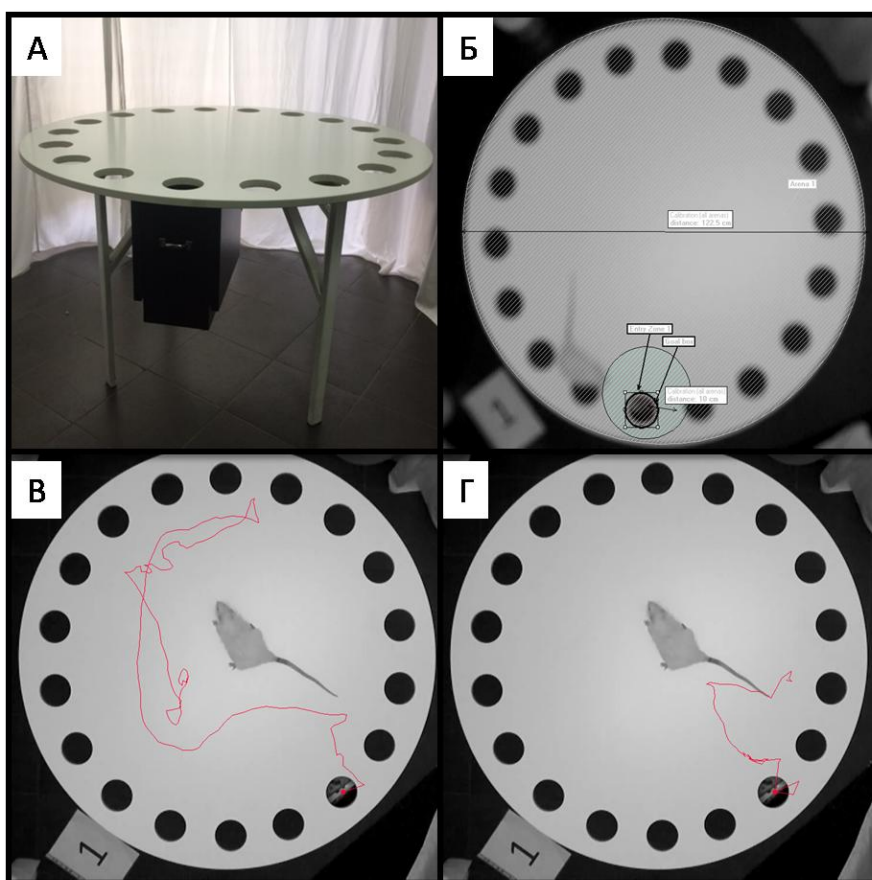
Слика 4. Апаратура за извођење теста вруће плоче.

### 3.3.1. Тест Барнсовог лавиринта (Барнсов тест)

Барнсов тест, уз Морисов тест воденог лавиринта, представља тест избора за процену когнитивних функција које се испитују кроз промене карактеристика просторног памћења (287). Тест је извођен у лавиринту облика круга (пречника 122.5 cm), са површином беле боје, уздигнито 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 30 x 15 x 15 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. 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 лавиринта). 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 лавиринт 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 5. Техника примењивана за извођење Барнсовог теста. А. Приказ лавиринта. Б. Приказ арене лавиринта са виртуелном поделом на одговарајуће зоне. В. Приказ пређене путање остварене током извођења теста у првом покушају након обраде у одговарајућем програму за анализу видео записа. Г. Приказ пређене путање остварене током извођења теста у другом покушају након обраде у одговарајућем програму за анализу видео записа.

### 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.

### **3.4. Биохемијске и лабораторијске анализе крви**

По завршетку бихевиоралног тестирања, животиње су, након анестезије (интраперитонеално примењена комбинација кетамина - 10 mg/kg телесне масе и ксилазина - 5 mg/kg телесне масе) жртвоване декапитацијом на гиљотини. Узорци крви су узимани у циљу спровођења биохемијских и лабораторијских анализа. 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: неуропептида Y (NPY), алфа-меланостимулишућег хормона ( $\alpha$ -MSH), кортизола и инсулина. Такође, у узорцима крви одређивана је концентрација глукозе (гликемија), као и вредност хематокрита (Hct). Након декапитације, истовремено са узимањем узорка крви, узорци мозданог ткива су пажљиво и брзо издвојени и припремљени за даљу хистолошку анализу, у циљу верификације промена изазваних примењеним третманима.

#### **3.4.1. Анализе хормона у серуму**

##### **3.4.1.1. Одређивање концентрације NPY**

Концентрације NPY у серуму су одређиване RIA (радиоимуноесеј) методом, на апарату Elecsys 2010, уз коришћење стандардних комерцијалних китова (NPY RIA kit, RK-049-03, Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Bunrlingame, USA). Концентрације NPY у серуму су изражаване у pg/ml. Сензитивност методе за NPY је била 69 pg/ml. Коефицијент интересеја за NPY је био 12 %, док је коефицијент интраесеја био 5 %, према упутству произвођача.

##### **3.4.1.2. Одређивање концентрације $\alpha$ -MSH**

Концентрације  $\alpha$ -MSH у серуму су одређиване RIA методом, на апарату Elecsys 2010, уз коришћење стандардних комерцијалних китова ( $\alpha$ -MSH RIA kit, RK-043-01, Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Bunrlingame, USA). Концентрације  $\alpha$ -MSH у серуму су изражаване у ng/ml. Сензитивност методе за  $\alpha$ -MSH је била 8.23 ng/ml. Коефицијент

интересеја за  $\alpha$ -MSH је био 15 %, док је коефицијент интраесеја био 7 %, према упутству произвођача.

#### **3.4.1.3. Одређивање концентрације кортизола**

Концентрације кортизола у серуму су одређиване RIA методом, на апарату Elecsys 2010, уз коришћење стандардних комерцијалних китова (CORT - СТ 2, CisBio Bioassays, Codolet, France). Концентрације кортизола у серуму су изражаване у ng/ml. Сензитивност методе за кортизол је била 2.39 ng/ml. Коефицијент интересеја за кортизол је био 5.7 %, док је коефицијент интраесеја био 5.3 %, према упутству произвођача.

#### **3.4.1.4. Одређивање концентрације инсулина**

Концентрације инсулина у серуму су одређиване ECLIA (електрохемилуминисценција) методом, на апарату Elecsys 2010, уз коришћење стандардних комерцијалних китова (12017547, Roche Diagnostics, Germany). Концентрације инсулина у серуму су изражаване у  $\mu$ U/ml. Сензитивност методе за инсулин је била 0.2  $\mu$ U/ml. Коефицијент интересеја за инсулин је био 2.5 %, док је коефицијент интраесеја био 1.9 %, према упутству произвођача.

#### **3.4.2. Одређивање концентрације глукозе у крви и вредности хематокрита**

Након декапитације животиње, приликом прикупљања крви у епрувете због одређивања концентрација хормона, из капи крви је одређивана вредност гликемије (ACCU-CHEK Advantage, Roche Diagnostics), и изражена у nmol/l. Истовремено, помоћу хепаринизованих капиларних цевчица, прикупљена је крв за одређивање вредности хематокрита (Hct, одређивана само у условима без калоријске рестрикције). Цевчице, по 3 за сваку животињу, су центрифугиране током 5 минута на 12000 обртаја

у центрифуги (НС-240, Tehnica, Србија), и након тога је вредност  $N_{ct}$  очитана на одговарајућем читачу.

### **3.4.3. Испитивање промена телесне масе**

Увид у промене антропометријских карактеристика је остварен кроз анализу промене телесне масе (% промене ТМ) након шест недеља третмана. Животињама је појединачно измерена телесна маса пре почетка спровођења хроничних протокола, као и након завршеног шестонедељног третмана (непосредно пред жртвовање, само код животиња без калоријске рестрикције). Промена телесне масе је представљена у процентима у односу на почетне вредности.

### **3.5. Имунохистохемија**

#### **Обрада ткива и припрема за бојење**

Целокупни мозак пацова је, након декапитације (одмах после брзог изоловања из коштане структуре лобање), сагиталним резом раздвојен на две хемисфере и фиксиран у 4% формалдехиду са неутралним рН. Волумен коришћеног фиксатива је био 10 пута већи од волумена ткива. Даља обрада ткива, дехидратација, испирање и импрегнација су извршени коришћењем ткивног процесора. Овако припремљено ткиво је укалупљено у парафинске блокове. Коронални пресеци можданог ткива дебљине 5  $\mu\text{m}$  су добијени сечењем помоћу микротоме (почев од 3.8 mm каудално од брегме). Добијени пресеци су потом нанешени на предметна стакла. На претходно загрејаним парафинским исечцима (45 минута у термостату на  $+56^{\circ}\text{C}$ ), је обављена депарафинизација потапањем у ксилол (3 пута по 5 минута). Рехидратација ткива је вршена 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.

## Бојење NPY имунореактивних неурона

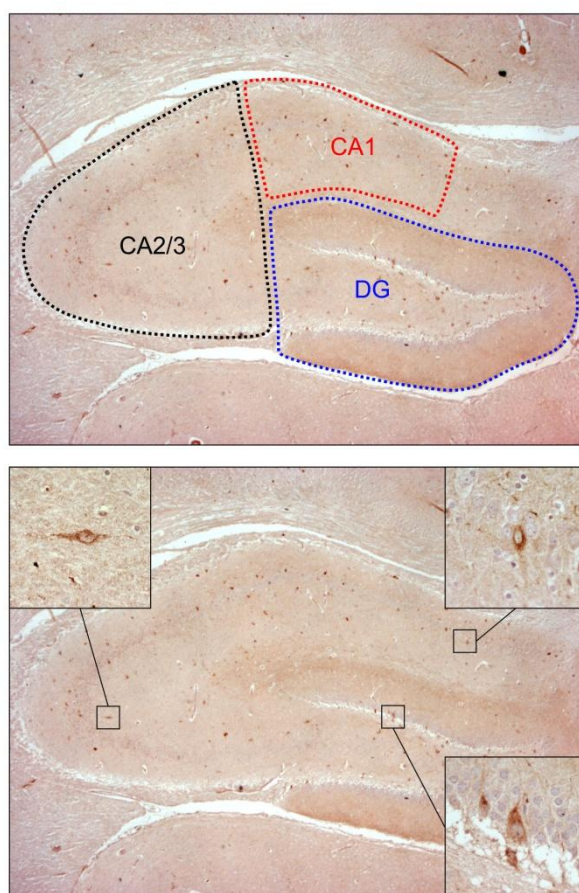
Процедура демаскирања антигена је обављена у цитратном пуферу (pH 6.0) у микроталасној пећници (21 минут на 800 W). Постепено хлађење је вршено потапањем посуде са пуфером у хладну воду у трајању од 40 минута, након чега су препарати испрани у PBS-у (*Phosphate Buffered Saline*) три пута. Помоћу 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> је блокирана активност ендogene пероксидазе током инкубације од 15 минута на собној температури. Неспецифично везивање је спречено комерцијалним протеинским блоком (*Novocastra, UK*), и препарати су три пута опрани у PBS-у (по 5 минута). Затим је на препарате наносен *Normal Goat 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) нанешено је примарно антитело *Rabbit monoclonal anti-NPY* (1:250, *AbD Serotec*), инкубација је обављена у влажној комори (на собној температури) током ноћи. Након инкубације и испирања у PBS-у (три пута по 5 минута), на препарате је наносено одговарајуће секундарно (*biotin-conjugated antirabbit*) антитело и инкубирано 45 минута на собној температури (разблажење 1:200), а потом *Streptavidin-Horseradish Peroxidase* (инкубирана 10 минута на собној температури). Након испирања 3 пута по 5 минута у PBS-у, наносен је *avidin-biotin-peroxidase* комплекс (разблажење 1:50 у PBS-у) уз инкубацију од 50 минута у влажној комори (на собној температури). После испирања у PBS-у (3 пута по 5 минута), апликовано је 100µl раствора DAB реагенса (*Peroxidase Detection System RE 7120-K, Novocastra, UK*) добијеног тако што је 50µl *DAB Chromagen*-а разблажено у 1 ml одговарајућег пуфера. Континуирано је анализирано развијање реакције под микроскопом, и након постизања жељеног ефекта, реакција је прекидана потапањем препарата у PBS. Након поновљеног испирања дестилованом водом (5 минута), ткивни исечци су бојени хематоксилином по *Mayer*-у (2 минута), а затим интензивно опрани текућом водом, и остављени у дестилованој води 5 минута. Потом је спроведен 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 након тога покровном љуспицом. Пре анализе, препарати су се сушили на собној температури 24 сата.

## Бојење MC4R имунореактивних неурона

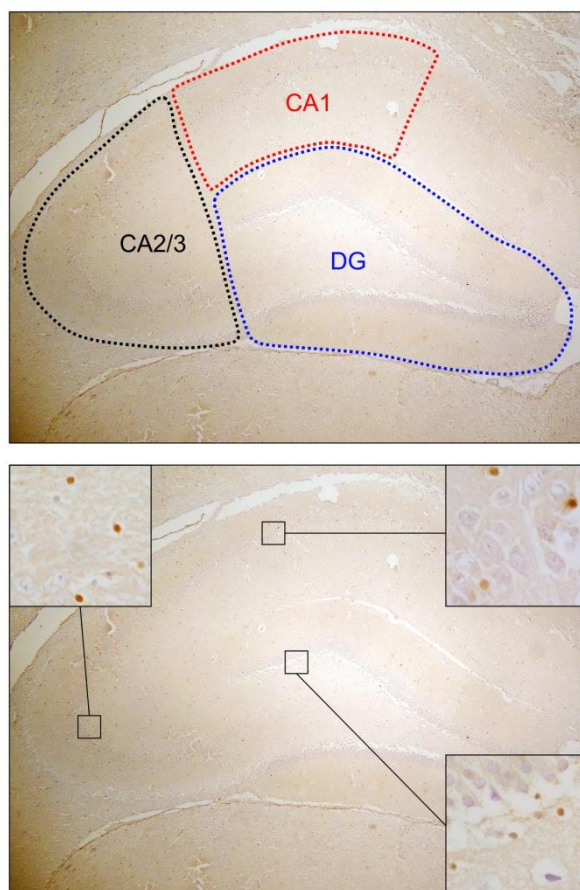
Имунохистохемијско бојење меланокортинског рецептора 4 (MC4) је изведено коришћењем *EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC Kit (ab80437, Abcam)* комплекта за детекцију по упутству произвођача. Након припреме препарата, депарафинизације и рехидратације које су изведене по претходно описаној процедури, 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 је након прања нанесено примарно антитело: *Anti-MC4 Receptor antibody (ab75506, Abcam)* у разблажењу 1:250. Примарно антитело је разблажено у *Antibody Diluent (003118, Thermo Fisher scientific)*. Након наношења антитела, препарати су стављени у влажну комору и инкубирани 24 сата на собној температури. Након инкубације, препарати су три пута испрани у PBS-у. 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. 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 30µl *DAB Chromogen* у 1,5 ml *DAB Substrate*. Развијање реакције DAB хромагена и пероксидазе је контролисано помоћу микроскопа и трајало је 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 24 сата.

## Анализа фотомикрографија

Бројање NPY и MC4R имунореактивних неурона у дорзалном хипокампусу (Слика 6 и Слика 7) је реализовано уз коришћење светлосног микроскопа (Carl Zeiss, Axioscop 40) на увеличању  $\times 60$ . 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 ( $1 \text{ mm}^2$ ) је израчунаван за сваки од наведених региона појединачно уз коришћење програма *ImageJ* (Rasband, W.S., *ImageJ*, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2016.).



**Слика 6. Имунохистохемијска експресија NPY позитивних интернеурона у хипокампусу пацова.** На горњем делу слике су представљени региони хипокампуса у којима је вршено одређивање броја NPY интернеурона. На доњем делу слике су представљени појединачни NPY позитивни интернеурони из различитих региона хипокампуса (са одговарајућим увеличањем).



**Слика 7. Имунохистохемијска експресија MC4R позитивних интернеурона у хипокампусу пацова.** На горњем делу слике су представљени региони хипокампуса у којима је вршено одређивање броја MC4R интернеурона. На доњем делу слике су представљени појединачни MC4R позитивни интернеурони из различитих региона хипокампуса (са одговарајућим увеличањем).

Обзиром да у литератури постоје подаци о различитој регионалној дистрибуцији NPY имунореактивних неурона (288), као и MC4R имунореактивних неурона (289), уз добро познате податке из литературе да поједини региони хипокампуса учествују у контроли специфичних бихевиоралних манифестација, након утврђивања броја NPY и MC4R имунореактивних неурона, приступило се одређивању квантитативног односа између NPY и MC4R позитивних ћелија, који је нумерички изражен је као NPY/MC4R индекс.



### 3.6. 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 *Shapir Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3. За тестирање разлика између група, за испитиване параметре, коришћене су једнофакторска, двофакторска и/или мултифакторска анализа варијансе са одговарајућом *post hoc* анализом.
4. Испитивање величине ефеката појединих фактора је урађено уз примену *General Linear* модела (*univariate*).
5. Модел линеарне (*simple*) регресије је коришћен за анализу повезаности параметара добијених применом различитих метода.
6. Статистичка обрада података је вршена у статистичком пакету *SPSS 18.0 for Windows*.

## **4. РЕЗУЛТАТИ**

## 4.1. Бихевиорални тестови

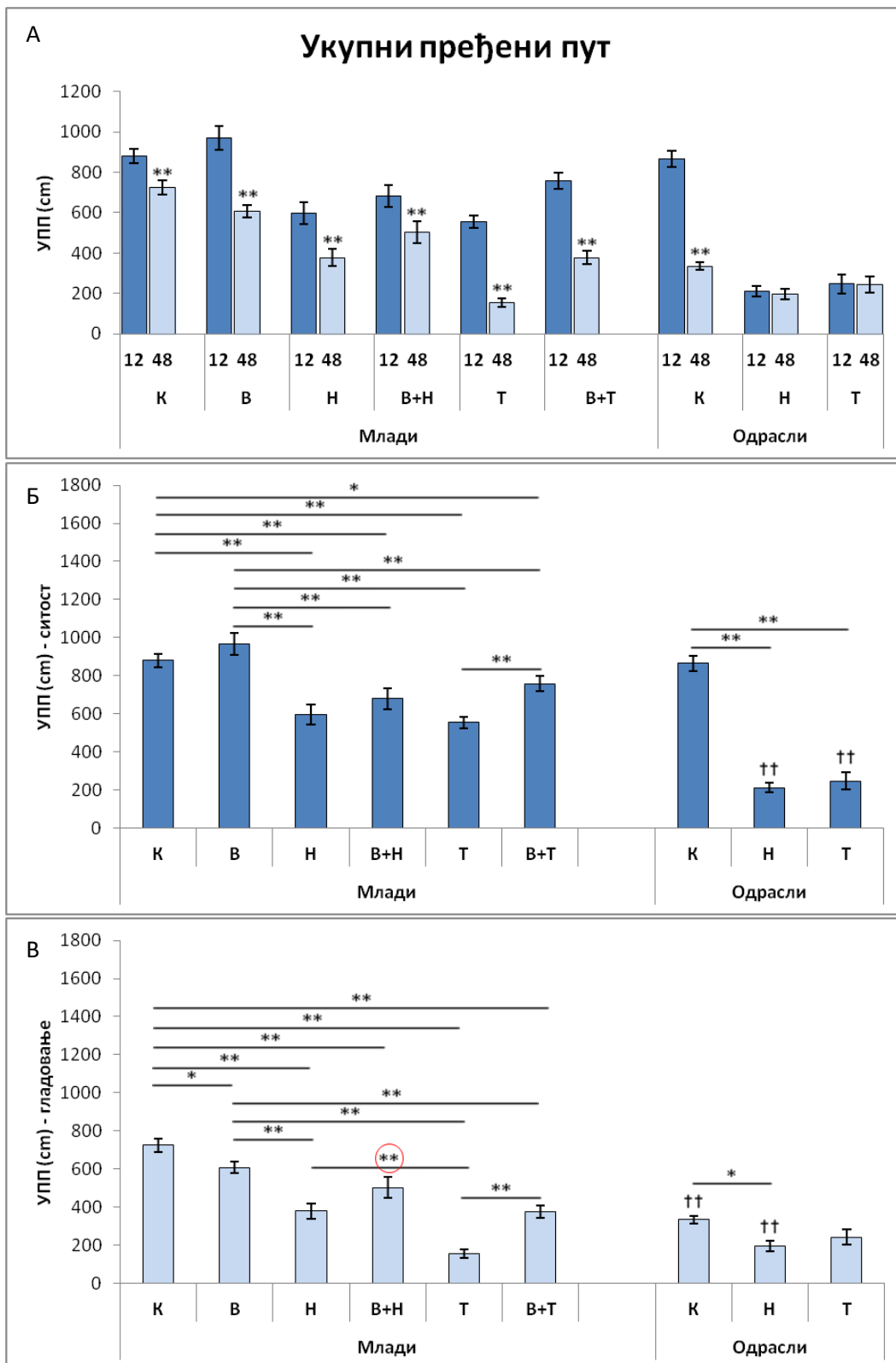
### 4.1.1. Тест отвореног поља (ОП тест)

#### 4.1.1.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на промене вредности укупног пређеног пута (УПП) у тесту отвореног поља узроковане рестрикцијом уноса хране

Као што је представљено на Слици 4.1.А, гладовање је доводило до значајних промена у величини укупног пређеног пута у тесту отвореног поља ( $F=41.335$ ,  $df=17$ ). Статистички значајно смањење УПП ( $p<0.01$ ) је уочено у свим групама код младих животиња, док је код одраслих животиња гладовање довело до смањења вредности овог параметра само у контролној групи. Одрасле животиње третиране анаболичким стероидима нису показале смањење УПП.

Шестонедељна примена анаболичких стероида је довела до значајног ( $p<0.01$ ) смањења УПП код животиња обе старосне категорије у условима који нису подразумевали рестрикцију уноса хране (Слика 4.1.Б). Иако протокол физичке активности није повећавао УПП у поређењу са контролном групом, пролонгирана физичка активност је доводила до смањења негативног ефекта анаболика на УПП (статистички значајно код тестостерона,  $p<0.01$ ). Старење у контролним условима није доводило до значајне промене вредности УПП. Хронична примена анаболика је узроковала статистички значајно веће смањење УПП ( $p<0.01$ ) код одраслих животиња у поређењу са младим.

Рестрикција хране (Слика 4.1.В) је доводила до додатног смањења УПП након дуготрајне примене оба анаболичка стероида ( $p<0.01$ ), при чему је хронична примена ТЕ узроковала значајно веће скраћење УПП у поређењу са НД ( $p<0.01$ ). Негативни ефекат анаболика се уочавао и у комбинованим групама ( $p<0.01$ ), па су нешто веће вредности УПП (статистички значајно повећање код тестостерона) и даље биле значајно мање него у контролној групи, ( $p<0.01$ ). Смањење вредности УПП изазвано применом НД се уочавало и код одраслих животиња ( $p<0.05$ ), док тестостероном изазвано смањење УПП код одраслих животиња није било статистички значајно. Вредност УПП, у условима гладовања, код одраслих животиња је била значајно мања ( $p<0.01$ ) у поређењу са младим, за разлику од околности без рестрикције уноса хране.



**Слика 4.1. Утицај различитих фактора на укупни пређени пут (cm) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

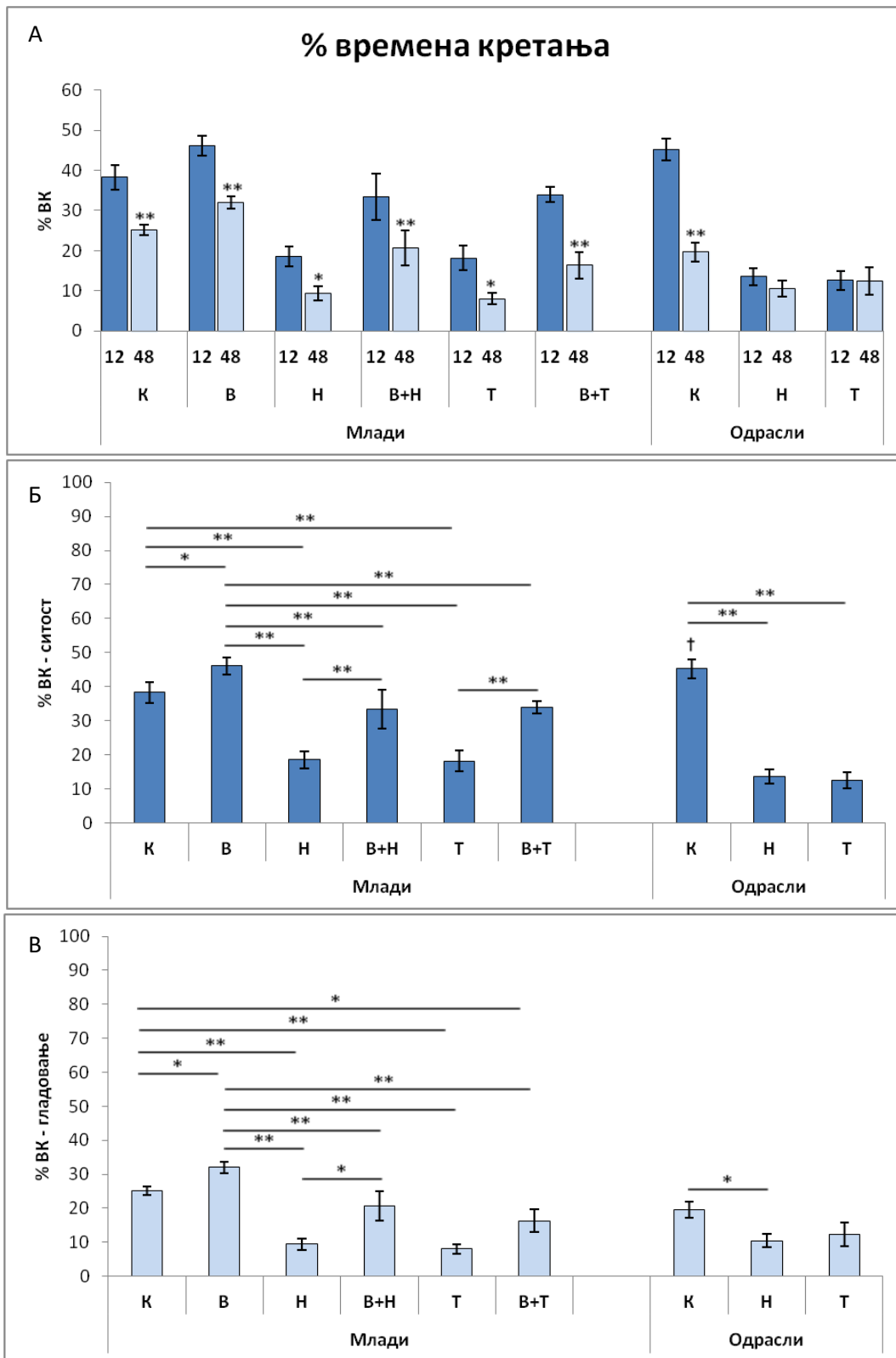
Као што је приказано у Табели 4.1., сви фактори чији је ефекат испитиван у овој студији су имали значајан утицај на вредност УПП. Старење, гладовање, као и оба анаболичка стероида су имали јак негативан ефекат на УПП, док је позитиван утицај вежбања био слабијег интензитета. Највећи (негативан) ефекат на вредност УПП је имала рестрикција уноса хране ( $\eta^2 = 0.213$ ). Анализа здружених ефеката различитих фактора је показала да је највеће смањење вредности УПП настало као последица интеракције ТЕ, старења и гладовања ( $\eta^2 = 0.065$ ).

**Табела 4.1. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни пређени пут у тесту отвореног поља**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,133	↓↓↓ 0,183	↑↑ 0,032	↓↓↓ 0,11	↓↓↓ 0,213
Интеракције између фактора	Н x Г	Т x В	Т x С x Г		
	↓↓ 0,046	↓ 0,022	↓↓ 0,065		

#### 4.1.1.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на проценат времена кретања (% ВК) у тесту отвореног поља узроковане рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна рестрикција уноса хране је доводила до промене процента времена кретања у ОП тесту у свим експерименталним групама са младим животињама (Слика 4.2.А), као и контролним групама обе старосне категорије ( $F=21.432$ ,  $df=17$ ). Примењена калоријска рестрикција није утицала на промену овог параметра једино код одраслих животиња третираних са ААС. Оба примењена анаболичка стероида су доводила до значајног смањења % ВК (Слика 4.2.Б) код младих као и код одраслих пацова ( $p<0.01$ ). Шестонедељни програм физичке активности је повећавао мобилност животиња током петоминутног ОП теста у поређењу са контролном групом ( $p<0.05$ ). Статистички значајно повећање % ВК узроковано пролонгираним тренажним процесом се уочавало и у групама са симултаном администрацијом анаболичких стероида у поређењу са групама које су третиране са ААС у седентерним условима ( $p<0.01$ ). Такође, у контролним условима (без рестрикције уноса хране), одрасле животиње су показивале значајно већу мобилност у ОП тесту, у односу на младе ( $p<0.05$ ). Примењени протоколи су имали врло сличне ефекте на % ВК и у условима након краткотрајног гладовања (Слика 4.2.В). Хронични третман анаболицима, у седентерним условима, је након рестрикције уноса хране доводио до значајног смањења % ВК ( $p<0.01$ ) код младих животиња. Овај ефекат је код одраслих пацова примећен једино код животиња третираних НД ( $p<0.05$ ). Физичка активност је и у условима гладовања повећавала мобилност животиња у ОП тесту у поређењу са контролом ( $p<0.05$ ). Такође, истовремено спровођење хроничног тренажног процеса и третмана анаболицима је доводило до значајног повећања % ВК у нандролонској групи ( $p<0.05$ ) у поређењу са седентерним животињама третираним нандролом-деканоатом. Истовремено, комбинована примена ТЕ и пролонгираног вежбања није значајно умањила негативан утицај ТЕ на % ВК, па је мобилност животиња и даље била значајно мања у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Гладовање, примена анаболичких стероида, као и пролонгирани тренажни процес, имали су значајан утицај на % ВК у ОП тесту (Табела 4.2.). Величина ефекта старења није била значајна, а пролонгирана физичка активност је имала веома јак (позитиван) ефекат на % ВК. Интензитет ефекта који је остварила рестрикција калоријског уноса био је сличан величини ефекта који је имала примена ТЕ ( $\eta^2=0.0157$  и  $0.0156$ ), док је (негативан) ефекат примене НД на % ВК био мањи од ТЕ. Није постојала интеракција између различитих испитиваних фактора.



Слика 4.2. Утицај различитих фактора на проценат времена кретања (% BK) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - †  $p < 0.05$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.2. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат времена кретања у тесту отвореног поља**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,129	↓↓↓ 0,156	↑↑↑ 0,1	< 0,001	↓↓↓ 0,157



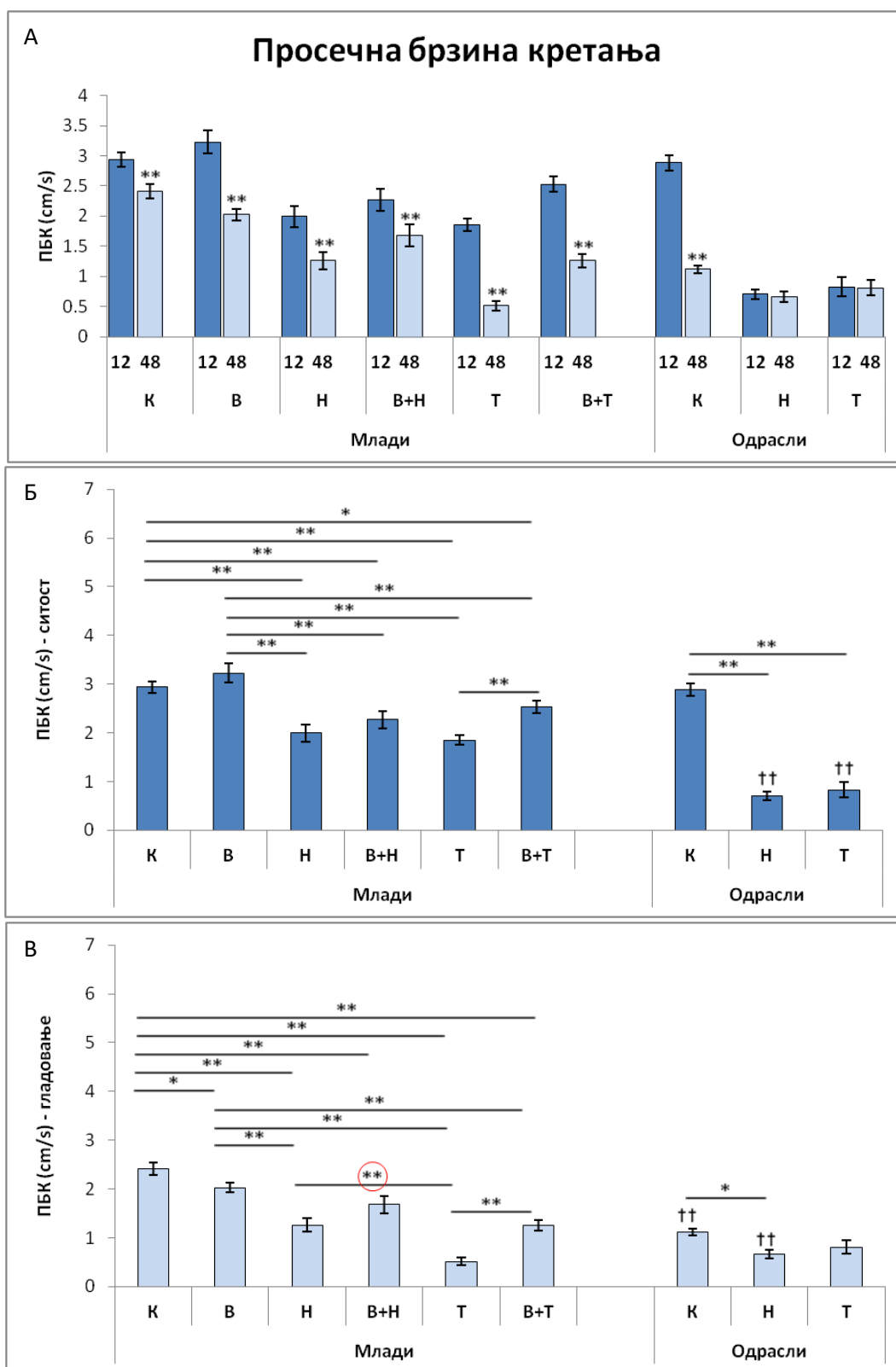
#### 4.1.1.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на промене вредности просечне брзине кретања (ПБК) у тесту отвореног поља узроковане рестрикцијом уноса хране

Рестрикција уноса хране је значајно утицала на промену просечне брзине кретања (ПБК) у ОП тесту ( $F=41.335$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.3А. Гладовање је значајно смањивало ПБК у свим групама ( $p<0.01$ ), осим код одраслих животиња третираних анаболичким стероидима.

Хронична примена ААС је довела до значајног смањења ПБК ( $p<0.01$ ) код младих, као и код одраслих пацова (Слика 4.3.Б). Иако пролонгирана физичка активност није значајно променила ПБК у односу на контролну групу, у поређењу са комбинованим групама постоји статистички значајно смањење ПБК узроковано применом ААС ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат вежбања у комбинованим групама је показан кроз статистички значајно повећање ПБК ( $p<0.01$ ) у поређењу са групом којој је хронично апликован ТЕ. Старење није доводило до промена ПБК у контролним условима, за разлику од хроничне примене ААС која је код одраслих животиња значајно смањивала ПБК ( $p<0.01$ ).

У условима краткотрајног гладовања након шестонедељног третмана ААС (Слика 4.3.В), сви наведени третмани су доводили до значајног смањења вредности овог параметра код младих животиња, при чему је редукција ПБК била нарочито изражена након хроничне администрације супрафизиолошких доза ААС ( $p<0.01$ ). Највеће смањење вредности ПБК је уочено код седентерних животиња (50% код НД и 75% код ТЕ), уз напомену да је администрација ТЕ узроковала значајно смањење ПБК чак и у односу на НД ( $p<0.01$ ). ААС су смањивали ПБК (статистички значајно за НД,  $p<0.05$ ). Нандролоном изазвано смањење ПБК код одраслих пацова је било статистички значајно веће у поређењу са младим животињама ( $p<0.01$ ).

Као што је приказано у Табели 4.3., сви фактори чији се ефекат манифестовао након спроведених протокола у овој студији су имали значајан утицај на промену вредности ПБК. Старење, гладовање, НД и ТЕ су имали јак негативан ефекат на ПБК, док је позитиван утицај вежбања био слабијег интензитета. Највећи (негативан) ефекат на вредност ПБК је имала рестрикција уноса хране ( $\eta^2 = 0.213$ ). Највеће смањење вредности ПБК је узроковано кроз интеракцију примене ТЕ, старења и гладовања ( $\eta^2 = 0.065$ ).



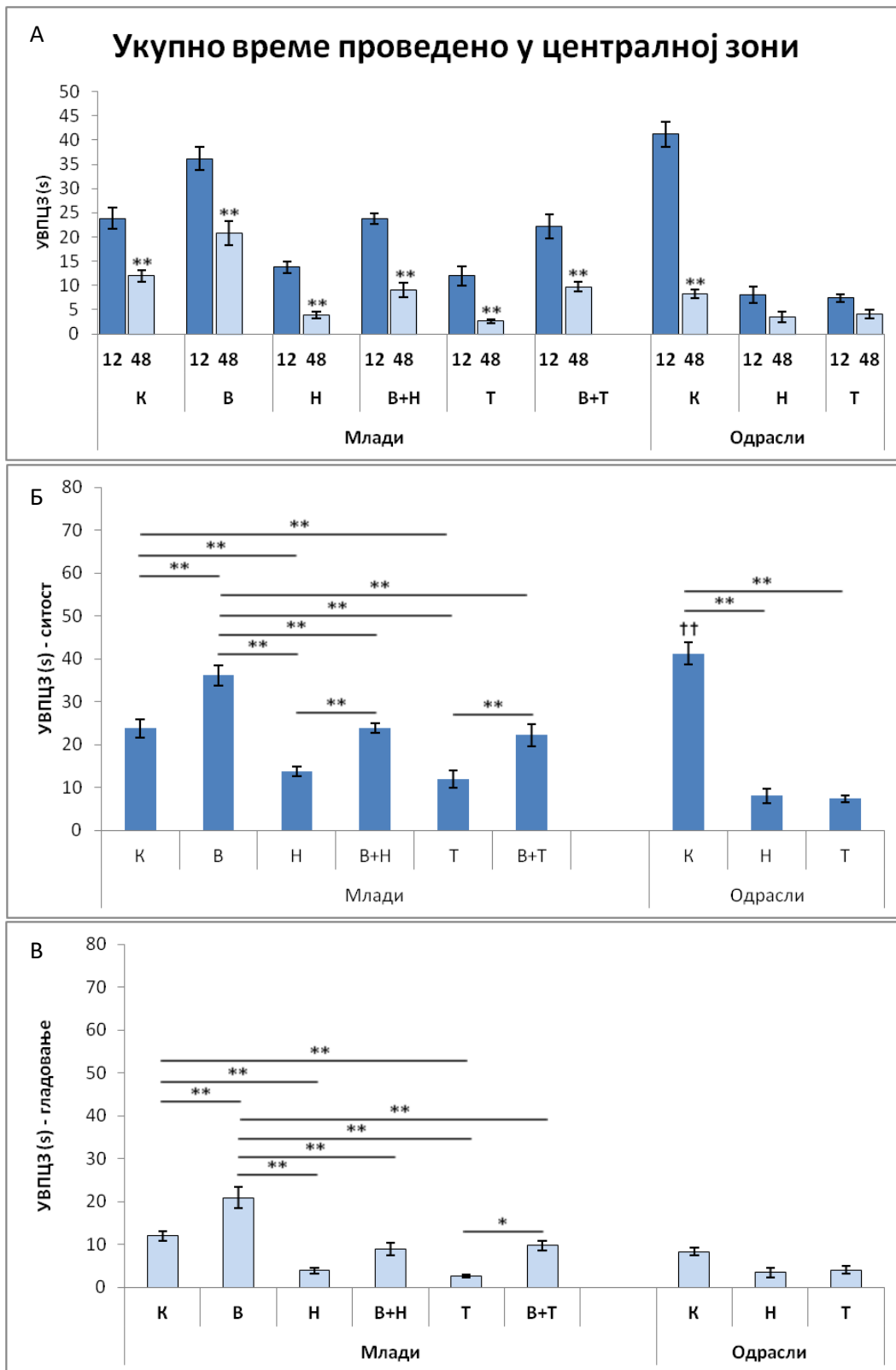
**Слика 4.3.** Утицај различитих фактора на просечну брзину кретања (cm/s) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.3. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на просечну брзину кретања у тесту отвореног поља**

Појединачни фактори	Надролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		↓↓↓ 0,133	↓↓↓ 0,183	↑↑ 0,032	↓↓↓ 0,11
Интеракције између фактора	Н x Г	Т x В	Т x С x Г		
	↓↓ 0,046	↓ 0,022	↓↓ 0,065		

#### 4.1.1.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену укупног времена проведеног у централној зони (УВПЦЗ) у тесту отвореног поља узроковане рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна рестрикција калоријског уноса након примењених шестонедељних протокола је довела до промене укупног времена проведеног у централној зони (УВПЦЗ) у ОП тесту у свим експерименталним групама у категорији младих животињама (Слика 4.4.А), као и контролним групама обе старосне категорије ( $F=37.593$ ,  $df=17$ ). Примена супрафизиолошких доза НД-а, као и ТЕ-а, није утицала на промену вредности УВПЦЗ код одраслих животиња. На Слици 4.4.Б је представљено УВПЦЗ у условима без калоријске рестрикције. Хронична примена супрафизиолошких доза анаболичких стероида је доводила до значајног смањења УВПЦЗ код младих, као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ). Ефекат пролонгираног тренажног процеса, у виду значајног повећања УВПЦЗ у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ), био је очигледан и у групама које су имале симултану администрацију одговарајућег ААС-а и тренажног процеса, кроз значајно повећање вредности овог параметра у односу на седентерну групу којој је апликован анаболички стероид ( $p<0.01$ ). Старење је доводило до значајног повећања УВПЦЗ у контролним условима ( $p<0.01$ ). У условима краткотрајне калоријске рестрикције, примењене дозе анаболичких стероида су доводиле до значајног смањења УВПЦЗ од младих животиња ( $p<0.01$ ), док код одраслих пацова овакав протокол није доводио до промена вредности УВПЦЗ у односу на контролну групу (Слика 4.4.В). Пролонгирана физичка активност је, у условима краткотрајне калоријске рестрикције, доводила до значајног повећања УВПЦЗ у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Група са симултаном применом ТЕ-а и пролонгираним тренажним процесом је имала значајно веће УВПЦЗ у односи на групу којој је самостално апликован ТЕ ( $p<0.05$ ), док овакав ефекат није забележен код примене НД-а. У Табели 4.4. представљене је величине ефеката који су различити фактори остварили на УВПЦЗ у ОП тесту. Примена анаболичких стероида имала је јак негативан утицај на УВПЦЗ ( $\eta^2=0.151$  за НД;  $\eta^2=0.174$  за ТЕ), док је пролонгирани тренажни процес у овој студији остварио велики позитиван ефекат на УВПЦЗ ( $\eta^2=0.107$ ). Ипак, најјачи (негативни) ефекат имала је рестрикција калоријског уноса ( $\eta^2=0.265$ ). Старење није показало значајан ефекат на УВПЦЗ. Здружени ефекти анаболичких стероида и рестрикције уноса хране имали су значајан утицај на промену вредности овог параметра, при чему је ТЕ у комбинацији са гладовањем имао већи утицај на УВПЦЗ у односу на НД.



**Слика 4.4.** Утицај различитих фактора на укупног времена provedеног у централној зони (УВПЦЗ) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.4. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупног времена проведеног у централној зони (УВПЦЗ) у тесту отвореног поља**

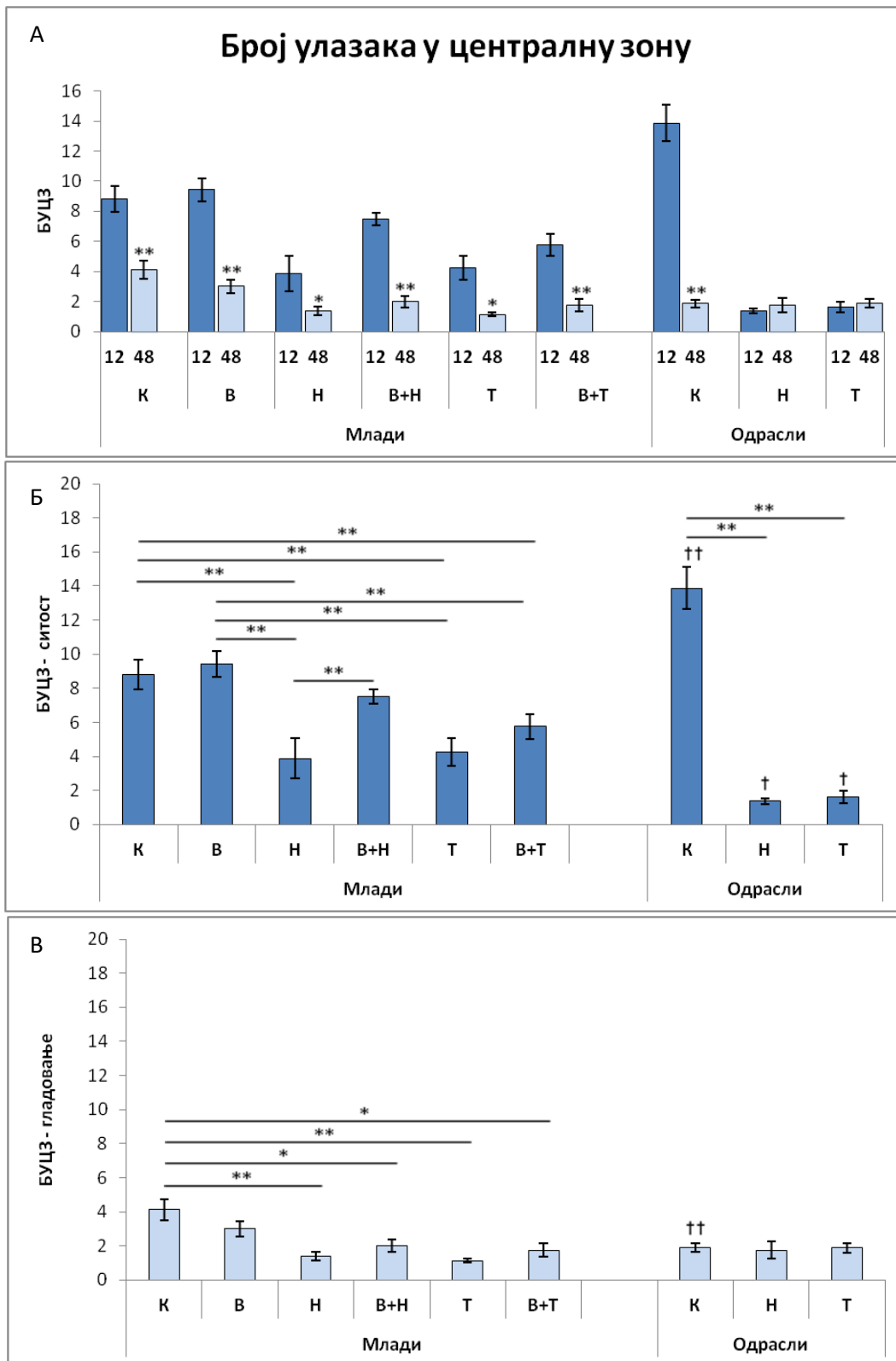
Појединачни фактори	Надролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		↓↓↓ 0,151	↓↓↓ 0,174	↑↑↑ 0,107	< 0,001
Интеракције између фактора	Н x Г	Т x Г	Н x С x Г	Т x С x Г	
	↓ 0,027	↓↓ 0,046	↓ 0,027	↓↓ 0,031	

#### 4.1.1.5. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену броја улазака у централну зону (БУЦЗ) у тесту отвореног поља узроковане рестрикцијом уноса хране

Број улазака у централну зону (БУЦЗ) у ОП тесту се значајно разликовао између група под утицајем примењених протокола ( $F=28.013$ ,  $df=17$ ). На Слици 4.5.А је представљен утицај краткотрајне рестрикције уноса хране након хроничног третмана супрафизиолошким дозама ААС-а и пролонгираног тренажног процеса. Гладовање је доводило до значајног смањења БУЦЗ у свим контролним и експерименталним групама, осим код одраслих животиња којима је хронично примењиван НД или ТЕ. Седентерне групе младих животиња којима је самостално апликован НД или ТЕ оствариле су значајно смањење БУЦЗ под утицајем гладовања ( $p<0.05$ ), док су остале испитиване групе оствариле веће смањење у вредности овог параметра након примењеног режима краткотрајне калоријске рестрикције ( $p<0.01$ ).

Слика 4.5.Б приказује вредности БУЦЗ у условима без калоријске рестрикције. Значајно смањење БУЦЗ је забележено код група којима је хронично примењивана супрафизиолошка доза НД-а или ТЕ-а, у обе старосне категорије ( $p<0.01$ ). Пролонгирана физичка активност није доводила до промене БУЦЗ у односу на контролну групу, али је позитиван ефекат вежбања (потврђен кроз смањење негативног утицаја НД-а) забележен у комбинованој нандролонској групи ( $p<0.01$ ). У контролним условима, старење је доводило до значајног повећања БУЦЗ ( $p<0.01$ ), док је хронична администрација ААС-а остварила значајно смањење БУЦЗ код одраслих животиња у поређењу са младим ( $p<0.01$ ).

Краткотрајна калоријска рестрикција је утицала на промену вредности БУЦЗ након примењених хроничних протокола, као што је представљено на Слици 4.5.В. Статистички значајно смањење вредности БУЦЗ је остварено након хроничне администрација супрафизиолошких доза ААС-а, самостално ( $p<0.01$ ) или у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом ( $p<0.05$ ), у односу на контролну групу. У контролној групи одраслих животиња, гладовање је значајно умањило БУЦЗ, док овакав ефекат није уочен код одраслих животиња третираних анаболичким стероидима.



**Слика 4.5.** Утицај различитих фактора на број улазака у централну зону (БУЦЗ) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.



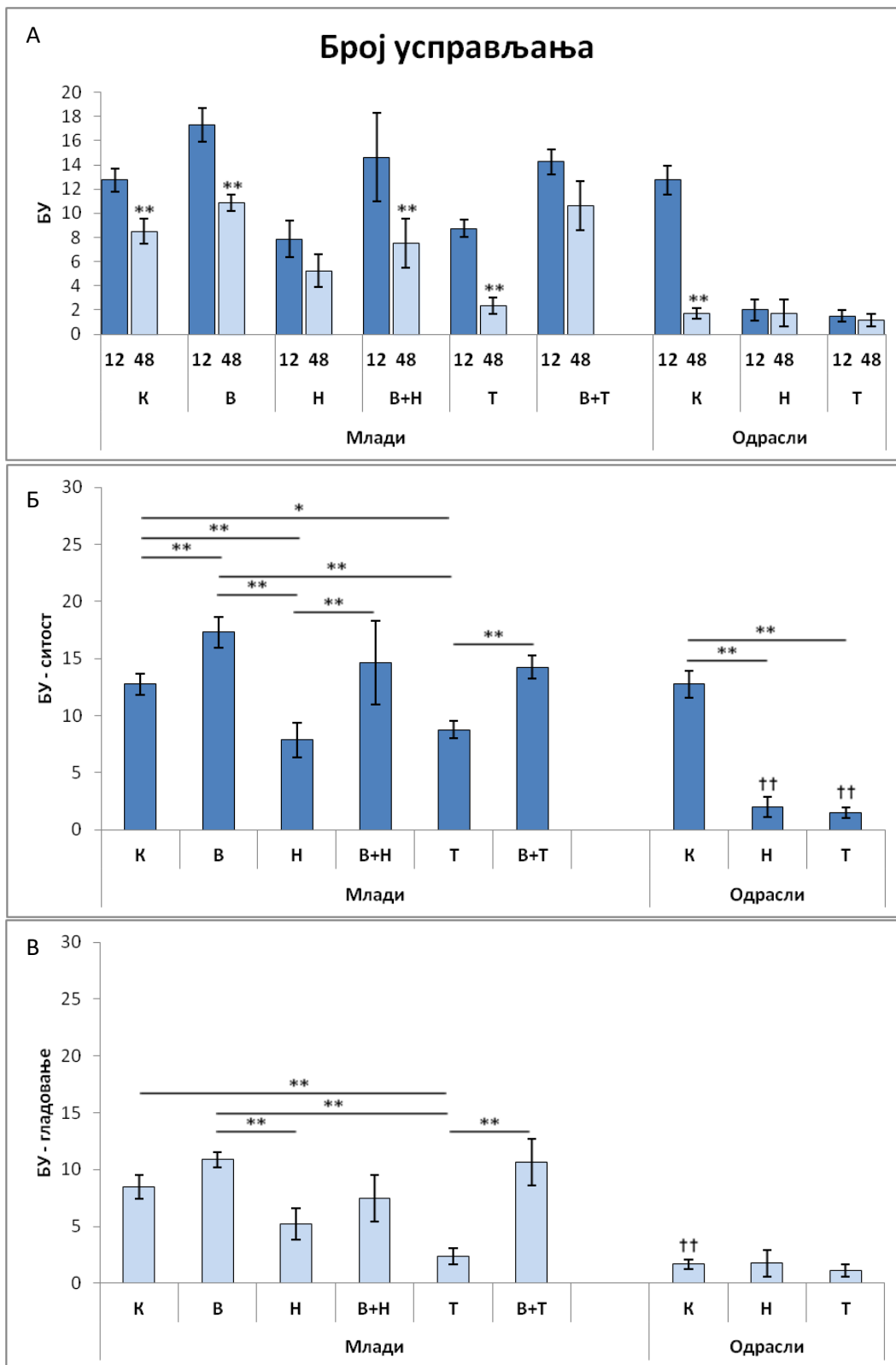
Табела 4.5. приказује величине ефеката испитиваних фактора на БУЦЗ у ОП тесту. Негативан ефекат на БУЦЗ имала је примена НД ( $\eta^2=0.09$ ), као и примена ТЕ ( $\eta^2=0.119$ ). Најјачи (негативан) ефекат је остварен код калоријске рестрикције ( $\eta^2=0.232$ ), док је пролонгирани тренажни процес у овој студији имао позитиван утицај на БУЦЗ ( $\eta^2=0.011$ ). Старење није остварило значајан ефекат на БУЦЗ самостално, али је у комбинацији са примењеним анаболичким стероидима и калоријском рестрикцијом постојала значајна интеракција поменутих фактора.

**Табела 4.5. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број улазака у централну зону (БУЦЗ) у тесту отвореног поља**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		↓↓ 0,09	↓↓↓ 0,119	↑ 0,011	< 0,001
Интеракције између фактора	Н x Г	Т x Г	Н x С x Г	Т x С x Г	
	↓↓ 0,052	↓↓ 0,068	↓↓ 0,031	↓↓ 0,037	

#### 4.1.1.6. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену броја усправљања (БУ) у тесту отвореног поља узроковане рестрикцијом уноса хране

На Слици 4.6.А приказана је промена броја усправљања (БУ) под утицајем краткотрајног гладовања ( $F=16.894$ ,  $df=17$ ). Калоријска рестрикција је доводила до смањења БУ у контролним условима код животиња обе старосне групе ( $p<0.01$ ). Након гладовања, групе са пролонгираним тренажним протоколом су показале значајно смањење БУ ( $p<0.01$ ), осим комбиноване тестостеронске групе код које је, такође, показано смањење БУ које није било статистички значајно. Код младих животиња, краткотрајна рестрикција уноса хране је након хроничне примене ТЕ-а доводила до значајног смањења БУ ( $p<0.01$ ), док код примене НД-а статистички значајно смањење није постојало. У условима без калоријске рестрикције (Слика 4.6.Б), показано је да је примена шестонедељних протокола администрације ААС-а остварила значајно смањење БУ код младих, као и код одраслих пацова ( $p<0.01$ ). Пролонгирана физичка активност је значајно повећала БУ у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат физичке активности је потврђен и кроз статистички значајно повећање БУ у комбинованим групама у односу на седентерне групе третиране анаболичким стероидима ( $p<0.01$ ). Старење у контролним условима није испољило ефекат на БУ, док је статистички значајно смањење БУ опсервирано у групама одраслих животиња третираних ААС-а, у односу на младе ( $p<0.01$ ). Негативан ефекат калоријске рестрикције на БУ након примењених хроничних протокола (Слика 4.6.В) је био забележен код одраслих животиња у контролним условима ( $p<0.01$ ), док је у овој старосној групи ефекат гладовања изостао у групама третираним ААС-а. Смањење БУ у групама третираним ААС-а је било статистички значајно у групи која је добијала ТЕ ( $p<0.01$ ), док су оба анаболика показала статистички значајно смањење у односу на групу која је имала хронични протокол вежбања ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат вежбања је забележен и кроз значајно повећање БУ у комбинованој у односу на седентерну групу којој је апликован ТЕ ( $p<0.01$ ). Величина ефекта који су поједини фактори остварили на БУ је приказана у Табели 4.6. Гладовање је остварило најјачи негативан ефекат на БУ у ОП тесту ( $\eta^2=0.154$ ), док је ефекат старења ( $\eta^2=0.0905$ ) и примењених анаболика (ТЕ,  $\eta^2=0.055$ ; НД,  $\eta^2=0.06$ ) био слабијег интензитета. Вежбање је током пролонгираног протокола код животиња остварило јак позитиван ефекат ( $\eta^2=0.126$ ) на БУ. Заједнички ефекат примене ТЕ-а и калоријске рестрикције, у смањењу БУ у ОП тесту, је био значајног интензитета.



**Слика 4.6. Утицај различитих фактора на број усправљања (БУ) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.6. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број усправљања (БУ) у тесту отвореног поља**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓ 0,06	↓↓ 0,055	↑↑↑ 0,126	↓↓ 0,0905	↓↓↓ 0,154
Интеракције између фактора	Т x Г				
	↓ 0,025				

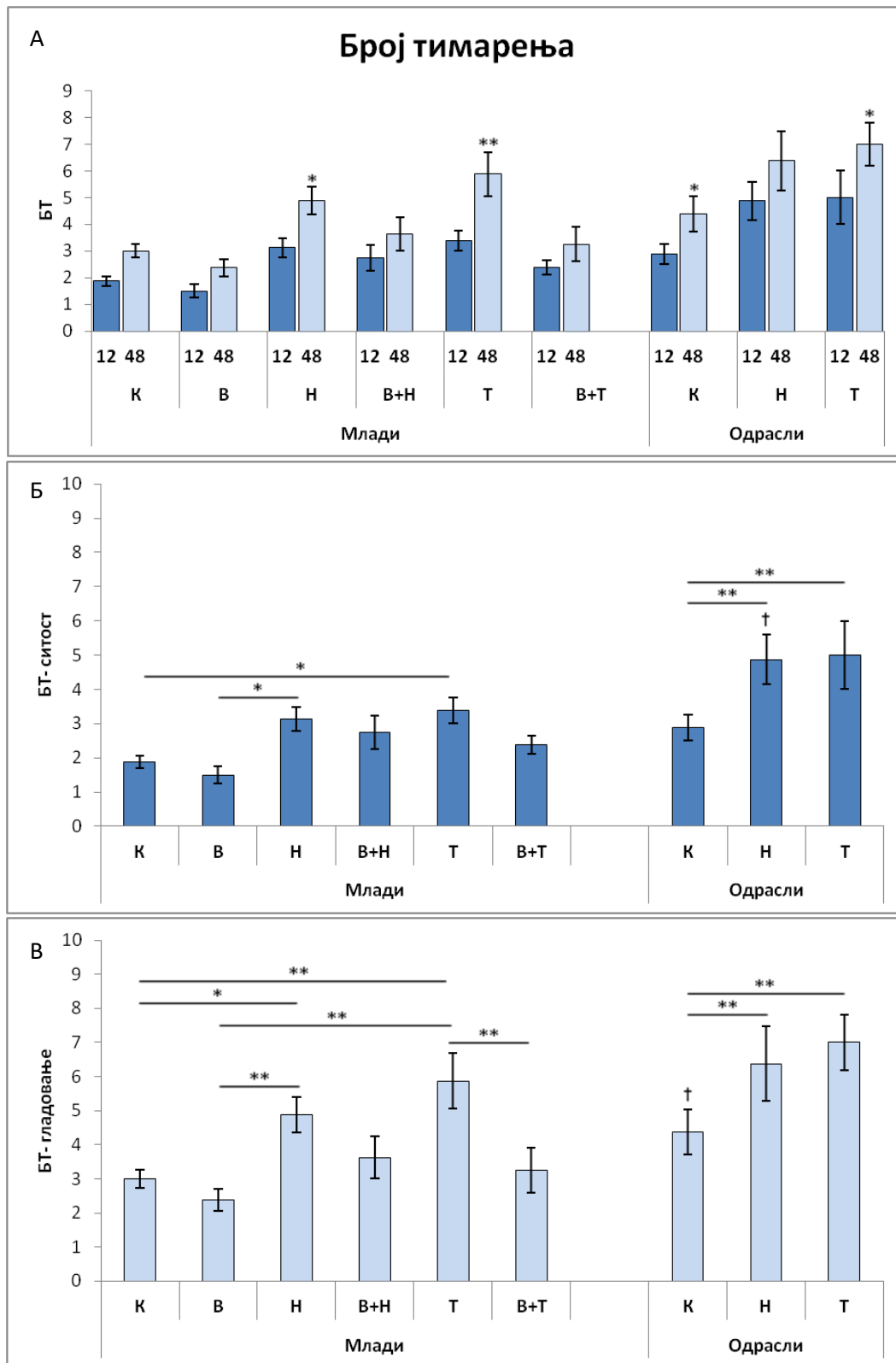
#### 4.1.1.7. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену броја тимарења (БТ) у тесту отвореног поља узроковану рестрикцијом уноса хране

Број тимарења (БТ) је био значајно промењен ( $F=8.308$ ,  $df=17$ ) под утицајем гладовања (Слика 4.7.А). У контролним условима, одрасле животиње су показивале значајно повећање БТ након краткотрајног гладовања ( $p<0.05$ ). Седентерне животиње третиране ТЕ-ом показале су значајно повећање БТ након гладовања ( $p<0.01$  код младих и  $p<0.05$  код одраслих), док је статистички значајно повећање БТ код пацова третираних НД-ом забележено једино код младих ( $p<0.05$ ).

У условима без рестрикције калоријског уноса (Слика 4.7.Б), пролонгирана администрација супрафизиолошких доза ААС-а је доводила до повећања БТ код одраслих животиња ( $p<0.01$ ), док је у категорији младих статистички значајно повећање БТ забележено једино након примене ТЕ-а ( $p<0.05$ ). Старење, у контролним условима, није значајно променило БТ, док је примена ААС повећала БТ код одраслих животиња (статистички значајно код примене ТЕ-а,  $p<0.05$ ).

Краткотрајна калоријска рестрикција након хроничног третмана анаболичким стероидима (Слика 4.7.В), значајно је повећала БТ код животиња обе старосне групе ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат вежбања је представљен кроз статистички значајну разлику у односу на групу којој је хронично апликован НД ( $p<0.01$ ), као и кроз значајно повећање БТ у комбинованој тестостеронској у односу на седентерну групу ( $p<0.01$ ). Након краткотрајног гладовања, контролна група старих животиња је показала статистички значајно смањење БТ у односу на младе животиње ( $p<0.05$ ).

У процени величине утицаја испитиваних фактора на БТ у ОП тесту, показано је да је калоријска рестрикција остварила најјачи негативни ефекат ( $\eta^2=0.092$ ), као што је представљено у Табели 4.7. Старење и примењени ААС имали су, такође, негативан утицај на БТ. Пролонгирани тренажни протокол је испољио умерен (позитиван) утицај на БТ ( $\eta^2=0.041$ ).



**Слика 4.7. Утицај различитих фактора на број тимарења (БТ) у тесту отвореног поља код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.7. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број тимарења (БТ) у тесту отвореног поља**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↑↑ 0,052	↑↑ 0,073	↓↓ 0,041	↑↑ 0,0695	↑↑ 0,092

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

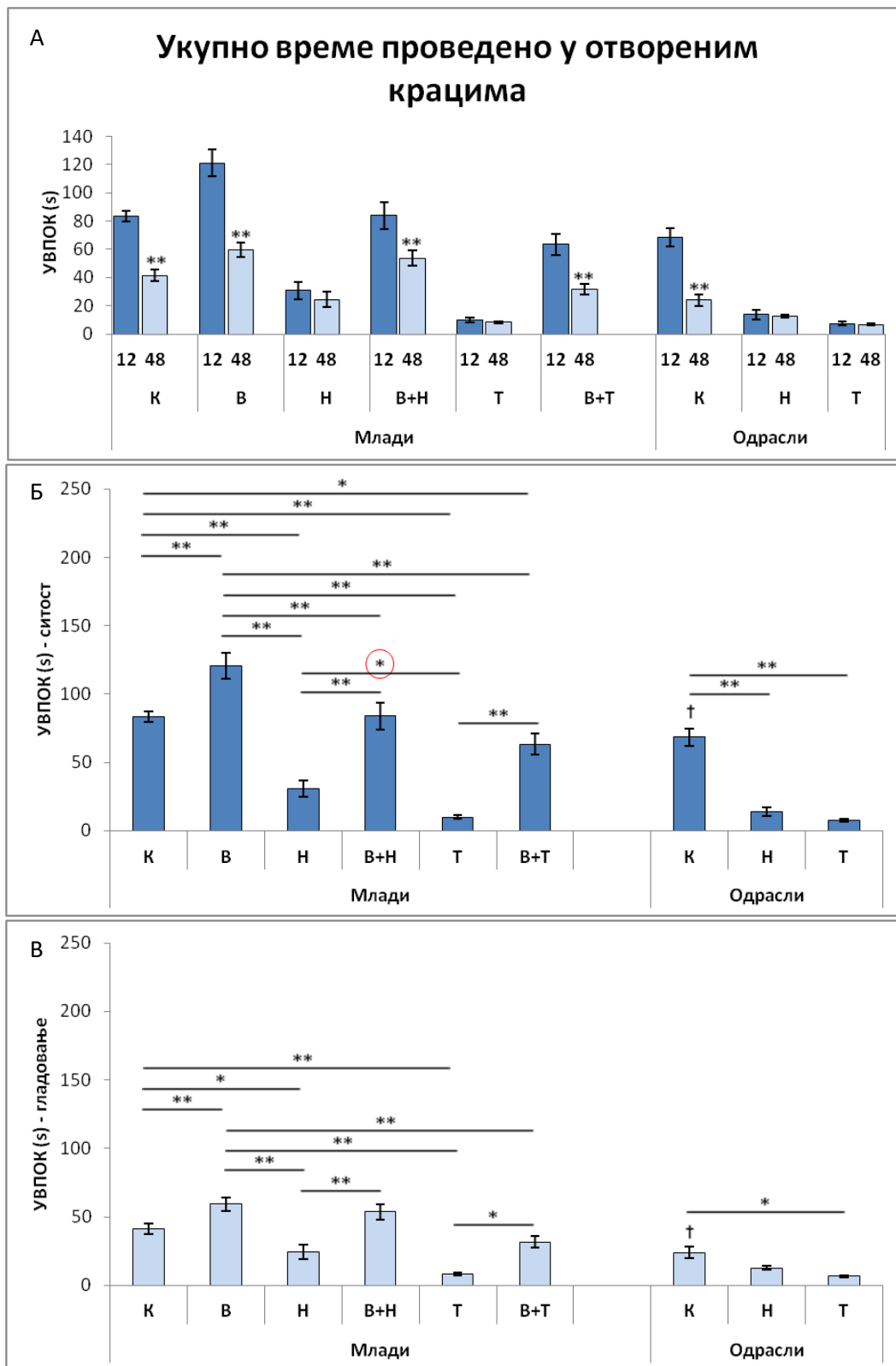
##### 4.1.2.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену укупног времена проведеног у отвореним крацима (УВПОК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Утицај краткотрајне калоријске рестрикције на промену укупног времена проведеног у отвореним крацима (УВПОК) уздигнутог крстастог лавиринта представљен је на Слици 4.8.А ( $F=34.317$ ,  $df=17$ ). Гладовање је доводило до статистички значајно мањег УПВОК ( $p<0.01$ ) код свих животиња, осим у седентерним групама које су третиране анаболичким стероидима.

У условима без калоријске рестрикције (Слика 4.8.Б), протокол администрације супрафизиолошких доза ААС-а код седентерних група је довео до значајног смањења УВПОК код младих, као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ). Физичка активност је након њест недеља остварила значајно повећање вредности овог параметра у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Користан ефекат вежбања на УВПОК је био забележен и у виду смањења негативног утицаја примене ААС-а у комбинованим групама у односу на седентерне ( $p<0.01$ ). Примењена доза НД-а је била довољна да изазове смањење УПВОК у односу на групу којој је хронично апликован ТЕ ( $p<0.05$ ). Старење је доводило до значајног смањења УПВОК ( $p<0.05$ ) у контролним условима.

Краткотрајна калоријска рестрикција након примењених шестонедељних протокола је утицала на промене УПВОК, као што је представљено на Слици 4.8.В. Пролонгирани тренажни процес је значајно повећао УПВОК ( $p<0.01$ ) и након калоријске рестрикције. Позитиван ефекат вежбања се манифестовао и кроз повећање УПВОК у групама које су имале симултану администрацију ААС-а заједно са тренажним процесом ( $p<0.01$ ), у односу на седентерне групе са администрацијом анаболичких стероида. Ефекат старења је показан кроз значајно смањење УПВОК, након краткотрајног гладовања ( $p<0.05$ ). Хронична примена ТЕ-а код одраслих животиња је доводила до значајног смањења УПВОК у односу на контролу истог старосног доба ( $p<0.05$ ).





**Слика 4.8. Утицај различитих фактора на укупно време provedено у отвореним крацима (УВПОК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - †  $p < 0.05$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.**

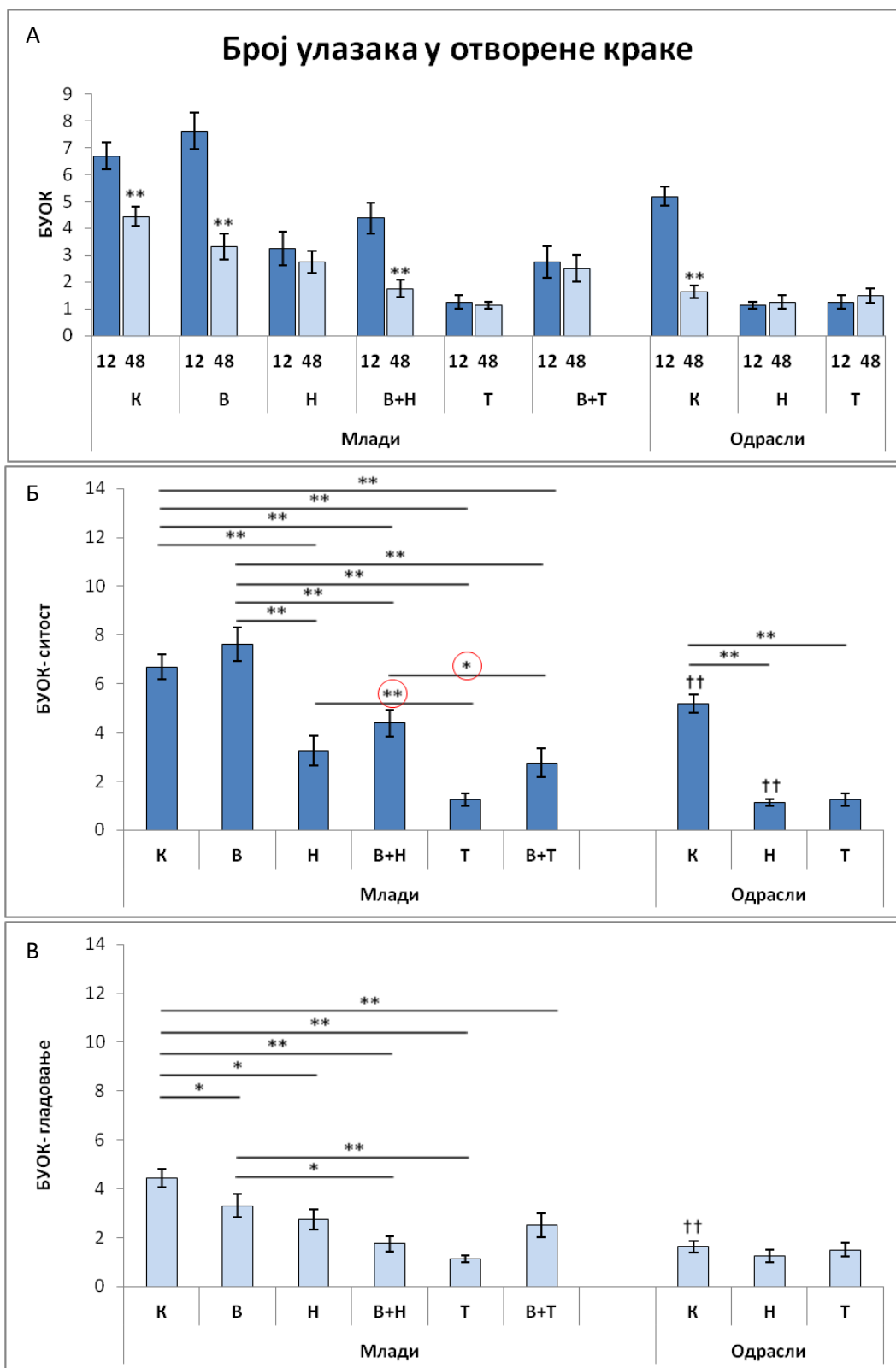
Као што је приказано у Табели 4.8., сви испитивани фактори, који су у овој студији тестирани кроз спровођење одговарајућих протокола, имали су значајан утицај на промену УВПОК. Примена ТЕ-а остварила је најјачи (негативан) ефекат на УВПОК ( $\eta^2=0.266$ ), док су негативан утицај показали и гладовање ( $\eta^2=0.156$ ), примена НД-а ( $\eta^2=0.046$ ) и старење ( $\eta^2=0.023$ ). Пролонгирана физичка активност је остварила јак позитиван утицај на УВПОК ( $\eta^2=0.203$ ). Здружени ефекти анаболичких стероида и калоријске рестрикције имали су негативан утицај на промену УВПОК. Значајна интеракција је уочена и у анализи ефеката пролонгиране физичке активности и калоријске рестрикције.

**Табела 4.8. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупно време проведено у отвореним крацима (УВПОК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓ 0,046	↓↓↓ 0,266	↑↑↑ 0,203	↓ 0,023	↓↓↓ 0,156
Интеракције између фактора	Н x Г	В x Г	Т x Г		
	↓↓ 0,034	↑ 0,0285	↓↓ 0,048		

#### 4.1.2.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену броја улазака у отворене краке (БУОК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Као што је представљено на Слици 4.9.А ( $F=21.194$ ,  $df=17$ ), краткотрајно гладовање је значајно утицало на промену броја улазака у отворене краке (БУОК). У обе старосне категорије, гладовање је доводило до значајног смањења БУОК ( $p<0.01$ ). Краткотрајна калоријска рестрикција је у групи која је била подвргнута пролонгираном тренажном процесу је доводила до значајног смањења БУОК ( $p<0.01$ ). Седентерне групе, третиране супрафизиолошким дозама ААС, нису показале промену БУОК, у обе старосне категорије. Група којој је администриран НД уз пролонгиран тренажни процес је, након краткотрајне калоријске рестрикције, значајно смањила БУОК ( $p<0.01$ ), док код комбиноване групе третиране ТЕ-ом, није било значајне промене у БУОК. Слика 4.9.Б приказује разлике у БУОК након примењених шестонедељних протокола, у условима без калоријске рестрикције. Примена високих доза ААС-а је доводила до значајног смањења БУОК код младих, као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ). Негативан ефекат ААС-а се огледао и у значајно мањем БУОК у групама код којих су симултано уз пролонгирани тренажни процес апликована супрафизиолошка доза НД-а, у односу на контролну групу, као и на групу са вежбањем ( $p<0.01$ ). Значајно мањи БУОК код седентерне групе којој је примењиван ТЕ, у односу на седентерну групу којој је примењиван НД ( $p<0.01$ ), био је очигледан и у комбинованим групама, при чему је комбинована ТЕ група имала значајно мањи БУОК у односу на комбиновану НД групу ( $p<0.05$ ). Старење је доводило до значајног смањења БУОК у контролним условима ( $p<0.01$ ), као и у групи којој је хронично апликован НД ( $p<0.01$ ). У условима краткотрајне калоријске рестрикције након примењених хроничних протокола (Слика 4.9.В), пролонгирани тренажни протокол је значајно повећао БУОК у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Хронична апликација НД-а ( $p<0.05$ ) као и ТЕ-а ( $p<0.01$ ) је значајно смањивала БУОК у условима краткотрајног гладовања код младих животиња. Пролонгирана физичка активност заједно са хроничном применом НД-а је значајно смањивала БУОК у односу на групу са вежбањем ( $p<0.05$ ), као и у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Примена ТЕ-а заједно са тренажним процесом, након шест недеља, у условима краткотрајног гладовања значајно је смањила БУОК у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Старење је доводило до значајног смањења БУОК ( $p<0.01$ ), у контролним условима након краткотрајне калоријске рестрикције.



**Слика 4.9.** Утицај различитих фактора на укупно време проведено у отвореним крацима (УВПОК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Табела 4.9. приказује величину утицаја испитиваних фактора на БУОК у УКЛ тесту. Примена ТЕ-а ( $\eta^2=0.117$ ), гладовање ( $\eta^2=0.1$ ), примена НД-а ( $\eta^2=0.074$ ) и старење ( $\eta^2=0.05$ ) су имали негативан утицај на БУОК, при чему је примена ТЕ-а имала најјачи ефекат. Вежбање је, у току шест недеља тренажног процеса, остварило позитиван утицај на БУОК ( $\eta^2=0.01$ ). Анализа здружених ефеката испитиваних фактора је показала да постоји значајна интеракција између вежбања и примене ТЕ-а, као и између примене ТЕ-а и гладовања.

**Табела 4.9. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број улазака у отворене краке (БУОК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

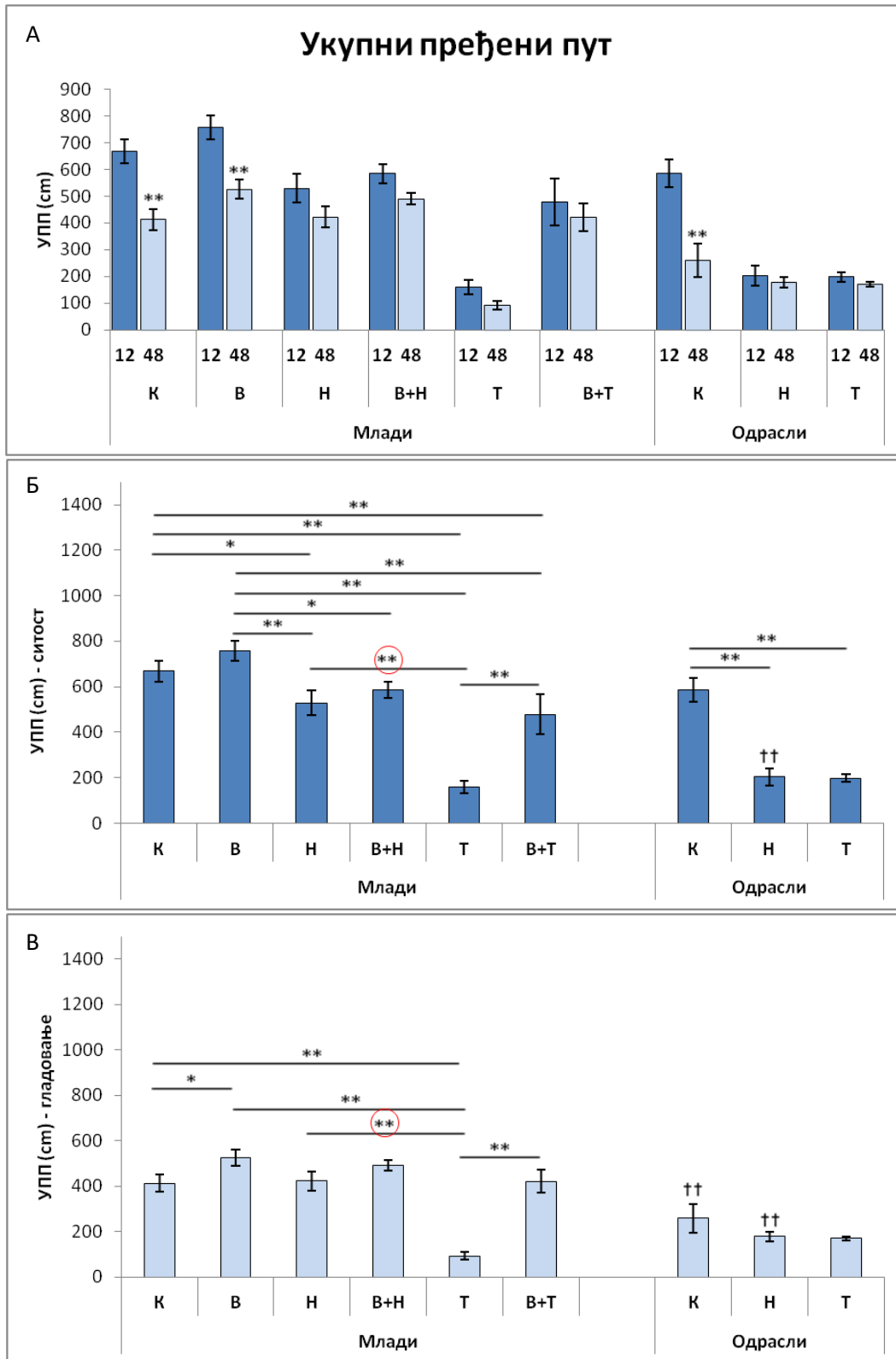
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓ 0,074	↓↓↓ 0,177	↑ 0,01	↓↓ 0,05	↓↓↓ 0,1
Интеракције између фактора	В x Г	Т x Г			
	↓ 0,022	↓↓ 0,089			

#### 4.1.2.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену вредности укупног пређеног пута (УПП) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Рестрикција калоријског уноса је, као што је представљено на Слици 4.10.А, доводила до значајних промена УПП у УКЛ тесту ( $F=17.434$ ,  $df=17$ ). У контролним условима, код младих, као и код одраслих животиња, након краткотрајног гладовања, дошло је до значајног смањења УПП ( $p<0.01$ ). Након пролонгираног тренажног процеса, краткотрајна рестрикција је доводила до значајног смањења УПП ( $p<0.01$ ). Гладовање није доводило до промене вредности УПП у групама са хроничном применом ААС-а, самостално или у комбинацији са вежбањем.

У условима без калоријске рестрикције (Слика 4.10.Б), хронична примена НД-а је значајно смањеила УПП у поређењу са контролном групом ( $p<0.05$ ), као и у односу на групу која је подвргута дуготрајног тренажном протоколу ( $p<0.01$ ). Примена ТЕ-а, у истим условима, је поред значајног смањења УПП у односу на контролну, и групу са вежбањем ( $p<0.01$ ), показала и значајно смањење УПП у односу на комбиновану тестостеронску групу ( $p<0.01$ ). Такође, примена ТЕ-а је доводила до значајног смањења УПП у односу на групу код које је хронично примењиван НД ( $p<0.01$ ). Код одраслих животиња, примена НД-а и ТЕ-а је доводила до значајног смањења УПП у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ), док је примена НД-а код одраслих животиња доводила и до значајног смањења УПП у поређењу са младим животињама којима је хронично апликован НД ( $p<0.01$ ).

У условима краткотрајне калоријске рестрикције, након шестонедељних протокола (Слика 4.10.В), показано је да пролонгирани тренажни процес значајно повећава УПП у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Хронична примена ТЕ-а, у условима краткотрајног гладовања је доводила до значајног смањења УПП у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ), групу са вежбањем ( $p<0.01$ ), као и у односу на комбиновану тестостеронску групу ( $p<0.01$ ). Такође, примена ТЕ-а након шест недеља је, након краткотрајне калоријске рестрикције, показала значајно смањење УПП у односу на групу којој је хронично примењиван НД ( $p<0.01$ ). Одрасле животиње су, након калоријске рестрикције, показале значајно смањење УПП у односу на младе ( $p<0.01$ ), у контролним условима. Примена НД-а код одраслих пацова је имала значаја у смањењу УПП, у поређењу са младим пацовима подвргнутим хроничној апликацији супрафизиолошких доза НД-а, након краткотрајног гладовања ( $p<0.01$ ).



**Слика 4.10.** Утицај различитих фактора на укупни пређени пут (УПП) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - ††  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Укупни пређени пут у УКЛ тесту је био значајно промењен под утицајем различитих фактора испитиваних у овој студији, као што је представљено у Табели 4.10. Најјачи (негативан) утицај остварила је примена ТЕ-а ( $\eta^2=0.208$ ), док су гладовање, старење, као и примена НД-а, остварили негативан утицај слабијег интензитета на промену УПП. Вежбање је остварило јак позитиван утицај на УПП у УКЛ тесту ( $\eta^2=0.101$ ). Забележене су значајне интеракције у анализи здружених ефеката испитиваних фактора.

**Табела 4.10. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на укупни пређени пут (УПП) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		↓ 0,017	↓↓↓ 0,208	↑↑↑ 0,101	↓↓ 0,05
Интеракције између фактора	Н x С	Т x С	Т x В	Т x Г	
	↓↓ 0,039	↓↓ 0,056	↓↓ 0,058	↓↓ 0,038	

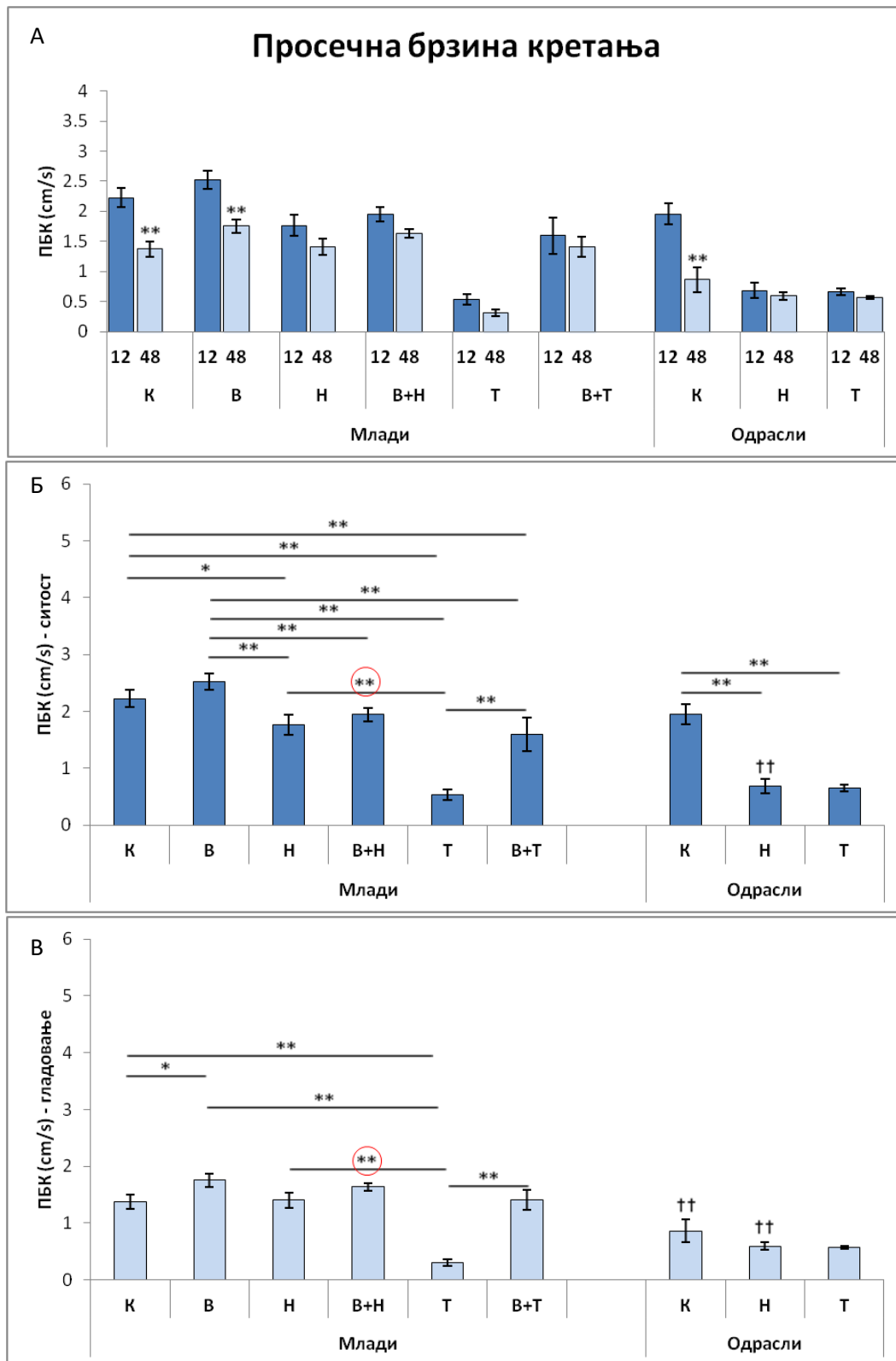


#### 4.1.2.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену вредности просечне брзине кретања (ПБК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Након краткотрајне калоријске рестрикције, забележене су значајне промене просечне брзине кретања у УКЛ тесту ( $F=17.434$ ,  $df=17$ ). Гладовање је, у контролним условима, у обе старосне категорије (Слика 4.11.А) доводило до значајног смањења ПБК ( $p<0.01$ ). Животиње код којих је примењиван програмирани тренажни процес су, такође, након краткотрајног гладовања значајно смањиле ПБК у УКЛ тесту ( $p<0.01$ ).

На Слици 4.11.Б (у условима без калоријске рестрикције), показано је да примена НД-а ( $p<0.05$ ), као и примена ТЕ-а ( $p<0.01$ ), у седентерним условима, доводи до значајног смањења ПБК, у поређењу са контролном групом. Хронична администрација ААС-а, код одраслих животиња је доводила до значајног смањења ПБК ( $p<0.01$ ), у односу на контролну групу. Негативан ефекат ААС-а (самостално или у комбинацији са пролонгираним тренажним протоколом) је забележен и у поређењу са групом која је подвргнута тренажном процесу ( $p<0.01$ ), при чему је администрација ТЕ-а, спровођена симултано са тренажним процесом, показала јачи ефекат од НД-а и узроковала значајно смањење ПБК ( $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Слична разлика у оствареном (негативном) ефекту између два анаболичка стероида се уочава и код седентерних животиња млађе животне доби (ефекат ТЕ-а је био значајно већи од НД-а,  $p<0.01$ ), док разлика у утицају различитих ААС-а на ПБК није уочена код одраслих животиња. Утицај старења на испољене ефекте ААС-а на ПБК се најјасније манифестовао кроз значајно повећање (негативног) ефекта НД-а код одраслих животиња у односу на младе ( $p<0.01$ ).

Након краткотрајне калоријске рестрикције, регистроване су промене ПБК, као што је представљено на Слици 4.11.В. Пролонгирани тренажни протокол је, након краткотрајног гладовања, доводио до значајног повећања ПБК у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ). Ефекат хроничне администрације супрафизиолошких доза НД-а није значајно утицао на вредност овог параметра, док је примена ТЕ-а, значајно смањила ПБК у УКЛ тесту у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ), код младих животиња.



**Слика 4.11.** Утицај различитих фактора на просечну брзину кретања (ПБК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Иако је негативан ефекат примене ТЕ-а, у поређењу са НД-ом био значајно већи ( $p < 0.01$ ) код седентерних животиња, симултано спровођење тренажног процеса је доводило до статистички значајног повећања ПБК у поређењу са седентерном тестостеронском групом ( $p < 0.01$ ), тако да се вредност овог параметра у наведеној групи враћала на контролне вредности. Код одраслих животиња, хронична примена ААС-а је, након калоријске рестрикције, није доводила до промене ПБК, у поређењу са контролном групом. Ипак, вредности овог параметра, у условима гладовања, су биле значајно мање у контролној и нандролонској групи, у поређењу са младим животињама ( $p < 0.01$ ).

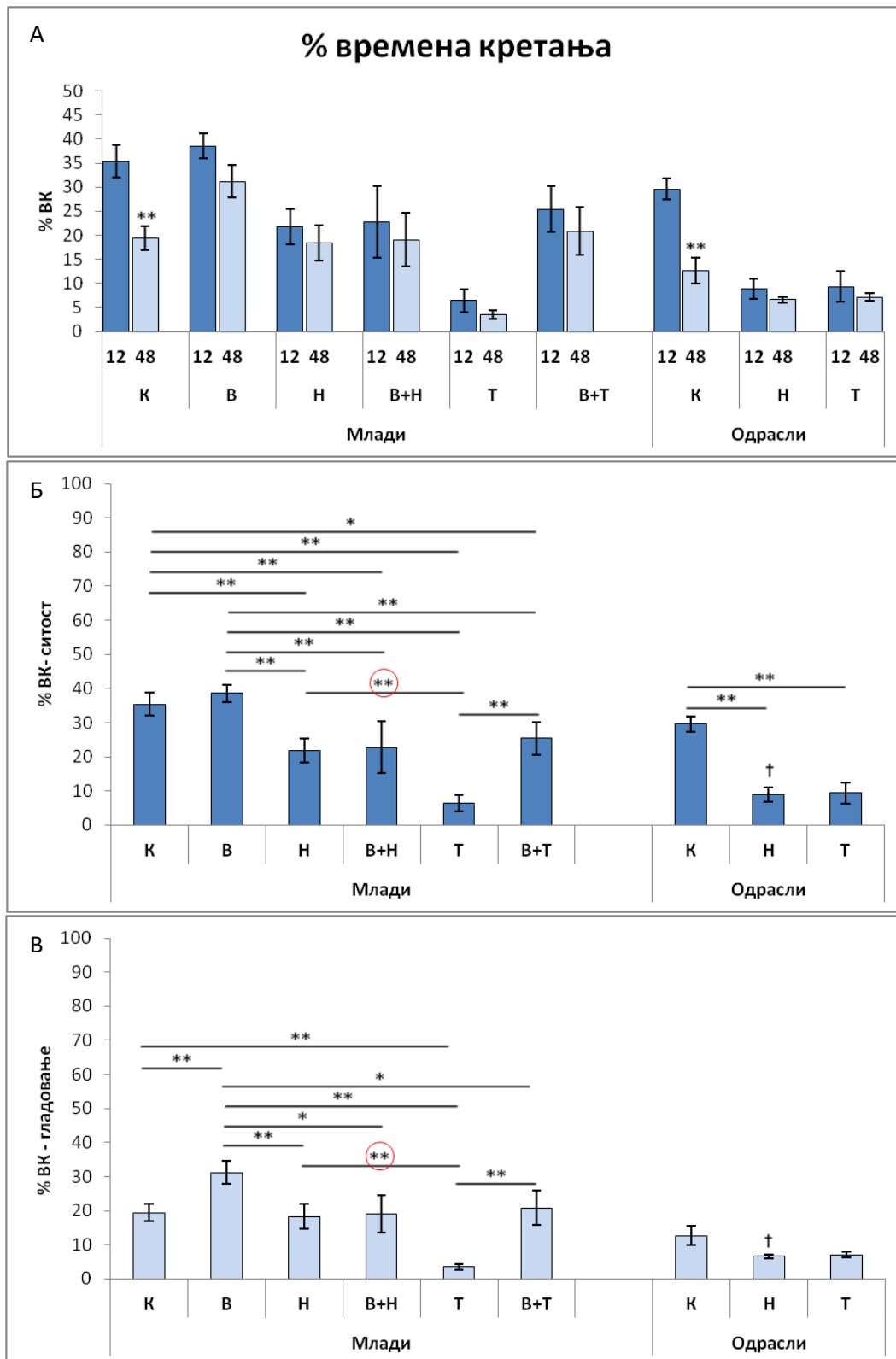
Утицај примењених протокола промену вредности ПБК у УКЛ тесту, представљен је у Табели 4.11. Најјачи (негативни) ефекат је остварила примена ТЕ ( $\eta^2 = 0.208$ ), док су примена НД-а, калоријска рестрикција и старење имали, такође, негативни утицај слабијег интензитета на промену ПБК. Вежбање је остварило јак позитиван утицај на вредност ПБК ( $\eta^2 = 0.082$ ). Забележене је значајне интеракција између појединих фактора.

**Табела 4.11. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на просечну брзину кретања (ПБК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		↓↓ 0,081	↓↓↓ 0,208	↑↑ 0,082	0,007
Интеракције између фактора	Н x С	Т x С	Т x В	Т x Г	
	↓↓ 0,039	↓↓ 0,056	↓↓ 0,058	↓↓ 0,038	

#### 4.1.2.5. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену процента времена кретања (% ВК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Процент времена кретања током петоминутног тестирања у УКЛ, је био значајно промењен под утицајем краткотрајне калоријске рестрикције ( $F=10.464$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.12.А. Краткотрајно гладовање хране је једино у контролним условима доводило до значајног смањења % ВК, у обе старосне категорије ( $p<0.01$ ). Примена ААС-а, као ни пролонгирани тренажни процес (самостално или симултано) није значајно утицала на % ВК након краткотрајног гладовања. Одрасле животиње, након шест недеља третмана ААС-а нису показале значајну промену % ВК под утицајем краткотрајне калоријске рестрикције. У условима без калоријске рестрикције (Слика 4.12.Б), и код младих и код одраслих животиња, хронична администрација ААС-а је значајно смањивала % ВК у УКЛ тесту. Ефекат примене ТЕ-а је био значајно већи у поређењу са групом којој је примењиван НД ( $p<0.01$ ). Иако се ефекат примене дуготрајне програмиране физичке активности није одразио на промену % ВК у поређењу са контролном групом, симултано спровођење тренажног процеса и апликација ААС-а је довела до значајног повећања % ВК у односу на седентерну тестостеронску групу ( $p<0.01$ ), враћајући вредности овог параметра на контролни ниво, код младих животиња. Старење, у контролним условима, није значајно утицало на промену % ВК, док је примена НД-а код одраслих животиња показала значајно смањење % ВК, у поређењу са младим ( $p<0.01$ ). У условима калоријске рестрикције (Слика 4.12.В), примена ТЕ-а је доводила до значајног смањења % ВК у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ) код младих животиња, при чему НД-ом није узроковао значајну промену % ВК. Ефекат примене ТЕ-а је био значајно већи и у поређењу са нандролонском групом, у седентерним условима код младих пацова ( $p<0.01$ ). Примењени протокол физичке активности је у овим условима доводио је до значајног повећања % ВК у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ), док се овакав ефекат физичке активности огледао и у повећању % ВК у комбинованој тестостеронској групи у односу на седентерну ( $p<0.01$ ), враћајући вредност овог параметра до контролног нивоа. Одрасле животиње нису показале значајне промене % ВК након краткотрајног гладовања у односу на младе, у контролним условима. Хронична примена НД-а код одраслих животиња, у условима калоријске рестрикције, је доводила до значајног смањења % ВК ( $p<0.05$ ) у односу на популацију адолесцентних животиња.



Слика 4.12. Утицај различитих фактора на проценат времена кретања (% BK) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

У Табели 4.12. представљена је величина утицаја различитих фактора испитиваних у овој студији на % ВК у УКЛ тесту. Најјачи (негатаиван) ефекат на % ВК остварила је примена ТЕ-а ( $\eta^2=0.113$ ), док је хронична физичка активност остварила позитиван утицај на вредност овог параметра. Остали испитивани фактори су имали значајан, мање изражен ефекат на % ВК. Анализа здружених ефеката је показала да постоји значајна интеракција између примене тестостерона и старења, као и између примене тестостерона и физичке активности.

**Табела 4.12. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат времена кретања (% ВК) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

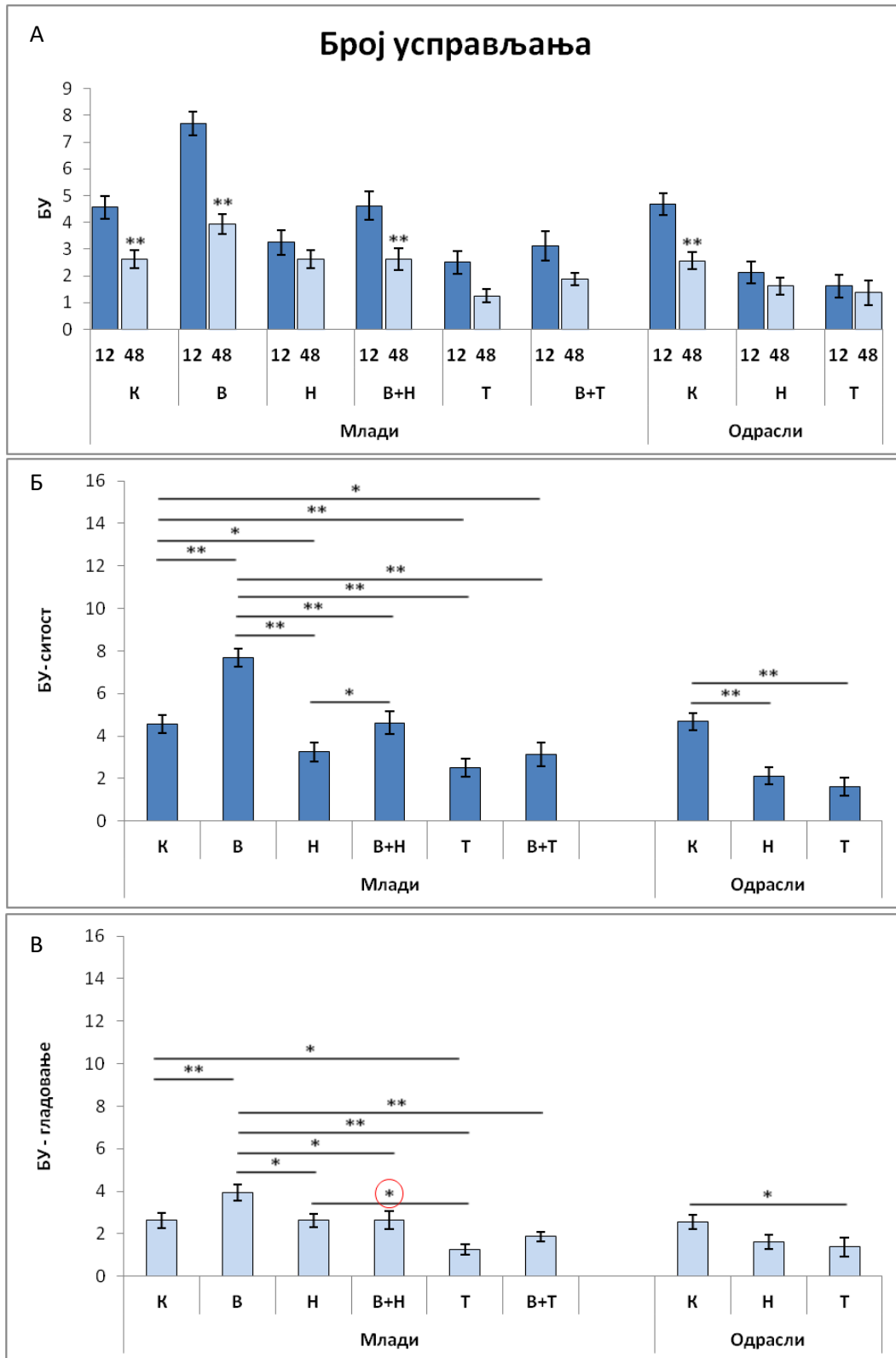
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓ 0,058	↓↓↓ 0,113	↑↑ 0,067	↓↓ 0,025	↓↓ 0,046
Интеракције између фактора	Т x С	Т x В			
	↓ 0,028	↓↓ 0,035			

#### 4.1.2.6. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену броја усправљања БУ) у тесту уздигнутог крестастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

На Слици 4.13.А је представљена промена броја усправљања (БУ) у УКЛ тесту након шестонедељних протокола примене супрафизиолошких доза ААС-а и програмираног тренажног процеса, узрокована краткотрајном калоријском рестрикцијом ( $F=16.884$ ,  $df=17$ ). У контролним условима, краткотрајно гладовање је доводило до значајног смањења БУ у УКЛ тесту ( $p<0.01$ ), код младих као и код одраслих животиња. Краткотрајна калоријска рестрикција је након протокола пролонгиране физичке активности доводила до значајног смањења вредности овог параметра ( $p<0.01$ ). Гладовање након примене ААС-а, у седентерним условима, није утицало на промену БУ, док је у групи код које је симултано примењиван протокол физичке активности и НД, вредност овог параметра била значајно смањења након калоријске рестрикције ( $p<0.01$ ).

У условима са регуларним приступом храни (Слика 4.13.Б), хронична примена високих доза ААС-а је и код младих и код одраслих животиња доводила до значајног смањења БУ ( $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Ефекат пролонгираног тренажног процеса се одразио кроз статистички значајно повећање БУ у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат дуготрајног тренажног процеса на вредност овог параметра је био уочен у комбинованој нандролонској групи, у односу на седентерну ( $p<0.05$ ), док се код комбиноване тестостеронске групе БУ није значајно разликовао у односу на седентерну.

У условима краткотрајног гладовања, након спроведених шестонедељних протокола (Слика 4.13.В), уочено је да је примена ТЕ-а доводила до значајног смањења БУ ( $p<0.05$ ) у односу на контролну групу, у обе старосне категорије, док примена НД-а, у оваквим условима није остварила значајан ефекат. Ефекат хроничне примене супрафизиолошких доза ТЕ-а на БУ је био забележен и кроз значајно смањење вредности овог параметра у односу на нандролонску групу (у седентерним условима), код младих животиња. Пролонгирана физичка активност, у условима калоријске рестрикције је доводила до значајног повећања БУ у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Негативан ефекат ААС-а се, у условима након калоријске рестрикције, огледао и у значајно мањој вредности овог параметра и у комбинованим групама у односу на групу код које је самостално спровођен протокол вежбања ( $p<0.01$ ).



**Слика 4.13. Утицај различитих фактора на број усправљања (БУ) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.**



Табела 4.13. приказује величину утицаја различитих фактора испитиваних у овој студији на БУ у УКЛ тесту. На БУ најјачи (негативан) ефекат је остварила примена ТЕ-а ( $\eta^2=0.233$ ), док је краткотрајна калоријска рестрикција, такође, имала значаја у смањивању БУ у УКЛ тесту ( $\eta^2=0.143$ ). Примена НД-а, као и старење су остварили слабији негативан утицај на БУ. Протокол програмираног тренажног процеса је имао позитиван ефекат на вредност овог параметра. Уочена је значајна интеракција између два фактора који су имали негативан утицај на БУ у УКЛ тесту - ТЕ-а и калоријске рестрикције.

**Табела 4.13. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број усправљања (БУ) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

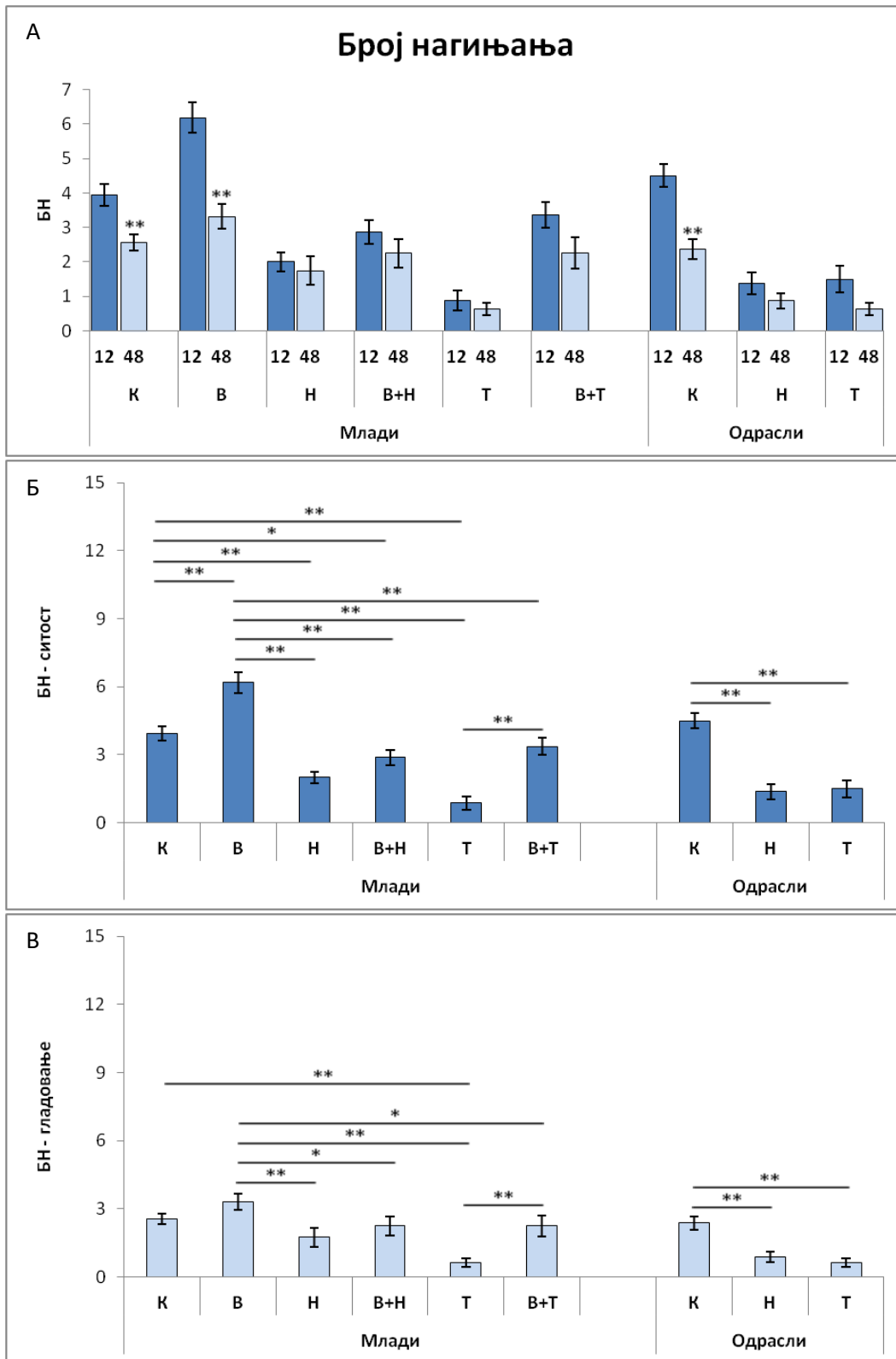
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓ 0,043	↓↓↓ 0,223	↑↑ 0,063	↓↓ 0,01	↓↓↓ 0,143
Интеракције између фактора	Т x Г				
	↓↓ 0,033				

#### **4.1.2.7. Утицај андрогених анаболичких стероида на промену броја нагињања (БН) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране**

Број нагињања (БН) у УКЛ тесту је био значајно промењен под утицајем рестрикције уноса хране након примењених протокола администрације високих доза ААС-с и пролонгираног вежбања ( $F=19.181$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.14.А. У контролним условима, краткотрајно гладовање је у обе старосне категорије доводило до значајног смањења БН ( $p<0.01$ ). Калоријска рестрикција након примене високих доза ААС-а није значајно утицала на промену вредности овог параметра у седентерним, као ни у групама код којих је симултано спровођен протокол физичке активности. Протокол краткотрајне калоријске рестрикције је након спровођења пролонгираног тренажног процеса доводио до значајног смањења БН ( $p<0.01$ ).

На Слици 4.14.Б је представљен утицај примењених шестонедељних протокола на БН у УКЛ тесту у условима без рестрикције калоријског уноса. Примена супрафизиолошких доза ААС-а је, у обе старосне категорије, доводила до значајног смањења БН ( $p<0.01$ ) у односу на контролне услове. Примена протокола дуготрајне физичке активности је доводила до значајно већег БН у односу на контролну групу, као и у односу на седентерне групе третиране ААС-а ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат физичке активности се манифестовао и кроз значајно повећање БН у комбинованој у поређењу са седентерном тестостеронском групом ( $p<0.01$ ), што је за резултат имало враћање БН на вредности сличне контролним.

У условима краткотрајне калоријске рестрикције (Слика 4.14.В), протокол администрације супрафизиолошких доза ТЕ-а је доводио до статистички значајног смањења БН у обе старосне групе ( $p<0.01$ ), док је примена НД-а имала овакав ефекат једино код одраслих животиња, у односу на контролне услове. Иако протокол физичке активности, у условима краткотрајне калоријске рестрикције, није доводио до значајних промена БН у односу на контролну групу, вредност овог параметра је била значајно већа у поређењу са групама код којих су примењивани ААС, самостално ( $p<0.01$ ) или у комбинацији са вежбањем ( $p<0.05$ ). Позитиван ефекат физичке активности се, у оваквим условима, манифестовао и кроз статистички значајно повећање БН у комбинованој у односу на седентерну тестостеронску групу ( $p<0.01$ ). Старење није доводило до значајних промена вредности овог параметра ни у условима регуларног уноса хране, као ни у условима калоријске рестрикције.



Слика 4.14. Утицај различитих фактора на број нагињања (БН) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканеат (n = 8); Т = тестостерон-енанат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

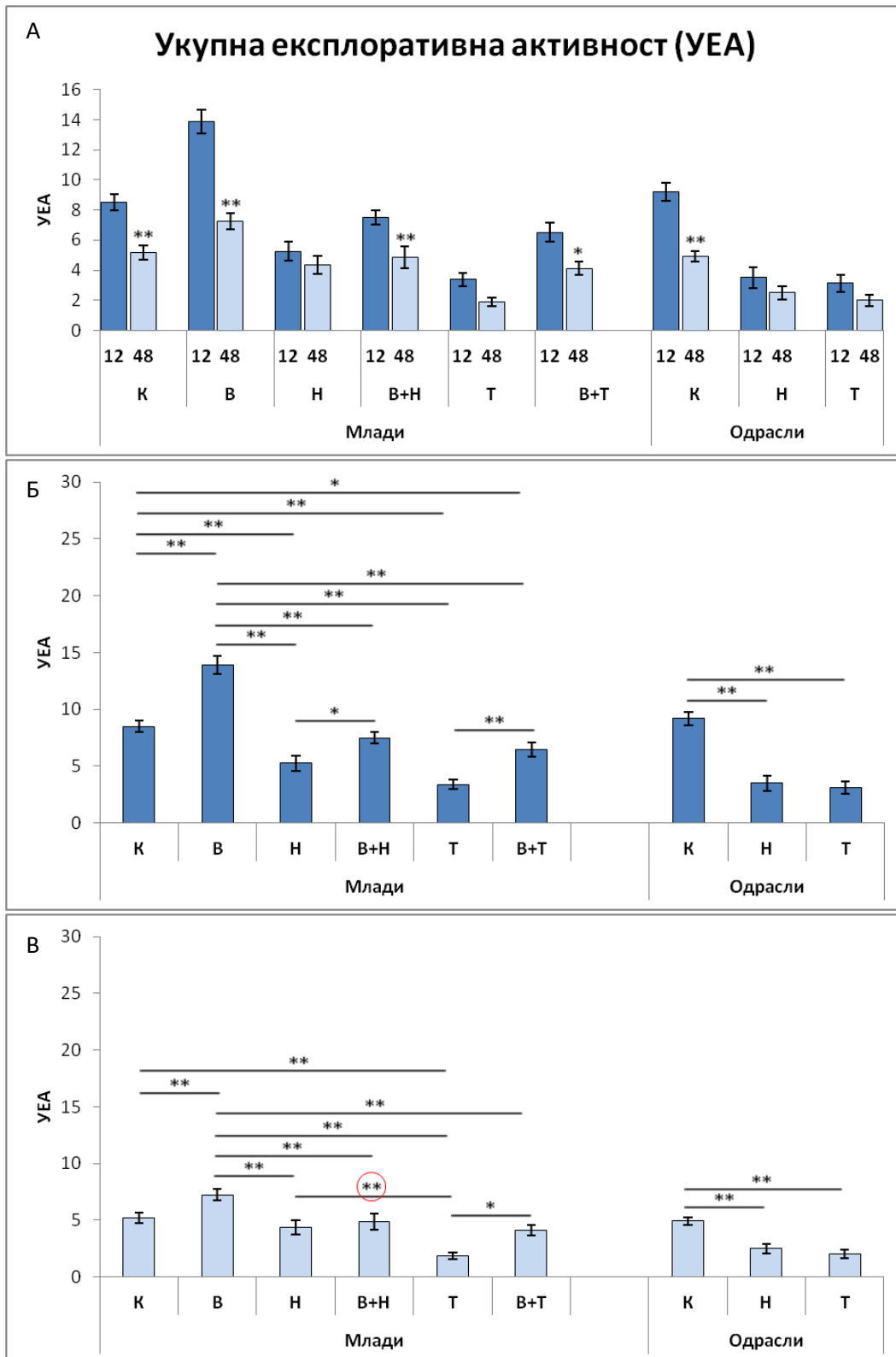
Примењени протоколи су, као што је представљено у Табели 4.14, значајно утицали на вредност БН у УКЛ тесту. Примена ТЕ-а је остварила јак, негативан, ефекат на БН ( $\eta^2=0.168$ ). Такође, примена НД-а је имала јак, негативан утицај на промену вредности овог параметра ( $\eta^2=0.124$ ). Негативан ефекат слабијег интензитета на БН је забележен након калоријске рестрикције, док је протокол физичке активности имао позитиван утицај на промену вредности овог параметра. Анализом здружених ефеката је уочена значајна интеракција примене ТЕ-а и калоријске рестрикције, која је, такође, остварила негативан ефекат на БН.

**Табела 4.14. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број нагињања (БН) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,124	↓↓↓ 0,168	↑↑↑ 0,109	< 0,001	↓↓↓ 0,108
Интеракције између фактора	Т x Г				
	↓↓ 0,032				

#### 4.1.2.8. Утицај андрогених анаболичких стероида на укупну експлоративну активност (УЕА) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Укупна експлоративна активност (УЕА) је била значајно промењена под утицајем калоријске рестрикције, након примене описаних протокола ( $F=30.392$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.15.А. Краткотрајна рестрикција уноса хране је узроковала значајно мање вредности УЕА у контролним условима код младих, као и код одраслих пацова ( $p<0.01$ ). Значајно смањење УЕА је, након краткотрајног гладовања, забележено и у групи код које је самостално спровођен протокол пролонгиране физичке активности ( $p<0.01$ ), у комбинваној нандролонској ( $p<0.01$ ), као и у комбинованој тестостеронској групи ( $p<0.05$ ). Краткотрајно гладовање након примене анаболичких стероида у седентерним групама није доводило до значајних промена УЕА, у обе старосне категорије. У условима регуларне исхране (Слика 4.15.Б) примена ААС-а је код младих, као и код одраслих животиња, доводила до значајног смањења УЕА у односу на контролне услове ( $p<0.01$ ). Пролонгирано вежбање је значајно повећавало УЕА у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ). Поред тога, позитиван ефекат физичке активности се манифестовао и кроз значајно повећање УЕА у комбинованим, у односу на седентерне групе код којих су примењивани ААС ( $p<0.05$  за НД;  $p<0.01$  за ТЕ). Ипак, ефекат примене ТЕ-а је био толико изражен, да се у комбинованој тестостеронској групи вредност овог параметра и даље значајно разликовала у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). У условима калоријске рестрикције након примењених хроничних протокола (Слика 4.15.В), показано је да је примена ТЕ-а доводила до значајног смањења ( $p<0.01$ ) УЕА, у обе старосне категорије, док је ефекат примене НД-а забележен једино у популацији одраслих пацова ( $p<0.01$ ) у поређењу са контролном групом. Пролонгирани протокол физичке активности је, у условима краткотрајне рестрикције калоријског уноса, доводио до значајног повећања УЕА у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат физичке активности је уочен и кроз статистички значајно повећање УЕА у групи код које је, поред администрације ТЕ-а, симултано спровођен и протокол физичке активности, у поређењу са седентерном групом која је хронично добијала супрафизиолошке дозе ТЕ-а ( $p<0.05$ ). Код младих седентерних животиња, значајно мања УЕА је забележена у групи којој је администриран ТЕ, у односу на групу која је имала протокол примене супрафизиолошких доза НД-а ( $p<0.01$ ).



**Слика 4.15.** Утицај различитих фактора на укупну експлоративну активност (УЕА) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Величина утицаја појединих фактора испитиваних у овој студији на промену УЕА је представљена у Табели 4.15. Негативан утицај најјачег интензитета је остварила примена ТЕ-а ( $\eta^2=0.258$ ), док су и примена НД-а, као и гладовање, остварили негативан утицај слабијег интензитета. Примењени протокол физичке активности је остварио позитиван утицај на вредност овог параметра. Старење није имало значајног утицаја на промену УЕА у УКЛ тесту. Уочена је значајна интеракција између примењених ААС-а и краткотрајне калоријске рестрикције.

**Табела 4.15. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора укупну експлоративну активност (УЕА) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,101	↓↓↓ 0,258	↑↑↑ 0,114	< 0,001	↓↓↓ 0,167
Интеракције између фактора	Н x Г	Т x Г			
	↓ 0,029	↓↓ 0,033			

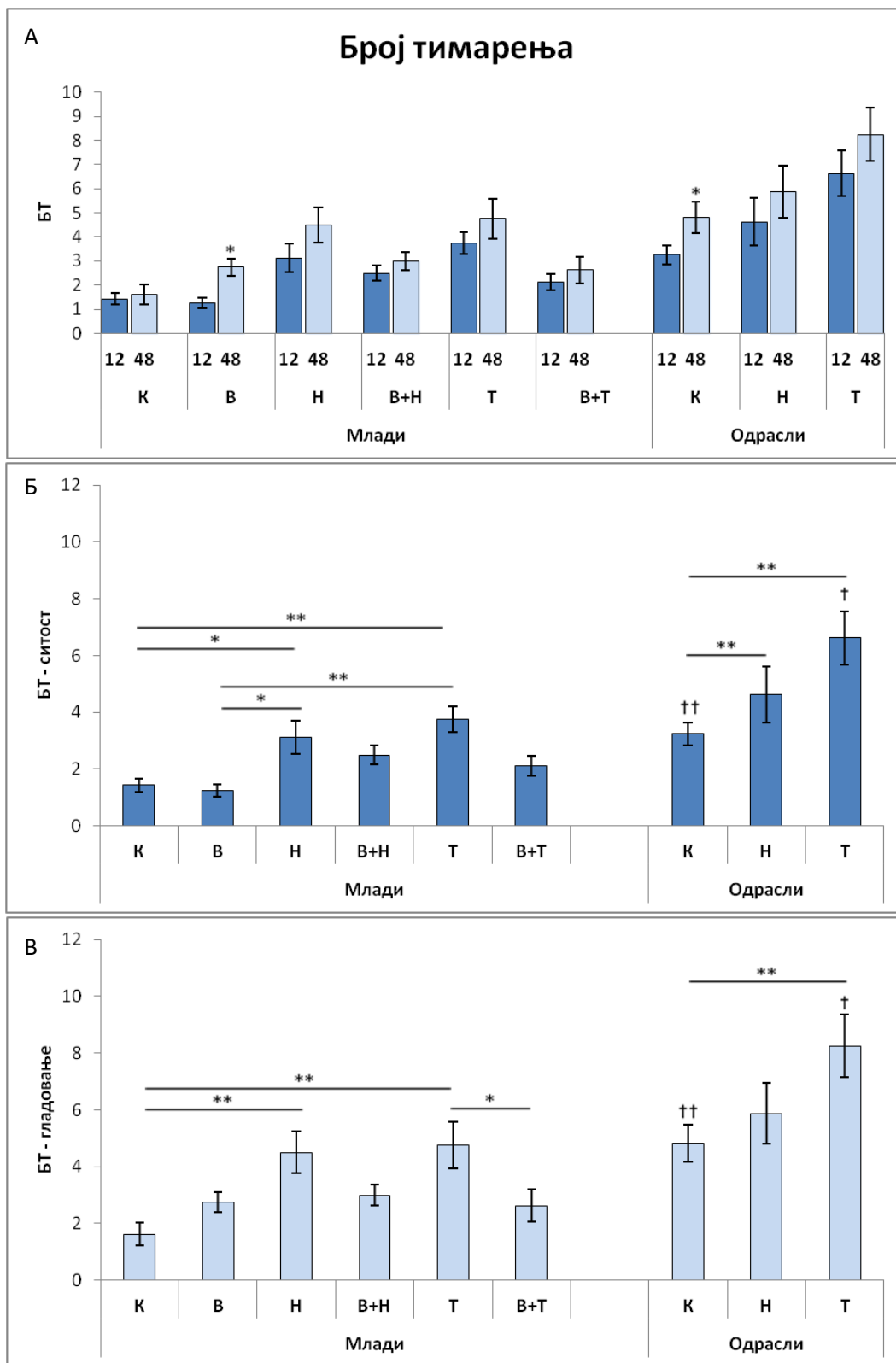
#### 4.1.2.9. Утицај андрогених анаболичких стероида на број тимарења (БТ) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта узроковану рестрикцијом уноса хране

Као што је приказано на Слици 4.16.А, број тимарења (БТ) је био значајно промењен под утицајем калоријске рестрикције након примењених хроничних протокола ( $F=10.217$ ,  $df=17$ ). Краткотрајна рестрикција калоријског уноса је, у контролним условима, значајно повећала БТ код одраслих животиња ( $p<0.05$ ), док се код младих пацова овакав ефекат није испољио. Младе животиње подвргнуте хроничном протоколу физичке активности су, након краткотрајног гладовања, показале значајно већи БТ ( $p<0.05$ ) у односу на услове регуларне исхране. Примена ААС-а, самостално или у комбинацији са вежбањем, након краткотрајне рестрикције уноса хране није значајно мењала БТ у УКЛ тесту.

У условима регуларног уноса хране (Слика 4.16.Б), примена ТЕ-а, током шест недеља третмана је доводила до значајног повећања БТ у обе старосне категорије. Такође, примена НД-а је, у условима без калоријске рестрикције, доводила до значајног повећања БТ код младих ( $p<0.05$ ), као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ), у поређењу са контролном групом. Старење је доводило до значајног повећања БТ у контролним условима ( $p<0.01$ ), као и у групи животиња третираним супрафизиолошким дозама ТЕ-а ( $p<0.05$ ).

Након краткотрајне калоријске рестрикције (Слика 4.16.В), хронични шестонедељни протокол администрације ТЕ-а је у обе старосне групе доводио до значајног повећања БТ ( $p<0.01$ ), док је ефекат НД-а на повећање БТ био уочен једино код младих животиња ( $p<0.01$ ). Иако протокол пролонгиране физичке активности самостално није доводио до промене БТ у односу на контролну групу, позитиван ефекат вежбања се манифестовао у смањењу БТ у комбинованој тестостеронској у односу на седентерну групу ( $p<0.05$ ). Ефекат старења је, у условима краткотрајног гладовања, уочен у контролним условима ( $p<0.01$ ), као и код животиња третираних ТЕ-а током шест недеља ( $p<0.05$ ).





Слика 4.16. Утицај различитих фактора на број тимарења (БТ) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деcanoат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Величина ефекта који су поједини фактори, испитивани у овој студији, остарили на БТ је представљена у Табели 4.16. Најјачи ефекат на промену БТ остварило је старење ( $\eta^2=0.155$ ), док је ефекат примене ТЕ-а, такође, остварио јак, негативан ефекат ( $\eta^2=0.115$ ). Краткотрајним гладовањем, као и хроничном применом НД-а, остварен је негативан ефекат на БТ, који је био слабијег интензитета. Вежбање је имало позитиван утицај на БТ у УКЛ тесту. Забележена је значајна интеракција између примене ТЕ-а и примењеног протокола физичке активности ( $\eta^2=0.28$ ).

**Табела 4.16. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број тимарења (БТ) у тесту уздигнутог крстастог лавиринта**

Појединачни фактори	Надролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↑↑ 0,013	↑↑↑ 0,115	↓ 0,023	↑↑↑ 0,155	↑↑ 0,051
Интеракције између фактора	Т x В				
	↑↑↑ 0,28				

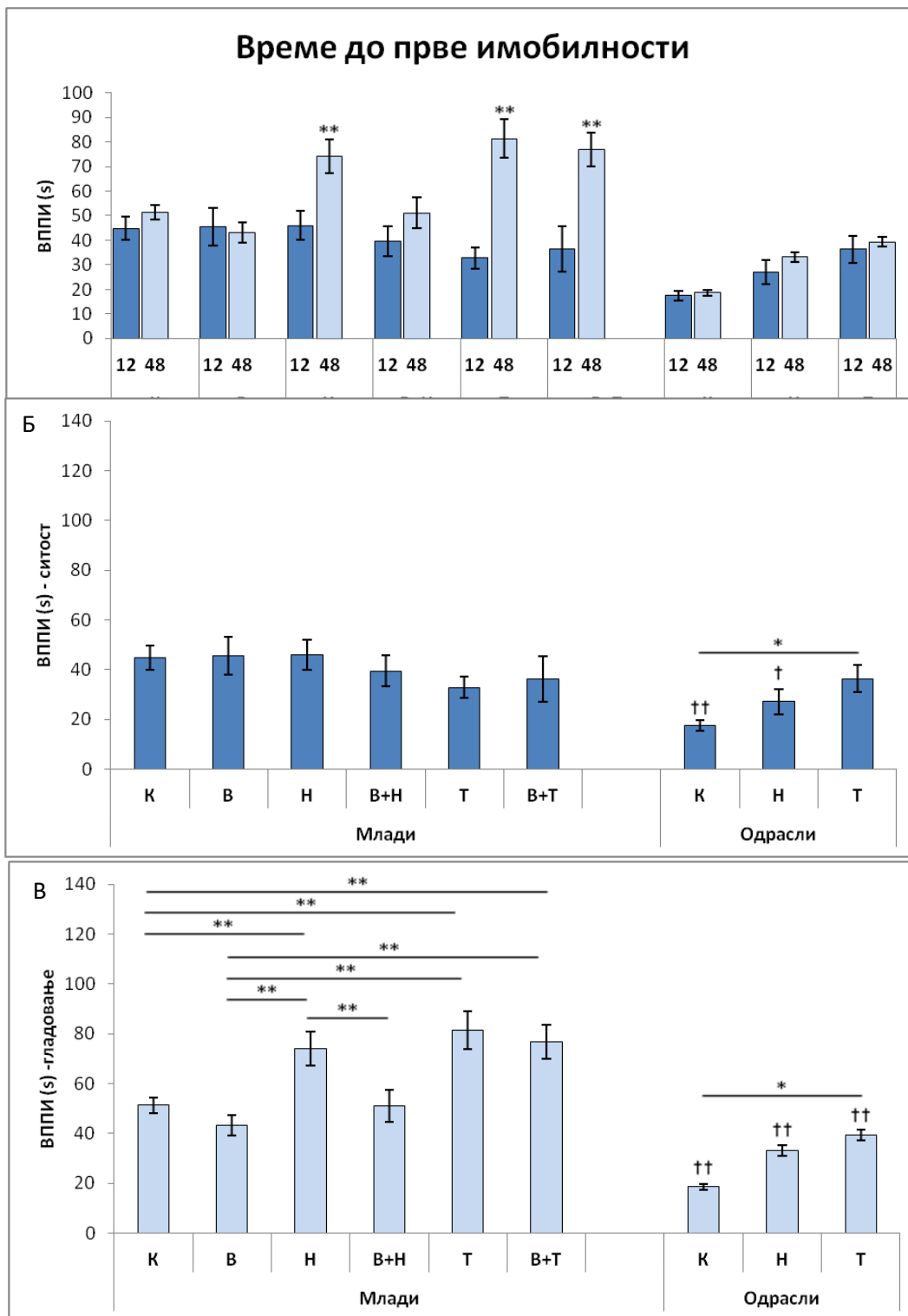
### 4.1.3. Тест качења о реп (ТКР тест)

#### 4.1.3.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на време до појаве прве имобилности (ВППИ) у тесту качења о реп узроковану рестрикцијом уноса хране

Утицај краткотрајне калоријске рестрикције након примењених хроничних протокола администрације супрафизиолошких доза ААС-а, самостално или у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом, на време до појаве прве имобилности (ВППИ) је био уочен у различитим групама ( $F=10.989$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.17.А. Краткотрајна рестрикција уноса хране је, након шестонедељног протокола апликације високих доза ААС-а, доводила до значајног повећања ВППИ ( $p<0.01$ ) код младих животиња, док код одраслих овакав ефекат није уочен. Краткотрајна рестрикција калоријског уноса након пролонгиране физичке активности није значајно утицала на промену ВППИ. Међутим, у групи код које је поред протокола вежбања симултано примењиван третман супрафизиолошким дозама ТЕ-а, дошло је до значајног повећања ВППИ под утицајем краткотрајног гладовања ( $p<0.01$ ).

Слика 4.17.Б приказује ефекте примењених хроничних протокола у условима без калоријске рестрикције. Код младих животиња примењени хронични протоколи нису доводили до значајне промене ВППИ, док је код одраслих пацова уочено значајно повећање вредности овог параметра ( $p<0.05$ ) у групи која је третирана високим дозама ТЕ-а, у поређењу са контролном групом. Старење је имало утицаја на смањење ВППИ у контролним условима ( $p<0.01$ ), као и код животиња третираних високим дозама НД-а током шест недеља ( $p<0.05$ ), у поређењу са младим животињама.

У условима краткотрајне калоријске рестрикције (Слика 4.17.В), уочено је да је примена ТЕ-а доводила до значајног повећања ВППИ у категорији младих ( $p<0.01$ ), као и одраслих животиња ( $p<0.05$ ). Примена НД-а је, у условима краткотрајног гладовања, доводила до значајног повећања ВППИ ( $p<0.01$ ) само код младих пацова, у односу на контролну групу. Иако пролонгирани протокол физичке активности није доводио до значајног смањења ВППИ у односу на контролне услове, позитиван ефекат физичке активности је био забележен кроз значајно смањење ВППИ у комбинованој у односу на седентерну нандролонску групу ( $p<0.01$ ), враћајући вредност овог параметра до нивоа у контролним условима.



**Слика 4.17.** Утицај различитих фактора на време до појаве прве имобилности (ВППИ) у тесту качења о реп код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Негативан ефекат примене ТЕ-а, након краткотрајног гладовања, је био манифестан и у комбинованој тестостеронској групи у поређењу са контролном

( $p < 0.01$ ), у виду значајног повећања ВППИ. Старење је, у условима краткотрајне калоријске рестрикције, и у контролним условима, и наком примене супрафизиолошких доза ААС-а, доводило до значајног смањења ВППИ ( $p < 0.01$ ).

У Табели 4.17. представљена је величина ефекта који су поједини фактори, који су испитивани у овој студији, остварили на ВППИ у ТКР тесту. Ефекат најјачег интензитета (смањење) на вредност овог параметра остварило је старење ( $\eta^2 = 0.213$ ). Примена ТЕ-а је, такође, остварила значајан ефекат у смањењу вредности овог параметра, док примена НД-а није имала значајног утицаја. Краткотрајна калоријска рестрикција и вежбање су, независно, утицали на повећање ВППИ. Анализа здружених ефеката примене ТЕ-а и гладовања показала је значајну позитивну интеракцију, док је заједнички ефекат примене ТЕ-а и старења био негативан.

**Табела 4.17. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време до појаве прве имобилности (ВППИ) у тесту качења о реп**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	0,004	↓↓ 0,08	↑ 0,017	↓↓↓ 0,213	↑↑↑ 0,094
Интеракције између фактора	С x Г	Т x Г			
	↓↓ 0,058	↑↑ 0,069			

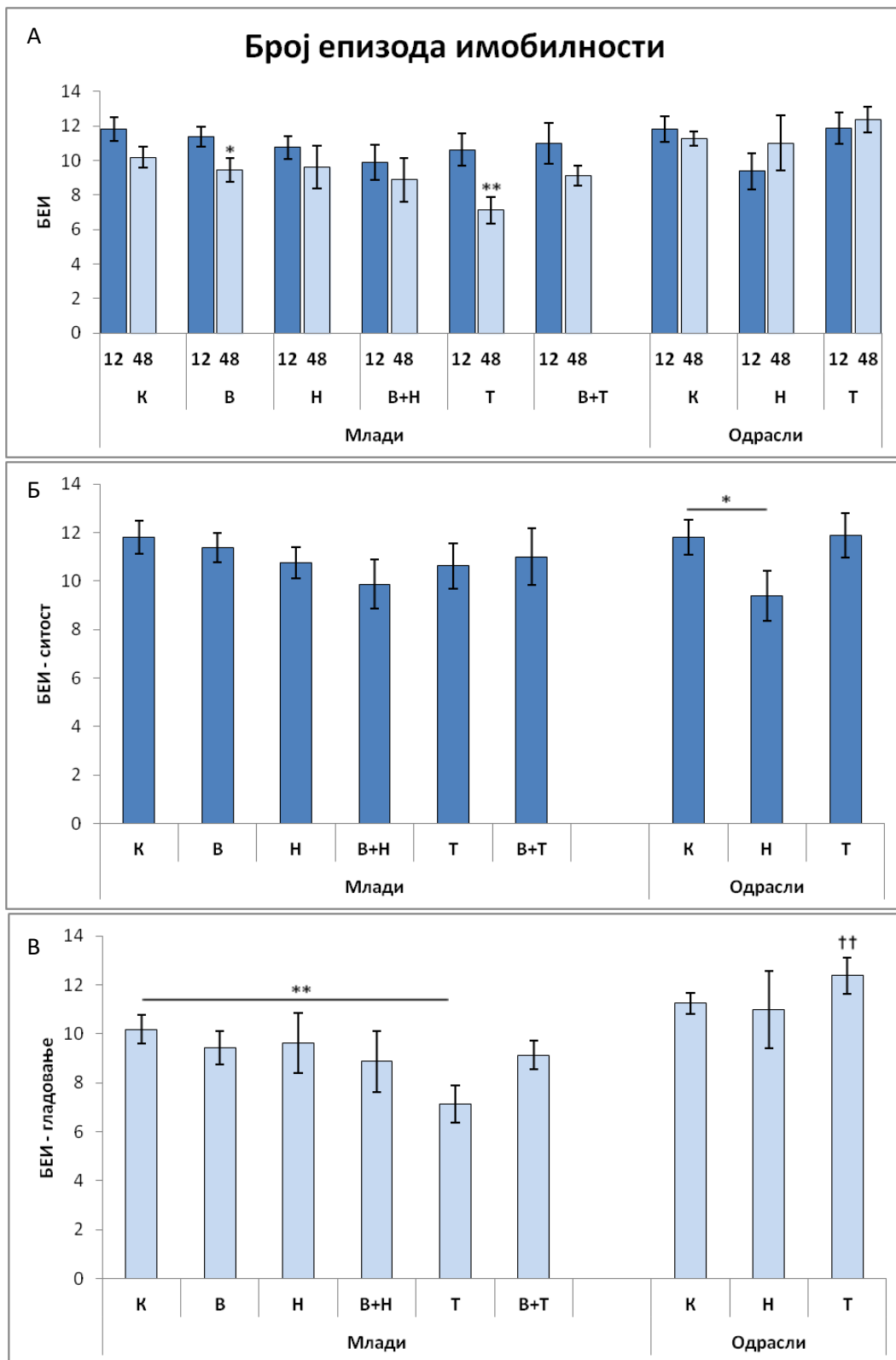
#### 4.1.3.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на број епизода имобилности (БЕИ) у тесту качења о реп узроковану рестрикцијом уноса хране

Анализом ефекта калоријске рестрикције након примењених хроничних протокола администрације супрафизиолошких доза ААС-а и програмираног тренажног процеса (Слика 4.18.А), уочене су промене броја епизода имобилности (БЕИ) у ТКР тесту ( $F=2.349$ ,  $df=17$ ). Краткотрајно гладовање је имало ефекат на смањење БЕИ у групи младих животиња третираних ТЕ-ом ( $p<0.01$ ). Такође, у условима калоријске рестрикције је дошло до значајног смањења БЕИ у групи код које је спровођен протокол пролонгиране физичке активности ( $p<0.05$ ). У контролним условима, као и код животиња третираних НД-ом, краткотрајно гладовање није значајно утицало на вредност овог параметра.

У условима без рестрикције калоријског уноса (Слика 4.18.Б), примењени хронични протоколи нису значајно утицали на промену БЕИ код младих животиња, док се код одраслих, ефекат хроничне администрације НД-а манифестовао кроз значајно смањење БЕИ у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ).

Након калоријске рестрикције (Слика 4.18.В), код младих животиња је уочено значајно смањење БЕИ у групи третираној супрафизиолошким дозама ТЕ-а ( $p<0.01$ ), у поређењу са контролном групом. Старење је, у условима краткотрајног гладовања, доводило до значајног повећања БЕИ ( $p<0.01$ ) једино у групи третираној ТЕ-ом у односу на младе животиње код којих је примењиван исти протокол.

У Табели 4.18. је представљена величина утицаја различитих фактора на БЕИ у ТКР тесту. Старење је остварило ефекат јаког интензитета на БЕИ ( $\eta^2=0.033$ ). Примена НД-а и краткотрајна калоријска рестрикција су остварили ефекат слабијег интензитета на БЕИ. Анализа интеракција између поменутих фактора је показала да постоји ефекат комбинованог утицаја ТЕ-а и гладовања, као и ефекат здруженог дејства старења и гладовања.



**Слика 4.18.** Утицај различитих фактора на број епизода имобилности (БЕИ) у тесту качења о реп код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - ††  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.18. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број епизода имобилности (БЕИ) у тесту качења о реп**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		0,025	< 0,001	0,002	↑↑ 0,033
Интеракције између фактора	С x Г	Т x Г			
	0,03	↓↓ 0,037			

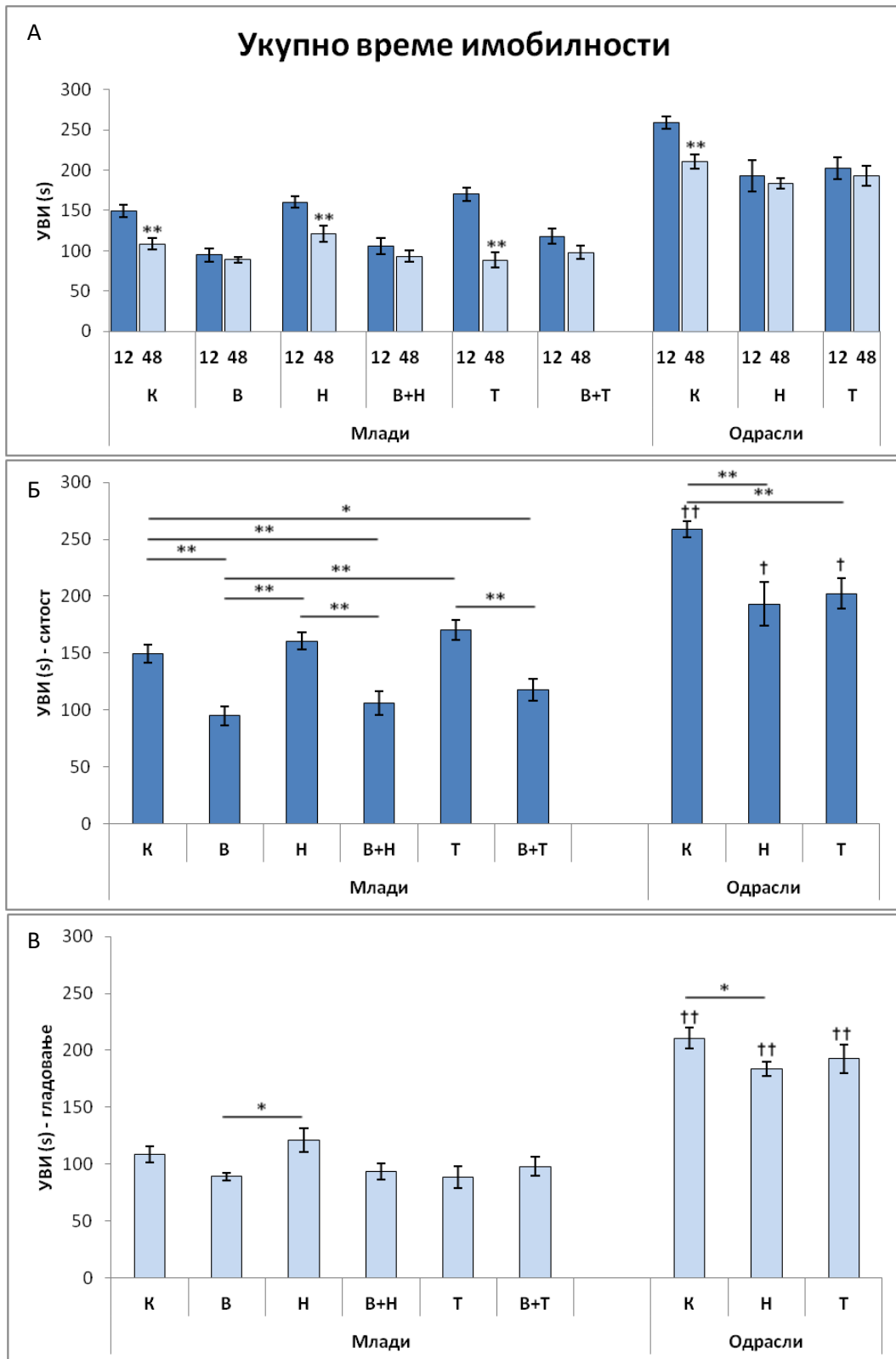


#### 4.1.3.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на укупно време имобилности (УВИ) у тесту качења о реп узроковану рестрикцијом уноса хране

Као што је представљено на Слици 4.19.А, примењен протокол краткотрајне калоријске рестрикције је доводио до значајних промена укупног времена имобилности (УВИ) у ТКР тесту ( $F=36.312$ ,  $df=17$ ). У контролним условима, у обе старосне групе, краткотрајно гладовање је доводило до значајног смањења УВИ ( $p<0.01$ ). Краткотрајно гладовање је након хроничне примене ААС-а, код младих пацова доводило до значајног смањења УВИ ( $p<0.01$ ), док се код одраслих животиња није уочавала оваква промена. У условима краткотрајног гладовања, вредност овог параметра није значајно промењена у групама код којих је спровођен протокол пролонгиране физичке активности.

У условима регуларног калоријског уноса (Слика 4.19.Б), третман супрафизиолошким дозама ААС-а је доводио до значајног смањења УВИ ( $p<0.01$ ) једино код одраслих животиња, у односу на контролне услове. Пролонгирани протокол физичке активности је, код младих животиња, доводио до значајног смањења УВИ ( $p<0.01$ ) у односу на контролне услове. Групе код којих је симултано спровођена физичка активност са применом супрафизиолошких доза ААС-а, су показале значајно смањење УВИ ( $p<0.01$ ) у поређењу са седентерним групама које су имале хроничан третман ААС-а. Старење је, у условима без калоријске рестрикције, доводило до значајног повећања УВИ у контролној групи односу на младе животиње ( $p<0.01$ ). Такође, третман ААС-а код одраслих пацова је, у условима регуларног калоријског уноса, утицао на значајно повећање УВИ ( $p<0.05$ ), у односу на младе животиње.

У условима калоријске рестрикције (Слика 4.19.В), уочено је једино значајно повећање УВИ у седентерној нандролонској у поређењу са групом код које је самостално спровођен протокол пролонгиране физичке активности ( $p<0.05$ ). Код одраслих животиња забележен је ефекат примене НД-а у виду смањења УВИ у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Старење је, и у контролним условима, и у условима хроничне администрације супрафизиолошким дозама ААС-а, након краткотрајног гладовања доводило до значајног повећања УВИ у ТКР тесту ( $p<0.01$ ).



**Слика 4.19.** Утицај различитих фактора на укупно време имобилности (УВИ) у тесту качења о реп код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

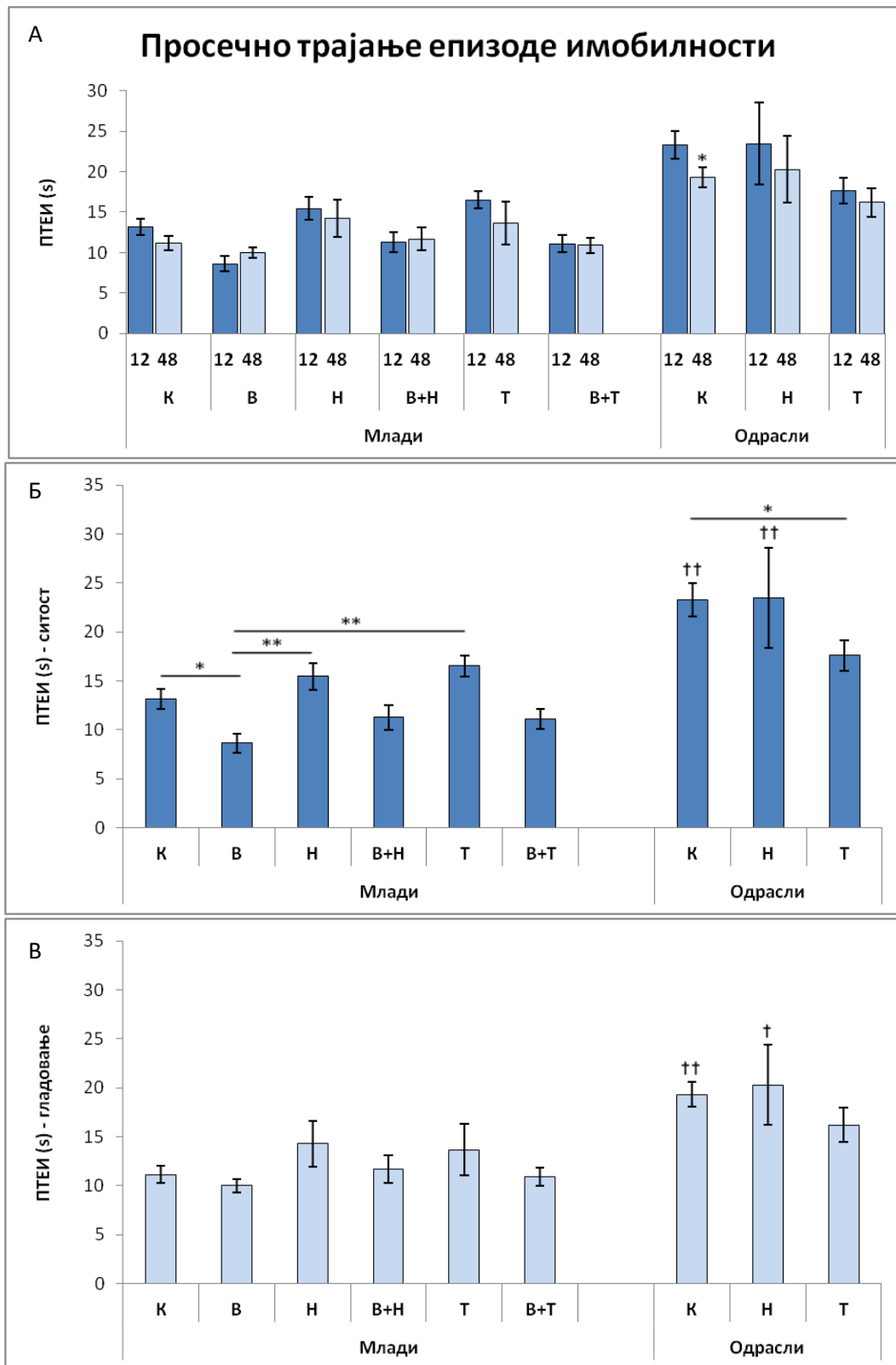
У Табели 4.19. приказано је да је најјачи (негативан) ефекат на УВИ остварен под утицајем старења ( $\eta^2=0.415$ ). Негативан утицај слабијег интензитета је остварила примена НД-а. Краткотрајно гладовање, као и пролонгирана физичка активност су имали позитиван утицај на вредност овог параметра. Анализа здружених ефеката показала је да постоје значајне интеракције између поменутих фактора. Уочена је негативна интеракција примене НД-а и старења, као и старења и краткотрајног гладовања на УВИ. Забележен је позитиван ефекат интеракције пролонгиране физичке активности и краткотрајне калоријске рестрикције на вредност овог параметра.

**Табела 4.19. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора укупно време имобилности (УВИ) у тесту качења о реп**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
		↑ 0,019	0,003	↓↓↓ 0,127	↑↑↑ 0,415
Интеракције између фактора	Н x С	В x Г	С x Г		
	↑↑ 0,064	↓↓ 0,053	↑↑ 0,045		

#### 4.1.3.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на просечно трајање епизоде имобилности (ПТЕИ) у тесту качења о реп узроковану рестрикцијом уноса хране

На Слици 4.20.А је приказан утицај краткотрајне калоријске рестрикције на просечно трајање епизоде имобилности (ПТЕИ) у ТКР тесту ( $F=7.336$ ,  $df=17$ ), након различитих хроничних протокола примењених у овој студији. Краткотрајно гладовање након хроничне примене ААС-а, самостално или у комбинацији са пролонгираним тренажним процесом, није доводило до значајних промена ПТЕИ. Једино у контролној групи одраслих животиња, вредност овог параметра је била значајно мања ( $p<0.05$ ) након калоријске рестрикције. На Слици 4.20.Б је представљен утицај хроничне примене ААС-а и дуготрајне физичке активности, у условима без калоријске рестрикције. Пролонгирана физичка активност је доводила до значајног смањења ПТЕИ ( $p<0.05$ ) у односу на контролну групу. Иако се примена ААС-а код младих животиња у седентерним групама није значајно разликовала у односу на контролну групу, негативан ефекат примене ААС-а на вредност овог параметра је уочен кроз статистички значајну разлику у односу на групу код које је самостално спровођен протокол физичке активности ( $p<0.01$ ). Код одраслих животиња је забележено значајно смањење ПТЕИ у групи која је била хронично изложена супрафизиолошким дозама ТЕ-а, у поређењу са контролном групом ( $p<0.05$ ), у условима без рестрикције уноса хране. Старење је доводило до значајног повећања вредности овог параметра у контролним условима ( $p<0.01$ ), као и након примене НД-а ( $p<0.01$ ), док примена ТЕ-а није остварила овакав ефекат. Ефекат краткотрајне калоријске рестрикције, након примењених шестонедељних протокола је представљен на Слици 4.20.В. Након краткотрајног гладовања, нису забележене разлике у ПТЕИ у популацији младих, као ни у популацији одраслих животиња. Старење је, у оваквим условима, доводило до значајног повећања вредности поменутог параметра у контролним условима ( $p<0.01$ ), као и након хроничне примене супрафизиолошких доза НД-а ( $p<0.05$ ). На просечно трајање епизоде имобилности, најјачи (негативан) ефекат је остварен под утицајем старења ( $\eta^2=0.127$ ), док је примена НД-а имала истоветни утицај слабијег интензитета, као што је представљено у Табели 4.20. Примена ТЕ-а није остварила значајан ефекат на промену ПТЕИ. Протокол пролонгиране физичке активности, као и краткотрајна калоријска рестрикција, остварили су позитиван ефекат на вредност овог параметра. Нису забележене значајне интеракције између испитивних фактора.



**Слика 4.20.** Утицај различитих фактора на просечно трајање епизоде имобилности (ПТЕИ) у тесту качења о реп код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.20. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора укупно просечно трајање епизде имобилности (ПТЕИ) у тесту качења о реп**

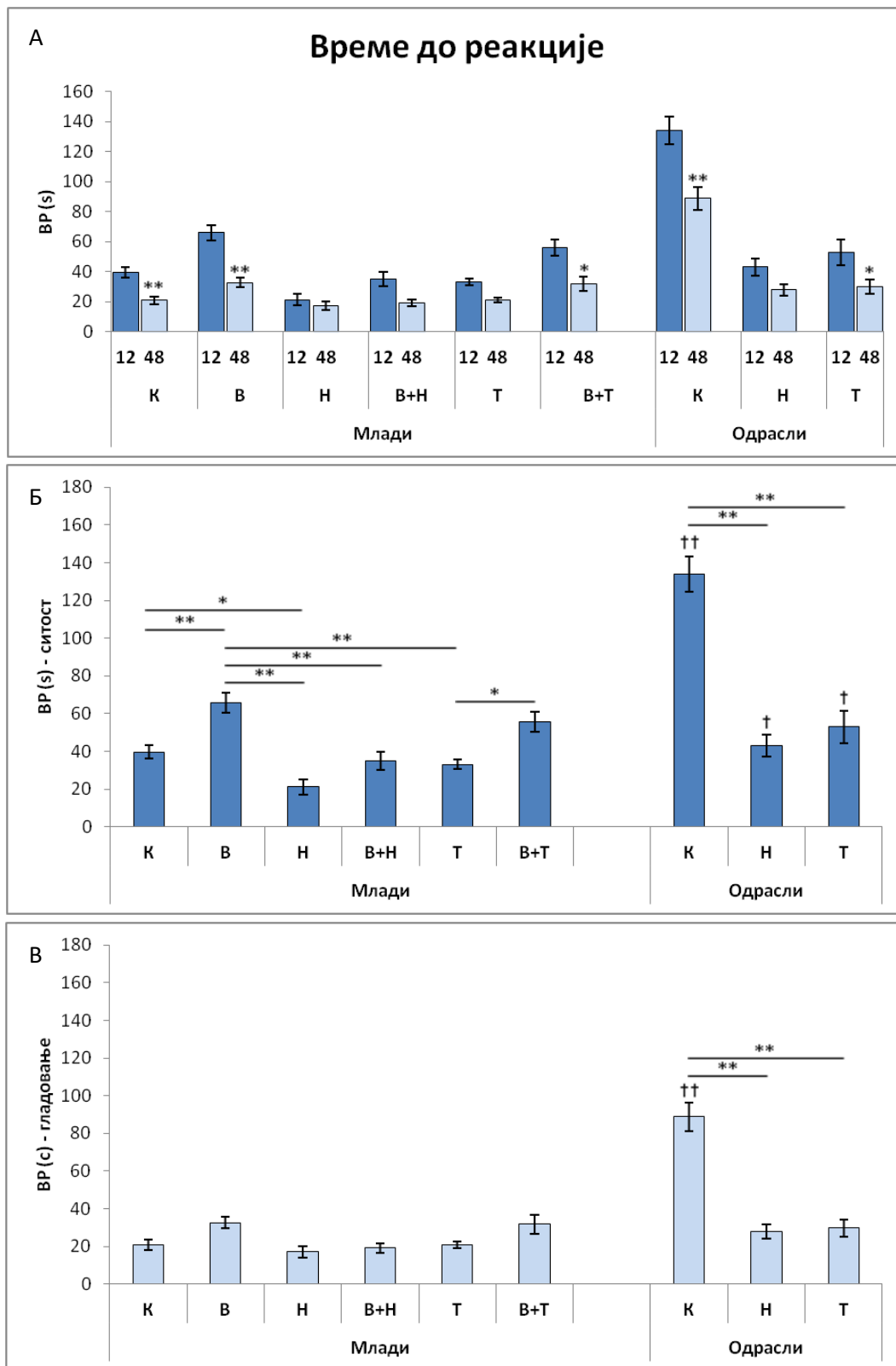
Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↑ 0,017	0,006	↓↓ 0,046	↑↑↑ 0,127	↓ 0,01

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

##### 4.1.4.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на време до реакције (ВР) у тесту вруће плоче узроковану рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна калоријска рестрикција је, након примењених протокола администрације ААС-а и пролонгираног тренажног процеса, доводила до значајних промена у времену до реакције (ВР) у ВП тесту ( $F=33.465$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.21.А. У обе старосне категорије, краткотрајно гладовање је у контролним условима доводило до значајног скраћења ВР ( $p<0.01$ ). Након спроведеног протокола калоријске рестрикције, у групи код које је спроведен третман супрафизиолошким дозама ТЕ-а је уочено значајно краће ВР код одраслих животиња ( $p<0.05$ ), док у популацији адолесцентних животиња овакав ефекат није забележен. Краткотрајно гладовање није доводило до значајних промена ВР код животиња третираних НД-ом (у обе старосне групе). Краткотрајна рестрикција калоријског уноса је у групи животиња код којих је спровођен пролонгирани тренажни процес доводила до значајног скраћења ВР ( $p<0.01$ ). У групи животиња код које је симултано спровођен протокол дуготрајне физичке активности уз супрафизиолошке дозе ТЕ-а, краткотрајна рестрикција калоријског уноса је значајно скратила ВР у ВП тесту ( $p<0.05$ ).

На Слици 4.21.Б је представљен утицај примењених шестонедељних протокола на ВР у условима без калоријске рестрикције. Третман супрафизиолошким дозама ТЕ-а је доводио до значајног скраћења ВР само код одраслих животиња ( $p<0.01$ ), док је третман НД-ом доводио до статистички значајног скраћења ВР у обе старосне групе. Пролонгирани тренажни процес је доводио до значајног повећања ВР у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат физичке активности у продужењу ВР је уочен и у комбинованој у поређењу са седентерном тестостеронском групом ( $p<0.05$ ). Старење је, у условима регуларног калоријског уноса, код контролне групе значајно продужавало ВР ( $p<0.01$ ). Такође, ВР код одраслих пацова је након третмана ААС-а било значајно дуже у односу на младе ( $p<0.05$ ).



**Слика 4.21. Утицај различитих фактора на време до реакције (VP) у тесту вруће плоче код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.



Након калоријске рестрикције, као што је представљено на Слици 4.21.В, код младих животиња нису уочене разлике између група код којих су спроведени хронични протоколи администрације ААС-с и тренажног процеса, док се код одраслих животиња третман ААС-а манифестовао кроз значајно скраћење ВР ( $p < 0.01$ ). Старење је, у условима калоријске рестрикције, у контролним условима доводило до значајног продужења ВР ( $p < 0.01$ ).

Табела 4.21. представља збирни приказ величине утицаја различитих фактора испитиваних у овој студији на време до реакције (ВР) у ВП тесту. Најјачи ефекат на промену (повећање) толеранције бола је настао као последица старења ( $\eta^2 = 0.21$ ). Јак утицај на смањење толеранције бола остварен је дејством хроничне администрације НД-а ( $\eta = 0.217$ ), док су калоријска рестрикција, као и примена ТЕ-а, такође, остварили негативан утицај на промену вредности овог параметра, који је био слабијег интензитета. Забележен је и позитиван утицај пролонгираног тренажног протокола на повећање толеранције бола. Анализа здружених ефеката показала је да постоји значајна интеракција између примене ТЕ-а и старења на смањење толеранције бола ( $\eta^2 = 0.083$ ).

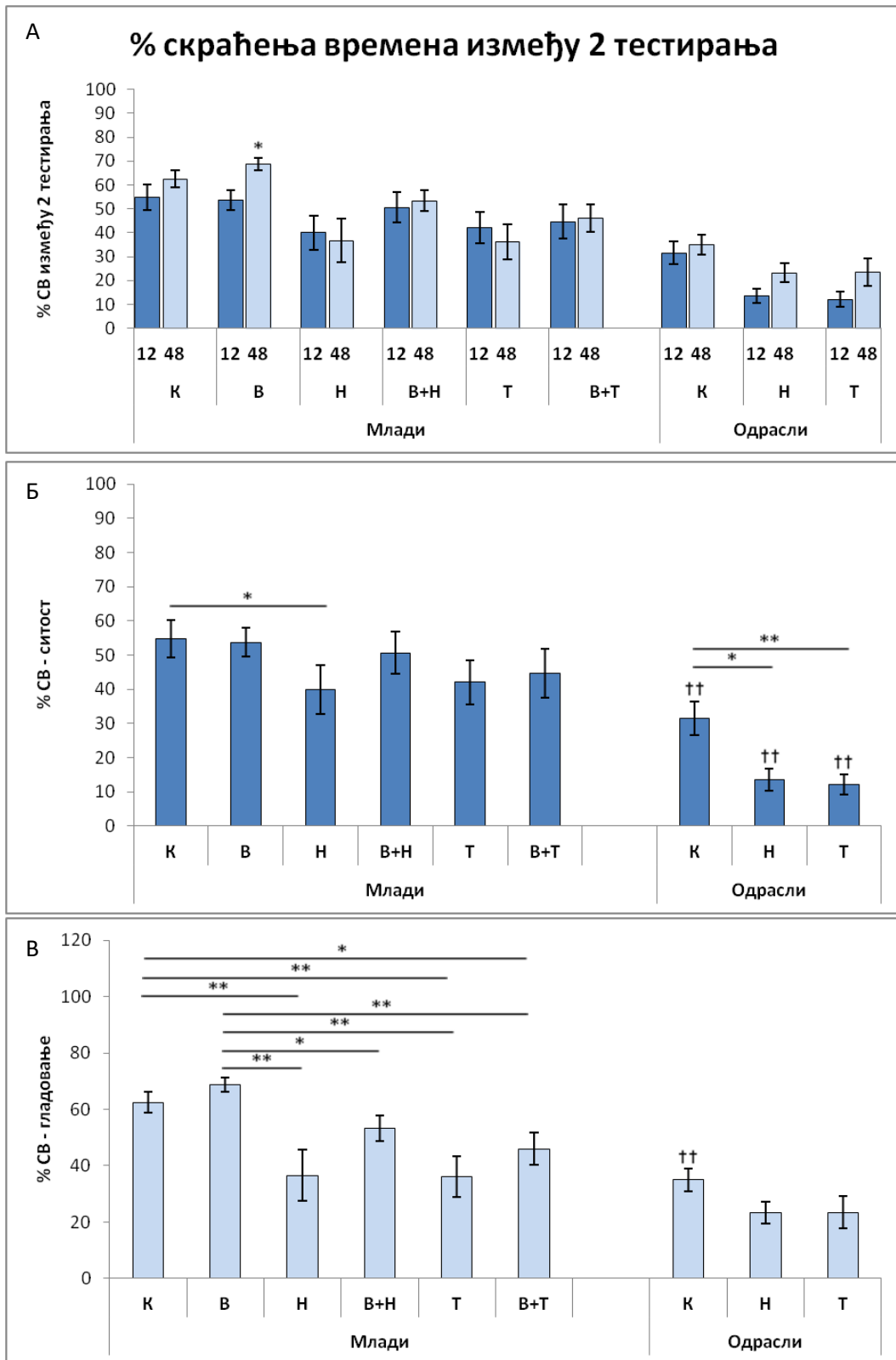
**Табела 4.21. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на време до реакције (ВР) у тесту вруће плоче**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,217	↓↓ 0,067	↑ 0,039	↑↑↑ 0,21	↓↓↓ 0,125
Интеракције између фактора	Т x С				
	↓↓ 0,083				

#### 4.1.5. Барнсов тест (БТ)

##### 4.1.5.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на проценат скраћења времена између два тестирања (% СВ) у БТ узроковану рестрикцијом уноса хране

На Слици 4.22.А представљен је проценат скраћења времена (% СВ) у БТ након калоријске рестрикције у различитим групама код којих су током шест недеља примењивани протоколи администрације супрафизиолошких доза ААС-с и пролонгираног тренажног процеса ( $F=9.537$ ,  $df=17$ ). Краткотрајна калоријска рестрикција је доводила до значајног повећања вредности % СВ ( $p<0.05$ ) једино у групи код које је самостално спровођен хронични тренажни процес. Краткотрајна рестрикција калоријског уноса није доводила до значајних промена у вредности овог параметра у контролним условима, као ни у условима хроничне администрације високих доза ААС-а, у обе старосне категорије. У условима регуларног калоријског уноса (Слика 4.22.Б), приказано је да је хронична апликација НД-а доводила до значајног смањења % СВ код младих, као и код одраслих животиња у поређењу са контролним условима ( $p<0.05$ ). Хронична примена ТЕ-а је, међутим, остварила ефекат једино код одраслих животиња, у виду значајног смањења вредности овог параметра у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). У условима без калоријске рестрикције, старење је утицало на значајно смањење % СВ ( $p<0.01$ ), у контролним условима, као и након хроничне администрације ААС-а. Након краткотрајног гладовања (Слика 4.22.В), примена високих доза ААС-а је доводила до значајног смањења % СВ у групи адолесцентних пацова ( $p<0.01$ ), док се код одраслих овакав ефекат није уочавао. Иако пролонгирани тренажни протокол, у условима калоријске рестрикције, није доводио до значајних промена % СВ у односу на контролну групу, позитиван ефекат вежбања је уочен у виду повећања % СВ у поређењу са седентерним групама третираним ААС-а ( $p<0.01$ ), као и са групама код којих су симултано са вежбањем администриране високе дозе НД-а ( $p<0.05$ ) и ТЕ ( $p<0.01$ ). Негативан ефекат примене ТЕ-а је у комбинованој групи забележен кроз значајно смањење % СВ у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). У условима калоријске рестрикције, у контролним условима старење је доводило до значајног смањења вредности овог параметра ( $p<0.01$ ), док примена ААС-с није значајно утицала на промену % СВ у односу на младе животиње.



**Слика 4.22.** Утицај различитих фактора на проценат скраћења времена између два тестирања (% СВ) у Барнсовом тесту код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - ††  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

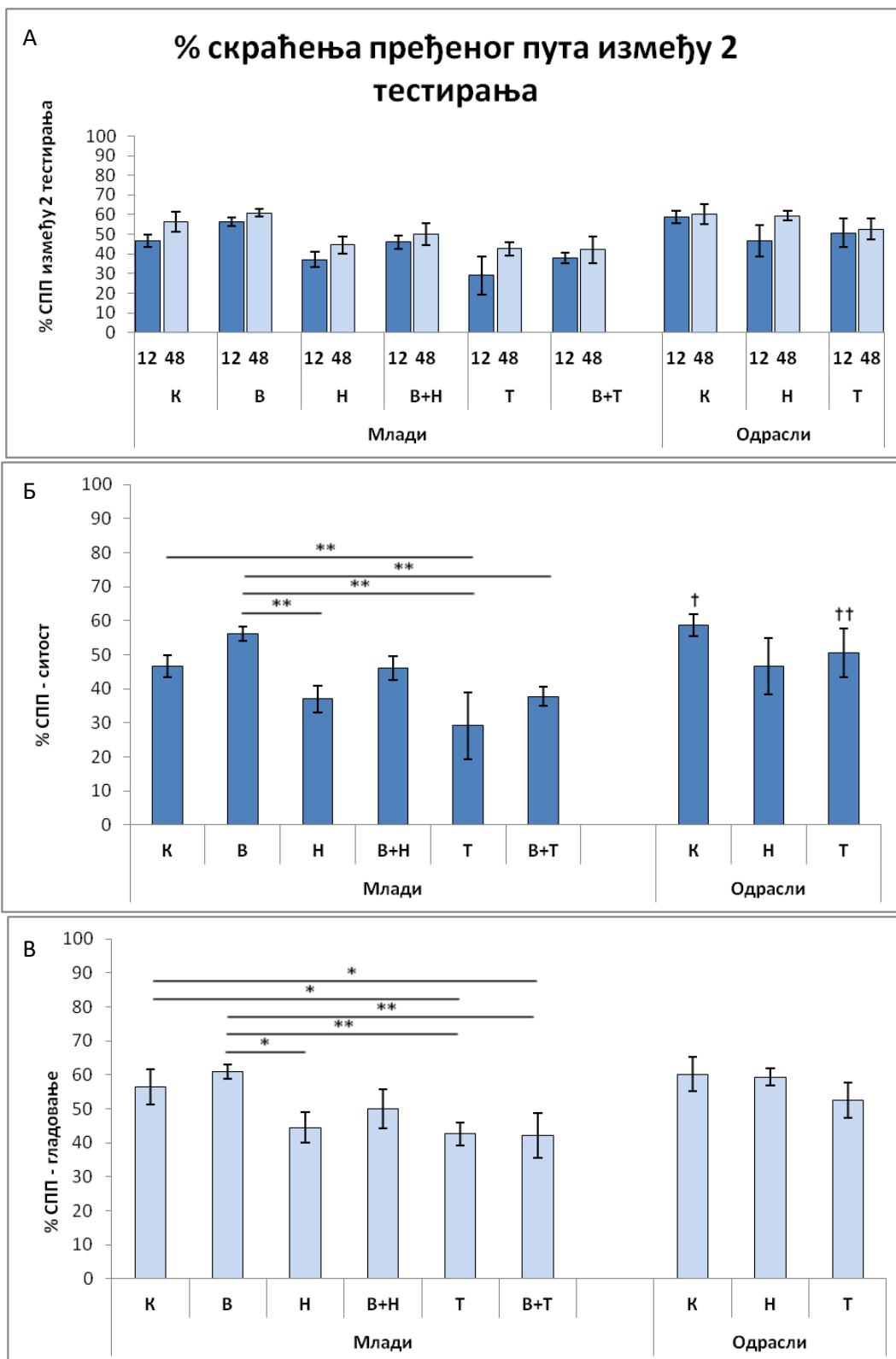
Утицај различитих фактора на проценат скраћења времена (% СВ) између два тестирања у Барнсовом тесту је представљен у Табели 4.22. Најјачи (негативан) утицај на % СВ је остварен као последица старења ( $\eta^2=0.165$ ). Примена НД-а, као и примена ТЕ-а, је такође остварила јак негативан ефекат на вредност овог параметра. Позитиван утицај на % СВ је остварен под утицајем пролонгиране физичке активности и под утицајем краткотрајног гладовања. Нису забележене значајне интеракције између поменутих фактора.

**Табела 4.22. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат скраћења времена између два тестирања (% СВ) у Барнсовом тесту**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓ 0,036	↓↓ 0,074	↑ 0,023	↓↓↓ 0,165	↑ 0,018

#### 4.1.5.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на проценат скраћења пређеног пута између два тестирања (% СПП) у БТ узроковану рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна калоријска рестрикција није имала статистички значајног ефекта на промену процента скраћења пређеног пута (% СПП) између два тестирања у Барнсовом лавиринту ни у једној од тестираних група ( $F=3.544$ ,  $df=17$ ), као што је приказано на Слици 4.23.А. Међутим, примењени протоколи хроничне администрације супрафизиолошких доза ААС-а и пролонгираног тренажног процеса су, у условима без рестрикције калоријског уноса, доводили до промена % СПП, као што је представљено на Слици 4.23.Б. Примена високих доза ТЕ-а је доводила до значајног смањења % СПП код младих животиња ( $p<0.01$ ), док се код одраслих овакав ефекат није испољавао. Иако пролонгирани тренажни протокол није значајно утицао на промену % СПП у поређењу са контролном групом, уочено је статистички значајно повећање поменутог параметра у поређењу са седентерним групама третираним високим дозама ААС ( $p<0.01$ ), као и у поређењу са комбинованом тестостеронском групом ( $p<0.01$ ). У условима регуларног калоријског уноса, старење је доводило до значајног повећања % СПП у контролним условима ( $p<0.05$ ), као и код пацова третираним супрафизиолошким дозама ТЕ-а ( $p<0.01$ ), у поређењу са младим животињама. Након калоријске рестрикције (Слика 4.23.В), забележено је значајно смањење % СПП у групама младих животиња третираних ТЕ-ом ( $p<0.05$ ) у поређењу са контролном групом, док се примена НД-а није манифестовала кроз значајну промену % СПП. Иако пролонгирана физичка активност, у условима након калоријске рестрикције, није доводила до значајне промене % СПП у односу на контролне услове, уочено је значајно повећање % СПП у поређењу са групом третираном НД-ом ( $p<0.05$ ), као и у поређењу са обе групе третиране ТЕ-ом ( $p<0.01$ ). Код одраслих животиња, у условима краткотрајног гладовања, нису забележене разлике % СПП у поређењу са контролном групом, као ни у поређењу са младим животињама.



**Слика 4.23.** Утицај различитих фактора на проценат скраћења пређеног пута између два тестирања (% СПП) у Барнсовом тесту код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Анализа утицаја различитих фактора испитиваних у овој студији на промену процента скраћења пређеног пута (% СПП) представљена је у Табели 4.23. На % СПП најјачи (позитиван) ефекат је остварен под утицајем старења ( $\eta^2=0.069$ ), док су протоколи примене супрафизиолошких доза ААС-а остварили негативан ефекат на промену вредности овог параметра. Краткотрајна рестрикција калоријског уноса и пролонгирана физичка активност су, попут старења, остварили позитиван утицај на промену % СПП у БТ. Нису уочене значајне интеракције између испитиваних фактора.

**Табела 4.23. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат скраћења пређеног пута између два тестирања (% СПП) у Барнсовом тесту**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓ 0,013	↓↓ 0,08	↑ 0,019	↑↑ 0,069	↑ 0,025

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

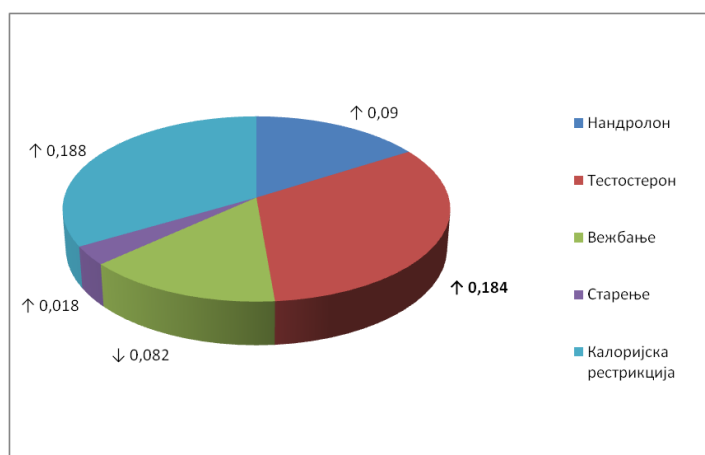
##### 4.1.6.1. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности

Анализа утицаја четири различита фактора представљених кроз вредности параметара за непосредну процену степена анксиозности, добијених у одговарајућим тестовима (ОП и УКЛ тест), је представљена у Табели 4.24. Као што је представљено на Слици 4.24., 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 ( $\eta^2=1.184$ ).

**Табела 4.24. Величина утицаја различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности**

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )	С ( $\eta^2$ )	Г ( $\eta^2$ )
Укупно време проведено у ЦЗ у тесту ОП	0,151	0,174	0,107	0,001	0,265
Број улазака у ЦЗ у тесту ОП	0,090	0,119	0,011	0,001	0,232
Укупно време проведено у ОК у тесту УКЛ	0,046	0,266	0,203	0,023	0,157
Број улазака у ОК у тесту УКЛ	0,074	0,177	0,010	0,049	0,101

Слика 4.24. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена анксиозности.





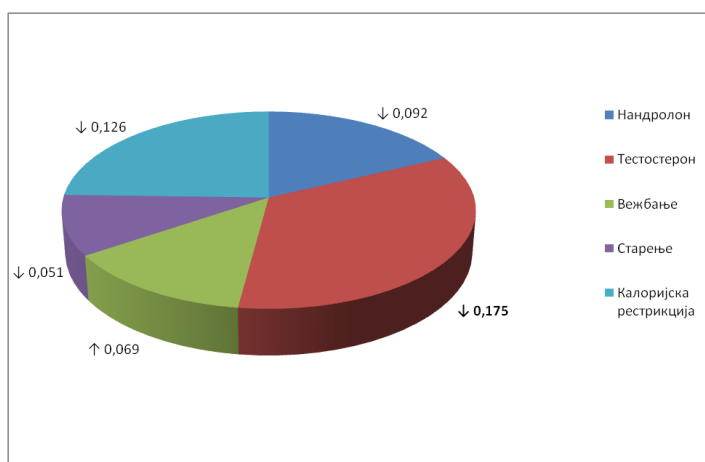
#### 4.1.6.2. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену локомоторне активности

У Табели 4.25. је представљена анализа утицаја шест различитих фактора представљених кроз вредности параметара за процену локомоторне активности, добијених у одговарајућим тестовима (ОП и УКЛ тест). Као што је представљено на Слици 4.25., 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 ( $\eta^2=1.175$ ).

**Табела 4.25. Величина утицаја различитих фактора на параметре локомоторне активности**

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )	С ( $\eta^2$ )	Г ( $\eta^2$ )
Укупни пређени пут у тесту ОП	0,133	0,183	0,033	0,111	0,213
Средња брзина кретања у тесту ОП	0,133	0,183	0,033	0,111	0,213
% времена кретања у тесту ОП	0,129	0,156	0,100	0,001	0,158
Укупни пређени пут у тесту УКЛ	0,017	0,208	0,101	0,050	0,082
Средња брзина кретања у тесту УКЛ	0,081	0,208	0,082	0,007	0,045
% времена кретања у тесту УКЛ	0,058	0,113	0,067	0,025	0,046

Слика 4.25. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену локомоторне активности.



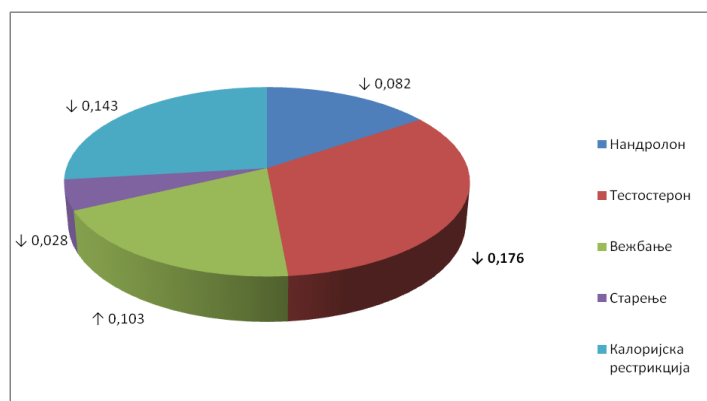
#### 4.1.6.3. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену експлоративне активности

Као што је представљено у Табели 4.26., четири параметра добијена у ОП и УКЛ тесту су коришћена за процену величине утицаја различитих фактора за процену експлоративне активности. На Слици 4.26. је представљена просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену експлоративне активности. Најјачи (негативан) ефекат остварен под утицајем хроничне примене ТЕ-а ( $\eta^2=1.176$ ).

**Табела 4.26. Величина утицаја различитих фактора на параметре експлоративне активности.**

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )	С ( $\eta^2$ )	Г ( $\eta^2$ )
Број усправљања у тесту ОП	0,060	0,055	0,126	0,091	0,155
Број усправљања у тесту УКЛ	0,043	0,223	0,063	0,011	0,143
Број нагињања у тесту УКЛ	0,124	0,168	0,109	0,003	0,108
Укупна експлоративна активност у тесту УКЛ	0,101	0,258	0,114	0,007	0,167

**Слика 4.26. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену експлоративне активности.**



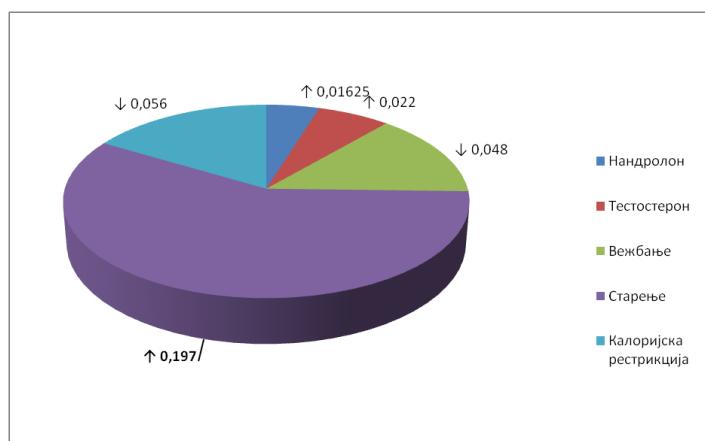
#### 4.1.6.4. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену степена депресивности

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )	С ( $\eta^2$ )	Г ( $\eta^2$ )
Време до појаве прве имобилности у ТКР	0,004	0,08	0,017	0,213	0,094
Број епизода имобилности у ТКР	0,025	-	0,002	0,033	0,019
Укупно трајање имобилности у ТКР	0,019	0,003	0,127	0,415	0,101
Просечно трајање епизоде имобилности у ТКР	0,017	0,006	0,046	0,128	0,010

Анализа утицаја четири различита фактора представљених кроз вредности параметара за непосредну процену степена депресивности, добијених у ТКР тесту, је представљена у Табели 4.27. Као што је представљено на Слици 4.27., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена депресивности показује да је најјачи (негативан) ефекат остварен под утицајем старења ( $\eta^2=1.197$ ).

**Табела 4.27. Величина утицаја различитих фактора на параметре за процену степена депресивности.**

**Слика 4.27. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену степена депресивности**



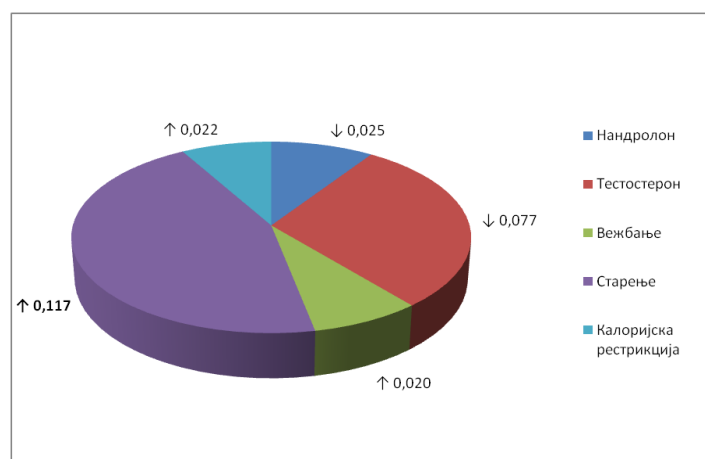
#### 4.1.6.5. Анализа величине утицаја различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности

У Табели 4.28. су представљене вредности два параметра, добијених у Барнсовом тесту, за процену когнитивних способности. Као што је представљено на Слици 4.28., анализа просечне величине ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности показује да је најјачи (позитиван) ефекат остварен под утицајем старења ( $\eta^2=0.117$ ).

**Табела 4.28. Величина утицаја различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности.**

Параметар	Н ( $\eta^2$ )	Т ( $\eta^2$ )	В ( $\eta^2$ )	С ( $\eta^2$ )	Г ( $\eta^2$ )
% скраћења растојања у Барнсовом тесту	0,036	0,074	0,023	0,165	0,018
% скраћења времена у Барнсовом тесту	0,013	0,080	0,019	0,069	0,025

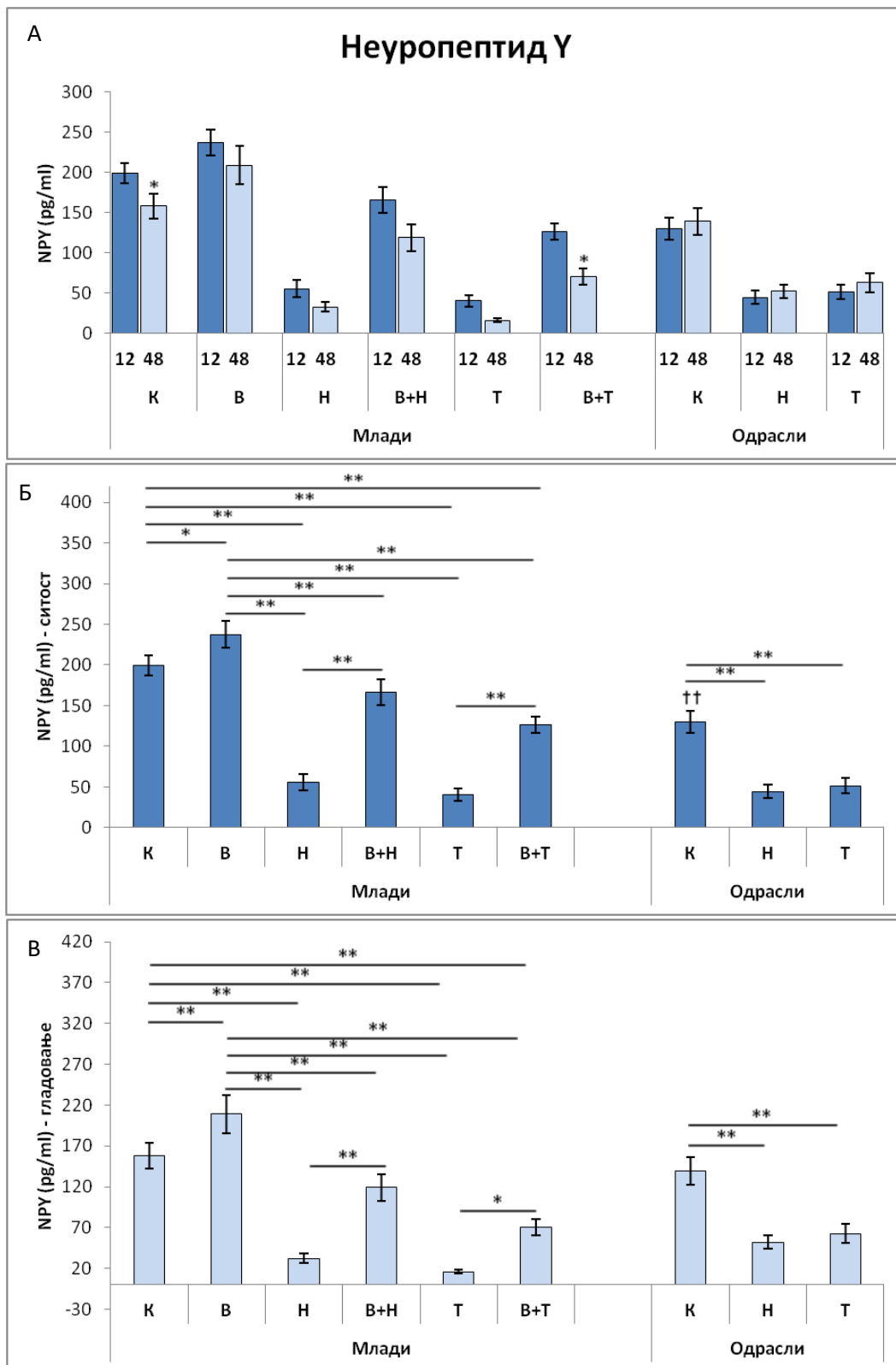
**Слика 4.28. Просечна величина ефеката ( $\eta^2$ ) различитих фактора на параметре за процену когнитивних способности**



## 4.2. Хормонски статус и вредности гликемије

### 4.2.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију неуропептида Y (NPY) у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране

Концентрација неуропептида Y (NPY) у серуму је била значајно промењена под утицајем краткотрајне калоријске рестрикције након примењених хроничних протокола администрације супрафизиолошких доза ААС-а и пролонгираног тренажног процеса, као што је представљено на Слици 4.29.А ( $F=19.060$ ,  $df=17$ ). У групи младих животиња, краткотрајно гладовање је доводило до смањења концентрације NPY у серуму, које је било статистички значајно једино у контролној групи и у групи код које је симултано са хроничном администрацијом ТЕ-а спровођен и тренажни процес ( $p<0.05$ ). Код одраслих животиња, краткотрајна калоријска рестрикција није узроковала промене у концентрацији NPY у серуму у контролним условима, као ни код пацова третираним ААС-а. Слика 4.29.Б приказује утицај примењених хроничних протокола на концентрације NPY у серуму у условима без калоријске рестрикције. Дуготрајна примена високих доза ААС-с је доводила до статистички значајног смањења концентрације NPY у серуму код пацова обе старосне категорије ( $p<0.01$ ). Пролонгирани тренажни протокол је, у условима регуларног приступа храни, доводио до значајног повећања концентрације NPY у серуму ( $p<0.05$ ). Позитиван ефекат вежбања на повећање серумске концентрације овог неуропептида је био уочен и у комбинованим у поређењу са седентерним групама третираних ААС-а ( $p<0.01$ ). Ипак, негативан ефекат примене супрафизиолошких доза ТЕ-а је био манифестан кроз статистички значајно смањење серумске концентрације NPY у комбинованој групи у поређењу са контролном ( $p<0.01$ ). У условима без калоријске рестрикције, старење је доводило до значајног смањења концентрације NPY у серуму ( $p<0.01$ ), у контролним условима, док се код пацова третираним ААС-а вредност овог параметра није значајно разликовала у односу на младе животиње.



Слика 4.29. Утицај различитих фактора на концентрацију неуропептида Y (NPY) у серуму код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Услед краткотрајне рестрикције калоријског уноса, дошло је до значајних промена у концентрацији NPY у серуму, као што се може видети на Слици 4.29.В. Примена супрафизиолошких доза ААС-а је код младих, као и код одраслих пацова, доводила до значајног смањења концентрације NPY у серуму ( $p < 0.01$ ). Тренажни процес је, након шест недеља спровођења, у условима након краткотрајног гладовања изазвао значајно повећање серумског нивоа NPY ( $p < 0.01$ ), у поређењу са контролном групом. Позитиван ефекат вежбања на повећање серумске концентрације овог неуропептида је био уочен и у комбинованим у поређењу са седентерним групама третираних НД-ом ( $p < 0.01$ ) и ТЕ-ом ( $p < 0.05$ ). У условима краткотрајног гладовања је, такође, уочен негативан ефекат ТЕ-а на смањење концентрације NPY у серуму у комбинованој у поређењу са контролном групом ( $p < 0.01$ ). У условима краткотрајног гладовања, старење није испољило значајне разлике у серумским нивоима NPY, у односу на младе животиње.

Величина утицаја појединих фактора испитиваних у овој студији на промену серумске концентрације NPY је представљена у Табели 4.29. Негативан утицај најјачег интензитета је остварила примена ТЕ-а ( $\eta^2 = 0.205$ ), док су и примена НД-а, као и гладовање, остварили негативан утицај слабијег интензитета. Примењени протокол физичке активности је остварио позитиван утицај на вредност овог параметра. Старење није имало значајног утицаја на промену серумске концентрације NPY. Уочене су значајне интеракција између испитиваних фактора.

**Табела 4.29. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора концентрацију неуропептида Y (NPY) у серуму**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,101	↓↓↓ 0,205	↑↑↑ 0,12	< 0,001	↓ 0,0145
Интеракције између фактора	Н x С	Н x В	С x Г	В x Г	Т x Г
	0,004	↑ 0,013	0,009	0,002	0,008
	Н x В x Г	Т x В x Г			
	0,001	0,002			

#### 4.2.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију алфа-меланостимулишућег хормона ( $\alpha$ MSH) у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране

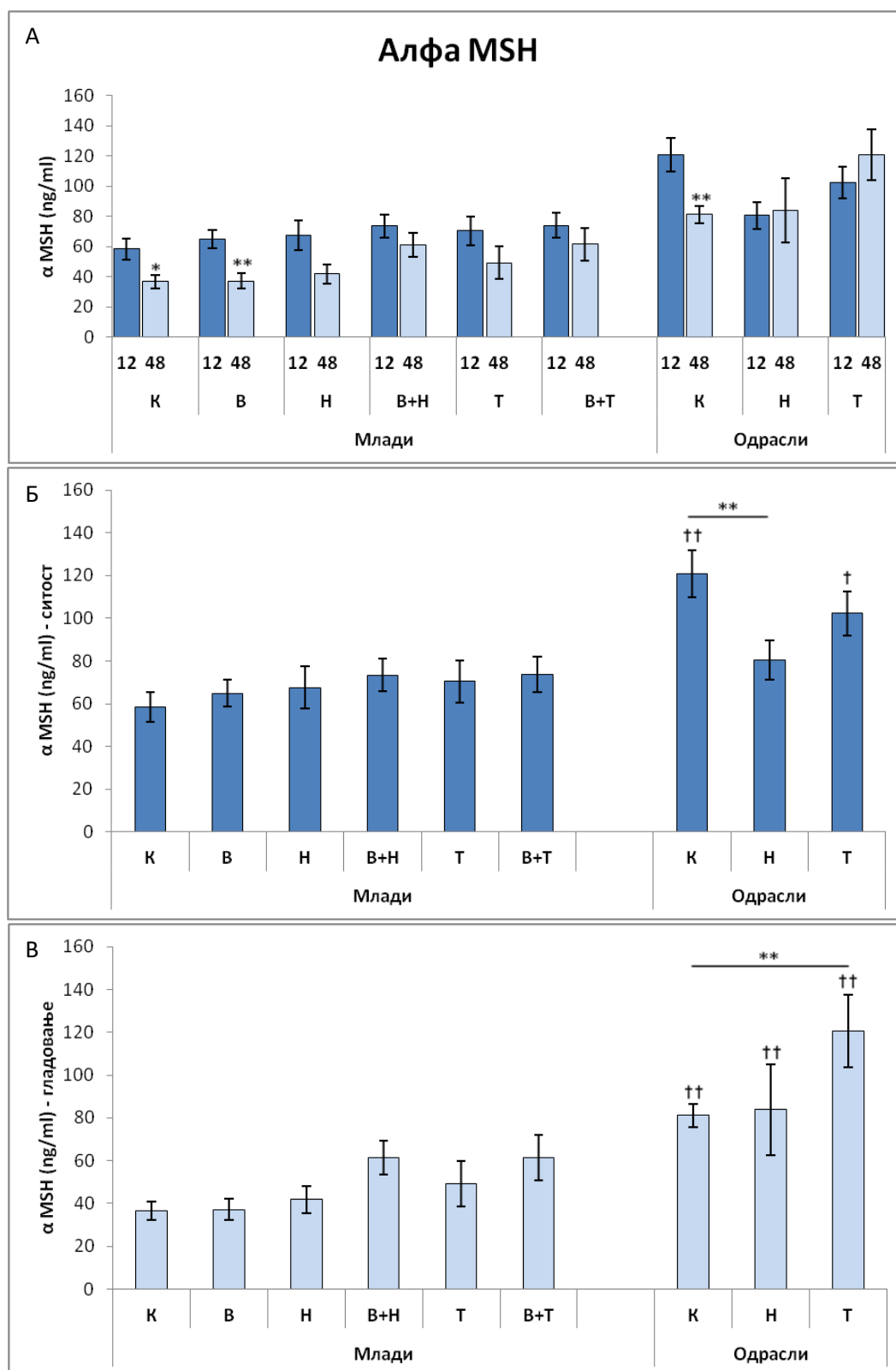
Као што је представљено на Слици 4.30.А, краткотрајна калоријска рестрикција је утицала на значајне промене серумске концентрације  $\alpha$ MSH ( $F=8.063$ ,  $df=17$ ). У контролним условима, краткотрајно гладовање је код адолесцентних ( $p<0.05$ ), као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ), значајно смањивало концентрацију  $\alpha$ MSH у серуму. Сличан ефекат је уочен и након шестонедељног протокола ( $p<0.01$ ). Примена ААС-а је код адолесцентних животиња доводила до смањења серумског  $\alpha$ MSH (које није било статистички значајно), док се концентрација  $\alpha$ MSH, код одраслих пацова, није мењала са гладовањем.

На Слици 4.30.Б је представљен утицај хроничних протокола администрације ААС-а и пролонгираног тренажног процеса у условима регуларног приступа храни. Код младих животиња, ниједан од наведених протокола није узроковао значајне промене серумског нивоа  $\alpha$ MSH. Шестонедељна администрација високих доза НД-а је, код одраслих пацова, доводила до значајног смањења вредности овог параметра ( $p<0.01$ ). Концентрација  $\alpha$ MSH у серуму се повећавала са старењем ( $p<0.01$ ), у контролним условима, као и након пролонгиране администрације ТЕ-а ( $p<0.05$ ).

Као што се може видети на Слици 4.30.В, током краткотрајне рестрикције уноса хране, промене у серумским вредностима  $\alpha$ MSH се нису значајно разликовале у односу на контролне услове. Тако су вредности  $\alpha$ MSH код адолесцентних животиња биле значајно мање него код одраслих животиња ( $p<0.01$ ). Ниједан од наведених хроничних протокола није доводио до статистички значајних промена вредности  $\alpha$ MSH код младих пацова, док је администрација супрафизиолошких доза ТЕ-а, узроковала значајно повећање нивоа  $\alpha$ MSH у серуму код одраслих пацова ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.30 је приказана величина утицаја појединих фактора испитиваних у овој студији на промену серумске концентрације  $\alpha$ MSH. Негативан утицај најјачег интензитета је остварен је под утицаје старења ( $\eta^2=0.216$ ), док су примена НД-а, као и ТЕ-а, остварили негативан утицај слабијег интензитета. Примењени протокол физичке активности, као и краткотрајна калоријска рестрикција, је остварио позитиван утицај на вредност овог хормона. Уочене су значајне интеракција између испитиваних фактора.





**Слика 4.30. Утицај различитих фактора на концентрацију алфа-меланостимулишућег хормона ( $\alpha$ MSH) у серуму код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - †  $p < 0.05$ , ††  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.**

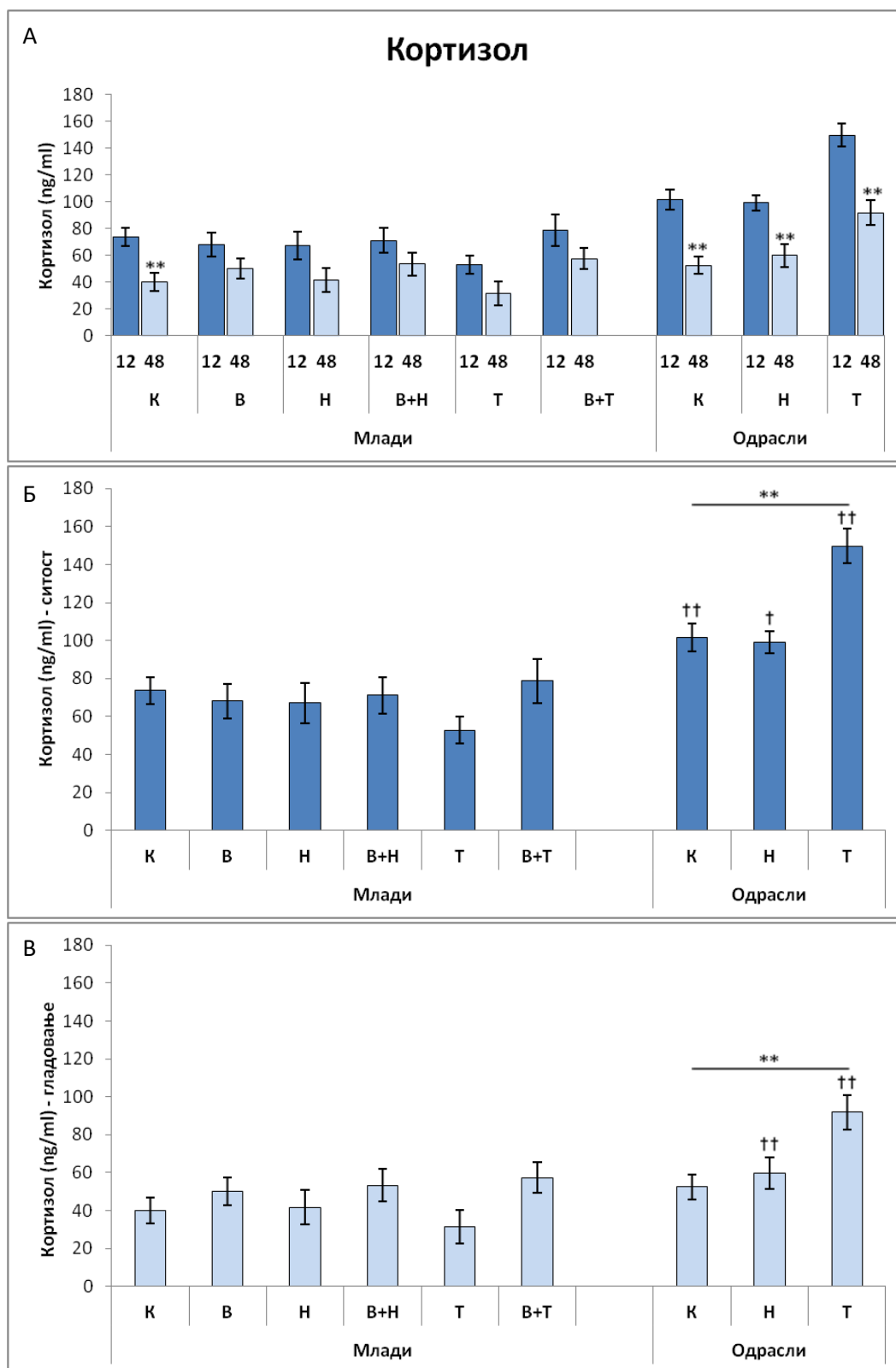
**Табела 4.30. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора концентрацију алфа-меланостимулишућег хормона ( $\alpha$ MSH) у серуму**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	0,003	↑↑ 0,033	0,009	↑↑↑ 0,216	↓↓ 0,037
Интеракције између фактора	Н x С	Н x В	Н x Г	С x Г	В x Г
	↑ 0,022	0,002	0,008	0,008	0,001
	Т x С	Т x Г	Н x С x Г	Н x Е x Г	Т x С x Г
	0,002	↑ 0,023	0,007	0,002	↑ 0,015
	Т x В x Г				
	0,001				

### 4.2.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију кортизола у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна рестрикција калоријског уноса је, као што се може видети на Слици 4.31.А, доводила до значајних промена серумске концентрације кортизола ( $F=9.998$ ,  $df=17$ ). У популацији адолесцентних животиња, краткотрајно гладовање је доводило до смањења нивоа кортизола у серуму (статистички значајно само у контролној групи,  $p<0.01$ ). Код одраслих животиња, поред контролних услова, и након хроничне примене ААС-а је дошло до значајног смањења концентрације кортизола у серуму у условима гладовања ( $p<0.01$ ). У условима без калоријске рестрикције (Слика 4.31.Б), ниједан од примењених хроничних протокола није доводио до статистички значајних промена концентрације кортизола у серуму младих животиња. Међутим, код одраслих пацова, серумски ниво овог хормона је био значајно већи него код младих животиња, како у контролним условима ( $p<0.01$ ), тако и након хроничне администрације ААС-а ( $p<0.05$  за НД и  $p<0.01$  за ТЕ). Примена супрафизиолошких доза тестостерона је, код одраслих животиња, доводила до значајног повећања концентрације кортизола у серуму у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ). У условима након краткотрајне рестрикције уноса хране (Слика 4.31.В), није било значајних промена у вредностима серумског кортизола након спровођења хроничних протокола администрације супрафизиолошким дозама ААС-а и пролонгираног тренажног процеса, код младих животиња. Иако се у контролним условима, вредности серумског кортизола код одраслих животиња нису разликовале у односу на адолесценте, пролонгирана примена ААС-а је доводила до значајног повећања нивоа кортизола ( $p<0.01$ ), у поређењу са младим животињама. Администрација ТЕ-а је за резултат имала значајно повећање ( $p<0.01$ ) концентрације овог хормона у серуму у односу на контролну групу одраслих животиња.

У Табели 4.31. приказана је величина утицаја појединих фактора испитиваних у овој студији на промену серумске концентрације кортизола. Најјачи утицај (негативан) је остварен под утицајем старења ( $\eta^2=0.227$ ). За разлику од слабог, негативног, утицаја ААС-а, гладовање и физичка активност су имали значајан позитиван ефекат на ниво кортизола у серуму. Забележене су бројне интеракције између појединачних фактора.



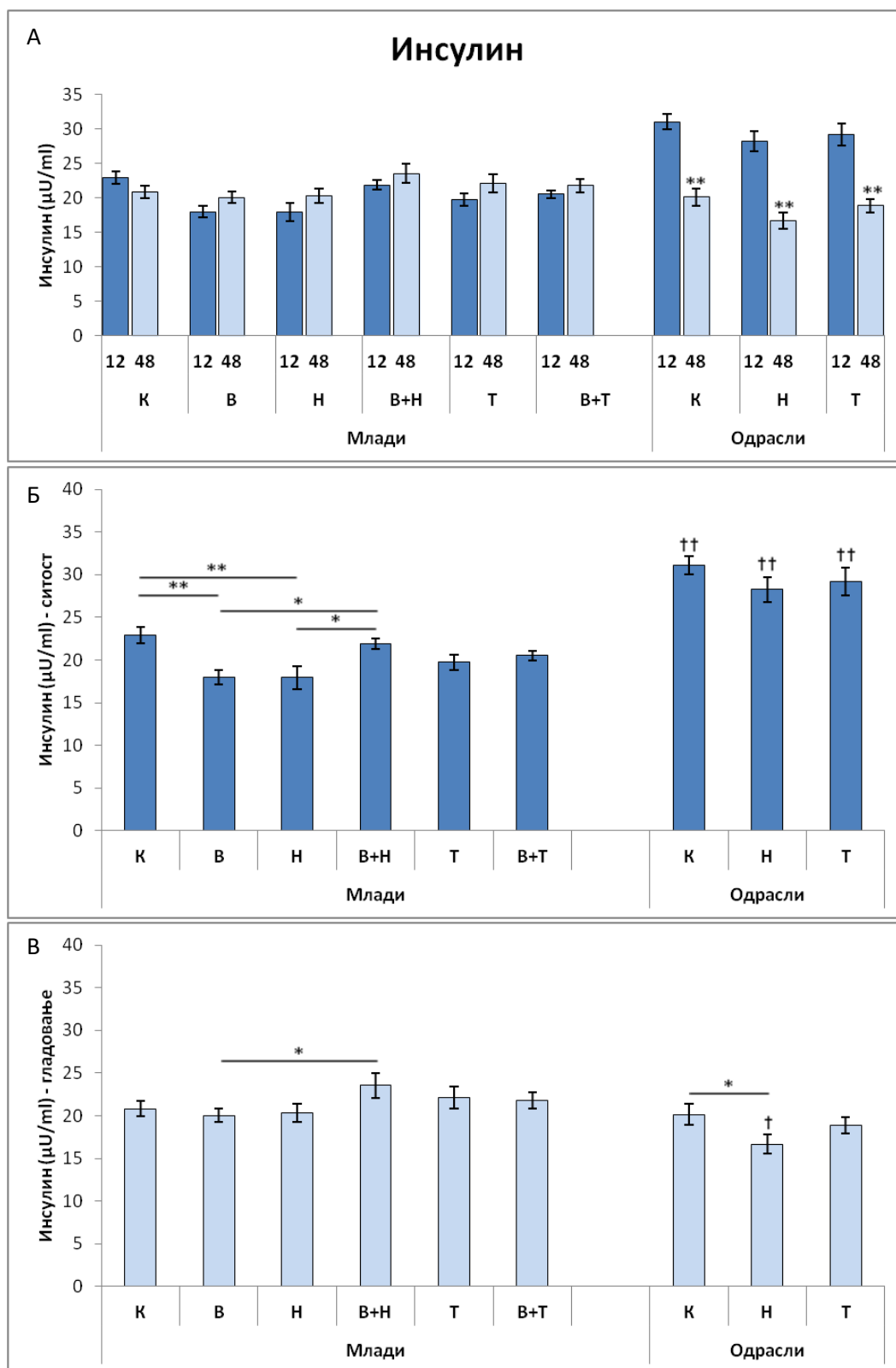
**Слика 4.31. Утицај различитих фактора на концентрацију кортизола у серуму код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканат (n = 8); Т = тестостерон-енанат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

**Табела 4.31. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора концентрацију кортизола у серуму**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	0,004	↑↑ 0,073	0,026	↑↑↑ 0,227	↓↓↓ 0,198
Интеракције између фактора	Н x С	Н x Г	С x Г	Е x Г	Т x С
	0,008	0,002	↑ 0,013	0,003	↑↑↑ 0,128
	Т x В	Т x Г	Н x С x Г	Т x С x Г	Т x В x Г
	↑ 0,021	0,001	0,001	0,005	0,002

#### 4.2.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију инсулина у серуму узроковану рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна калоријска рестрикција је показала значајан утицај на серумску концентрацију инсулина ( $F=13.456$ ,  $df=17$ ), као што је представљено на Слици 4.32.А. Код одраслих животиња, краткотрајно гладовање је доводило до значајног смањења нивоа инсулина у серуму, како у контролним условима, тако и након хроничне администрације високих доза ААС-а ( $p<0.01$ ). Код адолесцентних животиња, међутим, нису забележене промене у концентрацији инсулина у серуму под утицајем калоријске рестрикције. У условима без рестрикције уноса хране (Слика 4.32.Б), примена НД-а је узроковала значајно смањење серумског нивоа инсулина у поређењу са контролном групом ( $p<0.01$ ), док администрација ТЕ-а није значајно мењала концентрацију инсулина. Пролонгирани протокол програмиране физичке активности је доводио до значајног смањења вредности инсулина у серуму у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ), али је симултана администрација НД-а заједно са физичком активношћу, доводила до значајног повећања вредности овог хормона у серуму, како у односу на седентерну нандролонску групу ( $p<0.05$ ), тако и у односу на групу код које је самостално спровођен тренажни протокол ( $p<0.05$ ). Иако код одраслих животиња није било утицаја ААС-а на вредности инсулина у серуму у односу на контролну групу, све групе су имале значајно веће вредности инсулина у односу на одговарајуће групе у адолесцентској популацији ( $p<0.01$ ). Слика 4.32.В приказује ефекат примењених хроничних протокола у условима краткотрајне калоријске рестрикције. Као и у условима регуларног уноса хране, код младих животиња, и овде се уочава значајно повећање концентрације инсулина у серуму у комбинованој нандролонској у односу на групу код које је самостално спровођен тренажни процес ( $p<0.05$ ), док остали протоколи нису остварили значајан утицај на ниво инсулина и серуму. Иако између различитих старосних категорија није уочена разлика у вредностима инсулина у серуму у контролним условима, примена супрафизиолошких доза НД-а је код одраслих животиња доводила до значајног смањења концентрације инсулина, како у односу на контролне вредности ( $p<0.05$ ), тако и у односу на одговарајућу адолесцентску групу ( $p<0.05$ ). Примена ТЕ-а није имала значајног утицаја на серумски ниво инсулина код одраслих животиња.



**Слика 4.32. Утицај различитих фактора на концентрацију инсулина у серуму код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканат (n = 8); Т = тестостерон-енанат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - †  $p < 0.05$ , ††  $p < 0.01$ . А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

Као што се може видети у Табели 4.32., гладовње је имало најјачи утицај на промену вредности инсулина у серуму ( $\eta^2=0.141$ ). Краткотрајна калоријска рестрикција је, такође, значајно смањивала ниво инсулина, док примена ААС-а, као ни протокол вежбања, нису значајно утицали на вредност овог хормона. Анализа здружених ефеката испииваних фактора показује да постоји значајна интеракција између ефекта старења и краткотрајне калоријске рестрикције, која је остварила јак негативан утицај на вредност инсулина у серуму ( $\eta^2=0.265$ ).

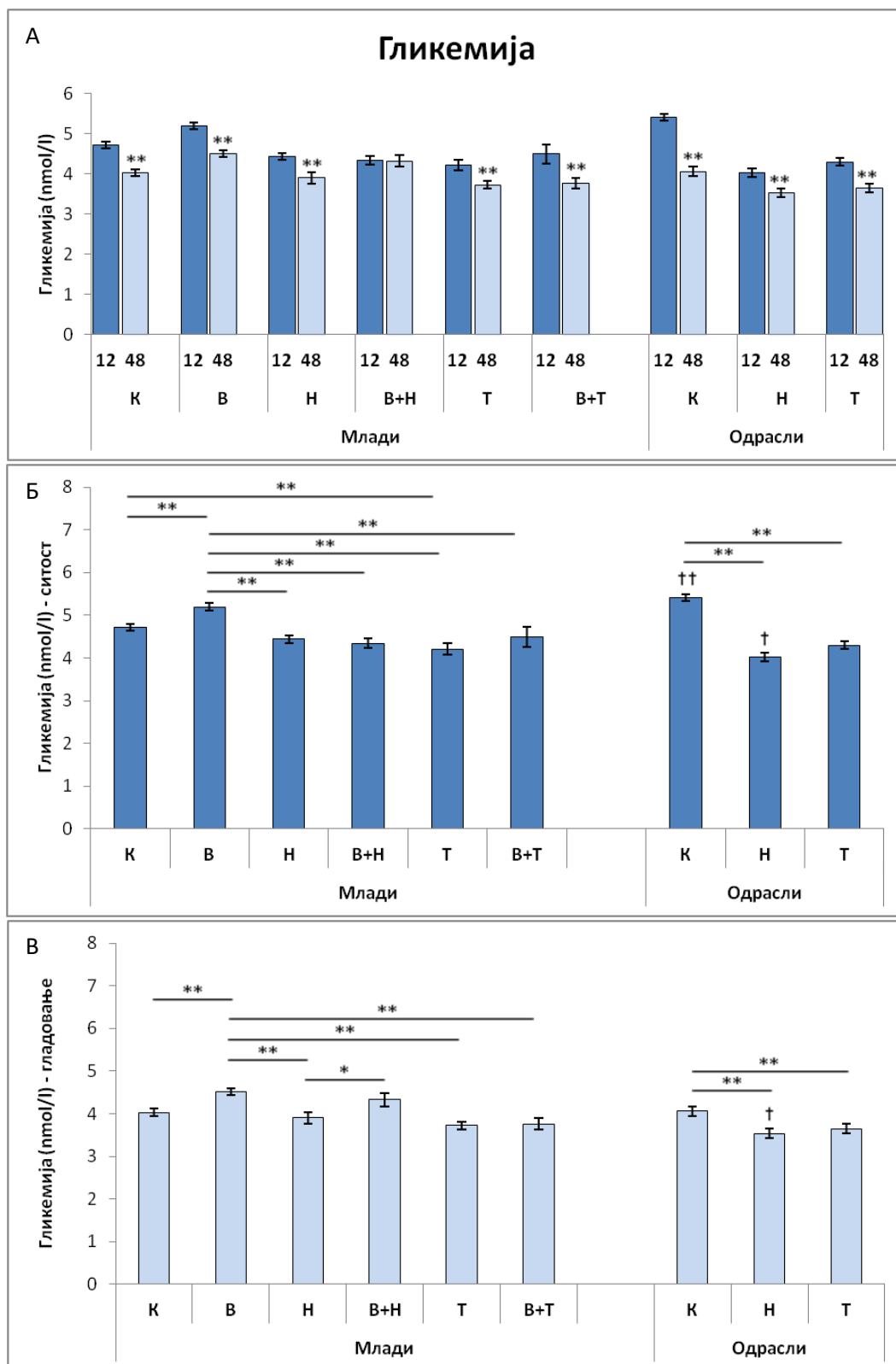
**Табела 4.32. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора концентрацију инсулина у серуму**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	0,002	< 0,001	0,004	↑↑↑ 0,098	↑↑↑ 0,141
Интеракције између фактора	Н x В	С x Г	В x Г	Т x С	Т x В
	↑↑ 0,068	↑↑↑ 0,265	0,002	0,001	0,002
	Т x Г	Н x С x Г	Н x В x Г	Т x С x Г	Т x Е x Г
	0,001	0,009	0,006	0,003	0,007



#### 4.2.5. Утицај андрогених анаболичких стероида на концентрацију глукозе у крви узроковану рестрикцијом уноса хране

Краткотрајна рестрикција уноса хране је утицала на значајне промене нивоа глукозе у крви, као што је представљено на Слици 4.33.А ( $F=23.301$ ,  $df=17$ ). Краткотрајно гладовање је доводило до статистички значајног смањења нивоа глукозе у крви ( $p<0.01$ ) у свим групама, осим код младих животиња код којих је симултано спровођен протокол администрације супрафизиолошких доза НД-а и пролонгираног тренажног процеса. На слици 4.33.Б је приказан утицај примењених шестонедељних третмана на гликемију, у условима без калоријске рестрикције. Хронична примена ТЕ-а је, у обе старосне групе, доводила до статистички значајног смањења концентрације глукозе у крви ( $p<0.01$ ), док је примена НД-а смањивала ниво глукозе једино код одраслих пацова ( $p<0.01$ ). Код младих животиња, пролонгирани тренажни процес је доводио до значајног повећања концентрације глукозе у крви ( $p<0.01$ ), у односу на контролну групу. Међутим, у комбинованим групама, доминантан је био хипогликемијски ефекат ААС-а, тако да је постојала значајна разлика у поређењу са групом код које је самостално спровођен тренажни процес ( $p<0.01$ ). Поређењем старосних група, показано је да је у контролним условима ниво глукозе у крви био значајно већи у групи одраслих у поређењу са младим ( $p<0.01$ ), док је примена ААС-а код старих изазвала значајно смањење гликемије једино у нандролонској, у поређењу са одговарајућом адолесцентском групом ( $p<0.05$ ). У условима калоријске рестрикције, ефекти примењених протокола су се одразили на значајне разлике у нивоима глукозе у крви, међу испитиваним групама животињама (Слика 4.33.В). Хронична примена ААС-а је, у условима краткотрајног гладовања, доводила до значајног смањења гликемије ( $p<0.01$ ), једино код одраслих животиња, док се код адолесцентских пацова овакав ефекат није уочавао. Тренажни протокол је, након краткотрајног гладовања, и даље имао утицаја на повећање нивоа глукозе у крви ( $p<0.01$ ), у односу на контролне нивое. Позитиван утицај тренажног процеса на повећање гликемије је био уочен у комбинованој нандролонској, у поређењу са седентерном групом ( $p<0.05$ ), док је у комбинованој тестостеронској групи, ефекат ТЕ-а био доминантнији, тако да није забележена разлика у односу на седентерну тестостеронску групу.



**Слика 4.33. Утицај различитих фактора на концентрацију глукозе у крви код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). 12 и 48 представљају број сати од последњег уноса хране *ad libitum*. Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01. А – утицај гладовања; Б – без рестрикције уноса хране; В – са рестрикцијом уноса хране.

У контролним условима, под утицајем краткотрајне калоријске рестрикције се није уочавала разлика у нивоу глукозе у крви, у зависности од старосне категорије. Примена НД-а је, код одраслих животиња, показала значајан ефекат на смањење концентрације глукозе у крви ( $p < 0.05$ ), у поређењу са младим, док примена ТЕ-а није остварила значајно различит ефекат у односу на адолесцентске животиње.

У Табели 4.33. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији, који су утицали на вредности глукозе у крви, као и њихове међусобне интеракције. На концентрацију глукозе у крви најјачи (негативан) ефекат остварен је под утицајем калоријске рестрикције ( $\eta^2 = 0.259$ ). Примена ААС-а је, такође, остварила јак, негативан ефекат на вредности гликемије. Вежбање је, међутим, показало позитиван утицај на концентрацију глукозе. Старење није показало значајан утицај на концентрацију глукозе у крви. Забележене су бројне интеракције између поменутих фактора.

**Табела 4.33. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора концентрацију глукозе у крви**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)	Гладовање (Г)
	↓↓↓ 0,126	↓↓↓ 0,153	↑ 0,043	< 0,001	↓↓↓ 0,259
Интеракције између фактора	Н x С	Н x В	Н x Г	С x Г	В x Г
	↓↓ 0,059	0,007	↓↓ 0,061	0,008	0,008
	Т x С	↓↓ Т x В	Т x Г	Н x С x Г	Н x В x Г
	0,002	0,07	0,001	0,012	0,015
	Т x С x Г	Т x В x Г			
	0,003	0,007			

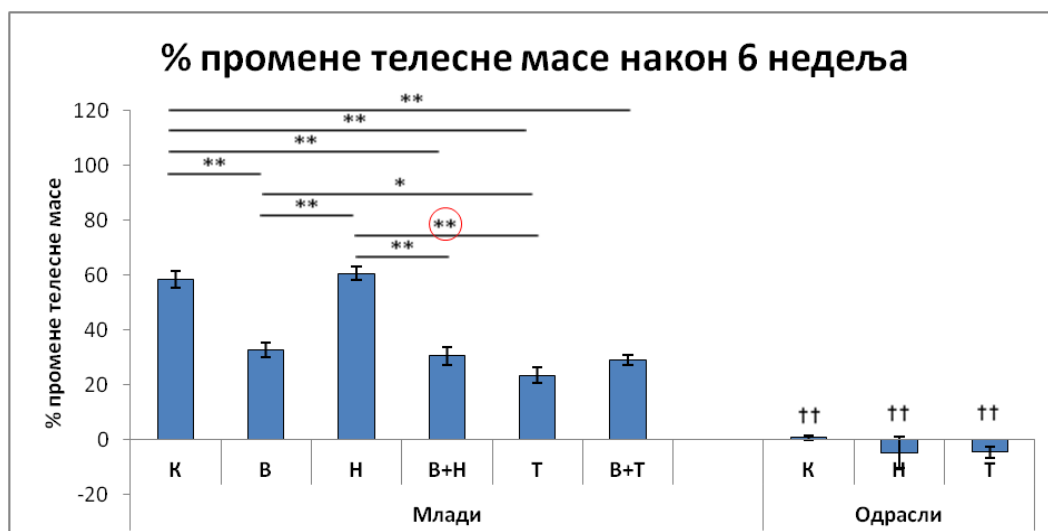
### 4.3. Антропометријске вредности и хематокрит

#### 4.3.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на проценат промене телесне масе (% промене ТМ) током шестонедељних третмана

Током шест недеља третмана супрафизиолошким дозама ААС-а и спровођења пролонгираног тренажног процеса, забелжене су значајне разлике у проценту промене телесне масе ( $F=75.030$ ,  $df=8$ ), као што је представљено на Слици 4.34.

Код свих младих животиња је, након шест недеља испитивања, дошло до повећања телесне масе, које се кретало у распону од 20% до 60%, у односу на иницијалне вредности. Пролонгирани тренажни протокол је, спровођен самостално или у комбинацији са ААС-с, доводио до значајног смањења процента % промене ТМ, у односу на промену регистровану у седентерним групама ( $p<0.01$ , изузев у тестостеронској седентерној групи, где није доводио до значајних промена). Шестонедељни третман супрафизиолошким дозама ААС-а није показао униформне ефекте на % промене ТМ, код младих животиња. Тако је регистровано да хронична администрација ТЕ-а доводи до значајног смањења % промене ТМ ( $p<0.01$ ), док примена НД-а није остварила ефекат на промену телесне масе у поређењу са контролом. Уочава се и статистички значајна разлика између ефеката примене НД-а и ТЕ-а (у седентерним условима) на % промене ТМ код адолесцеске популације животиња ( $p<0.01$ ).

Код одраслих животиња, током шест недеља праћења, се уочава значајно мањи проценат повећања телесне масе у поређењу са младим пацовима ( $p<0.01$ ). Ефекти оба примењена ААС-а су се манифестовали кроз смањење телесне масе које се и статистички значајно разликовало у односу на повећање телесне масе регистровано код младих животиња ( $p<0.01$ ). У популацији одраслих животиња није уочена статистички значајна разлика у % промене ТМ између група третираних НД-ом и ТЕ-ом.



Слика 4.34. Утицај различитих фактора на проценат промене телесне масе (% промене ТМ) код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканонат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01.

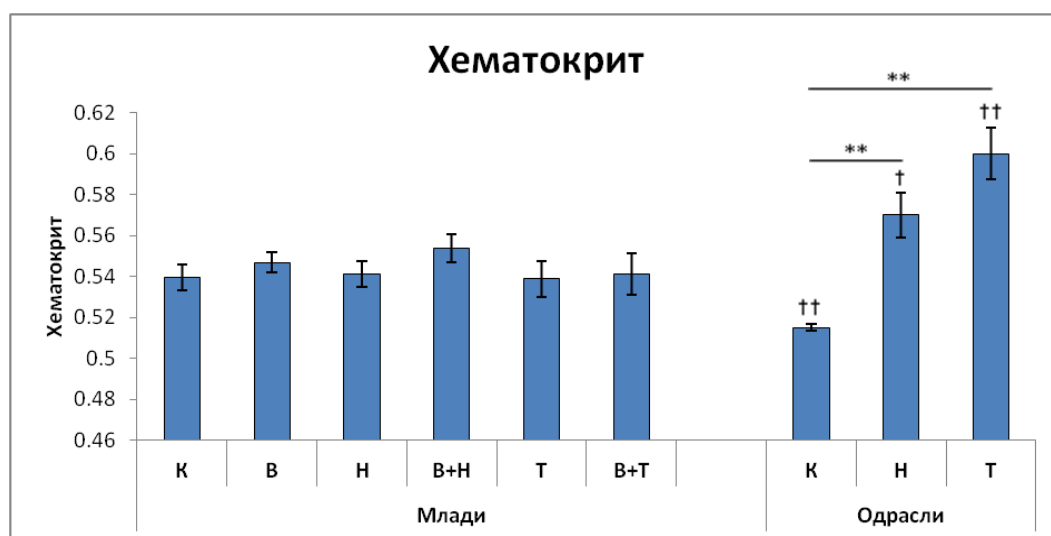
У Табели 4.34. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на проценат промене телесне масе (% промене ТМ). На % промене ТМ најјачи (негативан) ефекат остварен је под утицајем старења ( $\eta^2=0.739$ ). Такође, пролонгирани протокол вежбања је, као и примена ТЕ-а, остварило јак (негативан) ефекат на % промене ТМ. Примена НД-а, међутим, није остварила значајан утицај на промену телесне масе. Забележене су бројне интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене ТЕ-а и тренажног процеса ( $\eta^2=0.292$ ).

Табела 4.34. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на проценат промене телесне масе (% промене ТМ)

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	0,001	↓↓↓ 0,167	↓↓↓ 0,226	↓↓↓ 0,739
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С	Т x В	Т x С
	↓↓ 0,044	↓↓ 0,060	↓↓↓ 0,292	↓↓↓ 0,284

#### 4.3.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на промене вредности хематокрита током шестонедељних третмана

Као што је приказано на Слици 4.35., примењени шестонедељни протоколи су имали значајног утицаја на промене вредности хематокрита ( $F=10.197$ ,  $df=8$ ). Код младих животиња, ниједан од примењених протокола није доводио до статистички значајних разлика у вредности хематокрита између испитиваних група. Међутим, у популацији одраслих животиња, забележено је да је хронична администрација супрафизиолошких доза ААС-а доводила до значајног повећања вредности хематокрита ( $p<0.01$ ), у поређењу са контролним условима. Старење је, у контролним условима, доводило до значајног смањења вредности хематокрита у односу на младе животиње ( $p<0.01$ ). Примена ААС-а се, код одраслих пацова, манифестовала кроз статистички значајно повећање вредности хематокрита у односу на одговарајућу групу младих животиња ( $p<0.05$  за НД,  $p<0.01$  за ТЕ).



Слика 4.35. Утицај различитих фактора на промене вредности хематокрита код животиња различитог животног доба. К = контрола ( $n = 16$ ); В = вежбање ( $n = 16$ ); Н = нандролон-деканат ( $n = 8$ ); Т = тестостерон-енантат ( $n = 8$ ); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање ( $n = 8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\*  $p < 0.01$ ; за поређење између старосних група - ††  $p < 0.01$ .

У Табели 4.35. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на промене вредности хематокрита. На вредност овог параметра најјачи (позитиван) ефекат остварен је под утицајем ТЕ-а ( $\eta^2=0.122$ ). Ефекат старења, као и примена НД-а, на промену вредности хематокрита је био слабијег интензитета.

Пролонгирани протокол вежбања није остварио ефекат на вредност хематокрита. Забележене су бројне интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене ТЕ-а и старења ( $\eta^2=0.176$ ).

**Табела 4.35. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на промене вредности хематокрита**

Појединачни фактори	Надролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
		↑↑ 0,039	↑↑↑ 0,122	< 0,001
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С	Т x В	Т x С
	0,002	↑ 0,02	0,002	↑↑↑ 0,176

#### **4.4. Имунохистохемијска испитивања ткива хипокампуса**

##### **4.4.1. Имунохистохемијска испитивања експресије NPY имунореактивних неурона у ткиву хипокампуса**

###### **4.4.1.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на број имунореактивних NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса током шестонедељних третмана**

На Слици 4.36. приказан је утицај шестонедељног третмана супрафизиолошким дозама ААС, као и пролонгираног програмираног тренажног процеса (самостално и у комбинацији са нандролон-деканотом или тестостерон-енантатом) на број имунореактивних NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса, код младих, као и код одраслих пацова ( $F=23.959$ ,  $df=8$ ).

Третман ААС је доводио до значајног смањења NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса у односу на контролну групу, у обе старосне категорије ( $p<0.01$ ). Примена НД-а је доводила до већег смањења NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса, у односу на примену ТЕ (статистички значајно код младих животиња,  $p<0.05$ ).

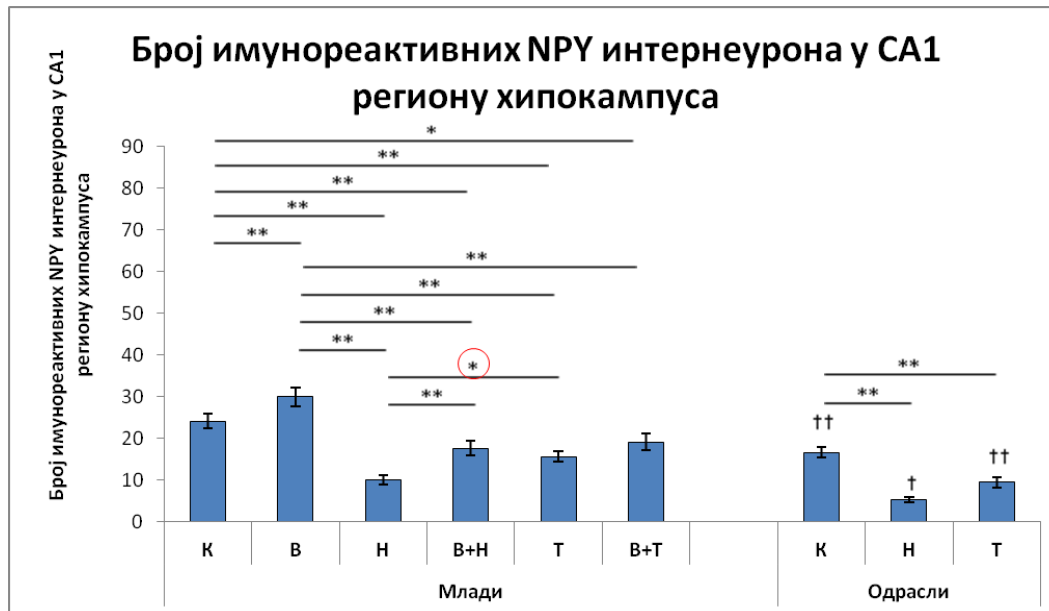
Протокол пливања је доводило до значајног повећања NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса у односу на контролне вредности ( $p<0.01$ ) код младих пацова. Позитиван утицај физичке активности био је очигледан и у комбинованој нандролонској групи, кроз значајно повећање NPY интернеурона у односу на групу код које је самостално примењиван НД ( $p<0.01$ ), док је овакав ефекат изостао у комбинованој тестостеронској групи.

Старење је доводило до значајног смањења NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса, како у контролним условима ( $p<0.01$ ), тако и након шест недеља третмана НД-ом ( $p<0.05$ ) и ТЕ-ом ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.36. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на број имунореактивних NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса. На број имунореактивних NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса најјачи (негативан) ефекат остварен је под утицајем НД-а ( $\eta^2=0.296$ ). Старење је, такође, остварило јак негативан утицај на број NPY неурона у овом региону ( $\eta^2=0.127$ ). Примена ТЕ-а имала је знатно слабији утицај на број имунореактивних NPY



интернеурона у СА1 региону хипокампуса. Пролонгирани протокол вежбања је остварио јак позитиван ефекат. Забележене су бројне интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене НД-а и вежбања ( $\eta^2=0.011$ ).



**Слика 4.36.** Утицај различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01.

**Табела 4.36.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона у СА1 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓ ↓ ↓ 0,296	↓ ↓ 0,034	↑ ↑ 0,117	↓ ↓ 0,127
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С	Т x В	Т x С
	↓ 0,011	↓ 0,005	↓ 0,009	<0,0001

#### 4.4.1.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на број имунореактивних NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса током шестонедељних третмана

Као што је представљено на Слици 4.37, након шест недеља третмана високим дозама ААС, као и након спроведеног тренажног процеса, дошло је до значајних промена броја имунореактивних NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $F=18.1$ ,  $df=8$ ).

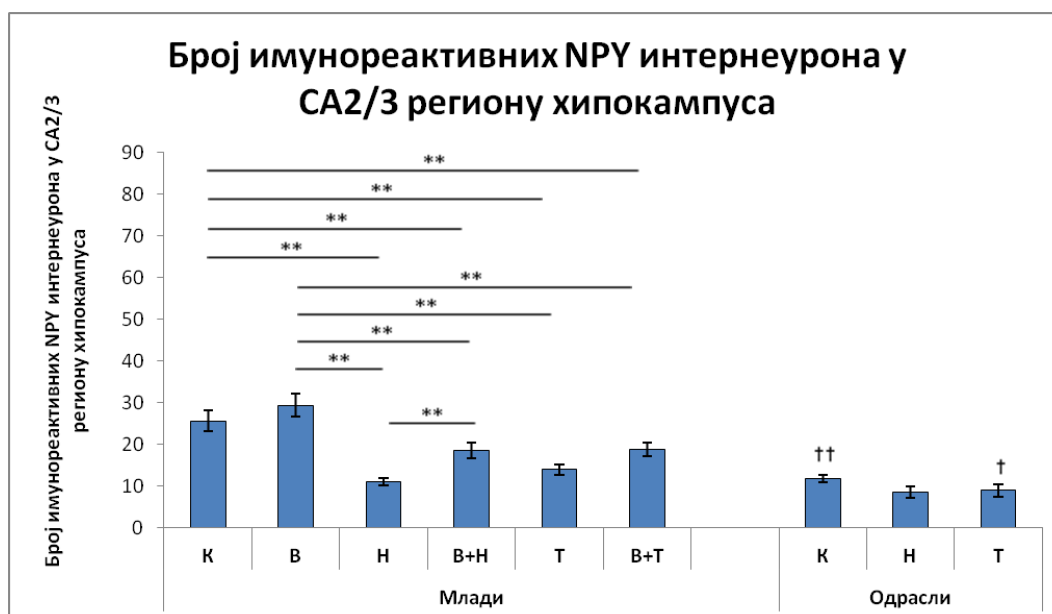
Примена ААС је доводила до значајног смањења броја NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса у односу на контролну групу једино код младих животиња ( $p<0.01$ ), док код одраслих ова промена није била статистички значајна.

Иако пролонгирани тренажни протокол самостално није доводио до значајног повећања броја NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса, у односу на контролне вредности, забележено је статистички значајно повећање у односу на групе код којих су ААС примењивани самостално ( $p<0.01$ ), као и у односу на комбиноване групе ( $p<0.01$ ). У комбинованој нандролонској групи забележено је значајно повећање броја NPY интернеурона, у односу на групу код које је самостално примењиван НД ( $p<0.01$ ), током шест недеља третмана, док је овакав позитиван утицај физичке активност изостао у комбинованој тестостеронској групи.

Старење је доводило до значајног смањења броја NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса у контролној групи ( $p<0.01$ ). Након примене супрафизиолошких доза ТЕ током шест недеља дошло је до значајног смањења броја NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $p<0.05$ ), док се након шестонедељног третмана НД-ом није испољила значајна разлика код одраслих у односу на младе пацове.

Табела 4.37. приказује величину утицаја појединачних фактора, примењиваних у овој студији, као и њихове међусобне интеракције, на промену броја имунореактивних NPY интернеурона у СА2/3 региону хипокампуса. На вредност овог параметра најјачи негативан утицај је остварило старење ( $\eta^2=0.134$ ). Примена ААС-а је, такође, остварила негативан утицај на број ових интернеурона, при чему је НД имао знатно јачи утицај у односу на ТЕ ( $\eta^2=0.115$ ). Протокол пливања је остварио јак позитиван ефекат у на број NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса. Забележене су

бројне интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене НД-а и старења ( $\eta^2=0.048$ ).



Слика 4.37. Утицај различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона у CA2/3 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05, †† p < 0.01.

Табела 4.37. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона у CA2/3 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓↓↓ 0,115	↓↓ 0,056	↑↑ 0,108	↓↓↓ 0,134
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С	Т x В	Т x С
	↓↓ 0,01	↓↓ 0,048	<0,0001	↓ 0,009

#### 4.4.1.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на број имунореактивних NPУ интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса током шестонедељних третмана

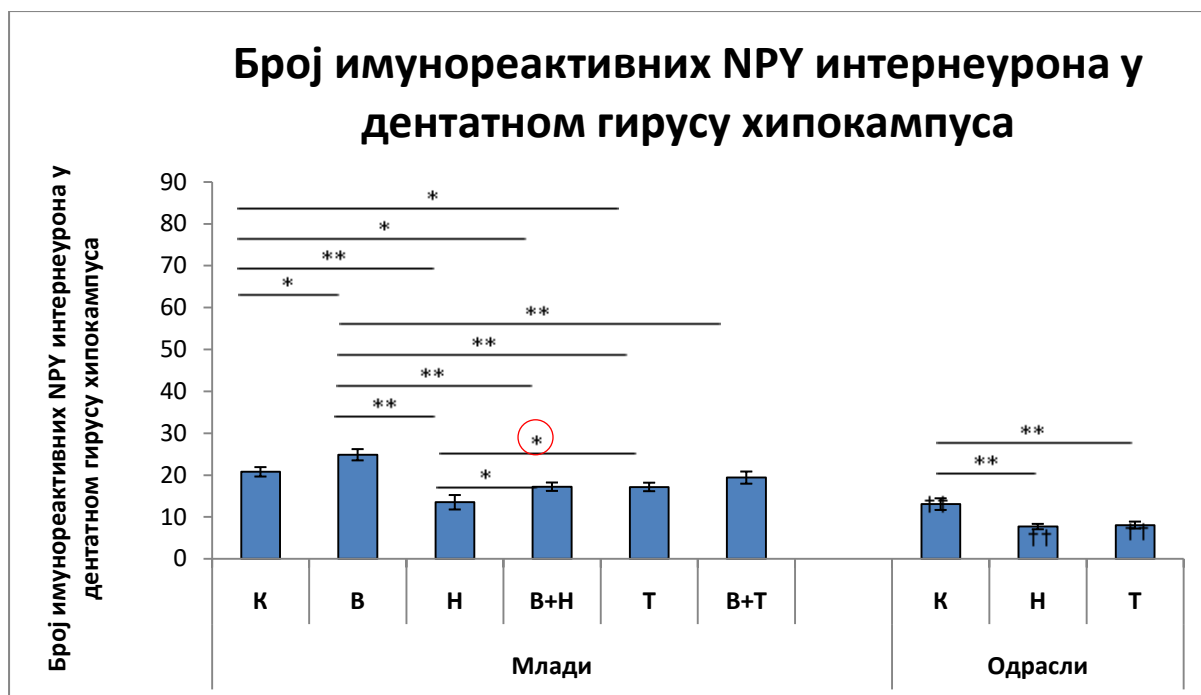
Слика 4.38 приказује промене броја имунореактивних NPУ интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса након шест недеља третмана високим дозама ААС, као и након спроведеног тренажног процеса ( $F=22.259$ ,  $df=8$ ).

У дентатном гирусу хипокампуса, третман супрафизиолошким дозама ААС је доводио до значајног смањења броја NPУ интернеурона у односу на контролну групу код младих (НД,  $p<0.01$ ; ТЕ,  $p<0.05$ ), као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ).

Пролонгирани протокол пливања је, након шест недеља, доводио до значајног повећања броја имунореактивних NPУ интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса у односу на контролне вредности ( $p<0.05$ ). Такође, пролонгирани тренажни процес је код пацова доводио до значајног повећања NPУ интернеурона у дентатном гирусу у односу на групе код којих су самостално примењивани ААС ( $p<0.01$ ). Позитиван ефекат вежбања је потврђен и кроз статистички значајно повећање NPУ интернеурона у дентатном гирусу у комбинованој нандролонској групи у односу на групу код које је НД примењиван самостално ( $p<0.05$ ), док код комбиноване тестостеронске групе није забележена оваква промена.

У односу на младе животиње, код одраслих је регистровано значајно смањење броја NPУ интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса у контролној групи, као и у групама код којих су примењене супрафизиолошке дозе ААС-а током шест недеља ( $p<0.01$ ).

У дентатном гирусу хипокампуса, смањење броја NPУ интернеурона је забележено под утицајем различитих фактора (Табела 4.38.), при чему је најјачи ефекат имао процес старења ( $\eta^2=0.344$ ). Јак негативан утицај је остварила и примена НД-а ( $\eta^2=0.205$ ). Нешто слабији, негативан утицај, забележен је након шестонедељне примене ТЕ-а, док је протокол пливања у истом временском интервалу имао супротан, позитиван утицај на промену броја ових имунореактивних интернеурона у дентатном гирусу. Очекивано, најјача интеракција је забележена у комбинацији примене НД-а и старења.



Слика 4.38. Утицај различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01.

Табела 4.38. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓↓↓ 0,205	↓↓ 0,028	↑↑0,09	↓↓↓ 0,344
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С	Т x В	Т x С
	↓0,001	↓↓ 0,017	↓0,006	↓↓ 0,011

#### 4.4.1.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на број имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса током шестонедељних третмана

На Слици 4.39 представљена је промена броја имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса (обухвата сва три испитивана региона: СА1, СА2/3 и дентатни гирус) након шестонедељних третмана супрафизиолошким дозама ААС као и спроведеног тренажног процеса ( $F=48.632$ ,  $df=8$ ).

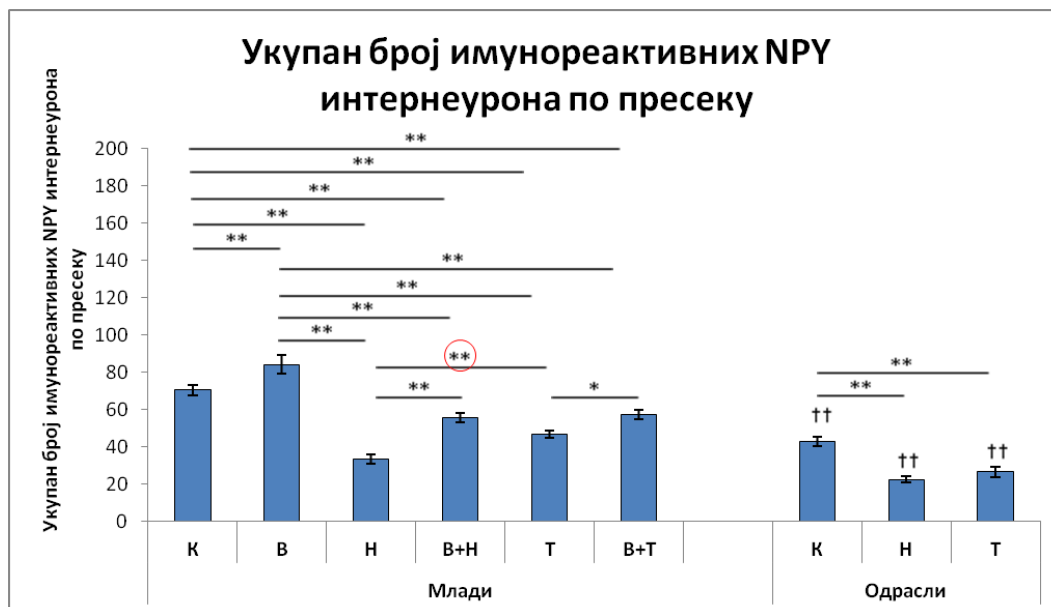
У обе старосне категорије третман високим дозама НД-а и ТЕ-а је доводио до значајног смањења броја имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса ( $p<0.01$ ), у односу на контролну групу.

Протокол пливања је доводио до значајног повећања броја NPY интернеурона у хипокампусу ( $p<0.01$ ), у односу на контролне вредности код младих животиња. Позитиван ефекат физичке активности је био регистрован у групи код које је симултано примењиван НД, у односу на групу код које је НД самостално примењиван ( $p<0.01$ ). Сличан тип промене је забележен и у комбинованој тестостеронској у односу на седентерну тестостеронску групу ( $p<0.05$ ). Код младих пацова, седентерна група која је добијала супрафизиолошке дозе ТЕ-а је имала значајно већи број имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса, у односу на седентерну нандролонску групу ( $p<0.01$ ).

Старење је доводило до значајног смањења броја имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса у контролној групи ( $p<0.01$ ). Третман НД-ом, као и ТЕ-ом, је доводио до значајног смањења броја имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса код одраслих, у односу на младе животиње ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.39. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на број имунореактивних NPY интернеурона у по пресеку хипокампуса. На вредност овог параметра најјачи (негативан) ефекат остварен је под утицајем НД-а ( $\eta^2=0.288$ ). Примена ТЕ-а имала је слабији, негативан, утицај на смањење броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу ( $\eta^2=0.056$ ). Ефекат старења, изражен кроз смањење броја ових интернеурона, је, такође, био веома јак ( $\eta^2=0.251$ ). Супротно томе, пролонгирани протокол вежбања је остварио јак, позитиван ефекат

( $\eta^2=0.155$ ). Регистроване су бројне интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене НД-а и старења ( $\eta^2=0.033$ ).



**Слика 4.39.** Утицај различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деcanoат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01.

**Табела 4.39.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број имунореактивних NPY интернеурона по пресеку хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓↓↓ 0,288	↓↓ 0,056	↑↑ 0,155	↓↓↓ 0,251
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С	Т x В	Т x С
	↓ 0,011	↓↓ 0,033	↓ 0,006	<0,0001

#### **4.4.2. Имунохистохемијска испитивања експресије MC4R имунореактивних неурона у ткиву хипокампуса**

##### **4.4.2.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на број MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса током шестонедељних третмана**

На Слици 4.40 представљена је промена броја MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса након шестонедељних третмана супрафизиолошким дозама ААС као и спроведеног тренажног процеса ( $F=5.893$ ,  $df=8$ ).

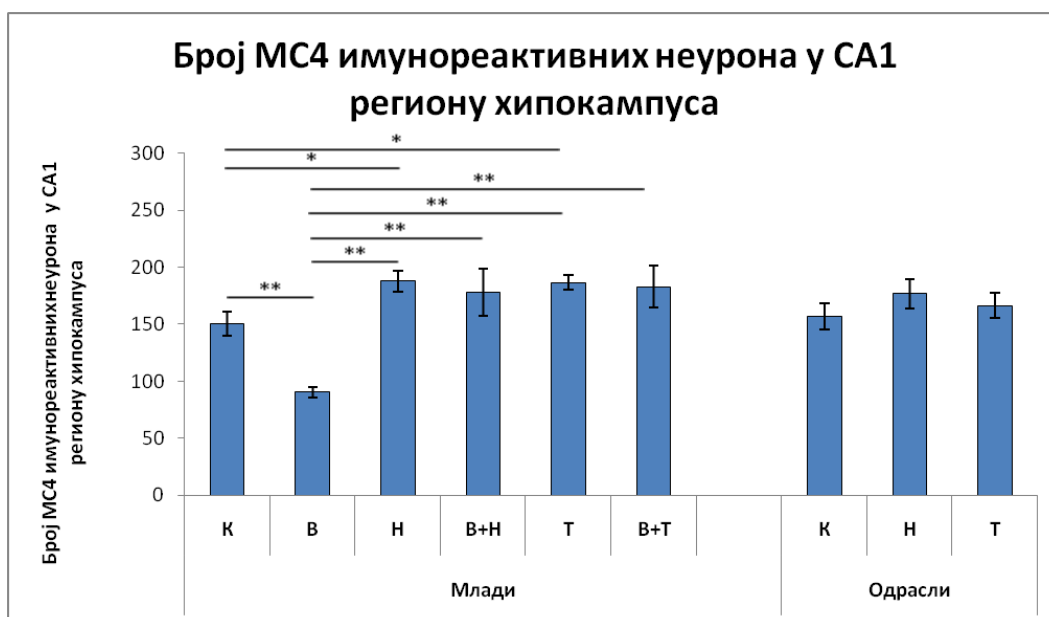
У групи младих животиња третман ААС доводио је до значајног повећања броја MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса у односу на контролне вредности ( $p<0.05$ ), док се овакав ефекат није регистровао код старијих јединки.

Пролонгирани протокол вежбања је доводио до статистички значајног смањења броја MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса у односу на контролну групу ( $p<0.01$ ). Група са самостално примењеним протоколом вежбања је, такође, показала значајно мањи број MC4R имунореактивних неурона у односу на седентерне групе третиране анаболицима ( $p<0.01$ ), као и у односу на комбиноване групе ( $p<0.01$ ).

Старење није доводило до значајних промена вредности овог параметра, како у контролним условима, тако ни у условима суплементације супрафизиолошким дозама ААС.

У Табели 4.40. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на број MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса. На вредност овог параметра најјачи (негативан у нумеричком смислу) ефекат остварен је под утицајем вежбања ( $\eta^2=0.36$ ). Примена ТЕ-а имала је слабији, позитиван, утицај на MC4R имунореактивних неурона у овом региону ( $\eta^2=0.062$ ), док је примена НД-а имала нешто јачи, позитиван утицај. Ефекат старења је био врло слаб ( $\eta^2=0.01$ ). Регистроване су поједине интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене ТЕ-а и вежбања ( $\eta^2=0.022$ ).





**Слика 4.40.** Утицај различитих фактора на број MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканонат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01.

**Табела 4.40.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↑ 0,080	↑ 0,062	↓↓↓ 0,36	0,01
Интеракције између фактора	Н x В	Т x В		
	↓ 0,11	↓ 0,22		

#### 4.4.2.2. Утицај андрогених анаболичких стероида на број MC4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса током шестонедељних третмана

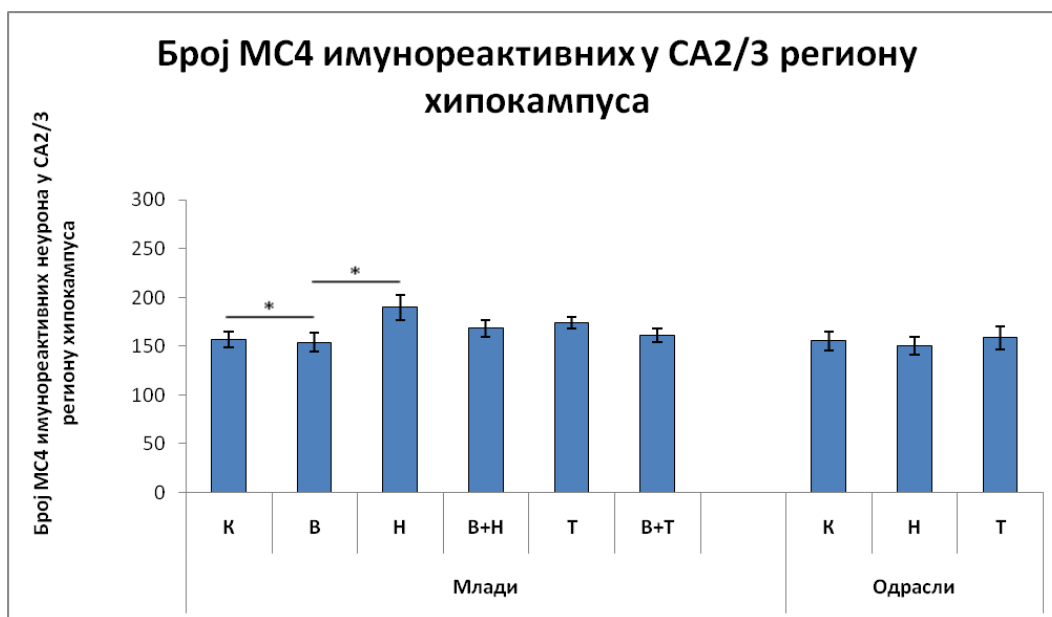
На Слици 4.41 представљена је промена броја MC4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса након шестонедељних третмана супрафизиолошким дозама ААС као и спроведеног тренажног процеса ( $F=1.694$ ,  $df=8$ ).

У групи младих, као и у групи старих животиња, третман ААС није доводио до значајне промене броја MC4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса у односу на контролне вредности.

Пролонгирани протокол вежбања је доводио до статистички значајног смањења броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Поред тога, група са самостално примењеним протоколом вежбања је, такође, показала значајно мањи број MC4R имунореактивних неурона у односу на седентерну групу третирану НД-ом ( $p<0.05$ ), док се у односу на други примењени анаболи, као ни комбиноване групе, није уочавала значајна разлика у промени вредности овог параметра.

Старење није доводило до значајних промена вредности овог параметра, како у контролним условима, тако ни у условима након примене супрафизиолошких доза ААС.

У Табели 4.41. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на број MC4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса. На вредност овог параметра најјачи (негативан у нумеричком смислу) ефекат остварен је под утицајем вежбања ( $\eta^2=0.38$ ). Примена ТЕ-а имала је слабији, позитиван, утицај на MC4R имунореактивних неурона у овом региону ( $\eta^2=0.002$ ), док је примена НД-а имала нешто јачи, позитиван утицај ( $\eta^2=0.013$ ). Ефекат старења на промену овог параметра је био слаб ( $\eta^2=0.09$ ). Регистроване су поједине интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене НД-а и старења ( $\eta^2=0.051$ ).



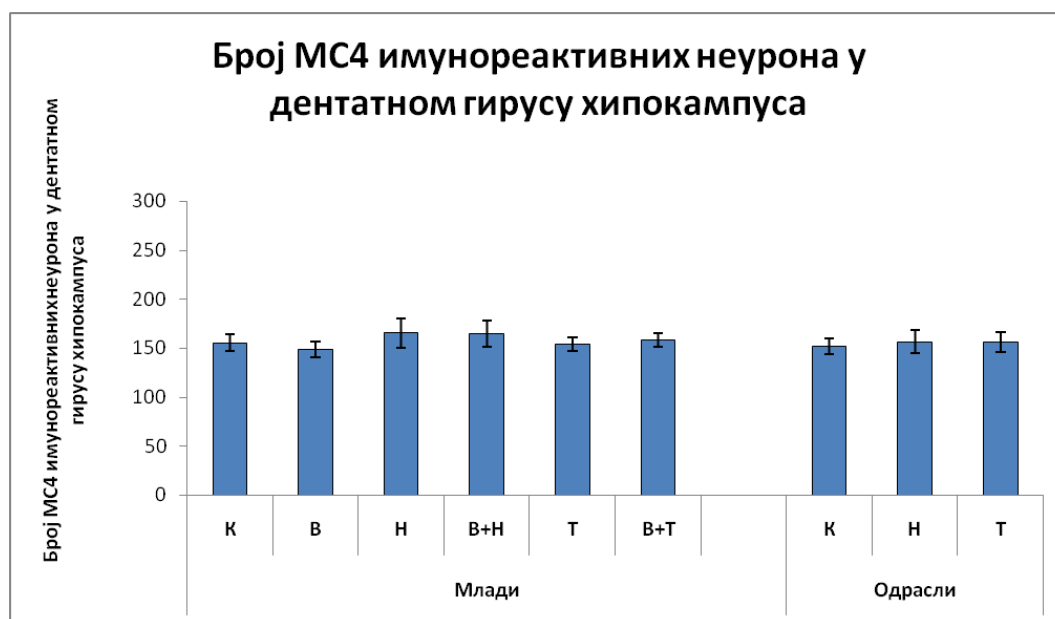
**Слика 4.41.** Утицај различитих фактора на број МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05.

**Табела 4.41.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број МС4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↑ 0,013	↑ 0,002	↓↓↓ 0,38	0,09
Интеракције између фактора	Н x В	Н x С		
	↓ 0,11	↓↓ 0,51		

#### 4.4.2.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на број MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса током шестонедељних третмана

Као што је приказано на Слици 4.42, ниједан од примењених протокола није доводио до значајних промена броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса ( $F=0.278$ ,  $df=8$ ). Обзиром да нису регистроване статистички значајне разлике, није било значајних величина утицаја ниједног од примењених протокола (Табела 4.42).



Слика 4.42. Утицај различитих фактора на број MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола ( $n = 16$ ); В = вежбање ( $n = 16$ ); Н = нандролон-деканоат ( $n = 8$ ); Т = тестостерон-енантат ( $n = 8$ ); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање ( $n = 8$ ). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm SEM$ .

Табела 4.42. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број MC4R имунореактивних неурона у CA1 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	0	0	0	0

#### 4.4.2.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на број MC4R имунореактивних неурона по површини пресека хипокампуса током шестонедељних третмана

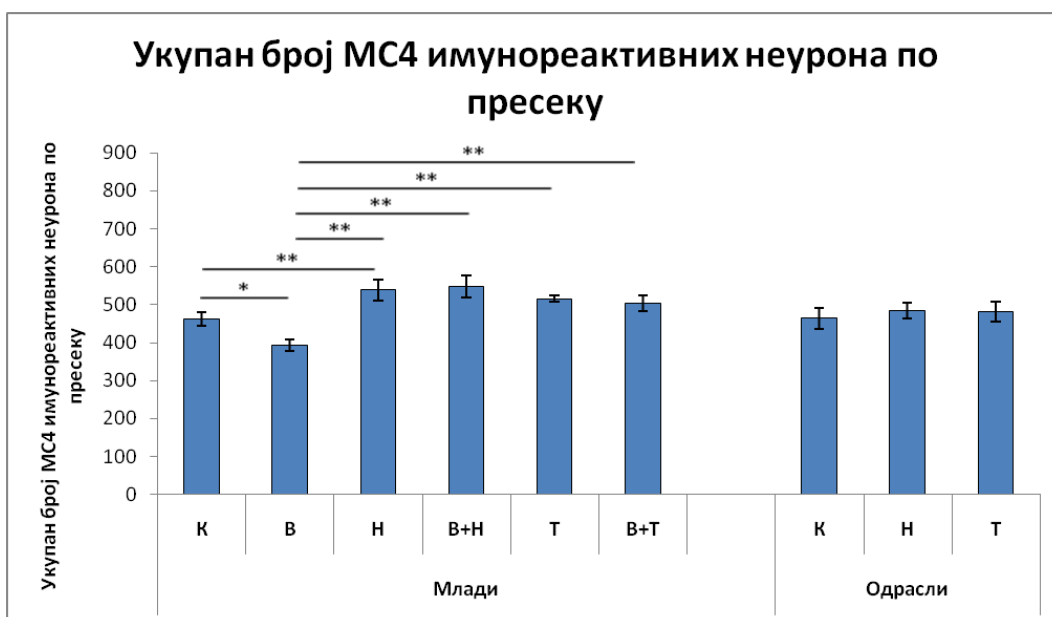
На Слици 4.43 представљена је промена броја MC4R имунореактивних неурона по површини пресека хипокампуса након шестонедељних третмана супрафизиолошким дозама ААС као и спроведеног тренажног процеса ( $F=4.066$ ,  $df=8$ ).

У групи младих животиња третман НД-ом је доводио до значајног повећања броја MC4R имунореактивних неурона по површини пресека хипокампуса у односу на контролне вредности ( $p<0.01$ ), док се овакав ефекат није регистровао након примене ТЕ. Код одраслих јединки, третман супрафизиолошким дозама ААС није доводио до значајних промена овог параметра.

Протокол вежбања је доводио до статистички значајног смањења броја MC4R имунореактивних неурона у односу на контролну групу ( $p<0.05$ ). Група са самостално примењеним протоколом вежбања је, такође, показала значајно мањи број MC4R имунореактивних неурона у односу на седентерне групе третиране анаболицима ( $p<0.01$ ), као и у односу на комбиноване групе ( $p<0.01$ ).

Старење није доводило до значајних промена вредности овог параметра, како у контролним условима, тако ни у условима суплементације супрафизиолошким дозама ААС.

У Табели 4.43. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на број MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса. На вредност овог параметра најјачи (позитиван у нумеричком смислу) ефекат остварен је под утицајем НД-а ( $\eta^2=0.079$ ). Примена ТЕ-а имала је слабији, позитиван, утицај на MC4R имунореактивних неурона у овом региону ( $\eta^2=0.030$ ). Ефекат старења, као и ефекат вежбања су имали слабији утицај ( $\eta^2=0.04$ ). Регистроване су поједине интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене НД-а и старења ( $\eta^2=0.017$ ).



Слика 4.43. Утицај различитих фактора на број МС4R имунореактивних неурона на површини пресека хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деcanoат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01.

Табела 4.43. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на број МС4R имунореактивних неурона на површини пресека хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↑ 0,079	↑ 0,030	↓ 0,04	0,04
Интеракције између фактора	Н x С	Т x В		
	↓ 0,11	↓ 0,12		

#### **4.4.3. Имунохистохемијска испитивања односа NPY имунореактивних интернеурона и MC4R имунореактивних неурона у ткиву хипокампуса (NPY/MC4R индекс)**

##### **4.4.3.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на NPY/MC4R индекс у CA1 региону хипокампуса током шестонедељних третмана**

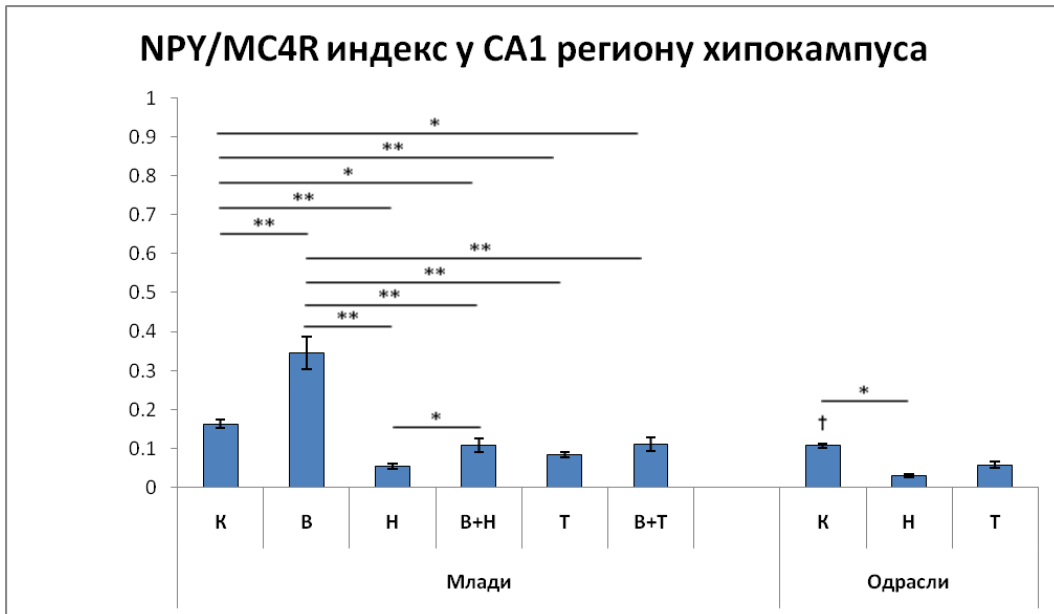
На Слици 4.44. приказан је утицај шестонедељног третмана супрафизиолошким дозама ААС, као и пролонгираног програмираног тренажног процеса (самостално и у комбинацији са нандролон-деканоатом или тестостерон-енантатом) на NPY/MC4R индекс у CA1 региону хипокампуса, код младих, као и код одраслих пацова ( $F=29.301$ ,  $df=8$ ).

Третман НД-ом је доводио до значајног смањења NPY/MC4R индекса у CA1 региону хипокампуса у односу на контролну групу, код младих ( $p<0.01$ ), као код одраслих пацова ( $p<0.05$ ). Примена ТЕ-а је доводила до смањења овог индекса само код младих животиња ( $p<0.01$ ).

Протокол пливања је доводило до значајног повећања NPY/MC4R индекса у CA1 региону хипокампуса у односу на контролне вредности, као и у односу на седентерне и комбиноване групе третиране анаболицима ( $p<0.01$ ). Позитиван утицај физичке активности био је очигледан и у комбинованој нандролонској групи, кроз значајно повећање NPY/MC4R индекса у односу на групу код које је самостално примењиван НД ( $p<0.05$ ), док је овакав ефекат изостао у комбинованој тестостеронској групи.

Старење је доводило до значајног смањења NPY/MC4R индекса у CA1 региону хипокампуса једино у контролним условима ( $p<0.05$ ).

У Табели 4.44. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на NPY/MC4R индекс у CA1 региону хипокампуса. На NPY/MC4R индекс у CA1 региону хипокампуса најјачи (негативан у нумеричком смислу) ефекат остварен је под утицајем НД-а ( $\eta^2=0.202$ ), ток је примена ТЕ имала нешто слабији утицај ( $\eta^2=0.091$ ). Пролонгирани протокол вежбања је остварио јак позитиван ефекат ( $\eta^2=0.130$ ). Старење је, такође, остварило слабији, негативан утицај на вредности NPY/MC4R индекса у овом региону ( $\eta^2=0.026$ ). Забележене су поједине интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене ТЕ-а и вежбања ( $\eta^2=0.047$ ).



**Слика 4.44.** Утицај различитих фактора на NPY/MC4R индекс у СА1 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканат (n = 8); Т = тестостерон-енанат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - † p < 0.05.

**Табела 4.44.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на NPY/MC4R индекс у СА1 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓ ↓ ↓ 0,202	↓ ↓ 0,091	↑ ↑ 0,130	↓ 0,026
Интеракције између фактора	Н x В	Т x В		
	↓ 0,017	↓ ↓ 0,047		



#### 4.4.3.1. Утицај андрогених анаболичких стероида на NPY/MC4R индекс у СА2/3 региону хипокампуса током шестонедељних третмана

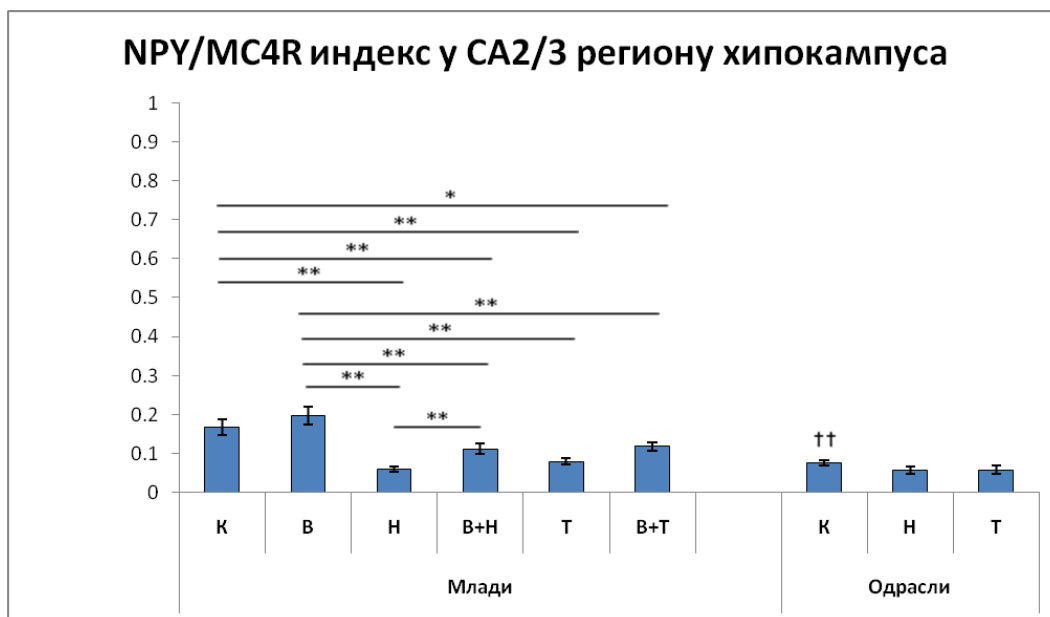
На Слици 4.45. приказан је утицај шестонедељног третмана супрафизиолошким дозама ААС, као и пролонгираног програмираног тренажног процеса (самостално и у комбинацији са нандролон-деканоматом или тестостерон-енантатом) на NPY/MC4R индекс у СА2/3 региону хипокампуса, код младих, као и код одраслих пацова ( $F=14.056$ ,  $df=8$ ).

Третман НД-ом, као и ТЕ-ом је доводио до значајног смањења NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса у односу на контролну групу код младих ( $p<0.01$ ), док код одраслих пацова нису регистроване овакве промене.

Иако протокол пливања није доводило до значајног повећања NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса у односу на контролне вредности, у односу на седентерне и комбиноване групе третиране анаболицима постојало је статистички значајно повећање овог параметра ( $p<0.01$ ). Позитиван утицај физичке активности био је очигледан и у комбинованој нандролонској групи, кроз значајно повећање NPY/MC4R индекса у односу на групу код које је самостално примењиван НД ( $p<0.01$ ), док је овакав ефекат изостао у комбинованој тестостеронској групи.

Старење је доводило до значајног смањења NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса једино у контролним условима ( $p<0.01$ ).

У Табели 4.45. представљени су утицаји појединачних фактора испитваних у овој студији на NPY/MC4R индекс у СА2/3 региону хипокампуса. На NPY/MC4R индекс у СА1 региону хипокампуса најјачи (негативан у нумеричком смислу) ефекат остварен је под утицајем НД-а ( $\eta^2=0.109$ ), ток је примена ТЕ имала нешто слабији утицај ( $\eta^2=0.053$ ). Пролонгирани протокол вежбања је остварио јак позитиван ефекат ( $\eta^2=0.1$ ). Старење је, такође, остварило слабији, негативан утицај на вредности NPY/MC4R индекса у овом региону ( $\eta^2=0.065$ ). Забележене су поједине интеракције између поменутих фактора, од којих је најјачи ефекат имала комбинација примене НД-а и старења ( $\eta^2=0.048$ ).



**Слика 4.45.** Утицај различитих фактора на NPY/MC4R индекс у СА2/3 региону хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01.

**Табела 4.45.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на NPY/MC4R индекс у СА2/3 региону хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓ ↓ ↓ 0,109	↓ ↓ 0,053	↑ ↑ 0,1	↓ 0,065
Интеракције између фактора	Н x С	Т x С		
	↓ ↓ 0,048	↓ 0,01		

#### 4.4.3.3. Утицај андрогених анаболичких стероида на NPY/MC4R индекс у дентатном гирусу хипокампуса током шестонедељних третмана

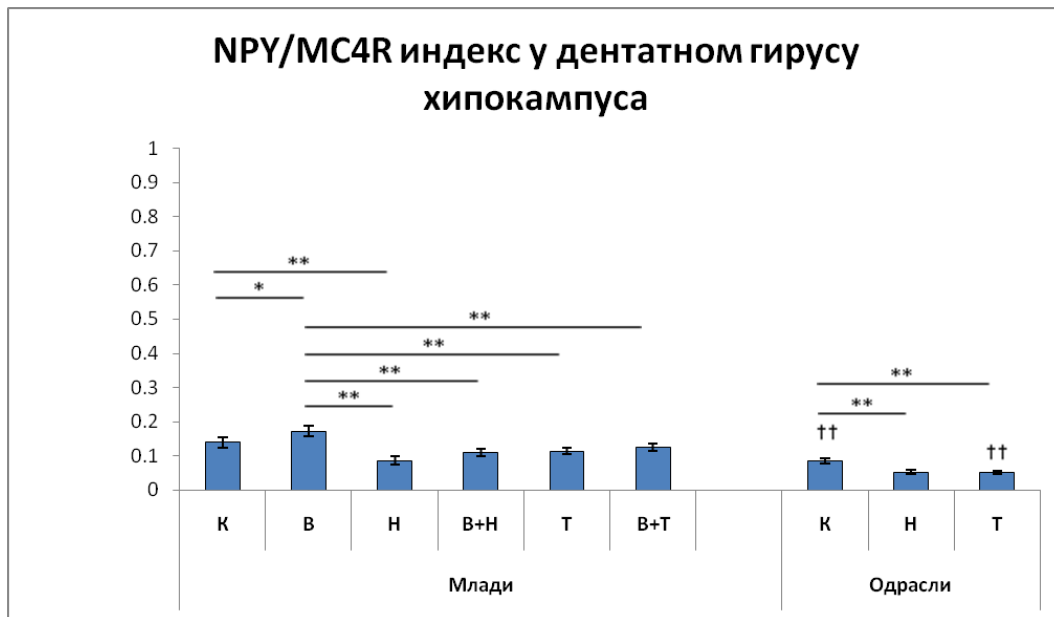
Слика 4.46 приказује промене NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса након шест недеља третмана високим дозама ААС, као и након спроведеног тренажног процеса ( $F=13.466$ ,  $df=8$ ).

У дентатном гирусу хипокампуса, третман супрафизиолошким дозама НД-а је доводио до значајног смањења NPY/MC4R индекса у односу на контролну групу код младих, као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ), док је третман ТЕ-ом показао статистички значајно смањење овог параметра једино код одраслих животиња ( $p<0.01$ ).

Пролонгирани протокол пливања је, након шест недеља, доводио до значајног повећања NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса у односу на контролне вредности ( $p<0.05$ ). Такође, пролонгирани тренажни процес је код пацова доводио до значајног повећања NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу у односу на групе код којих су самостално примењивани ААС, као и у односу на комбиноване групе ( $p<0.01$ ).

У односу на младе животиње, код одраслих је регистровано значајно смањење броја NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса у контролној групи, као и у групи код које је примењена супрафизиолошка дозе ТЕ-а током шест недеља ( $p<0.01$ ).

У дентатном гирусу хипокампуса, смањење броја NPY/MC4R индекса је забележено под утицајем различитих фактора (Табела 4.46.), при чему је најјачи ефекат имао процес старења ( $\eta^2=0.238$ ). Јак негативан утицај је остварила и примена НД-а ( $\eta^2=0.154$ ). Нешто слабији, негативан утицај, забележен је након шестонедељне примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.029$ ), док је протокол пливања у истом временском интервалу имао супротан, позитиван утицај на промену овог параметра дентатном гирусу. Најјача интеракција је забележена у комбинацији примене НД-а и старења.



**Слика 4.46.** Утицај различитих фактора на NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса код животиња различитог животног доба. К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деcanoат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05, \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01.

**Табела 4.46.** Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на NPY/MC4R индекс у дентатном гирусу хипокампуса

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓↓ 0,154	↓ 0,029	↑ 0,06	↓↓↓ 0,238
Интеракције између фактора	Н x С	Т x С		
	↓↓ 0,018	↓↓ 0,01		

#### 4.4.3.4. Утицај андрогених анаболичких стероида на NPY/MC4R индекс на укупној површини пресека хипокампуса током шестонедељних третмана

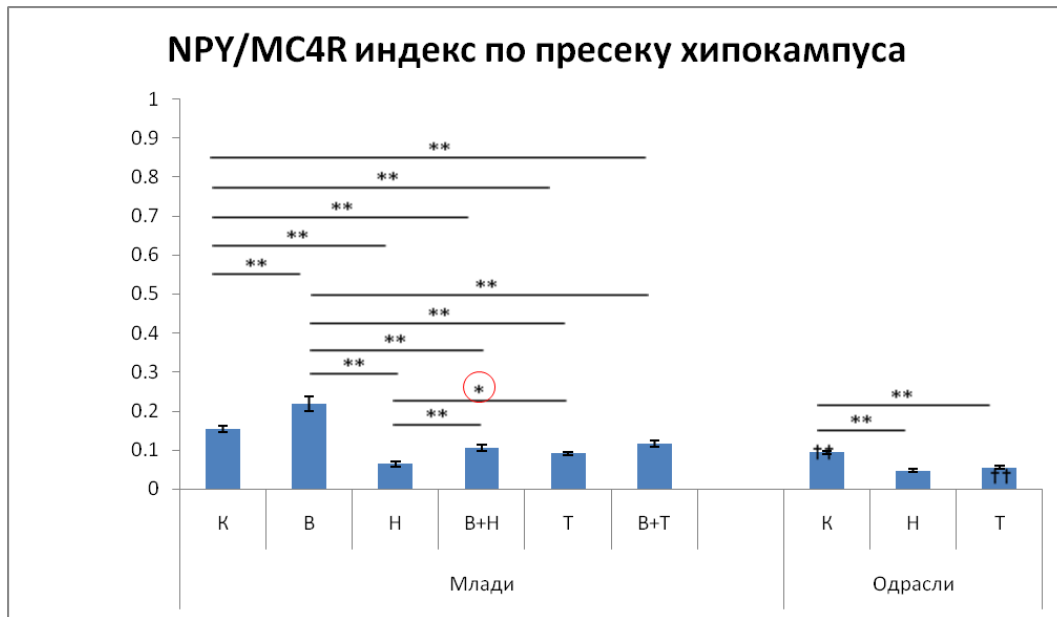
Слика 4.47 приказује промене NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса након шест недеља третмана високим дозама ААС, као и након спроведеног тренажног процеса ( $F=40.914$ ,  $df=8$ ).

Примена супрафизиолошких доза НД-а и ТЕ-а је доводила до значајног смањења NPY/MC4R индекса у односу на контролну групу код младих, као и код одраслих животиња ( $p<0.01$ ).

Протокол пливања је доводио до значајног повећања NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса у односу на контролне вредности ( $p<0.01$ ). Такође, пролонгирани тренажни процес је код пацова доводио до значајног повећања NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека у односу на групе код којих су самостално примењивани ААС, као и у односу на комбиноване групе ( $p<0.01$ ). Поред тога, вредност NPY/MC4R индекса у комбинованим групама је била статистички значајно мања и од контролних вредности ( $p<0.01$ ). Ефекат вежбања је био евидентиран и кроз значајно повећање вредности овог параметра у комбинованој нандролонској у односу на седентерну нандролонску групу ( $p<0.01$ ). Поред тога, регистрована је статистички значајна разлика између седентерне НД и седентерне ТЕ групе, при чему је на смањење NPY/MC4R индекса више утицала примена НД ( $p<0.05$ ).

У односу на младе животиње, код одраслих је регистровано значајно смањење броја NPY/MC4R индекса у денатном гирусу хипокампуса у контролној групи, као и у групи код које је примењена супрафизиолошка дозе ТЕ-а током шест недеља ( $p<0.01$ ).

Смањење броја NPY/MC4R индекса је забележено под утицајем различитих фактора (Табела 4.47.), при чему је најјачи ефекат имала примена НД ( $\eta^2=0.247$ ). Јак негативан утицај је остварила и примена НД-а ( $\eta^2=0.154$ ). Слабији негативан утицај забележен је након шестонедељне примене ТЕ-а ( $\eta^2=0.081$ ). Супротно томе, протокол пливања је у истом временском интервалу имао остварио позитиван утицај на промену овог параметра на укупној површини пресека хипокампуса ( $\eta^2=0.138$ ). Старење је остварило јак негативан утицај на промену вредности овог индекса ( $\eta^2=0.116$ ). Најјача интеракција је забележена у комбинацији примене НД-а и старења.



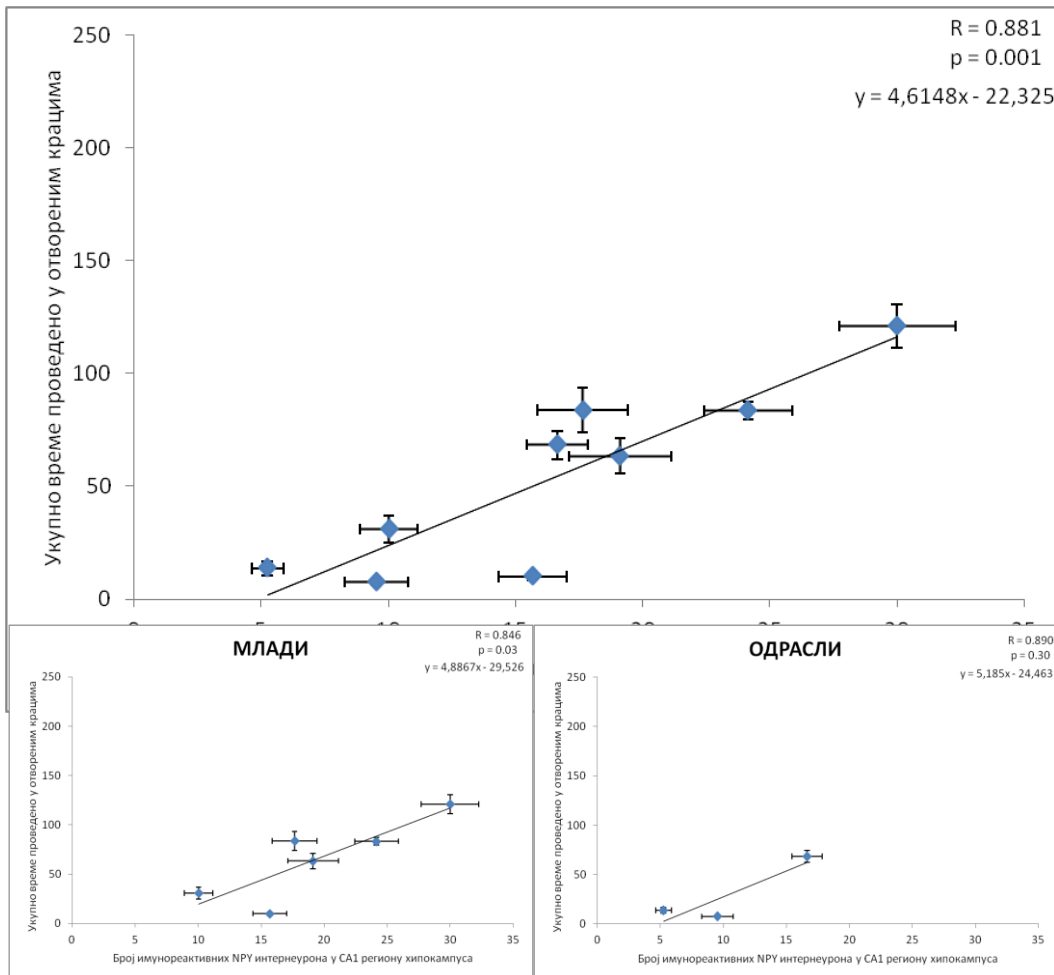
**Слика 4.47. Утицај различитих фактора на NPY/MC4R индекс на укупној површини пресека хипокампуса код животиња различитог животног доба.** К = контрола (n = 16); В = вежбање (n = 16); Н = нандролон-деканоат (n = 8); Т = тестостерон-енантат (n = 8); В+ = симултана администрација анаболика и вежбање (n = 8). Вредности су представљене као  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , \*\* p < 0.01; за поређење између старосних група - †† p < 0.01.

**Табела 4.47. Величина утицаја ( $\eta^2$ ) различитих фактора на NPY/MC4R индекс на укупној површини пресека хипокампуса**

Појединачни фактори	Нандролон (Н)	Тестостерон (Т)	Вежбање (В)	Старење (С)
	↓↓ 0,247	↓ 0,081	↑↑ 0,138	↓↓↓ 0,116
Интеракције између фактора	Н x С	Т x В		
	↓↓ 0,023	↓↓ 0,016		

**4.5. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима, серолошким анализама и бројем NPY имунореактивних неурона у хипокампусу**

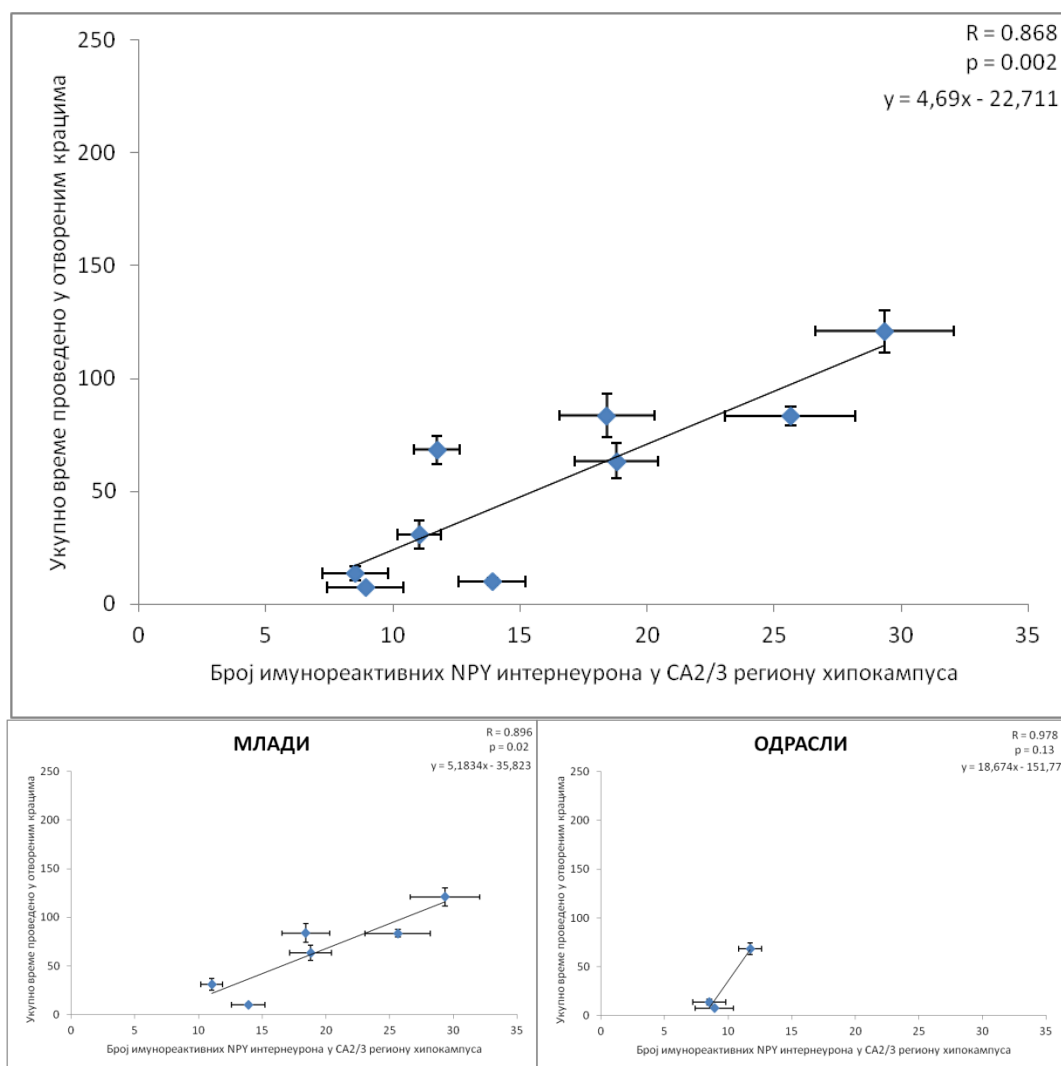
#### 4.5.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена анксиозности



**Слика 4.48.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и УВПОК (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

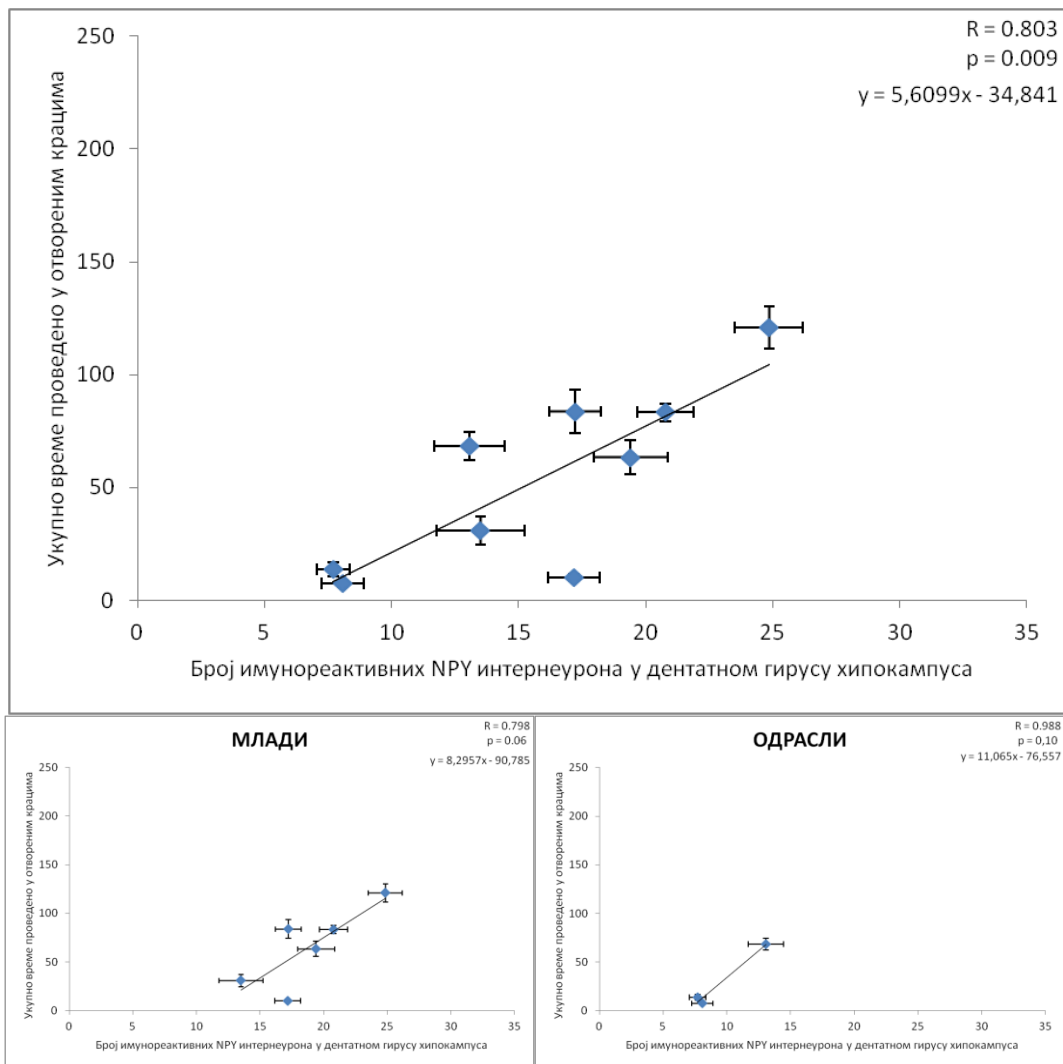
На Слици 4.48. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и УВПОК (поздани индикатор за процену степена анксиозности). Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону и УВПОК ( $R=0.881$ ,  $p=0.001$ ). Јака повезаност се уочава у обе старосне групе животиња (статистички значајно код младих животиња).





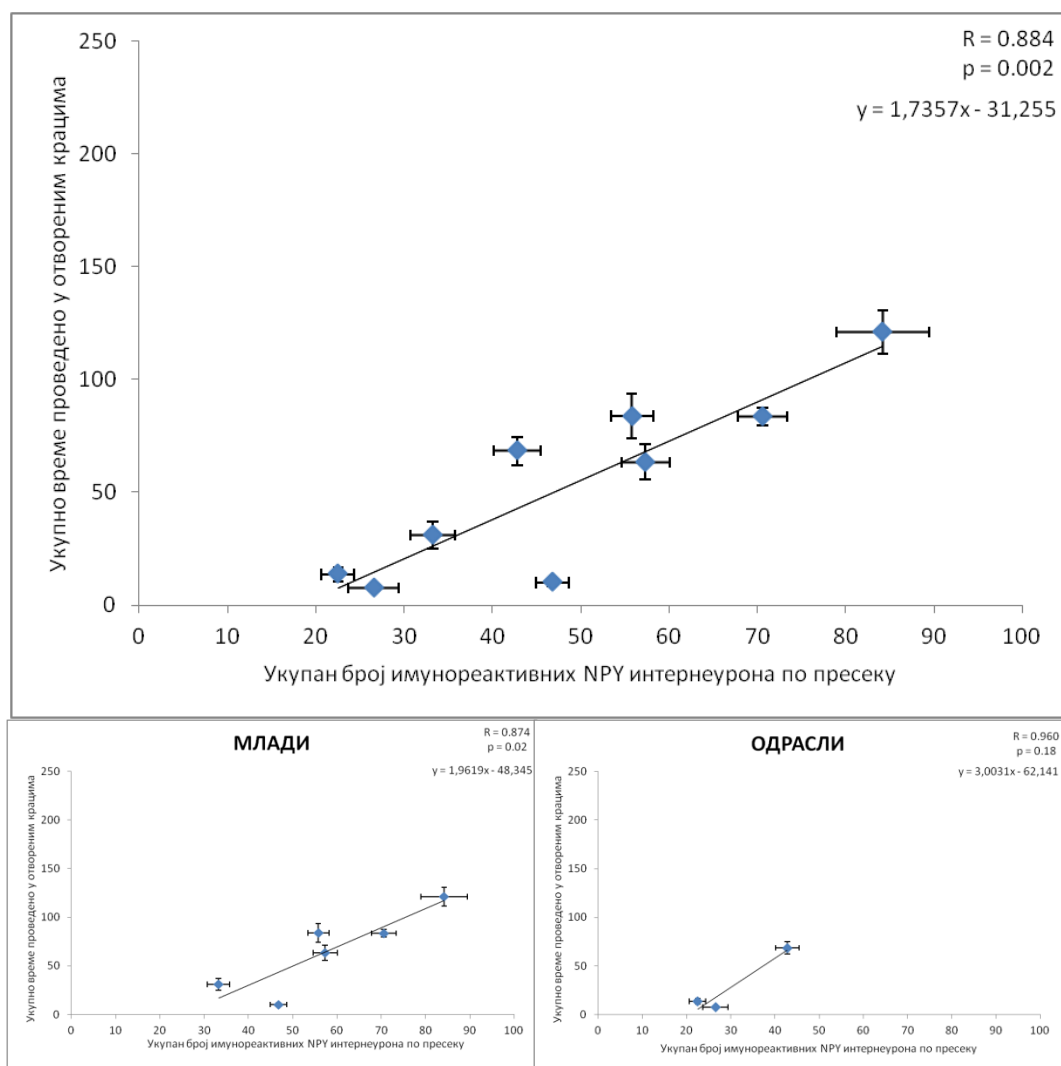
**Слика 4.49.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и УВПОК (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.49. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и УВПОК. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону и УВПОК ( $R=0.868$ ,  $p=0.002$ ). Јака повезаност је регистрована у обе старосне категорије (статистички значајно код младих животиња).



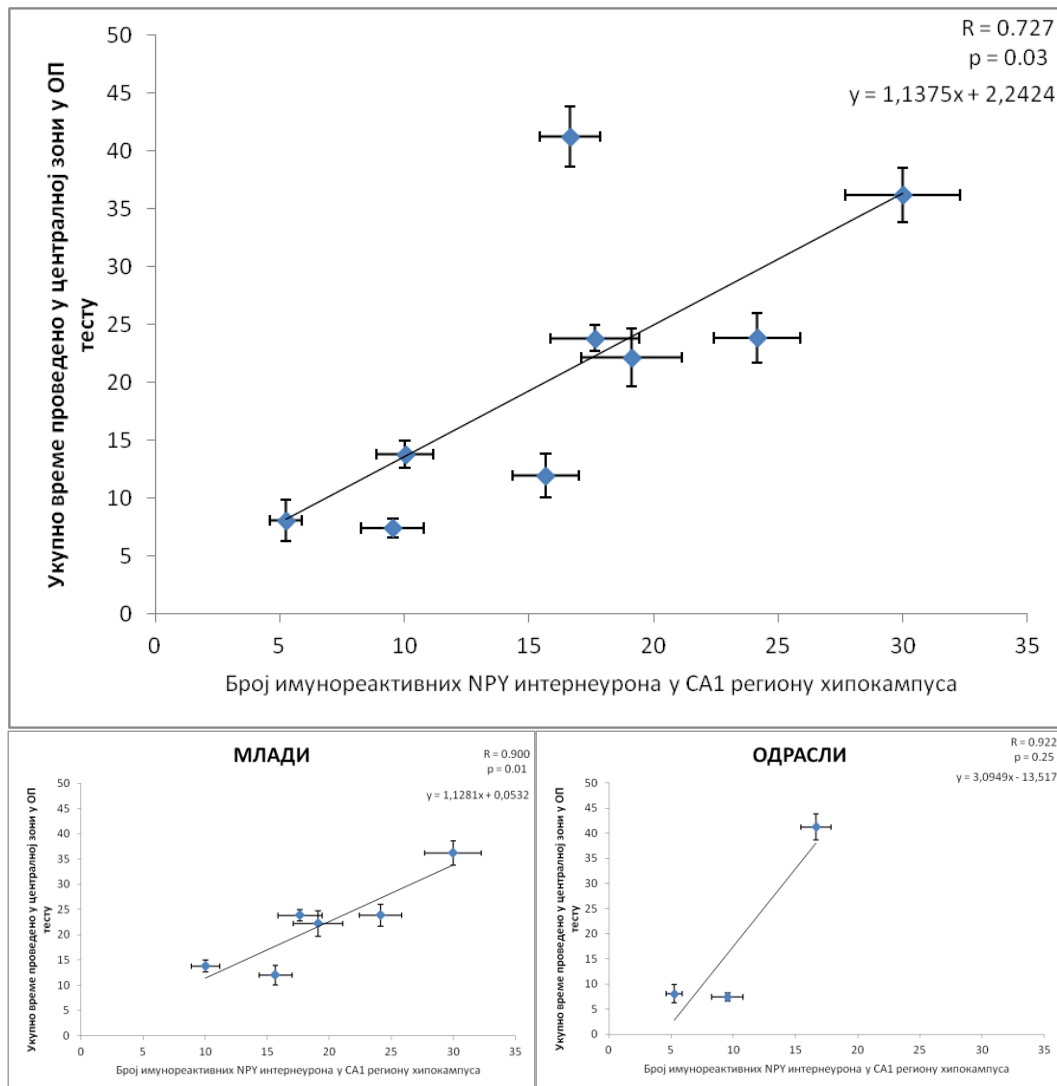
**Слика 4.50.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и УВПОК (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.50. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и УВПОК. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу и УВПОК ( $R=0.803$ ,  $p=0.009$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња.



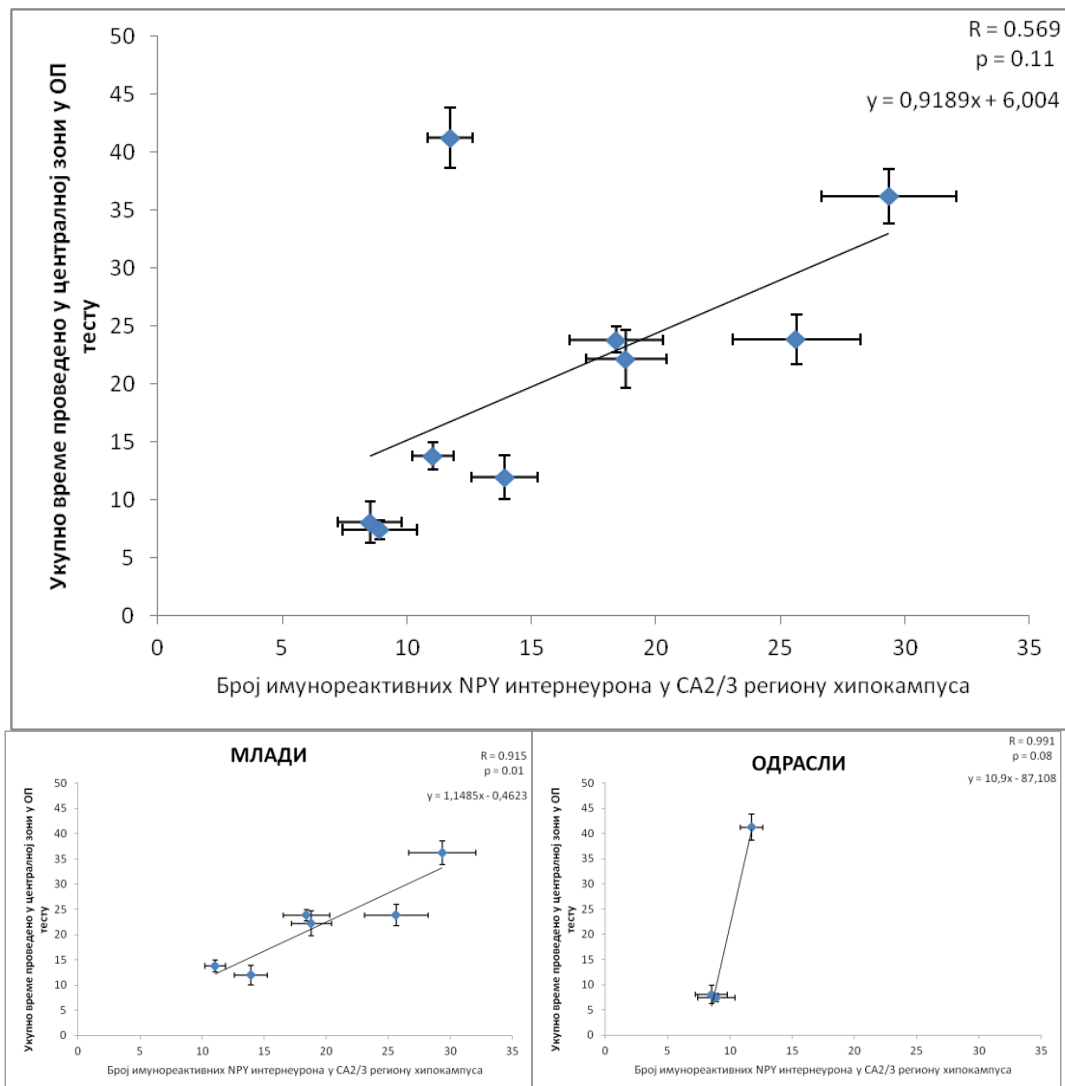
**Слика 4.51.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и УВПОК (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.51. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу (укупна површина пресека хипокампуса) и УВПОК. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и УВПОК ( $R=0.884$ ,  $p=0.002$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајно код младих животиња).



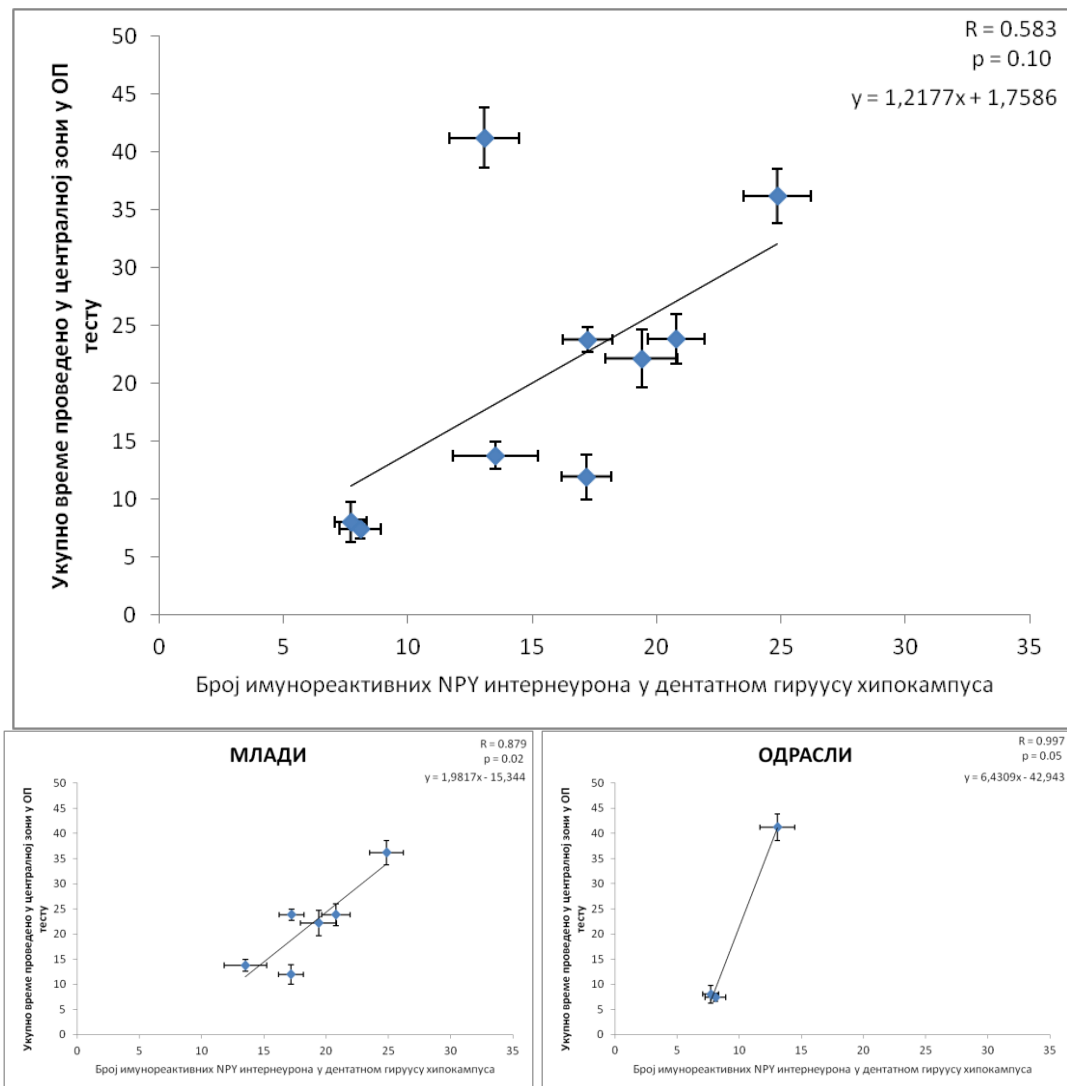
**Слика 4.52.** . Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и УВПЦЗ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.52. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и УВПЦЗ (најчешће коришћени индикатор за процену степена анксиозности у ОП тесту). Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и УВПЦЗ ( $R=0.727$ ,  $p=0.003$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајно код младих животиња).



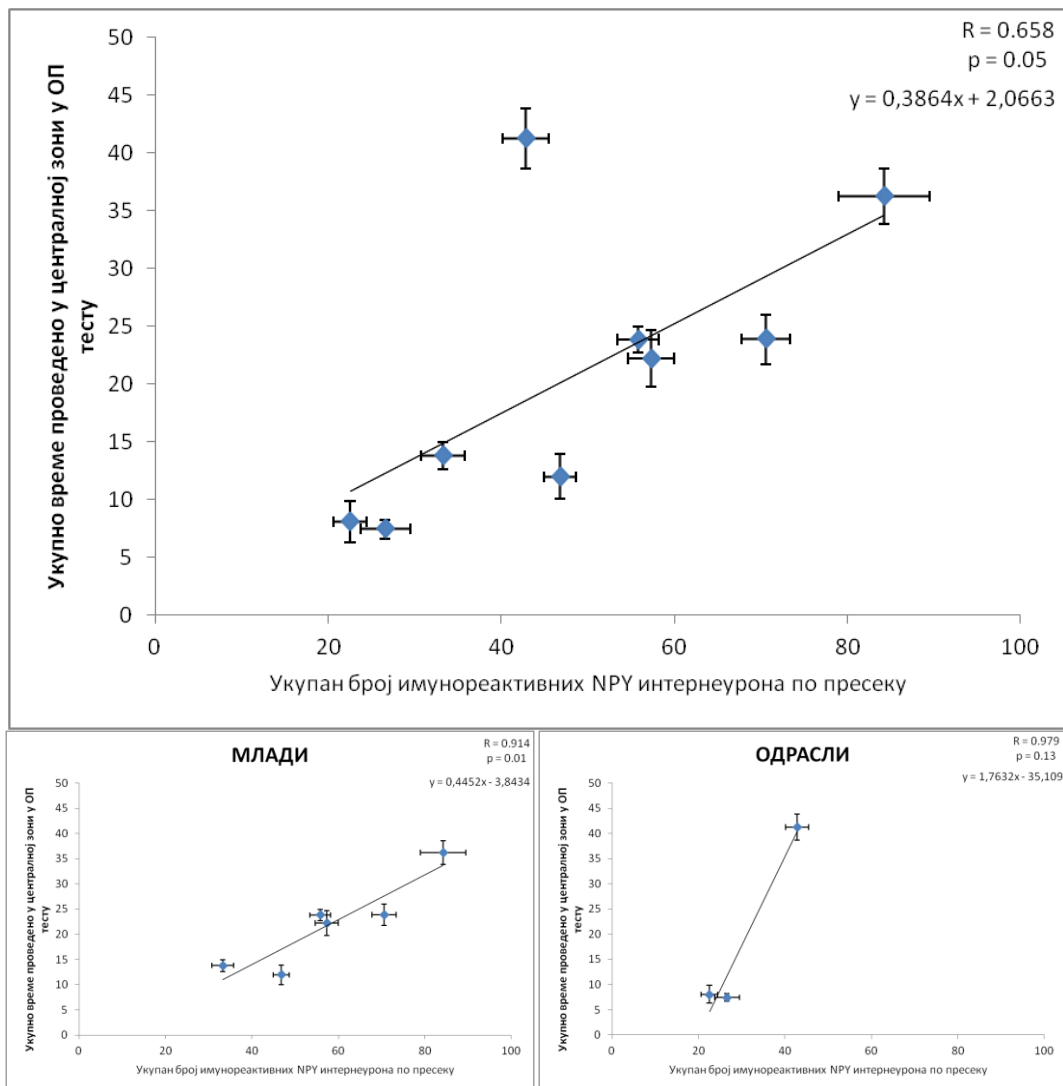
**Слика 4.53.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у CA2/3 региону хипокампуса и УВПЦЗ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.53. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у CA2/3 региону хипокампуса и УВПЦЗ (најчешће коришћени индикатор за процену степена анксиозности у ОП тесту). Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у CA2/3 региону хипокампуса и УВПЦЗ ( $R=0.569$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајно код младих животиња).



**Слика 4.54.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гируусу хипокампуса и УВПЦЗ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

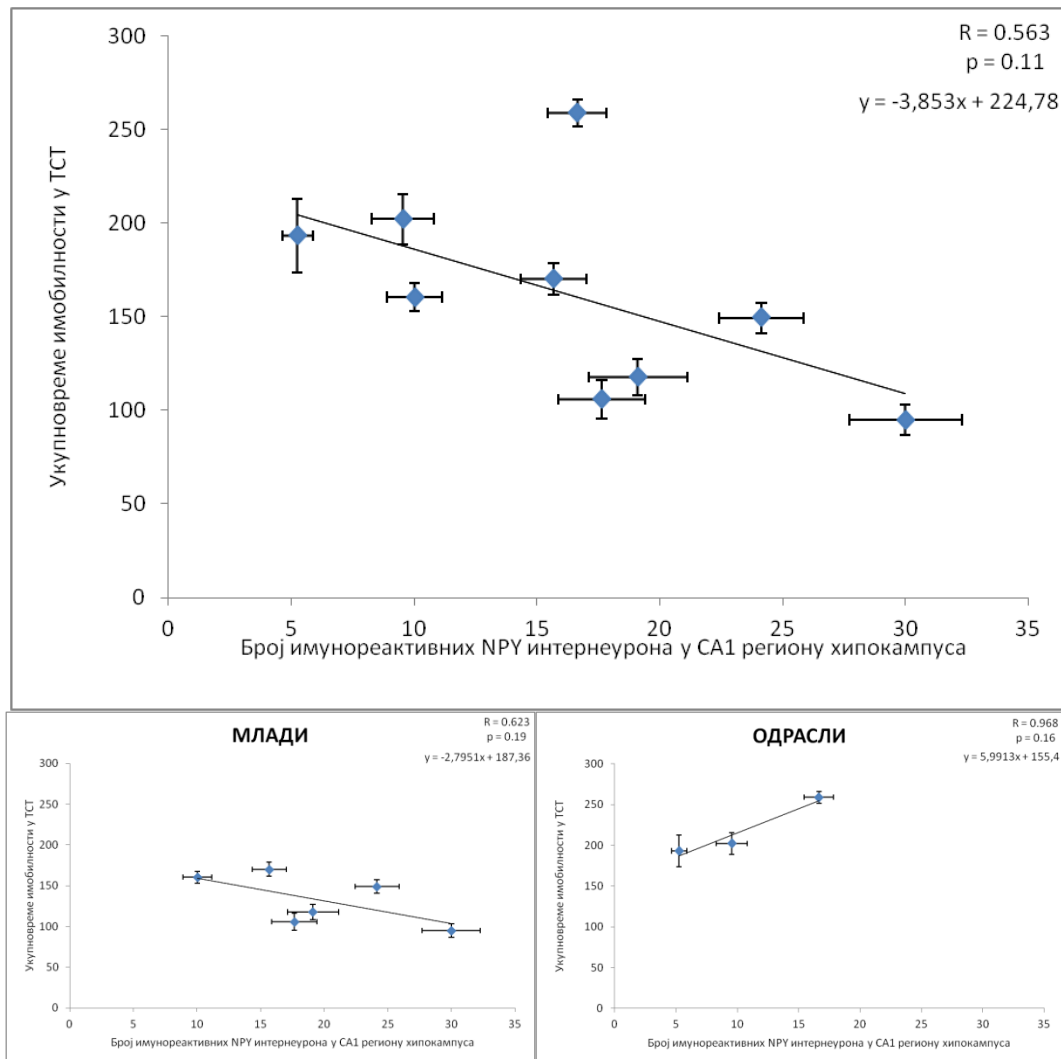
На Слици 4.54. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гируусу хипокампуса и УВПЦЗ. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гируусу хипокампуса и УВПЦЗ ( $R=0.583$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајно код младих животиња).



**Слика 4.55.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и УВПЦЗ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.55. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу (укупна површина пресека хипокампуса) и УВПЦЗ. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и УВПЦЗ ( $R=0.658$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајно код младих животиња).

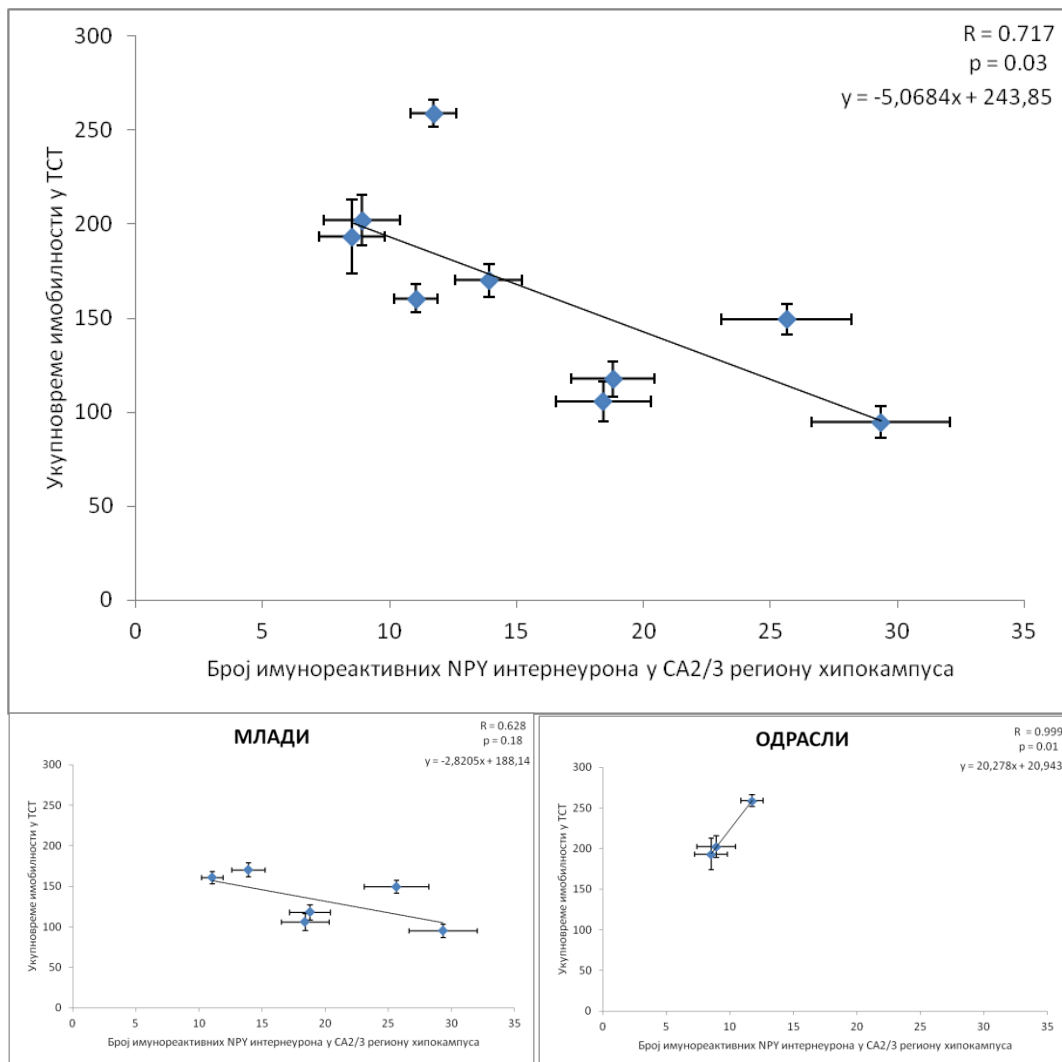
#### 4.5.2. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и параметра за процену степена депресивности



**Слика 4.56.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТСТ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

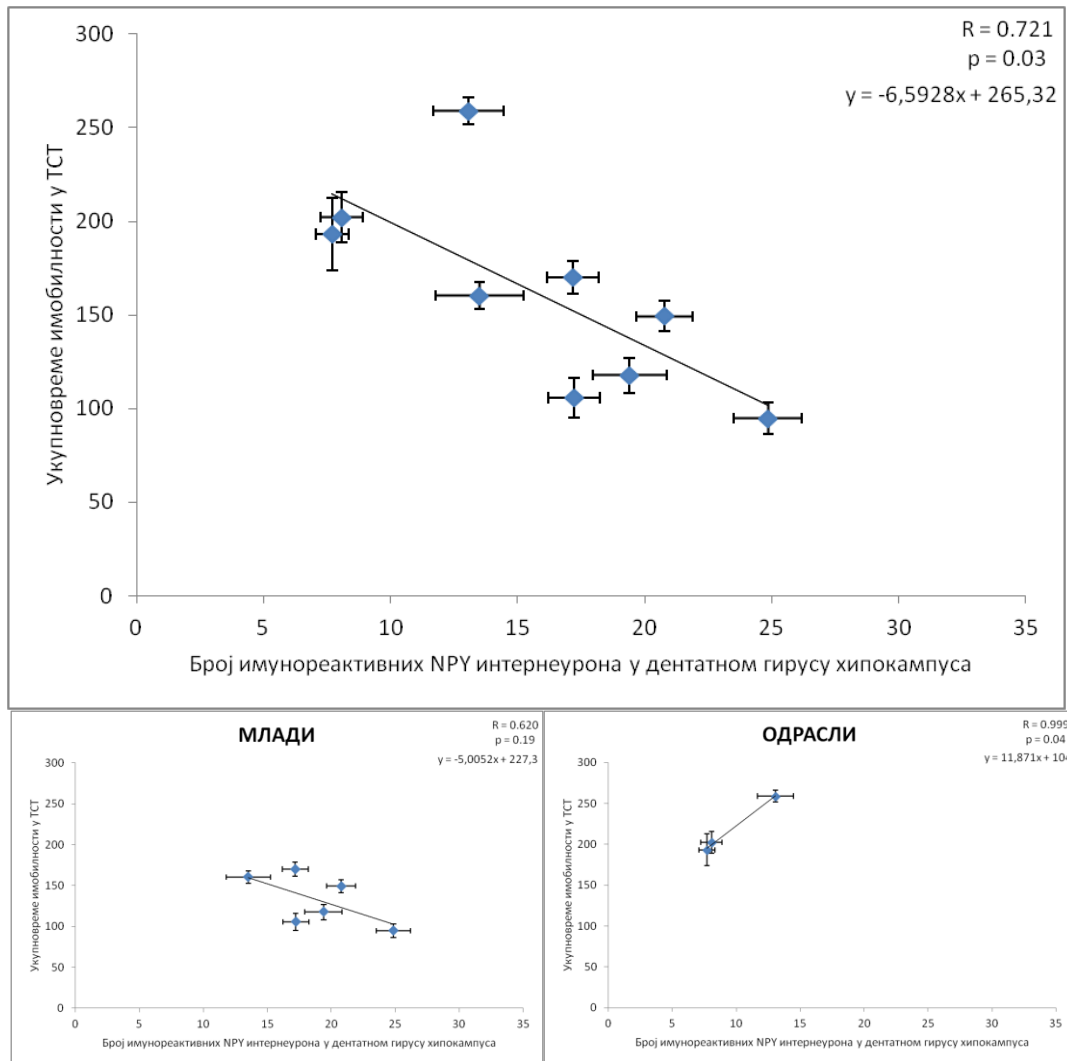
На Слици 4.56. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и и укупног времена имобилности у ТСТ (најзначајнији индикатор степена депресивности). Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и УВИ ( $R=0.563$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња, с тим да је код одраслих животиња уочена позитивна корелација.





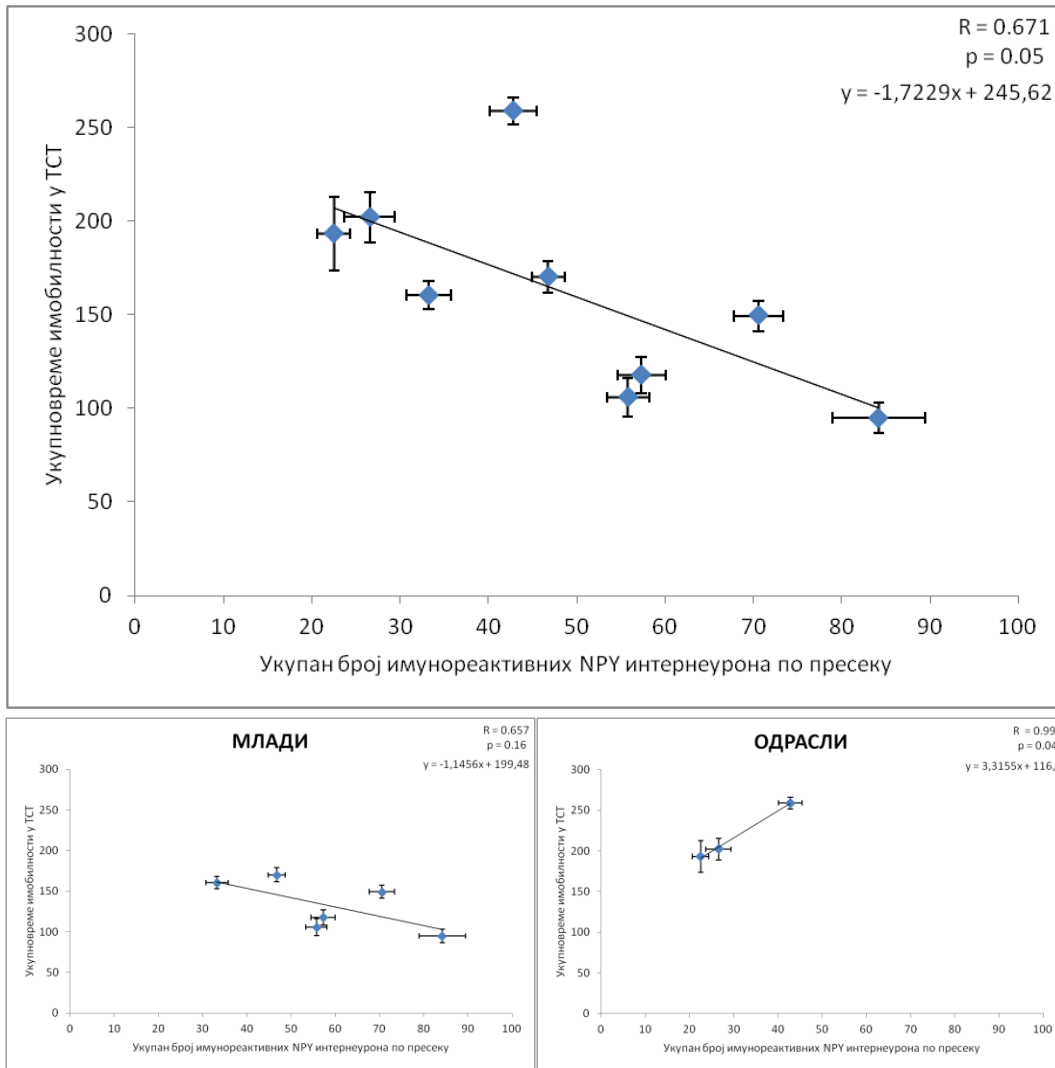
**Слика 4.57.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТСТ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

На Слици 4.57. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и и укупног времена имобилности у ТСТ. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и УВИ ( $R=0.717$ ,  $p=0.003$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код одраслих животиња,  $R=0.999$ ,  $p=0.01$ ).



**Слика 4.58.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТСТ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

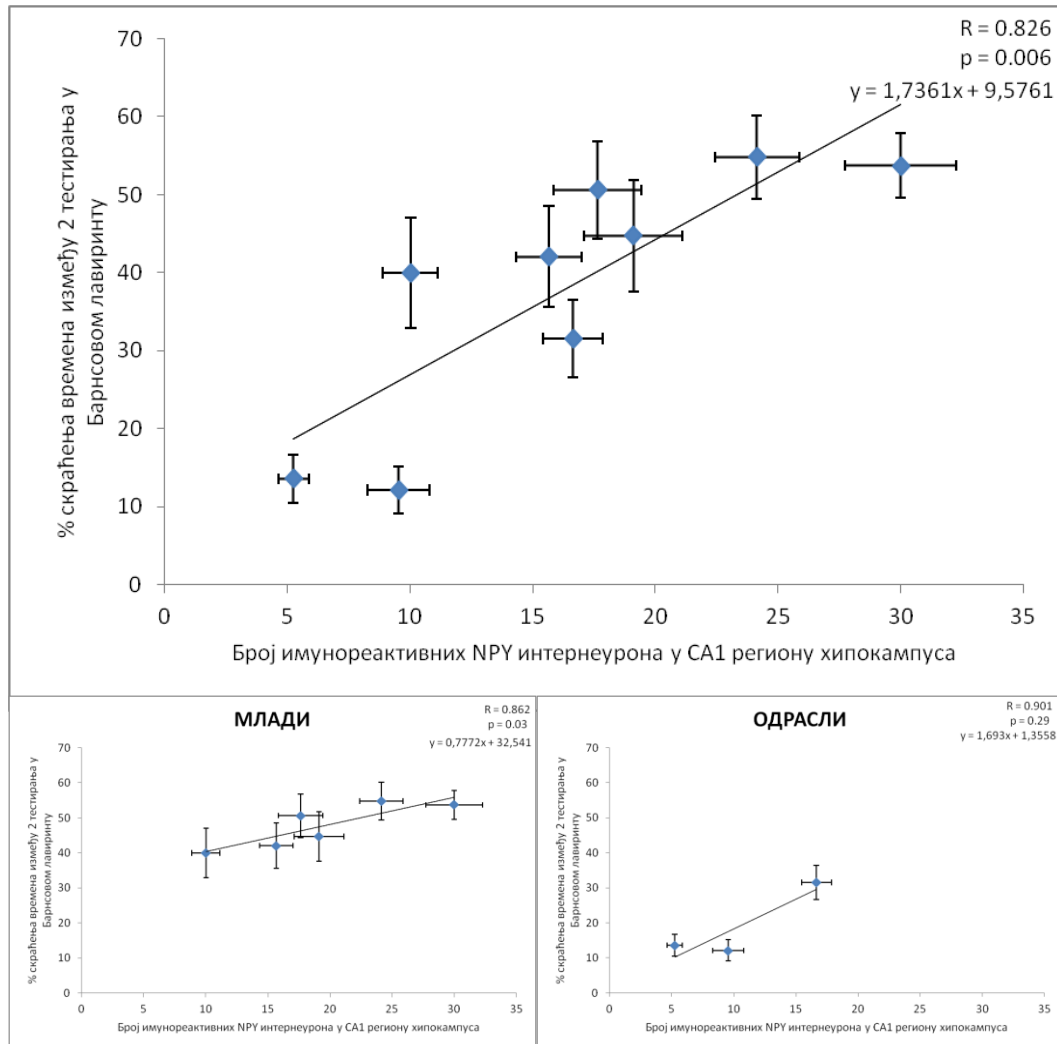
На Слици 4.58. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и и укупног времена имобилности у ТСТ. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и УВИ ( $R=0.721$ ,  $p=0.003$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код одраслих животиња,  $R=0.999$ ,  $p=0.04$ ).



**Слика 4.59.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и укупног времена имобилности у ТСТ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле). Представљене вредности означавају средње вредности испитиваних параметара за сваку појединачну групу  $\pm$ SEM.

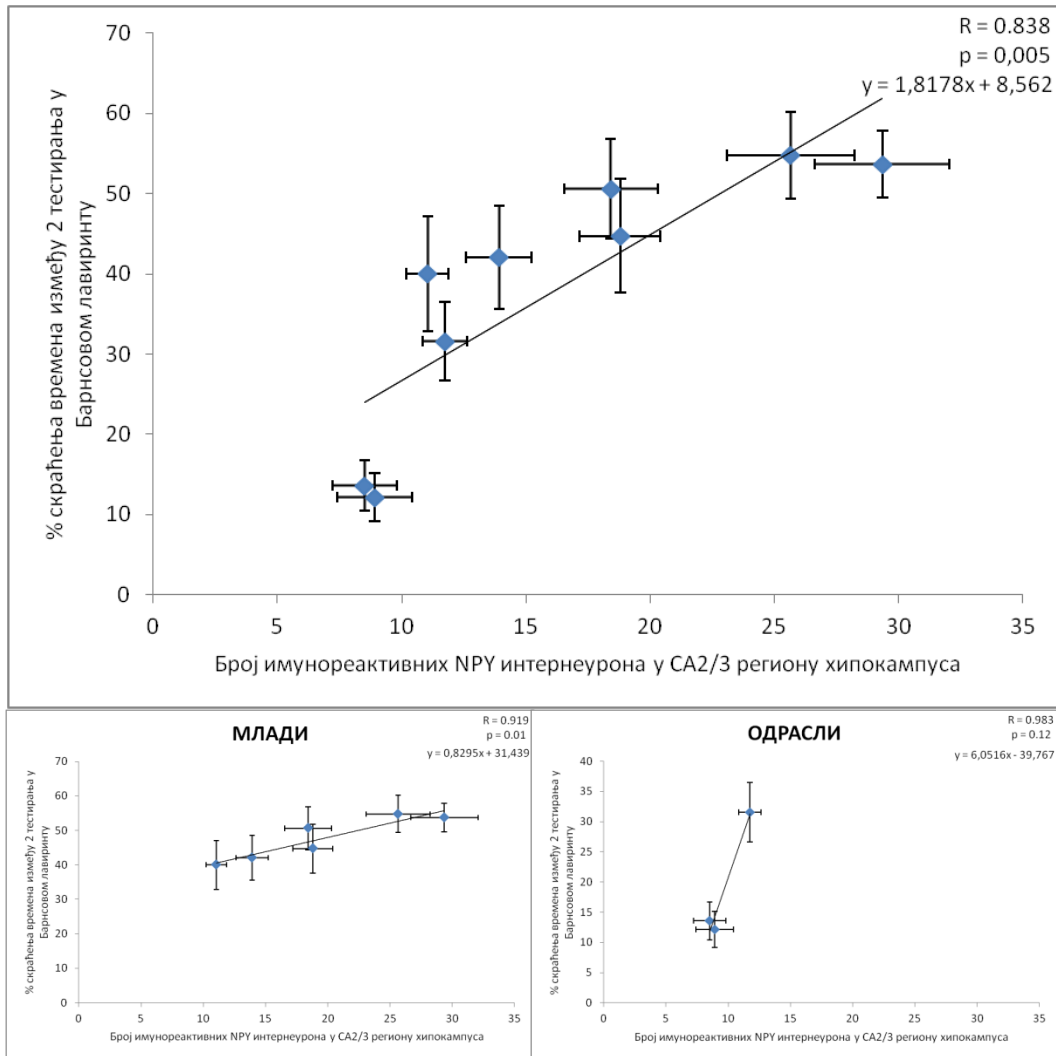
На Слици 4.59. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу (укупна површина пресека) и и укупног времена имобилности у ТСТ. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу и УВИ ( $R=0.671$ ,  $p=0.05$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код одраслих животиња,  $R=0.999$ ,  $p=0.04$ ).

### 4.5.3. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметера за процену когнитивних способности



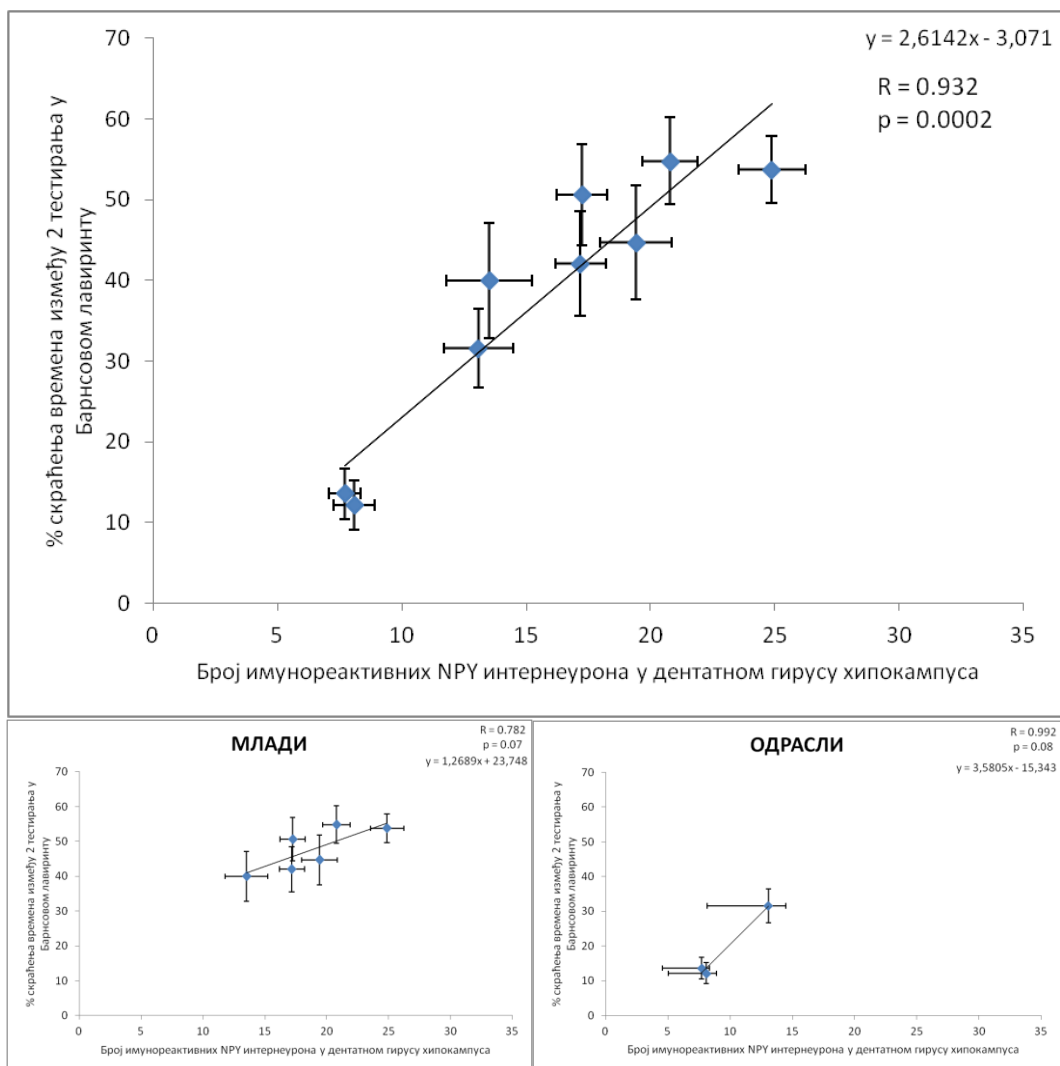
**Слика 4.60.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.60. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту ( $R=0.826$ ,  $p=0.006$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).



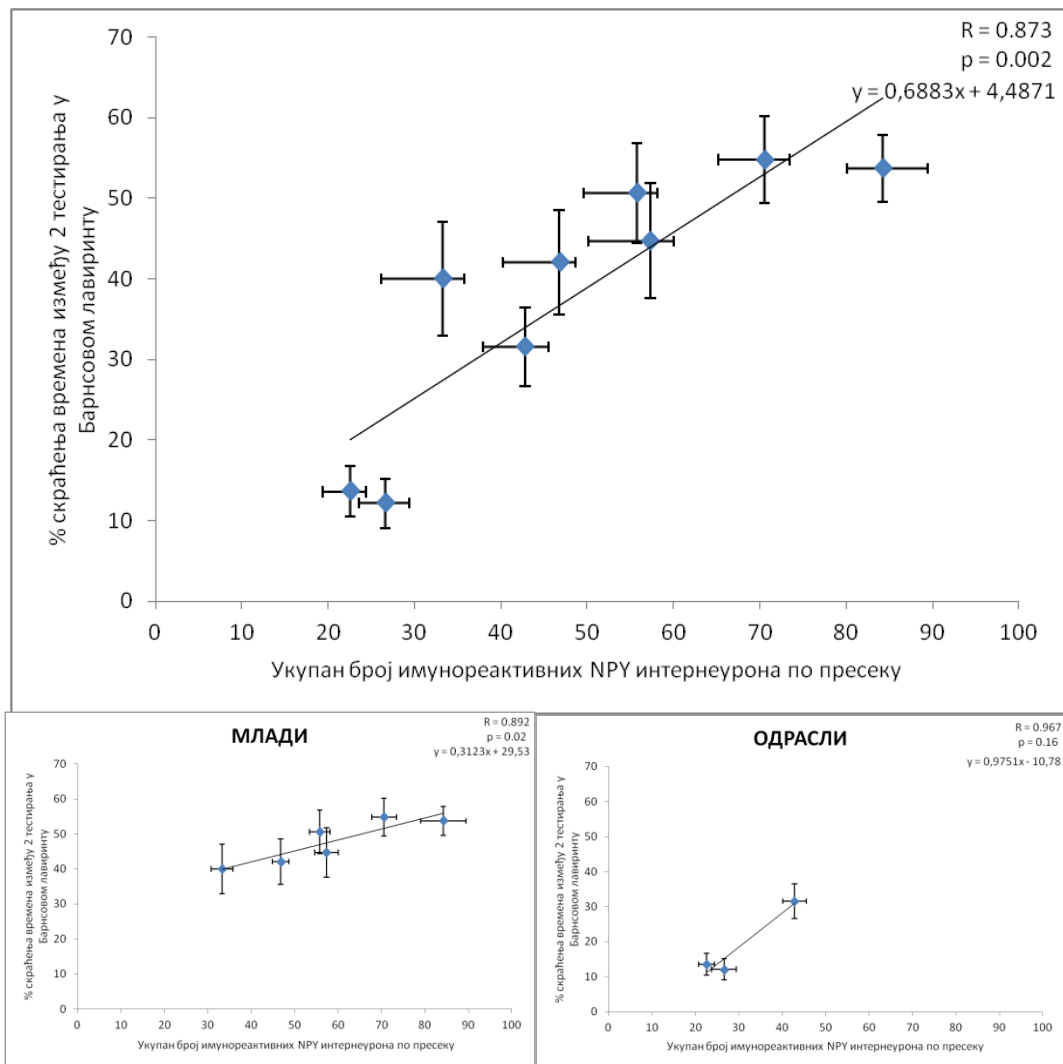
**Слика 4.61.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.61. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту ( $R=0.838$ ,  $p=0.005$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).



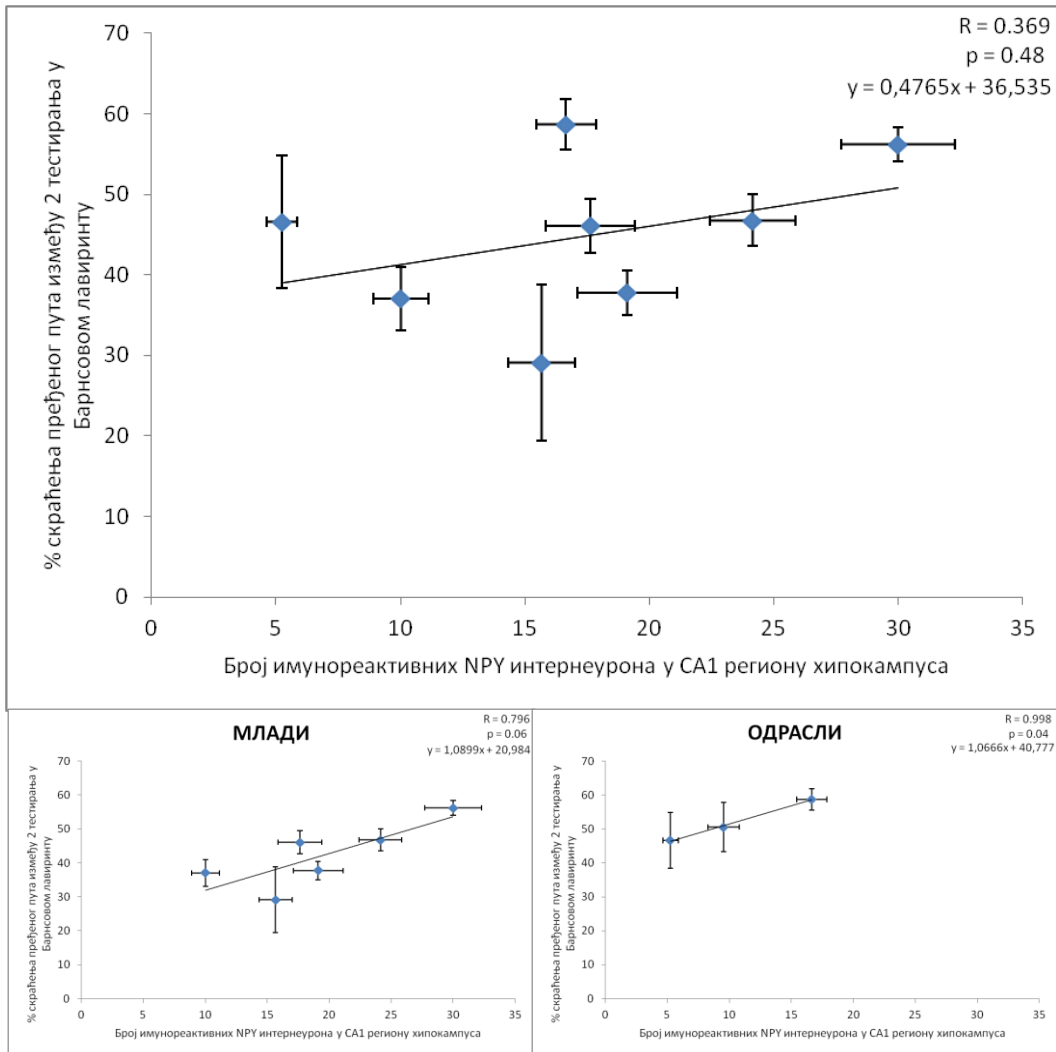
**Слика 4.62.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.62. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту ( $R=0.932$ ,  $p=0.0002$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња.



**Слика 4.63.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

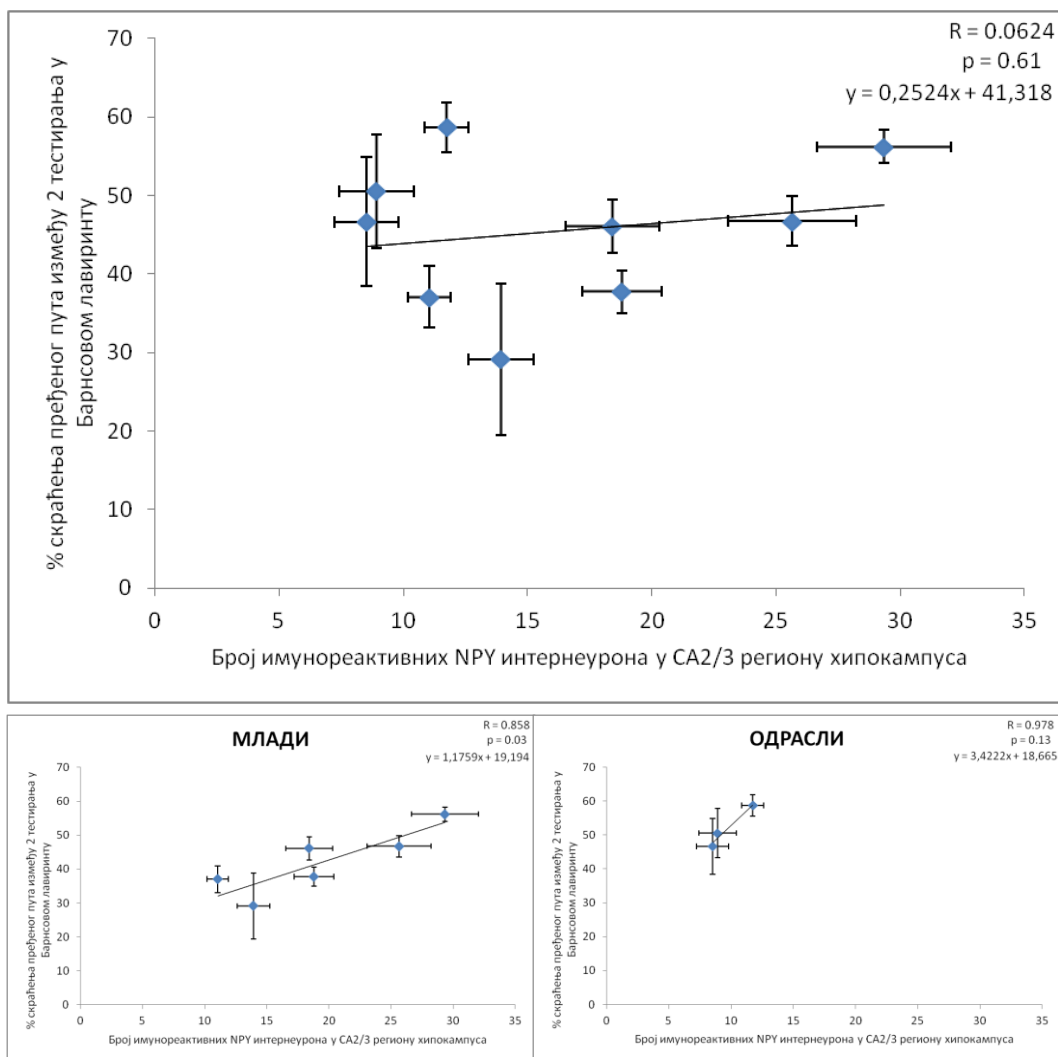
На Слици 4.63. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса (укупна површина пресека) и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између два тестирања у Барнсовом лавиринту ( $R=0.873$ ,  $p=0.002$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).



**Слика 4.64.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

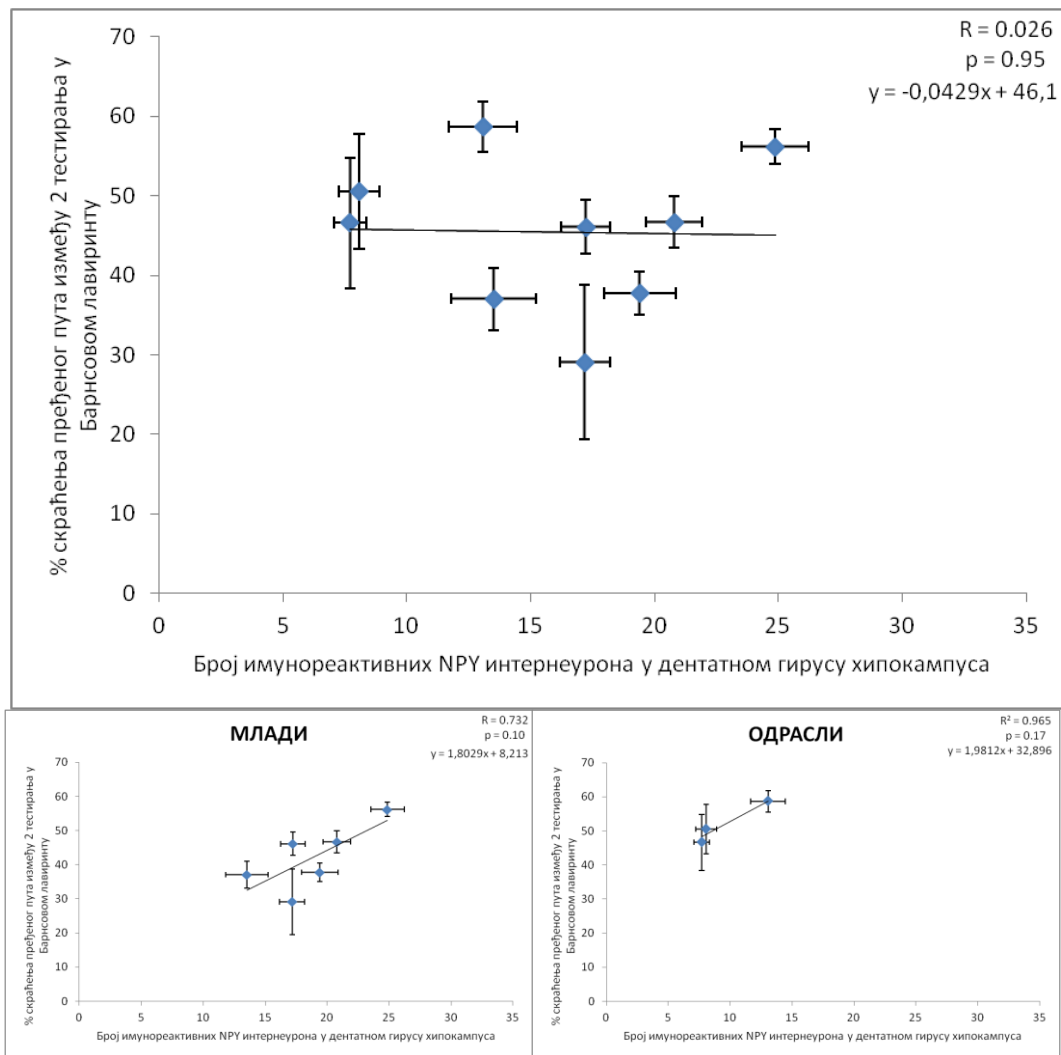
На Слици 4.64. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да постоји слаба, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту ( $R=0.369$ ). Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код одраслих животиња).





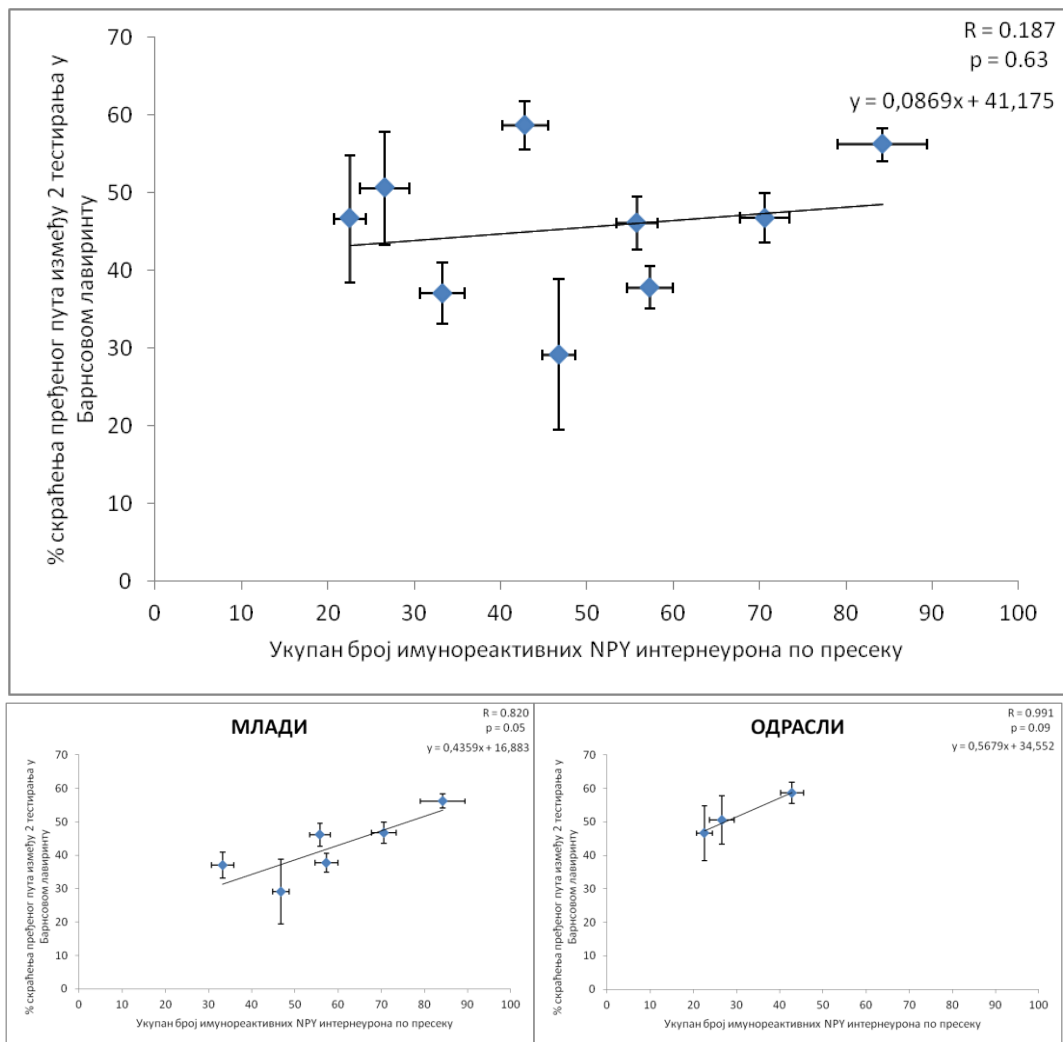
**Слика 4.65.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.65. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да не постоји корелација између броја имунореактивних NPY неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).



**Слика 4.66.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

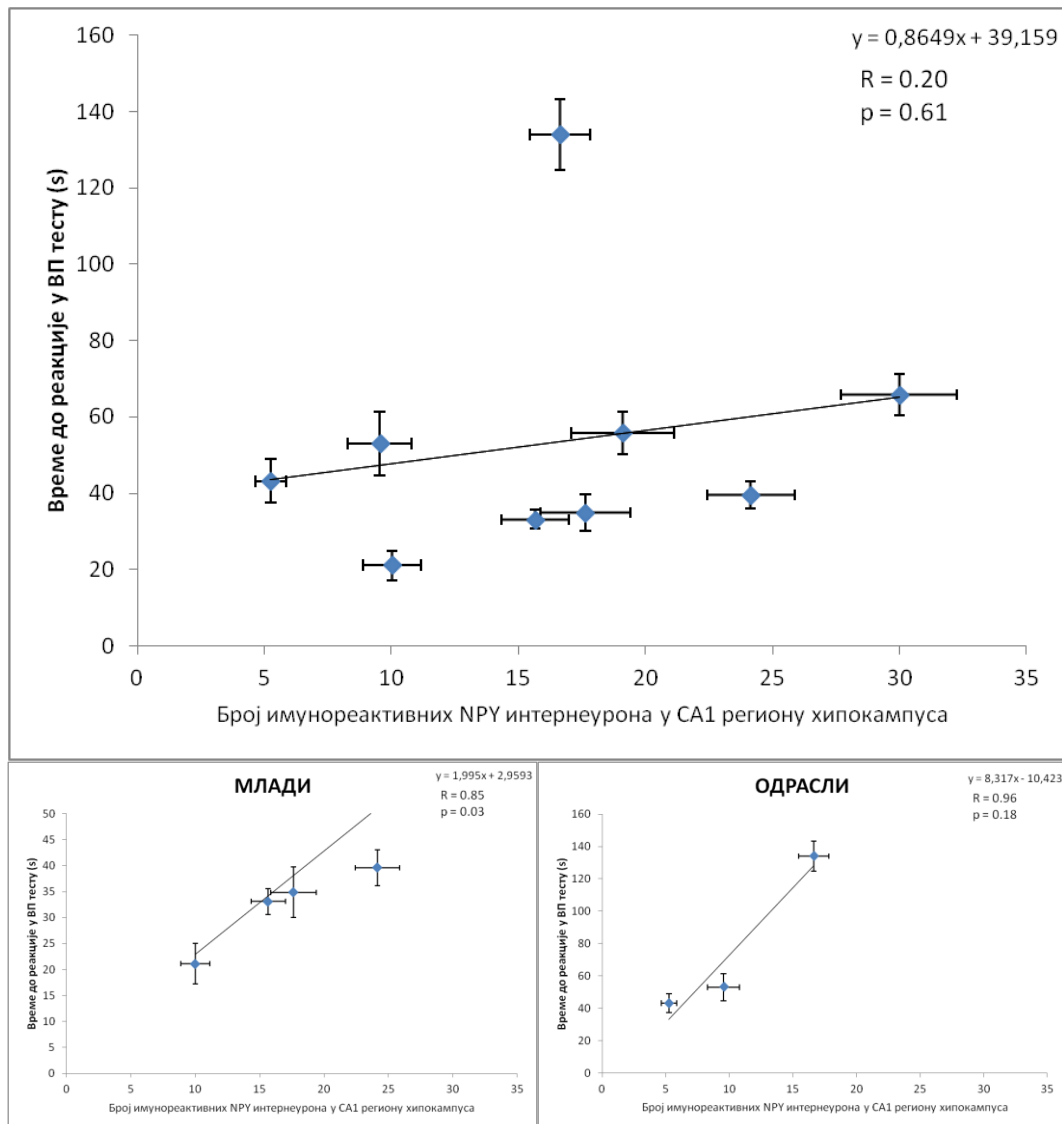
На Слици 4.66. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да не постоји корелација између броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња.



**Слика 4.67.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

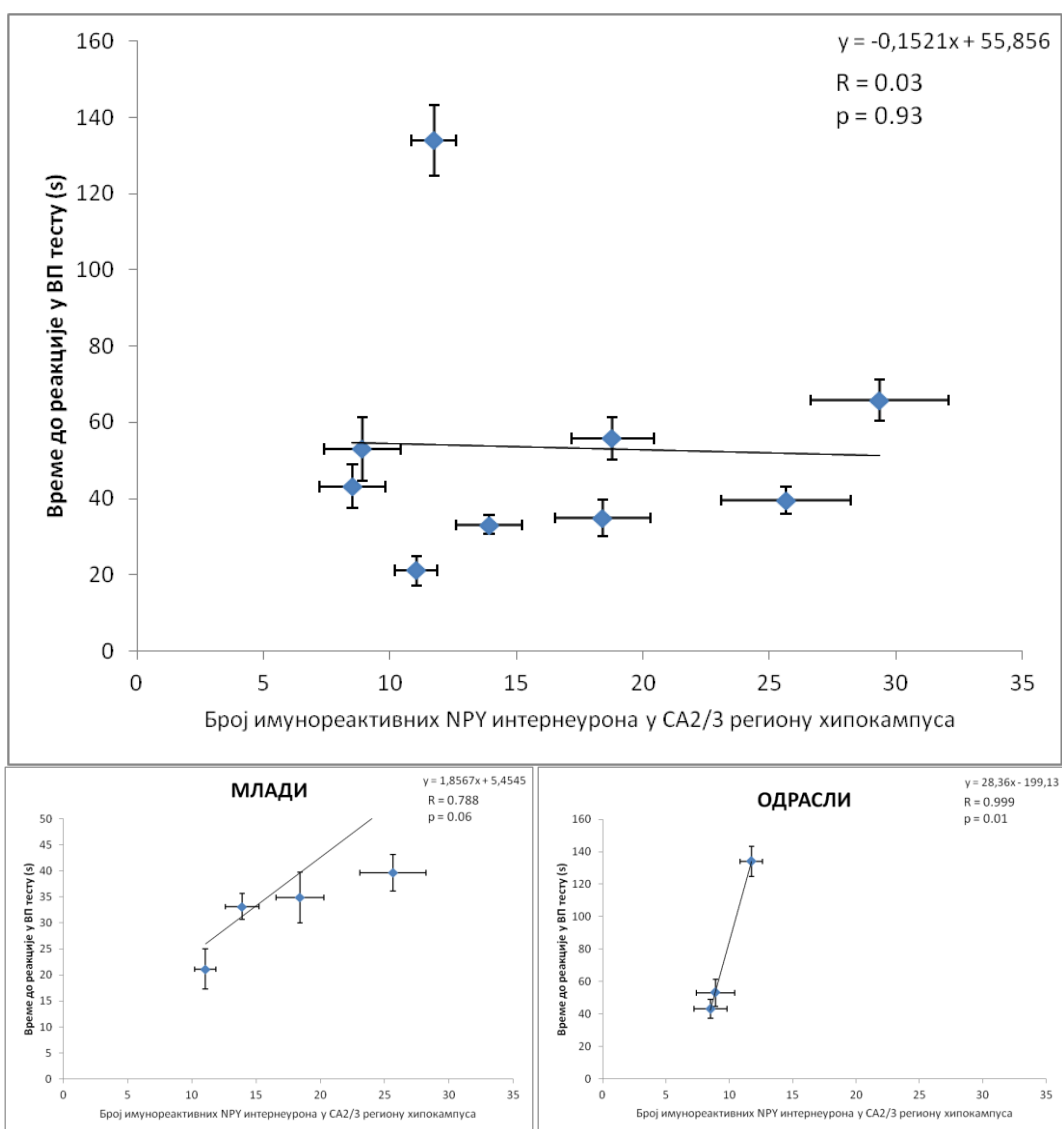
На Слици 4.67. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса (укупна површина пресека) и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Анализа показује да постоји слаба корелација између броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса и % скраћења пређеног пута између два тестирања у Барнсовом лавиринту. Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).

#### 4.5.4. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY интернеурона у хипокампусу и ноцицепције



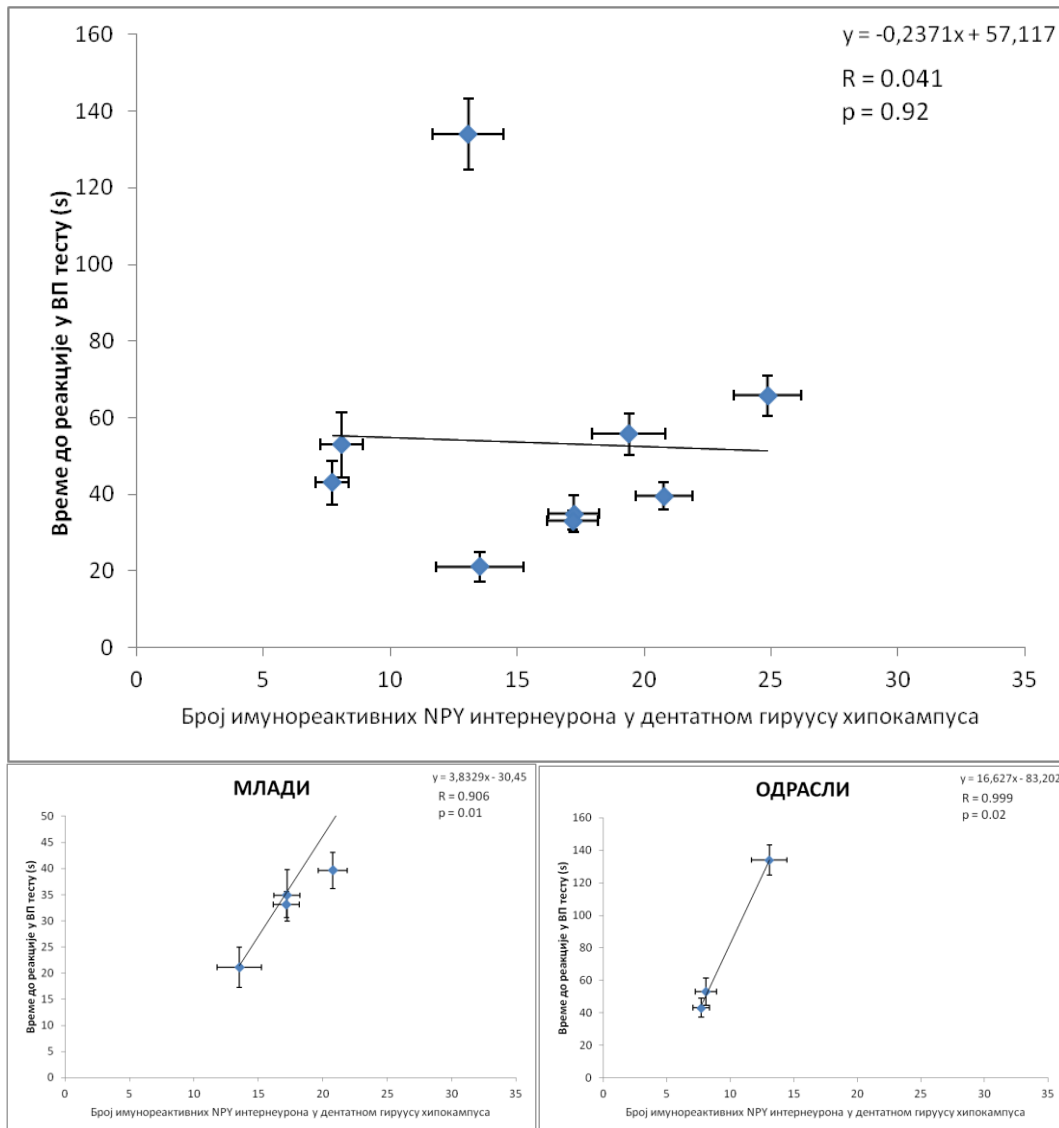
**Слика 4.68.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.68. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту постоји само у категорији младих животиња ( $R = 0.85$ ,  $p = 0.03$ ).



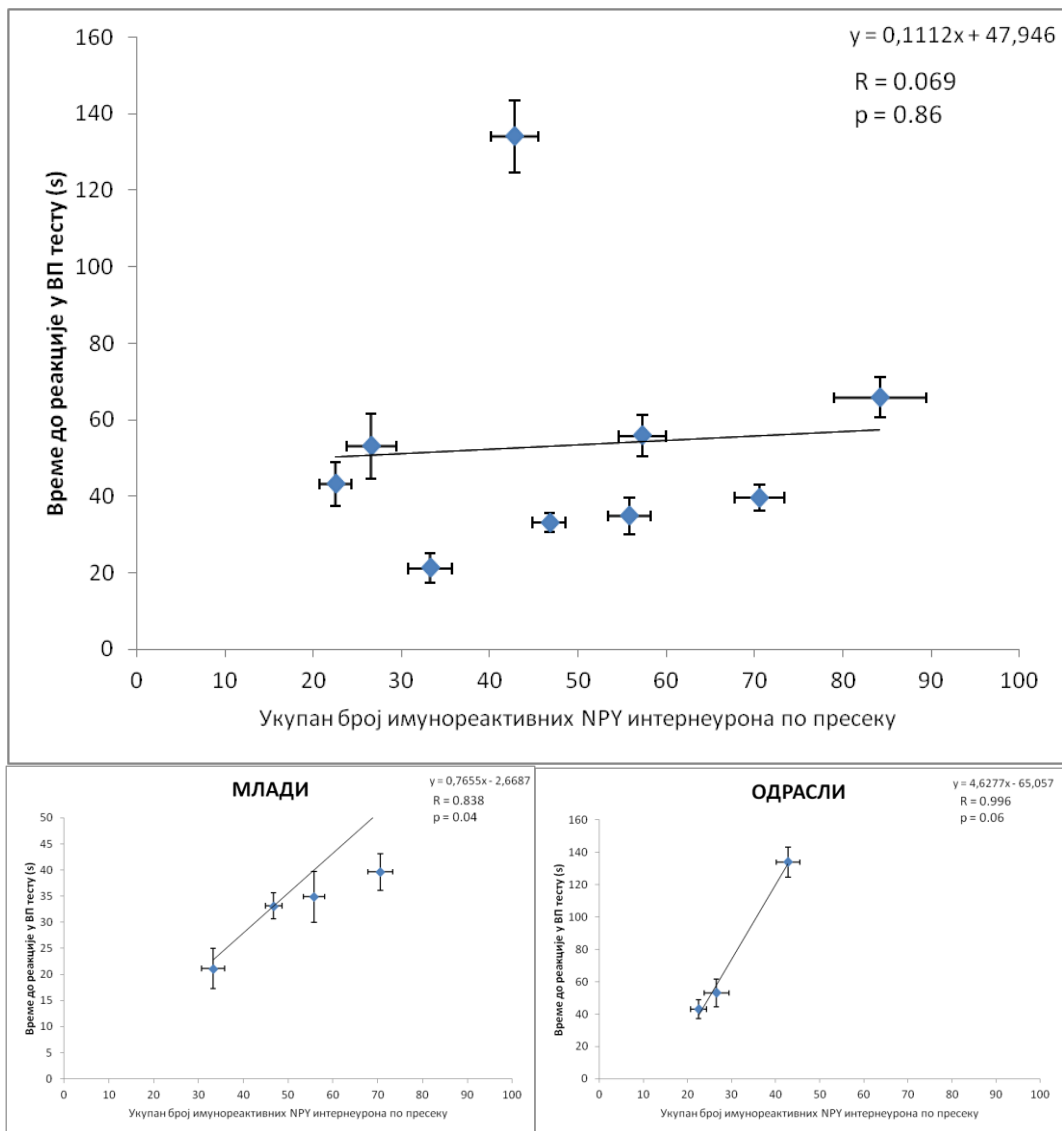
**Слика 4.69.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.69. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту постоји само у категорији одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ ).



**Слика 4.70.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у VIP тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

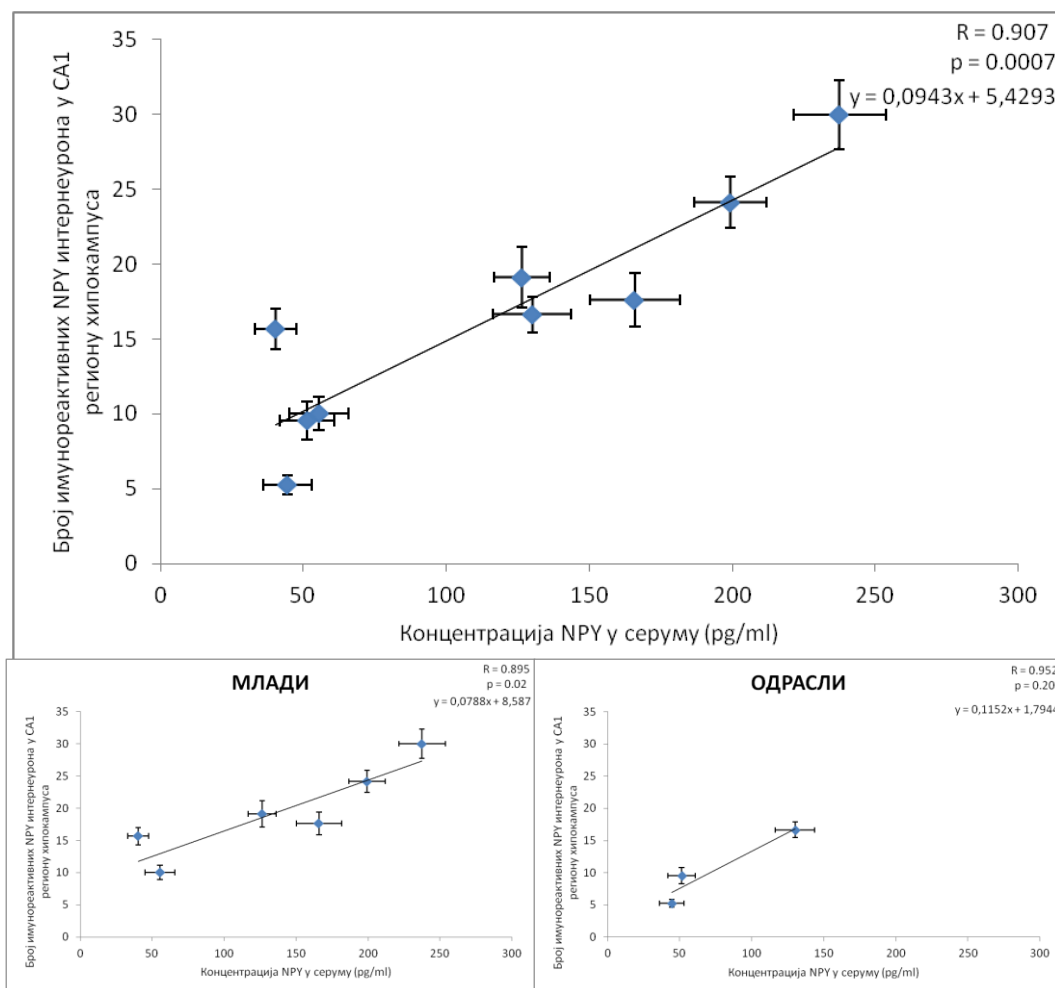
На Слици 4.70. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у VIP тесту. Анализа показује да јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у VIP тесту постоји само у категорији младих ( $R = 0.906$ ,  $p = 0.01$ ), као и одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.02$ ).



**Слика 4.71.** Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних NPY неурона на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.71. је представљена међусобна повезаност броја имунореактивних NPY неурона на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да јака, позитивна корелација између броја имунореактивних NPY неурона на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту постоји само у категорији младих животиња ( $R = 0.838$ ,  $p = 0.04$ ).

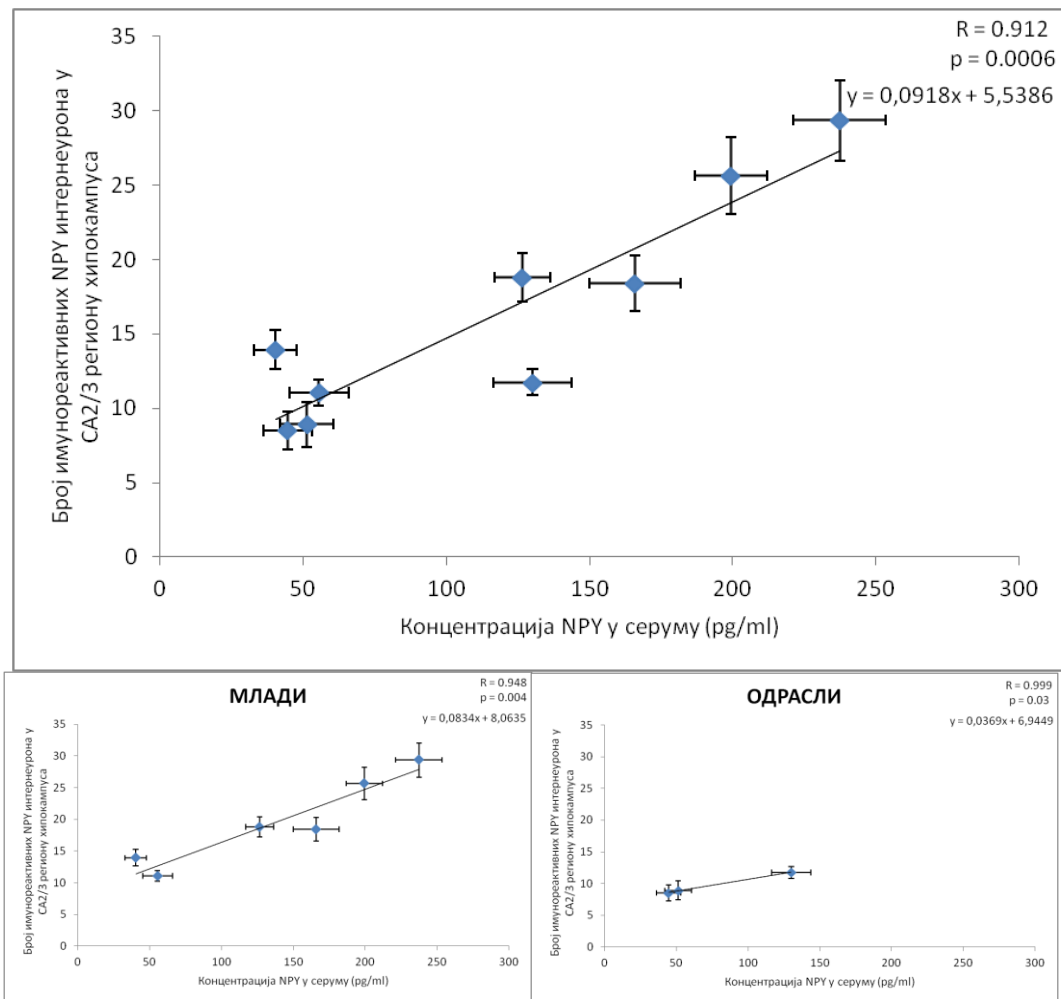
#### 4.5.5. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPΥ и броја имунореактивних NPΥ интернеурона у хипокампусу



**Слика 4.72.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPΥ у серуму и броја имунореактивних NPΥ неурона у СА1 региону хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

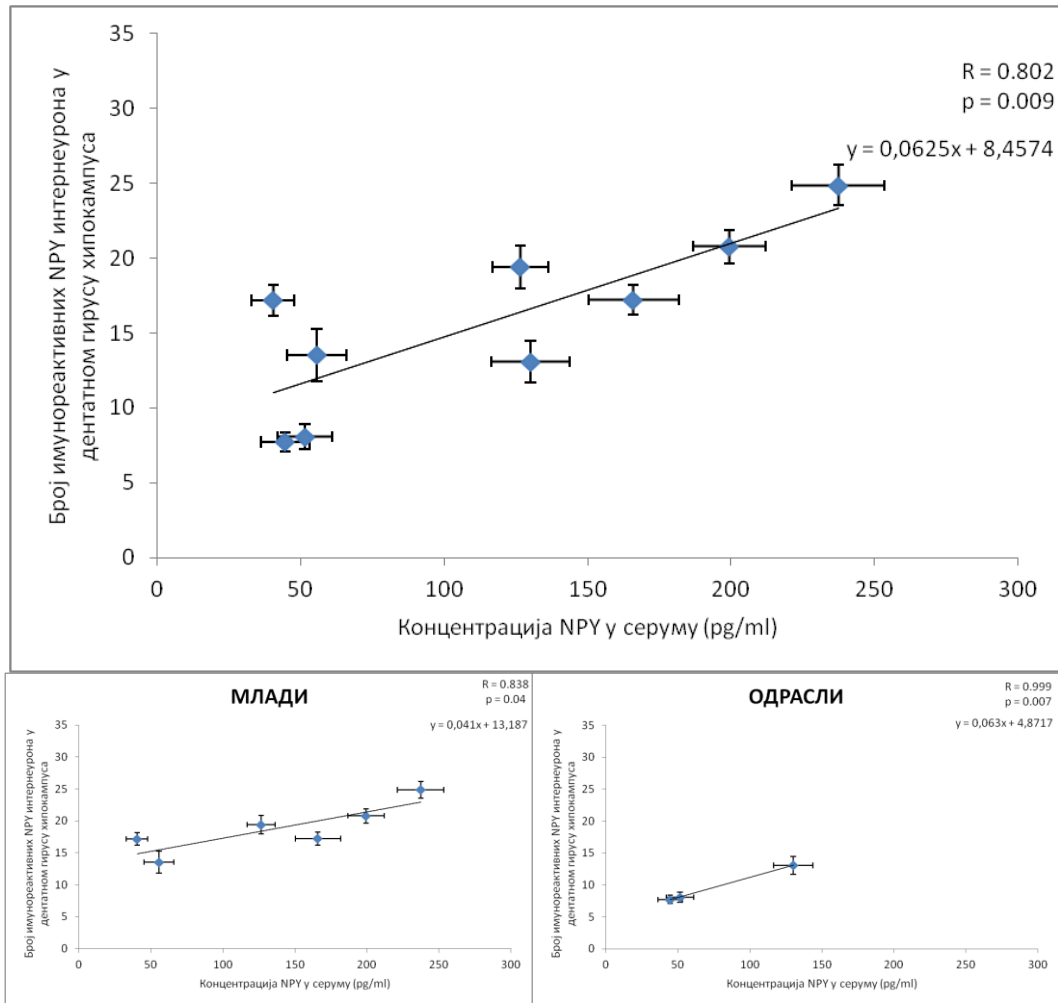
На Слици 4.72. је представљена међусобна повезаност концентрације NPΥ у серуму и броја имунореактивних NPΥ неурона у СА1 региону хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације NPΥ у серуму и броја имунореактивних NPΥ неурона у СА1 региону хипокампуса ( $R=0.907$ ,  $p=0.0007$ ). Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).





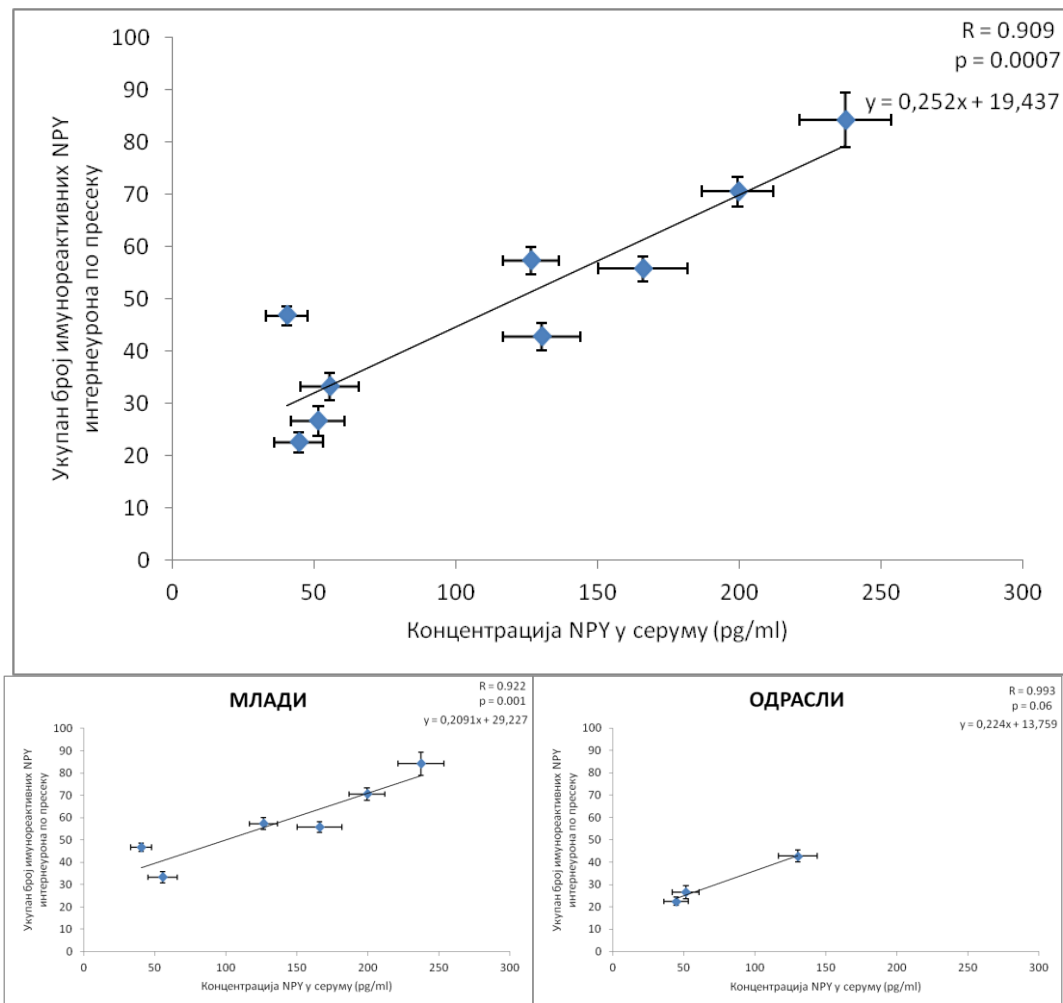
**Слика 4.73.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.73. је представљена међусобна повезаност концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у СА2/3 региону хипокампуса ( $R=0.912$ ,  $p=0.0006$ ). Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих, као и код одраслих животиња).



**Слика 4.74.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

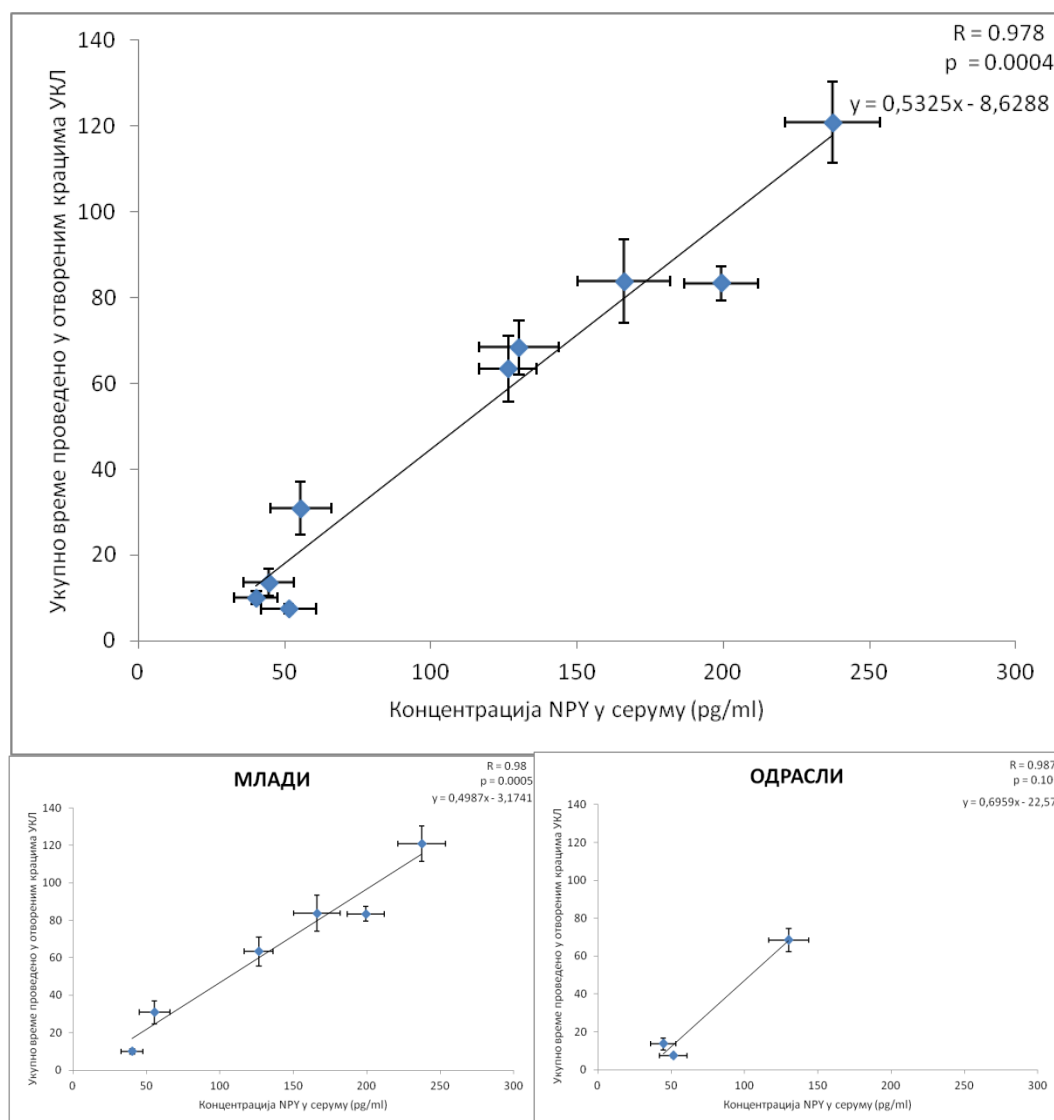
На Слици 4.74. је представљена међусобна повезаност концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса ( $R=0.802$ ,  $p=0.009$ ). Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих, као и код одраслих животиња).



**Слика 4.75.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.75. је представљена међусобна повезаност концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона по пресеку хипокампуса (укупна површина пресека). Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације NPY у серуму и броја имунореактивних NPY неурона у дентатном гирусу хипокампуса ( $R=0.909$ ,  $p=0.0007$ ). Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).

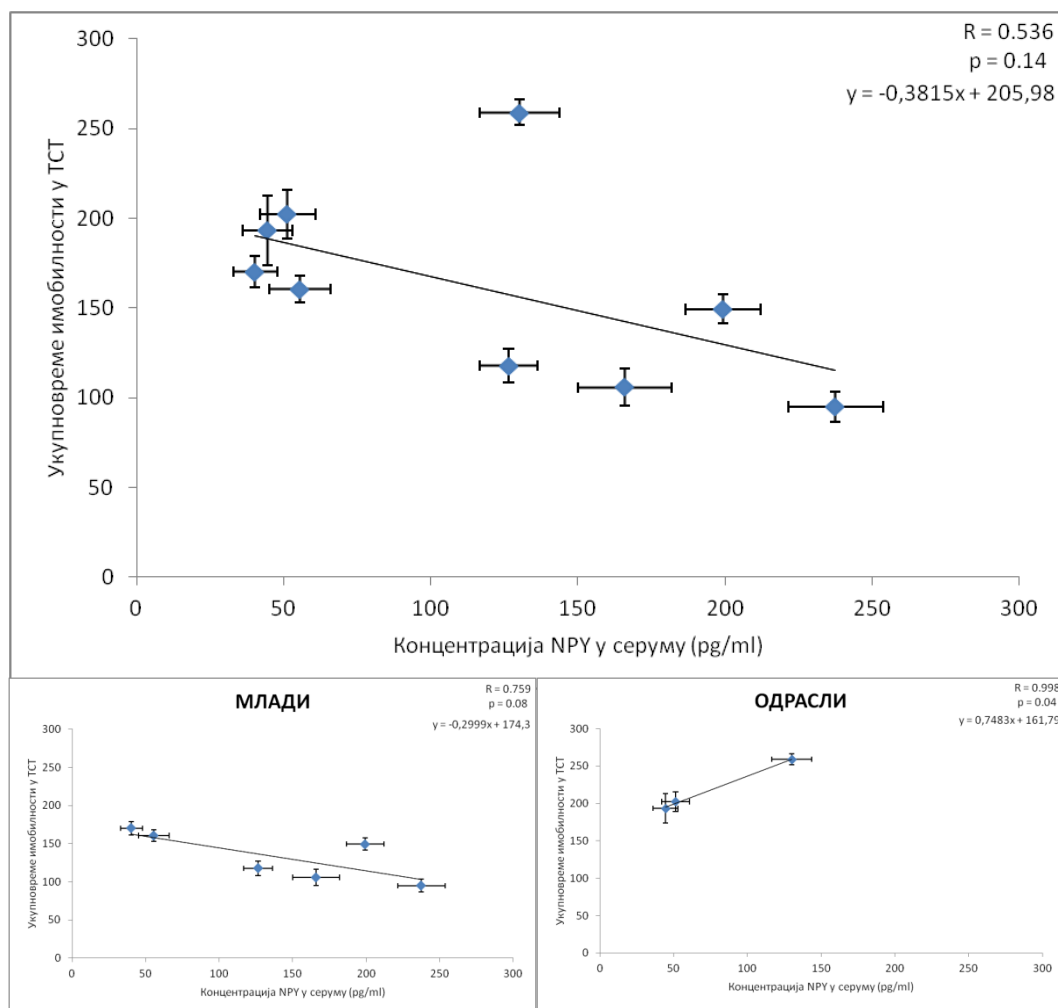
#### 4.5.6. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY индикатора за процену анксиозности



**Слика 4.76.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPY у серуму и УВПОК (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.76. је представљена међусобна повезаност концентрације NPY у серуму и УВПОК. Анализа показује да постоји слаба, позитивна корелација између концентрације NPY у серуму и УВПОК ( $R=0.978$ ,  $p=0.0004$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код младих животиња).

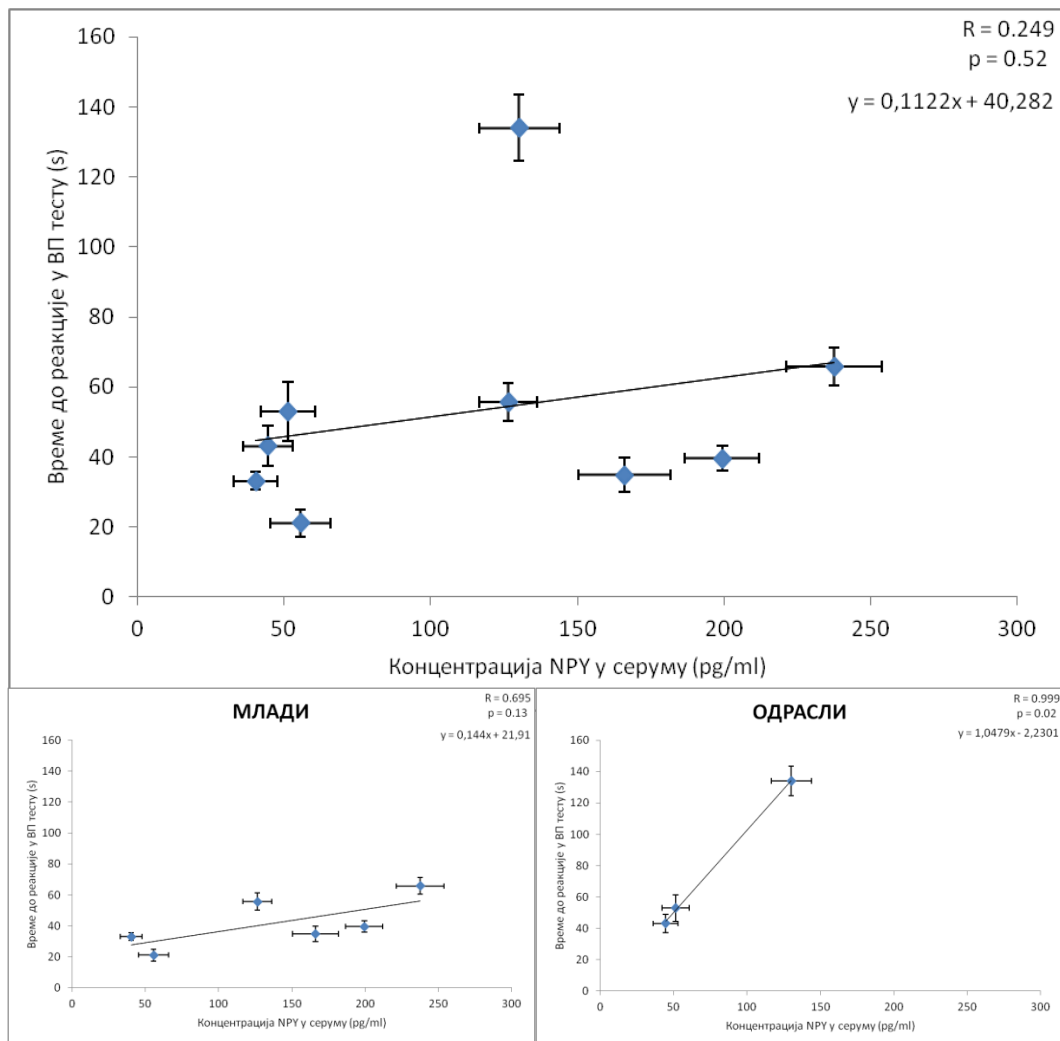
#### 4.5.7. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY индикатора за процену депресивности



**Слика 4.77.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPY у серуму и УВИ (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.77. је представљена међусобна повезаност концентрације NPY у серуму и УВИ. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације NPY у серуму и УВИ ( $R=0.536$ ). Јака повезаност је уочена и анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код одраслих животиња).

#### 4.5.8. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY параметра за процену ноцицепције

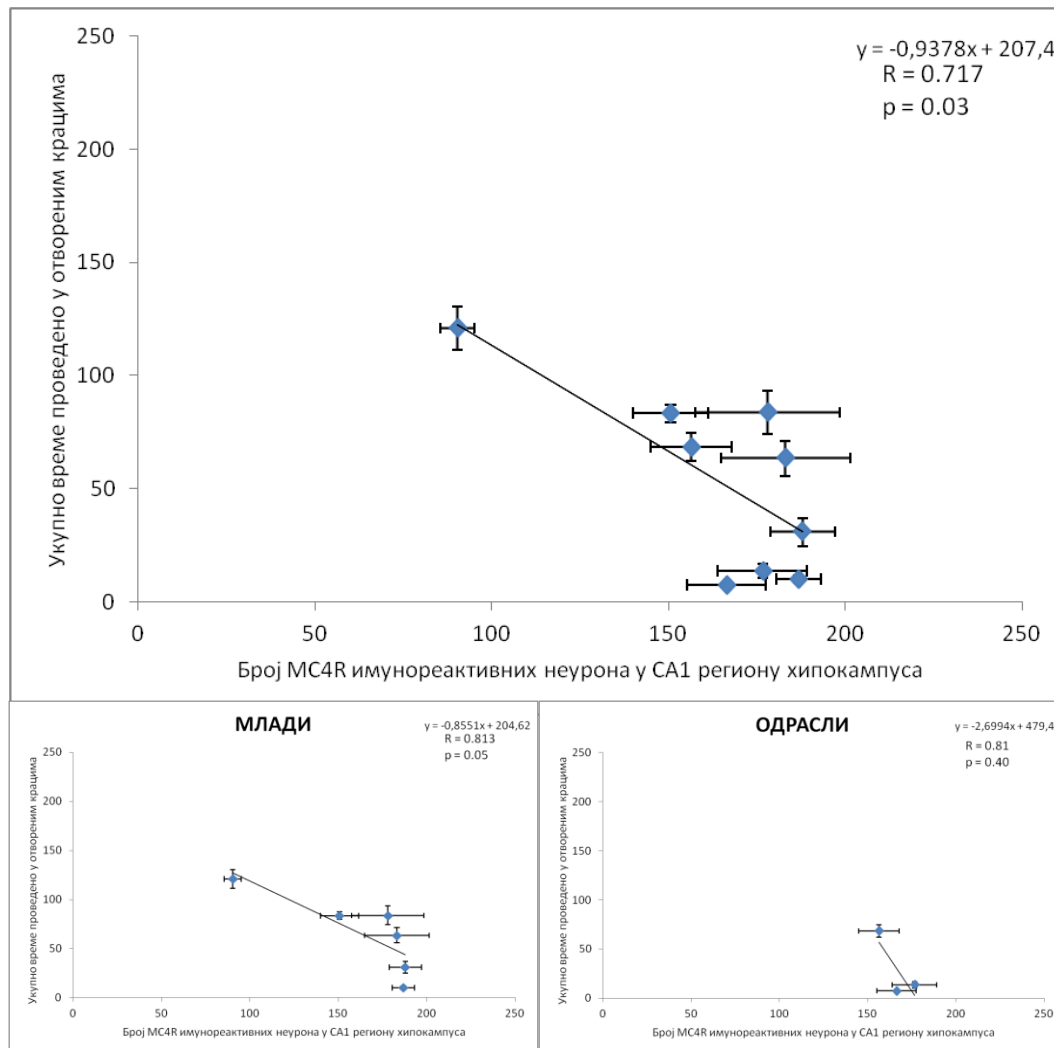


**Слика 4.78.** Анализа међусобне повезаности концентрације NPY у серуму и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.78. је представљена међусобна повезаност концентрације NPY у серуму и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји слаба, позитивна корелација између концентрације NPY у серуму и времена до реакције у ВП тесту ( $R=0.249$ ). Јака повезаност је уочена анализом повезаности ова два параметра у обе старосне категорије животиња (статистички значајна, позитивна корелација код одраслих животиња,  $R= 0.999$ ,  $p = 0.02$ ).

**4.6. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима, серолошким анализама и бројем MC4R имунореактивних неурона у хипокампусу**

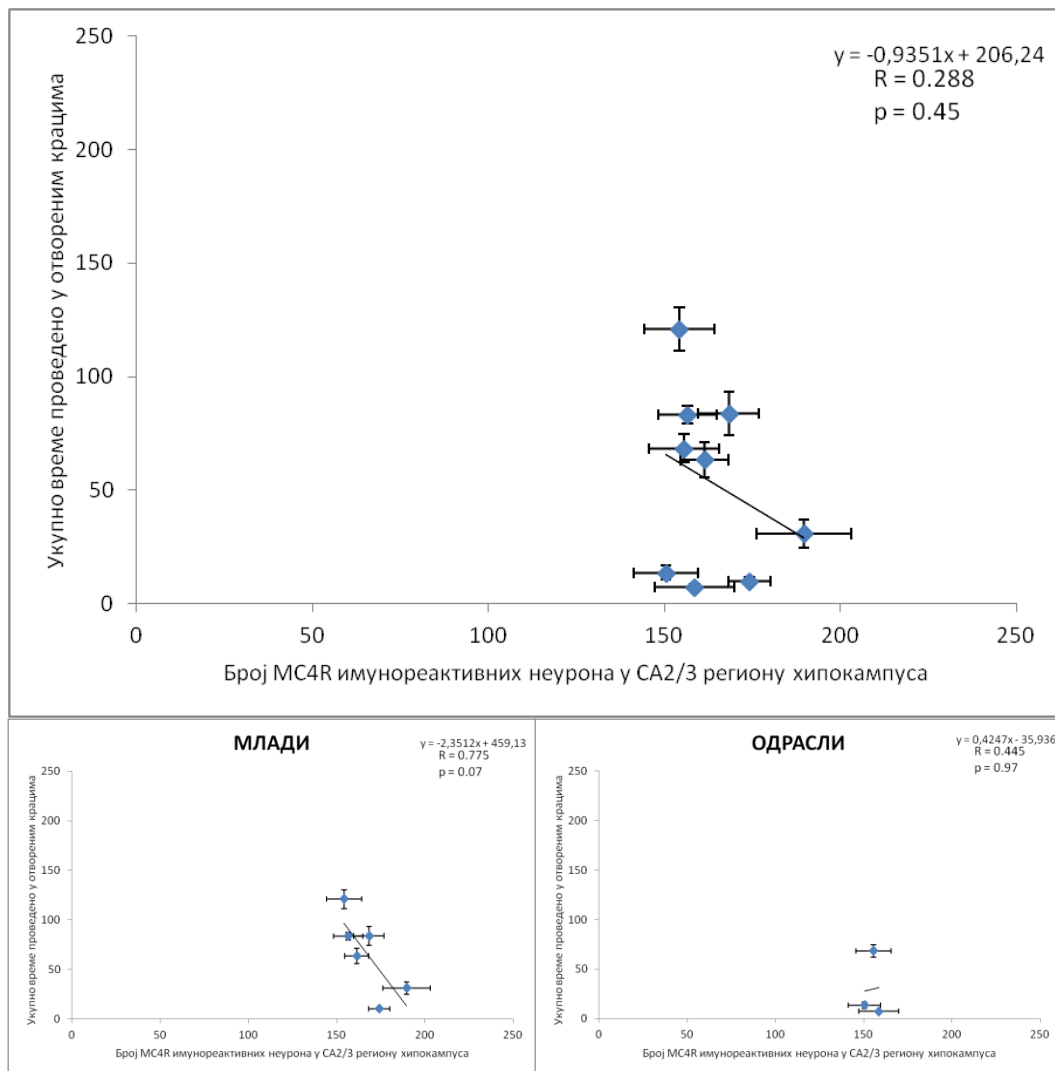
#### 4.6.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних МС4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена анксиозности



**Слика 4.79.** Анализа међусобне повезаности броја МС4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

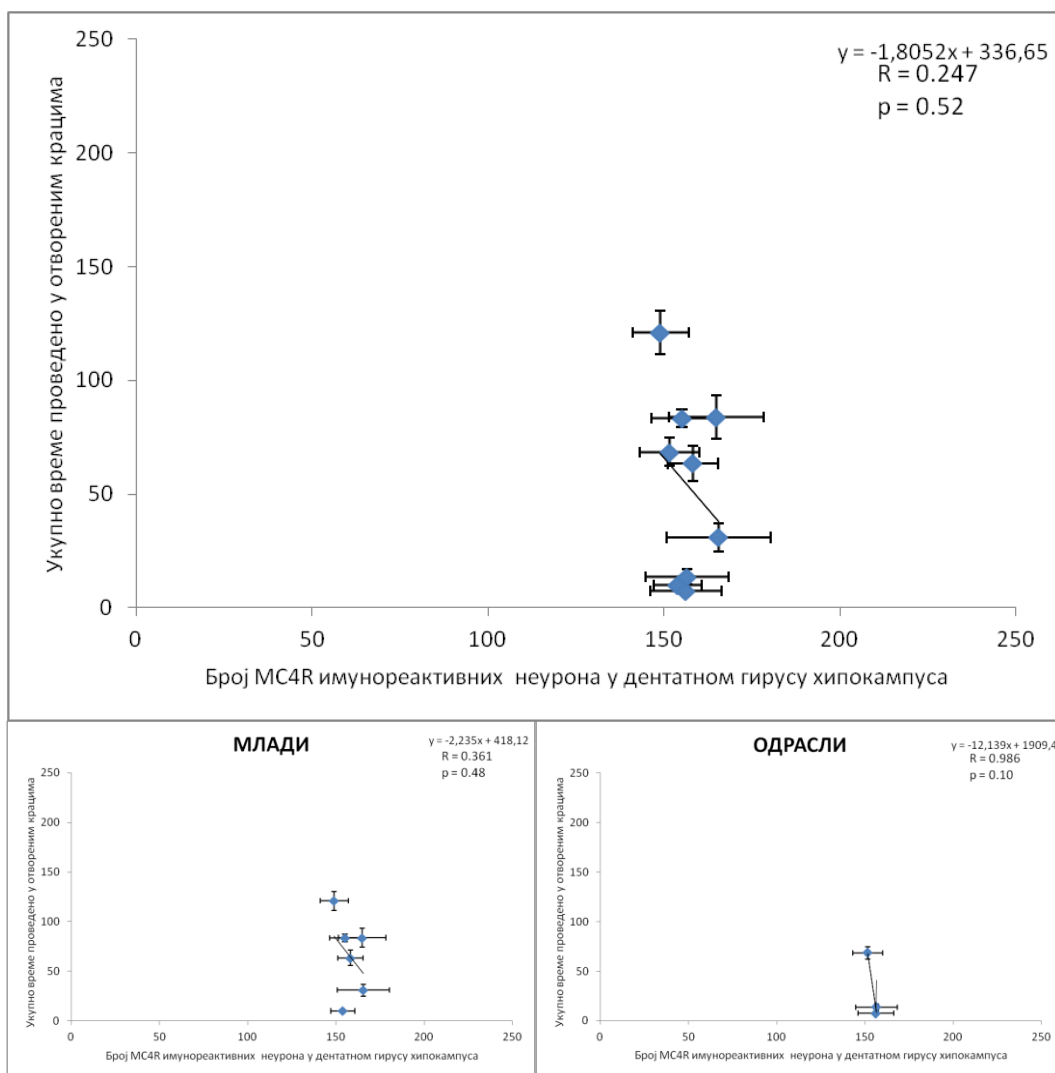
На Слици 4.79. је представљена међусобна повезаност броја МС4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја МС4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима ( $R=0.717$ ,  $p = 0.03$ ).





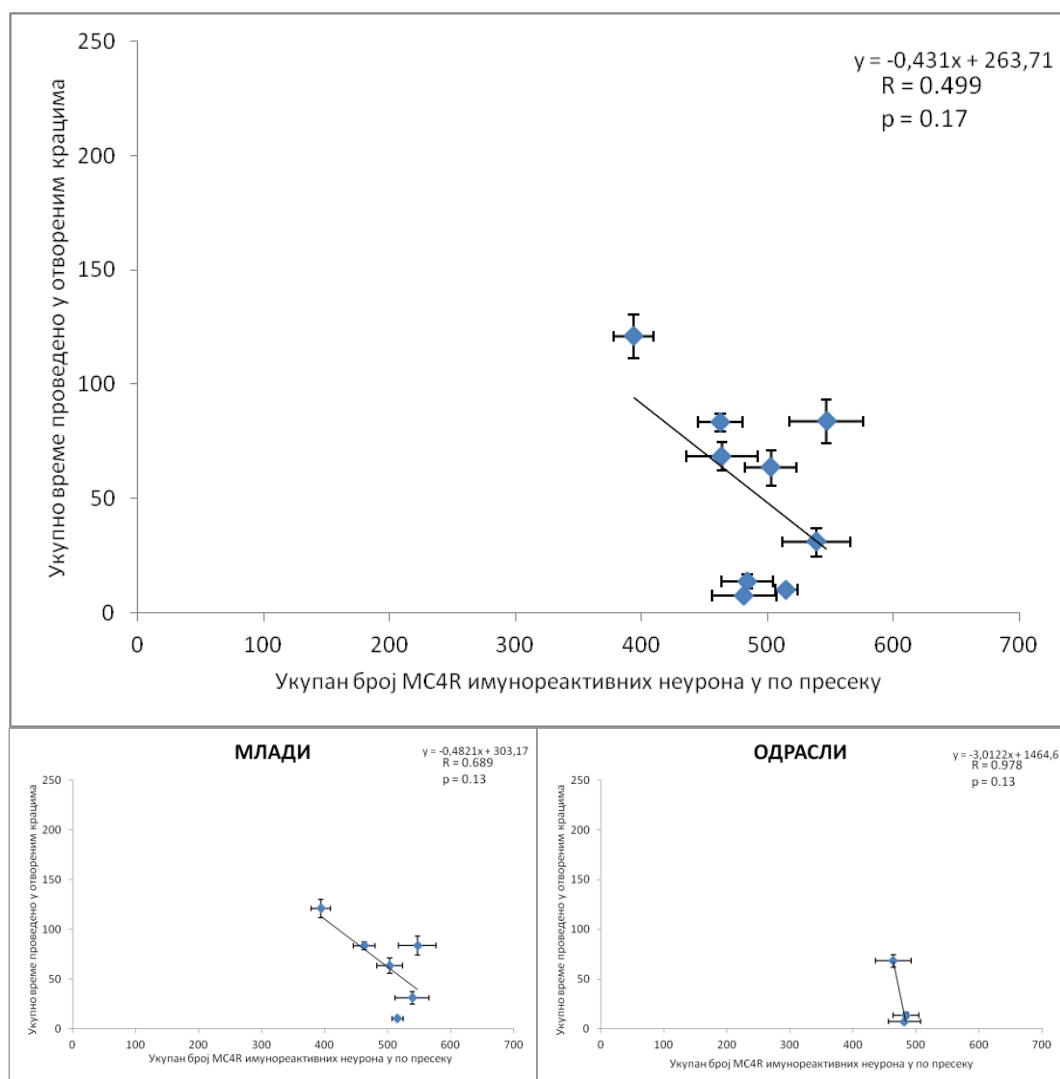
**Слика 4.80.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.80. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да ни у једној старосној категорији није постојала корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима.



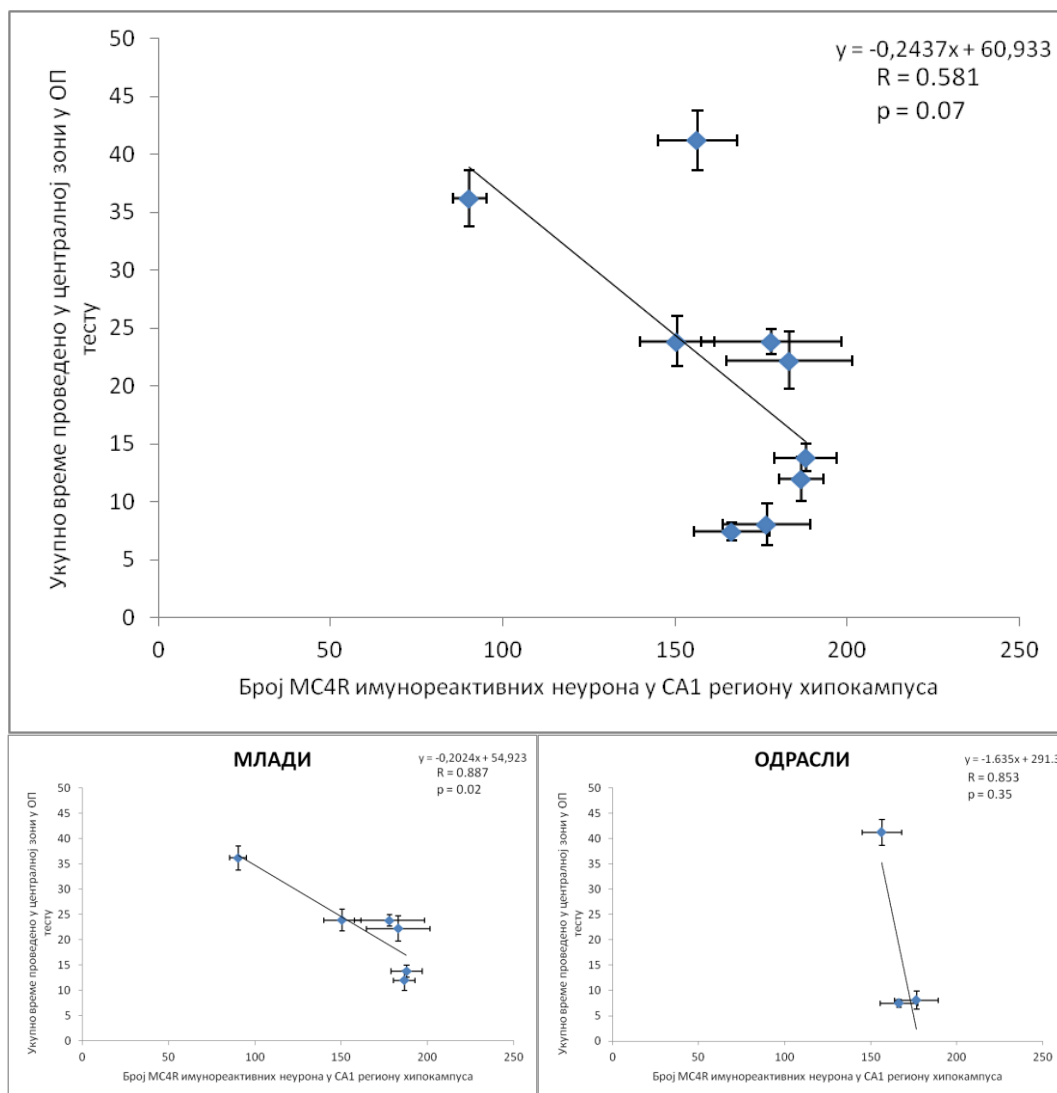
**Слика 4.81.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.81. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да ни у једној старосној категорији није постојала корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима.



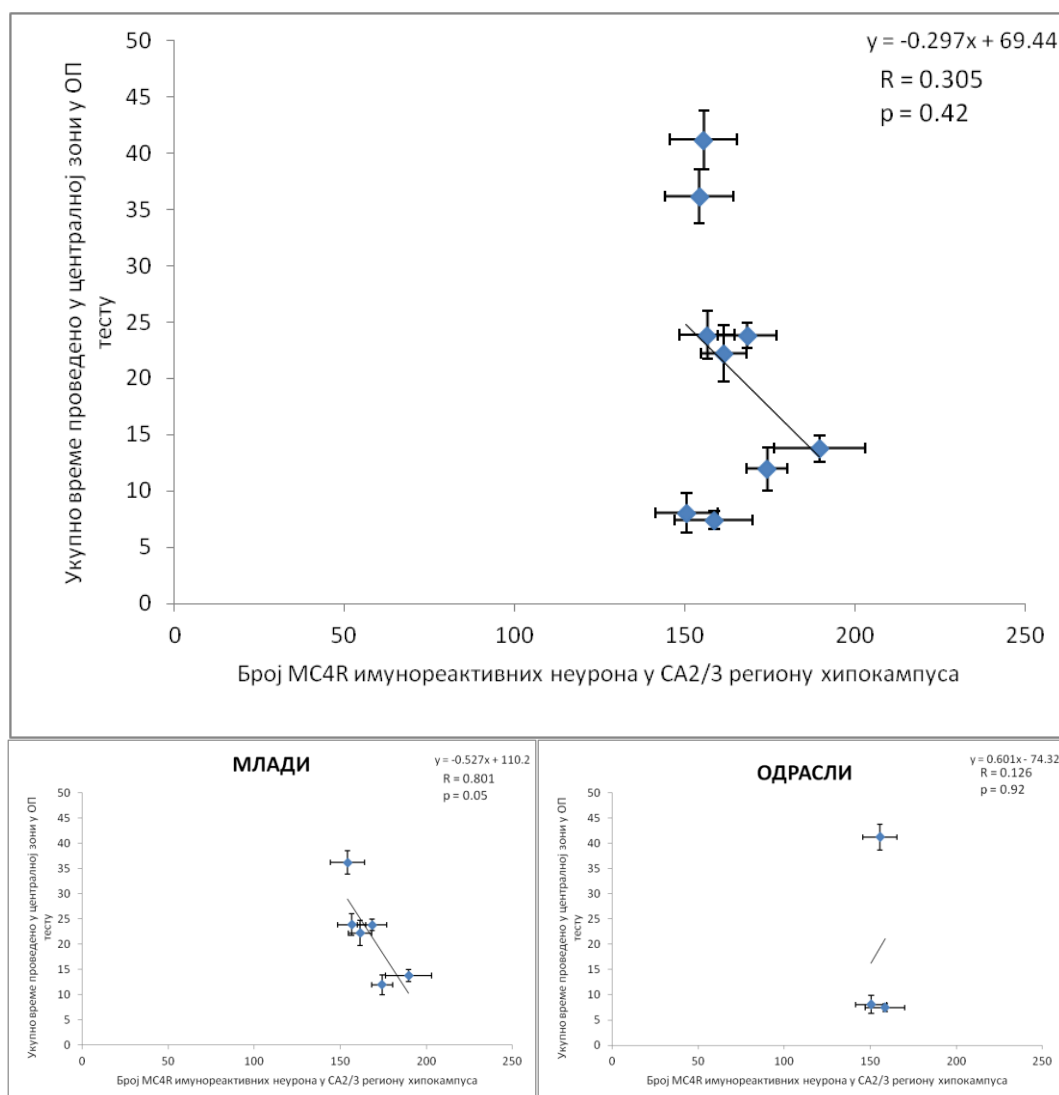
**Слика 4.82.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена provedеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.82. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена provedеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да ни у једној старосној категорији није постојала корелација између броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена provedеног у отвореним крацима.



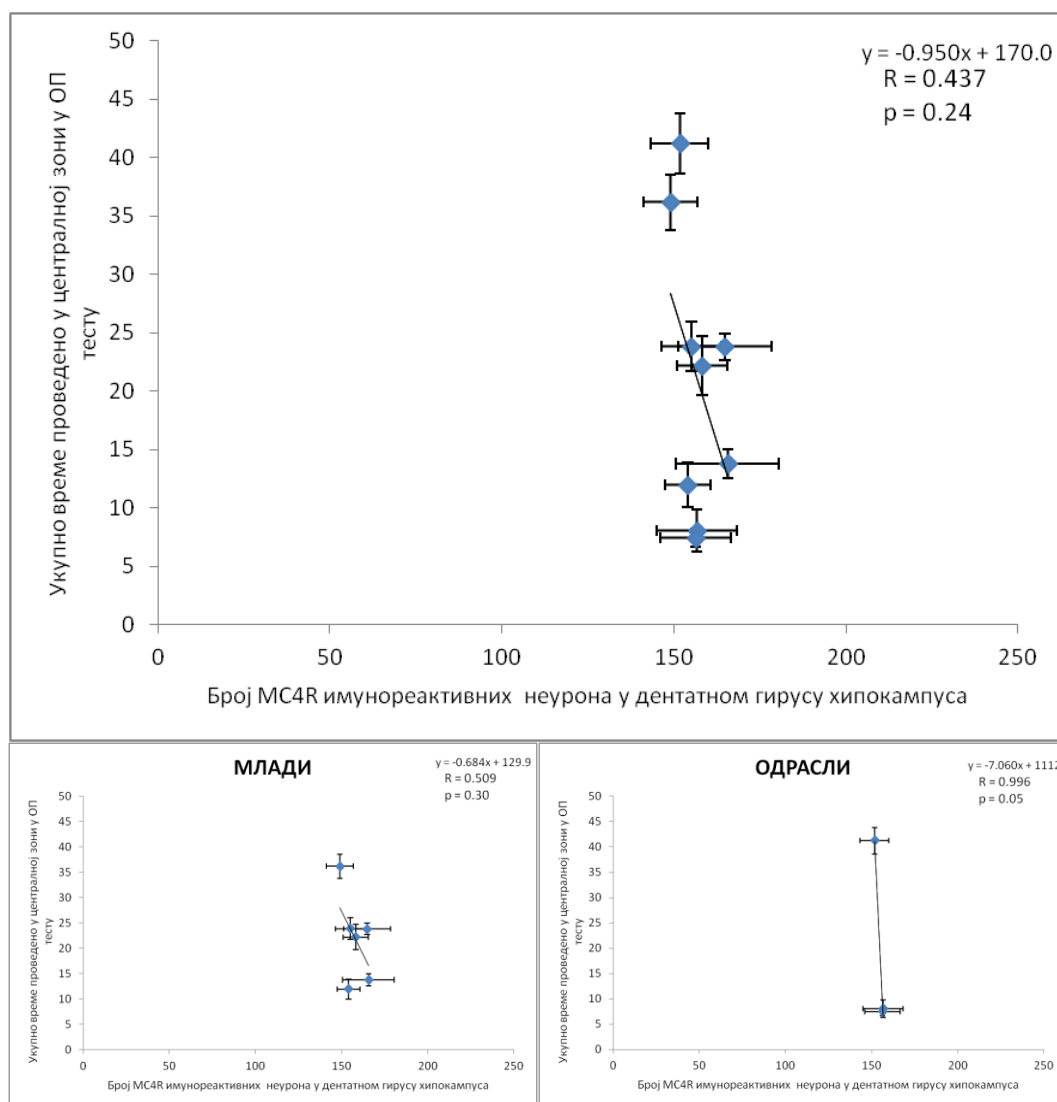
**Слика 4.83.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.83. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста ( $R=0.887$ ,  $p = 0.02$ ), код младих животиња.



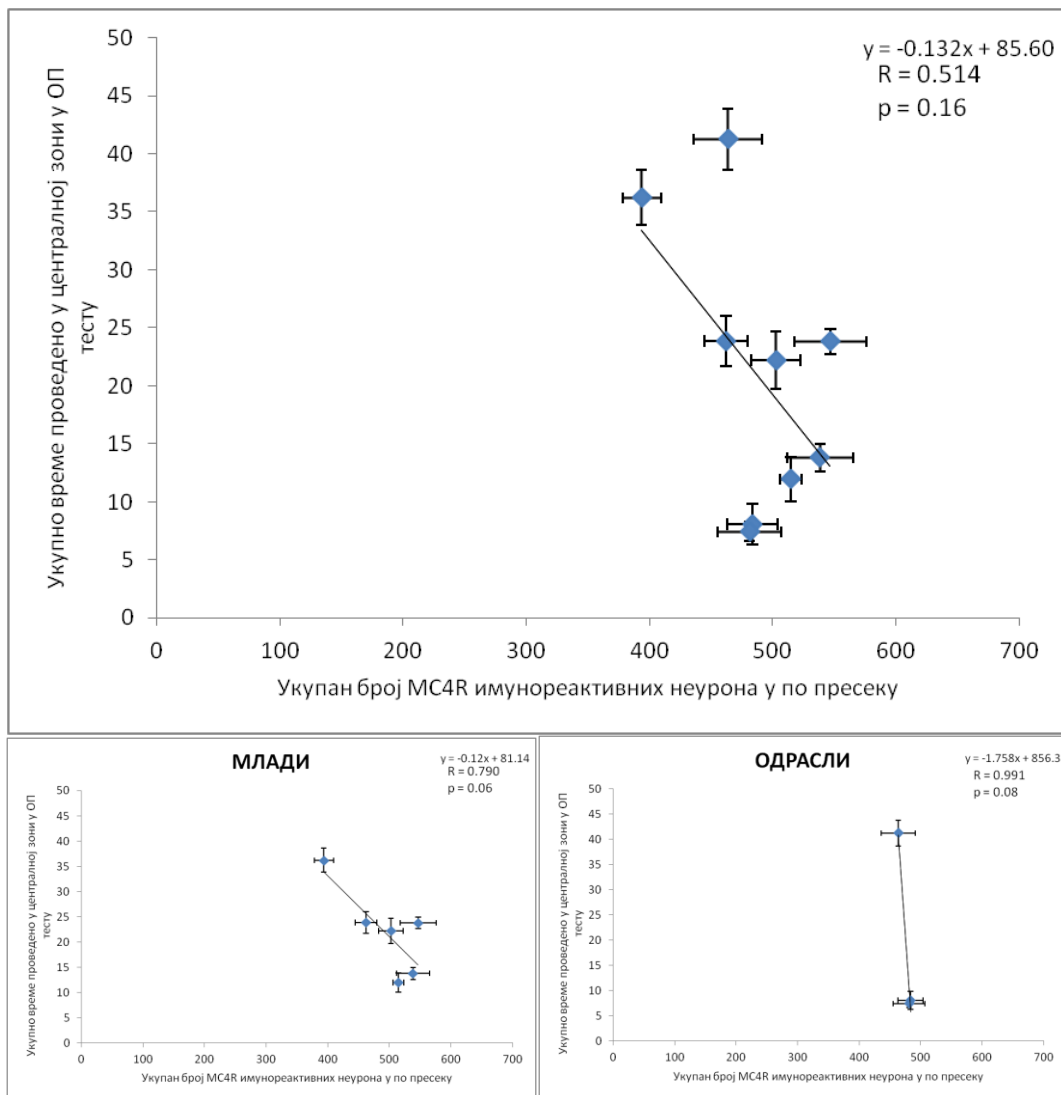
**Слика 4.84.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и укупног времена provedеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.84. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и укупног времена provedеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и укупног времена provedеног у централној зони ОП теста ( $R=0.801$ ,  $p = 0.05$ ) код младих животиња.



**Слика 4.85.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

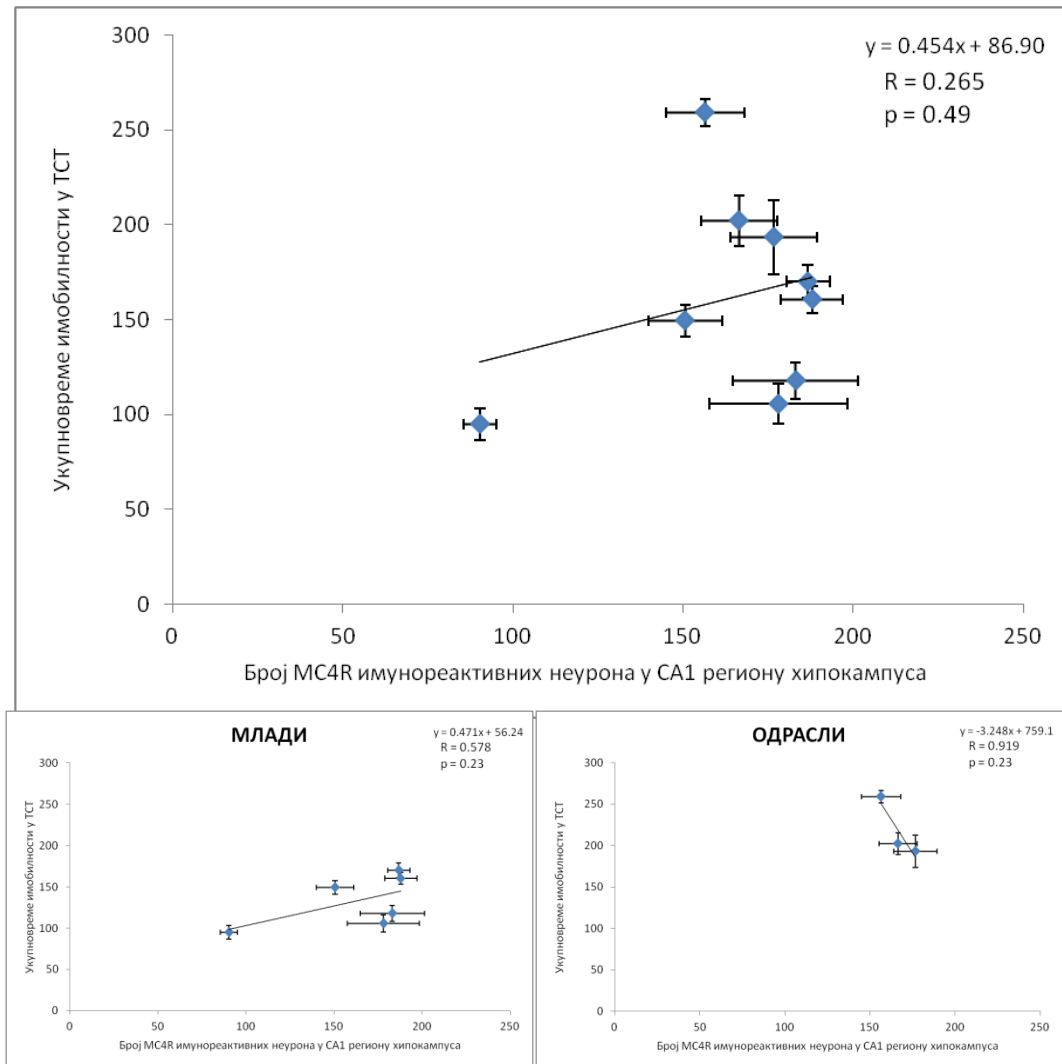
На Слици 4.85. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста ( $R=0.999$ ,  $p = 0.05$ ) код одраслих животиња.



**Слика 4.86.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.86. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста.

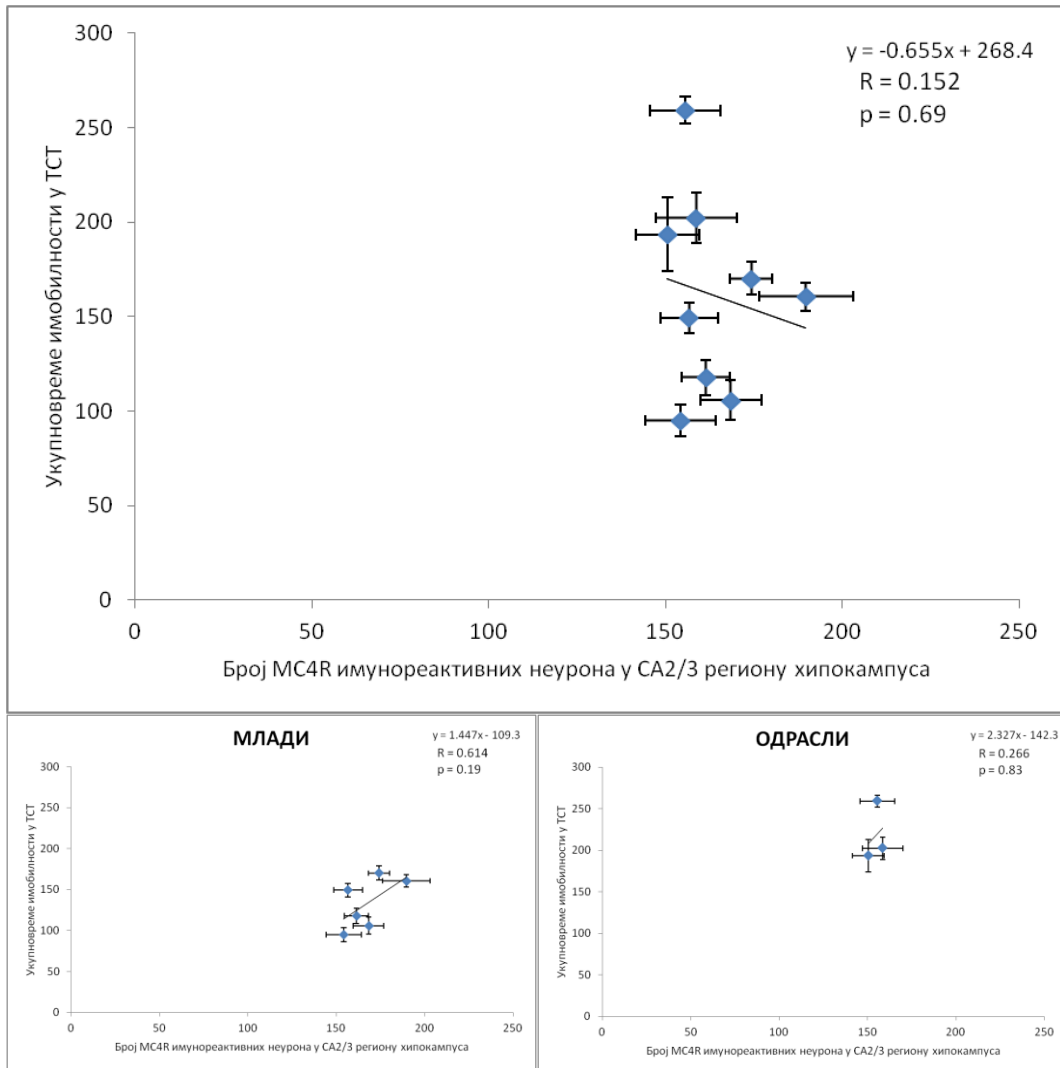
**4.6.1. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена депресивности**



**Слика 4.87.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

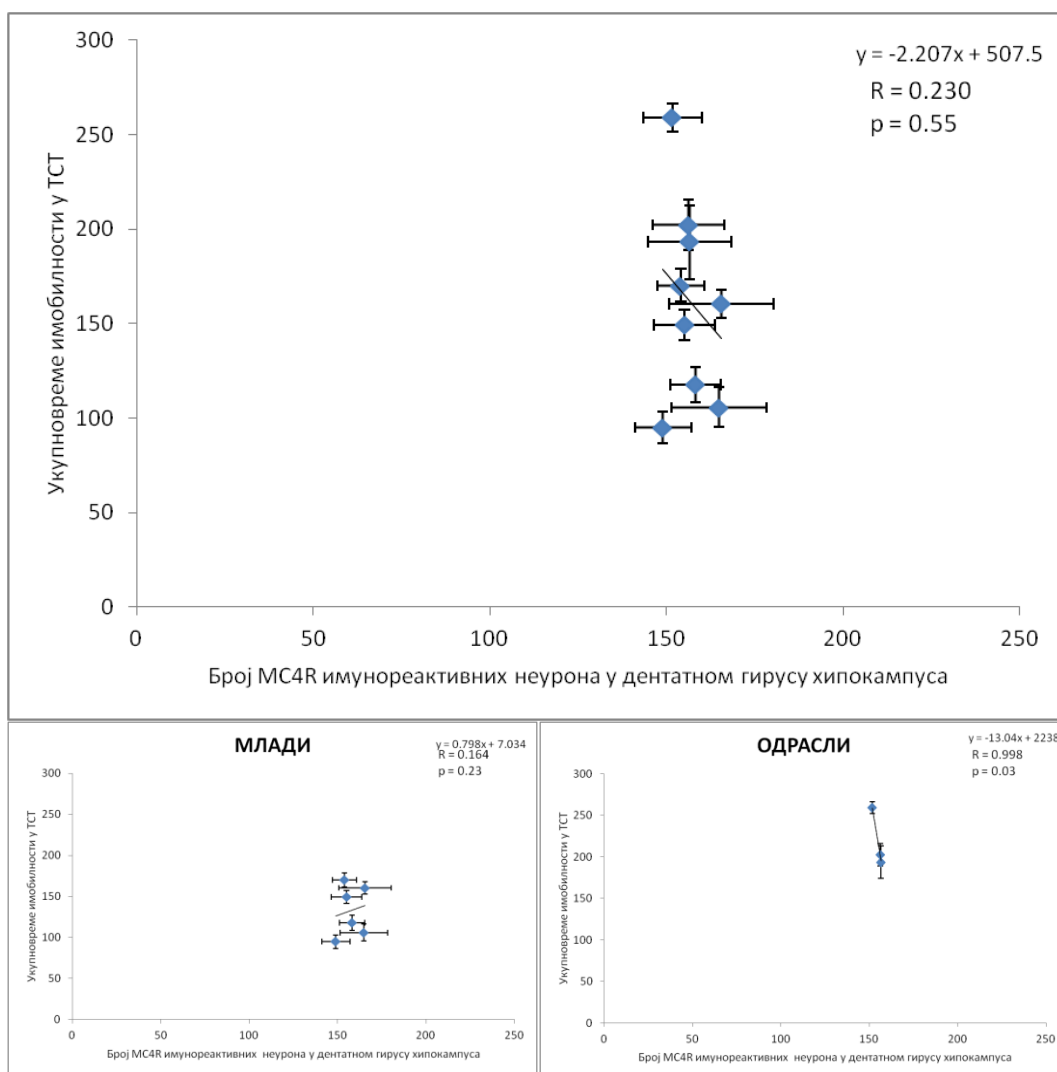
На Слици 4.87. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту.





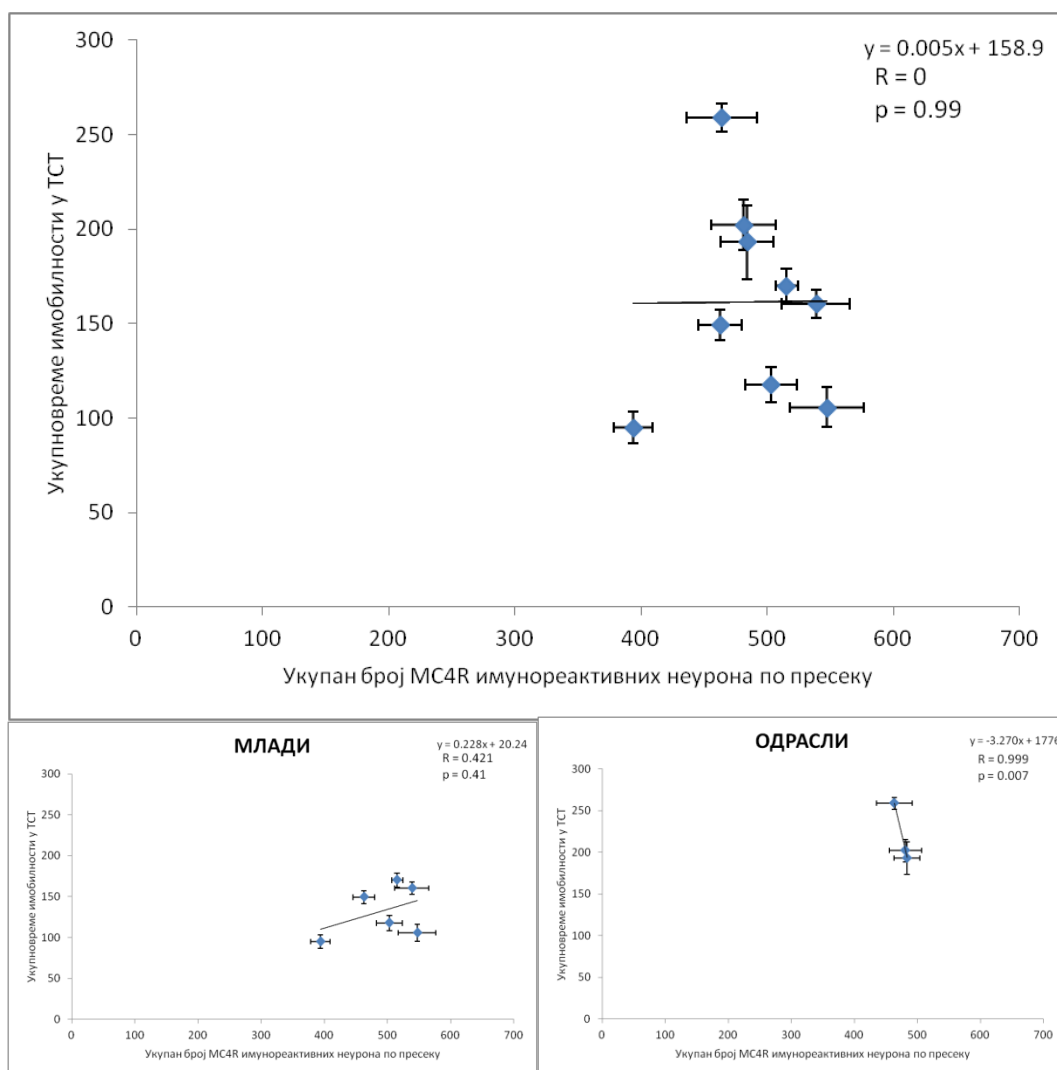
**Слика 4.88.** Анализа међусобне повезаности броја МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.88. је представљена међусобна повезаност броја МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује не постоји корелација између броја МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту.



**Слика 4.89.** Анализа међусобне повезаности броја МС4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

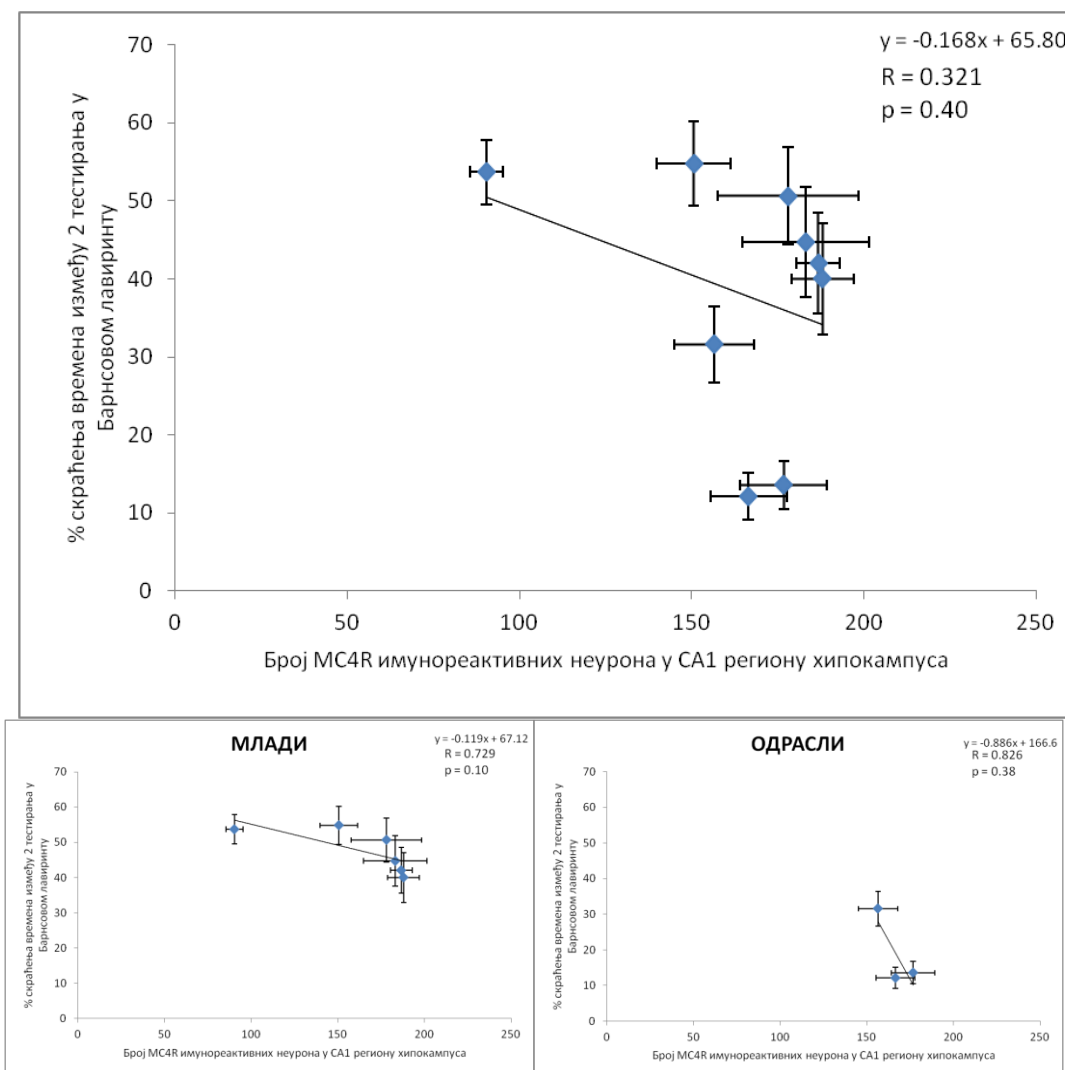
На Слици 4.89. је представљена међусобна повезаност броја МС4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује постоји јака, негативна корелација између броја МС4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту код одраслих животиња ( $R = 0.998$ ,  $p = 0.03$ ).



**Слика 4.90.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

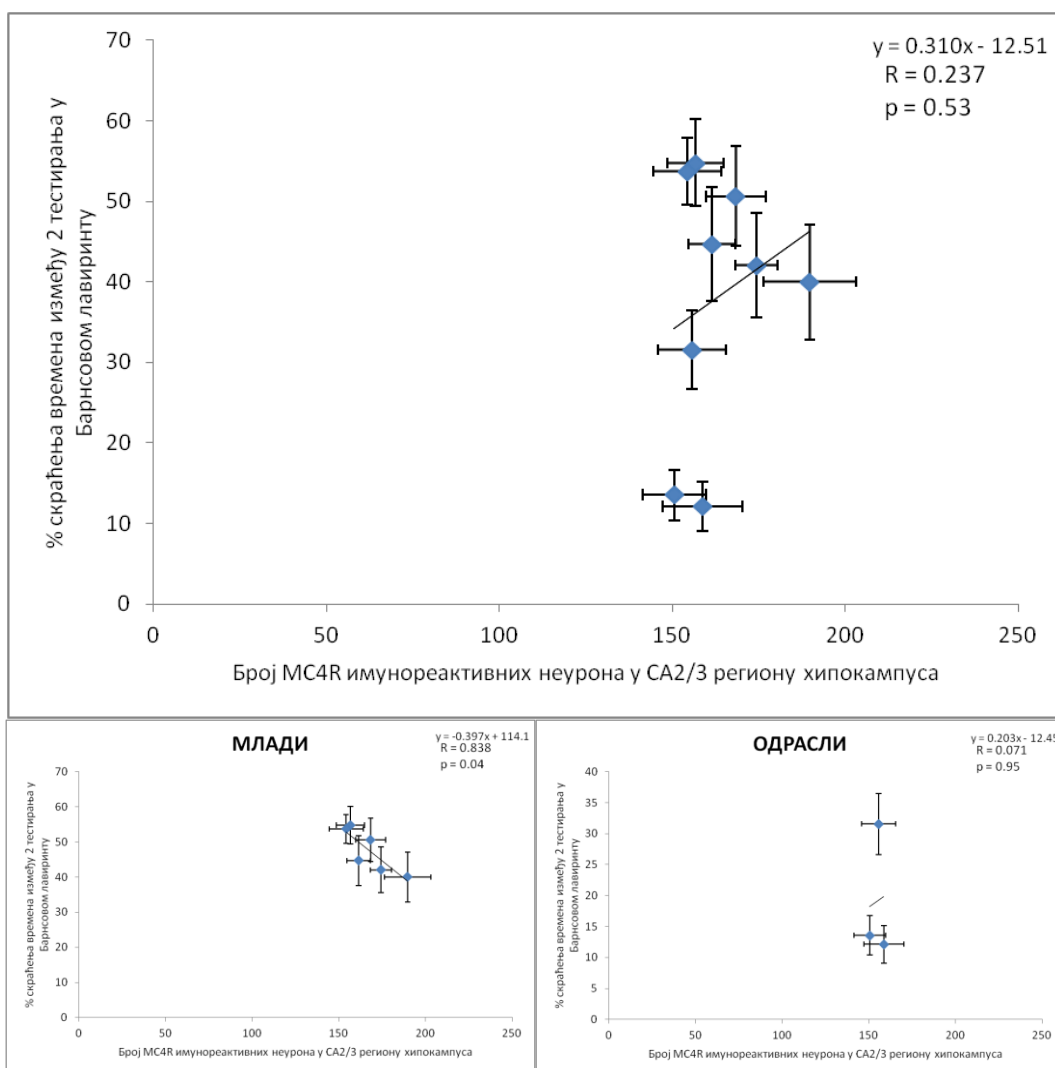
На Слици 4.90. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту код одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.007$ ).

#### 4.6.3. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена когнитивних способности



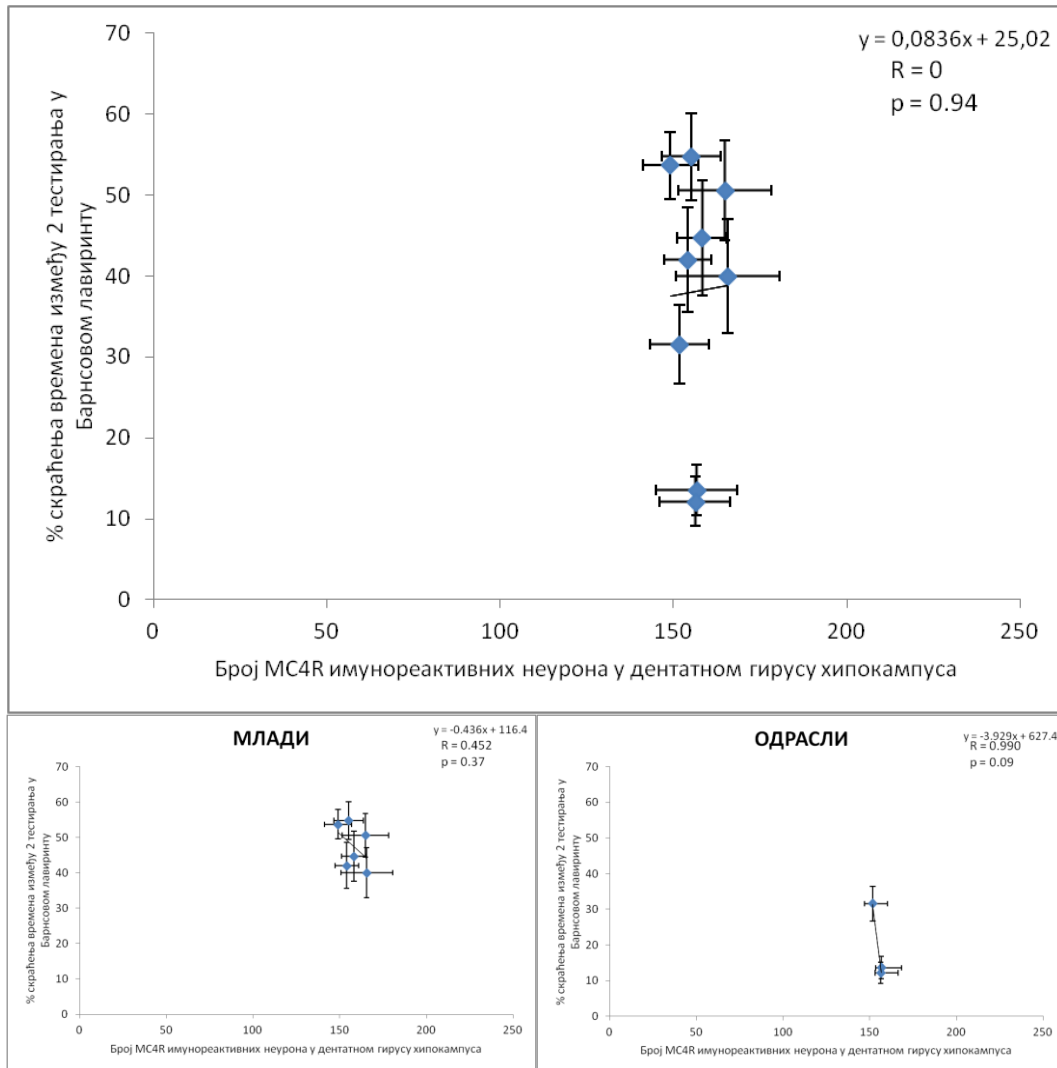
**Слика 4.91.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.91. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту.



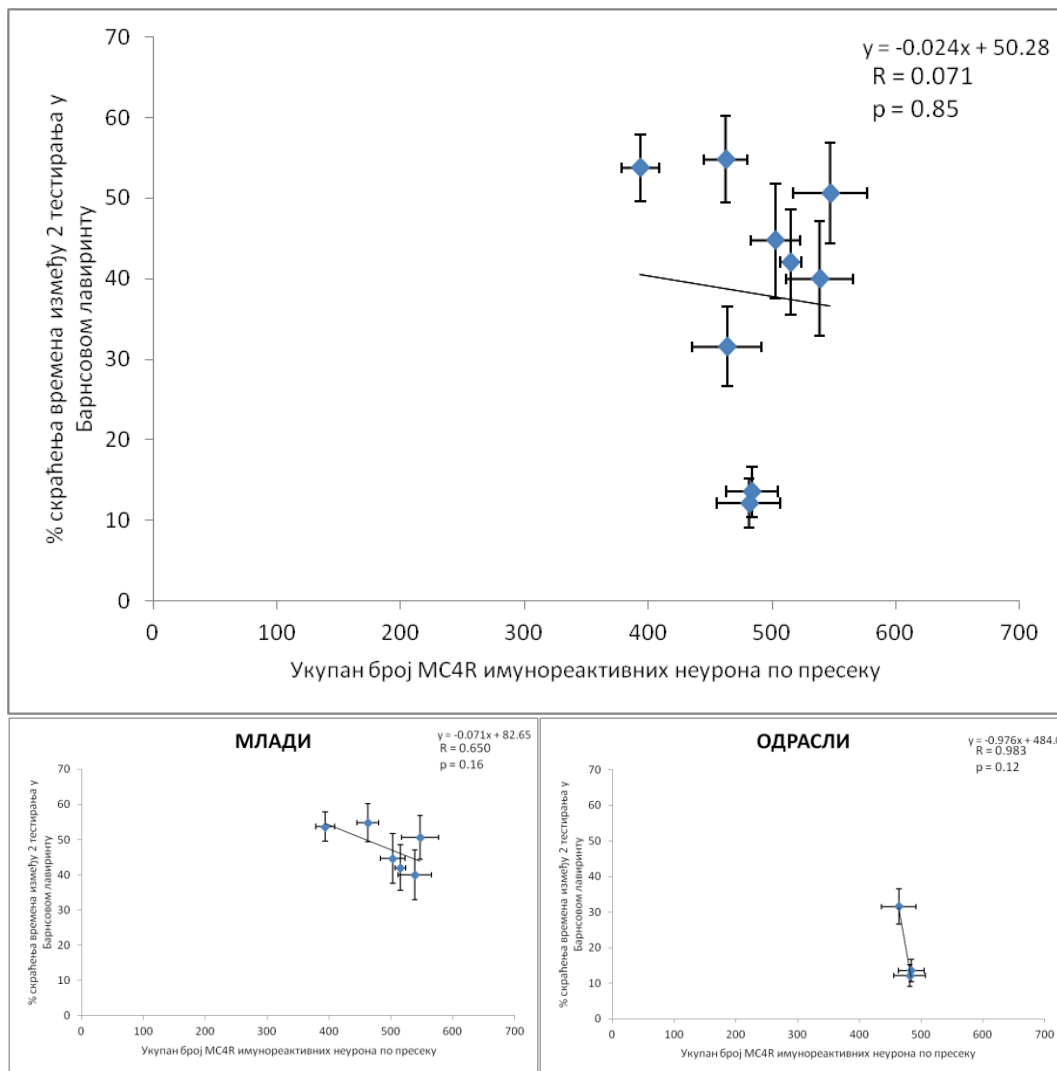
**Слика 4.92.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.92. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту ( $R = 0.838$ ,  $p = 0.04$ ), код младих пацова.



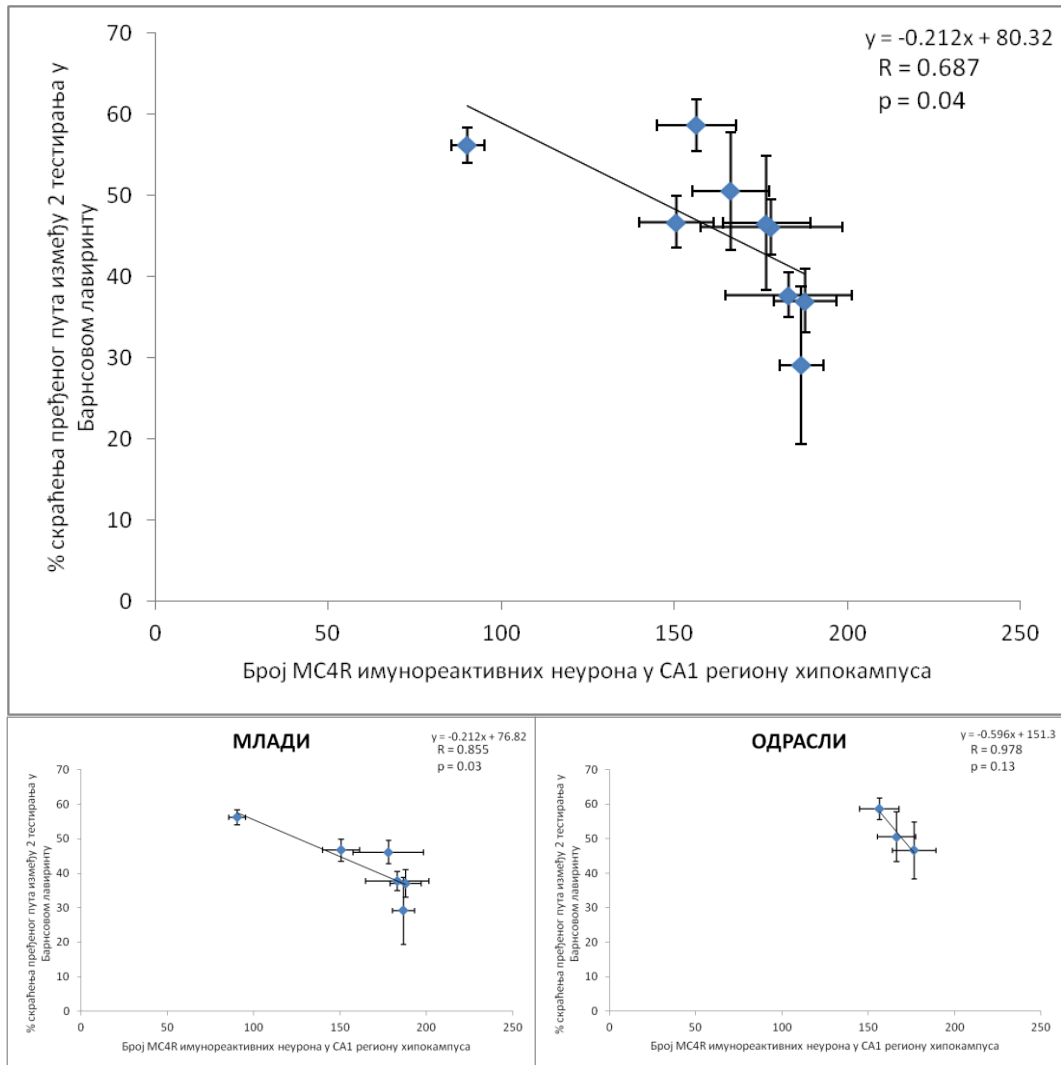
**Слика 4.93.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.93. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту.



**Слика 4.94.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

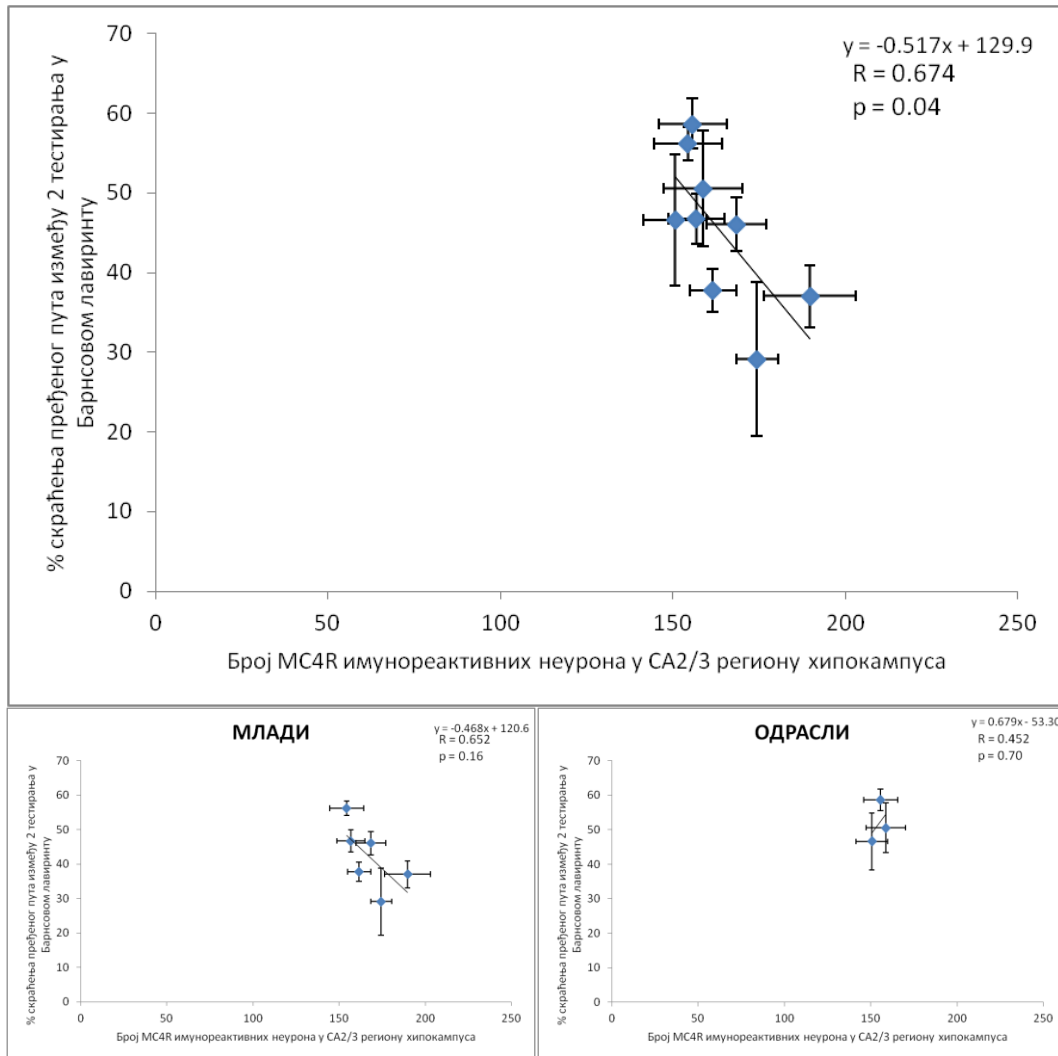
На Слици 4.94. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту.



**Слика 4.95.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

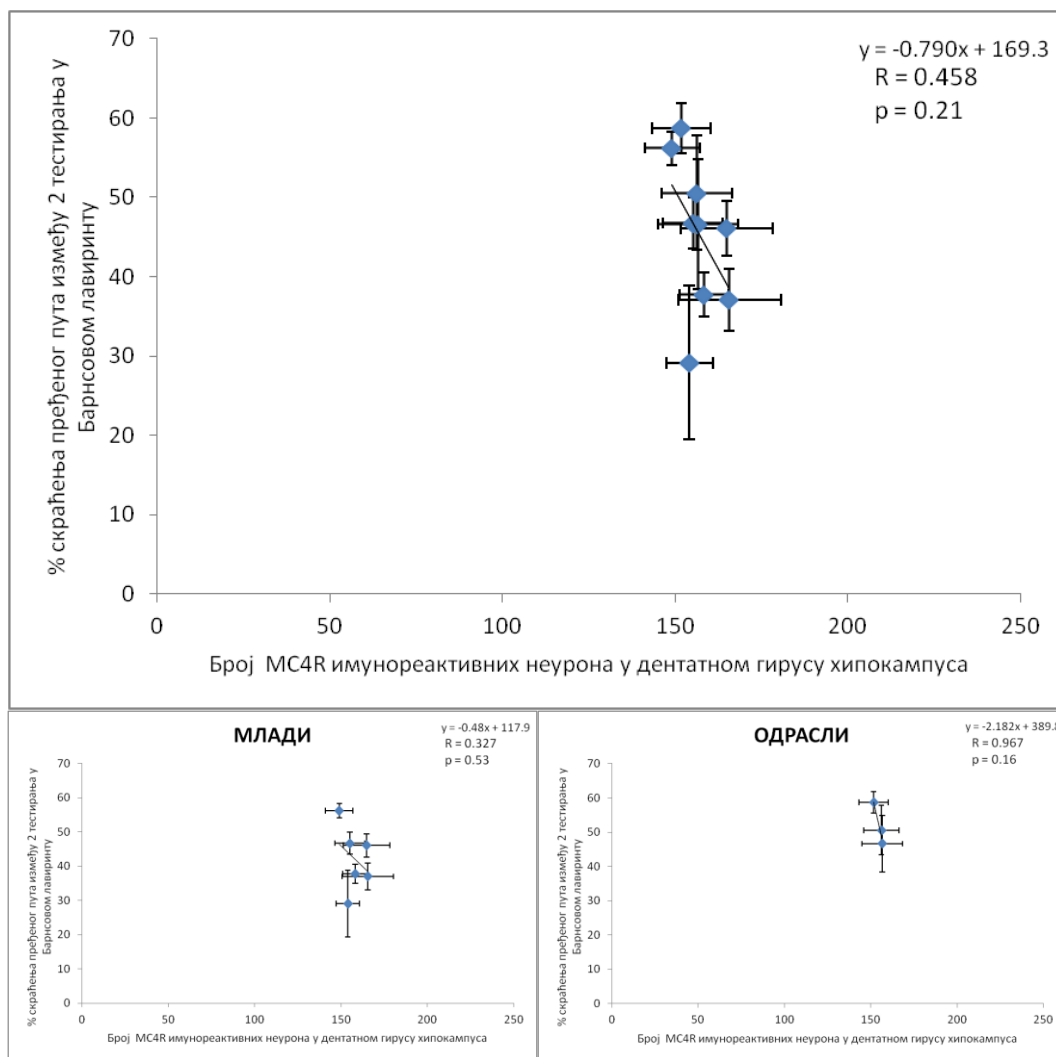
На Слици 4.95. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту код укупног броја ( $R = 0.687$ ,  $p = 0.04$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.855$ ,  $p = 0.03$ ).





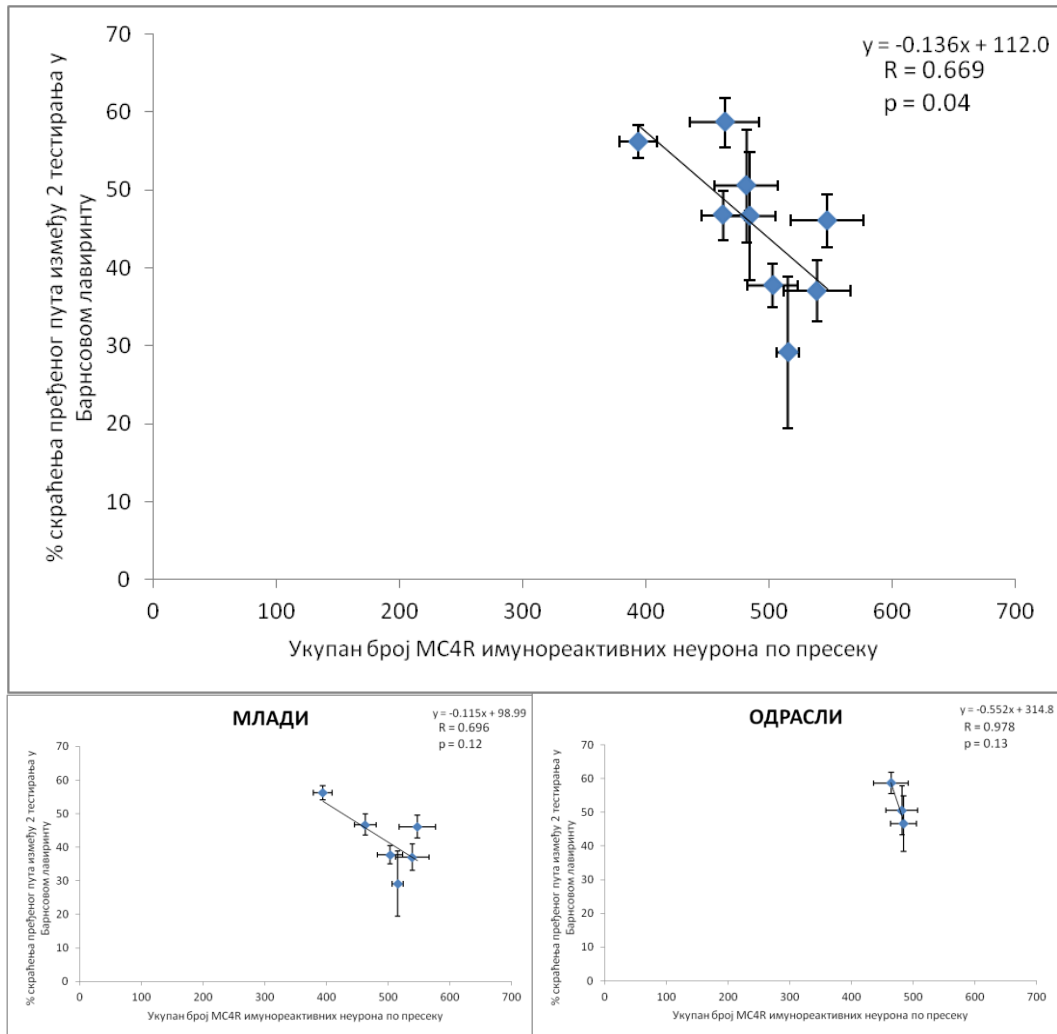
**Слика 4.96.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.96. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту код укупног броја животиња ( $R = 0.674$ ,  $p = 0.04$ ).



**Слика 4.97.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

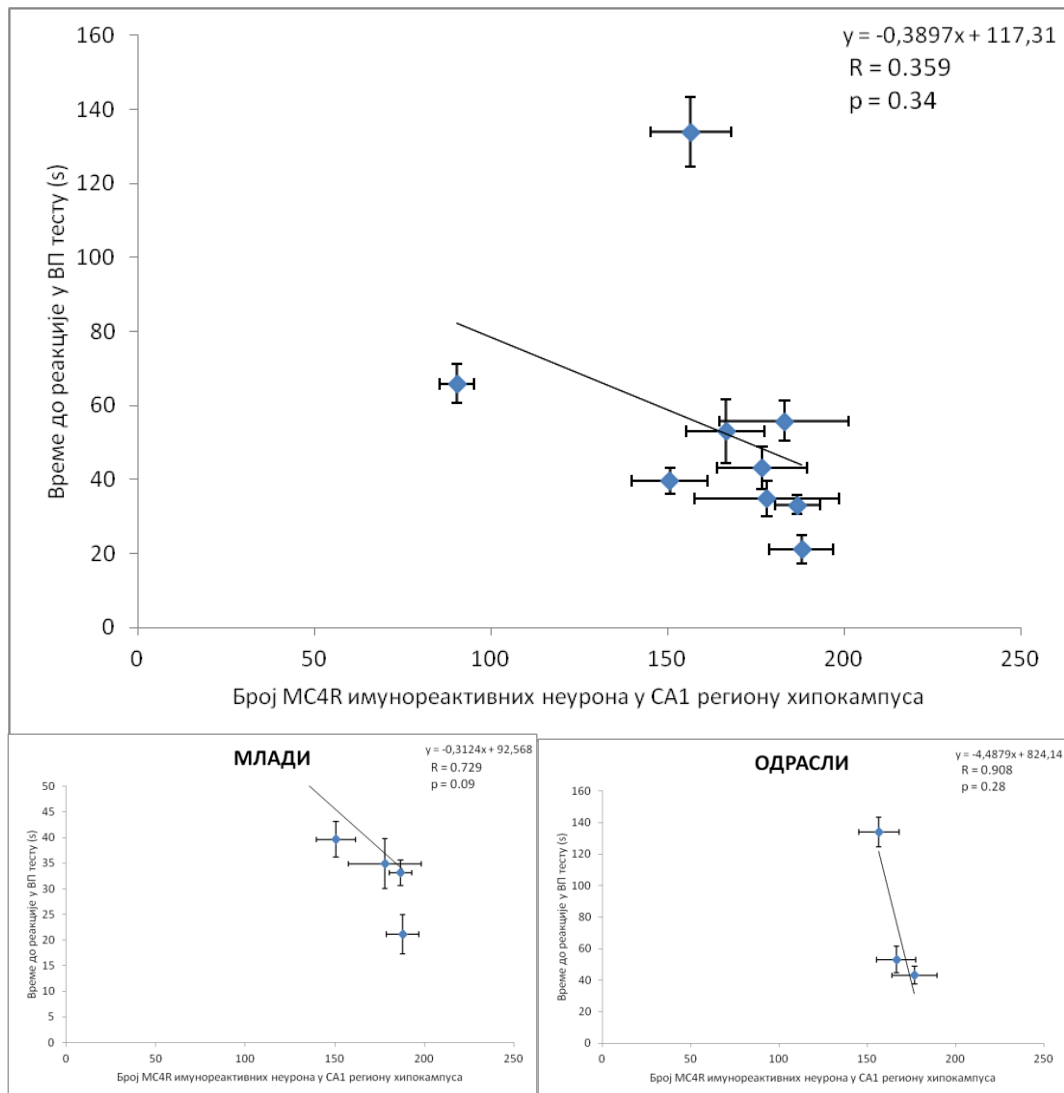
На Слици 4.97. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту.



**Слика 4.98.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

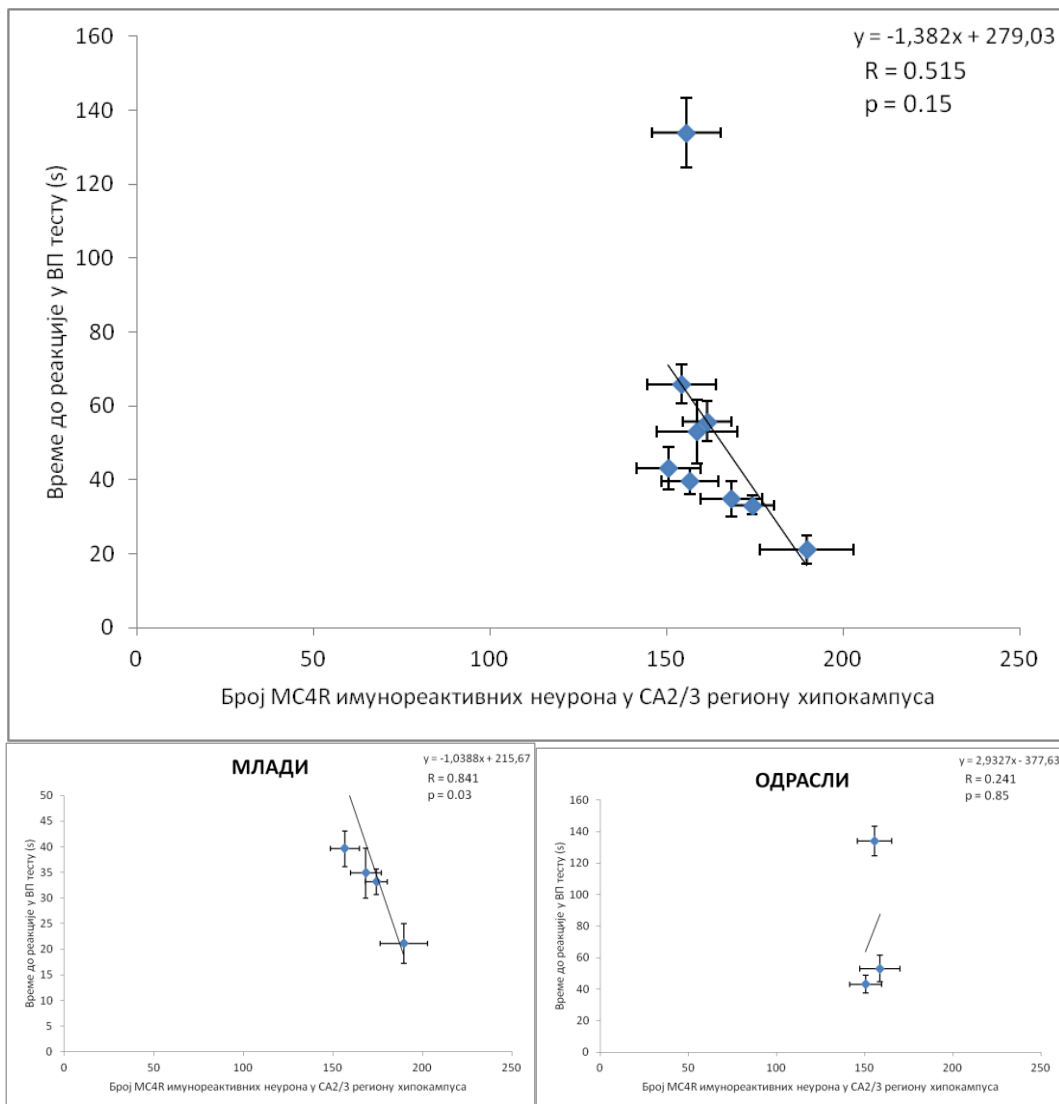
На Слици 4.98. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту, код укупног броја животиња ( $R = 0.669$ ,  $p = 0.04$ ).

**4.6.4. Анализа међусобне повезаности броја имунореактивних MC4R интернеурона у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену ноцицепције**



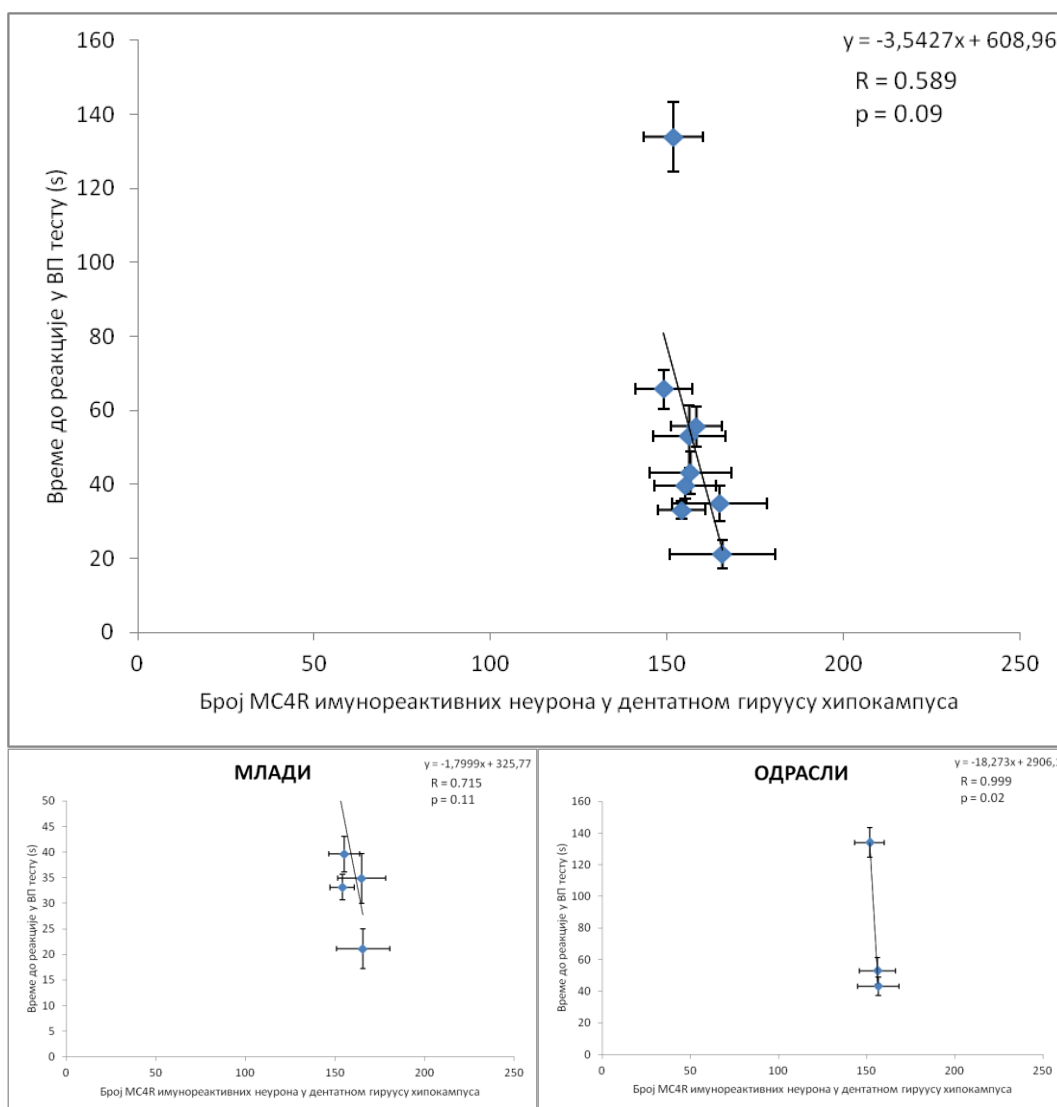
**Слика 4.99.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.99. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да не постоји корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту.



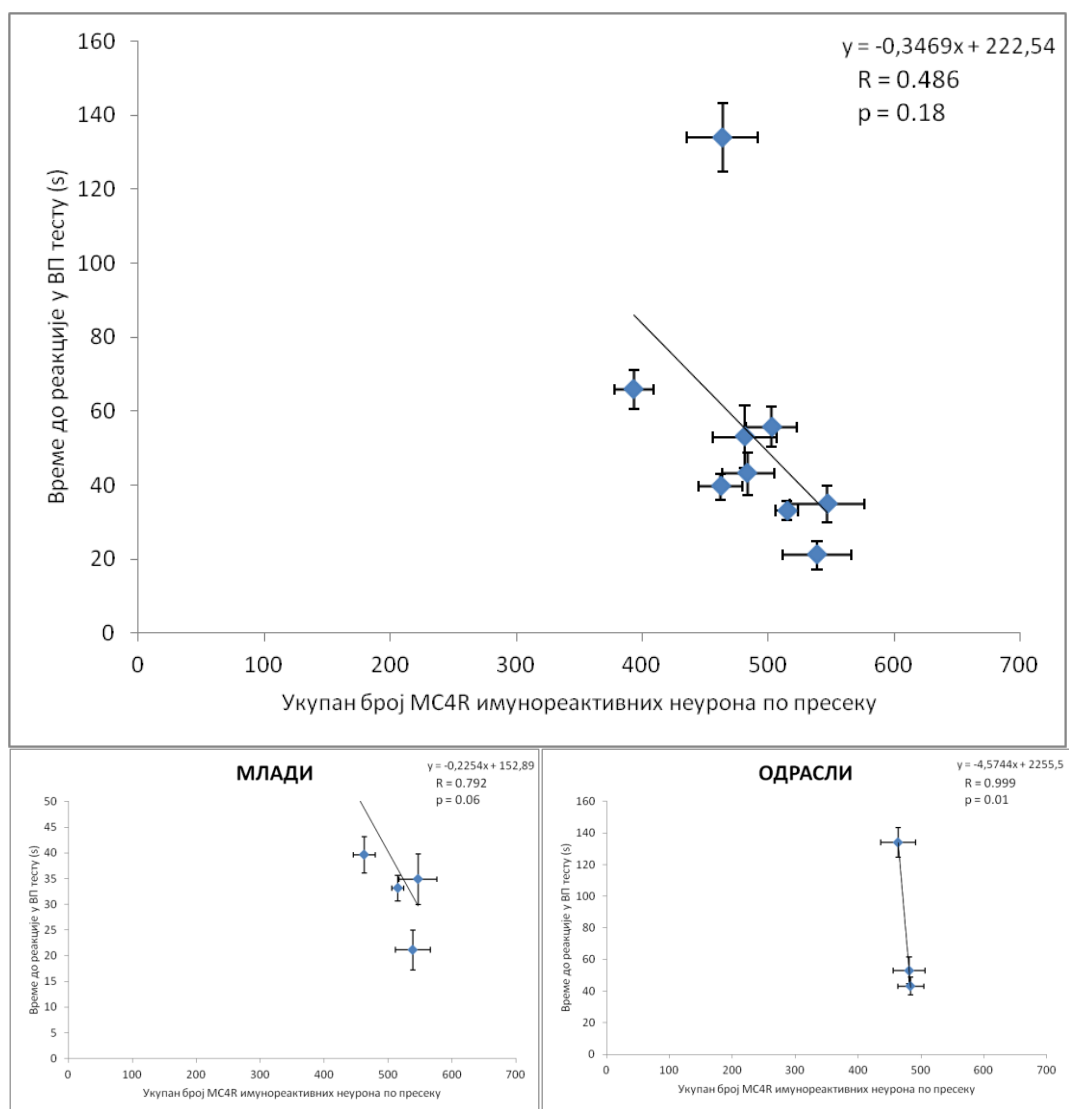
**Слика 4.100.** Анализа међусобне повезаности броја МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.100. је представљена међусобна повезаност броја МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја МС4R имунореактивних неурона у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту код младих животиња ( $R = 0.841$ ,  $p = 0.03$ ).



**Слика 4.101.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

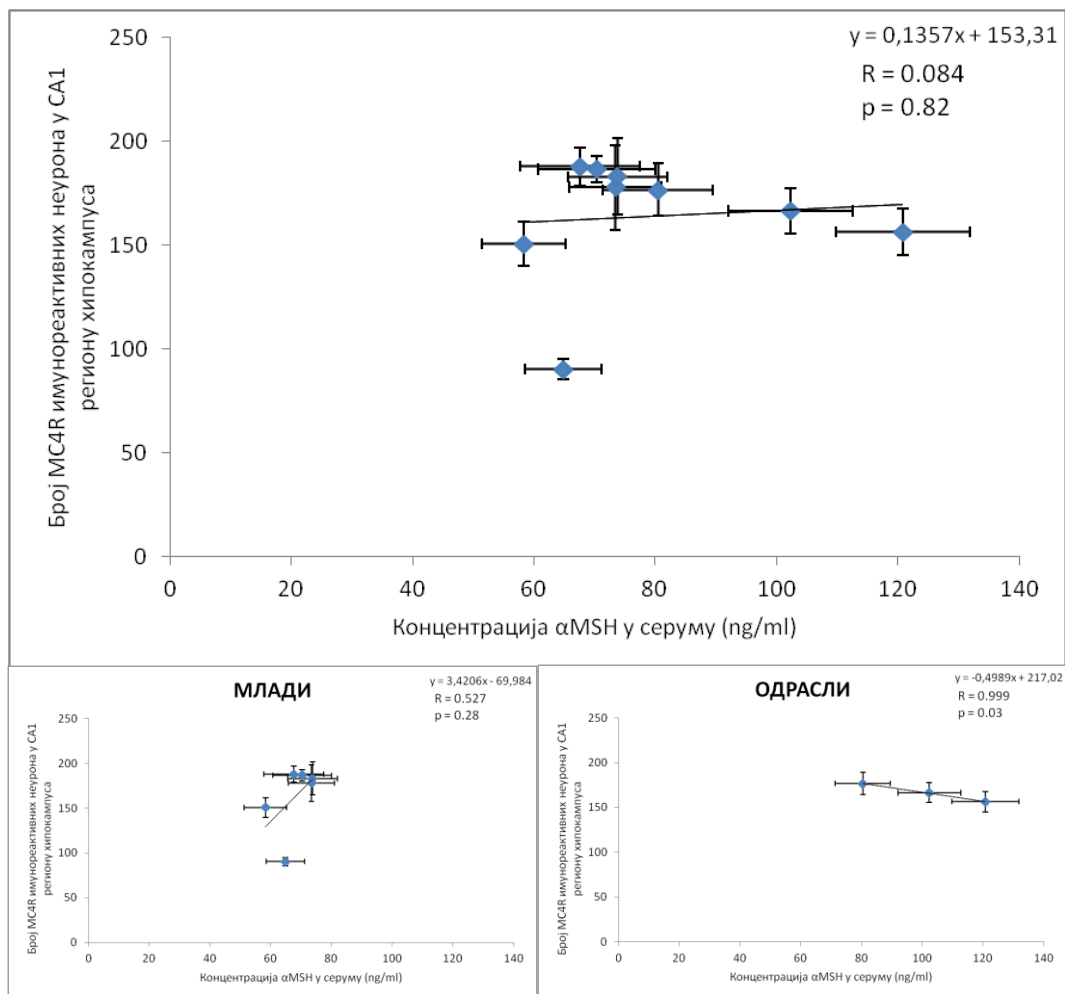
На Слици 4.101. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту код одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.02$ ).



**Слика 4.102.** Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.102. је представљена међусобна повезаност броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту код одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ ).

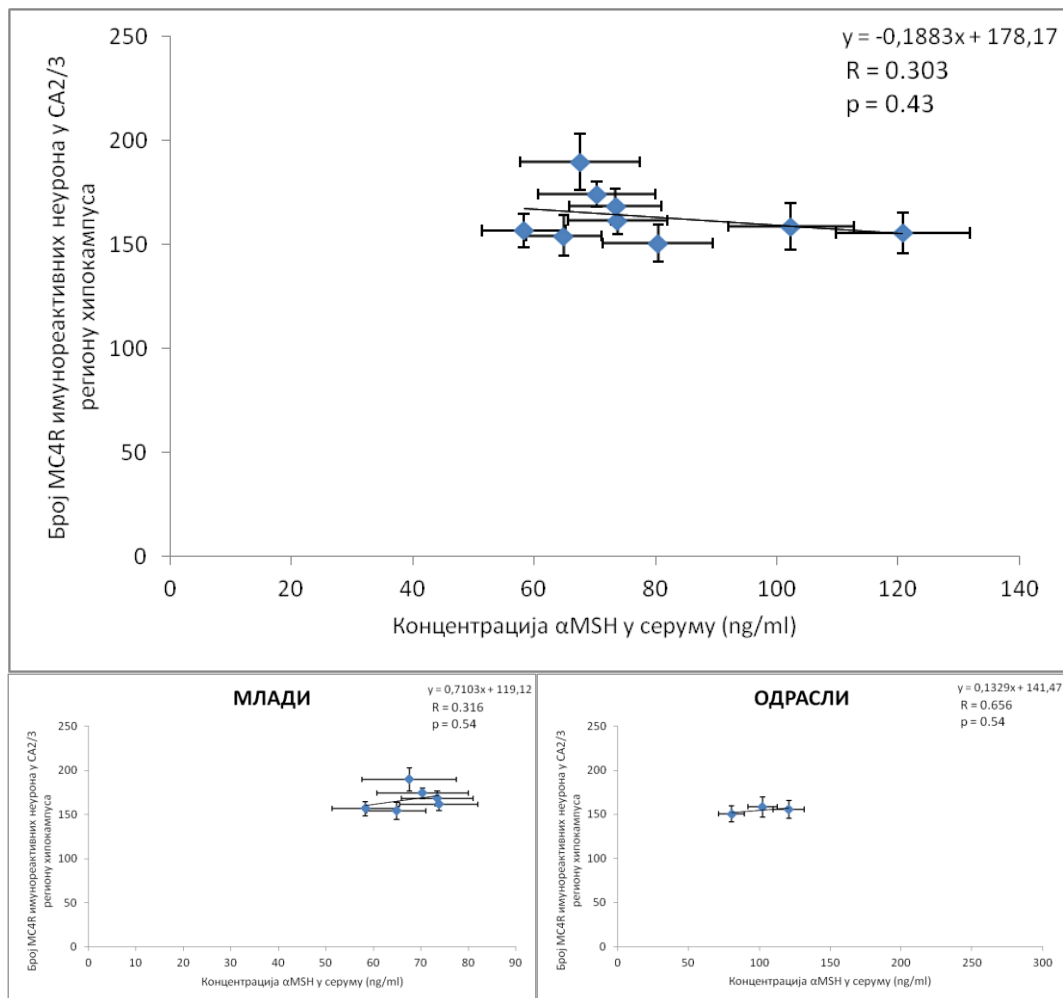
#### 4.6.5. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у хипокампусу



**Слика 4.103.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у CA1 региону хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

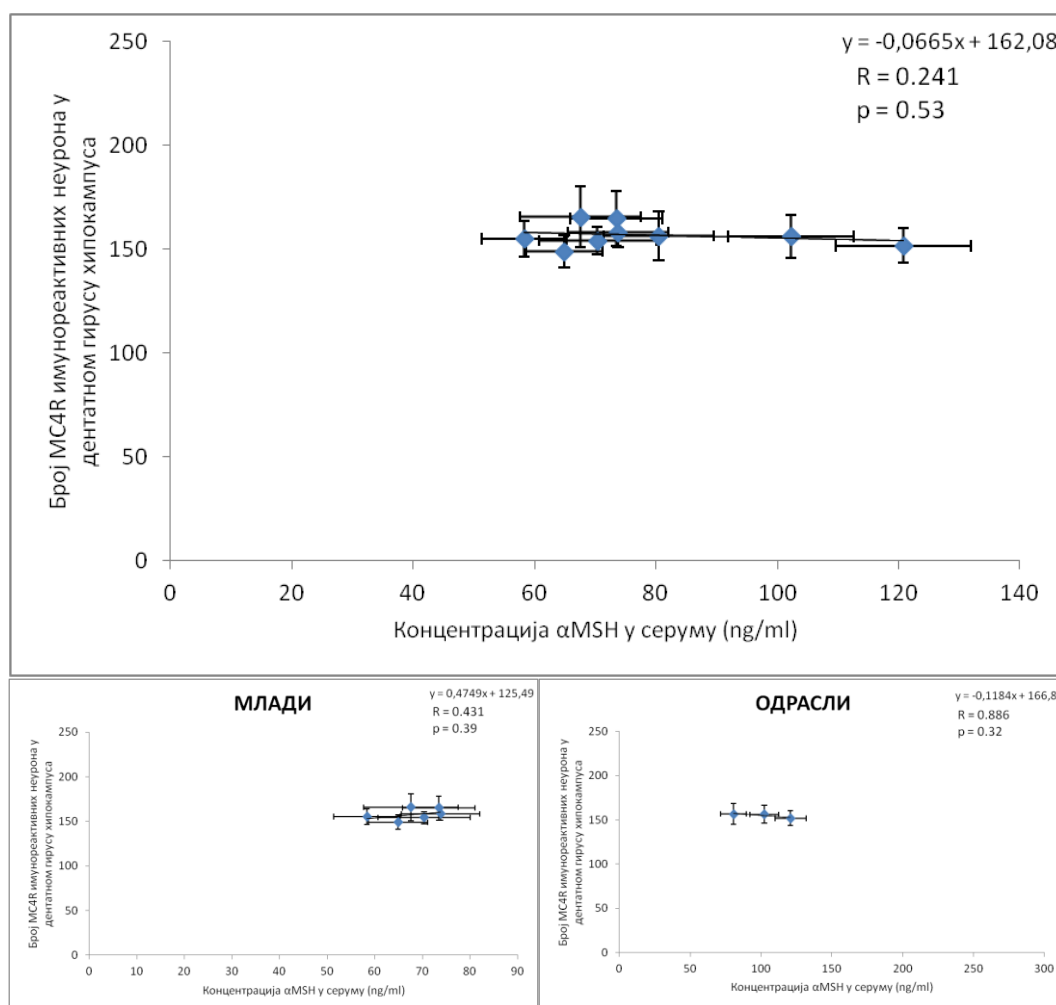
На Слици 4.103. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у CA1 региону хипокампуса у. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у CA1 региону хипокампуса код старих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.03$ ).





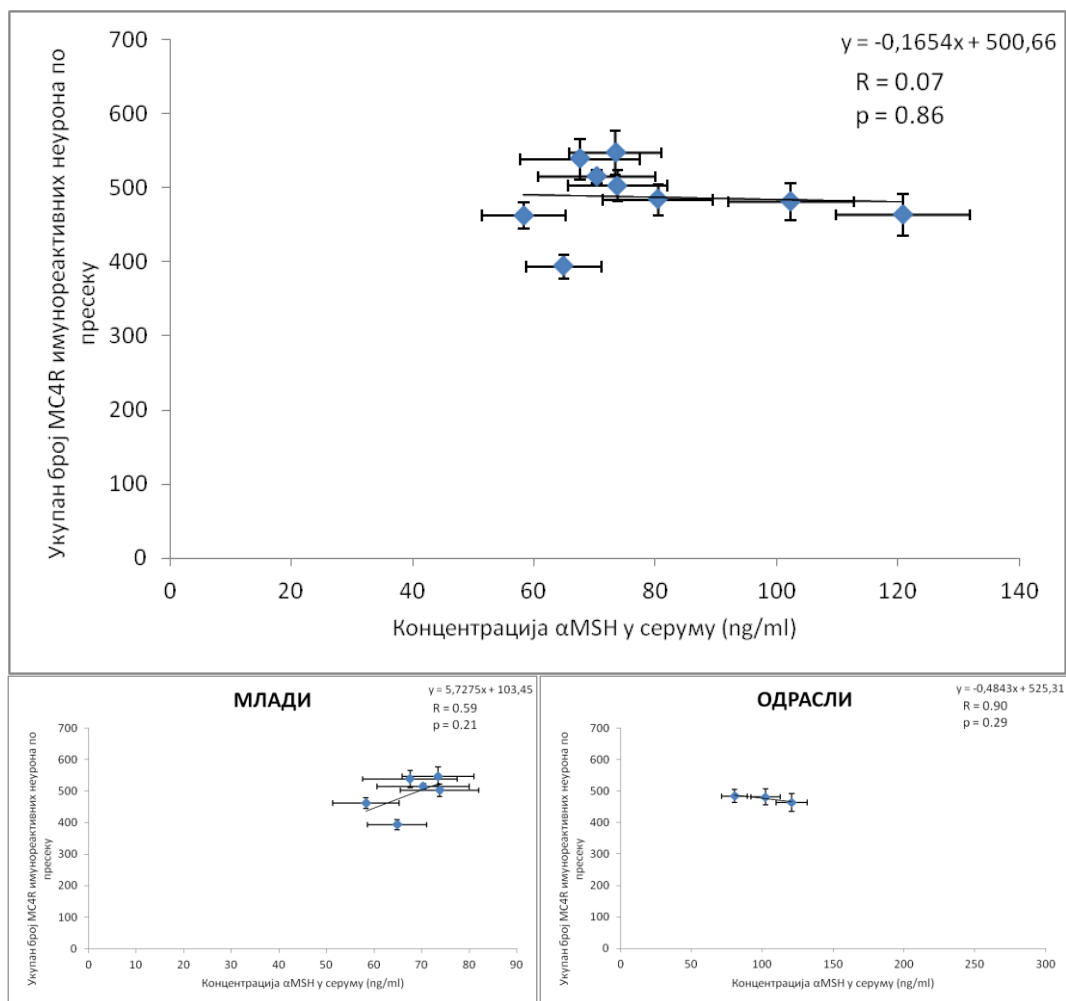
**Слика 4.104.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у CA2/3 региону хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.104. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у CA2/3 региону хипокампуса у. Анализа показује да не постоји корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у CA2/3 региону хипокампуса.



**Слика 4.105.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

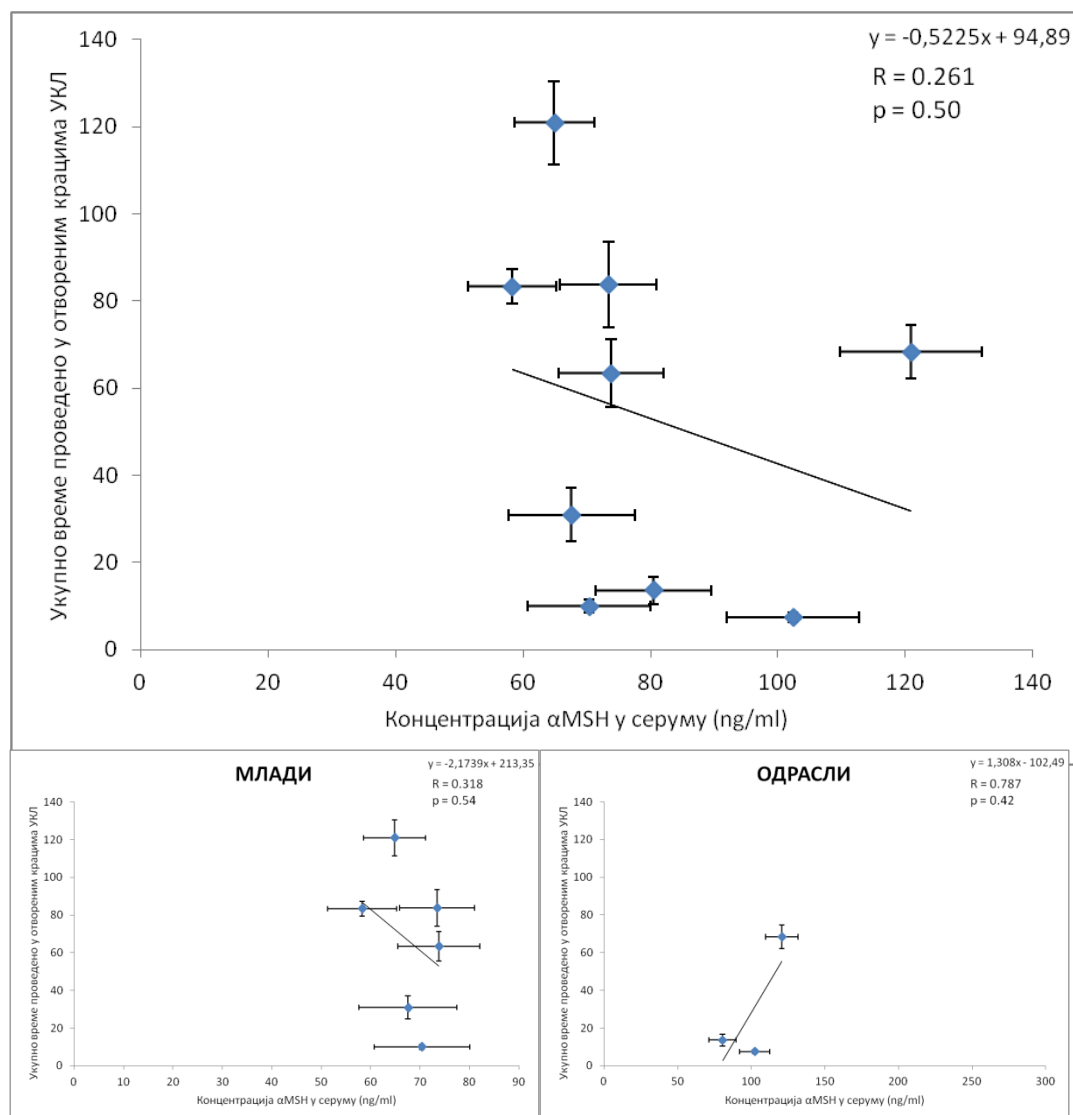
На Слици 4.105. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса у. Анализа показује да не постоји корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона у дентатном гирусу хипокампуса.



**Слика 4.106.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона на укупној површини пресека хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.106. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона на укупној површини пресека хипокампуса. Анализа показује да не постоји корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и броја MC4R имунореактивних интернеурона на укупној површини пресека хипокампуса.

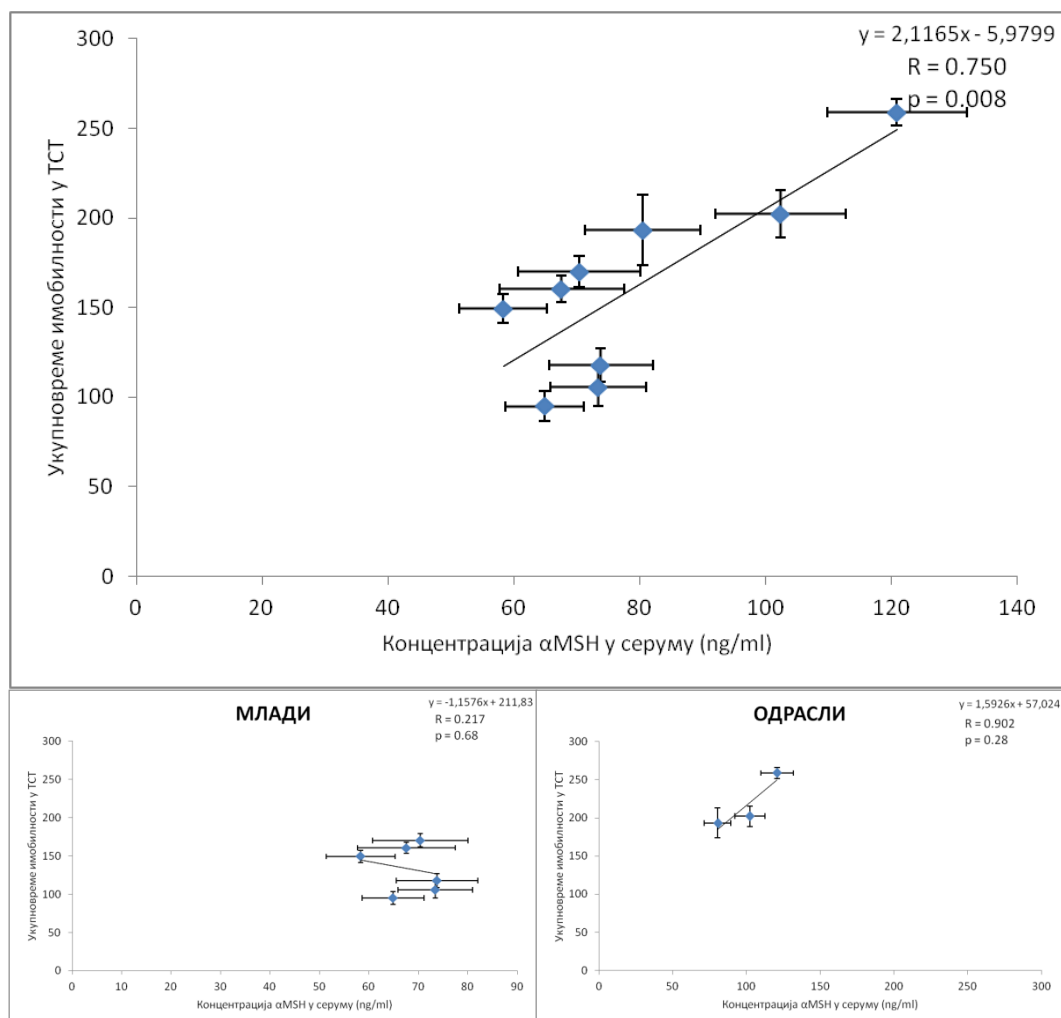
#### 4.6.6. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и параметра за процену степена анксиозности



**Слика 4.107.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.107. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да не постоји корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста.

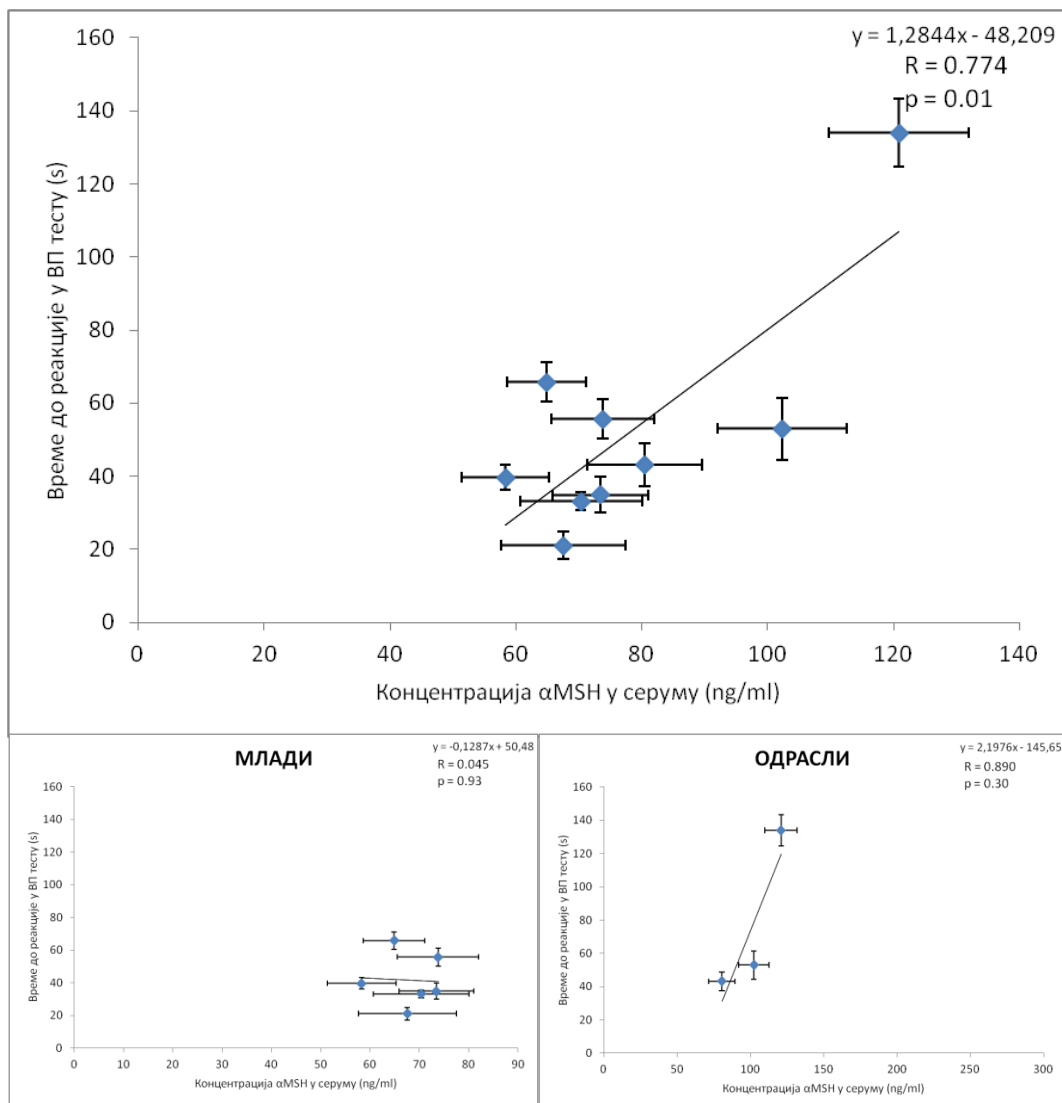
#### 4.6.7. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и параметра за процену степена депресивности



**Слика 4.108.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.108. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и укупног времена имобилности у ТКР тесту, код укупног броја животиња ( $R = 0.750$ ,  $p = 0.008$ ).

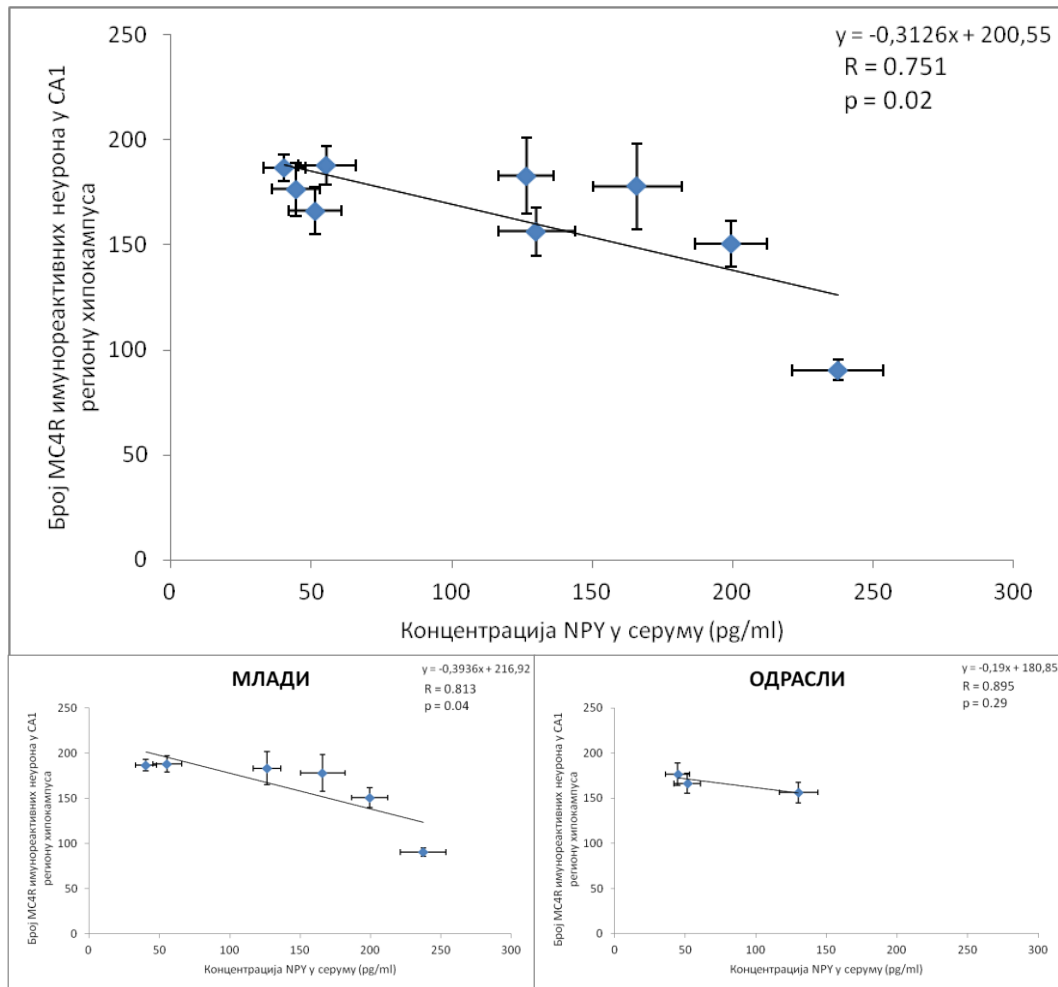
#### 4.6.8. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација $\alpha$ MSH и параметра за процену ноцицепције



**Слика 4.109.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација  $\alpha$ MSH и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

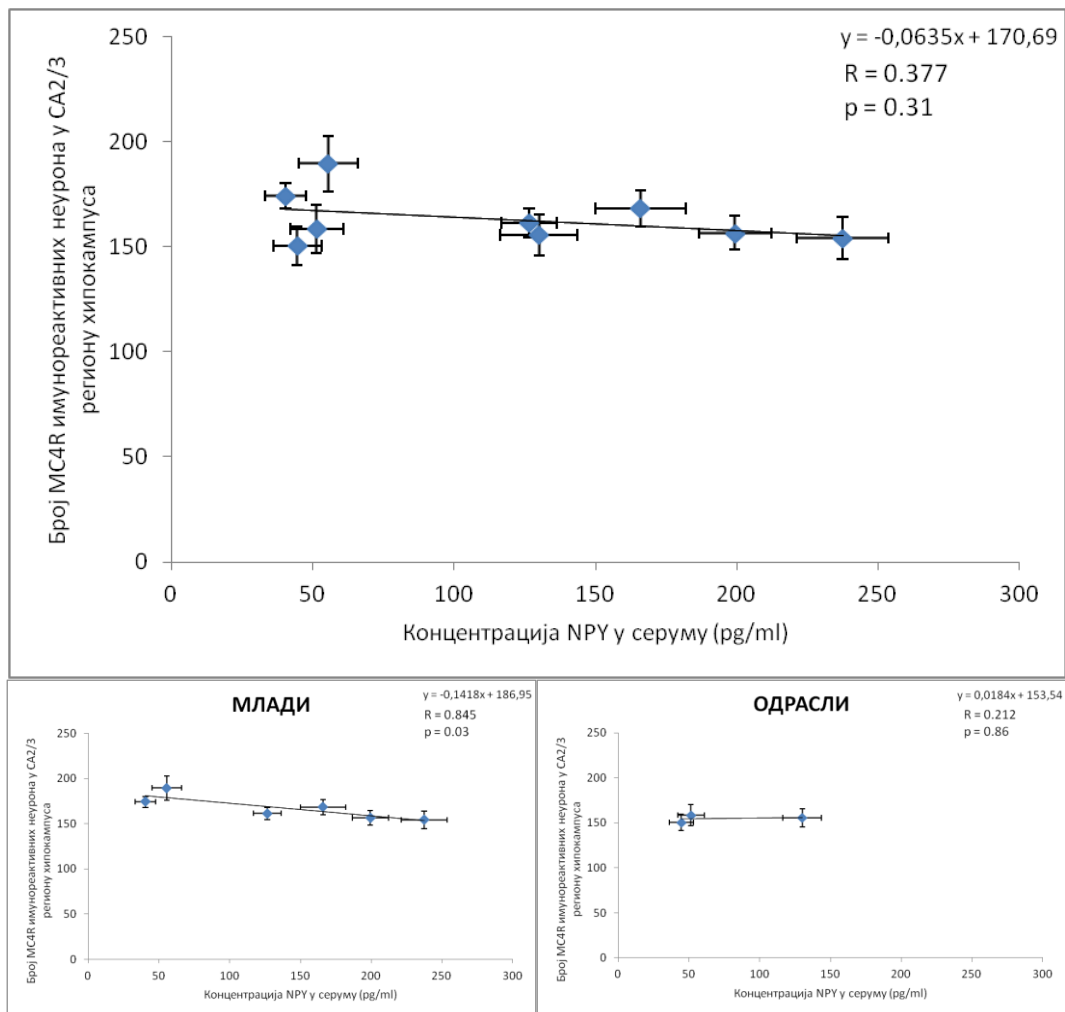
На Слици 4.109. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација  $\alpha$ MSH и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и времена до реакције у ВП тесту, код укупног броја животиња ( $R = 0.774$ ,  $p = 0.01$ ).

#### 4.6.9. Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у хипокампусу



**Слика 4.110.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

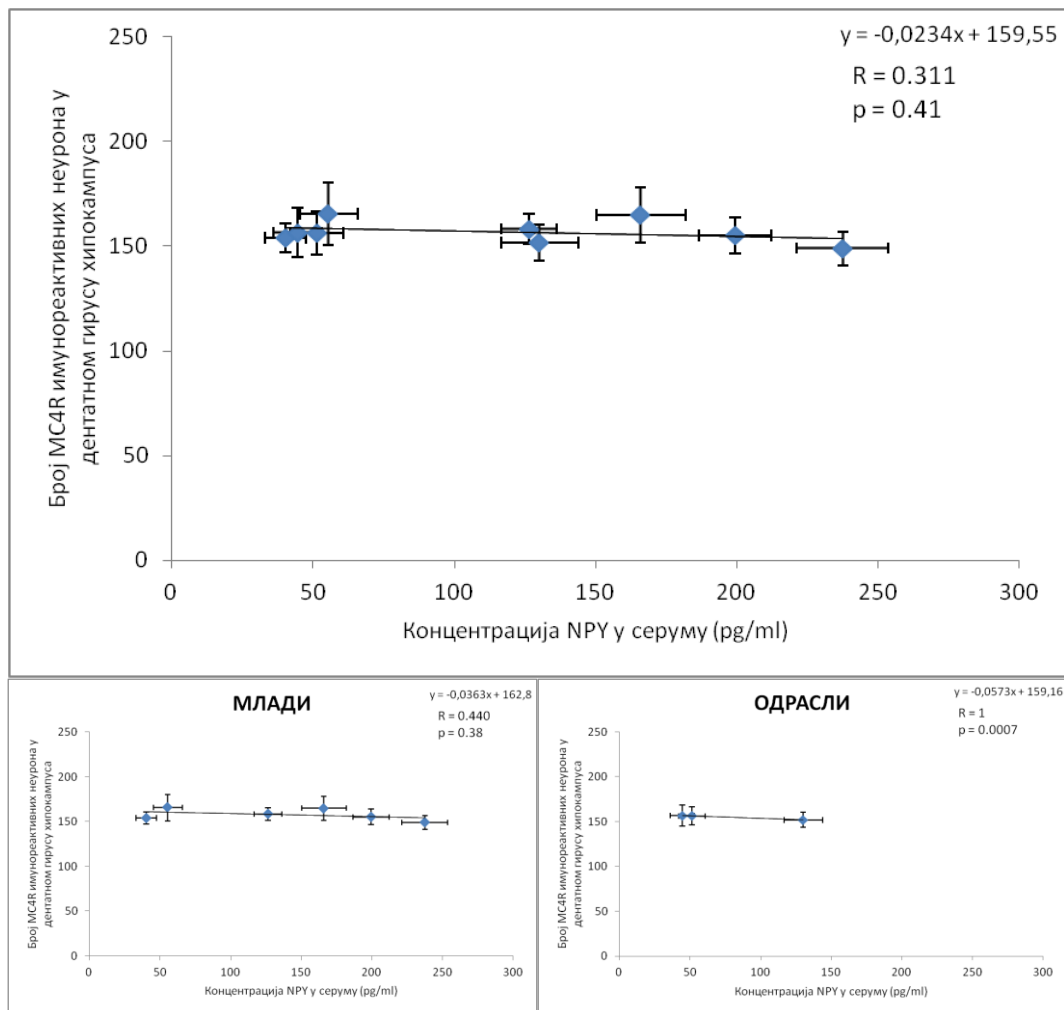
На Слици 4.110. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у СА1 региону хипокампуса, код укупног броја ( $R = 0.751$ ,  $p = 0.02$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.813$ ,  $p = 0.04$ ).



**Слика 4.111.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

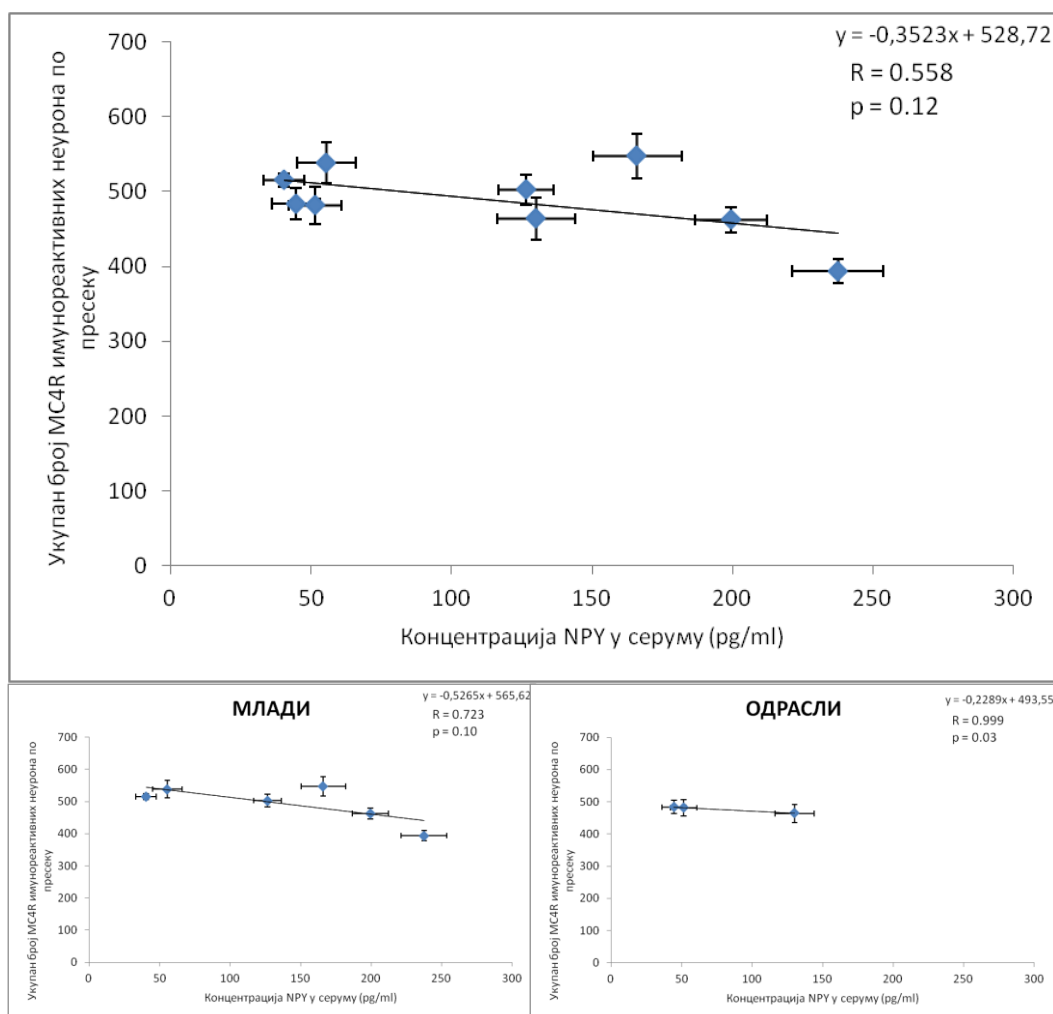
На Слици 4.111. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у CA2/3 региону хипокампуса код младих животиња ( $R = 0.845$ ,  $p = 0.03$ ).





**Слика 4.112.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.112. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона у дентатном гирусу хипокампуса код одраслих животиња ( $R = 1$ ,  $p = 0.0007$ ).

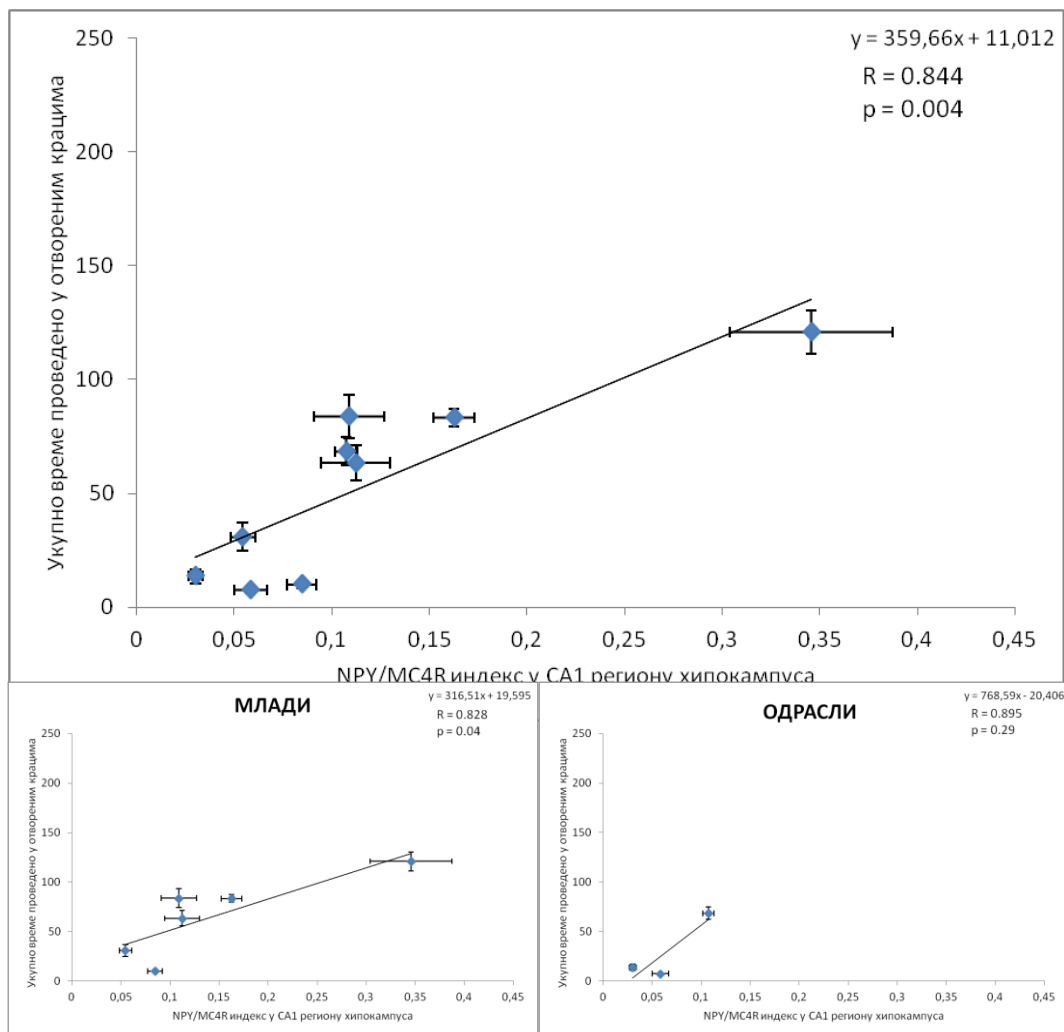


**Слика 4.113.** Анализа међусобне повезаности серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.113. је представљена међусобна повезаност серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између серумских концентрација NPY и броја MC4R имунореактивних неурона на укупној површини пресека хипокампуса хипокампуса код одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.03$ ).

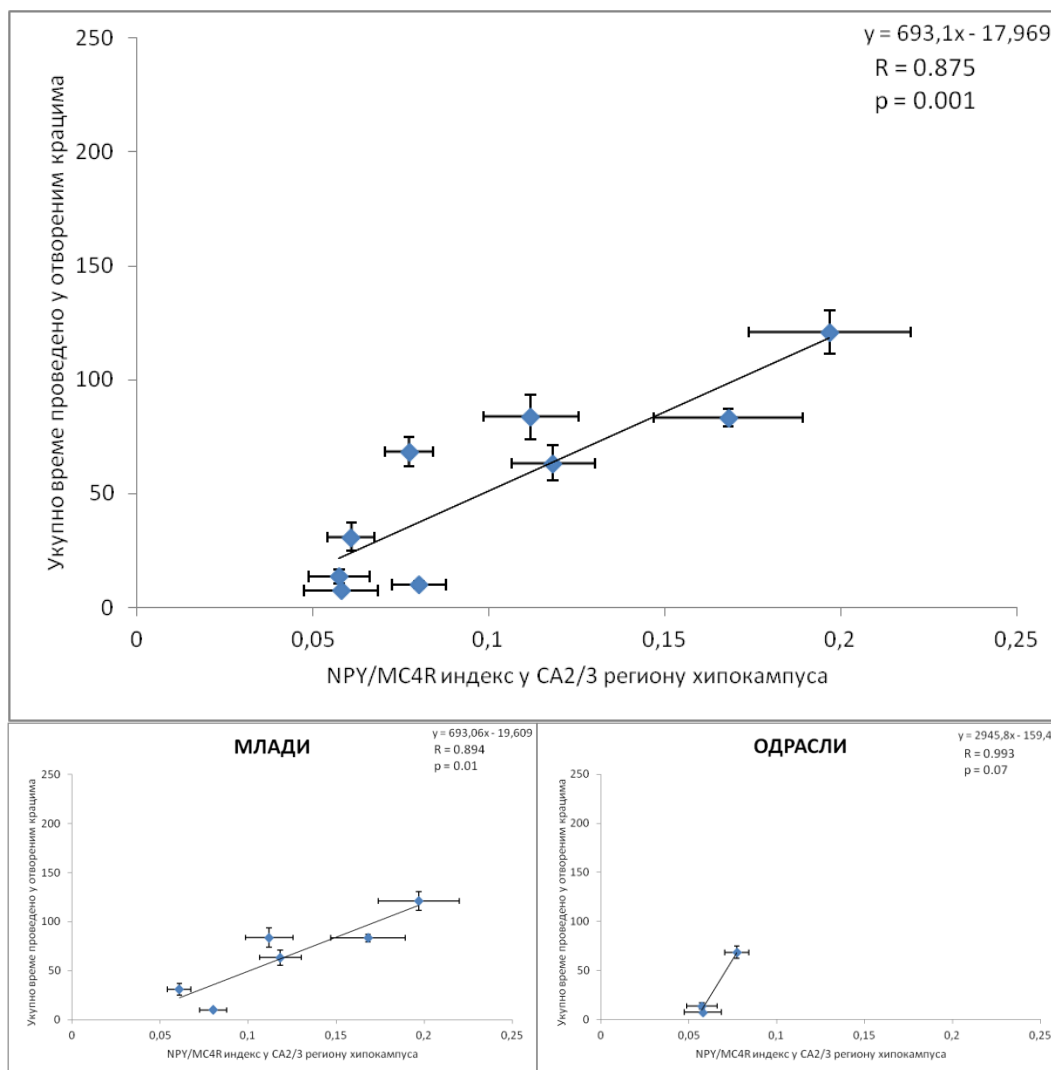
#### **4.7. Анализа међусобне повезаности параметара добијених у бихевиоралним тестовима и NPY/MC4R индекса**

#### 4.7.1. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена анксиозности



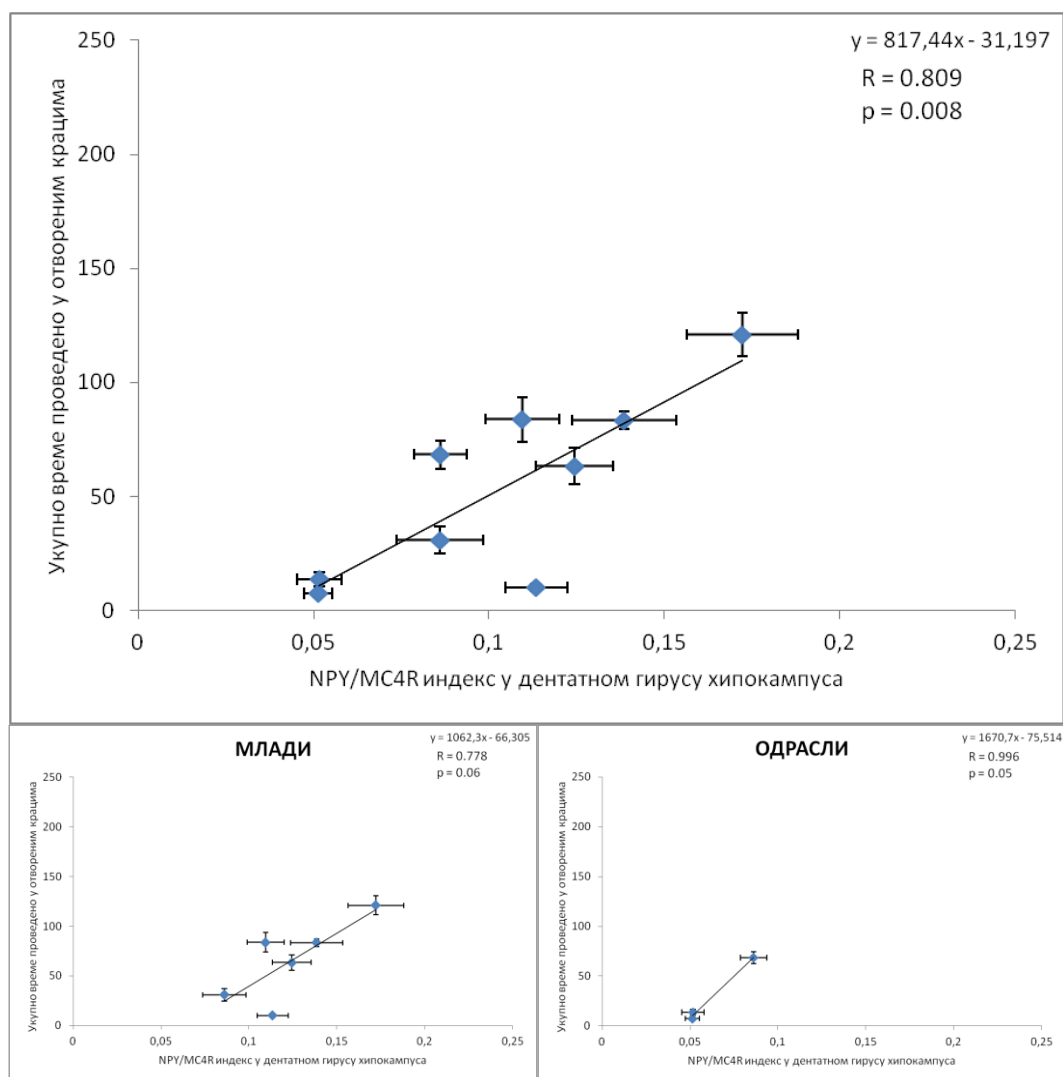
**Слика 4.114.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.114. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста код укупног броја ( $R = 0.844$ ,  $p = 0.004$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.828$ ,  $p = 0.04$ )



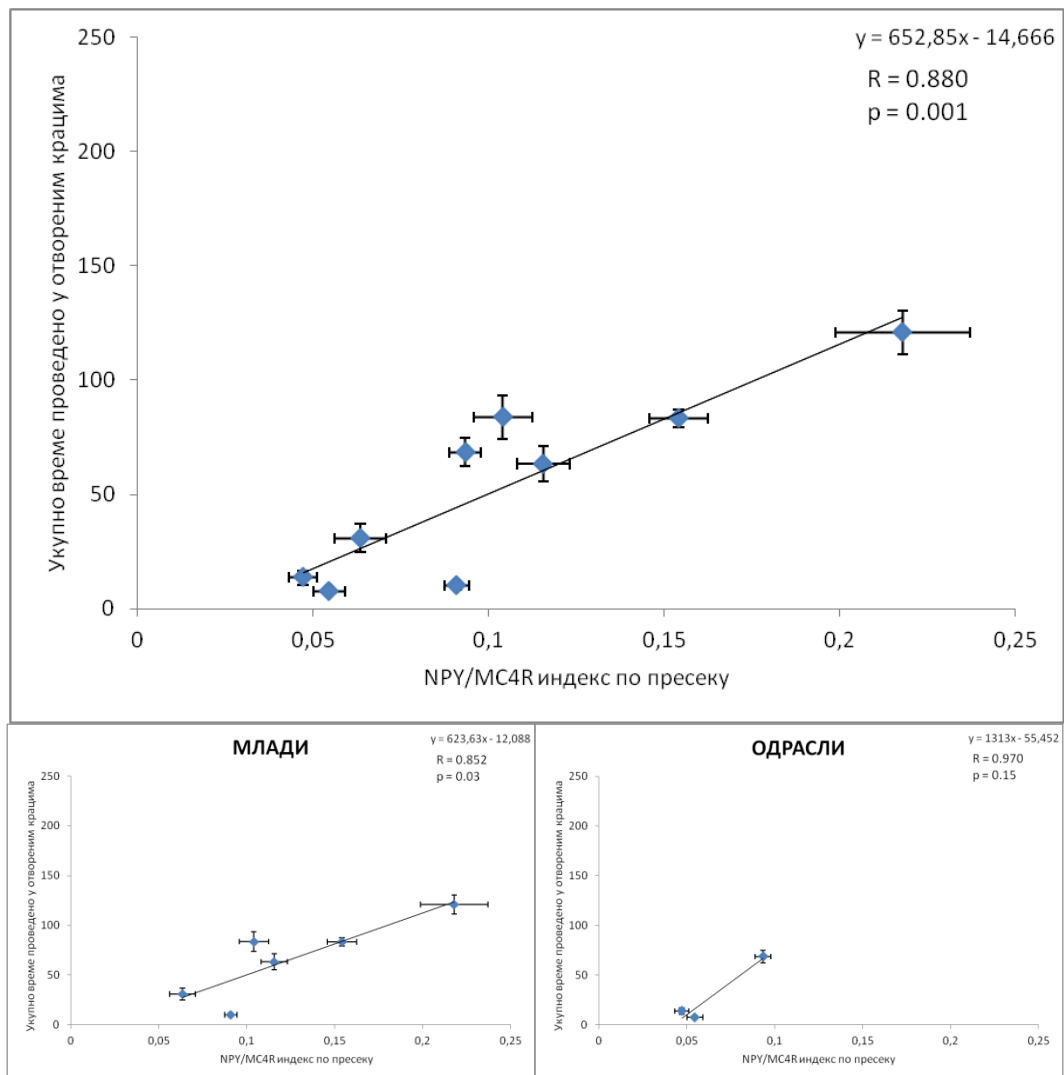
**Слика 4.115.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.115. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста код укупног броја ( $R = 0.875$ ,  $p = 0.001$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.894$ ,  $p = 0.01$ )



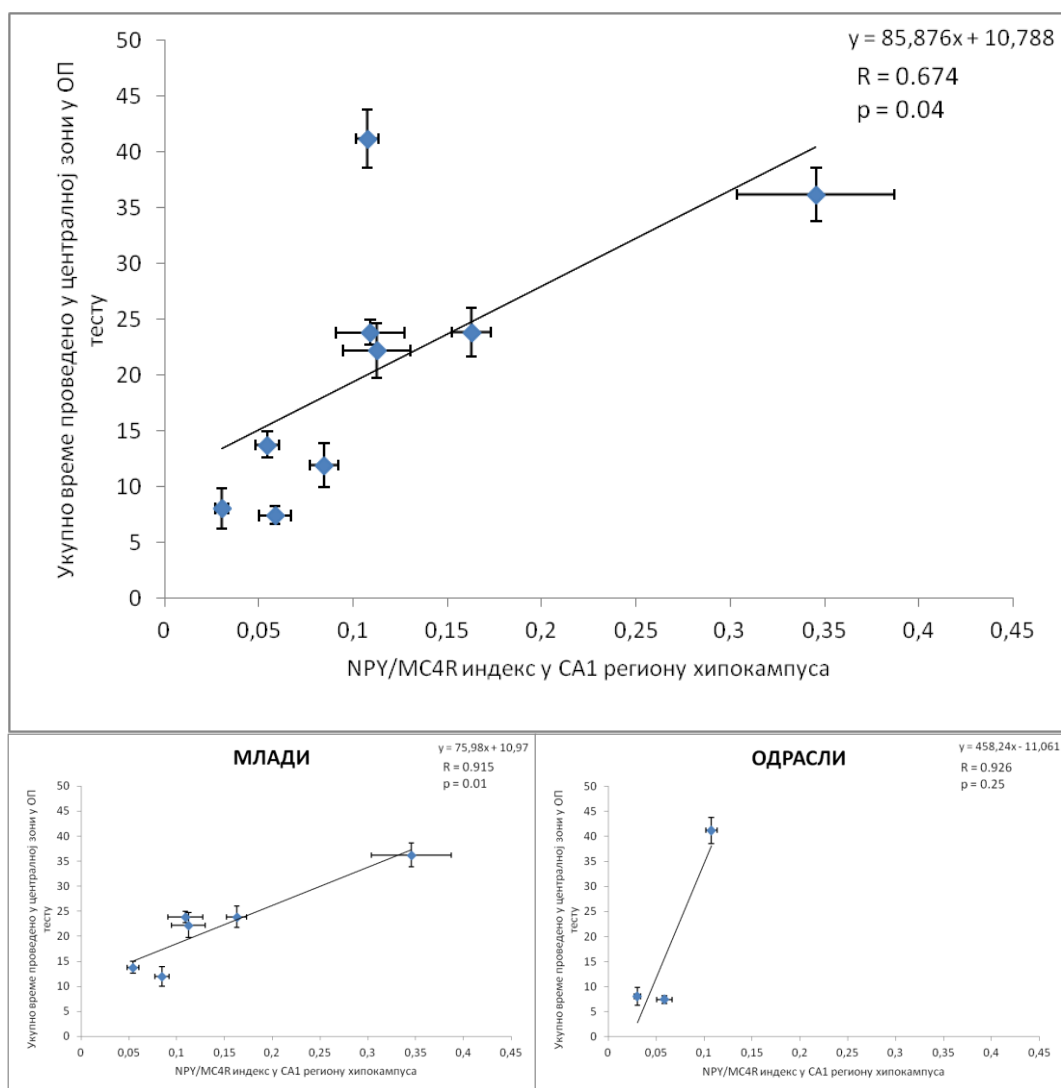
**Слика 4.116.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња ( доле).

На Слици 4.116. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста код укупног броја ( $R = 0.809$ ,  $p = 0.08$ ), као и код одраслих животиња ( $R = 0.996$ ,  $p = 0.05$ )



**Слика 4.117.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

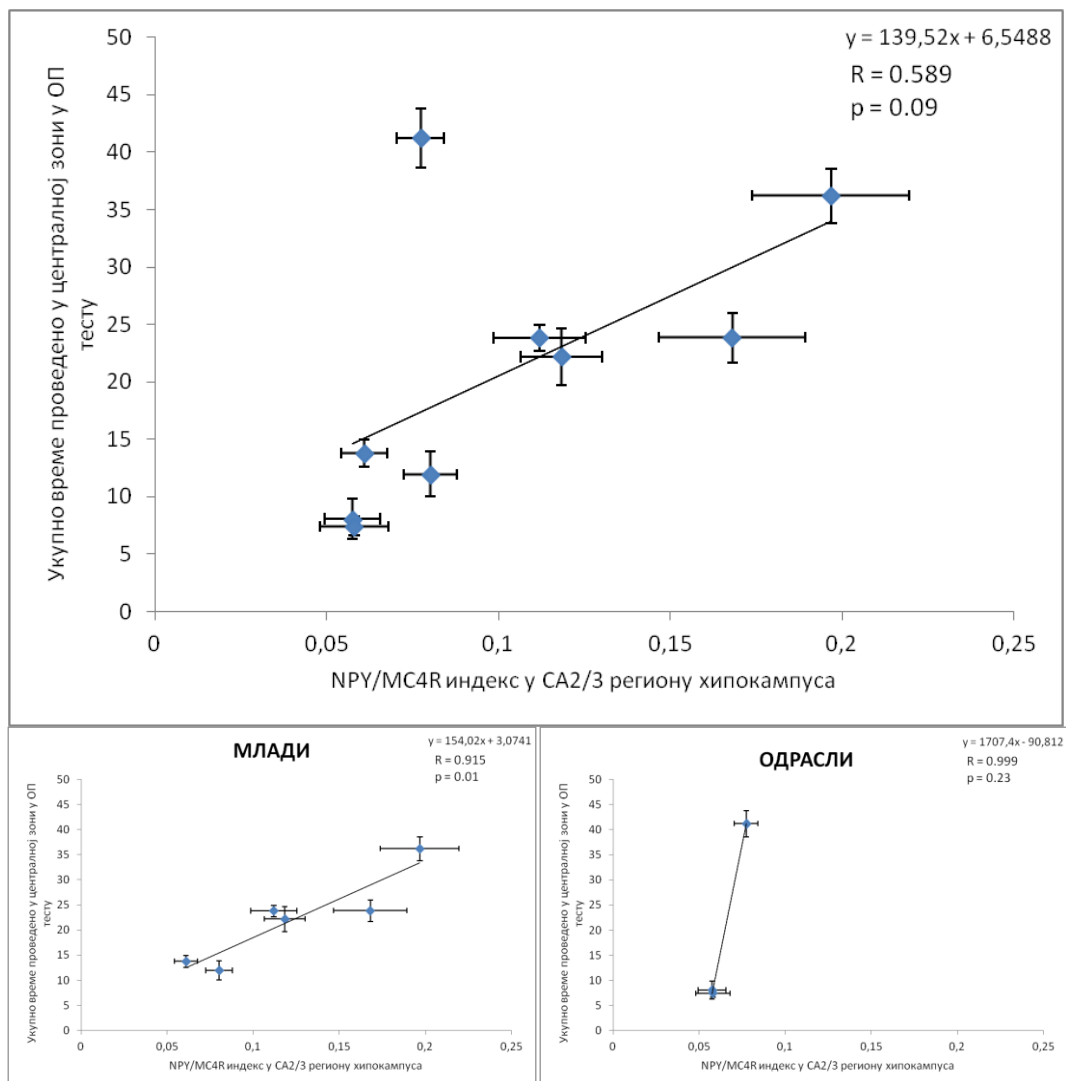
На Слици 4.117. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у отвореним крацима УКЛ теста код укупног броја ( $R = 0.880$ ,  $p = 0.001$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.852$ ,  $p = 0.03$ )



**Слика 4.118.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

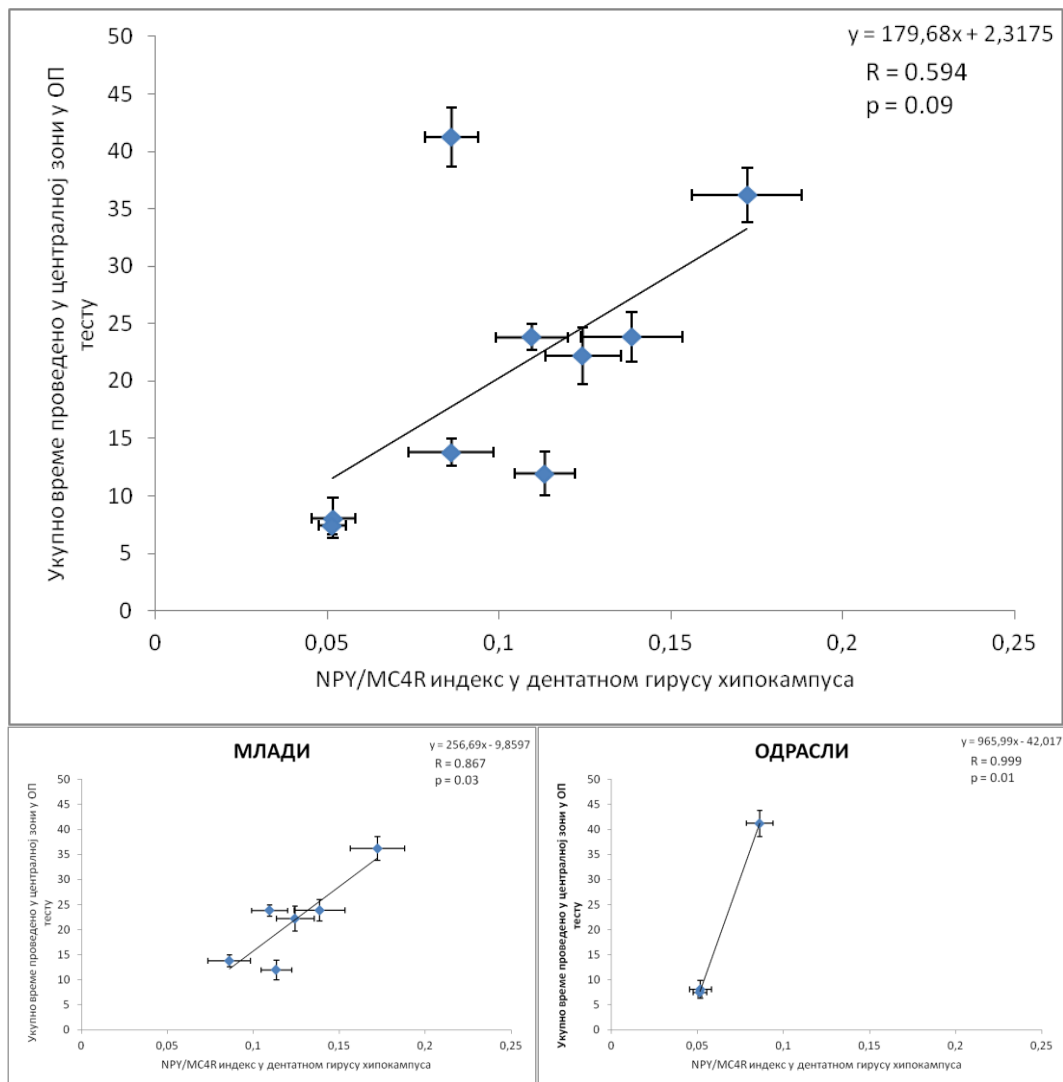
На Слици 4.118. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста код укупног броја ( $R = 0.674$ ,  $p = 0.04$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.915$ ,  $p = 0.01$ )





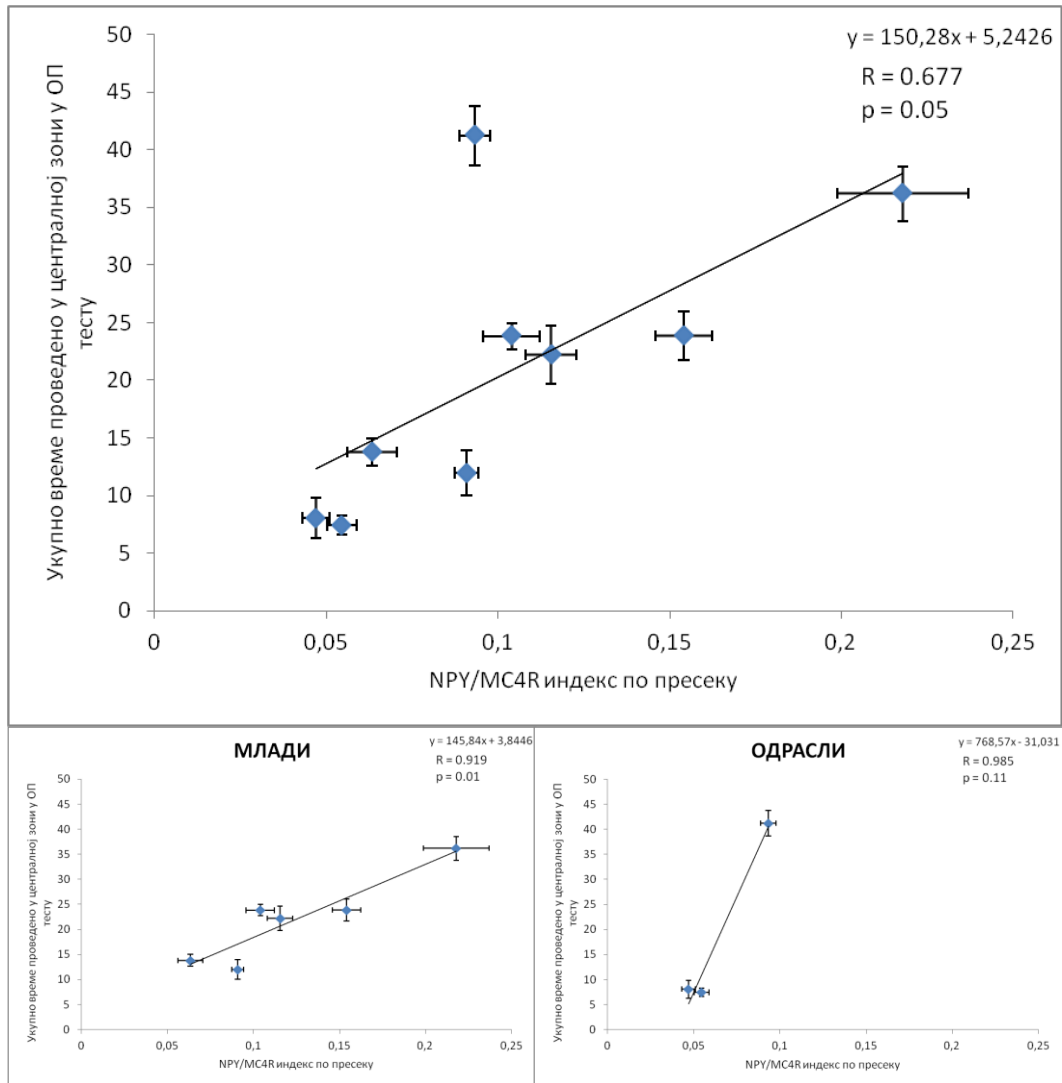
**Слика 4.119.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.119. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста код младих животиња ( $R = 0.915$ ,  $p = 0.01$ )



**Слика 4.120.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

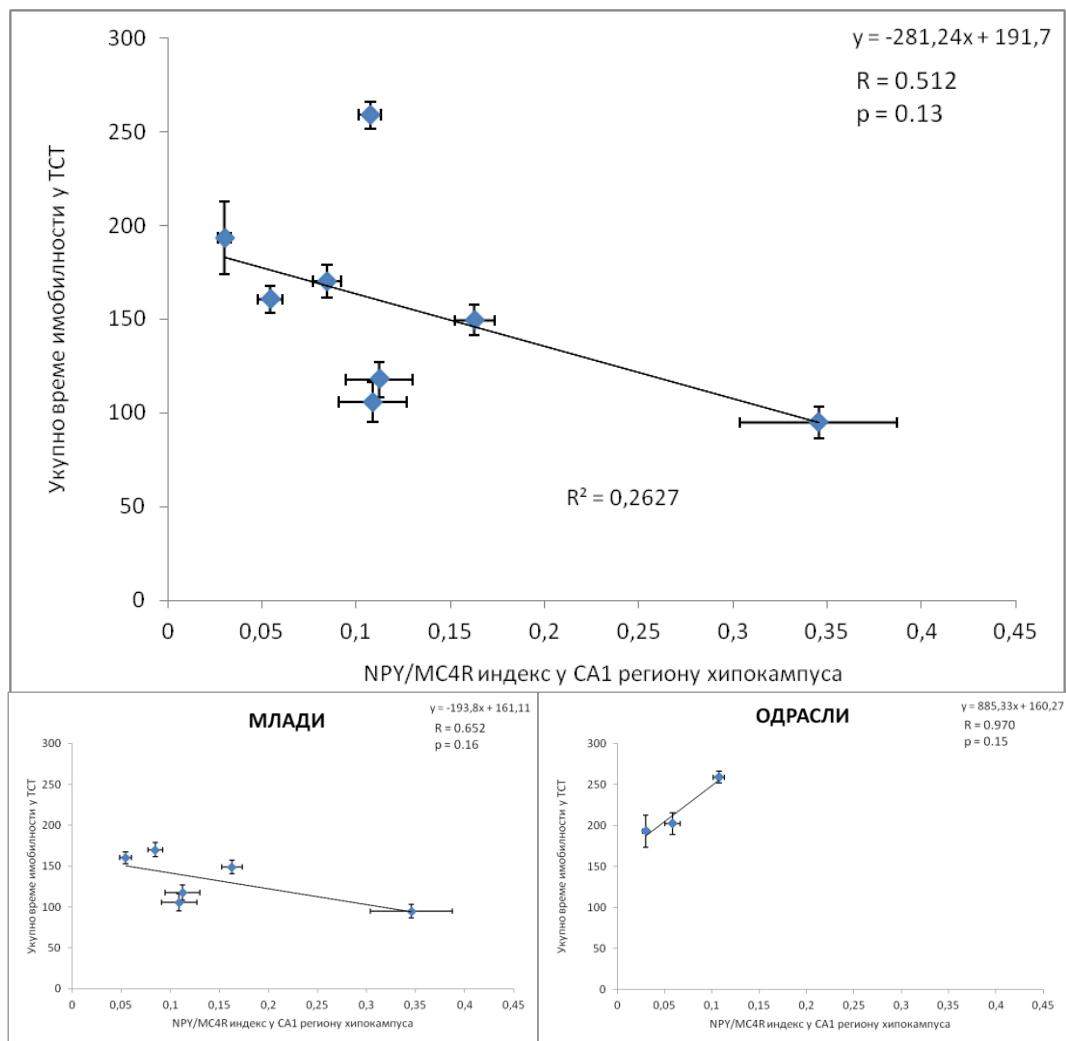
На Слици 4.120. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста код младих животиња ( $R = 0.867$ ,  $p = 0.03$ ), као и код старих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ ).



**Слика 4.121.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

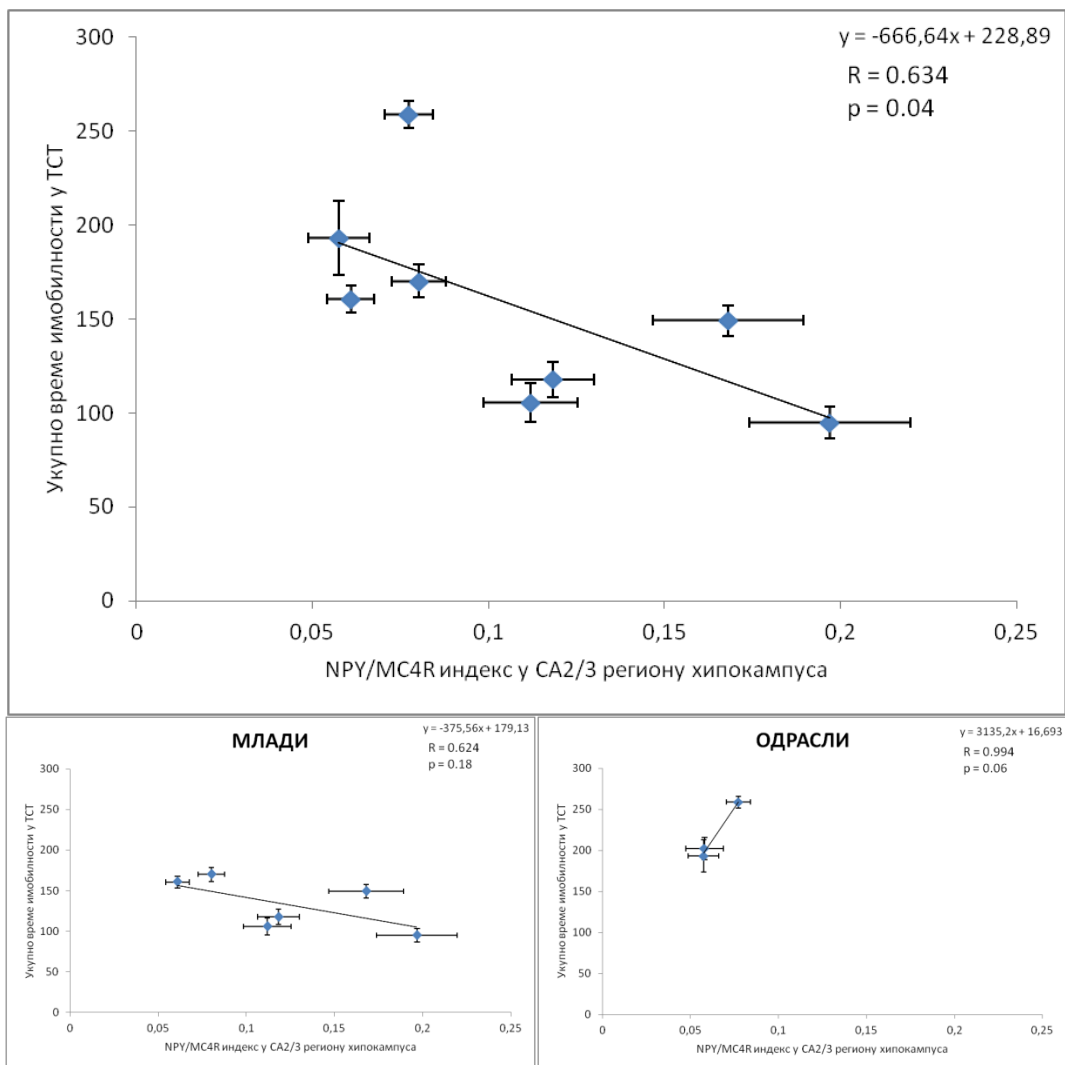
На Слици 4.121. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена проведеног у централној зони ОП теста на укупном броју ( $R = 0.677$ ,  $p = 0.05$ ), као и код младих животиња ( $R = 0.919$ ,  $p = 0.01$ ).

#### 4.7.2. Анализа међусобне NPY/МС4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену степена депресивности



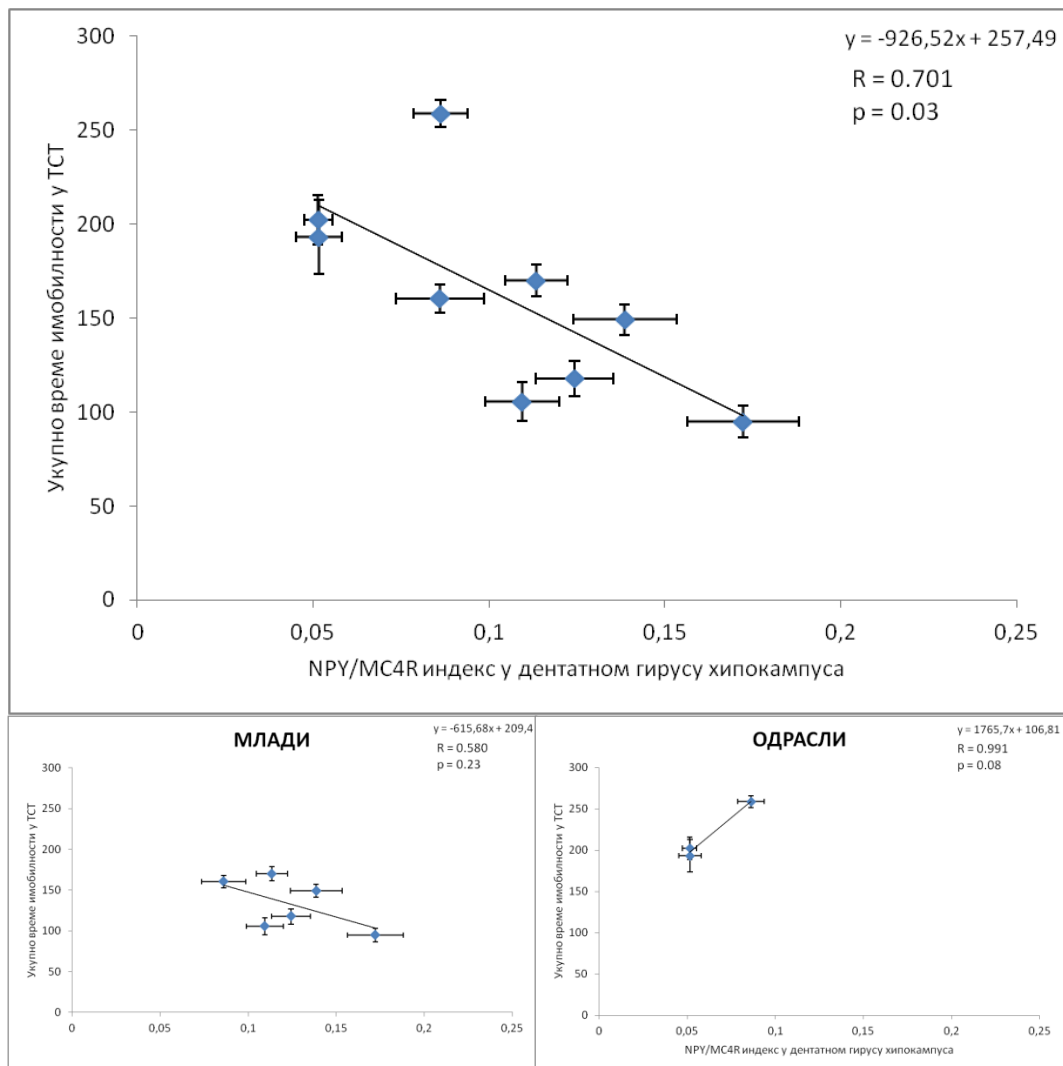
**Слика 4.122.** Анализа међусобне повезаности NPY/МС4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.122. је представљена међусобна повезаност NPY/МС4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује да не постоји корелација између NPY/МС4R индекса у СА1 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту.



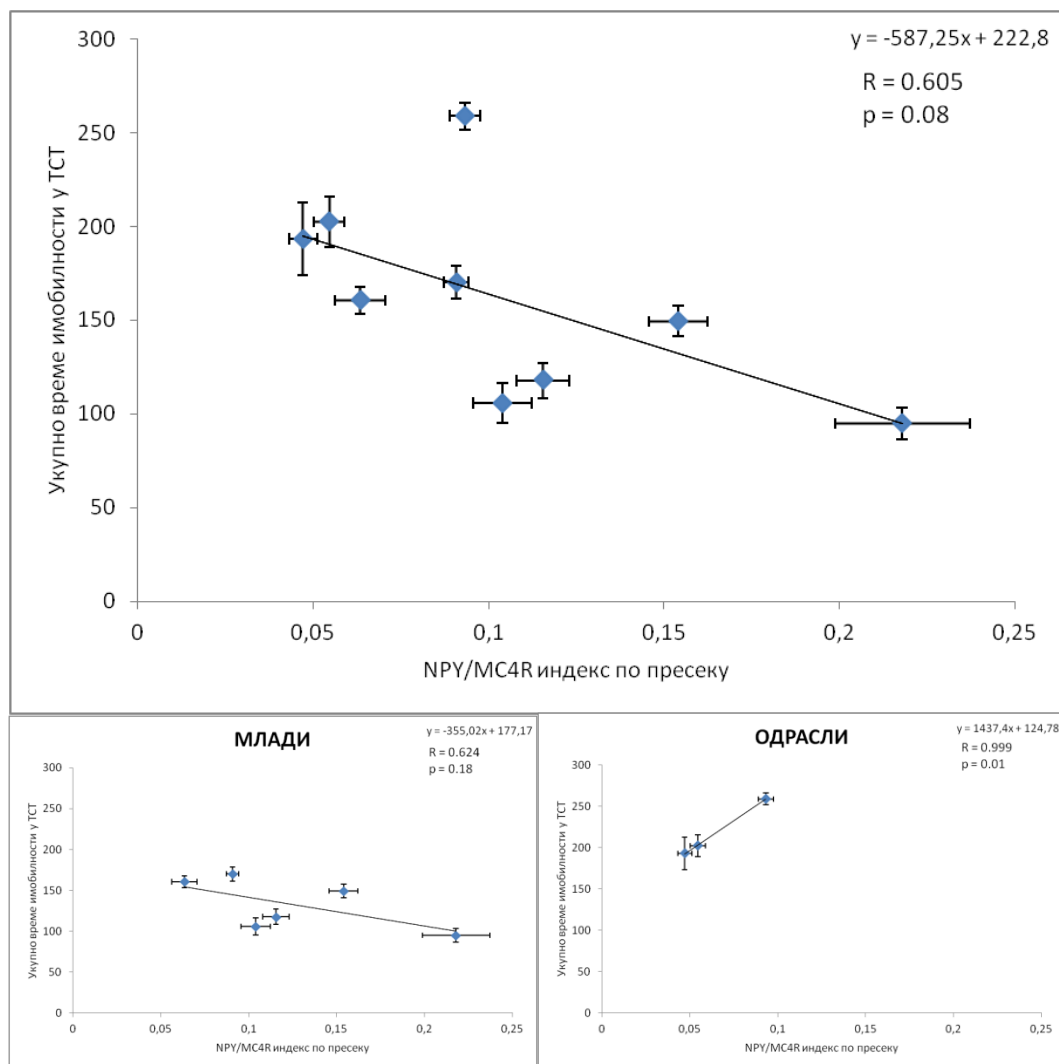
**Слика 4.123.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.123. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту код укупног броја животиња ( $R = 0.634$ ,  $p = 0.04$ ).



**Слика 4.124.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

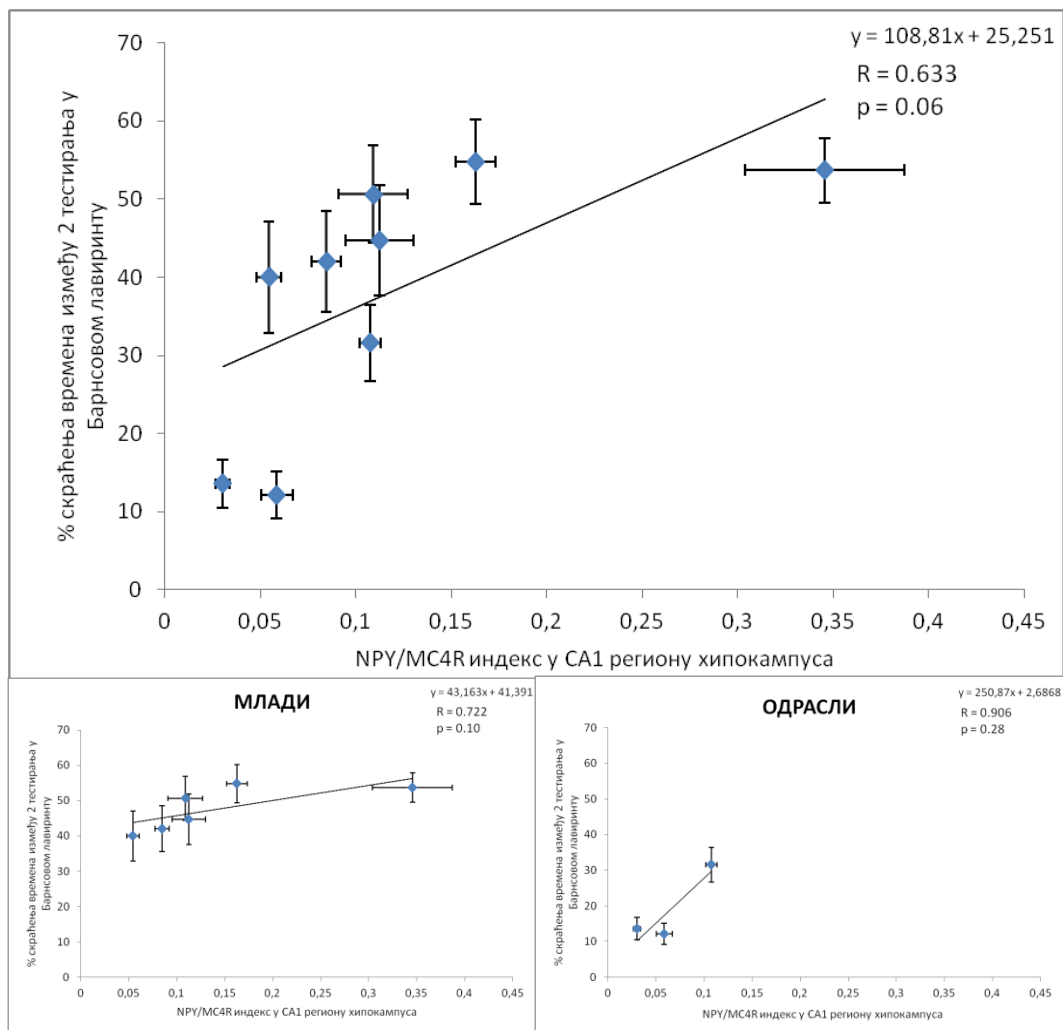
На Слици 4.124. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту код укупног броја животиња ( $R = 0.701$ ,  $p = 0.03$ ).



**Слика 4.125.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.125. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту. Анализа показује да постоји јака, негативна корелација између NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и укупног времена имобилности у ТКР тесту само код одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ ).

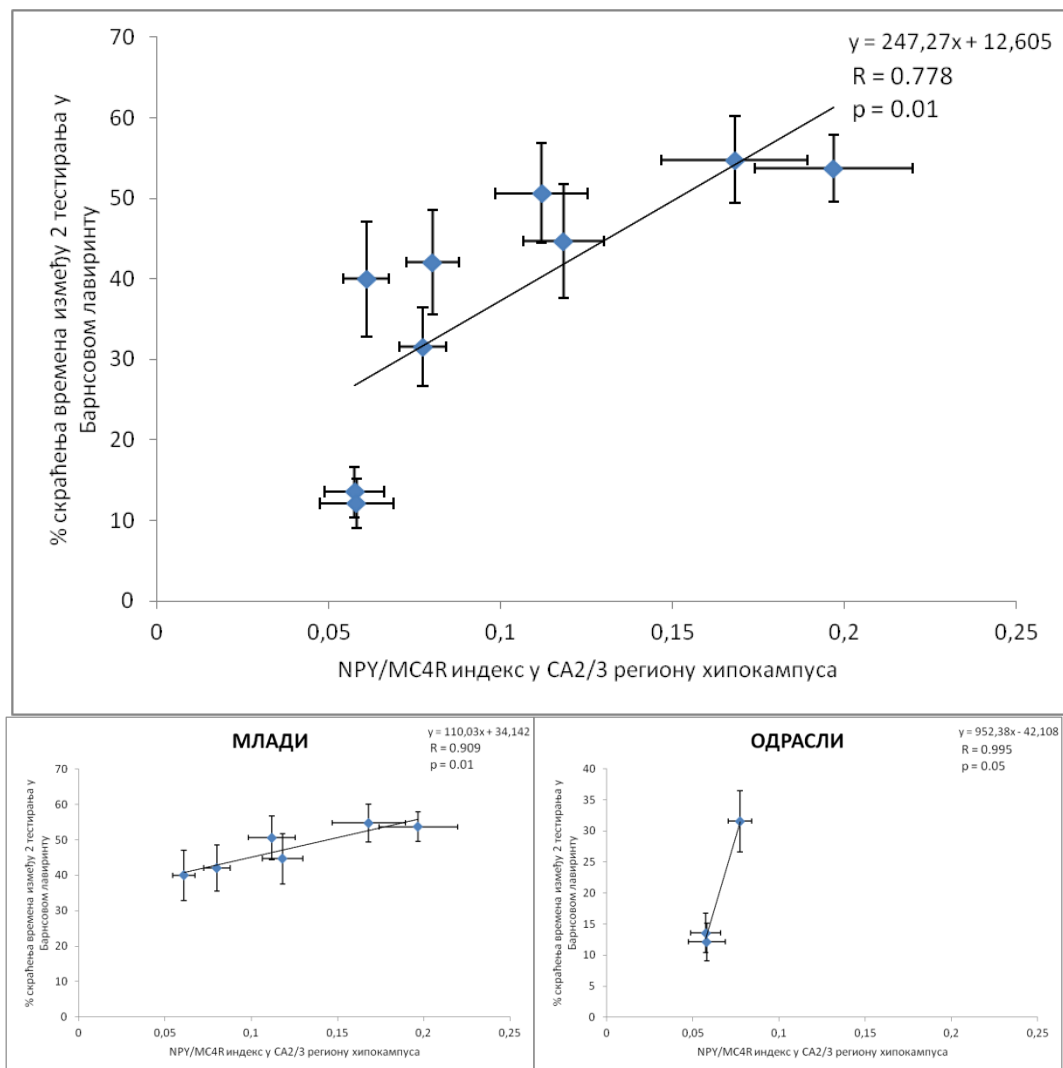
### 4.7.3. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену когнитивних способности



**Слика 4.126.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

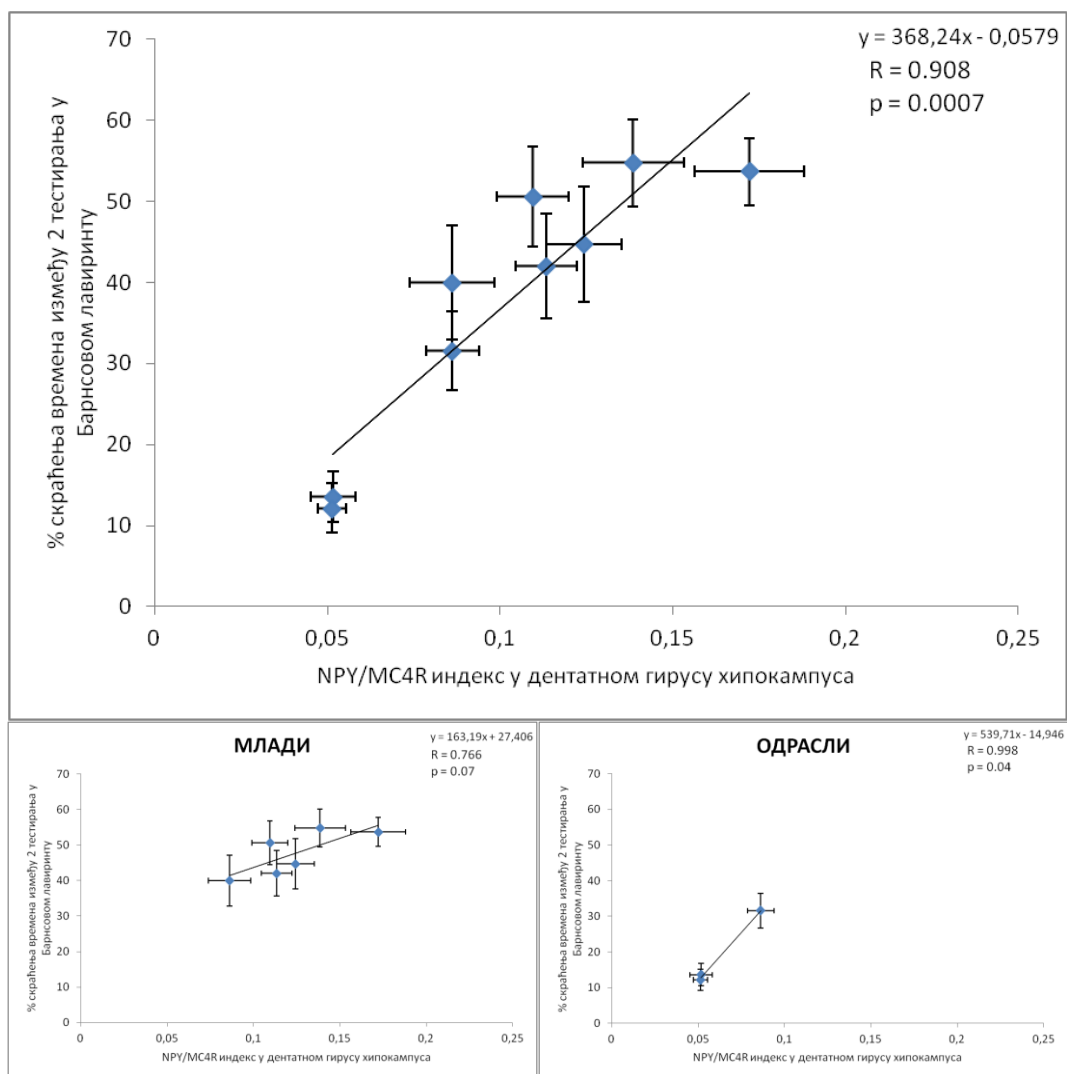
На Слици 4.126. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да не постоји корелација између NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту.





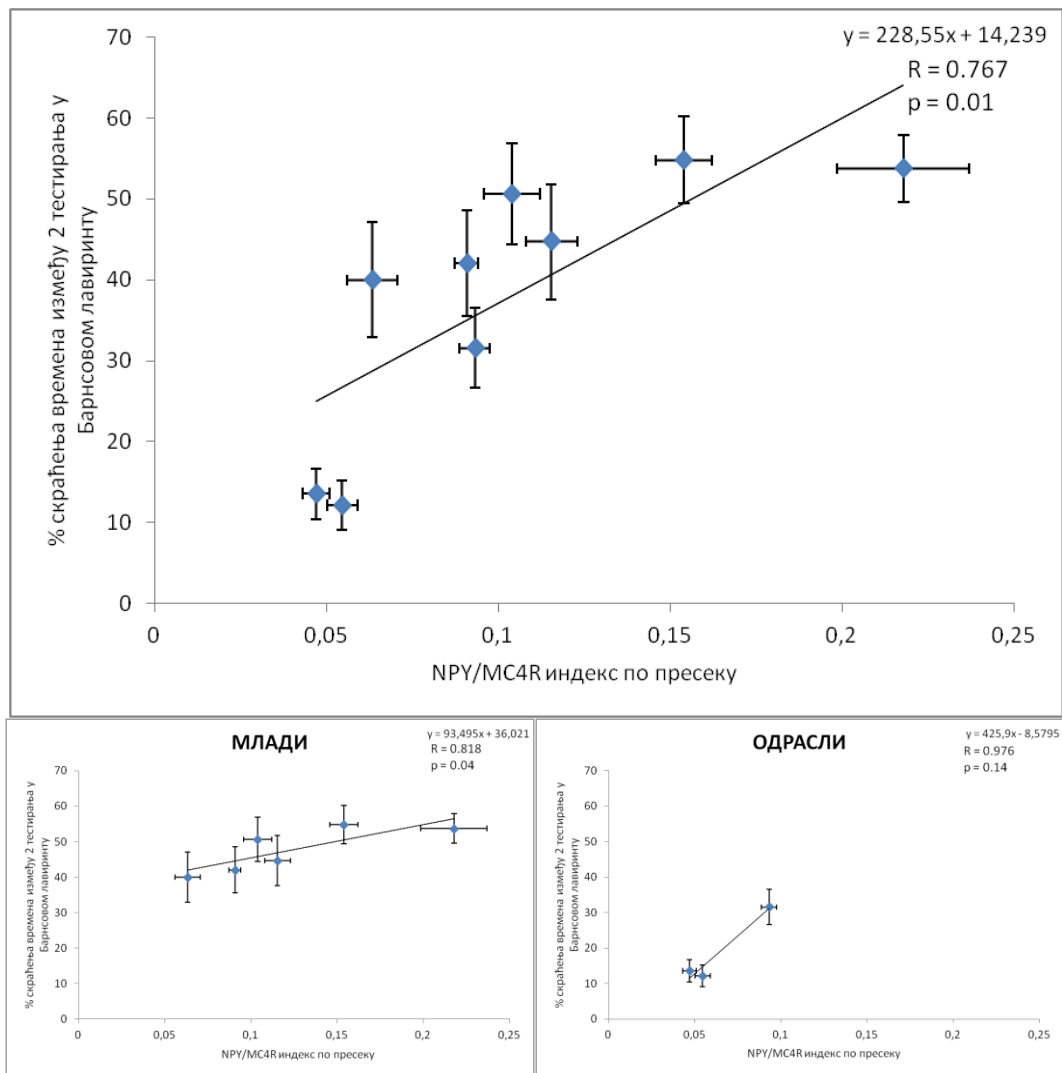
**Слика 4.127.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.127. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту код укупног броја животиња ( $R = 0.778$ ,  $p = 0.01$ ), код младих ( $R = 0.909$ ,  $p = 0.01$ ), као и код одраслих пацова ( $R = 0.995$ ,  $p = 0.05$ ).



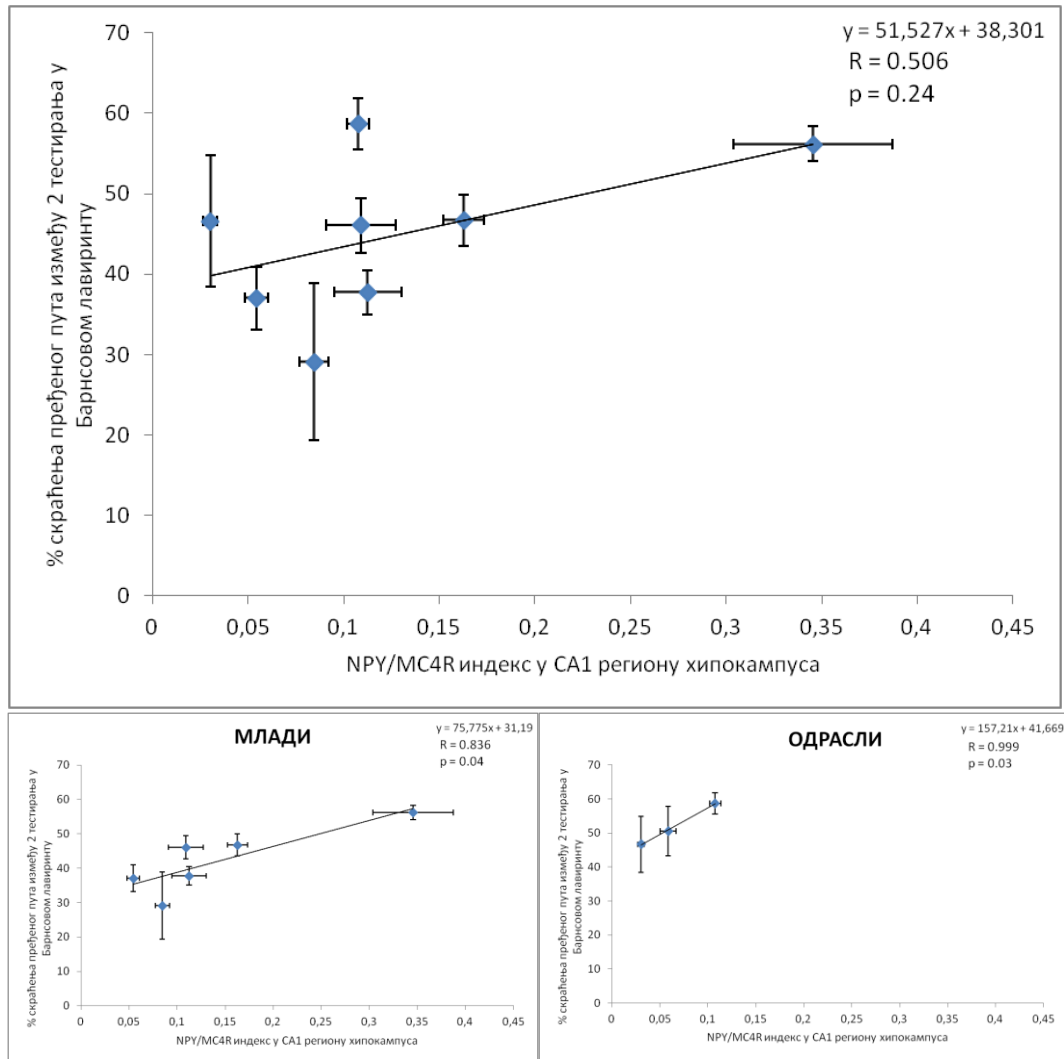
**Слика 4.128.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.128. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту код укупног броја животиња ( $R = 0.908$ ,  $p = 0.0007$ ), као и код одраслих пацова ( $R = 0.998$ ,  $p = 0.04$ ).



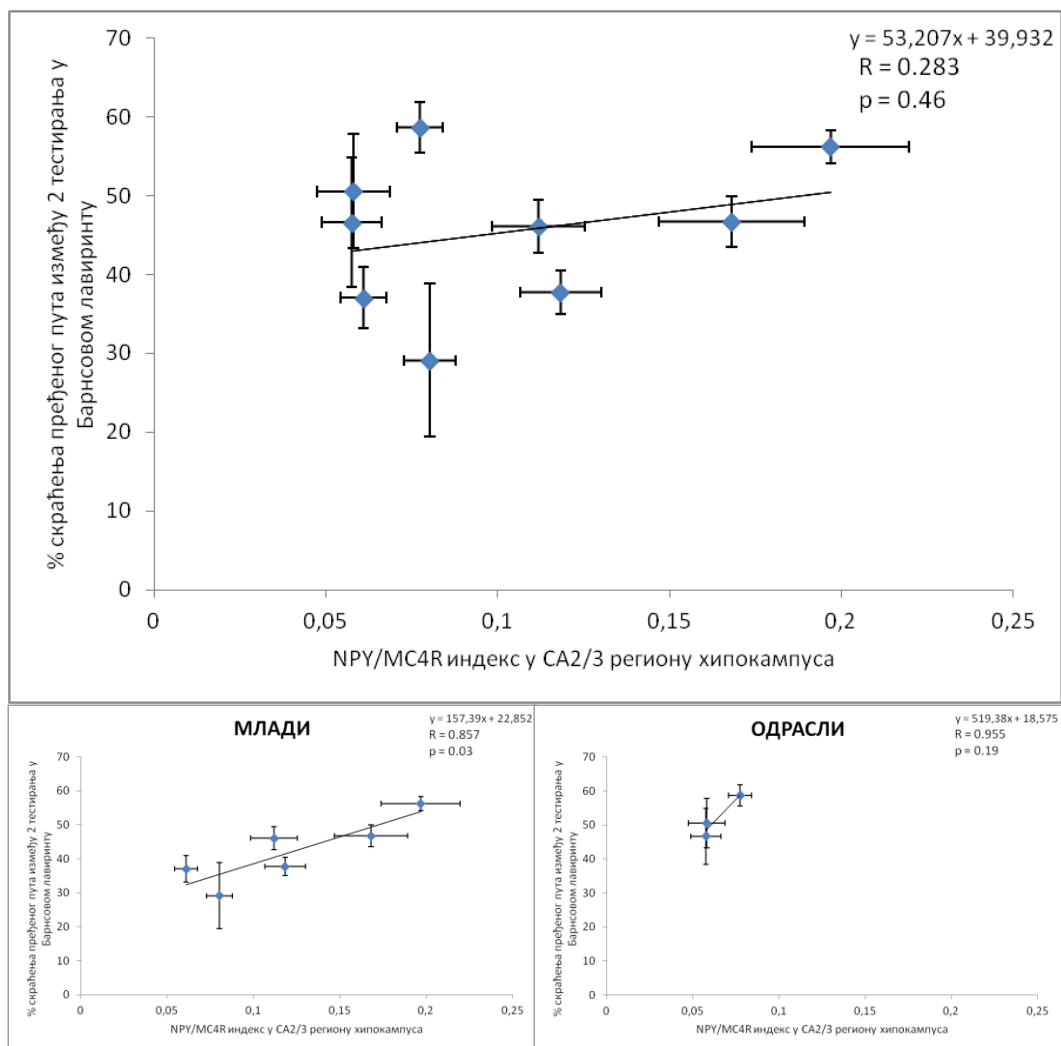
**Слика 4.129.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.129. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења времена између 2 тестирања у Барнсовом тесту код укупног броја животиња ( $R = 0.767$ ,  $p = 0.01$ ), као и код младих пацова ( $R = 0.818$ ,  $p = 0.04$ ).



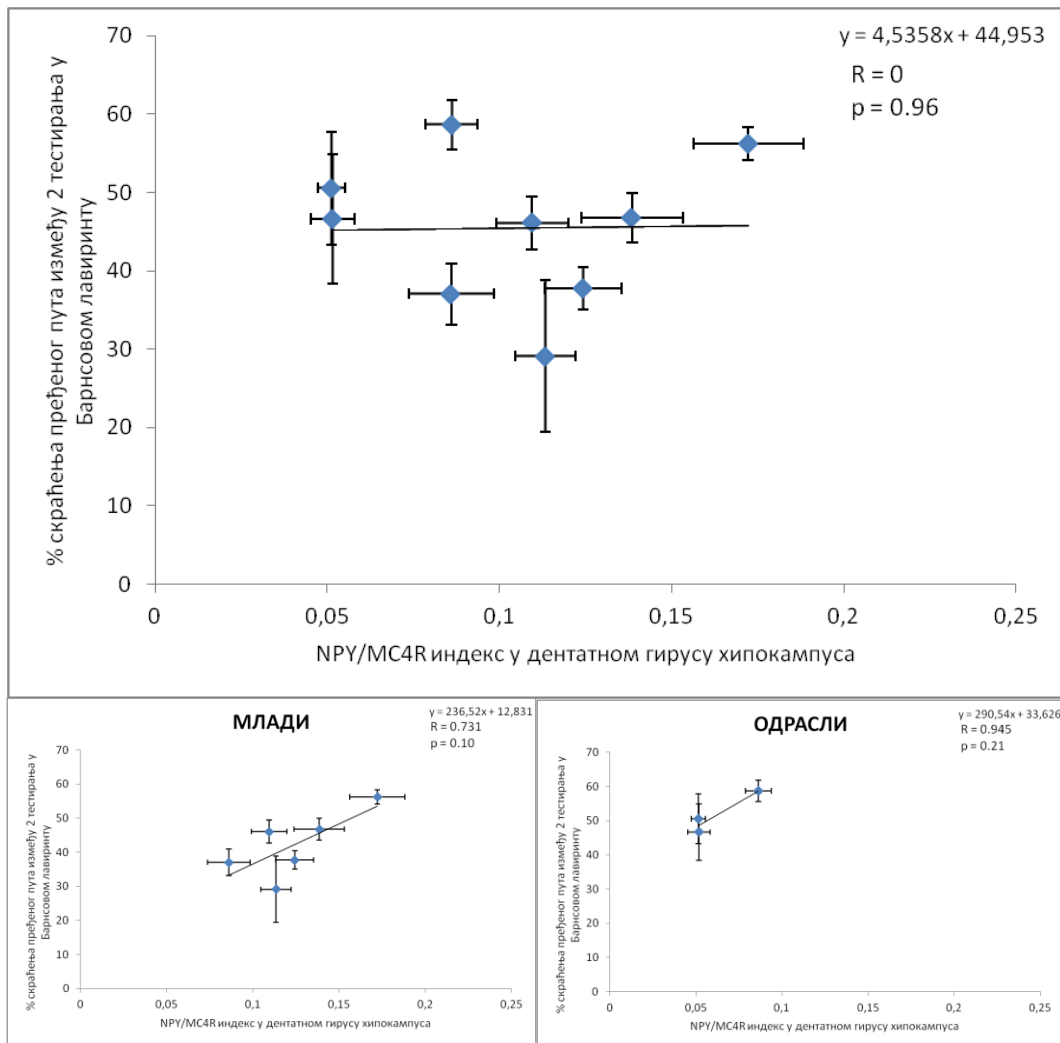
**Слика 4.130.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.130. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту код младих ( $R = 0.836$ ,  $p = 0.04$ ), као и код одраслих пацова ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.03$ ).



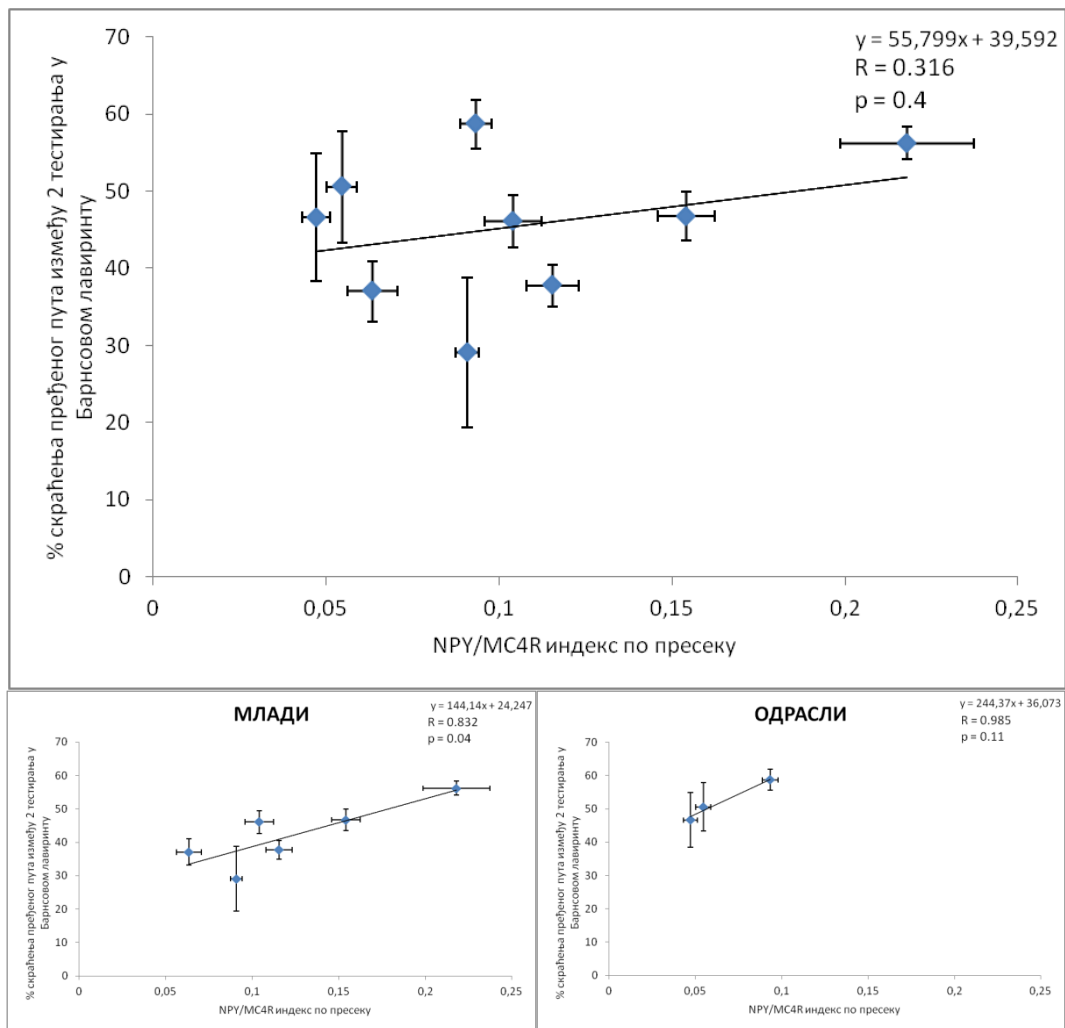
**Слика 4.131.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.131. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R индекса у CA2/3 региону хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту код младих животиња ( $R = 0.857$ ,  $p = 0.03$ ).



**Слика 4.132.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

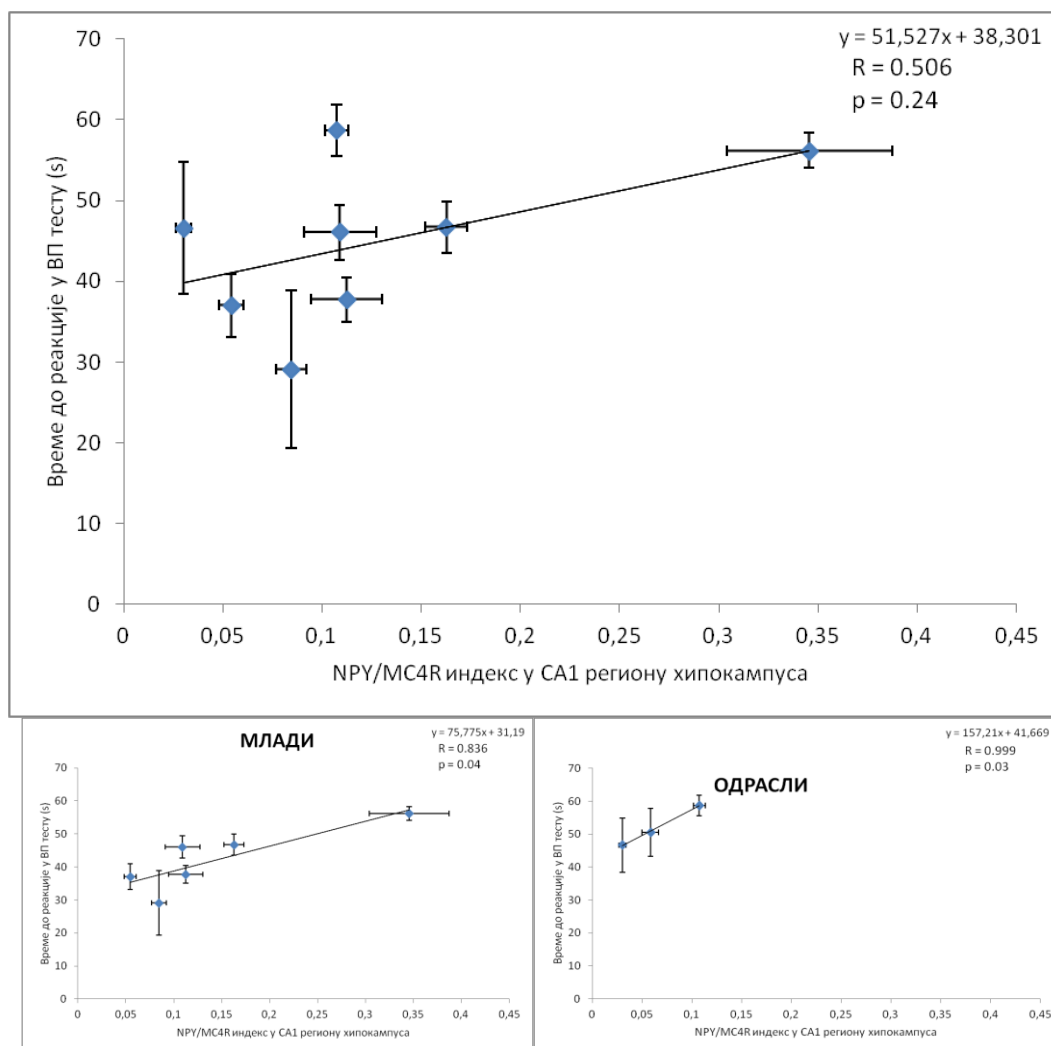
На Слици 4.132. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у дентатом гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да не постоји корелација између NPY/MC4R индекса у дентатном гирусу хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту.



**Слика 4.133.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.133. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R на укупној површини пресека хипокампуса и % скраћења пређеног пута између 2 тестирања у Барнсовом тесту код младих животиња ( $R = 0.832$ ,  $p = 0.04$ ).

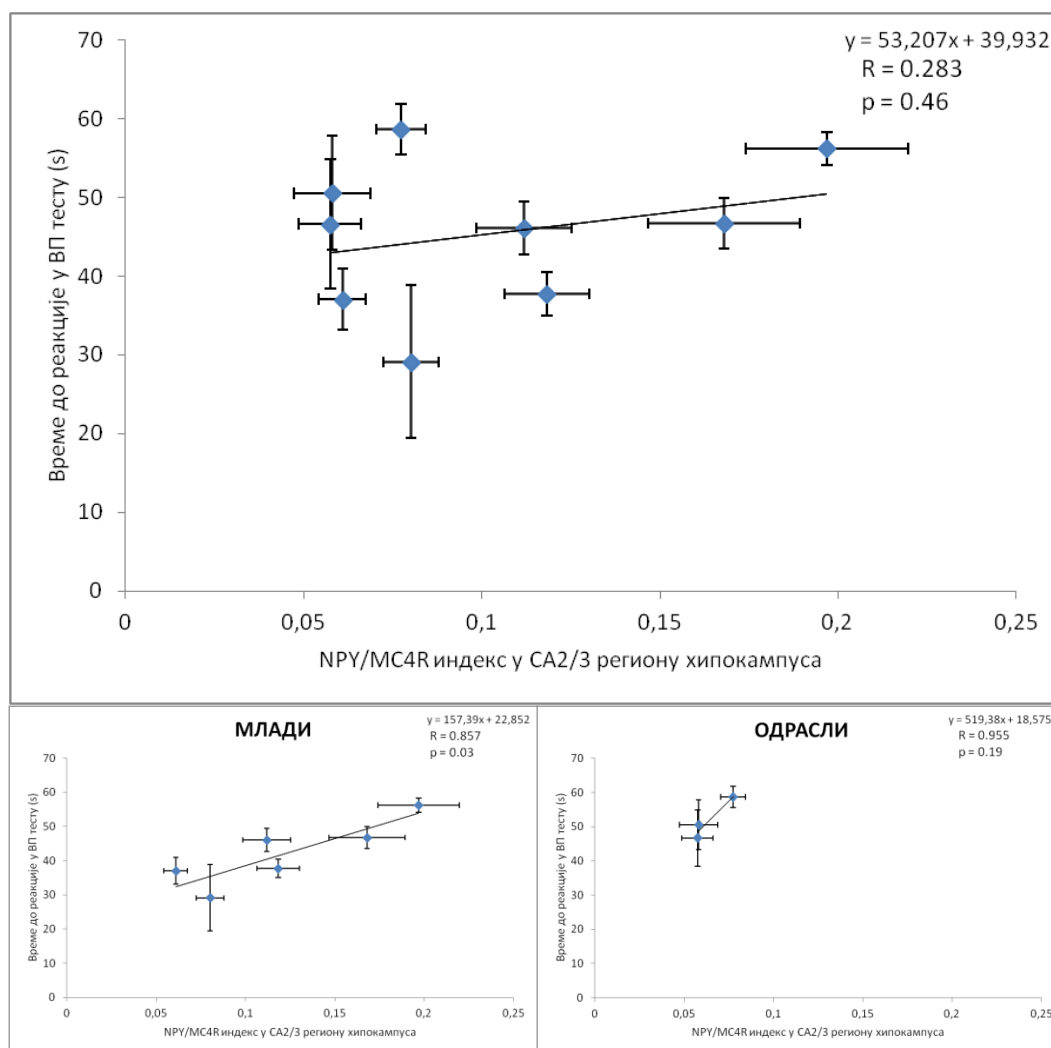
#### 4.7.4. Анализа међусобне NPY/MC4R индекса у хипокампусу и бихевиоралних параметара за процену ноцицепције



**Слика 4.134.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

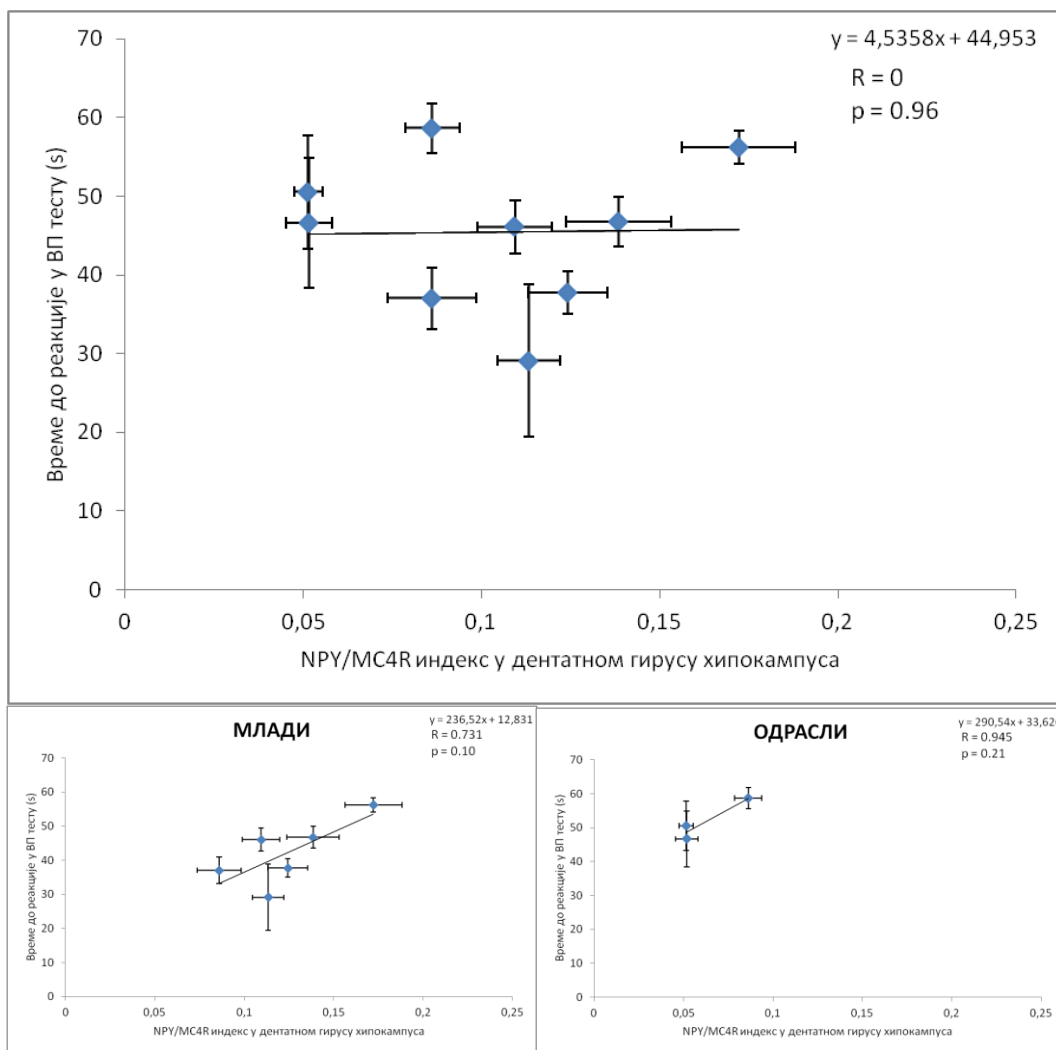
На Слици 4.134. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R у СА1 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту код младих ( $R = 0.836$ ,  $p = 0.04$ ), као и код одраслих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.03$ ).





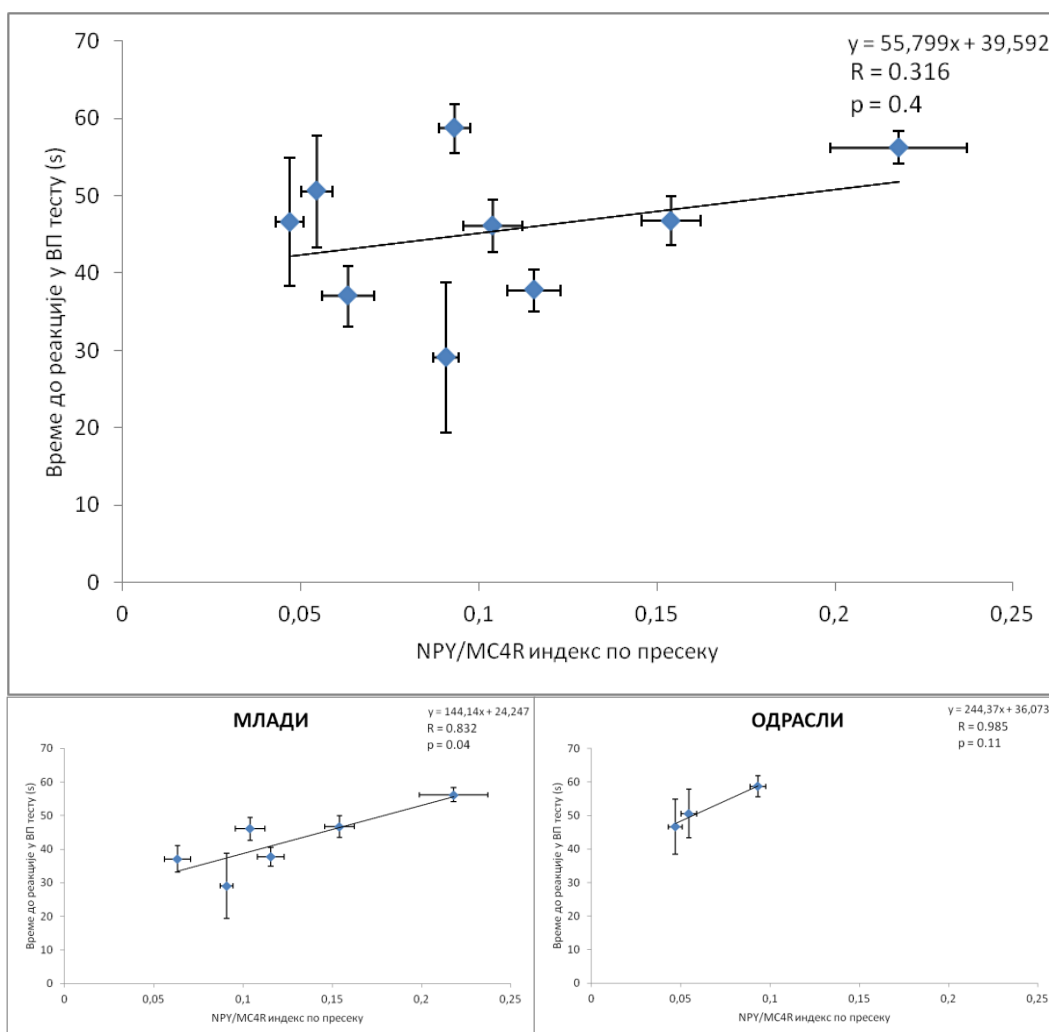
**Слика 4.135.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.135. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R у СА2/3 региону хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту код младих животиња ( $R = 0.857$ ,  $p = 0.03$ ).



**Слика 4.136.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса у денатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.136. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса у денатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да не постоји корелација између NPY/MC4R у денатном гирусу хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту.



**Слика 4.137.** Анализа међусобне повезаности NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту (горе), у зависности од старосне категорије животиња (доле).

На Слици 4.137. је представљена међусобна повезаност NPY/MC4R индекса на укупној површини пресека хипокампуса хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту. Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између NPY/MC4R на укупној површини пресека хипокампуса хипокампуса и времена до реакције у ВП тесту само код младих животиња ( $R = 0.832$ ,  $p = 0.04$ ).

## **5. ДИСКУСИЈА**

Чињеница да је повећана инциденца злоупотребе ААС-а која се уочава у последњих неколико деценија постала сложени друштвени проблем, изискује потребу да се ова проблематика сагледа са већег броја аспеката. Имајући у виду да неконтролисано коришћење анаболичких стероида подразумева и значајне промене у начину живота особа које примењују супрафизиолошке дозе ААС-а у циљу постизања бољих спортских резултата (код професионалних спортиста) или естетских стандарда дефинисаних актуелном перцепцијом антропометријских стандарда (део популације који није вођен спортским мотивима), циљ ове студије је био да се осим утврђивања основних бихевиоралних ефеката злоупотребе ААС-а, анализирају и потенцијални ефекти бројних претањих манифестација које се најчешће повезују са немедицинском употребом ААС-а. Као најчешће појаве чија се инциденца значајно повећава и повезује са употребом ААС-а се у литератури обрађују спровођење различитих протокола физичке активности и примена различитих (ригороозних) дијететских протокола (290). Посебан значај у овој студији је дат чињеници да, за разлику од околности које се везују за последње декаде 20. века, старосна структура људи са којима се везује злоупотреба ААС-а се помера према категорији средовечне, или чак старије популације (7). Како би резултати ове студије били репрезентативнији за процену бихевиоралних ефеката различитих протокола и фактора, примењиване су дозе ААС-а које одговарају најчешће описиваним у литератури (291). Из истог разлога, имајући у виду и чињеницу да се злоупотребе ААС-а (по правилу) не реализују кроз једнокоратне епизоде, већ обично подразумевају дуготрајне (вишемесечне) протоколе, такви третмани су изабрани и за испитивање бихевиоралних ефеката у овој студији.

У циљу испитивања међусобне повезаности поменутих фактора (супрафизиолошке дозе ААС-а, физичка активност, рестрикција уноса хране и старење) спроведено је истраживање које би омогућило да се утврде како појединачни, тако и удружени ефекти појединих протокола на промене понашања, базиране на резултатима анималног експерименталног модела. Посебан значај у овој студији је добило дефинисање квантитативних односа утицаја поменутих фактора на бихевиоралне манифестације.

Како би резултати ове студије добили на релевантности, карактеристике спроведених протокола су, у складу са подацима из литературе, дефинисане на тај начин да омогуће јасно уочавање бихевиоралних манифестација појединачних и комбинованих протокола у циљу испитивања бихевиоралних ефеката

супрафизиолошких доза ААС-а (НД, ТЕ), односно појава које су са њима често удружене.

Валидација квалитета спроведених протокола који су примењивани за утврђивање бихевиоралних ефеката је представљала веома значајну ставку у дизајну ове студије, имајући у виду да је циљ био избећи било какав драстичан приступ који би сам по себи за резултат имао значајне бихевиоралне промене. Тако је према критеријумима антропометријских карактеристика утврђено да је промена телесне масе која се дешавала током шестонедељног третмана, у највећој мери зависила од спроведеног протокола и/или старосне категорије животиња (Слика 4.34.). Очекивано, животиње млађе старосне доби су показале повећање телесне масе током шестонедељног протокола, док су старије животиње (18 месеци) имале непромењену телесну масу у смислу статистичке значајности. У поређењу са контролном групом младих животиња, сви третмани у којима је спровођен протокол физичке активности су за резултат имали статистички значајно мање повећање телесне масе. Интересантно је да примена два различита анаболика није имала истоветан резултат. Тако је хронична администрација НД-а довела до приближно истог повећања телесне масе у односу на контролу (што је у складу са подацима из литературе, 292), док је примена ТЕ-а за последицу имала статистички значајно мању телесну масу у поређењу са контролном групом након шест недеља третмана (нема података у литератури). Овакви подаци потврђују опште познату чињеницу да различити ААС показују и различите анаболичке, бихевиоралне и остале ефекте.

Међу остале ефекте ААС-а који потврђују валидност хроничног третмана супрафизиолошким дозама ААС-а се може убројати и утицај ААС-а на вредност хематокрита (Слика 4.35.). Очекивано, унутар физиолошког ранга серумских нивоа тестостерона који се региструје код младих животиња (~2.5 ng/ml, 293) суплементација ААС-а није довела до значајних промена вредности хематокрита. С друге стране, физиолошко смањење серумских концентрација тестостерона (293), које се манифестовало кроз статистички значајно мање вредности хематокрита у поређењу са категоријом млађих животиња, је било значајно афектирано (у смислу повећања вредности хематокрита) у групи старих животиња.

Валидност резултата добијених у бихевиоралним студијама након рестрикције уноса хране се може потврдити чињеницом да је, уз физиолошку реакцију смањивања

гликемије, концентрација глукозе у свим групама имала вредност од приближно 4 nmol/l (Слика 4.33.), што према подацима из литературе (294) потврђује да ниједна од бихевиоралних манифестација након дијететског протокола није била последица хипогликемијског ефекта.

Потврда да спроведени протокол калоријске рестрикције није значајно афектирао метаболизам глукозе се може видети и у вредностима инсулинемија (Слика 4.32.), које су у складу са претходно представљеним подацима у литератури (295). Једино значајно смањење концентрације инсулина у крви, након дијететског протокола, је уочено у групама старијих животиња. Утицај калоријске рестрикције на инсулинемију код животиња старије животне доби, какав је добијен у овој студији, је у складу са подацима из литературе (296), и може се објаснити променама у инсулинској резистенцији које настају са старењем (297).

Имајући у виду чињеницу да бројни подаци из литературе показују да се реакција на стрес, са аспекта хормонског статуса, најчешће процењује на основу промена серумских нивоа глукокортикоида (298), стресогени ефекат спроведених протокола у овој студији је анализиран одређивањем серумског нивоа кортизола (Слика 4.31). Иако је код глодара кортикостерон најзаступљенија врста глукокортикоида, серумски нивои кортизола се пропорционално мењају заједно са укупним нивоом глукокортикоида (299). Резултати добијени у овој студији показују да ниједан од спроведених протокола није, према критеријумима серумских концентрација кортизола, доводио до снажног стресогеног ефекта (Слика 4.31), тако да је одсуство најпоузданијег хуморалног индикатора стреса омогућило квалитетно и валидно поређење бихевиоралних ефеката спроведених протокола.

### **5.1. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене нивоа анксиозности код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране**

Са циљем опонашања околности које се срећу код злоупотреба ААС-а, у овој студији су животиње третиране супрафизиолошким дозама ААС-а (НД и ТЕ) током шест недеља. Хронична администрација ААС-а је довела до статистички значајног повећања степена анксиозности у свим седентерним групама код којих су

примењивани НД и ТЕ, према параметрима добијеним у тестовима који се стандардно користе за процену степена анксиозности на анималним моделима (ОП и УКЛ тест). Прва процена ефеката примењених анаболика је била заснована на анализи директних индикатора степена анксиозности у оба теста: време проведено у централној зони, као и број улазака у централну зону ОП теста, односно укупно време проведено у отвореним крацима, као и број улазака у отворене краке УКЛ теста. Примена НД-а је доводила до смањења УВЦЗ од приближно 50%, док је остварени ефекат смањења УВЦЗ у тестостеронској групи био незнатно већи (Слика 4.4.). Потврда јачег утицаја ТЕ на промену вредности овог параметра је представљена величином утицаја приказаног у Табели 4.4. Слична ситуација је уочена и када се ради о БУЦЗ, где је примена оба анаболика, такође, преполовила вредност овог параметра (Слика 4.5.), при чему је и овде ТЕ показао нешто већи утицај од НД-а (Табела 4.5.). Директни индикатори степена анксиозности који су анализирани у резултатима УКЛ теста су показали још драстичније изражен анксиогени ефекат, па је тако примена НД-а доводила до смањења вредности УВПОК за готово две трећине, док је ефекат администрације ТЕ-а имао за последицу смањење вредности овог параметра на свега 15% од вредности у контролној групи (Слика 4.8.). Далеко већи ефекат ТЕ-а на промену вредности овог параметра потврђује и величина утицаја представљена у Табели 4.8. Осим УВПОК, примена оба анаболика је смањила и БУОК, што је код администрације НД-а представљено смањењем од 50%, а код ТЕ-а од чак 75% (Слика 4.9.). Снажнији утицај ТЕ-а је потврђен преко вредности величине утицаја представљеној у Табели 4.9. У литератури је дато објашњење да се за процену степена анксиозности могу користити и индиректни параметри, попут параметара локомоторне активности и/или промена експлоративне активности, обзиром да обе групе параметара могу бити значајно афектиране променом степена анксиозности (244). Тако је хронична примена супрафизиолошких доза оба анаболика доводила до значајног смањења параметара локомоторне активности (УПП, %ВК и ПБК) у ОП тесту (Слика 4.1. - 4.3.), као и у УКЛ тесту (Слика 4.10. - 4.12.). Интересантно је да је и код параметара локомоторне активности анализираних у ОП тесту (Табела 4.1.-4.3.), као и у УКЛ тесту (Табела 4.10.-4.12.), већу величину утицаја остварила администрација ТЕ-а. Анализа експлоративне активности је у оба теста показала значајно смањење експлорације након шестонедељног третмана примене оба анаболика. Број усправљања у ОП тесту је након примене анаболика био готово двоструко мањи у поређењу са контролом (Слика 4.6.), уз нешто већу величину утицаја НД-а у поређењу са ТЕ-ом (Табела 4.6.). Сличан



ефекат на број усправљања је уочен и у УКЛ тесту (смањење БУ, Слика 4.13), уз напомену да је за разлику од БУ у ОП тесту, у овом случају већу величину утицаја показао ТЕ. Идентична ситуација је уочена и код друга два параметра експлотративне активности у УКЛ тесту (број нагињања и укупна експлоративна активност; Слика 4.14. и Слика 4.15.). Наиме, администрација оба анаболика је доводила до значајног смањења како броја нагињања, тако и УЕА, при чему је величина утицаја ТЕ-а била већа (Табела 4.14. и 4.15.), као и код свих претходно анализираних параметара у УКЛ тесту.

Резултати који се односе на примену ААС-а добијени у овој студији су у сагласности са подацима из литературе. Наиме, у студији коју су спровели Минкин и сарадници, примена различитих доза НД-а током 8 недеља третмена је доводила до повећања анксиозности у ОП тесту (300). Такође, описано је да примена НД-а код пацова у седентерним условима, за резултат има повећање степена анксиозности у УКЛ тесту (301). Хронична администрација НД-а у периоду адолесценције је доводила до повећања анксиозности, што је у сагласности са резултатима ове студије (302). Поред тога, описано је да примена различитих ААС-а (болденона и станозолола) доводи, такође, до значајног смањења времена проведеног у отвореним крацима, као и броја улазака у отворене краке УКЛ теста (303), што је у складу са анксиогеним ефектом примене високих доза ААС-а описаних у овој студији. Примена супрафизиолошких доза тестостерон пропионата код пацова је, такође, за резултат имала анксиогени ефекат (304). У литератури су описани ефекти примене анаболика, у смислу повећања анксиозности, и на другим животињским врстама, као и код животиња супротног пола (305, 306). С друге стране, постоје подаци и о анксиолитичком дејству ААС-а, али се они, могу објаснити применом мањих, физиолошких (или, често, супституционих) доза ААС-а (307). Сагласно описаним резултатима на анималним моделима, показано је да се злоупотреба ААС-а код људи доводи у везу са повећањем анксиозности (308).

Претпостављени механизми који доводе до штетних, неуротоксичних, ефеката примене ААС-а, који леже у основи различитих бихевиоралних манифестација, још увек нису довољно класификовани у литератури. Ипак, постоје докази о неуродегенеративном и неуротоксичном потенцијалу ових једињења, који се односе на поремећену синтезу и функцију неуротрофичних фактора, као и на повећану осетљивост централног нервног система на апоптотске стимулусе (309). Поред

класичног механизма дејства, преко андрогених рецепора, постоје и некласични и негеномски механизми дејства ААС-а (310). Познато је, такође, да ААС самостално могу доводити до апоптозе неурона, при чему је механизам неуротоксичности објашњен преко инозитол 3-фосфат рецептора типа 1 посредованог интрацелуларног калцијумског пута активације апоптозе (311). Орландо и сарадници су објаснили неуротоксични ефекат примене ААС-а преко механизма екситотоксичности (312). Ексититоксичност представља специфични пут активације неуронске смрти претераном стимулацијом глутаматних рецептора, која резултује повећањем концентрације калцијума унутар ћелије.

Анализирајући утицај старосне доби на параметре за процену степена анксиозности, у ОП и УКЛ тесту су добијени веома интересантни резултати. Тако су старије животиње проводиле значајно (готово двоструко) више времена у централној зони (Слика 4.4.) и истовремено су имале значајно већи број улазака у централну зону (Слика 4.5.) у ОП тесту. Имајући у виду да би се вредности ових параметара могле сматрати поузданом потврдом анксиолитичког ефекта старења, право изненађење представљају добијени резултати за директне индикаторе степена анксиозности у УКЛ тесту. Животиње старе 18 месеци су показале знатно мање време проведено у отвореним крацима (Слика 4.8.), као и смањен број улазака у отворене краке (Слика 4.9.), у поређењу са тромесечним животињама. Оваква дискрепанца би се једино могла објаснити различитом перцепцијом ризика која постоји у ова два теста. Наиме, старије (искусније) јединке препознају мању опасност у ОП тесту, обзиром да се ради о јединственом и затвореном простору, па се њихово понашање у таквим околностима може тумачити као анксиолитички ефекат старења. С друге стране, боравак у лавиринту за УКЛ тест подразумева уздигнут простор, без довољно сигурних (заграђених) страна, што старије животиње могу препознати као потенцијално већу опасност, те стога испољавају повећану анксиозност која се манифестује мањим временом боравка у отворним крацима. Наизглед контрадикторни резултати који се тичу ефекта старења према најпоузданијим индикаторима анксиозности добијеним у два основна теста за процену степена анксиозности (ОП и УКЛ) су у потпуној сагласности са претходно публикованим резултатима који се односе на утицај старења на директне параметре анксиозности (313). Међу индиректним показатељима степена анксиозности који су у форми локомоторне и експлоративне активности регистровани у ОП тесту, није било значајне разлике између животиња различите старосне доби,

осим код %ВК (Слика 4.2.). Такође, ни параметри локомоторне и експлоративне активности анализирани у УКЛ тесту, нису показивали значајан утицај старења на овај тип бихевиоралних манифестација. Међутим, оно што као бихевиорална реакција старијих животиња показује недвосмислену правилност је анксиогени ефекат узрокован применом ААС-а. Такав ефекат се уочавао у ОП тесту кроз смањење УВЦЗ (Слика 4.4.), као и кроз драстично смањење БУЦЗ (Слика 4.5.), при чему је код оба параметра администрација ТЕ-а имала знатно већу величину утицаја (Табела 4.4. и 4.5.).

Резултати ове студије су у сагласности са претходно публикованим резултатима који говоре о различитим ефектима старења који се исказују кроз различите бихевиоралне обрасце током извођења ОП теста (314). Анксиогени ефекат старења је потврђен и у студији реализоваој у УКЛ тесту, са додатном интервенцијом у смислу понављања овог теста (315). Обзиром да у литератури не постоје подаци који би истовремено анализирали ефекте примене ААС-а и старења, једино објашњење које се може понудити за значајно већи анксиогени ефекат анаболика код старијих животиња је чињеница да појединачно и ААС и старење узрокују повећање анксиозности, па прилично логично изгледа закључак да постоји могућност адитивног ефекта ова два фактора.

Иако је протокол пролонгиране физичке активности (спровођен кроз шестонедељни тренинг пливања) био примењен, из објективних разлога, само код млађих животиња (старије животиње нису биле способне да поднесу овакав интензитет и трајање физичке активности), резултати добијени у овој студији јасно потврђују анксиолитички ефекат оваквог протокола физичке активности. Директни индикатори анксиозности добијени у ОП тесту показују да је физичка активност доводила до повећања УВЦЗ (Слика 4.4.), без значајног повећања БУЦЗ (Слика 4.5.), што је у сагласности са чињеницом да је и величина утицаја вежбања била значајно већа код УВЦЗ (Табела 4.4.) у односу на БУЦЗ (Табела 4.5.). Такође, физичка активност је доводила и до повећања %ВК (Слика 4.2.), без значајног утицаја на друга два параметра локомоторне активности у ОП тесту. Међутим, спроведени протокол физичке активности је значајно повећавао експлоративну активност (изражено кроз БУ, Слика 4.6.). Снажан анксиолитички ефекат физичке активности изражен кроз повећање експлоративне активности је потврђен величином утицаја на овај параметар, која је била већа од величине утицаја оба примењена анаболика (Табела 4.6.).

Анксиолитички ефекат физичке активности у ОП тесту се манифестовао и кроз смањење негативних ефеката изазваних применом ААС-а на локомоторну активност (Слика 4.1. - 4.3.), експлоративну активност (Слика 4.6.), као и кроз чињеницу да је у комбинованим групама вредност директних индикатора анксиозности (УВПЦЗ и БУЦЗ, Слика 4.4. и Слика 4.5.) враћао до нивоа контролних вредности. Сличан, анксиолитички, ефекат протокола физичке активности је уочен и код директних индикатора анксиозности у УКЛ тесту. Физичка активност је доводила до повећања УВПОК (Слика 4.8.) и БУОК (није статистички значајно, Слика 4.9.). Користан ефекат физичке активности се јасно манифестовао кроз вредности оба наведена параметра у групама где је вежбање спровођено симултано са администрацијом анаболика, и у којима је пролонгирани тренинг доводио до значајног повећања вредности ових параметара у поређењу са групама где су анаболици примењивани у седентерним условима. Иако пролонгирана физичка активност није значајно повећавала параметре локомоторне активности у УКЛ тесту у односу на контролну групу (Слика 4.10. - 4.12.), анксиолитички ефекат вежбања се јасно манифестовао кроз повећање локомоторне активности у комбинованој групи са ТЕ-ом. Најпозданија потврда анксиолитичког ефекта пролонгиране физичке активности се манифестовала кроз повећање експлоративне активности уочено кроз повећање вредности сва три параметра експлоративне активности (Слика 4.13. - 4.15.), у односу на контролну групу. Такође, користан ефекат вежбања се манифестовао и кроз смањење негативног утицаја оба примењена анаболика на експлоративну активност, што је уочено у групама са комбинованом применом ААС и програма физичке активности.

Резултати добијени у овој студији, који се односе на анксиолитички ефекат физичке активности, су у сагласности са подацима из литературе. Смањење анксиозности које је настало као последица протокола физичке активности спроведене у форми пливачког тренинга код пацова (316) је у складу са резултатима наше студије. Поред тога, описано је да и други типови физичке активности, попут трчања на покретној траци или ротирајућем точку могу, такође, довести до анксиолитичког ефекта код мишева (317) и пацова (318).

Уопштено, програмирани програм физичке активности доводи до физиолошких промена и адаптација у организму, које се односе на смањење активности симпатичког нервног система, као и смањења реактивности хипоталамо-хипофизно-адреналне осовине (319). Студије на анималним моделима показују да након спровођења

протокола аеробне физичке активности долази до повећања синтезе и промена у метаболизму серотонина (320, 321). Други претпостављени механизам анксиолитичког ефекта физичке активности представља повећање нивоа централних и периферних ендогених опиоида (322). Такође, повећање иРНК за BDNF у хипокампусу, након пролонгираног протокола физичке активности (323) се може сматрати одговорним за повећање активности серотонергичког система (324). Такође, студије на животињама су показале да физичка активност доводи до повећања неурогенезе у хипокампусу (325). Наведени механизми могу бити у основи анксиолитичког ефекта физичке активности, обзиром да резултати бројних студија на анималним моделима, као и резултати клиничких студија, показују протективни ефекат према патофизиолошким процесима који се налазе у основи повећања анксиозности (326).

Рестрикција уноса хране (за 75%) у трајању од 48 сати је у ОП тесту доводила до значајног смањења вредности директних индикатора анксиозности у свим групама. Уочено је смањење УВПЦЗ (Слика 4.4.) које је варирало од групе до групе између 40 и 70%. Такође, и број улазака у централну зону ОП је у свим групама био смањен у просеку за исти проценат (Слика 4.5.). Анксиогени ефекат рестрикције уноса хране изражен кроз вредност ова два параметра је уочен у обе старосне категорије, уз напомену да је ефекат био израженији код старих животиња. Снажан ефекат гладовања на два наведена директна индикатора анксиозности је потврђен кроз чињеницу да је у оба случаја величина утицаја гладовања била далеко већа у односу на све друге параметре који су имали утицај на промену ових параметара (Табела 4.4. и 4.5.). Важно је напоменути да је и у условима рестрикције уноса хране остао очуван исти тренд, уочен код ситих животиња - да хронична примена ААС-а доводи до значајног смањења вредности УВПЦЗ и БУЦЗ, у односу на контролну групу. Треба напоменути да током гладовања једино у седентерним групама које су примале ААС-е није уочено смањење вредности ова два параметра код старих животиња. Објашњење за ову појаву треба тражити у чињеници да је администрација оба анаболика код старих животиња доводила до веома драматичног смањења УВПЦЗ и БУЦЗ, тако да ефекат гладовања на вредност ова два параметра једноставно није било могуће уочити. Готово идентичан утицај гладовања у ОП тесту је уочен и када се говори о локомоторној активности. Сва три параметра за квантификацију локомоторне активности у ОП тесту су била статистички значајно смањена након рестрикције уноса хране (Слика 4.1. - 4.3.). Доминантан утицај режима рестрикције хране на испољену локомоторну активност у

ОП тесту је потврђен чињеницом да је величина ефекта гладовања била далеко већа од ефекта свих других фактора који су утицали на промену локомоторне активности (Табела 4.1. - 4.3.). Смањење локомоторне активности након рестрикције уноса хране је уочено у обе старосне категорије. Попут директних индикатора анксиозности, и код параметара локомоторне активности се уочава потврђивање обрасца уоченог код ситих животиња по коме су седентерне групе третиране ААС-има имале далеко мању локомоторну активност, уз напомену да је у комбинованим групама, програм физичке активности доводио до значајног повећања сва три параметра локомоторне активности у поређењу са седентерним анаболичким групама. И експлоративна активност је, са изузетком седентерне нандролонске групе и комбиноване тестостеронске групе (Слика 4.6.) била значајно смањена, потврђујући анксиогени ефекат рестрикције уноса хране. Смањење експлоративне активности је, такође, уочено у обе старосне групе животиња, уз наглашено већи ефекат на експлоративну активност у групи старијих животиња. Попут свих претходно анализираних параметара из ОП теста, и након рестрикције уноса хране је остало уочљиво статистички значајно испољавање (у форми смањења) експлоративне активности у седентерним анаболичким групама код младих животиња. Такав ефекат се није могао уочити код групе старијих животиња, обзиром да претходно анаболицима изазвано енормно смањење експлоративне активности није оставило довољно простора за уочавање таквог ефекта након рестрикције уноса хране. Снажан утицај режима гладовања на смањење експлоративне активности у ОП тесту је потврђен чињеницом да је величина ефекта гладовања била значајно већа од величине утицаја свих осталих фактора (Табела 4.6.). Рестрикција уноса хране је показала и значајан анксиогени ефекат према параметрима УКЛ теста. Директни индикатор анксиозности - УВПОК је након 48 сати смањеног уноса хране био значајно смањен у свим групама, осим у оним групама где је већ претходно имао минималне вредности - обе седентерне групе третиране анаболицима, у обе старосне категорије (Слика 4.8.).

Очигледно је да је проценат смањења УВПОК био већи у свим групама код којих је спровођен програм физичке активности, што је сигурно повезано са чињеницом да су ове групе у контролним условима (сите животиње) имале највеће вредности овог параметра. Тај корисни, анксиолитички ефекат вежбања се уочавао, како у поређењу групе која је вежбала у односу на контролу, тако и у комбинованим групама у поређењу са седентерним групама које су примале ААС-е. Готово истоветна ситуација је уочена и када се ради о другом круцијалном индикатору анксиозности у

УКЛ - БУОК (Слика 4.9.). И код овог параметра је, без разлика између различитих старосних група, долазило до највећег смањења БУОК код оних животиња које су имале највеће вредности овог параметра у контролним условима. Смањење БУОК није уочено у оним групама код којих је шестонедељни третман ААС-има већ довео до претходно великог смањења вредности овог параметра. Интересантно је да се и код овог параметра поновила ситуација да су седентерне групе третиране ААС-има (код млађе категорије животиња) и даље имале значајно мању вредност овог параметра, како у односу на групу са вежбањем, тако и у односу на контролну групу.

Параметри локомоторне активности су, такође, били афектирани рестрикцијом уноса хране (Слика 4.10. - 4.12.). Интересантно је да се анксиогени ефекат гладовања, изражен кроз смањење локомоторне активности, статистички значајно јављао само у групама које нису примале ААС-е (обе контролне групе и група са вежбањем). Објашњење за одсуство статистички значајног смањења локомоторне активности у групама третираним ААС-има се може наћи у чињеници да је администрација ААС-а током шест недеља већ довела до великог смањења локомоторне активности, тако да додатни анксиогени ефекат изазван гладовањем није могао бити статистички значајан. Треба истаћи интересантну чињеницу да је администрација ТЕ-а имала значајно већи ефекат (испољен у виду смањења параметара локомоторне активности) у односу на еквимоларне дозе НД-а, као и податак да се ова разлика уочавала и у контролним условима (сите животиње), и након 48 сати смањеног уноса хране (Табела 4.10. - 4.12.). Готово идентична ситуација, када се ради о утицају гладовања се уочава и када је реч о експлоративној активности (Слика 4.13.-4.15.). Тако је рестрикција уноса хране доводила до значајног смањења сва три параметра експлоративне активности само у оним групама у којима је пре гладовања уочаван висок степен експлорације, док је значајно смањење експлоративне активности изостало у групама где је шестонедељна администрација ААС-а доводила до значајног смањења експлоративне активности пре започињања протокола изгладњивања. За разлику од ситуације уочене код ситих животиња, након рестрикције уноса хране, се показало да је администрација ТЕ-а доводила до значајно већег смањења експлоративне активности у односу на НД-а.

Упоређујући резултате ове студије са подацима из литературе, мора се приметити да не постоји протокол рестрикције уноса хране који омогућава право поређење са резултатима добијеним у овој студији. Описано је да рестрикција хране преко ноћи, што је иначе била стандардна пракса за све групе животиња у овој студији

(у контролним условима) показала анксиолитички ефекат у УКЛ тесту (327). Такође, постоје подаци да потпуна рестрикција хране у трајању од 48 сати може имати анксиолитички ефекат (328), са неким посебним модалитетима који укључују одсуство промена у експлоративној активности (329). Слична студија, са тоталном рестрикцијом уноса хране у трајању од 48 сати је показала "индуковани" анксиолитички ефекат гладовања. Наиме, након 48 сати потпуне обуставе уноса хране, животињама је на средину арене постављена одређена количина хране (тест је изведен у арени сличној ОП тесту) и детектован је повећан број улазака, као и време порведено у центру арене, што је тумачено као анксиолитички ефекат (329). Оваква интервенција се не може сматрати репродуцибилном за анализу утицаја гладовања на анксиозност. Наиме, у свим програмима који подразумевају рестрикцију уноса хране постоји евидентан конфликт између два фактора који имају супротне последице - природна жеља животиња за узимањем хране, што за последицу има понашање које се у литератури описује као *food seeking behavior*, и страха изазваног новим и непознатим окружењем. Жеља за узимањем хране ће довести до тога да животиња постане мобилнија, чиме се ствара слика анксиолитичког ефекта, док ће страх од непознате средине довести до мање мобилности животиње, што ће имати све манифестације анксиогеног ефекта. Имајући у виду да у овој студији није примењивана потпуна рестрикција уноса хране, већ редукција од 75% од стандардног уноса хране, чини се да ова мала разлика у калоријском уносу (која разликује овај протокол од претходно поменутих) делимично смањује *food seeking behavior* (који се манифестује као анксиолитички ефекат), па је зато са оваквим протоколом више испољен анксиогени ефекат изазван страхом од непознатог окружења.

У покушају да се успостави каузална веза између фактора за које се поуздано зна да учествују у регулацији уноса хране, и уз то имају потврђене непосредне бихевиоралне ефекте, у овој студији је анализиран утицај различитих протокола (примена ААС-а и протокола физичке активности) и појединих фактора са потврђеним утицајем на понашање (старење и гладовање) на серумске концентрације  $\alpha$ MSH (Слика 4.30.) и NPY (Слика 4.29.), као и евентуалне повезаности промена ова два фактора са бихевиоралним манифестацијама (у конкретном случају са променом степена анксиозности). Серумске концентрације  $\alpha$ MSH нису показале да корелирају са основним индикатором степена анксиозности (укупно време проведено у отвореним крацима УКЛ теста), како код младих тако и код старијих животиња (Слика 4.107.).



За разлику од NPY, однос између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и промене степена анксиозности у литератури није наведен. Супротно томе, серумске концентрације NPY су показале веома снажну позитивну корелацију са УВПОК ( $R=0.978$ ,  $p=0.0004$ ), нарочито у категорији животиња млађе животне доби (Слика 4.76.). Иако у литератури не постоје директни подаци о повезаности серумских концентрација NPY и промене степена анксиозности, резултати студија који показују да продужена социјална изолација може резултовати повећањем анксиозности (330), као и да се након таквих третмана може повећати серумски ниво NPY (331), упућују на претпоставку да анксиозношћу индуковано повећање концентрације NPY у крви може бити компензаторни, анксиолитички ефекат. Сличан ефекат је описан и код људи, и објашњен је симултаним ослобађањем катехоламина и NPY (332). Снажан утицај серумских концентрација NPY на испољавање анксиозности уочен у овој студији, намеће потребу да се направи прецизнија анализа утицаја протокола који су спроведени у овом истраживању на ниво NPY у крви. Иако је добро познато и у литератури описано да гладовање доводи до повећања серумских нивоа NPY (333), мање пажње је обрађено на чињеницу да је оваква промена временски лимитирана, и да се након одређеног времена концентрација NPY у серуму током гладовања смањује. Тако су резултати добијени у овој студији у складу са претходно описаним ефектом продужене калоријске рестрикције, који говоре о смањењу одговора лептина, галанина и NPY у функцији времена (334). И анксиолитички ефекат физичке активности се може бар делимично објаснити добијеним повећањем серумских концентрација NPY, што је у складу са подацима из литературе који говоре о повећању серумских концентрација NPY након спровођења различитих протокола физичке активности (335, 336, 337). Значајан негативни утицај на серумске концентрације NPY које корелирају са повећањем степена анксиозности је потврђен и као последица физиолошког процеса старења, како на анималним моделима, тако и у клиничким студијама (338). Најновији подаци који се могу повезати са утицајима појединачних фактора примењиваних у овој студији на серумске концентрације NPY, и њиховом последичном ефекту на степен анксиозности, се односе на смањење серумског NPY изазвано применом ААС-а (288).

Обзиром да је из литературе познато да у хипокампусу, региону мозга одговорном за контролу понашања, постоји значајан садржај NPY, у овој студији је испитиван и утицај свих наведених фактора и протокола на број NPY имунореактивних неурона у различитим регионима хипокампуса. Показало се да пролонгирана физичка

активност (која је за резултат имала анксиолитички ефекат) доводи до повећања, док супрафизиолошке дозе оба ААС-а узрокују смањење броја NPY имунореактивних неурона (Слика 4.29.), и за резултат имају јасан анксиогени ефекат. Испитујући међусобну повезаност броја NPY имунореактивних неурона и круцијалног индикатора анксиозности (укупно време проведено у отворени крацима УКЛ), показало се да постоји веома јака позитивна корелација између броја NPY имунореактивних неурона у хипокампусу и анксиолитичког ефекта. Ова позитивна корелација је уочена у СА1 региону ( $p = 0.001$ , Слика 4.48.), СА2/3 ( $p = 0.002$ , Слика 4.49.), денатном гирису ( $p = 0.009$ , Слика 4.50.), као и на укупној површини пресека хипокампуса ( $p = 0.002$ , Слика 4.51.). Резултати који се тичу односа броја NPY имунореактивних неурона у хипокампусу и промене степена анксиозности (у смислу анксиолитичког утицаја NPY) добијени у овој студији су у складу са подацима из литературе (50). Иако се ефекти NPY релизују уз учешће већег броја рецептора (Y 1, 2, 4, 5, 50) претпоставка је да се највећи део анксиолитичког ефекта NPY у хипокампусу остварују стимулацијом Y1 рецептора (55). Како је у литератури описано да у хипокампусу постоји и значајан садржај MC4 рецептора (339), у овој студији је испитиван утицај спроведених протокола и на експресију ових рецептора, имајући у виду да се и  $\alpha$ MSH и NPY везују за ове рецепторе, као и да MC4 рецептори учествују у регулацији понашања (340). Резултати ове студије показују да протокол пролонгиране физичке активности доводи до смањене експресије MC4 рецептора (Слика 4.40., Слика 4.41. и Слика 4.43.), док хронична администрација ААС-а доводи до повећања броја MC4 рецептора у СА1 региону (Слика 4.40), као и на нивоу укупног пресека хипокампуса (Слика 4.43.). Анализирајући међусобну повезаност броја MC4 рецептора и најпоузданијих индикатора за процену степена анксиозности (УВПОК - Слика 4.79. и УВПЦЗ - Слика 4.83.), уочена је снажна негативна корелација у СА1 региону хипокампуса ( $R=0.717$ ,  $p = 0.03$ , за УВПОК и  $R=0.887$ ,  $p = 0.02$ , за УВПЦЗ). Овакав резултат је у складу са подацима из литературе који потврђују да блокада MC4 рецептора доводи до анксиолитичког ефекта (77, 341). Како је имунохистохемијско испитивање показало да је експресија MC4 рецептора, као и NPY имунореактивних неурона, највећа у слојевима хипокампуса који окружују пирамидални слој ћелија, у овој студији је испитиван и утицај спроведених протокола на нумерички однос између броја NPY имунореактивних неурона и броја MC4 рецептора, као и међусобна повезаност овог индекса (NPY/MC4 индекс) са појединим бихевиоралним манифестацијама, укључујући и промене степена анксиозности. Ова анализа је показала да у свим

анализираним регионима хипокампуса однос броја NPY имунореактивних неурона и броја MC4 рецептора показује снажну и позитивну корелацију са главним индикатором анксиозности (УВПОК). Ова позитивна корелација је уочена у СА1 региону (Слика 4.114.,  $R = 0.844$ ,  $p = 0.004$ ), СА2/3 (Слика 4.115.,  $R = 0.875$ ,  $p = 0.001$ ), дентатном гирусу (Слика 4.116.,  $R = 0.996$ ,  $p = 0.05$ , код одраслих животиња), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.117.,  $R = 0.880$ ,  $p = 0.001$ ). Слични резултати су добијени и анализом повезаности односа броја NPY имунореактивних неурона и броја MC4 рецептора са УВПЦЗ у ОП тесту. Анализа показије да у свим анализираним регионима хипокампуса постоји снажну и позитивну корелацију са главним индикатором анксиозности у ОП тесту (УВПЦЗ). Јака, позитивна корелација је уочена у СА1 региону (Слика 4.118.,  $R = 0.674$ ,  $p = 0.04$ ), СА2/3 (Слика 4.119.,  $R = 0.915$ ,  $p = 0.01$ , код младих пацова), дентатном гирусу (Слика 4.120.,  $R = 0.867$ ,  $p = 0.03$  код младих и  $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$  код старих животиња), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.121.,  $R = 0.677$ ,  $p = 0.05$ ).

## **5.2. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене нивоа депресивности код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране**

Анализа ефеката примењених протокола и претходно задатих фактора (гладовање и различита страосна доб) на испољавање депресивности је спроведена у једном од два најчешће коришћена теста за евалуацију депресивности - ТКР тест. Алтернативни тест, тест форсираног пливања (који се такође често користи у литератури) је избегнут у овој студији обзиром да је код неколико група (из категорије младих животиња) пролонгирани протокол физичке активности спровођен кроз програм пливања, па би сама та чињеница могла да супстанцијално детерминисе резултате добијене у бихевиоралним истраживањима. Испитивање утицаја описаних протокола и претходно детерминисаних фактора на промене степена депресивности је евалуирано на основу стандардних параметара ТКР теста (време до појаве прве имобилности, број епизода имобилности, укупно трајање имобилности и просечно трајање епизоде имобилности).

Хронична примена супрафизиолошких доза ААС-а није доводила до значајних промена ВППИ у контролним условима (Слика 4.17.). Такође, спровођење наведених

протокола није имало значајног утицаја ни према критеријумима БЕИ (Слика 4.18.). Хронична администрација супрафизиолошких доза ААС-а је узроковала значајан продепресантни ефекат у поређењу са групом где је споровођен протокол физичке активности (Слика 4.19.), према вредности укупног трајања имобилности у току шестоминутног тестирања. Истоветан, продепресантни, ефекат међу параметрима за процену степена имобилности у ТКР тесту је уочен на основу вредности ПТЕИ, где су оба анаболика у седентерним условима доводила до повећања ПТЕИ, у поређењу са групом где је споровођен протокол физичке активности (Слика 4.20.).

Животиње старије животне доби су показале скраћење ВППИ, уз истовремено продужење вредности овог параметра у тестостеронској групи (Слика 4.17.). Доминантни ефекат старења на вредност овог параметра потврђује податак о величини утицаја старења представљен у Табели 4.17. Иако се према стандардним тумачењима из литературе овакав ефекат ААС-а може тумачити као антидепресантни (252), овакав ефекат ААС-а забележен у овој студији се пре може приписати изразито јаком анксиогеном ефекту након администрације ТЕ-а који резултира повећањем мобилности анксиозне животиње у нефизиолошким условима, што потврђују резултати добијени у тестовима за процену анксиозности (Слика 4.8.). Овакво тумачење, према коме појачана анксиозност може маскирати (или направити инверзним) класично тумачење резултата ТКР теста је претходно описана у литератури (342). И смањење БЕИ уочено у категорији старијих животиња изазвано администрацијом НД-а се, такође, може приписати доминантном анксиогеном ефекту ААС-а, чији се интензитет може понекад тумачити као антидепресантни ефекат (342).

Иако у контролним условима животиње старије доби показују продужење УВИ (што се може сматрати за потврду продепресантног ефекта старења), смањење УВИ узроковано применом оба анаболика у овој студији се пре може сматрати манифестацијом појачане анксиозности, него антидепресантним ефектом супрафизиолошких доза ААС-а. Потврда ове тезе се добија увидом у величину појединачних утицаја различитих фактора на УВИ (Табела 4.19), где се јасно уочава да је ефекат старења 20-100 пута већи од ефекта примене оба анаболика, чиме се искључује могућност да ААС имају иоле значајан антидепресантни ефекат код старијих животиња. Слична ситуација се уочава и анализом ПТЕИ (Слика 4.20.). И вредности овог параметра потврђују да старење, само по себи, има продепресантни ефекат, који се смањује применом ААС-а (ТЕ). Ипак, и овде је јасно да на основу

величине утицаја различитих фактора на ПТЕИ, хронични третман ААС-има (који има 10-20 пута мањи утицај од старења) не може да направи тако велики антидепресантни ефекат, већ је уочено смањење ПТЕИ пре свега последица испољавања повећане анксиозности у ТКР тесту, што је у складу са резултатима претходно представљеним при анализи промена степена анксиозности.

Резултати који говоре о утицају старења на степен депресивности добијени у овој студији, нису у потпуној сагласности са подацима из литературе. Наиме, према расположивим подацима, старење није имало продепресантни ефекат према параметрима ТКР теста, али је овакав ефекат потврђен у алтернативном тесту који се користи за процену депресивности (*sucrose preference test*, 343).

Иако протокол пливања није доводио до значајних промене ВППИ, БЕИ (Слика 4.17 и 4.18.) физичка активност је узроковала статистички значајно смањење УВИ (Слика 4.19), као и ПТЕИ (Слика 4.20.), што представља најдиректнију потврду антидепресантног ефекта аеробне физичке активности. Овакви закључци су у складу са подацима из литературе који се односе на резултате клиничких студија и студија добијеним на анималним моделима (344, 345). Антидепресантни ефекат пролонгиране физичке активности се потврђује и резултатима добијеним у комбинованим групама, који показују да је хронично вежбање статистички значајно смањило вредност УВИ. Чињеница да је ефекат вежбања био довољно снажан да анулира продепресантни ефекат хроничне администрације ААС-а се може видети на основу величине утицаја физичке активности, поређењу са НД-ом и ТЕ-ом, представљеном у Табели 4.19.

Утицај гладовања на ВППИ је био статистички значајан (испољен у форми продужења овог параметра) искључиво у групама са хроничном администрацијом ААС-а (Слика 4.17.). Сличан ефекат је уочен и у тестостеронској групи за вредност БЕИ параметра (Слика 4.18.). Као што је претходно наведено, промене вредности оба параметра се пре могу тумачити снажним испољавањем анксиогеног ефекта који настаје као последица хроничне примене ААС-а, него као антидепресантни ефекат администрације ААС-а. Чињеница да се на вредност параметра ВППИ више одражава степен анксиозности него степен депресивности је поткрепљена податком да су резултати за вредност овог параметра у потпуности идентични са резултатима добијеним у тестовима за процену степена анксиозности. Валидност примене параметара ТКР теста за процену степена депресивности уочавамо анализом УВИ која

показује продепресантни ефекат хроничне примене НД-а у поређењу са групом где је спровођен протокол вежбања, као и на основу повећања ПТЕИ у обе седентерне групе третиране анаболицима (није статистички значајно). Обзиром да у литератури не постоји довољно података о утицају краткотрајног гладовања на степен депресивности, резултате ове студије можемо упоређивати само са подацима који се односе на ефекте дуготрајних дијета. Тако је десетодневна калоријска рестрикција показала антидепресантни ефекат код глодара (98), што је у складу са бројним подацима из клиничких студија (96).

Анализирајући могућу међусобну повезаност хуморалних фактора који су укључени у регулацију уноса хране, орексигена (NPY) и анорексигена ( $\alpha$ MSH) са бихевиоралним манифестацијама депресивности, у овој студији је испитиван утицај серумских концентрација NPY и  $\alpha$ MSH на главни параметар за процену степена депресивности (укупно време имобилности у ТКР тесту). Анализа показује да су промене серумске концентрације NPY настале након спровођених протокола у овој студији показивале снажну позитивну корелацију са УВИ (Слика 4.77.,  $R=0.536$ ,  $p = 0.04$ ), и то при серумским вредностима NPY од 50-150 pg/ml, само код животиња старије животне доби, па се и продепресантни ефекат повећаних концентрација NPY манифестовао само код старих животиња. Интересантно је да је у категорији младих животиња добијен супротан одговор - слаба негативна корелација, чак и при вредностима од приближно 250 pg/ml (Слика 4.77). Ови резултати су у складу са подацима из литературе који говоре да је ниво NPY у плазми био значајно смањен код пацијената са депресивним поремећајем који се манифестовао кроз покушај суицида (346), као и да су се након одговарајуће терапије антидепресивима повећавале концентрације NPY у мозгу (347). Истовремено, концентрације серумског  $\alpha$ MSH, које су се мењале у зависности од врсте спроведених протокола су показивале снажну позитивну корелацију са УВИ (Слика 4.108.,  $R = 0.750$ ,  $p = 0.008$ ). Овако потврђен продепресантни ефекат изазван повећањем серумских концентрација  $\alpha$ MSH је представљао збирну карактеристику животиња обе старосне доби. Иако у литератури не постоје подаци који би објаснили директну везу између серумских концентрација  $\alpha$ MSH и степена депресивности, валидност резултата добијених у овој студији потврђују клиничка искуства према којима примена антагониста MC4 рецептора даје добре резултате у третману депресивног синдрома (340).

Интересантно је да спроведени протоколи нису имали искључиво последице само на серумске вредности на NPY. Тако су промене серумске концентрације NPY (повећање након пролонгиране физичке активности и смањење након примена AAC-a) имале снажну позитивну корелацију са бројем NPY имунореактивних неурона у СА1 региону (Слика 4.72.,  $R=0.907$ ,  $p=0.0007$ ), СА2/3 региону (Слика 4.73.,  $R=0.912$ ,  $p=0.0006$ ), дентатном гирусу (Слика 4.74.,  $R=0.802$ ,  $p=0.009$ ), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.75.,  $R=0.909$ ,  $p=0.0007$ ). Управо су промене броја NPY имунореактивних неурона у хипокампусу изазване различитим спроведеним протоколима показале значајну повезаност са параметрима за процену депресивности. Тако је број NPY имунореактивних неурона у хипокампусу показао снажну негативну корелацију у готово свим регионима хипокампуса: СА2/3 региону (Слика 4.57.,  $R=0.717$ ,  $p=0.003$ ), дентатном гирусу (Слика 4.58.,  $R=0.721$ ,  $p=0.003$ ), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.59.,  $R=0.671$ ,  $p=0.05$ ), чиме се потврђује снажан антидепресантни ефекат NPY у хипокампусу. Резултати ове студије су у сагласности са подацима из литературе који показују да је повећање броја имунореактивних NPY неурона у хипокампусу за резултат имало антидепресантни ефекат (348, 288).

Имајући у виду податке из литературе да број MC4 рецептора у хипокампусу може бити повезан са различитим променама у понашању (349), укључујући и промене степена депресивности (350), у овој студији смо испитивали утицај промене броја MC4 рецептора у хипокампусу узроковане различитим спроведеним протоколима на параметре за процену степена депресивности. Обзиром да је пролонгирана физичка активност доводила до смањења броја MC4 рецептора у хипокампусу, док је третман AAC за резултат имао повећање MC4 рецептора у хипокампусу (Слика 4.40. - 4.43.), испитиван је утицај ефеката спроведених протокола на промене степена депресивности које могу бити посредоване алтерацијама у броју MC4 рецептора у хипокампусу. Иако број MC4R имунореактивних неурона у свим анализираним регионима хипокампуса није показивао значајну корелацију са основним параметром за процену степена депресивности у ТКР тесту, код животиња млађе животне доби (регистрован је слаб антидепресантни ефекат) уочена је јасна повезаност између ова два параметра код животиња старије доби, са супротним ефектом који се најснажније испољавао у дентатном гирусу (Слика 4.89.,  $R = 0.998$ ,  $p = 0.03$ ) и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.90.,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.007$ ). Повезаност функције MC4 рецептора и

степен депресивности је потврђена постизањем антидепресантног ефекта уз примену антагониста MC4 рецептора, што је било повезано са променама серотонергичке трансмисије (351).

Полазећи од чињенице да NPY представља природни супстрат који се везује за MC4 рецепторе (нарочито у хипоталамусу), и претходно добијених података да степен експресије NPY и MC4 рецептора у хипокампусу може имати појединачно значајне утицаје на промене степена депресивности, анализирали смо утицај квантитативног односа броја NPY и MC4R имунореактивних неурона у хипокампусу на параметре за процену степена депресивности добијене у ТКР тесту. Интересантно је да постоје значајне регионалне разлике у хипокампусу које су се битно одражавале на повезаност NPY/MC4R индекса са променом депресивности. Тако у СА1 региону квантитативни однос броја NPY и MC4R имунореактивних неурона није показао значајну повезаности са УВИ (Слика 4.122.). Насупрот томе, NPY/MC4R индекс је показао снажну негативну корелацију са УВИ у СА2/3 региону (Слика 4.123.,  $R = 0.634$ ,  $p = 0.04$ ), дентатном гирусу (Слика 4.124.,  $R = 0.701$ ,  $p = 0.03$ ), док је највећа повезаност уочена на укупној површини пресека (Слика 4.125.,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ ). Резултати овакве анализе показују да до испољавања антидепресантног ефекта у који су укључени претходно описани механизми може доћи услед повећања броја NPY имунореактивних неурона и/или смањења експресије MC4R у прецизно дефинисаним регионима хипокампуса. За претпостављено објашњење антидепресантног ефекта се може узети и могућност да дисбаланс између количине NPY и везујућих места на MC4R у хипокампусу који настаје услед „вишка” NPY или „мањка“ MC4R за резултат има постојање значајних количина NPY у хипокампусу који могу остварити интеракције са другим системима (габаергички, серотонергички, допаминергички...) који су одговорни за контролу степена депресије у хипокампусу.

### **5.3. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене когнитивних функција код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране**

Испитивање утицаја примењених протокола и претходно дефинисаних фактора (старење и гладовање) на промене когнитивних функција је спроведено на основу анализе два стандардна параметра за евалуацију просторног памћења који су били



изражени кроз проценат скраћења времена између два тестирања (Слика 4.22.) или проценат скраћења пређеног пута између два узастопна тестирања (Слика 4.23.). Резултати ове студије су показали да је примена обе методологије била веома значајна за формирање комплетне слике о утицају примене ААС-а, физичке активности, рестрикције уноса хране и старосне доби на показатеље промена у просторном памћењу.

Шестонедељна администрација супрафизиолошких доза ААС-а је доводила до смањења процента скраћења времена (смањења когнитивних функција) између два узастопна тестирања, са статистички значајним ефектом у нандролонској седентерној групи код животиња млађе старосне доби. Смањење когнитивних функција код животиња старије животне доби према овом параметру Барнсовог теста је било уочљиво, како у контролним условима, тако и након спроведеног протокола рестрикције уноса хране. Такође, важно је истаћи и да је ефекат хроничне администрације ААС-а био далеко израженији (за оба анаболика), како у поређењу са контролном групом, тако и у поређењу са групама младих животиња које су у истом временском периоду примале еквивалентне дозе ААС-а. Снажан утицај старења на примењену врсту анализе промена просторног памћења је показан кроз величину утицаја на процента скраћења времена између два тестирања (Табела 4.22). Пролонгирани протокол физичке активности није доводио до значајних промена просторног памћења у поређењу са контролном групом. Ипак, током гладовања уочава се да је најбољу очуваност когнитивних функција, изражену кроз повећање процента скраћења времена између два тестирања показала група са пролонгираном аеробном физичком активношћу. Корисни ефекат пролонгиране физичке активности је био потврђен и кроз статистички значајно побољшање когнитивних функција које је уочено у комбинованим групама у поређењу са седентерним ААС групама. Овакав ефекат физичке активности је био манифестнији у комбинацији са НД-ом, где су се вредности когнитивних функција (мерене према овом параметру) враћале на ниво контролних вредности.

Анализа утицаја спроведених протокола, на основу критеријума процента скраћења пређеног пута између два тестирања у условима старења и гладовања, је показала још снажнији утицај хроничне администрације супрафизиолошких доза ААС-а. Негативан ефекат примене ААС-а на просторно памћење је био статистички значајно изражен у седентерној тестостеронској групи у поређењу са контролном групом (Слика

4.23.). Снажан ефекат ТЕ-а, према овом критеријуму за процену когнитивних функција се јасно уочава и преко вечичине утицаја различитих фактора на проценат скраћења пређеног пута између два узастопна тестирања у Барнсовом тесту (Табела 4.23.). Интересантан податак представља чињеница да, за разлику од резултата Барнсовог теста анализираних на основу процента скраћења времена, где је као последица старења добијан резултат који указује на смањење когнитивних способности, према параметрима пређеног пута између два узастопна тестирања, чак и у контролним условима (сите) старије животиње су показале бољи резултат у смислу просторног памћења. Овакав тренд, у поређењу са животињама млађе животне доби, је очуван и након администрације ААС-а, поготово након примен ТЕ-а. Оваква контрадикторност у поређењу са претходним критеријумом за испитивање просторног памћења се може једино објаснити променом типа понашања који је карактеристичан за старење. Наиме, старије животиње су у поновљеном тесту имале већи губитак времена (манифестује се као смањење когнитивних функција), да би исти губитак времена, према критеријумима пређеног пута, надокнадиле мањом дистанцом потребном да се пронађе циљ (манифестује се као побољшање просторног памћења). Иако пролонгирани протокол физичке активности није доводио до значајног побољшања когнитивних функција, према овом критеријуму Барнсовог теста, у односу на контролну групу, корисни ефекат аеробне физичке активности је био врло манифестан у форми исказаној кроз побољшање просторног памћења у поређењу са резултатима које су седентерне ААС групе имале у односу на контролу. Протоколом предвиђена рестрикција уноса хране је само потврдила резултате ефеката који су хронични протоколи остварили на просторно памћење. Најбољи ефекат је остварен у групи са самостално спровођеним режимом физичке активности, при чему је и у условима смањеног уноса хране протокол аеробног вежбања био довољан да спречи смањење когнитивних функција изазваних гладовањем (осим у тестостеронским групама).

Анализирајући могуће ефекте фактора за које се зна да су укључени у регулацију уноса хране, а да истовремено могу имати значајне бихевиоралне ефекте, испитивање односа између броја NPY имунореактивних неурона и параметара за процену квалитета просторног памћења у Барнсовом тесту је показало значајно различите резултате. Број NPY имунореактивних неурона у свим анализираним регионима хипокампуса није показао значајан утицај на проценат скраћења пређеног пута између два тестирања (Слика 4.64 - 4.67.). Истовремено, карактеристике

просторног памћења (процент скраћења времена између два тестирања) су показале снажну позитивну корелацију са бројем NPY имунореактивних неурона у СА1 (Слика 4.60.,  $R=0.826$ ,  $p=0.006$ ), СА2/3 (Слика 4.61.,  $R=0.838$ ,  $p=0.005$ ), дентантном гирусу (Слика 4.62.,  $R=0.932$ ,  $p=0.0002$ ), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.63.,  $R=0.873$ ,  $p=0.002$ ). Овакви резултати сугеришу да је контрола когнитивних функција која се одвија на нивоу хипокампуса веома сложена, укључујући и просторни и временски аспект, али да број NPY имунореактивних неурона има несумњиво значајну улогу у детерминисању просторног памћења. Анализирајући утицај броја MC4R имунореактивних неурона на параметре за процену когнитивних функција на основу резултата Барнсовог теста уочава се да, за разлику од броја NPY имунореактивних неурона, број MC4R имунореактивних неурона није имао значајну повезаност са порцентом скраћења времена, осим у категорији животиња млађе животне доби у СА2/3 региону хипокампуса (Слика 4.92.,  $R = 0.838$ ,  $p = 0.04$ ). Број MC4 имунореактивних неурона је показивао снажну негативну (за разлику од позитивне корелације са NPY) корелацију са параметрима за процену просторног памћења у хипокампусу, према проценту скраћења пређеног пута: у СА1 региону (Слика 4.95.,  $R = 0.687$ ,  $p = 0.04$ ), СА2/3 региону (Слика 4.96.,  $R = 0.674$ ,  $p = 0.04$ ), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.98.,  $R = 0.669$ ,  $p = 0.04$ ). Анализирајући повезаност квантитативног односа броја NPY неурона и MC4 имунореактивних неурона у хипокапусу и когнитивних функција (према критеријуму скраћења времена) уочава се снажна позитивна корелација у СА2/3 региону (Слика 4.127.,  $R = 0.778$ ,  $p = 0.01$ ), која је највише изражена у дентантном гирусу (Слика 4.128.,  $R = 0.908$ ,  $p = 0.0007$ ), као и на површини укупног пресека хипокампуса (Слика 4.129.,  $R = 0.767$ ,  $p = 0.01$ ), што упућује на закључак да промена квантитативног односа у смислу повећања броја NPY имунореактивних неурона фаворизује боље когнитивне перформансе (према критеријумима процента скраћења времена). Евалуација односа између NPY неурона и MC4 имунореактивних неурона у хипокапусу и когнитивних функција, према критеријумима процента скраћења пређеног пута показује да постоји снажна позитивна корелација, код животиња обе старосне доби, само у СА1 региону (Слика 4.130.,  $R = 0.836$ ,  $p = 0.04$  код младих,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.03$  код одраслих пацова), док се ова врста утицаја нумерички верификује у СА2/3 региону хипокампуса (Слика 4.131.,  $R = 0.857$ ,  $p = 0.03$ ), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.133.,  $R = 0.832$ ,  $p = 0.04$ ) само код младих животиња. На основу резултата добијених анализом међусобног квантитативног односа између NPY неурона и MC4R

имунореактивних неурона у хипокапусу са уоченим когнитивним перформансама, постоји значајна корелација између експресије NPY и MC4R имунореактивних неурона, са значајним разликама у зависности од региона хипокампуса и старосне доби анализираних животиња.

Резултати добијени у овој студији који се односе на утицај примене супрафизиолошких доза ААС-а на когнитивне функције су у складу са подацима из литературе. Описано је да оба ААС-а примењена у овој студији имају негативан ефекат на просторно памћење. Супрафизиолошке дозе ААС-а (189) су доводиле до значајног смањења когнитивних функција. Слични ефекти на когницију су описани и код људи који су злоупотребљавали ААС (352). Као могући механизми негативног утицаја ААС на когнитивне функције су описане промене на нивоу система који учествују у регулацији бројних аспеката понашања, попут: ацетилхолина (353), допамина (354), норадреналина (354), глутамата (355) и серотонина (356). Треба напоменути да међу ауторима који су се бавили овом проблематиком не постоји пуна сагласност по питању штетног утицаја ААС-а на когнитивне функције. Објашњење за постојеће контрадикторности се може наћи у различитим дозама ААС-а које су примењиване, обзиром да постоје подаци да у малим дозама администрација ААС-а може довести до чак и до поправљања когнитивних функција (357). Обзиром да је према анализама спроведеним по два различита критеријума (параметра), добијено да се ефекат старења на когнитивне функције испољава на два дијаметрално различита начина - негативан утицај на когницију према критеријумима времена (што је објашњавано на различите начине у литератури, (358, 359, 360, 361), и позитиван утицај на когницију према критеријумима пређеног пута, једино могуће објашњење за измене когнитивног статуса условљене старењем се може пронаћи у променама типа понашања, које се различито манифестују у појединим бихевиоралним тестовима (362).

Побољшање когнитивних способности након спровођења протокола физичке активности које је добијено у овој студији је, такође, у складу са подацима из литературе. Као могући редослед догађаја који ће довести до побољшања просторног памћења се може понудити следеће: редовна аеробна физичка активност доводи до повећања минутног волумена срца, што ће истовремено довести и до боље прокрвљености церебралне регије (363), након чега долази до повећане продукције нервних фактора раста (364). Веза између повећаних нивоа BDNF у различитим деловима мозга, укључујући и хипокампус (као регион који је непосредно укључен у

регулисање когнитивних функција) и побољшања когнитивних функција је детаљно описана у литератури (365). Обзиром да у литератури не постоје подаци који би помогли у објашњењу механизма којим краткотрајна рестрикција уноса хране утиче на когнитивне функције, позитиван ефекат гладовања (иако без статистичке значајности) добијен у овој студији се једино може поредити са подацима који се односе на утицај дуготрајних дијететских рестрикција на просторно памћење. Тако је описано да дуготрајне калоријске рестрикције доводе до побољшања когнитивних функција услед повећања нивоа BDNF (366) и TRKB у хипокампусу (367). Упоредјујући резултате ове студије који се односе на однос хипкампадне експресије NPY и когнитивних функција са подацима из литературе, мора се констативати да међу публикованим резултатима има доста опречних података (368). Већина разлика међу публикованим резултатима је последица различитих методолошких приступа у истраживањима. Тако је описано да егзогена апликација NPY негативно утиче на просторно памћење, уз претпоставку да се основни механизам оваквог ефекта налази у инхибицији пресинаптичких Y2 рецептора, што је последица администрације егзогеног NPY, и није ситуација која се среће у физиолошким условима (368).). Треба истаћи да су резултати који у овој студији потврђују позитивну улогу хипокампадног NPY на просторно памћење у складу са раније описаним ефектима на мишевима (369), уз претпоставку да се овакав ефекат реализује преко Y1 рецептора, што је потврђено побољшањем когнитивних функција код различитих типова меморијског дефицита (368).). Значај броја MC4 рецептора у хипокампусу *per se* за алтерације у когнитивним функцијама до сада није описан у литератури. Већина расположивих података се односи на већ познате ефекте агониста MC4 рецептора, попут  $\alpha$ MSH (370, 371), на когнитивне функције. Ипак резултати ове студије недвосмислено показују да је број MC4 рецептора у одређеним регионима хипокампуса у негативној корелацији са параметрима за процену просторног памћења. Овај став је само потврђен резултатима који се односе на утицај квантитативног односа броја имунореактивних NPY и MC4 неурона који недвосмислено указује да је квалитет просторног памћења директно пропорционалан (позитивна корелација) повећању броја имунореактивних NPY неурона и/или смањењу и броја имунореактивних MC4 неурона у одређеним регионима хипокампуса.

#### **5.4. Утицај спроведених протокола (примене ААС-а и физичке активности) на промене ноцицепције код животиња различите старосне доби у зависности од величине уноса хране**

Финални резултат изражен кроз степен толеранције бола, након спроведених хроничних протокола, и у различитим старосним категоријама, је недвосмислено показао да је гладовање довело до смањења толеранције бола. Статистичка значајност се уочавала у свим групама осим у нандролонским групама, као и у седентерној тестостеронској групи код младих животиња (Слика 4.21.). Хронична администрација ААС је у контролним условима (сите животиње) за резултат имала хипералгезијски ефекат (статистички значајан код седентерне НД групе код младих животиња). Снажан хипералгезијски ефекат НД-а потврђују резултати величине утицаја различитих фактора на време до реакције у ВП тесту (Табела 4.21.). Подаци из литературе у погледу ефеката ААС-а на толеранцију термалног бола су прилично контрадикторни. У студијама у којима су анаболици примењивани у дозама 2-4 пута мањим него у овом истраживању није уочен значајан утицај ААС на толеранцију бола (372 , 192). Ипак, хипералгезијски ефекат, манифестован кроз смањење толеранција бола описан код пацова уз спровођење сличног теста, попут примењеног у овој студији (tail flick test) код пацова (193). Утицај примене ААС на промену толеранције бола се углавном објашњавају ефектима хроничне примене ААС на нивое опиоидних пептида, динорфина В и МЕАР-а у специфичним регионима мозга (194), што подразумева стварање дисбаланса између два генетски различито дефинисана система опиоидних пептида (195). Такође, описано је да супрафизиолошке дозе ААС доводе и до настанка значајних разлика у садржају супстанце Р у појединим регионима мозга који су укључени у контролу понашања (197). Резултати ове студије се могу поредити и са информацијама да се повећано коришћење аналгетика у популацији код које је потврђена злоупотреба ААС-а, што се тумачи као индиректна потврда смањење толеранције бола услед примене супрафизиолошких доза ААС (373).

Хипоалгезијски ефекат се уочавао као последица старења, при чему је администрација оба ААС доводила до статистички значајног хипералгезијског ефекта, који је у поређењу са категоријом младих животиња код оба анаболика потврђивао већу толеранцију бола. Анализирајући податке из литературе који се односе на утицај старења на ноцицепцију уочава се мноштво контрадикторних резултата који се могу класификовати од хипералгезијског, па све до хипоалгезијског ефекта старења (374).

Резултати ове студије су у складу са претходно публикованим резултатима који потврђују повећану толеранцију бола изазваног термичким или електричним стимулусима, што је објашњено променом броја опијатних рецептора у фронталном режњу, стријатуму и хипокампусу (375). Слични резултати који се односе на утицај старења на толеранцију термалног бола су добијени и код мишева, уз објашњење да се утицај старења на ноцицепцију манифестује преко смањења експресије рецептора за фактор раста артемин, као и за TRPV 1 јонски канал (376). Протокол пливања током 6 недеља је у контролним условима (сите животиње) за резултат имао повећање толеранције бола. Хипоалгезијски ефекат аеробне физичке активности је био потврђен, не само повећаном толеранцијом термалног бола у односу на контролну групу животиња, већ и смањењем хипералгезијског ефекта оба примењена ААС-а које се уочавало у комбинованим групама. Антиноцицептивни ефекат пролонгираног протокола физичке активности је у складу са претходно описаним ефектима дуготрајног тренинга пливања (238). Сличан хипоалгезијски ефекат је описан након продуженог протокола пливања код мишева, што је објашњено променама које аеробна физичка активност изазива на нивоу система ендогених опиоида, као и серотонергичког система (239). Ипак, треба имати у виду да се не може дефинисати генерални став по питању утицаја физичке активности на ноцицепцију, јер различите карактеристике протокола физичке активности (интензитет, дужина трајања...) могу резултовати и потпуно супротним утицајима на толеранцију бола (241). Обзиром да је програмирани програм рестрикције уноса хране током 48 сати, за резултат имао драматично смањење времена до реакције у ВП тесту, јасно је да нису постојали квантитативни услови за испољавање статистички значајних разлика у толеранцији термалног бола код младих животиња. Подаци из литературе који се односе на утицај гладовања на толеранцију бола су, такође, доста опречни. Међутим, као опште правило се уочава да финални ефекат гладовања на ноцицепцију углавном зависи од типа рестрикцијског протокола. Тако се толеранција бола најчешће значајно повећава након примене дуготрајних режима калоријске рестрикције (377). Као могућа објашњења за хипоалгезијски ефекат дуготрајних дијета се најчешће наводе промене на нивоу капа опиоидног система и експресије продинорфина (378). С друге стране, краткотрајне рестрикције уноса хране (48 сати), као што је спроведено и у овој студији, су за резултат имале смањење толеранције бола (379). Као објашњење хипералгезијског ефекта краткотрајног гладовања је предложена чињеница да гладовање представља физиолошки стимулус за промене ноцицепције које су повезане са функцијом вагуса

(380). Међутим, имајући у виду да је код старих животиња био јасно изражен хипоалгезијски ефекат и у условима ситости, јасно је да након спровођења протокола рестрикције уноса хране код старијих животиња се јасно манифестовао хипоалгезијски ефекат који је, међутим, био много више анулиран хроничном администрацијом оба примењена ААС-а, што је за коначни резултат имало да се након примене НД-а и ТЕ-а губила разлика у степену толеранције термалног бола између младих и старих животиња третираних анаболицима.

Обзиром да је у овој студији тестиран могући утицај фактора који су укључени у контролу уноса хране, односно, да су праћени њихови бихевиорални ефекти, анализирани су утицаји једног орексигена (NPY) и једног анорексигена ( $\alpha$ MSH), и на бихевиоралне промене које се односе на толеранцију бола. Серумска концентрација NPY је показала позитивну корелацију са степеном толеранције бола (Слика 4.78.,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.02$ ), код одраслих животиња, у рангу серумских концентрација које су се кретале од  $\sim 60$ - $140$  pg/ml. И подаци из литературе потврђују да је NPY значајно повезан са толеранцијом бола. Улога NPY у ноцицепцији се манифестује на различитим нивоима - на нивоу кичмене мождине, као и на супраспиналном нивоу. Описано је да стимулација Y1 рецептора у кичменој моздини повећава толеранцију бола (72). Међутим, у последње време постаје све актуелније испитивање могуће улоге супраспиналног система NPY у контроли бола. Тако је показано да директна апликација Y1 и Y5 агониста у појединим регионима мозга (интрацеребровентрикуларно и интратекално) изазива снажан антиноцицептивни ефекат чак и са малим дозама агониста (73). Такође, и серумске концентрације анорексигеног фактора,  $\alpha$ MSH су имале значајан утицај на ноцицепцију који се, изненађујуће, манифестовао на истоветан начин, кроз још снажнију, позитивну корелацију са степеном толеранције бола (у обе старосне категорије), у концентрацијском опсегу од  $\sim 60$ - $120$  ng/ml (Слика 4.109.,  $R = 0.774$ ,  $p = 0.01$ ). Иако су подаци који се односе на утицај концентрације  $\alpha$ MSH у периферној крви на ноцицепцију доста оскудни, може се констатовати да су резултати добијени у овој студији у складу са описаним аналгетским ефектом повећаних концентрација  $\alpha$ MSH у серуму (381). Ови резултати корелирају са подацима о аналгетском ефекту директне администрације  $\alpha$ MSH у периакведукталну сиву масу, која је била праћена повећаном продукцијом ендорфина (382).



У циљу дефинисања алгезијског ефекта NPY, анализиран је однос броја NPY имунореактивних неурона у хипокампусу и показатеља толеранције термалног бола (Слика 4.68. - 4.71.). Анализа овог односа показује да постоје значајне регионалне разлике које се могу повезати са старосном категоријом испитиваних животиња. Иако се уочава да свуда постоји позитивна корелација (повећање броја NPY имунореактивних неурона за резултат има антиноцицептивни ефекат), регионална анализа показује да у СА1 региону постоји снажна корелација само код младих животиња (Слика 4.68.,  $R = 0.85$ ,  $p = 0.03$ ), у СА2/3 региону само у категорији старих животиња (Слика 4.69.,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ ), у дентатном гирусу код свих старосних категорија (Слика 4.70.,  $R = 0.906$ ,  $p = 0.01$  код младих и  $R = 0.999$ ,  $p = 0.02$  код одраслих), као и на укупној површини пресека хипокампуса код младих животиња (Слика 4.71.,  $R = 0.838$ ,  $p = 0.04$ ). Подаци из литературе показују да се централни аналгетски ефекти NPY остварују стимулацијом Y1 и Y5 рецептора (73), уз значајну напомену да је у хипокампусу евидентирана и експресија капа опиоидних рецептора на NPY имунореактивним неуронима (383), што може бити део објашњења за антиноцицептивну улогу NPY у хипокампусу. Иако то није била тема истраживања у овој студији важно је напоменути да се и улога активације Y1 рецептора у рафе магнус каузално повезује са антиноцицептивним ефектом NPY (384). Обзиром да подаци из литературе указују на бројне бихевиоралне алтерације изазване експресијом MC4R у хипокампусу, анализирано је и могуће учешће ових меланокортинских рецептора у централним аналгетским механизмима који се везују за хипокампус. Анализа међусобне повезаности броја MC4R имунореактивних неурона у хипокампусу и њеног утицаја на толеранцију бола је показала да у СА1 региону не постоји значајна повезаност, док се у СА2/3 региону (Слика 4.100.,  $R = 0.841$ ,  $p = 0.03$ , код младих животиња), дентатном гирусу (Слика 4.101.,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.02$ , код одраслих животиња), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.102.,  $R = 0.999$ ,  $p = 0.01$ , код одраслих животиња) уочава снажна негативна корелација. Обзиром да већина података из литературе не пружа довољно информација о повезаности између броја MC4 рецептора у хипокампусу и ноцицепције, резултате ове студије није могуће поредити са резултатима претходних истраживања. Иако је анализирана експресија MC4R имунореактивних неурона у другим регионима мозга који су укључени у регулацију афективне или емотивне компоненте бола, као што су амигдала (385, 386) и предњи цингулатни кортекс (387, 388), већина података о улози MC4R у регулацији бола се односи на испитивање ефеката агониста и антагониста ових

рецептора и њиховом утицају на ноцицепцију (389, 390). Обзиром да су и број NPY имунореактивних неурона, као и експресија MC4R, показали значајну повезаност са параметрима ноцицепције, анализирајући утицај њиховог међусобног квантитативног односа на толеранцију термалног бола добијени су резултати који су у значајној мери зависили од испитиваног региона хипокампуса, као и од старосне доби животиње. У СА1 региону хипокампуса уочена је снажна, позитивна корелација код младих (Слика 4.134.,  $R = 0.836$ ,  $p = 0.04$ ), као и код старих животиња ( $R = 0.999$ ,  $p = 0.03$ ) између NPY/MC4R индекса и параметра за процену ноцицепције у ВП тесту. У СА2/3 региону хипокампуса (Слика 4.135.,  $R = 0.857$ ,  $p = 0.03$ ), као и на укупној површини пресека хипокампуса (Слика 4.137.,  $R = 0.832$ ,  $p = 0.04$ ), је забележена снажна, позитивна корелација само у категорији младих животиња, док у дентатном гирусу хипокампуса није уочена значајна повезаност између поменутих параметара. Сумирајући резултате имунохистохемијских анализа хипокампуса за експресију фактора који учествују у регулацији уноса хране, при чему показују значајне бихевиоралне ефекте, може се рећи да и број NPY и MC4R имунореактивних неурона имају неспорну улогу у контроли ноцицепције, уз значајне варијације у зависности од региона хипокампуса и старосне доби анализираних животиња.

## **6. ЗАКЉУЧЦИ**

## **Бихевиорални ефекти гладовања**

Дводневна рестрикција хране (калоријски унос редукован на 25% од стандардног калоријског уноса) је доводио до следећих бихевиоралних манифестација:

- Појачана анксиозност (ефекат потенциран старењем)
- Антидепресантно дејство
- Без значајног утицаја на промену когнитивних способности (осим побољшања које је постигнуто уз протокол физичке активности)
- Хипералгезијски ефекат

## **Бихевиорални ефекти ААС-а**

Шестонедељни третман супрафизиолошким дозама ААС-а (НД и ТЕ, 20 mg/kg/i.p., недељно) је доводио до следећих бихевиоралних манифестација:

- Појачана анксиозност
- Продепресантно дејство
- Смањење когнитивних способности
- Хипералгезијски ефекат

## **Бихевиорални ефекти физичке активности**

Шестонедељни протокол физичке активности спроведен у форми пливачког тренинга (1 сат дневно, током 5 узастопних дана, уз 2 дана паузе) је доводио до следећих бихевиоралних манифестација:

- Анкисолитички ефекат
- Антидепресантно дејство
- Дискретно побољшање когнитивних способности
- Антиноцицептивни ефекат

## Бихевиорални ефекти старења

Спровођење описаних протокола код животиња старих 18 месеци, у поређењу са ефектима оствареним код животиња старих 3 месеца, је доводило до испољавања следећих разлика у бихевиоралним манифестацијама:

- Промењен тип понашања (са истовременим анксиогеним и анксиолитичким манифестацијама)
- Продепресантно дејство
- Промењен тип испољавања когнитивних функција (спорије и рационалније реакције)
- Хипоалгезијски ефекат

## **7. ЛИТЕРАТУРА**

1. Evans NA. Gym and tonic: a profile of 100 male steroid users. *Br J Sports Med.* 1997;31(1):54–58.
2. Nilsson S, Baigi A, Marklund B, Fridlund B. The prevalence of the use of androgenic anabolic steroids by adolescents in a county of Sweden. *Eur J Public Health.* 2001;11(2):195–197.
3. Gruber AJ, Pope HG Jr. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. *Psychother Psychosom.* 2000;69(1):19–26.
4. Miller KE, Hoffman JH, Barnes GM, Sabo D, Melnick MJ, Farrell MP. Adolescent anabolic steroid use, gender, physical activity, and other problem behaviors. *Subst Use Misuse.* 2005;40:1637–1657.
5. Skårberg K, Nyberg F, Engström I. Multisubstance use as a feature of addiction to anabolic-androgenic steroids. *Eur Addict Res.* 2009;15(2):99–106.
6. SAMHSA/OAS. 1994 National Household Survey on Drug Abuse, Main Findings 1994. DHHS Publication No (SMA). 96-3085. 1996.
7. Ip EJ, Trinh K, Tenerowicz MJ, Pal J, Lindfelt TA, Perry PJ. Characteristics and behaviors of older male anabolic steroid users. *J Pharm Pract.* 2015;28(5):450-6.
8. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(4):644-51.
9. Barreto-Estrada JL, Barreto J, Fortis-Santiago Y, Rivera-Ramos I, Fortis-Santiago A, Jorge JC. Modulation of affect after chronic exposure to the anabolic steroid 17alpha-methyltestosterone in adult mice. *Behav Neurosci.* 2004;118(5):1071-9.
10. Andersen RE, Barlett SJ, Morgan GD, Brownell KD. Weight loss, psychological, and nutritional patterns in competitive male body builders. *Int J Eat Disord.* 1995;18(1):49-57.
11. Drewnowski A, Kurth CL, Krahn DD. Effects of body image on dieting, exercise, and anabolic steroid use in adolescent males. *Int J Eat Disord.* 1995;17(4):381-6.
12. Beaver KM, Vaughn MG, Delisi M, Wright JP. Anabolic-androgenic steroid use and involvement in violent behavior in a nationally representative sample of young adult males in the United States. *Am J Public Health.* 2008;98(12):2185-7.
13. Sobrino Crespo C, Perianes Cachero A, Puebla Jiménez L, Barrios V, Arilla Ferreiro E. Peptides and food intake. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014;5:58.
14. Kmiec Z. Central regulation of food intake in ageing. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57(Suppl 6):7-16.

15. Ellacott KL, Cone RD. The role of the central melanocortin system in the regulation of food intake and energy homeostasis: lessons from mouse models. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2006;361(1471):1265-74.
16. Liu H, Kishi T, Roseberry AG, et al. Transgenic mice expressing green fluorescent protein under the control of the melanocortin-4 receptor promoter. *J Neurosci.* 2003;23:7143–7154.
17. Fathi Z, Iben LG, Parker EM. Cloning, expression, and tissue distribution of a fifth melanocortin receptor subtype. *Neurochem Res.* 1995;20:107–113
18. Adan RA, Tiesjema B, Hillebrand JJ, la Fleur SE, Kas MJ, de Krom M. The MC4 receptor and control of appetite. *Br J Pharmacol.* 2006;149(7):815-27.
19. Fan W, Dinulescu DM, Butler AA, Zhou J, Marks DL, Cone RD. The central melanocortin system can directly regulate serum insulin levels. *Endocrinology.* 2000;141(9):3072-9.
20. MacKenzie RG. Obesity-associated mutations in the human melanocortin-4 receptor gene. *Peptides.* 2006;27(2):395-403.
21. Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GS, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med.* 2003;348(12):1085-95.
22. Farooqi IS, Yeo GS, Keogh JM, et al. Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *J Clin Invest.* 2000;106(2):271-9.
23. Cupples WA. Physiological regulation of food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288:1439-1443.
24. Kalra SP, Dube MG, Pu S, et al. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev.* 1999;20:68-100.
25. Leibowitz SF and Wortley KE. Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides.* 2004;25:473-504.
26. Tatemoto K. Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982;79(18):5485-9.
27. Lundberg JM, Terenius L, Hökfelt T, et al. Neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity in peripheral noradrenergic neurons and effects of NPY on sympathetic function. *Acta Physiol Scand.* 1982;116(4):477-80.
28. Lundberg JM, Terenius L, Hökfelt T, Goldstein M. High levels of neuropeptide Y in peripheral noradrenergic neurons in various mammals including man. *Neurosci Lett.* 1983;42(2):167-72.



29. Allen YS, Adrian TE, Allen JM, et al. Neuropeptide Y distribution in the rat brain. *Science*. 1983;221(4613):877-9.
30. Chronwall BM, DiMaggio DA, Massari VJ, Pickel VM, Ruggiero DA, O'Donohue TL. The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in rat brain. *Neuroscience*. 1985;15(4):1159-81.
31. Heilig M. The NPY system in stress, anxiety and depression. *Neuropeptides*. 2004;38(4):213-24.
32. Morales-Medina JC, Dumont Y, Quirion R. A possible role of neuropeptide Y in depression and stress. *Brain Res*. 2010;1314:194-205.
33. Wahlestedt C, Pich EM, Koob GF, Yee F, Heilig M. Modulation of anxiety and neuropeptide Y-Y1 receptors by antisense oligodeoxynucleotides. *Science*. 1993;259(5094):528-31.
34. King PJ, Widdowson PS, Doods HN, Williams G. Regulation of neuropeptide Y release by neuropeptide Y receptor ligands and calcium channel antagonists in hypothalamic slices. *J Neurochem*. 1999;73(2):641-6.
35. Thorsell A, Slawecki CJ, El Khoury A, Mathe AA, Ehlers CL. The effects of social isolation on neuropeptide Y levels, exploratory and anxiety-related behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;83:28-34.
36. Grundemar L, Wahlestedt C, Reis DJ. Neuropeptide Y acts at an atypical receptor to evoke cardiovascular depression and to inhibit glutamate responsiveness in the brainstem. *J Pharmacol Exp Ther* 1991;258:633–8.
37. Grundemar L, Wahlestedt C, Reis DJ. Long-lasting inhibition of the cardiovascular responses to glutamate and the baroreceptor reflex elicited by neuropeptide Y injected into the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neurosci Lett*. 1991;122:135–9.
38. Lundell I, Blomqvist AG, Berglund MM, et al. Cloning of a human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and peptide YY. *J Biol Chem*. 1995;270:29123–29128
39. Tasan RO, Lin S, Hetzenauer A, Singewald N, Herzog H, Sperk G. Increased novelty-induced motor activity and reduced depression-like behavior in neuropeptide Y (NPY)-Y4 receptor knockout mice. *Neuroscience*. 2009;158(4):1717-30.
40. Ueno N, Asakawa A, Satoh Y, Inui A. Increased circulating cholecystokinin contributes to anorexia and anxiety behavior in mice overexpressing pancreatic polypeptide. *Regul Pept*. 2007;141(1-3):8-11.

41. Painsipp E, Wultsch T, Edelsbrunner ME, et al. Reduced anxiety-like and depression-related behavior in neuropeptide Y Y4 receptor knockout mice. *Genes Brain Behav.* 2008;7(5):532-42.
42. Marsh DJ, Hollopeter G, Kafer KE, Palmiter RD. Role of the Y5 neuropeptide Y receptor in feeding and obesity. *Nat Med.* 1998;4(6):718-21.
43. Sørensen G, Lindberg C, Wörtwein G, Bolwig TG, Woldbye DP. Differential roles for neuropeptide Y Y1 and Y5 receptors in anxiety and sedation. *J Neurosci Res.* 2004;77(5):723-9.
44. Wolak ML, DeJoseph MR, Cator AD, Mokashi AS, Brownfield MS, Urban JH. Comparative distribution of neuropeptide Y Y1 and Y5 receptors in the rat brain by using immunohistochemistry. *J Comp Neurol.* 2003;464(3):285-311.
45. Larhammar, D, Salaneck E. Molecular evolution of NPY receptor subtypes. *Neuropeptides* 2004;38(4):141-151.
46. Geller I, Seifter J. The effects of meprobamate, barbiturates, damphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacologia.* 1960;1:482–492.
47. Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia.* 1971;21(1):1–7.
48. Bannon AW, Seda J, Carmouche M, et al. Behavioral characterization of neuropeptide Y knockout mice. *Brain Res.* 2000;868(1):79-87.
49. Sudakov SK, Medvedeva OF, Rusakova IV, Terebilina NN, Goldberg SR. Differences in genetic predisposition to high anxiety in two inbred rat strains: role of substance P, diazepam binding inhibitor fragment and neuropeptide Y. *Psychopharmacology (Berl).* 2001;154(4):327-35.
50. Enman NM, Sabban EL, McGonigle P, Van Bockstaele EJ. Targeting the Neuropeptide Y System in Stress-related Psychiatric Disorders. *Neurobiol Stress.* 2015;1:33-43.
51. Sajdyk TJ, Vandergriff MG, Gehlert DR. Amygdalar neuropeptide Y Y1 receptors mediate the anxiolytic-like actions of neuropeptide Y in the social interaction test. *Eur J Pharmacol.* 1999;368(2-3):143-7.
52. Heilig M, McLeod S, Brot M, et al. Anxiolytic-like action of neuropeptide Y: mediation by Y1 receptors in amygdala, and dissociation from food intake effects. *Neuropsychopharmacology.* 1993;8(4):357-63.
53. Kask A, Rågo L, Harro J. Anxiolytic-like effect of neuropeptide Y (NPY) and NPY13-36 microinjected into vicinity of locus coeruleus in rats. *Brain Res.* 1998;788(1-2):345-8.

54. Ide S, Hara T, Ohno A, et al. Opposing roles of corticotropin-releasing factor and neuropeptide Y within the dorsolateral bed nucleus of the stria terminalis in the negative affective component of pain in rats. *J Neurosci*. 2013;33(14):5881-94.
55. Heilig M, Söderpalm B, Engel JA, Widerlöv E. Centrally administered neuropeptide Y (NPY) produces anxiolytic-like effects in animal anxiety models. *Psychopharmacology (Berl)*. 1989;98(4):524-9.
56. Widerlov, E., Heilig, M., Ekman, R. and Wahlestedt, C. Neuropeptide Y ~ possible involvement in depression and anxiety. In: *Neuropeptide Y*, pp. 331-342, Mutt, V. (ed.) Raven Press, New York, 1989.
57. Heilig M, McLeod S, Koob GK, Britton KT. Anxiolytic-like effect of neuropeptide Y (NPY), but not other peptides in an operant conflict test. *Regul Pept*. 1992;41(1):61-9.
58. Halliday GM, Li YW, Oliver JR, et al. The distribution of neuropeptide Y-like immunoreactive neurons in the human medulla oblongata. *Neuroscience*. 1988;26(1):179-91.
59. Redrobe JP, Dumont Y, Fournier A, Baker GB, Quirion R. Role of serotonin (5-HT) in the antidepressant-like properties of neuropeptide Y (NPY) in the mouse forced swim test. *Peptides*. 2005;26(8):1394-400.
60. Redrobe JP, Dumont Y, Fournier A, Quirion R. The neuropeptide Y (NPY) Y1 receptor subtype mediates NPY-induced antidepressant-like activity in the mouse forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*. 2002;26(5):615-24.
61. Karlsson RM, Choe JS, Cameron HA, et al. The neuropeptide Y Y1 receptor subtype is necessary for the anxiolytic-like effects of neuropeptide Y, but not the antidepressant-like effects of fluoxetine, in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;195(4):547-57.
62. Husum H, Aznar S, Høyer-Hansen S, et al. Exacerbated loss of cell survival, neuropeptide Y-immunoreactive (IR) cells, and serotonin-IR fiber lengths in the dorsal hippocampus of the aged flinders sensitive line "depressed" rat: Implications for the pathophysiology of depression? *J Neurosci Res*. 2006;84(6):1292-302.
63. Walker MW, Wolinsky TD, Jubian V, et al. The novel neuropeptide Y Y5 receptor antagonist Lu AA33810 [N-[[trans-4-[(4,5-dihydro[1]benzothiepine[5,4-d]thiazol-2-yl)amino]cyclohexyl]methyl]-methanesulfonamide] exerts anxiolytic- and antidepressant-like effects in rat models of stress sensitivity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;328(3):900-11.
64. Flood JF, Baker ML, Hernandez EN, Morley JE. Modulation of memory processing by neuropeptide Y varies with brain injection site. *Brain Res*. 1989;503(1):73-82.

65. Thorsell A, Michalkiewicz M, Dumont Y, et al. Behavioral insensitivity to restraint stress, absent fear suppression of behavior and impaired spatial learning in transgenic rats with hippocampal neuropeptide Y overexpression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(23):12852-7.
66. Rangani RJ, Upadhyaya MA, Nakhate KT, Kokare DM, Subhedar NK. Nicotine evoked improvement in learning and memory is mediated through NPY Y1 receptors in rat model of Alzheimer's disease. *Peptides*. 2012;33(2):317-28.
67. Naveilhan P, Hassani H, Lucas G, et al. Reduced antinociception and plasma extravasation in mice lacking a neuropeptide Y receptor. *Nature*. 2001;409(6819):513-7.
68. Brumovsky P, Shi TS, Landry M, Villar MJ, Hokfelt T. Neuropeptide tyrosine and pain. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28:93-102.
69. Seybold VS, McCarson KE, Mermelstein PG, Groth RD, Abrahams LG. Calcitonin gene-related peptide regulates expression of neurokinin1 receptors by rat spinal neurons. *J Neurosci*. 2003;23:1816-1824.
70. Tracey DJ, Romm MA, Yao NN. Peripheral hyperalgesia in experimental neuropathy: exacerbation by neuropeptide Y. *Brain Res*. 1995;669(2):245-54.
71. Landry M, Holmberg K, Zhang X, Hökfelt T. Effect of axotomy on expression of NPY, galanin, and NPY Y1 and Y2 receptors in dorsal root ganglia and the superior cervical ganglion studied with double-labeling in situ hybridization and immunohistochemistry. *Exp Neurol*. 2000;162(2):361-84.
72. Hua XY, Boublik JH, Spicer MA, Rivier JE, Brown MR, Yaksh TL. The antinociceptive effects of spinally administered neuropeptide Y in the rat: systematic studies on structure-activity relationship. *J Pharmacol Exp Ther*. 1991;258(1):243-8.
73. Thomsen M, Wörtwein G, Olesen MV, et al. Involvement of Y(5) receptors in neuropeptide Y agonist-induced analgesic-like effect in the rat hot plate test. *Brain Res*. 2007;1155:49-55.
74. Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hruby VJ, Cone RD. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*. 1997;385:165-8.
75. Grill HJ, Ginsberg AB, Seeley RJ, Kaplan JM. Brainstem application of melanocortin receptor ligands produces long-lasting effects on feeding and body weight. *J Neurosci*. 1998;18:10128 - 35.
76. D'Agostino G, Diano S. Alpha-melanocyte stimulating hormone: production and degradation. *J Mol Med (Berl)*. 2010;88(12):1195-201.

77. Kokare DM, Dandekar MP, Singru PS, Gupta GL, Subhedar NK. Involvement of alpha-MSH in the social isolation induced anxiety- and depression-like behaviors in rat. *Neuropharmacology*. 2010;58(7):1009-18.
78. Adan RA, Szklarczyk AW, Oosterom J, et al. Characterization of melanocortin receptor ligands on cloned brain melanocortin receptors and on grooming behavior in the rat. *Eur J Pharmacol*. 1999;378:249–258.
79. DeBarioglio SR, Lezcano N, Celis ME.  $\alpha$ MSH-induced excessive grooming behavior involves a GABAergic mechanism. *Peptides*. 1991;12:203–205.
80. Gonzalez MI, Vaziri S, Wilson CA. Behavioral effects of  $\alpha$ -MSH and MCH after central administration in the female rat. *Peptides*. 1996;17:171–177.
81. Vergoni AV, Bertolini A. Role of melanocortins in the central control of feeding. *Eur J Pharmacol*. 2000;405:25–32.
82. Lu XY, Barsh GS, Akil H, Watson SJ. Interaction between  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone and corticotropin-releasing hormone in the regulation of feeding and hypothalamo-pituitary-adrenal responses. *J Neurosci*. 2003;23:7863–7872.
83. Cragolini AB, Schiöth HB, Scimonelli TN. Anxiety-like behavior induced by IL-1beta is modulated by alpha-MSH through central melanocortin-4 receptors. *Peptides*. 2006;27(6):1451-6.
84. Gonzalez MI, Vaziri S, Wilson CA. Behavioral effects of alpha-MSH and MCH after central administration in the female rat. *Peptides*. 1996;17(1):171-7.
85. Vecsernyés M, Biró E, Gardi J, Julesz J, Telegdy G. Involvement of endogenous corticotropin-releasing factor in mediation of neuroendocrine and behavioral effects to alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Endocr Res*. 2000;26(3):347-56.
86. Chaki S, Hirota S, Funakoshi T, et al. Anxiolytic-like and antidepressant-like activities of MCL0129 (1-[(S)-2-(4-fluorophenyl)-2-(4-isopropylpiperidin-1-yl)ethyl]-4-[4-(2-methoxynaphthalen-1-yl)butyl]piperazine), a novel and potent nonpeptide antagonist of the melanocortin-4 receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304(2):818-26.
87. Kask A, Mutulis F, Muceniece R, et al. Discovery of a novel superpotent and selective melanocortin-4 receptor antagonist (HS024): evaluation in vitro and in vivo. *Endocrinology*. 1998;139(12):5006-14.
88. Redman LM, Ravussin E. Caloric restriction in humans: impact on physiological, psychological, and behavioral outcomes. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14(2):275-87.
89. Murphy M, Mercer JG. Diet-regulated anxiety. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:701967.

90. Ray GT, Croen LA, Habel LA. Mothers of children diagnosed with attention-deficit/hyperactivity disorder: health conditions and medical care utilization in periods before and after birth of the child. *Med Care*. 2009;47(1):105-14.
91. Rodriguez A, Miettunen J, Henriksen TB, et al. Maternal adiposity prior to pregnancy is associated with ADHD symptoms in offspring: evidence from three prospective pregnancy cohorts. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(3):550-7.
92. Sullivan EL, Smith MS, Grove KL. Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. *Neuroendocrinology*. 2011;93(1):1-8.
93. Peleg-Raibstein D, Luca E, Wolfrum C. Maternal high-fat diet in mice programs emotional behavior in adulthood. *Behav Brain Res*. 2012;233(2):398-404.
94. Hussin NM, Shahar S, Teng NI, Ngah WZ, Das SK. Efficacy of fasting and calorie restriction (FCR) on mood and depression among ageing men. *J Nutr Health Aging*. 2013;17(8):674-80.
95. Redman LM, Martin CK, Williamson DA, Ravussin E. Effect of caloric restriction in non-obese humans on physiological, psychological and behavioral outcomes. *Physiol Behav*. 2008;94(5):643-8.
96. Michalsen A, Weidenhammer W, Melchart D, Langhorst J, Saha J, Dobos G. [Short-term therapeutic fasting in the treatment of chronic pain and fatigue syndromes--well-being and side effects with and without mineral supplements]. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd*. 2002;9(4):221-7. German.
97. Michalsen, A. Prolonged fasting as a method of mood enhancement in chronic pain syndromes: a review of clinical evidence and mechanisms. *Curr Pain Headache Rep*. 2010;14(2):80-87.
98. Lutter M, Krishnan V, Russo SJ, Jung S, McClung CA, Nestler EJ. Orexin signaling mediates the antidepressant-like effect of calorie restriction. *J Neurosci*. 2008;28(12):3071-5.
99. Del Arco A, Segovia G, de Blas M, et al. Prefrontal cortex, caloric restriction and stress during aging: studies on dopamine and acetylcholine release, BDNF and working memory. *Behav Brain Res*. 2011;216(1):136-45.
100. Duan W, Lee J, Guo Z, Mattson MP. Dietary restriction stimulates BDNF production in the brain and thereby protects neurons against excitotoxic injury. *J Mol Neurosci*. 2001;16(1):1-12.
101. Araya AV, Orellana X, Espinoza J. Evaluation of the effect of caloric restriction on serum BDNF in overweight and obese subjects: preliminary evidences. *Endocrine*. 2008;33(3):300-4.

102. Stanek K, Gunstad J, Leahey T, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is associated with reduced appetite in healthy older adults. *J Nutr Health Aging*. 2008;12(3):183-5.
103. Amorosi, M. Correlation between sport and depression. *Psychiatr Danub*. 2014;26(Suppl 1):208-210.
104. Brown, A.J. Low-carb diets, fasting and euphoria: Is there a link between ketosis and gamma-hydroxybutyrate (GHB)? *Med. Hypotheses*. 2007;68(2):268-271.
105. Maalouf M; Rho JM. Mattson MP. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. *Brain Res Rev*. 2009;59(2):293-315.
106. Levay EA, Govic A, Penman J, Paolini AG, Kent S. Effects of adult-onset calorie restriction on anxiety-like behavior in rats. *Physiol Behav*. 2007;92(5):889-96.
107. David K, Dingemans E, Freud J, Lacquer E. Über kristallines männliches Hormon aus Hoden (Testosteron), wirksamer als aus Ham oder Cholesterin bereitetes Androsteron. *Hoppe-Seylers Z Physiol Chem*. 1935;233:281-2.
108. Butenandt A, Hanisch G. Über Testosteron. Umwandlung des Dehydroandrosterons in Androstendiol und Testosteron, ein Weg zur Darstellung des Testosterons aus Cholesterin. *Hoppe-Seylers Z Physiol Chem*. 1935;237:89-97.
109. Ruzicka L, Wettstein A. Sexualhormone VII. Über die künstliche Herstellung des Testikelhormons Testosteron (Androsten-3-on-17-ol). *Helv Chim Acta*. 1935;18:1264-75.
110. Schänzer W. Metabolism of anabolic androgenic steroids. *Clin Chem*. 1996;42(7):1001-20.
111. Bauman DR, Steckelbroeck S, Penning TM. The roles of aldo-keto reductases in steroid hormone action. *Drug News Perspect*. 2004;17:563-78.
112. Jakobsson J, Palonek E, Lorentzon M, et al. A novel polymorphism in the 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5 (aldo-keto reductase 1C3) gene is associated with lower serum testosterone levels in Caucasian men. *Pharmacogenomics J*. 2006;7:282-9.
113. Weusten JJ, Legemaat G, van der Wouw MP, Smals AG, Kloppenborg PW, Benraad T. The mechanism of the synthesis of 16-androstenes in human testicular homogenates. *J Steroid Biochem*. 1989;32:689-94.
114. Jiang J, Tang NL, Ohlsson C, et al. Association of genetic variations in aromatase gene with serum estrogen and estrogen/testosterone ratio in Chinese elderly men. *Clin Chim Acta*. 2010;411:53-8.

115. Sowers MR, Wilson AL, Kardia SR, Chu J, Ferrell R. Aromatase gene (CYP 19) polymorphisms and endogenous androgen concentrations in a multiracial/multiethnic, multisite study of women at midlife. *Am J Med.* 2006;119:S23–30.
116. Ekstrom L, Schulze JJ, Guillemette C, Belanger A, Rane A. Bioavailability of testosterone enanthate dependent on genetic variation in the phosphodiesterase 7B but not on the uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase (UGT2B17) gene. *Pharmacogenet Genomics.* 2011;21:325–32.
117. Sten T, Bichlmaier I, Kuuranne T, Leinonen A, Yli-Kauhaluoma J, Finel M. UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) 2B7 and UGT2B17 display converse specificity in testosterone and epitestosterone glucuronidation, whereas UGT2A1 conjugates both androgens similarly. *Drug Metab Dispos.* 2009;37:417–23.
118. Jakobsson J, Ekstrom L, Inotsume N, et al. Large differences in testosterone excretion in Korean and Swedish men are strongly associated with a UDP-glucuronosyl transferase 2B17 polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:687–93.
119. Rane A, Ekström L. Androgens and doping tests: genetic variation and pit-falls. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;74(1):3-15.
120. Kicman AT. Pharmacology of anabolic steroids. *Br J Pharmacol.* 2008;154(3):502-21.
121. Cato AC, Nestl A, Mink S. Rapid actions of steroid receptors in cellular signaling pathways. *Sci STKE.* 2002;2002(138):re9.
122. Losel RM, Falkenstein E, Feuring M, et al. Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. *Physiol Rev.* 2003;83(3):965-1016.
123. Kochakian, C.; Yesalis, CE. Anabolic-androgenic steroids: a historical perspective and definition. In: Yesalis, CE., editor. *Anabolic Steroids in Sport and Exercise.* Champaign: Human Kinetics; 2000. p. 4-33.
124. Martini L. The 5 $\alpha$ -reduction of testosterone in the neuroendocrine structures. Biochemical and physiological implications. *Endocr Rev.* 1982;3:1–25.
125. Winters SJ. Androgens: endocrine physiology and pharmacology. *NIDA Res Monogr.* 1990;102:113–130.
126. Basaria S, Wahlstrom JT, Dobs AS. Clinical review 138: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:5108–5117.
127. Shahidi NT. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolicandrogenic steroids. *Clin Ther.* 2001;23:1355–1390.
128. Ryan KJ. Biological aromatization of steroids. *J Biol Chem.* 1959; 234:268–272.



129. Quincey RV, Gray CH. The metabolism of [1,2-3H]17 $\alpha$ -methyltestosterone in human subjects. *J Endocrinol.* 1967;37:37–55.
130. Papaconstantinou AD, Umbreit TH, Goering PL, Brown KM. Effects of 17 $\alpha$ -methyltestosterone on uterine morphology and heat shock protein expression are mediated through estrogen and androgen receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002;82:305–314.
131. de Gooyer ME, Oppers-Tiemissen HM, Leysen D, Verheul HA, Kloosterboer HJ. Tibolone is not converted by human aromatase to 7 $\alpha$ -methyl-17 $\alpha$ -ethynylestradiol (7 $\alpha$ -MEE): Analyses with sensitive bioassays for estrogens and androgens and with LC-MSMS. *Steroids.* 2003;68:235–243.
132. 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;114:2100–2106.
133. Roselli C. The effect of anabolic-androgenic steroids on aromatase activity and androgen receptor binding in the rat preoptic area. *Brain Res.* 1998;792:271–276.
134. Fragkaki AG, Angelis YS, Koupparis M, Tsantili-Kakoulidou A, Kokotos G, Georgakopoulos C. Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities. Applied modifications in the steroidal structure. *Steroid.* 2009;74:172–197.
135. Dimick DF, Heron M, Baulieu EE, Jayle MF. A comparative study of the metabolic fate of testosterone, 17 $\alpha$ -methyltestosterone, 19-nor-testosterone, 17 $\alpha$ -methyl-19-nor-testosterone and 17 $\alpha$ -methyl-estr-5(10)-ene-17 $\beta$ -ol-3-one in normal males. *Clin Chim Acta.* 1961;6:63–71.
136. Schänzer W. Metabolism of anabolic androgenic steroids. *Clin Chem.* 1996;42(7):1001–1020.
137. Fragkaki AG, Angelis YS, Tsantili-Kakoulidou AG, Koupparis M, Georgakopoulos C. Schemes of metabolic patterns of anabolic androgenic steroids for the estimation of metabolites of designer steroids in human urine. *J Ster Biochem Mol Biol.* 2009;115:44–61.
138. Whitney AC, Clark AS. Effects of acute stanozolol treatment on puberty in female rats. *Biol Reprod.* 2001;64:1460–1465.
139. Pinna G, Costa E, Guidotti. Changes in brain testosterone and allopregnanolone biosynthesis elicit aggressive behavior. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(6):2135–2140.
140. Penatti CAA, Costine BA, Porter DM, Henderson LP. Effects of chronic exposure to an anabolic androgenic steroid cocktail on  $\alpha$ 5-receptor mediated GABAergic transmission and neural signaling in the forebrain of female mice. *Neuroscience.* 2009;161:526–537.

141. Kurling-Kailanto S, Kankaanpää A, Hautaniemi J, Seppälä T. Blockade of androgen or estrogen receptors reduces nandrolone's ability to modulate acute reward-related neurochemical effects of amphetamine in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010;95(4):422–427.
142. Attardi BJ, Hild SA, Reel JR. Dimethandrolone undecanoate: a new potent orally active androgen with progestational activity. *Endocrinology.* 2006;147:3016–3026.
143. Attardi BJ, Page ST, Hild SA, Coss CC, Matsumoto AM. Mechanism of action of bolandiol (19- nortestosterone-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol), a unique anabolic steroid with androgenic, estrogenic, and progestational activities. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;118(3):151–161.
144. Bassil N, Alkaade S, Morley JE. The benefits and risks of testosterone replacement therapy: a review. *Ther Clin Risk Manag.* 2009;5(3):427-48.
145. 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.
146. Schols AM, Slangen J, Volovics L, Wouters EF. Weight loss is a reversible factor in the prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(6 Pt 1):1791-7.
147. Mendenhall CL, Moritz TE, Roselle GA, 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.
148. 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.
149. 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.
150. Demling RH, DeSanti L. Oxandrolone, an anabolic steroid, significantly increases the rate of weight gain in the recovery phase after major burns. *J Trauma.* 1997;43(1):47-51.
151. Demling RH. Comparison of the anabolic effects and complications of human growth hormone and the testosterone analog, oxandrolone, after severe burn injury. *Burns.* 1999;25(3):215-21.
152. Lydén E, Cvetkovska E, Westin T, et al. Effects of nandrolone propionate on experimental tumor growth and cancer cachexia. *Metabolism.* 1995;44(4):445-51.

153. Todd BD. Pancreatic carcinoma and low serum testosterone; a correlation secondary to cancer cachexia? *Eur J Surg Oncol.* 1988;14(3):199-202.
154. Hakim R, Levin N. Malnutrition in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1993;21:99–105.
155. Johansen KL, Mulligan K, Schambelan M. Anabolic effects of nandrolone decanoate in patients receiving dialysis. *JAMA.* 1999;281:1275–1281.
156. Shahidi NT. Androgens and erythropoiesis. *N Engl J Med.* 1973;289:72–80.
157. Evans RP, Amerson AB. Androgens and erythropoiesis. *J Clin Pharmacol* 1974;14:94–101.
158. Rosano GM, Cornoldi A, Fini M. Effects of androgens on the cardiovascular system. *J Endocrinol Invest.* 2005;28(3 Suppl):32-8.
159. Ebenbichler CF, Sturm W, Gänzer H, et al. Flow-mediated, endothelium-dependent vasodilatation is impaired in male body builders taking anabolic-androgenic steroids. *Atherosclerosis.* 2001;158(2):483-90.
160. Lenders JW, Demacker PN, Vos JA, et al. Deleterious effects of anabolic steroids on serum lipoproteins, blood pressure, and liver function in amateur body builders. *Int J Sports Med.* 1988;9(1):19-23.
161. McNutt RA, Ferenchick GS, Kirilin PC, Hamlin NJ. Acute myocardial infarction in a 22-year-old world class weight lifter using anabolic steroids. *Am J Cardiol.* 1988;62(1):164.
162. Luke JL, Farb A, Virmani R, Sample RH. Sudden cardiac death during exercise in a weight lifter using anabolic androgenic steroids: pathological and toxicological findings. *J Forensic Sci.* 1990;35(6):1441-7.
163. Kennedy MC, Lawrence C. Anabolic steroid abuse and cardiac death. *Med J Aust.* 1993;158(5):346-8.
164. Furlanello F, Serdoz LV, Cappato R, De Ambroggi L. Illicit drugs and cardiac arrhythmias in athletes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007;14(4):487-94.
165. Luseti M, Licata M, Silingardi E, Reggiani Bonetti L, Palmiere C. Pathological changes in anabolic androgenic steroid users. *J Forensic Leg Med.* 2015;33:101-4.
166. Angell PJ, Ismail TF, Jabbour A, et al. Ventricular structure, function, and focal fibrosis in anabolic steroid users: a CMR study. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114(5):921-8.
167. Payne JR, Kotwinski PJ, Montgomery HE. Cardiac effects of anabolic steroids. *Heart.* 2004;90(5):473-5.

168. Gheshlaghi F, Piri-Ardakani MR, Masoumi GR, Behjati M, Paydar P. Cardiovascular manifestations of anabolic steroids in association with demographic variables in body building athletes. *J Res Med Sci.* 2015;20(2):165-8.
169. Freedman J, Glueck CJ, Prince M, Riaz R, Wang P. Testosterone, thrombophilia, thrombosis. *Transl Res.* 2015;165(5):537-48.
170. Ko EY, Siddiqi K, Brannigan RE, Sabanegh ES Jr. Empirical medical therapy for idiopathic male infertility: a survey of the American Urological Association. *J Urol.* 2012;187(3):973-8.
171. Neri M, Bello S, Bonsignore A, et al. Anabolic androgenic steroids abuse and liver toxicity. *Mini Rev Med Chem.* 2011;11(5):430-7.
172. O'Sullivan AJ, Kennedy MC, Casey JH, Day RO, Corrigan B, Wodak AD. Anabolic-androgenic steroids: medical assessment of present, past and potential users. *Med J Aust.* 2000;173(6):323-7.
173. Scott MJ 3rd, Scott AM. Effects of anabolic-androgenic steroids on the pilosebaceous unit. *Cutis.* 1992;50(2):113-6.
174. Beghi E, Logroscino G, Chiò A, et al. Amyotrophic lateral sclerosis, physical exercise, trauma and sports: results of a population-based pilot case-control study. *Amyotroph Lateral Scler.* 2010;11(3):289-92.
175. Talih F, Fattal O, Malone D Jr. Anabolic steroid abuse: psychiatric and physical costs. *Cleve Clin J Med.* 2007;74(5):341-4,346,349-52.
176. Zarrouf FA, Artz S, Griffith J, Sirbu C, Kommor M. Testosterone and depression: systematic review and meta-analysis. *J Psychiatr Pract.* 2009;15(4):289-305.
177. Basaria S, Wahlstrom JT, Dobs AS. Clinical review 138: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(11):5108-17.
178. Amiaz R, Seidman SN. Testosterone and depression in men. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2008;15(3):278-83.
179. Pope HG Jr, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. *Am J Psychiatry.* 1988;145(4):487-90.
180. Brower KJ. Anabolic steroids: addictive; psychiatric; and medical consequences. *Am. J. Addic.* 1992;1:100-14.
181. Brower KJ. Withdrawal from anabolic steroids. *Curr. Ther. Endocrinol. Metab.* 1994;5:291-6.

182. Matrisciano F, Modafferi AM, Togna GI, et al. 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.
183. Tucci P, Morgese MG, Colaianna M, et al. Neurochemical consequence of steroid abuse: stanozolol-induced monoaminergic changes. *Steroids*. 2012;77(3):269-75.
184. Sato SM, Schulz KM, Sisk CL, Wood RI. Adolescents and androgens, receptors and rewards. *Horm Behav*. 2008;53(5):647-58.
185. 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;12(12):e0189595.
186. Frye CA, Edinger KL, Lephart ED, Walf AA. 3alpha-androstanediol, but not testosterone, attenuates age-related decrements in cognitive, anxiety, and depressive behavior of male rats. *Front Aging Neurosci*. 2010;2:15.
187. 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.
188. Wood RI, Newman SW. Androgen receptor immunoreactivity in the male and female Syrian hamster brain. *J Neurobiol*. 1999;39(3):359–370.
189. 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.
190. McEwen BS, Biegon A, Davis PG, et al. Steroid hormones: humoral signals which alter brain cell properties and functions. *Recent Prog Horm Res*. 1982;38:41-92.
191. 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.
192. Galal AF, Zaki HF, Abdel-Salam OM, El-Eraky WI, El-Denshary ES. Behavioural and Neurochemical Consequences of Nandrolone Decanoate and Amino Acids Abuse in Rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2013;8:49-59.
193. 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.
194. Johansson P, Hallberg M, Kindlundh A, Nyberg F. The effect on opioid peptides in the rat brain, after chronic treatment with the anabolic androgenic steroid, nandrolone decanoate. *Brain Res Bull*. 2000;51(5):413-8.

195. Terenius L, Nyberg F. Opioid peptides in the cerebrospinal fluid of psychiatric patients. *Prog Brain Res.* 1986;65:207-19.
196. Kindlundh AM, Lindblom J, Bergström L, Wikberg JE, Nyberg F. The anabolic-androgenic steroid nandrolone decanoate affects the density of dopamine receptors in the male rat brain. *Eur J Neurosci.* 2001;13(2):291-6.
197. Hallberg M, Johansson P, Kindlundh AM, Nyberg F. Anabolic-androgenic steroids affect the content of substance P and substance P(1-7) in the rat brain. *Peptides.* 2000;21(6):845-52.
198. Johansson P, Ray A, Zhou Q, Huang W, Karlsson K, Nyberg F. Anabolic androgenic steroids increase beta-endorphin levels in the ventral tegmental area in the male rat brain. *Neurosci Res.* 1997;27(2):185-9.
199. Sajatovic M, Strejilevich SA, Gildengers AG, et al. A report on older-age bipolar disorder from the International Society for Bipolar Disorders Task Force. *Bipolar Disord.* 2015;17(7):689–704.
200. Guerra M, Prina AM, Ferri CP, et al. A comparative cross-cultural study of the prevalence of late life depression in low and middle income countries. *J Affect Disord.* 2016;190:362–368.
201. Alamo C, López-Muñoz F, García-García P, García-Ramos S. Riskbenefit analysis of antidepressant drug treatment in the elderly. *Psychogeriatrics.* 2014;14(4):261–268.
202. Weissman MM, Leaf PJ, Tischler GL, et al. Affective disorders in five United States communities. *Psychol Med.* 1988;18(1):141–153.
203. Yassa R, Nair V, Nastase C, Camille Y, Belzile L. Prevalence of bipolar disorder in a psychogeriatric population. *J Affect Disord.* 1988;14(3): 197–201.
204. Jokinen J, Nordström P. HPA axis hyperactivity as suicide predictor in elderly mood disorder inpatients. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33(10):1387–1393.
205. Ancelin ML, Carrière I, Scali J, Ritchie K, Chaudieu I, Ryan J. Angiotensin-converting enzyme gene variants are associated with both cortisol secretion and late-life depression. *Transl Psychiatry.* 2013;3:e322.
206. Sexton CE, Mackay CE, Ebmeier KP. A systematic review and metaanalysis of magnetic resonance imaging studies in late-life depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2013;21(2):184–195.
207. Boccia M, Acierno M, Piccardi L. Neuroanatomy of Alzheimer’s disease and late-life depression: a coordinate-based meta-analysis of MRI studies. *J Alzheimers Dis.* 2015;46(4):963–970.

208. Alexopoulos GS, Meyers BS, Young RC, Campbell S, Silbersweig D, Charlson M. 'Vascular depression' hypothesis. *Arch Gen Psychiatry*. 1997;54(10):915–922.
209. Diniz BS, Teixeira AL, Talib LL, Mendonça VA, Gattaz WF, Forlenza OV. Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. *World J Biol Psychiatry*. 2010;11(3):550–555
210. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010;67(5):446–457.
211. Castaneda AE, Suvisaari J, Marttunen M, et al. Cognitive functioning in a population-based sample of young adults with a history of nonpsychotic unipolar depressive disorders without psychiatric comorbidity. *J Affect Disord*. 2008;110(1–2):36–45.
212. Perna G, Iannone G, Alciati A, Caldirola D. Are anxiety disorders associated with accelerated aging? A focus on neuroprogression. *Neural Plasticity*. 2016;doi:10.1155/2016/8457612.
213. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:463–475.
214. Landgraf R, Wigger A, Holsboer F, Neumann I. Hyper-reactive hypothalamo-pituitaryadrenocortical axis in rats bred for high anxietyrelated behaviour. *J Neuroendocrinol*. 2005;11:405–407.
215. Steckler T, Holsboer F, Reul JM. Glucocorticoids and depression. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 1999;13:597–614.
216. Salmon P. Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: a unifying theory. *Clin Psychol Rev*. 2001;21:33–61.
217. Petty F, Kramer G, Wilson L. Prevention of learned helplessness: in vivo correlation with cortical serotonin. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992;43:361–367.
218. Petty F, Kramer G, Wilson L, Chae YL. Learned helplessness and in vivo hippocampal norepinephrine release. *Pharmacol Biochem Behav*. 1993;46:231–235.
219. Charney DS, Nestler EJ, Bunney BS. *Neurobiology of Mental Illness*. Oxford: Oxford University Press. 2004.
220. Meeusen R, De Meirleir K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med*. 1995;20:160–188.
221. Dunn AL, Reigle TG, Youngstedt SD, Armstrong RB. Brain norepinephrine and metabolites after treadmill training and wheel running in rats. *Med Sci Sports Exerc*. 1996;28:204–209.

222. Dishman RK. Brain monoamines, exercise, and behavioral stress: animal models. *Med Sci Sports Exerc.* 1997;29:63–74.
223. Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, et al. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci.* 2003;23:2889–2898.
224. O’Neal HA, Van Hoomissen JD, Holmes PV, Dishman RK. Prepro-galanin messenger RNA levels are increased in rat locus coeruleus after treadmill exercise training. *Neurosci Lett.* 2011;299:69–72.
225. Bodnar RJ, Klein GE. Endogenous opiates and behavior: 2004. *Peptides.* 2005;26:2629–2711.
226. Scarone S, Gambini O, Calabrese G, Sacerdote P, Bruni M, Carucci M, et al. Asymmetrical distribution of beta-endorphin in cerebral hemispheres of suicides: preliminary data. *Psychiatry Res.* 1999;32:159–166.
227. Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry.* 2013;23(4):27.
228. Yeung RR. The acute effects of exercise on mood state. *J Psychosom Res.* 1996;40:123–141.
229. Chen ZY, Jing D, Bath KG, Ieraci A, Khan T, Siao CJ, et al. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Sci Signal.* 2006;314:140.
230. Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25:836–844.
231. Eisch AJ. Adult neurogenesis: implications for psychiatry. *Prog Brain Res.* 2002;138:315–342.
232. Alomari MA, Khabour OF, Alzoubi KH, Alzubi MA. Forced and voluntary exercises equally improve spatial learning and memory and hippocampal BDNF levels. *Behav Brain Res.* 2013;15(247):34-9.
233. Anderson BJ, Rapp DN, Baek DH, McCloskey DP, Coburn-Litvak PS, Robinson JK. Exercise influences spatial learning in the radial arm maze. *Physiol Behav.* 2000;70:425–429.
234. Albeck DS, Sano K, Prewitt GE, Dalton L. Mild forced treadmill exercise enhances spatial learning in the aged rat. *Behav Brain Res.* 2006;168:345–348.
235. Seger AC. The basal ganglia in human learning. *Neuroscientist.* 2006;4:285–290.
236. Gligoroska JP, Manchevska S. The Effect of Physical Activity on Cognition – Physiological Mechanisms. *Materia Socio-Medica.* 2012;24(3):198-202.



237. Gomez-Pinilla F, Hillman C. The influence of exercise on cognitive abilities. *Compr Physiol*. 2013;3(1):403-28.
238. Kuphal KE, Fibuch EE, Taylor BK. Extended swimming exercise reduces inflammatory and peripheral neuropathic pain in rodents. *J Pain*. 2007;8(12):989-97.
239. Mazzardo-Martins L, Martins DF, Marcon R, Dos Santos UD, Speckhann B, Gadotti VM, Sigwalt AR, Guglielmo LG, Santos AR. High-intensity extended swimming exercise reduces pain-related behavior in mice: involvement of endogenous opioids and the serotonergic system. *J Pain*. 2010;11(12):1384-93.
240. Sluka KA, O'Donnell JM, Danielson J, Rasmussen LA. Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *J Appl Physiol*. 2013;15;114(6):725-33.
241. Ademir da Costa L, Célia Aparecida P, Ivair Donizeti G. Influence of low and high intensity physical exercise on hypernociception threshold and other parameters of rats. *Rev Bras Med Esporte*. 2006;12(5):248-254.
242. van der Staay FJ, Arndt SS, Nordquist RE. Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behav Brain Funct*. 2009;25:5-11.
243. 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.
244. 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.
245. 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):525–529.
246. Holmes A, Kinney JA, Wrenn CC, et al. Galanin GAL-R1 receptor null mutant mice display increased anxiety-like behavior specific to the elevated plus-maze. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2003;28(6):1031–1044.
247. 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):383-388.

248. Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*. 1980;13(2):167–170.
249. File SE, Hyde JR. Can social interaction be used to measure anxiety? *British Journal of Pharmacology*. 1978;62(1):19–24.
250. Krishnan V, Nestler EJ. Animal Models of Depression: Molecular Perspectives. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. 2011;7:121-147.
251. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977;266:730–732.
252. 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.
253. Morris RGM, Garrud P, Rawlings J, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. 1989;297:681-683.
254. Maguire EA, Nannery R, Spiers HJ. Navigation around London by a taxi driver with bilateral hippocampal lesions. *Brain*. 2006;129(11): 2894-2907.
255. O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Research*. 1971;34:171-175.
256. Taube JS, Muller RU, Ranck JB. Head direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats I. Description and quantitative analysis, *Journal of Neuroscience*. 1990;10:420-435.
257. Taube JS, Muller RU, Ranck JB. Head direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats II. The effects of environmental manipulations, *Journal of Neuroscience*. 1990;10:436-447.
258. Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues, *Learning and Motivation*. 1998;12:239-260.
259. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat, *Journal of Neuroscience Methods*. 1984;11:47-60.
260. Hölscher C. Stress impairs performance in spatial water maze learning tasks. *Behavioral Brain Research*. 1999;100(1-2):225-235.
261. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*. 2001;36(1):60-90.
262. Harrison FE, Hosseini AH, McDonald MP. Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks. *Behav Brain Res*. 2009;198:247-251.

263. Mathis C, Bott JB, Candusso MP, Simonin F, Cassel JC. Impaired striatum-dependent behavior in GASP-1-knock-out mice. *Genes Brain Behav.* 2011;10:299-308.
264. Lewejohann L, et al. Role of a neuronal small non-messenger RNA: behavioural alterations in BC1 RNA-deleted mice. *Behav Brain Res.* 2004;154:273-289.
265. Raber J, et al. Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis. *Radiat Res.* 2004;162:39-47.
266. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res.* 1988;31(1):47-59.
267. Dickerson BC, Eichenbaum H. The Episodic Memory System: Neurocircuitry and Disorders. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35(1):86-104.
268. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res.* 2004;1000:40–56.
269. Dickenson AH. Spinal cord pharmacology of pain. *Br J Anaesth* 1995;75:193–200.
270. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001;53:597–652.
271. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain.* 1992;51:5–17.
272. Sanders RD, Patel N, Hossain M, Ma D, Maze M. Isoflurane exerts antinociceptive and hypnotic properties at all ages in Fischer rats. *Br J Anaesth.* 2005;95:393–9.
273. Kawakita K, Funakoshi M. A quantitative study on the tail flick test in the rat. *Physiol Behav.* 1987;39(2):235-40.
274. Chapman CR, Casey R, Dubner KM, Foley RH, Gracely AE. Reading: Pain measurement: an overview. *Pain.* 1985;22:1-31.
275. Menendez L, Lastra A, Hidalgo A, Baamonde A. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. *J Neurosci Methods.* 2002;113:91–7.
276. Ankier SI. New hot plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. *Eur J Pharmacol.* 1974;27:1–4.
277. Pétervári E, Garami A, Soós S, Székely M, Balaskó M. Age-dependence of alpha-MSH-induced anorexia. *Neuropeptides.* 2010 ;44(4):315-22.
278. Kanayama G, Hudson JI, Pope HG. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: a looming public health concern? *Drug Alcohol Depend.* 2008;1;98(1-2):1-12.

279. Contarteze RV, Manchado Fde B, 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.
280. 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.
281. Dietze S, Lees KR, Fink H, Brosda J, Voigt JP. Food deprivation, body weight loss and anxiety-related behavior in rats. *Animals (Basel).* 2016;6(1):7.
282. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol.* 2003;463(1-3):3-33.
283. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods.* 1985;14(3):149-67.
284. 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.
285. 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;20;147(2):293-301.
286. Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr Protoc Neurosci.* 2007;8:8-9.
287. Rosenfeld CS, Ferguson SA. Barnes maze testing strategies with small and large rodent models. *J Vis Exp.* 2014;26(84):e51194.
288. Joksimovic J, Selakovic D, Matovic M, Zaletel I, Puskas N, Rosic G. The role of neuropeptide-Y in nandrolone decanoate-induced attenuation of antidepressant effect of exercise. *PLoS One.* 2017;12(6):e0178922.
289. Gantz I, Miwa H, Konda Y, Shimoto Y, Tashiro T, Watson SJ, DelValle J, Yamada T. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor. *J Biol Chem.* 1993;268:15174–15179.
290. Piacentino D, Kotzalidis GD, Del Casale A, Aromatario MR, Pomara C, Girardi P, Sani G. Anabolic-androgenic steroid use and psychopathology in athletes. A systematic review. *Curr Neuropharmacol.* 2015;13(1):101-21.
291. Williamson DJ, Young AH. Psychiatric effects of androgenic and anabolic-androgenic steroid abuse in men: a brief review of the literature. *J Psychopharmacol.* 1992;6(1):20-6.

292. Bisschop A, Gayan-Ramirez G, Rollier H, Dekhuijzen PN, Dom R, de Bock V, Decramer M. Effects of nandrolone decanoate on respiratory and peripheral muscles in male and female rats. *J Appl Physiol*. 1997;82(4):1112-8.
293. Wolden-Hanson T, Marck BT, Matsumoto AM. Blunted hypothalamic neuropeptide gene expression in response to fasting, but preservation of feeding responses to AgRP in aging male Brown Norway rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;287(1):138-46.
294. Wang Z, Yang Y, Xiang X, Zhu Y, Men J, He M. Estimation of the normal range of blood glucose in rats. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2010;39(2):133-7.
295. Aissaoui O, Amiali M, Bouzid N, Belkacemi K, Bitam A. Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1304-1312.
296. Kmiec Z, Pokrywka L, Kotlarz G, Kubasik J, Szutowicz A, Mysliwski A. Effects of fasting and refeeding on serum leptin, adiponectin and free fatty acid concentrations in young and old male rats. *Gerontology*. 2005;51(6):357-62.
297. Escrivá F, Gavete ML, Fermín Y, Pérez C, Gallardo N, Alvarez C, Andrés A, Ros M, Carrascosa JM. Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. *J Endocrinol*. 2007;194(1):131-41.
298. Sheriff MJ, Krebs CJ, Boonstra R. Assessing stress in animal populations: Dofecal and plasma glucocorticoids tell the same story? *Gen Comp Endocrinol*. 2010;166(3):614-9.
299. Gong S, Miao YL, Jiao GZ, Sun MJ, Li H, Lin J, Luo MJ, Tan JH. Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117503.
300. 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.
301. 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.
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. Bueno A, Carvalho FB, Gutierrez JM, Lhamas C, Andrade CM. A comparative study of the effect of the dose and exposure duration of anabolic androgenic steroids on behavior, cholinergic regulation, and oxidative stress in rats. *PLoS One*. 2017;12(6):e0177623.

304. Bitran D, Hilvers RJ, Frye CA, Erskine MS. Chronic anabolic-androgenic steroid treatment affects brain GABA(A) receptor-gated chloride ion transport. *Life sciences*. 1996;58(7):573–83.
305. 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.
306. 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.
307. Agren G, Thiblin I, Tirassa P, Lundeberg T, Stenfors C. Behavioural anxiolytic effects of low-dose anabolic androgenic steroid treatment in rats. *Physiol Behav*. 1999;66(3):503-9.
308. Lindqvist Bagge AS, Rosén T, Fahlke C, Ehrnborg C, Eriksson BO, Moberg T, Thiblin I. Somatic effects of AAS abuse: A 30-years follow-up study of male former power sports athletes. *J Sci Med Sport*. 2017;20(9):814-818.
309. Scaccianoce S, Caruso A, Miele J, Nistico' R, Nicoletti F. Potential neurodegenerative effect of anabolic androgenic steroid abuse. *J Biol Regul Homeost. Agents*. 2013;27(2):107–114.
310. 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.
311. Estrada M., Varshney A., Ehrlich B.E. Elevated testosterone induces apoptosis in neuronal cells. *J Biol Chem*. 2006;281(35):25492–25501.
312. 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;1165:21–29.
313. 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.
314. Peng YI, Lin SH, Chen TJ, Tai MY, Tsai YF. Effects of age on open-field behavior of male rats. *Chin J Physiol*. 1994;37(4):233-6.
315. Belviranlı M, Atalık KE, Okudan N, Gökbel H. Age and sex affect spatial and emotional behaviors in rats: the role of repeated elevated plus maze test. *Neuroscience*. 2012;27;227:1-9.

316. 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.
317. Duman CH, Schlesinger L, Russell DS, Duman RS. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Res.* 2008;14(1199):148-58.
318. Lalanza JF, Sanchez-Roige S, Cigarroa I, Gagliano H, Fuentes S, Armario A, Capdevila L, Escorihuela RM. Long-term moderate treadmill exercise promotes stress-coping strategies in male and female rats. *Sci Rep.* 2015;5(5):16166.
319. Rimmelle U, Zellweger BC, Marti B, Seiler R, Mohiyeddini C, Ehlert U, et al. Trained men show lower cortisol, heart rate and psychological responses to psychosocial stress compared with untrained men. *Psychoneuroendocrinology.* 2007;32:627–635.
320. Dunn AL, Dishman RK. Exercise and the neurobiology of depression. *Exerc Sport Sci Rev.* 1997;19:41–98.
321. Chaouloff F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med Sci Sports Exerc.* 1997;29:58–62.
322. Harber V, Sutton J. Endorphins and exercise. *Sports Med.* 1984;1: 154.
323. Russo-Neustadt A, Beard RC, Cotman CW. *Neuropsychopharmacology.* 1999;21:679–682.
324. Altar CA. Neurotrophins and depression. *Trends Pharmacol Sci.* 1999;20:59–62.
325. Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25:836–844.
326. Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry.* 2013;23(4):27.
327. Maniscalco JW, Zheng H, Gordon PJ, Rinaman L. Negative energy balance blocks neural and behavioral responses to acute stress by "silencing" central glucagon-like peptide 1 signaling in rats. *J Neurosci.* 2015;35(30):10701-14.
328. Selakovic D, Joksimovic J. Behavioural effects of short-term total food restriction in rats. *Ser J Clin Res.* 2014;15(3):129-37.
329. Dietze S, Lees KR, Fink H, Brosda J, Voigt JP. Food deprivation, body weight loss and anxiety-related behavior in rats. *Animals (Basel).* 2016;6(1):7.
330. Lukkes JL, Mokin MV, Scholl JL, Forster GL. Adult rats exposed to early-life social isolation exhibit increased anxiety and conditioned fear behavior, and altered hormonal stress responses. *Horm Behav.* 2009;55(1):248-56.

331. Thorsell A, Slawecki CJ, El Khoury A, Mathe AA, Ehlers CL. The effects of social isolation on neuropeptide Y levels, exploratory and anxiety-related behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006;83(1):28-34.
332. Boulenger JP, Jerabek I, Jolicoeur FB, Lavallée YJ, Leduc R, Cadieux A. Elevated plasma levels of neuropeptide Y in patients with panic disorder. *Am J Psychiatry.* 1996;153(1):114-6.
333. Kaneda T, Makino S, Nishiyama M, Asaba K, Hashimoto K. Differential neuropeptide responses to starvation with ageing. *J Neuroendocrinol.* 2001;13(12):1066-75.
334. Baranowska B, Chmielowska M, Wolinska-Witort E, Roguski K, Wasilewska-Dziubinska E. The relationship between neuropeptides and hormones in starvation. *Neuro Endocrinol Lett.* 2001;22(5):349-55.
335. Keshtkar B, Daryanoosh F, Nabizadeh F, Tanideh N, Salesi M. The effect of training Program with Moderate and High Intensity Exercises on Neuropeptide Y Hormone and ghrelin in fat asprague-dawley rats. *ZUMS Journal.* 2014;22(94):96-110.
336. Rämson R, Jürimäe J, Jürimäe T, Mäestu J. The effect of 4-week training period on plasma neuropeptide Y, leptin and ghrelin responses in male rowers. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112(5):1873-80.
337. Zajadacz B, Skarpanska-Stejnborn A, Brzenczek-Owczarzak W, Juszkiewicz A, Naczka M, Adach Z. The influence of physical exercise on alterations in concentrations of neuropeptide Y, leptin and other selected hormonal and metabolic parameters in sportspeople. *Biology of Sport.* 2009;26(4):309-324.
338. Chiodera P, Volpi R, Pilla S, Cataldo S, Coiro V. Decline in circulating neuropeptide Y levels in normal elderly human subjects. *Eur J Endocrinol.* 2000;143(5):715-6.
339. Siljee-Wong JE. Melanocortin MC receptor expression sites and local function. *European Journal of Pharmacology* 2011;660:234–40.
340. Chaki S, Okubo T. Melanocortin-4 receptor antagonists for the treatment of depression and anxiety disorders. *Curr Top Med Chem.* 2007;7(11):1145-51.
341. Serova LI, Laukova M, Alaluf LG, Sabban EL. Intranasal infusion of melanocortin receptor four (MC4R) antagonist to rats ameliorates development of depression and anxiety related symptoms induced by single prolonged stress. *Behav Brain Res.* 2013;250:139-47.
342. 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.



343. Malatynska E, Steinbusch HW, Redkozubova O, et al. Anhedonic-like traits and lack of affective deficits in 18-month-old C57BL/6 mice: Implications for modeling elderly depression. *Exp Gerontol.* 2012;47(8):552-64.
344. Craft LL, Perna FM. The Benefits of Exercise for the Clinically Depressed. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry.* 2004;6(3):104-111.
345. Zheng H, Liu Y, Li W, et al. Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. *Behav Brain Res.* 2006;168(1):47-55.
346. Westrin A, Ekman R, Traskman-Bendz L. Alterations in corticotropin releasing hormone (CRH) and neuropeptide Y (NPY) plasma levels in mood disorder patients with a recent suicide attempt. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1999;9(3):205–11.
347. Heilig M, Wahlestedt C, Ekman R, Widerlov E. Antidepressant drugs increase the concentration of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity in the rat brain. 1988. *Eur J Pharmacol.* 147(3):465–7.
348. Jimenez-Vasquez PA, Overstreet DH, Mathe AA. Neuropeptide Y in male and female brains of Flinders Sensitive Line, a rat model of depression. Effects of electroconvulsive stimuli. *J Psychiatr Res.* 2000. 34(6): 405–12.
349. Chaki S, Ogawa S, Toda Y, Funakoshi T, Okuyama S. Involvement of the melanocortin MC4 receptor in stress-related behavior in rodents. *Eur J Pharmacol.* 2003;474(1):95-101.
350. Chaki S, Okuyama S. Involvement of melanocortin-4 receptor in anxiety and depression. *Peptides.* 2005;26(10):1952-64.
351. Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23:238–45.
352. Kaufman MJ, Janes AC, Hudson JI, et al. Brain and cognition abnormalities in long-term anabolic-androgenic steroid users. *Drug Alcohol Depend.* 2015;152:47-56.
353. 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.
354. 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.
355. Wong M, Moss RL. Patch-clamp analysis of direct steroidal modulation of glutamate receptor-channels. *J Neuroendocrinol.* 1994;6(3):347-55.

356. Bonson KR, Johnson RG, Fiorella D, Rabin RA, Winter JC. Serotonergic control of androgen-induced dominance. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;49(2):313-22.
357. Beauchet O. Testosterone and cognitive function: current clinical evidence of a relationship. *Eur J Endocrinol.* 2006;155(6):773-81.
358. Bergado JA, Almaguer W, Rojas Y, Capdevila V, Frey JU. Spatial and emotional memory in aged rats: a behavioral statistical analysis. *Neuroscience.* 2011;172:256–269
359. McEntee WJ, Crook TH. Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology (Berl).* 1993;111(4):391-401.
360. Richter-Levin G, Segal M. Age-related cognitive deficits in rats are associated with a combined loss of cholinergic and serotonergic functions. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;695:254-7.
361. Nitta A, Naruhashi K, Umemura M, et al. Age-related changes in learning and memory and cholinergic neuronal function in senescence accelerated mice (SAM). *Behav Brain Res.* 1995;72(1-2):49-55.
362. Belviranlı M, Atalık KE, Okudan N, Gökbel H. Age and sex affect spatial and emotional behaviors in rats: the role of repeated elevated plus maze test. *Neuroscience.* 2012;227:1-9.
363. Gligoroska JP, Manchevska S. The Effect of Physical Activity on Cognition – Physiological Mechanisms. *Materia Socio-Medica.* 2012;24(3):198-202.
364. 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.
365. Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, et al. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci.* 2003;17(10):2042-6.
366. Kishi T, Sunagawa K. Exercise training plus calorie restriction causes synergistic protection against cognitive decline via up-regulation of BDNF in hippocampus of stroke-prone hypertensive rats. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2012;7(10):6347547.
367. Kishi T, Hirooka Y, Nagayama T, et al. Calorie restriction improves cognitive decline via up-regulation of brain-derived neurotrophic factor: tropomyosin-related kinase B in hippocampus of obesity-induced hypertensive rats. *Int Heart J.* 2015;56(1):110–115.
368. Gøtzsche CR, Woldbye DP. The role of NPY in learning and memory. *Neuropeptides.* 2016;55:79-89.
369. Cleary J, Semotuk M, Levine AS. Effects of neuropeptide Y on short-term memory. *Brain Res.* 1994;653(1-2):210-4.

370. Shen Y, Fu WY, Cheng EY, Fu AK, Ip NY. Melanocortin-4 receptor regulates hippocampal synaptic plasticity through a protein kinase A-dependent mechanism. *J Neurosci*. 2013;33(2):464-72.
371. Giuliani D, Neri L, Canalini F, et al. NDP- $\alpha$ -MSH induces intense neurogenesis and cognitive recovery in Alzheimer transgenic mice through activation of melanocortin MC4 receptors. *Mol Cell Neurosci*. 2015;67:13-21.
372. Tsutsui KT, Wood RI, Craft RM. Anabolic-androgenic steroid effects on nociception and morphine antinociception in male rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2011;99(3):500-8.
373. 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.
374. Yeziarski RP. The effects of age on pain sensitivity: preclinical studies. *Pain Med*. 2012;13 Suppl 2:S27-36.
375. Hess GD, Joseph JA, Roth GS. Effect of age on sensitivity to pain and brain opiate receptors. *Neurobiol Aging*. 1981;1:49-55.
376. Wang S, Albers KM. Behavioral and cellular level changes in the aging somatosensory system. *Ann NY Acad Sci*. 2009;1170:745-749.
377. Liu Y, Ni Y, Zhang W, Sun YE, Ma Z, Gu X. Antinociceptive effects of caloric restriction on post-incisional pain in nonobese rats. *Sci Rep*. 2017;7(1):1805.
378. de los Santos-Arteaga M, Sierra-Domínguez SA, Fontanella GH, Delgado-García JM, Carrión AM. Analgesia induced by dietary restriction is mediated by the kappa-opioid system. *J Neurosci*. 2003;23(35):11120-6.
379. Khasar SG, Reichling DB, Green PG, Isenberg WM, Levine JD. Fasting is a physiological stimulus of vagus-mediated enhancement of nociception in the female rat. *Neuroscience*. 2003;119(1):215-21.
380. Khasar SG, Isenberg WM, Miao FJ, Gear RW, Green PG, Levine JD. Gender and gonadal hormone effects on vagal modulation of tonic nociception. *J Pain*. 2001;2(2):91-100.
381. Poole S, Bristow AF, Lorenzetti BB, Das RE, Smith TW, Ferreira SH. Peripheral analgesic activities of peptides related to alpha-melanocyte stimulating hormone and interleukin-1 beta 193-195. *Br J Pharmacol*. 1992;106(2):489-92.
382. Walker JM, Akil H, Watson SJ. Evidence for homologous actions of pro-opiocortin products. *Science*. 1980;210(4475):1247-9.

383. RÁCZ B, Halasy K. Kappa opioid receptor is expressed by somatostatin- and neuropeptide Y-containing interneurons in the rat hippocampus. *Brain Res.* 2002;931(1):50-5.
384. Zhang Y, Lundeberg T, Yu L. Involvement of neuropeptide Y and Y1 receptor in antinociception in nucleus raphe magnus of rats. *Regul Pept.* 2000;95(1-3):109-13.
385. Xu AJ, Liu TT, He ZG, Wu W, Xiang HB. CeA-NPO circuits and REM sleep dysfunction in drug-refractory epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2015;51:273-6.
386. Xu LJ, Liu TT, He ZG, Hong QX, Xiang HB. Hypothesis: CeM-RVLM circuits may be implicated in sudden unexpected death in epilepsy by melanocortinergic-sympathetic signaling. *Epilepsy Behav.* 2015;45:124-7.
387. Liu H, Kishi T, Roseberry AG, et al. Transgenic mice expressing green fluorescent protein under the control of the melanocortin-4 receptor promoter. *J Neurosci.* 2003;23(18):7143-54.
388. Gelez H, Poirier S, Facchinetti P, Allers KA, Wayman C, Bernabé J, Alexandre L, Giuliano F. Neuroanatomical distribution of the melanocortin-4 receptors in male and female rodent brain. *J Chem Neuroanat.* 2010;40(4):310-24.
389. Li ZX, Liu BW, He ZG, Xiang HB. Melanocortin-4 receptor regulation of pain. *Biochim Biophys Acta.* 2017;1863(10 Pt A):2515-2522.
390. Bellasio S, Nicolussi E, Bertorelli R, Reggiani A. Melanocortin receptor agonists and antagonists modulate nociceptive sensitivity in the mouse formalin test. *Eur J Pharmacol.* 2003;482(1-3):127-32.

## СКРАЋЕНИЦЕ

ААС – андрогени анаболички стероиди

DHEA – дехидроепиандростерон

DHEA-S – дехидроепиандростерон-сулфат

ДХТ – дихидротестостерон

НД – нандролон-деcanoат

ЦНС – централни нервни систем

GABA – гама-аминобутерна киселина

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

VEGF – васкуларни ендотелни фактор раста

АТР – аденозин трифосфат

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

ВППИ – време до појаве прве имобилности

БЕИ – број епизода имобилности

УВИ – укупно време имобилности

ПТЕИ – просечно трајање епизоде имобилности

ВП тест – тест вруће плоче

PBS – раствор фосфатног пуфера

AR – андрогени рецептор

ER – естрогени рецептор

BP – време до реакције

DG – дентатни вирус

$\alpha$ MSH -  $\alpha$  меланостимулирајући хормон

NPY - неуропептид Y

