



TC.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FİNASTERİD UYGULANAN ABSANS EPİLEPTİK SIÇANLARDA NÖROAKTİF  
STEROİDLER OLAN ALLOTETRAHİDRODEOKSİKORTİKOSTERON VE  
ALLOPREGNANOLON' UN EEG' DE DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Sebahattin KARABULUT**

**SİVAS**

**2013**



TC.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

FİNASTERİD UYGULANAN ABSANS EPİLEPTİK SIÇANLARDA NÖROAKTİF  
STEROİDLER OLAN ALLOTETRAHİDRODEOKSİKORTİKOSTERON VE  
ALLOPREGNANOLON' UN EEG' DE DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sebahattin KARABULUT

Danışman Öğretim Üyesi  
Doç. Dr. Sefa GÜLTÜRK

2013

SİVAS

## ONAY SAYFASI

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Başkan : Doç. Dr. Sefa GÜLTÜRK

Üye : Doç. Dr. Bülent SARAÇ

Üye : Yard. Doç. Dr. Ercan ÖZDEMİR

## ONAY

Bu tez çalışması, 18.01.2013 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

---

Prof. Dr. Ömer POYRAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmamın yürütülmesi için gerekli işbirliklerini sağlayıp, çalışmalarım boyunca rehberliğini ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Sefa GÜLTÜRK'e, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden, bilimsel birikimlerinden faydalandığım bölüm hocalarım Yrd. Doç Dr. Ercan ÖZDEMİR ve Doç. Dr. Ayşe DEMİRKAZIK'a, bölümümüz asistanı Dr. A. Kemal FİLİZ'e, istatistiksel çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a ve bu süreç boyunca desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan aileme ve eşime sonsuz teşekkür ederim.

Sebahattin KARABULUT

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkalgı tarafından desteklenmektedir (CÜBAP Proje No: T-505).

## ÖZET

### FİNASTERİD UYGULANAN ABSANS EPİLEPTİK SIÇANLARDA NÖROAKTİF STEROİDLER OLAN ALLOPREGNANOLON ve ALLOTETRAHİDRODEOKSİKORTİKOSTERONUN EEG'DE DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ

Absans epilepsi jeneralize epilepsinin non-konvülsif bir formu olup, EEG' de 2,5-4 Hz frekansındaki diken ve yavaş dalga deşarj (DDD) aktivitesiyle karakterizedir. Merkezi sinir sisteminde GABAerjik sistemin aktivasyonu konvülsif tarzdaki nöbetleri baskılamak, absans nöbetleri şiddetlendirir. Endojen nöroaktif steroidler olan pregnanolon metabolitleri 3 $\alpha$ -hidroksi-5 $\alpha$ -pregnan-20-one (3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -THPROG; Allopregnanolon) ve 3 $\alpha$ ,21-dihidroksi-5 $\alpha$ -pregnan-20-one (3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -THDOC; Allotetrahidrodeoksikortikosteron) GABA-A reseptörlerinin en güçlü pozitif allosterik modülatörleri olup, hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda GABAerjik sistemi etkileyebilirler. Bir 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörü olan finasterid endojen steroidlerin sentezini seçici olarak bloke edebilir. Bu çalışmada, finasterid uygulanmış absans epilepsinin genetik bir modeli olan WAG/Rij sıçanlarda DDD' lere endojen steroidler olan THPROG ve THDOC'un etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Wistar (Grup 1 ve Grup 2) ve WAG/Rij (Grup 3 ve Grup 4) sıçanlardan 4 grup oluşturuldu (n=8). Stereotaksik cerrahi işlemlerden sonra tüm sıçanlar direkt kortikal EEG ölçümüne hazır hale getirildiler. Her gruba finasterid uygulandıktan sonra Grup 1 ve 3' e THPROG, Grup 2 ve 4'e THDOC ip yolla verildi. Grup 1 ve 2' de herhangi bir DDD aktivitesi gözlenmezken, Grup 3 ve 4' de steroid enjeksiyonundan sonra DDD sayısında (p=0,012) ve DDD toplam süresinde (sırasıyla p=0,012; p=0,011) bir artış görülmüştür. Ayrıca Grup 3' de ortalama DDD süresindeki artış Grup 4' e kıyasla daha fazla olmuştur (p=0,007).

Sonuç olarak, THPROG WAG/Rij sıçanlarda absans nöbetlerde daha fazla artışa neden olmuştur. Bazal koşullar altında absans nöbetlerin regülasyonunda THPROG daha ön planda görülmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Nörosteroid, WAG/Rij sıçan, Diken Dalga Deşarj

## ABSTRACT

### EFFECT OF THE NEUROACTIVE STEROIDS ALLOPREGNANOLONE AND ALLOTETRAHYDRODEOXYCORTICOSTERON ON SPIKE-WAVE DISCHARGES IN EEG OF FINASTERID APPLIED WAG/RIJ RATS

Absence epilepsy is generalized non-convulsive type of epilepsy that is characterized by spike-wave discharges with a frequency of 2,5-4 Hz in the EEG. The activation of the GABAergic system in central nervous system suppressing convulsive seizures, but absence seizures exacerbation. Endogenous neuroactive steroid such as  $3\alpha$ -hydroxy- $5\alpha$ -pregnane-20-one ( $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -TH PROG; Allopregnanolon) and  $3\alpha,21$ -dihydroxy- $5\alpha$ -pregnane-20-one ( $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -THDOC), are GABA-A receptor-positive allosteric modulators, and GABAergic system can affect both physiological and pathological conditions. Finasteride that a  $5\alpha$ -reductase inhibitor, can block the selective synthesis of endogenous steroids. In this study, to treated with finasteride WAG / Rij rats, a genetic model of absence epilepsy, DDD THPROG and THDOC which to compare the effect of endogenous steroids.

Wistar (Group 1 and Group 2) and WAG / Rij (Group 3 and Group 4) rats into 4 groups (n = 8). After stereotaxic surgical procedures, all rats were returned ready for direct measurement of cortical EEG. After the application of each of Groups 1 and 3 Finasteride group to THPROG, Groups 2 and 4 were given THDOC via ip. Groups 1 and 2 in the DDD no activity was observed in Group 3 and 4 after injection of the steroid in the number of DDD ( $p = 0.012$ ), and total duration of DDD ( $p = 0.012$ ,  $p = 0.011$ ) increase. Also in Group 3 Group 4 average increase in duration of DDD to more than the control group ( $p = 0.007$ ).

As a result, THPROG WAG / Rij rats caused an increase in absence seizures more. THPROG under basal conditions are more prominent the regulation of absence seizures.

**Key words:** Neurosteroids, WAG/Rij rat, Spike-wave discharges



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2. 1. EPİLEPSİNİN TANIMI.....	3
2. 2. EPİLEPSİNİN SINIFLANDIRILMASI.....	4
2. 3. İDİOPATİK JENERALİZE EPİLEPSİ .....	5
2. 3. 1. Absans Epilepsi Hayvan Modelleri .....	6
2. 3. 2. WAG/Rij Sıçanlar .....	7
2. 2. 3. Absans Epilepsinin Patofizyolojisi .....	8
2. 4. NÖROSTEROİDLER .....	9
2. 4. 1. Tanım .....	9
2. 4. 2. Biyosentez.....	10
2. 4. 3. Nörosterodlerin Etki Mekanizmaları.....	12
2. 4. 3. 1. Genomik Etkiler .....	13
2. 4. 3. 2. 1. Non-genomik Etkiler .....	13
2. 4. 4. Allopregnanolon.....	14
2. 4. 5. Allotetrahidrodeoksikortikosteron.....	15
2. 4. 6. Finasterid .....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	17
4. BULGULAR .....	20
5. TARTIŞMA .....	24
6. SONUÇ.....	28
7. KAYNAKLAR.....	29

## SİMGE ve KISALTMALAR

NMDA	N-metil D-aspartat
İLAE	Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
EEG	Elektroenseleografi
DDD	Diken Dalga Deşarj
GABA	Gamaaminobutirikasit
GABA-A	GABA A Reseptörü
İPSP	İnhibe Edici Postsinaptik Potansiyel
THPROG	Tetrahidroksiprogesteron
THDOC	Tetrahidroksideoksikortikosteron
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo-Rijswijk
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats From Strasbourg
ÇAE	Çocukluk Çağı Absans Epilepsi
3 $\alpha$ -HSOR	3 $\alpha$ -hidroksisteroidoksiredüktaz
RTN	Retiküler Talami Nüklei
HPA	Hipotalamo-pitüiter adrenal aks
FİN	Finasterid
CRH	Kortikotropin salgılatıcı hormon
DH	Dihidroprogesteron
DOC	Deoksikortikosteron

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Wag/Rij sıçanların korteksinden kaydedilmiş DDD'ler .....	5
Şekil 2. Generalize absans epilepsinin orjini üzerindeki 5 teorinin şematik gösterimi.....	8
Şekil 3. Nöroaktif Steroidlerin Sınıflandırılması .....	10
Şekil 4. Periferal Steroidojenezin genel şeması .....	11
Şekil 5. Nörosteroid biyosentezinin biyokimyasal yolları.....	12
Şekil 6. Nörosteroidlerin etki mekanizmaları .....	12
Şekil 7. GABA-A reseptörü ve bağlanma bölgelerinin şeması .....	14
Şekil 8. Finasteridin bloke ettiği biyokimyasal yolların şeması .....	16

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması .....	4
Tablo 2. DeneY Grupları ve Kullanılan Hayvan Sayıları .....	17
Tablo 3. DeneY Protokolü ve Yapılan İşlemler .....	19
Tablo 4. Grup 3' de THPROG Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması .....	20
Tablo 5. Grup 4' de THDOC Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması .....	21
Tablo 6. Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayılarının Karşılaştırılması .....	22
Tablo 7. Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Toplam Sürelerinin Karşılaştırılması .....	23
Tablo 8. Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Ortalama Sürelerinin Karşılaştırılması .....	23

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi beyindeki nöronların anormal aktivasyonu sonucu oluşan tekrarlayan nöbetlerle karakterize kronik bir hastalıktır. Epilepsi nöbeti beyindeki bir grup sinir hücresinin aşırı deşarjlarına bağılı olarak ortaya çıkmaktadır. Epilepsiler genetik, yapısal/metabolik ve bilinmeyen olarak gruplandırılmıştır (1). İdiopatik epilepsiler mevcut araştırma yöntemleriyle altta yatan nedenin belirlenemediğı fokal ya da jeneralize nöbetleri kapsar. Absans epilepsi idiopatik jeneralize epilepsiler grubunda yer almakta olup biliçte bir azalmaya eşlik eden, iktal EEG' de 2,5-4 frekansında bilateral ve simetrik Diken Dalga Deşarjlarla (DDD) karakterizedir. Tipik absanslar 5-15 yaşları arasındaki çocuklarda, daha ziyade kızlarda başlar (2). Adolesan dönemde yüksek oranda (% 60-75) iyileşme beklenir. Absans epilepsinin spesifik EEG bulgusu olan DDD' lerden talamo-kortikal yapıların sorumlu olduğu düşünölmektedir (3).

Nörosteroid terimi, membranda ligand kapılı iyon kanalı olarak yer alan reseptörlere bir nörotransmitter gibi bağlanarak nöronların uyarılabilirliğini hızlıca değıştiren ve beynin işlevini etkileyen steroidler için kullanılmaktadır. Nörosteroidler nöroaktif biyomoleküller olup akut ve kronik stres, depresyon, anksiyete, premenstrual sendrom, şizofreni gibi nörolojik ve psikiyatrik bozuklukların oluşumunda ve tedavi sürecinde önemli rol oynarlar (4-7). Endogenez nörosteroidlerin epileptogenezin regölasyonunda da rol oynadığına ilişkin artan kanıtlar vardır (8-10). Merkezi sinir sisteminde majör inhibitör sistem olan GABAerjik sistemin beyinde GABA-A reseptör aracılı sinaptik inhibisyonunun hacmi epilepside kritik rol oynar (11). Progesteron metaboliti olan 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one (3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ - THPROG; Allopregnanolon) ve deoksikortikosteronun bir metaboliti olan 3 $\alpha$ ,21-dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one (3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -THDOC; Allotetrahydrodeoksikortikosteron) merkezi sinir sisteminde GABA-A reseptör fonksiyonunun en güçlü endojen pozitif modölatörleridir. Elektrofizyolojik çalışmalar nörosteroidlerin GABA-A reseptörlerinin pozitif modölatörleri olduğunu ve bu reseptörler aracılığıyla inhibe edici postsinaptik potansiyel (İPSP) etkinliğinde bir artışa neden olduğunu doğrulamıştır (12).

THPROG ve THDOC' un antikonvulsan etkinliği konvulsif epilepsinin çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiş (13), ancak bu bileşiklerin absans epilepside oynadığı rol tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Progesteronun WAG/Rij sıçanlara akut uygulanması sonucu talamo-kortikal devrede DDD'lerin sayısında ve toplam süresinde bir artış gözlenmiştir (14). Progesteronun bu epileptojenik etkisi bir 5  $\alpha$ -redüktaz inhibitörü olan finasterid ile ortadan kaldırılmıştır (15). Finasterid bir 5  $\alpha$ -redüktaz inhibitörü olup epileptik hayvan modellerinde endosteroidlerin doğal olarak bloke edilmesinde kullanılmaktadır. Finasterid progesteron ve deoksikoertikosterondan sırasıyla THPROG ve THDOC oluşumunu doğal olarak bloke etmektedir.

Bu çalışmamızda önceden finasterid verilmiş WAG/Rij sıçanlara, bu iki nörosteroidi doğrudan uygulayarak absans nöbetlerde DDD'lere etkilerinin karşılaştırılmasını amaçlıyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi merkezi sinir sisteminde bir grup nöronun anormal, aşırı, eş zamanlı deşarjlara bağılı olarak ortaya çıkan ve geçici duyusal, motor, bilişsel ve otonom klinik belirtilerle şekillenen nöbetlerin görüldüğü, tekrarlayıcı nitelikte klinik tablodur (16). Epileptik nöbetler kısa süreli ilgi kaybı ve uyku hali gibi ılımlı davranışlarla (petit mal) ya da şiddetli kasılmalara eşlik eden bilinç kaybı gibi ciddi sistemik yanıtlarla (grand mal) ortaya çıkabilir. Nöbet durumuna geçiş tek bir nöron seviyesinde ya da lokal devreler seviyesinde gerçekleşebilir (17). Nöbetleri tetikleyen normalden fazla elektriksel aktiviteye sahip bu hücre grubuna “epileptojenik odak” denir. Bu nöronların neden anormal deşarj yaptıkları sorusu tam olarak bilinmese de, kortikal epileptojenik nöronların hipersensitif oldukları, stoplazmik membran permeabilitesinin artmış olduğu ve kronik olarak böyle kaldıkları bilinmektedir (18).

Epilepsi 50 milyondan fazla insanı etkileyen nörodejeneratif bir hastalıktır (19). Epilepsinin prevalansı hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde % 1 civarındadır (20). İnsidansı ise yüzbinde 50-70 vaka arasındadır (21). Epilepsi vakalarının yaklaşık yarısı çocukluk ve yaşlılık döneminde çıkmaktadır.

Lokalizasyon özelliklerine göre epilepsiler “parsiyel epilepsiler” ve “jeneralize epilepsiler” olmak üzere iki ana başlık altında toplanmaktadır. Parsiyel nöbet, bir hemisferdeki bir grup nöronun aşırı deşarjı ile ortaya çıkar ve klinik ve EEG bulguları ilgili nöronların işlevsel özellikleri ile yakından ilgilidir. Örneğin normalde istemli olarak başın sola çevrilmesini kontrol eden sağ hemisferdeki frontal bölge epileptik deşarjların odağı haline gelmişse, bu işlem istemsiz olarak gerçekleşecektir. Jeneralize epilepsiler ise her iki hemisferde hemen hemen aynı anda başlayan nöbet aktivitesiyle karakterize edilirler (22).

## 2. Epilepsinin Sınıflandırılması

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (İLAE) 1989’ da nöbet tipi, etyoloji, nöbeti uyaran faktörler, başlangıç yaşı EEG bulgularını gözönüne alarak epileptik sendromlar için bir sınıflandırma yapmıştır (23)(Tablo1).

**Tablo 1. Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (İLAE) (23).**

### 1. Parsiyel (Fokal) Epilepsiler

#### A. İdiopatik

- Sentro-temporal diken bulgusu veren çocukluk çağı selim epilepsisi
- Oksipital-paroksizmal çocukluk çağı epilepsisi
- Primer “okuma” epilepsisi

#### B. Semptomatik

- Kojewnikow sendromu (sürekli parsiyel epilepsi)
- Temporal lob epilepsisi
- Frontal lob epilepsisi
- Oksipital lob epilepsisi
- Paryetal lob epilepsisi

#### C. Kriptojenik/Fokal Epilepsiler

### 2. Jeneralize Epilepsiler

#### A. İdiopatik

- Selim ailesel neonatal konvülsiyonlar
- Çocukluk çağı selim myoklonik epilepsisi
- Pknolepsi
- Juvenil absans
- Juvenil myoklonik epilepsi
- Belirli uyarılarla gelişen epilepsiler

#### B. Kriptojenik/Semptomatik

- West sendromu
- Lennox-Gastaut sendromu
- Myoklonik-astatik nöbetli epilepsi
- Myoklonik absanslı epilepsi

#### C. Semptomatik

- Erken myoklonik ensefalopati
- Süpresyon “burst” lü erken infantil epileptik ensefalopati
- Özgül sendromlar



### 2. 3. İdiopatik Jeneralize Epilepsi

Absans nöbetler ilk olarak 1705 yılında Paupart tarafından tanımlanmış, daha sonra 1774’ de Tissot “petit acce’s” terimini sunmuştur. 1824 yılında ise Calmeil tarafından “absans nöbetler” olarak adlandırılmıştır (24). Absans epilepsi jeneralize epilepsinin diğer formlarından hem klinik özellikleri hem de farmakolojik profili bakımından önemli farklılıklar gösterir. Öyle ki absans nöbetlerde aura ya da konvülsiyon görülmez ve iyi bilinen antikonvülsan ilaçların bazıları (Karbamazepin, Vigabatrin) nöbetleri provoke edebilir (25). Dahası epileptik nöbetlerin diğer bütün formlarında inaktif olan Etosüksimid, absans nöbetleri baskılar (26).

Tipik absanslar dört farklı jeneralize sendromda bulunmaktadır: Çocukluk çağı absans epilepsi, juvenil absans epilepsi, myoklonik absans epilepsi ve juvenil myoklonik epilepsi (27). Çocukluk çağı absans epilepsi (ÇAE) idiyopatik, multifaktöryel genetik etyolojiye sahip jeneralize nonkonvülsif bir epilepsidir. ÇAE çocukluk çağı epilepsilerin % 10-12’ sini oluşturur ve prevalansı kızlarda daha sıktır. Nöbetler 3-8 yaş arasında (6-7 yaşlarda pik) başlar, ortalama 10 saniye (4-20 sn) olmak üzere günde pekçok kez (200’ün üzerinde) meydana gelir (28). Nöbet ani olarak bilinç kaybı ile başlar, devam eden aktivite kesilir ve yanıt verme azalır. Nöbet sırasında perioral bölgenin yanısıra gözlerin minimal myoklonik hareketleri vardır. Bilinçteki bozulma ılımlıdır, öyle ki nöbet geçiren insanlar bazen nöbet sırasında kendilerine sunulan bilgileri anımsayabilirler (29).

Tipik absans nöbetlerin spesifik EEG bulgusu jeneralize, senkronik ve bilateral 2,5-4 Hz Diken ve Yavaş Dalga Deşarjlarıdır (DDD) (Şekil 1). EEG’ de zemin aktivitesi normaldir ya da hastaların 2/3’ inde ritmik posterior delta aktivitesi mevcuttur. DDD’ler korteksin frontal orta hat bölgesi, lateral ve posterior bölgelerinde görülür. Absans epilepside remisyon oranı yüksektir, hastaların küçük bir bölümünde (% 6) nöbetler erişkin çağda da devam eder. Olguların %30-60’ ında sıklıkla absansları izleyen 5-10 yıl içinde jeneralize tonik-klonik nöbetler başlayabilir.



Şekil 1. Wag/Rij sıçanların korteksinden kaydedilmiş DDD’ler

Absans epilepsi multifaktöryel genetik etyolojiye sahiptir. Çeşitli gruplarda yapılan çalışmalarda ÇAE fenotipli probandlarda iki gen mutasyonu tanımlanmıştır. İlki 5. kromozomda bulunan GABA-A reseptör  $\gamma 2$  alt ünite geninde (GABRG2) (30), diğeri ise 19. kromozomda bulunan  $Ca^{+2}$  kanalını kodlayan gende (CACNA1A) (31) bulunmuştur. CAE' li aileleri kapsayan moleküler- genetik çalışmalarda yalnızca iki gen mutasyonunun belirlenmiş olması, bu epilepsinin kompleks genetik doğasına işaret etmektedir.

Tipik absans epilepsiler genellikle kolay teşhis ve tedavi edilirler. Tedavide ilk seçenek Valproik asit ve Etosüksimit' in tek başlarına ya da kombine terapisi dir. Tedaviye dirençli olgularda Klobazam ve Asetazolamid tercih edilmektedir. Diğer nöbet tiplerine olan etkilerinin tersine olarak Vigabatrin ve Tiagabin gibi GABA mimetikler absans nöbetleri artırır lar (32, 33). Bu durum absans epilepsinin patofizyolojisinde GABAerjik inhibitör sistemle ilgili bir bozukluk olduğunu düşündürmektedir.

### **2. 3. 1. Absans Epilepsi Hayvan Modelleri**

Tipik absans epilepsiler genellikle ılımlı seyrettikleri ve çocukluk döneminde ortaya çıkıp ilerleyen yaşlarda kendiliğinden ortadan kalktıklarından dolayı bu alanda yapılan çalışmalar etik nedenlerden ötürü insanlar üzerinde gerçekleştirilemez. Bu nedenle, olası epileptik mekanizmaları ortaya çıkarmak ve tedavilerine ışık tutmak amacıyla deneysel hayvan modelleri tercih edilmektedir. Deneysel hayvan modelleri genetik ve kimyasal ajanlarla oluşturulan modelleri içerir.

Seksenli yıllarda iki ayrı grup tarafından Wistar suşlarından inbred üretilen ve duraklama davranışı ile birlikte EEG kayıtlarında bilateral DDD'leri gösteren WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo-Rijswijk) ve GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats From Strasbourg) suşu sıçanlar insan absans epilepsisinin nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal özelliklerini birarada bulundururlar. Her iki suşun erişkin sıçanlarında absans nöbetler sırasında klinik bulgularla birlikte EEG'de DDD'ler gözlenmektedir (34). Her ne kadar iki sıçan modelinin özellikleri doğrudan karşılaştırılmasa da, nöbetlerin başlangıcının gelişimsel profilinde küçük bir farklılık dışında oldukça benzer oldukları görülür. Öyle ki iktal belirtilerin gelişimi GAERS sıçanlarda 30 günden sonra başlarken (35), WAG/Rij sıçanlarda bu süre 75 günden sonradır (36).

İnsan fenotipiyle karşılaştırıldığında ana farklılıklar DDD'lerin daha yüksek (7-11 Hz) frekansı, DDD'lerin neredeyse hiç polisprike olmayışı ve bu sıçanların davranışsal ve EEG komponentlerinin geç gelişmesiyle birlikte erişkin dönemde de devam etmesidir (37). Absans epilepsinin hayvan modelleri olarak genetik modellerin yanında rodentler, kediler ve primatların Pentilentetrazol, Penisilin, GABA antagonistlerinin enjeksiyonuyla oluşturulan kimyasal modelleri de kullanılmaktadır.

### **2. 3. 2. WAG/Rij Sıçanlar**

1986'da WAG/Rij olarak adlandırılan ve spontan olarak DDD gösteren Wistar suşu sıçanlar İngiltere'de yetiştirilmiş, önce Rijswijk'de daha sonra Hollanda (Nijmegen)'de üretilmiştir. WAG/Rij sıçanların 6 aydan büyük tüm erkek ve dişi üyelerin kortikal EEG'lerinde ortalama 5 saniye (1-30 sn) süren 7-11 Hz frekansında deşarjlar görülmektedir. EEG'de DDD'ler sıçanlar 2-3 aylık olduktan sonra görülmeye başlar, saat başına 3-30 kez meydana gelir ve günlük ortalama deşarj sayısı 300-400 civarındadır. Sıçanlarda nöbet sırasında bıyıklarda seğirme, solunumda hızlanma, kafa sallama gibi davranışsal değişiklikler görülebilir. WAG/Rij sıçanlarda absans nöbetler insanlarda olduğu gibi yaşla birlikte düzelme göstermez, aksine daha da artar.

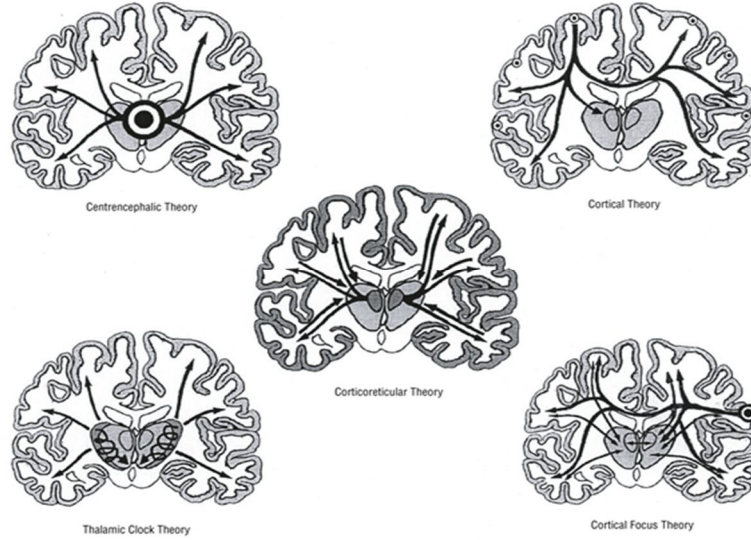
Bu sıçanlarda ortaya çıkan DDD'lerin farmakolojik profili absans epilepsili hastalarla benzer şekilde görülmüştür. WAG/Rij sıçanlardaki DDD'ler insanlarda da etkili olan dört ana antiepileptik ilaç tarafından baskılanır: Etosüksimid, Valproat, Trimetadion, Benzodiazepinler. İnsanda absans nöbetleri artıran ya da nöbetlere etkisiz kalan ilaçlar ise bu sıçanlarda nöbetleri artırır: Karbamazepin, Fenitoin, Vigabatrin, Tiagabin (34).

Yine insanlarla benzer şekilde WAG/Rij sıçanlarda absans nöbetlerin ortaya çıkması uyku-uyanıklık siklusu ile yakından ilişkilidir (38). Bununla birlikte insan absans epilepsisinden farklı olarak WAG/Rij sıçanlarda DDD'ler puberteden sonra (2-3 aylıkken) görülmeye başlar.

### 2. 2. 3. Absans Epilepsinin Patofizyolojisi

Absans epilepsinin patofizyolojisi tam olarak çözümlenmemiş olsa da ileri sürülen teorilerde korteks ve talamus ön plandadır. Öyle ki kortiko-talamo-kortikal devre, talamusun retiküler çekirdeği ve korteksin somatosensöryel bölgesinin absans epilepsi patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (39-41).

Şimdiye kadar jeneralize absans epilepsinin patofizyolojisi için 4 teori öne sürülmüştür (41)(Şekil 2). “Centerensefalik teori”, DDD’lerin talamusun orta noktasında derin olarak lokalize olmuş subkortikal bir pacemaker’dan orjin aldığını ileri sürer (42). Bu teori 1991’de “Talamik teori” ye dönüşmüştür, buna göre talamustaki Retiküler Talami Nüklei (RTN) pacemaker hücreler içerir ve bunların ritimleri korteksi etkiler. “Kortikal teori”, DDD’lerin kortekste fokal bir başlangıçtan sonra hızla yayılarak jeneralize olduğunu öne sürer (43). Gloor’un “Kortiko-retiküler teori”si ise absans nöbetlerin başlatılmasında ve devam ettirilmesinde talamik ve kortikal süreçlerin kombinasyonunu kapsar (29). Gloor’un jeneralize absans epilepsinin fenil penisilin modeli üzerinde yaptığı çalışmalardan elde ettiği sonuçlar, DDD’lerden sorumlu kritik faktörün korteksin artmış olan uyarılabilirliğine işaret etmektedir. Uyarılabilirliği artmış kortikal nöronlar normal talamik uyarılara anormal cevap vererek uyku iğleri yerine DDD üretimine neden olurlar (29, 44).



Şekil 2. Generalize absans epilepsinin orjini üzerindeki 5 teorinin şematik gösterimi

Meeren ve ark (41) WAG/Rij sıçanların EEG'lerinde non-lineer asosiyasyon analizi ile nöbetin somatosensöryel korteksin perioral bölgesinde bir odakta kaynaklandığını ve daha sonra korteksin diğer alanlarının olaya katıldığını göstermiştir. Buna göre nöbet başlangıcında ilk 500 ms korteks talamusu yönetir. Bu çalışmada, bilateral senkronize DDD üretilmesinin anatomik ve fonksiyonel olarak sağlam bir kortiko-talamik ağın varlığına bağlı olduğu gösterilmiştir. Fokal teoriyi destekleyen diğer veriler şunlardır:

- WAG/Rij sıçan korteksinde parvalbumin boyaması göstermeyen bölgeler (fokal bölge) bulunmuştur (45).

- Somatosensöryel kortekste fokal bölgenin lidokain ile lokal deaktivasyonu DDD'lerin azalmasına yol açmaktadır (46).

- Anılan fokal bölgede, dendritlerin anormal dallanmasının görüldüğü nöronlar bulunmuştur (47).

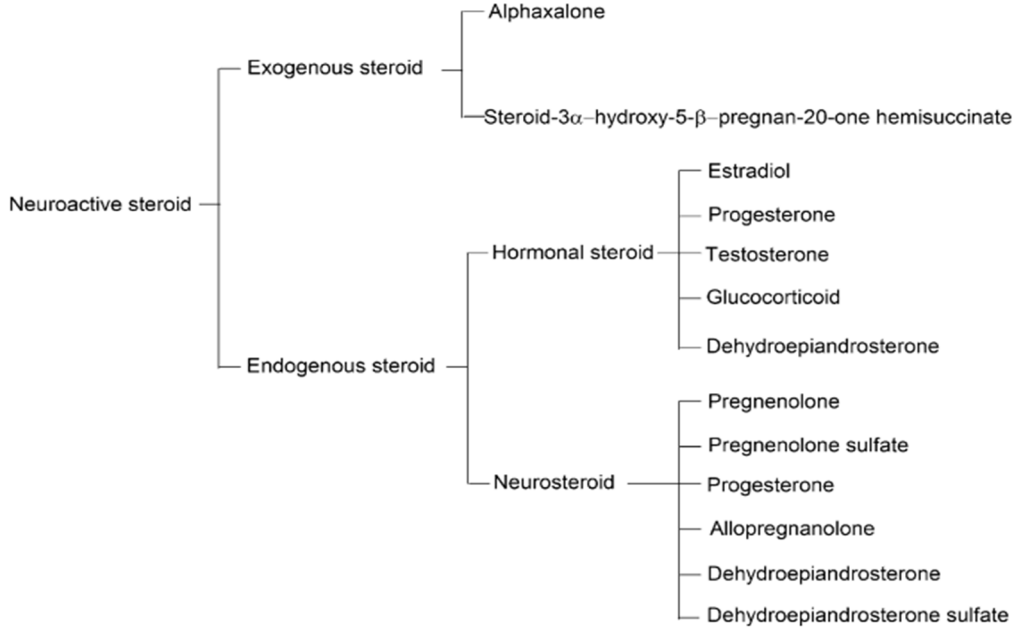
WAG/Rij sıçanlarda gösterilen fokal zona benzer bir odak GAERS'de de bulunmuştur (48).

## **2. 4. Nörosteroidler**

### **2. 4. 1. Tanım**

Nörosteroid terimi 1981' de Fransız endokrinolog Emile Baulieu tarafından periferik steroidojenik endokrin bezlerden bağımsız olarak sinir sisteminde kolesterolden de novo sentez edilen steroidleri anlatmak için kullanılmıştır (49). Daha sonra Paul ve Purdy nöroaktif steroidleri "inhibitör ya da eksitatör nörotransmitterler gibi membrana bağlı reseptörlere bağlanarak nöronların uyarılabilirliğini hızlıca değiştiren doğal ya da sentetik steroidler" olarak karakterize etmiştir (50) (Şekil 3).

Nörosteroidler olarak tanımlanan steroidler lokal olarak beyinde sentez edilirler ve nöronal uyarılabilirliği esas olarak membran reseptörlerine bağlanarak hızlıca modüle ederler. Dolaşımdaki steroid hormonlar nörosteroidlerin beyinde sentezi için prekürsör olarak hizmet ederler (51). Nöroaktif steroidler ligand kapılı iyon kanallarını genomik olmayan yol aracılığıyla modüle ederler. Çok sayıda nörosteroid tanımlanmışsa da en çok çalışılanlar progesteron metaboliti allopregnanolon, tetrahidrodeoksikortikosteron'dur. Nörosteroidler GABA'nın majör reseptörü olan GABA-A reseptörlerinin pozitif allosterik modülatörüdür.

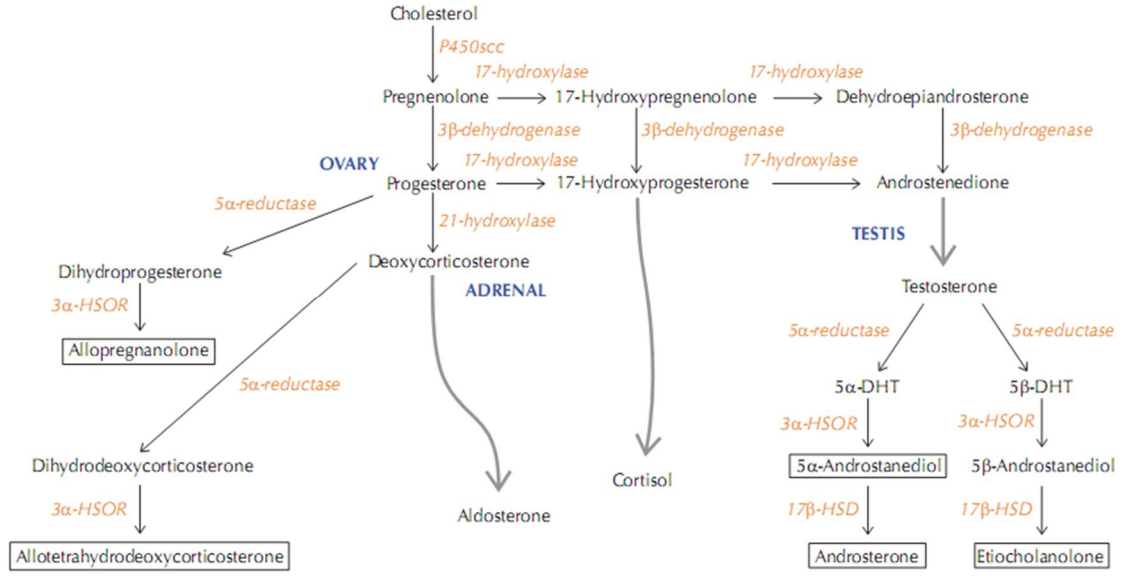


**Şekil 3.** Nöroaktif steroidlerin sınıflandırılması

#### 2. 4. 2. Biyosentez

Çeşitli GABA-A reseptörlerini modüle eden nörosteroidlerin endojenik olarak sentez edildiği bilinmektedir (Şekil 4). Bu nörosteroidler progesteron, deoksikortikosteron ve testosteron gibi hormonal steroidlerin A- halka indirgenme metabolitleridir. Bunlardan en çok bilinen THPROG ve THDOC, steroid hormonlar progesteron ve onun 21-hidrosilat derivatı deoksikortikosteron'un  $5\alpha$ -redüktaz ve  $3\alpha$ -hidroksisteroidoksiredüktaz ( $3\alpha$ -HSOR) enzimleri tarafından ardışık A-halka redüksiyonuyla üretilirler. Nörosteroidlerin hormonal steroid prekürsörleri esas olarak gonadlarda, adrenallerde ve fetoplantal ünite de sentezlenir. GABA-A reseptörlerinde aktif formlar ana steroidlerin  $5\alpha$ -redüktaz ve  $3\alpha$ -hidroksisteroidoksiredüktaz ( $3\alpha$ -HSOR) tarafından ardışık reaksiyonuyla üretilir. Bu dönüşüm adımları periferel dokularda geniş olarak meydana gelir. İki farklı  $5\alpha$ -redüktaz izoenzimleri farklı doku dağılımına sahiptir. Tip 1  $5\alpha$ -redüktaz vücut boyunca geniş olarak dağılmıştır ve en fazla karaciğerdedir.

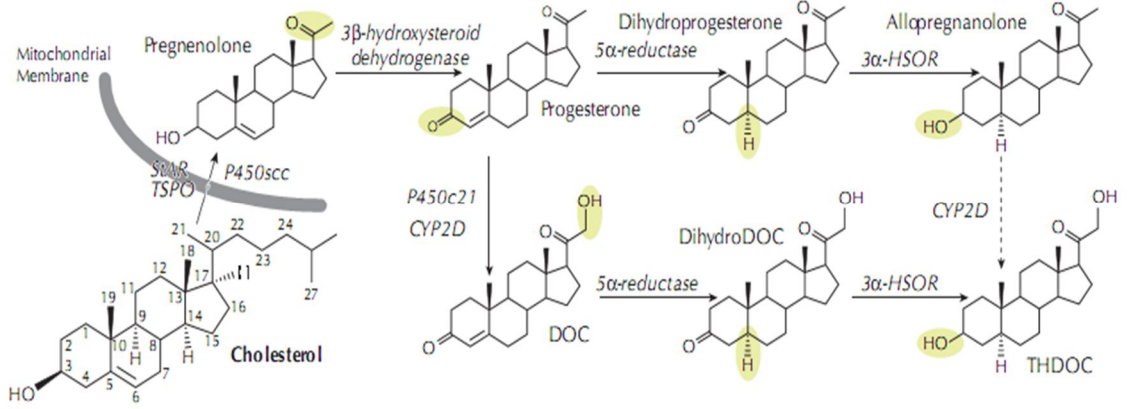
Tip 2  $5\alpha$ -redüktaz ise esas olarak prostat ve seminal vezikül gibi androjenler için hedef doku olan yerlerde eksprese edilir. Nörosteroidler yüksek derecede lipofilik oldukları ve kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçtikleri için periferel dokuda sentezlenen nörosteroidler beyinde birikerek onun fonksiyonlarını etkileyebilir (52).



**Şekil 4.** Periferal steroidojenezin genel şeması

Nörosteroidlerin periferal olarak üretimlerinin yanında, steroid hormon prekürsörlerinden lokal olarak beyinde de sentezlendiği belirlenmiştir (53). Steroid prekürsörler beyne kolaylıkla geçebilirler, bu yüzden periferal olarak sentez edilen prekürsörlerin havuzu lokal nörosteroid sentezi için hazırdır. Öyle ki, GABA-A reseptörlerinde aktif pregnan steroidlerin sentezi için gerekli steroid transport molekülleri ve zorunlu enzimler merkezi sinir sisteminde mevcuttur. Progesteron ve deoksikortikosterondan sırasıyla THPROG ve THDOC'un sentezi 5 $\alpha$ -redüktaz ve 3 $\alpha$ -HSOR enzimlerinin senkronize aktivitelerini gerektirir ve son çakışmalarda bu enzimlerin merkezi sinir sisteminde eksprese edildiğini göstermiştir (54). Örneğin, in-situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal teknikler kullanılarak yapılan bir çalışma bu enzimlerin fare beyninin bir bölgesinde spesifik bir şekilde eksprese edildiğini ve genellikle eş lokalizasyon gösterdiğini açığa çıkarmıştır (55). Bu enzimler beyinciğin Purkinje nöronlarında ve RTN'de birlikte eksprese edilir.

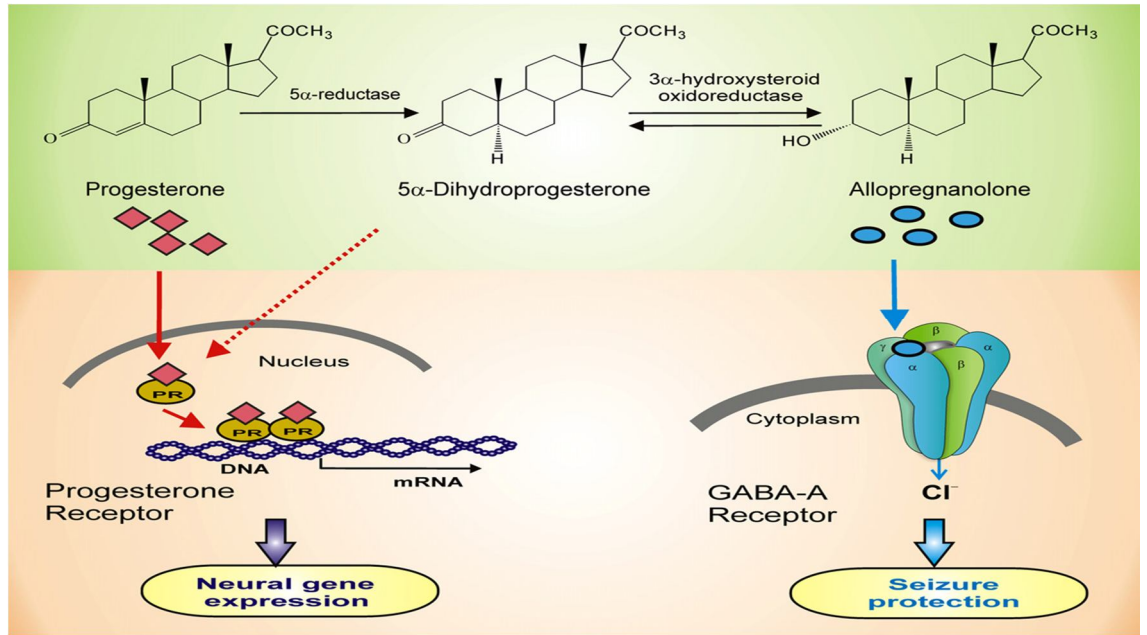
Steroid hormonların nörosteroidlere dönüşümü için bir yer olarak hizmet etmenin yanında beyin kendi steroid hormonlarını (Progesteron) sentez edebilen steroidejenik bir organ olduğuna ilişkin güçlü kanıtlar vardır (56). Beynin astrositleri ve nöronları kolesterolü pregnanolon'a dönüştüren enzim olan P-450<sub>scc</sub> enzimini eksprese eder, öyle ki bu molekül tüm hormonal steroidler için aracı bir bileşiktir (Şekil 5). Sonuç olarak kolesterolden progesteron sentezi için gerekli tüm enzimler beyinde mevcuttur.



Şekil 5. Nörosteroid biyosentezinin biyokimyasal yolları

### 2. 4. 3. Nörosterodlerin Etki Mekanizmaları

Nörosteroidlerin merkezi sinir sistemindeki etkileri klasik olarak genomik yolla ya da genomik olmayan yolla gerçekleşir (57). Dolayısıyla bu bileşikler hem hücre içi steroid reseptörlerle hem de membran reseptörleriyle etkileşirler. Böylece merkezi sinir sistemi içindeki steroidlerin genomik ve genomik olmayan etkileri, nöronal işlev ve plastisite üzerindeki etkileri için moleküler bir temel oluşturmaktadır(Şekil 6).



Şekil 6. Nörosteroidlerin etki mekanizmaları



#### **2. 4. 3. 1. Genomik Etkiler**

Nörosteroidler genomik etkilerini klasik steroid hormonlar gibi hücre içi steroid reseptörlerine bağlanarak spesifik genlerin ekspresyonunun artması şeklinde gösterirler. Bu etkiler transkripsiyon ve translasyon gibi protein sentez aşamalarını gerektirdiğinden saatler hatta günler içinde meydana gelir. THPROG ve THDOC gibi nörosteroidler hücreye girdikten sonra sitozolik reseptörlerine bağlanarak bir transkripsiyon faktörü gibi gen ifadesini etkilerler (58).

Bu şekilde THPROG, GABA-A reseptör kompleksinin  $\alpha$ -4 alt ünitesinin bileşimini değiştirir ki bu da nörosteroid ve benzodiazepinlere duyarlılıkta bir değişime neden olur (59). THPROG ve THDOC'un diğer genomik etkileri kortikotropin salgılayıcı hormon (CRH) ve vazopressinin gen ifadesini baskılamasıdır. Böylece nörosteroidler hipotalamo-pitüiter adrenal (HPA) eksenin aktivitelerini etkiler ve CRH'nın indüklediği anksiyeteyi azaltır (60). Ayrıca THPROG'un periferik ve merkezi sinir sisteminde gen ifadesini etkileyerek myelin tamirini artırdığı bildirilmiştir (61).

#### **2. 4. 3. 2. Non-genomik Etkiler**

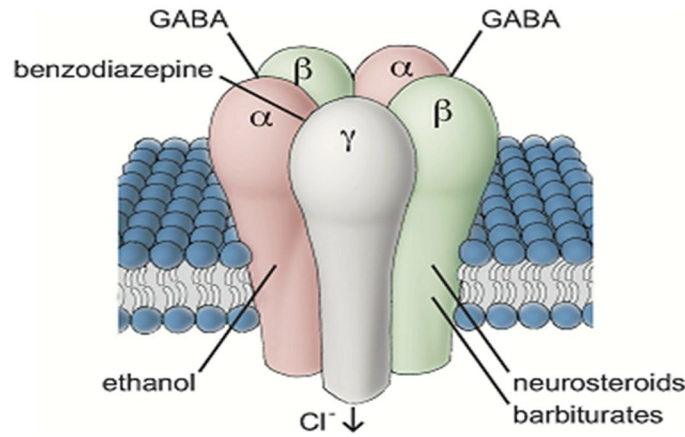
Nörosteroidlerin genomik olmayan etkileri onların GABA-A, NMDA ve sigma gibi çeşitli postsinaptik reseptörleri ve birçok ligand kapılı iyon kanallarını modüle etmeleri ile gerçekleşir. Bunlar arasında GABA-A reseptörleriyle etkileşim ön plana çıkmaktadır. GABA-A iyonotrofik reseptörleri GABA'nın majör reseptörleridir. Reseptörün aktif bölgesi GABA için bağlanma bölgesi içermenin yanında aktivitesini indirekt olarak modüle eden bir dizi allosterik bağlanma bölgesi de içerir: benzodiazepinler, barbitüratlar, nörosteroidler, etanol ve inhalasyon anesteziği için bağlanma bölgeleri.  $2\alpha$ ,  $2\beta$  ve  $\gamma$  alt ünitelerinin oluşturduğu pentamerik yapıdaki iyonotrofik GABA-A reseptörü membranda bir Cl<sup>-</sup> kanalı olarak bulunmaktadır.

THPROG ve THDOC merkezi sinir sisteminde GABA-A reseptör fonksiyonunun en güçlü pozitif endojenik pozitif allosterik modülatörleridir. Bu nörosteroidler GABA-A reseptörlerine bağlanarak iyon kanallarının açılış frekansını ve açık kalma süresini artırarak GABA'nın başlattığı Cl<sup>-</sup> iyon akımını artırır. Bu olay sonuçta İPSP'de bir artışa neden olur.

Nörosteroidler düşük konsantrasyonlarda GABA-A reseptörünün etkisini güçlendirir, oysa yüksek konsantrasyonlarda reseptörü doğrudan aktive ederler. Elektrofizyolojik çalışmalar nörosteroidlerin düşük konsantrasyonlarda (2-4 nM)

GABA-A reseptör fonksiyonunun pozitif allosterik modölatörleri olarak rol oynadığı hipotezini teyid etmiştir (62). Nöroaktif steroidlerin yüksek konsantrasyonları (>10 nM) GABA yokluğunda GABA-A reseptör kanallarını doğrudan aktive edebilir (63).

Nörosteroidlerin GABA-A reseptörlerine bağlanmasında GABA, benzodiazepin, barbitüratlar için tanıma bölgelerinden farklı bir alan olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır (64). Seçici antagonistler ile yapılan çalışmalarda nörosteroidlerin benzodiazepin reseptörleri vasıtasıyla hareket etmediği görüşünü desteklemiştir (65) (Şekil 7). Son çalışmalar GABA-A reseptörlerinde en az 3 nörosteroid bağlanma bölgesi var olduğuna işaret etmektedir (66).



**Şekil 7.** GABA-A reseptörü ve bağlanma bölgelerinin şeması

#### 2. 4. 4. Allopregnanolon

Progesteronun antikonvülsan etkisinin onun metabolik dönüşümü olan allopregnanolon aracılığıyla olduğuna ilişkin çok sayıda kanıt vardır (67-70). Bu varsayım hayvanlarda 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörlerinin allopregnanolon sentezini bloke etmesiyle test edilmiş (68), daha sonra 5 $\alpha$ -redüktaz geninde bir null mutasyon yapılan dişi farelerde doğrulanmıştır (71). Allopregnanolon GABA-A reseptörlerinin güçlü bir pozitif allosterik modölatörüdür. Allopregnanolon GABA-A reseptör klorid kanalında özel bağlanma bölgelerine sahiptir. Nöroaktif steroid bu bölgelere bağlanarak GABA-A reseptörlerini aktive ederler, böylece Cl<sup>-</sup> iyon akışına ve membranın hiperpolarizasyonuna yol açarlar. Allopregnanolonun fizyolojik koşullarda (luteal fazda 2-4 nM) GABA-A reseptörlerini aktive ettiğine dair kanıtlar vardır (72, 73). Allopregnanolonun antikonvülsan etkisi çeşitli konvülsif hayvan modellerinde (kimyasal, kindling, elektroşok modeller) belirlenmişse de (74, 75), absans epilepsideki rolü tam olarak anlaşılmamıştır.

Progesteronun akut uygulması WAG/Rij sıçanlarda EEG' de DDD'lerin artmasına neden olurken (15), bu suşun kronik olarak progesteron artışına maruz kalan gebe sıçanlarında DDD sayısında azalma görülmüştür (76). Ayrıca absans epilepsili kadınlarda nöbet frekansı plazma progesteron konsantrasyonu ile pozitif kolerasyon göstermiştir (77).

#### **2. 4. 5. Allotetrahidrodeoksikortikosteron**

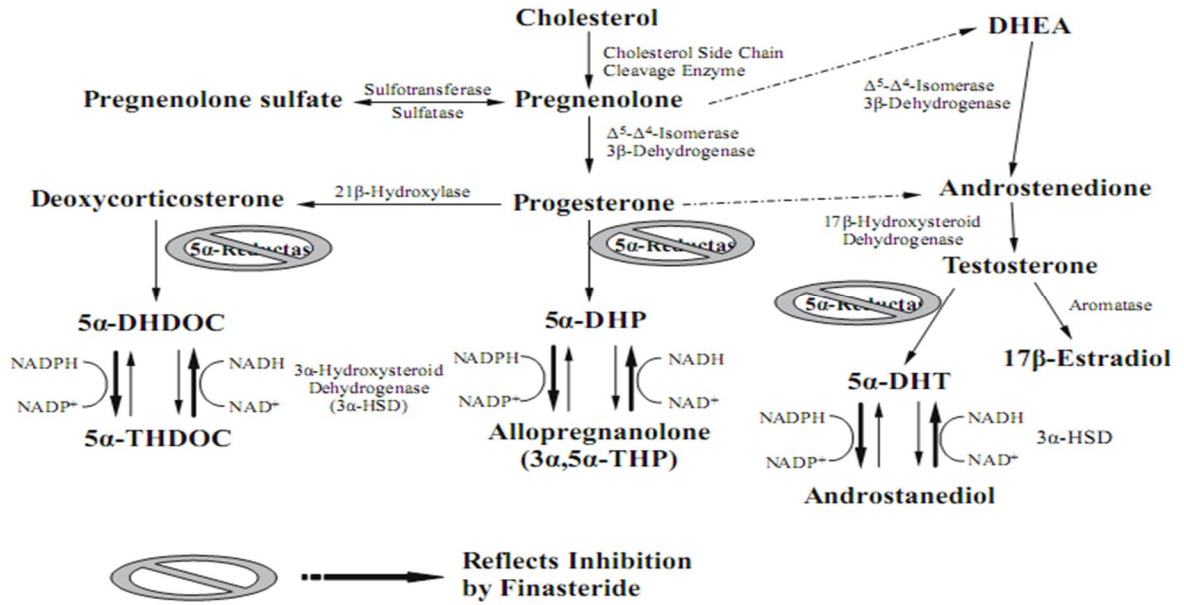
Deoksikortikosteron (DOC) antikonvülsan bir steroiddir. Yapılan çalışmalarda DOC'un nöbete karşı koruyucu etkisinin THDOC aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (78). THPROG'un aksine THDOC'un beyinde de novo sentezi için kanıt yoktur. DOC'un THDOC'a dönüşümünün özellikle beyin ve karaciğer gibi ekstraadrenal alanlarda gerçekleştiği düşünülmektedir. Bir miktar THDOC'un ovarian kaynaklardan üretildiği öne sürülmektedir.

THDOC hayvanlarda benzodiazepinlere ve barbitürlara benzer şekilde anksiyolitik ve antinöbet etkiler meydana getirir. THDOC diğer nörosteroidlerin yaygın farmakolojik etkilerini paylaşır. THDOC geniş spektrum bir antikonvülsandır. THDOC kindling, pilokarpin ve GABA-A reseptör antagonistleriyle indüklenen nöbetlere karşı koruyucu etkiler gösterir (79, 80). Yüksek dozlarda THDOC'un maksimal-elektroşok nöbetlere karşı da koruyucu etkisi vardır.

Postsinaptik GABA-A reseptörleri nörosteroid THDOC' un majör hedefidir. THDOC GABA-A reseptörler fonksiyonunun pozitif bir allosterik modülatörüdür (81). THDOC'un GABA-A reseptörlerine bağlanması, bu Cl<sup>-</sup> kanalının daha uzun süre açık kalmasına ve daha fazla Cl<sup>-</sup> iyonu akışına neden olur. THDOC sentezi 5 $\alpha$ -redüktaz ve 3 $\alpha$ -HSOR enzimlerinin inhibisyonu ile önlenir. THPROG'un çoklu kaynaklardan sentez edilmesinin aksine THDOC neredeyse tamamen adrenal kaynaklardan derivate edilir.

## 2. 4. 6. Finasterid

Finasterid insan benign prostat hiperplazisi (BPH) ve androjenik alopesi (erkek tipi kellik) tedavisi için klinik onay almış ilk  $5\alpha$ -redüktaz inhibitörüdür. Bu klinik uygulamalar finasteridin  $5\alpha$ -redüktaz enzimini inhibe ederek testosteron'un dihidrotestosteron (DHT)'a indirgenmesini önlemesine dayanır. Finasterid ayrıca progesteronun dihidroprogesteron (DHP)'a ve deoksikortikosteronun dihidrokortikosteron (DHDOC)'a indirgenmesini de bloke eder (Şekil 8). Finasterid  $5\alpha$ -redüktaz aktivitesini hem periferde hem de kan-beyin bariyerini geçebildiğinden merkezi sinir sisteminde inhibe edebilir (82). Finasterid, nörosteroidlerin beyin düzeylerini manüple edebilme imkanı sunduğundan onların beyindeki etki mekanizmalarını ve fizyolojik foksiyonlarını karakterize etmede kullanılmaktadır (83).



Şekil 8. Finasteridin bloke ettiği biyokimyasal yolların şeması

Epileptik hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar finasteridin konvülsif ve non-konvülsif tip epilepsilerdeki farklı etkileriyle sonuçlanmıştır. Örneğin WAG/Rij sıçanlara finasteridin tek başına uygulanmasının DDD'ler üzerine önemli bir etkisi olmazken, perforant pathway stimülasyonla indüklenen nöbetleri azalttığı gösterilmiştir (84). Finsterid beyinde THDOC ve THPROG gibi nörosteroidlerin sentezini doza bağımlı olarak bloke etmektedir (85). Yoshiyuki ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada finasteridin 10 mg/kg dozunun THPROG ve 3 $\alpha, 5\alpha$ -Adiol gibi GABAerjik nörosteroidlerin sentezini tamamen baskıladığını göstermiştir (83).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### *Hayvanlar*

Çalışmamızdaki tüm deneysel prosedürler Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Nörofizyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda 6-8 aylık, 200-350 gram ağırlığında genetik absans epileptik erkek WAG/Rij sıçanlar ile epileptik olmayan erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsüne tabi sabit sıcaklık ( $20 \pm 4$  °C) ve % 65 nem ortamında, standart sıçan laboratuvar yemi ve şebeke suyu ile yiyecek ve içecek sınırlamasına maruz bırakılmaksızın barındırılmışlardır. Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 01.12.2011 tarih ve 103 sayılı kararı ile gerçekleştirilmiştir.

#### *Deney Grupları*

Deney grupları Tablo 2'de özet olarak verilmiştir.

- Grup 1. Epileptik olmayan Wistar sıçanlara Finasterid ve THPROG uygulanarak, ilaç öncesi ve sonrasında DDD'lerin inceleneceği grup.
- Grup 2. Epileptik olmayan Wistar sıçanlara Finasterid ve THDOC uygulanarak, ilaç öncesi ve sonrasında DDD'lerin inceleneceği grup.
- Grup 3. WAG/Rij sıçanlara Finasterid ve THPROG uygulanarak, ilaç öncesi ve sonrasında DDD'lerin inceleneceği grup.
- Grup 4. WAG/Rij sıçanlara Finasterid ve THDOC uygulanarak, ilaç öncesi ve sonrasında DDD'lerin inceleneceği grup.

**Tablo 2.** Deney grupları ve kullanılan hayvan sayıları

GRUP	HAYVAN	SAYI
Grup 1	Wistar	8
Grup 2	Wistar	8
Grup 3	WAG/Rij	8
Grup 4	WAG/Rij	8

### ***Cerrahi İşlemler***

Cerrahi işlemler Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Nörofizyoloji Laboratuvarında, tüm gruptaki sıçanlara Ketamin (90 mg/kg) uygulanmasıyla genel anestezi altında uygulanmıştır. Anestezi derinliği kornea ve pençe refleksleriyle kontrol edildikten sonra, sıçanlar stereotaksi aletine bregma ve lambda noktaları aynı düzlemde olacak şekilde yerleştirilmiştir. Sabitleme işleminden sonra sıçanların kafa derisi üzerindeki tüyler traş edilip deri antiseptik solüsyonla silinerek, orta hattan bir insizyonla kafatası kemikleri, bregma ve lambda noktaları açığa çıkartılmıştır. Elektrotlar Paxinos ve Watson'un (1998) sıçan beyin atlası kullanılarak hesaplanmış koordinatlara, frontal bölgeye 2 adet ( AP = 2, L =  $\pm 2,5$ ) ve parietal bölgeye 2 adet ( AP - 6 = 2, L =  $\pm 2,5$ ) olmak üzere yerleştirilmiştir. Elektrotlar dental akrilik vasıtasıyla kafatasına sabitlendikten sonra sıçanlar 1 haftalık iyileşme periyoduna bırakılmışlardır (19).

### ***DeneySEL Protokol***

Deney protokolü Tablo 3'de olduğu gibi gerçekleştirilmiştir.

Hayvanlar bir haftalık iyileşme periyodundan sonra deney süresince petriglas kafeslere konularak, kafalarındaki mikrokonnektörler kablolar aracılığıyla EEG kayıt sistemine (PowerLab 7S, ADI Instruments, İngiltere) bağlanmıştır. Deneylerden 1 sa önce hayvanlar sisteme bağlanarak alışmaları sağlanmıştır. EEG sinyalleri amplifiye edilmiş ve 1 ve 100 hz aralığında filtre edilmiştir. Bilgisayarda saklanan EEG kayıtları daha sonra "Chart for Windows" programı ile analiz edilmiştir.

Deneyde kullanılan kimyasallar % 40'lık (2-Hydroxypropyl)- $\beta$ -cyclodextrin' de çözdürülmüştür. Finasterid 10 mg/kg dozda (83), THDOC 20 mg/kg (89) ve THDOC 5mg/kg (90) dozda intraperitoneal (ip) olarak uygulanmıştır.

Sıçan kortikal EEG' sinden alınan kayıtlar analiz edilerek oluşan DDD' ler tek tek seçilip, daha sonra DDD sayısı (ortaya çıkan nöbet sayısı), DDD toplam süresi (toplam nöbet süresi) ve ortalama DDD süresi (ortalama nöbet süresi) olmak üzere 3 parametre üzerinden değerlendirme yapılmıştır.

**Tablo 3.** Deney protokolü ve yapılan işlemler

HAYVAN GRUBU	YAPILAN İŞLEMLER				
	10:00-12:00	12:00	12:00-13:00	13:00	13:00-15:00
Grup 1	EEG KAYIT	FİNASTERİD (ip)	EEG KAYIT	THPROG (ip)	EEG KAYIT
Grup 2	EEG KAYIT	FİNASTERİD (ip)	EEG KAYIT	THDOC (ip)	EEG KAYIT
Grup 3	EEG KAYIT	FİNASTERİD (ip)	EEG KAYIT	THPROG (ip)	EEG KAYIT
Grup 4	EEG KAYIT	FİNASTERİD (ip)	EEG KAYIT	THDOC (ip)	EEG KAYIT

***İstatistiksel Değerlendirme***

Çalışmamızdaki tüm veriler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences, ver : 14.0) programı kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde grup içinde ilaç vermeden önce ve sonraki karşılaştırmalarda Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ve gruplar arası karşılaştırmalarda ise Mann-Whitney U testi kullanılmış ve yanılma düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

#### 4. BULGULAR

Grup 1 ve 2' deki kontrol grubu olarak belirlenmiş Wistar ratların kortikal EEG' lerinden elde edilen kayıtlarda herhangi bir DDD aktivitesine rastlanmamıştır.

#### *Grup 3' de THPROG Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması*

Grup 3' de THPROG uygulamasından sonra DDD ortalamasındaki artış istatistiksel açıdan anlamsızdır. Fakat THPROG uygulamadan sonra DDD sayısı ve toplam süresindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.** Grup 3' de THPROG Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması

Ölçülen Parametre	THPROG uygulamasından önce			THPROG uygulamasından sonra			
	Min	Max	Ortanca	Min	Max	Ortanca	Sonuç
DDD Sayısı	19,00	38,00	26,50	40,00	74,00	59,00	p=0,012*
DDD Toplam Süre (s)	163,64	321,20	251,94	360,58	704,56	586,03	p=0,012*
DDD Ortalaması	8,24	10,67	9,51	9,01	11,36	9,77	p=0,123



**Grup 4' de THDOC Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması**

Grup 4' de ilaç uygulamasından sonra DDD ortalamasındaki artış istatistiksel açıdan anlamsızdır. Fakat THDOC uygulamadan sonra DDD sayısı ve toplam süresindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 5.** Grup 4' de THDOC Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması

Ölçülen Parametre	THDOC uygulamasından önce			THDOC uygulamasından sonra			
	Min	Max	Ortanca	Min	Max	Ortanca	Sonuç
DDD Sayısı	15,00	29,00	25,00	40,00	74,00	69,50	p=0,012*
DDD Toplam Süre	105,24	282,20	199,80	204,80	698,76	611,74	p=0,011*
DDD Ortalaması	6,93	9,12	8,48	7,98	9,91	8,15	p=0,889

**Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayısı, Toplam Süresi ve DDD Ortalama Süre Değerlerinin Karşılaştırılması**

**Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayılarının Karşılaştırılması**

Grup 3 ve Grup 4 arasında ilaç uygulamasından önce ve sonra DDD sayısı bakımından istatistiksel bir fark gözlenmemiştir.

**Tablo 6.** Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Sayılarının Karşılaştırılması

Grup	İlaç Uygulamasından Önceki DDD Sayısı			İlaç Uygulamasından Sonraki DDD Sayısı		
	Min	Max	Ortanca	Min	Max	Ortanca
Grup 3	19,00	38,00	26,50	40,00	74,00	59,00
Grup 4	15,00	29,00	25,00	28,00	85,00	69,50
Sonuç	p=0,265			p=0,382		

*Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Toplam Sürelerinin Karşılaştırılması*

Grup 3 ve Grup 4 arasında ilaç uygulamasından önce ve sonra DDD toplam sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Tablo 7.** Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Toplam Sürelerinin Karşılaştırılması

Grup	İlaç Uygulamasından Önceki DDD Toplam Süreleri			İlaç Uygulamasından Sonraki DDD Toplam Süreleri		
	Min	Max	Ortanca	Min	Max	Ortanca
Grup 3	163,64	321,20	251,94	360,58	704,56	586,03
Grup 4	105,24	282,20	199,80	204,08	698,76	611,74
Sonuç	p=0,083			p=0,645		

*Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Ortalama Sürelerinin Karşılaştırılması*

Grup 3 ve Grup 4 arasındaki ilaç uygulamasından sonra DDD ortalama süreleri bakımından farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 8.** Grup 3 ve Grup 4 Arasında İlaç Uygulamasından Önce ve Sonra DDD Ortalama Sürelerinin Karşılaştırılması

Grup	İlaç Uygulamasından Önceki DDD Ortalama Süresi			İlaç Uygulamasından Sonraki DDD Ortalama Süresi		
	Min	Max	Ortanca	Min	Max	Ortanca
Grup 3	8,24	10,67	9,51	9,01	11,36	9,77
Grup 4	6,93	9,12	8,48	7,98	9,91	8,17
Sonuç	p=0,065			p=0,007 *		

## 5. TARTIŞMA

Bulgularımız, absans epilepsinin genetik modeli olan WAG/Rij sıçanlarda nöroaktif steroidler olan THPROG ve THDOC'un akut sistemik uygulamasının DDD sayısını ve toplam süresini artırdığını göstermiştir. Ayrıca THPROG' un neden olduğu DDD ortalama süresindeki artış THDOC' a kıyasla daha fazladır.

Progesteron ve DOC'un konvülsan tip epilepsideki antikonvülsan özelliklerinin onların beyinde enzimatik dönüşüm molekülleri olan, sırasıyla THPROG ve THDOC aracılığıyla olduğu bilinmektedir. Bu enzimatik dönüşümde  $5\alpha$ -redüktaz ve  $3\alpha$ -HSOR enzimleri rol almaktadır. Nörosteroid biyosentezinde yer alan bu enzimatik aktiviteler sadece periferel dokularda değil, aynı zamanda beyinde de gerçekleşmektedir (11). Nörosteroidler yüksek derecede lipofilik oldukları ve kan beyin bariyerini kolayca geçebildiklerinden, periferel dokuda sentezlenen nörosteroidler beyinde birikirler ve SSS' nin nöral fonksiyonunu etkileyebilirler (83). Nörosteroid biyosentezi  $5\alpha$ -redüktaz veya  $3\alpha$ -HSOR enzimlerinin inhibitörleriyle seçici olarak bloke edilebilir.  $5\alpha$ -redüktaz inhibitörleri temel olarak BPH ve erkek tipi kellik tedavisi için testosteron'un DHT'a indirgenmesinin inhibe etmeleriyle geliştirilmiştir. En yaygın olarak kullanılan  $5\alpha$ -redüktaz inhibitörü olan finasterid, ayrıca progesteronun dihidroprogesteron (DHP)'a ve DOC'un dihidrokortikosteron (DHDOC)'a indirgenmesini de bloke eder. Dolayısıyla finasterid, nörosteroidlerin beyin düzeylerini manüple ederek onların beyindeki etki mekanizmalarını ve fizyolojik foksionlarını karakterize etmede kullanılmaktadır (84).

Tüm merkezi sinir sisteminin en az  $1/3$ ' ünde primer nörotransmitter olarak GABA'nın kullanıldığı tahmin edilmektedir (59). Merkezi sinir sisteminin majör inhibitör sistemi olan GABAerjik sistemin aktivasyonu konvülsif nöbetlerin aksine olarak absans nöbetleri şiddetlendirir. GABA'nın majör olan GABA-A reseptörü  $Cl^-$  iyonu için yüksek geçirgenliği olan bir iyon kanalı olup çok sayıda molekül için tanıma bölgesi içermektedir. Benzodiazepinler, barbitüratlar ve inhalasyon anesteziklerinin yanı sıra nörosteroidler için de bağlanma bölgeleri mevcuttur. Bu steroidlerin GABA-A reseptörlerine bağlanması reseptörü pozitif olarak modüle eder ve meydana gelen allosterik değişim GABA' nın bağlanmasını kolaylaştırarak inhibitör aktiviteyi artırır. THPROG ve THDOC gibi nöroaktif steroidlerin absans nöbetleri provoke etmelerinin altında da bu mekanizma yatmaktadır.

Çalışmamızda finasterid uygulanmış WAG/Rij sıçanlarda THPROG'un sistemik uygulaması DDD sayısında toplam süresinde bir artışa neden olmuştur. Bunda THPROG'un GABA-A reseptörleri üzerindeki pozitif allosterik modülatör etkisi yatıyor olabilir. Nörosteroidlerin GABA-A reseptör kanalının açık kalma süresi ve açılma frekansını artırdığı bilinmektedir (86). Bu durumda daha fazla Cl<sup>-</sup> iyonu nöron içine geçiş yapmakta ve sonuçta hiperpolarizasyonu artırmaktadır. Kinetik analizler GABA-A reseptör kanalının 3 farklı açıklık durumunu ortaya koymuştur ki, nörosteroidler primer olarak orta ve uzun süreli açıklık durumunda ön plana çıkmaktadır (86). Sonuç olarak nörosteroid varlığında GABA-A reseptörler kanallarının açık kalma olasılığı daha fazladır ve bu inhibitör GABAerjik nörotransmisyonunda bir artışa neden olur. GABAerjik inhibisyondaki bu artış da absans nöbetlerde şiddetlenmeye olmaktadır. Absans epilepsinin genetik ve farmakolojik modellerinde yapılan çalışmalarda talamokortikal nöronlarda tonik GABA-A inhibisyonunda bir artış olduğu saptanmıştır (87). Talamokortikal ritmik aktivite uykuda, absans epilepsi gibi patofizyolojik koşullarda öne çıkmaktadır. Bu ritmik aktivite hem talamik nöronların intrinsik özelliklerinden hem de kortikal piramidal hücreler, talamik relay nücleideki eksitatör hücreler ve RTN' deki inhibitör GABAerjik nöronlar arasındaki karşılıklı sinaptik bağlantılardan kaynaklanmaktadır (95). Bu nöronal devrenin ana elemanı olan talamik nöronlar osilatör veya patlayıcı ateşleme nodları arasında geçiş yapma yeteneğine sahiptirler. Talamik nöronların patlayıcı tarzdaki ateşlemeleri T-tipi Ca<sup>+2</sup> kanallarına bağlıdır ve bu düşük eşikli Ca<sup>+2</sup> kanalları aracılığıyla talamokortikal nöronların içine Ca<sup>+2</sup> girmesi DDD'ye neden olmaktadır(87).

Çalışmamızda ortaya çıkan THPROG'un DDD aktivitesinde artışa neden olmasında, WAG/Rij sıçanların talamokortikal nöronlarında GABAerjik inhibisyondaki artma katkı sağlamış olabilir. THPROG'un akut uygulamasından sonra gözlenen bu nöbet artışı önceki yapılan çalışmalarla uyumludur. Tek bir vaka insan çalışmasında progesteron uygulamasından sonra absanslar şiddetlenmiştir (88). Hayvan modelinde progesteronun akut sistemik uygulaması DDD'lerin toplam süresinde ve sayısında artışa neden olmuştur (89). Progesteron'un neden olduğu nöbet artışının onun aktif metaboliti olan THPROG'a bağlı olduğu, bir 5 $\alpha$ -redüktaz enzim inhibitörü olan finasterid tarafından antagonize edilmesiyle gösterilmiştir (15). Finasterid, progesteron'un THPROG'a dönüşümünde hız-sınırlayıcı basamağı katalize eden 5 $\alpha$ -redüktaz izoenzimlerini inaktive eder. Finasteridin 10 mg/kg dozu

sistemik uygulamadan 1sa sonra beyindeki THPROG'un varlığını ortadan kaldırmıştır (83).

Çalışmamızda finasterid uygulanmış WAG/Rij sıçanlara THDOC'un akut sistemik uygulaması da DDD sayısında ve toplam süresinde anlamlı bir artışa neden olmuştur. THDOC konvülsif tip epileptik modellerde yapılan çalışmalarda antinöbet etkinliği gösterilmiş geniş spektrumlu bir antikonvülsan bir steroiddir (11). THDOC'un kindling, elektroşok ve status epilepticus gibi çeşitli hayvan modellerinde antiepileptik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (86). THDOC'un hayvanlar üzerinde barbitüratlara ve benzodiazepinlere benzer şekilde anksiyolitik, antinöbet ve davranışsal değişiklikler gibi etkileri vardır. THDOC da THPROG gibi GABA-A reseptör fonksiyonunun güçlü pozitif allosterik modülatörüdür. THDOC, GABA-A reseptör klorid kanalına bağlanarak kanalın açılma frekansını ve açık kalma süresini artırır (86). Bu da GABA-A reseptör aracılı sinaptik inhibisyonu aktive eder. Bazal koşullar altında THDOC'un plazma konsantrasyonu 1-5 nM aralığında dalgalanma gösterir ki bu seviyelerde bile GABA-A reseptör fonksiyonunu artırabilir (11,86). Bununla birlikte THDOC'un plazma konsantrasyonu akut stresi takiben 15-30 nM'a kadar yükselebilir (86). Nöroaktif steroidler düşük konsantrasyonlarda GABA-A reseptör fonksiyonunu güçlendirirken, yüksek konsantrasyonlarda kanalı doğrudan aktive edebilirler.

THDOC'un konvülsif tip epilepsiler üzerindeki antiepileptik etkisinin iyi bilinmesine karşılık absans nöbetlere olan etkisi hakkında yapılan az sayıda çalışma vardır. Pradeep ve arkadaşları (90) tetrahidrodeoksikortikosteronun WAG/Rij sıçanlarda absans nöbetleri şiddetlendirdiğini göstermiştir. Ulrich ve arkadaşları (91) adrenal kaynaklı bir steroid olan kortikosteronun akut sistemik uygulamasının doza bağımlı olarak WAG/Rij sıçanlarda DDD'leri artırdığını göstermiştir. Çalışmamızda THDOC'un absans nöbetleri artırmasında yine GABAerjik sistemi aktive etmesi olabilir.

Çalışmamızda finasterid uygulanmış WAG/Rij sıçanlar üzerinde bu iki nörosteroid THDOC ve THPROG'un absans nöbetler üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması mümkün olmuştur. Sonuçlarımız DDD ortalama süresinde görülen artışın THDOC uygulamasına kıyasla THPROG'da daha fazla olduğuna işaret etmektedir. Bunda, THPROG'un beyindeki seviyesinin kolesterolden denovo sentezi nedeniyle THDOC'a nazaran daha yüksek olması yatabilir. Steroid prekürsörlerden nörosteroidlere dönüşüm için bir yer olarak hizmet etmenin yanında, beyinin

progesteron gibi kendi steroid hormonlarını sentez edebilen steroidojenik bir organ olduğuna ilişkin kanıtlar artmaktadır (84). Beyin astrositleri ve nöronları kolesterolü pregnanolona dönüştüren P-450<sub>sc</sub> kolesterol yan zincir ayrılma enzimini eksprese eder (53). Dahası pregnanolonun progesterona dönüşümünü katalize eden 3 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaz sıçan beyininde mRNA ve protein seviyesinde gösterilmiştir (54). Dolayısıyla kolesterolden progesteron sentezi için gerekli enzimler beyinde mevcuttur. Adrenektomi ve gonadektomiden sonra dahi beyinde THPROG'un seviyesinin aynı kalması, THPROG'a in-situ olarak dönüştürülebilen progesteronun beyinde sentez edilebildiğine işaret etmektedir (84). THDOC, adrenal bezin zona fasikülata kısmından salgılanan DOC'un beyin ve karaciğer gibi ekstraadrenal bölgelerde enzimatik dönüşümüyle sentezlenir ve bu molekülün beyinde denovo sentezi için kanıt yoktur. Çalışmamız sırasında absans epileptik sıçanlarda nörosteroidlerin uygulandığı ikinci enjeksiyon için beklenti stresinin oluşması, HPA (Hipotalamo-pituator-adrenal) aksının aktive edilmesiyle DDD'lerdeki artışa katkı sağlamış olabilir. HPA aks nöroendokrin stres yanıtın majör kontrol sistemi olup stres koşullarda kortizol, kortikosteron ve DOC gibi nöronal eksitabiliteyi etkileyen biyomoleküllerin sentezinden sorumludur (92). DOC beyinde THDOC sentezi için prekürsör olarak görev yapmaktadır.

THPROG uygulanan WAG/Rij sıçanlarda DDD'lerin ortalama süresindeki artışın THDOC uygulanan WAG/Rij sıçanlara kıyasla daha az artmış olmasının altında bu sıçanların GABA-A reseptör alt ünitelerinde yaşa bağlı olarak ortaya çıkan yapısal farklılıklar yatabilir. GABA-A reseptör kanalı alt ünitelerden oluşan pentamerik yapıda bir iyon kanalıdır. Şimdiye kadar 16 alt ünite tanımlanmış olup, GABA-A reseptörlerinde yaygın olarak  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\delta$  alt ünitelerinin kombinasyonlarının yer aldığı sanılmaktadır (84). Nörosteroidler farklı ünitelerden oluşmuş GABA-A reseptör izoformlarını modüle edebilirler. Yapılan çalışmalarda  $\delta$ -alt ünite içeren GABA-A reseptörlerinin THDOC'a karşı artmış bir duyarlılık gösterdiğine işaret etmektedir. Örneğin  $\delta$ -alt ünite knock-out farelerde daha az nörosteroid duyarlılığı gözlenmiştir (93). Bununla birlikte  $\delta$ -alt ünitesi genç sıçan beyinlerinde yüksek derecede eksprese edilirken, erişkin sıçan beyinlerinde zayıf şekilde eksprese edilirler (94). Çalışmamızda kullanılan sıçanların 6 aylıktan büyük oldukları göz önüne alındığında, THDOC uygulanan WAG/Rij sıçanlardaki DDD artışının daha az olmasında, GABA-A reseptörlerinde bu  $\delta$ -alt ünite ekspresyonunda bir azalmanın katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ

1. Nöronal eksitabilite üzerinde etkileri olan nöroaktif steroidlerin epileptik nöbet yatkınlığındaki rolleri yadsınmaz. Bununla birlikte nöbet regülasyonundaki bu rolleri epilepsi tipine göre farklılık arz eder. Öyle ki ,GABA-A reseptörlerinin pozitif allosterik modülatörleri olarak göze çarpan THDOC, THPROG gibi nörosteroidler konvülsif tip epileptik nöbetlerde azalma yönünde bir etki gösterirlerken, absans epilepsideki gibi konvülsif olmayan nöbetlerde durum tam tersidir: Bu steroidler absans nöbetleri şiddetlendirir.
2. Endojen nöroaktif steroidlerin absans nöbetleri artırmadaki etkinlikleri aynı değildir. Sentez edilme kaynaklarının farklı olmasının yanında, THPROG'un beyinde de novo sentezinin neden olduğu farklılıklar bazal koşullar altında THPROG'u absans nöbetlerin regülasyonunda daha ön plana çıkarıyor olabilir.
3. Stres koşulları altında beyin konsantrasyonlarında THDOC'un hızlı artışı, bu koşullardaki nöromodülasyonda THDOC'u öne çıkarmaktadır.
4. GABA-A reseptör alt ünitelerinde yaşa bağlı olarak görülen yapısal değişiklikler absans nöbetlerin regülasyonuna katılan nörosteroidlerin etkinliğini değiştiriyor olabilir.
5. Absans nöbetlerin nöroaktif steroidler tarafından modüle edilmesinde, bazal koşullar ve stres koşulları altında steroidal olarak farklı nöroaktif aktörlerin devreye girdiği göz önünde bulundurulmalıdır.
6. Absans epilepsili hastaların stresten uzak bir yaşam sürdürmeleri nöbetlerin ortaya çıkması bakımından önemlidir. Endojen nöroaktif steroidlerin absans epilepsideki rollerini tam olarak ortaya koymak için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Brodie MJ, Shorvon SD, Canger R, Halasz P, Johannessen S, Thompson P, Wieser HG, Wolf P. Ilae Commission Report, Commission on European Affairs: Appropriate Standards of Epilepsy Care across Europe. *Epilepsia* 1997;38(11): S. 1245-1250.
2. van Luijckelaar G, Sitkinova S. From Generalized to Focal Absence Seizures. *Epilepsi* 2004; 10(2):112-128.
3. Panayiotopoulos C. Absence epilepsies. In *Epilepsy: a comprehensive textbook*. Ed. Engel J, Pedley TA. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers 1997; pp. 2327-46.
4. Purdy RH, Morrow AL, Moore Jr, PH, Paul SM. Stress induced elevations of g-aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88:4553-4557.
5. Smith SS. Withdrawal effects of a neuroactive steroid as model of PMS: synaptic physiology to behavior. In: Smith SS. (Ed.), *Neurosteroid Effects in the Central Nervous System*. CRC Press, Boca Raton 2004; pp. 143-172.
6. Eser D, Schule C, Baghai TC, Romeo E, Uzunov DP, Rupprecht R. Neuroactive steroids and affective disorders. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 84:656-666.
7. Marx CE, Stevens RD, Shampine LJ, Uzunova V, Trost WT, Butterfield MI, Massing MW, Hamer RM, Morrow AL, Lieberman JA. Neuroactive steroids are altered in schizophrenia and bipolar disorder: relevance to pathophysiology and therapeutics. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31:1249-1263.
8. Edwards HE, Mo V, Burnham WM, MacLusky NJ. Gonadectomy unmasks an inhibitory effect of progesterone on amygdala kindling in male rats. *Brain Res* 2001; 889: 260–263.
9. Biagini G, Baldelli E, Longo D, Pradelli L, Zini I, Rogawski MA, Avoli M. Endogenous neurosteroids modulate epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol* 2006; 201:519–524.
10. Reddy DS, Gangisetty O, Briyal S. Disease-modifying activity of progesterone in the hippocampus kindling model of epileptogenesis. *Neuropharmacology* 2010; 59:573–581.
11. Reddy DS. The role of neurosteroids in the pathophysiology and treatment of catamenial epilepsy. *Epilepsy Research* 2009; 85:1-30.

12. Bowers BJ, Wehner JM. Biochemical and behavioral effects of steroids on GABA A receptor function in long- and short-sleep mice. *Brain Res Bull* 1992; 29:57–68.
13. Biggio G, Purdy RH. *International Review of Neurobiology* 2001 Vol. 46: Neurosteroids and Brain Function. Academic Press, San Diego.
14. van Luijtelaar G, Budziszewska B, Jaworska-Feil L, Ellis J, Coenen AM, Laso'n W. The ovarian hormones and absence epilepsy: a long-term EEG study and pharmacological effects in a genetic absence epilepsy model. *Epilepsy Res* 2001; 9:148–153.
15. van Luijtelaar G, Budziszewska B, Tetich M, Laso'n W. Finasteride inhibits the progesterone-induced spike-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75:889–894.
16. Porter R.J.: *Classification of Epileptic Seizures and Epileptic Syndromes*. Editörler: Laidlaw J, Alan R, Chadwick D: *A Textbook of Epilepsy* 1993, 4. Basım:S. 1-23, Churchill Livingston.
17. Khosravani H, Zamponi GW. Voltage Gated Calcium Channels and Idiopathic Generalized Epilepsies *Physiol Rev* 2006; 86:941-966.
18. Adams, RD, Victor, M. *Principles of neurology* 1989 ; p.258.
19. WHO <http://www.who.int>
20. Sander, JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol* 2003; 16:165–70.
21. Hauser WA, Annegers JF, Kurland LT. The incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota. *Epilepsia* 1993; 34: 453I68.
22. Laidlaw MV, Laidlaw T. *People with epilepsy*. 1984; p.67.
23. Brodie M.J., Shorvon S.D., Canger R., Halasz P., Johannessen S., Thompson P., Wieser H.G., Wolf P.: ILAE Commission Report, Commission on European Affairs: Appropriate Standards of Epilepsy Care across Europe. *Epilepsia*, 38(11): S. 1245-1250, 1997.
24. Kruglikov RI, Myslobodsky MS, Ezrokhi VL. Seizure activity. [In Russian] Moscow: Nauka; 1970.
25. Bauer J. Seizure-inducing effects of antiepileptic drugs: a review. *Acta Neurol Scand* 1996;94:367-77.

26. van Luijtelaar G, Coenen A. Genetic Animal Models for Absence Epilepsy: A Review of the WAG/Rij Strain of Rats. *Behavior Genetics* 2003; 33:6.
27. Loiseau P, Duche B, Pedespan JM. Absence Epilepsies. *Epilepsia* 1995; 1182-1186.
28. Sander, JWAS. in *Typical Absences and Related Epileptic Syndromes* (eds Duncan, J. S. & Panayiotopoulos, C. P.) 135–144 (Churchill Livingstone, London, 1995).
29. Gloor P. Consciousness as a neurological concept in epileptology: a critical review. *Epilepsia* 1986; 27(Suppl 2):S14-26.
30. Wallace, RH. et al. Mutant GABA-A receptor  $\gamma$ 2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nature Genet* 2001; 28:49–52.
31. Jouvenceau A. et al. Human epilepsy associated with dysfunction of the brain P/Q-type calcium channel. *Lancet* 2001; 358:801–807.
32. Cocito L, Primavera A. Vigabatrin aggravates absences and absence status. *Neurology* 1998;51:1519-20.
33. Knake S, Hamer HM, Schomburg U, Oertel WH, Rosenow F. Tiagabine-induced absence status in idiopathic generalized epilepsy. *Seizure* 1999;8:314-7.
34. Depaulis A, van Luijtelaar G. (2006). Genetic models of Absence epilepsy in the rat. In *Models of seizures and epilepsy*. ed. Pitkanen, A., Schwartzkroin, P.A. & Moshe, S.L. pp. 233-48. San Diego, CA: Elsevier Ac Press.
35. Ingram, E. M., Tessler, S., Bowery, N. G. & Emson, P. C. Glial glutamate transporter mRNAs in the genetically absence epilepsy rat from Strasbourg. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 75;96–104.
36. Midzianovskaia IS, Kuznetsova GD, Coenen AM, Spiridonov AM, Van Luijtelaar EL. Electrophysiological and pharmacological characteristics of two types of spike-wave discharges in WAG/Rij rats. *Brain Res* 2001; 911: 62–70.
37. Coenen AM, Drinkenburg WH, Inoue M, van Luijtelaar G. Genetic models of absence epilepsy, with emphasis on the WAG/Rij strain of rats. *Epilepsy Res* 1992; 12:75–86.
38. Drinkenburg W, Coenen A, Vossen J, van Luijtelaar G. Spike-wave discharges and sleep-wave states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 1991; 9:218-224.

39. Gloor P. Generalized cortico-reticular epilepsies: some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia* 1968; 9:249-263.
40. Avanzini G, Panzica F, de Curtis M. The role of the thalamus in vigilance and epileptogenic mechanisms. *Clin Neurophysiol* 2000; 111 (Suppl 2), 19-26.en
41. Meeren, HK, Pijn JP, van Luijtelaaar G, Coenen AM, Lopes da Silva FH. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* 2002; 22:1480–95.
42. Jasper HH, Droogleever Fortuyn J. Experimental studies on the functional anatomy of petit mal epilepsy. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 1947; 26:272-298.
43. Penfield WG, Jasper HH. *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain*. Boston, Mass: Little Brown & Co; 1954.
44. Kostopoulos, G.K. Spike and wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. *Clinical Neurophysiology* 2000; 111 (Suppl. 2): 27-38.
45. van de Bovenkamp, Janssen MC, Akhmadeev A, Kalimullina L, Nagaeva DV, van Luijtelaaar G, Roubos EW. Synaptology of the rostral reticular thalamic nucleus of absence epileptic WAG/Rij rats. *Neurosci Res* 2004; 48(1): 21-31.
46. Sitnikova EY, van Luijtelaaar EL. Cortical control of generalized absence seizures: effects of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. In: van Luijtelaaar EL, Kuznetsova GD, Coenen AM, Chepurinov SA, editors. *The WAG/Rij model of absence epilepsy: the Nijmegen-Russian Federation papers*. Nijmegen: NICI; 2004. p. 37-54.
47. Karpova AV, Bikbaev AF, Coenen AM, van Luijtelaaar EL. Morphometric golgi study on some cortical locations in WAG/Rij and ACI rat strains. In: van Luijtelaaar EL, Kuznetsova GD, Coenen AM, Chepurinov SA, editors. *The WAG/Rij model of absence epilepsy: the Nijmegen-Russian Federation papers*. Nijmegen: NICI; 2004. p. 73-88.
48. Gurbanova AA, Aker R, Berkman K, Onat FY, van Rijn CM, van Luijtelaaar G. Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *Br J Pharmacol* 2006; 148:1076-1082.
49. Baulieu E-E. Steroid hormones in the brain: several mechanisms? In: Fuxe F, Gustafsson JA, Wetterberg L, eds. *Steroid Hormone Regulation of the Brain*. Oxford: Pergamon Press 1981; 3–14.

50. Paul SM, Purdy RH. Neuroactive steroids. *FASEB J.* 1992; 6:2311–2322.
51. Scharfman HE, MacLusk NJ. The influence of gonadal hormones on neuronal excitability, seizures and epilepsy in the female. *Epilepsia* 2006; 47:1423-1440.
52. Robel P, Baulieu EE. Neurosteroids: biosynthesis and function. *Crit Rev Neurobiol* 1995; 9:383–394.
53. Zwain IH, Yen SS. Neurosteroidogenesis in astrocytes, oligodendrocytes, and neurons of cerebral cortex of rat brain. *Endocrinology* 1999; 140:3843–3852.
54. Mellon SH. Synthesis, enzyme localization and regulation of neurosteroids. In: Smith SS. (Ed.), *Neurosteroid Effects in the Central Nervous System: The Role of the GABA A Receptor. Methods and New Frontiers in Neuroscience.* 2004; CRC Press, Boca Raton, pp. 1-46.
55. Agis-Balboa RC, Pinna G, Zhubi A, Maloku E, Veldic M, Costa E, Guidotti A. Characterization of brain neurons that express enzymes mediating neurosteroid biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103:14602-14607.
56. Mellon SH, Griffin LD, Compagnone NA. Biosynthesis and action of neurosteroids. *Brain Res Rev* 2001; 37:3–12.
57. Melcangi RC, GC Panzica. Neuroactive steroids: old players in a new game. *Neuroscience* 2006; 138(3):733-9.
58. Rupprecht R, Reul JM, Trapp T, van Steensel B, Wetzel C, Damm K, Zieglgansberger W, Holsboer F. Progesterone receptor-mediated effects of neuroactive steroids. *Neuron* 1993; 11:523-530.
59. Biggio G, Barbaccia ML, Follesa P, Serra M, Purdy RH, Concas A. Neurosteroids and GABAA receptor plasticity. In: Martin DL, Olsen RW (Eds). *GABA in The Nervous System: The View at Fifty Years.* Philadelphia: Williams and Wilkins, 2000;207-232
60. Patchev VK, Shoaib M, Holsboer F, Almeida OF. The neurosteroid tetrahydroprogesterone counteracts corticotropin-releasing hormone-induced anxiety and alters the release and gene expression of corticotropin-releasing hormone in the rat hypothalamus. *Neuroscience* 1994; 62:265-271.
61. Schumacher M, Guennoun R, Mercier G, Desarnaud F, Lacor P, Benavides J, Ferzaz B, Robert F, Baulieu EE. Progesterone synthesis and myelin formation in peripheral nerves. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 37:343-359.
62. Wetzel CH, Vedder H, Holsboer F, Zieglgansberger W, Deisz RA. Bidirectional effects of the neuroactive steroid tetrahydrodeoxycorticosterone on GABA-

- activated Cl currents in cultured rat hypothalamic neurons. *British Journal of Pharmacology* 1999; 127:863–868.
63. Lambert JJ, Belelli D, Hill-Venning C, Peters JA. Neuroactive steroids and GABA-A receptor function. *Trends in Pharmacological Sciences* 1995; 16:295–303.
  64. Turner DM, Ransom RW, Yang JS-J, Olsen EW. Steroid anesthetics and naturally occurring analogs modulate the g-aminobutyric acid receptor complex at a site distinct from barbiturates. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248:960–966.
  65. Reddy DS, Kulkarni SK. Sex and estrous cycle-dependent changes in neurosteroid and benzodiazepine effects on food consumption and plus-maze learning behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 62:53–60.
  66. Hosie AM, Wilkins ME, Smart TG. Neurosteroid binding sites on GABA-A receptors. *Pharmacology and Therapeutics*. 2007; 116:7–19.
  67. Mellon SH, Griffin LD, Compagnone NA. Biosynthesis and action of neurosteroids. *Brain Res Rev* 2001; 37:3-12.
  68. Kokate TG, Juhng KN, Kirkby RD, Lamas J, Yamaguchi S, Rogawski MA. Convulsant actions of the neurosteroid pregnenolone sulfate in mice. *Brain Res* 1999; 831:119–124.
  69. Frye CA, Bayon LE. Seizure activity is increased in endocrine states characterized by decline in endogenous levels of the neurosteroid 3  $\alpha$ ,5  $\alpha$ -THP. *Neuroendocrinology* 1998; 68:272-280.
  70. Mellon SH, Griffin LD. Synthesis, regulation, and function of neurosteroids. *Endocr Res* 2002; 28:463.
  71. Frye CA, Rhodes ME, Walf A, Harney J. Progesterone reduces pentylenetetrazol-induced ictal activity of wild-type mice but not those deficient in type I 5 $\alpha$  -reductase. *Epilepsia* 2002; 43 (Suppl. 5):14-17.
  72. Cooper E, Johnston GA, Edward FA. Effects of a naturally occurring neurosteroid on GABA-A IPSCs during development in rat hippocampal or cerebellar slices. *J Physiol* 1999; 521:437-449.
  73. Belelli D, Casula A, Ling A, Lambert JJ. The influence of subunit composition on the interaction of neurosteroids with GABA-A receptors. *Neuropharmacology* 2002; 43:651-661.
  74. Biagini G, Panuccio G, Avoli M. Neurosteroids and epilepsy. *Curr Opin Neurol* 2010; 23:170-176.

75. Mchedlishvili Z, Bertram EH, Kapur J. Diminished allopregnanolone enhancement of GABA-A receptor currents a rat model of chronic temporal epilepsy. *J Physiol* 2001; 537:453–465.
76. Tolmacheva EA, Chepurinov SA, Chepurnova NE, Kochetkov YA, van Luijtelaar G. Absence seizures during pregnancy in WAG/Rij rats. *Physiol Behav* 2004;81:623–7.
77. Backstrom T, Gee KW, Lan N, Sorensen M, Wahlstrom G. Steroids in relation to epilepsy and anaesthesia. In: Chadwick D, Widdows K, editors. *Steroids and neuronal activity*. Ciba Foundation Symposium, vol. 153. London: Wiley & Sons; 1990. p. 225 – 30.
78. Reddy DS. Physiological role of adrenal deoxycorticosterone-derived neuroactive steroids in stress-sensitive conditions. *Neuroscience* 2006; 38: 11-20.
79. Reddy DS, Castenada DA, O'Malley BW, Rogawski MA. Antiseizure activity of progesterone and neurosteroids in progesterone receptor knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 310:230-239.
80. Reddy DS. Is there a physiological role for the neurosteroid THDOC in stress-sensitive conditions? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24:103-106.
81. Abassi F, Krumholz A, Kittner SJ, Langenberg P. Effects of menopause on seizures in women with epilepsy. *Epilepsia* 1999; 42:205-210.
82. Deborah F, Amy S, Ethan HB, Matthew MF, Katherina RG, Rebecca E, Kristine MV. A New Look at the 5 $\alpha$ -Reductase Inhibitor Finasteride. *CNS Drug Reviews* 2006; 12(1):53-76.
83. Yoshiyuki M, Tatsuya H, Yukiko N, and Kazutake S. Influence of a 5- $\alpha$  Reductase Inhibitor, Finasteride, on Rat Brain Neurosteroid Levels and Metabolism. *Biol Pharm Bull* 2008; 31(9):1646-1650.
84. Frye CA, Scalise TJ. Anti-seizure effects of progesterone and 3- $\alpha$ , 5- $\alpha$ -THP in kainic acid and perforant pathway models of epilepsy. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25:407–20.
85. Lawrence C, Martin BS, Sun C, Williamson J, Kapur J. Endogenous neurosteroid synthesis modulates seizure frequency. *Ann Neurol* 2010; 67:689–693.
86. Rogawski MA, Reddy DS. Neurosteroids: Endogenous modulators of seizure susceptibility. *Epilepsy* 2004: Scientific Foundations of Clinical Practice, New York, pp. 319-355.
87. Crunelli V, Cope WD, Tery RJ. Transition To Absence Seuzires and the Role of GABA-A Receptors. *Epilepsy Res* 2011; 97(3):283–289.

88. Grunewald R, Aliverti V, Panayiotopoulos C. Exacerbation of typical absence seizures by progesterone. *Seizure* 1992; 1:137-138.
89. Budziszewska B, van Luijtelaar G, Coenen A, Leskiewicz M, Lason W. Effect of neurosteroids on spike-wave discharges in the genetic epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Res* 1999; 33:23-29.
90. Pradeep K, Carter S. Neuroactive steroids exacerbate  $\gamma$ -hydroxybutyric acid-induced absence seizures in rats. *European Journal of Pharmacology* 1998; 359:41–48.
91. Ulrich S, van Luijtelaar G. Corticosterone increases spike-wave discharges in a dose- and time-dependent manner in WAG/Rij rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2004; 78:369-375.
92. Tolmacheva EA, Oitzl M, van Luijtelaar G. Stress, glucocorticoids and absences in a genetic epilepsy model. *Hormones and Behavior* 2012; 61: 706–710.
93. Wohlfarth KM, Bianchi MT, Macdonald RL. Enhanced neurosteroid potentiation of ternary GABA-A receptors containing the  $\gamma$ -subunit. *J Neurosci* 2002; 22:1541–1549.
94. Persohn E, Malherbe P, Richards JG. Comparative molecular neuroanatomy of cloned GABA-A receptor subunits in the rat CNS. *J Comp Neurol* 1992; 326:193–216.
95. Pisu MG, Mostallino MC, Dore R, Mura ML, Maciocco E, Russo E, De Sarro G, Serra M. *Journal of Neurochemistry* 2008; 106:2502-2514.