

BEHAVIORAL ALTERATIONS IN OPEN FIELD TEST IN AN
EXPERIMENTAL MODEL OF PROSTATITISIZMENJENO PONAŠANJE U TESTU OTVORENOG POLJA KOD
ŽIVOTINJA SA EKSPERIMENTALNIM PROSTATITISOM

Aleksa Zubelić¹, Božo Knežević¹, Željko Grubač¹, Nikola Šutulović², Olivera Stanojlović², Dragan Hrnčić²

¹ Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

² Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za fiziologiju "Rihard Burijan", Laboratorija za neurofiziologiju, Beograd, Srbija

Correspondence: drhrncic@yahoo.com

Abstract

Introduction: Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS) is one of the most common diseases of genitourinary system in male population. It is frequently accompanied by psychosocial disorders which include anxiety. Despite numerous clinical studies, the mechanisms of this link are still unclear, partly due to the lack of studies on experimental animal models.

Aim: The aim of this study was to examine locomotion activity and anxiety in rats, with experimentally induced CP/CPPS, using the open field test.

Material and methods: Wistar male rats were randomly distributed into control and experimental group. In experimental group, CP/CPPS was induced by single intraprostatic injection of 3% λ -carrageenan. Development of pelvic pain syndrome was assessed by evaluating mechanical pain thresholds by electronic Von Frey aesthesiometer (eVF). The rats were individually tested in the open field, seventh day following the intraprostatic injection.

Results: In animals from the experimental group, distance and time of ambulatory movement in the open field test were significantly decreased, number of rearing reduced, time spent in the center of the open field significantly decreased, while index of thigmotaxis was significantly increased compared to the control animals.

Conclusion: Results of this study indicate anxiogenic effect of CP/CPPS in rats.

Keywords:

chronic prostatitis,
chronic pelvic pain
syndrome,
open field test,
anxiety,
rats

Sažetak

Uvod: Hronični prostatitis/sindrom hroničnog pelvičnog bola (eng. *Chronic prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome*, CP/CPPS) jedan je od najučestalijih kliničkih sindroma genitourinarnog trakta kod reproduktivno sposobnih muškaraca. Smatra se da je CP/CPPS često udružen sa psihosocijalnim poremećajima koji uključuju i anksioznost. Uprkos velikom broju kliničkih studija, mehanizmi ove povezanosti nisu u potpunosti razjašnjeni, te bi eksperimentalni modeli pomogli u rasvetljavanju ovih veza.

Cilj: Cilj ovog rada je da se testom otvorenog polja ispituju lokomotorna aktivnost i ponašanje povezani sa anksioznošću kod pacova sa eksperimentalno izazvanim CP/CPPS.

Materijal i metode: Mužjaci pacova soja *Wistar albino* su nasumično raspodeljeni u kontrolnu i eksperimentalnu grupu. U eksperimentalnoj grupi indukovano je razvojem CP/CPPS intraprostaticom injekcijom 3% λ -karagenena, dok je kontrolna grupa bila tretirana na isti način 0,9% natrijum-hloridom (NaCl). Razvoj CP/CPPS je praćen merenjem praga bola na mehanički stimulus upotrebom elektronskog von Frejevog (eVF) esteziometra. Životinje su pojedinačno testirane u otvorenom polju 7 dana nakon intraprostatice injekcije.

Rezultati: Eksperimentalne životinje su u testu otvorenog polja pokazale statistički značajno skraćeno vreme pređenog puta i vremena ambulatornog kretanja, smanjenje broja propinjanja na zadnje ekstremitete, skraćeno vreme provedenog u centru otvorenog polja, kao i povećanje indeksa tigmotaksije u odnosu na kontrolne životinje.

Zaključak: Rezultati ovog rada ukazuju na anksiozene efekte CP/CPPS u eksperimentalnoj grupi.

Ključne reči:

hronični prostatitis,
sindrom hroničnog pelvičnog bola,
test otvorenog polja,
anksioznost,
pacovi

Uvod

Hronični prostatitis/sindrom hroničnog pelvičnog bola (eng. *Chronic prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome*, CP/CPPS) je multifaktorijalan klinički sindrom koji se najčešće manifestuje hroničnim genitourinarnim bolom u trajanju od najmanje tri meseca, poremećajima mokrenja i seksualnom disfunkcijom uz odsustvo infektivnih uropatogena (1). Jedan je od najučestalijih uroloških problema kod reproduktivno sposobnih muškaraca. U svetskoj populaciji ukupna prevalencija simptoma koja upućuje na CP/CPPS je 6,3%, a preko 50% muškaraca tokom života doživi neke od simptoma prostatitisa (2). Smatra se da je CP/CPPS rezultat međusobno udruženog dejstva većeg broja faktora, gde se posebna važnost pridaje naslednim, psihosocijalnim, imunološkim i endokrinološkim faktorima (3), te se može reći da je patogeneza CP/CPPS vrlo kompleksna i još uvek nedovoljno objašnjena.

S druge strane, brojne kliničke studije ukazuju na poremećaje raspoloženja i poremećaje ličnosti, zloupotrebu supstanci i psihijatrijske poremećaje (anksioznost i depresija) kod obolelih od CP/CPPS (4). Negativan uticaj CP/CPPS na život pacijenata može se uporediti sa ozbiljnim poremećajima zdravlja poput dijabetesa ili koronarne bolesti. Uprkos tome, o ovom sindromu se danas retko priča (5).

Patogeneza ovog sindroma započinje tkivnim oštećenjem ili noksom koja dovodi do razvoja lokalnog inflamatornog procesa u prostati, praćenog perifernim nervnim oštećenjem i razvojem neurogenog prostatitisa (6). Proinflamatorni medijatori se povišeno produkuju u prostati i pokreću kaskadu događaja koji snižavaju prag

perifernog nociocitivnog neurona (periferna senzitivizacija) i indukuju nastanak hiperalgezije i alodinije (6). Nakon rezolucije inflamacije u prostati, promene u centralnom nervnom sistemu (CNS) odgovorne su za nastanak kontinuiranog bola čak i u odsustvu stimulacije perifernih neurona (centralna senzitivizacija), što se ispoljava kao pojava spontanog bola (6). Patološke promene koje se uočavaju na većem broju moždanih struktura (talamus, cerebralni korteks, hipotalamus itd.) mogu biti potencijalni uzročnik simptoma CP/CPPS, ali i jedna od njegovih najvažnijih posledica (7).

Brojne studije (7,8) ukazuju na udruženost hroničnog bola i psihijatrijskih komorbiditeta, kao što je anksiozni poremećaj. Prevalencija anksioznosti u svetskoj populaciji kreće se između 9,2 i 28,7% (8,9). Anksiozni poremećaj predstavlja psihobiološko emocionalno stanje ili reakciju koja se sastoji iz neprijatnih osećaja napetosti, nervoze, brige i aktivacije autonomnog nervnog sistema (10). Pokazano je postojanje veze između CP/CPPS i anksioznog poremećaja i paničnih napada (11-15). Većina ovih studija je zasnovana na upotrebi skala za samoprocenu, dok je manji broj sproveden korišćenjem pouzdanijih dijagnostičkih metoda (16). U eksperimentalnim uslovima je ponašanje životinja povezano sa anksioznošću moguće objektivno proceniti upotrebom nekoliko etioloških testova, uključujući i test otvorenog polja (17).

Eksperimentalna istraživanja koja ukazuju na vezu CP/CPPS i psiholoških komorbiditeta su jako oskudna. Isto važi i za studije koje CP/CPPS posmatraju kroz psihološku perspektivu. Stoga je cilj ovog rada bio da se ispita ponašanje životinja sa eksperimentalno izazvanim CP/CPPS u testu otvorenog polja.

Materijal i metode

Eksperimentalne životinje

U eksperimentu su korišćeni odrasli mužjaci pacova soja *Wistar albino* (Vivarijum Vojnomedicinske akademije u Beogradu) starosti tri meseca i težine 250-350 g na početku eksperimenta. Uslovi pod kojima su čuvane životinje tokom perioda aklimatizacije, u trajanju od nedelju dana i tokom eksperimenta bili su konstantni (temperatura $21 \pm 2^\circ\text{C}$, relativna vlažnost 50-60% i ciklusi svetlost:tama na 12h, sa početkom svetle faze u 8:00h). Hrana i voda bili su dostupni *ad libitum*. Pacovi su čuvani pojedinačno, u transparentnim kavezima od pleksiglasa. Životinje su korišćene samo jednom u eksperimentu.

Pri eksperimentalnom radu u potpunosti je poštovan Etički kodeks naučnoistraživačkog rada Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, kao i standardi bihevioralnih istraživanja na glodarima.

Eksperimentalne grupe i protokol testiranja

Na osnovu preliminarnih pilot studija i podataka iz literature (18,19), pacovi su randomizovani i podeljeni u sledeće grupe: 1. kontrolnu, lažno operisanu (*Sham*, $n = 8$) i 2. eksperimentalnu, životinje sa ekperimentalno izazvanim CP/CPPS (CP/CPPS, $n = 8$). Hronični prostatitis/sindrom hroničnog pelvičnog bola u eksperimentalnoj grupi indukovao je intraprostatičnom injekcijom sterilnog 3% λ -karagenina (mukopolisaharid iz ćelijskog zida crvenih algi) nultog dana eksperimenta, dok su kontrolne životinje tretirane intraprostatičnom injekcijom 0,9% sterilnog natrijum-hlorida (NaCl). U cilju potvrde i praćenja razvoja CP/CPPS korišćen je elektronski von Frejev esteziometar (eVF), kojim je u regiji kože skrotuma utvrđivan prag bola na mehaničku draž. Tri dana pre intraprostatične injekcije pacovi su adaptirani na merenje praga bola uz pomoć eVF esteziometra. Prag bola na mehaničke draži je utvrđivan nekoliko puta u različitim vremenskim intervalima: ^{a)} pre intraprostatične injekcije: 48h i 24h; ^{b)} nakon intraprostatične injekcije: 48h, 72h i 7 dana. Sedmog dana nakon intraprostatične injekcije pacovi su pojedinačno testirani u testu otvorenog polja.

Indukcija eksperimentalnog CP/CPPS

Razvoj eksperimentalnog CP/CPPS je sproveden u skladu sa procedurama iz literature (18,19). Hirurška intervencija je urađena u anesteziji (natrijum-pentobarbital, 50 mg/kg, i.p.) tako što su pacovi fiksirani u ležećem položaju na podlozi za zagrevanje, a koža donje polovine prednjeg zida abdomena je obrijana i dezinfikovana na adekvatan način. Lokalni anestetik (2% lidokain) aplikovan je u cilju redukcije postoperativnog bola i smanjenja mogućnosti nastanka senzitivizacije regije koja okružuje hiruršku ranu. Nakon toga je načinjena mala incizija (1,5 cm) u središnjoj liniji donjeg dela prednjeg zida abdomena u cilju ekspozicije oba ventralna lobusa prostate. Upotrebom jednokratne, sterilne igle i sterilisanog Hamilton šprica, aplikovan je sterilisani rastvor 3% λ -karagenina u ukupnoj zapremini od 50 μl u oba

ventralna lobusa prostate (CP/CPPS grupa). Kontrolne životinje su tretirane na isti način, istom zapreminom sterilisanog 0,9% rastvora NaCl. Nakon intraprostatične injekcije rastvor anestetika je ponovo aplikovan u ranu. Rana je zatvorena po slojevima upotrebom resorptivnog sterilisanog konca.

Praćenje razvoja eksperimentalnog CP/CPPS

Prag bola na mehanički stimulus je meren 48h i 24h pre intraprostatične injekcije, kao i 48h, 72h i 7 dana nakon intervencije. Na početku testiranja pacovi se postavljaju u izolovane pregrade od pleksiglasa na žičanoj platformi u trajanju od 30 minuta, u cilju aklimatizacije i adaptacije na merenje. U ispitivanju je korišćen eVF (*IITC Life Sciences*, CA) sa rigidnim polipropilenskim filamentima. Merenje praga bola započinje kada se životinja umiri i spusti skrotum na dno platforme. Nakon toga se aplikuje filament eVF perpendikularno na skrotalnu kožu, uz gradirani porast pritiska sve do momenta dok se ne uoči refleksni odgovor u smislu pomeranja životinje iz početne pozicije (refleks uklanjanja). Kao vrednost praga bola uzeta je prosečna vrednost tri uzastopna merenja.

Test otvorenog polja

Za posmatranje ponašanja eksperimentalnih grupa i registrovanje horizontalne i vertikalne lokomotorne aktivnosti korišćen je automatizovani sistem opremljen infracrvenim senzorima (*Experimetria Ltd*, Budimpešta, Mađarska), sa pripadajućim softverskim paketom (*Conducta 1.0*). Zvučno izolovano polje (48 x 48 cm) sa crvenim osvetljenjem od 12 luksa okruženo je zidovima crne boje, visine 40 cm. Životinja, stavljena u središte opisanog polja, slobodno istražuje prostor tokom 15 minuta, pri čemu se registruju pređeni put (cm) i vreme (s) ambulatnog kretanja, kao i broj propinjanja na zadnje ekstremitete. Kako bi se procenila prostorna distribucija aktivnosti celo polje je virtuelno softverski podeljeno na 16 kvadrata, od kojih su 4 središnja, površine 24 x 24 cm, označena kao centar polja. Određivani su vreme koje životinja provede u centru i indeks tigmataksije. Indeks tigmataksije izračunat je kao odnos pređenog puta u perifernim zonama i ukupnog pređenog puta tokom ambulatnog kretanja i izražen je u procentima.

Statistička analiza podataka

Statistička značajnost razlike u pragu bola na mehanički stimulus između grupa utvrđena je upotrebom studentovog t-testa, dok je značajnost razlike u svakoj od grupa u odnosu na različite vremenske intervale utvrđena upotrebom jednosmernog ANOVA testa sa LSD *post hoc* testiranjem. Statistička značajnost razlike u registrovanim parametrima između eksperimentalne i kontrolne grupe procenjena je t-testom ili Man-Vitnijevim (*Mann-Whitney*) U-testom, u zavisnosti da li je Kolmogorov-Smirnovljevim testom dokazana normalna distribucija njihovih vrednosti ili ne. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška ili medijana sa 25. i 75. percentilom kao merama varijacije.

Rezultati

Razvoj hroničnog prostatitisa/sindroma hroničnog pelvičnog bola

U bazalnim uslovima, 48h i 24h pre operacije, nije uočena razlika u skrotalnom pragu bola između kontrolnih i ekperimentalnih životinja (*Sham vs. CP/CPPS*, $p > 0,05$). Kod životinja iz kontrolne grupe, prilikom merenja praga bola nakon 48h i 72h, kao i 7. dana nakon operacije, nije utvrđeno postojanje razlike u pragu bola u odnosu na početne, bazalne vrednosti. Skrotalni prag bola na mehaničku draž pokazao je statistički značajno smanjenje (** $p < 0,01$) kod ekperimentalnih životinja u poređenju sa životinjama iz kontrolne grupe 48h, 72h i 7 dana nakon intraprostatične injekcije (**grafikon 1**). Kod ekperimentalnih životinja utvrđeno je postojanje statistički značajnog (### $p < 0,001$) smanjenja praga bola na mehaničku draž u intervalima 48h, 72h i 7 dana nakon operacije u poređenju sa vrednostima pre intraprostatične injekcije (**grafikon 1**).

Test otvorenog polja

Analiza lokomotorne aktivnosti pokazala je različite obrasce ponašanja životinja iz kontrolne i ekperimentalne grupe u testu otvorenog polja (**grafikon 2A i 2B**). Pređeni put tokom ambulatornog kretanja bio je statistički značajno kraći u grupi ekperimentalnih životinja u odnosu na kontrolnu grupu (** $p < 0,01$, **grafikon 2C**). Upoređivanjem vremena ambulatornog kretanja kontrolnih i ekperimentalnih životinja utvrđeno je da je ekperimentalna grupa

pokazivala statistički značajno kraće vreme (* $p < 0,05$, **grafikon 2D**).

Pacovi koji su razvili CPPS pokazali su statistički značajno manji broj propinjanja na zadnje ekstremitete u odnosu na pacove iz kontrolne grupe (* $p < 0,05$, **grafikon 3**).

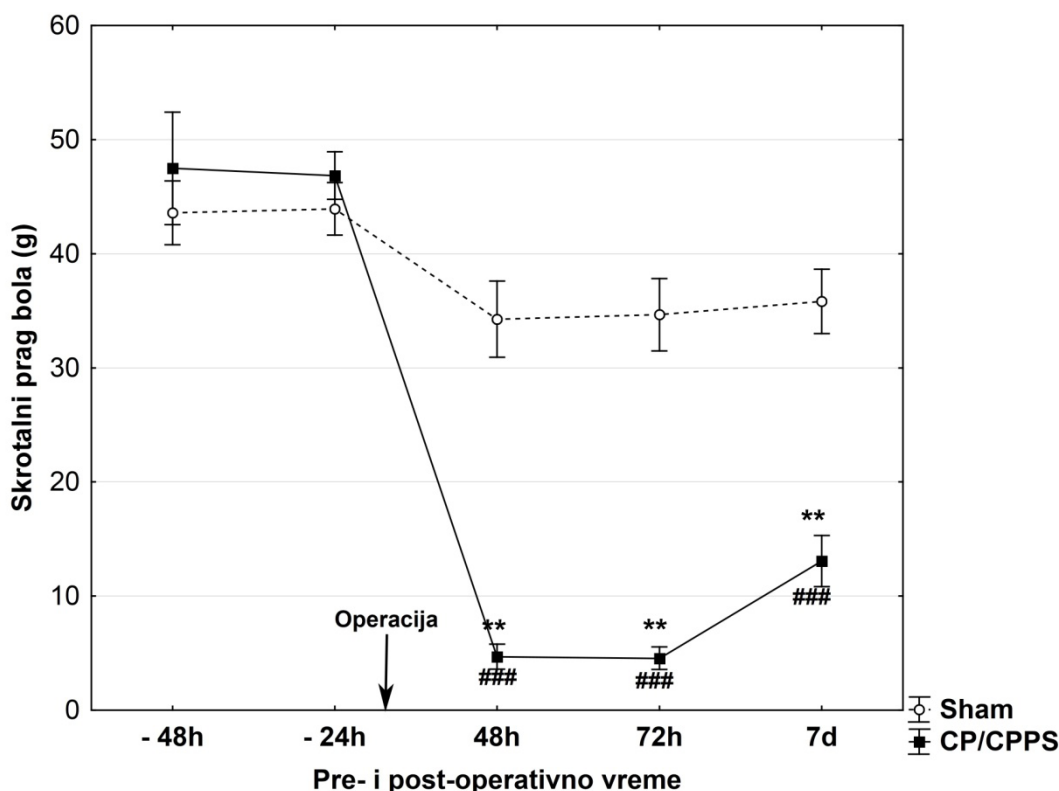
Vreme koje su pacovi iz ekperimentalne grupe proveli u centru otvorenog polja bilo je statistički značajno kraće u odnosu na kontrolne životinje (* $p < 0,05$, **grafikon 4**).

Indeks tigmataksije bio je statistički značajno veći u ekperimentalnoj nego u kontrolnoj grupi (* $p < 0,05$, **grafikon 5**).

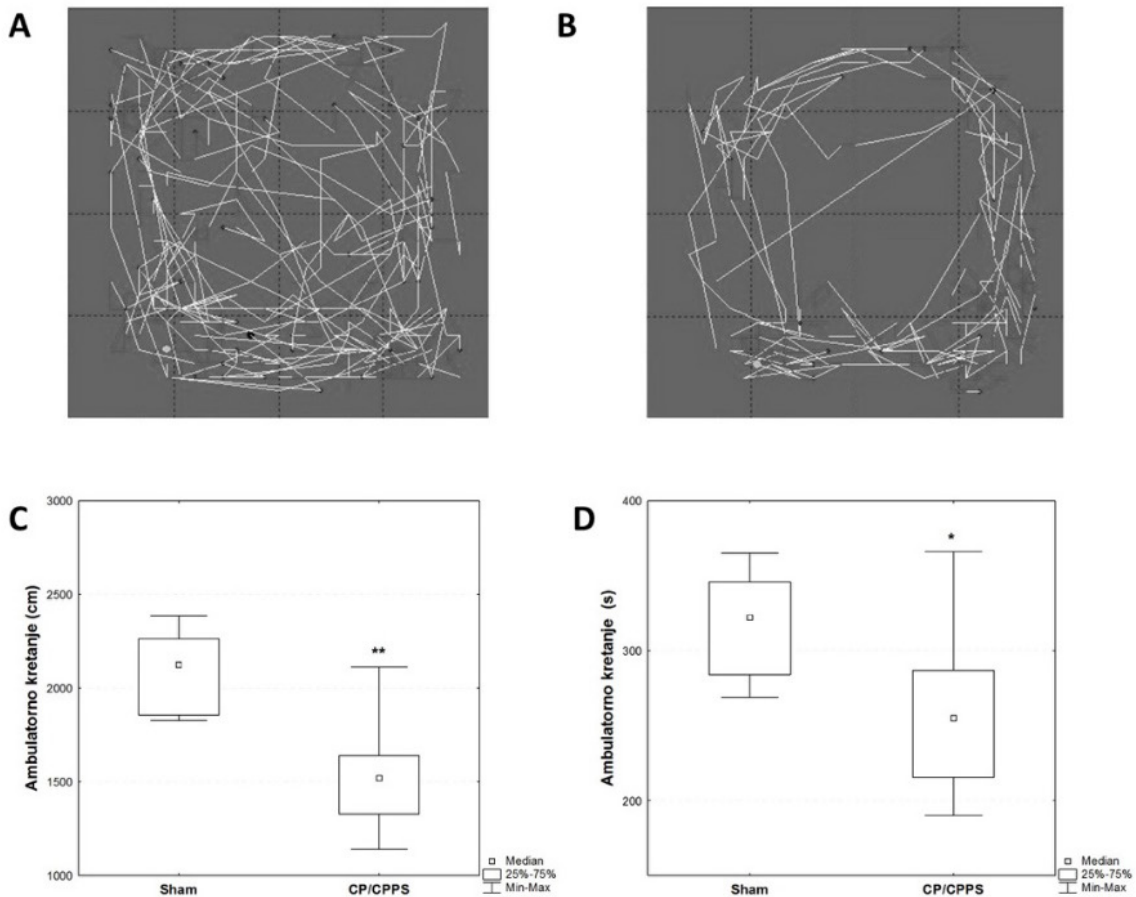
Diskusija

Ekperimentalni model hroničnog pelvičnog inflamatornog bola, korišćen u ovoj studiji, prihvaćen je i verifikovan kao adekvatan model neinfektivnog CP/CPPS od strane nekoliko istraživačkih grupa (18-20).

Naše istraživanje je pokazalo da postoji statistički značajno sniženje praga bola na mehanički stimulus u koži skrotalne regije kod ekperimentalnih životinja. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatima sličnih studija (18,19) i ukazuje na postojanje prostatitisa kod ekperimentalnih životinja. Odsustvo promene praga bola na mehaničke draži kod kontrolnih životinja navodi na zaključak da kontrolne životinje koje su bile tretirane intraprostatičnom injekcijom sterilnog 0,9% rastvora nisu razvile inflamaciju prostate.



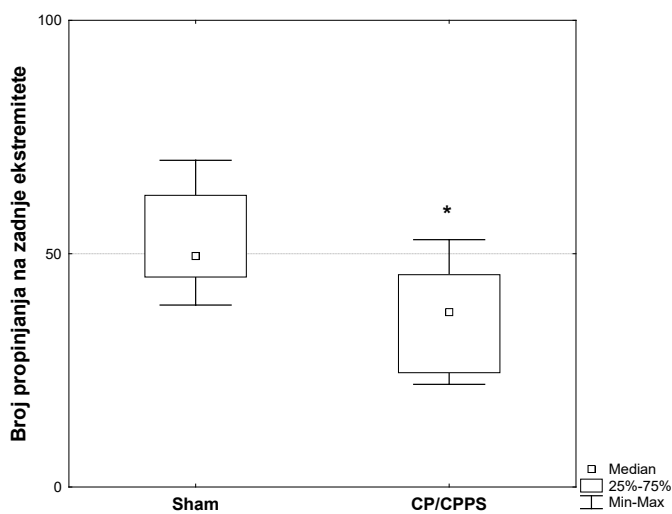
Grafikon 1. Skrotalni prag bola kod kontrolnih i ekperimentalnih životinja. Razlika u skrotalnom pragu bola između dve grupe utvrđena je upotrebom t-testa (** $p < 0,01$, vs. *Sham*). Razlika unutar grupe je procenjena upotrebom „one-way ANOVA“ sa LSD *post hoc* testom (### $p < 0,001$ vs. -24h). Grupa CP/CPPS: intraprostatična injekcija sterilisanog rastvora 3% λ -karagenina (50 μ l) u oba ventralna lobusa prostate. *Sham* grupa: intraprostatična injekcija iste zapremine sterilnog 0,9% rastvora NaCl.



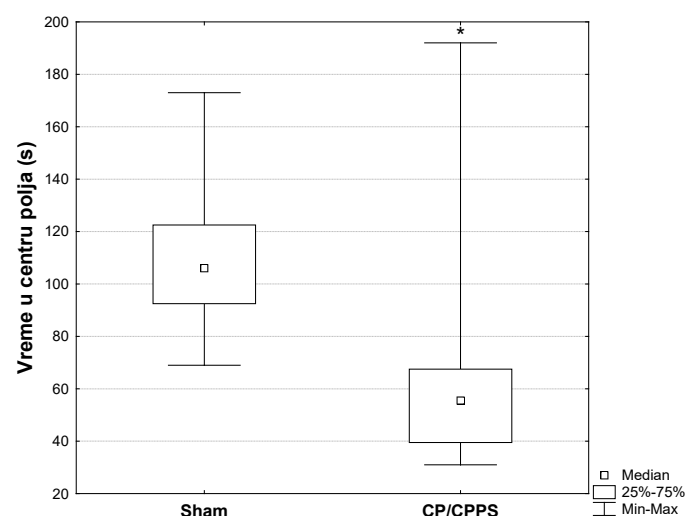
Grafikon 2. Repräsentative obrazac lokomotorne aktivnosti za životinju iz kontrolne (A) i eksperimentalne grupe (B). Pređeni put (C) i vreme (D) ambulatornog kretanja u testu otvorenog polja. Statistička značajnost razlike utvrđena je Man-Vitnijevim U-testom. Za detalje videti **grafikon 1**.

Analiza ponašanja životinja u testu otvorenog polja je pokazala da životinje sa eksperimentalno indukovanim CP/CPPS imaju statistički značajno kraći pređeni put ($p < 0,05$) i vreme ambulatornog kretanja ($p < 0,05$) (parametri horizontalne lokomotorne aktivnosti); smanjen broj propinjanja na zadnje ekstremitete ($p < 0,05$); statistički značajno kraće vreme provedeno u centru otvorenog polja ($p < 0,05$) i na kraju, statistički značajno povećanje indeksa tigmotaksije ($p < 0,05$). Skraćenje vremena provedenog u

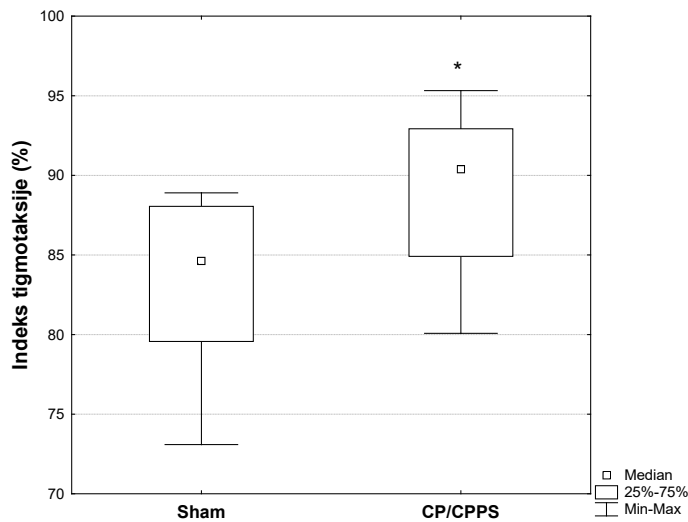
centru otvorenog polja, kao i smanjenje broja propinjanja na zadnje ekstremitete pokazatelji su povećane anksioznosti kod životinja (21). Osim toga, povećan indeks tigmotaksije jedan je od značajnih etoloških pokazatelja anksioznosti (22). Procenjeno je da jedna od četiri odrasle osobe tokom života iskusi bar jednom simptome anksioznog poremećaja (23,24). Epidemiološka studija sprovedena u Tajvanu na 3051 muškaraca, kod kojih je dijagnostifikovan CPPS, pokazala je značajno veću verovatnoću za razvoj



Grafikon 3. Broj propinjanja na zadnje ekstremitete u otvorenom polju za životinje iz kontrolne i eksperimentalne grupe. Statistička značajnost razlike utvrđena je Man-Vitnijevim U-testom (* $p < 0,05$). Za detalje videti **grafikon 1**.



Grafikon 4. Vreme provedeno u centru otvorenog polja kod životinja iz kontrolne i eksperimentalne grupe. Statistička značajnost razlike utvrđena je Man-Vitnijevim U-testom (* $p < 0,05$). Za detalje videti **grafikon 1**.



Grafikon 5. Indeks tigmotaksije u kontrolnoj i eksperimentalnoj grupi. Indeks tigmotaksije izračunat je kao odnos pređenog puta u perifernim zonama i ukupnog pređenog puta tokom ambulatornog kretanja u testu otvorenog polja. Statistička značajnost razlike utvrđena je t-testom (* $p < 0,05$). Za detalje videti **grafikon 1**.

depresivnih poremećaja i anksioznosti kod ovih pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu (25). Procena anksioznosti kod životinja se bazira na opservaciji bihevioralnih odgovora izazvanih izlaganjem životinje prirodnim, potencijalno anksiogenim situacijama u etološkim testovima (26). Jedan od najčešće korišćenih je test otvorenog polja (21,22), zasnovan na prirodnom konfliktu između težnje životinje da istraži novo okruženje (fenomen eksploracije) i tendencije da ostane blizu zidova polja (fenomen tigmotaksije) (22,27).

Postoji veliki broj mehanizama koji može da objasni razvoj anksioznog ponašanja kod životinja usled postojanja perifernog inflamatornog procesa.

Centralni nervni sistem (CNS) nije imunoprivilegovan organ, pa tako procesi periferne inflamacije (CP/CPPS) u CNS-u mogu dovesti do aktivacije mikroglijalnih ćelija i indukcije neuroinflamacije (6). Opisana su dva puta (humoralni put i „nervna ruta“) direktnog prodora proinflamatornih supstanci sa periferije u CNS (28), koji posledično aktiviraju mikroglijalne ćelije, što na kraju dovodi do povećane sekrecije proinflamatornih citokina i hemokina u moždanom tkivu (29). Razvoj neuroinflamacije može dovesti do pojave anksioznog poremećaja. Ovu tvrdnju potkrepljuju studije sa postmortalnom analizom moždanog tkiva depresivnih pacijenata (30), kao i kliničke studije korelacija između težine anksioznog i depresivnog stanja sa mikroglijalnom aktivnošću u predelu prefrontalnog korteksa i insule (31). I na animalnim modelima je pokazano da postoji veza između anksioznosti i povišene ekspresije interleukina 1β (IL- 1β) u različitim regionima mozga (32).

Geneza anksioznog poremećaja kod eksperimentalnih životinja može se objasniti i poremećajem neurotransmisije u CNS-u, naročito u limbičkom sistemu koji je odgovoran za regulaciju ponašanja i emocija (23). Eksperimentalne i kliničke studije su pokazale da alteracija glutamernergične neurotransmisije u limbičkom sistemu

može da ima ključnu ulogu u genezi anksioznih poremećaja (33-35). S druge strane, pokazano je da eksperimentalna aplikacija faktora nekroze tumora (TNF) u područje hipokampusa dozno-zavisno potencira glutamernergičnu neurotoksičnost i ćelijsku smrt povećanom aktivacijom NMDA receptora (36). Pokazano je i da IL- 1β povećava aktivnost i broj NMDA receptora na postsinaptičkoj membrani (37) i da postoji etiološka povezanost ekspresije interleukina 6 (IL-6) u mozgu i razvoja depresivnih i anksioznih poremećaja (38,39). Dakle, može se zaključiti da razvoj neuroinflamacije i povećana ekspresija proinflamatornih citokina mogu dovesti do alteracije glutamernergične neurotransmisije, što nesumnjivo dovodi do geneze anksioznog ponašanja.

Neuroinflamatorni procesi, praćeni mikroglijalnom aktivacijom i hiperprodukcijom proinflamatornih supstanci, predstavljaju značajan izvor slobodnih radikala (eng. *Reactive oxygen species*, ROS). Disbalans u produkciji i odstranjivanju ROS poznat je kao oksidativni stres (40). U poslednje vreme oksidativni stres je izdvojen kao jedan od ključnih mehanizama uključenih u nastanak anksioznih poremećaja (41). Pokazana je pozitivna korelacija između intracelularnog nivoa ROS i anksioznog ponašanja kod životinja (42-44), kao i veza između porasta aktivnosti superoksid-dizmutaze (SOD), jednog od glavnih enzima u antioksidativnim procesima, i pojave anksioznosti kod miševa (44). Povećan nivo lipidne peroksidacije, marker ćelijskog oštećenja izazvanog oksidativnim stresom, u krvi i urinu ustanovljen je kod pacijenata sa depresijom, opsesivno kompulsivnim poremećajima i anksioznošću (45). Može se zaključiti da neuroinflamatorni procesi, praćeni razvojem prooksidativnog okruženja u mozgu, imaju značajnu ulogu u genezi anksioznih poremećaja.

Zaključak

Naši rezultati ukazuju na postojanje tesne veze između eksperimentalno izazvanog CP/CPPS i anksioznosti. Eksperimentalni model CP/CPPS otvara vrata istraživanjima komorbiditeta, kao što je anksioznost.

Zahvalnost

Rad je nastao u okviru Projekta br. 175032 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

1. Passavanti MB, Pota V, Sansone P, Aurilio C, De NL, Pace MC. Chronic Pelvic Pain: Assessment, Evaluation, and Objectivation. *Pain Research and Treatment* 2017;2017:1-15.
2. Daniels NA, Link CL, Barry MJ, Mckinlay JB. Association between past urinary tract infections and current symptoms suggestive of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *J Natl Med Assoc* 2007;99:509-16.
3. Arora HC, Eng C, Shoskes DA. Gut microbiome and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Annals of Translational Medicine* 2017;5:30.
4. Brünahl C, Dybowski C, Albrecht R, Riegel B, Höink J, Fisch M, Löwe B. Mental disorders in patients with chronic

- pelvic pain syndrome (CPPS). *Journal of Psychosomatic Research* 2017;98:19-26.
5. Fu W, Zhou Z, Liu S, Li Q, Yao J, Li W, Yan J. The Effect of Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome (CP/CPPS) on Semen Parameters in Human Males: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2014;9(4).
 6. Hrnčić D, Sutulović N, Grubac Z, Rasić-Marković A, Stanojlović O. The central nervous system is not immunoprivileged: Inflammation and epileptogenesis. *Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia* 2018;75(8):820-25.
 7. Potts JM. Male Pelvic Pain: Beyond Urology and Chronic Prostatitis. *Current Rheumatology Reviews* 2016;12(1):27-39.
 8. Dersh J, Polatin PB, Gatchel RJ. Chronic Pain and Psychopathology: Research Findings and Theoretical Considerations. *Psychosomatic Medicine* 2002;64(5):773-86.
 9. Marques L, Robinaugh DJ, LeBlanc NJ, Hinton D. Cross-cultural variations in the prevalence and presentation of anxiety disorders. *Expert Review of Neurotherapeutics* 2011;11(2):313-22.
 10. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. *Manual for the state-trait anxiety inventory (STAI)*. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press Inc. 1983.
 11. Pontari MA, McNaughton-Collins M, O'Leary MP, Calhoun EA, Jang T, Kusek JW, Litwin MS. A case-control study of risk factors in men with chronic pelvic pain syndrome. *BJU International* 2005;96(4):559-65.
 12. Clemens JQ, Meenan RT, O'Keefe RMC, Kimes T, Calhoun EA. Prevalence of and Risk Factors for Prostatitis: Population Based Assessment Using Physician Assigned Diagnoses. *Journal of Urology* 2007;178(4):1333-7.
 13. Collins MM, Meigs JB, Barry MJ, Walker CE, Giovannucci E. Prevalence and correlates of prostatitis in the health professionals follow-up study cohort. *Journal of Urology* 2002;167(3):1363-6.
 14. Berghuis JP, Heiman JR, Rothman I, Berger RE. Psychological and physical factors involved in chronic idiopathic prostatitis. *Journal of Psychosomatic Research* 1996;41(4):313-25.
 15. de la Rosette JJMCH, Hubregtse MR, Karthaus HFM, Debruyne FMJ. Results of a Questionnaire among Dutch Urologists and General Practitioners Concerning Diagnostics and Treatment of Patients with Prostatitis Syndromes. *European Urology* 2017;22(1):14-9.
 16. Chung S, Lin H. Association between Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome and Anxiety Disorder: A Population-Based Study. *PLoS ONE* 2013;8(5).
 17. Kraeuter A, Guest PC, Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods Mol. Biol.* 2018:99-103.
 18. Radhakrishnan R, Nallu RS. Development and characterisation of a novel animal model of prostate inflammation-induced chronic pelvic pain. *Inflammopharmacology* 2009;17(1):23-8.
 19. Zeng F, Chen H, Yang J, Wang L, Cui Y, et al. . Development and Validation of an Animal Model of Prostate Inflammation-Induced Chronic Pelvic Pain: Evaluating from Inflammation of the Prostate to Pain Behavioral. *J Neurosci* 2017 38: 1583-90.
 20. Zhang K, Zeng X, Chen Y, Zhao R, Wang H, Wu J. Therapeutic effects of Qian-Yu decoction and its three extracts on carrageenan-induced chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2017;17(1):1-11.
 21. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *European Journal of Pharmacology* 2003;463(1-3):3-33.
 22. Simon P, Dupuis R, Costentin J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behavioural Brain Research* 1994;61(1):59-64.
 23. Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology* 2003;70(2):83-244.
 24. Brünahl CA, Riegel B, Höink J, Kutup A, Eichelberg E, Löwe B. Psychosomatic aspects of chronic pelvic pain syndrome. Psychometric results from the pilot phase of an interdisciplinary outpatient clinic. *Schmerz* 2014;28(3):311-8.
 25. Öztekin İ, Akdere H, Can N, Aktoz T, Arda E, Turan FN. Therapeutic Effects of Oligonol, Acupuncture, and Quantum Light Therapy in Chronic Nonbacterial Prostatitis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015;2015:1-8.
 26. Steimer T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: Some conceptual issues. *Dialogues Clin Neurosci* 2011;13(4):495-506.
 27. Ramos A, Correia EC, Izídio GS, Brüske GR. Genetic selection of two new rat lines displaying different levels of anxiety-related behaviors. *Behavior Genetics* 2003;33(6):657-68.
 28. Luheshi GN, Bluthé R, Rushforth D, Mulcahy N, Konsman J, Goldbach M, Dantzer R. Vagotomy attenuates the behavioural but not the pyrogenic effects of interleukin-1 in rats. *Autonomic Neuroscience* 2000;85(1-3):127-32.
 29. Bresler ML, Salazar FC, Rivero VE, Motrich RD. Immunological Mechanisms Underlying Chronic Pelvic Pain and Prostate Inflammation in Chronic Pelvic Pain Syndrome. *Frontiers in Immunology* 2017;8:898.
 30. Jakobsson J, Bjerke M, Sahebi S, Isgren A, Johan EC, Sellgren C, Landén M. Monocyte and microglial activation in patients with mood-stabilized bipolar disorder. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 2015;40(4):250-8.
 31. Setiawan E, Wilson AA, Mizrahi R, Rusjan PM, Miler L, Rajkowska G, Meyer JH. Role of Translocator Protein Density, a Marker of Neuroinflammation, in the Brain During Major Depressive Episodes. *JAMA Psychiatry* 2015;72(3):268-75.
 32. Wohleb ES, Patterson JM, Sharma V, Quan N, Godbout JP, Sheridan JE. Knockdown of Interleukin-1 Receptor Type-1 on Endothelial Cells Attenuated Stress-Induced Neuroinflammation and Prevented Anxiety-Like Behavior. *Journal of Neuroscience* 2014;34(7):2583-91.
 33. Bergink V, Meigen HJ. Glutamate and anxiety. *European Neuropsychopharmacology* 2004;14(3):175-83.
 34. Garakani A, Mathew SJ, Charney DS. Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. *Mt Sinai J Med.* 2006;73:941-9.
 35. Vaquero-Lorenzo C, Rianza BC, Perez-Rodriguez MM, Diaz-Hernandez M, López-Castromán J, Fernandez-Piqueras J, Baca-Garcia E. Positive association between SAT-1 -1415T/C polymorphism and anxiety. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 2009;150B(4):515-9.
 36. Zou JY, Crews FT. TNF α potentiates glutamate neurotoxicity by inhibiting glutamate uptake in organotypic brain slice cultures: Neuroprotection by NF κ B inhibition. *Brain Research* 2005;1034(1-2):11-24.
 37. Vezzani A, Viviani B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology* 2015;96:70-82.
 38. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, Lanctôt KL. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. *Biological Psychiatry* 2010;67(5):446-57.
 39. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. *Psychosomatic Medicine* 2009;71(2):171-86.
 40. Durackova Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res.* 2010;59:459-69.
 41. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative Stress and Anxiety: Relationship and Cellular Pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2009;2(2):63-7.
 42. Rammal H, Bouayed J, Younos C, Soulimani R. Evidence that oxidative stress is linked to anxiety-related behaviour in mice. *Brain, Behavior, and Immunity* 2008;22(8):1156-9.
 43. Hovatta I, Juhila J, Donner J. Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. *Neuroscience Research* 2010;68(4):261-75.
 44. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behavioural Brain Research* 2010;208(2):545-52.
 45. Vazquez B, Devinsky O. Epilepsy and anxiety. *Epilepsy and Behavior* 2003;4:20-5.