Uticaj finasterida na anksioznost kod pacova

The effect of finasteride on anxiety in rats

Dolika Vasović¹, Dušan Mladenović^{1,2}

¹Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

²Mentor: Institut za patološku fiziologiju „Ljubodrag Buba Mihailović”

Kontakt: dolika.vasovic@gmail.com

Sažetak

Uvod: Tradicionalni neurobiološki koncept etiologije anksioznih poremećaja zasnovan je na monoaminergičkoj hipotezi, prema kojoj je poremećaj prouzrokovan deficitom serotoninergičke, odnosno noradrenergičke transmisije u funkcionalno važnim delovima mozga. Skorašnje studije su ukazale na značaj uloge gama aminobuterne kiseline (GABA) u nastanku ovog poremećaja. Blokodom 5 α -reduktaze u mozgu, finasterid (FIN) inhibira sintezu alopregnanolona (ALLO) i tetrahydrodeoksi-kortikosterona (THDOC) na dozno zavisani način i preusmerava progesteron u alternativne metaboličke puteve čime menja GABA-ergičku transmisiju i utiče na emocionalno stanje.

Cilj: Cilj ovog rada bio je da ispita uticaj finasterida, kao modulatora GABA-ergičke transmisije, na anksioznost kod pacova.

Materijal i metode: Mužjaci pacova Vistar (*Wistar*) soja podeljeni su u dve grupe. Prva, kontrolna grupa tretirana je 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrinom, a druga grupa je tretirana finasteridom (150 mg/kg). Dnevne doze FIN-a (50 mg/kg) administrirane su intraperitonealno tokom tri uzastopna dana. Anksioznost je procenjavana 24 časa nakon primene poslednje doze FIN-a „uzdignutim plus lavirintom” i testom „svetlo-tama”.

Rezultati: U testu „uzdignuti plus lavirint” ukupno vreme provedeno u otvorenim kracima lavirinta nije se značajno razlikovalo kod životinja iz grupe tretirane FIN-om u odnosu na životinje iz kontrolne grupe ($p > 0,05$). Nije uočena ni značajna razlika između dve grupe u broju prelazaka iz jednog kraka u drugi preko centralne platforme ($p > 0,05$). U testu „svetlost-tama” vreme koje su životinje iz FIN grupe provodile u svetlom delu kutije bilo je značajno kraće u odnosu na isti parametar registrovan kod životinja iz kontrolne grupe ($p < 0,05$).

Zaključak: Finasterid ispoljava anksigeno dejstvo kod pacova koje se prvenstveno ispoljava anksioznošću od svetlog prostora. Finasterid nema značajan uticaj na anksioznost od otvorenog prostora.

Gljučne reči: Anksioznost, finasterid, neurosteroidi, GABA, pacovi

Abstract

Introduction: The traditional neurobiological concept of the etiology of anxiety disorders is based on the monoamine hypothesis, which suggests that mood disorders are caused by a deficiency in serotonin or noradrenaline transmission at functionally important receptors in the brain. Recent studies have provided strong evidence that gamma-aminobutyric acid (GABA) is involved in the pathophysiology of the anxiety as well. By blocking 5 α -reductase in the brain, finasteride (FIN) inhibits the synthesis of alopregnanolone (ALLO) and tetrahydrodeoxy-corticosterone (THDOC) in a dose-dependent manner and redirects progesterone to alternative metabolic pathways, the effects that change GABAergic transmission and affect the emotional state.

Aim: The aim of this study was to investigate the effect of finasteride as GABAergic transmission modulator, on anxiety in rats.

Materials and methods: Male *Wistar* rats were divided into the groups: 1. control treated with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin; 2. finasteride-treated, FIN (150 mg/kg). Daily doses of FIN (50 mg/kg) were administered intraperitoneally during three days. The level of anxiety was measured 24 hours after the administration of the last dose of FIN using elevated plus maze and light-dark test.

Results: In the elevated plus maze, the total time spent in the open arms was not significantly different in FIN compared to control group ($p > 0.05$). In addition, there was no significant difference in the number of crossings from one arm to the other via the central platform in FIN vs. control group ($p > 0.05$). In the light-dark test, the time that animals, from FIN group spent in the light part of the box, was significantly lower compared to the same parameter recorded in animals from the control group ($p < 0.05$).

Conclusion: Finasteride exerts anxiogenic effects in rats, dominantly causing bright space anxiety-like behavior. Finasteride has no significant effect on the open space anxiety-like behavior.

Key words: Anxiety, finasteride, neurosteroids, GABA, rats

Uvod

Anksiozni poremećaji predstavljaju grupu nepsihotičnih mentalnih poremećaja kod kojih je anksioznost jedini ili vodeći simptom, a koja nije uzrokovana organskim oboljenjima mozga ili drugim psihijatrijskim poremećajima (1). Anksioznost predstavlja formu patološkog straha koju karakteriše osećaj unutrašnje uznemirenosti, uplašenosti i zabrinutosti u odsustvu ili u nesrazmeri sa objektivnom opasnošću. Tri glavne manifestacije anksioznosti su: opšta anksioznost (strepnja, teskoba), fobije i panični poremećaji (1, 2).

Tradicionalni neurobiološki koncept etiologije anksioznih poremećaja zasnovan je na monoaminergičkoj hipotezi, prema kojoj je poremećaj prouzrokovao deficitom serotonergičke, odnosno noradrenergičke transmisije u funkcionalno važnim delovima mozga (2, 3). Skorašnje studije su ukazale na značajne uloge glutamata i gama aminobuterne kiseline (GABA) u nastanku ovog poremećaja (3, 4).

Neurosteroidi su steroidne komponente, sintetisane u mitohondrijama glijalnih ćelija i neurona, koje svoju aktivnost ostvaruju vezivanjem za posebno neurosteroidno mesto na GABA_A receptorskom kompleksu. Prvi korak u sintezi neurosteroida predstavlja transport holesterolu u mitohondrije astrocita. Holesterol se transportuje u mitohondrije pomoću multiproteinskog kompleksa u čijem sastavu se nalazi i translokatorski protein (TSPO) koji prenosi holesterol sa spoljašnje na unutrašnju mitohondrijsku membranu (5, 6). Nakon transporta holesterol se u mitohondrijama pod dejstvom monooksigenaze zavisne od citohroma P450 prevodi u pregnenolon, koji se zatim u glatkom endoplazmatskom retikulumu pod dejstvom enzima 5 α -reduktaze i 3 α -hidroksisteroid dehidrogenaze konvertuje u neurosteroidne alopregnanolon (ALLO) i 3 α -5 α -tetrahidrodeoksikortikosteron (THDOC) (6, 7). Ovi neurosteroidi deluju kao pozitivni alosterni modulatori GABA_A receptora. Dosadašnje studije ukazuju na značajnu ulogu neurosteroida u regulaciji unosa hrane, seksualnog ponašanja, agresivnosti, telesne temperature i arterijskog pritiska (8). Pokazano je takođe da ALLO i THDOC ispoljavaju anksiolitičko i antidepresivno dejstvo (9).

Finasterid (FIN), inhibitor 5 α -reduktaze, primenjuje se u terapiji hiperplazije prostate (10) i androgene alopecije (11). Ovaj inhibitor smanjuje unos etanola kod miševa kod kojih se razvila zavisnost (12), izaziva hiperalgeziju (13), deluje proepileptogeno (14, 15) i poboljšava tok hepatične encefalopatije (HE) (16). Blokodom 5 α -reduktaze u mozgu FIN inhibira sintezu ALLO i THDOC i preusmerava progesteron u alternativne metaboličke puteve, čime menja GABA-ergičku transmisiju. Na ovaj način FIN modulira emocionalno stanje i potencijalno može da utiče na ponašanje vezano za anksioznost (17).

Cilj ovog rada je stoga bio da se ispita uticaj finasterida na anksioznost kod pacova.

Materijal i metode

Korišćene supstance

Finasterid i 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrin su nabavljeni od Sigma Aldrich Co., SAD.

Eksperimentalne životinje

Eksperimenti su sprovedeni na odraslim mužjacima pacova Vistar (*Wistar*) soja, mase 170-200 g, koji su nabavljeni iz vivarijuma Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Životinje su čuvane pojedinačno, u kavezima od pleksiglasa (55 x 35 x 30 cm) u standardnim laboratorijskim uslovima (temperatura 22 $\pm$ 2°C, relativna vlažnost vazduha 50%, 12/12 h ciklusi svetlost/tama, sa svetlom uključenim u 9 h), pri čemu su im voda i hrana bili dostupni *ad libitum*. Sve eksperimentalne procedure su bile u skladu sa Direktivom Evropskog parlamenta (2010/63/EU) i odobrene od strane Etičkog komiteta Univerziteta u Beogradu (dozvola broj 1891/2).

U cilju ispitivanja uticaja FIN-a na anksioznost, životinje (n = 20) su podeljene na kontrolnu grupu (n = 10), tretiranu 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrinom i grupu tretiranu finasteridom (150 mg/kg, n = 10). Dnevne doze FIN-a (50 mg/kg) administrirane su tokom tri uzastopna dana. Doza FIN-a je određena na osnovu ranije studije koja je pokazala da ova doza snižava nivo ALLO u plazmi i mozgu za 66% i 80% u toku 24 h (18). Finasterid je rastvoren u 20% rastvoru 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrina u 0,9% natrijum-hlorida (NaCl). Sve supstance su primenjene intraperitonealno. Anksioznost je procenjena 24 h nakon primene poslednje doze FIN-a „uzdignutim plus lavirintom“ (engl. *elevated plus maze*) i testom „svetlo-tama“ (engl. *light-dark test*). Oba testa se zasnivaju na konfliktu između urođenog straha glodara prema otvorenom prostoru i težnje životinje da ispita novi prostor u kome se nalazi.

Uzdignuti plus lavirint

„Uzdignuti plus lavirint“ (UPL) je izvođen u lavirintu uzdignutom na stalak visine 50 cm, koji se sastoji od četiri kraka. Dva naspramna kraka (50 x 10 x 40 cm) zatvorena su bočnim zidovima, dok su druga dva (50 x 10 cm) otvorena. U centru se nalazi platforma (10 x 10 cm) na koju se inicijalno postavlja eksperimentalna životinja glavom okrenutom ka zatvorenom kraku. Ponašanje životinje je praćeno u toku 5 minuta i registrovano digitalnom kamerom (*Logitech C210*, SAD) postavljenom iznad lavirinta. Kao pokazatelji anksioznosti u ovom testu određivani su

ukupno vreme koje životinja provodi u otvorenim kracima i broj prelaza iz zatvorenih u otvorene krake.

Test „svetlo-tama”

Test arenu čine dva odeljka: svetli i tamni. Svetli deo test kutije (27 x 27 x 27 cm, sve bele površine) povezan je sa tamnim delom (27 x 18 x 27 cm, sve crne površine) otvorom dimenzija 8 x 8 cm (*Elunit*, Beograd, Srbija). Životinja se spušta u centar svetlog dela gde se narednih 5 minuta digitalnom kamerom snima njeno ponašanje. Kao pokazatelj anksioznosti u ovom testu određivano je ukupno vreme koje životinja provodi u svetlom delu test kutije.

Statistička analiza

Vremena provedena u svetlim kracima lavirinta („uzdignuti plus lavirint“) i u svetlom delu kutije (test „svetlo-tama“) prikazana su kao medijana sa 25. i 75. percentilom u zagradi, dok je broj prelaza iz jednog kraka lavirinta u drugi preko centralne platforme prikazan kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija. Kako je Kolmogorov-Smirnovljevim testom procenjeno da vremena provedena u otvorenim kracima lavirinta i svetlom delu kutije ne podležu normalnoj raspodeli, za procenu statističke značajnosti razlika korišćen je neparametarski Man-Vitni (*Mann-Whitney*) U test. Za procenu statističke značaj-

nosti razlika u broju prelazaka životinje iz jednog kraka u drugi korišćen je Studentov t test, s obzirom na normalnost raspodele ovih podataka. Statistička analiza obavljena je kompjuterskim programom *SPSS15.0*, a razlika je smatrana statistički značajnom ako je $p < 0,05$.

Rezultati

Uzdignuti plus lavirint

Rezultati dobijeni testom „uzdignuti plus lavirint“ prikazani su na **Grafikonu 1**. Ukupno vreme provedeno u otvorenim kracima lavirinta nije se značajno razlikovalo kod životinja iz FIN grupe [100,0 (89,0 i 113,5)] u odnosu na životinje iz kontrolne grupe [85,5 (63,25 i 114,5)] ($p > 0,05$). Nije uočena ni značajna razlika u broju prelazaka iz jednog kraka u drugi preko centralne platforme između životinja iz FIN ($13,6 \pm 3,8$; $p > 0,05$) i kontrolne grupe ($14,2 \pm 2,9$; **Grafikon 2**).

Statistička značajnost razlike utvrđena je Man-Vitni U testom ($*p < 0,05$ u odnosu na kontrolnu grupu).

Za procenu statističke značajnosti razlika korišćen je Studentov test. Za detaljnije informacije videti **Grafikon 1**.

Grafikon 1. Ukupno vreme koje životinja provodi u svetlim kracima lavirinta u testu „uzdignuti plus lavirint“ kod životinja iz kontrolne i grupe tretirane finasteridom. Dnevne doze FIN-a (50 mg/kg) administrirane su tokom tri uzastopna dana. Anksioznost je procenjivana 24 h nakon primene poslednje doze FIN-a u lavirintu koji se sastoji od dva otvorena (50 x 10 cm) i dva zatvorena kraka bočnim zidovima (50 x 10 x 40 cm), povezana centralnom platformom (10 x 10 cm). Ukupno trajanje testa je 5 min.

Grafikon 2. Broj prelazaka iz jednog kraka u drugi u testu „uzdignuti plus lavirint” kod životinja iz kontrolne i FIN grupe.

Grafikon 3. Ukupno vreme koje životinja provodi u svetlom delu kutije u testu svetlost-tama kod životinja iz kontrolne i FIN grupe. Test se izvodi u kutiji koja se sastoji iz svetlog (27 x 27 x 27 cm, sve bele površine) i tamnog odeljka (27 x 18 x 27 cm, sve crne površine), međusobno povezanih otvorom (8 x 8 cm). Ukupno trajanje testa je 5 min.

Test „svetlo-tama”

Rezultati dobijeni testom „svetlo-tama” prikazani su na **Grafikonu 3**. Vreme koje su životinje iz FIN grupe provodile u svetlom delu kutije [30,5 (5,5 i 53,0)] bilo je statistički značajno kraće u odnosu na isti parametar registrovan kod životinja iz kontrolne grupe [115,5 (50,0 i 133,25)] ($p < 0,05$).

Statistička značajnost razlike utvrđena je Man-Vitni U testom ($*p < 0,05$ u odnosu na kontrolnu grupu).

Diskusija

U skladu sa važnom ulogom koju GABA ima u funkcionisanju centralnog nervnog sistema (CNS), sintetisan je veliki broj supstanci koje moduliraju GABA-ergički sistem i na taj način utiču na najrazličitije procese: anksioznost, san, učenje i pamćenje, koordinaciju pokreta, mišićni tonus i epileptogenu aktivnost (19). Do danas je otkriveno čak 14 veznih mesta za različite ligande na GABA_A receptorima, uključujući mesta za barbiturate, benzodiazepine, alkohole, neurosteroidne, anestetike, blokatore kanala i jona cinka (Zn^{2+}) (19). Aktivacija GABA_A receptora koji sadrže α_2 i/ili α_3 podjedinicu prvenstveno doprinosi anksiolitičkom i, u velikoj meri, miorelaksantnom dejstvu (20).

Rezultati testa „svetlo-tama” u našoj studiji ukazuju da FIN ispoljava anksigeno dejstvo (grafikon 3), što se najverovatnije može objasniti njegovom modulacijom GABA-ergičke transmisije posredstvom neurosteroida. Sve je više dokaza koji govore u prilog činjenici da endogeni neurosteroidi imaju važnu ulogu u patogenezi nekih psihijatrijskih poremećaja, uključujući anksiozne poremećaje i depresiju (21, 22). Rezultati više kliničkih studija pokazuju da primena FIN-a u lečenju androgene alopecije uzrokuje pojavu anksiozno/depresivne simptomatologije kod pacijenata, koja je praćena značajnim promenama u koncentraciji neuroaktivnih steroida u likvoru i serumu u odnosu na zdrave kontrole (23, 24). Tako je u likvoru ovih pacijenata zapažen pad koncentracije progesterona (PROG), dihidroprogesterona (DHP), tetrahidroprogesterona (THP), dihidrotestosterona (DHT) i ALLO, dok je nivo pregnenolona (PREG), testosterona (T) i 3 α -diola bio značajno viši u odnosu na zdravu populaciju. S druge strane, u serumu je uočen porast PREG, T, 3 α -diola, 3 β -diola i 17 β -estradiola i pad koncentracije DHP i THP u odnosu na zdrave kontrole (24). Osim toga, dosadašnje studije ukazuju na to da se koncentracija ALLO i THDOC u serumu i likvoru pacijenata koji boluju od depresije snižava, kao i da nivo ALLO u likvoru negativno korelira sa Hamiltonovom skalom depresije (engl. *Hamilton depression rating scale*, HAM-D skor), pokazateljem težine

depresivne epizode (25). I eksperimentalne studije, slično našoj, ukazuju na anksigeno dejstvo FIN-a, potencijalno posredovano modulacijom sinteze neurosteroida. Rani postnatalni tretman pacova FIN-om od 6. do 15. dana doводи do ispoljavanja anksioznog ponašanja kod adultnih životinja (26), dok primena PROG kod ovarijektomisanih ženki pacova ispoljava anksiolitički efekat sličan onom koji se dobija nakon primene benzodiazepina (BDZ) (27).

Tačan mehanizam anksigenog dejstva FIN-a nije poznat, ali glavnu ulogu imaju inhibicija sinteze i povećanje razgradnje neurosteroida. Finasterid na doznos zavisnan način inhibira sintezu ALLO i THDOC blokiranjem 5 α -reduktaze u CNS-u, a preusmerava i progesteron u alternativne metaboličke puteve, kao što je njegova redukcija pod dejstvom 20 α -hidroksisteroid dehidrogenaze. Usled ove reakcije nivo 20 α -dihidroprogesterona nakon lečenja FIN-om raste, dok se nivoi progesterona i deoksikortikosterona u mozgu ne menjaju (28). Uočeno je da aktivnost 20 α -hidroksisteroid dehidrogenaze u humanoј populaciji poseduje aldo-keto reduktaza 1C1, koja takođe inaktivira ALLO, što predstavlja potencijalni dodatni mehanizam anksigenog dejstva FIN-a (29). Nivo ALLO u mozgu se smanjuje i usled hidroksilacije progesterona pomoću izoformne 2D monooksigenaze zavisne od citohroma P450 (30). Neke studije takođe pokazuju da anksigeno dejstvo FIN-a može da bude uzrokovano i direktnom modulacijom GABA-ergičke transmisije usled promene kvaternerne strukture GABA_A receptora. Rani postnatalni tretman pacova FIN-om uzrokuje povećanje ekspresije α_4 i δ subjedinice GABA_A receptora u hipokampusu (26). Zanimljivo je da ovi pacovi u adultnom uzrastu ispoljavaju paradoksalno anksiozno ponašanje nakon primene PROG, što ukazuje na kompleksnost interakcije neurosteroida i GABA_A receptora u modulaciji anksioznosti i na potencijalno dvojne efekte FIN-a u zavisnosti od uzrasta u kome se primenjuje.

Za razliku od testa „svetlo-tama”, test „uzdignuti plus lavirint” u našoj studiji nije pokazao anksigeno dejstvo FIN-a (grafikoni 1 i 2). Iako se oba testa koriste za procenu anksioznosti, u nekim studijama su takođe dali oprečne rezultate (31). Miševi kojima je uklonjen gen za kalcineurin provode kraće vreme u svetlom odeljku kutije u testu „svetlo-tama”, ali istovremeno značajno duže vreme provode u otvorenim kracima lavirinta u odnosu na divlji soj životinja (31). Ovo se može objasniti činjenicom da ova dva testa ispituju različite aspekte anksioznosti kod glodara: test „svetlo-tama” ispituje anksioznost od svetlog prostora, a „uzdignuti plus lavirint” anksioznost od otvorenog prostora. Tako naša studija ukazuje da FIN prvenstveno izaziva anksioznost od svetlog, a ne i od otvorenog prostora. Suprotno našoj studiji, neke studije su pokazale da FIN nakon sistemske ili intrahipokampalne admini-

stracije izaziva i anksioznost od otvorenog prostora kod pacova (32, 33). Ova diskrepanca se najverovatnije može objasniti različitim dozama FIN-a korišćenim u ovim studijama, a dobro je poznato da FIN inhibira sintezu neurosteroida na dozno zavisani način.

Literatura

- Belzer K, Schneier FR. Comorbidity of anxiety and depressive disorders: issues in conceptualization, assessment, and treatment. *J Psychiatr Pract.* 2004; 10(5):296-306.
- Kugaya A, Sanacora G. Beyond monoamines: glutamatergic function in mood disorders. *CNS Spectr.* 2005; 10(10):808-19.
- McEwen BS, Chattarji S, Diamond DM, Jay TM, Reagan LP, Svenningsson P, et al. The neurobiological properties of tianeptine (Stablon): from monoamine hypothesis to glutamatergic modulation. *Mol Psychiatry.* 2010; 15:237-49.
- Martin EI, Ressler KJ, Binder E, Nemeroff CB. The neurobiology of anxiety disorders: brain imaging, genetics, and psychoneuroendocrinology. *Psychiatr Clin North Am.* 2009; 32(3):549-75.
- Ahboucha S, Butterworth RF. The neurosteroid system: implication in the pathophysiology of hepatic encephalopathy. *Neurochem Inter.* 2008; 52:575-87.
- Ahboucha S, Gamrani H, Baker G. GABAergic neurosteroids: the "endogenous benzodiazepines" of acute liver failure. *Neurochem Inter.* 2012; 60:707-14.
- Hu J, Zhang Z, Shen W-J, Azhar S. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr Metab.* 2010; 7:47.
- Do Rego JL, Seong JY, Burel D, Leprince J, Luu-The V, Tsutsui K, et al. Neurosteroid biosynthesis: enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuropeptides. *Front Neuroendocrinol.* 2009; 30:259-301.
- Bitran D, Shiekh M, McLeod M. Anxiolytic effect of progesterone is mediated by the neurosteroid allopregnanolone at brain GABA_A receptors. *J Neuroendocrinol.* 1995; 7(3):171.
- Rick FG, Saadat SH, Szalontay L, Block NL, Kazzazi A, Djavan B, et al. Hormonal manipulation of benign prostatic hyperplasia. *Curr Opin Urol.* 2013; 23:17-24.
- Azzouni F, Zeitouni N, Mohler J. Role of 5 α -reductase inhibitors in androgen-stimulated skin disorders. *J Drugs Dermatol.* 2013; 12: 30-5.
- Ford MM, Nickel JD, Finn DA. Treatment with and withdrawal from finasteride alter ethanol intake patterns in male C57BL/6J mice: potential role of endogenous neurosteroids? *Alcohol.* 2005; 37:23-33.
- Duborija-Kovacevic N, Jakovljevic V, Sabo A, Tomic Z. Anti-nociceptive and anti-inflammatory properties of 5 α -reductase inhibitor finasteride in experimental animals. *Eur J Drug Metab Pharmacokin.* 2008; 33:181-6.
- Reddy DS, Kim HY, Rogawski MA. Neurosteroid withdrawal model of perimenstrual catamenial epilepsy. *Epilepsia.* 2001; 42:328-36.
- Biagini G, Panuccio G, Avoli M. Neurosteroids and epilepsy. *Curr Opin Neurol.* 2010; 23:170-6.
- Mladenović D, Hrnčić D, Petronijević N, Jevtić G, Radosavljević T, Rašić-Marković A, et al. Finasteride improves motor, EEG, and cellular changes in rat brain in thioacetamide-induced hepatic encephalopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014; 307(9):G931-40.
- Ugale RR, Sharma AN, Kokare DM, Hirani K, Subhedar NK, Chopde CT. Neurosteroid allopregnanolone mediates anxiolytic effect of etifoxine in rats. *Brain Res.* 2007; 1184:193-201.
- Finn DA, Ford MM, Wiren KM, Roselli CE, Crabbe JC. The role of pregnane neurosteroids in ethanol withdrawal: behavioral genetic approaches. *Pharmacol Ther.* 2004; 101:91-112.
- Korpi ER, Grunder G, Lüddens H. Drug interactions at GABAA receptors. *Prog Neurobiol.* 2002; 67:113-59.
- Rudolph U, Möhler H. Analysis of GABAA receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004; 44: 475-98.
- Melcangi RC, Caruso D, Abbiati F, Giatti S, Calabrese D, Piazza F, et al. Neuroactive steroid levels are modified in cerebrospinal fluid and plasma of post-finasteride patients showing persistent sexual side effects and anxious/depressive symptomatology. *J Sex Med.* 2013; 10(10):2598-603.
- Uzunova V, Sheline Y, Davis JM, Rasmusson A, Uzunov DP, Costa E, et al. Increase in the cerebrospinal fluid content of neurosteroids in patients with unipolar major depression who are receiving fluoxetine or fluvoxamine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95:3239-44.
- Arca E, Açıkgöz G, Taitan HB, Köse O, Kurumlu Z. An Open, Randomized, Comparative Study of Oral Finasteride and 5% Topical Minoxidil in Male Androgenetic Alopecia. *Dermatology.* 2004; 209:117-25.
- Caruso D, Abbiati F, Giatti S, Romano S, Fusco L, Cavaletti G, et al. Patients treated for male pattern hair with finasteride show, after discontinuation of the drug, altered levels of neuroactive steroids in cerebrospinal fluid and plasma. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015; 146:74-9.
- Romeo E, Ströhle A, Spalletta G, di Michele F, Hermann B, Holsboer F, et al. Effects of antidepressant treatment on neuroactive steroids in major depression. *Am J Psychiatry.* 1998; 155:910-3.
- Modol L, Casas C, Navarro X, Llido A, Vallée M, Pallarès M, et al. Neonatal finasteride administration alters hippocampal α 4 and δ GABA_A subunits expression and behavioural responses to progesterone in adult rats. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014; 17(2):259-73.
- Reddy DS, O'Malley BW, Rogawski MA. Anxiolytic activity of progesterone in progesterone receptor knockout mice. *Neuropharmacology.* 2005; 48:14-24.
- Mukai Y, Higashi T, Nagura Y, Shimada K. Studies on neurosteroids XXV. Influence of a 5 α -reductase inhibitor, finasteride, on rat brain neurosteroid levels and metabolism. *Biol Pharm Bull.* 2008; 31:1646-50.
- Usami N, Yamamoto T, Shintani S, Ishikura S, Higaki Y, Katagiri Y, et al. Substrate specificity of human 3(20) α -hydroxysteroid dehydrogenase for neurosteroids and its inhibition by benzodiazepines. *Biol Pharm Bull.* 2002; 25:441-5.
- Funae Y, Kishimoto W, Cho T, Niwa T, Hiroi T. CYP2D in the brain. *Drug Metab Pharmacokin.* 2003; 18:337-49.
- Miyakawa T. Conditional calcineurin knockout mice exhibit multiple abnormal behaviors related to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100:8987-92.
- Rhodes ME, Frye CA. Inhibiting progesterone metabolism in the hippocampus of rats in behavioral estrus decreases anxiolytic behaviors and enhances exploratory and antinociceptive behaviors. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2001; 1(3):287-96.
- Hirani K, Sharma AN, Jain NS, Ugale RR, Chopde CT. Evaluation of GABAergic neuroactive steroid 3 α -hydroxy-5 α -pregnane-20-one as a neurobiological substrate for the anti-anxiety effect of ethanol in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2005; 180(2):267-78.
- Komada M, Takao K, Miyakawa T. Elevated plus maze for mice. *J Vis Exp.* 2008; (22):1088.