



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

ЕФЕКТИ АНАБОЛИЧКИХ СТЕРОИДА НА
КАРДИОВАСКУЛАРНИ СИСТЕМ ПАЦОВА

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

др Маја Јевђевић

Крагујевац, 2015. године

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
1.1. Историјат примене анаболичких стероида	2
1.2. Терапијска примена анаболичких стероида	3
1.3. Најчешће коришћени анаболички стероиди	4
1.4. Нежељени ефекти анаболичких стероида	7
1.5. Утицај андрогених анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем	8
1.6. Утицај андрогених анаболичких стероида на параметре оксидативног стреса	15
2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	20
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	21
3.1.1. Комплет реагенаса за припремање Krebs-Hensenleit-овог перфузионог раствора	22
3.1.2. Комплет реагенаса за детерминацију индекса липидне пероксидације (TBARS)	22
3.1.3. Комплет реагенаса за детерминацију азот монооксида (NO) у облику нитрита	22
3.1.4. Комплет реагенаса за детерминацију супероксид ањонског радикала (O_2^-)	23
3.1.5. Комплет реагенаса за детерминацију водоник пероксида (H_2O_2)	23
3.2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ МОДЕЛ	23
3.2.1. Метод ретроградне перфузије изолованог срца при променљивом притиску	23
3.2.2. Langendorff апарат LF-01 F-P	24
3.3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ПРОТОКОЛ	26
3.4. БИОХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ	30
3.4.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)	30
3.4.2. Одређивање нитрита (NO_2^-)	31
3.4.3. Одређивање супероксид анион радикала (O_2^-)	31
3.4.4. Одређивање водоник пероксида (H_2O_2)	32
3.6. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	33
4. РЕЗУЛТАТИ	34
4.1. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА У РАЗЛИЧИТИМ КОНЦЕНТРАЦИЈАМА (1μM, 10 μM и 100 μM) НА КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА	35

4.2. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА У РАЗЛИЧИТИМ КОНЦЕНТРАЦИЈАМА (1µМ, 10 µМ и 100 µМ) НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА	41
4.3. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА НА ДИНАМИКУ ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ТОКУ ХРОНИЧНЕ СЕРИЈЕ ЕКСПЕРИМЕНТА (у узорцима плазме и лизираних еритроцита)	45
4.4. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА НА ДИНАМИКУ ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ТОКУ ХРОНИЧНЕ СЕРИЈЕ ЕКСПЕРИМЕНТА (у узорцима коронарног венског ефлуента)	67
4.5. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА НА ДИНАМИКУ КАРДИДИНАМСКИХ ПАРАМЕТАРА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ТОКУ ХРОНИЧНЕ СЕРИЈЕ ЕКСПЕРИМЕНТА	73
5. ДИСКУСИЈА	83
5.1. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У АКУТНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА	87
5.2. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ХРОНИЧНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА	88
5.3. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У АКУТНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА	92
5.4. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ХРОНИЧНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА	95
6. ЗАКЉУЧЦИ	102
7. ЛИТЕРАТУРА	104

I

УВОД

УВОД

1.1. Историјат примене анаболичких стероида

Анаболички стероиди су произведени 1930-их, пре свега ради лечења хипогонадизма, стања у којем тестиси не производе довољно тестостерона за раст, развој и сексуално функционисање. Током 30-их година, научници су открили да анаболички стероиди олакшавају раст телесне мускулатуре код лабораторијских животиња, што је довело до злоупотребе ових супстанци од стране бодибилдера, а касније и других спортиста.

Злоупотреба стероида међу спортистима је постала толико раширена да је то почело утицати на резултате (регуларност) спортских такмичења. Сматра се да су анаболички стероиди произведени у Немачкој почетком 30-тих година XX века, али да им није посвећена значајнија медијска пажња све до 1938. Године када је у америчком часопису намењеном дизајнерима тегова објављен чланак о тестостерон пропинату. 20 година касније (1958. Године), Америчка агенција за храну и лекове одобрава употребу чувеног Дианабола (метандростенолон), чиме је означен почетак ере масовне производње и употребе анаболичких стероида. Код нас су ова средства постала популарна почетком 90-тих година XX века.

- 1860-тих прва документована примена лекова у смислу побољшања атлетских способности (група пливача у Амстердаму)
- 1889. Године - *Brown-Sequard* – екстракт тестиса (повећана енергија и капацитет за рад)
- 1911. Године - *Pezard* – екстракт тестикуларног ткива повећава раст длаке код ушкопљеног петла
- 1931. Године - *Butenandt* – изоловање андростерона из урина мушкараца (15 mg из 15000 l урина)

- 1934. Године - *Butenandt* и *Dannenberg* – изолован дехидроепиандростерон у кристалном стању (слаба андрогена активност)
- 1935. Године - *David* – изолован тестостерон из тестиса бика (6-10 пута већа активност од андростерона), синтеза тестостерона, немачки војници га користе због веће издржљивости и веће агресивности
- 1935. Године - *Butenandt* и *Hanisch* – објављена синтеза тестостерона
- 1935. Године - *Kochakian* и *Murlin* – екстракт урина мушкарца проузрокује ретенцију азота и очекивани андрогени ефекат
- 1952. Године - Олимпијада, руски тим дизача тегова освојио златну медаљу уз коришћење синтетских стероида. Фармацеутска фирма А.У.С. пустила у промет прве анаболичке стероиде
- 1970-тих - пораст интересовања за анаболике, професионални атлетичари открили погодности коришћења андрогених анаболичких стероида
- 1975. Године - Интернационални Олимпијски Комитет званично забранио употребу анаболичких стероида
- 1988. Године - акт о злоупотреби лекова – продаја анаболика у немедицинске сврхе је илегална
- 1990. Године - поседовање анаболика без рецепта у САД је противзаконито [1].

1.2. Терапијска примена анаболичких стероида

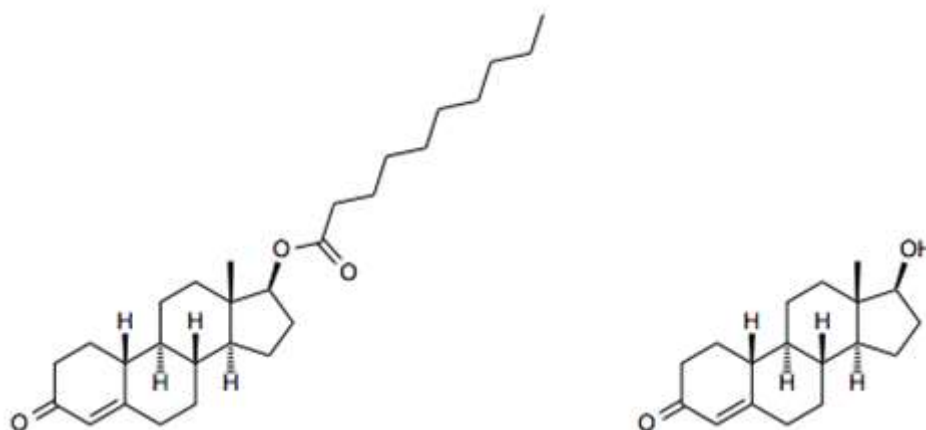
Анаболички стероиди су синтетички деривати мушког полног хормона тестостерона. Настали су као покушај да се синтетишу стероиди који ће, попут тестостерона, имати анаболичко деловање. Они подстичу раст телесне мускулатуре (анаболички ефекти) и развој секундарних мушких карактеристика (андрогени ефекти), а остварују и друге ефекте. Ефекти анаболичких стероида могу бити анаболички и андрогени. Анаболички ефекти су повећање синтезе протеина, повећање мишићне снаге и масе, повећање апетита, повећана продукција црвених крвних зрнаца.

Тестостерон узрокује ретенцију азота повећањем синтезе протеина и мишићне масе, смањени катаболизам и повећани анаболизам протеина у мушким сексуалним органима и мишићима. Претпоставља се да поспешују синтезу протеина мускулатуре, доводи до хипертрофије мишићних влакана (повећање ћелија), а не хиперплазије (пролиферација). Дејства анаболика слична су деловању андрогена (није могуће потпуно одвајање активности). Андрогени ефекти се код жена манифестују кроз клиторалну хипертрофију, повећану маљавост, смањење груди, продубљивање гласа, пораст либида, проређивање или престанак менструалних циклуса.

Основна медицинска употреба ових супстанци јесте приликом лечења закаснелог пубертета, неких врста импотенције, и код пацијаната са узнапредовалом ХИВ инфекцијом код којих се јавља губитак мишићне масе. Користе се и, али све ређе, за индуковање раста код деце са поремећајима раста као и за стимулацију коштане сржи. Такође, могу имати улогу у смањењу свраба код хроничне опструкције жучних канала и код неких облика апластичне анемије. Код жена се примењују са значајним мерама опреза, и то представници са минималним споредним андрогеним дејством. Једна од терапијских примена је код хормонски-зависног метастатског карцинома дојке [2,3].

1.3. Најчешће коришћени анаболички стероиди

Анаболички стероиди су деривати тестостерона. Настали су као покушај да се синтетишу стероиди који ће, попут тестостерона имати анаболичко деловање. При томе је захтев био да такви стероиди морају имати врло изражено анаболичко деловање (повећање мишићне масе), а смањено андрогено деловање. У питању су стероиди као што су нандролон, метандростенолон, метенолон, станозолол и слично.



Слика 1. Нандролон-деcanoат и нандролон

Метандростенолон се сматра једним од најјачих анаболичких стероида. Он снажно подстиче повећавање снаге и мишићне масе, побољшава и физичку издржљивост, и суперкомпензацију гликогена у мишићима. Међутим, метандростенолон је токсичан за јетру и може изазвати неповратна оштећења јетре. Метандростенолон у организму посредством ензима ароматазе прелази у естрогене. То има за последицу симптоме феминизације - раст дојки (гинекомастија), али је то највише изражено у облику повећаног задржавања воде у мишићима због ког спортиста добија "надуван" изглед, карактеристичан за бодибилдере. Јако лоше утиче на однос LDL/HDL па повећава опасност од развоја атеросклерозе. Подстиче андрогену ћелавост код предиспонираних особа, а такође и бенигну хипертрофију простате.

Нандролон је дериват нортестостерона. Нандролон се најчешће примењује у облику депо-препарата - уљане ињекције естра нандролон деcanoата. Након ињекције у мишиће уље се лагано разграђује и естар се поступно хидролизује контролисано отпуштајући нандролон. За разлику од метандростенолона, нандролон не изазива драматична повећања мишићне масе него повећање чврстине мишића и снаге, а такође и издржљивости. Овај анаболик далеко мање ароматизује у естрогене, па нуспојаве као што су гинекомастија и ретенција воде у мишићима нису карактеристичне за овај стероид. Али, нандролон снажно потиरे продукцију тестостерона па је накнадна терапија с кломифеном или хориогонадотропином неопходна. Нандролон има једно занимљиво и јако вредно својство - подстиче обнову хрскавичавог ткива. Зато је

оправдана његова терапијска примена код особа које пате од оштећења зглобова и лигамената.

Анаболички стероиди се јако често комбинују, а једна од најпознатијих комбинација јесте комбинација метандростенолона и нандролон деканоата. Тиме се постиже повећање квантитета (масе) али и квалитета (дефиниције) мишића.

Станозолол је дериват дихидротестостерона. Показује јаке анаболичке ефекте, а користи се у облику таблета или ињекција. Има осредње андрогене ефекте. Он има својство које не налазимо код других анаболичких стероида. Станозолол не изазива ретенцију воде и превелики раст мишићне масе, већ побољшава квалитет мишића (дефиницију) подстичући на тај начин повећање снаге и експлозивности. Али станозолол је доста токсичан за јетру.

1) Деривати 5 α -андростана (алкилација положаја 1, 2, 7 и 18 у андростану - анаболичке активности, местеролон (1 α , 5 α , 17 β)-17-хидрокси-1-метиландростан-3-он) и метенолон (5 α , 17 β)-17-хидрокси-1-метиландрост-1-ен-3-он).

2) Деривати 17 α -алкил-5 α -андростана – оксандролон 17 β -хидрокси-17 α -метил-2-окса-5 α -андростан-3-он и оксиметолон (5 α , 17 β)-17-хидрокси-2-(хидроксиметил)-17-метиландростан-3-он.

3) Деривати 17 α -метилтестостерона – метандростенолон 17 β -хидрокси-17-метил-андроста-1,4-диен-3-он (дианабол), оксиместерон (17 β)-4,17-дихидрокси-17-метиландрост-4-ен-3-он, боластерон (7 α ,17 β)-17-хидрокси-7,17-диметиландрост-4-ен-3-он, флуоксиместерон (11 β , 17 β)-9-флуоро-11,17-дихидрокси-17-метиландрост-4-ен-3-он.

4) Деривати 19-нортестостерона - нандролон – 19-нортестостерон 17 β -хидрокси-ростен-3-он, етилестренол (17 α)-19-норпрегн-4-ен-17-ол.

Тестостерон (у виду естра као што су *enantate*, *cypionate*, *propionate* или пак растворен у уљу или води), *Dianabol* (*Methandrostenolon*), *Deca durabolin* (*Nandrolon/Nor-*

testosteron), *Boldenon* (*Equipoise*), *Winstrol* (*Stanozolol*), *Androl50* (*Oxymetholone*), *Anavar* (*Oxandrolone*), *Halotestin* (*Fluoxymesterone*), *Fina* (*Trenbolone*) итд [4].

1.4. Нежељени ефекти анаболичких стероида

Анаболици су предмет злоупотребе од стране рекреативних и професионалних спортиста, који их узимају у циљу повећања мишићне масе. Употреба анаболичких стероида снажно подстиче повећање мишићне масе, подстиче снагу и агресивност, све карактеристике битне у атлетским и спринтерским спортовима. Међутим, повећана количина андрогена узрокује пад властите производње тестостерона те врло често, спортисти постају импотентни.

Ту бисмо издвојили повишен крвни притисак и ниво холестерола, стероидне акне, преураћену ћелавост, смањену сексуалну функцију, оштећења јетре (нарочито приликом оралне употребе ових средстава), престанак раста уколико се користе у пубертету, код мушкараца атрофију тестиса и гинекомастију. Такође може доћи до увећања срчаног мишића, што повећава ризик од добијања инфаркта у каснијем животном добу. Неки од ових ефеката су трајни и неповратни. Постоје радови који су покушали да повежу употребу стероида са добијањем рака на одређеним органима, али још увек нема конкретних доказа. Наведене последице се могу али и не морају појавити, што зависи од много фактора: врсте стероида који се користе, дужине стероидног циклуса, коришћених доза, коришћења заштите за време и после циклуса итд.

Многи корисници за време стероидног циклуса настоје да избегну или умање штетне последице узимања стероида. У ту сврху се користе бројни препарати који спречавају гинекомастију, штите од опадања косе, за хепатопротекцију (чување и регенерацију јетре), за брзо враћање природног хормонског баланса након завршетка циклуса итд [5].

1.5. Утицај андрогених анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем

Све више доказа у последње време указује на да постоји повезаност између употребе анаболичких стероида и појаве изненадне срчане смрти, инфаркта миокарда, измењене вредности липопотеина и срчане хипертрофије код људи који по навици користе ове лекове. Иако неки експериментални подаци добијени од животиња су у доброј корелацији са налазима код људи, штетни кардиоваскуларни ефекти употребе анаболичких стероида су слабо разумни. Докази указују на то да постоји најмање четири хипотетичка модела анаболичких стероида која доводе до нежељених кардиоваскуларних ефеката:

- 1) атерогени модел - се односи на утицај анаболичких стероида на концентрацију липопотеина;
- 2) тромбоза модел - се односи на утицај анаболичких стероида на факторе коагулације и тромбоцита;
- 3) вазоспазам модел - укључује ефекте анаболичких стероида на васкуларни систем азот монооксида;
- 4) инфаркт модел – односи се на утицај анаболичких стероида на поједине ћелије миокарда.

Будуће студије треба усмерити на утврђивање тачног механизма којим анаболички стероиди доводе до нежељених кардиоваскуларних ефеката, при одређивању релативних доприноса сваког од ових модела, и да идентификује друге могуће доприносиоће факторе као што су метаболизам ових стероида и ефеката потенцијалних метаболита на разне циљне органе.

Токсичност анаболичких стероида се може приписати дози и начину примене. Године 1984., *Burkett* и *Falduto* су пријавили да дозе које конзумирају спортисти су 10 до 100 пута више од нормалних терапеутских доза, а у једној групи од 24 дизача тегова најнижа доза је још увек 350% уобичајене терапијске дозе [6]. Друге студије су описале употребу 1000 пута виших доза од оних које су прописане за одговарајућа медицинска стања [7,8]. Врло често се истовремено користи више анаболичких стероида, са наизменичним повећањем и онда смањењем доза, за одређени ефекат тренинга. Такав

пирамидални распоред, називају "слагање", и не само да укључују супрафармаколошке дозе, већ се обично узимају у циклусима који трају у распону од 4 до 48 недеља [9].

Токсичност коришћења анаболичких стероида се доживљава веома различито између медицинских и атлетских заједница [6]. 1990. Године, *Goldberg et al* показали су да, упркос свеобухватним едукативним програмима о стероидима, ставови средњошколаца фудбалера према употреби анаболичких стероида нису значајно измењени [10]. Хипертензија је пролазни ефекат анаболичких стероида који нестаје са завршетком циклуса и не оставља последице. Студије које су обухватале мушкарце бодибилдере који су користили анаболичке стереоиде показале су значајно већи ризик од срчаних обољења у поређењу са онима који нису узимали. У једној студији повишени ризик је био присутан у 44% тест групе, 6 месеци након прекида узимања стероида [11].

У студијама здравих мушкараца спортиста тестираних само тестостероном, тестостероном и тестолактоном, и метилтестостероном, великих промена крвног притиска није било. Било да је конзумација била само-администрацијом, или се пажљиво пратитила, код спортиста који узимају велике дозе анаболичких стереоида, није се развила хипертензија у поређењу са спортистима који нису узимали [12]. *Olssen et al* пратили су 21 мушкарца и четири жене са хиперлиппротеинемидом који су примали 3 месеца терапију окандролоном, и нису били у стању да покажу промене у крвном притиску. Повећани укупни обим крви може се секундарно јавити услед употребе анаболичких стероида без повећања артеријског крвног притиска [13].

За разлику од претходних студија, *Lenders* и сарадници су нашли да се код спортиста повећава не само систолни притисак за чак 10 mmHg, већ анаболички стереоиди погоршава хипертензију још више. Испитивање ефеката анаболичких стереоида код људи, често збуњује због разлике између количине лека узете у теретани и оне доступне у студијама [8]. Спортисти узимањем великих доза анаболичких стереоида, повећавају свој средњи дијастолни притисак са 74 на 86 mmHg, док нема промена у крвном притиску пријављеним у двоструко слепој клиничкој студији користећи терапијске дозе нандролон деканоата [14].

Упорно тренирање стимулише хипертрофију зида леве коморе и интервентрикуларног септума независно од администрације егзогеног стероида. Ехокардиограми су показали да у поређењу мушкараца истих година, дизачи тегова

који активно конзумирају анаболичке стероиде су имали већу масу леве коморе, повећану дебљину интервентрикуларног септума, и смањење VO_{2max} у поређењу са онима који уопште не узимају стероиде или су престали неколико месеци раније. У поређењу испитаника који су недавно престали са анаболичким стероидима и оним који су активно конзумирали анаболичке стероиде је такође утврђено да имају већи пречник леве коморе и дебљи задњи зид у дијастоли. Суплементација анаболичким стероидима стога патолошки мења нормалну физиолошку адаптацију које се јављају после вежбања [15].

Urhausen et al су предложили да бодибилдери узимајући анаболичке стероиде стално повећају пулс и крвни притисак и да их то може довести до компензаторне хипертрофије зида леве коморе срца. Однос ових повећан физиолошких параметара приписаних анаболичким стероидима, на супрот резултатима самог вежбања, нису јасни. Два истраживања су показала да код бодибилдера који узимају анаболичке стероиде није пронађена значајна срчана хипертрофија [12, 16]. Међутим, ехокардиограми код двадесет и једног бодибилдера који су признали да користе анаболичке стероиде, употреба истих показала је не само повећање дебљине задњег зида леве коморе и енд-дијастолног волумена, али и смањење односа енд-дијастолног пречника коморе и телесне масе. Аутори су закључили да анаболички стероиди заједно са интензивним тренингом резултују концентричном хипертрофијом зида леве коморе и поремећеном дијастолном функцијом [12].

Раније неоткривена урођена срчана мана је одговорна за већину случајева изненадне срчане смрти спортиста који су млађи од 30 година [17]. У 29 случајева спортиста са изненадном срчаном смрћу, најчешћа структурна абнормалност је хипертрофична кардиомиопатија. Од испитиваних пацијената, 19 од њих је имало хипертрофију леве коморе, а 14 је имало дебљину зида леве коморе на горњој граници нормалности за високо обучене спортисте [18].

Dickerman et al су описали кардиомегалију са концентричном хипертрофијом леве коморе код 20-годишњег мушкараца који је после 3 месеца доживео изненадну срчану смрт након само-администрирања огромне депо дозе метенолона, ветеринарског тестостерон енантата и ветеринарског нандролон лаурата [19].

Администрација тестостерона, или било ког другог анаболичког стероида је генерисала значајну кардиомегалију у разним животињским моделима [20]. Код паса

третираних метандиеноном срчана хипертрофија је документована у оквиру 6 недеља. Пацови која су били изложени хроничној хипоксији на најмање 5 недеља тестостеронских третмана генерисали су хипертрофију десне коморе [21]. У другој студији пацова, нандролон деканоат ињекције су стимулисале кардиомегалију која се повлачи након престанка третмана. Иако хипертрофија миокарда удружена са употребом анаболичких стероида је прилично репродуцибилна код животиња, стварни механизми у којима се ово може јавити су и даље нејасни [22].

Анаболички стероиди потенцирају многе патолошке механизме који доводе до срчаних обољења. Бодибилдери при конзумирању анаболичких стероида имају већи ризик од атеросклерозе која секундарно повећава концентрацију липопротеина мале густине (LDL) и смањује концентрацију липопротеина високе густине (HDL) [23]. Повећање срчаног ризика настаје таложењем холестерола унутар крвних судова и формирањем тромба на местима руптуре плака [24]. Анаболички стероиди предиспонирају стварање тромба стимулативном агрегацијом тромбоцита и повећавају активност специфичних ензима коагулације [25]. Тромбоцитна и артериосклеротична срчана обољења могу независно повећати и ризик од коронарног вазоспазма. Аберантно коронарна и васкуларна патолошка стања после употребе анаболичких стероида су добро документована и могу се јавити као резултат бројних различитих механизма [26].

Употреба андрогена и андрогених анаболичких стероида код спортиста је повезана са великим бројем кардиоваскуларних поремећаја, како акутних (као што су аритмогене тромбоемболијске епизоде или инфаркт миокарда) тако и хроничних (као што су хипертензија, атеросклероза или дисфункција леве коморе срца) [27,28,29].

Истраживања на тему употребе андрогених анаболичких стероида само су спровођена на животињама, јер етичка и правна разматрања забрањују њихову употребу код спортиста чак и за истраживачке сврхе. Постојеће студије код људи су или прикази случајева или студија где су спортисти ухваћени да користе андрогене анаболичке стероиде, са различитим дозама и у различитим периодима. Поред тога, многи од њих користе комбинације различитих супстанци, забрањених или не, тако да резултати нису били искључиво засновани на употреби андрогених анаболичких стероида. Експерименталне студије су показале да злоупотреба андрогених

анаболичких стероида доводи до хипертрофије скелетних мишића и повећања акумулације колагена и промене које се слично детектују у миокарду [30]. Студије код пацова и мишева су показале да андрогених анаболички стероиди злоупотребом доводе до хипертрофије миокарда и фиброзе миокарда тј. Уништавање митохондрија и других елемената на кардиомиоцитима, поремећаја микроциркулације, и до погоршања систолне и дијастолне функције. Обдукцијске студије код спортиста који су користили андрогене анаболичке стероиде су пронашле инфилтрације еозинофила у ћелијама миокарда, као и деструкцију миофибрила. Ендотелна дисфункција је такође овде приметна [31,32].

Већина студија пореди ехокардиографске резултате између корисника андрогених анаболичких стероида и здраве контролне групе. *Dickerman et al* је пронашао значајно задебљање зида леве коморе код спортиста који користе андрогене анаболичке стероиде у односу на спортисте који не користе андрогене анаболичке стероиде. Заиста, у једном случају дебљина зида леве коморе је била 16 mm. Међутим, нико од њих није показао дијастолну дисфункцију. Друге студије пријављују сличне резултате [33].

Насупрот томе, изван број студија не налази значајну разлику у хипертрофији леве коморе срца између корисника андрогених анаболичких стероида и оних који не користе [34].

У већини случајева, хипертрофија је приметно концентрична, као што се и може очекивати након дуготрајног тренинга, а док је само у неколико случајева показана ексцентрична хипертрофија због дилатације срчаних шупљина. Важно је напоменути да студије до почетка 2000. године нису пронашле конкретне доказе за систолну и дијастолну дисфункцију код спортиста који користе андрогене анаболичке стероиде. Међутим, употребом најновије ехокардиографске технике, као што су доплер ткива, неки истраживачи су открили дијастолне дисфункције леве коморе код спортиста који су користили андрогене анаболичке стероиде [35]. *Deligiannis et al* у својој студији су показали да је употреба доплера миокарда била од помоћи у раном откривању дијастолне дисфункције изазване андрогеним анаболичким стероидима, која није била детектована помоћу класичних процена трансмитралног тока [36]. Дијастолна дисфункција мора да буде у корелацији са дозом и дужином примене андрогених анаболичких стероида. Осим дијастолне дисфункције леве коморе, *D'Andrea et al* користећи доплер миокарда и снимање стопе напрезања, такође бележи ране налазе

погоршаног стања систолне функције код корисника андрогених анаболичких стероида [37]. Врло је вероватно да студије које користе најновије неинвазивне дијагностичке технике, ће потврдити могућност да ће андрогени анаболички стероиди довести до кардиомиопатије код спортиста, углавном због директног токсичног ефекта на миокард [38]. Постоје извештаји спортиста са дилатираном кардиомиопатијом срца, приликом злоупотребе андрогених анаболичких стероида. У неколико студија је описан случај акутног инфаркта миокарда и тромбоемболијско васкуларне епизоде код спортиста који користе андрогене анаболичке стероиде [39,40].

Неколико студија је описало случајеве акутног инфаркт миокарда и тромбоемболијских васкуларних епизода код спортиста који користе андрогене анаболичке стероиде [41]. Следећи механизми су били укључени у настанак артеротромбозе коронарних артерија код корисника стероида: атерогенеза, тромбоза, вазоспазам и директна оштећења након инфаркт. Још један узрок артеротромбозе може бити повећање еритроцита које је изазвано тестостероном. Бројне студије су показале значајан поремећај метаболизма липида код спортиста који су користили андрогене анаболичке стероиде [42]. У ревијском раду који је објавио *Glazer* је пријављено је смањење липопротеина високе густине (HDL) од 39-70% и HDL₂ до 71-89%, повећање хепатичне триацилглицериде липазе од 143-232%, повећање липопротеина мале густине (LDL) за 36%, а смањење аполипопротеина-А1 од 33-41%. Значајно смањење липопротеина-алфа и повећање хомоцистеина такође су описани [43,44].

Користан ефекат андрогених анаболичких стероида на агрегацију тромбоцита и механизам тромбозе, углавном се одвија кроз активирање простагландина и плазминогена, то је познати процес из експерименталних студија. Међутим, постоје различити резултати у вези ефеката стероида на механизме тромбозе код спортиста [45]. Поред тога, постоји само неколико извештаја о деловању стероида на васкуларне функције код спортиста. *Sader et al* су измерили дебљину интима-медије каротиде и реактивност радијалне и брахијалне артерије код билдера који користе андрогене анаболичке стероиде. Они су пронашли и безначајно повећање дебљине у пречнику артерија у односу на кориснике који нису корисници, који се углавном приписује задржавању течности. Мали степен ендотелне дисфункције такође је пријављен и код других истраживача. *Kasikcioglu et al* су уочили промене еластичности зида аорте код спортиста који су узимали стероиде. *Santora et al*, користећи се електронским снопом

томографског система, пронашли су повећану концентрацију калцијума у коронарним артеријама бодибилдера који су користили андрогене анаболичке стероиде. Аутори претпостављају да се ово дешава због директног токсичног или инфламаторног ефекта стероида на васкуларни ендотел [46].

Било је неколико случајева изненадне срчане смрти код спортиста који користе андрогене анаболичке стероиде. Међутим, учесталост и патофизиолошки механизам изненадне срчане смрти остаје непознат. Неки истраживачи су закључили да андрогени анаболички стероиди имају аритмогену акцију, док други верују да изненадна срчана смрт је секундарни догађај, резултат кардиоваскуларних нежељених дејстава су изазвана њиховом злоупотребом [47]. Случајеви атријалне фибрилације и вентрикуларне тахикардије такође су присутне код спортиста [48]. Сугерисано је да хронична примена андрогена анаболичких агенаса продужава и повећава нехомогену реполаризацију, чиме стварају аритмогене супstrate [49]. Ови поремећаји су очигледнији код спортиста са значајном хипертрофијом срца као адаптацијом на дугорочно вежбање (спортско срце) или употребом андрогених анаболичких супстанци. У електрофизиолошким студији *Stolta et al*, код спортиста који узимају андрогене анаболичке стероиде утврђено је да имају повећану QT дисперзију и кратке QT интервале. Аутори су повезали ове промене са испољавањем аритмије. Поред тога, у експерименталној студији *Pereira-Junior et al* су открили да је давање нандролон деканоата пацовима довело до поремећаја функције срчаног аутономног нервног система. Аналогни резултати су нађени и код спортиста који узимају андрогене анаболичке стероиде који су представили смањење сензитивности барорефлекса [50]. *Fineschi et al*, подржавају да андрогени анаболички стероиди доводе до дегенеративних промена у ендомиокардним симпатичким неуронима, што ће резултирати појавом малигних аритмија [51]. Овај дегенеративни механизам је познат као катехоламинска миотоксичност.

У експерименталним студијама је нађено да андрогени анаболички стероиди доводе до хипертензије. Повећање секреције 11-деоксикортикостерона, норепинефрина, ренина или алдостерона је имплицирано као могући механизам. Међутим, клиничка испитивања код спортиста имају конфликтне резултате. Неки су приметили значајано повећање систолног и дијастолног крвног притиска, док је код других примећено само у каснијем периоду. *Riebe et al* су приписали повећање крвног

притиска код спортиста који узимају стероиде, повећању волумена плазме [52]. Насупрот томе, други аутори су нашли значајно повећање крвног притиска у мировању или током вежбања код спортиста који користе стероиде у односу на спортисте који не користе стероиде [53].

1.6. Утицај андрогених анаболичких стероида на параметре оксидативног стреса

Регуларно физичко вежбање је повезано са смањењем учесталости срчаних обољења путем смањења холестерола, високог крвног притиска, гојазности и интолеранције на глукозу [54]. Побољшање толеранције срца на исхемијске догађаји представља једну од најзначајнијих и клинички релевантних адаптационих механизма повезаних са акутним и хроничним вежбањем. Вежбе адаптације су повезане са појачаном функцијом срчане контрактилности и смањењем величине инфаркта миокарда после исхемије, која зависи од правилности вежбе и интензитета [55,56]. Молекуларни механизми укључени у ове прилагођавајуће одговоре укључују повећану експресију *heat shock* протеина индукцију азот оксид синтазе [57], активације протеин киназе Ц [56] као и повећања активности антиоксидационих ензима [58].

Реактивне кисеоничне врсте (ROS) су споредни производи аеробног ћелијског метаболизма и антиоксидативних ензима, као што су супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза, играју кључну улогу у превазилажењу њихових штетних последица. Неравнотежа између ROS генерације и унутарћелијских нивоа антиоксидативне одбране доводи до оксидативног стреса, услова који је повезан са апоптозом, неуродегенеративним болестима и исхемије-реперфузије (И/Р) оштећењем [59]. Неколико линија доказа указују на масовну производњу ROS након ја исхемија-реперфузија догађаја у различитим ткивима, као што су мозак, васкуларне ендотелне ћелије и срце. Реактивне врсте кисеоника и азота се у физиолошким условима стварају током нормалног ћелијског метаболизма у разним биохемијским реакцијама. За обе врсте је доказано да могу да испољавају корисне и штетне ефекте. Створене у малим концентрацијама, испољавају низ физиолошких улога, као што су одбрана од инфекција, пренос сигнала у ћелијама, имунорегулација, неуротрансмисија. Штетни ефекти ROS подразумевају биолошка оштећења која се јављају у условима оксидативног стреса. Међу механизмима који су укључени у вежбе кардиопротекције, миокардни ензимски антиоксиданси су посебно значајни јер спречавају или одлажу

оксидативна оштећења неколико биомолекулима [60]. У ствари, широко је прихваћено да повећана оксидација ниске густине липопротеина (LDL) би била кључни догађај у прогресији атеросклерозе [61]. Међутим, упркос бројним извештајима који подржавају корисне ефекте антиоксиданаса у спречавању оксидације LDL, велике клиничке студије имају приказане недоследне резултате о ефикасности антиоксиданаса против атеросклерозе [62].

Анаболички андрогени стероиди су деривати тестостерона, који су синтетисани у циљу побољшања мноштва људских поремећаја, укључујући и оне повезане са катаболичким стањима, остеопорозом, гладовањем, опекотинама и другим. Први случај злоупотребе анаболичких андрогених стероида је описан 1950. године, код спортиста који дижу тегове, а касније и код не-спортиста са циљем повећања физичких перформанси и добитка мишићне масе. Упркос позитивним ефектима анаболичких андрогених стероида у побољшању физичких перформанси, више студија је показало да велике дозе андрогених анаболичких стероида повећава ризик од кардиоваскуларних болести, нпр. повећаног нивоа укупног холестерола и липопротеина ниске густине, смањен ниво липопротеина високе густине, повишен крвни притисак, тромбоза, инфаркт миокарда и срчана инсуфицијенција [63]. Занимљиво, *Du Toit et al* недавно су показали да пацови који пливају и третирани анаболичким андрогеним стероидима губе побољшање срчане толеранције на исхемијске догађаје изазване вежбањем [64].

Међутим, ниједан молекуларна механизам није предложен као детерминанта оштећења кардиопротекције код животиња које су третиране анаболичким андрогеним стероидима и вежбају. Истраживани су ефекти нандролон деканоата (DECA) на толеранцију срца на исхемијске догађаје као и на активност антиоксидативних ензима код неактивних и пацова који вежбају. Није било значајних забележених разлика у тежини тела или апсолутној тежини срца између пацова који пливају тренирају и који не тренирају, а примају нандролон. Нандролон деканоат је изазвао значајно повећање тежине срца код пацова који су и тренирали и примали нандролон деканоата у поређењу са пацовима који су само тренирали. Нандролон деканоат је такође изазвао значајно смањење у тежини тестиса код пацова који тренирају и који не тренирају, сугеришући да је атрофија тестиса повезана високим дозама андрогених анаболичких стероида.

Током глобалне исхемије проценат развијеног притиска у левој комори – LVDP опао је на нулу у првих 5 минута и код пацова који тренирају и који не тренирају. У складу са другим студијама, која се остварују пацови који тренирају показали су повећани % LVDP на крају реперфузије у поређењу са пацовима који не тренирају. Делимични опоравак (20-25%) контрактилне функције на крају реперфузије остварен је групи пацова који тренирају и примају нандролон деканоат, док је група која само тренира показала значајно побољшање (око 70%) контрактилне функције, што указује да третман нандролон деканоатом смањује напором изазвано кардиопротективно деловање након исхемије/реперфузије. У циљу да се одгонетне један од могућих молекуларних механизма који су укључени у оштећење кардиопротективног деловање изазваног употребом нандролон деканоата, активности четири антиоксидациона ензима (супер оксид дисмутаза - SOD, глутатион пероксидаза - GPx, глутатион редуктаза - GR и каталаза) су одређивана. Вежбање индукује значајно повећање активности SOD и GPx код пацова који само тренирају [55,58]. Занимљиво, третман нандролон деканоатом укида вежбањем-индуковано повећање активности SOD и GPx, показујући ниво веома близак групи животиња које не тренирају. За разлику од SOD и GPx, само вежбање није индуковало значајан пораст активности GR, али третман нандролон деканоатом је био у стању да значајно инхибира активности GR у групи која тренира и прима нандролон деканоат. Осим тога, такође је примећено да је код пацова који не тренирају нандролон деканоат промовисао благи, али не значајан, пад активности и GPx и GR. Нема значајне статистичке разлике у активности каталазе међу свим експерименталним групама, али опет је нандролон деканоат изазвао мало, али не значајно смањење. Укупни подаци указују да је вежбањем-индуковано повећање активности антиоксидативних ензима, смањено употребом нандролон деканоата [65].

Туринабол, хлор-супституисано једињење метандиенона, је још један синтетички орални анаболички стероид са пријављеном злоупотрбом од стране спортиста у Источној Немачкој крајем 1980-их. Овај стероид је први пут синтетисан 1960. године [66]. Оксидативни стрес, независно од његовог порекла, сматра се главним узроком ендотелне дисфункције [67]. Администрација анаболичких стероида, самостално или у комбинацији са тренингом, доводе до промена у нивоима биомаркера оксидативног стреса и системима антиоксидантне одбране како у јетри пацова и скелетним мишићима, тако и у људском срцу [68].

Култивисане ћелије васкуларних глатких мишићних и ендотелне ћелије изложене оксидативном стресу, показују повећано скраћење теломере и убрзано ћелијско старење. Поред тога, активности теломеразе смањују одговор на оксидативни стрес, који се сматра директном последицом оксидативног стреса, пре него резултат преурањеног старења [69]. Оксидативни стрес индукован код зечева краткорочном администрацијом метанабола и туринабола је праћен кроз одређивање укупног антиоксидативног капацитета - TAC, тиобарбитуринска киселина реактивне врсте - TBARS, каталазе и смањена глутатиона – GSH. Мале дозе оба анаболичка стероида која су испитивана, нису значајније утицала ни на један од маркера оксидативног стреса који су праћени. Висока доза туринабола повећава активност каталазе за 11% и TBARS за 46%, док није запажен ефекат на GSH и TAC. Висока доза метанабола доводи до значајаног тренда смањења нивоа TAC за 46%, док је GSH повећан за 198% [70].

Добро је познато да срце је подложно штети слободних радикала, због своје својствене повишене оксидативне метаболичке активности и његовог крхког антиоксидантног отпорност, у односу на друге делове тела. *Germanakis et al* су нашли да примена туринабола и метанабола изазива оксидативни стрес. Међутим, резултати маркера оксидативног стреса указују на различите обрасце системског одговора оксидативног стреса за туринабол и метанабол, у моделу зеца. Конкретније, високе дозе метанабола смањују ниво TAC указујући на индукцију оксидативног стреса. Истовремено, уочено повећање нивоа GSH може одговарати вероватном механизму за спасавање који се супротставља индукцији оксидативног стреса. С друге стране, висока доза туринабол повећава TBARS, маркер липидне пероксидације, указује на индукцију оксидативног стреса. За разлику администрација метанабола, антиоксидансни одговора на оксидативни стрес се манифестује повећањем активности каталазе [70]. Иако се смањење активности GSH или каталазе очекује под оксидативним стресом, то није увек случај. У неколико студија, дошло је до повећања било у GSH или другим антиоксидативним факторима под утицајем оксидативног стреса. Штавише, примећен је пораст нивоа GSH у плазми пацова после индукције оксидативног стреса инсектицидима, диазиномом и пропоксуром. Објашњење за ову очигледну контрадикцију је, да понекад под условима оксидативног стреса организам сам повећава антиоксидансне молекуле као компензаторни механизам против слободних радикала [71].

II

ЦИЉЕВИ

ИСТРАЖИВАЊА

На основу свега претходно изложеног циљеви наше студије су били следећи:

1. Евалуација ефеката акутне и хроничне администрације нандролоне на функцију миокарда изолованог срца пацова;
2. Испитивање утицаја акутне и хроничне администрације нандролоне на коронарну циркулацију изолованог срца пацова;
3. Испитивање ефеката акутне администрације нандролоне на различите параметре оксидационог стреса (липидне пероксиде (TBARS), азот моноксид (NO), супероксид анјон радикал (O_2^-), и водоник пероксид (H_2O_2)) и на кардиодинамске параметре срчаног рада;
4. Испитивање ефеката хроничне администрације нандролоне на различите параметре оксидационог стреса (липидне пероксиде (TBARS), азот моноксид (NO), супероксид анјон радикал (O_2^-), и водоник пероксид (H_2O_2)) и на кардиодинамске параметре срчаног рада;
5. Испитивање учешћа различитих антиоксидативних ензима типа каталазе (CAT) и супероксид-дизмутазе (SOD) у акутним и хроничним ефектима нандролоне на кардиоваскуларни систем пацова.

III

МАТЕРИЈАЛ И

МЕТОДЕ

За припрему пуфера и перфузионих раствора коришћени су комерцијални реагенси *pro analysis* квалитета произвођача Sigma–Aldrich Chemie GmbH, (Немачка):

3.1.1. Комплет реагенаса за припремање Krebs-Hensenleit-овог перфузионог раствора:

Натријум хлорид (NaCl , 27.216 g/4L), калијум хлорид (KCl , 1.4 g/4L), магнезијум сулфат ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1.636 g/4L), калијум дихидроген фосфат ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 0.0644 g/4L), натријум бикарбонат (NaHCO_3 , 8.36g/4L), глукоза ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \times \text{H}_2\text{O}$, 8.8g/4L) и калцијум хлорид ($\text{CaCl}_{2(\text{anh.})}$, 1.117 g/4L).

За испитивање директних и хроничних утицаја нандролоне на изоловано срце пацова употребљена је комерцијална супстанца *Nandrolone decanoate (DECA, 300mg /10ml)*® произведена у Genox Laboratory, EU.

За аналитичко одређивање параметара оксидационог статуса, коришћени су комерцијални реагенси *pro analysis* квалитета произвођача Sigma–Aldrich Chemie GmbH, (Немачка):

3.1.2. Комплет реагенаса за детерминацију индекса липидне пероксидације (TBARS):

2-тиобарбитурна киселина (ТВА, $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$), Mr 144.15; натријум хидроксид (NaOH) Mr 40.00.

3.1.3. Комплет реагенаса за детерминацију азот монооксида (NO) у облику нитрита:

Сулфанилна киселина (4-амино бензенсулфонска киселина, $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$), Mr 173.19; N-(1-нафтил)-етилендиамин дихидрохидрат (NEDA, $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{C}_{12}\text{N}$), Mr 259.18; амонијум хлорид (NH_4Cl), Mr 53.49; Боракс ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$), Mr 381.4; 85% орто-фосфорна киселина (H_3PO_4), $\rho=1,685 \text{ gcm}^{-3}$; натријум нитрит (NaNO_2), Mr 69.00.

3.1.4. Комплет реагенаса за детерминацију супероксид ањонског радикала ($O_2^{\cdot-}$):

TRIS (Трис (хидроксиметил) аминоетан, $C_4H_{11}NO_3$), Mr 121.14; 37% хлороводонична киселина (HCl), $\rho=1,19 \text{ gcm}^{-3}$, Mr 36.5; Na_2EDTA , Mr 372.24; Нитро-тетразолијум плаво хлорид (NBT, $C_{40}H_{30}ClN_{10}O_6$), Mr 817.6; Желатин ($C_{15}H_{11}N_2 NaO_2$), Mr 61.5 kDa.

3.1.5. Комплет реагенаса за детерминацију водоник пероксида (H_2O_2):

Калијум хидрогенфосфат дихидрат ($K_2HPO_4 \times 2H_2O$) Mr 214.23; калијум дихидрогенфосфат дихидрат ($KH_2PO_4 \times 2H_2O$) Mr 164.09; натријум хлорид (NaCl) Mr 58.44; водоник пероксид (H_2O_2), Mr 34.01; D(+)-глукоза монохидрат (декстроза), Mr 198.17; фенол црвено (phenol red, $C_{19}H_{14}O_5S$), Mr 354.4; пероксидаза из коњске ротквице (peroxidase from horse radish – HRPO EC 1.11.1.7), Mr 44 kDa.

3.2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ МОДЕЛ

3.2.1. Метод ретроградне перфузије изолованог срца при променљивом притиску

За изучавање функције миокарда и коронарне циркулације определили смо се за модификовани *Langendorff*-ов модел изолованог срца, применљив на изолованом срцу сисара (пас, мачка, зец, заморчић).

Две класичне варијанте *Langendorff*-ове технике које се примењују у експерименталним истраживањима су:

- перфузија изолованог срца при константном протоку кроз коронарно васкуларно корито;
- перфузија изолованог срца при константном притиску кроз коронарно васкуларно корито;

при чему је други параметар променљива варијабла. У првој варијанти експерименталног модела променљива варијабла је притисак, који се региструје на писачу посебним системом преносника (трансдјусера), док је у другој варијанти експерименталног модела то проток, који се региструје „*flowmetrijski*“, тј. скупљањем

венског ефлуента у одређеном временском интервалу или помоћу „*flow-metra*“, који се апликује директно у коронарно артеријско корито.

У оба експериментална модела ради се о средњој вредности променљивог параметра, с обзиром да се апсолутне вредности не могу третирати као поуздане. Узрок томе су специфичности самог срчаног рада: понављање срчаних циклуса, чије радне компоненте (систола и дијастола) не трају исто, фреквенца срца која се сваког тренутка мења, минималне разлике у температури комплексног физиолошког раствора којим се срце перфундује итд. У циљу поузданости се, због тога, одређивање променљивог параметра у функцији задатог параметра регистује у трајању од 5 минута.

Ми смо се определили за прву варијанту модификованог *Langendorff*-овог модела, који као константну величину има проток, док је притисак променљива компонента у опсегу од 40 до 120 cmH₂O.

Избор овог модела је оправдан, јер кардиодинамски параметри, као испитивани феномен у нашем истраживању, управо подразумева променљивост притиска. Сагледавајући физиолошки аспект, перфузија изолованог срца при променљивом притиску има предност у односу на другу варијанту експерименталног модела.

3.2.2. *Langendorff* апарат *LF-01 F-P*

Експериментална истраживања у нашој студији су спровођена на *Langendorff* апарату марке *LF-01 F-P* произвођача Experimetria Ltd, Budapest, (Мађарска), (72).

Основне компоненте овог апарата су следеће:

1. Две вертикалне стаклене цеви, исте висине, од којих се цев мањег калибра налази у цеви већег калибра. Између површине ове две цеви циркулише вода, која се убацује у цев већег калибра путем бочних цеви и система црева, а претходно се у воденом купатилу загрева до одређене температуре. У цев мањег калибра се, методом негативног притиска убацује комплексан физиолошки раствор (у нашем случају Krebs-Henseleit-ов раствор), који има сличне перформансе као екстрацелуларна течност. Циркулишућа вода у цеви већег калибра се загрева тако да раствор у цеви мањег калибра на излазу из система има температуру 37 °C тј. оптималну телесну температуру. Цев мањег калибра се завршава излазом, на који се поставља препарат изолованог срца;

2. Резервоара у коме се налази комплексни Krebs-Henseleit-ов раствор, чија је запремина 4 литра, који је спојен са једне стране са унутрашњом цеви мањег калибра, а са друге стране са боцом у којој се налази смеша гасова O_2/CO_2 ;
3. Боце са мешом гасова у односу $O_2:CO_2=95\%:5\%$, а која је спојена са резервоаром у коме се налази Krebs-Henseleit-ов раствор. Боца са мешом гасова има двоструки задатак: 1) да постигне физиолошки парцијални притисак кисеоника и угљен диоксида какав егзистира у артеријској крви и 2) да негативним притиском који ствара у резервоару убацује раствор у унутрашњу цев система цеви;
4. Каниле, која спаја изводну цев система цеви и асцедентну аорту изолованог срца пацова;
5. Воденог купатила које загрева воду у спољашњој цеви и на тај начин индиректно постиже температуру физиолошког раствора од $37\text{ }^\circ\text{C}$ (изотермичност);
6. Инфузионе пумпе, којом се жељени агенс адекватном брзином (у зависности од базалног коронарног протока) администрира непосредно на споју каниле и асцедентне аорте,
7. Рачунара са одговарајућим софтвером (Spel Advanced HaemoSys v3.24) преко кога се континуирано прате кардиодинамски параметри срчаног рада. Рачунар је повезан са сензорима преко којих добија податке о раду срца.
8. Сензора - трансдјусера који су са једне стране повезани са различитим структурама изолованог срца, а са друге стране са рачунаром. Улога сензора је у континуираном регистровању функције миокарда - леве коморе (промена притисака, систолног и дијастолног притиска, срчане фреквенце, притисака у аорти). На нашем моделу Langendorff апарата постоје три врсте сензора. Први сензор (transducer BS4 73-0184) је повезан са лучно савијеном, танком металном цеви на чијем крају се налази балончић (пречника 5mm, latex/ најлон фолија) испуњен дестилованом водом. Овај балончић се након пресецања митралне валвуле убацује у леву комору, надува, и омогућава сензору директно регистровање притисака и срчане фреквенце из ове шупљине срца. На овај начин се региструју следећи параметри функције леве коморе: $dp/dt\ max$ – максимална стопа промене притиска у левој комори, (mmHg/s), $dp/dt\ min$ – минимална стопа промене притиска у левој комори, (mmHg/s), SLVP – систолни притисак у левој комори, (mmHg), DLVP – дијастолни притисак у левој комори, (mmHg), и HR – фреквенца рада срца, (bpm).

Обзиром на морфолошку и функционалну доминантност леве коморе, праћењем ових параметара се може објективно и прецизно испитати функција читавог срца. Чињеница да се сви наведени подаци добијају директно из саме срчане шупљине, доноси овом инвазивном поступку неопходну оригиналност и веродостојност.

Комплексни *Krebs Hensenleit*-ов раствор је по свом саставу врло сличан екстрацелуларној течности. Он се састоји из: NaCl – 118mmol/L, KCl - 4,7 mmol/L, MgSO₄ - 1,66 mmol/L, NaHCO₃ - 24,88 mmol/L, KH₂PO₄ - 1,18 mmol/l, глукоза (C₆H₁₂O₆) - 5,55 mmol/L, и CaCl₂ - 2,52 mmol/L. pH раствора износи 7,4. Улога овог раствора је да, захваљујући свом саставу, обезбеди одговарајућу исхрану срца и тиме му омогући несметан рад.

Овакав експериментални модел омогућава регистровање и анализу следећих кардиодиманских параметара:

- dp/dt max – максимална стопа промене притиска у левој комори, изражава се у mmHg/s,
- dp/dt min – минимална стопа промене притиска у левој комори, изражава се у mmHg/s,
- SLVP – систолни притисак у левој комори, изражава се у mmHg,
- DLVP – дијастолни притисак у левој комори, изражава се у mmHg, и
- HR – фреквенца рада срца, изражава се као број откуцаја срца у минути (bpm)
- MBP – средњи притисак у аорти, изражава се у mmHg

3.3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ПРОТОКОЛ

Све експерименталне процедуре су се спроводиле у Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију Факултета Медицинских Наука у Крагујевцу. У нашем истраживању смо користили модел изолованог срца пацова Wistar albino соја, као најоптималнији за испитивану проблематику. Старосна доб жртвованих пацова је била 10 недеља, пол мушки, а телесна маса 200±50 грама. Животиње су чуване у стандардним лабораторијским условима (температура ваздуха 23±1°C, релативна влажност ваздуха 50%, 12:12 часова циклус светлост:тама, (са почетком светлог периода у 9:00 ч часова) и са слободним приступом води и храни (ad libitum). Планирано истраживање је обухватило 240 пацова и животиње су биле подељене у осам група, од којих су четири групе део акутне серије експеримента (по 15 животиња у

свакој групи), а остале четири групе су део хроничне серије експеримената где је свака група подељена у три подгрупе (по 15 животиња у свакој подгрупи).

Истраживање је било подељено на акутну и хроничну серију експеримената.

У оквиру акутне серије експеримената постојале су четири групе (по 15 животиња у свакој групи):

1. контролна група (перфузија комплексним Krebs-Hensenleit-овим физиолошким раствором);
2. администрација нандролона у дози 1 $\mu\text{M/L}$;
3. администрација нандролона у дози 10 $\mu\text{M/L}$;
4. администрација нандролона у дози 100 $\mu\text{M/L}$;

У оквиру хроничне серије експеримената постојале су четири групе, свака група је била подељена на три подгрупе (по 15 животиња у свакој подгрупи):

1. животиње које се не тренирају и не примају нандролон;
2. животиње које се тренирају пливањем у трајању од 1 сата дневно и не примају нандролон;
3. животиње које се не тренирају и примају нандролон у виду депо препарата (nandrolone decanoate - 20 mg/kg, s.c., у трајању од 4 недеље) (73);
4. животиње које се тренирају пливањем у трајању од 1 сата дневно и примају нандролон у виду депо препарата (nandrolone decanoate - 20 mg/kg, s.c., у трајању од 4 недеље) (73);

Животињама у експерименталним групама у оквиру акутне серије експеримента се директно преко инфузионе пумпе убацује у срце испитивана супстанца у одређеној концентрацији (1 $\mu\text{M/L}$, 10 μM или 100 $\mu\text{M/L}$), растворена у Krebs Hensenleit-овом раствору, док се животињама у експерименталним групама у оквиру хроничне серије експеримента, једном недељно у преподневним часовима субкутаном апликацијом администрира *nandrolone decanoate* у дози од 20 mg/kg, у трајању од 4 недеље.

У оквиру хроничне серије експеримента две групе пацова, укључујући и подгрупе у оквиру групе, су биле поврнуте физичком тренингу пливањем у трајању од

60 минута, свакодневно. Тренинг пливањем се одвијао у стакленом базену димензија 60цм x75цм x 100цм, у коме је дубина воде била 60цм а температура водене средине $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, при чему су истовремено тренинг пливањем обављале по две групе истовремено уз стално надгледање и контролу температуре водене средине.

У оквиру сваке групе у хроничном експерименту, по једна подгрупа животиња се жртвује након друге, треће и четврте недеље од почетка експеримента, како би се пратио утицај нандролона и тренинга пливањем на кардиоваскуларни систем пацова после одређених временских интервала.

Животиње се жртвују након краткотрајне етарске наркозе (дуготрајна би изазвала срчану инсуфицијенцију, што би за наша истраживања било контраиндиковано) цервикалном дислокацијом (Schedule 1 of the Animals/Scientific Procedures, Act 1986, UK). Након тога, уследило је хируршко отварање абдомена, дијафрагма је пресечена лучно, с лева на десно, а затим је грудни кош отворан, брзо, бочно, дуж мамиларне линије.

Да би се одржало у релативној хомеостази, током ових процедура, срце је преливано физиолошким раствором ($+4^{\circ}\text{C}$). По отварању грудног коша, пресечен је перикард на врху срца и на тај начин срце је било спремно за изоловање. Након пресецања перикарда, крвни судови на бази срца се ресецирају, орган се вади из грудног коша и одмах се ставља у леден физиолошки раствор ($(-4) - (-10)^{\circ}\text{C}$), чиме се импровизује тзв. „физиолошка клешта“ и метаболички процеси у миокарду се свде на минимум.

По стављању органа на лед, спроводи се тупа препарација базе срца, са отклањањем свих елемената, изузев асцендентне аорте, јер се кроз њу одвија ретроградна перфузија. Препарисана аорта се, потом, концем причвршћује за канилу за ретроградну перфузију чиме експеримент почиње. У циљу што поузданијих резултата, односно одржања виталности препарата, потребно је да ова хируршка процедура траје свега 2-3 минута (74).

Након постављања изолованог срца на апарат по *Langendorff*-у, у пределу леве аурикуле, се пресеца лева преткомора, чиме се приступа митралној валвули. Потом се, пинцетом разарају митрални залистци, што у нашем експерименталном моделу има двоструки значај: 1) на овај начин притисак у левој преткомори је сведен на нулу, чиме се искључује сваки утицај на коронарну циркулацију, који не зависи од функције леве коморе. То омогућава постизање оптималних услова за ретроградну перфузију

изоливаног срца, јер ток раствора за перфузију има следећи смер: аорта - лева преткомора - лева комора - коронарни синус - коронарне артерије - коронарне вене, што фокусира и простор нашег истраживања на срце и коронарну циркулацију. 2) Прокидањем митралне валвуле се обезбеђује улазак и постављање претходно поменутог сензора у леву комору преко кога се прати функција срчаног мишића (региструју се притисци у левој комори срца: $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска у левој комори, изражава се у mmHg/s, $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска у левој комори, изражава се у mmHg/s, SLVP – систолни притисак у левој комори, изражава се у mmHg, DLVP – дијастолни притисак у левој комори, изражава се у mmHg, и HR – фреквенца рада срца, изражава се као број откуцаја срца у минути).

Као што је већ поменуто, сви параметри функције леве коморе су повезани са софтверском јединицом и све време трајања експеримената се прате и снимају на монитору рачунара. Проток крви кроз коронарне крвне судове (CF) се изражава у ml/min и мери се скупљањем капи перфузионог раствора који излазе из коронарних крвних судова и срца, флуорометријском методом (74,75,76).

После успостављања стабилног (правилног) срчаног рада (коронарни проток након неколико серија мерења као и сви параметри срчане функције се не мењају значајно), за шта је потребно око пола сата, створени су услови за испитивање функције изоливаног срца. Преко инфузионе пумпе се убацује испитивана супстанца (растворена у Krebs Hensenleit-овом), који кроз аорту, заједно са перфузионим раствором, улазе у срце.

Након контролног протокола испитиване су компоненте од значаја за нашу студију. Испитиване супстанце, у оквиру акутне серије експеримената, ће се администрирати континуираном перфузијом при промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH₂O, затим 80 cmH₂O, 100 cmH₂O, 120 cmH₂O и на крају 40 cmH₂O, и за сваку вредност перфузионог притиска ће се регистровати параметри функције леве коморе.

У оквиру хроничне серије експеримената пратиће се наведени кардиодинамски параметри при перфузији комплексним Krebs-Hensenleit-овим физиолошким раствором на различитим вредностима промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH₂O, затим 80 cmH₂O, 100 cmH₂O, 120 cmH₂O и на крају 40 cmH₂O, и за сваку вредност перфузионог притиска ће се регистровати параметри функције леве коморе.

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента за сваку вредност перфузионог притиска, али и у узорцима крвне плазме и лизираних еритроцита, и у акутној и у хроничној серији експеримената, спектрофотометријским методама ће се одређивати следећи биомаркери оксидативног стреса:

1. индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS
2. азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-)
3. супероксид анјон радикал (O_2^-)
4. водоник пероксид (H_2O_2)

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

3.4. БИОХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ

3.4.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

Биохемијске анализе су одређиване у узорцима коронарног венског ефлуента, који је сакупљан на крају контролног периода и на крају периода апликације испитиване супстанце као и у узорцима крвне плазме и лизираних еритроцита. Сви реактивни молекули, који су били од интереса за наше истраживање су мерени спектрофотометријском методом на апарату марке Specord S-600 Analytik Jena, Велика Британија.

Индекс липидне пероксидације, као један од параметара оксидационог стреса, је одређиван индиректно преко продуката реакције липидне пероксидације са

тиобарбитурном киселином, одакле и потиче скраћеница TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). У нашим истраживањима ниво TBARS-а у коронарном венском ефлуенту смо одређивали спектрофотометријски. У епрувете (12x100) пипетирано је 800 μl коронарног венског ефлуента и 200 μl 1% ТВА у 0.05 М NaOH. Као слепа проба уместо коронарног венског ефлуента коришћена је еквивалентна количина Krebs-Hensenleitov-ог раствора. Након пипетирања, узорци су инкубирани у воденом купатилу 15 минута на 100 °C. Након инкубације, узорци су прилагођени собној температури, па се приступа детерминисању концентрације ослобођених TBARS у коронарни венски ефлуент спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=530\text{nm}$.

3.4.2. Одређивање нитрита (NO_2^-)

Биохемијски се ова метода заснива на употреби Griess-реагенса, који са нитритима гради диазо-комплекс, који даје љубичасту боју. Griess-ов реагенс се припрема *ex tempore*, непосредно пре аналитичког одређивања, мешањем једнаких запремина (v/v) 1 % сулфанилне киселине, растворене у 5 % орто-фосфорној киселини (може се чувати на собној температури) и 0.1 % воденог раствора: N-(1-нафтил)-етиленамина дихидрохлорида (NEDA), који се чува у тамној бочици на 4 °C, због своје високе фотохемијске реактивности.

У епрувете (12 x 100) је пипетирано 1 ml коронарног венског ефлуента, 250 μl свеже направљеног Griess-ов реагенса и 125 μl амонијачног пуфера (pH=9.0), кога сачињавају амонијум хлорид (NH_4Cl) и натријум тетраборат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$). Амонијачни пуфер, који се у току припеме мора загревати, због изузетно слабе растворљивост натријум тетрабората, има за сврху стабилизацију диазо-комплекса. Као слепа проба уместо коронарног венског ефлуента коришћено је 1 ml Krebs-Hensenleitov-ог раствора.

3.4.3. Одређивање супероксид анион радикала (O_2^-)

Одређивање количине супероксид анион радикала (O_2^-) у коронарном венском ефлуенту заснива се на реакцији O_2^- са нитро тетразолијум плавим (Nitro Blue Tetrazolium - NBT) до нитроформаза плавог (446). Мерење се врши на таласној дужини максималне апсорпције $\lambda_{\text{max}}=550\text{nm}$. Есејна смеша (“assay mixture”) садржи: 50 mM TRIS-HCl пуфера (pH=8.6), 0.1 mM EDTA, 0.1 mg/ml желатина и 0.1 mM NBT. Пре употребе раствор се претходно гасира азотом под притиском у трајању од једног часа.

У епрувете (12x100) је пипетирано 50 μl коронарног венског ефлуента и 950 μl есејне смеше, чиме реакција отпочиње. Као слепа проба уместо коронарног венског ефлуента коришћена је адекватна количина Krebs-Hensenleitov-ог раствора. На самом почетку реакције измери се екстинкција смеше и нотира се као екстинкција E_1 . Сваких 60 секунди се врши мешање пластичним штапићем и нотира екстинкција након мешања до своје стабилизације, што подразумева две узастопне приближно исте екстинкције. Последња екстинкција се означава као E_2 . Исти поступак се примењује и за слепу пробу.

3.4.4. Одређивање водоник пероксида (H_2O_2)

Детерминација количине водоник пероксида (H_2O_2) заснива се на оксидацији фенол црвеног помоћу водоник пероксид реакције која је катализована ензимом пероксидазом из коњске ротквице (*HorseradishPerOxidase* - HRPO). Ова реакција резултује формирањем једињења чији је максимум апсорпције $\lambda_{\text{max}}=610\text{nm}$ (447). Линеарна зависност апсорбанце 610nm од концентрациј H_2O_2 је постојана за 1-60 μM опсег концентрација (1-60 nmol/ml). Ова метода омогућује детерминацију настајања и ослобађања H_2O_2 за временски интервал од 5-60 минута. У епрувете (12x100) пипетирано је 200 μl коронарног венског ефлуента и 800 μl свеже направљеног раствора фенол црвеног (*Phenol Red Solution-PRS*) који садржи 140 mM NaCl, 10 mM калијум фосфатног пуфера ($\text{pH} = 7$), 5,5 mM D(+)-глукозе и 0,28 mM фенол црвеног. Узорцима се затим дода 10 μl (1:20) HRPO, припремљен *ex tempore*. Узорци су отављани на собној температури 10 минута, а затим се подеси $\text{pH} \approx 12$, помоћу 1 M NaOH. Као слепа проба уместо коронарног венског ефлуента коришћена је адекватна количина Krebs-Hensenleitov-ог раствора. Концентрација ослобођеног H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту израчунавана је на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве), одређиваног за сваки есеј.

3.6. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Статистичка обрада експерименталних података је спроведена на следећи начин:

1. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења.
2. За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapir Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3. За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се Студентов т-тест, *Mann-Whitney* тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или двофакторска анализа варијансе. Приликом тестирања разлика између параметара, у случају постојања више подгрупа, користиће се *Bonferroni* тест.
4. Статистичка обрада података ће се радити у статистичком пакету *SPSS 18.0 for Windows*.

IV

РЕЗУЛТАТИ

АКУТНА СЕРИЈА ЕКСПЕРИМЕНАТА

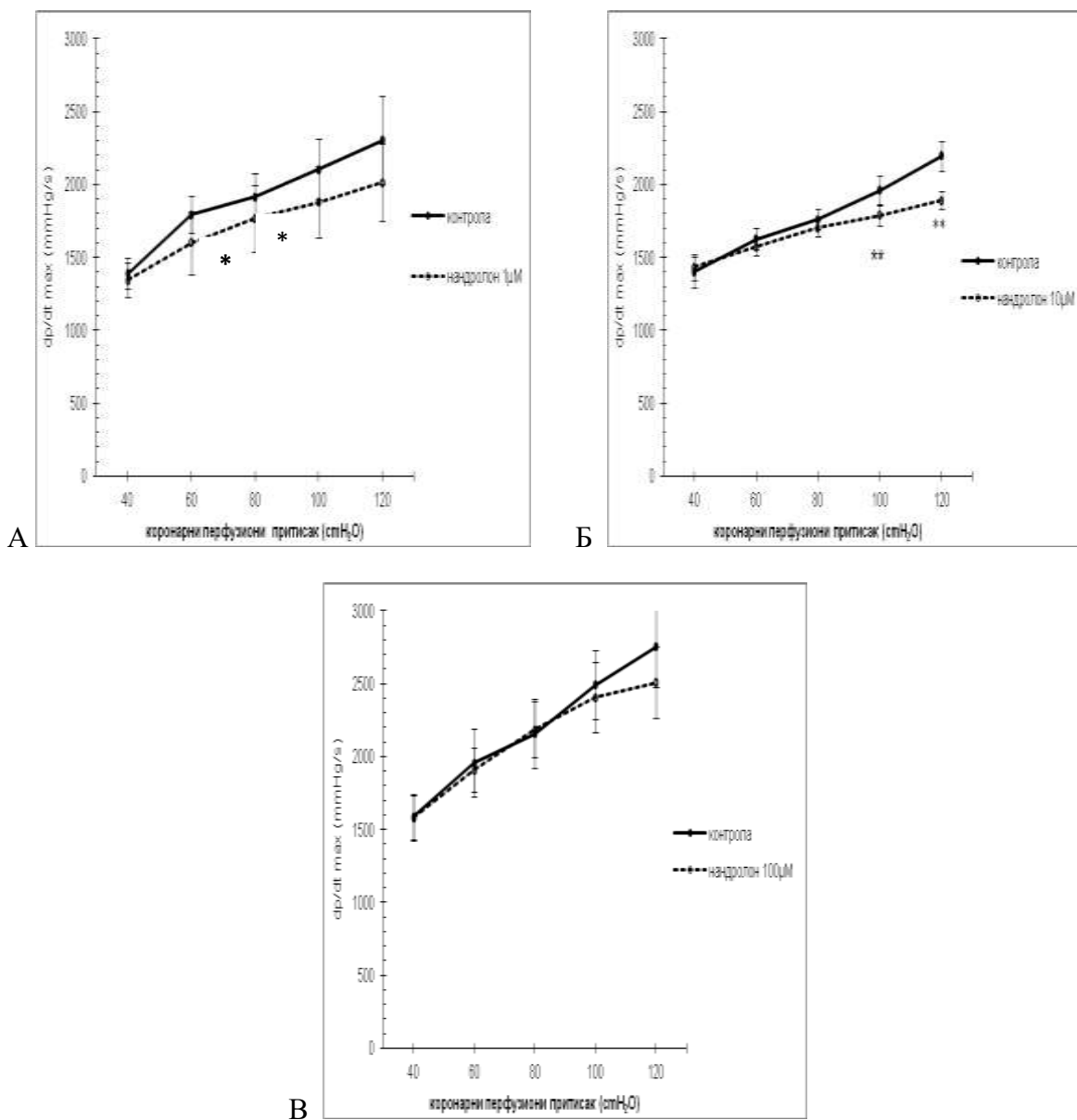
4.1. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА У РАЗЛИЧИТИМ КОНЦЕНТРАЦИЈАМА (1 μ М, 10 μ М и 100 μ М) НА КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВАМаксимална промена притиска у левој комори (dp/dt_{max})

График бр. 1. Промене вредности dp/dt_{max} при администрацији нандролона у концентрацијама од 1 μ М, 10 μ М и 100 μ М (А, Б и В).

Са графика се може закључити да је једино концентрација од 10 μ М нандролона довела до статистички значајног пада вредности на коронарном перфузионом притиску од 100cmH₂O и 120 cmH₂O.

Минимална промена притиска у левој комори ($dp/dt \text{ min}$)

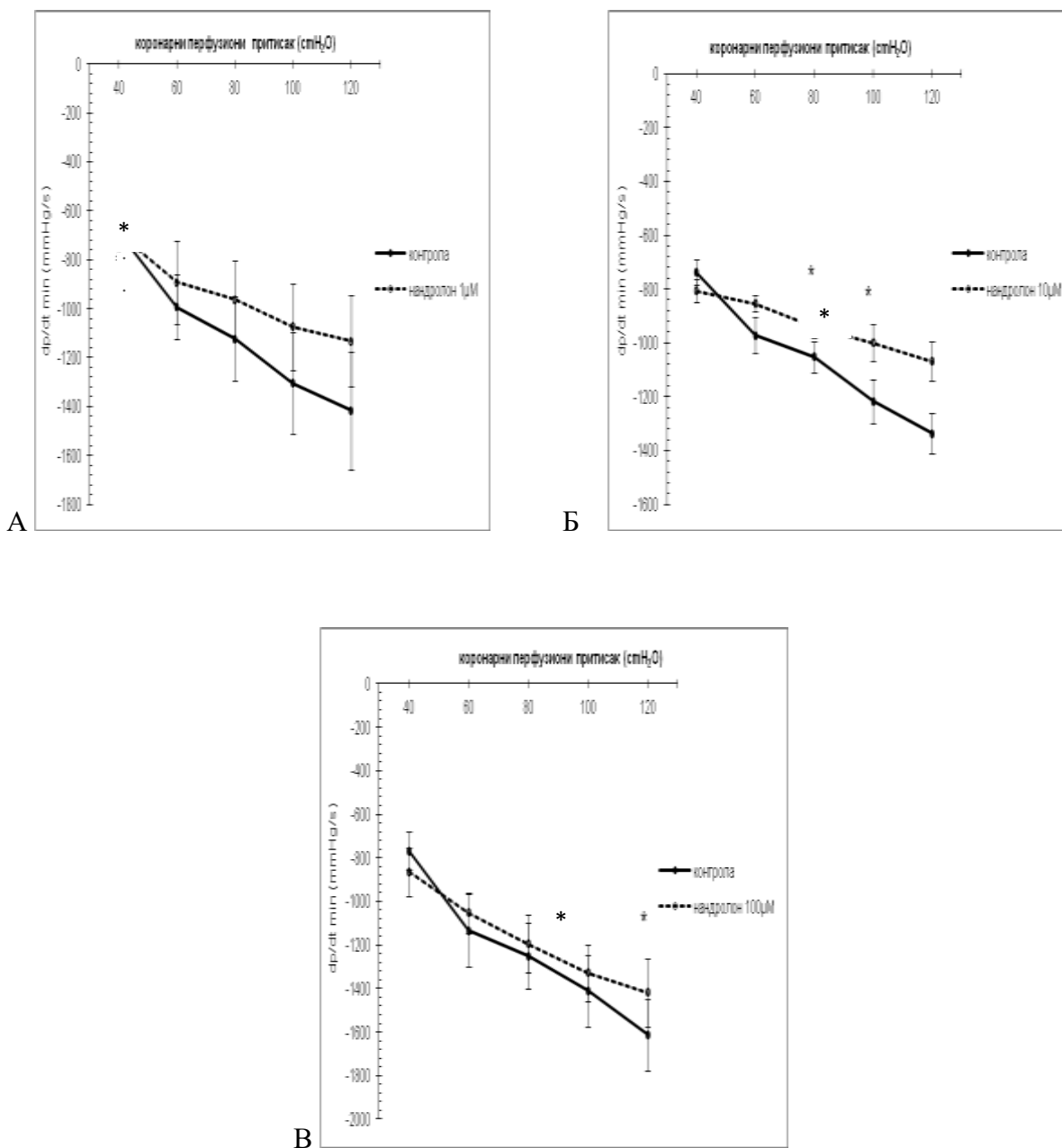


График бр.2. Промене вредности $dp/dt \text{ min}$ при администрацији нандролона у коцентрацијама од 1 μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

Вредности $dp/dt \text{ min}$ значајно су биле снижене након апликације: 10 μM на притисцима од 80cmH₂O, 100cmH₂O и 120cmH₂O, и $dp/dt \text{ min}$ значајно је опао након примене 1 μM НД на притиску од 80cmH₂O и после примене 100 μM НД на притиску од 120cmH₂O.

Систолни притисак у левој комори (SLVP)

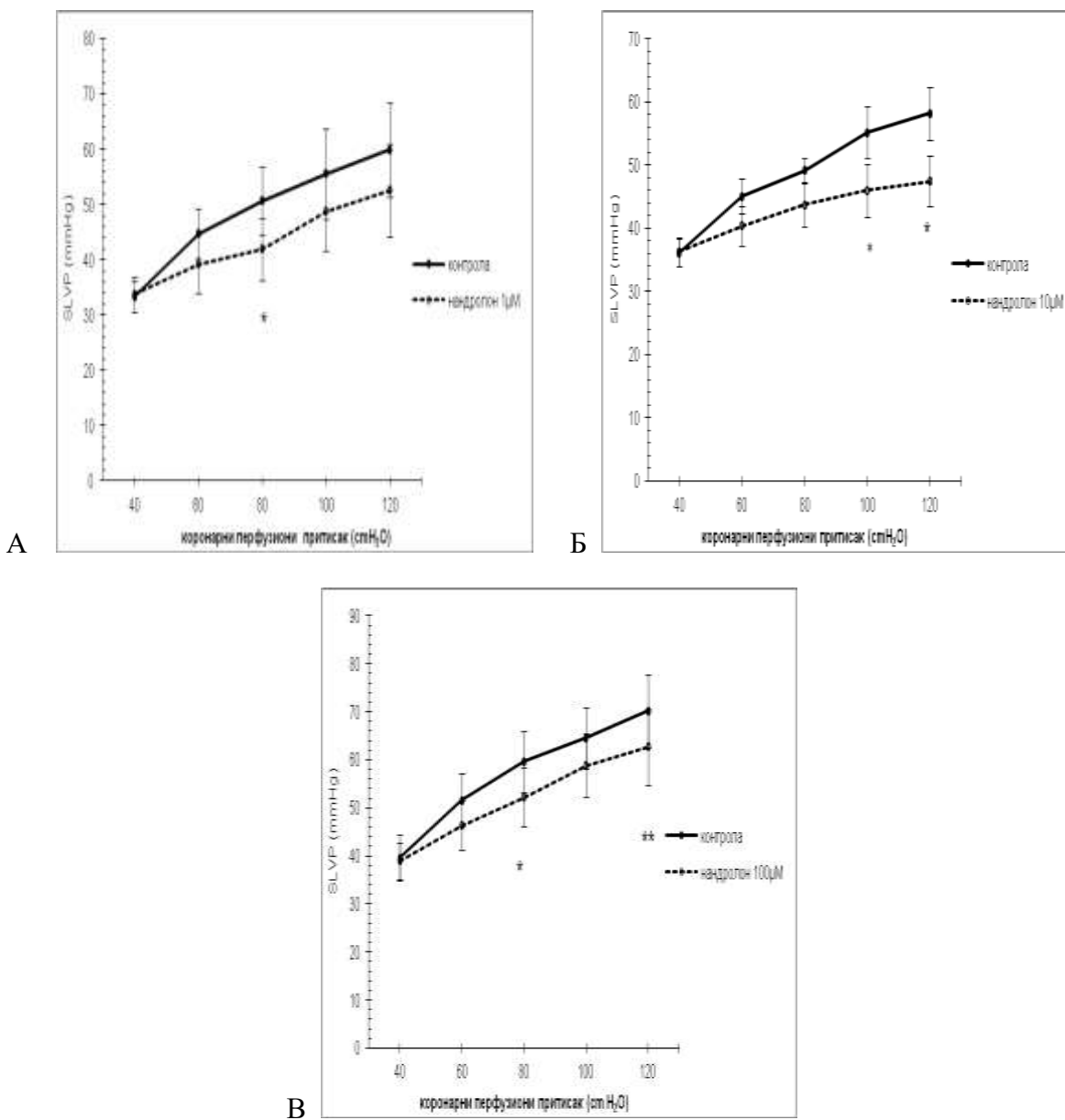


График бр.3. Промене вредности SLVP при администрацији нандролона у коцентрацијама од 1μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

У поређењу са контролама, 1μM НД снизио је вредности SLVP на притиску од 80cmH₂O. Концентрација од 10 μM НД снизила је вредности SLVP на притиску од 120cmH₂O, али више дозе нандролона (100 μM) довеле су до још значајнијег пада вредности посматраног параметра на притисцима од 120cmH₂O и 80cmH₂O.

Дијастолни притисак у левој комори (DLVP)

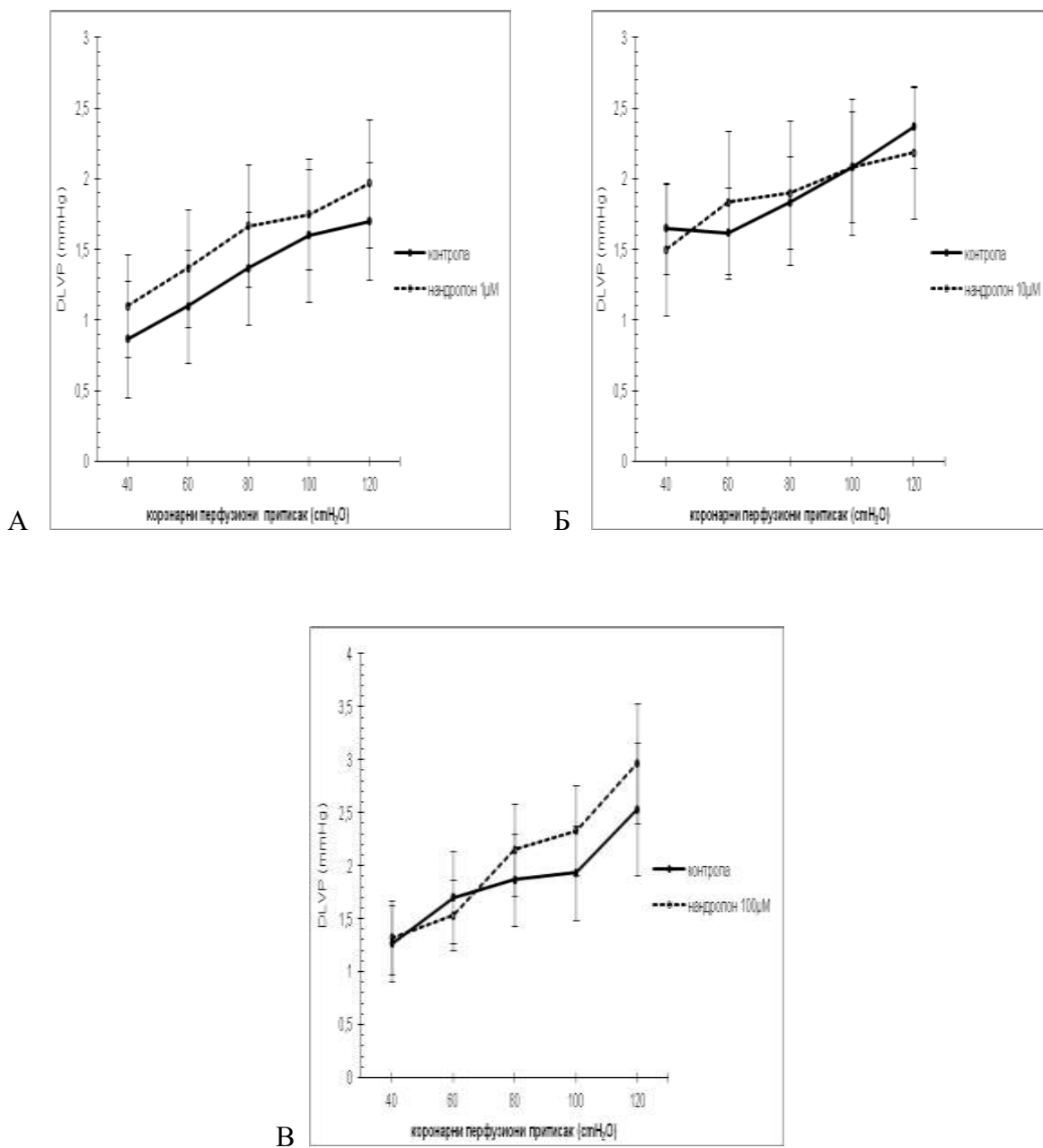


График бр. 4. Промене вредности DLVP при администрацији нандролона у концентрацијама од 1 μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

Администрација нандролона у свим тестираним концентрацијама (1 μM, 10 μM, 100 μM) није довела до било каквих статистички значајних промена DLVP.

Срчана фреквенција (HR)

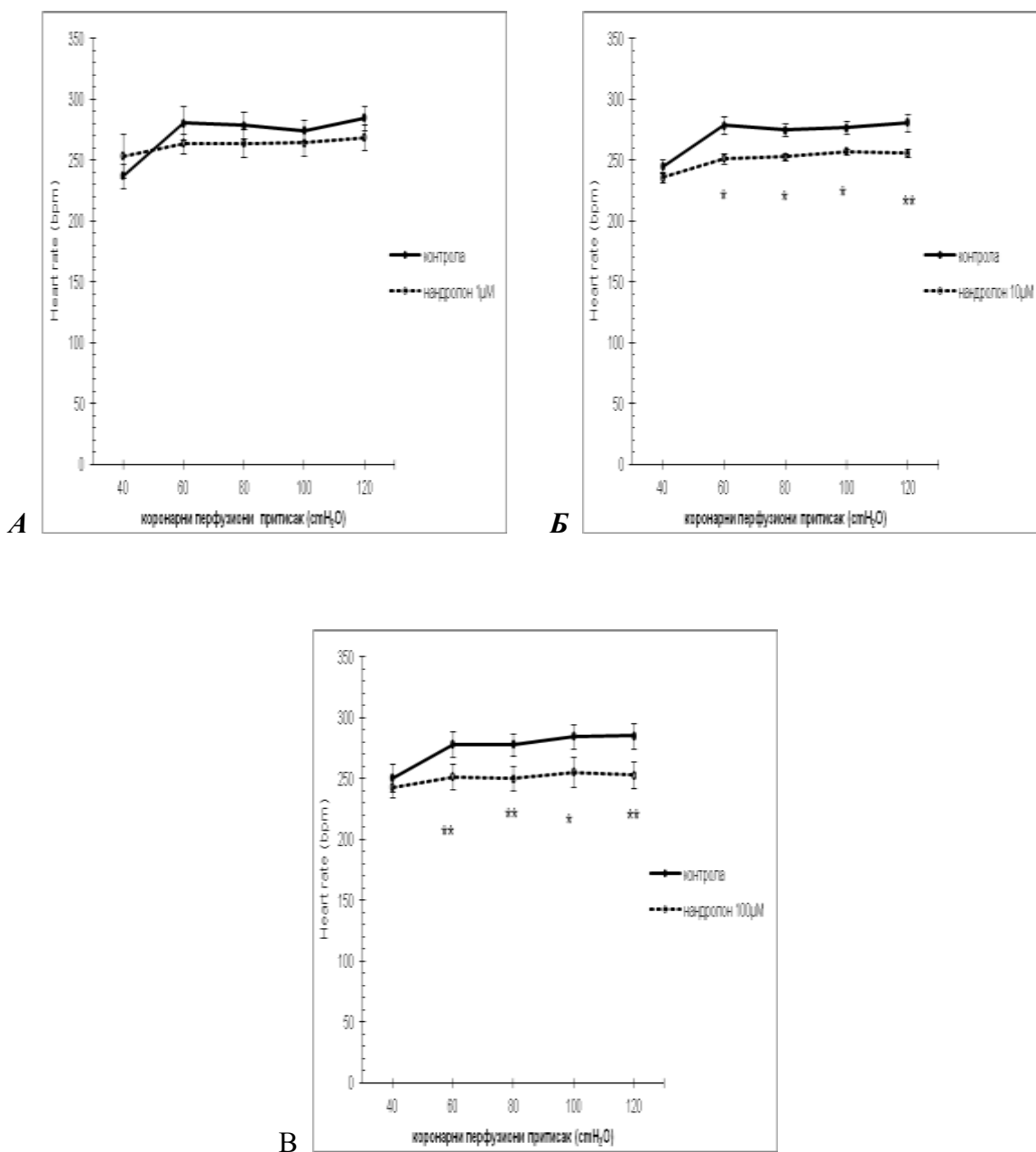


График бр. 5. Промене вредности срчане фреквенце при администрацији нандролона у коцентрацијама од 1 μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

У поређењу са контролама, само концентрација од 1 μM НД није довела до промена у вредностима HR. Следеће две више концентрације нандролона (10 μM и 100 μM) довеле су до значајног пада вредности of HR на готово свим притисцима осим на притиску од 40 cmH₂O, с тим да је концентрација од 100 μM НД довела до статистички значајнијих промена.

Коронарни проток (CF)

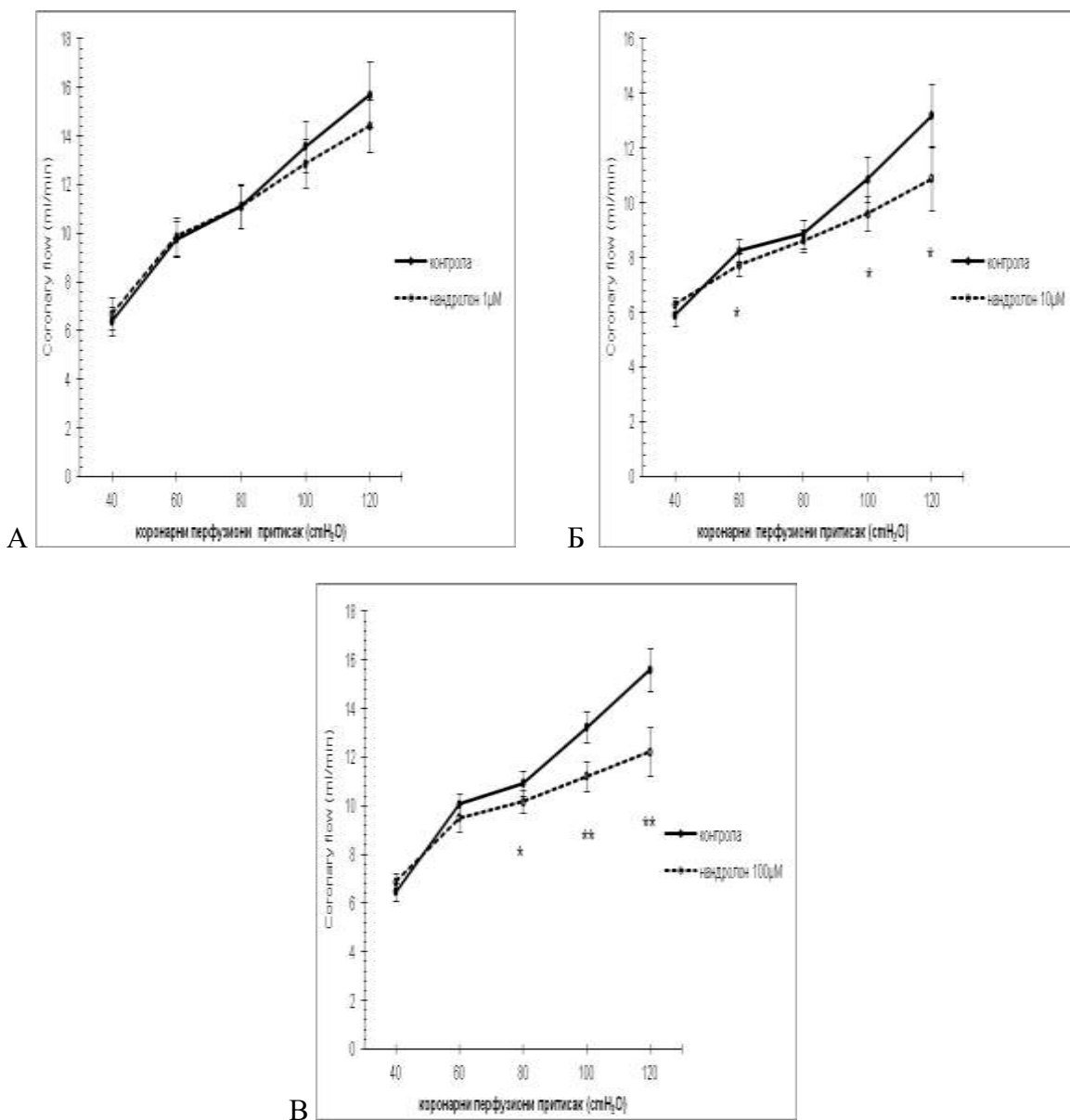


График бр. 6. Промене вредности коронарног протока при администрацији нандролона у концентрацијама од 1 μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

Концентрација од 1 μM НД није утицала на промене вредности коронарног протока ни на једном од притисака. НД је у концентрацији 10 μM изазвао стистистички значајан пад вредности коронарног протока на притисцима од 60cmH₂O, 100cmH₂O и 120cmH₂O. Концентрација од 100 μM НД изазвала је још значајнији пад ових вредности на притиску од 80cmH₂O а посебно на притисцима од 100cmH₂O и 120cmH₂O.

4.2. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА У РАЗЛИЧИТИМ КОНЦЕНТРАЦИЈАМА (1 μ M, 10 μ M и 100 μ M) НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

Индекс липидне пероксидације (TBARS)

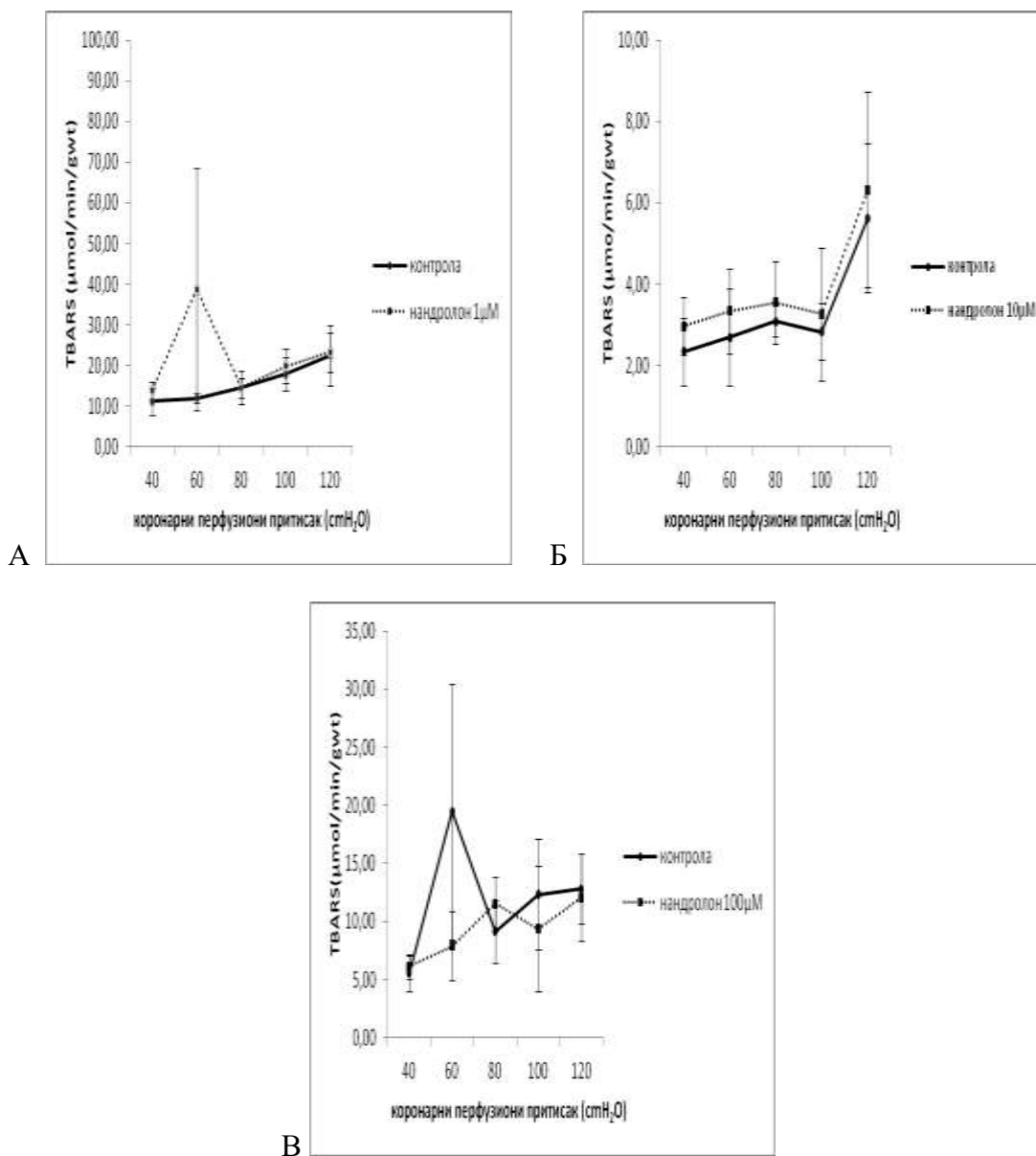


График бр.7. Промене вредности TBARS-а при администрацији нандролона у концентрацијама од 1 μM , 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

Администрација нандролона у свим тестираним концентрацијама (1 μM , 10 μM , 100 μM) није довела до било каквих статистички значајних промена испитиваног параметра.

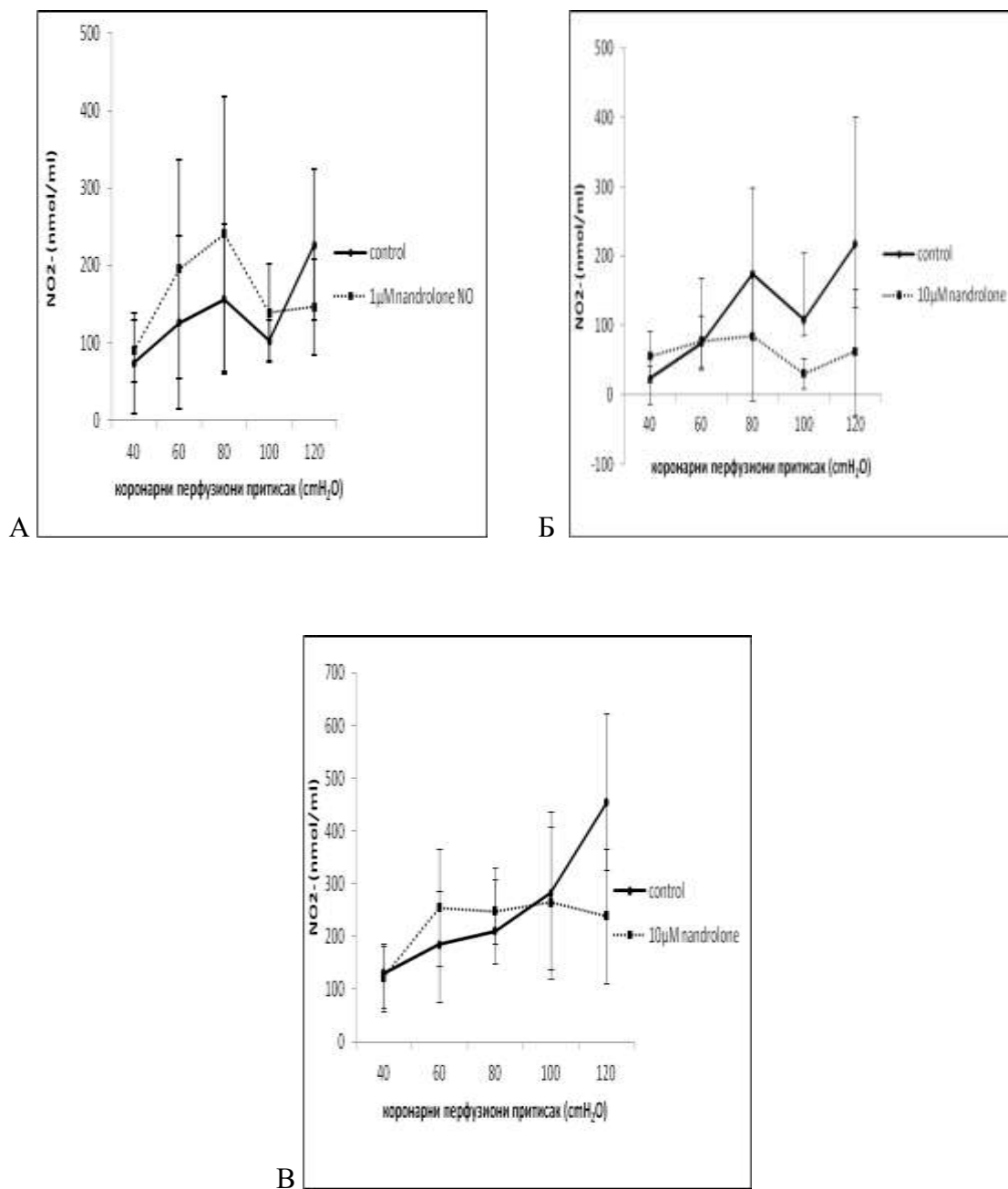
Нитрити (NO_2^-)

График бр.8. Промене вредности нитрита при администрацији нандролона у коцентрацијама од 1 μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

Администрација нандролона у свим тестираним концентрацијама (1 μM, 10 μM, 100 μM) није довела до било каквих статистички значајних промена испитиваног параметра.

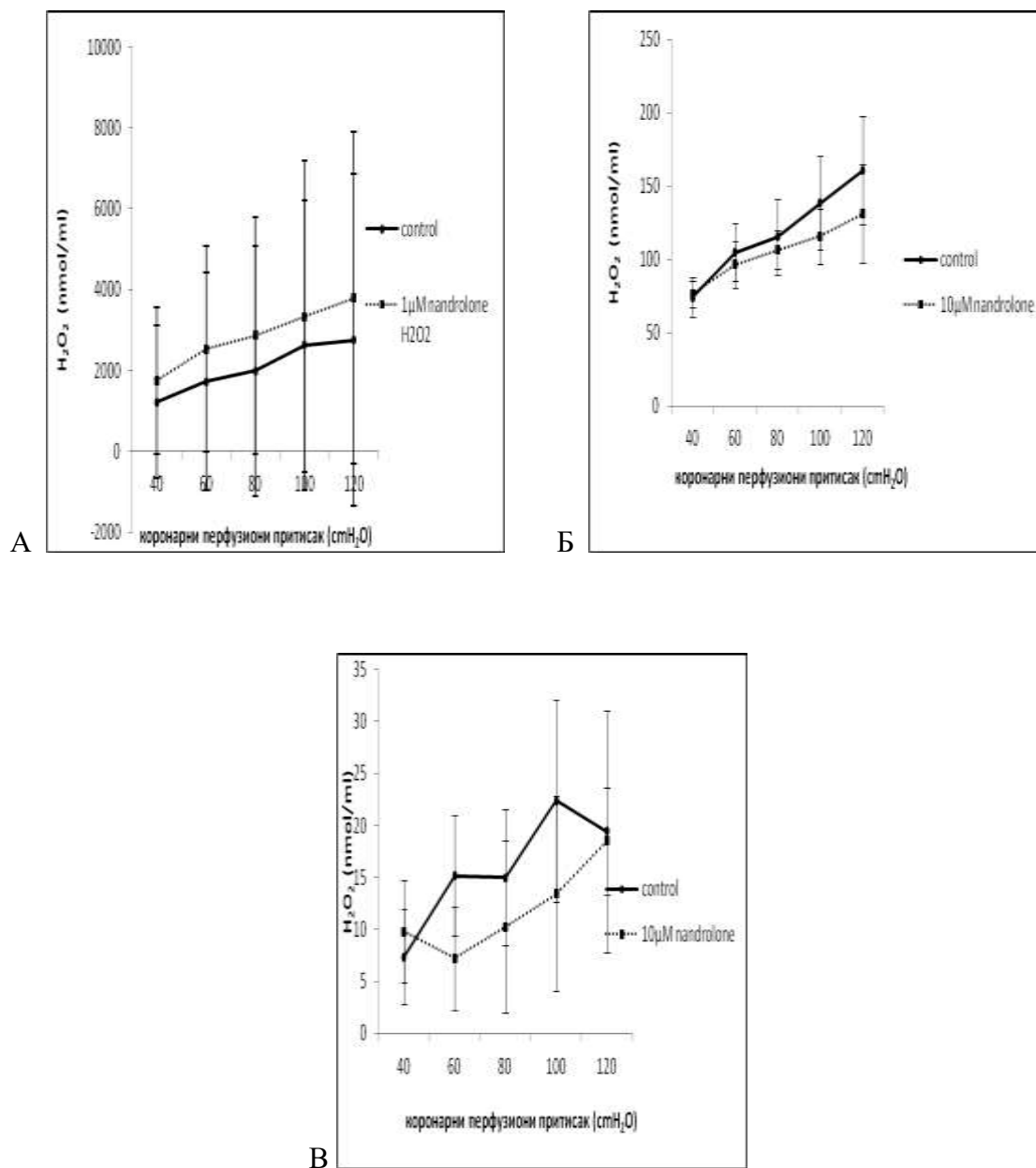
Водоник пероксид (H_2O_2)

График бр.9. Промене вредности водоник пероксида при администрацији нандролона у концентрацијама од 1μM, 10μM и 100μM (А, Б и В).

Администрација нандролона у свим тестираним концентрацијама (1μM, 10μM, 100μM) није довела до било каквих статистички значајних промена испитиваног параметра.

Супероксид анјон радикал (O_2^-)

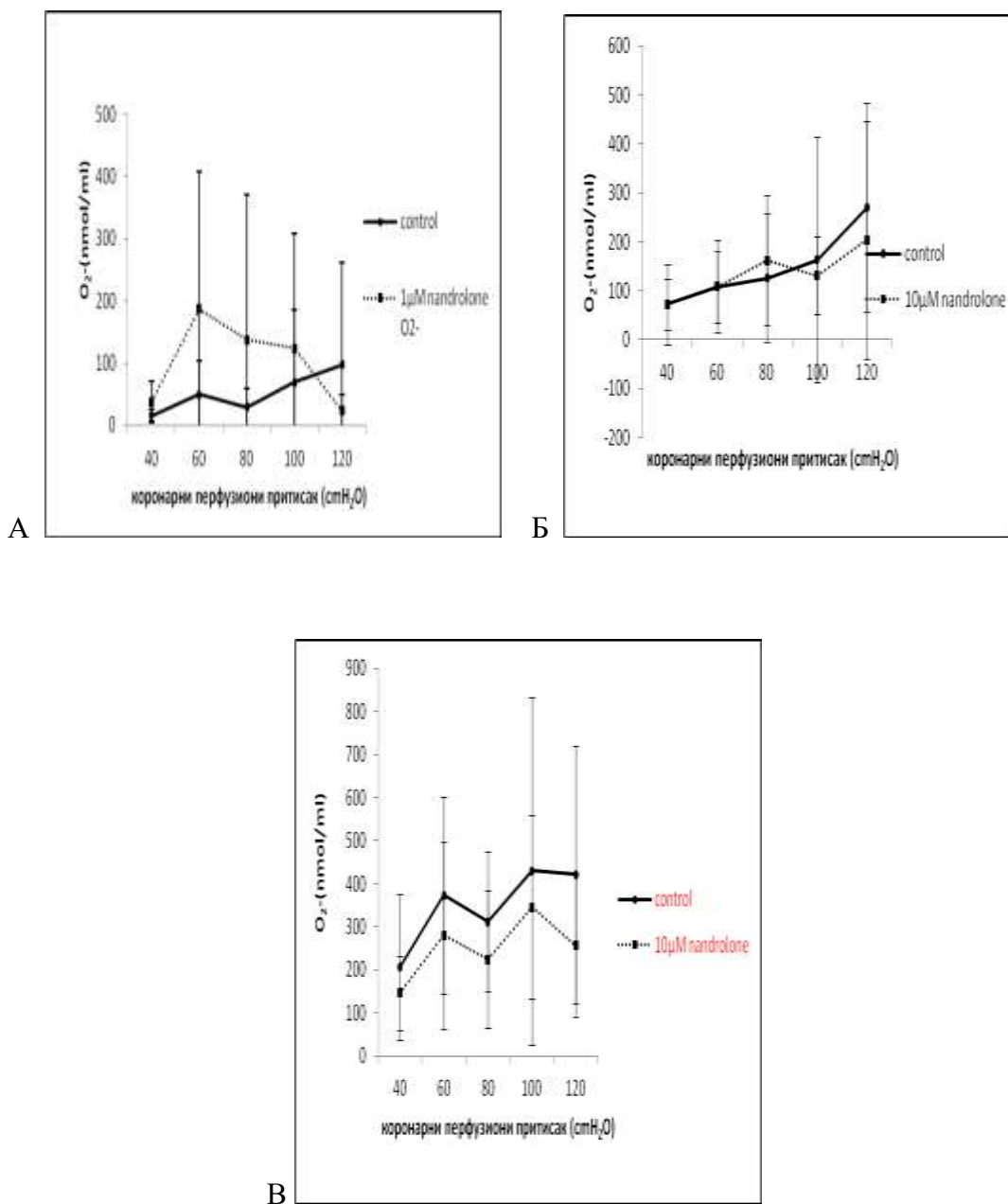


График бр.10. Промене вредности супероксид анјон радикала при администрацији нандролоне у концентрацијама од 1 μM, 10 μM и 100 μM (А, Б и В).

Администрација нандролоне у свим тестираним концентрацијама (1 μM, 10 μM, 100 μM) није довела до било каквих статистички значајних промена испитиваног параметра.

ХРОНИЧНА СЕРИЈА ЕКСПЕРИМЕНАТА

4.3. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА НА ДИНАМИКУ ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ТОКУ ХРОНИЧНЕ СЕРИЈЕ ЕКСПЕРИМЕНТА (у узорцима плазме и лизираних еритроцита)

ИНДЕКС ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ (TBARS)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) у узорцима лизираних еритроцита, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима индекса липидне пероксидације других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода, и резултати су приказани на Графику број 11.

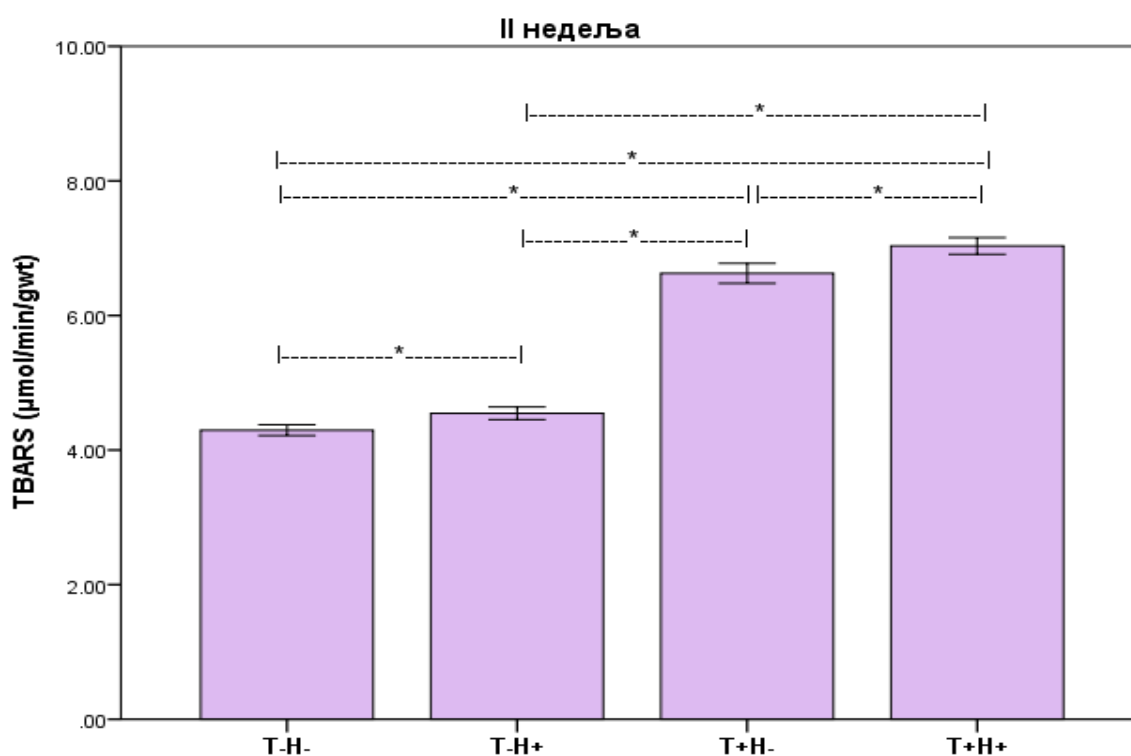


График бр. 11. Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

Вредности индекса липидне пероксидације статистички се значајно разликују између група које су тренирале и које нису тренирале, такође се статистички значајно разликују и вредности у групама које су примале нандролон и које нису биле подвргнуте примени ове супстанце. Као што се може видети и са графика, највише вредности су у групи која је и тренирала и примала нандролон (T+N+), што се може довести у везу пре свега са тренажним процесом, с` обзиром да су вредности индекса липидне пероксидације у групи која је примала нандролон али није била подвргнута тренингу доста ниже.

На графику бр. 12 приказана је упоредна анализа вредности индекса липидне пероксидације свих експерименталних група након треће експерименталне недеље.

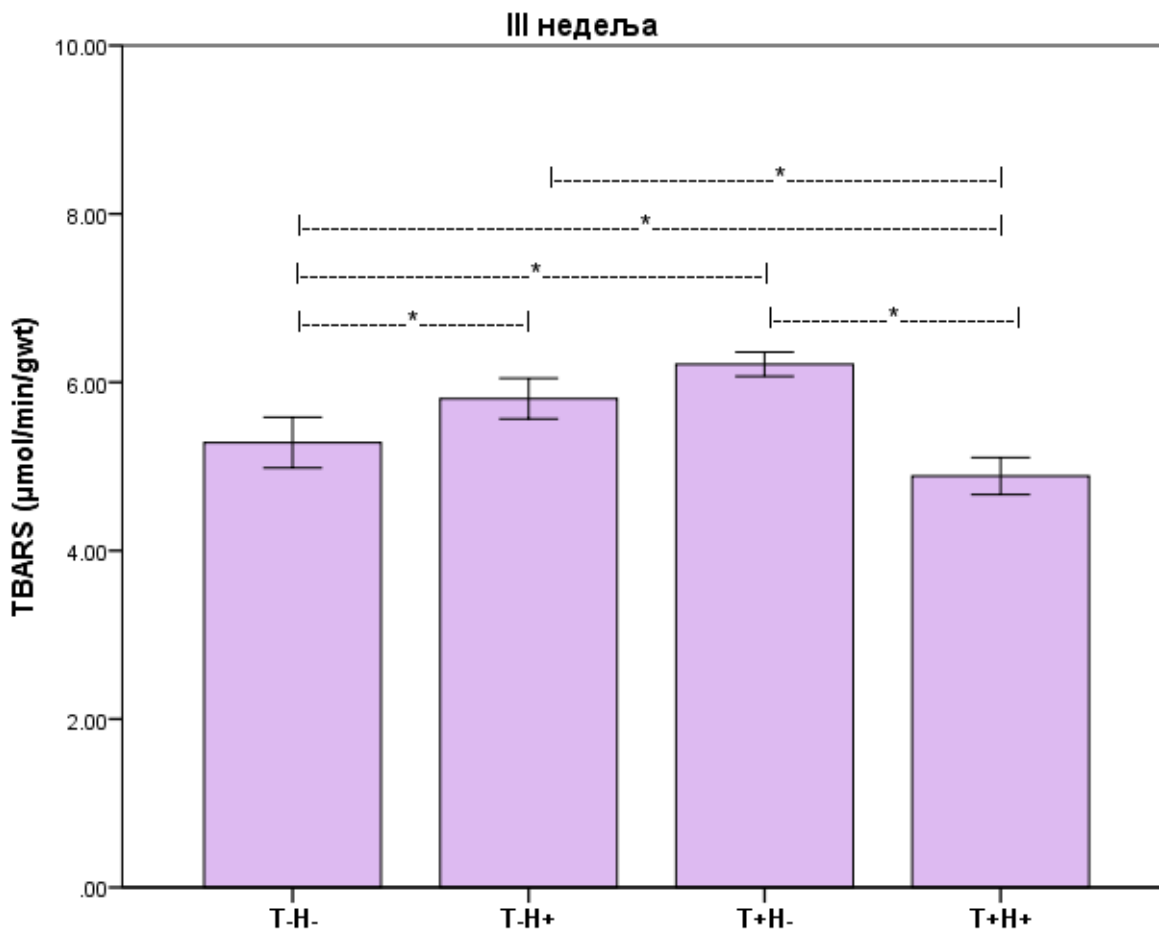


График бр. 12. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

Након треће експерименталне недеље, може се са графика уочити да су вредности ТБАРС-а из последње експерименталне групе која је и тренирала и примала нандролон (T+N+) статистички значајно ниже у односу на вредности овог параметра у осталих испитиваних група.

На графику бр. 13 приказана је упоредна анализа вредности индекса липидне пероксидације свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље.

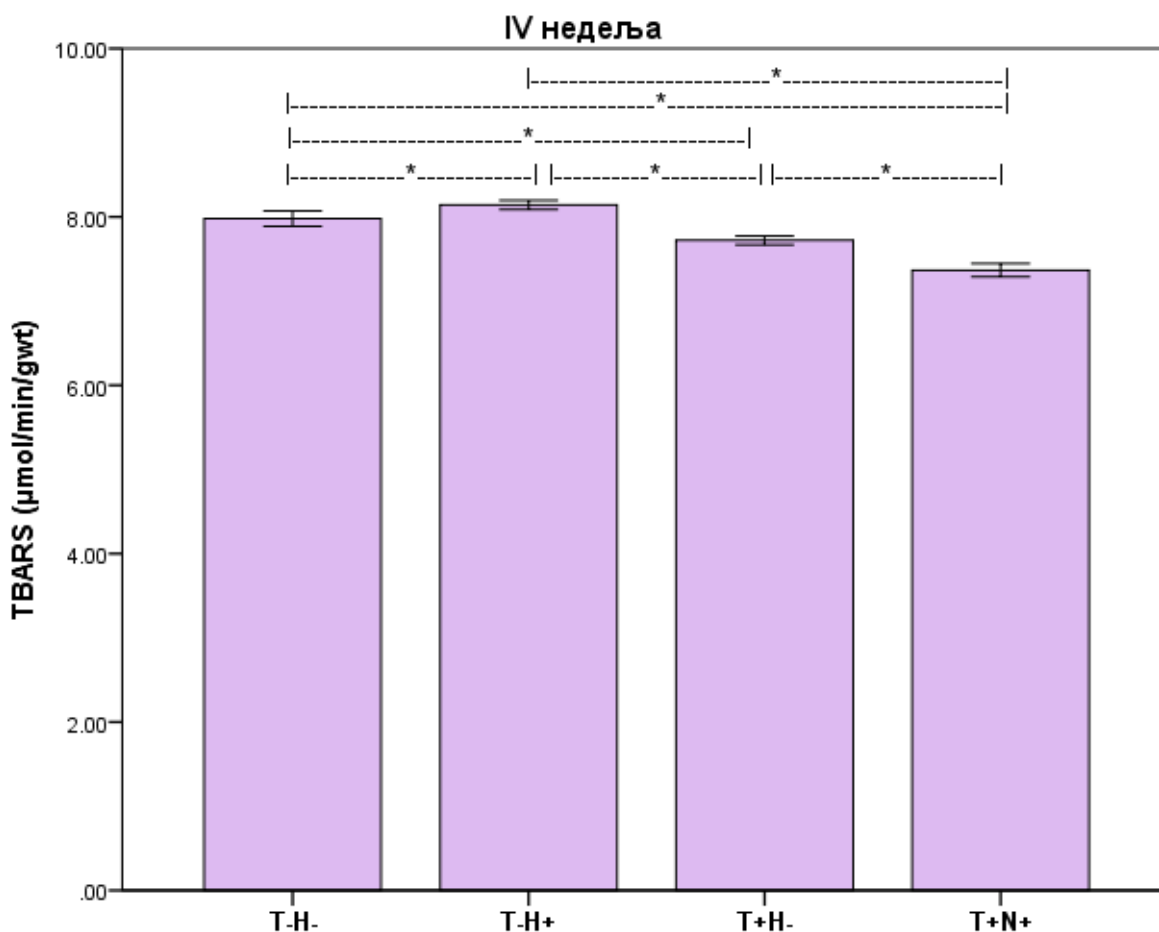


График бр. 13. Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

Након четврте експерименталне недеље, све вредности су се генерално повисиле у односу на претходну недељу, али се може са графика уочити да су вредности из последње експерименталне групе која је и тренирала и примала нандролон (T+N+) статистички значајно снизиле у односу на све остале испитиване групе.

НИТРИТИ (NO_2^-)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности нитрита у узорцима крвне плазме, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима нитрита других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода, и резултати су приказани на Графику број 14.

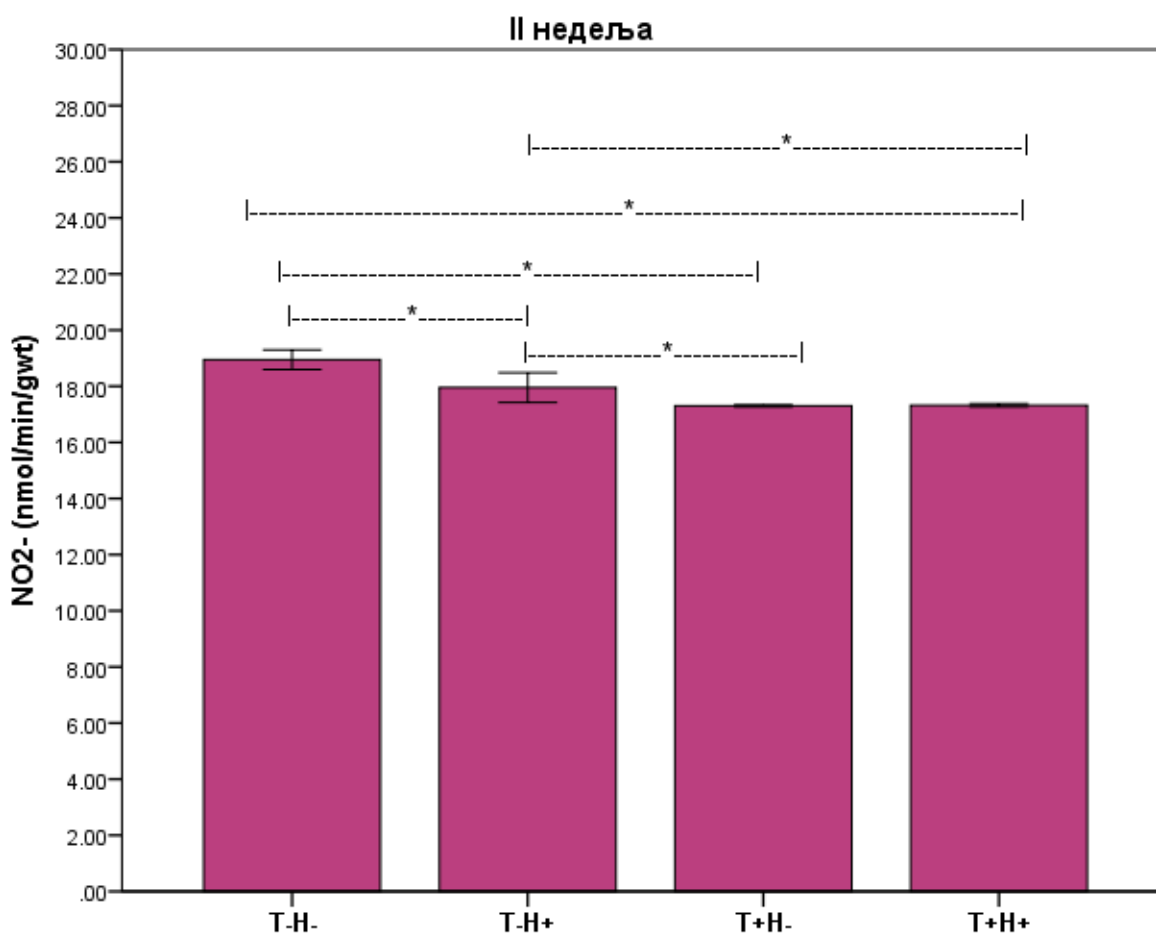


График бр. 14: Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

На графику број 14. се може видети да нема промена у вредностима између групе која је тренирала и примала нандролон (T+N+) и групе која је тренирала и није примала нандролон (T+N-), али се јасно може видети да постоји статистички значајна разлика између групе која није тренирала и примала је нандролон (T-N+) и групе која је тренирала и примала је нандролон (T+N+). У свим групама јавља се статистички значајан тренд пада вредности испитиваног параметра у односу контролну групу, где експерименталне животиње нису биле подвргнуте ни пливању ни нандролону (T-N-).

На графику бр. 15 приказана је упоредна анализа вредности азот монооксида свих експерименталних група након треће експерименталне недеље.

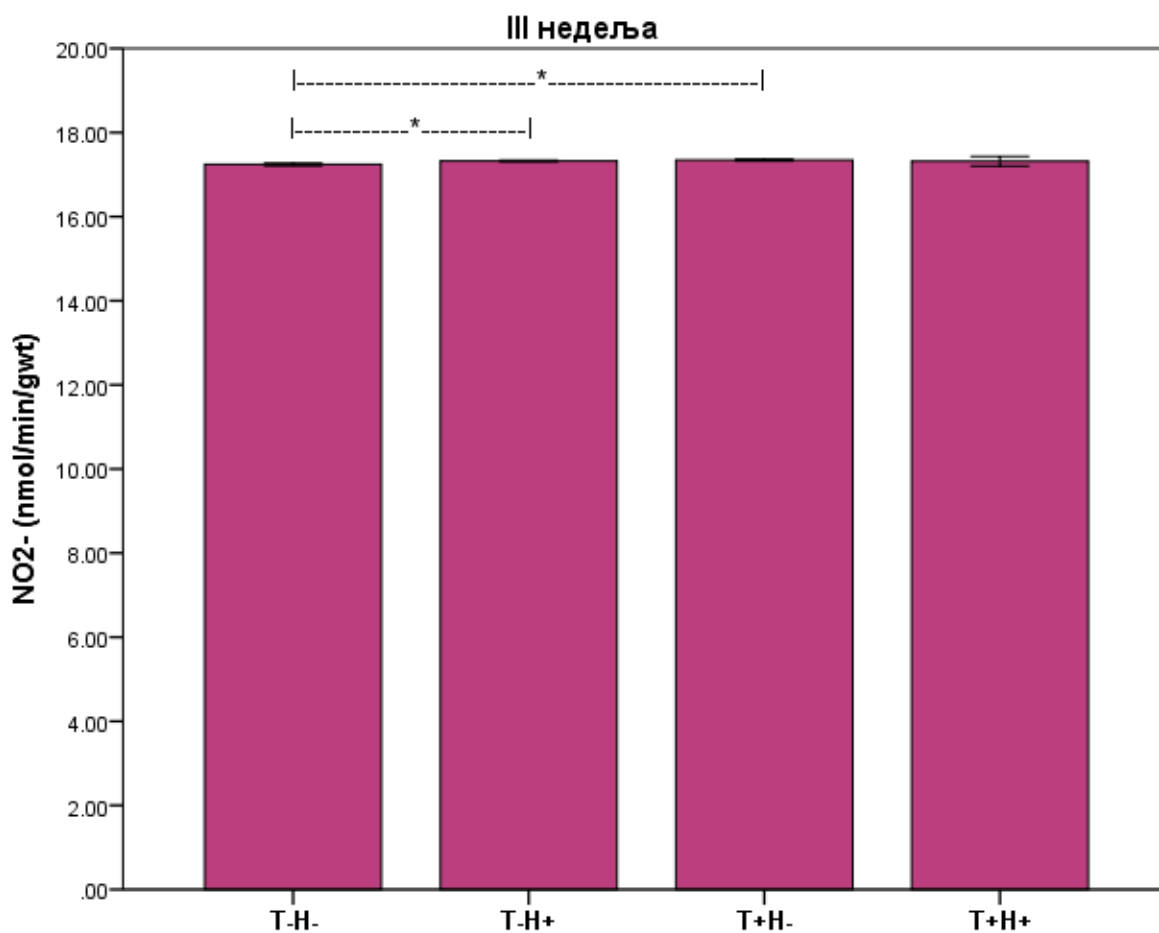


График бр. 15. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

Након треће експерименталне недеље нема битних статистичких промена између испитиваних група.

На графику бр. 16 приказана је упоредна анализа вредности азот монооксида свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље.

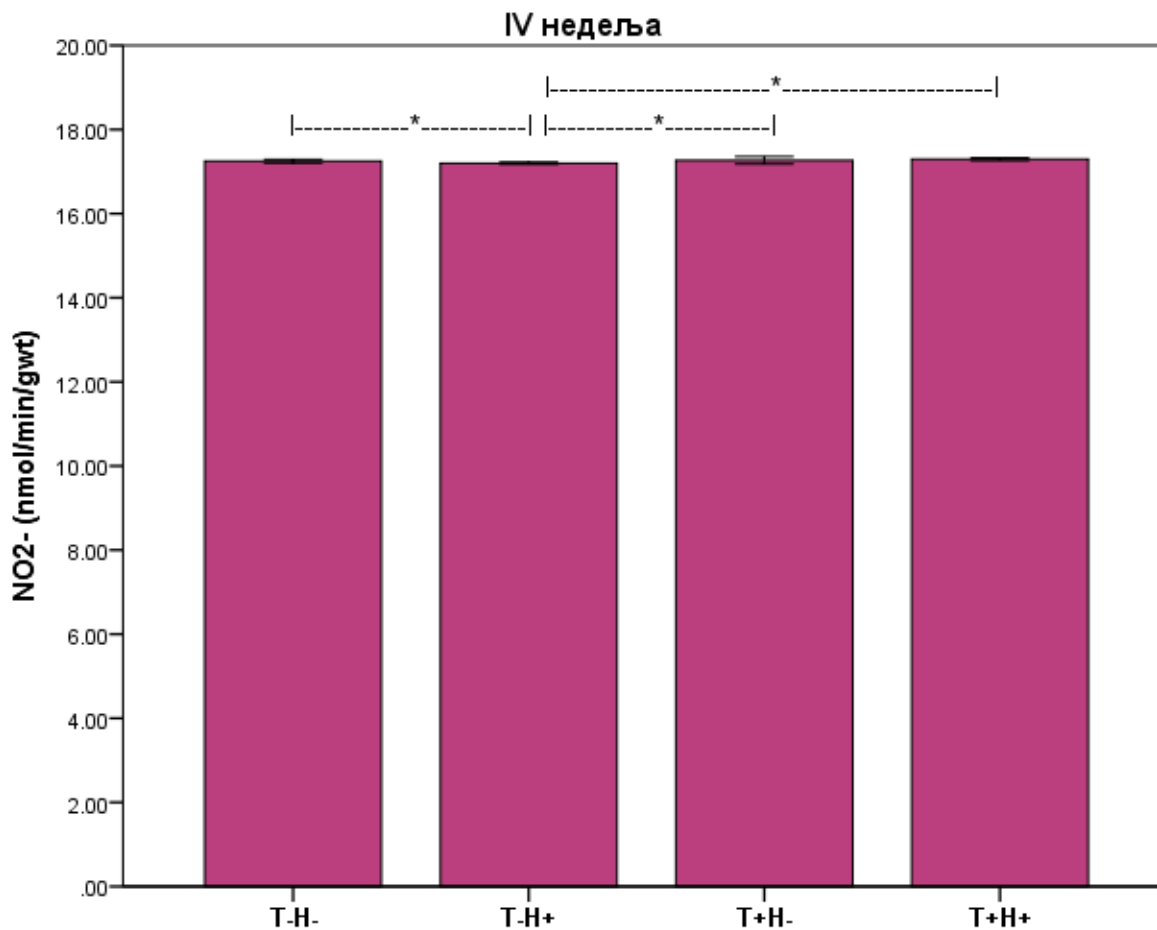


График бр. 16. Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

Након четврте експерименталне недеље има статистички значајних промена између група које нису (T-N+) и јесу тренирале (T+N+) а обе су биле подвргнуте апликацији нандролона.

ВОДНИК ПЕРОКСИД (H_2O_2)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности водоник пероксида у узорцима крвне плазме, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима овог параметра других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода, и резултати су приказани на графику број 17.

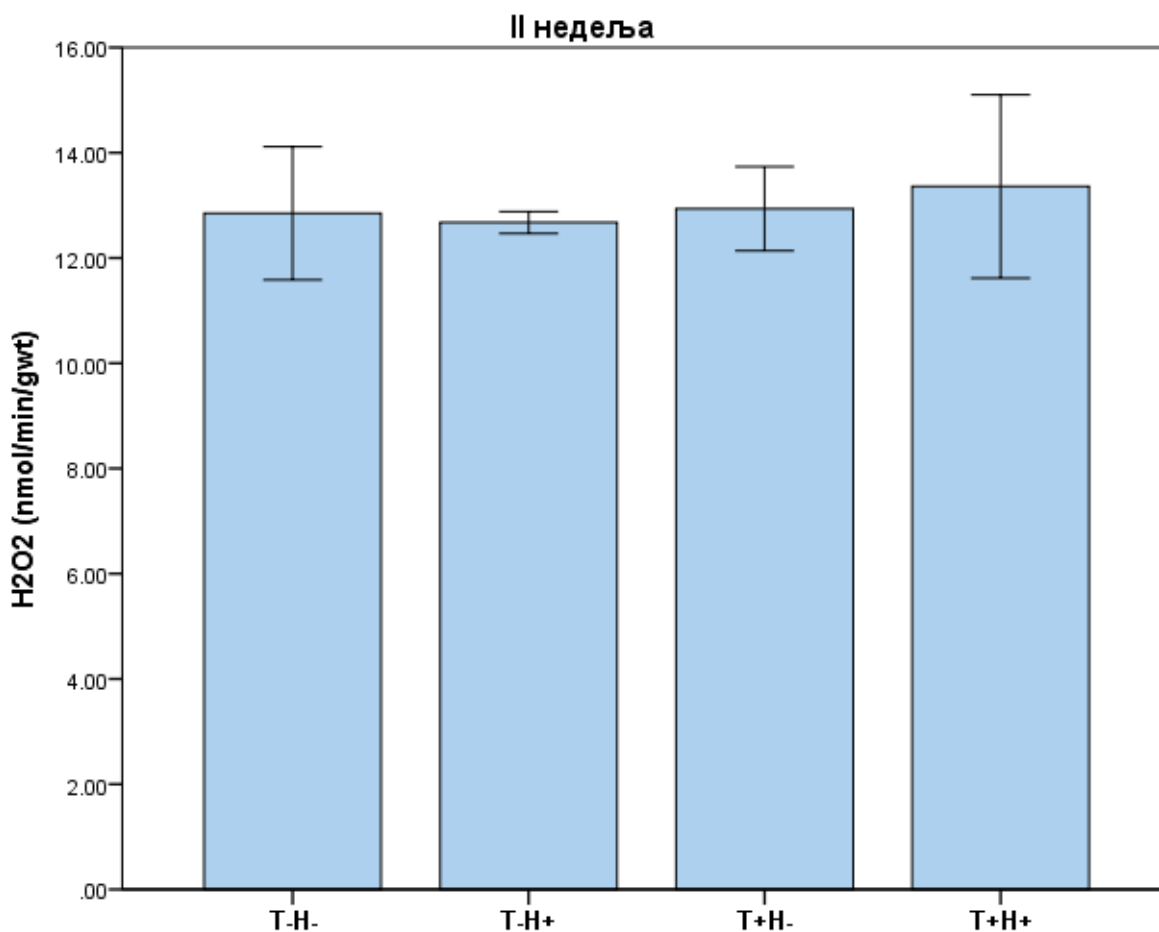


График бр.17. Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

На графику се може приметити да нема статистички значајних разлика између нивоа водоник пероксида свих експерименталних група у другој недељи истраживања.

На графику бр. 18 приказана је упоредна анализа вредности водоник пероксида свих експерименталних група након треће експерименталне недеље, при чему се може закључити да нема статистички значајних разлика између експерименталних група у трећој недељи истраживања.

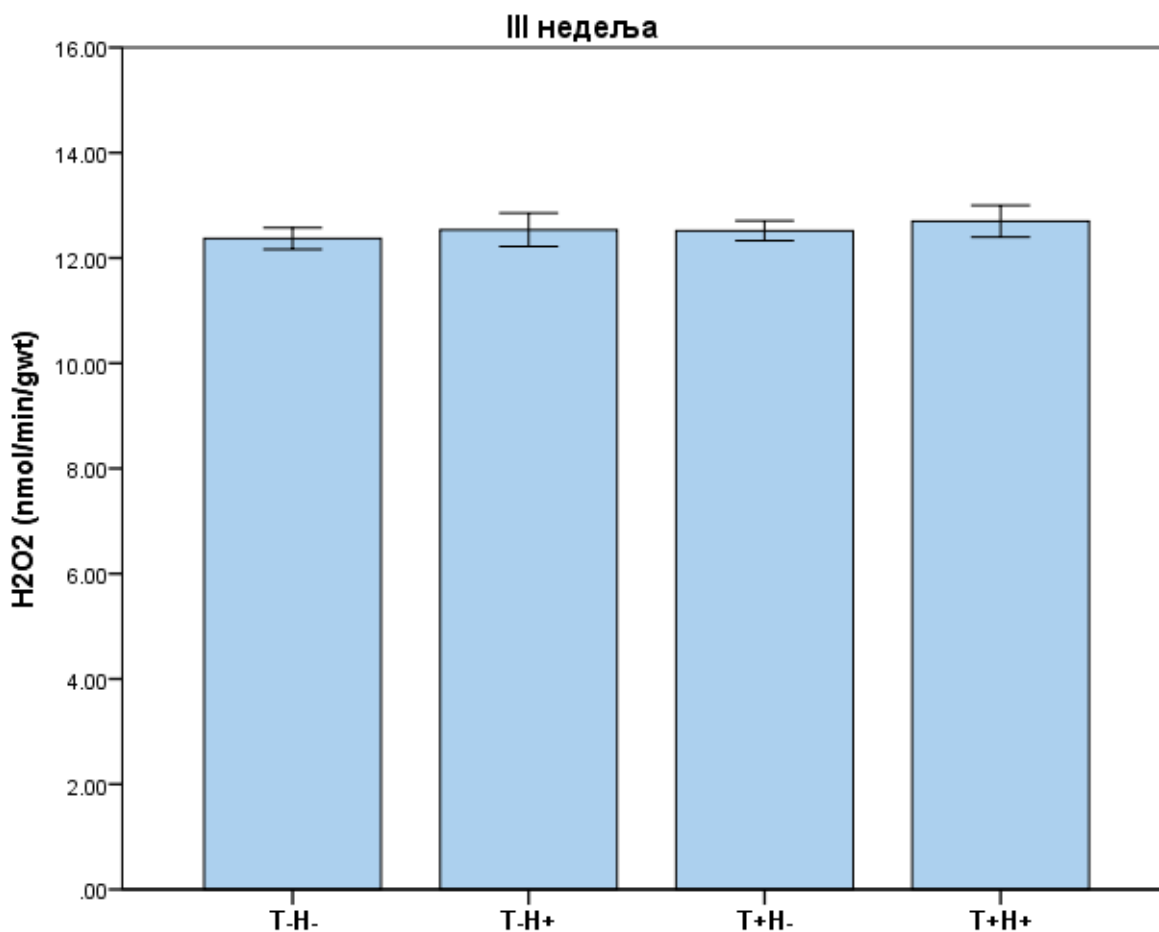


График бр.18. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

На графику бр. 19 приказана је упоредна анализа вредности водоник пероксида свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље, при чему се такође може закључити да и овде нема статистички значајних разлика између експерименталних група у четвртој недељи истраживања.

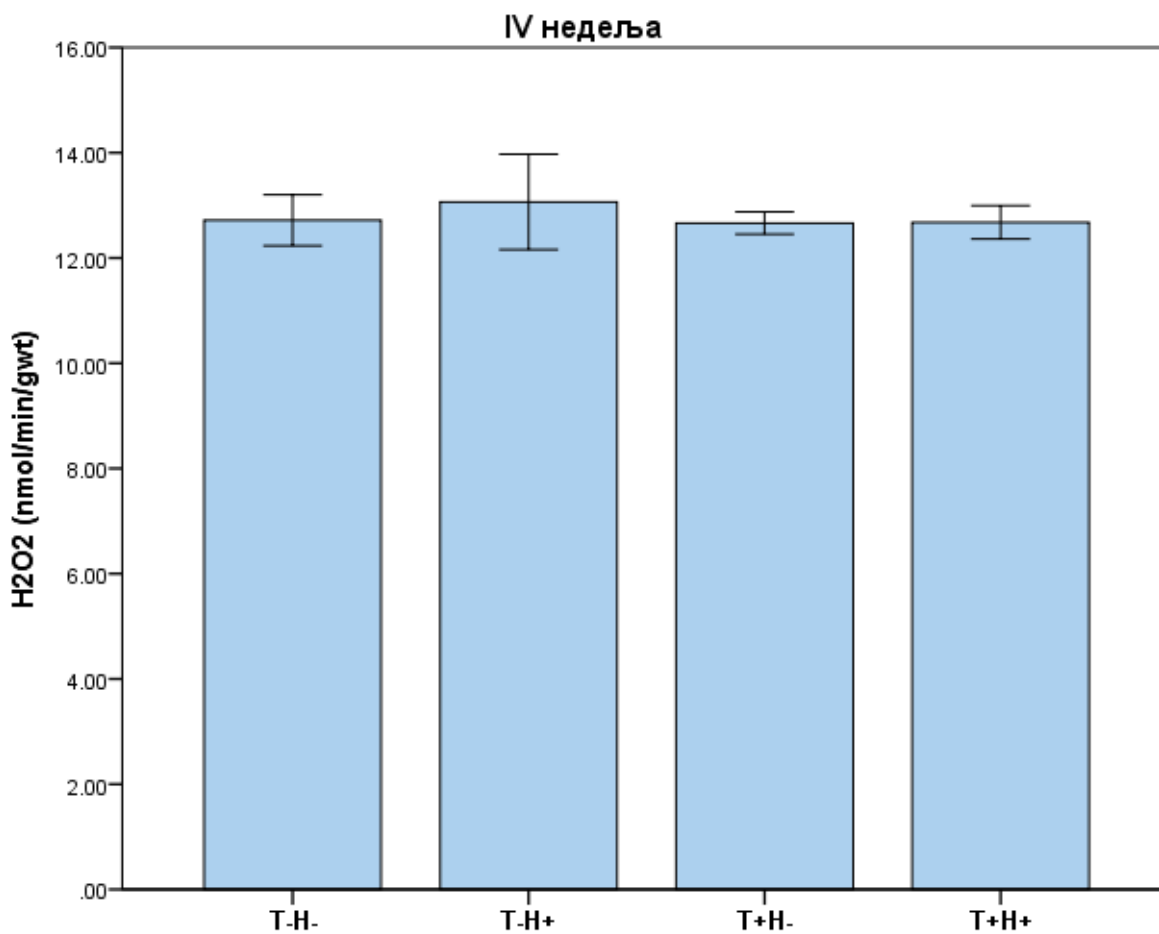


График бр. 19: Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

СУПЕРОКСИД АНЈОН РАДИКАЛ (O_2^-)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности супероксид анјон радикала у узорцима крвне плазме, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима овог параметра других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода и резултати су приказани на графику број 20.

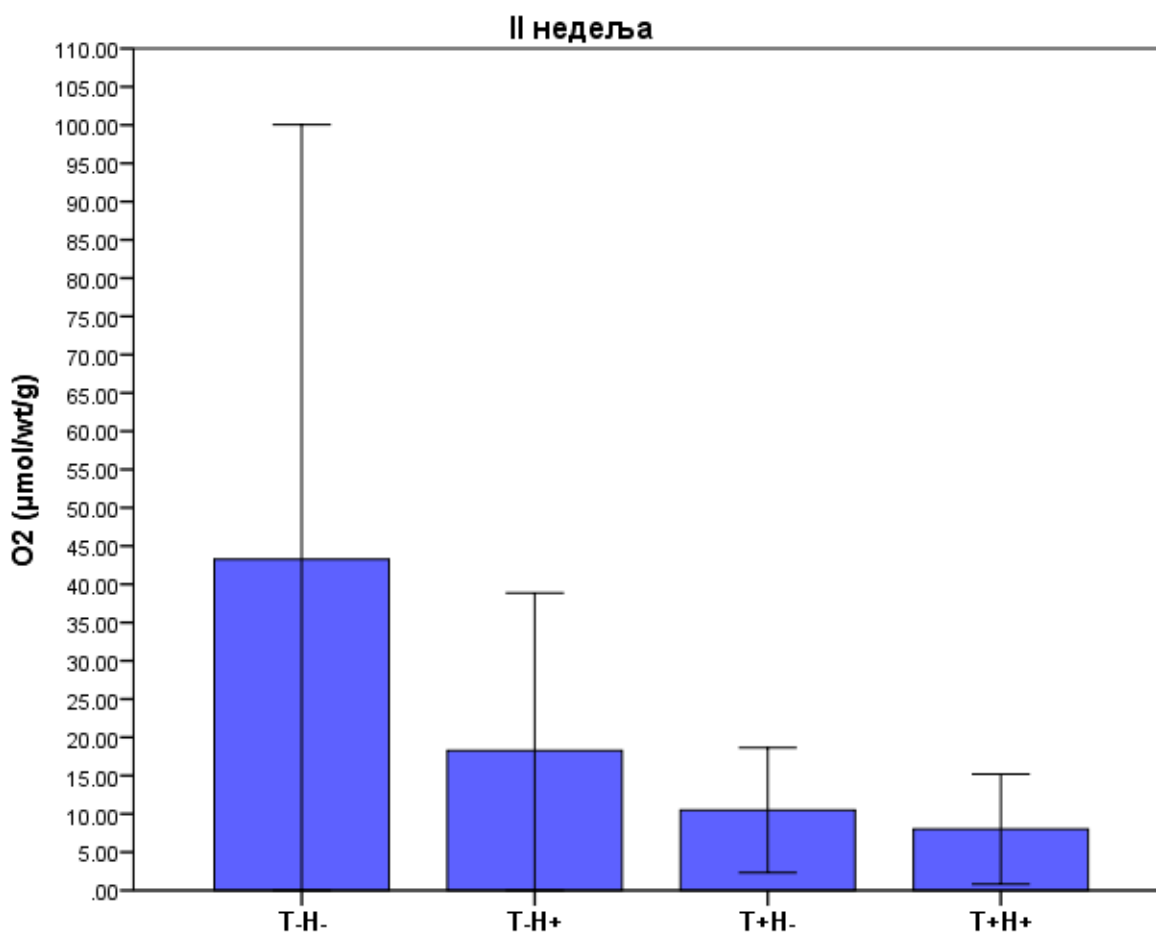


График бр. 20. Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

Из приложеног приказа се може приметити да нема статистички значајних разлика у нивоима супероксид анјон радикала између експерименталних група у другој недељи истраживања, али су у групама које су биле подвргнуте тренингу вредности испитиваног параметра нешто ниже у односу на групе које нису трениране.

На графику бр. 21 приказана је упоредна анализа вредности супероксид анион радикала свих експерименталних група након треће експерименталне недеље.

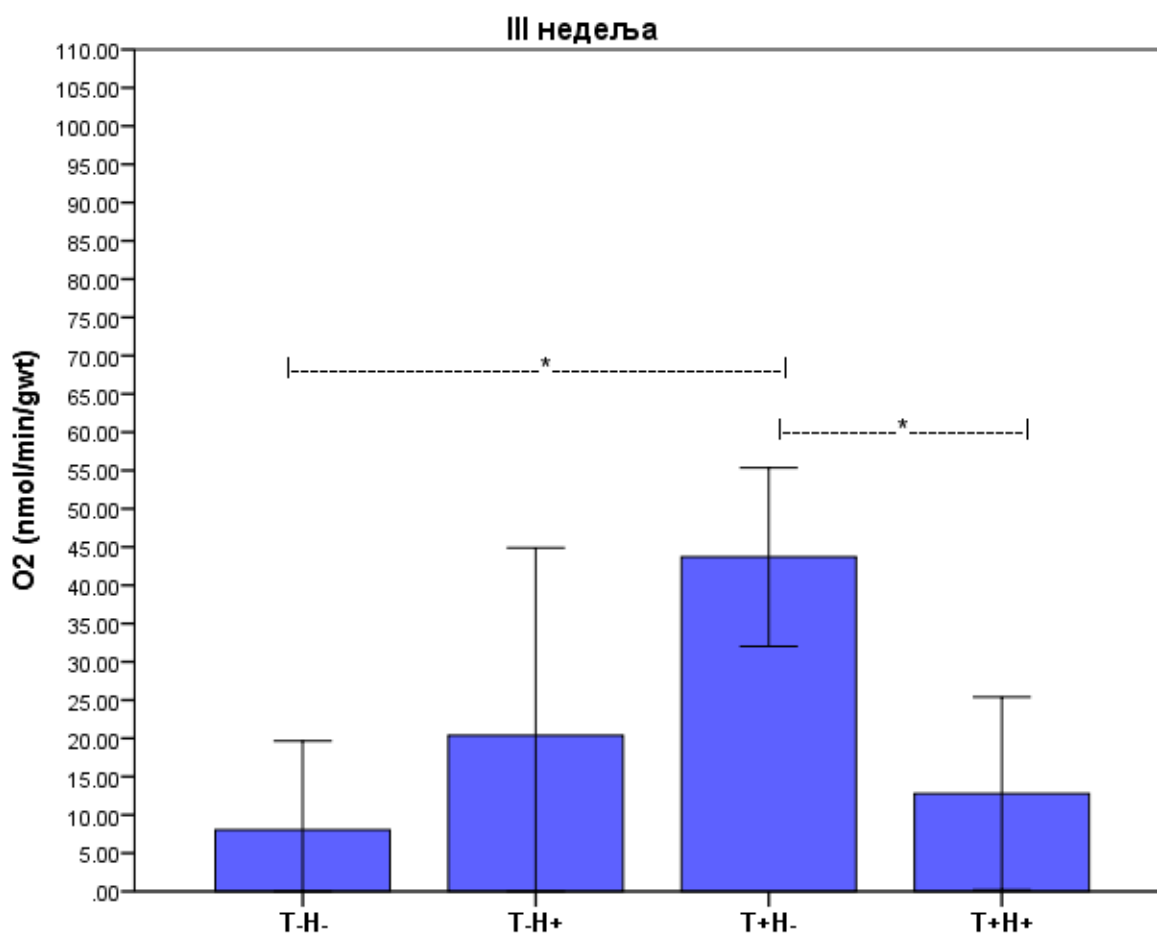


График бр. 21. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

На приложеном графику се јасно види статистички значајна разлика, пре свега између група које су биле третиране тренингом а јесу или нису примале нандролон.

На графику бр. 22 приказана је упоредна анализа вредности супероксид анјон радикала свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље, при чему се може закључити да нема статистички значајних разлика између експерименталних група у четвртој недељи истраживања.

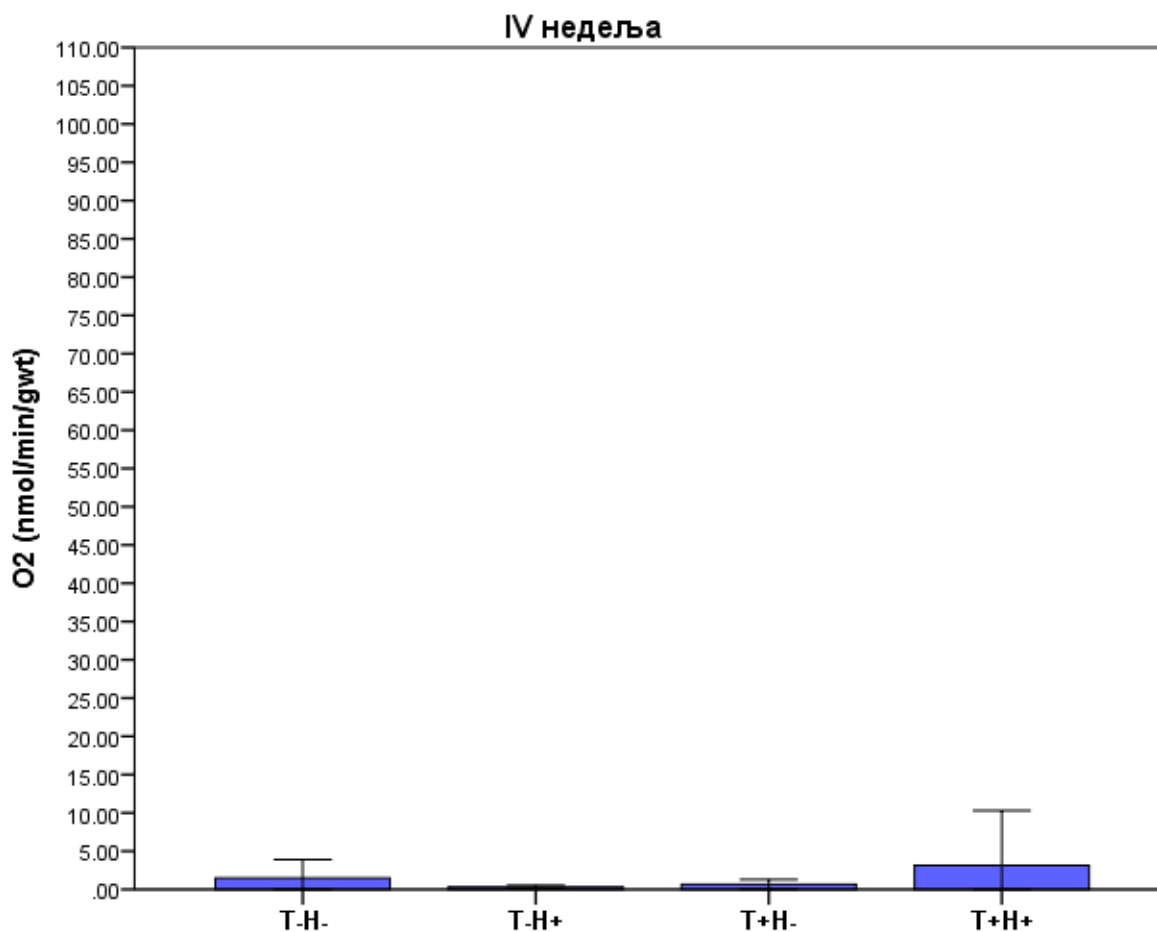


График бр. 22. Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

КАТАЛАЗА (CAT)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности каталазе у узорцима крвне плазме, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима овог параметра других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода, и резултати су приказани на Графику број 23.

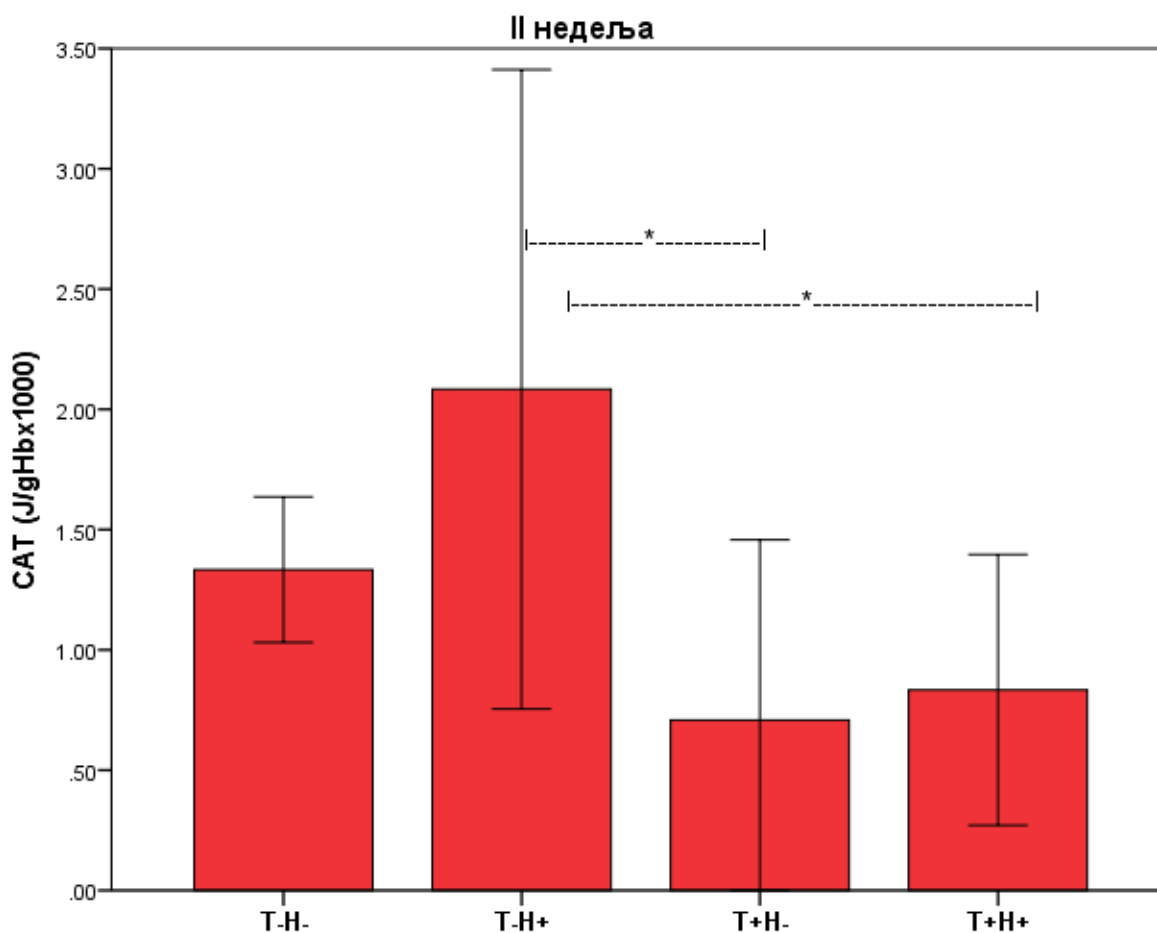


График бр. 23. Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

Статистички значајна разлика у вредностима каталазе јавља се између групе која није тренирала и примала је нандролон (T-N+) и групе која јесте тренирала а такође је примала нандролон (T+N+). Разлика је статистички значајна и између групе која није тренирана а апликован је нандролон (T-N+) и групе која је тренирана а којој није апликован нандролон (T+N-). Битно је приметити да су групе које су биле подвргнуте тренажном процесу а независно од примене нандролона дале ниже вредности испитиваног параметра у односу на групе које нису биле подвргнуте тренажном процесу.

На графику бр. 24 приказана је упоредна анализа вредности каталазе свих експерименталних група након треће експерименталне недеље, при чему се може закључити да нема статистички значајних разлика између експерименталних група у трећој недељи истраживања за испитивани параметар док су вредности у тренажним групама и након треће недеље нешто ниже од осталих група и у тенденцији пораста.

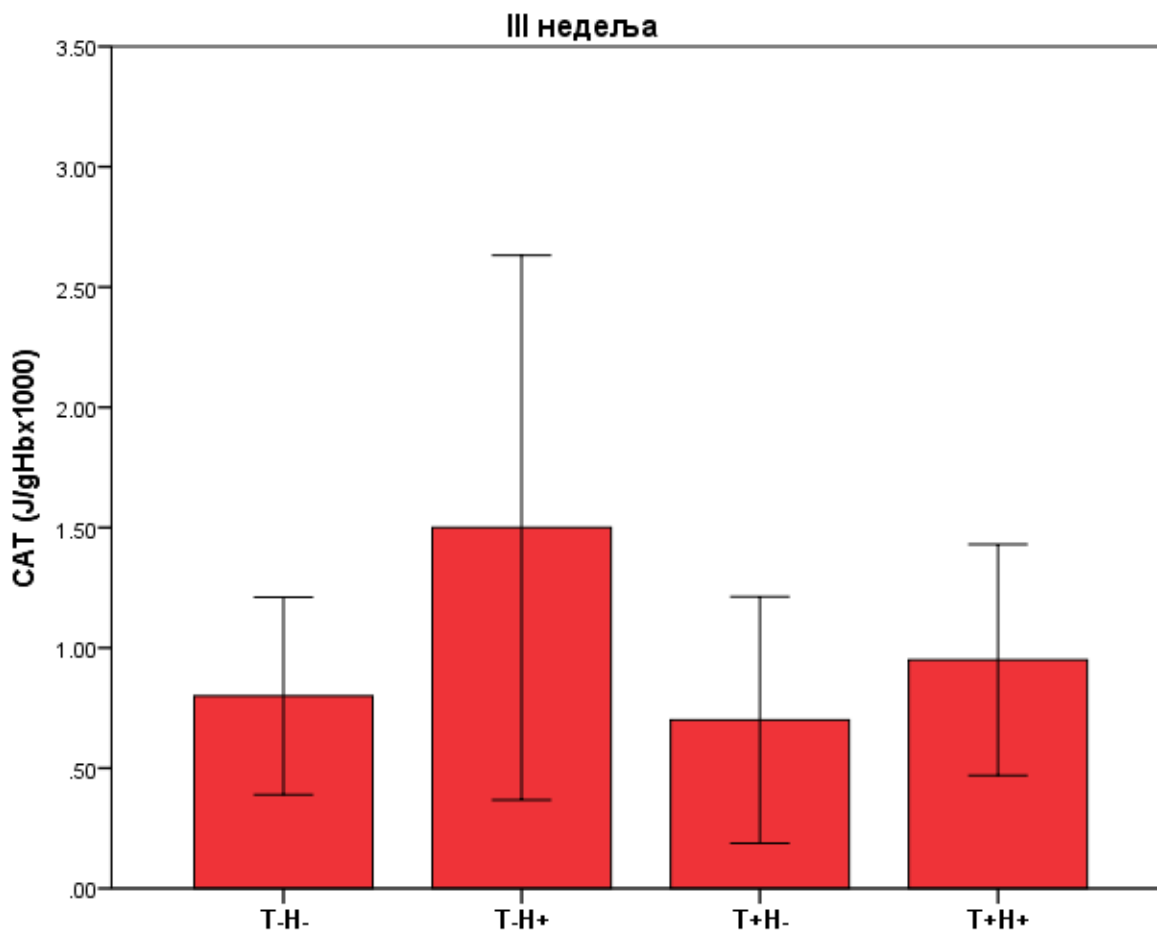


График бр. 24. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

На графику бр. 25 приказана је упоредна анализа вредности каталазе свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље, при чему се може закључити да нема статистички значајних разлика између експерименталних група у четвртој недељи истраживања за испитивани параметар, али се види да су се вредности у односу на групу која није тренирала и није примала нандролон након четврте недеље повисиле и приближно су једнаке независно од врсте експерименталне групе.

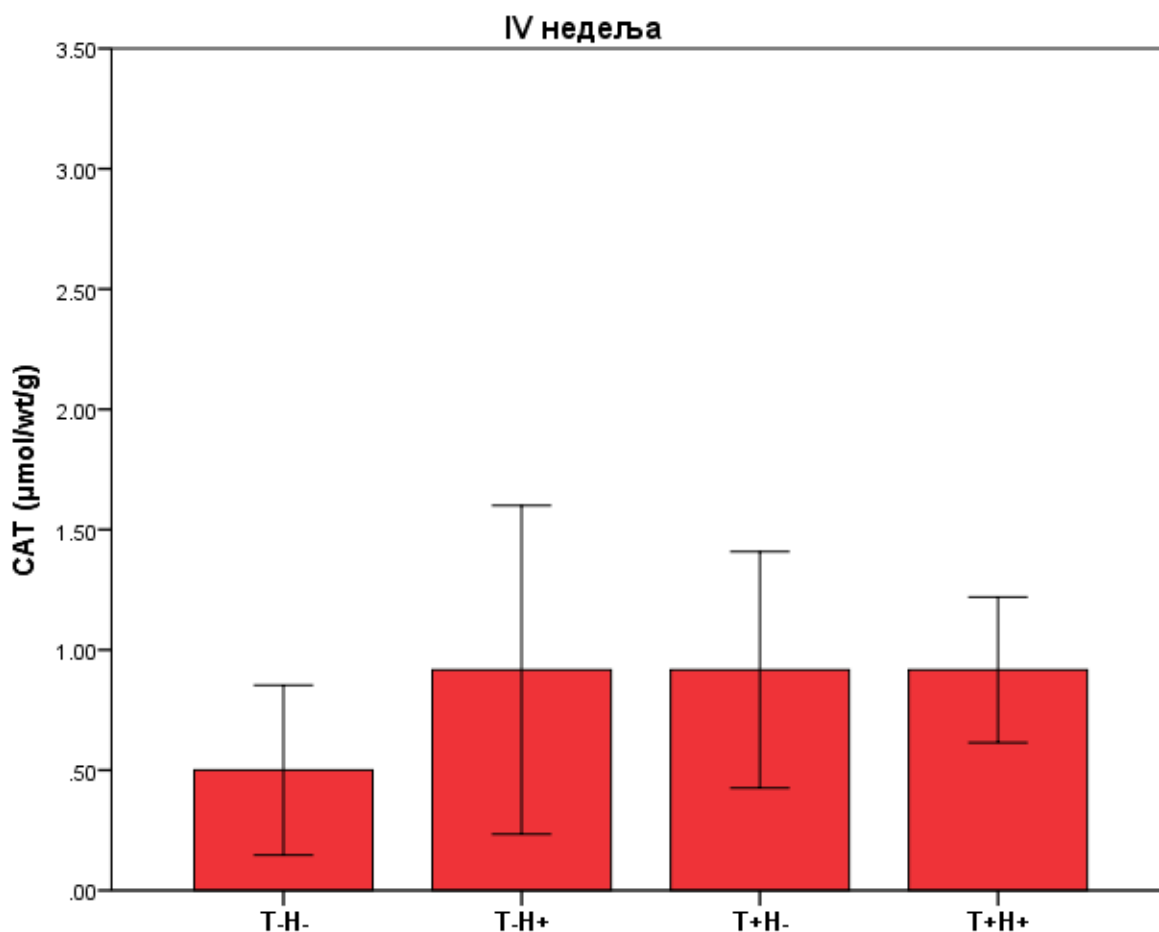


График бр. 25. Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗА (SOD)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности супероксид дисмутазе е у узорцима крвне плазме, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима овог параметра других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода, и резултати су приказани на Графику број 26.

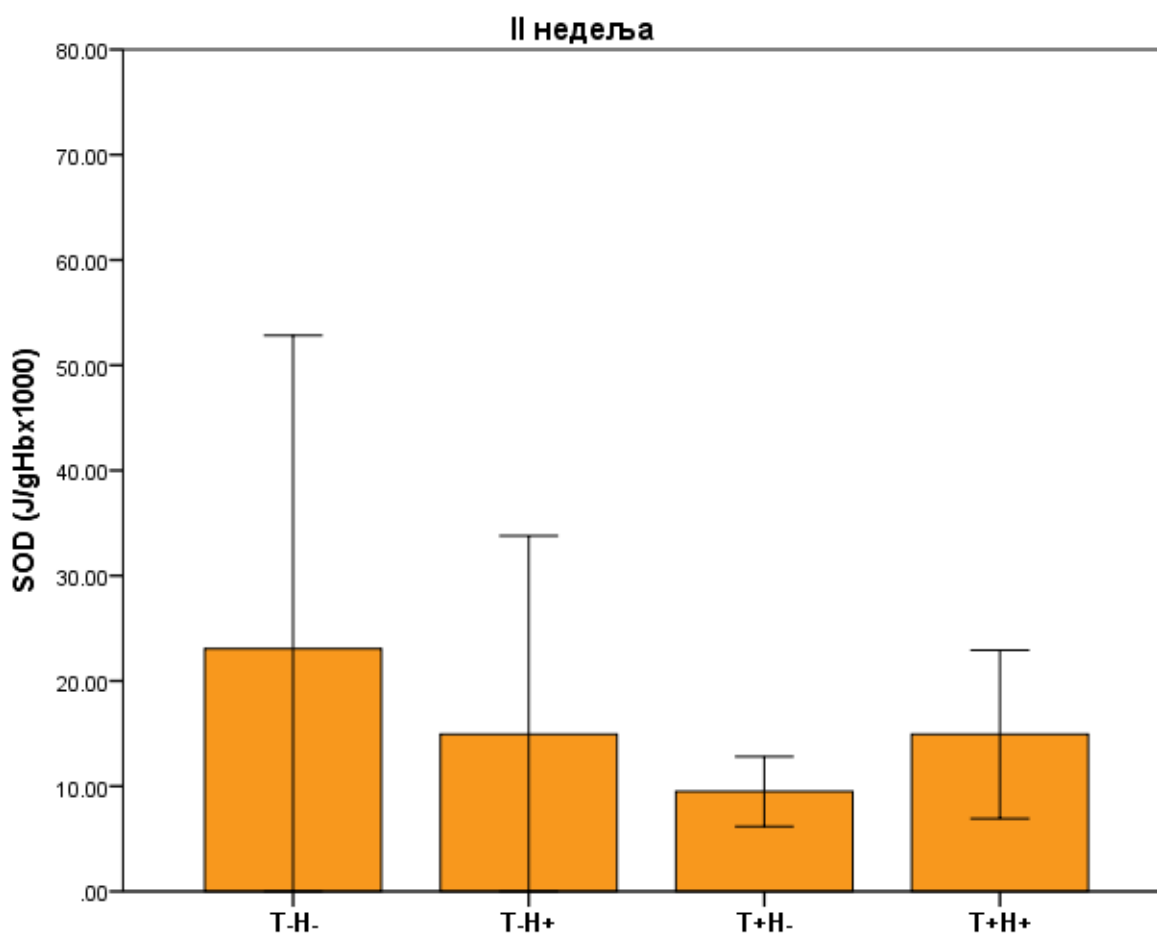


График бр. 26. Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

На графику се може видети да нема статистички значајних разлика између експерименталних група у другој недељи истраживања за испитивани параметар, али битно је приметити да су групе које су биле подвргнуте тренажном процесу а независно од примене нандролона дале ниже вредности испитиваног параметра у односу на групе које нису биле подвргнуте тренажном процесу.

На графику бр. 27 приказана је упоредна анализа вредности супероксид дисмутазе у свих експерименталних група након треће експерименталне недеље, при чему се може приметити да нема статистички значајних разлика између експерименталних група у трећој недељи истраживања за испитивани параметар, али са графика се јасно види да су групе које су биле подвргнуте тренажном процесу а независно од примене нандролоне дале ниже вредности испитиваног параметра у односу на групе које нису биле подвргнуте тренажном процесу.

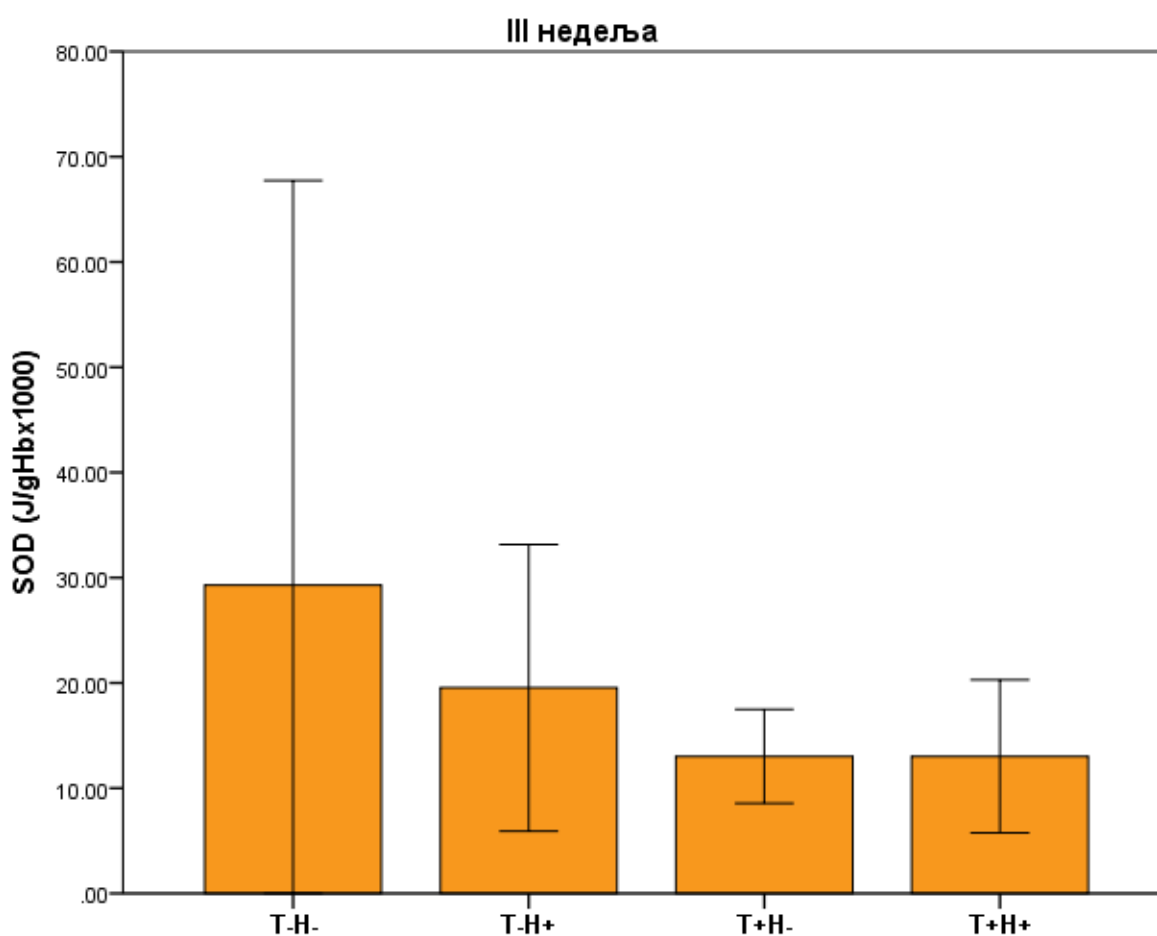


График бр. 27. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

На графику бр. 28 приказана је упоредна анализа вредности супероксид дисмутазе у свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље, при чему се може закључити да се статистички значајно разликују група која је контролна и нити је тренирана нити је примала нандролон (Т-Н-) у односу на групу која није тренирана а апликован је нандролон (Т-Н+) и у односу на групу која јесте тренирана али у тој групи није био апликован нандролон (Т+Н-).

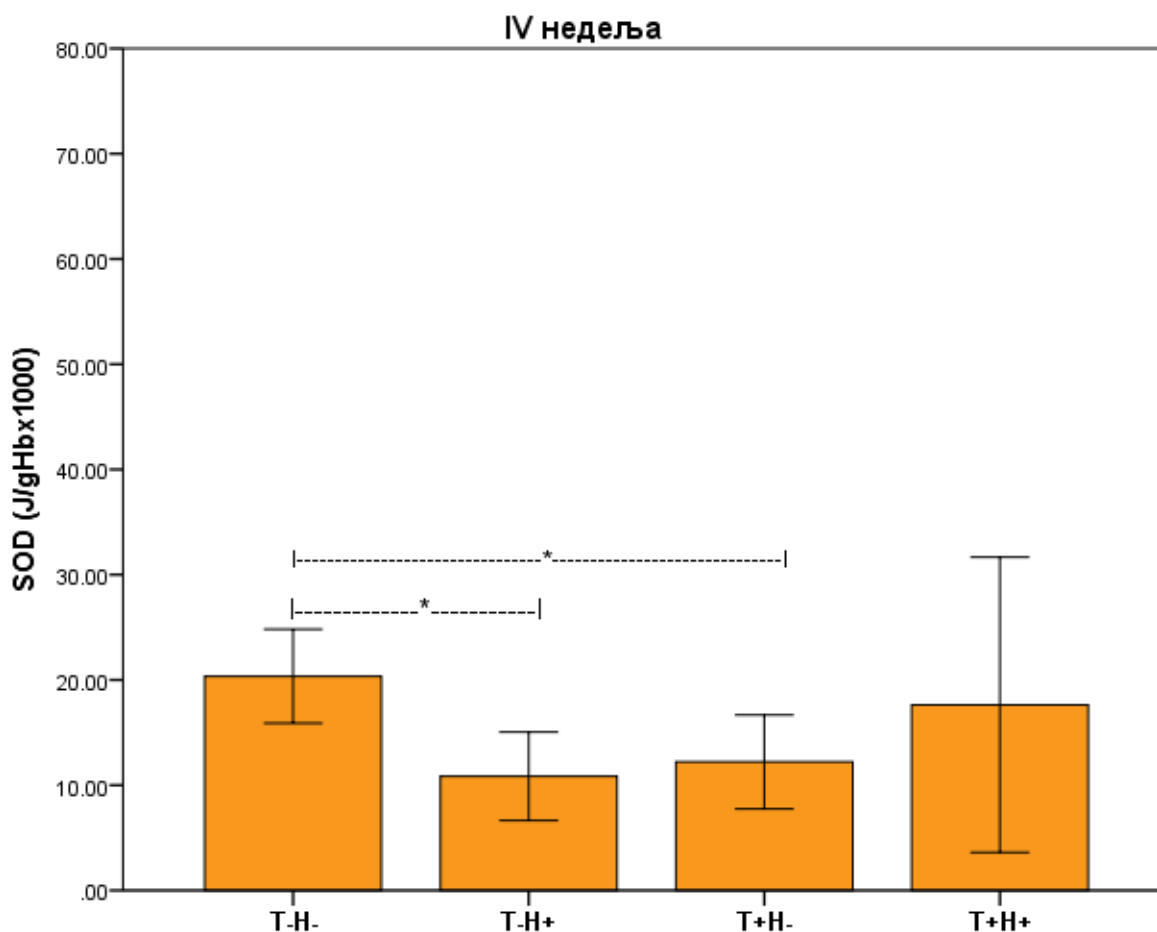


График бр. 28. Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

ГЛУТАТИОН (GSH)

Након друге експерименталне недеље мерене су вредности глутатиона (GSH) у узорцима крвне плазме, након чега су добијене вредности упоређиване са вредностима овог параметра других експерименталних група након друге недеље експерименталног периода, и резултати су приказани на Графику број 29.

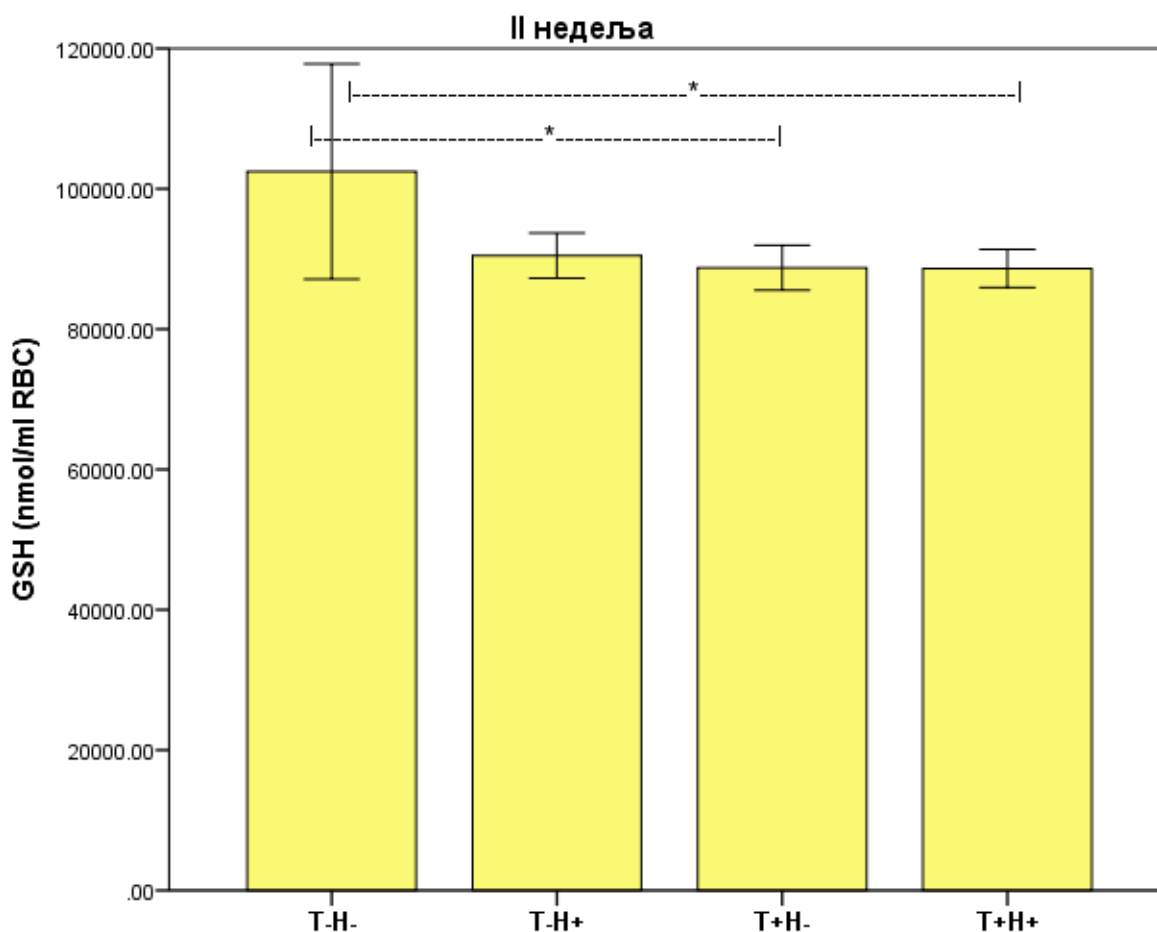


График бр. 29. Међусобно поређење свих испитиваних група након друге експерименталне недеље

Из приложеног се примећује да су се статистички након друге недеље разликовале групе којима је апликован нандролон независно од примене тренажног процеса у односу на групу која је у овом истраживању представљала контролну групу (T-H-).

На графику бр. 30 приказана је упоредна анализа вредности глутатиона у свих експерименталних група након треће експерименталне недеље, при чему се може приметити да експериментална група која није била тренирана а апликован јој је нандролон (Т-Н+), статистички се значајно разликовала од групе која је примала нандролон али је и била тренирана (Т+Н+). Значајност у промени вредности испитиваног параметра уочена је и између групе која је тренирана а није примала нандролон (Т+Н-) и групе која је тренирана али јесте примала нандролон (Т+Н+).

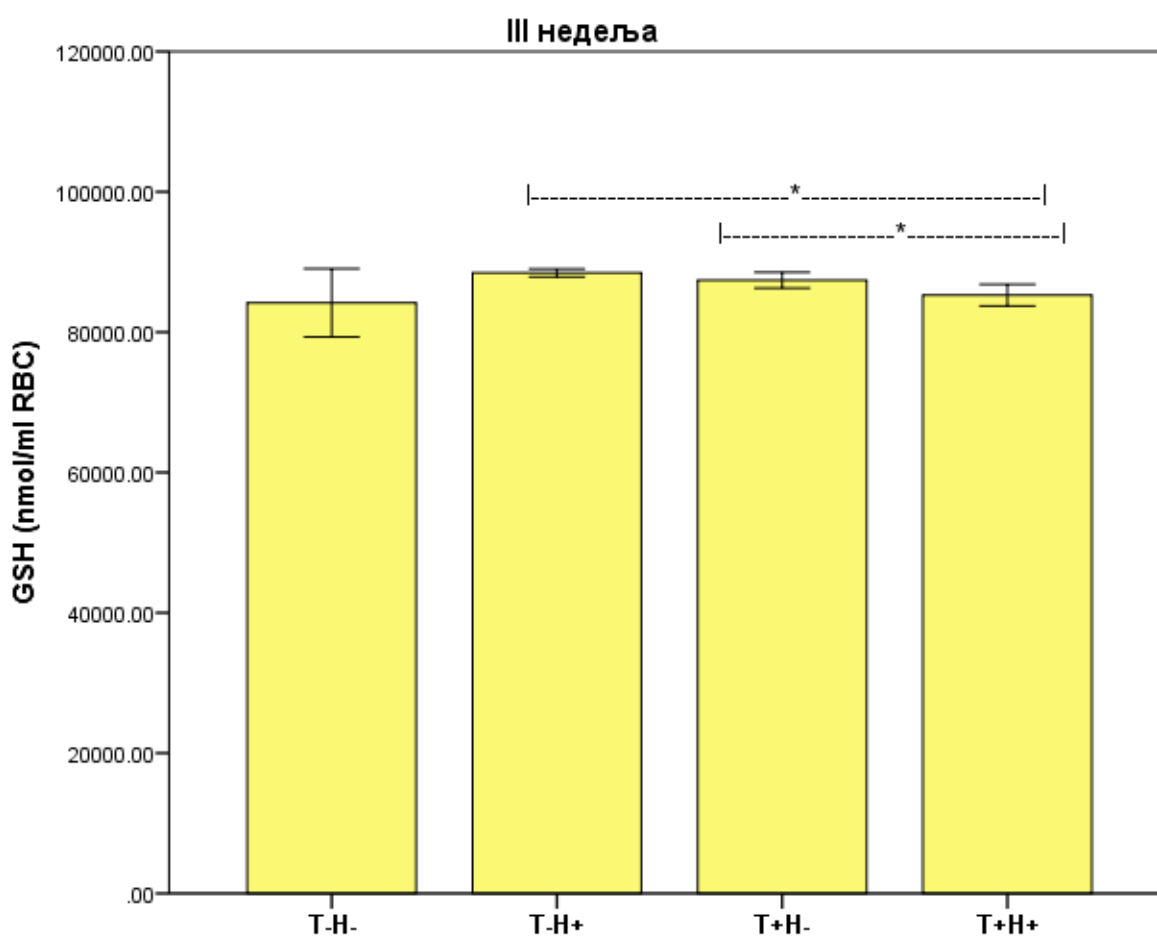


График бр. 30. Међусобно поређење свих испитиваних група након треће експерименталне недеље

На графику бр. 31 приказана је упоредна анализа вредности глутатиона у свих експерименталних група након четврте експерименталне недеље, при чему се може закључити да се статистички значајно разликују групе којима је апликован нандролон али једна је била тренирана а друга није (Т+Н+ и Т-Н+).

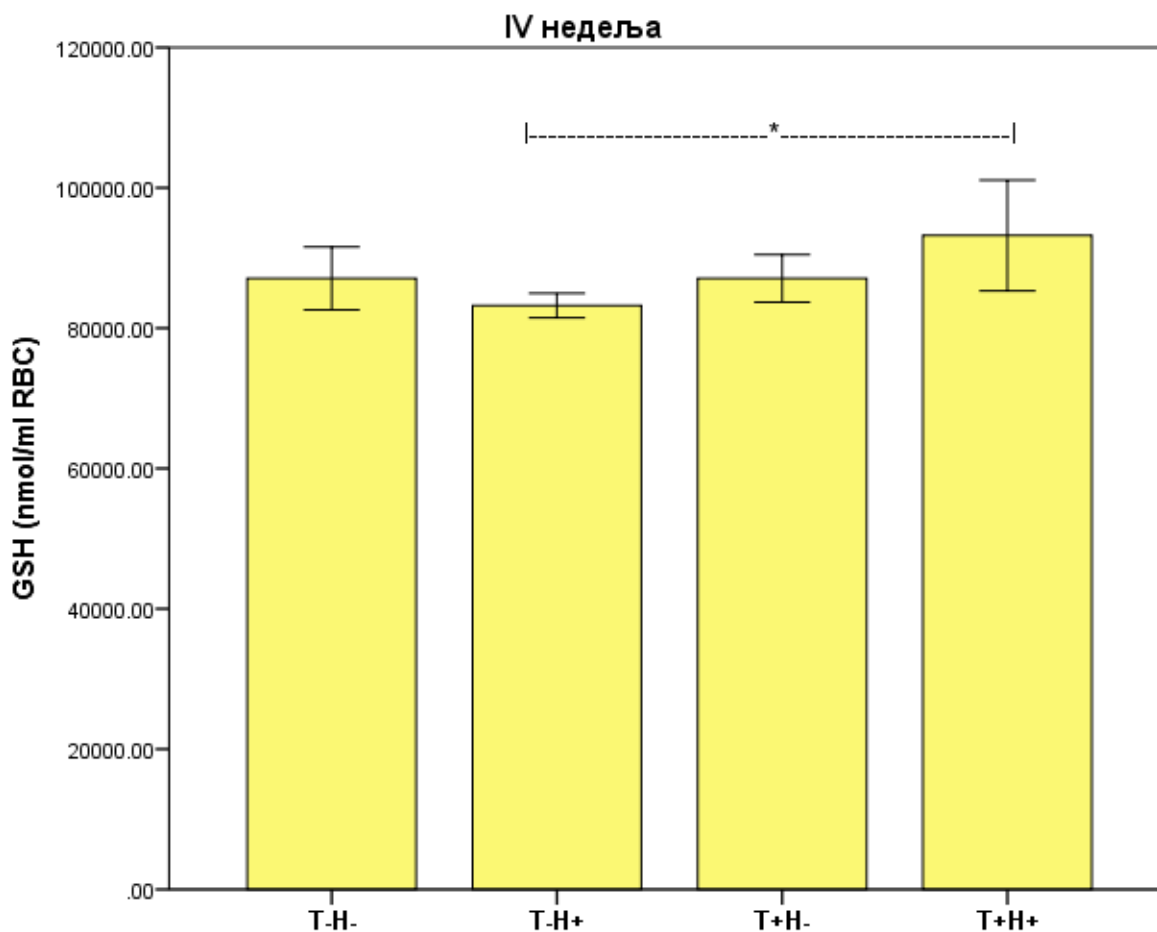


График бр. 31. Међусобно поређење свих испитиваних група након четврте експерименталне недеље

Поред поређења нивоа параметара оксидационог стреса у оквиру сваке експерименталне групе у истој недељи истраживања, упоређиване су и експерименталне групе у односу на моменат жртвовања односно по различитим експерименталним недељама у току хроничне серије студије. Резултати су приказани табеларно (Табела бр. 1).

Групе	Поређење по недељама	TBARS	NO ₂ ⁻	O ₂ ⁻	H ₂ O ₂	SOD	CAT	GSH
Т-Н-	II vs III	<0,05*	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05*
	II vs IV	<0,05**	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05*	<0,05*
	III vs IV	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Т-Н+	II vs III	<0,05**	<0,05*	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	II vs IV	<0,05**	<0,05*	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05*
	III vs IV	<0,05**	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05*
Т+Н-	II vs III	<0,05**	<0,05*	<0,05*	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	II vs IV	<0,05**	>0,05	<0,05*	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	III vs IV	<0,05**	>0,05	<0,05*	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Т+Н+	II vs III	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05*
	II vs IV	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	III vs IV	<0,05**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Табела бр. 1. Поређење у оквиру испитиваних група у односу на моменат жртвовања животиња

У зависности од временског интервала након којег су животиње жртвоване из табеле се види статистички значајна разлика између свих недеља жртвовања у оквиру сваке испитиване групе за добијене вредности индекса липидне пероксидације (TBARS). За нитрите можемо видети да се једино у групи Т-Н+ јавља статистички значајна разлика између свих недеља, слично је и код супероксид анјон радикала (само у Т+Н+ групи). Такође и у осталим групама постоје неке значајности али не тако убедљиве. (Табела бр. 1)

4.4. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА НА ДИНАМИКУ ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ТОКУ ХРОНИЧНЕ СЕРИЈЕ ЕКСПЕРИМЕНТА (у узорцима коронарног венског ефлуента)

Индекс липидне пероксидације (TBARS)

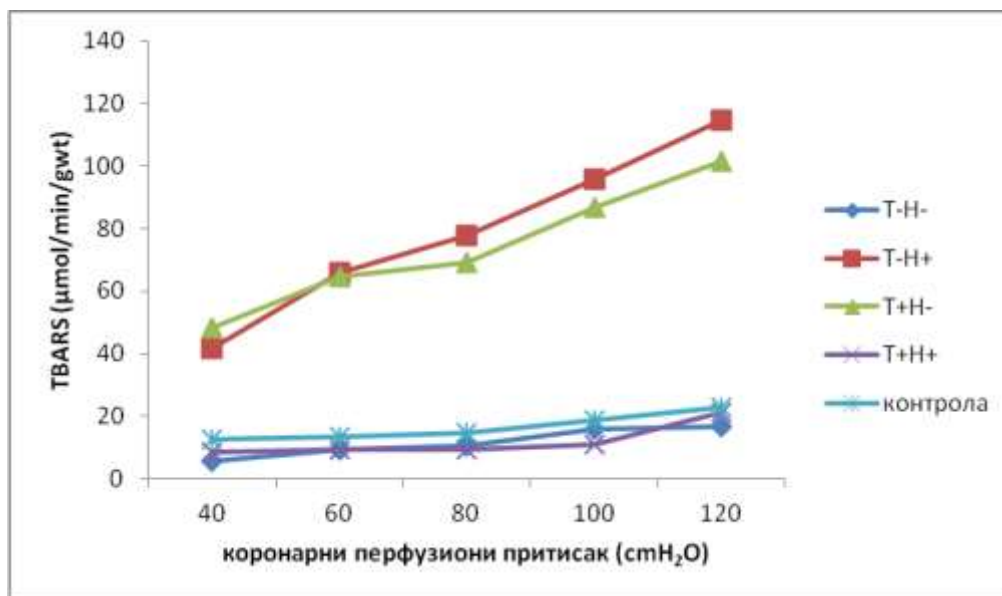


График бр. 32. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

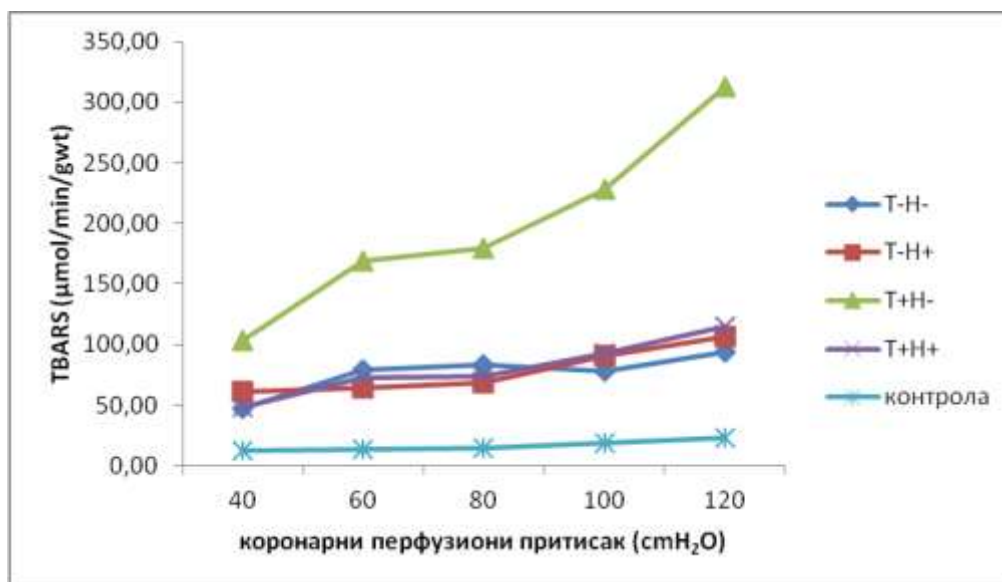


График бр. 33. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

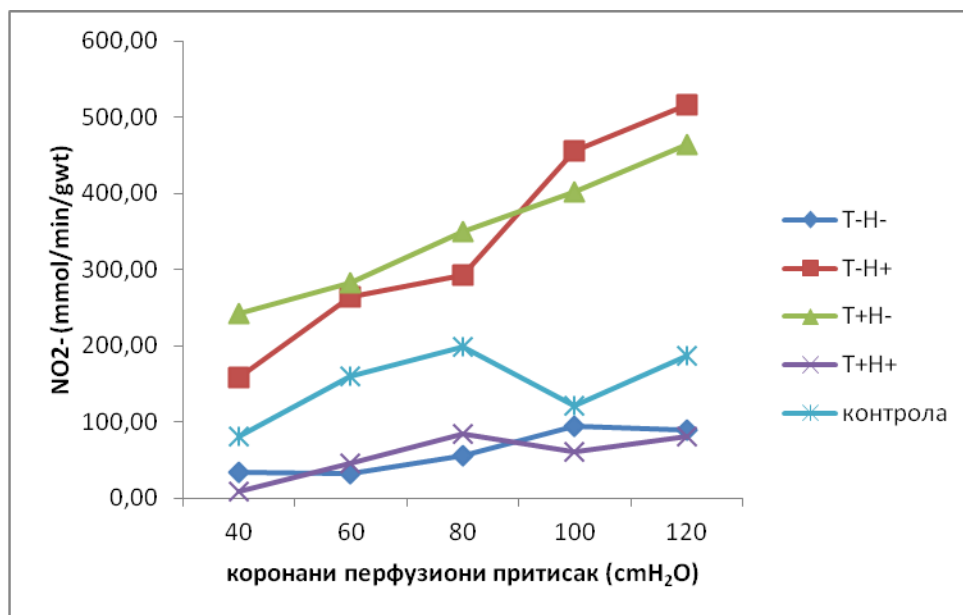
Нитрити (NO_2^-)

График бр. 34. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

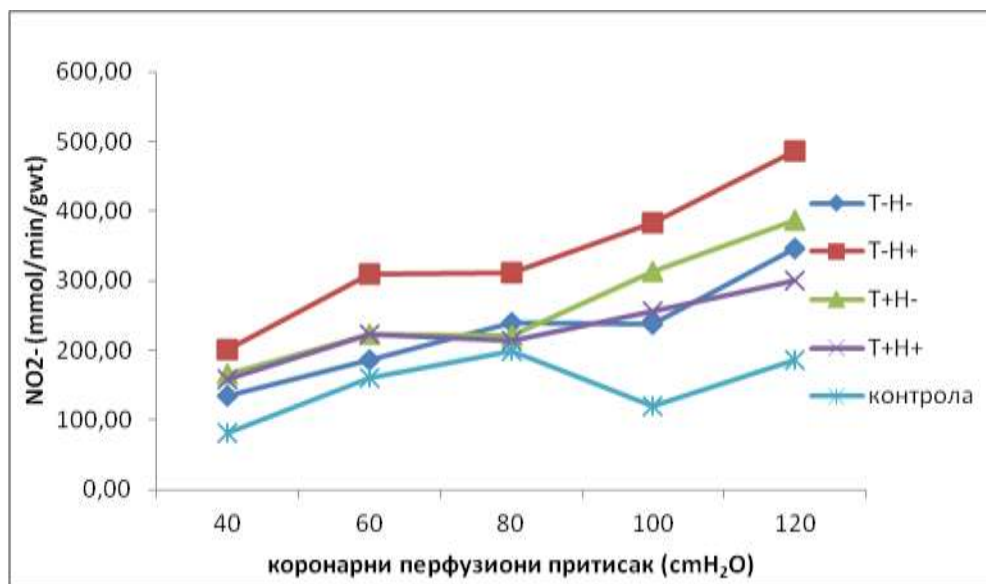


График бр. 35. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

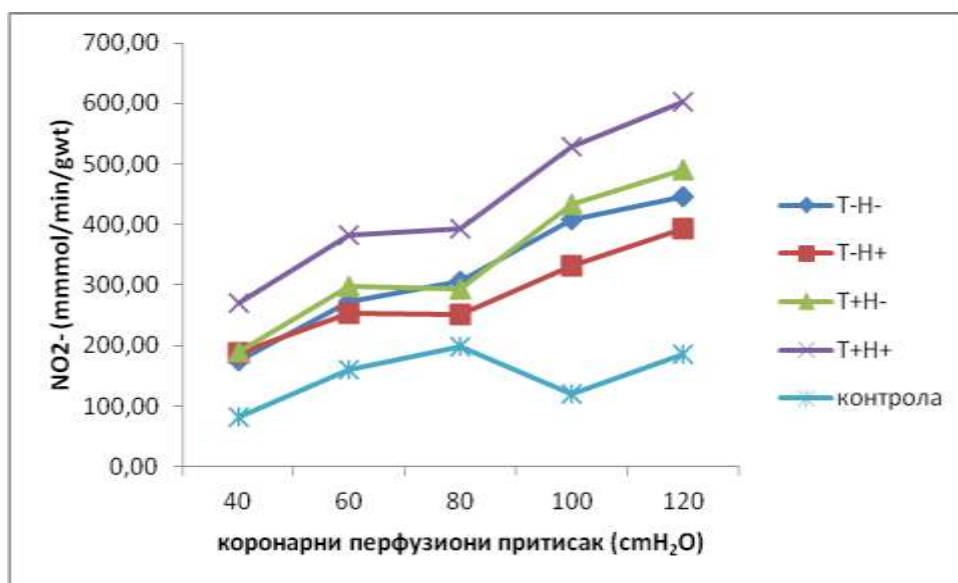


График бр. 36. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Водоник пероксид (H₂O₂)

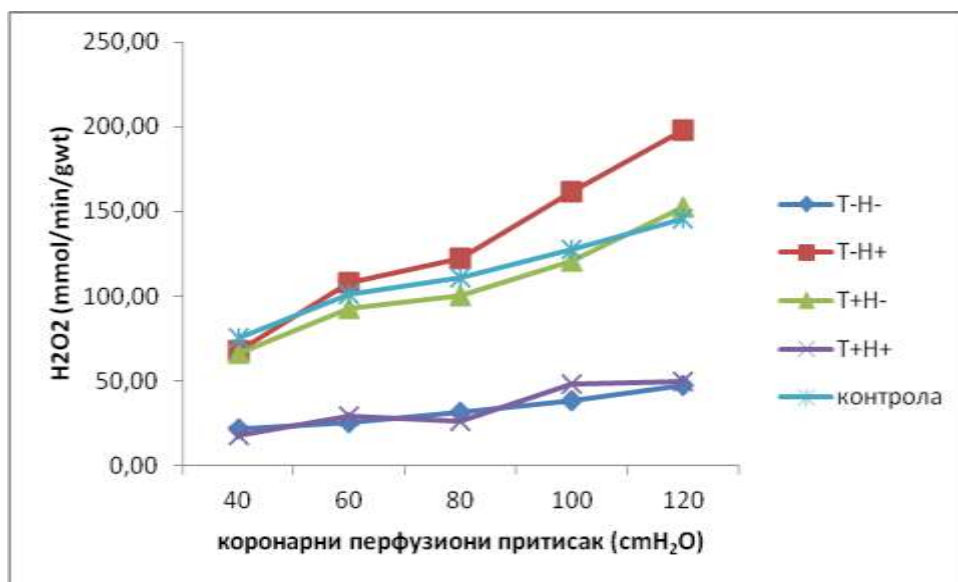


График бр. 37. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

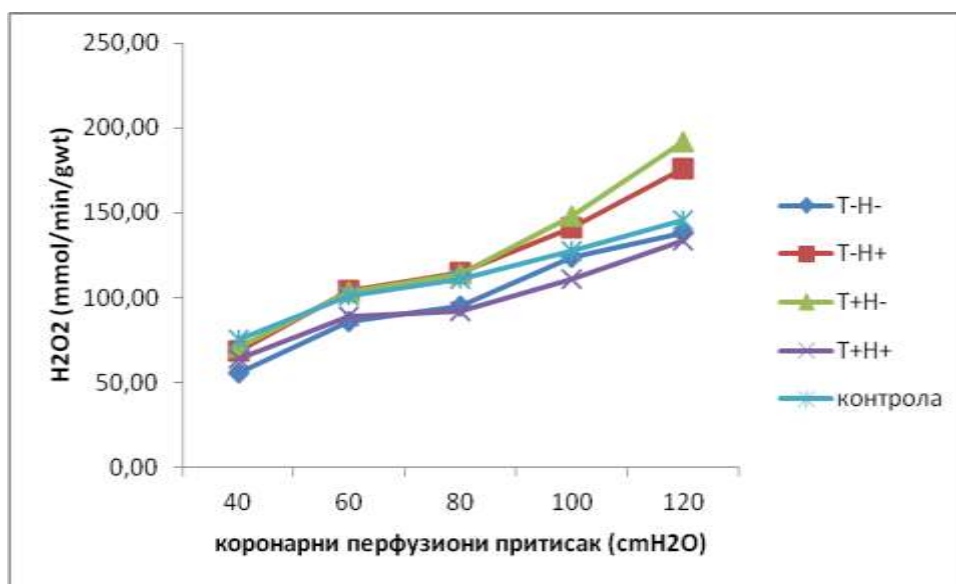


График бр. 38 . Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

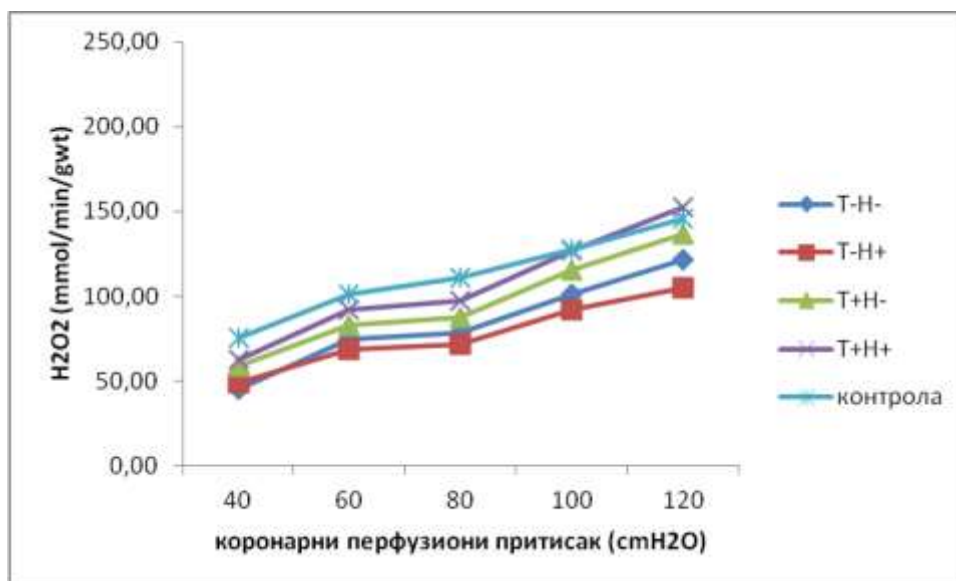


График бр. 39. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Супероксид анјон радикал (O_2^-)

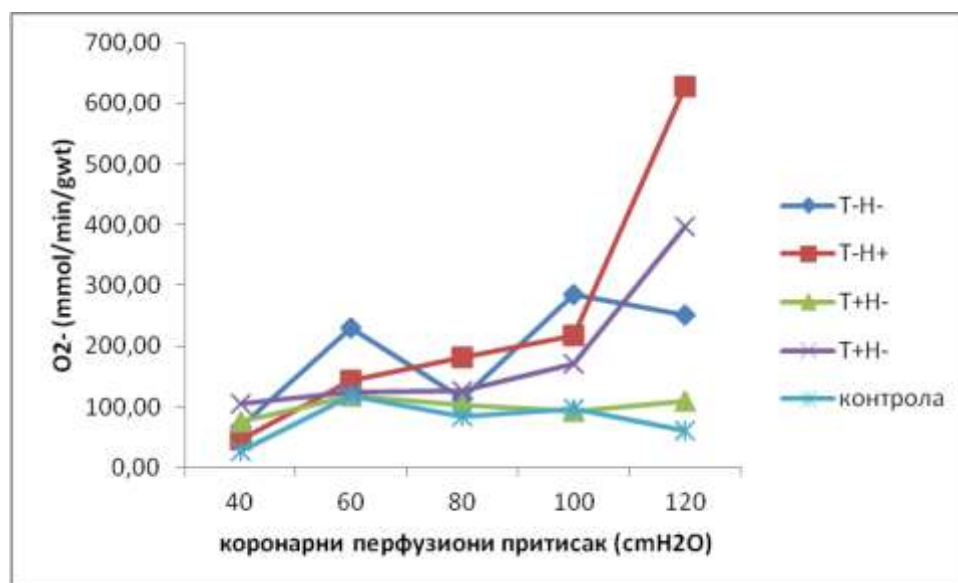


График бр. 40. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

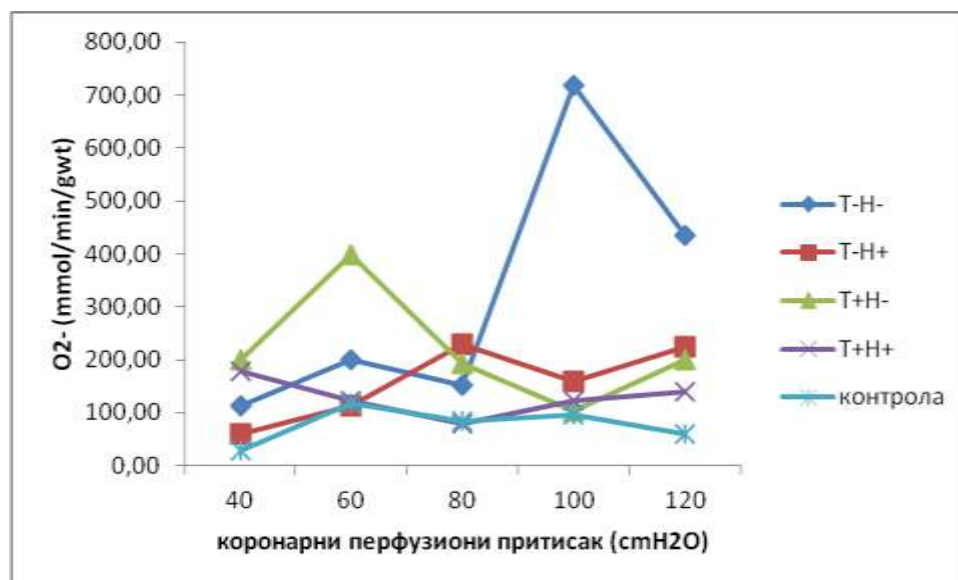


График бр. 41. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

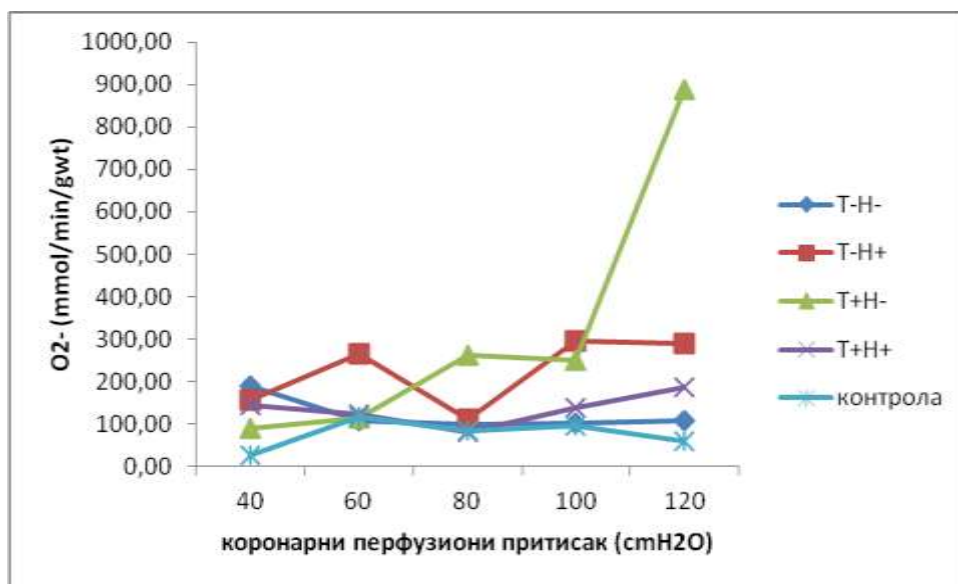
Супероксид анјон радикал (O_2^-)

График бр. 42. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

4.5. УТИЦАЈ НАНДРОЛОНА НА ДИНАМИКУ КАРДИДИНАМСКИХ ПАРАМЕТАРА ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ТОКУ ХРОНИЧНЕ СЕРИЈЕ ЕКСПЕРИМЕНАТА

Ефекти апликације нандролон деканоата у виду депо препарата (20мг/кг/недељно, субкутано) на промене кардиодинамских параметара након хроничне апликације нандролон приказани су графички.

Максимална промена притиска у левој комори ($dp/dt \max$)

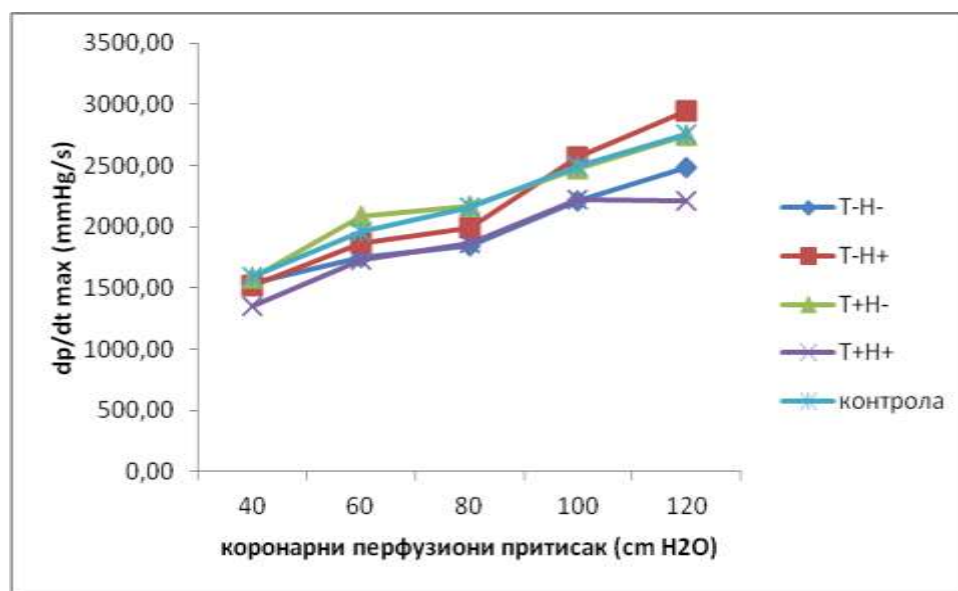


График бр. 43. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

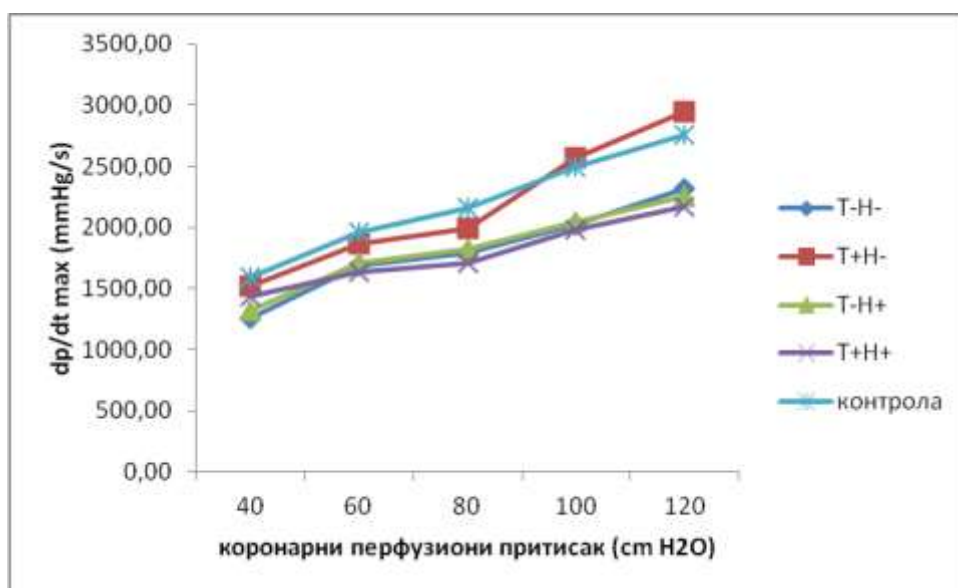


График бр. 44. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

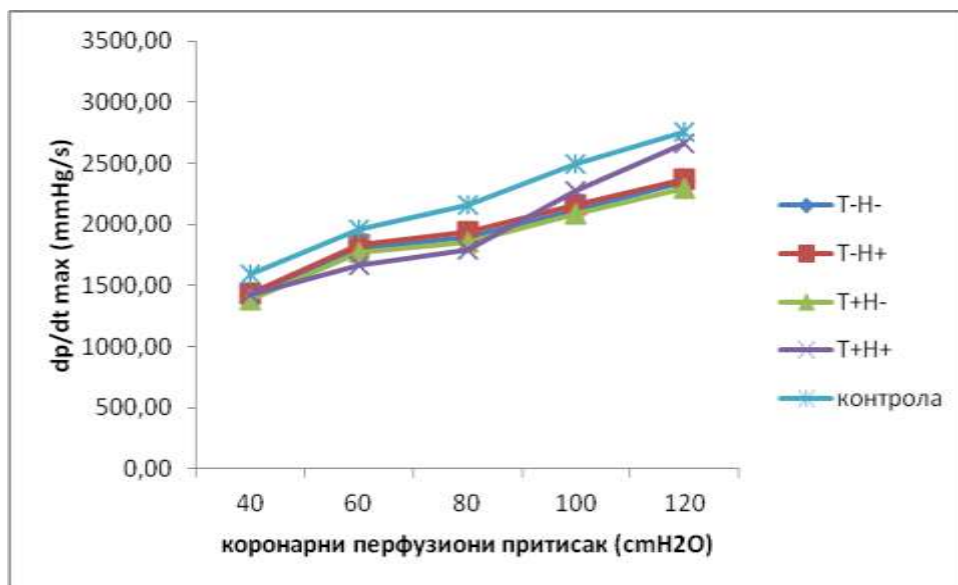


График бр. 45. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Минимална промена притиска у левој комори ($dp/dt \text{ min}$)

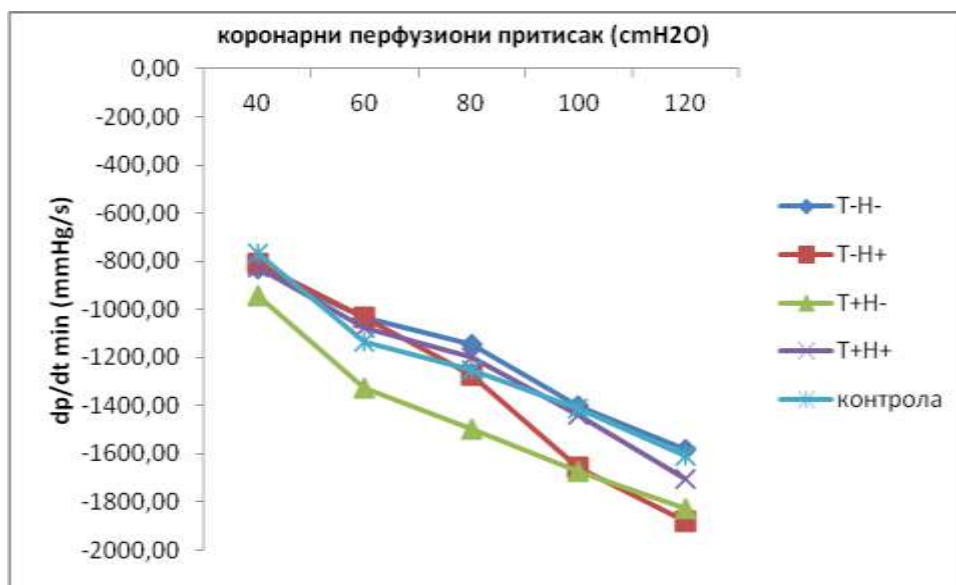


График бр. 46. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

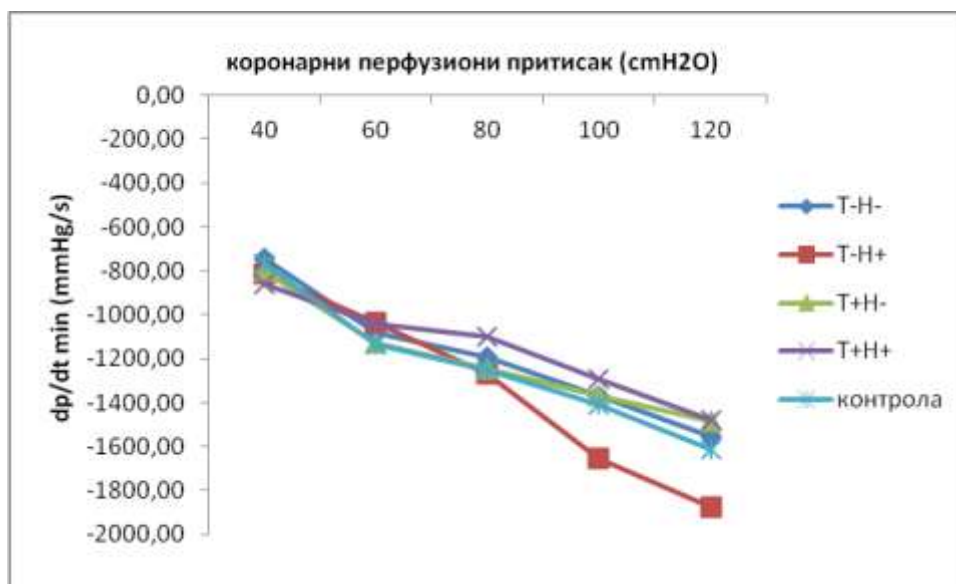


График бр. 47. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

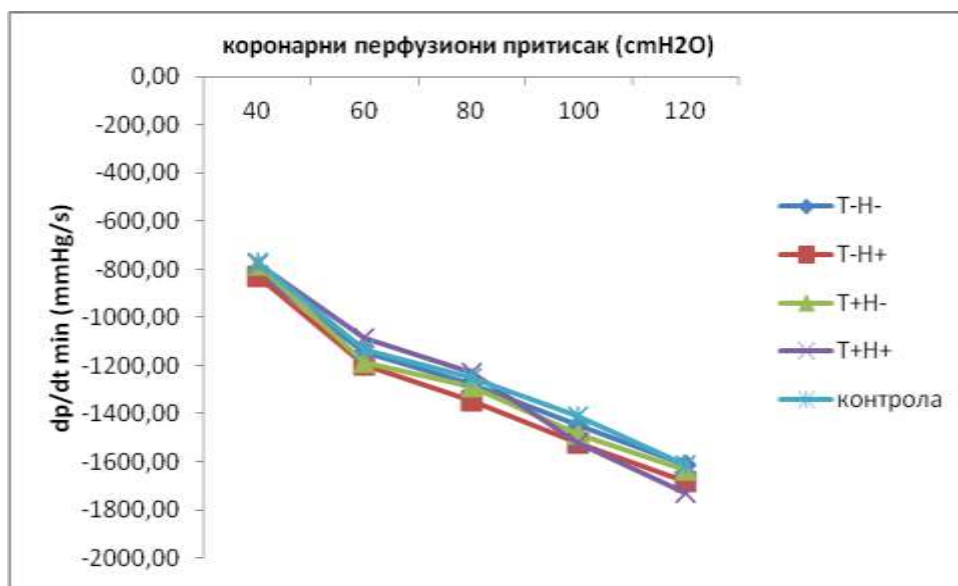


График бр. 48. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Систолни притисак у левој комори (SLVP)

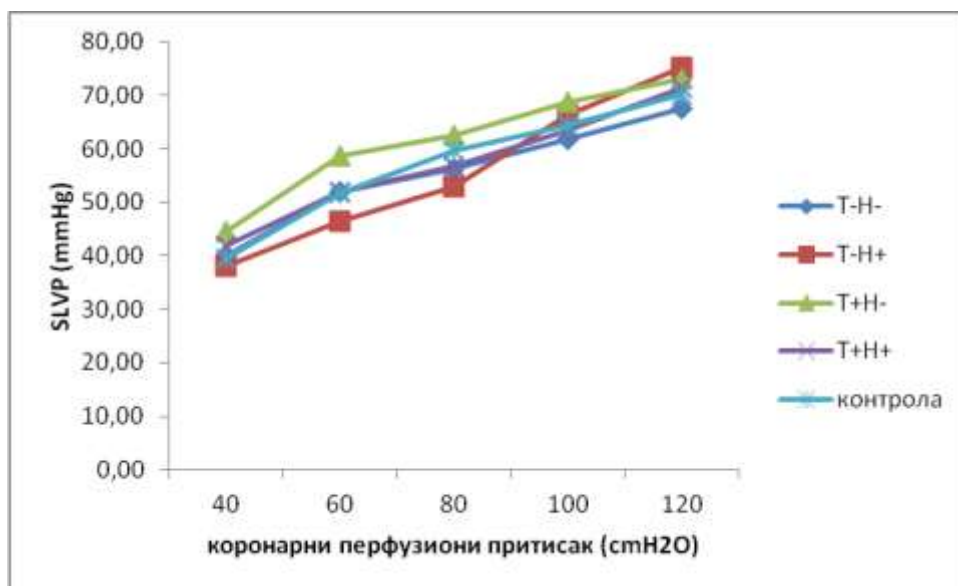


График бр. 49. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

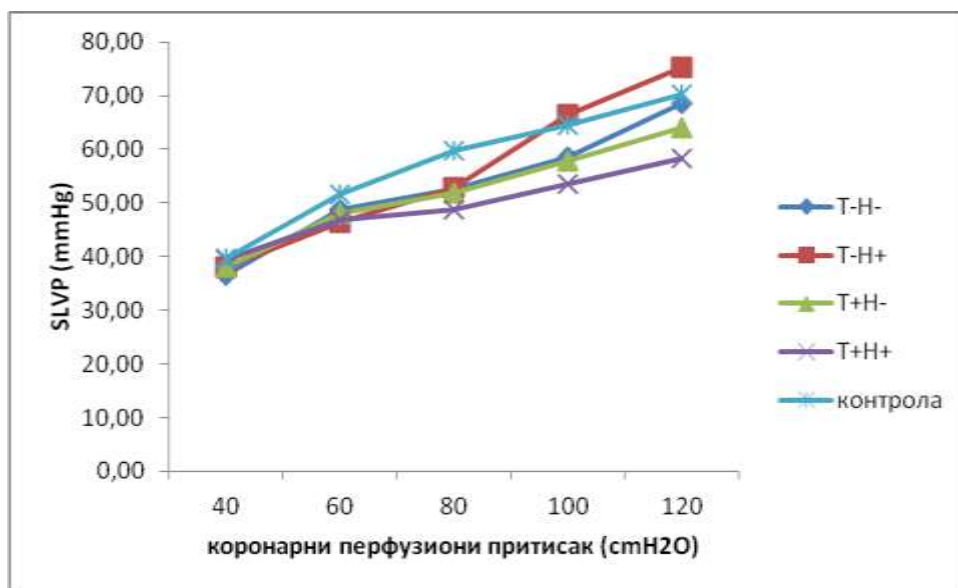


График бр. 50. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

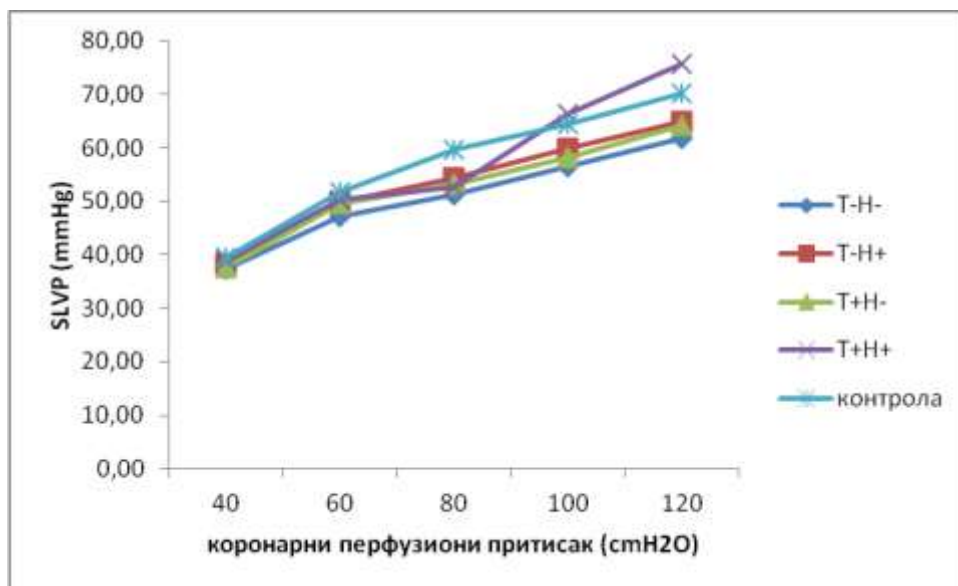


График бр. 51. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Диастолни притисак у левој комори (DLVP)

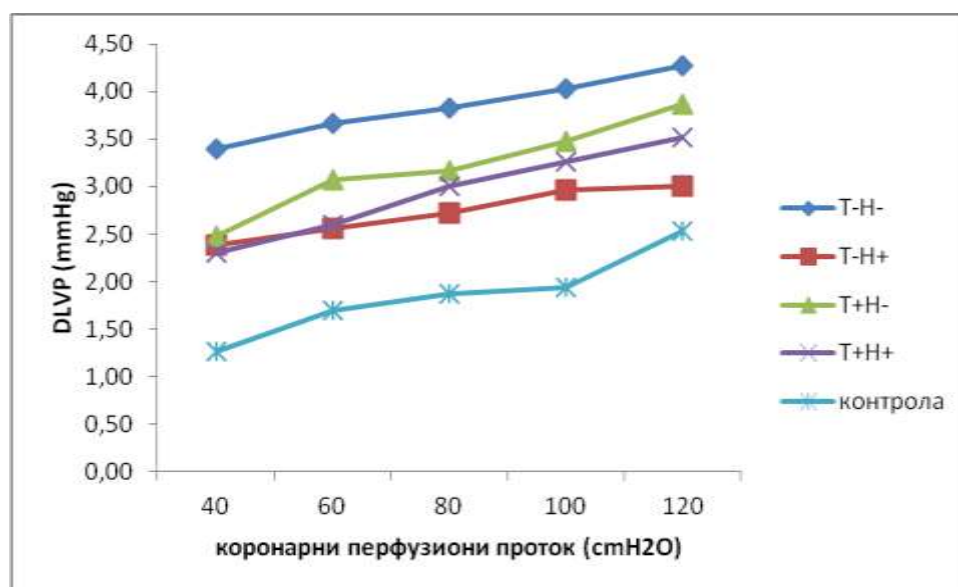


График бр. 52. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

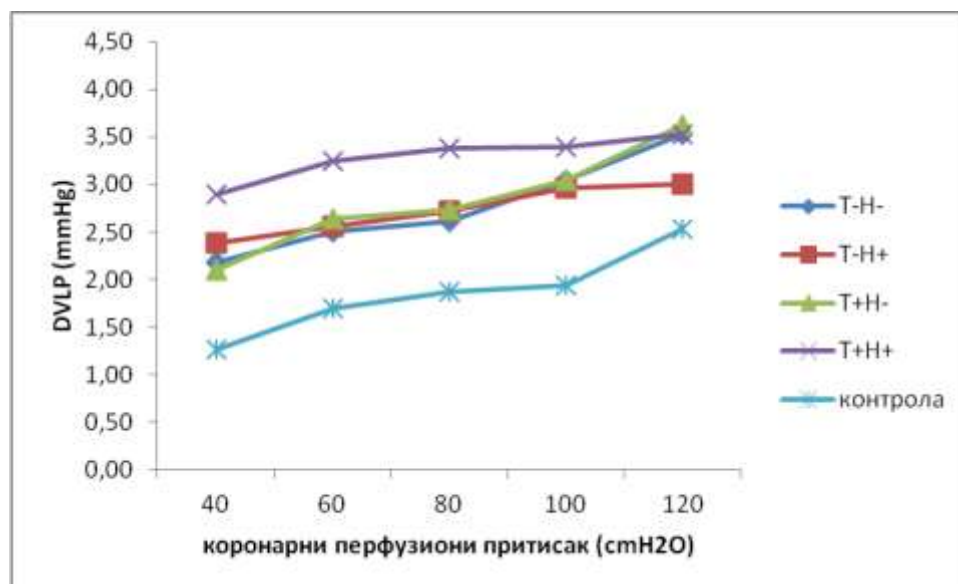


График бр. 53. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

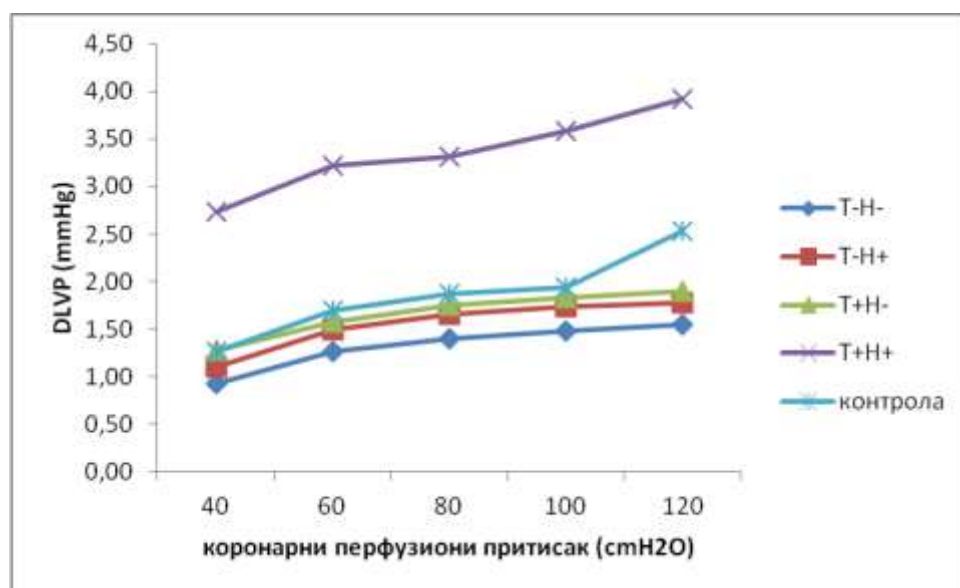


График бр. 54 . Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Срчана фреквенција (HR)

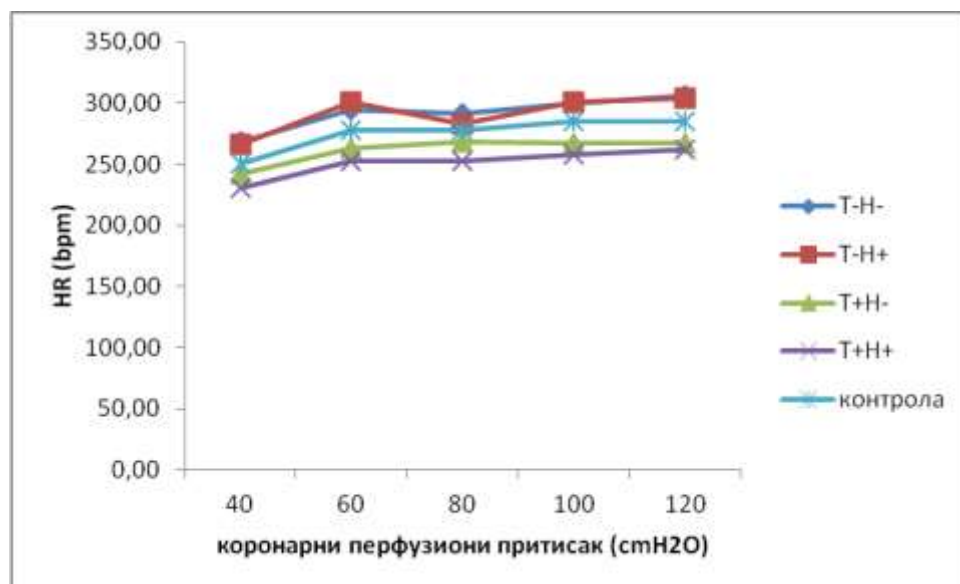


График бр. 55. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

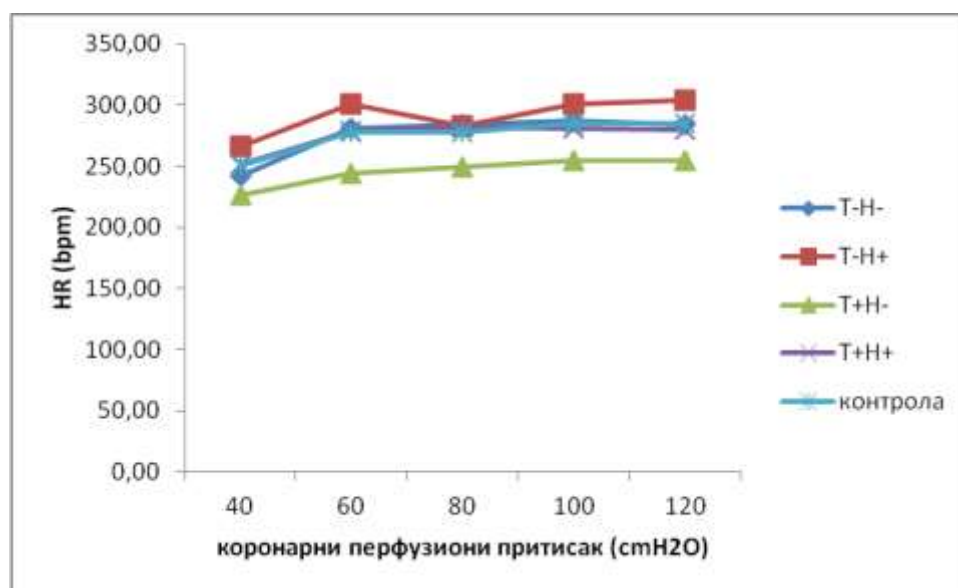


График бр. 56. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

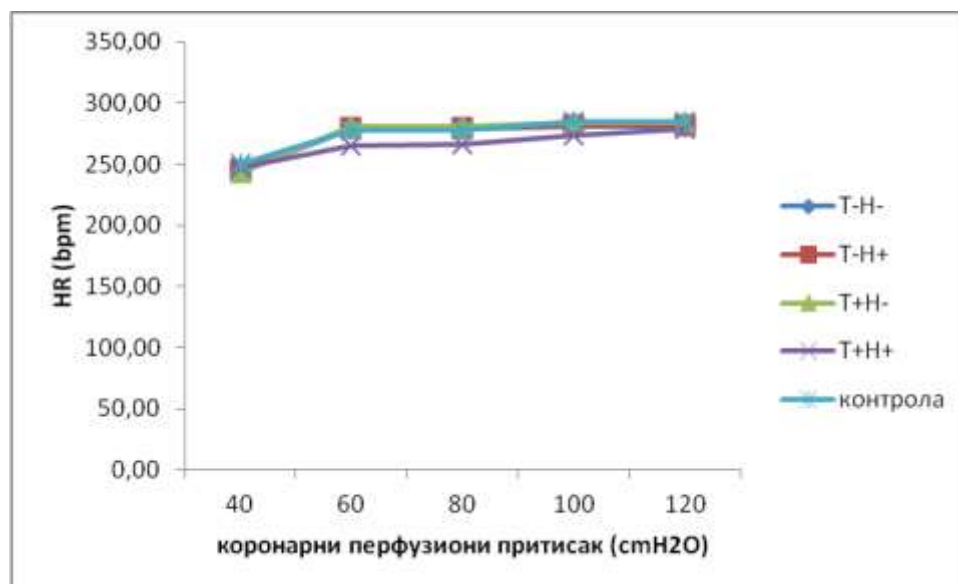


График бр. 57. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

Коронарни проток (CF)

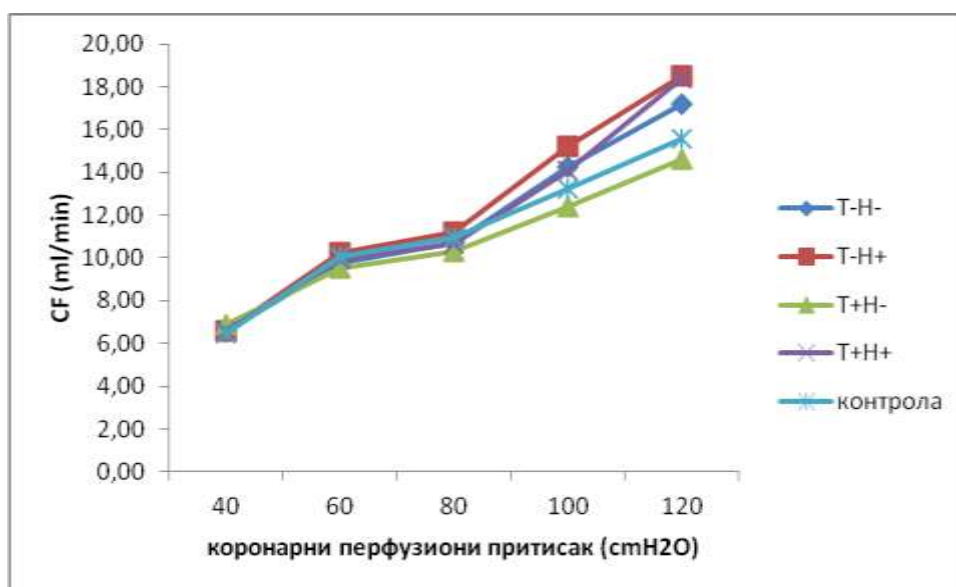


График бр. 58. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након II недеље истраживања

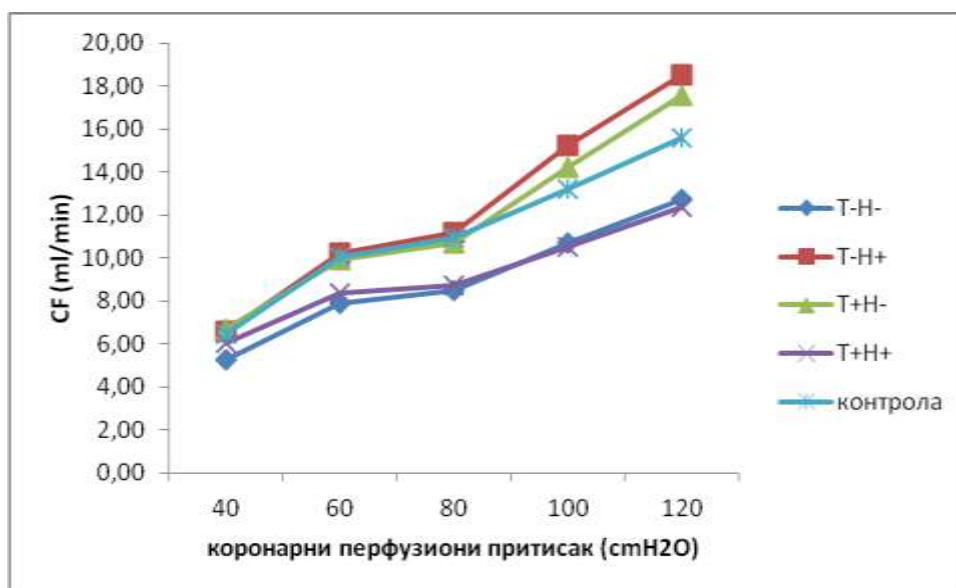


График бр. 59. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након III недеље истраживања

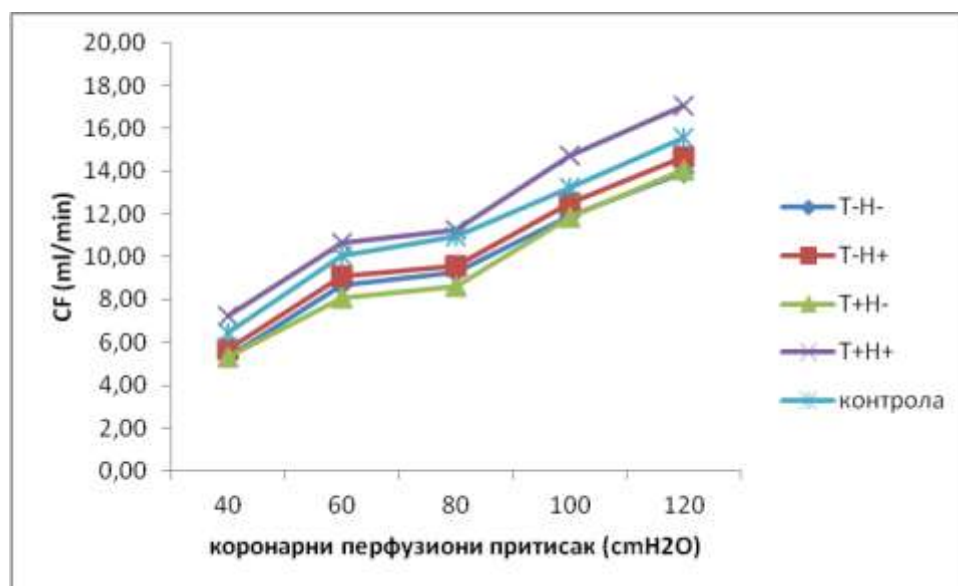
Коронарни проток (CF)

График бр. 60. Приказ средњих вредности испитиваног параметра за све експерименталне групе након IV недеље истраживања

V

ДИСКУСИЈА

Главни циљ ове студије је био да на експерименталном моделу изолованог срца пацова испитају директни али и хронични ефекти нандролон деканоата као деривата тестостерона на миокард и коронарну циркулацију. Иако је до сада добро познато да нандролон и њему сродне супстанце имају значајну улогу у пролиферацији скелетних мишића, и да се управо због таквих карактеристика све више користе као потенцијална терапијска средства при инфламацијским повредама зглобова и скелетних мишића, (77, 78, 79, 80), ипак се мало зна о утицају нандролона на срчани мишић и коронарну циркулацију.

Ради комплетне слике о улози и ефектима овог анаболичког андрогеног стероида у (пато)физиологији миокарда и коронарне циркулације, у студији смо користили различите дозе нандролона, различите концентрације, а такође примењивали на различите начине у различитим временским интервалима. У литератури, дозни режими анаболичких стероида у експерименталним студијама су различити, али се у највећем броју студија ради о ниским дозама нандролона које су се примењивале у дужим временским периодима. Дозе које се најчешће спомињу су у опсегу од 0,1 мг/кг – 10 мг/кг, док доза коју смо ми примењивали у нашем истраживању је свакако супрафизиолошка доза (20 мг/кг/недељно), за коју се врло мало зна да ли и на који начин утиче на срчани мишић, самостално или у комбинацији са физичким тренингом. Концентрације нандролона које смо користили у нашем истраживању су у складу са концентрацијама које су се најчешће примењивале у експерименталним студијама, али у комбинацији са апликацијом анаболика у срчани мишић, пратили смо директан утицај растућих концентрација нандролона о чему се такође врло мало до сада зна.

Начин примене нандролона који смо применили је изабран на основу онога што смо желели да постигнемо самом администрацијом нандролона када су у питању негови ефекти у целом организму. Познавајући фармакокинетику нандролона, орална примена нандролона и није тако погодна, с` обзиром да тако унет подлеже механизму тзв. првог проласка кроз јетру, спречавајући тиме жељени ефекат на тело. Међутим, парентерална примена нандролона у свом путу кроз организам управо заобилази јетру и брже остварује свој ефекат. Такође, још један разлог због којег смо се одлучили за парентерални вид администрације стероида је свакако зато што је управо овај начин употребе стероида, начин на који се и најчешће одлучују спортисти при недозвољеним злоупотребама истих поред такође честе транскутане примене, вероватно из разлога мање количине метаболита примењеног стероида који се могу

наћи и детектовати у крви након примене, а управо због самих фармакокинетских карактеристика (81).

Будући на све морфо-функционалне сличности срца пацова са хуманим срцем, сматрамо да је модел ретроградно перфундованог изолованог срца пацова вероватно најоптималнији, за овакву врсту истраживања. Такође, у жељи да покушамо да објаснимо механизме којима нандролон деканоат, као стероид који се данас најчешће злоупотребљава, делује на миокард и коронарну циркулацију, одлучили смо се да истраживање обогатимо, у нашим научним круговима мало познатом тематиком уопште, ефектима акутне и хроничне администрације у оквиру једног истраживања и посебном улогом физичког тренинга и оксидационог стреса у овим ефектима нандролонa.

Познато је да физички тренинг подстиче здравље и перформансе кардиоваскуларног система, и представља данас моћан алат како у превенцији тако и у лечењу кардиоваскуларних болести. Физички тренинг испољава своје благотворно дејство на кардиоваскуларни систем кроз смањење кардиоваскуларних фактора ризика, а што директно утиче на ћелијско и молекуларно ремоделовање срца. Поред тога акутни ендокрини одговор напорног тренинга укључује појачано лучење тестостерона, чиме се може објаснити хипертрофија мишића примећена код спортиста који рутински користе напорне тренинге и велику снагу скелетних мишића (82).

Дизајнирали смо студију са циљем да испита да ли продужен третман са високим дозама нандролонa мења активности неких антиоксидантних ензима у срцу у седентарних и утренираних пацова и да ли овај третман изазива промене на кардиодинамске параметре.

Физички тренинг представља физички стрес који пролазно ремети хомеостазу, а рад скелетних мишића је дефинитивно најизраженија последица физичке активности. Студије указују да тренажни процес може изазвати структурална оштећења мишићних ћелија али и производњу метаболичких споредних производа, као што су лактат и реактивне кисеоничне врсте (РОС). Постоји конзистентни докази да повећана производња РОС изазвана акутном интензивним али и хроничним тренингом може да изазове дисбаланс између оксидационих параметара и антиоксидативног система, у

правцу развоја оксидационог стреса [83, 84]. Коришћење редовног тренинга пливањем је вежбање које показује предности у односу на вежбање пацова на тредмилу, јер је пливање природна способност пацова и пливање као тренажни процес има широку примену (83, 84).

У том смислу, а према нашим сазнањима и доступним литературним базама података, експериментални дизајн нашег истраживања представља пионирски подухват овакве врсте и прву студију која испитује ову или сличну проблематику у нашој земљи и шире.

У нашем експерименталном моделу, рад срца је процењиван на основу праћења и анализе кардиодинамике леве коморе као морфолошки и функционално доминантне срчане шупљине. Сви кардиодинамски параметри су регистровани директно, пласирањем сензора (transducer BS4 73-0184) у леву комору срца. Ова инвазивна процедура је тако омогућила крајње прецизно и валидно мерење свих доступних и за нашу студију релевантних показатеља функције миокарда – максималну ($dp/dt \max$) и минималну ($dp/dt \min$) стопу промене притиска у левој комори, систолни (SLVP) и дијастолни притисак (DLVP) леве коморе, и срчану фреквенцу (HR).

Параметри $dp/dt \max$ и $dp/dt \min$ означавају величину (стопу) промене притиска (mmHg) у левој комори у функцији времена (током једне секунде), па тако ефикасност и квалитет рада срчаног мишића, директно зависе од вредности ових параметара, те се тако они, и у клиничкој употреби користе за индиректну процену снаге срчане контракције, тј. контрактилности и релаксације (85). У складу са тим, у садашњој студији смо били у могућности да пратимо комплетну кардиодинамику срчаног рада, узимајући у обзир све кардиодинамске параметре који су раније у тексту и наведени. У кардиодинамском смислу ови параметри су изузетно важни показатељи функционалних процеса у самом срцу, па тако на пример, поремећај систоле миокарда, региструјемо снижењем вредности $dp/dt \max$, док дијастолну дисфункцију уочавамо порастом $dp/dt \min$ (постаје још негативнији).

5.1. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У АКУТНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА

Бројне клиничке студије су несумњиво доказале да примена нандролонa представља независни фактор ризика за развој хипертрофије срчаног мишића, а последично и настанак срчане инсуфицијенције и њених компликација (86, 87) и у готово свакој се сумарно истиче да овај анаболик вероватно остварује и директан штетни ефекат на миокард.

У садашњој студији, у току акутне серије експеримента истраживали смо утицај директног утицаја нандролонa на контрактилност срчаног мишића. Резултати које смо добили показују да су више дозе довеле до значајнијег смањења најважнијих кардиодинамских параметара, али да су и ниске дозе довеле до промена у кардиодинамици срчаног мишића: концентрација од $10\mu\text{M}$ индуковала је значајно смањење $dp/dt \max$, $dp/dt \min$, SLVP, срчане фреквенце и коронарног протока (Табела 4, 5, и Графици 1, 2), али је доза од $100\mu\text{M}$ такође утицала смањењем вредности $dp/dt \min$, SLVP, срчане фреквенце и коронарног протока и то на вишим вредностима коронарног перфузионог притиска, и тиме нандролон заправо потпуно супримирао и систолну и дијастолну функцију миокарда (Табела 6 и График 3). Најнижа доза од $1\mu\text{M}$ је довела до значајног смањења само $dp/dt \min$ и SLVP и то на притиску од $80\text{cmH}_2\text{O}$, док у осталим параметрима није довела до промена ни при највишем перфузионом притиску, што значи да само у мањој мери ремети релаксацију (дијастолу) срца.

Као могуће објашњење настанка ових промена намеће се биолошка активност нандролонa као деривата тестостерона везивањем за андрогене рецепторе (AR), који спадају у суперфамилију нуклеарних рецептора који функционишу као лигандом активирани транскрипциони фактор. Међутим, за андрогене је такође познато да индукују брзу сигналну каскадну активацију киназе и модулирају интрацелуларне нивое калцијума (88). Како кардиомиоцити поседују андрогене рецепторе, онда је несумњиво веома важна потенцијална повезаност примене стероида и миокарда, јер вероватно утичу на кардиоваскуларну функцију и ремоделовање срчаног мишића, модулирају електрофизиолошке особине срца и мењају кардиолошке перформансе.

Студија која је испитивала субхроничне ефекте нандролонa а коју бисмо могли довести у поређење са нашом, је студија коју је спровео *Penna C.* са

сарадницима, који су пацовима апликовали нандролон 15 дана интрамускуларно, у дози од 15мг/дан и пратили ефекте на контрактилност срца и уопште деловање на миокард. Дошли су до закључка да НД третман утиче на контрактилност миокарда, повећава експресију β_2 адреноцептора, као и да је после нандролон третмана, срце може бити изложено прекомерној симпатичкој стимулацији, што може представљати ризик за настанак кардиоваскуларних инцидената при примени анаболичких стероида у ратличитим стресним процесима у организму (89).

Позната су истраживања у којима андрогени могу повећати контрактилну функцију миокарда, кроз модулацију интраћелијских нивоа калцијума, као и да ендогени тестостерон и прогестерон могу скратити акциони потенцијал, повећавајући ризик од развоја поремећаја ритма срчаног мишића и других срчаних болести (90).

Поред тога, нандролон изгледа да може и погоршати срчану функцију у многим различитим околностима (90). Франц и сарадници, у свом раду, показали су да хронична примена стероида узрокује хипертрофију миокарда у базалним условима и негативно утиче на ремоделовање леве коморе после инфаркта миокарда у женкама пацова (91).

Ипак, у погледу величине статистичке значајности промена које су настале, тј. тежине функционалног оштећења, из табела и графикона се види да акутно примењена доза нандролонa није довела до интезивних промена контрактилности самог срчаног мишића, вероватно из разлога краткотрајне изложености кардиомиоцита нандролон деканоату која је вероватно недовољна у том погледу.

5.2. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ХРОНИЧНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА

У оквиру хроничне серије истраживања, пратили су се кардиодинамски параметри код експерименталних група од којих су неке биле изложене дејству нандролонa, као и физичком тренингу пливањем. Познато је физичка активност доводи до редукације кардиоваскуларног морбидитета и морталитета, као и побољшању квалитета живота.

Механизми утицаја физичке активности на кардиоваскуларни систем огледају се у смањеној срчаној фреквенцији и смањеном раду симпатикуса, шта води редукацији потреба за кисеоником при истом напору и тиме економичнијем раду срца. После само

четири недеље тренинга, код кардиоваскуларних пацијената побољшава се ендотелијална дисфункција са повећањем коронарне резерве крви за 29% (92).

Са друге стране, хронична примена нандролон деканоата у виду депо препарата се користи као супституциона терапија андрогенима код закаснеле појаве пубертета код дечака, у циљу развитка секундарних полних карактеристика, као и код мушкараца који болују од хипогонадизма. Терапија анаболицима је, такође, индикована после великих хируршких захвата који представљају значајан стрес за организам, као и код пацијената са узнапредовалом ХИВ инфекцијом, код којих се јавља губитак мишићне масе. Нандролон за разлику од осталих деривата тестостерона не изазива драматична повећања мишићне масе него повећање чврстине мишића и снаге, такође и издржљивости, па тако када је у питању његов утицај на кардиоваскуларни систем, нарочито у комбинацији са тренингом мишића, претпоставља се да је у директној вези са настанком хипертрофије срчаног мишића. Основни механизми хипертрофије подразумевају заједничко дејство стероида и механичког оптерећења мишића (вежбања), које доводе до измена у генској транскрипцији и транслацији РНК, што за последицу има повећање протеина у миофибрилама мишићних ћелија (90-92).

Резултати које смо добили показују да након друге недеље експерименталног периода у експерименталним групама у односу на контролну групу, имамо мали пад параметра $dp/dt \max$, односно смањење контрактилне способности срца у групама које су тренирале свакодневно, а благо повећање овог параметра у групи пацова која није плувала али је примала нандролон, док у истој недељи такође имали смо благи пад $dp/dt \min$, и то у групи која је само била третирана физичким тренингом са статистички незначајним порастом SLVP у свим групама и значајним порастом DLVP у свим групама у овој недељи експеримента. У погледу праћења параметара срчане фреквенце и коронарног протока током друге истраживачке недеље, у групама које су тренирале а такође једна од њих и примала нандролон дошло је до смањења фреквенце срца, а у групама које нису биле изложене тренингу дошло је до повећања овог параметра у односу на контролу, док је коронарни проток повећан на вишим притисцима у групама које су примале нандролон, али није статистички значајно.

Након треће недеље студије, резултати су ипак мало јаснији у погледу ефеката тренинга и администрације нандролона. Параметри контрактилности срца, $dp/dt \max$ је значајно повишен у групи која је само тренирала а у осталим групама које нису тренирале али су примале стероид снижен, док је $dp/dt \min$ значајно снижен при вишим перфузионим притисцима у групи која је само примала нандролон. Такође

дошло је до пада SLVP и пораста DLVP у свим групама, док се срчана фреквенца додатно смањила у групама које тренирају али и повећала у групама које примају нандролон, док је коронарни проток наставио да расте у истим групама као и након друге недеље експеримента.

Ово се може за сада објаснити позитивним утицајем тренинга и негативним утицајем нандролона на контрактилну способност миокарда, али и утицајем нандролона на релаксацију (дијастолу) срца, у групи која је примала, порастом негативних вредности $dp/dt \min$.

О утицају хроничног тренинга и примене нандролона на миокард, требали би нам помоћи резултати праћења кардиодинамских параметара на изолованом срцу пацова након четврте недеље експеримента. И они су следећи: $dp/dt \max$ доживљава значајан пад у свим групама у односу на контролу, док $dp/dt \min$ као параметар дијастолне функције срца остаје потпуно непромењен у односу на контролу; SLVP је значајно повишен само у групи која и тренира и прима нандролон, док је DLVP и даље значајно повишен у свим експерименталним групама као и у претходним недељама; CF након четврте недеље експеримента остаје ипак без статистички значајних промена у свим групама, али је CF значајно повишен у групама које примају нандролон са и без тренинга током целог периода.

На жалост, вероватно због актуелности теме, постоји јако мало релевантних експерименталних студија које би могле да послуже за компарацију наших резултата. *Asmaa F. Hassan, Manal M. Kamal* су истраживали ефекте вежбања и анаболичких андрогених стероида (ААС) на хемодинамику, садржај гликогена, ангиогенезу, апоптозу и хистологију срчаног мишића. Истраживање је спроведено на четрдесет пацова који су били подељени у 4 групе; контрола, група на стероидима, група изложена физичком тренингу и група која и тренира и прима стероиде. Након недељу дана адаптације, животиње су биле изложене тренингу у трајању од пет недеља, а такође и примена ААС је трајала 5 недеље. Систолни крвни притисак и пулс (HR) су недељно пратили, а однос тежине срчаног мишића и телесне тежине је претходно одређен. Уз мерења серумског тестостерона и још неколико параметара и у поређењу са контролном групом, добијени су резултати који јасно показују да у нандролон декаонат-групи која је била третирана стероидом након хроничне примене, дошло до значајног повишења крвног притиска и срчане фреквенце и хистолошки потврђене хипертрофије мишића. У групи животиња које су биле подвргнуте и тренингу и нандролону истовремено, није дошло до промене срчане фреквенце, при чему су дошли

до закључка да се хроничном применом стероида интензивира физичко вежбање, само вежбањем се постиже бенефит у односу на функцију миокарда, док комбинација тренинга и нандролоне истовремено у овој студији није дала никакав утицај на сам срчани мишић у погледу кардиодинамике, вероватно због кардиотоксичности нандролоне (93).

Ови резултати су у складу другим истраживачима, који су показали су да ААС третман доводи до дисфункције аутономне регулације срца са израженим умањењем парасимпатикусне срчане модулације и симпатикусне хиперактивности, а такође утврђено да је у присуству супрафизиолошких доза ААС може доћи до промена у осетљивости срца тако што има утицај на адренергичке β рецепторе, због чега настаје преосетљивост синоатријалног чвора (94).

Riezzo I. и сарадници су такође проучавали егзогену примену стероида јер је познато да индукују срчану хипертрофију ин витро и ин vivo, и када се употреба стероида комбинује са вежбањем, показано је да вежбањем индуковану физиолошку срчану хипертрофију мења у патофизиолошку срчану хипертрофију. Иако су мало познати молекуларни механизми, *Riezzo* је описао да ААС доводе индиректно до изненадне срчане смрти, инфаркта миокарда; као последица апоптозе и оксидативног стреса када удружено са вежбањем, а одговорни су и хуморални фактори (ТНФ- α , ХСП-70, ИЛ-1 β), као и да тестостерон и деривати могу деловати кроз геномски и негеномски механизам, које је детаљно и описао (94).

Дакле, та хронична злоупотреба анаболичких стероида дефинитивно има за последицу доста патолошких промена, које ипак зависе од врсте, дозе, учесталости и начина употребе истих.

Оно што би посебно издвојили као интересантну чињеницу, је то да у групама које су тренирале након друге и треће недеље експерименталног периода је дошло до смањења срчане фреквенце, а у групама које су примале нандролон је дошло до повећања, што је у складу са резултатима других истраживања која су описала да је смањење фреквенце срца је вероватно последица ефикасности вежбања, односно да вежбањем индукована брадикардија у миру је у вези са адаптацијом срчане аутономном нервном система као последицом физичког тренинга, док коадминистрација ААС и тренинга делимично смањује те предности са својим нежељеним ефектима, доводећи до хемодинамичких промена и патофизиолошке хипертрофије срчаног мишића, што указује на повећан кардиоваскуларни ризик при тренингу и истовременој злоупотреби анаболичких стероида (95-98).

Rocha F. и сарадници су такође, у свом истраживању користећи нандролон деканоат самостално или у комбинацији са аеробним тренингом тј. пливањем, дошли до готово идентичних резултата. Закључили су да се супрафизиолошким дозама нандролона ($5 \text{ mg/kg sc. } 2\text{x/недељно}$) може развити срчана хипертрофија у утренираних пацова, а даље до погоршања срчаних перформанси (96).

Међутим, претрагом литературе, ипак постоје тешкоће у тумачењу резултата експерименталних студија на животињама (мишевима и пацовима), а разлог томе лежи у разноврсности експеримената (разноликости супстанци, које показују различите особине, различите експерименталне моделе - миш / пацове по полу и старости, трајање третмана са ААС, употребљене дозе, тип, обим и трајање вежби).

5.3. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У АКУТНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА

Циљ овог дела истраживања је био испитивање улоге оксидационог стреса у ефектима нандролон деканоата на функцију миокарда и коронарну циркулацију. Одређивањем нивоа прооксидантних молекула (азот монооксида у форми нитрита (NO_2), супероксид анјон радикала (O_2^-), и водоник пероксида (H_2O_2)) и маркера оксидационих оштећења (индекса липидне пероксидације мереног као (TBARS)) у коронарном венском ефлуенту, смо желели да утврдимо да ли примењени анаболички стероид изазива негативна дејства на срце путем повећане продукције слободних радикала или је реч о неким другим механизмима.

Повезаност физичког оптерећења и оксидационог стреса је позната од раније. Заправо, оксидациони стрес је један од најмоћнијих индуктора ендотелне дисфункције и кардиоваскуларних болести (99). Скелетни мишићи, као и срчани мишић у току физичког оптерећења генеришу повећану количину реактивних кисеоничних врста (РОС) и азотних једињења. РОС су нуспроизводи аеробног ћелијског метаболизма, а антиоксидансни ензими као што су супероксид дисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ) играју кључну улогу у заобилажењу њихових штетних ефеката.

Ови РОС потом иницирају липидну пероксидацију васкуларних ендотелних ћелија и њихов морфо-функционални поремећај. Поред директног

оштећења ендотелних ћелија, O_2^- створен ауто-оксидацијом ступа у интеракцију са NO продукованим од стране истих ћелија, што за последицу има стварање још токсичније RNS – $ONOO^-$. Тиме се наставља оштећење ендотелних ћелија, под утицајем $ONOO^-$ и смањује биорасположивост NO, што ремети контролу васкуларног тонуса, односно физиолошку вазодилатацију. Тако се ствара тзв. `зачарани круг` (circulus vitiosus) у коме је ендотел структурно оштећен, производи мање NO, чија се концентрација додатно смањује у реакцији са O_2^- .

Физиолошке улоге азотних врста су прилично разноврсне, оне делују на широки спектар ћелијских процеса, као што је ћелијска пролиферација, ослобађање калцијума и хормонална биосинтеза, али њихова прекомерна експресија је повезана са настанком разних болести. Дакле, сви наведени процеси заједно, механизмом позитивне повратне спреге, на крају доводе до настанка ендотелне дисфункције.

РОС молекули могу да интерагују са ћелијским конституентима, па тако повећано или смањено стварање РОС може проузроковати оксидативне модификације ДНК, протеина, и липида. Ове структурне промене у биомолекулима могу да мењају ћелијску функцију и процесе, и играју важну улогу у настанку најчешћих болести и дегенеративних стања.

Злоупотреба ААС, који се уобичајено користе да побољшају спортске перформансе у спортиста је повезана са кардиоваскуларним поремећајима. У нормалним, физиолошким условима, већина РОС се производи у току митохондријалног транспорта електрона за време редукције кисеоника у митохондријама. Зато продужена администрација стероида изазива дисфункцију митохондријских респираторних ланчаних комплекса и моно-оксигеназа система, при чему се при оваквим условима појачано стварају РОС генерације. Срце је орган који је најчешће оштећен применом стероида.

У нашем истраживњу, најпре смо испитивали утицај различитих концентрација НД (1 μ M, 10 μ M и 100 μ M) на индекс липидне пероксидације мерењем TBARS-а. Није било статистички значајних промена у вредностима TBARS-а током примене 1 μ M, 10 μ M или 100 μ M НД на свим вредностима коронарног перфузионог притиска. Ниједна од примењених концентрација није индуковала значајне промене динамике TBARS-а у односу на контролну групу. Овај резултат може да указује на то да краткорочна апликација НД, није довољна за настанак промена на мембрани и /или оштећења.

Литературни подаци о акутним ефектима стероида на ћелијску мембрану су оскудни. Преовладава мишљење да акутна изложеност ових супстанци не изазива липидну пероксидацију, а може чак и да потисне сам процес липидне пероксидације, на пример, после мишићне денервације (100).

Други параметар чију динамику смо пратили је азот моноксид. Администрација 1 μM НД индукује статистички значајно повећање азот монооксида на перфузионом притиску од 60 cmH_2O , док је администрација 100 μM НД индукује статистички значајно смањење овог параметра на највишем притиску. У односу на контролну групу, количина азот монооксида се није значајно мењала током администрације 10 μM НД. Администрација најниже концентрације НД (1 μM), била је повезана са вишим вредностима овог параметра у односу на контролу, са статистичком значајношћу. У том смислу, ови резултати указују да је најнижа доза анаболичког стероида индуковала вазоконстрикцију и смањење перфузије срчаног мишића.

Динамика водоник-пероксида је била другачија у односу на кретање претходно наведених параметара. Наиме, администрација свих концентрација НД индукује је смањење H_2O_2 и то нарочито на вишим притисцима перфузије срца пацова.

Оно што је интересантно је то да је *Frankenfeld S.* са сарадницима је проучавао хронични утицај параметара оксидационог стреса на срце, јетру и бубреге. Животиње су биле подељене у две групе: контролну групу пацова (администрација уља од кикирикија) и пацове третиране са нандролон деканоатом (Дека Дураболин (50 мг/мл) 1 мг/100г тт/недељно интрамускуларном инјекцијом, током 8. недеља. Дошли су до закључка да нандролон деканоат у високим дозама је у стању да поремети редокс равнотежу у јетри, срцу и бубрезима, са посебним акцентом на вредностима водоник пероксида (101). Резултати наше студије су у корелацији са наведеном студијом и указују да оксидациони потенцијал НД зависи од трајања изложености, односно акутна апликација може чак дати анти-оксидациони ефекат.

Администрација 100 μM НД је изазвала статистички значајан пад супероксид анјон радикала при највишем перфузионом притиску у односу на контролу, док ниже концентрације нандролон нису изазвале значајне промене у вредностима супероксид-анјон радикала. Па стога, имајући у виду да је најизраженији утицај на оштећења липида мембране управо узроковано водоник пероксидом и супероксид анјон радикалом, посматрани резултати ових кључних маркера нам могу помоћи да се објасни одсуство оштећења мембране (без промене у TBARS-у вредности) након НД излагања.

Због оскудности истраживања која су пратила ефекте акутне примене нандролонa или било којег деривата тестостерона, јако је тешко упоредити наше резултате са већ познатим. *Delchev S* и сарадници су проучавали акутне ефекте анаболичких стероида (ретаболил, анаболички стероид) на активност појединих ензима у кардиомиоцитима пацова. Стероид је примењен само једном, субкутано у дози од 50мг/кг и дошли су до закључка да акутно примењена доза не утиче значајно на било какву ензимску активност кардиомиоцита и да ефекти искључиво зависе од дужине примењене доза стероида (102).

Овај резултат може да указује на то да краткорочна апликација НД, није довољна за настанак промена у динамици оксидационих параметара, али ће нам вероватно део истраживања у оквиру хроничне серије експеримената можда расветлити потенцијалне ефекте нандролон деканоата.

5.4. ЕФЕКТИ НАНДРОЛОН ДЕКАНОАТА НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА У ХРОНИЧНОЈ СЕРИЈИ ЕКСПЕРИМЕНТА

Циљ овог дела истраживања је био испитивање улоге оксидационог стреса у хроничним ефектима нандролон деканоата на функцију миокарда и коронарну циркулацију. Одређивањем нивоа прооксидантних молекула (азот монооксида у форми нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикала (O_2^-), и водоник пероксида (H_2O_2)) и маркера оксидационих оштећења (индекса липидне пероксидације мереног као (TBARS)), као и ензима система антиоксидативне заштите (CAT, SOD, GSH) покушаћемо да сазнамо да ли примена нандролонa самостално и/или физичко оптерећење има негативне ефекте на миокард.

Познато је да физички тренинг има велики утицај на оксидационе параметре. Неке студије су показале да вежбање повећава стопу потрошње кисеоника за 10-20 пута, што резултира појачаном производњом реактивних кисеоничних врста (РОС) (103). Напорно вежбање повећава потрошњу кисеоника и узрокује поремећај унутарћелијске про-оксидационо-антиоксидационе хомеостазе. Митохондријални транспорти ланац електрона, полиморфонеутрофили и ксантин оксидазе су идентификовани као главни извори унутарћелијске продукције генерације слободних радикала у току вежбања. Реактивне кисеоничне врсте представљају озбиљну претњу ћелијском антиоксидационом систему одбране, као што су смањене резерве

антиоксидантних витамина и глутатиона, и повећане осетљивости ткива на оксидациона оштећења. Међутим, ензимски и неензиматски антиоксиданси су показали велико прилагођавање при акутном и хроничном физичком тренингу. Деликатна равнотежа између про-оксиданаса и антиоксиданаса указује на то да суплементација стероидима може имати утицаја под одређеним физиолошким условима на физичку активност појединца па можда самим тим и на параметре оксидационог стреса, што смо и пратили у нашем истраживању.

Први параметар који смо пратили је индекс липидне пероксидације (TBARS), и то након сваке недеље експерименталног периода, где је запажено да су промене вредности TBARS-а посебно упадљиве у групи која је и примала нандролон и која је била изложена тренингу пливањем, с тим што је након прве недеље дошло до повишења, у другој недељи до пада вредности овог параметра код ове групе, док је након целокупног експеримента у овој групи (Т+Н+) дошло до значајног пада TBARS-а у односу на све остале групе у последњој у односу на контролу, а у осталим групама остаје повишен. Дакле јасно је да дошло до повећаване продукције про-оксидационог маркера (TBARS).

У погледу динамике азот монооксида (NO) као другог битног прооксидационог маркера, на почетку експеримента у другој недељи дошло је до испољавања разлике у нивоима азот монооксида између група које нису и јесу тренирале, дошло је до пада вредности овог маркера. Током даљег експерименталног периода у трећој недељи није било варијација, док се у четвртој недељи значајно повисила вредност азот монооксида у групи Т+Н+ са значајном разликом у односу на групу која није тренирала. Наши резултати су у подударности са резултатима других истраживања, која такође описују повећану продукцију индекса липидне пероксидације при ниским и високим примењеним дозама нандролонa, као што је описао и *Mohamed sa сарадницима* у свом раду који је објављен 2015.-е године (104).

Дакле битно је објаснити на који начин нандролон смањује ендотелну продукцију NO у срцу и утиче на индекс липидне пероксидације, јер је показано да у групи која није тренирала а примала нандролон у трајању од четири недеље, азот монооксид је значајно снижен.

Ендотелна продукција NO је у директној вези са адекватним одржавањем васкуларног тонуса, па је зато веома битан тачан механизам помоћу којег нандролон у току вежбања утиче на продукцију азот монооксида, међутим ти механизми још увек нису јасно идентификовани. Изгледа да нема студија које јасно анализирају

комбиноване ефекте аеробног тренинга и ААС третмана на васкуларну реактивност. Постоји један извештај о утицају нандролон деканоата на васкуларну реактивност у седентарних мужјака зечева (105). Према тим ауторима, нандролон смањује ендотел-зависну релаксацију изазвану АСh и ендотел-независне релаксацију изазвану азот моноксидом, натријум нитропрусидом, и 8-бромо-сGMP у торакалној аорти код ових животиња. Аутори су такође показали да је овај ефекат је посредован смањеном производњом АСh и азот-моноксид вазорелаксантног посредника, сGMP. Закључено је да нандролон деканоат изгледа смањује азот-моноксид-индуковану вазодилатацију смањивањем активности гуанилат циклaze у васкуларним глатким ћелијама (105,106).

Праћењем динамике осталих параметара (H_2O_2 , O_2^-), добили смо следеће: у току трајања целог експеримента није дошло ни до какве промене у вредностима водоник пероксида ни у једној експерименталној групи, ни у једном моменту истраживачког периода; док су вредности супероксид-анјон радикала биле промењене, и то у току друге и треће недеље, вредности кисеоничног радикала су биле знатно повишене у тренираних пацова без обзира на примену нандролон са константним растом овог параметра у групама које су тренирале, док се у четвртој недељи ситуација нагло променила. Дакле, у четвртој недељи не постоји значајна разлика у вредностима супероксид-анјон радикала ни у једној групи у последњој недељи експеримента.

Претпоставља се да су управо супероксид анјон радикал и водоник пероксид највише одговорни за ендотелну цитотоксичност под утицајем физичког тренинга, онда је јасно колика је важност ових параметара оксидационог стреса. У динамичном процесу одржања хомеостазе, вишећелијски организми зависе од врло комплексне мреже екстрацелуларних и интрацелуларних сигнала, путем које усклађују међућелијску сигнализацију. Све је више експерименталних доказа који указују да реактивне врсте настале од молекуларног кисеоника нису само штетни споредни производи аеробног метаболизма, већ и битни учесници у преносу сигнала и регулацији ћелијског метаболизма.

Ради комплетнијег и бољег сагледавања наших резултата, одредили смо и активност антиоксидационих ензима, нарочито SOD, CAT и GSH, обзиром на њихову улогу у неутралисању O_2^- и H_2O_2 .

Вредности каталазе (CAT) се разликују између група које нису и јесу тренирале а при том обе примале нандролон, као и између групе која је само тренирала и групе која је само примала нандролон, и такве вредности су наставиле исти тренд падања и у трећој недељи, док у четвртој недељи ниже вредности каталазе и постоји

мала али не статистички значајна разлика у вредностима у свим групама у односу на контролу. Дакле у тренираних су ниже вредности овог параметра, а током времена и у групама које су добила нандролон дошло је до пада каталазе.

Вредности антиоксидативног ензима супероксид-дисмутазе (SOD) нису статистички промењене у другој и трећој недељи вежбања и након примене нандролона, иако су у тренираних пацова биле снижене у односу на остале групе, док је у четвртој недељи значајно снижење SOD -а у групи која је само примала нандролон, као и у групи која је само тренирала у односу на контролну групу. Дакле, одвојено, само тренинг или само нандролон значајно смањују вредност супероксид- дисмутазе, односно смањена је способност SOD да неутралише O^{2-} и остале слободне радикале, који се у условима напорног физичког тренинга појачано стварају. Из ког разлога и на који начин је инхибирана активност супероксид-дисмутазе још увек није познато, али је могуће да је настала инхибиција под утицајем цитоксичних метаболита нандролона или под утицајем веће количине реактивних кисеоничних врста које се стварају у интензивном тренингу. У претходним истраживањима описују се најмање два механизма помоћу којих повишени нивои SOD-а могу спречити мембранску липидну пероксидацију. Један се односи на смањење производње пероксинитрита, а други на уклањању вишка водоник пероксида повишеном активношћу глутатион-пероксидазе.

Динамика глутатиона (GSH) коју смо истраживали, је променљива. Након друге недеље дошло је до пада вредности овог маркера у групама које су примале нандролон, док су након треће недеље те исте групе имале више вредности у односу на контролу, као и утрениране групе код којих се дешава раст глутатиона, и на крају четврте недеље се статистички значајно издвајају групе које су тренирале али јесу и нису примале нандролон (Т+Н-, Т+Н+) са високим вредностима овог маркера у односу на контролну групу која није била подвргнута ни физичком оптерећењу нити хроничној администрацији анаболичким стероидом. GSH катализује смањење великог броја органских хидропероксида као и водоник пероксида, па је њена улога врло битна, јер и заједно са каталазом игра кључну улогу у ензимској одбрани од оксидационог стреса, па су тако ћелије са смањеним нивоом глутатиона много осетљивије на хемијски и оксидациони стрес, што можда доводи у везу позитивне ефекте хроничног физичког тренинга без обзира на примену стероида на повишене вредности глутатион-пероксидазе.

Riezzo је проучавала утицај хроничне администрације на оксидациони стрес и продукцију проинфламаторних цитокина у бубрезима мишева мушког пола, при чему

је дозно-зависно оксидативно оштећење у бубрезима третираних мишева показано да је узроковано повећањем нивоа МДА и уз помоћ редуковања активности антиоксидативног ензима глутатион-пероксидазе што резултира смањеном отпорношћу бубрега на слободне радикале. Такође су описали да дугорочна примена нандролон промовише оксидациона оштећења у бубрезима у миша и то TNF- α посредовањем у нефроцитима због примене нандролон, који изгледа да игра улогу у активирању како унутрашњег тако и спољашњег пута апоптозе. Резултати ове студије су у сагласности са нашом када је у питању активност глутатиона, односно, смањена активност овог антиоксидативног ензима се можда може довести у везу са повећаном продукцијом слободних радикала који су услед тренинга и примене нандролон након друге и треће недеље недеље били у већој продукцији (106).

Међутим активност глутатиона расте у последњој недељи експеримента и то у групама које пливају или примају нандролон. Ова интересантна чињеница је у сагласности са резултатима које су објавили 2013.године *Sun M.* и *Shen W.* Испитивали су интеракцију између вежбањем индуковане адаптације великих крвних судова и ефеката хроничних анаболичких андрогених стероида (нандролон). Нандролон је повећао биомаркере оксидационог стреса и инхибирао вежбањем индуковано повећање активности ензима азот-моноксид синтетазе, каталазе, и супероксид-дисмутазе. Ови резултати показују да нандролон слаби могућност адаптације аорте регулацијом митохондријалне динамике моделовања, односно, дошли су до закључка да аеробне вежбе значајно повећавају садржаје васкуларних антиоксиданаса који штите од оксидативног оштећења (107). С друге стране, ако је присутно превисока количине РОС, или су нивои антиоксидационих ензима сувише ниски, добијена редокс неравнотежа може допринети васкуларном оштећењу.

Elen Aguiar Chaves и сарадници су током свог истраживања проучавали да ли би заштита срца од исхемијских догађаја била посредована повећањем антиоксидационих ензима. Испитивали су утицај вежбања и високих доза нандролон деканоата (10 мг/ кг телесне тежине током 8 недеља), на толеранцију срца на исхемијске догађаје, као и на активност антиоксидативних ензима код пацова. Резултати су показали да је активност антиоксидативних ензима супероксид дисмутазе (SOD), глутатион пероксидазе (GSH) и глутатион редуктаза (GR) била знатно већа у контролној групи животиња у односу на остале три експерименталне групе, док активност каталазе није промењена у било којој групи. Заједно, ови резултати указују

да хронични третман нандролоном и тренингом може изазвати смањену продукцију антиоксидантних ензима, што доводи до смањења кардиопротекције (108).

На основу свега изнетог можемо увидети да, генерално гледано, наши резултати су у сагласности са до сада познатим сазнањима, а која се односе на повољне ефекте вежбања у смањењу инциденце кардиоваскуларних болести које су добро познате и злоупотребе анаболичких андрогених стероида (ААС) које је повезано са кардиоваскуларним поремећајима. Претходне студије су показале да је заштита срца од исхемијских догађаја вероватно посредована повећањем антиоксидационих ензима.

Посматрано са аспекта кардиодинамских ефеката нандролоне, садашњи резултати нам сугеришу да директни кардиодепресивни утицај испитиваних доза нандролоне, и у овом случају, највероватније не укључује оксидациона оштећења.

На основу наших резултата уочавамо да је утицај нандролоне самостално или у комбинацији са физичким тренингом у целини гледано, благо про-оксидациони. Прецизније речено, изгледа да нандролон деканоат у присуству физичког оптерећења испољава мањи про-оксидациони ефекат, у односу на одсуство тренинга као можда генератора ензима из система антиоксидативне заштите. Иако је садашње истраживање на тај начин у сагласности са претходним сазнањима, наредне комплексније студије су неопходне за детаљније разумевање ових сложених молекуларних интеракција.

VI

ЗАКЉУЧЦИ

На основу свега изложеног у овој студији можемо извести следеће закључке:

1. Резултати акутне серије експеримената показују да су све дозе нандролон деканоата оствариле одређени негативан ефекат на најзначајније испитиване кардиодинамске параметре.
2. Са порастом акутно примењене дозе нандролон деканоата долази до значајнијег смањења најважнијих кардиодинамских параметара.
3. Средња а нарочито највиша доза акутно администрираног нандролон деканоата су довеле до редукције коронарног протока, те умањиле перфузију изолованог срца пацова.
4. Налази акутне фазе истраживања могу бити од значаја у случајевима процене оштећења срчаног рада приликом евентуалног предозирања анаболичким стероидима.
5. На почетку (друга недеља) тренажног процеса (пливања) и употребе анаболичких стероида (нандролон деканоата) долази до смањења контрактилне способности и фреквенце рада срца док се коронарна реактивност односно исхрана срца не мења битније.
6. У средишњем делу (трећа недеља) тренажног циклуса (пливања) контрактилност миокарда се побољшава, док у ситуацији када тренинг не прати употреба нандролон деканоата контрактилна способност миокарда наставља да пада у односу на вредности са почетка тренажног процеса.
7. У истом делу тренажног циклуса сама физичка активност је довела до даље редукције вредности срчане фреквенце, што потврђује добро познату појаву синусне брадикардије у миру као последицу дужег тренинга. У случају када тренинг не прати употребу нандролон деканоата срчана фреквенца наставља да расте (у мировању), што је свакако још један од нежељених ефеката употребе анаболичких стероида. Овај резултат указује на повећан ризик од настанка нежељених кардиоваскуларних догађаја у ситуацији када тренинг прати употреба анаболичких стероида.
8. У последњем делу (након четврте недеље) тренажног процеса контрактилна способност миокарда међутим доживљава највећи пад независно од употребе

нандролон деканоата. То показује да дуготрајни тренинг високог интензитета (са или без употребе анаболика) негативно утиче на функцију миокарда.

9. Акутна администрација нандролон деканоата у овом истраживању није била довољна за настанак промена у динамици испитиваних оксидационих параметара, односно није довела до оксидационог оштећења изолованог срца пацова.
10. Посматрано са аспекта акутних кардиодинамских ефеката нандролон деканоата, садашњи резултати нам сугеришу да директни кардиодепресивни утицај испитиваних доза нандролон, највероватније не укључује оксидациона оштећења.
11. На основу наших резултата уочавамо да је хронични утицај нандролон деканоата самостално или у комбинацији са физичким тренингом у целини гледано, благо про-оксидациони. Прецизније речено, изгледа да нандролон деканоат у присуству физичког оптерећења испољава мањи про-оксидациони ефекат, у односу на одсуство тренинга као могућег генератора ензима из система антиоксидативне заштите.

VII

ЛИТЕРАТУРА

1. Hoberman J, Yesalis CE. The history of synthetic testosterone. *Sci Am.* 1995; 272:76–81.
2. Saseen J, maclaughlin EJ. Appetite stimulants and anabolic steroid therapy for AIDS wasting. *AIDS Read.* 1999; 9:398, 401–402, 407.
3. Basaria S, Wahlstrom JT, Dobs AS. Clinical review 138: anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocr Metab.* 2001; 86:5108–5117.
4. Melchert RB, Welder AA. College of Pharmacy, University of Oklahoma Health Sciences Center, Department of Medicinal Chemistry and Pharmacodynamics, Oklahoma City 73190, USA. *Medicine and Science in Sports and Exercise* [1995, 27(9):1252-1262]
5. Deligiannis AP, Kouidi EI. Cardiovascular adverse effects of doping in sports. *Hellenic J Cardiol.* 2012 Nov-Dec;53(6):447-57. Review.
6. Perry HM, Littlepage BNC: Misusing anabolic drugs, take a drug history from well muscled patients. *BMJ* 305:1241-1242, 1992.
7. Strauss RH, Yesalis CE: Anabolic steroids in the athlete. *Annu Rev Med* 42:449-457, 1991.
8. Haupt HA, Rovere GD: Anabolic steroids: A review of the literature. *Am J Sports Med* 12:469-484, 1984.
9. Landry GL, Primes WA: Anabolic steroid abuse. *Adv Pediatr* 37:185-205, 1990.
10. Goldberg L, Bosworth GE, Bents RT, Trevisan L: Effect of an anabolic steroid education program on knowledge and attitudes of high school football players. *J Adolesc Health Care* 11:210-214, 1990.
11. Kleiner SM, Calabrese LH, Fielder KM, et al: Dietary influences on cardiovascular disease risk in anabolic steroid-using and nonusing bodybuilders. *J Am Cell Nutr* 8:109-119, 1989.
12. Thompson PD, Sadaniantz A, Cullinane EM, et al: Left ventricular function is not impaired in weight- lifters who use anabolic steroids. *J Am Coil Cardiol* 19:278-282, 1992.
13. Olssen AG, Oro L, Rossner S: Effects of oxandrolone on plasma lipoproteins and the intravenous fat tolerance in man. *Atherosclerosis* 19:337-346, 1974.
14. Kuipers H, Wijnen JAG, Hartgens F, Willems SMM: Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. *Int J Sports Med* 12:413-418, 1991.

15. Fleck S J, Pattany PM, Stone MH, et al: Magnetic resonance imaging determination of left ventricular mass: junior olympic weightlifters. *Med Sci Sports Exerc* 25:522-527, 1993.
16. Zuliani U, Bernardini B, Catapano A, et al: Effects of anabolic steroids, testosterone and HGH on blood lipids and echocardiographic parameters in body builders. *Int J Sports Med* 10:62-66, 1989.
17. Thompson PD: Athletes, athletics, and sudden cardiac death. *Med Sci Sports Exerc* 24:270-280, 1992.
18. Pelliccia A, Maron B J, Spataro A, et al: The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. *N Engl J Med* 324:295-301, 1991.
19. Dickerman RD, Schaller F, Prather I, McConathy WJ: Sudden cardiac death in a 20-year-old bodybuilder using anabolic steroids. *Cardiology* 86:172-173, 1995.
20. Pesola MK: Reversibility of the haemodynamic effects induced by anabolic steroid treatment in rats. *Eur J Appl Physiol* 58:125-131, 1988.
21. Moore LG, McCurty IF, Reeves JT: Effects of sex hormones on cardiovascular and hematologic responses to chronic hypoxia in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 158:658-662, 1978.
22. Melchert RB, Welder AA: Cardiovascular effects of androgenic-anabolic steroids. *Med Sci Sports Exerc* 27:1252-1262, 1995.
23. Hurley BF, Seals DR, Hagberg JM: High-density lipoprotein cholesterol in bodybuilders vs. Powerlifters: negative effects of androgen use. *JAMA* 252:507-528, 1984.
24. Davies M J, Thomas A: Thrombosis and acute coronary artery lesions in sudden cardiac ischaemic death. *N Engl J Med* 312:932-936, 1985.
25. Ferenchick G, Swartz D, Ball M, Swartz K: Androgenic anabolic steroid abuse and platelet aggregation: A pilot study in weight lifters. *Am J Med Sci* 303:78-82, 1992.
26. Bowman S J, Tanna S, Fernando S, et al: Anabolic steroids and infarction. *Br Med J* 299:632, 1989.
27. Deligiannis A, Björnstad H, Carre F, et al. ESC study group of sports cardiology position paper on adverse cardiovascular effects of doping in athletes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2006; 13: 687-694.
28. Basaria S. Androgen abuse in athletes: detection and consequences. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 1533-1543.

29. Varróa, baczkói. Possible mechanisms of sudden cardiac death in top athletes: a basic cardiac electrophysiological point of view. *Pflugers Arch* 2010; 460: 31-40.
30. Madena-Pyrgaki A, Pappas C, Deligiannis A, Apostolakis M. Work capacity, contractile protein and quantitative electromyogram (EMG) changes following exercise or nandrolone decanoate treatment in experimentally induced muscle disuse atrophy in rats. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1979; 90: 568-576.
31. Basaria S. Androgen abuse in athletes: detection and consequences. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95: 1533-1543.
32. Cunha TS, Moura MJ, Bernardes CF, Tanno AP, Marcondes FK. Vascular sensitivity to phenylephrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. *Hypertension*. 2005; 46: 1010-1015.
33. Sachtleben TR, Berg KE, Elias BA, Cheatham JP, Felix GL, Hofschire PJ. The effects of anabolic steroids on myocardial structure and cardiovascular fitness. *Med Sci Sports Exerc*. 1993; 25: 1240-1245.
34. Deligiannis A, Mandroukas K. Non-invasive cardiac evaluation of weight-lifters using anabolic steroids. *Scand J Med Sci Sports* 1992; 3: 37-40.
35. Krieg A, Scharhag J, Albers T, Kindermann W, Urhausen A. Cardiac tissue Doppler in steroid users. *Int J Sports Med*. 2007; 28: 638-643.
36. Deligiannis AP, Kouidi EI. Cardiovascular adverse effects of doping in sports. *Hellenic J Cardiol*. 2012 Nov-Dec;53(6):447-57. Review.
37. D'Andrea A, Caso P, Salerno G, et al. Left ventricular early myocardial dysfunction after chronic misuse of anabolic androgenic steroids: a Doppler myocardial and strain imaging analysis. *Br J Sports Med*. 2007; 41: 149-155.
38. Turillazzi E, Perilli G, Di Paolo M, Neri M, Riezzo I, Fineschi V. Side effects of AAS abuse: an overview. *Mini Rev Med Chem*. 2011; 11: 374-389.
39. Ahlgrim C, Guglin M. Anabolics and cardiomyopathy in a bodybuilder: case report and literature review. *J Card Fail*. 2009; 15: 496-500.
40. Nascimento JH, Medei E. Cardiac effects of anabolic steroids: hypertrophy, ischemia and electrical remodelling as potential triggers of sudden death. *Mini Rev Med Chem*. 2011; 11: 425-429.

41. Stergiopoulos K, Brennan JJ, Mathews R, Setaro JF, Kort S. Anabolic steroids, acute myocardial infarction and polycythemia: a case report and review of the literature. *Vasc Health Risk Manag.* 2008; 4: 1475-1480.
42. Achar S, Rostamian A, Narayan SM. Cardiac and metabolic effects of anabolic-androgenic steroid abuse on lipids, blood pressure, left ventricular dimensions, and rhythm. *Am J Cardiol.* 2010; 106: 893-901.
43. Hartgens F, Rietjens G, Keizer HA, Kuipers H, Wolffenbuttel BH. Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a). *Br J Sports Med.* 2004; 38: 253-259.
44. Graham MR, Grace FM, Boobier W, et al. Homocysteine induced cardiovascular events: a consequence of long term anabolic-androgenic steroid (AAS) abuse. *Br J Sports Med.* 2006; 40: 644-648.
45. Kahn NN, Sinha AK, Spungen AM, Bauman WA. Effects of oxandrolone, an anabolic steroid, on hemostasis. *Am J Hematol.* 2006; 81: 95-100.
46. Lane HA, Grace F, Smith JC, et al. Impaired vasoreactivity in bodybuilders using androgenic anabolic steroids. *Eur J Clin Invest.* 2006; 36: 483-488.
47. Santora LJ, Marin J, Vangrow J, et al. Coronary calcification in body builders using anabolic steroids. *Prev Cardiol.* 2006; 9: 198-201.
48. Lau DH, Stiles MK, John B, Young GD, Sanders P. Atrial fibrillation and anabolic steroid abuse. *Int J Cardiol.* 2007; 117: e86-87.
49. Maior AS, Menezes P, Pedrosa RC, Carvalho DP, Soares PP, Nascimento JH. Abnormal cardiac repolarization in anabolic androgenic steroid users carrying out submaximal exercise testing. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010; 37: 1129-1133.
50. Fineschi V, Riezzo I, Centini F, et al. Sudden cardiac death during anabolic steroid abuse: morphologic and toxicologic findings in two fatal cases of bodybuilders. *Int J Legal Med.* 2007; 121: 48-53.
51. Beutel A, Bergamaschi CT, Campos RR. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005; 93: 43-48.

52. Riebe D, Fernhall B, Thompson PD. The blood pressure response to exercise in anabolic steroid users. *Med Sci Sports Exerc.* 1992; 24: 633-637.
53. Karila TA, Karjalainen JE, Mäntysaari MJ, Viitasalo MT, seppäläta. Anabolic androgenic steroids produce dose-dependant increase in left ventricular mass in power athletes, and this effect is potentiated by concomitant use of growth hormone. *Int J Sports Med.* 2003; 24: 337-343.
54. A.E. Bauman, Updating the evidence that physical activity is good for health: an epidemiological review 2000–2003, *J. Sci. Med. Sport.* 7 (2004) 6–19.
55. H.A. Demirel, S.K. Powers, M.A. Zergeroglu, R.A. Shanely, K. Hamilton, J. Coombes, H. Naito, Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia–reperfusion in the rat, *J. Appl. Physiol.* 91 (2001) 2205–2212.
56. N. Yamashita, G.F. Baxter, D.M. Yellon, Exercise directly enhances myocardial tolerance to ischemia–reperfusion injury in the rat through a protein kinase C mediated mechanism, *Heart* 85 (2001) 331–336.
57. W.C. Sessa, K. Pritchard, N. Seyedi, J. Wang, T.H. Hintze, Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression, *Circ. Res.* 74 (1994) 349–353.
58. S.K. Powers, D. Criswell, D. Lawler, D. Martin, F.K. Lieu, L.L. Ji, R.A. Herbert, Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium, *Am. J. Physiol.* 265 (1993) H2094–H2098.
59. J.Z. Sun, X.L. Tang, S.W. Park, Y. Qiu, J.F. Turrens, R. Bolli, Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs, *J. Clin. Invest.* 97 (1996) 562–576.
60. N.S. Dhalla, A.B. Elmoselhi, T. Hata, N. Makino, Status of myocardial antioxidants in ischemia–reperfusion injury, *Cardiovasc. Res.* 47 (2000) 446–456.
61. E. Niki, Antioxidants and atherosclerosis, *Biochem. Soc. Trans.* 32 (2004) 156–159.

62. D.P. Vivekananthan, M.S. Penn, S.K. Sapp, A. Hsu, E.J. Topol, Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials, *Lancet* 361 (2003) 2017–2023.
63. M.L. Sullivan, C.M. Martinez, P. Gennis, E.J. Gallagher, The cardiac toxicity of anabolic steroids, *Prog. Cardiovasc. Dis.* 41 (1998) 1–15.
64. E.F. Du Toit, E. Rossouw, J. Van Rooyen, A. Lochner, Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischemia/reperfusion injury, *Cardiovasc. J. S. Afr.* 16 (2005) 21–28.
65. Chaves EA, Pereira-Junior PP, Fortunato RS, Masuda MO, de Carvalho AC, de Carvalho DP, Oliveira MF, Nascimento JH. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cardioprotection: role of antioxidant enzymes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006 Jun;99(4-5):223-30.
66. Ho, E.N., Kwok, W.H., Leung, D.K., Wan, T.S., Wong, A.S., 2007. Metabolic studies of turinabol in horses. *Anal. Chim. Acta* 586, 208–216.
67. von Zglinicki, T., 2002. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem. Sci.* 27, 339–344.
68. Saborido, A., Naudi, A., Portero-Otin, M., Pamplona, R., Megias, A., 2011. Stanozolol treatment decreases the mitochondrial ROS generation and oxidative stress induced by acute exercise in rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 110, 661–669.
69. Matthews, C., Gorenne, I., Scott, S., Figg, N., Kirkpatrick, P., Ritchie, A., Goddard, M., Bennett, M., 2006. Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress. *Circ. Res.* 99, 156–164.
70. Germanakis I, Tsarouhas K, Fragkiadaki P, Tsitsimpikou C, Goutzourelas N, Champsas MC, Stagos D, Rentoukas E, Tsatsakis AM. Oxidative stress and myocardial dysfunction in young rabbits after short term anabolic steroids administration. *Food Chem Toxicol.* 2013 Nov;61:101 5.
71. Tchantchou, F., Graves, M., Ashline, D., Morin, A., Pimenta, A., Ortiz, D., Rogers, E., Shea, T.B., 2004. Increased transcription and activity of glutathione synthase in

- response to deficiencies in folate, vitamin E, and apolipoprotein E. *J. Neurosci. Res.* 75, 508–515
72. Zivkovic V, Djuric D, Turjacanin-Pantelic D, Marinkovic Z, Stefanovic D, Srejsovic I, Jakovljevic V. The effects of cyclooxygenase and nitric oxide synthase inhibition on cardiodynamic parameters and coronary flow in isolated rat hearts. *Exp Clin Cardiol.* 2013;18.102-10.
73. Franquni JV, do Nascimento AM, de Lima EM, Brasil GA, Heringer OA, Cassaro KO, da Cunha TV, Musso C, Silva Santos MC, Kalil IC, Endringer DC, Boëchat GA, Bissoli NS, de Andrade TU. Nandrolone decanoate determines cardiac remodelling and injury by an imbalance in cardiac inflammatory cytokines and ACE activity, blunting of the Bezold-Jarisch reflex, resulting in the development of hypertension. *Steroids.* 2013; 78, 379-85.
74. Zivkovic V, Jakovljevic V, Pechanova O, Srejsovic I, Joksimovic J, Selakovic D, Barudzic N, Djuric DM. Effects of DL-homocysteine thiolactone on cardiac contractility, coronary flow, and oxidative stress markers in the isolated rat heart: the role of different gasotransmitters. *Biomed Res Int.* 2013, 318-471
75. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *Int J Health Sci (Qassim).* 2013 Jan;7(1):47-60
76. Drury RA, Wallington EA. In: *Carleton's Histological Techniques.* 5th ed. 1980, Oxford: Oxford University Press
77. Cristina RT, Hanganu F, Brezovan D, Dumitrescu E, Muselin F, Chiurciu V, Stancu AC, Pentea MC, Motoc AG. Cytoarchitecture of steroid dependent target tissues after testosterone administration compared to nandrolone decanoate in castrated rats in the aim of Hershberger bio test. *Rom J Morphol Embryol.* 2014;55(3 Suppl):1143-8.
78. Oliveira EN, Fernandes KP, Silva CA, Oliveira TS, Junior JA, Bussadori SK, Renno AC, Mesquita-Ferrari RA. Nandrolone decanoate is able to modulate proliferation and adhesion of myoblasts. *Endocr Regul.* 2014 Jul;48(3):152-8.
79. Stannard JP, Bucknell AL. Rupture of the triceps tendon associated with steroid injections. *Am J Sports Med.* 1993 May-Jun;21(3):482-5.
80. Influence of Anabolic Steroid on Tibial Fracture Healing in Rabbits – A Study on Experimental Model, Farida Ahmad, Syed Mobashir Yunus, Adil Asghar, N.A. Faruqi

- J Clin Diagn Res. 2013 January; 7(1): 93–96
81. Kicman AT. Pharmacology of anabolic steroids. *British Journal of Pharmacology*. 2008;154(3):502-521.
 82. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *International Journal of Health Sciences*. 2013;7(1):47-60.
 83. Lee FT, Kuo TY, Liou SY, Chien CT. Chronic *Rhodiola rosea* extract supplementation enforces exhaustive swimming tolerance. *Am J Chin Med*. 2009;37(3):557-72.
 84. Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, et al. Swimming Training Induces Liver Mitochondrial Adaptations to Oxidative Stress in Rats Submitted to Repeated Exhaustive Swimming Bouts. Sastre J, ed. *PLoS ONE*. 2013;8(2):e556-68.
 85. Pádua-Filho WC, Brasil DP, Neves HJ, Gomes OM, Bocchi EA. Effects of metoprolol and amiodarone combination on heart rate, myocardial contractility and coronary flow: Study in isolated perfused rat hearts. *Experimental & Clinical Cardiology*. 2004;9(2):133-137.
 86. Bhasin S, Jasuja R. Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) as Function Promoting Therapies. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2009;12(3):232-240.
 87. Sadowska-Krepa E, Kłapcińska B, Jagsz S, et al. High-Dose Testosterone Propionate Treatment Reverses the Effects of Endurance Training on Myocardial Antioxidant Defenses in Adolescent Male Rats. *Cardiovascular Toxicology*. 2011;11(2):118-127.
 88. Cynthia A. Heinlein, and Chawnshang Chang, The Roles of Androgen Receptors and Androgen-Binding Proteins in Nongenomic Androgen Actions *Molecular Endocrinology* Vol 16, No 10
 89. Penna C, Abbadessa G, Mancardi D, Spaccamiglio A, Racca S, Pagliaro P. Nandrolone-pretreatment enhances cardiac beta(2)-adrenoceptor expression and reverses heart contractile down-regulation in the post-stress period of acute-stressed rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007 Oct;107(1-2):106-13
 90. Salerni S, Di Francescomarino S, Cadeddu C, Acquistapace F, Maffei S, Gallina S. The different role of sex hormones on female cardiovascular physiology and function: not only estrogens. *Eur J Clin Invest*. 2015 Apr .124-47.

91. Frantz S, Hu K, Widder J, et al. Detrimental effects of testosterone on post-myocardial infarction remodelling in female rats. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society* 2007;58:717-27.
92. Kojda G, Hambrecht R. Molecular mechanisms of vascular adaptation to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? *Cardiovasc Res* 2005;67:187-97
93. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2013 Jan;7(1):47-60.
94. Riezzo I, De Carlo D, Neri M, Nieddu A, Turillazzi E, Fineschi V. Heart disease induced by AAS abuse, using experimental mice/rats models and the role of exercise-induced cardiotoxicity. *Mini Rev Med Chem*. 2011 May;11(5):409-24.
95. Mueller P J. Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007, 34:377–384.
96. Alom MM, Bhuiyan NI, Hossain MM, Hoque MF, Rozario RJ, Nessa W. Physical training induced resting bradycardia and its association with cardiac autonomic nervous activities. *Mymensingh Med J*. 2011, 20 (4):665-670.
97. Matsukawa K. Central command: control of cardiac sympathetic and vagal efferent nerve activity and the arterial baroreflex during spontaneous motor behavior in animals. *Experimental Physiology* 2012, 97: 20–28.
98. Rocha FL, Carmo EC, Roque FR, Hashimoto NY, Rossoni LV, Frimm C, Anéas I, Negrão CE, Krieger JE, Oliveira EM. Anabolic steroids induce cardiac renin-angiotensin system and impair the beneficial effects of aerobic training in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 Dec;293(6):3575-83.
99. Do Carmo EC, Fernandes T, Koike D, Da Silva ND Jr, Mattos KC, et al. (2011) Anabolic steroid associated to physical training induces deleterious cardiac effects. *Med Sci Sports Exerc* 43: 1836–1848.
100. Brazaluk AZ. [Possible mechanism of metabolic disturbance in gastrocnemius muscle after denervation]. *Ukr Biokhim Zh* (1978). 1997 May-Jun;69(3):91-103
101. Frankenfeld SP, Oliveira LP, Ortenzi VH, Rego-Monteiro IC, Chaves EA, Ferreira AC, Leitão AC, Carvalho DP, Fortunato RS. The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate disrupts redox homeostasis in liver, heart and kidney of male Wistar rats. *PLoS One*. 2014 Sep 16;9(9):e1026-99.

102. Delchev SD, Atanassova PK. ATP and LPL histochemical activity of rat cardiomyocytes and adipocytes treated with androgenic anabolic steroids. *Folia Med (Plovdiv)*. 2003;45(2):34-7.
103. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999 Dec;222(3):283-92. Review.
104. Mohamed HM, Mohamed MA. Effect of different doses of nandrolone decanoate on lipid peroxidation, DNA fragmentation, sperm abnormality and histopathology of testes of male Wister rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2015 Jan;67(1):1-11.
105. Ferrer M, Encabo A, Marín J, Balfagón G. Chronic treatment with the anabolic steroid, nandrolone, inhibits vasodilator responses in rabbit aorta. *Eur J Pharmacol*. 1994 Feb 3;252(2):233-41.
106. Cunha TS, Moura MJ, Bernardes CF, Tanno AP, Marcondes FK. Vascular sensitivity to phenylephrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. *Hypertension*. 2005 Oct;46(4):1010-5.
107. Riezzo I, Turillazzi E, Bello S, Cantatore S, Cerretani D, Di Paolo M, Fiaschi AI, Frati P, Neri M, Pedretti M, Fineschi V. Chronic nandrolone administration promotes oxidative stress, induction of pro-inflammatory cytokine and TNF- α mediated apoptosis in the kidneys of CD1 treated mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014 Oct 1;280(1):97-106.
108. Sun M, Shen W, Zhong M, Wu P, Chen H, Lu A. Nandrolone attenuates aortic adaptation to exercise in rats. *Cardiovasc Res*. 2013 Mar 15;97(4):686-95
109. Chaves EA, Pereira-Junior PP, Fortunato RS, Masuda MO, de Carvalho AC, de Carvalho DP, Oliveira MF, Nascimento JH. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cardioprotection: role of antioxidant enzymes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006 Jun;99(4-5):223-30.

VIII
ПРИЛОГ И
БИОГРАФИЈА
АУТОРА СА
БИБЛИОГРАФИЈОМ

8.1. КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број: РБ	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	Монографска публикација
Тип записа: ТЗ	Текстуални штампани материјал
Врста рада: ВР	Докторска дисертација
Аутор: АУ	Маја Јевђевић
Ментор/коментор: МН	Проф. др Владимир Јаковљевић
Наслов рада: НР	Ефекти анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем пацова
Језик публикације: ЈП	Српски (ћирилица)
Језик извода: ЈИ	Српски/Енглески
Земља публикавања: ЗП	Република Србија
Уже географско подручје: УГП	Шумадијски округ
Година: ГО	2015
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса: МС	34000 Крагујевац, Улица Светозара Марковића број 69
Физичи опис рада: ФО	114/1/1/60/109
Научна област:	Медицина
Научна дисциплина:	Физиологија

ДИ	
Предметна одредница/ кључне речи ПО	анаболички стероиди, кардиодинамика, оксидсациони стрес, изоловано срце пацова
Извод: ИД	<p>Циљ. Евалуација ефеката акутне и хроничне администрације нандролонa на функцију миокарда и оксидациони стрес изолованог срца пацова</p> <p>Методe. Истраживање је обухватило 240 пацова и животиње су биле подељене уподењених у 8 група, од којих су 4 групе део акутне, а остале 4 групе су део хроничне серије експеримената где је свака група подељена у три подгрупе. У оквиру акутне серије експеримената постојале су 4 групе: 1. контролна група (перфузија Krebs-Hensenleit-овим физиолошким раствором), 2. перфузија нандролоном у дози 1 $\mu\text{M/L}$; 3. перфузија нандролоном у дози 10 $\mu\text{M/L}$; 4. перфузија нандролоном у дози 100 $\mu\text{M/L}$; Хронична серија експеримената је бил подељена на 4 групе: 1. животиње које се не тренирају и не примају нандролон; 2. животиње које се тренирају пливањем и не примају нандролон; 3. животиње које се не тренирају и примају нандролон у виду депо препарата (nandrolone decanoate - 20 mg/kg, s.c., у трајању од 4 недеље). 4. животиње које се тренирају пливањем и примају нандролон у виду депо препарата</p> <p>Пратили су се кардиодинамски параметри (dp/dt max, dp/dt min, SLVP, DLVP, HR и CF) маркери оксидационог стреса (TBARS, NO_2^-, O_2^-, H_2O_2)</p> <p>Резултати. Резултати истраживања су приказани на 1 табели и 60 графикана. Акутна серија експеримента је показала да са порастом примењене дозе нандролон деканоата долази до значајнијег смањења</p>

	<p>најважнијих кардиодинамских параметара без утицаја на маркере оксидационог стреса. Хронична серија експеримента је показала да нандролон деканоат заједно са дуготрајним вежбањем смањује вредности свих испитиваних кардиодинамских параметара.</p> <p>Закључак. Акутно примењени нандролон деканоат има кардиодепресивни утицај који највероватније не укључује оксидациона оштећења. Дуготрајни тренинг високог интензитета (са или без употребе анаболика) негативно утиче на функцију миокарда. Нандролон деканоат у присуству физичког оптерећења испољава мањи про-оксидациони ефекат, у односу на одсуство тренинга као могућег генератора ензима из система антиоксидативне заштите.</p>
УДК	
Чува се: ЧУ	У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Република Србија
Важна напомена: МН	
Датум прихватања теме од стране ННВ: ДП	26.03.2014. године
Датум одбране: ДО	
Чланови комисије: КО	<p>1. Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и Токсикологија, председник</p> <p>2. Доц. др Владимир Живковић, доцент Факултета медицинских наука</p>

	<p>Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан</p> <p>3. Проф. др Зоран Шегрт, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Медицинска Токсикологија, члан</p>
--	---

8.2. KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Documentation type: DT	Monografic publication
Type of record: TR	Textual material, printed
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Maja Jevdjevic
Menthor/co-mentor MN	Prof. Vladimir Jakovljević, MD, PhD
Title: TI	The effects of anabolic steroids on the cardiovascular system in rats
Language of text: LT	Serbian (cyrilic)
Language of abstract:	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Šumadija manucipality
Publication year: PY	2015
Publisher: PU	Author`s reprint
Publication place: PP	34000 Kragujevac, Svetozara Markovica Street, 69
Physical description PD	114/1/1/60/109
Scientific field:	Medicine

SF	
Scientific discipline: SD	Physiology
Subject/key words: SKW	anabolic steroids, cardiodynamics, oxidative stress, isolated rat heart
Abstract: AB	<p>Objective. Evaluation of the effects of acute and chronic administration of nandrolone on myocardial function and oxidative stress in isolated rat heart</p> <p>Methods. The study included 240 rats divided in 8 groups: 4 which are part of the acute experiments and other 4 groups - part of chronic series of experiments where each group was divided into three subgroups. Acute series of experiments consisted 4 groups: 1. control group (perfusion of Krebs-Hensenleit's saline), 2. perfusion with nandrolone decanoate in a dose of 1 uM/L; 3. perfusion with nandrolone decanoate in a dose of 10 uM/L 4. perfusion with nandrolone decanoate in a dose of 100 uM/L. Chronic series of experiments were divided into 4 groups: 1. animals that do not train and not treated with nandrolone; 2. animals that practice swimming, and treated with nandrolone; 3. animals that do not train and receive nandrolone in the depo form (nandrolone decanoate - 20 mg / kg, sc, for a period of 4 weeks). 4. animals that practice swimming and receive nandrolone in the form of depo. Cardiodynamic parameters (dp / dt max dp / dt min, SLVP, DLVP, HR and CF) and markers of oxidative stress (TBARS, NO_2^-, O_2^-, H_2O_2) were determined.</p> <p>Results. The research results are presented in 1 table and 60 graphs. Acute series of experiments showed that with the increase of the applied dose of nandrolone decanoate there were considerable decline of the most</p>

	<p>important cardiodynamic parameters with no effect on oxidative stress markers. Chronic series of experiments showed that nandrolone decanoate together with long-term exercise reduces the values of all examined cardiodynamic parameters.</p> <p>Conclusion. Acutely applied nandrolone decanoate has cardiodepressive impact that probably does not include oxidative damage. Long-term high-intensity training (with or without the use of anabolic steroids) has a negative impact on myocardial function. Nandrolone decanoate in the presence of physical activity exerts a smaller pro-oxidative effect, in relation to the lack of training as a potential generator of antioxidant enzyme protection.</p>
UDC	
Holding data: HD	Library of Faculty of medical sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia
Note: N	
Accepted by the Scientific Board on: ASB	26 th of March, 2014.
Defended on: DE	
Thesis defended board (Degree/name/surname/title/faculty) DB	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prof Dragan Milovanovic, PhD, full professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific domain: Pharmacology and Toxicology, president 2. Ass Prof Vladimir Živković, PhD, assistant professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific domain:

	<p>Physiology, member</p> <p>3. Prof Zoran Šegrt, PhD, associate professor, Faculty of Medicine of the University of Defence in Belgrade, scientific domain: Medical Toxicology, member</p>
--	---

8.3. БИОГРАФИЈА АУТОРА

1. ЛИЧНИ ПОДАЦИ

Име и презиме: Маја Јевђевић

Датум и место рођења: 22.04.1981. године, Параћин, Република Србија

Адреса: 27. Марта 128, 35250 Параћин

Телефон: 066/210251

2. ОБРАЗОВАЊЕ

Гимназија, Параћин

Медицински Факултет у Београду, дипломирала 2007. године

3. ПОЗНАВАЊЕ СТРАНИХ ЈЕЗИКА

Енглески (средњи ниво)

4. РАДНО ИСКУСТВО

2010-2013: Здравствени центар, Параћин

2013-до сада: Висока медицинска школа струковних студија, Туприја

5. РАЗНО

2014: Курс естетске медицине, Академија "Inno Aesthetic", Барселона

2015: Конгрес Дерматологије, Копенхаген

2015: Конгрес Anti-aging, Париз

8.4. БИБЛИОГРАФИЈА

Радови штампани у часописима на СС/SCI листи:

1. **Jevdjevic M**, Srejovic I, Zivkovic V, Barudzic N, Petkovic A, Bradic J, Djuric D, Jakovljevic V. The Effects of Diclofenac and Ibuprofen on Heart Function and Oxidative Stress Markers in the Isolated Rat Heart. *Ser J Exp Clin Res* 2014; 15(1): 11-19.
2. **Jevdjevic M**, Jovanović M, Jeremić N, Canković M, Jeremić J, Živković V, Srejović I, Đurić D, Jakovljević V. Acute effects of nandrolone decanoate on oxidative stress in isolated rat heart. *Arch. Biol. Sci., Belgrade* 2015; 67 (1): 331-337,
3. Nikolic T, Zivkovic V, **Jevdjevic M**, Djuric M, Srejovic I, Djuric D, Jeremic N, Djuric D, Bolevich S, Jakovljevic V. The effects of chronic administration of nandrolone decanoate on redox status in exercised rats. *Mol Cell Biochem.* 2015 Sep 11; DOI 10.1007/s11010-015-2571-3.)

8.5. AUTHORS CURRICULUM VITAE

1. PERSONAL DATA

Name and surname: Maja Jevđević

Date and place of birth: 22.04.1981. Paraćin, Republic of Serbia

Address : 27. March 128, 35250 Paraćin

Phone : 066/210251

2. EDUCATION

Gymnasium, Paraćin

Medical Faculty in Belgrade, graduated in 2007

3. FOREIGN LANGUAGE

English (intermediate level)

4. WORK EXPERIENCE

2010-2013: Health Center, Paracin

2013- present: High Medical College, Čuprija

5. MISCELLANEOUS

2014: Course of aesthetic medicine, Academy "Inno Aesthetic", Barselona

2015: Dermatology congress, Copenhagen

2015: Anti-aging congress, Paris

8.6. LIST OF PUBLICATIONS

ARTICLES PUBLISHED IN CC/SCI JOURNALS

1. **Jevdjevic M**, Srejovic I, Zivkovic V, Barudzic N, Petkovic A, Bradic J, Djuric D, Jakovljevic V. The Effects of Diclofenac and Ibuprofen on Heart Function and Oxidative Stress Markers in the Isolated Rat Heart. *Ser J Exp Clin Res* 2014; 15(1): 11-19.
2. **Jevdjevic M**, Jovanović M, Jeremić N, Canković M, Jeremić J, Živković V, Srejojić I, Đurić D, Jakovljević V. Acute effects of nandrolone decanoate on oxidative stress in isolated rat heart. *Arch. Biol. Sci., Belgrade* 2015; 67 (1): 331-337,
3. Nikolic T, Zivkovic V, **Jevdjevic M**, Djuric M, Srejovic I, Djuric D, Jeremic N, Djuric D, Bolevich S, Jakovljevic V. The effects of chronic administration of nandrolone decanoate on redox status in exercised rats. *Mol Cell Biochem.* 2015 Sep 11; DOI 10.1007/s11010-015-2571-3.)

8.7. ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I. Аутор</i>	
Име и презиме:	Маја Јевђевић
Датум и место рођења:	22.04.1981. године, Параћин, Република Србија
Садашње запослење:	Наставник вештина, Висока медицинска школа струковних студија, Ћуприја
<i>II. Докторска дисертација</i>	
Наслов:	Ефекти анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем пацова
Број страница:	114
Број слика:	1
Број табела	1
Број графикана	60
Број библиографских података:	109
Установа и место где је рад израђен:	Висока медицинска школа струковних студија, Ћуприја
Научна област (УДК):	Медицина, Физиологија
Ментор:	Проф. др Владимир Јаковљевић
<i>III. Оцена и одбрана</i>	
Датум пријаве теме:	05.12.2013. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:	IV-03-174/13 02.04.2014. године
Комисија за оцену подобности теме и кандидата:	Проф. др Владимир Јаковљевић, председник Проф. др Драган Радовановић, члан Доц. др Дејан Чубрило, члан

Комисија за оцену докторске дисертације:	Проф. др Драган Миловановић, председник Доц. др Владимир Живковић, члан Проф. др Зоран Шегрт, члан
Комисија за одбрану докторске дисертације:	Проф. др Драган Миловановић, председник Доц. др Владимир Живковић, члан Проф. др Зоран Шегрт, члан
Датум одбране дисертације:	

ОБРАЗАЦ 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Потписник
др Маја Јевђевић

Број одлуке и датум прихватања:
IV-03-174/13, 02.04.2014. године

ИЗЈАВЉУЈЕМ да је докторска дисертација под називом "Ефекти анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем пацова":

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација ни у целини, ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио ауторска права нити користио интелектуалну својину других лица.

У Крагујевцу,
14. 10. 2015. године

Потпис аутора
др Маја Јевђевић

ОБРАЗАЦ 2.

ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Потписник
др Маја Јевђевић

Број одлуке и датум прихватања:
IV-03-174/13, 02.04.2014. године

Студијски програм:
Докторске академске студије

Наслов рада:

Ефекти анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем пацова

Ментор:
Проф. др Владимир Јаковљевић

ИЗЈАВЉУЈЕМ да је штампана верзија докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу ДИГИТАЛНОГ РЕПОЗИТОРИЈУМА УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ.

ДОЗВОЉАВАМ да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су: име и презиме, година и место рођења, датум одбране рада. Ови лични подаци могу се објавити мрежним станицама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама универзитета у Крагујевцу.

У Крагујевцу,
14. 10. 2015. године

Потпис аутора
др Маја Јевђевић

ОБРАЗАЦ 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

ОВЛАШЋУЈЕМ Универзитетску библиотеку да у дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом "Ефекти анаболичких стероида на кардиоваскуларни систем пацова", која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative commons), за коју сам се одлучио:

1. Ауторство
2. Ауторство-некомерцијално
3. Ауторство-некомерцијално-без прераде
- 4. Ауторство-некомерцијално-делити под истим условима**
5. Ауторство-без прераде
6. Ауторство-делити под истим условима

У Крагујевцу,
14. 10. 2015. године

Потпис аутора
др Маја Јевђевић
