



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİDE MYOMETRİYUM
KASILABİLİRLİĞİ VE ANTİEPİLEPTİKLERİN
KASILMAYA ETKİSİNİN WAG/RİJ
EPİLEPTİK SIÇANLARDAN İZOLE
MYOMETRİYUMDA İNCELENMESİ**

Ayşegül KURT KASAP

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON-2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİDE MYOMETRİYUM
KASILABİLİRLİĞİ VE ANTİEPİLEPTİKLERİN
KASILMAYA ETKİSİNİN WAG/RİJ
EPİLEPTİK SIÇANLARDAN İZOLE
MYOMETRİYUMDA İNCELENMESİ**

Ayşegül KURT KASAP

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

17/01/2022

Ayşegül KURT KASAP
(İmza)

İthaf

Doktora tezimi, tez çalışmalarım suresince bana her açıdan destek olan eşime, hayatım boyunca gl karakteri ve hayata bakış açısıyla örnek aldığım rahmetli babaannem Ayşe KURT'a, her zaman yanımda olan sevgili aileme ve benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan babam Dr. Pirağa KURT'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden itibaren her zaman değerli bilgi ve tecrübelerini paylaşarak destek olan ve yol gösteren değerli hocam danışmanım Prof. Dr. Ahmet AYAR'a, eğitim sürecim boyunca desteğini esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nın öğretim üyeleri Doç. Dr. Mukadder OKUYAN, Doç. Dr. Zafer ŞAHİN ve Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KALKAN'a, tüm mesai arkadaşlarıma ayrıca emeği geçmiş tüm personele teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, destek olan ve bana daima inanan kıymetli annem ve babam Semra-Pırağa KURT'a, ablam Dr. Öğr. Üyesi Burçin KURT'a en içten teşekkürlerimi ve minnet duygularımı ifade etmekten mutluluk duyarım.

Doktora çalışmamın her aşamasında büyük bir özveri ile bana desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli eşim Burak Kaan KASAP'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşegül KURT KASAP

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xiv
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xviii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi	3
2.1.1. Epilepsi ve Kadın	5
2.1.1.1. Epilepsili Kadınlarda Antiepileptik İlaç Tedavisinin Etkileri	7
2.1.2. Epilepsi ve Gebelik	7
2.1.2.1. Epileptik Gebelerde Antiepileptik İlaç Tedavisinin Etkileri	9
2.2. Epilepsi Tedavisinde Kullanılan Antiepileptik İlaçlar ve Etki Mekanizmaları	10
2.2.1. Birinci Nesil Antiepileptik İlaçlar ve Etki Mekanizmaları	12
2.2.1.1. Valproik Asit	13
2.2.1.2. Fenitoin	14
2.2.2. Yeni nesil (ikinci nesil) Antiepileptik İlaçlar ve Etki Mekanizmaları	15
2.2.2.1. Levetirasetam	15
2.3. Deneysel Epilepsi Hayvan Modellerine Genel Yaklaşım	17
2.3.1. Jeneralize Absans Epilepsi Hayvan Modelleri	18
2.3.1.1. WAG/Rij Sıçanların Fizyolojisi	20
2.3.1.2. WAG/Rij Sıçanlar İçin Kontrol Olarak Wistarlar	21
2.4. Düz Kas Fizyolojisi	21

2.4.1. Düz Kaslarda Kasılma ve Gevşeme	23
2.5. Uterus	24
2.5.1. İnsan Uterus Fizyolojisi	24
2.5.2. Rat Uterus Fizyolojisi	25
2.5.3. Uterus ve Fonksiyonu	27
2.5.4. Uterus Fonksiyonun Deneysel Araştırılması ve Hayvan Modeli	27
2.5.4.1. Doku Şerit Modeli	29
2.6. Myometriyum	31
2.6.1. Myometriyal Kasılma ve Gevşeme	32
2.6.2. Gestasyonel Myometriyumun Farklılıkları	36
2.6.3. Myometriyal Kasılma Aktivitesini Etkileyen Hormonlar	37
2.6.4. Oksitosin ve Myometriyum Kasılmasına Etkisi	38
3. GEREÇ ve YÖNTEM	40
3.1. Deney Hayvanları	40
3.1.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	40
3.2. Deney Düzeni	40
3.2.1. Vajinal Smear ile Gebelik Tespiti	40
3.2.2. Deneyde Kullanılan İlaçlar	41
3.2.3. Myometriyal Dokunun Hazırlanması ve İzole Organ Banyosu	42
3.2.4. İzometrik Kasılmaların Kaydedilmesi ve Farmakolojik Testler	43
3.3. Deney Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	45
4. BULGULAR	46
4.1. Sağlıklı Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Sıçanlarına Ait Myometriyum Şeritlerinin Spontan ve Oksitosin ile İndüklenmiş Kasılmaların Karşılaştırılması	46
4.2. Sağlıklı Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Sıçanlarına Ait Non-Gebe ve Gebe Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kasılmalarına Seçili Antiepileptik İlaçların Doza Bağlı Etkilerinin Karşılaştırılması	47
4.2.1. Sağlıklı Kontrol Wistar Sıçanlara Ait Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kontraksiyonuna Seçili Antiepileptik İlaçların Doza Bağlı Etkileri	50
4.2.2. Epileptik WAG/Rij Sıçanlara Ait Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kontraksiyonuna Seçili Antiepileptik İlaçların Doza Bağlı Etkileri	53

4.2.2.1. Non-Gebe Epileptik WAG/Rij Sıçanlara Ait Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kontraksiyonuna Seçili Kombinasyon Antiepileptik İlaçların Etkisi	56
4.2.2.2. Non-Gebe Epileptik WAG/Rij Sıçanlarda Fenitoin'in, Kalsiyum Kanal Agonisti Bay K864 ile Myometriyal Kasılma Üzerindeki İnhibitör Etkileri, Hücre Dışı Sodyum İyonunun NMDG ⁺ ile Değiştirilmesi ve Yüksek Potasyum ile Membran Depolarizasyonun Modülasyonu	57
4.3. Oksitosin ile İndüklenmiş Myometriyum Kasılmalarına Antiepileptik İlaçların Etkilerinin Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Irklarına Dair Kontraksiyon Farklılıkların Karşılaştırılması	57
4.3.1. Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Irklarına Ait Non-Gebe Myometriyal Şeritlerin Karşılaştırılması	58
4.3.2. Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Irklarına Ait Gebe Myometriyal Şeritlerin Karşılaştırılması	62
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	66
6. KAYNAKLAR	75
EKLER	95
EK 1. Etik Kurul Onayı	95
ÖZGEÇMİŞ	96

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Sağlıklı kontrol Wistar ve epileptik WAG/Rij sıçanlarına ait myometriyum şeritlerinin spontan ve oksitosin ile indüklenmiş kontraksiyon verilerinin (AUC, ortalama %) karşılaştırılması.	47
Tablo 2. Non-gebe ve gebe sağlıklı Wistar ve epileptik WAG-Rij sıçanlarından izole edilen myometriyum şeritlerinin oksitosin ile indüklenmiş kontraksiyonuna seçilmiş antiepileptik ilaçların doza bağlı etkileri.	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Epilepsilerin sınıflandırılması	5
Şekil 2.	Myometriyal doku şerit kasılma modeli	31
Şekil 3.	Myometriyum kasılma-gevşeme mekanizması	35
Şekil 4.	Deney gruplarının detaylı şeması	44
Şekil 5.	Deney protokolü	44
Şekil 6.	Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan levotirasetamın AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması	50
Şekil 7.	Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması	51
Şekil 8.	Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin frekans parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması	52
Şekil 9.	WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan levotirasetamın AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması	53
Şekil 10.	Non-gebe WAG/Rij'a ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan levotirasetamın frekans parametresine doza bağlı etkisi	54
Şekil 11.	WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinin karşılaştırılması	54

Şekil 12.	WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin frekans parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması	57
Şekil 13.	Non-gebe WAG/Rij'a ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalara kombinasyon gruplarının: (a) 3 mM LEV+ 1 mM VPA ve (b) 30 µM PHT + 1 mM VPA, AUC (%) parametresine etkisi	56
Şekil 14.	Non-gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması	58
Şekil 15.	Non-gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması	59
Şekil 16.	Non-gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması	59
Şekil 17.	Non-gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması	60
Şekil 18.	Non-gebe myometriyal şeritlerde valproik asidin doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması	61
Şekil 19.	Non-gebe myometriyal şeritlerde valproik asidin doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması	62
Şekil 20.	Gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması	63
Şekil 21.	Gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması	63

Şekil 22.	Gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması	64
Şekil 23.	Gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması	65



RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	İnsan uterus anatomisi	25
Resim 2.	Rat uterus anatomisi	26
Resim 3.	Rat vajinal smear ile spermatozoaların saptanmasına ait mikroskop görüntüsü.	41
Resim 4.	<i>İn vitro</i> deney süreci	43
Resim 5.	Non-gebe Wistar'a ait myometriyal şeritin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin doza bağlı etkisi	52

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AEİ	Anti epileptik ilaç
AUC	Eğri altında kalan alan
DAG	Diaçil gliserol
DDD	Diken dalga deşarjı
DMSO	Dimetil sülfoksit
EEG	Elektroensefalografi
FLC	Fosfolipaz c
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
GABA	Gama-aminobütirik asit
GAERS	Genetic absence epileptic rats from strasbourg
GPBR	G-protein-bağlı-reseptör
HCN1	Hiperpolarizasyonla aktive siklik nükleotid kapılı kanal 1
ILAE	Uluslararası epilepsi ile savaş derneği
IP₃	İnozitol-1, 4, 5 trifosfat
K_{ATP}	ATP duyarlı potasyum kanalı
K_{Ca}	Kalsiyum aktiviteli potasyum kanalı
K_v	Voltaj kapılı potasyum kanalı
LEV	Levetirasetam
MAZ	Miyozin ağır zincir
MHZ	Miyozin hafif zincir
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
NMDA	N-metil-d-aspartat
NMDG	N-metil-d-glukamin
NO	Nitrik oksit

OT	Oksitosin
OTR	Oksitosin reseptörü
PG	Prostoglandin
PHT	Fenitoin
PIP₂	Fosfotidil inositol 4,5-bifosfat
PKC	Protein kinaz c
PKOS	Polikistik over sendromu
PMCA	Plazma membran Ca ²⁺ - adenzin trifosfataz
RYR	Riyanodin reseptörü
sAMP	Siklik adenzin monofosfat
SERCA	Ca ²⁺ - adenzin trifosfataz
SR	Sarkoplazmik retikulum
SSS	Santral sinir sistemi
SV2A	Sinaptik vezikül glikoproteini 2a
WAG/Rij	Wistar albino Glaxo Rijswijk
VPA	Valproik Asit
YVA	Yüksek voltajla aktive
Simgeler	
β	Beta
γ	Gamma
Hz	Hertz
Formüller	
CaCl₂	Kalsiyum klorür
HCO₃	Bikarbonat
KCl	Potasyum klorür
KH₂PO₄	Monopotasyum fosfat

KH_2PO_4	Monopotasyum fosfat
NaCl	Sodyum klorür
NaHCO_3	Sodyum bikarbonat
MgSO_4	Magnezyum sülfat



ÖZET

Epilepside Myometriyum Kasılabilirliği ve Antiepileptiklerin Kasılmaya Etkisinin WAG/Rij Epileptik Sıçanlardan İzole Myometriyumda İncelenmesi

Epilepsili bireylerdeki myometriyal kasılmanın sağlıklı bireylerden farklı olup olmadığı ve anti-epileptik ilaçların (AEİ'ler) kasılma üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olup olmadığı ve dolayısıyla ilgili fetal nörogelişimsel bozuklukların ötesinde obstetrik komplikasyonlara yol açıp açmadığı halen belirsizliğini korumaktadır. Bu nedenle hem gebe olmayan hem de gebe absans epileptik WAG/Rij ve Wistar yetişkin sıçanlardan izole edilmiş myometriyal doku örneklerinin kontraktilesini inceleyerek; spontan kontraktile ve oksitosine verdiği yanıtların karşılaştırılması ve oksitosin ile indüklenmiş kontraksiyonlara fenitoin, levetirasetam ve valproik asidin tek başına ve kombinasyon halinde olası etkileri karşılaştırıldı. WAG/Rij ve Wistar sıçanlardan elde edilen myometriyal şeritler organ banyosuna asılarak izometrik kasılmalar kaydedildi. Gerime adaptasyon sonrasında gelişen spontan kasılmalar değerlendirildi ve bazı protokoller için oksitosin ile kasılmalar uyarıldı. Fenitoin, levetirasetam ve valproik asit dahil olmak üzere seçilen AEİ'lerin kümülatif konsantrasyonlarının kasılmaların amplitüd, frekansı ve kasılma eğrisi altındaki alan değerleri üzerine etkileri 10 dakikalık periyotlarla değerlendirildi. Veriler tek yönlü ANOVA ve Tukey HSD testi kullanılarak analiz edildi. Spontan kontraktile ve oksitosine verilen yanıtlar ırk açısından farklılık gösterdi: gebe olmayan WAG/Rij'a ait dokuların spontan kontraktilesi anlamlı ölçüde daha yüksekti ve oksitosine kasılma cevabı bakımından WAG/Rij miyometriyumu Wistar'a göre anlamlı düzeyde daha az duyarlılık gösterdi ($p<0.01$). Fenitoin ve valproik asit, hem gebe olmayan hem de gebe WAG/Rij ve Wistar sıçanlardan alınan myometriyumun spontan ve oksitosin ile indüklenen kasılmaları üzerine konsantrasyona bağlı olarak anlamlı düzeyde inhibisyona ($p<0.05$) neden oldu. Levetirasetam, klinik olarak ilintili konsantrasyonlarından daha yüksek dozlarına rağmen, kasımlarda anlamlı bir etki göstermedi.

Anahtar Sözcükler: Antiepileptik ilaçlar, Deneysel hayvan modeli, Epilepsi, Myometriyal kasılma

ABSTRACT

Myometrium Contractility in Epilepsy and Effect of Antiepileptics on Contractility of Myometrium Isolated from WAG/Rij Epileptic Rats

Whether myometrial contractility in epilepsy is different from healthy individuals and anti-epileptics (AEDs) have a direct influence on the contractility and thereby may lead to obstetrical complications beyond the concerned fetal neurodevelopmental impairments, remains unclear. Hence we isolated myometrial strips from both non-pregnant and pregnant absence epileptic WAG/Rij and control Wistar rats and investigated contractility, through comparison of the spontaneous contractility and responses to oxytocin (OT), and possible effects of phenytoin, levetiracetam and valproic acid alone and in combination on OT-induced contractions. Myometrial strips were removed from WAG/Rij and Wistar rats and placed in an organ bath and isometric contractions were recorded. After adaptation, developed spontaneous contractions were evaluated and contractions were stimulated by OT. The effects of cumulative concentrations of the selected AEDs including phenytoin, valproic acid and levetiracetam on area under the curve (AUC), amplitude and frequency of contractions were evaluated by 10-minute periods. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey HSD test. As a result, spontaneous contractility and responses to OT showed species difference: spontaneous contractility of non-pregnant WAG/Rij preparations was significantly higher and upon stimulation with OT WAG/Rij myometrium showed significantly lower sensitivity, compared with preparations from Wistars ($p < 0.01$). Phenytoin and valproic acid caused a concentration-dependent significant attenuation ($p < 0.05$) in spontaneous and OT-induced contractions of myometrium from WAG/Rij and Wistar rats, both non-pregnant and pregnant. Levetiracetam did not cause significant inhibition despite higher than clinically relevant concentrations.

Key Words: Antiepileptic Drugs, Experimental animal model, Epilepsy, Myometrial contraction

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi, beyindeki nöronların belirli kısmının veya tümünün aşırı ve hipersenkronize deşarjlarından kaynaklanan tekrarlayan nöbetlerle seyreden, dünyada oldukça yaygın görülen kronik nörolojik hastalıktır (1). Nöbet epizodlarının, uyarıcı (glutamaterjik nörotransmisyon) ve inhibitör (gama-aminobütirik asit (GABA)-ergic nörotransmisyon) arasındaki dinamik denge koordinasyonun bozulması veya uyarıcı yönüne kaymasından (çok fazla uyarıcı veya çok az engelleyici sinyal) kaynaklandığı düşünülmektedir (2). Kronik nöbetlerle karakterize olan epilepsi tedavisinde nöbet profilaksisi için antiepileptik ilaçlar kullanılmaktadır. Mevcut antiepileptik ilaç (AEİ) listesinde fenitoin, fenobarbital, lamotrijin, okskarbazepin, valproik asit, levetirasetam, zonisamid, lakosamid, topiramet, gabapentin ön plana çıkan AEİ'lerden sayılabilmektedir (3). Çeşitli AEİ'lerin mevcut olmasına rağmen, bu ilaçların herhangi biri belirli bir epilepsi türüne özgü hedef etkisinin baskın olmaması ve hemen hemen hepsinin farklı yan etkileri olduğundan, nöbetleri önlemedeki tedavi stratejisinde standart ajan seçimi yapılamamaktadır. Öyle ki, AEİ kullanımı sadece epilepsi popülasyonu için sınırlı olmayıp; migren profilaksisi, nöropatik ağrı gibi nörolojik ve bipolar bozukluk, anksiyete gibi psikiyatrik hastalıklarda da yaygın şekilde kullanımı olan ajanlardır. Böylelikle, maruziyet popülasyon oranındaki artışla birlikte insan fizyolojisinde yer alan vücudun çeşitli sistemlerini etkileyebilen ortak iyon kanallarını içeren etki mekanizmalarına sahip olmaları vücut sistemindeki homeostazise tümüyle etkisi hakkında bilgi gereksinimini doğurmaktadır (4, 5). AEİ'ler ile ilgili; etkililik spektrumları, biyoyararlanımları, klinik farmakolojileri ve hamile kadınlar da dahil olmak üzere bireysel ve yan etkileri için kullanım özellikleri dikkate alınarak incelenmiş kapsamlı güncel bilgiler mevcuttur (6, 7). Bununla birlikte, epilepsi kadınlar için hassas bir konu olan fertilite sorunları riskini artırsa da epilepsi direkt olarak kısırılık yapmamaktadır (8). Gebe kadınların birçoğunda, olası yan etkileri ve sonuçları nedeniyle AEİ kullanmama veya mağruzıyeti azaltmak amacıyla uygun dozun altında kullanımı sebebiyle etkin nöbet kontrolü sağlanmayıp gebelik sırasında nöbet geçirir. Bu nedenle, hamilelik sırasında epilepsi ve epilepsi ilaçlarının riskleri konusunda endişeler mevcuttur. Hamilelik sırasındaki nöbetler, plasental ayrılma ve erken doğum dahil olmak üzere hem anne hem de fetüs üzerinde ciddi ve olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. Bu durumun yanısıra, herhangi bir AEİ kullanımı, potansiyel olarak uterus kontraktilesini etkileyebilir, uyarabilir veya inhibe edebilir ve bunun sonucunda nispeten küçük şiddetli kasılmalar kürtaj, gecikmiş doğum veya atonik kanama gibi ciddi acil durumlara kadar

değişen maternal ve feto-neonatal komplikasyonlara neden olabilmektedir (9, 10). Fenitoin ve fenobarbital gibi bazı AEİ'ler ciddi endişe kaynağıdır ve potansiyel nörogelişimsel fetal anormali riskinde artışa sebep olasılığı nedeniyle valproat kullanımı gebelik sırasında kontrendikedir (11, 12). Özellikle hamilelikte antiepileptik ilaç kullanımının dinamik fizyolojik değişimlere sahip olan kadınlar için, kronik kullanılan AEİ ve dozunun nöbet önlemedeki uygunluğuna binayen kullanılan oranın güvenilirlik endişesine ilişkili olarak esas organ olan uterus kasılmasına etki potansiyeli yönüyle ilgili literatürde çok az kanıt olduğu ya da olmadığı görülmektedir.

Bu tez çalışmasının hipotezi, Wistar Albino Glaxo Rijswijk (WAG/Rij) sıçanlarının anti epileptiklere karşı farklı duyarlılığa sahip olduğu, epilepsinin değişmiş uterus kontraktilite potansiyelinin hem hamile hem de hamile olmayan epileptik myometriyum ile ilişkili olabileceği şeklindedir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, seçilmiş AEİ'lerin, yani fenitoin, levetirasetam ve valproik asidin, absans epileptik WAG/Rij sıçanlardan izole edilen myometriyumun kontraktilitesi üzerindeki olası etkilerini araştırmak ve sağlıklı myometriyum ile karşılaştırmaktır. Bu amaçla, *in vitro* hayvan çalışması ile absans epilepsi modeli olarak WAG/Rij sıçanlarını kullanarak, epilepsideki myometriyal kasılmanın sağlıklı bireylerden farklı olup-olmadığını ve seçilen antiepileptiklerin WAG/Rij ve sağlıklı Wistar sıçanlardan hem gebe olmayan hem de gebe olanlardan izole edilen spontan ve oksitosin ile indüklenmiş myometriyum kasılmaları üzerindeki olası etkileri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epilepsi, her yaş grubunu etkileyen heterojen popülasyon profiline sahip olan nörolojik bozukluklara ilişkin evrensel hastalıklar arasında üçüncü sırada (13) ve dünya çapında yaklaşık 65 milyon insanı etkileyen en önemli kronik nörolojik hastalıklardandır. İnsidans ve prevelans yönüyle toplum düzeyiyle ilişkili olarak teşhis/sınıflandırma açısından farklılık göstermesine rağmen, Alzheimer ve şizofreni gibi dünyada yaygın ve yüksek oranda görülen nörolojik hastalıklar ile kıyaslanabilir orana sahiptir (14, 15). Epilepsi hayatın her döneminde görülebilen potansiyelinde olup, nöbet oluşumuna yatkınlıkla karakterizedir. Çoğunlukla, öngörülemeyen bu nöbetler sonucunda kişiler psikolojik ve sosyal olarak etkilenmekte ve hatta bazı epilepsi türleri ciddi düzeyde hayat kalitesini düşürebilecek etkilere neden olmaktadır.

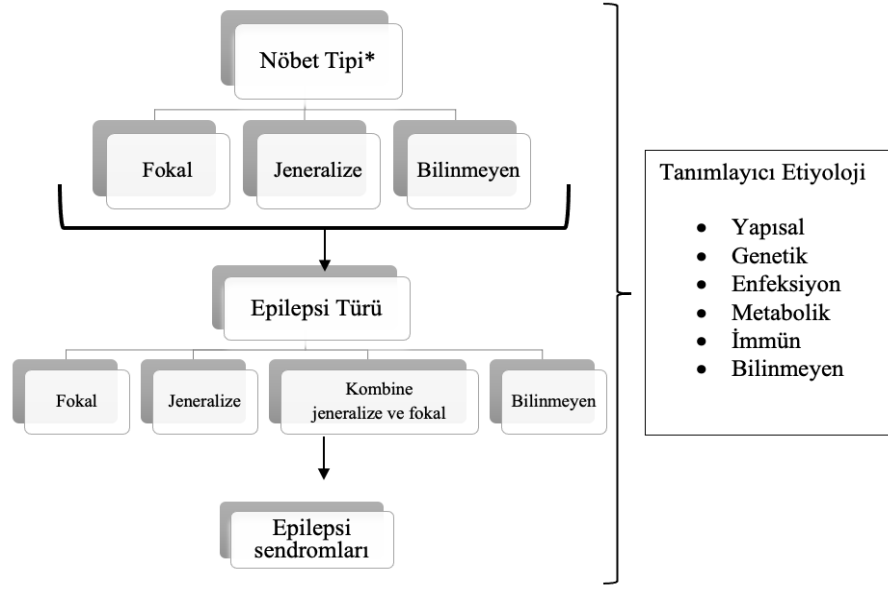
Genel tanım olarak, iki veya daha fazla indüklenmemiş ani, öngörülemeyen ve tekrarlayıcı nöbetler ile karakterizedir. Temelde, santral sinir sistemindeki (SSS) nöronlar arasında var olan eksitator-inhibitörler arasındaki dengenin eksitasyon (uyarıcı) yönüne kayması sonucu epilepsi nöbeti ortaya çıkmaktadır. Dünyada yaklaşık 1000 kişide 2.7-17.6 oranında aktif nöbet geçiren kişiler vardır ve bu kişilerin önemli bir kısmında ise nöbetler yaşamları boyunca devam etmektedir (16).

Epilepsinin geçici semptom ve bulguları, tüm klinik vakaların neredeyse yarısında saptanmıştır. Esas olarak epilepsi, uyarıcı herhangi bir faktör olmaksızın, tekrarlayan nöbetlerle karakterize olan kronik nörolojik hastalık olarak tanımlanmaktadır. Ancak, normal nöron aktivitesi düzenini (senkronu) bozan herhangi provoke faktör(ler) de nöbet oluşumuna neden olabilmektedir. Bu durumlar arasında; enfeksiyon, kafa travmaları, belirli toksinlere maruz kalmanın yanı sıra akut SSS hasarı nedeni ile ortaya çıkan nöbet tetikleyici faktörler yer almaktadır. Bu uyarıcı faktör unsurları ile tetiklenen nöbetler ise faktörler ortadan kaldırıldığında geri döndürülebilir akut semptomatik nöbetler olarak adlandırılmakta olup geçicidirler (17).

Genetiğin epilepsideki rolüne ilişkin çalışmalar 500'den fazla genin rol oynayabileceğini ve genetik epilepside çevresel faktörlerin de etkisinin olduğunu ileri sürmektedir. Uluslararası çalışmalar, tüm epilepsi popülasyonunun yaklaşık %15-20'nin genetik faktörlerin yer aldığı etiolojiye sahip genetik jeneralize epilepsili hasta popülasyona ait olduğunu bildirmiştir (18, 19).

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği'nin (International League Against Epilepsy-ILAE) epidemiyoloji komisyonu epileptik nöbetlerin sınıflamasını “genel-geçerlilik” ilkesine uygun olarak bilimsel ortak bir sınıflandırma terminolojisini oluşturmuştur. ILAE Nöbet ve Epilepsi sınıflandırmasında, 2017 yılında nöbet türlerine göre yeni bir sınıflandırma düzenlemiş ve bazı terimler de yeniden isimlendirilmiştir. Bu yeni sınıflandırmada nöbet başlangıçlarının tipine göre; eski bilinen adı “parsiyel” terimi yerine fokal, jeneralize ve bilinmeyen (sınıflandırılmayan) olarak üç alt sınıflandırma oluşturmuştur (Şekil 1) (20, 21). Nöbet başlangıcı fokal (anormal nöronal aktivite bir veya daha fazla lokalize beyin bölgesinde veya hemisferde ortaya çıktığında), jeneralize (anormal nöronal aktivite her iki hemisferde yaygın bir dağılımla başladığında) veya başlangıcı bilinmeyen (mevcut klinik ve laboratuvar verilerinden başlangıç tespitinin mümkün olmadığı) olarak sınıflandırılır. Nöbet başlangıç tipi; klinik özellikler, elektroensefalografi (EEG) ve nörogörüntüleme bulgularının nöbet başlangıç özellikleri ile uyumluluğu >%80 güven oranını sağladığında belirlenmektedir (22).

Nöbetler, eşlik eden duygusal durum ve psikiyatrik bozukluklar, bilişsel eksiklikler ve ilaçların yan etkileri nedeniyle yaşam kalitesini önemli ölçüde bozabilmektedir. Buna ek olarak, nöbetlerin otonomik ve uyarılma işlevleri üzerindeki doğrudan etkiler nedeniyle normal fizyolojik süreçteki dengeyi sekteye uğratarak doğrudan veya dolaylı etkileri nedeniyle ölümcül olabilmektedirler. Araştırmaların birçoğu, epilepsisi olmayan bireylere göre epilepsili bireylerde erken ölüm riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (23, 24).



Şekil 1. Epilepsilerin sınıflandırılması. Bu çerçevede; epilepsi ilk nöbet teşhisi ile başlar, ardından bir epilepsi tipi ve mümkünse bir epilepsi sendromu teşhisi konur. Epileptik bir nöbet tanısı konulduktan sonra, etiyoloji tanımlanmalıdır. * Nöbet başlangıcını göstermektedir. (Falco-Walter ve ark., ILAE 2017 rehberine göre epilepsi sınıflandırma rehber yönetimi. Kaynaktan tercüme edilerek uyarlanmıştır.) (Scheffer'dan, 21)

2.1.1. Epilepsi ve Kadın

Epilepsi, kadınlarda 6-85/1000 vaka prevalansı ile kronik ve yaygın nörolojik hastalıktır. Kadınların yaşamları boyunca cinsiyete bağlı farklılık gösteren fizyolojik süreçlerinin hormonal değişimlerin etkisinde olması; epileptik nöbet mekanizmalarını ve antiepileptik ilaçların plazma konsantrasyonunu etkileyebilmekte ve aynı zamanda bu değişimden etkilenebilmektedirler. Epilepsi prevalansı ve tedavi yaklaşımları kadınlar ve erkekler için benzer olsa da kadınların menstrüel döngüleriyle ilgili ilişkili olarak nöbet paternleri yaşama olasılığı daha yüksektir (19, 25). Ayrıca, AEİ ilişkili teratojenite ve hormonal etkileşimler nedeniyle epilepsili kadınlar üreme ve gebelik komplikasyonları riski altında olup bu süreçlerde de zorluklar yaşayabilmektedirler. Araştırmalar, epilepsili kadınların epilepsili olmayan kadınlara göre daha yüksek gebelik komplikasyonları ve peripartum psikiyatrik problemleri yaşamakta olduğunu göstermektedir (26, 27).

Kadınların fizyolojik süreciyle ilişkili olarak menstrüel döngüleri boyunca hormonal dalgalanmalar nöbet kontrolünü oldukça etkileyebilmektedir. Örneğin, epilepsi tanısı

konmuş kadınların yaklaşık üç de birinde özellikle menstrüel döngü süreçlerinde nöbetlerde artış olarak karakterize olan “katameniyal epilepsi” görülmektedir. Katameniyal epilepsi, sadece kadın cinsiyetine özgü olan bir epilepsi türü olma özelliği taşır. Bu durumun ortaya çıkmasındaki esas olarak menstrüel döngü süreçlerindeki serum östradiol/progesteron dengesindeki dalgalanmalar olduğu düşünülmektedir (28, 29).

Epileptik kadınlarda, nöbetlerin doğrudan etkilerinden biri de polikistik over sendromu (PKOS) olarak adlandırılan ciddi endokrin-üreme sorunudur. Polikistik over sendromunun yanısıra kısırlık ve azalmış libido gibi üreme bozuklukları epileptik olmayan kadınlara göre daha yüksek oranda görülmektedir (30). Nöronal uyarılabilirliği etkileyebilen kadın steroid hormonları; özellikle östrojenlerin, uyarıcı role sahip glutamat reseptörleri aracılığıyla eksitator bir etki gösterdiği bulunmuştur (31).

Özetle, nöral hiperaktiviteye maruz kalan kortikal bölge/lerin veya yukarıda belirtilen hormon etkilerinin sonuçlarının epileptik kadınlar için hassas bir nokta olduğu ortadadır. Bu durumla ilişki olarak, epilepside nöronal uyarılabilirlik özellikle cinsiyet olgunlaşmasında veya neslin devamını sağlamada primer rol oynayan uterusu dolaylı şekilde negatif olarak etkileme ihtimali taşımaktadır. Deneysel araştırmalarda değişik memeli türlerinde (köpek, kedi ve tavşanlarda) kortikomedial amigdala bölgesinin uyarılması ile uterus aktivitesinin etkilendiği görülmüştür. Gebe ve gebe olmayan yetişkin hayvanlarda yapılan bu çalışma sonucu uterus kasında tonus artışı ayrıca uterus motilitesinin amplitütü ve frekansına uyarıcı yönde etki ettiği bulunmuştur (32).

Ayrıca, yetişkin dişi farelerde amigdalanın bazolateral kısmının iki taraflı ablasyonunun sonucunda ovulasyon döngüsünde yoksunluk ve polikistik over sendromunu tetikleyebildiği ortaya çıkmıştır. Bu deneysel çalışmalar epilepsi ile ilişkili olarak, temporolimbik beyin bölgelerindeki nöronal hiperaktivite veya hipoaktivite ile üreme endokrin fonksiyonu arasındaki hassas etkileşimlere dikkat çekmektedir. Bahsi geçen deneysel çalışmalar, epileptik nöbet döneminde nörotransmitter veya iyon kanallarının nomalden farklı bir süreç içinde uyarılmaya hazır olma durumu bununla birlikte bu oluşumları önleme amacıyla kronik olarak kullanılan AEİ’lerin fizyolojik olmayan farklılıklara neden olarak vücutta sadece kortikal bölgelerde değil dolaylı olarak birçok organ sistemini etkileyebileceği düşüncesini güçlü hale getirmektedir (33).

2.1.1.1. Epilepsili Kadınlarda Antiepileptik İlaç Tedavisinin Etkileri

Epilepsi, yaygın olarak AEİ'lerin yaşam boyunca kullanım zorunluluğu doğuran ve halen daha radikal bir tedavisi olmayan nörolojik hastalıktır. AEİ'ler farklı epileptik sendrom türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle kadınlardaki fizyolojik süreçler (menstrüel döngü, gebelik gibi) ve bazı kadınların kullanmak zorunda olduğu diğer ilaçlar (oral kontraseptifler, proton pompa inhibitörleri, antidepresanlar gibi kullanım oranı popülasyonda artış gösteren ilaçlar) da AEİ kullanımının sonucunu etkileyebilmektedir. Hatta nöbet kontrolünü sağlamada kronik kullanılan AEİ'nin etki potansiyelini azaltacak veya aksatacak derecede önemli sorunları ortaya çıkarabilmektedir (34, 35).

Genel olarak bakıldığında birçok AEİ'nin doğurganlık, tiroid hormonları, cinsel işlev ve kemik sağlığında anormalliklerle sonuçlanan endokrin yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. Özellikle steroid hormonların; fenitoin, karbamazepin ve fenobarbital gibi mikrozomal hepatik enzimleri indükleyen AEİ'lerin dolaşımdaki biyoyararlanımını azalttığı ve valproik asidin de endokrin yan etkilere neden olduğu bilinmektedir (36). Sürekli AEİ kullanan kadınlardaki bir başka sorun ise oral kontraseptif kullanımıdır. Bazı AEİ'ler hepatik enzim indükleyicilerdir, bu nedenle karaciğer metabolizmasında diğer ilaçların eliminasyonunu desteklemektedirler. Ayrıca östrojen karaciğerde glukuronidasyona uğradığından, östrojen seviyesi enzim indükleyicilerinden etkilenebilmektedir. Sonuç olarak, oral kontraseptiflerin etkinliğini azaltabilir ve bu durum planlanmamış gebelik riskini artırmaktadır (37).

2.1.2. Epilepsi ve Gebelik

Dünya genelinde yaklaşık 15 milyon epilepsili kadının doğurganlık çağında olduğu tahmin edilmektedir ve her yıl yaklaşık 24.000 epilepsili kadın hamile kalmaktadır (38, 39). Bu kadınların çoğu hamilelik sırasında da epilepsi için etkili ve güvenli tedaviye ihtiyaç duymaktadır. Epileptik kadınlar için gebelik; anne ve fetus sağlığına ilişkin bir stres dönemi haline gelebilmektedir (40, 41). Hamilelik sırasında nöbet eşiğinde değişikliğe katkıda bulunabilme potansiyeli taşıyan çeşitli fizyolojik, endokrinolojik ve psikolojik parametreler yer almaktadır. Hamilelik öncesi nöbet kontrolünün epileptik kadınlarda, hamilelik sürecindeki nöbet kontrolüne ilişkin olarak en iyi prediktörü olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, epilepsili kadınlarda gebelik öncesi planlama süreci stratejik öneme sahiptir (42, 43). Yapılan çalışmalar, epileptik bireylerde gebeliklerin yaklaşık %50'den fazlasının

planlanmamış olduğunu ortaya koymaktadır (44). Bununla birlikte, birçok faktöre bağlı olarak bu epileptik gebeliklerin yaklaşık %20-%35’inde ise, hamilelik sırasında nöbet sıklığı artabilmekte olduğu belirtilmiştir. Epilepsi ve kadın ilişkisinde özellikle doğurganlık çağındaki kadınlar için gebelik olasılığı dikkate alınarak, hassasiyetle uygun AEİ tedavisi uygulanmalıdır. Dolayısı ile gerekli fizyolojik değişim ihtimalleri göz önünde bulundurularak fetal teratojenite ve maternal tam nöbet kontrolü için uygun AEİ/doz miktarının ayarlanması optimum dengeyi noktasını yakalayacak özellikte olmasına özen gösterilmelidir (39, 45). Epileptik bireylerin gebelik süreci hem fetüs hem de anne için kritik ve istenmeyen negatif sonuçlara açık bir dönem olabilmektedir. Öyle ki, yapılan çalışmalarda gebe sağlıklı popülasyona kıyasla epileptik bireylerde maternal ölüm riskinin 10 kat oranında artış gösterdiği ortaya konulmuştur (46). Pek çok veri, gebelik sürecindeki nöbetlerin; düşük, ölü doğum, erken doğum, doğum öncesi ve doğum sonrası kanama, artmış sezaryen gereksinimi, gelişimsel gerilik ve konjenital malformasyon ile ilişkili olduğunu göstermektedir (27, 47, 48).

Epilepside, özellikle gebelik sürecinde istenmeyen nöbet oluşumları esas olarak üç sebepten kaynaklanabilmektedir: birincisi ve en sık görülenleri önceden var olan kontrolsüz nöbetler; ikincisi ise yeni başlayan nöbetler ve üçüncüsü özellikle eklampsi gibi hamilelikle ilgili bazı durumların sebep olduğu nöbetlerdir. Bununla birlikte, gebelikte yeni nöbetler öngörülemez olduğu için sağlıklı gebelik süreci için doğru teşhis ve uygun tedavi zorunlu kılmaktadır. Literatürde yer alan çalışmalarda, yapısal ve metabolik değişikliklerin (intrakraniyal kanama, serebral venöz sinüs trombozu, iskemik inme, beyin tümörü gibi) gebelik sırasında yeni nöbetleri hızlandırabileceğini ortaya koymuştur (49). Nöbetlerin ortaya çıkması veya sıklığındaki artış, gebeliğin diğer aylarından daha sık olarak özellikle peripartum dönemde görülmektedir. Bu durumun yanısıra, nöbetler ilk veya son trimesterde artabilmektedir. Bu durum, esas olarak ovum ile ilişkili hormonal profildeki hızlı değişimler veya duygusal dalgalanmalara sebep olan rahatsızlıklardan kaynaklanmaktadır. Hamileliğin erken döneminde, metabolik veya hormonal değişikliklerle birlikte aşırı kusma epilepsi tedavisi gören bir kadının nöbet geçirmesini tetikleyen bir başka neden olabilmektedir. Ayrıca, ikinci ve üçüncü trimesterde, gebelikte kan hacminin artışıyla ilişkili olarak plazma proteinlerinin kandaki seviyeleri düşebilmekte bu sebeple plazma proteinlerine affinite gösteren ve serbest AEİ konsantrasyonundaki değişimler nöbetlerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (43).

2.1.2.1. Epileptik Gebelerde Antiepileptik İlaç Tedavisinin Etkileri

Epilepside farmakolojik tedavi uygulamasının dezavantajı gebelik planlayanlar veya gebelerde daha belirgin olarak öne çıkmaktadır. Gebelik fizyolojisine uygun AEİ ve güvenilir doz aralığı seçiminde birçok faktörün göz önüne alınması gerekmektedir. Bunun temel sebebi ise tedavinin en az iki kişiye ilaç maruziyetini içermesidir: epilepsili anne ve doğmamış fetus(ler). Kontrolsüz epileptik nöbetlerin etkisi; maternal ve fetal riskler ile AEİ'lerin olası yan etkileri arasında dengelenmelidir. Epileptik hamile kadınların tedavisinde dikkate alınması gereken birçok faktör yer almaktadır. Öncelikle, hamilelik sürecinde annenin değişen fizyolojisi nöbet kontrolü için kullanılan ilaçların etki potansiyelini ve ilaç dağılımını etkileyebilmektedir. Özellikle gebelikle eşlenik artan vücut sıvı hacmi, AEİ'ler için plazmadaki ilaç konsantrasyonlarını azaltan bir seyreltici etkiye neden olabilmektedir. İlerleyen gebelik sürecinde plazma proteinlerine bağlanan ilaçların plazma albümin konsantrasyonlarında azalma, tam plazmadaki konsantrasyonlara göre daha yüksek plazma sıvısı/ilâç konsantrasyon oranı değişimleri nöbetlerin önlenmesinde yetersiz kalıp nöbetlere sebep olabilmektedir. Ayrıca, çoğu gebe kadında renal klirens artışı önemli sonuçlar doğurabilmektedir. Gebelik sürecinde fizyolojik ihtiyaca binayen böbrek fonksiyonu ve glomerüler filtrasyon hızı artar, bu da esas olarak metabolize edilmemiş formdaki atılan AEİ'lerin (örneğin gabapentin ve levetirasem vb.) renal atılımı ile vücuttan atılımının artmasına ve kandaki AEİ düzeyinde dalgalanmalara neden olabilmektedir. Özellikle metabolizmasının ilk aşaması sitokrom P450 aktivitesi veya glukuronidasyon yoluyla olan ilaçlar için renal atılım (%50-80) görülür. Sorumlu enzimlerin aktivasyonundaki artış (faz I ve II) genellikle gebeliğin erken döneminde başlar ve devam eder. Bu durum AEİ'lerin toplam veya serbest serum düzeyinde azalmasına neden olarak vücuttaki AEİ konsantrasyonunun düşmesine neden olur (50, 51).

Çoğu AEİ için, emilim hızı ve derecesi ilaç farmakokinetiğini göre değişebilmekte olup gebelik sırasında fizyolojik olarak mide pH'sı, boşalma hızı ve ince bağırsak hareketliliği (motilite) azalmaktadır. Bu durum AEİ'lerin emiliminde de azalmaya neden olabilmektedir. İlaç emilim düzeyindeki değişim dalgalanmaları, AEİ'lerin serum konsantrasyonunda azalmaya ve böylece etki potansiyelinde düşüşe neden olacaktır. Özetle gebelikte meydana gelen fizyolojik değişikliklerin çoğu ilaçların; emilim, yayılım, metabolizmadan atılımına kadar olan tüm sürecin herhangi bir aşaması ilacın potensini etkileyebilmektedir (52). Bununla birlikte, AEİ'lerin birçoğu plasentayı geçebilmesi

nedeniyle teratojenik yan etkiye neden olmaktadır. Epilepsili gebe kadınlarda yakın zamanda yapılan sistematik bir derlemede; popülasyona kıyasla düşük yapma, antepartum hemoraji, hipertansif bozukluklar, doğum indüksiyonu, sezaryen, erken doğum ve doğum sonrası hemoraji riski gibi obstetrik sorunlarla ilgili artış olduğunu göstermiştir (27). Fizyolojik süreçlerdeki farklılıklardan dolayı epilepside birçok yönden cinsiyet dezavantajına sahip olan kadınların birçoğu hamilelik sırasında da AEİ kullanımına gereksinim duymaktadır. AEİ'ler gebelikte kullanımına ilişkin yan etki kategorilerine göre sınıflandırılmış olup, valproik asit D kategorisinde yer almaktadır ve D kategorisi teratojenik etkileri kapsamaktadır. valproik asit kullanımının, erken yaşlarda başlayıp doğurganlık çağı boyunca kullanım gereksinimi göz önüne alındığında valproik asit tedavisinde dikkat edilmesi gereken birçok parametre yer almaktadır (53).

Sonuç olarak; epilepside cinsiyet faktörüyle ilişkili gebelik ve doğurganlık çağındaki kadınlarda hastalığın seyrini etkileyen çok yönlü farklılıklara neden olabilen bir süreç olup, tedavide kullanılacak olan AEİ'lerin farmakodinamiği, teratojenitelerinin ve özellikle birçok AEİ'nin etki mekanizmasında yer alan benzer iyon kanallarını içeren uterus gibi dişi üreme organına etkisinin çok iyi bilinmesi, optimal tedavi planlanmasında kritik role sahiptir (54, 55).

2.2. Epilepsi Tedavisinde Kullanılan Antiepileptik İlaçlar ve Etki Mekanizmaları

Nöronal membranda oluşan nörokimyasal sinyaller birçok farklı iyon kanalları ile elektriksel aktiviteye dönüştürülmektedir. Geniş nöbet sınıflarını içeren epilepsi patofizyolojisi tek bir iyon kanalı değil temelde tümüyle bozulmuş nöronal aktivitedeki anormallik sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu bozulmuş nöronal homeostazisin sonucunda tekrarlayan epileptik nöbet oluşumları epilepsinin klinik ayırt edici özelliğidir. Epilepsi, 15'ten fazla farklı nöbet türü ve 30'dan fazla epilepsi sendromu içermektedir (56, 57). Depresyon, anksiyete ve mortalite riskinde artış olmak üzere ciddi komorbidite ile ilişkilidir. Epilepside birinci basamak tedavi olarak nöbet profilaksisi için AEİ'ler kullanılmakta olup, nöbet oluşumunu veya şiddetini azaltmayı amaçlayan ancak hastalığın seyrini hafifletmeyen semptomatik tedavilerdir (58).

Antiepileptikler yapısal ve işlevsel olarak farklı türlere ayrılmaktadır. Benzer şekillerde etki gösteren AEİ'ler arasında klinik kullanımda farklılıklar mevcuttur; birçoğu nöbet kontrolünde başarılı olsa da istenmeyen yan etkilere sahiptir. İlaç seçimi bu nedenle kısmen ampirik kalmaktadır (59). Rasyonel bakıldığında birçok ilaç gibi AEİ'lerinde büyük

bir kısmı farklı yan etkilere sahiptir. Antiepileptiklerin bu çeşitli organ sistemlerindeki etki potansiyeli, farmokokinetik özelliklerine ve doza bağlı olarak oldukça farklılık göstermektedir. SSS ve karaciğer başta olmak üzere cildin de dahil olduğu birçok sistemi etkileyebilmektedir (60). Epilepsi için kesin bir tedavi bulunmamakla birlikte hastaların yaş, sağlık durumu ve özellikle gebelik durumuna göre uygun doz aralığı ve optimum nöbet kontrolü/en az yan etki dengesinde AEİ seçimi hedef noktalardan biridir. Bazı AEİ'lerin sadece epilepside kullanılmadığı; migren, nöropatik ağrı, bipolar bozukluk, anksiyete, depresyon ve diğer birçok hastalıkta da kullanıldığı bildirilmektedir. Bu durum AEİ kullanım popülasyon oranında ciddi artışa sebep olmakta bu sebeple özellikle sıkça kullanılan AEİ'lerin tüm yönüyle araştırılması büyük önem arz etmektedir (61). 2011 yılında yapılan çalışmaya göre son 30 yılda, yaklaşık 15'in üzerinde üçüncü nesil AEİ piyasaya sürülmüş ve klinisyenlere birçok nöbet türünün tedavisi için daha fazla seçenek sağlamıştır. Bununla birlikte, ilaca yeni başlayan epilepsili hastaların yaklaşık %70-80'i mevcut AEİ'lerle remisyona girse de, bu ilaçlar hastaların %20-30'unda nöbetleri etkin biçimde önleyememektedir (62). Epilepsi cerrahisi, bu tip hastalarda önemli bir alternatif olmasının yanı sıra ilaca dirençli epilepsili hastaların çoğunun ameliyat için uygunluk sağlayamaması yönüyle kısıtlı seçenek olarak görülmektedir (2). Hastaların bir kısmında tam nöbet kontrolü için AEİ monoterapi uygulaması uygun veya yeterli olamayabilmektedir. Bu durumun sebeplerinden biri de oluşan deşarjların beyin hemisferlerinin birden fazla bölümünü etkileyebilmesi ve bu nedenle birden fazla etki mekanizmasına sahip AEİ kombinasyonunun uygulanmasına gereksinim duyulabilinmesidir. Bu nedenle epilepsi tanı türüne bağlı olarak nöbet kontrolünde AEİ politerapi uygulaması bazı durumlarda uygun seçenek olabilmektedir (59). Antiepileptiklerin çeşitli etki mekanizmalarının birçoğu halen daha tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, temel olarak amaçlanan ideal etki mekanizması; nöronların uyarılabilirliğini spesifik olarak modüle etmek için çeşitli moleküler hedeflere yönelik özellikte, nöbet kaynaklı nöronlaral bölgede anormal sinyalleşmeyi inhibe ederek normal olan kısımdaki nöronal aktiviteyi bozmadan bloke edebilmektir. Buna rağmen çoğu AEİ'nin etki mekanizması spesifik değildir; geniş spektrumlu aktiviteye sahip olması farklı hedef reseptörleri etkilemesine ve bu sebeple ilgili reseptörün bulunduğu bölge veya hücreyi etkileyerek sedasyon gibi farklı durumları tetikleyebilmektedir.

Antiepileptikler için hücresel seviyede, üç temel mekanizma tanımlanmıştır; voltaj kapılı iyon kanallarının modülasyonu (sodyum iyonu (Na^+), kalsiyum iyonu (Ca^{+2}), potasyum iyonu (K^+) veya membran stabilizasyonu (sodyum kanal blokerleri gibi), γ

aminobütirik asit (GABA) aracılı inhibitör nörotransmisyonun artması (GABA mimetikler gibi) ve uyarıcı transmisyonun azalması (N / P / Q-tipi kalsiyum kanal blokerleri, nöronal sinaptik vezikül glikoproteini 2 A (SV2A) ligandları gibi), iyonotropik glutamat reseptörleri gibi etki hedeflerine sahiptir. İyon kanallarının aktivitesi fizyolojik homeostazis için oldukça önemlidir. İyonların hücre içine ve dışına akışı, iyon kanallarının farklı geçirgenliği ve geçişi ile kontrol edilmektedir. Na^+ ve Ca^{+2} kanalları uyarılmada, K^+ ve klor iyon (Cl^-) kanalının açılması ise inhibisyonda önemli rol oynamaktadır (63).

Genel olarak AEİ'ler; nöronal aksiyon potansiyeli (AP) üzerindeki etkilerine veya nöronal impuls oluşumunun post-sinaptik inhibisyonuna göre kategorize edilmektedir. Bununla birlikte, klasik nesil ve yeni nesil AEİ olmak üzere kategorize edilmişlerdir. Klasik nesil (birinci nesil) AEİ'ler yeni nesile oranla sınırlı spektruma sahip daha eski yıldan beri kullanıldığı için birçoğunun belirgin yan etkisi daha iyi şekilde ortaya konulmuş olup yeni nesil (ikinci nesil) AEİ'ler ise etki mekanizmaları açısından bazı nöbet tiplerinde daha avantajlı profile sahip düşük etkileşim potansiyeline sahiptir. Bunlara ek olarak, son zamanlarda üçüncü nesil AEİ kullanıma girmiş olup bir kısmı değerlendirme aşamasındadır.

2.2.1. Birinci Nesil Antiepileptik İlaçlar ve Etki Mekanizmaları

Birinci nesil AEİ'ler nöronal AP'nin inhibisyonu gibi, tipik olarak nöbetin elektriksel yayılmasında rol oynayan voltaj-kapılı iyon kanalların aktivasyonuna odaklanan mekanizmaya sahip olup yan etkileri ikinci nesile oranla daha fazladır. Başlıca etki mekanizmaları özetlenecek olursa:

Sodyum kanal blokajı (hızlı aktive olan); Sodyum kanallarının inhibisyonu, birinci nesil AEİ'lerin en yaygın etki mekanizmasıdır. Sodyum blokeri ajanlar, depolarizasyondan sonra inaktive edilmiş voltaj kapılı sodyum iyon kanalına bağlanır ve sodyum geçirgenliğini değiştirerek hücre içine Na^+ girişini azaltır. Bu durum, sıklıkla uyarılmış nöronların inaktivasyon (veya refrakter) periyodunda bir artışa neden olur. Birinci nesil AEİ'lerden fenitoin (PHT), karbamazepin ve valproik asit (VPA) gibi ajanlar ve ikinci nesil AEİ'lerden okskarbazepin ve lamotrijin bu etki mekanizmasına sahiptir. Na^+ kanal blokerinin en temel örneği; voltaj kapılı sodyum kanallarını bloke eden fenitoin (64-66).

GABA reseptörleri ve klor kanallarının inhibe edici etkisi; birinci nesil AEİ'lerde yaygın görülen diğer etki mekanizmasıdır. GABA agonistleri, katyon akışını değiştirmek yerine klor kanallarını açarak nöronu hiperpolarize ederek aktive edilmiş nöronların depolarize durumunu ortadan kaldırır (64).

Voltaj kapılı potasyum kanalları; bu kanallar, hücre zarını repolarize eder, nöronlarda input-output arasındaki dengeyi modüle ederek uyarılabilirliğin kontrolünü sağlar. K^+ kanallarının açılması nöronal uyarılabilirliği baskılamaktadır (67).

Kalsiyum kanal blokajı; kalsiyum kanalları presinaptik nöronlarda belirgindir ve nöronal depolarizasyonda rol oynar. Kalsiyum kanalları birçok farklı alt tipe sahiptir. Yüksek voltajla aktive olan (YVA) kanalları, güçlü depolarizasyonlara yanıt vermekte ve hem pre-sinaptik nörotransmitter salınımında (N-, P / Q- ve R-tipi) hem de somatodendritik seviyede (L-tipi) sinaptik inputların işlenmesinde rol oynamaktadır. Aksine, düşük voltajla aktive olan kanallar, istirahat membran potansiyelinde veya istirahat potansiyelinin de altında orta düzeyde depolarizasyonlara yanıt olarak açılır ve geçici (t-tipi) akımlara yol açarlar (68). Özellikle talamusta yer alan t-tipi Ca^{+2} kanallarının jeneralize absans epilepsisinde rol oynadığı düşünülmektedir. Valproatın, bu t-tipi Ca^{+2} kanallarında benzer aktiviteye sahip olduğu görülmekte olup ve absans nöbetleri önlemede etkili olduğu belirtilmiştir (69). Ayrıca, yeni nesil AEİ olan levetirasetamin (LEV) temel etki mekanizmasının dışında, N-tipi Ca^{+2} akımlarına kısmi bir blokaja sebep olduğu da ortaya konulmuştur (70).

2.2.1.1. Valproik Asit

Valproik asit, “sodyum valproat” etken maddesi içeren uzun süreli klinik geçmişi olan, geniş spektruma sahip birinci nesil AEİ’lerdendir. Hem iyon kanalları hem GABA düzeyinin değişimini kapsayan etki mekanizmasına sahiptir. GABA, beyindeki nöronlar arasındaki uyarı iletimini inhibe ederek sakin hissetmemizi sağlayan amino asit ve nörotransmitterdir. Voltaj kapılı Na^+ kanallarını bloke ederek ve Ca^{+2} bağımlı potasyum kanal iletkenliğini etkinleştirerek sürekli tekrarlayan yüksek frekanslı uyarılmayı azaltmaktadır. Valproik asit, %90 oranında plazma proteinine bağlanma özelliğine sahiptir. Bu sebepten, plazma proteinine afinite gösteren diğer ilaçların yerini alabilmekte ve etkinliklerini azaltmaktadır. Valproik asit, sitokrom P450 sistemini inhibe eder ve bu sistem aracılığıyla metabolize edilen AEİ düzeyini artırır.

Genel olarak, jeneralize, tonik-klonik, miyoklonik, absans ve parsiyel gibi epileptik nöbet tiplerinin tedavisinde kullanılmaktadır (71). Sadece epilepsi değil; antikonvülsan, bipolar bozukluklarda, nöropatik ağrı ve şizofreni gibi farklı tedavilerde de kullanılmaktadır. Psikiyatrik ve nörolojik bozukluklardaki kullanımına ilişkin olarak pre-klinik ve klinik çalışmalar sonucunda VPA’nın dopaminerjik ve serotoninerjik iletimi modüle ettiği

bulunmuştur (72, 73). 1970'ten beri teratojen olduğu kabul edilmiş olup VPA'nın bu yönüne ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Hamilelik sırasında özellikle ilk trimesterde kullanımı, genel olarak "fetal valproat sendromu" olarak adlandırılan çoklu doğum kusurlarına neden olabilmektedir. Bu durumun temel sebeplerin biri de VPA'nın, plasentadan geçip bir dizi konjenital anormalliklere neden olabilmesidir (74, 75). Elli yıllık geçmişe sahip olan ve hala nöbet önlemede kullanımına gereksinim duyulan VPA; jeneralize veya fokal nöbetleri olanlar için güvenli bir intravenöz seçenektir. Epilepsi dışında, migren profilaksisinde anti-nosiseptif olarak ve daha da ilginç son çalışmalarda kanser tedavisinde pozitif bir kemoterapi modülatörü olarak geniş etki potansiyeli yönüyle dikkat çekmektedir (76).

2.2.1.2. Fenitoin

Yaklaşık 1939'da "Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi" (FDA) fenitoinin epilepsi tedavisinde kullanılması için onay vermiştir. Etken maddesi "fenitoin sodyum" olarak bilinen bu AEİ'nin genel etki mekanizması; voltaj bağımlı Na^+ kanallarının dinlenme durumuna dönme hızını yavaşlatarak, nöronal refrakter periyodu uzatmak için Na^+ kanalının inaktive edilmiş durumunu uzatır. Böylece, membranın elektriksel uyarılabilirliğini azaltarak, sonuçta membran stabilizasyonunu sağladığı bildirilmiştir. Fenitoinin, voltaj bağımlı Na^+ kanallarına etkisi antikonvülsan özelliğini ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, nöronları hızla inaktive olmasını sağlayan (T-tipi) Ca^{+2} kanallarını inhibe ederek; sinapta Ca^{+2} 'a bağımlı bir mekanizma olarak nörotransmitter salıverilmesi ve postsinaptik yanıtları etkileyebilmektedir. Ayrıca, yüksek voltajla aktive olan Ca^{+2} kanallarını bloklayarak presinaptik nörona Ca^{+2} iyon girişini azaltır ve böylece glutamat salınımını inhibe etmektedir. Esas antiepileptik etki mekanizması ise, nöronal hücre membranlarının fonksiyonunu stabilize ederek ve inhibitör nörotransmitterlerin; serotonin (5-HT) ve GABA seviyelerini arttırarak gösterdiği düşünülmektedir (77).

Kısıtlı terapötik özelliğine rağmen fenitoinin güncel kullanıldığı endikasyonlar; jeneralize tonik-klonik nöbetler, kompleks parsiyel nöbetler, status epileptikus, trigeminal nevralji ve davranış bozukluklarıdır. Oral formda fenitoin kullanımı nöbet önlemede yeterli olmadığı; konvülsif status gibi akut nöbet durumlarının tedavisinde daha etkin potansiyele sahip olması yönünden intravenöz formu iyi bir seçenek olabilmektedir (78). Fenitoin, plazma proteinine yüksek oranda bağlanma (%85-90) yönü ile valproik asitle benzer farmakokinetik özelliğe sahiptir. Ayrıca, hidrosilaz enzimleri ile karaciğerde büyük oranda metabolize edilmektedir. Özellikle gebelik sürecinde, serum-fenitoin konsantrasyonlarında

azalma, genellikle ilk trimesterde başlamakta ve üçüncü trimesterde daha belirgin hale gelmektedir. Bu nedenle, gebelik sürecinde etkin doz miktarının ayarlanması ve takibi oldukça önemlidir (79).

2.2.2. Yeni Nesil (İkinci Nesil) Antiepileptik İlaçlar ve Etki Mekanizmaları

Bazı yeni nesil AEİ'ler klasik anti-epileptik olan birinci nesile göre daha düşük ilaç etkileşim potansiyeline sahiptir. İlaç etkileşimlerinin ve yan etkilerinin daha az görülmesi ayrıca daha az enzim indüksiyonuna sebep olmaları yeni nesil AEİ seçimini avantajlı hale getirebilmektedir. Bununla birlikte birinci nesilin etki mekanizmaları arasında yer alan primer tercih edilen hedef iyon kanallarına (kalsiyum kanal blokajı gibi) da etki eden mekanizmaya sahip olabilmektedirler. İkinci nesil AEİ'lerin başlıca etki mekanizmaları özetlenecek olursa:

Sinaptik vezikül proteini 2A (SV2A) inhibisyonu; Nöronlarda, endokrin hücrelerde ve bağışıklık hücrelerinde bulunan glikoprotein membranında SV2A salgı vezikülleri yer alır. Levetirasetam, SV2A'yı inhibe edebilen birkaç ajandan ilkidir (80). NMDA reseptör blokajı: N-metil-d-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri, membranla ilişkili post-sinaptik kalsiyum kanalları üzerinde etki ederek uyarılmayı baskılar (81). Na⁺ kanal blokajı (yavaş inaktivasyon): Hızlı inaktivasyonu, sıklıkla ateşlenen nöronlar üzerinde etkiye sahip olma eğilimindeyken, uzun süreli depolarizasyona sahip nöronlarda yavaş inaktivasyon meydana gelir. Yavaş inaktivasyon muhtemelen Na⁺ kanalında uzun bir süre içinde gelişen yapısal bir değişikliği içermektedir (82).

GABA transaminaz inhibisyonu; GABA'nın yapısal bir analogu olan vigabatrin, sinaptik boşlukta GABA'nın parçalanmasından sorumlu enzim olan GABA-transaminazı inhibe ederek, inhibisyonda önemli rol oynayan GABA konsantrasyonlarını artırır (83, 84).

Ca⁺² kanal blokajı; Gabapentin gibi pregabalin de SSS'deki voltaj kapılı Ca⁺² kanalının alfa2d alt birimine bağlanır. Pregabalin, glutamat (uyarıcı nörotransmitter), noradrenalin ve P maddesi gibi nörotransmitterlerin salınımını azaltarak inhibisyon yönünde etki oluşumu sağlar (85).

2.2.2.1. Levetirasetam

Yaklaşık 2000 yılından günümüze kadar kullanılmakta olan döneme ait yeni nesil AEİ sınıfında yer alan levetirasetam; epilepsi tedavisinde tıbbi olarak kullanılan rasemik bileşik etirasetamın (S)-enantiyomeridir. Fokal veya parsiyal nöbetler için (özellikle

yetişkinlerde ve dört yaş ve üstü çocuklarda) yardımcı tedavi, miyoklonik nöbetlerin (12 yaş ve üstü hastalarda) ve yetişkinlerde ve çocuklarda (altı yaş ve üstü) primer tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde esas tedavi ajanı olarak kullanılmaktadır (86, 87).

FDA, 2006 yılında intravenöz LEV'i, oral formülasyonun nöbet kontrolünde başarılı olmadığı durumlarda 15 yaşından büyük hastalarda kullanımı için onay vermiştir. Etki mekanizmasının temelde diğer AEİ'lerden farklı olması ve kimyasal etkileşiminin nispeten az olması epilepsi tedavisinde LEV'i bir adım öne taşımaktadır. LEV, kısmi oranda plazma proteinlerine bağlanmakta olup büyük oranda böbrekler tarafından atılmaktadır. LEV'in, öne çıkan ve en önemli özelliğinden biri olan kategorisi "C sınıfına" sahip olan bir AEİ olmasıdır yani teratojenik olmayan gruptadır. Gebeler için güvenilir profile sahip LEV'in, trimesterde maternal serum seviyeleri önemli ölçüde düşebilmekte ve klirensi gebelikte belirgin olarak artmaktadır. Bu sebeple gebelikteki uygun doz kararı oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalar sonucu LEV'in maternal kullanımını takiben hiçbir önemli konjenital anormallik bildirilmemiştir (88).

Nörogelişimsel yönü ile ilgili yapılan hayvan çalışmalarında; terapötik kullanılan dozların üzerinde bile nöronal apoptozu indüklememesi ve LEV dahil olduğu genel politerapi ilaç kullanımında nöronal apoptozun indüklenmemesi gibi iki önemli pozitif etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu avantajı, gebelerde kontrol altına alınamayan epileptik nöbetlerin önlenmesinde LEV'in potansiyel bir ilaç olabileceğini göstermektedir (89, 90).

Birinci nesil bir AEİ olan VPA ve LEV ile ilgili çalışmada; normal populasyonla karşılaştırıldığında LEV maruziyeti olan çocuklarda gelişimsel olarak aralarında bir fark olmadığı, fakat VPA maruziyeti olanların, LEV'dekilere kıyasla gelişimlerinin geri olduğu saptanmıştır. LEV'in tüm güvenilir profili göz önüne alındığında, hassasiyet gerektiren idiopatik jeneralize epilepsili ve doğurganlık çağındaki kadınlar için diğer AEİ'ler arasında ön plana çıkmaktadır (91, 92).

LEV'in etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, SV2A'ya bağlanarak vezikül içinde depolanan nörotransmitterin salınmasını modüle ettiği öne sürülmüştür (93). Yapılan *in vitro* çalışmalarda ise N-tipi Ca^{+2} kanallarını kısmi olarak bloke ederek intranöral depolardan Ca^{+2} salınımını azalttığı görülmüştür. Ayrıca, AP'ni membran dinlenim potansiyeline stabilize eden bu modülasyonda görevli olan içeri doğrultucu potasyum kanalları "*Ing*: inwardly rectifying potassium channels" (Kir kanalları) ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. LEV'in, Kir kanallarında K^{+} akımlarını azaltarak, tekrarlayan yeni AP oluşum

frekansının azalmasına ve oluşan AP süresinde hafif bir uzamaya yol açtığı düşünülmektedir (94-96).

LEV'in geniş etki spektrumu ve özellikle güvenilir yan etki profili farklı klinik durumlar için de kullanımına olanak sağlamıştır. Bununla ilişkili olarak yapılan deneysel çalışmalardan biri de sıçanlarda duyuşal nöronların uyarılabilirliğine etkisinin incelenmesidir. Elde edilen bulgular sonucunda, potasyum kanallarının aktivasyonunu ve Ca^{+2} girişinin inhibisyonunu içeren mekanizması ile ağrı tedavisi modülasyonunda LEV'in anti-nosiseptif etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (97).

Bir başka çalışmada da *in vivo* davranış testleri sonucunda, nöropatik ağrıda terapötik etkisini düşündüren bir anti-hiperaljezik etkiye neden olduğunu göstermektedir (98). Bunun yanı sıra, LEV'in antikonvülsif olarak kullanımına ilişkin çalışmalar da yapılmıştır. Levetirasetam varlığında hücrede asidifikasyon geliştiğı ve bu asitleşmenin muhtemelen Na^{+} 'a bağımlı klor/bikarbonat (Cl^{-} / HCO_3^{-}) değış tokuş pompasının blokajıyla hücre dışına atılamadığı bu nedenle hücre içi pH'yi düşürdüğü düşünülmüştür (99).

Yukarıda bahsedilen deneysel çalışma sonuçlarına benzer olarak LEV de dahil olmak üzere tüm AEİ'lerin epilepsi hakkında bilinenlerin çoğı deneysel hayvan modellerinden sağlanmıştır. Gerek etik sınırlılıklar gerek epilepsinin tetiklendiğı bölgenin incelenmesindeki kısıtlılıklar deneysel hayvan model kullanımını gerekli ve değıerli kılmaktadır. Deneysel araştırmalar sonucu elde edilen bilgiler ışığında klinik kullanıma yönelik kısa zamanda prelinik bilgi elde edilmesi kazanımlarını arttırmaktadır.

2.3. Deneysel Epilepsi Hayvan Modellerine Genel Yaklaşım

Epilepsi, epileptojenik birçok parametre (genetik, nörolojik ve psikolojik gibi) ile karakterize büyük oranda hasta popölasyonuna sahip, halen daha radikal tedavi seçeneğı olmayan ve vücut fizyolojisine uyumlu güvenilir kullanıma sahip ajan seçeneğı oldukça kısıtlı bir hastalıktır. Genelde farmakoterapi ile tedavi seçeneğı primer seçenek olarak yer almaktadır. Ayrıca, vagus sinir stimölasyonu gibi bir diğeer tedavi seçeneklerinden biri olan cerrahi tedaviye epileptik hasta profilinin uygunluğunun sınırlı olması nedeniyle AEİ tedavisi ön plana çıkmaktadır.

Günümüze kadar olan süreçte birçok deneysel epilepsi modeli geliştirilmiştir. Bunlar hayvanlarda fiziksel ve mekaniksel eksitatörler (elektriksel, basınç, soğuk), konvülsan ajanlar, cerrahi lezyonlar gibi bir uygulama sonucu oluşan modeller olup insana benzer

niteliğe doğuştan sahip olma imkanı sunan genetik modeller ise kendiliğinden oluşmaktadır. Genetik hayvan modellerine genel olarak bakıldığında; belirli bir zaman dilimi sonrasında nöbet oluşumuna neden olabilecek herhangi bir ajan uygulaması veya müdahale yapılmaksızın kronik insan epilepsisine benzeyen bir patofizyoloji ile spontan nöbet oluşumu ve davranışlarının olduğu ideal araştırma modelini yansıtan özellikte olduğu düşünülmektedir. Ayrıca cerrahi uygulama ile yapılan araştırmalardaki gönüllü hastalarda, bazı cerrahi olarak müdahale ile invaziv kayıtlara veya eksizye edilmiş dokulara hastalardan neredeyse hiç erişilememesi ve bu alt yapının insanlarda araştırılmasının kısıtlılığına potansiyel seçenek olmasıdır.

Sonuç olarak, malesef halen daha yeni terapötik tedavilerin varlığında bile epilepsi popülasyonunun önemli bir kısmı kontrol altına alınamayan nöbetlerle muzdarip yaşamaktadır. Birçok ilaç kategorisinde olduğu üzere, AEİ'lerin geliştirilmesinde hayvan modelleri kullanılmakta ve güvenilirlik-etki potansiyeli ilişkisi öngürüsüne göre gönüllü hasta popülasyonuna uygulanmaktadır. Bu nedenle epilepside genetik hayvan modelleri kullanılarak elde edilen prelinik veriler nöbet kontrolünde sıkça kullanılan AEİ'ler için de optimum kullanım stratejisi oluşturabilmenin önemli parçasıdır.

Tez çalışmasında, araştırma konumuza uygunluğu ve araştırma için seçilmiş AEİ uygulaması ile elde ettiğimiz prelinik bulguların klinik yaklaşımda uyumu için genetik model olan absans tipi nöbet ve/veya jeneralize genetik epilepsi karakterine sahip WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo from Rijswijk) ırkı sıçanlar kullanılmıştır.

2.3.1. Jeneralize Absans Epilepsi Hayvan Modelleri

20. yüzyılın ikinci yarısından bu zamana kadar, insan epilepsisinin özelliklerini taklit eden doğuştan spontan nöbetlere sahip genetik epileptik sıçanlar (kemirgen), epilepsinin patogenetik mekanizmalarını ve potansiyel terapötik hedeflerini incelemek amacıyla kullanılmaktadır (100). Kemirgen olmayan türler de nöbetleri ve epilepsiyi incelemek için kullanılmıştır. Doğal olarak ortaya çıkan veya uyarılmış epilepsiye sahip kediler ve köpekler, AEİ'leri ve tedavileri test etmek için kullanılmıştır (101, 102). Ancak insan epilepsisinin kendiliğinden ve tekrarlayan nöbetlerini taklit edemedikleri için kullanımı kısıtlı kalmıştır. Absans tipi nöbet; ani başlayan-sonlanan, kısa süreli, hafif motor bulguların görüldüğü ve “farkındalık kaybı” ile karakterize olan jeneralize nöbetlerdir. Elektroensefalografide (EEG) iki taraflı, senkron, simetrik, 3-4 Hz diken-dalga deşarjları

(DDD) görülür, temel aktivite normaldir. Bu deşarjlar ortalama 10-20 saniye olup gün içinde sıkça, uyku-uyanıklık arasındaki dönemde ve dinlenme sırasında oluşmaktadır (103).

1980 yıllarında, epilepsi ile ilgili çalışan Fransız araştırmacılar Vergnes ve Marescaux yetiştirdikleri Wistar ırkı sıçan grubunun belirli bir kısmında farklılıklar olduğunu gözlemlemiş; bilateral ve tüm kortekste görülen senkronize diken ve yavaş dalga deşarjlarına sahip olduğunu yaptıkları araştırma sonucu ortaya koymuşlardır (104). Sıçanların bu deşarjlar sırasında, hareketsiz durduklarını ve bu epizotların insanlardaki jeneralize, konvülsif olmayan absans veya “petit-mal” epilepsisi nöbetlerine benzediğini gözlemlemişlerdir. Fakat, bu sıçanların tümünde bu tip deşarj görülmediği için, DDD olanları seçip çiftleştirerek bu özellikteki sıçan sayısını arttırıp, birkaç nesil sonrasında tüm hayvanlarda DDD görüldüğü bir suş elde etmişlerdir (105).

İlk olarak 1982 yılında, GAERS (Genetic Absence Epileptic Rats from Strasbourg) keşfedilmiş (104) ve bundan dört yıl sonra ise, WAG/Rij ırkı sıçanlar rapor edilmiştir (106). Tipik absans nöbeti ve/ veya jeneralize genetik epilepsi özelliklerine sahip ve deneysel araştırmalarda sıkça kullanılan modeller; kalıtsal olarak absans tipi nöbetler (non-konvülsif, spontan diken ve yavaş dalga deşarjlar ile karakterize olan GAERS ve WAG/Rij ırkı sıçanlar genetik hayvan modelleridir. Genetik hayvan epilepsi modellerinin diğer hayvan modellerine kıyasla öne çıkan avantajı, nöbetlere yol açan spontan veya indüklenmiş genetik modifikasyonların yani epilepsinin nesilden nesile aktarımının olduğu insandaki epilepsi sürecine en yakın model olabilmesidir (107).

WAG/Rij genetik epileptik sıçanlar, kortikal EEG kaydında spontan, bilateral ve senkron diken-dalga deşarjları gösteren Wistar ırkı sıçanların “inbred” (kardeşleri ile çiftleştirilmesi) yoluyla üretilmesi ile elde edilmiş genetik absans epilepsi yatkınlığı oluşturulmuş bir suştur. WAG/Rij sıçanların epileptik olmayan (normal) benzerleri, normal (outbred) çiftleştirme ile olan Wistar ırkı sıçanlardır. WAG/Rij ve GAERS Sıçanları absans epilepsinin kanıtlanmış genetik modelleridir. EEG’deki DDD’ler dahil benzer özellikleri paylaşırsalar da GAERS suşu sıçanların maksimum sayıdaki verilen uyarıya rağmen jeneralize nöbetlerin görüldüğü 3-5. evre seviyesine ulaşamadıkları ve WAG-Rij suşu sıçanların ise %57’ sinin 3-5. evre seviyesine ulaştığı ayrıca 2. evre seviyesinde kalanlarda ise DDD sürelerinin kindled olanlara kıyas ile daha uzun olduğu yapılan deneyler sonucu görülmüştür (108). DDD’ler genellikle “davranış durması” olarak adlandırılan yani hayvanların faaliyetlerinin kesintiye uğradığı durum ile ilişkilidir. Hem WAG/Rij hem de

GAERS sıçanlarda bıyık tüylerinin ve/veya çene kaslarının ritmik şekilde seğirmesi sıklıkla gözlemlenmekte olup, DDD'ler sırasında da boyun kas tonuslarının azaldığını (baş kısmında sallanma) ve sonunda tekrardan normale döndüğü görülmüştür (109-111). İfade edilen bu fonksiyonel ve yapısal değişimlerin tümüne benzer, DDD spontan nöbetler süresince insandaki absans epilepsiye eşlenik patogenezi yansıtan farklılıklar görülmektedir.

İyi bir epilepsi hayvan modeli, onu insandakine benzer şekilde en iyi taklit edebilen ona en yakın model olabilmesi için; benzer nöropatoloji ve etiyoloji, spontan nöbet, tetikleyici etken sonrasında latent dönem ve benzer nöbet karakteristiklerini yansıtabilmelidir (100, 112). WAG/Rij sıçanların sahip olduğu absans epilepsi belirli modulator aktivasyon ile ortaya çıkan bir dizi patofizyolojik süreci içermekte olup bu süreç insandaki absans epilepsi formuna optimum benzerlik göstermektedir. Bu sebeple tez çalışmasında genetik epileptik olan WAG/Rij hayvan modeli kullanılmıştır.

Genetik hayvan modelleri, epilepsiye neden olan tetikleyici olayı takiben birçok genin aktive olduğu, akut ve nöronal hasarla beraber, aksonal ve dentritik plastisitenin gerçekleştiği bir sürece olanak tanınması nedeniyle insanda görülen epilepsi nöropatolojisini ve etiyolojisini en yakın şekilde yansıtan insanın ideal modeli olduğu belirtilmiştir (113).

2.3.1.1. WAG/Rij Sıçanların Fizyolojisi

Wistar kökenli bir ırk olan WAG/Rij, jeneralize absans epilepsisinin yaygın olarak kullanılan ve onaylanmış bir genetik modelidir (107). Bu suşa ait 2-3 aydan büyük tüm sıçanların kortikal EEG'sinde eşzamanlı ve bilateral DDD'ler (7-10 Hz) gelişmeye başlar. Elektrofizyolojik belirtilere ek olarak, insan absans epilepsisinde olduğu gibi bu DDD varlığına eşlik eden davranışsal farklılıklar; bıyık seğirmesi epizodları ve hızlı nefes alma, baş kısmının eğilmesi ve sıklıkla insan absans epilepsisinde olduğu gibi göz seğirmesi ve uyku deprivasyonu ile DDD'ların tetiklenmesi, absans nöbetlerin EEG bulguları sırasında istemli hareket potansiyeli ve cevap düzeyinde azalma, AEİ'lere cevap, beyin sapı ve ön beyin yapılarınca modüle edilen kortiko-talamo-kortikal döngünün tutulumu gibi bulgularla göstermektedirler (114-116).

Genetik epilepsi modeli olan WAG/Rij'da insandakine benzer olarak belirli nöbet frekansı ve başlangıç yaşına sahiptir ve başlangıç yaşı tüm (erkek ve dişi) WAG/Rij sıçanlarda puberte dönemi yani genel kabul olarak yaklaşık altı aylıkken EEG'de ortalama beş saniye süreli (1-30 saniye aralığında), saatte 16-20 deşarj olacak şekilde DDD larının olduğunu göstermektedir. Zaman içinde sıçanlarda da nöbetlerde artış görülebilmekte olup

bu insandaki dirençli epilepsi formuna benzemektedir (117). DDD'lerin uyuşukluk ve hafif yavaş dalga uykusu sırasında ortaya çıkma eğilimi, insanlarda gözlemlenenlere çok yakındır. WAG/Rij dahil olmak üzere cinsiyete ilişkin duruma ilgili yapılan çalışmalar, absans epileptik hayvan modellerinde fenotipte görülen semptomların cinsiyete bağlı net bir etkisinin olmadığı görülmüştür (118, 119).

Genetik bir absans epilepsi modeli olan WAG/Rij sıçanların, epileptik olmayan sıçanlara kıyas ile farklılıkların var olup-olmadığını test etmek için birkaç çalışma gerçekleştirilmiştir. WAG/Rij sıçanlarda yapılan bu çalışmada, HCN1 kanal ekspresyonunun azalmakta olduğu bulunmuştur. Neokortikal HCN1 işlevinin bu kaybı, kortikal uyarılabilirliğin artmasına neden olduğu saptanmıştır (120-122). Absans nöbetlerinin ortaya çıkmasını tetikleyen çalışmalar, T-tipi Ca^{+2} akımlarının aktivitesi ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmada, hem WAG/Rij hem de GAERS'de T-tipi Ca^{+2} kanalının dalga amplitüdünde artış olduğu tespit edilmiştir (123, 124).

Sonuç olarak, WAG/Rij sıçanların geçmişten itibaren epileptik model olarak incelendiğinde absans epileptogenezini yansıtmaya potansiyeli yüksek bir hayvan modeli olduğu belirtilmiştir (125).

2.3.1.2. WAG/Rij Sıçanlar İçin Kontrol Olarak Wistarlar

Epilepsi patofizyolojisindeki olaylar bütününün açıklanmasında kullanılan epilepsi modelleri sıklıkla hayvan modelleri bir wild tipi veya bir diğer inbred kontrol soyu veya özel bir "line" ile karşılaştırılır. Araştırmalarda ideal kontrol ırkını kullanmak oldukça önem taşımaktadır. WAG/Rij, absans epilepsinin yaygın olarak kullanılan ve onaylanmış bir genetik modeli olup esas olarak Wistar ırkından köken alan bir ırktır (107). Bu nedenle WAG/Rij sıçanların inbred edilerek üretildikleri aynı ata soyu olan Wistar Albino sıçanları kontrol olarak seçilmesi uygun görülmüştür. İdeal olan, kontrollerin WAG/Rij sıçanlara benzer genetik zemine sahip olup absans epilepsi semptomları olmayan WAG/Rij sıçan kolonisi olmasıdır. Ancak, DDD olmayan WAG/Rij olmamasıyla beraber çalışmada sadece absans epilepsisi olan WAG/Rij sıçanlar ve herhangi bir epileptik nöbet bozukluğu olmayan yani fenotip olarak nöbetsiz Wistar ırkı sıçanlar kullanılmıştır.

2.4. Düz Kas Fizyolojisi

Düz kaslar, vücudun birçok yerinde bulunabilen, çoğu kan damarları (vasküler düz kas) veya hava yolu gibi içi boş organların duvarlarında bulunan istemsiz (otonom) kasılan

iğ (mekik) şekline hücrelerden oluşan bir morfolojiye sahip dokulardır. Tek çekirdekli ve iskelet kasına oranla düz kas daha az mitokondri sayısına sahiptir. Hücreler, filamentler (ince, kalın ve orta), yoğun cisimler ve yoğun bantlar biçiminde karmaşık bir yapısal ve kasılma protein ağı içerir. Bu yapıların tümü dokunun kasılma işlevinde önemli role sahiptirler. Düz kas hücrelerinin plazma zarlarında hücre bağlantıları ve kaveol gibi önemli yapısal özellikler bulunur. “Kaveol” adı verilen cep şeklindeki bu yapılar, hücre sarkolemmasında uzunlamasına sıralanmış halde bulunurlar. Düz kasta, iskelet kasındaki T tübüllerinin yerine “kaveol” yapısı yer almaktadır. Kaveol içindeki plazma zarı bölgeleri, çok sayıda zar reseptörü (muskarinik ve adrenerjik reseptörler dahil), ikincil haberci (fosfolipaz C gibi), G proteinleri, kinazlar ve birbirine yakın iyon kanalları içerir. Böylece bu yapı, kasılma dahil olmak üzere hücrenin aktivitenin düzenlenmesi için özel bir alan yaratır (126, 127).

Hücreler arasında yer alan yarık bağlantı bölgelerine ise gap kavşakları (Ing: “gap junction”) denilmektedir. Gap kavşakları düşük dirence sahip, paralel membranlar arasında yalnızca 2-4 nm’lik bir boşlukla bitişik hücreler arasındaki iyonik/elektriksel bağlantıyı sağlamaktadır. Bu küçük boşluk, iki hücrenin sitoplazmasını birbirine bağlayan iyonik kanallar oluşturmak için her hücre zarı üzerindeki konneksinlerin (altı konneksin dairesel bir dizisi) eşleşmesine izin verir. Gap kavşakları denilen bu yarık bağlantılar, AP’nin bir hücreden diğer hücrelere iletilmesini (sinsityal ileti) sağlarlar (128, 129).

Düz kas hücrelerinin sitoplazması boyunca dağılmış ve α -aktin bakımından zengin olan yapılar “yoğun cisimler” olarak adlandırılır. Ara filamentlere ek olarak, ince (aktin) filamentlerle birleşirler; aktin ile yoğun cisimlerin α -aktinin arasındaki bu ilişki, çizgili kaslar içindeki Z çizgilerinde görülenle çok benzerdir. Aktin filamentler, alfa aktinin ile yoğun cisimlere bağlanır (130, 131). İnce / aktin filamentler, düz kas hücrelerindeki kasılma mekanizmasının bir parçasıdır. Aktin filamentleri; tropomiyozin, kalponin, kaldezmon ile ilişkilidir. Düz kas hücrelerinde iki ana iplikli aktin grubu vardır. İlk grup α ve γ aktinden oluşur ve ince filamentleri oluşturur; bu, kasılma sırasında miyozin filamentleri boyunca kayma hareketi yapar (132). β -aktin ise, plazma zarının altında bulunan yapısal bir hücre iskeleti proteindir. Kasılma sırasında mekanik gerilimde ayrılmaz bir rol oynadığı düşünülmektedir (133, 134). Miyozin, aktinlerin arasında dağılmış şekilde bulunan, aktine bağlanma afinitesi ve ATPaz enzim aktivitesine sahip büyük bir motor protein ailesini kapsar. Sınıf II miyozin, insan kas hücrelerinde bulunan miyozindir. İç içe geçmiş iki

miyozin ağır zincir (MAZ) molekülü ve dört miyozin hafif zincir (MHZ) molekülünden oluşan bir heksamerdir. Aktin-miyozin etkileşimi ile “aktomiyozin” yapısı oluşturarak “kasılma-gevşeme” mekanizmasını modüle eder. Düz kasta, iskelet kasında kasılmada önemli rol oynayan troponin yer almamaktadır. Bu yapının yerine benzer işlev gösteren “kalponin ve kaldesmon” yapıları yer alır. Kalponin, aktine bağlanıp miyozin ATPaz aktivitesini inhibe eden bir moleküler anahtar işlevi görür. ATPaz aktivitesinin inhibisyonu ile aktin kayması da inhibe olur. Kalponinin, protein kinaz C (PKC) ile fosforilasyonu ise bu inhibe edici etkiyi azaltarak aktomiyozin aktivitesine eğilimini artırır.

Düz kas kasılması için en önemli protein, kalsiyum bağlayıcı protein olan kalmodülindir. Kalmodulin, Ca^{+2} ’a bağlandığında kasılmayı tetiklemek için miyozin hafif zincir kinazı (MHZK) aktive ederek çapraz köprü döngüsünü ve kuvvet gelişimini etkinleştirir. Kasılma işlevi dahil olmak üzere Ca^{+2} modülasyonuna aracılık eder (135-137). Bunun yanı sıra düz kasta, hücre içi Ca^{+2} modülasyonunda önemli role sahip Ca^{+2} deposu olarak görev yapan sarkoplazmik retikulum (SR) membran ağı yer alır. Bu yapıda 2 önemli Ca^{+2} iyon kanalı bulunur: 1. Bazı hormon faktörlerinin etkisiyle inozitol-1, 4, 5 trifosfat (IP_3) ile aktive edilen “ IP_3 kapılı Ca^{+2} kanalı” 2. Hücre içinde serbest Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasıyla aktive olan “riyanodin reseptörü (RZR)” dır (138).

Düz kaslar fonksiyonel olarak tek birimli (üniter) ve çok birimli düz kaslar olmak üzere iki gruba ayrılır. Toplu şekilde, birlikte kasılabilen düz kas hücreleri tek birimli düz kaslardır. Tek birimli düz kaslara mide, ince bağırsak, uterus, üreter gibi içi boşluklu yapıya sahip organ duvarlarında bulunurlar (139). Çok birimli düz kaslar, her hücrenin bağımsız olarak yanıt özelliğine sahip olduğu birbirinden ayrı kas liflerinden oluşur. Büyük arter duvarları, tüylerin dikleşmesinde rol oynayan piloerektör kaslar, bronş kasları ve gözde bulunan siliyer ve iris kası çok birimli düz kaslardan oluşur.

2.4.1. Düz Kaslarda Kasılma ve Gevşeme

Düz kas hücresinde kasılmada esas rol oynayan Ca^{+2} iyonun hücre içi bağlı konsantrasyonu 10^{-7} M’dir. Hücre içi serbest Ca^{+2} iyon konsantrasyonu 10^{-5} M’a yükseldiğinde kasılma başlar. Yani temel olarak kasılmayı tetikleyen faktör, hücre içi serbest Ca^{+2} konsantrasyonu artmasıdır. Hücre içi serbest Ca^{+2} artışı; AP, lokal faktörler (iyon konsantrasyonu, asidite gibi), nörotransmitterler, hormonlar, lif zarındaki spontan elektriksel aktivite, gerim gibi tetikleyici uyarılar sonucu ekstraselüler Ca^{+2} iyonlarının miyoplazmik Ca^{+2} iyon konsantrasyonunu arttırması ile oluşabilmektedir (140, 141). Uyarının

düzenlenmesi temel olarak kasılma proteinleri olan aktin ve miyozinin kimyasal veya mekanik uyarımlar ile aktif rol oynar. Kimyasal uyarı herhangi bir agonistin (histamin gibi) G-protein-bağlı-reseptöre (GPBR) bağlanması sonucunda fosfolipaz C (FLC) aktivitesini uyarır. Bu duruma paralel olarak, kalsiyumun hücre dışından Ca^{+2} duyarlı reseptör kanalları ile ve voltaj kapılı L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığıyla hücre içine girişi olur. FLC, membran fosfolipidi olan fosfatidil inositol 4,5-bifosfat (PIP_2) için spesifik bir enzimdir ve onu iki farklı ikincil haberci moleküle hidrolize eder; inositol-1, 4, 5 trifosfat (IP_3) ve diaçil gliserol (DAG). DAG, Ca^{+2} iyonları ile birlikte aktin-miyozin çapraz köprüsünü destekleyen aktin bağlı kalponine ek olarak, dokuya özgü hedef proteinleri fosforile eden PKC'yi aktive eder. IP_3 ise, SR'daki IP_3 'e duyarlı reseptörü olan IP_3 -kapılı Ca^{+2} kanallarını açarak SR'den hücre içine kalsiyum salınımını uyarır. Bu hücre içi artmış Ca^{+2} , dört Ca^{+2} iyonuna bağlanan kalsiyum bağımlı sitozolik protein olan "kalmodülün"ün aktivasyonunu tetikler (142). Sitozoldeki Ca^{+2} artışı ile oluşan "Ca-kalmodulin" kompleksi ise MHZ'yi fosforile ederek, aktin-miyozin çapraz köprüleme mekanizmasındaki anahtar bir enzim olan MHZK'yı aktive eder. MHZ'nin fosforilasyonu, miyozin başları aktine bağlanır (çapraz köprü bağlanması), döngü ve hücre içinde kuvvet gelişimi kasılma ile sonuçlanır (143, 144).

Düz kasın gevşemesi için öncelikle hücre içindeki serbest Ca^{+2} iyon düzeyinin dinlenme durumundaki seviyeye düşmesi gerekir. Miyoplazma içerisindeki Ca^{+2} iyonu, büyük oranda SR membranında yer alan Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) pompaları ile SR'ye geri alınarak, hücre membranında bulunan plazma membran Ca^{+2} -ATPaz (PMCA) ve kısmen de Na^{+} - Ca^{+2} değişim pompası ile hücre dışına uzaklaştırılır (145). Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun azalarak istirahatdaki seviyeye yaklaşması sonucu MHZ, miyozin fosfataz enzimi tarafından defosforile edilir. Bunun sonucunda, Ca^{+2} -kalmodulin kompleksi ayrılır ve miyozin defosforile olur böylece gevşeme meydana gelir (146).

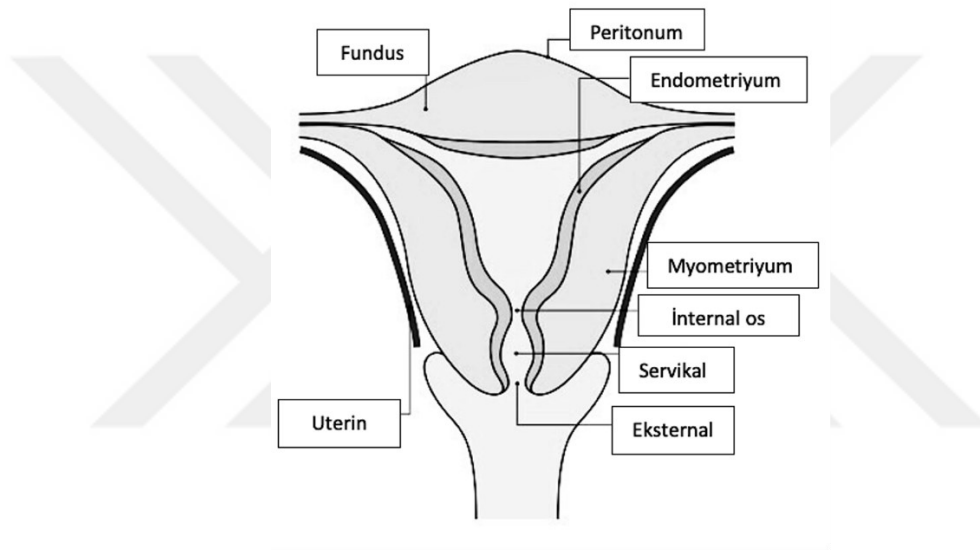
2.5. Uterus

Dişi üreme sisteminin major organı olan uterus; gebelik, mensturasyon ve doğum süreci gibi birçok işlevden sorumlu kompleks mekanizmaya sahip bir kadın üreme organıdır.

2.5.1. İnsan Uterus Fizyolojisi

İnsan uterusu, kalın bir kas duvarına sahip, içi boş armut şekline benzeyen ve memeli üremesinde önemli role sahip organdır. Pelvis bölgesinde yer alıp, rektumun ön kısmında ve mesanenin arkasında olan bir konuma sahiptir (147). Uterusun temel görevi, döllenmiş olan ovumu, doğuma hazır olana kadar barındırmak ve beslemektir. Uterus dört kısımdan oluşur:

fundus, gövde, isthmus ve serviks. Fundus, yumurtalıklarda sonlanan ve fallop tüplerine doğru uzanan geniş kavisli bir bölgedir. Gövde kısmı ise, uterusun fallop tüplerinin altından başlayıp aşağıya doğru uzanan ana kısmıdır. İsthmus, uterus gövdesini uterus giriş kısmına bağlayan alt dar bölgedir. Uterusun en alt bölümü, isthmusdan aşağı doğru uzanan ve vajinaya açılan servikstir (Resim1). Uterus, karın pelvik boşluğunun orta hattında yer alan kalın duvarlı kaslı bir yapıdır. Üç tabakadan oluşur: endometriyum (en iç tabaka), myometriyum (kas tabakası) ve perimetriyum (en dış tabaka). Endometriyumun kalınlığı ve yapısı hormonal uyarıma göre değişebilmektedir (148, 149).



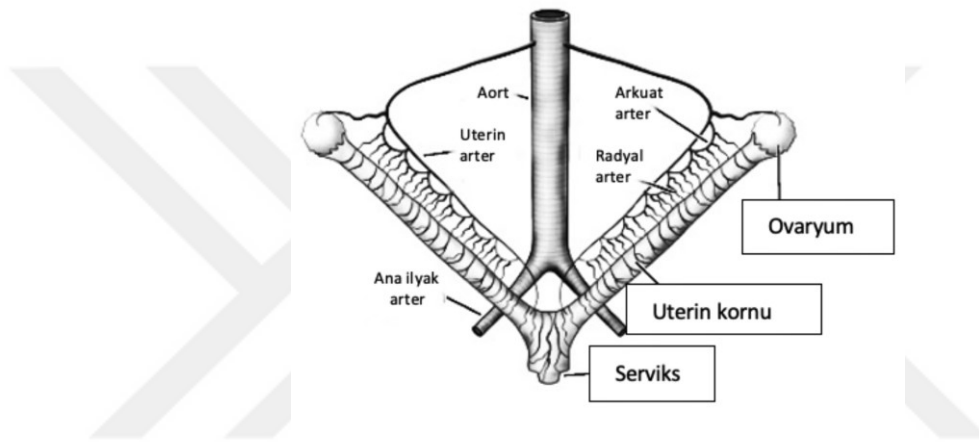
Resim 1. İnsan uterus anatomisi (Osol'dan, 151)

Bağ doku, uterusu karın duvarına bağlar. Geniş bağ doku, uterusun yan kısmını fallop tüpü ve yumurtalık ile birleştirir. Uterin arter, kardinal arterler ve üreter geniş bağ dokusuyla bağlantılıdır. İnfundibulopelvik (IP) bağ dokusu, yumurtalıkları karın duvarına bağlar ve içinde yumurtalık arteri ve ven bulunur. Uterus arteri, uterusu giden kanı sağlayan esas yapıdır. Ayrıca, uterus sempatik ve parasempatik sistem ile sırasıyla; hipogastrik sinir ve pelvik splanknik sinirler yoluyla innerve edilmektedir (150).

2.5.2. Rat Uterus Fizyolojisi

Ratların üreme sistemi; vajina, ovaryumlar, uterus ve meme bezlerinden oluşur. Rat uterusu, servikal uçta tek bir gövdede birleşen iki yan boynuzdan oluşur. İç yüzeyi, endometriyumu oluşturan epitelyal kaplı iç mukozadır. Orta kısım ise, myometriyumun iki

kas tabakasından, iç sirküler ve dış longitudinal tabakalardan ve dış serozal tabaka olan perimetriumdan oluşan kas tabakasıdır. Sağ ve sol kornudan (boynuz) oluşan yani 2 kornu bir uterusu oluşturur ve bu yapıya “bikornuat uterus” adı verilir. İki katmanlı myometriyumdan oluşan rat uterusu, vasküler gevşek bir bağ dokusu tabakası olan stratum vasculosum ile açıkça ayrılır. Bu karakteristik iki boynuzlu Y-şekilli uterus yapısı karın içine kadar uzanır (Resim 2). Böylece rat uterusunda birden fazla fetüs yerleşimine imkan sağlayarak bir batında çok yavrunun doğmasını sağlamaktadır. Ratlarda gebelik yaklaşık 21-24 gün sürmektedir (151).



Resim 2. Rat uterus anatomisi (Osol’dan, 151)

İnsan ve rat gibi memeli canlılarda proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere birbirini takip eden dört evreden oluşup bu menstrüel sikluskı hormonal değışikliklerden başta uterus olmak üzere tüm genital organlar etkilenmektedir. Özellikle kasılmada major rolü olan uterus kas tabakası myometriyum ratlarda, insandakine fizyolojik düzeyde benzer aktiviteye sahiptir. Uterus ile ilgili olarak yıllarca çalışılmış olan ve literatürce kanıtlanmış olan oksitosin hormonu uterus kasılmasını indükleyen biyokimyasal özelliğe sahiptir. Yapılan çalışmalarda, oksitosin gebe ve gebe olmayan her iki süreçte de hem insan hem rat uterusunda benzer şekilde belirgin olarak uterus kasılmasına etki etmiştir. Tez çalışmamız da dahil olmak üzere özellikle uterus kasılmasına ilişkin çalışmalarda OT indükleyici ajan olarak insana model yönüyle deneysel hayvan çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır (152). Ratların, anatomik düzeyde insana benzer model olabilecek organ yapısı, diğer hayvanlara kıyasla ideal oranda organ büyüklüğü ve deneysel manipülasyona

elverişli olmaları ayrıca kolay-hızlı üretilebilmeleri ve biyofizyolojik birçok özellikleri ideal deneysel modele uygunluğunu ön plana koymaktadır.

2.5.3. Uterus ve Fonksiyonu

Uterus temelde üç fonksiyona sahiptir: Blastosistin implantasyon (tutunma) bölgesi, fetüsün büyümesi için koruma ve destek sağlayan, mensturasyonun olduğu yerdir. Dişi üreme döngüsünde, eşzamanlı iki döngü vardır; yumurtalık (ovaryum) döngüsü ve uterus (adet) döngüsü. Ovaryum döngüsü, oosit olgunlaşması sırasında ve sonrasında meydana gelen bir dizi olaydan oluşur. Adet döngüsü ise, doğuma kadar endometriyumda gelişecek dölllenmiş bir yumurtanın gelişine hazırlık olarak endometriyumdaki bir dizi değişiklikten oluşmaktadır. Bir embriyonun fetüse dönüşmesi sırasında, gebelikte büyüyen fetüse adaptasyon için uterus hipertrofisi görülmektedir. Genel olarak gebelik insanda ortalama 38-41 hafta sürer. Ayrıca uterus, çeşitli hormonların salınması nedeniyle doğum sırasında birçok değişikliğe uğrar. Doğum ilerledikçe kasılma frekansı artar ve daha uzun süreli hale gelir. Doğumun bir sonraki aşaması, fetüs başı doğum kanalına girdiğinde başlar ve bebek doğduğunda tamamlanır (153).

2.5.4. Uterus Fonksiyonun Deneysel Araştırılması ve Hayvan Modeli

Başarılı hamilelik süreci, doğumun kolaylaştırılması için uterusun güçlü, koordineli kasılmalar yapabilen bir kasılma fenotipine dönüşmeden önce, sağlıklı gebelik için rahat ve sessiz safhada stabil durumda kalması tercih edilmektedir.

Anormal uterus kasılmaları, erken doğum ve diğer komplikasyonlara yol açabilmekte olup maternal morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Bunun yanı sıra, doğum sırasındaki disfonksiyonel uterus kasılmaları; erken doğum, distosi, uterus atonisi ve doğum sonrası kanama gibi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bu nedenle, bu alandaki araştırmalar toplum sağlığı için büyük önem taşımaktadır.

Klinik çalışmalar dışında, deneysel araştırmalar amacıyla insan kaynaklı hücre hatları veya biyopsi yapılan dokular gibi hamile insanlardan örnek alınması veya gebelikle ilgili deneysel çalışmalara engel teşkil eden etik düşüncelerden kaynaklı birçok düzenleme yer almaktadır. Örneğin; Amerika Birleşik Devletleri'nde, deneysel müdahalelerin fetüsler üzerinde oluşturabileceği riskler nedeniyle araştırmalarda hamile kadınlar için federal düzenleme ile özel koruma sağlamaktadır. Bu nedenle, insanlarda gebelikle ilgili deneysel çalışmalar nadir olup dünyadaki klinik araştırmaları içeren Clinicaltrials.gov. resmi sitesinde

kayıtlı ilaç denemelerinin yalnızca %0.27'sini oluşturmaktadır (154). Diğer taraftan, hamile insanlardan alınan biyopsi dokularının birçoğu sezaryen sırasında alınmış olup; gebelik öncesi, ortası ve sonrası dönem olmak üzere deneysel bütünlüğü sağlayan özellikte numune elde etme tutarlılığı etik olarak neredeyse imkansızdır. Ayrıca, insandan alınan doku şeritleri genellikle alt uterin segmentten alınmakta olup büyük oranda kontraktıl olmayan dokular da yer alabilmektedir, bu nedenle sonuçlar uterusun kontraktıl kısmının yer aldığı myometriyum için uygun etkinliğe sahip olamayabilmektedir (155).

İnsan biyopsisindeki sınırlayıcı faktörler göz önüne alındığında, biyopsi sağlayan hasta profilleri arasında çevresel ve genetik faktörler büyük farklılıklar göstermekte olup bu heterojen numunelere ve bazen de tutarsız sonuçlara neden olabilmektedir. Buna karşılık, kemirgen modelleriyle çalışırken, araştırmacılar hamilelikten önce ve hamilelik sırasında ve uterus içindeki herhangi bir yerden herhangi bir zamanda doku alabilme imkanına sahiptirler. Hayvan modellerinde heterojenlik minimuma yakındır, çünkü bir arada barındırılan hayvanlarda çevresel etkiler benzer ve araştırma için yaygın olarak kullanılan inbred fare/sıçan suşlarında genetik farklılıklar ihmal edilebilir düzeydedir (156). Bu nedenle araştırmalar için, insan uterin düz kasının fonksiyonunun deneysel çalışmalarında özellikle gebelik ile ilişkili etik hassasiyet gerektiren farmakolojik araştırmalar için altın standartta kanıt sağlayabilecek çok sayıda hayvan modelleri ve araştırma yöntem olanakları oluşturulmuştur (157, 158). Özellikle genetik kökenli hastalıkların araştırmalarında insanı modelleyen hayvan modelleri prelinik veri elde etmede önemli bir basamaktır. Bu kapsamda özellikle genetik hayvan modelleri, insandaki gibi direkt olarak nesilden nesile aktararak oluşturulmuş fizyopatolojik evrelere benzer olarak gelişen hastalık modeli ile manipülasyon gereksinimlerine elverişli büyük öneme sahip modeldir (159).

Uterus fonksiyonuyla ilişkili olarak seçilen yöntemler de deney tasarımında kritik bir noktadır. İnsandan alınan biyopsi numunelerinin kullanıldığı sıkça tercih edilen deneysel araştırma yöntemleri *ex vivo* kasılma deneyleri için doku şerit modeli ve myometriyal düz kas hücrelerinden izole edilen hücre kültürleridir. İnsan *in vitro* hücre kültürleri, fizyolojik ve patolojik süreç hakkında fikir edinmek için kullanılmakta olup primer kültür hücrelerin sınırlı yaşam süresi gibi dezavantaj olan özelliğinin yanı sıra, dokuyu temsil etmede insan patofizyolojisi ile ilişkisinde kısıtlayıcı endişeler yer almaktadır. Kültür yapılan primer hücrelerin sınırlı yaşam süresine sahip olması nedeniyle, ölümsüzleştirilmiş hücre tipine sahip hücre hatları; telomeraz vektörlerinin primer hücrelere transfekte edilmesiyle

geliştirilmiştir. Bununla birlikte birçok çalışma, primer hücrelerin mutasyonu ile oluşturulmuş ölümsüzleştirilmiş hücre hatlarının major değişimlere neden olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, alternatif olarak 3D hücre kültürü modelleri geliştirilmiş olup bu hücre kültürlerinin de yüksek maliyet, uzun üretim süreleri ve genellikle özel ekipman ihtiyacı gibi birçok sınırlayıcı faktöre sahip olması sebebiyle nadir olarak tercih edilmektedir. Tüm bunların dışında hem insan hem hayvanlardan elde edilen numunelerin kullanıldığı *ex vivo* kasılma araştırmaları için doku şerit modeli olarak ifade edilen, literatürce kanıtlanmış izole organ banyosu ile yapılan, deney optimizasyonuna elverişli insan fizyolojisi ile ilişkisi oldukça başarılı olan yöntemdir (160).

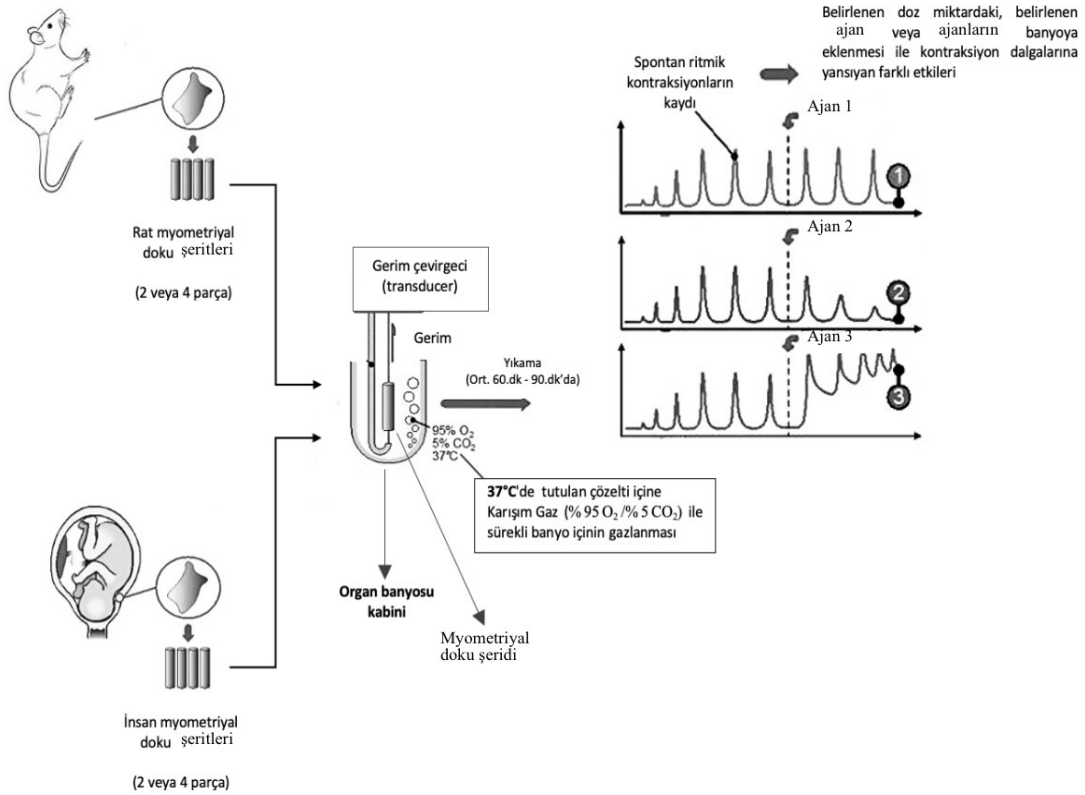
2.5.4.1. Doku Şerit Modeli

Doku şerit modeli esas olarak, myometriyum kasılmasını *ex vivo* incelemek amacıyla myometriyum şeritlerinin kullanıldığı kontraksiyon biyo-analiz yöntemidir. Kompleks tek bir sistem modeli ile kontraksiyona ait birçok parametreyi elde edip yansıtmaya olanak sağlayan başarılı bir modeldir. Kontraksiyon biyo-analizinde, insandan alınan myometriyal biyopsiler genel olarak sezaryen sırasında alt uterin segmentinden alınıp daha sonra parça şeritler halinde uygun boyutta (dörtlü kesit için ort. 10x2x2 mm) kesilerek hazır hale getirilmektedir. Numune alımı ve doku hazırlama yöntemi hayvan numunelerinde de aynı şekilde hazırlanmaktadır. Hazırlanan myometriyal şeritler kasılma modelinde, tıpkı vücut içindeki gibi yani vücut içindeki koşulları (sıcaklık, elektrolit, pH, gaz gibi) sağlayan modellenmiş sistemde; bir tarafı kasılma kuvvetinin grafik ifadesini oluşturan kuvvet dönüştürücülerine bağlanarak ilgili protokol uygulanır (bkz. Yöntem). Kasılma optimizasyon periyodunun ardından, şeritler *ex vivo* olarak spontan ritmik kasılmalar geliştirmeye bırakılır (Şekil 2) (160).

Bütünüyle ele alındığında doku şerit modeli deneysel araştırmada birçok avantaja sahiptir; insana ait örnek numune konusuyla ilgili birçok kısıtlılığa iyi bir alternatif olarak hayvan numunelerinin (özellikle kemirgen) kullanılmasına olanak tanıyan; örnek homojenitesi yüksek, araştırmaya uygun manipülasyon ve gereken örnek sayısını elde etme imkanı sağlayan modeldir. Sıçan, fare, kobay, tavşan dahil olmak üzere hem hayvanlardan hem de insanlardan alınan myometriyum şeritleri çalışma dizaynının gerekliliklerine göre araştırmada seçenек olabilmektedir. Araştırma olanakları yönüyle myometriyal şeritler; SR gibi organel işlevi ve iyon kanallarının modülatörleri gibi miyojenik aktiviteyi düzenleyen-değiştiren faktörleri tanımlamak ve myometriyal fizyolojideki rollerini incelemek için

kullanılmaktadır (161). Ayrıca, doku şerit modelinin kullanıldığı birçok deneysel araştırma çıktıları literatüre önemli katkı sağlamıştır. Young ve ark. (162), myometriyal şeritlerin gerilim altında spontan (kendiliğinden) kasılmayı ve oksitosin yanıtını yedi güne kadar sürdürebileceğini göstermişlerdir. Bir başka çalışmada ise Gravina ve ark. (163), fare uterusunda mitokondriyal Ca^{+2} deposunun uterus aktivitesindeki rolünü araştırmada doku şerit modelini kullanmıştır.

Myometrium kasılmasına ilişkin bu gibi çalışmalarda sonucu yansıtmada esas olan parametrelerden biri de kasılma gücünün bir indeksini (ortalama integral kuvvet veya eğri altındaki alan, AUC) oluşturduğu veridir ve bu tüm dokunun fizyolojik tepkisi ölçmeye olanak tanımaktadır. Bununla birlikte, doku şerit modeli tüm yönüyle hücre kültürü çalışması ile *in vivo* çalışma arasında köprü sağlamada stratejik potansiyele sahip bir modeldir. Farmakoloji alanında *in vitro* ilaç araştırmalarında sıkça kullanılmakta, yeni ajanların etkilerini detaylı olarak değerlendirilmesine de imkan sağlamaktadır. Bu çalışmalar ile özellikle uterus kontraksiyonun modülasyonuna ilişkin; doğumun başlaması ve myometriyal aktivasyonu düzenlemede mekanizmaya ilişkin esas role sahip endojen veya ajanların tespitinde önemli yeri vardır (161, 164).



Şekil 2. Myometriyal doku şerit kasılma modeli. İnsanda alt uterus segmentinden veya kemirgenden alınan myometriyal numuneler hasarlı dokudan ve kan damarlarından temizlenerek ardından şeritler halinde kesilir (2 veya 4 şerit). Şeritler, bir tarafı bir kuvvet dönüştürücüye (transdüser) bağlanıp sürekli olarak karışım gazı (%95 O₂-%5 CO₂) ile gazlanan ve 37°C'de uygun pH'a (pH 7.4) sahip Krebs çözeltisi içeren organ banyolarına indirilir. Şeritlere, belirli aralıklarla Krebs çözeltisi ile yıkama yapılır ve gerime adaptasyonu (ortalama 60 dakika) sağlanır. Daha sonra *ex vivo* olarak spontan ritmik kasılmaların oluşumu gözlemlenir. Tutarlı kasılmaların kaydedilmesinin ardından, istenen ajanlar tek tek şeritlere uygulanır ve etkiler kaydedilir. Sonraki analizler için, çalışma tamamlandığında veya kasılma durumuyla ilişkili araştırmalara uygun olarak belirli aşamalarda anlık dondurulup incelemeye olanak sağlar. (Ilıcic'den, 160)

2.6. Myometriyum

Myometriyum, uterus duvarının orta tabakasında endometriyum ile perimetriyum arasında yer alan, düz kas hücrelerinden oluşan uterusun kas tabakasıdır. Myometriyal hücreler (miyositler), uterusun toplam hücresel içeriğinin yaklaşık %90'ını oluşturan, bir bağ dokusu matrisi içinde yer alan tipik iğ şeklindeki düz kas hücreleridir. Bu matris; elastin, kollajen, glikoproteinler ve proteoglikanlardan oluşmakta olup kasılma kuvvetinin uterus

boyunca iletilmesine yardımcı olur (165, 166). Myometriyum kası, aktin (ince filamentleri) ve miyozin (kalın filamentleri) kasılma proteinlerine sahiptir. Kasılmalar temelde, miyositler içindeki aktin ve miyozinin etkileşimi ile oluşmaktadır (167). İç tarafta sirküler yönlü kas lifleri, dış tarafta ise longitudinal kas lifleri şekilde iki kat düz kas yapısına sahiptir. Bu kas düzeni, özellikle fetüsün pozisyonundan bağımsız olarak doğum sırasında koordineli frekans ve genliği yüksek olan kasılmalar oluşturmaya yardımcı olmaktadır (168).

Myometriyum düz kas hücreleri, herhangi bir uyarı olmadan düzenli kasılmalar üretebilme (miyojenik) özelliğine sahiptir. Bu özellikle gerim (stretching) ile ortaya çıkan spontan AP sonucu hücrelerin depolarize olup spontan ritmik kasılmaların oluşmasına neden olur. Gerim etkisinin, myometriyum hücre membranlarında bulunan mekanosensitif iyon kanallarının (gerime duyarlı iyon kanalları) tetiklediği bilinmektedir. Bu mekanik gerim uyarısına cevap olarak miyojenik kasılma yanıtı oluşur (169, 170). Bununla birlikte, miyositlerde AP oluşumu ve istirahat membran potansiyelini sağlamada bazı iyonlar önemli role sahiptir; Na^+ , K^+ , Cl^- ve en önemlisi myometriyum kasılmalar için tetikleyici güç olan Ca^{+2} 'dur. Hücre içi serbest Ca^{+2} konsantrasyonu, myometriyum kasılması için önemli iyon olup düzenleyici faktördür. Myometriyum kasılmaları; genliklerini, sürelerini ve sıklıklarını etkileyen çeşitli faktörler tarafından modüle edilebilir (165).

2.6.1. Myometriyal Kasılma ve Gevşeme

Myometrium, spontan ve agonist kaynaklı indükleyiciler ile fazik kasılmalar gösteren bir düz kas özelliği taşır. Yapısal olarak myometriyumun kasılma süreci, miyozin ve aktin kasılma proteinlerinin reseptör ve mekanik (gerilme) aktivasyonu ile düzenlenir. AP veya hücre membranındaki iyon kanallarının aktivasyonu ile ortaya çıkan membran potansiyelindeki herhangi bir değişiklik de kasılmayı tetikleyebilmektedir. Myometriyumun membran dinlenme potansiyeli yaklaşık -80 ile -35mV arasında olup gebelik durumuna bağlı olarak değişebilmektedir (171). Myometriyumun kasılma ve gevşeme evreleri temelde; AP ile başlayan membran depolarizasyonu ve repolarizasyon döngülerinden oluşan spontan elektriksel aktiviteyi içermektedir. AP'yi başlatan esas olay hücre içine Ca^{+2} girişidir, gevşemede ise Ca^{+2} kanallarının inaktivasyonu ve K^+ akışının aktivasyonudur (172, 173). Bununla birlikte, düz kaslarda karakteristik olan gerim ile uyarılabilen spontan kasılmalar ise, seçici olmayan katyon kanallarının aktivasyonu sonucu hücre membranında depolarizasyona neden olmaktadır. Oluşan depolarizasyon; voltaj kapılı iyon kanallarının aktivasyonuna ve hücre içine uyarılmada esas iyon olan Ca^{+2} girişine ve uyarma-kasılma

eşleşmesinin başlamasına neden olur (169). Myometriyal hücrelere Ca^{+2} girişini sağlayan ve kasılmanın başlaması için primer role sahip iki tip kalsiyum iyon kanalı; voltaj bağımlı Ca^{+2} iyon kanalı ve ligand kapılı yani reseptör ile aktive olan kalsiyum iyon kanalı tespit edilmiştir

Myometriyumda yer alan voltaj bağımlı; L tipi (uzun süreli) ve T tipi (geçici) olmak üzere iki temel Ca^{+2} iyon kanalı vardır. Özellikle, hücre içine Ca^{+2} akışını sağlayan ve myometriyal kasılmaları başlatan L-tipi Ca^{+2} kanalıdır. Hem insan hem sıçan myometriyum kasılmasında esas role sahip ve Ca^{+2} akışının büyük oranda kaynağı olan L-tipi Ca^{+2} kanalının, bloklanması uterus kasılmalarını inhibe edebilmektedir (174). Bir diğer kalsiyum kanalı olan T-tip kanallar ise spontan Ca^{+2} geçişini sağlayarak kasılmanın frekans ve genliğinde artışa neden olmaktadır.

Oksitosin gibi kasılmayı tetikleyici agonistler ise (norepinefrin, anjiyotensin II, endotelin, vb.), heterotrimerik bir G proteinine bağlanarak, fosfolipaz C aktivitesini uyarır. Aktif olan bu enzim, myometriyum hücre membranında bulunan fosfatidilinozitol bifosfatın parçalanmasına, sonucunda ikincil haberci IP_3 ve DAG ortaya çıkmasını sağlar. IP_3 , SR üzerindeki IP_3 duyarlı Ca^{+2} reseptörlerine bağlanması ve Ca^{+2} 'un sitozole salgılanmasıyla sonuçlanır. DAG ise, Ca^{+2} ile spesifik hedef proteinleri fosforile eden protein kinaz C'yi aktive eder (Şekil 3) (175).

SR' den hücre içine Ca^{+2} salınmasını sağlayan bir diğer yol ise SR membranında yer alan ryanodin reseptörüdür. Bu reseptör SR'den, Ca^{+2} tetiklemeli Ca^{+2} salgılanmasına neden olmaktadır. Tüm bunların haricinde SR'den Ca^{+2} salgılanmasına neden olan diğer mekanizma, SR ve intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyon farkı sonucu ortaya çıkan pasif Ca^{+2} akışıdır (145, 176). Bir başka Ca^{+2} salınımı ise “ Ca^{+2} kıvılcımları” adı verilen, ryanodin reseptöründen spontan olarak intrasellüler alana Ca^{+2} salınımıdır. Ca^{+2} kıvılcımları, kalp ve düz kasta olduğu bilinmektedir. Bu şekilde Ca^{+2} salınımının, kalsiyum ile aktive olan Ca^{+2} bağımlı Cl^- kanallarının aktivasyonuna böylece membran depolarizasyonunu uyararak ve kasılmayı başlatabilen Cl^- akışına neden olduğu bildirilmiştir. Özellikle doğum sırasındaki uyarılma frekansında artış yönünde katkı sağladığı düşünülmektedir (177, 178). Bunun yanı sıra, voltaj bağımlı Na^+ iyon kanalları da kasılmada rol oynamaktadır. Depolarizasyonu kolaylaştırmada ve özellikle gebelik sırasında hızlı Na^+ kanallarının ekspresyonun artması nedeniyle myometriyumun uzun süreli fazik kasılmalarına katkıda bulunur (179).

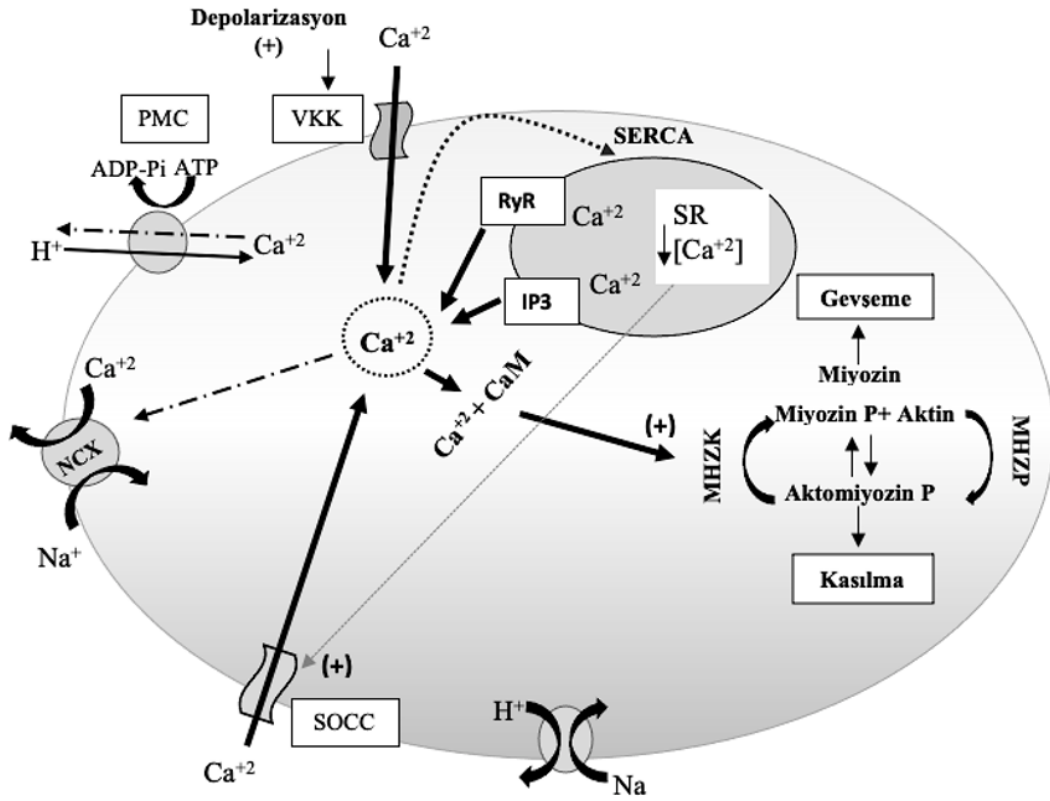
Özet olarak, kasılmanın meydana gelmesi için intrasellüler Ca^{+2} 'un artışı ve “ Ca^{+2} -kalmmodulin” kompleksi sonrasında yukarıda bahsedilen kanal veya reseptörler ile hem

SR'den hem de hücre dışından gelen Ca^{+2} konsantrasyonun sitozoldeki miktarının artışı kasılmayı başlatır. Daha sonrasında intrasellüler alanda artan Ca^{+2} konsantrasyonu MHZK'nın, miyozinin 20 kDa hafif zincirini fosforile etmesine ve böylece miyozinin aktin ile moleküler etkileşimini sağlar. Miyozin-ATPaz aktivitesi ile ATP'den salınan enerji, aktin-miyozin çapraz köprülerinin kasılma döngüsünü başlatır.

Düz kastaki kontraktıl aktivite, öncelikli olarak miyozinin hafif zincirinin fosforilasyonu (MHZKF) tarafından belirlenmektedir. Düz kas hücrelerinde MHZKF, dış uyaranlar olmadığında (reseptör veya mekanik aktivasyon olmaması) düşük seviyededir. Bu aktivite, düz kas tonusu olarak adlandırılmakta ve yoğunluğu değişebilmektedir.

Myometriyum düz kasının gevşemesi çeşitli yollar ile olabilmektedir; kasılma uyarısının oluşmasının durması bir sonucu olarak veya kasılma mekanizmasının engellenmesini uyaran bir maddenin doğrudan etkisiyle (örneğin, atriyal natriüretik faktör bir vazodilatördür) meydana gelebilmektedir. Temel olarak gevşeme süreci, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun azalması sonucunda meydana gelmektedir. İntrasellüler Ca^{+2} azaldığında MHZK aktivasyonu durur ve böylece MHZ fosfataz, MHZ defosforile olur. Bu durumun sonucunda myometriyumda gevşeme meydana gelir (180, 181).

Sitozoldeki Ca^{+2} 'un uzaklaştırılmasında SR ve hücre membranında yer alan çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. Bu mekanizmalardan en önemlisi hücre membran yüzeyinde yer alan aktif plazma membran Ca^{+2} -ATPaz (PMCA) pompasıdır. Bu pompa, gevşeme için esas faktör olan intrasellüler Ca^{+2} 'un büyük oranda uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Ayrıca, PMCA pompası myometriyumun dinlenim potansiyelinde kalmasını sağlamada önemli role sahiptir. Bir diğer mekanizma ise hücre membranındaki Na^{+}/Ca^{+2} değişim pompasıdır. Sodyum ve kalsiyum iyonlarının gradyen oranının ayarlanmasını sağlayarak; üç Na^{+} hücreye girişine aynı zamanda bir Ca^{+2} hücre dışına uzaklaştırılmasını sağlar (145). Na^{+}/Ca^{+2} değişim aktivitesi dolaylı olarak, transsellüler Na^{+} gradyanı ile modüle olan Na^{+}/K^{+} -ATPaz pompasının aktivitesini etkilemektedir. K^{+} iyonun, myometriyumun membran repolarizasyonunda ve dinlenim membran potansiyelini sürdürmesinde esas role sahip öne çıkan potasyum kanalları vardır; voltaj kapılı K^{+} kanalları (K_v), Ca^{+2} aktive edilen potasyum kanalları (K_{ca}), ATP'ye duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanallarıdır (182).



Şekil 3. Myometriyum kasılma-gevşeme Mekanizması. Membran depolarizasyonu, L-tipi voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarını (L-VKKK) açar ve bu da kalsiyum iyonlarının sitoplazmaya doğru akışına yol açar ve sarkoplazmik retikulumdan (SR) inositol trisfosfat reseptörü (IP_3R) yoluyla Ca^{+2} 'un salınmasına yol açar. SR'deki $[\text{Ca}^{+2}]$ düşüşü, depo-kontrollü Ca^{+2} kanallarından (store-operated calcium channel, SOCC) daha fazla Ca^{+2} akışını uyarır. Ca^{+2} , miyozin hafif zincir kinazı (MHZK) aktive eden " Ca^{+2} -CaM" oluşumu için kalmodulin proteinlerine (CaM) bağlanır. MHZK, miyozini fosforile eder ve aktinle birleşerek çapraz köprü oluşumuyla kasılmayı başlatır. Miyozin hafif zincir fosfataz (MHZP) daha sonra gevşemeyi indüklemek için miyozin-P-aktin defosforile eder. Gevşeme, Ca^{+2} 'un hücre içinden plazma membran Ca^{+2} -ATPaz (PMCA) yoluyla %70 ve $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ değişim pompası (NCX) yoluyla %30 hücre dışına uzaklaştırılmasını sağlar. Ca^{+2} 'un bir kısmı sarko / endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) yoluyla SR'ye aktif olarak geri alınır. (Brainard'dan, 183)

Özellikle Kv kanalı, myometriyumda yüksek oranda eksprese edilen ve membran dinlenme potansiyelinin korunmasında anahtar rol oynayan kanallardır. Hücre zarının depolarizasyonu Kv kanallarının aktivasyonunu tetikleyerek hücre dışına K^{+} akışına neden olur. Membran dinlenme potansiyelini repolarize eder ve myometriyumda kasılma uyarılarını etkisiz hale getirerek myometriyum kasının gevşemesine katkı sağlar (183). Tüm bunlardan farklı olarak, hücre plazma membranında reseptörleri ile modüle edilen

dolayısıyla voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının hücre içine Ca^{+2} girişini düzenleyen mekanizmalar vardır. Özellikle siklik adenosin monofosfat (sAMP)'ın protein kinaz A'yı aktif hale getirmesi sonucunda, MHZK fosforile olur ve böylece “ Ca^{+2} -kalmodülün” affinitesi azaldığı için gevşeme meydana gelir. Ayrıca, protein kinaz A, ikincil haberciler ile Ca^{+2} 'un hücre içi konsantrasyonunu artmasına aracılık eden FLC'yi inhibe ederek Ca^{+2} girişini inhibe eder. Kalsiyum için esas olan voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalların direkt olarak bloklanması da kasılmayı inhibe etmede potansiyel role sahiptir (167).

2.6.2. Gestasyonel Myometriyumun Farklılıkları

Gebelik, sağlıklı bir süreç ve fetus için uterusu fizyolojik kompleks değişikliklerin olduğu bir dönemi kapsamaktadır. Uterusta; yapısal, moleküler ve hormonal etmenlerin dahil olduğu ciddi adaptasyon süreci gerçekleşir. Gelişen fetüse uygun ortam sağlanabilmesi için bazı proteinlerin ekspresyonunda veya aktivitesinde değişimler meydana gelir; gebeliğin ilk yarısında uterus kas hücrelerinin anti-apoptotik proteinlerde bir artışla hiperplaziye uğradığı görülmüştür. Bu hiperplazi, uterus miyositlerinde östrojen aktivasyonlu sinyal yolunun bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Gebeliğin ikinci yarısında ise miyosit boyutunda artış olurken kas tabakasının hipertrofisine ve kalınlaşmasına bağlı olarak hücre dışı matrikste değişikliklere neden olur (184, 185). Ayrıca, büyüyen uterusun ihtiyacına eşlenik olarak kan akışı, hamilelik sırasında önemli ölçüde artar (186). İnsanlarda ve diğer memelilerde, gebe olmayan myometriyumda gap kavşaklarının sayısı normalde oldukça azdır. Gebelik süresince ise gap bağlantı sayısının az olması yani düşük elektriksel iletkenliğin korunduğu durum myometriyumun sessizliğini ve gebeliğin sürdürülmesini desteklemektedir. Bunun yanı sıra, önemli adaptasyonlardan biri de gebelik süreci ilerledikçe ve doğum sırasında koordineli kasılmalar üretmek için ise gap bağlantı sayısının artmasıdır (187).

Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu artışı ile ilgili olarak hücre dışındaki Ca^{+2} hücre içine alınması (sıkça voltaj kapılı L-tipi kalsiyum kanalları ile) myometriyumun kasılması için büyük önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalarda, L-tipi kalsiyum kanallarının bağlanma kapasitesi ve ekspresyonunun gebelik süresince giderek arttığı ve myometriyal OT reseptörlerinin, fonksiyon ve ekspresyonunun hamileliğin sonunda ve doğum sırasında artış gösterdiği kanıtlanmıştır. Bu artış myometriyumun OT'ye duyarlı hale gelmesini ve OT ile hem hücre dışı hem hücre içi Ca^{+2} artış sağlayarak doğum için güçlü kasılmaların oluşmasında rol oynar (188, 189). Normal bir gebelik periyodunu sürdürmede ve doğum

kasılmalarını başlamasında potasyum kanallarının önemi büyüktür. K^+ kanalları, gebe uterusun esnekliği ve intrauterin basınçtaki artışlara adaptasyonu sağlayan mekanizmalar ile ilişkilidir. K^+ kanallarının ekspresyonundaki veya aktivitesindeki değişiklikler, yetersiz bir repolarizasyon oluşumu ile anormal uterus aktivitesine neden olabilir. Hatta bu durum, distosi ve erken doğum gibi ciddi patofizyolojik koşullara zemin oluşturabilmektedir.

Bugüne kadar, myometriumda birkaç tip K^+ kanalı tanımlanmıştır fakat en fazla bulunan büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalları (BK_{Ca} kanalı) yer alır. Myometriumun gevşemesini sağlayarak gebelikte “uterus sessizliğini” büyük oranda sağladığı düşünülen BK_{Ca} kanallı ekspresyonunun, özellikle gebelik döneminin ortalarında büyük oranda arttığı doğum sırasında ise azaldığı bulunmuştur. Bu duruma benzer etkiyle uterus sessizliğine katkıda bulunan K_{ATP} kanal ekspresyonun; gebe olmayan myometriumda daha az, gebelik sürecinde artmış ve doğum sırasında ise azaldığı bulunmuştur (190-192).

2.6.3. Myometriyal Kasılma Aktivitesini Etkileyen Hormonlar

Oksitosin, prostaglandin, endotelin, vazopressin ve östrojen dahil olmak üzere myometriumun aktivitesini modülasyonunda rol oynayan endokrin faktörler yer almaktadır. Bu faktörler, hücre yüzeyinde reseptörleri ile etkileşime giren G-proteini aracılığıyla sinyal iletimi ile etki göstermektedir. Spesifik reseptörüne bağlanan endokrin faktörlerin bir kısmı özellikle OT gibi, fosfolipaz C aktivasyonu ile PIP_2 hidrolizine; IP_3 ve DAG ikinci habercilerinin ortaya çıkmasına, G-protein bağlı reseptör yoluyla olaylar dizisinin başlamasını tetiklemektedir. IP_3 'ın SR'un sitozolik yüzeyindeki reseptörlere bağlanması ile SR'dan Ca^{+2} salınır böylece hücre içi Ca^{+2} düzeyinde artış ile kasılma meydana gelir.

Östrojen ve progesteronun hormonları, özellikle myometriyal aktiviteye etkisi yönüyle gebelikte kritik ve zıt rollere sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Reseptörleri myometriumda ekprese edilip ve ekspresyon seviyeleri gebelik öncesi-sonrası ve doğum sırasında değişebilmektedir (193, 194). Myometriumun kasılma aktivitesini gevşeme yönünde etkileyen progesteron hormonu, farklı moleküler kaskadlar yoluyla SR'dan Ca^{+2} salınmasını inhibe eder böylece uterusu kasılmayı baskılayarak gebelik sürecinin korunmasına katkıda bulunur (195, 196). Östrojenin myometriumdaki rolü iki yönlüdür; doğumdan önce myometriumun proliferasyonu ve doğum eyleminde ise oksitosine duyarlılık, prostoglandin sentezinde, uyarılabilirlikte artış ve doğumla ilişkili düzenli güçlü kontraktıl yanıt oluşumudur (197).

Prostaglandin (PG) ve nitrik oksit (NO) myometriyal aktivitenin modülasyonunda ve gebeliğin sürdürülmesiyle ilişkili önemli parakrin faktörlerlerdir. PG, doğum eyleminin başlamasında esas role sahip olduğu düşünülmektedir. Yapısal olarak farklı türdeki PG'lerin myometriyal kasılma üzerinde farklı etkileri vardır. Örneğin, prostaglandin F₂ alfa ve prostaglandin E₂, kasılmayı arttırırken prostasiklin (adenilat siklazı aktive ederek) uterusu gevşemeye neden olmaktadır. PG'lerin konsantrasyonu mekanik gerim, oksitosin, trombosit aktive edici faktör, endotelin ve NO etkisine yanıt olarak doğum sırasında üretimleri ciddi seviyede artabilmektedir (198, 199). Nitrik oksit ise kan damarları, gastrointestinal sistem ve solunum sisteminde güçlü düz kas gevşetici etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar, NO'nun düz kas yapısında olan myometriyum üzerinde gevşetici (tokolitik) bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (200).

2.6.4. Oksitosin ve Myometriyum Kasılmasına Etkisi

Oksitosin, hipotalamusta üretilen ve arka hipofiz bezi tarafından salgılanan uterus, meme bezleri ve beyinde reseptörleri bulunan nanopeptid yapıda bir hormondur. laktasyonda süt salınım refleksi, kognitif fonksiyonların modülasyonu ve uterin kontraksiyonlarının kasılmasında rolü vardır. Özellikle myometriyum kasılmalarının güç, süre ve frekansını arttıran güçlü bir uyarıcı etkiye sahiptir. OT, güçlü bir uterotonik madde olup ve doğuma yardımcı olarak kasılma için yaygın olarak kullanılmaktadır (201, 202).

OT'nin uterusu olan affinitesinde östrojen seviyesi önem arz etmektedir. Östrojen azaldığında OT/uterus etkileşimi belirgin oranda azalır. Östrojenin yüksek olduğu dönemlerde; ovulasyonda ve öncesi, geç gebelik döneminde OT/uterus duyarlılığı oldukça fazladır. Bu durum fizyolojik olarak öneme sahip ovulasyon veya cinsel ilişki sırasında spermatazonların taşınmasında uterus hareketlerine yardımcı olduğundan büyük önem taşınmaktadır (203). Oksitosin reseptörleri (OTR'ler), G proteinine bağlı reseptör (GPBR) ailesine aittir. OTR aktivasyonu, fosfolipaz C aktivasyonuna neden olur. Bunun sonucunda, ortaya çıkan IP₃ hücre içi depolardan Ca⁺² salınımı ile bir diğer mekanizma ise hücre dışı Ca⁺² girişini voltaj kapılı L-tipi kanallar veya reseptör-duyarlı Ca⁺² kanalları (Ing: receptor-operated calcium channel, ROCC) veya her ikisi yoluyla hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunu arttırmasına neden olur (204, 205). Bunun yanısıra, oksitosin Ca⁺²-ATPaz'ın inhibe edip aynı zaman Ca⁺²'un hücre dışına çıkışını engeller. G proteinine bağlı reseptörlere ait diğer reseptörlerden farklı olarak OTR'ler hücrelere özgü şekilde regüle edilmektedir. Bu duruma örnek olarak; doğuma yakın dönemde plazmada OT artışına eşlenik olarak myometriyumda

OTR'nün artıp doğum sonrası azalmasıdır. Bununla birlikte, progesteronun, OTR'lere bağlanarak OT aktivasyonunda inhibisyona böylece myometriyumun gevşemesine neden olduğu düşünülmektedir (206, 207).

Tez çalışmasının kapsamında, epileptik ve sağlıklı myometriyal düz kas kasılmasının olası farklılıkları incelenmiştir. Bununla birlikte, sıkça kullanılan endojen uyarıcı oksitosine duyarlılıklarının farklı olup-olmadığı ve seçili AEİ'lerin oksitosin ile indüklenmiş myometriyal düz kas kasılmasına doza bağlı etkilerini ortaya koymak için deneysel araştırmalar yapıldı.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Deneysel tez çalışmasının etik onayı (Etik Kurul Dosya no 2019/22), Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan alındı. Araştırmalar etik kurul ilkelerine uygun olarak Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.1. Deney Hayvanları

Bu deneysel çalışmalarda erişkin (altı aylık, ağırlıkları ortalama 250-300 gram arasında) WAG/Rij dişi sıçanlar Charles River Laboratuvarı'ndan (Laboratories, Research Models and Services, Almanya) temin edildi. WAG/Rij ırkının sağlıklı kontrolleri olan Wistar sıçanlar ise Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Tüm hayvanlar, Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (Karadeniz Teknik Üniversitesi) yetiştirilip ve büyütülmüştür. Hayvanlar 22-25°C arasında, %65-70 nem içeren ortamda 12'şer saat aydınlık-karanlık döngüde, her kafeste ortalama dört hayvan bulunacak şekilde tutulmuştur. Beslenmeleri standart pelet halindeki sıçan yemleri ve musluk suyuyla (*ad libidum*) sağlanmıştır. Her gruptaki sıçanlar işaretleme yöntemiyle numaralandırılmıştır.

3.1.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

WAG/Rij sıçanlar, Wistar sıçanların kardeşleri ile eşleştirilme (inbred) yolu ile üretilerek genetik absans epilepsi yatkınlığı oluşturulan soylarıdır. Bu deneysel araştırmada, genetik sıçan epilepsi modeli olan WAG/Rij ve bu modelin kontrolü olan sağlıklı Wistar ırkı erişkin dişi sıçanlar kullanılmıştır. Araştırmada her iki ırk için, gebe olmayan ve gebe olan 2 ana grup oluşturuldu. Her iki ırk gebe grubu için, kendi ırkına ait erişkin erkek sıçanlarla çiftleştirildi ve günlük yapılan vajinal smear ile gebe tespit edilenler ilk günden itibaren ayrı kafeslere yerleştirilip takip edilmiştir.

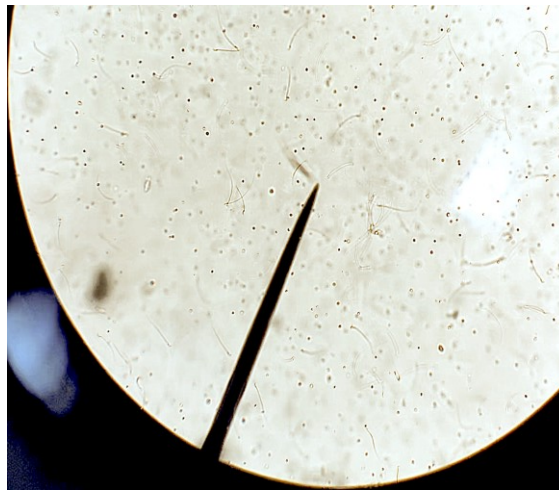
3.2. Deney Düzeni

3.2.1. Vajinal Smear ile Gebelik Tespiti

Dişi sıçanlar puberteden yaşlılığa kadar siklik aktivite gösteren poliöstrik hayvanlardır. Seksüel siklusun tümü ortalama 4-5 gün sürmektedir. Siklus boyunca proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evreleri görülmektedir. Gebelik ihtimalinin yüksek olduğu çiftleşme için uygun evreler proöstrus sonu ve östrus evreleridir. Proöstrus başlangıcında vajinal sitolojide en baskın hücre tipi intermediyer hücredir.

Sitolojik olarak östrus evresinde ise nükleuslu epitel hücreleri ve kornifiye epitel hücrelerin belirgin olarak artış göstermektedir. Gebe gruplar için çiftleşmeye uygun erişkin dişi sıçan belirlerken vajinal smear yöntemi kullanılmıştır. Vajinal smear; dişi sıçanın kuyruğunun dibinden tutularak sabitlenmiş ve pipet ile yaklaşık 300 µl distile su (dH₂O) ile doldurulmuştur. Vajen distile su ile dikkatle 2-3 kez pipetle yıkanmıştır. Vajinal yıkama, vulva ve vajendeki hücreleri içerdiğine temas etmeden ilgili servikal ve çevre yapılardan kaynaklanabilecek kontaminasyon riski minimize edilerek dikkatli bir şekilde çalışılmıştır. Pipet içeriği dikkatle lam üzerine boşaltılıp, lam üzerindeki smear örneği binoküler mikroskop ile (10X büyütmede) hücreler incelenerek siklus evreleri tespit edilip not edilmiştir. Proöstrus ve östrus dönemlerinde olduğu tespit edilen dişi sıçanlar çiftleşme için seçilmiştir (208).

Seçilen erişkin dişi sıçanlar, kendi ırkının erişkin erkeğinin bulunduğu ayrı bir çiftleştirme kafesine konulmuştur. Çiftleştirme gününü takiben sabah saat 09:00-10:00 arasında çiftleşmenin bulgu tespiti için vajinal smear yapıldı ve gebelik tespiti için; vajinal tıkaç oluşumunun gözlemlenmesi ve esas olarak smearda spermatozoaların saptanması ile gebeliğin sıfırıncı günü olarak kabul edilmiştir (Resim 3) (209, 210).



Resim 3. Rat vajinal smear ile spermatozoaların saptanmasına ait mikroskop görüntüsü

3.2.2. Deneyde Kullanılan İlaçlar

Tez çalışmasında kullanılan AEİ'lerin konsantrasyonları; fenitoin 10, 30 µM ve 1 mM; levitirasetam 1, 3 ve 10 mM ve valproik asit 100, 300 µM, 1 mM ve 3 mM'dir. Her bir anti-epileptik sırasıyla belirtilen konsantrasyonlarda 10 dakikalık aralıklar ile kümülatif

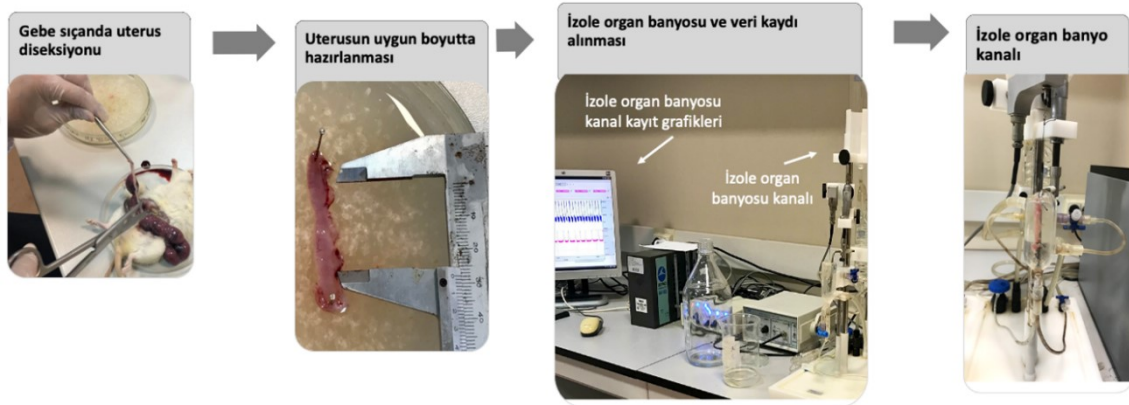
olarak organ banyosunda Krebs çözeltisine ilave edilerek uygulama yapıldı. Mekanizma araştırma protokolünde yer alan BAYK8644 (Sigma), dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüştür.

3.2.3. Myometriyal Dokunun Hazırlanması ve İzole Organ Banyosu

Gebe sıçanlar için 0. günden itibaren 18-20. güne kadar belirli aralıklarla ağırlık takibi yapılmıştır. Gebeliğin 18-20. gününde dekapitasyonla kurban edilerek uterus kesitleri alındı. Tüm dişi sıçanlara orta hat boyunca abdominal insizyon yapıldı ve her iki uterus kornu çıkarılıp Krebs-Henseleit solüsyonu (Krebs-Henseleit ([mM]: NaCl, 118.2; KCl, 4.7; MgSO₄, 1.2; CaCl₂, 2.5; KH₂PO₄, 1.2; NaHCO₃, 25; glukoz, 11) içerisine alınarak eksize edilen uterus, yağ dokularından ve diğer çevre dokulardan dikkatlice temizlendi. Gebe sıçanlarda mezenterik sınır boyunca uzunlamasına açıldı ve her bir sıçandan iki şerit olacak şekilde yaklaşık 2.5 cm uzunluğunda ve 0.5 cm genişliğinde myometriyal şeritler hazırlanmıştır (Resim 4).

AEİ'lerin etki mekanizmasını incelemek amacıyla kullanılan bir diğer protokole ise modifiye Krebs çözeltisi için NaCl, eşmolar miktarda N-metil-D-glukamin (NMDG) glukonat ile değiştirilmiştir.

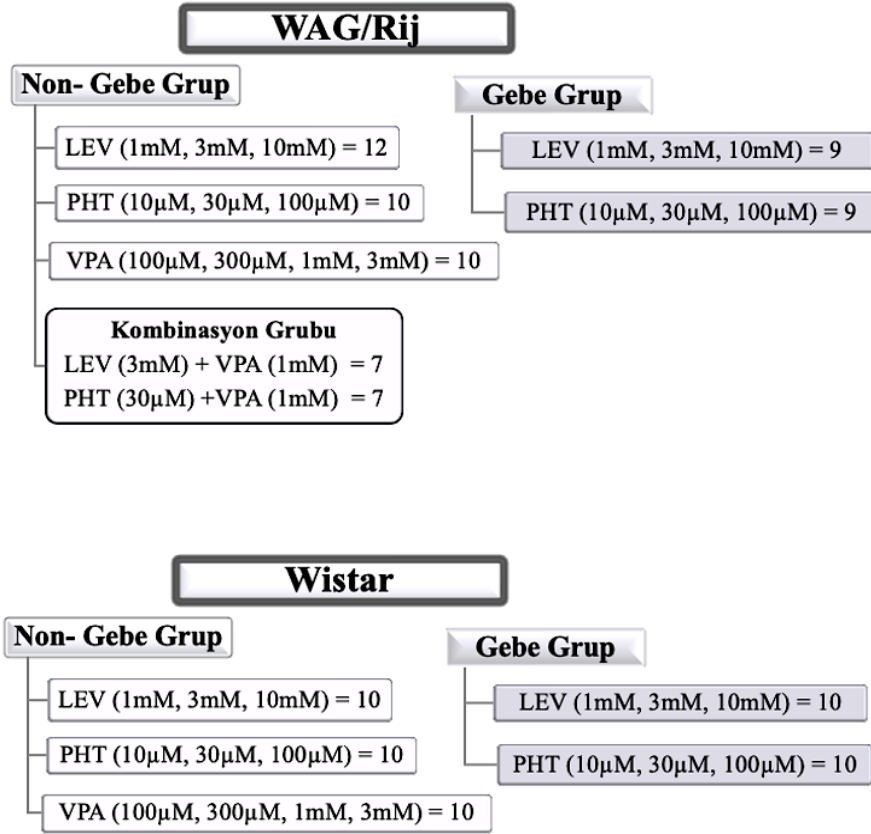
Dokular temizlendikten sonra ise, hızla Krebs solüsyonu ve oksijenasyon kaynağı içeren doku banyosuna aktarıldı. İzole myometriyum preparatları, Krebs solüsyonu içeren ısı ceketli cam organ banyolarında (20 ml kapasitesinde, Çalışkan Cam Türkiye), bir ucu izometrik güç çevirgecine (BIOPAC, FDT 05, MAY, Commat, Ankara, Türkiye) bağlı olacak şekilde, diğeri ise organ banyosu alt kısmına sabitlenecek şekilde dikey olarak asılmıştır. Çalışmada toplam 114 myometriyal şerit incelenmiştir.



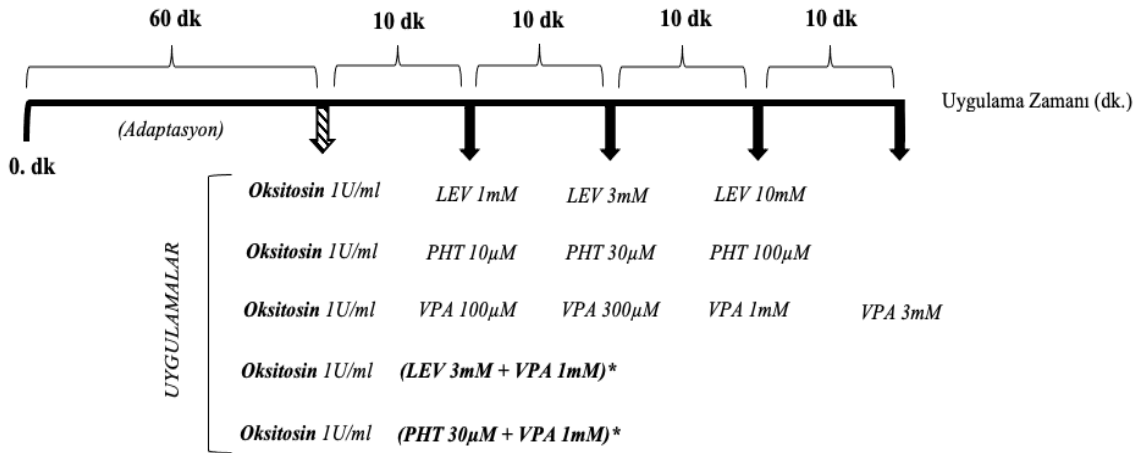
Resim 4. *In vitro* deney süreci (Gebe sıçan)

3.2.4. İzometrik Kasılmaların Kaydedilmesi ve Farmakolojik Testler

İlk aşamada, myometriyum kesitleri izole organ banyosu içerisinde standart olarak normoksik gazla (%95 O₂ + %5 CO₂) sürekli gazlandırılan, 37°C’de (termostatik kontrollü bir su sirkülatörü aracılığıyla cam banyonun iki çeperi arasında sıcak su dolandırılarak) sabit sıcaklık ve pH’sı 7.4 değerindeki Krebs içine yerleştirildi. İzole organ banyolarına tüm preparatlar yerleştirildikten sonra, 1 gram dinlenme gerimi altında, (15 dakikada bir taze çözelti ile yıkanarak) 60 dakika süresince gerime adapte edildi. Bu pasif adaptasyon periyodu sırasında spontan kasılmaların ortaya çıkmasından sonra, spontan kasılmalar kaydedildi. İstirahat gerimine (1 gramlık) 60 dakikalık bir uyum periyodunda spontan kasılma gösteren myometriyum kesitlerinin bulunduğu banyolara uterotonik ajan olarak oksitosin (1 IU/ml) uygulandı. OT uygulandıktan 10 dakikalık kayıt sonrası üç farklı anti-epileptik grubun (levetirasetam, fenitoin ve valproik asit) gebe olmayan ve gebe grubuna göre her birinin farklı dozlarının yer aldığı uygun grup protokolleri uygulandı (Şekil 4). Grupların *in vitro* protokollerine uygun olarak, LEV, PHT ve VPA grupları ayrı ayrı her bir banyoya ilgili ilaç dozuna karşılık miktarda kümülatif olarak 10 dakikalık periyotlarda *in vitro* yöntemle ilaç uygulaması yapılmıştır (Şekil 5).



Şekil 4. Deney gruplarının detaylı şeması. (Non gebe: Gebe olmayan, LEV: Levetirasetam, PHT: Fenitoin, VPA: Valproik asit. Grupların karşısındaki her rakam, myometriyal şerit sayısını göstermektedir)



Şekil 5. Deney protokolü. (LEV: Levetirasetam, PHT: Fenitoin, VPA: Valproik asit.
*Kombinasyon grubuna ait uygulamalar)

Ana farmakolojik protokol tamamlandıktan sonra, AEİ'lerin kontraksiyona olası etki mekanizmasına dair bilgi edinmek üzere; yüksek miktarda KCl (60 mM, spesifik olmayan membran depolarizasyonunu indüklemek ve bu mekanizmadaki rolünü değerlendirmek için) banyoya ilave edilip kaydedilmiştir. Bununla birlikte ana protokol dışında WAG/Rij gebe olmayan sıçanlara ait myometriyum şeritleri Bay K8644 (kanal inhibisyonu değerlendirmek için bir kalsiyum iyon kanalı agonisti) uygulanarak ve NMDG (hücre dışı spesifik olmayan katyon kanallarının rollerini değerlendirmek için) kullanılarak araştırılmıştır.

İzometrik gerim değişiklikleri, bilgisayar aracılı bir fizyolojik veri toplama ve kaydetme sistemi (BIOPAC MP100, MAY, Türkiye) aracılığıyla kaydedilmiştir. Fazık kasılma niteliğinde olan myometriyal kontraksiyonların frekansı, amplitüd ve kasılma gücü (eğri altında kalan alan=AUC) parametrelerine ait değerler, 10 dakikalık periyotlar halinde değerlendirilmiştir.

3.3. Deney Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Oksitosin ile indüklenmiş kasılmalara seçilen AEİ'lerin etkilerinin değerlendirilmesi, (1 IU/ml) OT ile indüklenmiş kontraksiyon %100 olarak alınıp AEİ'lerin OT ile indüklenmiş kontraksiyona (%100) kıyaslanması (amplitüd ve AUC parametrelerine yansıyan değerleri %'e dönüştürülerek) yapılarak elde edilmiştir.

Spontan kontraksiyon ile OT indüklenmiş kontraksiyon kıyaslanmasında ise, sağlıklı gebe olmayan kontrol Wistar'a ait spontan periyodundaki kontraktıl aktivite (amplitüd ve AUC) %100 olarak alındı ve her kayıt için indüklenmiş OT kasılma değerlerinin yüzdesi spontan kasılma (%100) ile karşılaştırıldı. Sadece frekans değerleri mutlak değeri ile kıyaslanmıştır.

Veriler, Windows için SPSS (SPSS, Chicago, IL, ABD) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Grafikler, Microcal Origin sürüm 5.00 (Microcal Software, Northampton, MA, ABD) kullanılarak hazırlandı. Yüzde verilerin normal olmayan dağılımını düzeltmek için veriler arksin dönüşümü ile dönüştürüldü, uygun olduğunda one way veya two way varyans analizi (ANOVA) ile istatistiksel anlamlılık analiz edildi. Ortalamaların post hoc pair-wise karşılaştırmaları Student-Newman-Keuls yöntemiyle yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tez çalışmasında sağlıklı kontrol Wistar ve epileptik WAG/Rij sıçanların her ikisi için gebe olmayan gruba ait şeritlere; LEV, PHT, VPA ve gebe grubuna ait şeritlere; LEV, PHT ilaçları ve tüm bu AEİ'lerin ilgili dozları (bkz. gereç ve yöntem) uygulanıp araştırıldı. Buna ek olarak non-gebe WAG/Rij ırkına ait belirlenen dozlarda iki farklı ajan içeren kombinasyon grubu ("30 µM PHT + 1 mM VPA" ve "3 mM LEV+ 1 mM VPA") da yer almaktadır. Grafiklerde, AUC (%) ve frekans parametrelerine ait veriler kullanıldı.

4.1. Sağlıklı Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Sıçanlarına Ait Myometriyum Şeritlerinin Spontan ve Oksitosin ile İndüklenmiş Kasılmaların Karşılaştırılması

Epileptik WAG/Rij sıçanlar ve sağlıklı kontrolü Wistar sıçanlarından alınan myometriyum şeritlerinde her iki ırkta da adaptasyon sürecinde görülen spontan kontraksiyon (gerim ile indüklenen) ve sonrasında literatürde kanıtlanmış bir endojen uterus kasılma uyarıcısı olan OT kontraksiyon yanıtları karşılaştırıldı. OT uygulaması hem gebe olmayan hem de gebe olan myometriyum şeritlerinde kasılma cevabına neden oldu. Bununla birlikte, OT uygulamasına verilen kasılma yanıtları incelendiğinde ırka bağlı olarak duyarlılığın farklı olduğu saptandı.

Sağlıklı kontrol Wistar ırkına ait non-gebe grubuna ait kasılma verileri, tüm diğer ırk ve gruplarla kıyaslandı. Non-gebe ve gebe sağlıklı Wistar ve epileptik WAG/Rij sıçanların myometriyumuna ait spontan ve OT ile indüklenmiş kontraktilitenin verilerine (normalize AUC % olarak) ait özet Tablo 1'de yer almaktadır.

Kontrol Wistar sıçanlara ait myometriyal şeritlerin spontan kontraktilitesi (normalize AUC % olarak) WAG/Rij ile kıyaslandığında, non-gebe şeritleri arasında spontan kontraktilitenin WAG/Rij ırkında önemli ölçüde daha yüksek olduğu ancak gebe şeritler karşılaştırıldığında ise Wistar ırkında daha yüksek olduğu saptandı (Tablo 1).

Bunun yanı sıra, OT ile indüklenmiş non-gebe grubuna ait myometriyal şeritlerin kontraksiyon cevapları her iki ırk için karşılaştırıldığında WAG/Rij sıçanlara ait myometriyumun oksitosine anlamlı düzeyde daha yüksek kontraksiyon cevabı verdiği bulundu (Tablo 1).

Tablo 1. Sağlıklı kontrol Wistar ve epileptik WAG/Rij sıçanlarına ait myometriyum şeritlerinin spontan ve oksitosin ile indüklenmiş kontraksiyon verilerinin (AUC, ortalama %) karşılaştırılması.

		N	Mean	Std. Sapma	Std. hata	p değeri
Gebe Olmayan grup	Spontan	30	100	100	100	0.0001
		30	289.7	342.2	342.2	0.0001
	Oksitosin	30	289.7	342.2	342.2	0.0001
		30	289.7	342.2	342.2	0.0001
Gebe grup	Spontan	20	249.8	314.5	385.2	0.0001
		20	587.3	1036.9	1269.9	0.0001
	Oksitosin	20	587.3	1036.9	1269.9	0.0001
		20	587.3	1036.9	1269.9	0.0001
Gebe Olmayan grup	Spontan	32	140.1	125.5	121.6	0.0001
		32	395.7	363.1	351.6	0.0001
	Oksitosin	32	395.7	363.1	351.6	0.0001
		32	395.7	363.1	351.6	0.0001
Gebe grup	Spontan	18	179.0	230.7	297.9	0.0001
		18	413.6	410.4	529.8	0.0001
	Oksitosin	18	413.6	410.4	529.8	0.0001
		18	413.6	410.4	529.8	0.0001

4.2. Sağlıklı Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Sıçanlarına Ait Non-Gebe ve Gebe Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kasılmalarına Seçili Antiepileptik İlaçların Doza Bağlı Etkilerinin Karşılaştırılması

Her iki ırka ait tüm deney grupları ve dozlarının kontraktıl parametreler ((ortalama %) AUC, (ortalama %) amplitüd ve (ortalama %) frekans) üzerindeki doza bağlı etkilerinin karşılaştırılması ve *p* değerlerine dair veriler Tablo 2’de yer almaktadır. VPA, her iki ırkta da sadece non-gebe şeritlerine uygulandığı için Tablo 2’de gebe grubunda yer almamaktadır.

Özet Tablo 2’ye genel olarak bakıldığında, PHT (10, 30 ve 100 µM) ve VPA (100, 300 µM, 1 mM ve 3 mM) kümülatif uygulamasının, kontrol Wistar ve epileptik WAG/Rij ait normalize edilmiş ortalama AUC, amplitüd ve frekans verilerinde doz konsantrasyonuna bağlı olarak kontraksiyonda azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bu durumun tersine LEV’de ise, myometriyal şeritlerin kasılma parametreleri üzerindeki etkisi; doz, ırk ve gebelik durumuna bağlı varyasyonlar saptandı (Tablo 2).

Tablo 2. Non-gebe ve gebe sağlıklı Wistar ve epileptik WAG-Rij sıçanlarından izole edilen myometriyum şeritlerinin oksitosin ile indüklenmiş kontraksiyonuna seçilmiş antiepileptik ilaçların doza bağlı etkileri.

İrk	GRUP	AEİ	Konsantrasyon	Ort. Amplitüd±SD (%)	Ort. AUC ±SD (%)	Ort. Frekans±SD (%)	N
Wistar	Non-Gebe	PHT	10 µM	89.4±9.7* ^b	67.8±8.9* ^c	83.7±9.7* ^c	10
			30 µM	72.1±14.9* ^c	40.7±15.5* ^c	51.9±24.1* ^c	
			100 µM	27.1±29.5* ^b	15.8±9.5* ^c	17.7±23.5* ^b	
	Gebe		10 µM	61.7±27.7	53.9±26.9* ^c	67.7±35.5* ^a	10
			30 µM	28.4±30.3* ^b	28.8±17.5* ^c	32.3±51.8* ^c	
			100 µM	8.4±14.3* ^c	19.4±14.3* ^c	14.9±29.6* ^b	
WAG-Rij	Non-Gebe		10 µM	96.8±6.8	86.7±8.6	85.9±11.8* ^b	10
			30 µM	84.9±11.2* ^b	69.2±14.9* ^c	72.5±14.2* ^c	
			100 µM	69.5±14.9* ^c	37.5±17.3* ^c	40.5±30.8* ^c	
	Gebe		10 µM	70.4±13.7* ^c	55.6±29.20* ^c	66.8±36* ^a	9
			30 µM	31.7±25.7* ^c	23.33±9.08* ^c	39.7±28.3* ^c	
			100 µM	8.2±18.9* ^b	13.2±7.48* ^c	12.9±23.9* ^b	

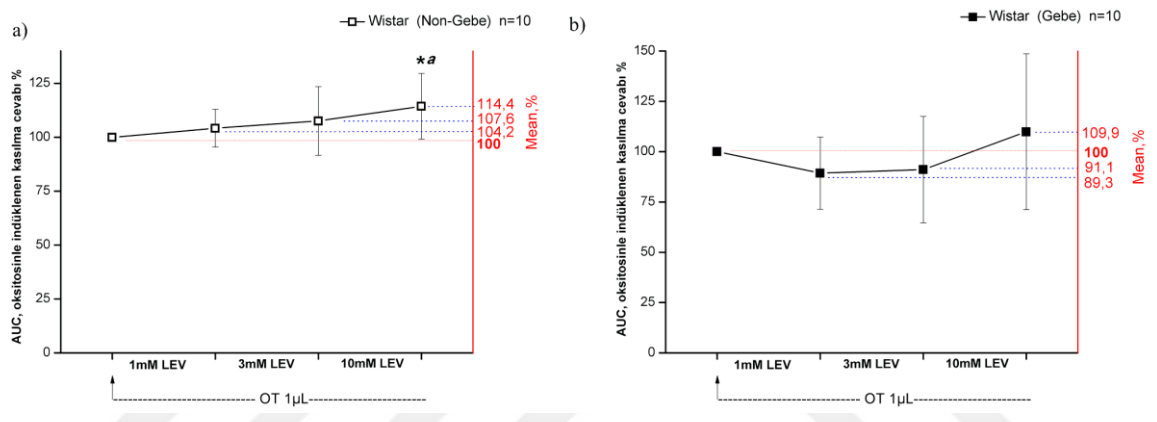
Tablo 2. (Devam)

İrk	GRUP	AEİ	Konsantrasyon	Ort. Amplitüd±SD (%)	Ort. AUC ±SD (%)	Ort. Frekans±SD (%)	N
Wistar	Non-Gebe	LEV	1 mM	106±4.9* ^b	104.2±8.76	97.6±5.9	10
			3 mM	105.9±9.7	107.6±15.9	97±8.0	
			10 mM	105.7±15.1	114.4±15.2* ^a	99.4±11.4	
	Gebe		1 mM	92±12.1	89.3±17.9	96.3±19.7	10
			3 mM	92.3±18.5	91.1±26.4	90.8±12.3* ^a	
			10 mM	98.9±15.5	109.9±38.7	95±14.5	
WAG-Rij	Non-Gebe		1 mM	105.7±5.3* ^b	117.1±11.5* ^a	86.2±13.8* ^b	12
			3 mM	109.3±10.28* ^a	119.8±19.2* ^a	91.3±15.9	
			10 mM	107.5±12.1	119.2±21.9* ^a	77.8±29.3* ^a	
	Gebe		1 mM	91.7±7.9* ^a	73.8±16.2	92.9±12.9	9
			3 mM	96.2±6.7	78.6±16.7	100±26.8	
			10 mM	92.1±6.9* ^b	107.7±40.7	115.7±23.3	
Wistar	Non-Gebe	VPA	100 µM	93.9±9.9	91.3±8.9	90.7±7.9* ^b	10
			300 µM	91.7±15.6	82.4±11.5* ^c	83.2±7.4* ^c	
			1 mM	84±16.3* ^a	62±12.05* ^c	70.4±8.6* ^c	
			3 mM	66.9±17.7* ^c	48.6±9.9* ^c	56.9±11.6* ^c	
WAG-Rij			100 µM	97.9±3.3	92.2±8.6	84.4±10.9* ^c	10
			300 µM	94.9±5.5* ^a	80.4±11.5* ^a	71.9±12.1* ^c	
			1 mM	86±9.4* ^c	58.3±16.4* ^c	57.6±15.9* ^c	
			3 mM	73.2±27.7* ^b	34.1±20.1* ^c	32.2±7.8* ^c	

Veriler, 50 farklı hayvandan myometriyal numunelerin kullanıldığı deneylerin ortalama ± SD'si olarak ifade edilmiştir. AUC: Eğri altında kalan alan; PHT: Fenitoin; LEV: Levitirasetam; VPA: Valproik Asit. N: Gruba ait myometriyal şerit sayısı; Non-gebe: Gebe olmayan. Kontrol (oksitosin ile indüklenmiş kasılma) ait ortalama amplitüd, frekans ve AUC % olarak normalize edilmiş, kontrol (%100) ve ajan uygulamaları sonrası dönem arasında AEİ'ler arasında ve yine doza bağlı bir şekilde karşılaştırmalar yapılmıştır. Bold değerler, aynı satırda (*^a: $p<0.05$, *^b: $p<0.01$, *^c: $p\leq0.001$) kontrole göre kıyaslanmış değerlere göre karşılık gelen farkın (*: $p<0.05$) önemini göstermektedir.

4.2.1. Sağlıklı Kontrol Wistar Sıçanlara Ait Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kontraksiyonuna Seçili Antiepileptik İlaçların Doza Bağlı Etkileri

Sağlıklı kontrol Wistar sıçanlardan non-gebe ve gebe olmak üzere iki temel grup oluşturulup, tez çalışması için seçilmiş AEİ'lerin myometriyum kontraksiyonuna potansiyel etkileri araştırıldı. Wistar ırkına ait şeritlerin, OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına LEV (1 mM, 3 mM, 10 mM) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucunda etkileri incelenip, non-gebe ve gebe gruplarına ait myometriyal doku şeritleri karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).

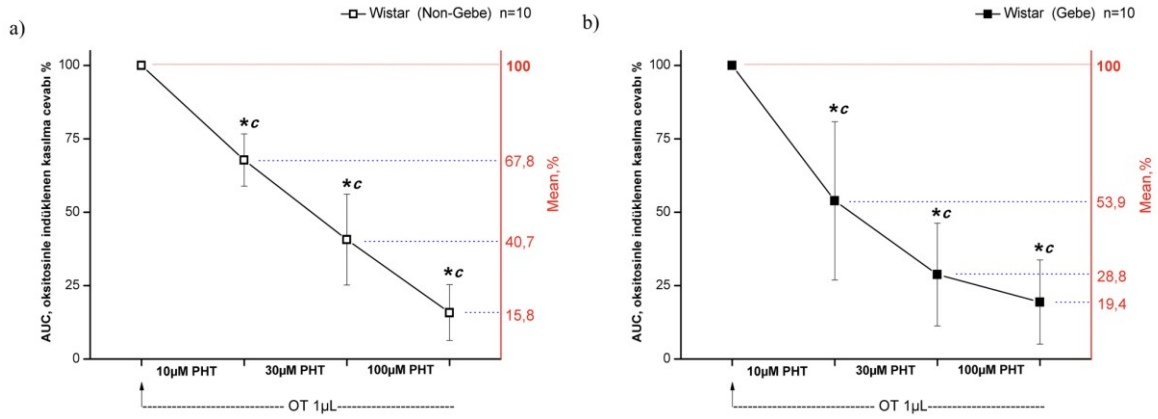


Şekil 6. Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan levetirasetamin AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması

Wistar ırkına ait non-gebe ve gebe şeritlerinin OT ile indüklenmiş kasılmalarına LEV dozlarının etkisi karşılaştırıldığında (ortalama %AUC), non-gebe grubundaki myometriyal şeritlerin sadece en yüksek doz olan (10 mM) LEV uygulamasında (ortalama %AUC= 114.4 ± 15.2 , $p=0.022$) kasılmada artış görülürken, gebe grubundaki şeritlerde ise kasılma üzerindeki etkisinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 2). Bununla birlikte, gebe Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerde LEV dozlarının kasılmaya etkisinde (ortalama %AUC LEV:1 mM= 89.3 ± 17.9 , 3 mM= 91.1 ± 26.4 , 10 mM= 109.9 ± 38.7) istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Şekil 6).

Aynı deney gruplarına ait myometriyal şeritlerin LEV dozlarının myometriyum kasılma frekansına etkileri non-gebe ve gebe grupları için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Wistar ırkına ait OT ile indüklenmiş myometriyum kasılma frekanslarına LEV uygulaması, non-gebe ve gebe gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadı.

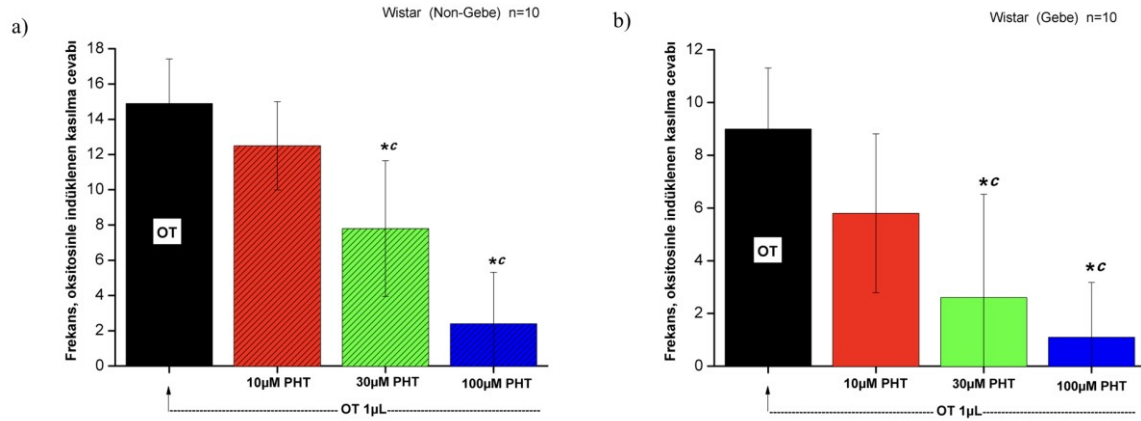
Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerde, OT ile indüklenmiş (%100) kasılmalara PHT (10 μ M, 30 μ M, 100 μ M) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucunda kontraksiyon üzerindeki etkileri incelendi.



Şekil 7. Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması

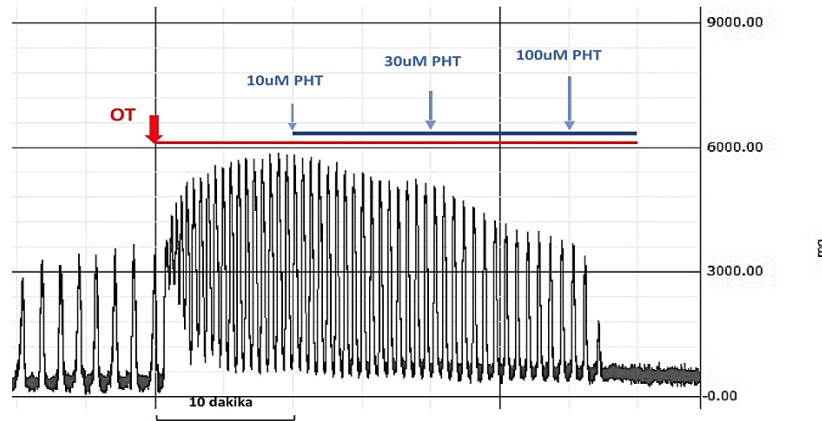
Wistar'a ait myometriyal şeritlerin kasılmalarına PHT dozlarının non-gebe (ortalama %AUC PHT:10 μ M= 67.8 $\pm$ 8.9, $p=0.001$; 30 μ M=40.7 $\pm$ 15.5, $p=0.001$; 100 μ M= 15.8 $\pm$ 9.5, $p=0.001$) ve gebe (ortalama %AUC PHT:10 μ M= 53.9 $\pm$ 26.9, $p=0.0001$; 30 μ M= 28.8 $\pm$ 17.5, $p=0.0001$; 100 μ M= 19.4 $\pm$ 14.3, $p=0.0001$) gruplarının her ikisinde de kontraksiyona inhibisyon etkisinin ilk dozdan itibaren çok yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılığa sahip olduğu bulundu (Şekil 7).

Aynı deney gruplarına ait myometriyal şeritlerin PHT dozlarının myometriyum kasılma frekansına etkileri non-gebe ve gebe grupları için ayrı ayrı değerlendirildi.



Şekil 8. Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin frekans parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması

Wistar'a ait OT ile indüklenmiş myometriyal şeritlerin kasılma frekanslarına PHT'nin doza bağlı etkisi, hem non-gebe hem de gebe grubunda 30 µM ($p=0.0001$) ve 100 µM ($p=0.0001$) frekansta düşüşe neden olduğu çok yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılığa sahip olduğu saptandı (Şekil 8).



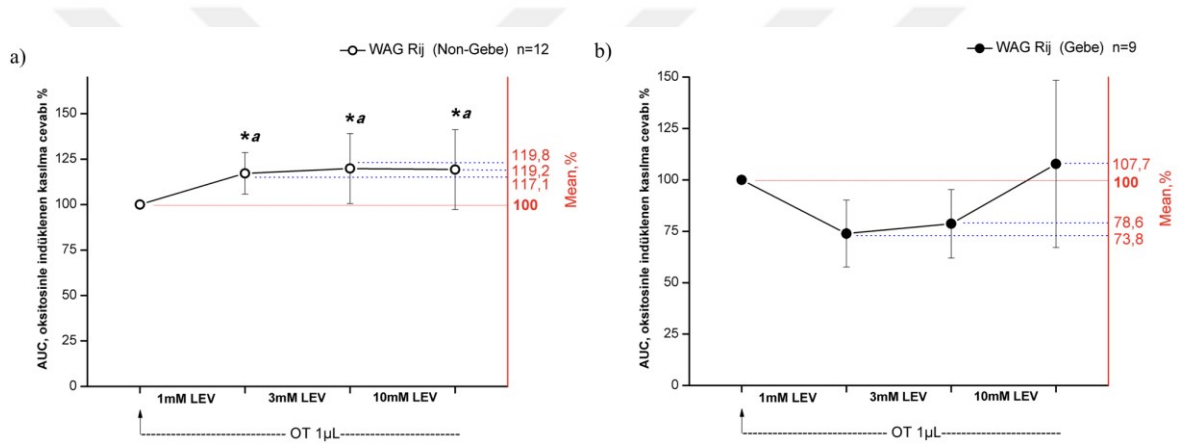
Resim 5. Non-gebe Wistar'a ait myometriyal şeritin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin doza bağlı etkisi. (Temsili bir orijinal trase grafiğidir)

Non-gebe Wistar ırkına ait, OT ile indüklenmiş kasılmaya PHT'nin doza bağlı olarak inhibisyon etkisi belirgin olarak saptandı. Özellikle en yüksek PHT dozu olan 100 µM kasılmayı tamamen inhibe etti (Resim 5).

4.2.2. Epileptik WAG/Rij Sıçanlara Ait Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kontraksiyonuna Seçili Antiepileptik İlaçların Doza Bağlı Etkileri

Epileptik WAG/Rij'a ait non-gebe ve gebe olmak üzere myometriyal şeritlerin, tez çalışması için seçilmiş AEİ'lerin doza bağlı myometriyum kontraksiyonuna potansiyel etkileri incelendi.

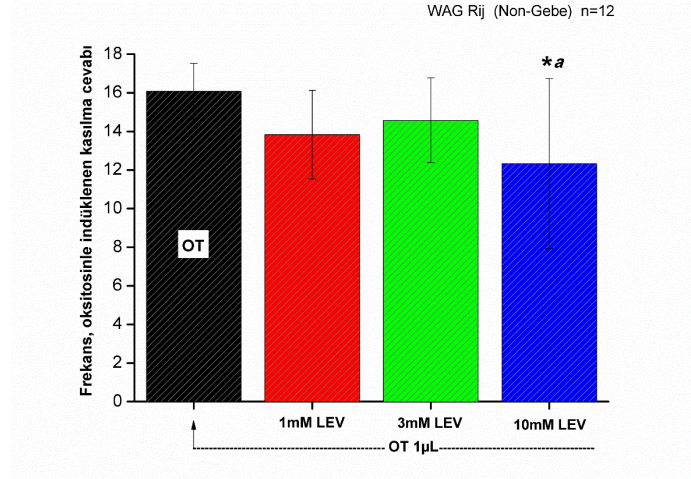
WAG/Rij ırkına ait, OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına LEV (1 mM, 3 mM, 10 mM) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucunda etkileri incelenip, non-gebe ve gebe gruplarına ait şeritlerin kontraksiyonları karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).



Şekil 9. WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan levitirasetamın AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması

WAG/Rij'a ait OT ile indüklenmiş non-gebe ve gebe myometriyal şeritlere LEV'in doza bağlı etkisi karşılaştırıldığında, sadece non-gebe şeritlerinde LEV'in (ortalama %AUC LEV:1 mM=117.1±11.5, $p=0.049$; 3 mM=119.8±19.2, $p=0.017$; LEV:10 mM= 119.2±21.9, $p=0.022$) kasılmaya uyarı eğilimindeki etkisi tüm dozlarında düşük düzeyde anlamlılık saptandı, gebe grubuna ait şeritlerde (ortalama %AUC LEV:1 mM= 73.8±16.2, $p=0.1$; 3 mM= 78.6±16.7, $p=0.2$; LEV:10 mM= 107.7±40.7, $p=0.9$) ise kasılmada düşüş tespit edildi ancak bu etki istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 9).

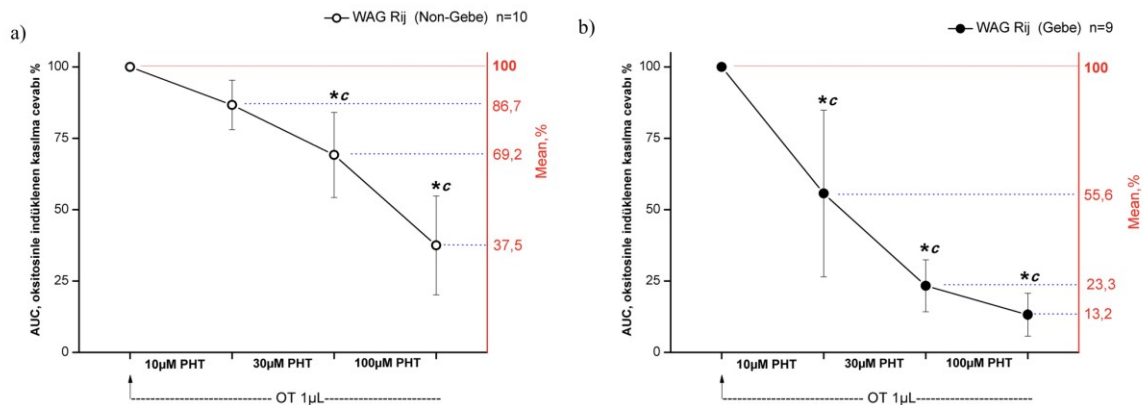
Aynı deney gruplarına ait myometriyal şeritlerin LEV dozlarının myometriyum kasılma frekansına etkileri non-gebe ve gebe grupları için ayrı ayrı değerlendirildi.



Şekil 10. Non-gebe WAG/Rij'a ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan levetirasetamın frekans parametresine doza bağlı etkisi

WAG/Rij ırkına ait OT ile indüklenmiş myometriyum kasılma frekanslarına LEV'in doza bağlı etkileri; en yüksek doz 10 mM ($p=0.011$) için anlamlı olarak frekansta düşüş saptandı (Şekil 10). Bunun yanısıra, gebe grubuna ait myometriyal şeritlerin kasılma frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

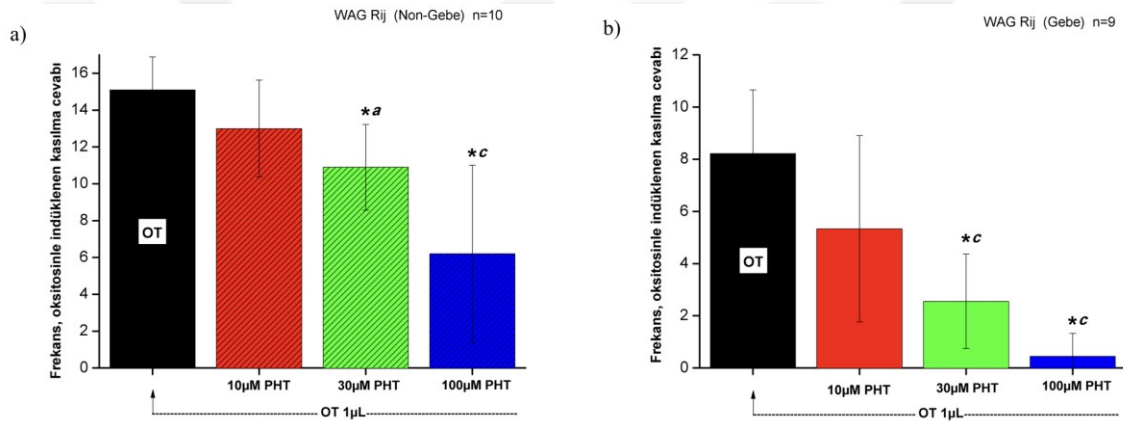
WAG/Rij ırkına ait PHT gruplarında, OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına PHT (10 µM, 30 µM, 100 µM) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucunda etkileri incelenip, non-gebe ve gebe gruplarına ait grafikler karşılaştırıldı (AUC parametresi, %).



Şekil 11. WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin AUC (%) parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinin karşılaştırılması

WAG/Rij’a ait non-gebe ve gebe gruplarının her ikisinde de kasılma üzerindeki inhibisyon etkisi net olarak bulundu. Non-gebe grubunda özellikle 30 μ M (ortalama %AUC=69.2 $\pm$ 14.9, $p=0.001$) ve 100 μ M PHT (ortalama %AUC= 37.5 $\pm$ 17.3, $p=0.001$) dozlarının her ikisinde de myometriyal şeritlerde kasılmaya yüksek düzeyde anlamlı inhibisyon saptandı, gebe grupta ise kasılmaya inhibisyon etkisi tüm dozlarda (ortalama %AUC PHT:10 μ M =55.6 $\pm$ 29.20, $p=0.001$; 30 μ M=23.33 $\pm$ 9.08, $p=0.001$; 100 μ M=13.2 $\pm$ 7.48, $p=0.001$) yüksek düzeyde anlamlılığa sahip olduğu bulundu (Şekil 11).

Aynı deney gruplarına ait myometriyal şeritlerin PHT dozlarının myometriyum kasılma frekansına etkileri non-gebe ve gebe grupları için ayrı ayrı değerlendirildi.

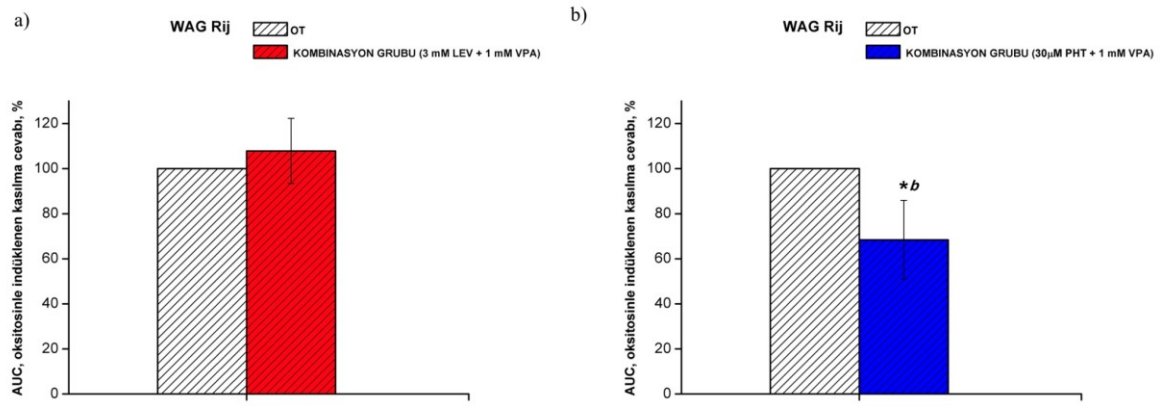


Şekil 12. WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarına kümülatif uygulanan fenitoinin frekans parametresine doza bağlı etkisinin (a) non-gebe ve (b) gebe şeritlerinde karşılaştırılması

WAG/Rij ırkına ait myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş myometriyum kasılma frekanslarına PHT’in doza bağlı etkisi, hem non-gebe hem de gebe grubuna ait şeritlerde 30 μ M ve 100 μ M PHT dozlarının kasılma frekansına istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon etkisi bulundu. Özellikle gebe grubuna ait şeritlerin kasılmalarına 30 μ M ($p=0.001$) ve 100 μ M ($p=0.001$) PHT dozlarında frekanstaki azalma istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlılığa sahip olduğu saptandı (Şekil 12).

4.2.2.1. Non-Gebe Epileptik WAG/Rij Sıçanlara Ait Myometriyal Şeritlerin Oksitosin ile İndüklenmiş Kontraksiyonuna Seçili Kombinasyon Antiepileptik İlaçların Etkisi

Çalışmada, non-gebe epileptik WAG/Rij sıçanlardan alınan myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına (10 dakikalık periyot), (“30 μ M PHT + 1 mM VPA” ve “3 mM LEV+ 1 mM VPA”) seçili kombinasyon AEİ’lerin olası kontraktıl modülatör etkileri araştırılıp non-gebe epileptik WAG/Rij ait myometriyal şeritlere her iki kombinasyonun uygulandığı kasılma üzerine etkileri karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).



Şekil 13. Non-gebe WAG/Rij’ a ait myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasımlara kombinasyon gruplarının: (a) 3 mM LEV+ 1 mM VPA ve (b) 30 μ M PHT + 1 mM VPA, AUC (%) parametresine etkisi

Non-gebe WAG/Rij’ a ait şeritlerin OT ile indüklenmiş kasılmalarına “3 mM LEV + 1 mM VPA” kombinasyonun kasılmaya etkisi (normalize % ortalama) AUC’de hafif artış (%100’den %107.8 $\pm$ 14, $p=0.2$, $n=7$), ortalama frekans yönüyle ise azalma (OT: 18 $\pm$ 3,4, (3 mM LEV+ 1 mM VPA): 16 $\pm$ 3.3, $p=0.3$, $n=7$) saptandı ve (normalize %) amplitüd (%100’den %99.9 $\pm$ 5, $p=0.9$, $n=7$) değerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 13a).

Non-gebe WAG/Rij’ a ait şeritlerin OT ile indüklenmiş kasılmalarına “30 μ M PHT + 1 mM VPA” kombinasyonu grubundaki sıçanların OT ile indüklenen myometriyum kasılmalarında; (normalize % ortalama) AUC (%100’den %68.4 $\pm$ 17, $p=0.003$, $n=7$), ortalama frekans (OT: 17.4 $\pm$ 3.5, (30 μ M PHT + 1 mM VPA): 11.4 $\pm$ 4.4, $p=0.016$, $n=7$) ve amplitüd (%100’den %88.6 $\pm$ 12, $p=0.05$, $n=7$) parametrelerinde düşüş saptandı. Özellikle

AUC (%) ve frekans kasılma parametrelerinde yüksek düzeyde anlamlı inhibisyona neden olduğu bulundu (Şekil 13b).

4.2.2.2. Non-Gebe Epileptik WAG/Rij Sıçanlarda Fenitoin'in, Kalsiyum Kanal Agonisti Bay K864 ile Myometriyal Kasılma Üzerindeki İnhibitör Etkileri, Hücre Dışı Sodyum İyonunun NMDG⁺ ile Değiştirilmesi ve Yüksek Potasyum ile Membran Depolarizasyonun Modülasyonu

BAYK 8644 için çözücü olarak kullanılan DMSO, non-gebe WAG/Rij sıçanlarından elde edilen myometriyum şeritlerinin kontraktilesi (kontrol AUC: %100'den %92±16 (n=6, $p>0.95$) üzerinde anlamlı düzeyde farklılık oluşturmadığı tespit edildi.

Tek doz Fenitoin (100 µM) uygulaması, non-gebe WAG/Rij sıçanların OT ile indüklenmiş kasılmaya ait AUC parametresinde istatistiksel düzeyde anlamlı düşüş bulundu (OT: %100'den PHT: %47±9, n=3, $p<0.01$) ardından uygulanan BAY K8644'nın kasılmaya etkisinin ortalama AUC'si ile karşılaştırıldığında kasılmalar üzerine (BAY K8644: %51±13, n=3, $p>0.05$) toparlamada anlamlı artışa neden olduğu saptandı.

Hücre dışı kayıt solüsyonundaki Na⁺, NMDG⁺ ile değiştirildiğinde oksitosin non-gebe WAG/Rij ait myometriyal şeritlerde kasılmayı uyardı (spontan kasılmaların ortalama AUC'si: %100, OT AUC: %145±30, n=3, $p<0.14$). Sonrasında uygulanan fenitoinin, kasılmaların AUC parametresinde istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon saptandı (OT AUC: %100, PHT AUC: %39±10, n=3, $p<0.01$) ve ardından uygulanan BAY K8644'nın kasılmaya etkisi (BAY K8644 AUC: %37±23) ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde farklılık bulunmadı.

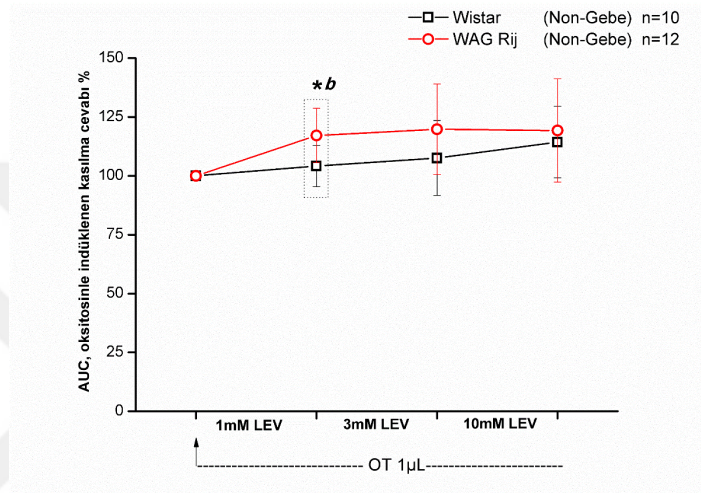
Son olarak yüksek miktarda KCl (60 mM) uygulandığında; hem normal hücre dışı kayıt solüsyonunda hem de NMDG⁺ içeren kayıt solüsyonu sonrası fenitoinin neden olduğu kasılma üzerindeki inhibisyon etkisini istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermeyen kısmi toparlama tespit edildi.

4.3. Oksitosin ile İndüklenmiş Myometriyum Kasılmalarına Antiepileptik İlaçların Etkilerinin Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Irklarına Dair Kontraksiyon Farklılıkların Karşılaştırılması

Çalışmada, hem non-gebe hem de gebe gruplarının Wistar ile WAG/Rij ait sıçan myometriyumlarına AEİ'lerin etkisi kıyaslanmıştır.

4.3.1. Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Irklarına Ait Non-Gebe Myometriyal Şeritlerin Karşılaştırılması

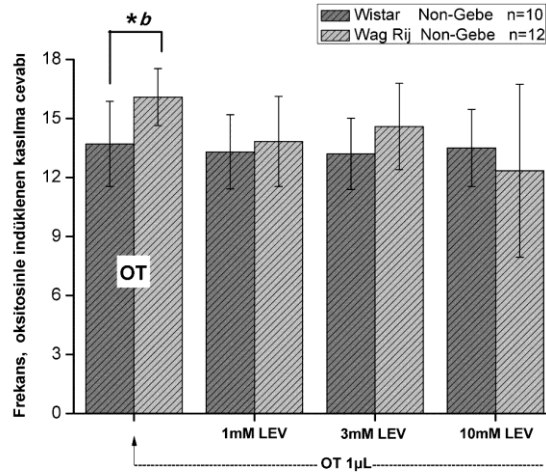
Non-gebe myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına LEV (1 mM, 3 mM, 10 mM) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucu kasılmaya etkileri incelendi, Wistar ve epileptik WAG/Rij ırkları karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).



Şekil 14. Non-gebe myometriyal şeritlerde levitirasetamın doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması

Non-gebe grubunda LEV'in düşük dozları WAG/Rij ırkında daha belirgin olmak üzere her iki ırkta da kasılmada hafif artış saptandı. Özellikle 1 mM LEV dozu ($p=0.007$) için her iki ırk arasında anlamlı fark vardı (Şekil 14).

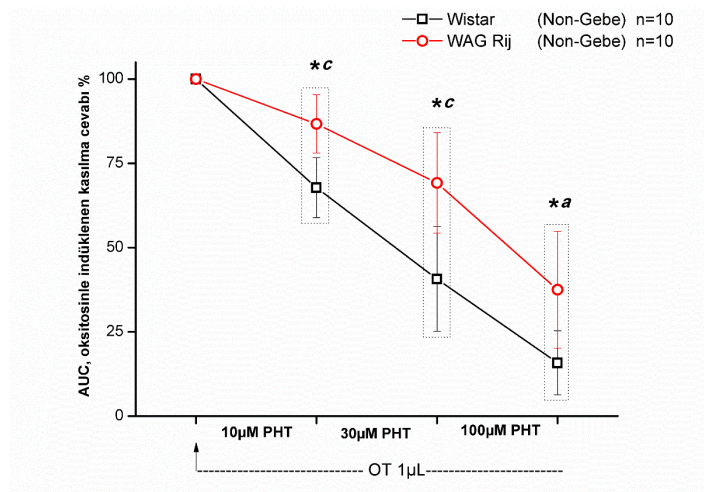
Aynı deney grubunda LEV'in doza bağlı myometriyum kasılma frekansına etkileri Wistar ve WAG/Rij ırkları karşılaştırıldı.



Şekil 15. Non-gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması

Epileptik WAG/Rij sıçanlarda, sağlıklı kontrolü Wistar'a kıyasla OT ile indüklemeye sonucu OT kontraksiyon cevabının frekansında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.009$) yanıt saptandı (Şekil 15).

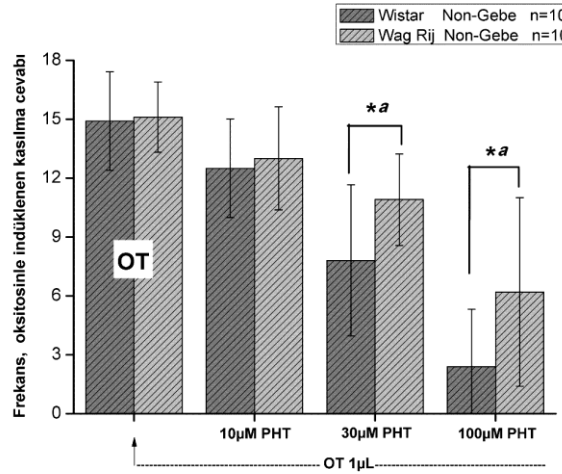
Non-gebe myometriyal şeritlerinin, OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına PHT (10 µM, 30 µM, 100 µM) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucu kasılmaya etkileri incelendi, Wistar ve epileptik WAG/Rij ırkları arasındaki farklılıklar karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).



Şekil 16. Non-gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması

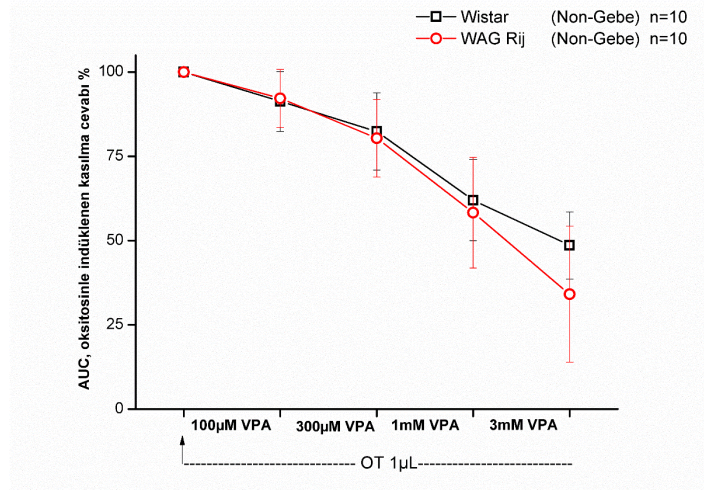
Özellikle en düşük doz olan 10 μM PHT’de ($p=0.0001$) iki ırk arasında önemli düzeyde anlamlı farklılık bulundu. PHT’nin non-gebe Wistar ırkına ait myometriyal şeritlerin kasılmasına inhibisyon etkisi, WAG/Rij ırkına kıyasla daha fazladır. Her iki ırk arasında myometriyal kasılmada tüm dozlar için (10 μM , $p=0.0001$; 30 μM , $p=0.001$; 100 μM , $p=0.004$) anlamlı düşüş saptandı (Şekil 16).

Aynı deney grubunda PHT’nin doza bağlı myometriyum kasılma frekansına etkileri Wistar ve WAG/Rij ırkları karşılaştırıldı.



Şekil 17. Non-gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması

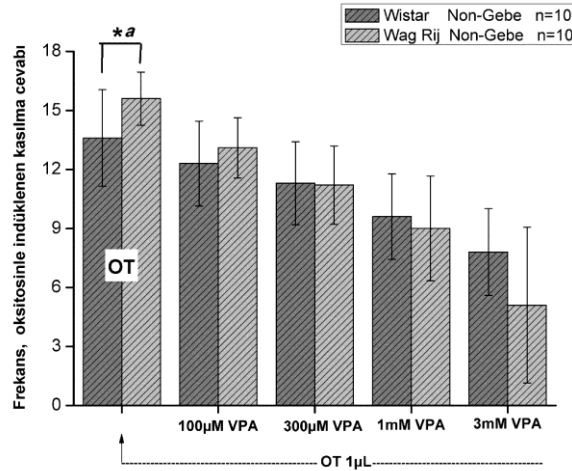
Özellikle yüksek dozlarda 30 μM ($p=0.043$) ve 100 μM ($p=0.046$) PHT’de Wistar myometriyum şeritlerinin kasılma frekansı WAG/Rij’a kıyasla anlamlı olarak azaldı (Şekil 17).



Şekil 18. Non-gebe myometriyal şeritlerde valproik asidin doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması

VPA uygulamasının doza bağlı olarak, non-gebe grubu Wistar (ortalama %AUC, VPA 100 µM= 91.3±8.9, $p=0.3$; 300 µM= 82.4±11.5, $p=0.001$; 1 mM = 62±12.05, $p=0.0001$; 3 mM= 48.6±9.9, $p=0.0001$) ve WAG/Rij (ortalama %AUC, VPA 100 µM= 92.2±8.6, $p=0.7$; 300 µM= 80.4±11.5, $p=0.015$; 1 mM = 58.3±16.4, $p=0.0001$; 3 mM= 34.1±20.1, $p=0.0001$) ırklarına ait myometriyal şeritlerin kasılmalarına etkileri karşılaştırıldığında VPA 300 µM, 1 mM, 3 mM dozlarının her iki ırkta da kasılmayı inhibe ederek yüksek düzeyde anlamlı farklılıklar bulundu (Tablo 2). Bununla birlikte, ırkların myometriyal kasılmalarına etkileri karşılaştırıldığında ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 18).

Aynı deney grubunda VPA'nın doza bağlı myometriyum kasılma frekansına etkileri Wistar ve WAG/Rij ırkları karşılaştırıldı.

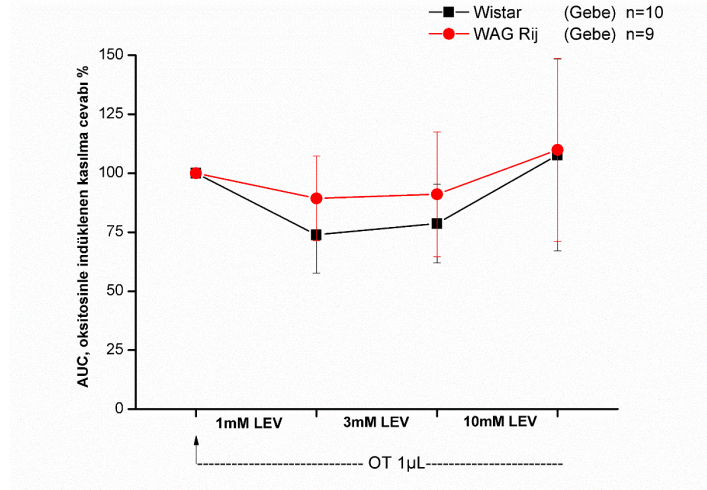


Şekil 19. Non-gebe myometriyal şeritlerde valproik asidin doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması

Epileptik WAG/Rij ırkında, sağlıklı kontrolü Wistar'a kıyasla OT ile indüklemeye sonucu OT kontraksiyon cevabının frekansında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.041$) artış saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da özellikle yüksek dozlarda WAG/Rij ait kasılma frekansındaki inhibisyonun, Wistar'a göre daha fazla olduğu görüldü (Şekil 19).

4.3.2. Kontrol Wistar ve Epileptik WAG/Rij Irklarına Ait Gebe Myometriyal Şeritlerin Karşılaştırılması

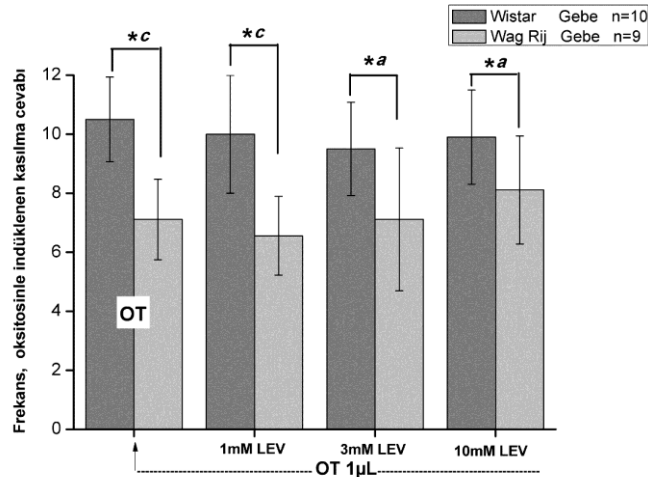
Gebe myometriyal şeritlerin, OT ile indüklenmiş (%100) myometriyum kasılmasına LEV (1 mM, 3 mM, 10 mM) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucu kasılmaya etkileri incelendi, Wistar ve epileptik WAG/Rij ırklarının şeritleri karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).



Şekil 20. Gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması

Her iki ırkta da LEV'in aynı dozlarında kasılmalarda benzer etkiler bulundu. Wistar ve WAG/Rij ırklarının myometriyum kasılmalarına LEV'in doza bağlı etkileri karşılaştırıldığında ırklar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (LEV 1 mM, $p=0.06$; 3 mM, $p=0.2$; 10 mM, $p=0.9$) (Şekil 20).

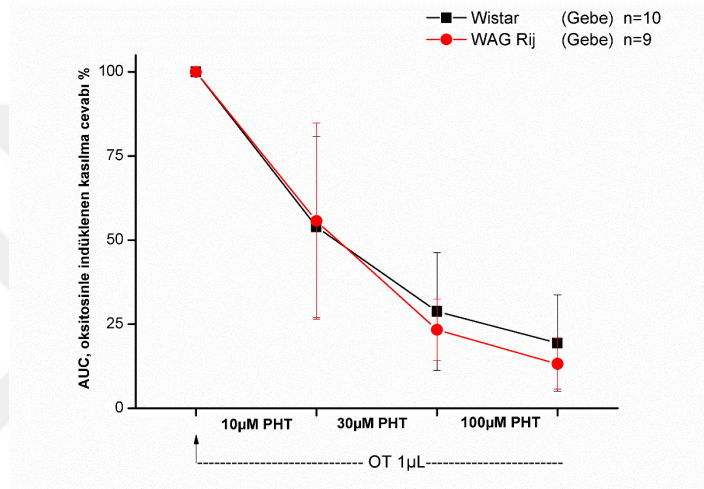
Aynı deney grubunda LEV'in doza bağlı myometriyum kasılma frekansına etkileri Wistar ve WAG/Rij ırkları karşılaştırıldı.



Şekil 21. Gebe myometriyal şeritlerde levetirasetamın doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması

Özellikle gebe epileptik WAG/Rij sıçanların, sağlıklı kontrolü Wistar'a kıyasla tüm kasılma frekanslarının belirgin olarak daha düşük olduğu saptandı. Bu sebeple iki ırka ait kasılma frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (OT, $p=0.0001$; 1 mM LEV, $p=0.0001$; 3 mM LEV, $p=0.025$; 10 mM LEV, $p=0.038$) (Şekil 21).

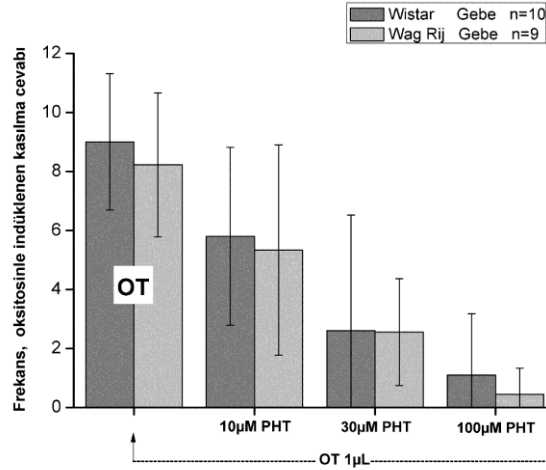
Gebe myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş (%100) kasılmasına PHT (10 μ M, 30 μ M, 100 μ M) dozlarının sırasıyla kümülatif uygulanması sonucu etkileri incelendi, Wistar ve epileptik WAG/Rij ırkları karşılaştırıldı (AUC parametresine ait grafikler, %).



Şekil 22. Gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılmaya etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarına ait AUC (%) verilerinin karşılaştırılması

PHT her iki ırkta da benzer düzeyde kasılmada inhibisyona neden oldu. Bu sebeple, Wistar ve WAG/Rij cinsleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (10 μ M, $p=0.9$; 30 μ M, $p=0.4$; 100 μ M, $p=0.2$) (Şekil 22).

Aynı deney grubunda PHT'nin doza bağlı myometriyum kasılma frekansına etkileri Wistar ve WAG/Rij cinsleri karşılaştırıldı.



Şekil 23. Gebe myometriyal şeritlerde fenitoinin doza bağlı kasılma frekansına etkisinin, Wistar ve WAG/Rij ırklarında karşılaştırılması

PHT, her iki ırka ait grupta da kasılma frekansında yakın düzeyde inhibisyona neden oldu. Bu sebeple, Wistar ve WAG/Rij ırkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (OT, $p=0.5$ 10 μM , $p=0.7$; 30 μM , $p=0.9$; 100 μM , $p=0.3$) (Şekil 23).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kadınlarda doğurganlık çağı ve hamilelik süresince AEİ kullanımına ilişkin obstetrik komplikasyon risk ve insidansı (çok yüksek olmamakla beraber) göz önüne alındığında (8, 27), tez kapsamında iki ana hipoteze odaklanıp; 1) spontan kontraktilite ve oksitosin duyarlılığı açısından epileptik uterusun, sağlıklı uterustan farklı olup-olmadığı, 2) çalışmada kullanılan seçilmiş AEİ'lerin (LEV, PHT, VPA) OT ile indüklenmiş uterus kontraktilitesi üzerindeki modülatör etkisi hem gebe olmayan ve gebe WAG/Rij hem de sağlıklı Wistar sıçanlardan izole edilmiş myometriyal şeritler üzerinde farklı düzeyde etkiye sahip olup olmadığı deneysel protokollerle test edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında, *in vitro* deneysel protokoller ile spontan kontraktilite ve oksitosin duyarlılığı açısından epileptik uterusun, sağlıklı uterustan farklı olabileceğine dair bulgular elde edilmiştir. Bu bulgular epileptik uterus fizyolojisinde bazı değişikliklerin cereyan ettiğini işaret etmektedir. İlave olarak, çalışmada kullanılan seçilmiş AEİ'lerin (LEV, PHT, VPA) uterus kontraktilitesi üzerindeki modülatör etkisine ilişkin veriler de elde edilmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda, antiepileptik ilaçların hem epileptik WAG/Rij hem de sağlıklı Wistar sıçanlardan izole edilmiş myometriyal şeritler üzerinde farklı düzeyde fakat temelde benzer etkiler gösterdiği saptanmıştır. Dolayısı ile antiepileptik ilaçların tespit edilen etkisi düz kas kasılma mekanizması üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir.

WAG/Rij sıçanlarından alınan myometriyal şeritlerde, bazal koşullarda (gerim ile indüklenen) kasılma paterni (fazik dalga döngüsüne ait kıyaslanabilir amplitüd içeren) açısından sağlıklı kontrollerle karşılaştırılabilir bir benzerlikte spontan kasılma aktivitesi görülmüştür. Bunun yanı sıra, myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş kasılmalar üzerine seçilmiş AEİ'lerin etkileri de incelenmiştir (amplitüd, AUC ve kontraksiyon frekansı). Kontrol sağlıklı Wistar ve epileptik WAG/Rij sıçanların hem gebe olmayan hem de gebe deney hayvanlarına ait myometriyal spontan kasılmalar arasında istatistiksel anlamlılık düzeyinde bir fark (AUC parametresine ait ortalamalar) olduğu saptanmıştır.

WAG/Rij sıçanlara ait myometriyal şeritlerin spontan kontraktilitesi AUC yönünden kontrol Wistarların aynı parametresi bakımından kıyaslandığında, gebe olmayan epileptik WAG/Rij kökenli myometriyal kesitlerin ortalama AUC değerlerinin daha yüksek olduğu, ancak gebe grupları kıyaslandığında ise WAG/Rij cinsinde daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Bu bulguları ve olası mekanizmasını açıklayabilecek uygun deneysel protokol tez

alışmasında yer almamakta ve alakalı veriye ilişkin benzer literatür verisi henüz olmamakla birlikte, bu bulguların genel sağlıklı popölasyona göre epilepsili kadınlarda bildirilen fertilité sorunlarıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (211).

Epilepsi hayvan modellerinde var olan iyon kanallarının ekspresyonundaki değişimlerin epilepsi patolojisinde rol oynadığına dair kanıtlar literatürde yer almakta olup özellikle T-tipi kalsiyum kanal ekspresyonundaki artışın belirgin olduğu ortaya konulmuştur (212). Uterus miyositlerinde de var olan T-tipi kalsiyum kanallarının, myometriyumda aksiyon potansiyellerinin başlatılmasında ayrıca spontan kasılmaların oluşmasından sorumlu moleküler mekanizmada rol oynadığı düşünölmektedir (213).

Epilepsi patogenezinde gerçekleşen iyon kanal ekspresyonundaki değişim ile aynı iyon kanalının myometriyumun spontan kasılma modölasyonunda rol alması, bu tez çalışmasında elde edilen verilerin WAG/Rij epileptik sıçanlardaki kontraktilité farklılığı ile ilişkili olabileceği şüphesini akla getirmektedir.

Temelde fonksiyonel yönüyle, gebe olmayan uterusda spontan kasılmalar (gerim ile indüklenen), hızlı sperm taşınmasına katkıda sağlayan bir role sahiptir (214). Dolayısıyla, elde edilen tez çalışmasına ait bulgular, epileptik kadınlarda epilepsi ile ilişkili olarak artmış infertilite riski yerine sağlıklı fertilitéye uyumlu profili yansıtmıştır. Bu durum, epilepsili kadınlarda kontraktilité bozukluğunun AEİ kullanımı kaynaklı olabileceğine işaret etmekte ve bu durumda AEİ kullanılmadığında epilepsi ile ilişkili fertilité sorunlarının ortaya çıkmama olasılığını düşündürmektedir. Diğer yönden, uterus spontan kasılmalarının aslında östrus siklusunun evrelerine göre değişiklik gösterdiği öne sürölmüştür; ovulasyon sonrası, implantasyonu kolaylaştırmak gibi fizyolojik uyuma göre kasılmalarda belirli düzeyde değişiklik olabileceği bilinmektedir. Tez alışması kapsamında, epileptik WAG/Rij ve sağlıklı kontrolü Wistar sıçanların myometriyal doku örneklerinde östrus sikluslarının farklılığına dair kıyas çalışması maalesef yapılmamıştır. Bunun birlikte, elde ettiğimiz tüm bu bulguları literatür ile kıyasladığımızda menstrüel siklusla ilişkili epileptik nöbet aktivitesi olan “katamenial epilepsi” ile bağlantılı olabileceği ihtimalini düşündürmektedir (215). Kataminal epilepsi; progesteron hormonu anahtar rol oynamakta ve serum progesteron seviyesi düştüğünde ortaya çıkmaktadır. Bu hormon aynı zamanda myometriyumun sessizliğini sağlayan fizyolojik mekanizmanın bir parçasıdır. Özellikle gebe olmayan myometriyal şeritlerin kasılmasında, sağlıklı Wistar myometriyumuna kıyasla epileptik WAG/Rij myometriyumda gerçekleşen daha yüksek spontan kontraktilité seviyesinin,

abdominal (karın) ağrı ile ilişkili dismenore (menstrüel kramp) olasılığını da akla getirmektedir. Katamenial epilepsinin, epilepsili kadınların önemli bir bölümünü (yaklaşık %70'i) etkilediği zaten yapılan çalışmalar sonucu literatürde ortaya konulmuştur (216, 217). Buna ek olarak, epilepsi komorbiditelerini gösteren birkaç vaka raporu ve dismenore sebebiyle abdominal ağrının birlikte yer aldığı çalışmalar da literatürde mevcuttur (218, 219). Dolayısı ile spontan kasılmalara yönelik bu tez çalışmasındaki bulgular, bahsedilen klinik problemlerin altında yatan mekanizmayı açıklamaya yardımcı olabilir.

Endojen bir uterus kasılma uyarıcısı olan oksitosin uygulamasına kasılma cevaplarıyla ilgili kıyaslamada, gebe olmayan Wistar ve WAG/Rij sıçanlarından alınan myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş kontraksiyon cevapları (AUC, %) karşılaştırıldığında, gebe olmayan WAG/Rij grubuna ait myometriyumların oksitosine anlamlı derecede daha yüksek kontraksiyon cevabı verdiği bulunmuştur (Tablo 1). Mekanizmaya ilişkin detaylı inceleme çalışması tez kapsamında yer almamasına rağmen, bu durumun muhtemel olarak oksitosin reseptörünün daha yüksek düzeyde bulunması ile ilişkili olduğunu akla getirmektedir. Kontraksiyona dair elde ettiğimiz veriler, bu farklılığının rolünü ve epileptik kadınlarda yüksek oranda karın ağrısı ile ilişkili olan dismenorede rol alma fikrini bir başka yönden desteklemektedir. Buna ek olarak, OTR ekspresyonun dismenore ile pozitif korelasyon gösterdiği literatürde yer almakta olup bu ilişkilendirmeyi güçlü hale getirmektedir (220).

Oksitosin, gebe WAG/Rij grubunda myometriyum kasılmasını önemli ölçüde uyarmıştır. Bununla birlikte, her iki türe ait gebe gruplarından alınan myometriyal şeritlerin oksitosin kontraksiyon cevapları karşılaştırıldığında ise; gebe WAG/Rij grubu, gebe Wistar grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı derecede daha zayıf kontraksiyon cevabı verdiği saptanmıştır. Bu durum gebelik faktörünün, epileptik WAG/Rij sıçanlardan elde edilen myometriyal düz kas kontraktilitesini modüle eden önemli bir faktör olduğu ihtimaline dikkat çekmektedir. Fakat gebelik durumundaki bu farklılığın altında yatan mekanizmanın ne olduğu ve fonksiyonel olarak ne(ler)den kaynaklandığına dair henüz bir çalışma yer almamaktadır. Diğer taraftan, gebe epileptik WAG/Rij myometriyum kasılması oksitosin tarafından yeterli ölçüde uyarıldığından, epileptik hayvanların uterus kasılabilirliği ve doğum eyleminde anahtar rol oynayan oksitosin cevapları yönüyle vajinal doğum yapabilecek kapasiteye sahip olduğu düşündürmektedir.

Elde edilen bulgulara göre gebe WAG/Rij sıçanlara ait oksitosin kaynaklı myometriyal kasılmalarının sağlıklı kontrolü Wistar sıçanlara kıyasla daha zayıf olması, literatürde epileptik kadınların sağlıklı kadınlara kıyasla bildirilmiş olan daha yüksek oranda (yaklaşık 2-3 kat) uterin distosisi (zor doğum), sezaryen, postpartum (doğum sonrası) ve hemoraji (kanama) oranları ile ilişkili olabilme ihtimalinin altını çizmektedir (221). Özellikle uterin distosi, sıkça görülen ve en yaygın nedeni uterusun yetersiz kasılma aktivesi göstermesi olan doğum sürecinin anormal ilerlediği komplikasyondur (222). Bu durum, sağlıklı kontrolü Wistar'a kıyasla gebe WAG/Rij sıçanların daha zayıf kontraksiyon cevabını bu yönüyle aydınlatıcı niteliktedir. Üstelik, tez çalışmasıyla elde edilen epileptik ve sağlıklı myometriyum kontraksiyonuna seçilmiş olan AEİ'lerin uygulanması ile oluşan cevaplar arasındaki farklılıklar, epilepsili kadınlarda sağlıklılara kıyasla artmış sezaryen gereksinimi ile ilişkili olma olasılığını da güçlendirmektedir.

Myometriyum kasılması esas olarak, ekstraselüler alandan voltaj duyarlı Ca^{+2} kanalları aracılığıyla hücre içine Ca^{+2} girişi ve SR'den Ca^{+2} salıverilmesi sonucu hücre içi Ca^{+2} artışıyla meydana gelmektedir (177). Depolarizasyon, daha çok kalsiyum iyonu olmak üzere Ca^{+2} ve Na^{+} iyonlarının hücre içine girişiyle meydana gelir (179). Bununla ilişkili olarak AEİ'lerin çoğu iyon kanallarına, özellikle de voltaj bağımlı sodyum ve kalsiyum kanallarına etki ederek epileptik nöbetleri engellediğinden, AEİ'lerin myometriyum dahil olmak üzere düz kas üzerinde önemli kontraktıl modülatör etkileri olabileceği, bu nedenle epileptik hamile ve hamile olmayan kadınlarda düşük yapma, uterin distosisi veya artmış kanamaya sebep olabilecek potansiyele sahip olma şüphesini ortaya koymaktadır.

Tez çalışmasında etkileri test edilmiş ajanlar olan; fenitoin, levetirasetam ve valproik asit, günümüzde gelişmiş ülkelerde en yaygın kullanıma sahip AEİ'ler oldukları için seçilmiştir. Epileptik WAG/Rij ve sağlıklı kontrolü Wistar sıçanlardan alınan myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılma cevaplarına, yeni nesil ajan (levetirasetam) ve birinci nesil daha eski ajan antikonvülzanların (fenitoin ve valproik asit) her bir AEİ'nin tek olarak ve bazı kombinasyonlarda ("PHT + VPA" ve "LEV + VPA") AEİ'lerin olası kontraktıl modülatör etkileri de incelendi.

Fenitoin ve valproik asit, voltaj kapılı sodyum blokajı ve T-tipi kalsiyum kanal inhibisyonu mekanizmaları ile hem Wistar hem de WAG/Rij gebe olmayan ve gebe hayvanlardan izole edilmiş myometriyumda OT ile indüklenmiş kasılmaların (Tablo 2) kontraksiyon gücünde istatistiksel anlamlı düzeyde zayıflamaya neden oldu. Diğer taraftan

levetirasetamın doza bağılı hem Wistar hem de WAG/Rij gebe olmayan ve gebe grupların her ikisi için de myometriyumun kasılma gücünü (amplitüd, frekans ve AUC) modüle ettiği tespit edildi (Tablo 2). Fizyolojik gebelik durumu, LEV'in kontraksiyona etkisinde bir başka faktör gibi görünmektedir. Çünkü, tabloda yer alan AUC parametresi incelendiğinde her iki türe ait gebe myometriyumlarda en yüksek doza (10 mM LEV) kadar kontraksiyonda ılımlı inhibisyon görülürken yüksek dozda kasılmanın toparlanmaya geçerek eski gücüne (OT ile indüklenmiş olan, %100) yakın olduğu bulunmuştur.

Kasılmaların ortalama amplitüd değerleri yönünden ise, gebe olmayan myometriyumun hem WAG/Rij hem de Wistar sıçan myometriyum kesitlerinde uyarılma yönünde etkiye gösterirken (Tablo 2), gebe myometriyumda amplitüde esas olarak inhibisyon yönünde etkiye neden olmuştur. Frekans ile ilgili olarak, en yüksek dozda görülen anlamlı bir uyarılma dışında, LEV hem WAG/Rij hem de Wistar kökenli dokularda gebe olmayan ve gebe myometriyum için inhibisyon yönünde etki ortaya çıkardı.

Oksitosin ile indüklenmiş kasılmalar üzerine LEV'in etkisinin AUC parametresi yönüyle değerlendirildiğinde, her iki türe ait hem gebe olmayan hem de gebe myometriyum dokuları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Tablo 2). Bununla birlikte ırk kıyaslamalarında, gebe gruplarında kontrol Wistar ve WAG/Rij ırk yönüyle karşılaştırıldığında gebe WAG/Rij sıçanlarına ait myometriyal şeritlerde LEV'in OT ile indüklenmiş kasılmalarda frekans üzerine inhibitör etkisi sağlıklı Wistar kökenli myometriyuma kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır (Tablo 2). Levetirasetamın özellikle gebe myometriyumda daha etkili olması klinik açısından büyük öneme sahiptir, çünkü bu ajan gebelik sırasında nöbetlerin kontrolünde klinikte sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca, diğer AEİ'lerin sahip olduğu teratojenik yan etkileri içermediği ortaya konulmuştur ve bu yüzden daha sık tercih edilmektedir (223).

Levetirasetamın etkilerini özetle değerlendirdiğimizde; gebe olmayan veya gebe WAG/Rij ve Wistar sıçanlarından izole edilen myometriyal şeritlerin oksitosin ile indüklenmiş kasılmalarından hesaplanan ortalama amplitüd ve AUC parametrelerine levetirasetamın etkisi yönünden aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 2).

Seçilmiş AEİ'lerin, WAG/Rij ve Wistar hayvanlara ait myometriyal şeritlerin OT ile indüklenmiş kontraksiyonlarına etkisi ırk olarak karşılaştırıldığında ise, fenitoinin güçlü inhibisyon etkisinin her iki ırka ait kasılma tüm parametreleri (amplitüd, frekans veya AUC)

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak bu durumun nedeni olarak fenitoinin, her iki ırkta da OT ile indüklenmiş kasılmalarda yüksek düzeyde ve hatta büyük oranla tamamen baskılayacak düzeyde inhibisyona sebep olmasından kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

Bu doktora tez çalışması kapsam ve özgünlük açısından genel itibariyle değerlendirdiğinde *in vitro* ve hayvan deneyi düzeyinde bir çalışma olması: *in vitro* çalışmalar kanıt hiyerarşisinde, insan myometriyumunda ve klinik çalışmalarda daha ileri araştırmaların alt yapısı için potansiyel bir değere sahiptir. Bu bağlamda, genetik epileptik hayvanlardan alınan myometriyal gebe olmayan ve gebe sıçan dokusunun kullanılması bu çalışmayı, farkı ortaya koyabilmek adına güçlü hale getirmektedir.

Deney gruplarında gebelik faktörünün yer alması ve gebe olmayan/gebe grup kıyaslamasını iyi bir şekilde modelleyip yapabilmek amacı ile AEİ dozları, klinik olarak anlamlı dozlardan belli oranda yüksek tutulmuştur. Bu durumun sebebi olarak, gebelik sırasında hormonal veya vücuttaki fizyolojik gebelik değişimleri sonucunda plazmadaki ilaç konsantrasyonlarının yeterli düzeyin altına inmesinden dolayı hamilelik sırasında bu ajanlar, hamilelik öncesi değerlerinde tutmak için dozlarının 2-3 katına çıkarılması gerekebilmesidir (51, 224).

Ayrıca gebelikte kullanılan AEİ teratojenite profili veya bazı epileptiklerde nöbet kontrolünü sağlama monoterapinin yetersiz kalabilmesi gibi durumlar sebebiyle politerapi gereksinimi oluşabilmektedir. Özellikle AEİ'ler arasında etki mekanizmasının farklılığı ve güvenilir profiliyle öne çıkan LEV'in kombinasyon grubuna dahil edilmesi önem taşımaktadır.

Valproik asidin seçilme nedeni ise, jeneralize epilepside nöbetler üzerinde etkili olması, günümüzde onaylanmış yeni nesil AEİ'ler olmasına rağmen halen daha kullanılmakta hatta bazı epileptik bireylerin nöbet kontrolünde gereksinim duyulmaktadır. Özellikle kadınlarda fizyolojik hormonal değişimlere eşlenik olarak VPA kullanımına ilişkin nöbet kontrolü ve doz optimizasyonu açısından dikkat edilmektedir. Bunun major sebepleri arasında VPA profilinin gebelerde konjenital malformasyon ve doza bağlı teratojenite oranının oldukça yüksek olmasıdır (225).

Bu sebeple çalışmada VPA, teratojenik oranın yüksek olması ile gebe olmayan grupta ve politerapide nöbet kontrolünde etki potansiyeli ile ilişkili olarak fazlaca tercih edilmesi sebebiyle kombinasyon gruplarına dahil edilmiştir (42). Deneyde kullanılan

AEİ'lerin konsantrasyonları, rutin klinik kullanımlarından test edilen konsantrasyonlar hesaplanıp, (levetirasetam hariç) klinik olarak ilgili konsantrasyon aralıklarında test edilmiştir (71). Deney sonucunda AEİ'lerin tüm gruplarında OT ile indüklenmiş kontraksiyonlarına inhibisyon etkisinin potansiyel büyüklüğü fenitoin> valproik asit> levetirasetam düzeyinde olduğu tespit edildi.

Levetirasetamın hem WAG/Rij hem Wistar myometriyumlarının kontraktıl parametreleri üzerinde ilgili konsantrasyonlarda sağladığı etki düzeyinin sınırlılığı, bu ajanların klinikte kullanıldığında kasılmalar üzerine anlamlı bir etkisinin olmayabileceğini düşündürmektedir. VPA ve LEV kombinasyonu, kasılma üzerinde minimum etki sağlarken, VPA ile PHT kombinasyonunda fenitoinin kasılma üzerinde anlamlı düzeyde inhibisyon yaptığı tespit edildi.

Ayrıca, LEV'in nöbet kontrolündeki potansiyel etkisi ve diğer AEİ'lerden farklı olarak belirgin teratojenik etkisinin olmaması günümüzde gebelikte ilk aşamada tercih edilen önemli AEİ'lerdendir. Bu sebeple, gebelik öncesi veya gebelikte myometriyal kontraksiyonlara olan etkisine dair kanıtlar özellikle gebelik sırasında kullanımı için klinik bir anlamı olma potansiyele sahiptir (226, 227).

Tez çalışmasının özgün yönünü vurgu niteliği taşıyan bir başka unsur ise, AEİ'lerin myometriyumun kontraktilesi üzerindeki etkilerini araştıran ilk çalışma olmasıdır ve bu nedenle bu araştırmanın bulguları benzer herhangi bir çalışma ile direk karşılaştırılamamıştır. Fakat, literatüre önceki çalışmalara bakıldığında başka bir dokuda bu ajanların kontraktileye doz bağımlı inhibitör etkilerini izole kardiyomiyosit dokusunda gösteren araştırma bulguları ile uyum göstermektedir (228).

Daha öncede bahsettiğimiz üzere ikinci nesil AEİ olmasıyla öne çıkan levetirasetam, OT ile indüklenmiş WAG/Rij ve Wistar sıçan myometriyumun kontraktıl parametrelerine etkileriyle ilgili olarak klinik dozlar dikkate alındığında en düşük etkiye sahip olduğu tespit edildi. Bunun sebebi olarak da membran iyon kanalı içermeyen (voltage kapılı sodyum blokaj gibi) benzersiz etki mekanizmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür.

Bu tez çalışması kapsamında, AEİ'lerin myometriyal doku üzerindeki kontraktıl modülatör etkisine aracılık eden mekanizma(lar) da incelememiştir. Sonuç olarak test edilen AEİ'ler arasında fenitoin ve valproik asidin, voltage kapılı sodyum kanallarını inhibe ettiği düşünülmektedir (229). Bu iyon kanalı myometriyal ritmik kasılmaların modülasyonunda rol oynadığı öne sürülmüştür (179).

Mekanizmaya yönelik protokolde, hücre dışı sodyumun NMDG ile değiştirilmesi ile dokunun NMDG içeren Krebs solüsyona maruziyeti sonucu, yüksek doz fenitoin ile indüklenen kasılma inhibisyonunu önemli ölçüde toparladığı görüldü ve bu durum sodyum kanallarının bu etkide rol oynadığı şeklinde yorumlandı.

Kalsiyum kanalı agonisti BAY K 8644 ve yüksek KCl (60 mM) uygulamaları, fenitoin ile indüklenen kasılma inhibisyonunu anlamlı derecede geri getirmediği tespit edildi. Test sonucu belirlenen bu etki, membran kalsiyum kanalları ile etkileşimin önemli bir rol oynamadığını düşündürmektedir. Etki mekanizmasına ilişkin veriler yorumlanırken, bu protokollerin her bir ajanın en yüksek dozlarından sonra uygulandığı ve test edilen en yüksek dozlarda bazı spesifik olmayan etkiler olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Ayrıca, bu tez çalışması kapsamındaki myometriyum dokusunun dışında detrusor ve alt özofagial sfinkter dahil olmak üzere diğer düz kas dokularına etkisi hakkında da çalışmalar yaparak bazı ön veriler elde ettik ve bunun sonucunda AEİ'lerin düz kas üzerinde doğrudan etki potansiyeline sahip olduğu bilgisiyle uyumludur (230).

Antiepileptiklerin kullanımı sadece epilepsi popülasyonu için sınırlı olmayıp psikiyatrik hastalıklar gibi farklı hastalıklarda da yaygın şekilde kullanımı olan ajanlardır. Maruziyet popülasyon oranındaki artışın yanısıra birçok sistemde yer alan ortak iyon kanallarını içeren etki mekanizmalarına sahip olmaları ilgili organların aktivitesinde farklılığa neden olabileceği şüphesini akla getirmektedir. Özellikle yaygın olarak görülen ve primer tedavi olarak AEİ'lerin tercih edildiği radikal bir tedavisi olmayan epilepsi, cinsiyetin getirdiği fizyolojik değişimlere binayen kadınlar için zorlu bir tedavi sürecine sahiptir. Temelde nöbet önleme amacına yönelik hedef mekanizmasına sahip olan AEİ'ler iyon kanallarına da etki ederek uyarıcı nöbet deşarjlarını önleyebilmektedir. Kadınların doğurganlık çağı ve hamilelik süreçlerinde homeostazis sürdürmede bu temel iyon kanalları önemli rol oynamaktadır. Diğer taraftan uyarıcı yönünde bozulmuş nöron aktivite düzenine sahip epileptik kadınlarda, esas organ olan uterus kasılmasının farklı olabileceği ve kronik kullanım gereksinimindeki AEİ'lerin mekanizmalarına ilişkin uterus kasılmasına etki potansiyelinin altını çizmektedir.

Özetle, tür karşılaştırılması yapıldığında bazal koşullarda yani OT ile kasılma indüklenmesine kadar olan spontan kasılma sürecinde epileptik sıçanlardan elde edilen myometriyal düz kasın, kontrol Wistar sıçanlardan farklı spontan kasılma gösterdiğini ve OT ile indüklenmiş kontraksiyonlarda ise WAG/Rij ait myometriyal şeritlerde OT'ye daha

düşük bir duyarlılık gösterdiği tespit edildi. AEİ uygulamalarında ise, hem WAG/Rij hem de Wistar sıçanlarından izole edilen myometriyal şeritlerde seçilen AEİ'lerin kontraktıl modölatör olarak rol oynadığı; fenitoinin en fazla ve levetirasetamın en az etki gösterdiği saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu araştırmanın bulguları AEİ'ların uterus kasılması üzerine etkilerini insan myometriyumu üzerinde de çalışmaya ve bu ajanların potansiyel kontraktıl modölasyonunun *in vivo* değeriendirmesi gerektiğine yönelik öncül kanıt sağlamaktadır. Elde edilen nihai bulguların, bu ajanların literatürde yer alan teratojenik profillerine odaklanılmış çalışmaların dışında direkt olarak uterus düz kası kasılması üzerine etkisine yönelik olması ile klinik için potansiyel önem taşıyan bilgiler elde edilmiştir.



6. KAYNAKLAR

1. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46: 470-472.
2. Devinsky O, Vezzani A, O'Brien TJ, Jette N, Scheffer IE, de Curtis M, Perucca P (2018). Epilepsy. *Nat Rev Dis Primers* 4: 18024.
3. Schmidt D, Schachter SC (2014). Drug treatment of epilepsy in adults. *BMJ* 348: 254-254.
4. Boylan LS, Devinsky O, Barry JJ, Ketter TA (2002). Psychiatric uses of antiepileptic treatments. *Epilepsy Behav* 3: 54-59.
5. Johannessen Landmark C, Larsson PG, Rytter E, Johannessen SI (2009). Antiepileptic drugs in epilepsy and other disorders-a population-based study of prescriptions. *Epilepsy Res* 87(1): 31-39.
6. Pennell PB (2016). Use of antiepileptic drugs during pregnancy: evolving concepts. *NeuroTherapeutics* 13(4): 811-820.
7. Abou-Khalil BW (2019). Update on antiepileptic drugs 2019. *Continuum (Minneapolis, Minn)* 25(2): 508-536.
8. Isojärvi J (2008). Disorders of reproduction in patients with epilepsy: antiepileptic drug related mechanisms. *Seizure* 17(2): 111-119.
9. Siricilla S, Iwueke CC, Herington JL (2020). Drug discovery strategies for the identification of novel regulators of uterine contractility. *Curr Opin Physiol* 13: 71-86.
10. Payton RG, Brucker MC (1999). Drugs and uterine motility. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 28(6): 628-638.
11. Tomson T, Battino D, Bonizzoni E, Craig J, Lindhout D, Perucca E, Sabers A, Thomas S V, Vajda F, Faravelli F, EURAP Study Group (2018). Comparative risk of major congenital malformations with eight different antiepileptic drugs: a prospective cohort study of the EURAP registry. *Lancet Neurol* 17(6): 530-538.
12. Tomson T, Battino D, Perucca E (2019). Teratogenicity of antiepileptic drugs. *Curr Opin Neurol* 32(2): 246-252.

13. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators (2016). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 388(10053): 1545-1602.
14. Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR (2010). Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. *Epilepsia* 51(5): 883-890.
15. Singh A, Trevick S (2016). The epidemiology of global epilepsy. *Neurol Clin* 34(4): 837-847.
16. Singh R, Douglass LM, O'Shea TM, Stafstrom CE, Allred EN, Engelke S, Shah B, Leviton A, Hereen TC, Kuban KCK (2019). Antecedents of epilepsy and seizures among children born at extremely low gestational age. *J Perinatol* 39(6): 774-783.
17. Stafstrom CE, Carmant L (2015). Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med* 5(6): 1-18.
18. Perucca P, Bahlo M, Berkovic SF (2020). The Genetics of epilepsy. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 21: 205-230.
19. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL, Jetté N (2017). Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology* 88(3): 296-303.
20. Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS (2018). The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res* 139: 73-79.
21. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshé SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi MS. (2017). ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia* 58(4): 512-521.
22. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Zuberi MS (2017). Operational classification of seizure types by the international league against epilepsy: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. *Epilepsia* 58(4): 522-530.

23. Devinsky O, Spruill T, Thurman D, Friedman D (2016). Recognizing and preventing epilepsy-related mortality: a call for action. *Neurology* 86(8): 779-786.
24. Levira F, Thurman DJ, Sander JW, Hauser WA, Hesdorffer DC, Masanja H, Odermatt P, Logroscino G, Newton CR (2017). Premature mortality of epilepsy in low-and middle-income countries: a systematic review from the mortality task force of the international league against epilepsy. *Epilepsia* 58(1): 6-16.
25. Luef G, Taubøll E (2015). Gender issues in epilepsy-difference in management of epilepsy. *Seizure* 28: 1-2.
26. Razaz N, Tomson T, Wikström A-K, Cnattingius S (2017). Association between pregnancy and perinatal outcomes among women with epilepsy. *JAMA Neurol* 74(8): 983-991.
27. Viale L, Allotey J, Cheong-See F, Arroyo-Manzano D, Mccorry D, Bagary M, Mignini L, Khan KS, Zamora J, Thangaratinam S (2015). Epilepsy in pregnancy and reproductive outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 386(10006): 1845-1852.
28. Herzog AG, Fowler KM, Sperling MR, Massaro JM, Progesterone Trial Study Group (2015). Distribution of seizures across the menstrual cycle in women with epilepsy. *Epilepsia* 56: 58-62.
29. Vélez-Ruiz NJ, Pennell PB (2016). Issues for women with epilepsy. *Neurol Clin* 34(2): 411-425.
30. Herzog AG (2008). Disorders of reproduction in patients with epilepsy: primary neurological mechanisms. *Seizure* 17(2): 101-110.
31. Joshi S, Kapur J (2019). Neurosteroid regulation of GABA_A receptors: a role in catamenial epilepsy. *Brain Res* 1703: 31-40.
32. Koikegami H, Yamada T, Usui K (1954). Stimulation of amygdaloid nuclei and periamygdaloid cortex with special reference to its effects on uterine movements and ovulation. *Folia Psychiatr Neurol Jpn* 8(1): 7-31.
33. Taubøll E, Sveberg L, Svalheim S (2015). Interactions between hormones and epilepsy. *Seizure* 28: 3-11.

34. Pariente G, Leibson T, Carls A, Adams-Webber T, Ito S, Koren G (2016). Pregnancy-associated changes in pharmacokinetics: a systematic review. *PLoS Med* 13(11): 1-36.
35. Kashif T, Fathima N, Usman N, Qaseem A, Jayaraj JS (2019). Women with epilepsy: anti-epileptic drugs and perinatal outcomes. *Cureus* 11(9): 2-10.
36. Isojärvi JIT, Taubøll E, Herzog AG (2005). Effect of antiepileptic drugs on reproductive endocrine function in individuals with epilepsy. *CNS Drugs* 19(3): 207-223.
37. Guberman A (1999). Hormonal contraception and epilepsy. *Neurology* 53(4): 38-40.
38. Tomson T, Battino D, Bromley R, Kochen S, Meador K, Pennell P, Thomas SV (2019). Management of epilepsy in pregnancy: a report from the international league against epilepsy task force on women and pregnancy. *Epileptic Disord* 21(6): 497-517.
39. Sabers A (2009). Influences on seizure activity in pregnant women with epilepsy. *Epilepsy Behav* 15(2): 230-234.
40. Bjørk MH, Veiby G, Reiter SC, Berle JØ, Daltveit AK, Spigset O, Engelsen BA, Gilhus NE (2015). Depression and anxiety in women with epilepsy during pregnancy and after delivery: a prospective population-based cohort study on frequency, risk factors, medication, and prognosis. *Epilepsia* 56(1): 28-39.
41. Turner K, Piazzini A, Franza A, Canger R, Canevini MP, Marconi AM (2008). Do women with epilepsy have more fear of childbirth during pregnancy compared with women without epilepsy? A case-control study. *Birth* 35(2): 147-52.
42. Tomson T, Battino D, Bonizzoni E, Craig J, Lindhout D, Perucca E, Sabers A, Thomas SV, Vajda F (2015). Dose-dependent teratogenicity of valproate in mono- and polytherapy. *Neurology* 85(10): 866-872.
43. Thomas SV, Syam U, Devi JS (2012). Predictors of seizures during pregnancy in women with epilepsy. *Epilepsia* 53(5): 85-88.
44. Fairgrieve SD, Jackson M, Jonas P, Walshaw D, White K, Montgomery TL (2000). Population based, prospective study of the care of women with epilepsy in pregnancy. *BMJ* 321(7262): 674-675.
45. Sazgar M (2019). Treatment of women with epilepsy. *Continuum (Minneapolis Minn)* 25(2): 408-430.

46. Gooneratne IK, Wimalaratna S (2016). Update on management of epilepsy in women for the non-neurologist. *Postgrad Med J* 92(1091): 554-559.
47. Stead LG (2011). Seizures in pregnancy/eclampsia. *Emerg Med Clin North Am* 29(1): 109-116.
48. Yerby MS (1994). Pregnancy, teratogenesis, and epilepsy. *Neurol Clin* 12(4): 749-771.
49. Beach RL, Kaplan PW (2008). Seizures in pregnancy: diagnosis and management. *Int Rev Neurobiol* 83: 259-271.
50. López-Fraile IP, Cid AO, Juste AO, Modrego PJ (2009). Levetiracetam plasma level monitoring during pregnancy, delivery, and postpartum: clinical and outcome implications. *Epilepsy Behav* 15(3): 372-375.
51. Tomson T, Landmark CJ, Battino D (2013). Antiepileptic drug treatment in pregnancy: changes in drug disposition and their clinical implications. *Epilepsia* 54(3): 405-414.
52. Pennell PB (2003). Antiepileptic drug pharmacokinetics during pregnancy and lactation. *Neurology* 61(6): 35-42.
53. Harden CL, Hopp J, Ting TY, Pennell PB, French JA, Allen Hauser W, Wiebe S, Gronseth GS, Thurman D, Meador KJ, Koppel BS, Kaplan PW, Robinson JN, Gidal B, Hovinga CA, Wilner AN, Vazquez B, Holmes L, Krumholz A, Finnell R, Le Guen C, American Academy of Neurology, American Epilepsy Society. (2009). Management issues for women with epilepsy-focus on pregnancy (an evidence-based review): I. obstetrical complications and change in seizure frequency. *Epilepsia* 50(5): 1229-1236.
54. Gedzelman E, Meador KJ (2012). Antiepileptic drugs in women with epilepsy during pregnancy. *Ther Adv Drug Saf* 3(2): 71-87.
55. Campbell E, Kennedy F, Russell A, Smithson WH, Parsons L, Morrison PJ, Liggan B, Irwin B, Delanty N, Hunt SJ, Craig J, Morrow J (2014). Malformation risks of antiepileptic drug monotherapies in pregnancy: updated results from the UK and Ireland epilepsy and pregnancy registers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85(9): 1029-1034.

56. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Ploin P, Scheffer IE (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE commission on classification and terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 51: 676-685.
57. Tellez-Zenteno JF, Patten SB, Jetté N, Williams J, Wiebe S (2007). Psychiatric comorbidity in epilepsy: a population-based analysis. *Epilepsia* 48(12): 2336-2344
58. Pitkänen A (2010). Therapeutic approaches to epileptogenesis-hope on the horizon. *Epilepsia* 51(3): 2-17.
59. Perucca E (2005). An introduction to antiepileptic drugs. *Epilepsia* 46(4): 31-37.
60. Remy S, Beck H (2006). Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. *Brain* 129(1): 18-35.
61. Howard P, Twycross R, Shuster J, Mihalyo M, Rémi J, Wilcock A (2011). Anti-epileptic drugs. *J Pain Symptom Manage* 42(5): 788-804.
62. Löscher W, Klitgaard H, Twyman RE, Schmidt D (2013). New avenues for anti-epileptic drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 12(10): 757-776.
63. Deshmukh R, Thakur AS, Dewangan D (2011). Mechanism of action of anticonvulsant drugs: a review. *Ijpsr* 2(2): 225-236.
64. Goldenberg MM (2010). Overview of drugs used for epilepsy and seizures: etiology, diagnosis, and treatment. *P T* 35(7): 392-415.
65. Sills GJ, Rogawski MA (2020). Mechanisms of action of currently used antiseizure drugs. *Neuropharmacology* 168: 1-51.
66. Yaari Y, Selzer ME, Pincus JH (1986). Phenytoin: mechanisms of its anticonvulsant action. *Ann Neurol* 20(2): 171-184.
67. Maljevic S, Lerche H (2014). Potassium channel genes and benign familial neonatal epilepsy. *Prog Brain Res* 213: 17-53.
68. Trimmer JS, Rhodes KJ (2004). Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu Rev Physiol* 66: 477-519.

69. Broicher T, Seidenbecher T, Meuth P, Munsch T, Meuth SG, Kanyshkova T, Pape HC, Budde T (2007). T-current related effects of antiepileptic drugs and a Ca^{2+} channel antagonist on thalamic relay and local circuit interneurons in a rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* 53(3): 431-446.
70. Lukyanetz EA, Shkryl VM, Kostyuk PG (2002). Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam. *Epilepsia* 43(1): 9-18.
71. Patsalos PN, Bourgeois BFD (2018). *The Epilepsy prescriber's guide to antiepileptic drugs*. Cambridge University Press, New York; Sayfa: 274-287.
72. Löscher W (1999). Valproate: a reappraisal of its pharmacodynamic properties and mechanisms of action. *Prog Neurobiol* 58(1): 31-59.
73. Činčárová L, Zdráhal Z, Fajkus J (2013). New perspectives of valproic acid in clinical practice. *Expert Opin Investing Drugs* 22(12): 1535-1547.
74. Ornoy A (2009). Valproic acid in pregnancy: how much are we endangering the embryo and fetus? *Reprod Toxicol* 28(1): 1-10.
75. Genton P, Semah F, Trinka E (2006). Valproic acid in epilepsy. *Drug Saf* 29(1): 1-21.
76. Romoli M, Mazzocchetti P, D'Alonzo R, Siliquini S, Rinaldi VE, Verrotti A, Calabresi P, Costa C (2019). Valproic acid and epilepsy: from molecular mechanisms to clinical evidences. *Curr Neuropharmacol* 17(10): 926-946.
77. Keppel Hesselink JM (2017). Phenytoin: a step by step insight into its multiple mechanisms of action-80 years of mechanistic studies in neuropharmacology. *J Neurol* 264(9): 2043-2047.
78. Abou-Khalil BW (2016). Antiepileptic drugs. *Continuum (Minneap Minn)* 22(1): 132-156.
79. Patocka J, Wu Q, Nepovimova E, Kuca K (2020). Phenytoin an anti-seizure drug: overview of its chemistry, pharmacology and toxicology. *Food Chem Toxicol* 142: 1-46.
80. Lynch BA, Lambeng N, Nocka K, Kensel-Hammes P, Bajjalieh SM, Matagne A, Fuks B (2004). The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(26): 9861-9866.

81. Benarroch EE (2008). Metabotropic glutamate receptors: synaptic modulators and therapeutic targets for neurologic disease. *Neurology* 70(12): 964-968.
82. Errington AC, Stöhr T, Heers C, Lees G (2008). The Investigational anticonvulsant lacosamide selectively enhances slow inactivation of voltage-gated sodium channels. *Mol Pharmacol* 73(1): 157-169.
83. Czapinski P, Blaszczyk B, Czuczwar S (2005). Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Curr Top Med Chem* 5(1): 3-14.
84. Meldrum BS, Rogawski MA (2007). Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics* 4(1): 18-61.
85. Bian F, Li Z, Offord J, Davis MD, McCormick J, Taylor CP, Walker LC (2006). Calcium channel alpha2-delta type 1 subunit is the major binding protein for pregabalin in neocortex, hippocampus, amygdala, and spinal cord: an ex vivo autoradiographic study in alpha2-delta type 1 genetically modified mice. *Brain Res* 1075(1): 68-80.
86. Abou-Khalil B (2008). Levetiracetam in the treatment of epilepsy. *Neuropsychiatr Dis Treat* 4(3): 507-523.
87. Lyseng-Williamson KA (2011). Levetiracetam: a review of its use in epilepsy. *Drugs* 71(4): 489-514.
88. Brodtkorb E, Reimers A (2008). Seizure control and pharmacokinetics of antiepileptic drugs in pregnant women with epilepsy. *Seizure* 17(2): 160-165.
89. Forcelli PA, Janssen MJ, Vicini S, Gale K (2012). Neonatal exposure to antiepileptic drugs disrupts striatal synaptic development. *Ann Neurol* 72(3): 363-372.
90. Kim J, Kondratyev A, Gale K (2007). Antiepileptic drug-induced neuronal cell death in the immature brain: effects of carbamazepine, topiramate, and levetiracetam as monotherapy versus polytherapy. *J Pharmacol Exp Ther* 323(1): 165-173.
91. Shallcross R, Bromley RL, Irwin B, Bonnett LJ, Morrow J, Baker GA (2011). Child development following in utero exposure: levetiracetam vs sodium valproate. *Neurology* 76(4): 383-389.

92. Ballvé A, Salas-Puig J, Quintana M, Campos D, Llauroadó A, Raspall M, Fonseca E, Abaira L, Santamarina E, Toledo M (2021). Levetiracetam as first-line monotherapy for idiopathic generalized epilepsy in women. *Acta Neurol Scand* 143(4): 407-412.
93. De Smedt T, Raedt R, Vonck K, Boon P (2007). Levetiracetam: the profile of a novel anticonvulsant drug- part i: preclinical data. *CNS Drug Rev* 13(1): 43-56.
94. Surges R, Volynski KE, Walker MC (2008). Is levetiracetam different from other antiepileptic drugs? Levetiracetam and its cellular mechanism of action in epilepsy revisited. *Ther Adv Neurol Disord* 1(1): 13-24.
95. Rutecki PA, Gidal BE (2002). Antiepileptic drug treatment in the developmentally disabled: treatment considerations with the newer antiepileptic drugs. *Epilepsy Behav* 3: 24-31.
96. Bazil CW (2002). New antiepileptic drugs. *Neurologist* 8(2): 71-81.
97. Ozcan M, Ayar A, Canpolat S, Kutlu S (2008). Antinociceptive efficacy of levetiracetam in a mice model for painful diabetic neuropathy. *Acta Anaesthesiol Scand* 52(7): 926-930.
98. Ozcan M, Ayar A (2012). Modulation of action potential and calcium signaling by levetiracetam in rat sensory neurons. *J Recept Signal Transduc Res* 32(3): 156-162.
99. Leniger T, Thöne J, Bonnet U, Hufnagel A, Bingmann D, Wiemann M (2004). Levetiracetam inhibits Na^+ -dependent $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange of adult hippocampal CA3 neurons from guinea-pigs. *Br J Pharmacol* 142(7): 1073-1080.
100. Sarkisian MR (2001). Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. *Epilepsy Behav* 2(3): 201-216.
101. Kitz S, Thalhammer JG, Glantschnigg U, Wrzosek M, Klang A, Halasz P, Shouse MN, Pakozdy A (2017). Feline temporal lobe epilepsy: review of the experimental literature. *J Vet Intern Med* 31(3): 633-640.
102. Patterson EE (2014). Canine epilepsy: an underutilized model. *ILAR J* 55(1): 182-186.
103. Marini C, King MA, Archer JS, Newton MR, Berkovic SF (2003). Idiopathic generalised epilepsy of adult onset: clinical syndromes and genetics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74(2): 192-196.

104. Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Reis J, Depaulis A, Rumbach L, Warter JM (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neurosci Lett* 33(1): 97-101.
105. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A (1992). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg-a review. *J Neural Transm Suppl* 35: 37-69.
106. van Luijtelaar ELJM, Coenen AML (1986). Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci Lett* 70(3): 393-397.
107. Coenen AML, Van Luijtelaar ELJM (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet* 33(6): 635-655.
108. Aker RG, Yananli HR, Gurbanova AA, Ozkaynakci AE, Ates N, Luijtelaar G, Onat FY (2006). Amygdala kindling in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Epilepsia* 47(1): 33-40.
109. Depaulis A, Charpier S (2018). Pathophysiology of absence epilepsy: insights from genetic models. *Neurosci Lett* 667: 53-65.
110. Akman O, Demiralp T, Ates N, Onat FY (2010). Electroencephalographic differences between WAG/Rij and GAERS rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Res* 89(2): 185-193.
111. Llinás RR, Steriade M (2006). Bursting of thalamic neurons and States of vigilance. *J Neurophysiol* 95(6): 3297-3308.
112. Coulter DA, McIntyre DC, Löscher W (2006). Animal models of limbic epilepsies: what can they tell us? *Brain Pathol* 12(2): 240-256.
113. Pitkänen A, Sutula TP (2002). Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol* 1(3): 173-181.
114. Drinkenburg WH, Coenen AM, Vossen JM, Van Luijtelaar EL (1991). Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res* 9(3): 218-224.
115. Vanluijtelaar G, Sitnikova E (2006). Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev* 30(7): 983-1003.
116. Luijtelaar G, Zobeiri M (2014). Progress and outlooks in a genetic absence epilepsy model (WAG/Rij). *Curr Med Chem* 21(6): 704-721.

117. Coenen AML, Van Luijtelaar ELJM (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res* 1(5): 297-301.
118. Vanluijtelaar G, Onat FY, Gallagher MJ (2014). Animal models of absence epilepsies: what do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiol Dis* 72: 167-179.
119. Blumenfeld H, Klein JP, Schridde U, Vestal M, Rice T, Khera DS, Bashyal C, Giblin K, Paul-Laughinghouse C, Wang F, Phadke A, Mission J, Agarwal RK, Englot DJ, Motelow J, Nersesyan H, Waxman SG, Levin AR (2008). Early treatment suppresses the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia* 49(3): 400-409.
120. Bazyan AS, van Luijtelaar G (2013). Neurochemical and behavioral features in genetic absence epilepsy and in acutely induced absence seizures. *ISRN Neurol* 2013(4): 1-48.
121. Schridde U, Strauss U, Bräuer AU, van Luijtelaar G (2006). Environmental manipulations early in development alter seizure activity, Ih and HCN1 protein expression later in life. *Eur J Neurosci* 23(12): 3346-3358.
122. Strauss U, Kole MHP, Brauer AU, Pahnke J, Bajorat R, Rolfs A, Nitsch R, Deisz RA (2004). An impaired neocortical Ih is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Eur J Neurosci* 19(11): 3048-3058.
123. Broicher T, Kanyshkova T, Meuth P, Pape HC, Budde T (2008). Correlation of T-channel coding gene expression, IT, and the low threshold Ca²⁺ spike in the thalamus of a rat model of absence epilepsy. *Mol Cell Neurosci* 39(3): 384-399.
124. Tsakiridou E, Bertollini L, de Curtis M, Avanzini G, Pape H (1995). Selective increase in T-type calcium conductance of reticular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *J Neurosci* 15(4): 3110-3117.
125. Giblin KA, Blumenfeld H (2010). Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist* 16(3): 253-275.
126. Ouedraogo N (2014). Physiology of airway smooth muscle contraction: an overview. *J Pulmonary Respir Med* 4(6): 1-5.
127. Ostrom RS, Insel PA (2004). The evolving role of lipid rafts and caveolae in G protein-coupled receptor signalling: implications for molecular pharmacology. *Br J Pharmacol* 143(2): 235-245.

128. Kaushik T, Mishra R, Singh RK, Bajpai S (2020). Role of connexin in female reproductive system and endometriosis. *J Gynecol Obstet Reprod* 49(6): 1-23.
129. Somlyo AP, Himpel B (1989). Cell calcium and its regulation in smooth muscle. *FASEB J* 3(11): 2266-2276.
130. Aguilar HN, Mitchell BF (2010). Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility. *Hum Reprod Update* 16(6): 725-744.
131. Fay FS (1983). Distribution of alpha-actinin in single isolated smooth muscle cells. *The J Cell Biol* 96(3): 783-795.
132. Draeger A, Amos WB, Ikebe M, Small JV (1990). The cytoskeletal and contractile apparatus of smooth muscle: contraction bands and segmentation of the contractile elements. *J Cell Biol* 111(6): 2463-2473.
133. Gunst SJ, Zhang W (2008). Actin cytoskeletal dynamics in smooth muscle: a new paradigm for the regulation of smooth muscle contraction. *Am J Physiol Cell Physiol* 295(3): 576-587.
134. Sweeney HL, Hammers DW (2018). Muscle contraction. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 10(2):1-15.
135. Pohl J, Winder SJ, Allen BG, Walsh MP, Sellers JR, Gerthoffer WT (1997). Phosphorylation of calponin in airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 272(1): 115-123.
136. Li L, Zhang Y, Zhou C (2012). Phosphorylation of h1 calponin by PKC epsilon may contribute to facilitate the contraction of uterine myometrium in mice during pregnancy and labor. *Reprod Biol Endocrinol* 10: 37.
137. Walsh MP (1994). Calmodulin and the regulation of smooth muscle contraction. *Mol Cell Biochem* 135(1): 21-41.
138. Bolton TB, Large WA (1986). Are junction potentials essential? Dual mechanism of smooth muscle cell activation by transmitter released from autonomic nerves. *Q J Exp Physiol* 71(1): 1-28.
139. Christ GJ, Spray DC, El-Sabban M, Moore LK, Brink PR (1996). Gap junctions in vascular tissues. *Circ Res* 79: 631-646.

140. Chen Q, van Breemen C (1992). Function of smooth muscle sarcoplasmic reticulum. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 26: 335-350.
141. Wang H-Z, Day N, Valcic M, Hsieh K, Serels S, Brink PR, Christ GJ (2001). Intercellular communication in cultured human vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol-Cell Physiol* 281(1): 75-88.
142. Johnson JD, Snyder C, Walsh M, Flynn M (1996). Effects of myosin light chain kinase and peptides on Ca^{2+} exchange with the N- and C-terminal Ca^{2+} binding sites of calmodulin. *J Biol Chem* 271(2): 761-767.
143. Kamm KE, Stull JT (1986). Activation of smooth muscle contraction: relation between myosin phosphorylation and stiffness. *Science* 232: 80-82.
144. Murphy RA (1994). What is special about smooth muscle? The significance of covalent crossbridge regulation. *FASEB J* 8(3): 311-318.
145. Webb RC (2003). Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ* 27(1): 201-206.
146. Holmes KC, Trentham DR, Simmons R, Somlyo AV, Khromov AS, Webb MR, Ferenczi MA, Trentham DR, He ZH, Sheng S, Shao Z, Somlyo AP (2004). Smooth muscle myosin: regulation and properties. *Philos Trans R Soc Lond B: Biol Sci* 359(1452): 1921-1930.
147. Mon e Pinto J, Pavanelo V, Alves de Fátima L, Medeiros de Carvalho Sousa L, Pacheco Mendes G, Machado Ferreira R, Ayres H, Sampaio Baruselli P, Palma Rennó F, de Carvalho Papa P (2014). Treatment with eCG decreases the vascular density and increases the glandular density of the bovine uterus. *Reprod Domest Anim* 49(3): 453-462.
148. Roach MK, Andreotti RF (2017). The normal female pelvis. *Clin Obstet Gynecol* 60(1): 3-10.
149. Cooke PS, Spencer TE, Bartol FF, Hayashi K (2013). Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Mol Hum Reprod* 19(9): 547-558.
150. Ludmir J, Sehdev HM (2000). Anatomy and physiology of the uterine cervix. *Clin Obstet Gynecol* 43(3): 433-439.

151. Osol G, Mandala M (2009). Maternal uterine vascular remodeling during pregnancy. *Physiology* (Bethesda, Md) 24: 58-71.
152. Alotaibi MF (2017). The response of rat and human uterus to oxytocin from different gestational stages in vitro. *Gen Physiol Biophys* 36(1): 75-82.
153. Machaty Z, Miller AR, Zhang L (2017) Egg activation at fertilization. *Adv Exp Med Biol* 953:1-47.
154. Scaffidi J, Mol B, Keelan J (2017). The pregnant women as a drug orphan: a global survey of registered clinical trials of pharmacological interventions in pregnancy. *BJOG* 124(1): 132-140.
155. Mitchell BF, Taggart MJ (2009). Are animal models relevant to key aspects of human parturition? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297(3): 525-545.
156. Malik M, Roh M, England SK (2021). Uterine contractions in rodent models and humans. *Acta Physiol (Oxf)* 231(4):1-42.
157. Norwitz ER, Robinson JN, Challis JRG (1999). The control of labor. *N Engl J Med* 341(9): 660-666.
158. Smith R, Paul J, Maiti K, Tolosa J, Madsen G (2012). Recent advances in understanding the endocrinology of human birth. *Trends Endocrinol Metab* 23(10): 516-523.
159. Serikawa T, Mashimo T, Kuramoro T, Voigt B, Ohno Y, Sasa M (2015). Advances on genetic rat models of epilepsy. *Exp Anim* 64(1): 1-7.
160. Ilicic M, Paul JW (2018). *Muscle Cell and Tissue*. Sakuma K. (Edth.) IntechOpen, London; Sayfa: 309-335.
161. Arrowsmith S, Keov P, Muttenthaler M, Gruber CW (2018). Contractility measurements of human uterine smooth muscle to aid drug development. *J Vis Exp* 131: 1-12.
162. Young RC, Zhang P (2004). Tissue-level bioelectrical signals as the trigger for uterine contractions in human pregnancy. *J Soc Gynecol Investig* 11(7): 478-482.
163. Gravina F, Parkington H, Kerr K, De Oliveira R, Jobling P, Coleman H, Sandow S, Davies M, Imtiaz M, Van Helden D (2010). Role of mitochondria in contraction and pacemaking in the mouse uterus. *Br J Pharmacol* 161(6): 1375-1390.

164. Fetalvero KM, Zhang P, Shyu M, Young BT, Hwa J, Young RC, Martin KA (2008). Prostacyclin primes pregnant human myometrium for an enhanced contractile response in parturition. *J Clin Invest* 118(12): 3966-3979.
165. Wray S (1993). Uterine contraction and physiological mechanisms of modulation. *Am J Physiol* 264(1): 1-18.
166. Yu JTHT, Lopez Bernal A (1998). The cytoskeleton of human myometrial cells. *J Reprod Fertil* 112(1): 185-198.
167. Word RA (1995). Myosin phosphorylation and the control of myometrial contraction/relaxation. *Semin Perinatol* 19(1): 3-14.
168. Young RC (2018). The uterine pacemaker of labor. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 52: 68-87.
169. Sanders KM, Koh SD (2007). Stretch-activated conductances in smooth muscles *Curr Top Membr* 59: 511-540.
170. Bulbring E (1955). Correlation between membrane potential, spike discharge and tension in smooth muscle. *J Physiol* 128(1): 200-221.
171. Parkington HC, Tonta MA, Brennecke SP, Coleman HA (1999). Contractile activity, membrane potential, and cytoplasmic calcium in human uterine smooth muscle in the third trimester of pregnancy and during labor. *Ame J Obstet Gynecol* 181(6): 1445-1451.
172. Kao CY, Carsten ME (1997). Cellular Aspects of Smooth Muscle Function. Birinci baskı. Cambridge University Press, New York; Sayfa:132-169.
173. Matthew A, Kupittayanant S, Burdyga T, Wray S (2004). Characterization of contractile activity and intracellular Ca^{2+} signalling in mouse myometrium. *J Soc Gynecol Investig* 11(4): 207-212.
174. Sanborn B (2000). Relationship of ion channel activity to control of myometrial calcium. *J Soc Gynecol Investig* 7(1): 4-11.
175. Hertelendy F, Zakar T (2004). Regulation of myometrial smooth muscle functions. *Curr Pharm Des* 10(20): 2499-2517.

176. Jiang H, Stephens NL (1994). Calcium and smooth muscle contraction. *Mol Cell Biochem* 135(1): 9.
177. Jones K, Shmygol A, Kupittayanant S, Wray S (2004). Electrophysiological characterization and functional importance of calcium-activated chloride channel in rat uterine myocytes. *Pflugers Arch* 448(1): 36-43.
178. Groff JR, Smith GD (2008). Calcium-dependent inactivation and the dynamics of calcium puffs and sparks. *J Theor Biol* 253(3): 483-499.
179. Seda M, Pinto FM, Wray S, Cintado CG, Noheda P, Buschmann H, Candenas L (2007). Functional and molecular characterization of voltage gated sodium channels in uteri from nonpregnant rats. *Biol Reprod* 77(5): 855-863.
180. Morgan KG (1990). The role of calcium in the control of vascular tone as assessed by the Ca^{2+} indicator aequorin. *Cardiovasc Drugs Ther* 4(5): 1355-362.
181. Somlyo AP, Somlyo AV (2000). Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol* 522(2): 177-185.
182. Khan RN, Matharoo-Ball B, Arulkumaran S, Ashford MLJ (2001). Potassium channels in the human myometrium. *Exp Physiol* 86(2): 255-264.
183. Brainard AM, Korovkina VP, England SK (2007). Potassium channels and uterine function. *Semin Cell Dev Biol* 18(3): 332-339.
184. Jaffer S, Shynlova O, Lye S (2009). Mammalian target of rapamycin is activated in association with myometrial proliferation during pregnancy. *Endocrinology* 150(10): 4672-4680.
185. Shynlova O, Oldenhof A, Dorogin A, Xu Q, Mu J, Nashman N, Lye SJ (2006). Myometrial apoptosis: activation of the caspase cascade in the pregnant rat myometrium at midgestation. *Biol Reprod* 74(5): 839-849.
186. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JCP (2009). Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 30(6): 473-482.

187. Miyoshi H, Boyle MB, MacKay LB, Garfield RE (1996). Voltage-clamp studies of gap junctions between uterine muscle cells during term and preterm labor. *Biophys J* 71(3): 1324-1334.
188. Mershon JL, Mikala G, Schwartz A (1994). Changes in the expression of the L-type voltage-dependent calcium channel during pregnancy and parturition in the rat. *Biol Reprod* 51(5): 993-999.
189. Jurek B, Neumann ID (2018). The oxytocin receptor: from intracellular signaling to behavior. *Physiol Rev* 98(3): 1805-1908.
190. Lorca RA, Prabakaran M, England SK (2014). Functional insights into modulation of BK_{Ca} channel activity to alter myometrial contractility. *Front Physiol* 5: 289.
191. Matharoo-Ball B, Ashford MLJ, Arulkumaran S, Khan RN (2003). Down-regulation of the α - and β -subunits of the calcium-activated potassium channel in human myometrium with parturition. *Biol Reprod* 68(6): 2135-2141.
192. Sawada K, Morishige K, Hashimoto K, Tasaka K, Kurachi H, Murata Y, Kurachi Y (2005). Gestational change of K⁺ channel opener effect is correlated with the expression of uterine K_{ATP} channel subunits. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 122(1): 49-56.
193. Makieva S, Saunders PTK, Norman JE (2014). Androgens in pregnancy: roles in parturition. *Hum Reprod Update* 20(4): 542-559.
194. Renthall NE, Williams KC, Montalbano AP, Chen CC, Gao L, Mendelson CR (2015). Molecular regulation of parturition: a myometrial perspective. *Cold Spring Harb Perspect Med* 5(11): 1-16.
195. Wu SP, DeMayo FJ (2017). Progesterone receptor signaling in uterine myometrial physiology and preterm birth. *Curr Top Dev Biol* 125: 171-190.
196. Blanks AM, Brosens JJ (2012). Progesterone action in the myometrium and decidua in preterm birth. *Facts View Vis ObGyn* 4(3): 33-43.
197. Condon JC, Kyathanahalli C, Ananthakumara P, Jeyasuria P (2020). Estrogen/estrogen receptor action and the pregnant myometrium. *Curr Opin Physiol* 13: 135-140.

198. Patel FA, Challis JRG (2001). Prostaglandins and uterine activity. *Front Horm Res* 27: 31-56.
199. Hertelendy F, Zakár T (2004). Prostaglandins and the myometrium and cervix. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 70(2): 207-222.
200. Norman J (1996). Nitric oxide and the myometrium. *Pharmacol Ther* 70(2): 91-100.
201. Blanks A (2003). The role of oxytocin in parturition. *BJOG* 110: 46-51.
202. Brownstein MJ, Russell JT, Gainer H (1980). Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones. *Science* 207(4429): 373-378.
203. Zingg HH, Laporte SA (2003). The oxytocin receptor. *Trends Endocrinol Metab* 14(5): 222-227.
204. Ku CY, Qian A, Wen Y, Anwer K, Sanborn BM (1995). Oxytocin stimulates myometrial guanosine triphosphatase and phospholipase-c activities via coupling to G alpha q/11. *Endocrinology* 136(4): 1509-1515.
205. Arrowsmith S, Wray S (2014). Oxytocin: Its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *J Neuroendocrinol* 26(6): 356-369.
206. Gimpl G, Fahrenholz F (2001). The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev* 81(2): 629-683.
207. McKillen K, Thornton S, Taylor CW (1999). Oxytocin increases the $[Ca^{2+}]_i$ sensitivity of human myometrium during the falling phase of phasic contractions. *Am J Physiol* 276(2): 345-51.
208. Coban Z, Kayir H, Baykal B, Altayli E, Gran S (2017). An easy and effective methodology in defining the estrous cycle in mice. *Gulhane Medical Journal* 58(1): 82-87.
209. Cora MC, Kooistra L, Travlos G (2015). Vaginal Cytology of the laboratory rat and mouse. *Toxicol Pathol* 43(6): 776-793.
210. Srinivasan M (2017). A comparative study on staining techniques for vaginal exfoliative cytology of rat. *J Pharmacol & Clin Res* 3(3):1-5.
211. Singh M, Singh P, Cugati G, Singh A (2011). Effect of epilepsy on female fertility and reproductive abnormalities. *J Hum Reprod Sci* 4(2): 100-101.

212. Lerche H, Shah M, Beck H, Noebels J, Johnston D, Vincent A (2013). Ion channels in genetic and acquired forms of epilepsy. *J Physiol* 591(4):753-764.
213. Lee SE, Ahn DS, Lee YH (2009). Role of T-type Ca Channels in the spontaneous phasic contraction of pregnant rat uterine smooth muscle. *Korean J Physiol Pharmacol* 13(3): 241-249.
214. van Gestel I, IJland MM, Hoogland HJ, Evers JLH (2003). Endometrial wave-like activity in the non-pregnant uterus. *Hum Reprod Update* 9(2): 131-138.
215. Herzog AG (2015). Catamenial epilepsy: update on prevalence, pathophysiology and treatment from the findings of the NIH progesterone treatment trial. *Seizure* 28: 18-25.
216. Herzog AG, Harden CL, Liporace J, Pennell P, Schomer DL, Sperling M, Fowler K, Nikolov B, Shuman S, Newman M (2004). Frequency of catamenial seizure exacerbation in women with localization-related epilepsy. *Ann Neurol* 56(3): 431-434.
217. Hewitt G (2020). Gynecologic management of adolescents and young women with seizure disorders: acog committee opinion summary, number 806. *Obstet Gynecol* 135(5): 213-220.
218. Marchitto N, Ceratti U, Dalmaso S, Raimondi G (2017). A case of refractory epilepsy and related pain due to dysmenorrhea solved with loading dose of lacosamide: clinical and neurophysiological correlates. *Acta Biomed* 88(3): 334-336.
219. Zdraveska N, Kostovski A (2010). Epilepsy presenting only with severe abdominal pain. *J Pediatr Neurosci* 5(2): 169-170.
220. Guo S-W, Mao X, Ma Q, Liu X (2013). Dysmenorrhea and its severity are associated with increased uterine contractility and overexpression of oxytocin receptor (OTR) in women with symptomatic adenomyosis. *Fertil and Steril* 99(1): 231-240.
221. Borthen I, Eide MG, Veiby G, Daltveit AK, Gilhus NE (2009). Complications during pregnancy in women with epilepsy: population-based cohort study. *BJOG* 116(13): 1736-1742.
222. Vachon-Marceau C, Demers S, Goyet M, Gauthier R, Roberge S, Chaillet N, Laroche J, Bujold E (2016). Labor dystocia and the risk of uterine rupture in women with prior cesarean. *Am. J Perinatol* 33(6): 577-583.

223. Longo B, Forinash AB, Murphy JA (2009). Levetiracetam use in pregnancy. *Ann Pharmacother* 43(10): 1692-1695.
224. Reisinger TL, Newman M, Loring DW, Pennell PB, Meador KJ (2013). Antiepileptic drug clearance and seizure frequency during pregnancy in women with epilepsy. *Epilepsy Behav* 29(1): 13-18.
225. Macfarlane A, Greenhalgh T (2018). Sodium valproate in pregnancy: what are the risks and should we use a shared decision-making approach? *BMC Pregnancy Childbirth* 18(1): 200.
226. Battino D, Tomson T, Bonizzoni E, Craig J, Lindhout D, Sabers A, Perucca E, Vajda F (2013). Seizure control and treatment changes in pregnancy: observations from the EURAP epilepsy pregnancy registry. *Epilepsia* 54(9): 1621-1627.
227. Putta S, Pennell PB (2015). Management of epilepsy during pregnancy: evidence-based strategies. *Future Neurol* 10(2): 161-176.
228. Hulbert J, Elger CE, Meyer R, Surges R (2017). Antiepileptic drugs impair shortening of isolated cardiomyocytes. *Front Neurol* 8: 133.
229. Macdonald RL, Kelly KM (1995). Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia* 36: 2-12.
230. Salihoglu AK, Kurt A, Ayar A (2019). Effects of antiepileptic agents on contractility of detrusor muscle isolated from wistar and absence epileptic WAG/RIJ rats. *Acta Physiologica* 227: 106.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : Kurt Kasap Ayşegül

Uyruğu :

Doğum Tarihi ve Yeri

E-Posta

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	KTÜ/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Fizyoloji	-
Yüksek Lisans	KTÜ/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Fizyoloji	2014
Lisans	KTÜ/ Fen Fakültesi/Biyoloji	2011
Lise	Trabzon Fen Lisesi	2006

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Arş. Gör	KTÜ/SABE/Fizyoloji ABD	2014-2020

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Düz kas fizyolojisi, nörofizyoloji, spor fizyolojisi

YAYINLAR

1. Kılıç KE, Ayar A, Kurt A, Çolak R (2020). Effects of fisetin and alpha lipoic acid on diabetic neuropathic pain: in vivo behavioral study in mice model. Firat University Medical Journal of Health Sciences, 34(2): 139-146.
2. Aykan AD, Kesim SM, Ayan B, Kurt A (2019). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of glucagon-like peptides: evaluation of their actions on serotonergic, nitrenergic, and opioidergic systems. Psychopharmacology 236: 1717-1728.

3. Aydın HR, Turgut H, Kurt A, Şahan R, Kalkan ÖF, Eren H, Ayar A (2018). Ivabradine inhibits carbachol-induced contractions of isolated rat urinary bladder. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 27(7): 893-897.
4. Er K, Kurt A, Taşdemir T, Ayar A (2019). Effects of lidocaine and articaine on nociceptive calcium signaling in rat trigeminal ganglion cells. *Anatomy: International Journal of Experimental & Clinical Anatomy* 2(13): 61.
5. Salihoğlu AK, Kurt A, Ayar A (2019). Effects of antiepileptic agents on contractility of detrusor muscle isolated from wistar and absence epileptic WAG/Rij rats. *Acta Physiologica* 227: 106.
6. Salihoğlu AK, Kurt A, Ayar A (2019). Effects of selected anti-epilepticagents on contractility of gastric fundus strips isolated from control wistar and absence epileptic WAG/Rij rats. *Acta Physiologica* 227: 25.
7. Sürmeneli YE, Kurt A, Kalkan ÖF, Yücel BP, Keleş V, Ayar A (2017). Exercise restores diabetes-mediated contractile dysfunction of isolated rat seminal vesicle. *Acta Physiologica* 221: 62.

BİLDİRİLER

1. Kurt A, Salihoğlu AK, Ayar A (2019). The antiepileptic agents phenytoin and valproate inhibits oxytocin-induced contractions of myometrium isolated from absence epileptic WAG/Rij rats. *Physiology 2019 (Annual Meeting of The Physiological Society)*, Aberden, İngiltere, 8 - 10 Temmuz 2019, 126.
2. Ayar A, Saral E, Şahin Z, Kurt A, Malkoç A (2019). Increased expression of transient receptor potential vanilloid 1 receptors in zymosan-induced inflammatory pain modelin absence epileptic WAG/Rij rats. *Physiology 2019 (Annual Meeting of The Physiological Society)*, Aberden, İngiltere, 8 - 10 Temmuz 2019, 241.
3. Düğenci K, Kurt A, Ayar A (2018). Investigation of sportive capacities of elite mountain skiers with physiological parameters of cardiopulmonary exercise test. *Europhysiology 2018*, Londra, İngiltere, 14 -16 Eylül 2018, 179.
4. Kurt A, Gedikli Ö, Yildirim M, Ayar A (2016). Levetiracetam causes hyperalgesia in absence epileptic WAG/ Rij rats. *Physiology 2016*, Dublin, İrlanda, 29-31 Temmuz 2016, 243.

5. Ayar A, Kalkan ÖF, Kurt A, Gedikli Ö, Velioğlu S, Yildirim M (2016). Investigation of possible alpha-adrenergic modification of acute pain sensitivity in absence epileptic WAG/Rij rats. Physiology 2016, Dublin, İrlanda, 29-31 Temmuz 2016, 37.
6. Aydın HR, Turgut H, Kurt A, Sahan R, Ayar A (2015). In vitro effects of ivabradin hydrochloride on carbachol-induced contractions of rat detrussor muscle. Physiology 2015, Cardiff, İngiltere, 6-8 Temmuz 2015, 23-24.
7. Ayar A, Kurt A, Canpolat S (2014). Investigation of possible interactions of pain modification actions of endogenous enkephalinergic and noradrenergic systems in zymosan-induced chronic inflammatory pain model. FEPS 2014, Macaristan, 27 - 30 Ağustos 2014, 12.
8. Ayar A, Gedikli Ö, Kurt A, Sahan R, Özcan PDM (2013). Investigation of role of "funny" (If) current in spontaneous and agonist-stimulated contractions in isolated rat myometrium. International Union of Physiological Sciences, Birmingham, İngiltere, 21-26 Temmuz 2013, 642.