



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE SİKLOFOSFAMİD İLE
OLUŞTURULAN DENEYSEL SİSTİT
MODELİNDE SİTAGLİPTİNİN
ÜROPROTEKTİF ETKİSİNİN VE OLASI
MEKANİZMALARIN ARAŞTIRILMASI**

İpek KONAK

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Ersin YARIŞ

TRABZON-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve 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 aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

19.09.2025
İpek KONAK

İthaf

Bu doktora tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili aileme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Doktora sürecim boyunca karşılaştığım her zorlukta yanımda olan, bilgisi, tecrübesi ve yönlendirmeleriyle bana ilham veren değerli danışman hocam Prof. Dr. Ersin YARIŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım,

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimleriyle katkı sunan, desteklerini esirgemeyen KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mine DUMAN'a, Prof. Dr. Nuri İhsan KALYONCU'ya, Prof. Dr. Feride Sena SEZEN'e, Prof. Dr. Sabri Murat KESİM'e, Dr. Öğr. Üyesi İlknur ERKÖSEOĞLU'na ve Dr. Öğr. Üyesi Yeşim KAYA YAŞAR'a teşekkür ederim,

Tez çalışmalarım boyunca tecrübeleri, yardımları ve sağladıkları imkanlarla her zaman yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Elif Nur BARUT'a ve Doç. Dr. Seçkin ENGİN'e en içten teşekkürlerimi sunarım,

Bu uzun ve zorlu akademik yolculukta her zaman yanımda olan, desteğini ve samimiyetini her zaman hissettiren, birlikte aynı yolda yürüdüğüm değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, her koşulda sevgisini ve desteğini hissettiğim, bu süreci daha güçlü bir şekilde tamamlamamı sağlayan canım aileme sonsuz teşekkür ederim,

Doktora tez çalışmamı destekledikleri için KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje Kodu: TDK-2024-15845) teşekkür ederim.

İpek KONAK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İthaf

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

vi

TABLolar DİZİNİ

ix

ŞEKİLLER DİZİNİ

x

RESİMLER DİZİNİ

xi

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xii

ÖZET

xvi

ABSTRACT

xvii

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

3

2.1. Mesane Anatomisi ve Fizyolojisi

2

2.2. Mesane Dolaşımı

5

2.3. Mesane İnnervasyonu ve Alt Üriner Sistem Nörofizyolojisi

6

2.3.1. Parasempatik Yollar

8

2.3.2. Sempatik Yollar

9

2.3.3. Somatik Yollar

10

2.3.4. Afferent Yollar

10

2.4. Mesane Duvarı, Detrüsör Düz Kası ve Ürotelyum

11

2.5. Detrüsör Düz Kas Kasılması ve Gevşemesi

12

2.6. Miksiyon Siklüsü

13

2.7. İnterstisyel Sistit

13

2.7.1. Tanımı

13

2.7.2. Klinik Önemi ve Prevelansı

14

2.7.3. Tanı ve Tedavisi

15

2.7.4. Etiyoloji ve Patofizyolojisi

18

2.8. Siklofosfamid ile Sistit Modeli

19

2.9. İnterstisyel Sistitte Oksidatif Stres ve Toll-like Reseptörlerin Rolü	22
2.10. İnterstisyel Sistit ve NFκB Sinyal Yolağı İlişkisi	24
2.11. Dipeptil peptidaz- 4 (DPP-4) Enzimi ve İnhibitörleri	25
2.11.1. Sitagliptin	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Gereç	35
3.1.1. Kimyasallar	35
3.1.2. Antikorlar	36
3.1.3. Cihazlar	37
3.1.4. Kitler	37
3.1.5. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar	38
3.2. Deney Hayvanları	42
3.3. Deneysel Akut Sistit Modelinin Oluşturulması ve Deney Grupları	42
3.4. İzole Organ Banyosu Çalışması	43
3.4.1. Cerrahi İşlem ve Mesane Striplerinin Hazırlanması	43
3.4.2. İzole Organ Banyosu Deney Protokolü	45
3.5. Biyokimyasal Analiz	46
3.5.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	46
3.5.2. Total Protein Tayini	46
3.5.3. Mesane Homojenatlarında GSH Düzeyinin Belirlenmesi	47
3.5.4. Mesane Homojenatlarında TNF-α ve IL- 1β Düzeylerinin Belirlenmesi	47
3.6. Western Blot Analizi	48
3.6.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Protein Tayini	48
3.6.2. Jellerin Hazırlanması	48
3.6.3. Örneklerin Hazırlanması	49
3.6.4. Elektroforez	49
3.6.5. Jelden Membrana Transfer İşlemi	50
3.6.6. Bloklama	52
3.6.7. Primer Antikorla İnkübasyon	52
3.6.8. Sekonder Antikorla İnkübasyon	52
3.6.9. Görüntüleme	52
3.3. İstatistiksel Analiz	53
4. BULGULAR	54

4.1. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Ödemi Üzerine Etkisi	54
4.2. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Detrüsör Düz Kas Kontraktilitesi Üzerine Etkisi	55
4.2.1. KCl ile İndüklenen Detrüsör Kasılma Yanıtları	55
4.2.2. Sita Tedavisinin CCh ile İndüklenen Detrüsör Kasılmaları Üzerine Etkisi	56
4.3. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında GSH Düzeyi Üzerine Etkisi	58
4.4. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında IL- 1 β Düzeyi Üzerine Etkisi	59
4.5. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında TNF- α Düzeyi Üzerine Etkisi	60
4.6. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında TLR4 ve NF κ B Protein Ekspresyon Düzeyi Üzerine Etkisi	61
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	64
6. KAYNAKLAR	73
EKLER	88
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	89
ÖZGEÇMİŞ	91

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. NIDDK'in interstisyel sistit için diagnostik kriterleri	16
Tablo 2. Kullanılan kimyasallar, marka ve kodları	35
Tablo 3. Kullanılan antikorlar, marka ve kodları	36
Tablo 4. Kullanılan cihazlar ve markaları	37
Tablo 5. Kullanılan kitler, marka ve kodları	38
Tablo 6. Deney gruplarına ait CCh ile indüklenen kasılma yanıtlarının Emaks ve pD2 değerleri	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. Kadın ve erkeklerde mesane anatomisi	4
Şekil 2. Alt üriner sistemin innervasyonu	8
Şekil 3. Adrenerjik ve kolinerjik reseptörlerin mesane ve üretrada dağılımı	10
Şekil 4. Hunner ülseri	15
Şekil 5. DDP-4 inhibitörlerinin kimyasal yapısı	27
Şekil 6. Deney gruplarına ait mesane/vücut ağırlığı oranı	54
Şekil 7. KCl ile indüklenen detrüör kasılma yanıtlarına ait temsili kayıt örnekleri	55
Şekil 8. Deney gruplarına ait KCl ile indüklenen detrüör kasılma yanıtları	56
Şekil 9. CCh ile indüklenen detrüör kasılma yanıtlarına ait temsili kayıt örnekleri	57
Şekil 10. Deney gruplarına ait CCh (10-8-10-4 M) ile indüklenen detrüör kasılma yanıtları	57
Şekil 11. Deney gruplarına ait mesane dokularında GSH düzeyi	59
Şekil 12. Deney gruplarına ait mesane dokularında IL-1 β düzeyi	60
Şekil 13. Deney gruplarına ait mesane dokularında TNF- α düzeyi	61
Şekil 14. Deney gruplarına ait mesane dokularında TLR4, p-NFkB, total NFkB ve β -aktin ekspresyonunu gösteren temsili membran görüntüleri	62
Şekil 15. Mesane dokularında TLR4 ekspresyon düzeyi	62
Şekil 16. Mesane dokularında NFkB fosforilasyon düzeyi	63

RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Cerrahi işlem ve mesane striplerinin hazırlanması	44
Resim 2.	Preparatların izole organ banyolarına yerleştirilmesi	45
Resim 3.	Dokulardaki gerilim değışiklikleri izometrik kuvvet transdüseri aracılığı ile ölçülmesi	45
Resim 4.	Jellerin hazırlanması işleminin gösterimi	49
Resim 5.	Protein elektroforezi görüntüsü	50
Resim 6.	Jelden membrana transfer işlemi	52
Resim 7.	Görüntüleme işlemi	53
Resim 8.	CP uygulamasından 24 saat sonra her bir gruba ait mesane dokularının görüntüleri	55

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ATP	Adenozin 5' trifosfat
APS	Amonyum persülfat
ANOVA	Varyans analizi
BCA	Bikinkoninik asit
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CAT	Katalaz
CCh	Karbakol
CP	Siklofosamid
DAG	Diaçilgliserol
dk	Dakika
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPP-4	Dipeptil peptidaz-4
DRG	Dorsal kök gangliyonu
DTT	Ditiyotritol
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EFS	Elektriksel Alan Uyarımı
ELISA	Enzim bağılı immünosorbent testi
ESSIC	Avrupa İnterstisyel Sistit Çalışmaları Derneği
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GIP	Glukoz bağımlı insülinotropik polipeptit
GLP-1	Glukagon benzeri peptid-1
GSH	Glutatyon
IC	İnterstisyel sistit
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
IL-1β	İnterlökin-1 beta
IP3	İnositol trifosfat
İkBα	Kappa B inhibitörü alfa

iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	İntraperitoneal
KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
LPS	Lipopolisakkarit
LUT	Alt idrar yolu
M	Molar
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
mM	Milimol
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MDA	Malonaldehit
MyD88	Miyeloid farklılaşma birincil yanıt 88
NFκB	Nükleer faktör kappa B
NLRP3	Nod benzeri reseptör proteini 3
NIDDK	The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases
NaPPi	Sodyum pirofosfat
NaVan	Sodyum ortovanadat
Nrf2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
NO	Nitrik oksit
PBS	Fosfat tamponlu salin
PI3K	Fosfatidilinositol-3 kinaz
PMSF	Fenil metil sülfonil florür
PVDF	Poliviniliden florür
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNT	Reaktif nitrojen türleri
Sita	Sitagliptin
SOD	Süperoksit dismutaz
TBS	Tris tamponlu salin
TBST	Tween 20 içeren tris tamponlu salin
TEMED	Tetrametilendiamin
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF-α	Tümör nekrozis faktör alfa

TRAF6	TNF-reseptör ilişkili faktör 6
TRIF	TIR-domain içeren adaptör indükleyici interferon
Tris-HCl	Tris-hidroklorid
T2DM	Tip 2 diabetes mellitus
V	Volt

Semboller

α	Alfa
$\pm$	Artı-eksi
β	Beta
κ	Kappa
μ	Mikro
cm	Santimetre
%	Yüzde

Formüller

Ca²⁺	Kalsiyum
CaCO₃	Kalsiyum karbonat
CaCl₂	Kalsiyum klorür
HCl	Hydrochloric acid
KCl	Potasyum klorür
KH₂PO₄	Potassium dihydrogen phosphate
MgSO₄	Magnezyum sülfat
Na₃C₆H₅O₇	Sodium citrate
NaCl	Sodyum klorür
NaF	Sodyum florür
NaHCO₃	Sodyum bikarbonat

$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Sodyum pirofosfat dibazik
NaH_2PO_4	Sodyum dihidrojen fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
Na_3VO_4	Sodyum ortovanadat



ÖZET

Farelerde Siklofosfamid ile Oluşturulan DeneySEL Sistit Modelinde Sitagliptinin

Üroprotektif Etkisinin ve Olası Mekanizmaların Araştırılması

İnflamatuvar yanıtların baskılanması interstisyel sistit (IC) tedavisinde temel terapötik hedeflerden biri olarak öne çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda, sitagliptinin inflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada siklofosfamid (CP) ile indüklenen deneySEL akut sistit olgularında sitagliptin (Sita)'nın üroprotektif etkisi ve bu etkide önemli bir rol oynayabileceğini düşündüğümüz TLR-4/NFκB sinyal yolağıyla ilişkisini araştırdık. Çalışmada akut sistit modeli, 5 günlük Sita tedavisinden sonra tek bir CP (300 mg/kg) enjeksiyonuyla oluşturuldu. Fareler beş ardışık gün boyunca Sita (20 ve 100 mg/kg/gün) veya serum fizyolojik ile tedavi edildi. Detrüsör kontraktilesi, mesane ödemi, glutatyon (GSH), tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α) ve interlökin-1 beta (IL-1β) düzeyleri, NFκB/TLR4 sinyal yolağı proteinlerinden total NFκB, p-NFκB, TLR4 'ün ekspresyon düzeyleri fare mesanesinde değerlendirildi. Detrüsör şeritlerinin potasyum klorürle indüklenen detrüsör kasılma yanıtları, deney grupları arasında anlamlı fark göstermedi. CP, karbakol ile uyarılan detrüsör kasılmalarını anlamlı derecede azaltmış, mesane GSH düzeyini düşürmüş ve IL-1β ile TNF-α düzeylerinde artışa neden olmuştur. Ayrıca TLR4 protein ekspresyonu ve NF-κB fosforilasyonu anlamlı şekilde artmıştır. Mesna tedavisi ise, CP'ye bağlı olarak gelişen detrüsör kasılma yanıtlarını ve GSH düzeyindeki azalmayı önlemiş; inflamatuvar yanıtları baskılamış, NFκB fosforilasyon düzeyinde CP'nin neden olduğu artışı önledi ancak TLR4 düzeyinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. 100 mg/kg dozda sitagliptin tedavisi, CP grubunda CCh ile indüklenen maksimum kasılma yanıtındaki azalmayı, mesane IL-1β ve NFκB fosforilasyon düzeyindeki CP'nin neden olduğu artışı önlerken, TNF-α ve TLR4 düzeyleri üzerinde etkisiz kalmıştır. 20 mg/kg dozda detrüsör kasılma yanıtları, inflamatuvar belirteçleri (IL-1β, TNF-α) ile NFκB ve TLR4 düzeyleri üzerinde etkisiz kalmıştır. Sonuçlarımız 100 mg/kg dozda Sita'nın mesanedeki detrüsör kasılma ve inflamatuvar yanıtları düzenleyerek CP kaynaklı akut sistitte terapötik etki gösterebileceğine dair kanıtlar sunmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Akut sistit, İnflamasyon, NFκB, Siklofosfamid, Sitagliptin, Toll benzeri reseptör-4

ABSTRACT

Investigation of the Uroprotective Effect and Possible Mechanisms of Sitagliptin in a Cyclophosphamide-Induced Experimental Cystitis Model in Mice

Suppression of inflammatory responses is considered one of the primary therapeutic targets in the treatment of interstitial cystitis (IC). Previous studies have demonstrated that sitagliptin possesses significant potential in the treatment of inflammation-related diseases. In this study, we investigated the uroprotective effect of sitagliptin (Sita) in cyclophosphamide (CP)-induced acute experimental cystitis and its possible association with the TLR-4/NF κ B signaling pathway, which we hypothesized may play an important role in this effect. The acute cystitis model was established by a single CP injection (300 mg/kg) following 5 days of sitagliptin treatment. Mice were treated with sitagliptin (20 and 100 mg/kg/day, i.p.) or physiological saline for five consecutive days. Detrusor contractility, bladder edema, glutathione (GSH), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), and interleukin-1 beta (IL-1 β) levels, as well as the expression levels of total NF κ B, phosphorylated NF κ B (p-NF κ B), and TLR4 proteins of the NF κ B/TLR4 signaling pathway, were evaluated in bladder tissue. KCl-induced contractile responses of detrusor strips showed no significant differences between groups. CP significantly reduced carbachol (CCh)-induced detrusor contractions, decreased bladder GSH levels, and increased IL-1 β and TNF- α levels. CP also markedly enhanced TLR4 protein expression and NF κ B phosphorylation. Mesna treatment prevented the CP-induced reduction in detrusor contractile responses and GSH levels, suppressed inflammatory responses, and inhibited CP-induced NF κ B phosphorylation, but did not significantly alter TLR4 levels. Treatment with sitagliptin at 100 mg/kg prevented the CP-induced reduction in CCh-induced maximal contractile response and the increases in bladder IL-1 β levels and NF κ B phosphorylation, while it had no effect on TNF- α or TLR4 expression levels. At a dose of 20 mg/kg, Sita had no effect on detrusor contraction responses, inflammatory markers (IL-1 β , TNF- α), and NF κ B and TLR4 levels. Our results provide evidence that at a dose of 100 mg/kg, Sita may have a therapeutic effect in CP-induced acute cystitis by regulating detrusor contraction and inflammatory responses in the bladder.

Key Words: Acute cystitis, Cyclophosphamide, Inflammation, NF κ B, Sitagliptin, Toll-like receptor-4

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnterstisyel sistit (IC) ; nokturi, sık idrara çıkma ve subrapubik ağrı ile karakterize olan etiyolojisi henüz saptanmamış mesanenin inflamatuvar bir hastalığıdır. İnterstisyel sistit semptomları hastadan hastaya farklılık göstermekte olup, pelvik ağrı ve günlük aktivitelerin kısıtlanması hastalığın değişmeyen bulgularıdır (1). Onlarca yıl süren temel ve klinik araştırmalara rağmen IC'in tedavisi zordur ve her biri tek bir etiyolojiye yönelik olan çeşitli tedaviler kullanılmaktadır (2). IC hastanın yaşam kalitesi üzerinde ciddi olumsuz etkiye sahip olabilen rahatsız edici bir durum olup, görülme sıklığı dünya çapında artmaktadır (3).

IC altında yatan patojenik mekanizmalar arasında ürotelyuma verilen hasar ve buna bağlı olarak mesane permeabilitesinde artış, nörojenik inflamasyon ve mast hücre aktivasyonu yer almaktadır. Sistit gelişiminde inflamasyonun önemli bir rol oynaması nedeniyle günümüzde antiinflamatuvar etkinlik gösteren etken maddelerin sistit tedavisindeki etkinlikleri incelenmesi önem kazanmıştır (4).

Sitagliptin, bir dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörüdür ve öncelikle tip 2 diyabet tedavisinde kullanılır, ancak potansiyel antioksidan özellikleri çeşitli klinik öncesi ve klinik çalışmalarda dikkat çekmiştir. Sitagliptinin dikkate değer bir yönü, oksidatif stresin kardiyovasküler hastalıklar, diyabetik komplikasyonlar ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birden fazla patolojiye katkıda bulunması nedeniyle önemli olan farklı biyolojik bağlamlarda oksidatif stresi azaltma yeteneği olmuştur (5).

Yapılan birçok çalışmada sitagliptinin TLR4/ NF-κB sinyal yolağını modüle ederek TNF-α, IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesini inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca sitagliptinin MDA düzeyini azaltarak, SOD aktivitesini ve GSH düzeyini arttırarak oksidatif stresi azalttığı yapılan çalışmalarda görülmüştür. Ancak literatürde sitagliptinin interstisyel sistit ve mesane aktivitesi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu çalışmada bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptinin üroprotektif etkisi ve bu etkide önemli bir rol oynayabileceğini düşündüğümüz TLR-4/ NF-κB sinyal yolağıyla ilişkisi ilk kez araştırılmıştır.

Literatürde deneysel çalışmalarda antiinflamatuvar etkili olduğu bildirilen sitagliptinin sistitteki klinik etkileri araştırılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada CP (siklofosamid) ile indüklenen deneysel sistit olgularında sitagliptinin üroprotektif etkisi ve bu etkide önemli bir rol oynayabileceğini düşündüğümüz TLR-4/NFκB sinyal yolağıyla ilişkisini fonksiyonel, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane Anatomisi ve Fizyolojisi

Mesane, iki üreter tarafından sürekli olarak taşınan idrar için geçici bir rezervuar görevi gören, gerilebilir ve içi boş bir iç organ olup tamamen ekstrapitonealdir. Mesanenin kaslı duvarı, mesaneye önemli derecede kontraktile kazandırmaktadır. Mesanenin boyutu, şekli ve pozisyonu mesanenin içerdiği idrar tarafından ne kadar gerildiğine ve ayrıca çevresindeki iç organların durumuna göre belirlenir (6).

Mesanenin; idrarın depolanması ve boşaltılması olmak üzere iki önemli görevi vardır. Mesanede idrarın depolanması düşük basınçta gerçekleşmekte olup mesane dolum fazında gevşemektedir. Boşaltma fazında ise mesane koordineli bir şekilde kasılmakta ve üretra gevşemektedir (7). Mesane duvarında yer alan detrüsör kas lifleri, mesane içi basıncı düzenleyerek kasılma sürecinde aktif rol oynar. Mesane tamamen dolduğunda, detrüsör kaslarının kasılmasıyla birlikte miksiyon süreci başlar ve mesane boşaltılır (Şekil 1) (8).

İçi boş, subperitoneal muskuler bir organ olan mesane, pelviste simfizis pubisin arkasında yerleşim göstermektedir. İçi doldukça pelvis majöre doğru yukarı çıkmaktadır (9). Yetişkinlerde, boş mesane tamamen pelvik boşluğun içinde yer almaktadır. Mesane gerildikçe pelvik kenar seviyesinin üzerine çıkar ve böylece karına girer. Ancak, yenidoğan ve bebeklerde mesanenin içi boş olsa bile bir abdominal organ olduğu unutulmamalıdır. Bunun açıklaması, doğumda pelvik boşluğun neredeyse hiç derinliği veya hacmi olmaması olup bu aşamada mesane boynu, pubik simfizin üst kenarıyla aynı hizadadır. Mesane tübüler bir şekle sahiptir ve ön karın duvarının alt kısmının arka yüzeyiyle temas halindedir. Pelvik boşluk, mesaneyi barındıracak yeterli derinliğe ancak ortalama 7 veya 8 yaşına gelindiğinde ulaşır ve mesane ancak ergenlik döneminde gerçek anlamda intrapelvik bir konuma gelir. Boşken mesane, komşu organların basıncıyla yukarıdan aşağıya doğru düzleşmiş gibi görünür, ancak idrarla dolduğunda oval bir şekil alır. Boş, daralmış yetişkin mesanesi tetrahedral bir şekle sahip olup dışarıdan, birbirinden belirsiz sınırlarla ayrılmış dört yüzeyi vardır (6).

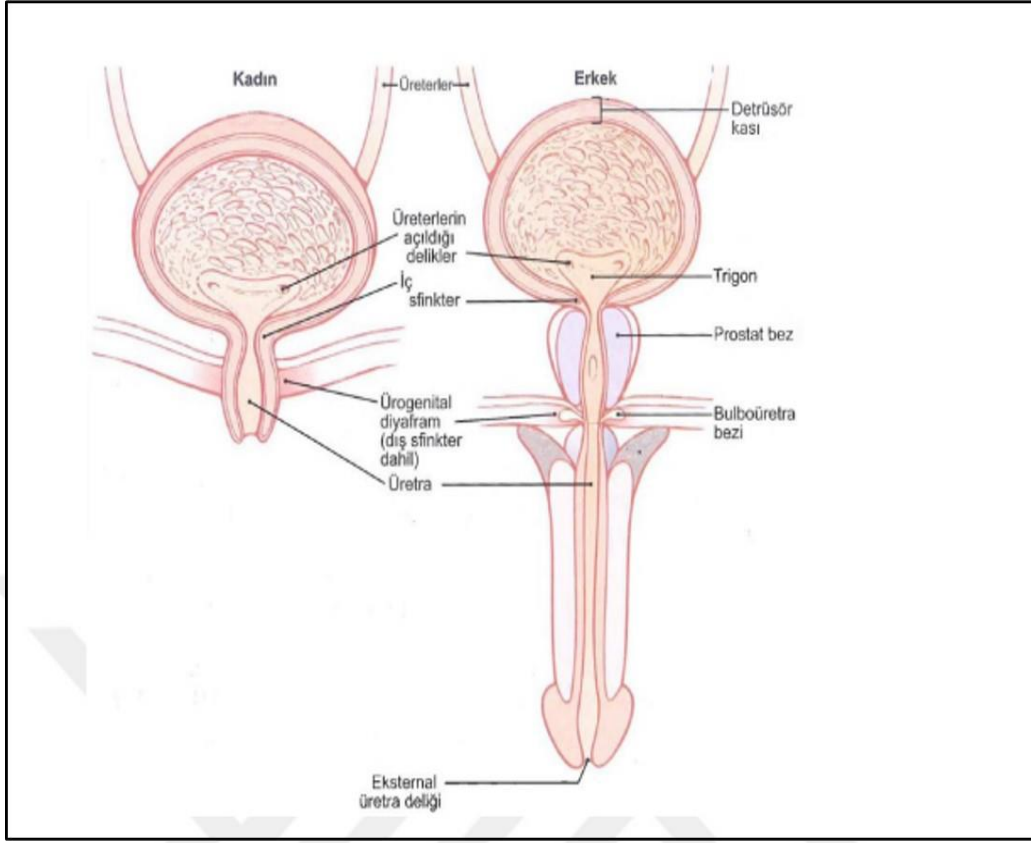
Mesane; üst tarafta üreterler ile alt tarafta ise üretra ile bitişiktir. Mesane anatomik olarak; apeks, gövde, fundus ve boyun olmak üzere dört bölümden oluşmaktadır. Apeks; mesanenin karın duvarına bakan anterosuperior kısmı olup; fundus ise mesanenin posteroinferior kısmıdır. Mesanenin gövdesi ise apeks ile fundus arasındaki geniş yüzeydir. Böbrekler tarafından atılan idrar, üreterlerden ve üreterovezikal bağlantıdan geçerek

mesaneye ulaşır. Merkezi sinir sistemine geri duyusal sinirler, mesane idrar ile dolduğunda iç ve dış üretra sfinkterlerinin eş zamanlı gevşemesi ve detrusör kasının uyarılması ile efferent somatik ve otonom sinirler ile iletişim kurarak idrarın atılımını kontrol eder (10).

Mesanenin üst ve ve arka yüzeylerinin bir kısmı peritonla kaplı olup; alt kısmı ve inferolateral kısımları endopelvik fasya ile kaplıdır. Inferolateral yüzeyleri ise levator ani kasını kaplayan fasiya ile bağlantılıdır. Mesanenin posteroinferior yüzeyi olan fundus kadınlarda vajina anterior duvarı ile bağlantılıyken erkeklerde rektum ile bağlantılıdır. Mesanenin anterior kenarı olan apeks ise önde simfizis pubisin üst kenarını göstermektedir (9, 10).

Üst yüzeyin iki alt yan yüzeyle birleştiği yer mesanenin tepesidir. Mesanenin tepesinden göbeğe kadar anterosüperior olarak uzanan şey orta göbek bağıdır. İkincisi, embriyolojik urakusun lifli, kordon benzeri bir kalıntısıdır (6). Mesanenin boynu üretraya doğru giden mesanenin daralmış kısmı olup mesanenin posterior ve inferolateral yüzeylerinin birleştiği en alt kısmını ifade eder (6, 10).

Mesane boyununun içinde, mesane lümeninin üretra ile devamlı olduğu iç üretra deliği bulunur. Erkeklerde mesane boynu, prostatın üst yüzeyinin hemen üzerinde yer alıp, kadınlarda ise mesane boynu pelvik taban ve üst üretrayı çevreleyen pelvik fasya ile ilişkilidir. Arkada, mesane boynu ön vajinal duvar ve forniks ile ilişkilidir. İdrarın içeri akması ve mesanenin giderek gerilmesiyle, mesanenin yüzeyleri arasındaki belirsiz sınırlar giderek kaybolur ve mesane oval bir şekil aldığı anda yüzeyler birbiriyle birleşir (10).



Şekil 1. Kadın ve erkeklerde mesane anatomisi (Guyton'dan, 8)

Mesanenin üst yüzeyi yani mesanenin kubbesi tamamen peritonla kaplıdır; periton bu yüzeye yoğun bir şekilde bağlıdır. Periton, ön tarafta mesanenin üst yüzeyinden ayrılır ve yukarı doğru uzanır ve ön karın duvarının arka yüzeyine ulaşır ve burada fasya transversalis ile birleşir. Peritonun fasya transversalis ile birleştiği seviye, pubik simfizin üst kenarından 4-5 cm yukarıda yer almaktadır. Kadınlarda periton, mesanenin arka yüzeyine doğru eğilmeden doğrudan uterus isthmusuna doğru uzanır.

Mesanenin arka duvarının alt kısmının iç kısmı, trigon adı verilen üçgen bir alan içerir. Trigonun ana hatları, üçgenin tepesinde iç üretra deliği ve diğer iki açıyı işaretleyen sağ ve sol üreter delikleri ile ters bir üçgendir. İki üreter deliği, boş mesanede eğik yarıklar olarak görünür ve yaklaşık 3 cm aralıklıdır fakat mesane tamamen gerildiğinde, iki delik arasındaki mesafe 5 cm'ye kadar çıkabilir. İki üreter deliği arasında enine uzanan, interüreterik bar adı verilen bir submukozal sırt bulunur. Trigonal bölgeye karşılık gelen mesanenin dış duvarı, erkeklerde prostatın üst yüzeyine ve kadınlarda ön vajinal duvara sıkıca sabitlenmiş olup bu durum trigonu mesanenin en az hareketli kısmı yapar. Boş mesanenin mukoza zarı buruşuktur ancak bu buruşukluk, mesane sıvı ile şişirildiğinde

kaybolur, bu da sistoskopi sırasında kolayca gözlemlenebilir. Mesanenin en az gerilebilir kısmı olan trigonun üzerinde, mukoza zarı her zaman pürüzsüzdür. Mesane mukozası, alttaki detrusor kasına sadece gevşek bir şekilde yapışır. Ancak, trigon bölgesinde, mukoza alttaki kasa daha yoğun bir şekilde yapışır. Tüm mesane, içeriden ürotelyum olarak adlandırılan özel bir epitel ile kaplıdır. Bu epitel, idrar yolunun ileten kısmına özgüdür ve böbreklerin, üreterlerin, mesanenin ve proksimal üretranın kesintisiz ve eksiksiz bir iç astarını oluşturmaktadır (6).

Mesanenin hacmi türler arasında değişmektedir. Mesane kapasitesi yaklaşık olarak farelerde ortalama 0.15 ml iken, sıçanlarda 1 ml olup insanda ise 500 ml civarındadır. Aynı zamanda işeme fazları, kasılma özellikleri ve düzenlenmesi türler arasında değişkenlik göstermektedir (7). İçi boşken küçük pelviste yerleşim gösterirken, dolduğunda ise karın boşluğuna uzanmaktadır. Çocuklarda ise mesane ergenliğe kadar pelvise tamamen inmeyip karında bulunur. Mesane şişebilen bir organ olup insanlarda yaklaşık 500 ml'ye kadar idrar tutabilir (10). Yetişkinlerde bir mesanenin rahatça tutabileceği ortalama idrar hacmi 300 ml ile 400 ml arasında olup mesanedeki idrar hacmi arttıkça mesane iç basıncı da artar. Mesanedeki 5 ile 15 mmHg'lık basınç doluluk hissi yaratırken, 300 mmHg ve üzeri basınç ağrılı olmaktadır. Mesane içi basınç arttıkça artan doluluk hissi, A-delta ve C sinir liflerindeki pudental ve hipogastrik sinirler ile omuriliğe iletilmektedir (11).

2.2. Mesane Dolaşımı

Mesanenin üst bölümü hipogastrik arterin bir dalı olan superior veziküler arter tarafından beslenirken alt bölümü ise kadınlarda vajinal arterden, erkeklerde ise inferior veziküler arterden beslenmektedir. Ayrıca bunların dışında inferior gluteal ve obturator arterler aracılığıyla da mesaneye küçük bir kan akışı olmaktadır (12). Arteriyel drenaj; mesane kan teminini yalnızca az miktarda ve simetrik bir katkı sağlayan sağ ve sol internal iliak arterlerden alır. Her internal iliak arterin ön bölümü bir üst ve bir alt vezikal artere yol açar. Bunlar mesaneye giden başlıca arterler olup ilki mesanenin ön ve üst taraflarını beslerken, inferior vezikal arter mesanenin arka ve alt taraflarını, mesane boynunu da içerecek şekilde besler. Her ikisi de internal iliak arterin dalları olan obturator ve inferior gluteal arterler mesanenin alt kısmının kan teminine küçük bir katkıda bulunur. Kadınlarda uterin ve vajinal arterler mesanenin alt kısmının kan teminine katkıda bulunur (6).

Mesane etrafında çok yoğun ven plexusları olup, bu plexuslardan gelen kan internal iliak vene boşalmaktadır (13). Venöz sistem, veziküler venlere boşalan veziküler venöz

pleksus aracılığıyla boşalmakta olup daha sonra veziküler venler internal iliak venlere gitmektedir (12). Venöz drenaj; mesaneyi boşaltan damarlar başlangıçta mesanenin alt kısmının etrafında zengin, hassas bir pleksus oluşturur. Valfleri yoktur. Erkeklerde bu venöz pleksus, prostatın ön ve yan taraflarıyla ilişkili olan periprostatik venöz pleksusla devam ederken; kadınlarda ise intrapelvik vajinayı çevreleyen venöz pleksusla ve uterusun geniş bağının tabanında bulunan venöz pleksusla devam etmektedir (6).

Mesanenin lenfatikleri ise; üst bölümden çıkan lenf damarları eksternal iliak lenf düğümlerine, alt kısımdan çıkanlar ise internal iliak lenf düğümlerine boşalmaktadır (13). Lenfatik drenaj; mesanenin lenfatik drenajının çoğu, pelvik kenar boyunca yanal ve yukarı doğru, bilateral olarak dış iliak ve ortak iliak lenf düğümlerine giden lenfatik damarlar tarafından yapılır. Bu duruma ek olarak, mesaneyi boşaltan birçok lenfatik damar, mesaneyi besleyen ve içerdikleri lenfi bilateral olarak iç iliak lenf düğümlerine boşaltan atardamarlara eşlik eder (6).

2.3. Mesane İnnervasyonu ve Alt Üriner Sistem Nörofizyolojisi

Alt üriner sistemin nörofizyolojisi; periferik innervasyonu ve bu innervasyonu kontrol eden santral sinir sistemini içermektedir (14). Nöral kontrolü parasempatik, sematik ve somatik sistemlerden oluşan periferik sinirler ile sağlanmaktadır. Pelvik parasempatik nöronlar omuriliğin sakral kısmından çıkar, mesaneyi uyarır ve üretrayı gevşetirken; lumbal sempatik nöronlar mesane tabanı ve üretrayı uyarırken, mesane gövdesini inhibe eder. Pudental nöronlar ise dış üretral sfinkteri uyarmaktadır. Tüm bu nöronlar afferent ve efferent aksonlar içermektedir (15, 16).

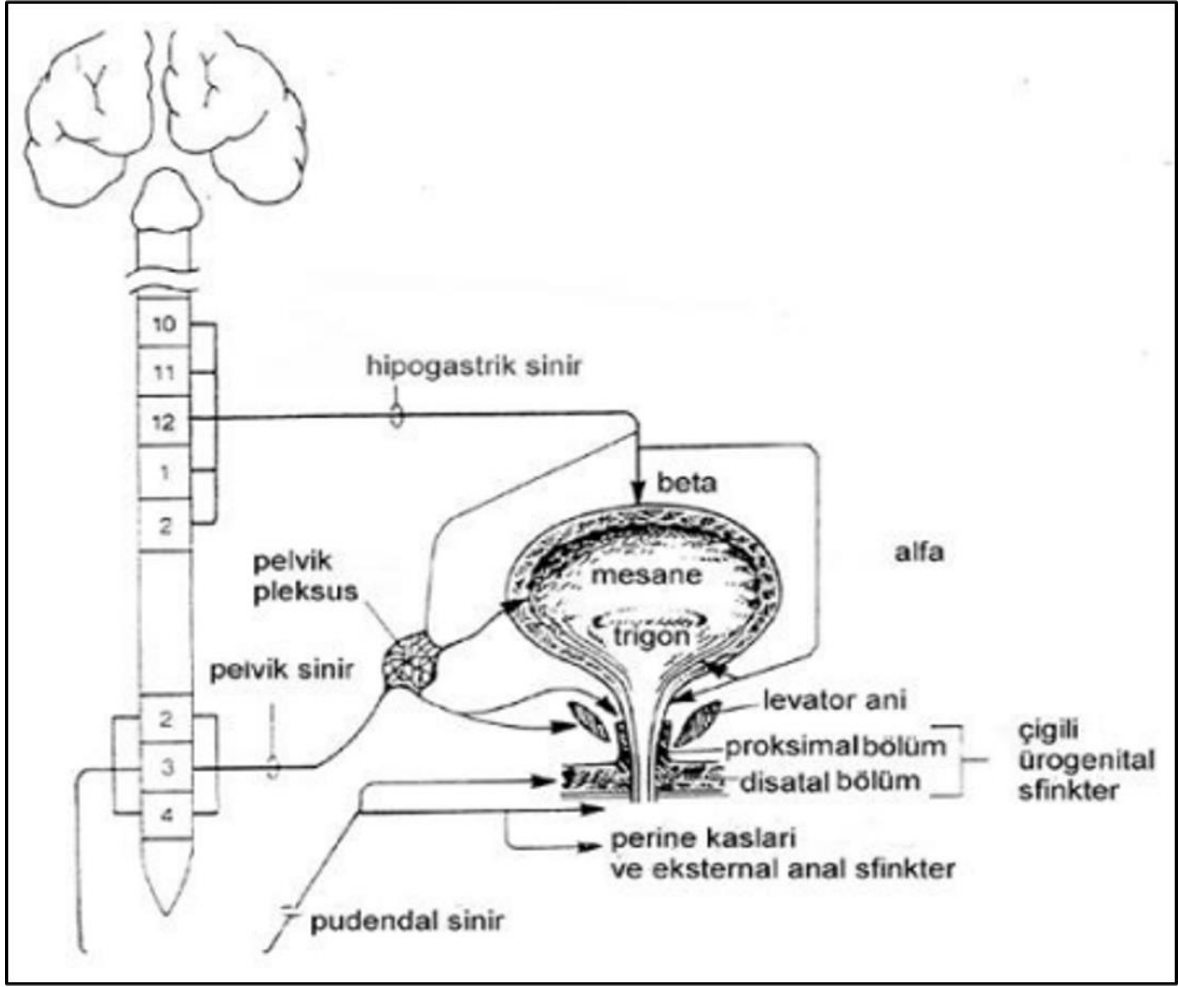
Mesaneyi besleyen nöronlar, pelvik pleksus olarak da bilinen sağ ve sol alt hipogastrik pleksuslardan çıkar. Her alt hipogastrik pleksus, karışık bir otonomik sinir pleksusu olup hem sempatik hem de parasempatik bileşenler içerir, her biri hem efferent hem de afferent lifler taşımaktadır (6).

Omuriliğin sakral 2. ve 3. sinirler arasındaki bağlantıyı kuran sakral pleksus ile bağlı halde olan pelvik nöronlar mesanenin temel sinir kaynağını oluşturur (17). Pelvik, hipogastrik ve pudental sinirler, duyu bilgisi afferent lifler halinde alt idrar yollarından lumbosakral omuriliğe taşır. İnsanlarda pelvik ve pudental afferent sinirlerin somataları dorsal kök gangliyonu (DRG)'nda sakral S2-S4 segmentlerinde, hipogastrik sinirin somataları ise DRG'de torakolomber T11-L2 segmentlerinde bulunur (18). Hipogastrik sinirlerin sempatik lifleri, detrüsr kasını uyarırken üretranın gevşemesine neden olur. Pelvik

parasempatik sinir lifleri ise detrusör kası baskılar, buna karşılık mesane kasları ve üretrayı aktive eder. Pudental sinir, dış sfinkter ile pelvik taban kaslarının istemli olarak kasılmasını sağlar. Mesaneye ait duysal sinir lifleri viseral niteliktedir ve aşırı gerilme durumunda ortaya çıkan ağrıyı iletir (Şekil 2) (19).

Sempatik lifler pleksusa sağ ve sol üst hipogastrik sinirler yoluyla ulaşırken, parasempatik lifler pleksusa ön sakral foraminadan çıkan pelvik splanknik sinirler yoluyla ulaşır. Alt hipogastrik pleksustaki parasempatik lifler omuriliğin 2., 3. ve 4. sakral segmentlerinden köken alırken, mesaneyi innerve eden sempatik lifler T11 ila L2 arasındaki omurilik segmentlerinden köken alır. Alt hipogastrik pleksus; rektum, iç genital organlar ve mesane boyununun lateralinde bulunan 5-7 cm uzunluğunda, uzunlamasına bir sinir ağı olup pelvik ve perineal iç organlara tüm parasempatik ve sempatik innervasyonun çoğunu sağlar.

Parasempatik lifler, detrusor kasının ana motor innervasyonunu sağlar. Bununla birlikte, sempatik lifler, trigonal kas yapısının bir kısmı ve erkeklerde preprostatik genital sfinkter için motor innervasyonunu sağlar. Mesane gerginliği hissi, lamina propriadaki gerilme reseptörleri tarafından alınır ve parasempatik lifler tarafından omuriliğin arka kısmına taşınır (6).



Şekil 2. Alt üriner sistemin innervasyonu (Tanagho'dan, 19)

2.3.1. Parasempatik Yollar

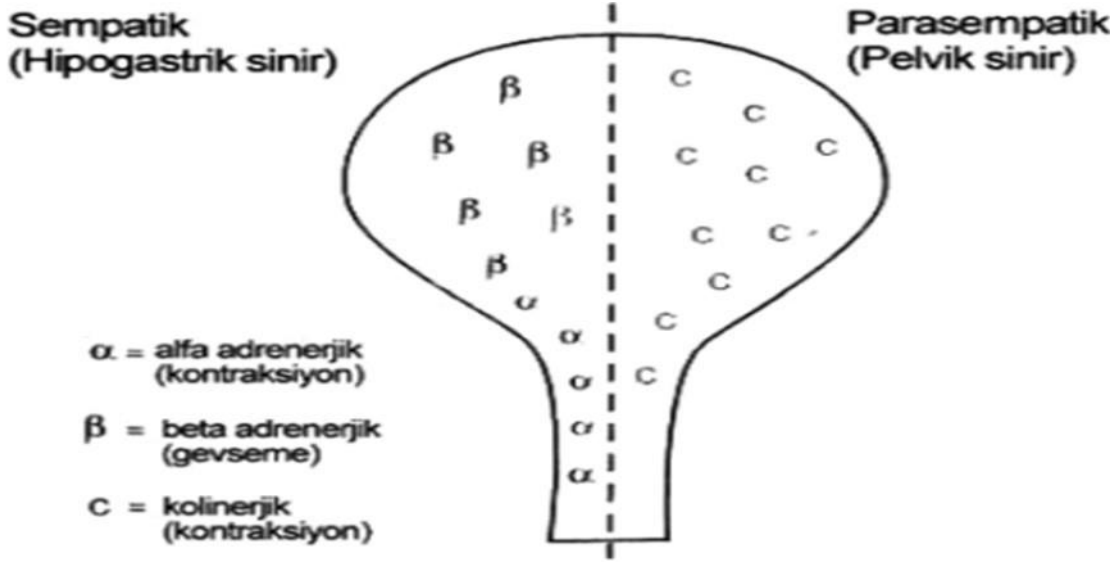
Pelvik parasempatik nöronlar S2-S4 arasında bulunan sakral parasempatik çekirdekten köken almaktadır. Parasempatik pregangliyonik nöronların nörotransmitteri asetilkolindir. Postgangliyonik nöronlar ise detrusörde ve pelvik pleksusta yerleşim göstermektedir. Asetilkolin pelvik parasempatik sinirlerden salgılanarak mesanenin kasılmasına ve üretranın gevşemesine neden olur. Nitrik oksit parasempatik nöronlardan salgılanarak üretral düz kaslarda inhibisyona neden olmaktadır. Sonuç olarak parasempatik uyarı mesane detrusöründe kasılmaya neden olurken, pelvik tabanda gevşemeye neden olmaktadır (20). Parasempatik postgangliyonik sinir uçlarından salgılanan asetilkolin mesanedeki muskarinik reseptörleri uyarmaktadır (21). Muskarinik reseptör alt tiplerinden M2 ve M3 detrusör düz kasında temel olarak bulunan muskarinik reseptörler olup, yoğunluk açısından M2 alt tipi baskın olsa da detrusör kasılmasından sorumlu olan reseptör alt tipi

M3'tür (22). M3-muskarinik reseptörlere asetilkolinin bağlanmasıyla G proteini üzerinden fosfolipaz C aktive olur ve inositol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) üretilir. IP3, IP3 reseptörleri aracılığıyla sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınmasına neden olurken, DAG ise plazma membranında yerleşim gösteren voltaj duyarlı Ca (kalsiyum) kanallarını düzenlemektedir. Hücre içi Ca konsantrasyonunun artması ile detrusörün kasılmasını uyarır (23). Aynı zamanda M2 reseptörlerinin uyarılması ile birlikte adenilat siklaz inhibisyonu ve bunun sonucunda detrusör kas depresyonunun sempatik aracılı baskılanması potasyum ATP kanallarını inaktive eder ve nonspesifik katyon kanallarının aktivasyonu sonucu M3 yanıtını güçlendirebileceği öngörülmektedir (24, 25).

2.3.2. Sempatik Yollar

Sempatik nöronlar, torakal 10 ve lomber 2 arasındaki intermediolateral kolondan ve interkalatus çekirdeğinden köken alır. Pelvik ve hipogastrik sinirler aracılığıyla sempatik pregangliyonik nöronlar mesane ile üretraya ulaşmaktadır. Lomber sempatik sinirler ile mesane gevşemesi olurken mesane çıkımı ve üretra kasılması gerçekleşmektedir (20).

Sempatik postgangliyonik uçlardan salgılanan noradrenalin ile mesane tabanı ve üretral düz kaslarda kasılma olurken, mesane gövdesinde ise gevşeme olmaktadır. Alfa reseptörleri mesane ve üretra boynunda daha yoğun bulunurken, alfa reseptörlerinin uyarılması ile üretral tonus artar ve kapanma gerçekleşmektedir. Beta reseptörleri ise mesanenin diğer kısımlarında yoğun olup mesane tonusunu azaltmaktadır. Tüm bunların sonucunda sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile mesanede idrar birikimi olmaktadır (Şekil 3) (21). Yapılan çalışmalar ile alfa-1 adreno reseptörlerin 3 alt tipinin olduğu bildirilmiş olup mesanedeki dağılımı tam olarak net bir şekilde bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda insanlarda mesane dokusunda alfa-1D yoğunluğu bildirilirken, prostatik üretra ve mesane boynunda ise alfa-1A'nın baskın olduğu bildirilmiştir. Alfa reseptörler nöronlardan noradrenalin salgılanmasına kasılma ve mesane boyunun kapanması şeklinde cevap vermektedir (25). Beta adreno reseptörlerden beta-2 ve beta-3 reseptörleri insan detrusöründe bulunmakta olup mesane gevşemesi için beta-3 adreno reseptörleri en önemli reseptör olduğu kabul görmektedir (26).



Şekil 3. Adrenergik ve kolinerjik reseptörlerin mesane ve üretrada dağılımı (Hayta'dan, 19)

Mesanenin sempatik innervasyonu detrusörde bulunan beta reseptörler özellikle beta-3 alt tipinin uyarılması ile siklik adenozin monofosfat (cAMP) üzerinden detrusör düz kasın gevşemesi ile sonuçlanır. Ayrıca beta reseptörlerinin uyarımı üretral düz kaslarda da gevşemeye neden olur. Fakat bu gevşemenin fonksiyonel bir öneminin olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca özellikle mesane boynunda olmak üzere miksiyon sırasında detrusörde gevşemeyi kolaylaştıran nitrik oksit sentezleyen nöronların varlığı da bildirilmiştir (20, 27). Fakat NO in detrusör kasında fonksiyonel rolü tam olarak ortaya konamamıştır (21).

2.3.3. Somatik Yollar

Pudental sinir içinde uzanan somatik efferent lifler eksternal üretral sfinkter, perine ve pelvik taban kaslarını kasarlar. Somatik efferent motor nöronlar, Onuf çekirdeği olarak adlandırılan ventral boynuzun lateralinde yerleşmiş olup, ayrıca lateral funikulus içinde dışa, ara gri madde içinde dorsale ve santral kanalın dorsomedialinde transvers yönelimli dentritik demetlerde de yerleşim gösterir (14, 21, 28).

2.3.4. Afferent Yollar

Pelvik, hipogastrik ve pudental nöronlardaki afferent aksonlar aldıkları uyarıları alt idrar yollarından lumbosakral spinal korda iletmektedir (16, 29). Mesaneden dolayı oluşan sıcaklık, ağrı ve gerilme gibi uyarılar sempatik ve parasempatik afferent lifler ile spinal korda iletilmektedir. Oluşan mekanoreseptif uyarılar myelinli A-delta ve myelinsiz C-lifleri aksonlarında oluşan pelvik sinir ile S2-S4 dorsal kök gangliyonuna iletilir. Nosiseptif

uyarılar ise hipogastrik sinir ile sempatik afferent nöronlar ile T11-L2 dorsal kök gangliyonuna iletilmektedir (20, 30). Myelinli A-delta lifleri ile normal bir mesanede uyarılar taşınırken, myelinsiz C-lifleri patolojik bir mesanede birçok mediyatör ile uyarılmaktadır (31).

Myelinli A-delta lifleri ve myelinsiz C-lifleri pelvik sinir içinde bulunan iki tip mesane afferent sinirleri olup miksiyonda görevli primer afferent nöronun A-delta lifleri olduğu bilinmektedir. Bu liflerin uyarılması için mesane içi basıncın yaklaşık 5-15 cmH₂O olması gerekmektedir. Myelinsiz C-liflerinin büyük bir bölümü miksiyon sırasında inaktif olup kimyasal iritasyona ya da soğuğa yanıt vermektedir (21).

2.4. Mesane Duvarı, Detrüsör Düz Kası ve Ürotelyum

Histolojik olarak mesane duvarının dört katmandan oluşmaktadır. İçeriden dışarıya doğru bunlar; ürotelyum, lamina propria, detrüsör kası ve serozadan oluşan kas tabakasıdır (6).

Mesane duvarı; esas olarak mesanenin idrarı tutması ya da atması için mesanenin kasılmasını ve gevşemesini sağlayan detrüsör kasından oluşmaktadır. Detrüsör kası, mesanenin alt ucunda iç üretra sfinkteri ile devam etmekte olup, detrüsör kasının kasılması ve üretra sfinkterinin gevşemesi ile idrar atılır. Detrüsör kası otonomik sistemin kontrolü altında olup, düz kaslardan oluşmaktadır (12). Mesane duvarı en dıştan içe doğru sırasıyla seroza, düz kas, ekstraselüler matriks, lamina propria ve ürotelyum tabakalarından oluşmaktadır. Detrüsör kası bir tendon ya da kemiğe tutunmayıp, geniş bir uzama özelliği gösterirken herhangi bir gerilimi sürdürebilme özelliğine sahiptir. Detrüsör kası bu özelliklere sahip olmasına rağmen iskelet kaslarından daha yavaş kasılmaktadır (21).

Detrüsör kası, brüt incelemede trabeküler bir görünüm üreten çok yönlü düz kas liflerinin iç içe geçmiş bir ağıdır (6). Detrusör düz kası; hem tek hücreli hem de çok hücreli düz kas özelliklerini içermekte olup insan detrüsör kası kollajen bakımından zengin bir bağ dokusu ile çevrilidir (32). Detrüsör; parasempatik, kolinerjik lifler tarafından zengin bir şekilde beslenir ve mesanenin kasılmasından sorumludur. Bununla birlikte, trigonal bölgede kas yapısı histolojik ve biyokimyasal olarak farklı iki kas katmanından oluşur: parasempatik olarak innerve edilen detrüsör kas liflerinin dış tabakası ve noradrenerjik lifler tarafından sempatik olarak innerve edilen düz kasın iç tabakası. Kasın iç tabakasına yüzeysel trigonal kas denmektedir (6).

Detrüsör kasına parasempatik postgangliyonik nöronlar eksitator girişi sağlamaktadır. Detrusör kası bir seroza ile korunmakta olup vezikal kısmın üstünde ürotelyumdan, bazal membran ve alt ürotelyumdan oluşan bir mukoza bulunmaktadır (32). Ürotelyum tabakası; idrarın toksik maddelerinin emilimini engelleyen ve dış ortamdan patojen girişine karşı savunma yapabilen önemli bir bariyer görevi görmektedir (33). Ürotelyum, 3-6 hücre kalınlığında, tabakalı epitel hücrelerinden oluşan bir tabakadır (6). Bu tabaka, detrüsörü idrar ortamından koruyan bir mukopolisakkarit glikokaliks ile kaplı olup; bazal hücre tabakası, ara hücre tabakası ve şemsiye hücre tabakası olmak üzere 3 tabakadan oluşmaktadır (34). Bazal hücreler, lümenin bazal membranında yerleşim göstermiş olup en farklılaşmamış olan ürotelyal hücre tipidir. Ara hücreler ise türe bağlı olarak birçok hücre katmanını oluşturup; yaralanma veya enfeksiyon durumlarında ürotelyumu hızlı bir şekilde yenilemekten sorumludur (33). Şemsiye hücre tabakası ise ürotelyumun iç yüzey tabakasını oluşturup, hegzagonal yapıdaki hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler gerilme durumlarında genişleyerek yüzey alanlarını arttırabilirler (23). Apikal yüzeyde tamamen farklılaşmış şemsiye hücrelerinin temel işlevi ürotelyumun geçirgenliğini ve bariyer fonksiyonunu korumaktır (33).

Lamina propria; kılcal damarlar, lenf damarları ve nöroreseptörler içeren bir bağ dokusunun destekleyici tabakasıdır. Ürotelyumdan belirgin bir bazal membranla ayrılmaktadır. Serosa, mesane için kısmi bir örtü oluşturur ve yalnızca mesanenin kubbesiyle ilişkilidir. Serosa ise, dışarıdan mezotel ile kaplıdır. Mesanenin diğer yüzeyleri ince bir serozal olmayan fibro-yağlı bağ dokusunun ince bir tabakasıyla kaplıdır (6).

2.5. Detrüsör Düz Kas Kasılması ve Gevşemesi

Detrusör düz kas kasılması diğer tüm düz kaslarda da olduğu gibi miyozin hafif zincir kinazın miyozin hafif zincirlerini fosforile etmesiyle aktin ve miyozin proteinlerinin kasılma etkileşimine bağlıdır. Muskarinik reseptörlerinin uyarılması, detrüsör düz kasının kasılması için temel bir mekanizma olup, bu kasılma aktivitesi; parasempatik nöronların uyarılması ya da düz kas şeritlerindeki intrinsik eksitator nöronların elektriksel alan uyarımı (EFS) ile başlatılabilir. EFS'ye verilen cevap insan detrüsör kasında neredeyse tamamen asetilkolin ile olmaktadır. Asetilkolin hücre zarında yerleşmiş olan M3 reseptörleri üzerinden etki gösterir (35, 36).

Asetilkolinin M3-muskarinik reseptörlerine bağlanmasıyla G protein üzerinden fosfolipaz C aktive olur. Fosfolipaz C'nin aktivasyonu ile inositol trifosfat (IP3) ve

diacilgliserol (DAG) üretilir. IP₃, IP₃ reseptörleri üzerinden sarkoplazmik retikulumdan Ca salınımına neden olurken, DAG plazma membranında yerleşmiş olan voltaj duyarlı Ca kanallarını düzenlemektedir. Bunların sonucunda hücre içi serbest Ca konsantrasyonunun artması kasılmayı uyarmaktadır (23).

Yapılan çalışmalar ile insan detrüsör kasının gevşemesinde rol oynayan reseptörlerinin büyük bir kısmının beta adrenoreseptörler olduğu düşünülmektedir (37). Detrüör düz kas gevşemesinde nöradrenalinin β_1 , β_2 , β_3 -adrenoreseptörlerine bağlanması ile aktiveleşen cAMP yolağı aracılık etmekte olup, insan mesanesinde β_3 -adrenoreseptörler tüm β -adrenoreseptörlerinin %95'inden daha fazlasını oluşturmaktadır (38, 39).

2.6. Miksiyon Siklusu

Miksiyon siklusu; mesane innervasyonunda rol oynayan bazı yapılar ve bunlara aracılık eden çeşitli nörotransmitterler ile gerçekleşmektedir (40).

Normal miksiyon; fiziksel ve sosyal olarak uygun şartlarda, duyuşal bilginin mesanenin dolduğunu ilettiğinde istemli olarak gerçekleşmekte olup, miksiyon depolama ve boşaltma olmak üzere 2 evrede incelenebilir. Depolama evresinde; sempatik uyarının artması ve parasempatik uyarının baskılanması ile mesane içi hacim artmakta mesane içi basınç düşük tutulmaktadır (41, 42). Bu evrede mesane boynu ve üretranın düz kasları ile çizgili sfinkter kasılarak üretra kapatılır ve kontinans sağlanır. Pelvik ve pudental nöronlardan gelen afferentler ile hem sakral hem de lateral pontin merkezini aktive ederek detrüöre giden parasempatik uyarı baskılanırken sfinkter kontraksiyonu güçlenmiş olur.

Boşalma evresinde; mesanedeki idrar hacmi ortalama 250 ml olan idrar uyarı eşik değeri geçince basınç ve dolgunluğa duyarlı olan reseptörlerden artan afferent uyarımlar ile eğer idrar yapmak için uygun bir sosyal ortam oluşmuşsa ponstaki miksiyon merkezi uyarılır. Ardından sempatik ve somatik yollar inhibe olurken parasempatik yollar aktive olur. Sonuç olarak detrüsör kasılırken eş zamanlı olarak mesane boynu, üretral düz sfinkter ve eksternal sfinkter gevşeyerek istemli olarak miksiyon gerçekleşir (43, 44).

2.7. İnterstisyel Sistit

2.7.1. Tanımı

İnterstisyel sistit; nokturi, sık idrara çıkma ve subrapubik ağrı ile karakterize olan etiyolojisi henüz saptanmamış mesanenin inflamatuvar bir hastalığıdır. İnterstisyel sistit semptomları hastadan hastaya farklılık göstermekte olup, pelvik ağrı ve günlük aktivitelerin

kısıtlanması hastalığın değişmeyen bulgularıdır (1). Uluslararası Kontinans Derneği tarafından “alt idrar yollarında kanıtlanmış bir idrar yolu enfeksiyonu veya diğer belirgin bir patolojinin yokluğunda, gündüz ve gece saatlerinde artış gibi diğer semptomların eşlik ettiği, mesane dolumuna bağlı suprapubik ağrı şikayeti” olarak tanımlanmaktadır (45). IC için tanı kriterleri daha geniş ve kapsayıcı olmaya devam ettikçe bu durumun prevalansı da artmaktadır. IC’in tanısı, sunumunun bir takım diğer ürolojik ve jinekolojik durumlara benzer olması nedeniyle sıklıkla zordur ve gecikir. Hekimler arasında bu durumun patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması, IC tanısı konulan hastaların sayısının artmasına yol açmıştır (46). Onlarca yıl süren temel ve klinik araştırmalara rağmen IC’in tedavisi zordur ve her biri tek bir etiyolojiye yönelik olan çeşitli tedaviler kullanılmaktadır (2).

2.7.2. Klinik önemi ve prevalansı

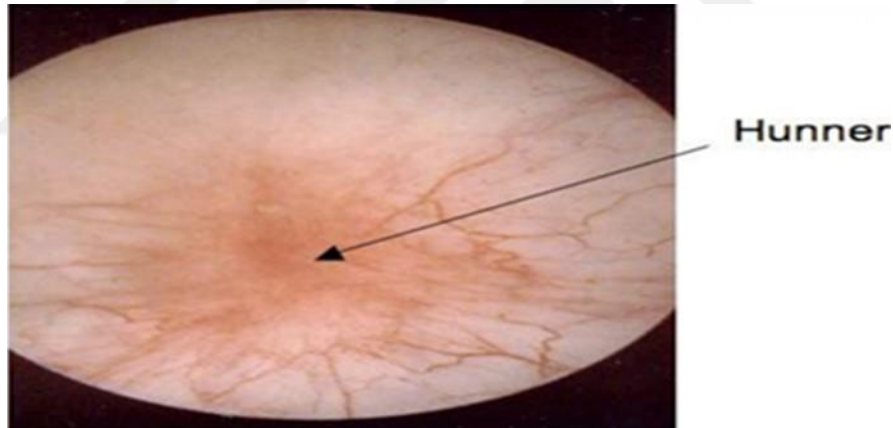
Yapılan birçok çalışmada interstisyel sistit prevalansının % 0,01 ile % 2,3 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir (47). IC prevalansı büyük olasılıkla kadın anatomik üreter şekli nedeniyle kadınlarda erkeklerden önemli ölçüde daha yüksektir (48). İnterstisyel sistitin insanlarda ortalama 40 yaş civarında başladığı bildirilmiş olup hastaların yaklaşık % 25’inin 30 yaş altında olduğu rapor edilmiştir (1). IC ayırıcı tanısında karıştırılabilecek hastalık spektrumunun geniş olmasından dolayı sistitli hastalara kesin tanı koymak zor olup, bireylere doğru tanı koyulabilmesinin yaklaşık 2-4.5 yıl arasında zaman aldığı bildirilmiştir (47). Clemens ve arkadaşları tarafından kanıtlanmış prevalans kadınlarda 52-500/100.000 arasında değişirken erkeklerde 8-41/100.000 arasında değişmektedir. IC yaygınlığı, daha geniş tanı kriterleri nedeniyle küresel olarak artmakta ve hastalar, özellikle gelişmiş dünyada, durum hakkında bilgi toplamak için çevrimiçi teknolojileri kullanmaktadır. İnternetin kolaylıkla ulaşılabilir olması nedeniyle, hastaların kendi kendine yardım arama eğilimi olduğu görülmektedir. Teşhis kriterleri genişlemeye ve daha kapsayıcı olmaya devam ettikçe, IC prevalansının artmaya devam etmesi muhtemeldir (46).

IC hastanın yaşam kalitesi üzerinde ciddi olumsuz etkiye sahip olabilen rahatsız edici bir durum olup, görülme sıklığı dünya çapında artmaktadır (3). Yaşamı tehdit eden bir hastalık olmasa da, Dünya Sağlık Örgütü tarafından düzenlenen 1. Uluslararası İnkontinans Konsültasyonu'nda vurgulandığı gibi, IC artık önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Depresif bozukluklar, anksiyete, uyku bozukluğu ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları bildiren bazı raporlarla birlikte, hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileme potansiyeli vardır. Pek çok hasta, ev dışındaki kazalardan kaynaklanan korku veya

utancın yanı sıra, ağrı, sıklık ve aciliyet nedeniyle evlerinde kalmaktadır. Bu nedenle alışveriş, seyahat gibi normal günlük aktiviteler, özellikle yeni ve bilmediğiniz yerler, egzersiz ve hatta cinsel ilişkiden genellikle kaçınılır. IC'li birçok kadının aynı zamanda depresyon ve anksiyete bozuklukları gibi psikiyatrik bozukluklardan da etkilendiği görülmektedir. Sıklık ve aciliyet, işgücünde verimliliğin en yüksek olduğu dönem olan 35 ile 55 yaşları arasında en yaygın olanıdır. Bu nedenle IC kişinin işe gitme yeteneğini etkileyerek ekonomiyi de etkilemektedir (45).

2.7.3. Tanı ve Tedavisi

IC tanısında öncelik diğer benzer hastalıkların dışlanarak ekarte edilmesi ve sistoskopi ile mesanenin endoskopik olarak incelenmesi ilk basamak olmaktadır (47). IC tanısı öncelikle hasta tarafından bildirilen semptomlara dayanır ancak bu hastalığın etiyolojisi ve risk faktörlerinin anlaşılamaması nedeniyle bu durum karmaşık olmaktadır (49).



Şekil 4. Hunner ülseri (Wein'den, 48)

Kesin tanı için hasta değerlendirmesinde detaylı öykü, fiziki muayene, tam idrar tahlili, idrar kültürü ve işeme günlüğünün takibinin yapılması önemli olup bunlara ek olarak sistoskopinin de yapılması önemlidir. Yapılan sistoskopiye; mesane glomerülasyonları ile mesane ürotelyumun ülseratif bölgesi olan hunner lezyonu olarak adlandırılan tipik bulgular saptanabilmektedir (47).

Wein ve arkadaşları 1990 yılında Ulusal Diyabet, Sindirim ve Böbrek Hastalıkları Enstitüsü (NIDDK)'nın kriterlerini revize edip bir araştırma tanımı sunmuşlardır (Tablo-1) (50).

Tablo 1. NIDDK'in interstisyel sistit için diagnostik kriterleri

Hasta seçim kriterleri 1.Kesin dahil etme kriteri: Endoskopide Hunner ülseri görülmesi 2.Pozitif faktörler a. Mesanenin dolması ile artan, boşaltılması ile azalan ağrı b. Suprapubik, pelvik, üretral, vaginal veya perineal ağrı c. Endoskopide glomerülasyon görülmesi d. Sistometride azalmış mesane kompliansı (IC denmesi için 2 pozitif faktör bulunması istenir.)
IC dışlama kriterleri 1. Gaz ya da sıvı dolum maddesi ile uyanık olarak yapılan sistometride kapasitenin 350 cc den büyük olması 2. 30-100 cc/dk dolum hızıyla mesane, 100 cc gaz ya da 150 cc su ile doldurulduktan sonra hastada şiddetli işeme isteği yokluğu 3.Yukarıda bahsedilen dolum hızıyla sistometride fazık istemsiz mesane kontraksiyonlarının gösterilmesi 4. Semptomların süresinin 9 aydan kısa olması 5. Noktürinin yokluğu 6. Semptomların antimikrobiyal, üriner antiseptik, antikolinerjik veya antispazmolitiklerle hafiflemesi 7. Uyanıkken günde 8'den az idrara çıkma sıklığı 8. Üç aylık periyotda bakteriyel sistit veya prostatit tanısı olması

9. Mesane ya da üreter taşı bulunması
10. Aktif genital herpes olması
11. Uterin, servikal, vaginal veya üretral kanser bulunması
12. Üretral divertikül bulunması
13. Siklofosfamid veya herhangi bir tip kimyasal sistit
14. Tüberküloz sistiti
15. Radyasyon sistiti
16. Benign veya malign mesane tümörü
17. Vaginit
18. Yaşın 18'den küçük olması

NIDDK kriterlerine göre hastaların interstisyel sistit tanısı almaları için kesin dahil etme kriterleri ya klasik Hunner ülserinin bulunması ya da sistoskopik incelemede glomerülasyonların olması, ve bunlara ek olarak mesane ile ilişkili ağrı ya da ani sıkışma hissi bulunması gerekir (50).

IC için tüm hastalara yardımcı olduğu saptanan bir tedavi yoktur. Tedavi yaklaşımı çok yönlüdür ve hastaya özel olmalı, en rahatsız edici bulunduğu semptomları hedef almalıdır (51). Tedavi algoritmaları davranışsal, farmakolojik, intravezikal, girişimsel ve cerrahi tedaviler olarak alt sınıflara ayrılır (3). Hasta eğitimi, davranış değişikliği, diyet tavsiyesi, stres giderme ve fizik tedaviyi içeren konservatif tedavi, tüm hastalar için temel bir başlangıç yönetim stratejisidir. Bu, tedavinin temel taşıdır ve daha sonraki tüm tedavi denemeleri bu temele dayanmaktadır. Herhangi bir yanıt gözlenmezse amitriptilin gibi oral tedavilerin en büyük yanıtı vermesi muhtemeldir. ESSIC (Avrupa İnterstisyel Sistit Çalışmaları Derneği) sınıflandırmasına göre hastaların fenotipi için sistoskopi şarttır ve hunner lezyonuna yönelik fulgurasyon veya rezeksiyonla tedavi aynı anda, uygunsa iyi başarı oranlarıyla gerçekleştirilebilir. Sistoskopi, diğer patolojileri dışlamak ve ayrıca IC'in doğru fenotiplenmesine yardımcı olmak, mesane kapasitesini değerlendirebilmek ve hedefe yönelik tedavinin önerilebileceği Hunner lezyonlarının varlığını tespit edebilmek için

gereklidir. Hastalar, sistoskopik ve histolojik esaslara dayalı olarak ESSIC kriterleri kullanılarak sınıflandırılabilir. Bunun için hastaların hidrodistansiyon ve biyopsi ile birlikte sistoskopiye tabi tutulması gerekir; hidrodistansiyon sıklıkla tanısal olduğu kadar terapötik bir müdahale olarak da işlev görür. Daha invaziv tedaviler arasında intravezikal DMSO veya lidokain damlatılması, detrüöre botulinum toksin A enjeksiyonu ve nöromodülasyon yer alır ve bu tedaviler oral tedaviler başarısız olursa denenmektedir. Kullanımı konusunda deneyimli olanlarda oral siklosporin denenebilir; ancak bu genellikle önemli olumsuz olaylara neden olur ve yoğun izleme gerektirir ve bu nedenle yaygın olarak kullanılmaz. Son olarak radikal cerrahi; ciddi, aralıksız IC'i olan, Hunner lezyonları olan veya anatomik mesane kapasitesi azalmış olan, yaşam kalitesinin ciddi şekilde etkilendiği ve daha önce bahsedilen müdahalelerle düzelmeyen hastalar için düşünülmelidir (51).

Gelecekteki önemli bir ilerleme, her etiyolojik hedefe özgü idrar veya serum biyobelirteçlerinin tanımlanması olacaktır. Daha sonra her biyobelirteç, her tedavi için uygun hastaları seçmek ve tedavinin amaçlanan hedef üzerindeki etkisini izlemek için kullanılabilir. Şu anda ana kılavuzlar tanı için öykü, muayene, idrar kültürü ve idrar tahlili önermektedir (2).

Mesna bir sülfidril bileşiği olup, interstisyel sistit tedavisinde klinik rutin uygulamalarda en çok kullanılan preparattır (52). Mesnanın sistemik uygulaması siklofosfamidin üriner sistemden detoksifikasyonunu sağlamaktadır (53). Mesna bu detoksifikasyonu akroleini inaktif molekül olan tioetere dönüştürerek gösterir. Oluşan tioeter üriner sistem epiteli için zararsız olup idrar ile vücuttan atılmaktadır (54).

Mesna uygulamasından 20 dk sonra en yüksek konsantrasyona ulaşmış olup, siklofosfamitten 20 dakika önce verilmelidir. Mesnanın yarılanma ömrü dikkate alınarak bölünmüş dozlar şeklinde 3 saatten daha uzun olmayan aralıklarla uygulama tekrarlanmalıdır (55, 56). Mesna bu etkilerinin yanında ateş, miyalji ve kalp grafisinde değişiklik gibi bir takım yan etkilere neden olmaktadır (57).

2.7.4. Etiyoloji ve Patofizyolojisi

İnterstisyel sistitin etiyolojisi tam olarak bilinmemekte olup multifaktöryel olduğu bildirilmiştir. Etiyolojik faktörler kişiden kişiye farklılık göstermektedir (47). IC altında yatan patojenik mekanizmalar arasında ürotelyuma verilen hasar ve buna bağlı olarak mesane permeabilitesinde artış, nörojenik inflamasyon ve mast hücre aktivasyonunun yanı sıra nöronal ve immün fonksiyondaki değişiklikler yer almaktadır (49).

IC'in patogenezi için birçok teori önerilmiş ancak hiçbirinin doğruluğu kesin olarak kanıtlanamamıştır. Klinik IC'nin gelişmesine yol açan olaylar zinciri mesane epiteli yaralanmasıyla başlar. Birçok vakada bu, bir bakteriyel sistit atağını takiben gerçekleşmiş olabilir ancak diğer hastalarda pelvik cerrahi, doğum başlatıcı faktör olabilir. İdrar metabolitlerinin hasarlı mesane ürotelyumundan sızmasıyla submukozal boşluğun sürekli tahrişi, submukozal mast hücrelerinin çoğalması ve aktivasyonu ile belirgin inflamatuvar reaksiyona neden olur. Mast hücreleri aktive edildiğinde histamin ve diğer mediyatörleri serbest bırakarak duyuşal sinir liflerini uyarır ve lokal doku hasarına, vasküler konstriksiyona neden olmaktadır (58). Mast hücrelerinde artış ve aktivasyon otoimmün veya alerjik reaksiyonun işaretidir. IC'li birçok hastanın aynı zamanda alerji ve otoimmün hastalıklara da sahip olduğu göz önüne alındığında, bağışıklık tepkisi teorisi daha ilgi çekici hale gelir. Mast hücreleri inflamasyona, mesane mukozal hasarına ve ağrıya katkıda bulunan birçok molekül içerir. Mast hücre içeriğinin salınması, bağışıklık hücrelerinin sızdığı, duyuşal sinirlerin daha duyarlı hale geldiği ve P maddesi gibi sitokinlerin ve taşıkininlerin salındığı bir döngü sürecini tetikler; böylece mast hücrelerini, nöronları daha da duyarlı hale getiren inflamatuvar mediyatörleri ve histamini serbest bırakmak için daha da aktive eder. Histamin ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) damar geçirgenliğini artırır, sitokinler inflamasyona neden olur, kininler ve prostaglandinler ağrıya neden olur, kimaz ve triptaz doku hasarına neden olur. IC' deki ağrı sıklıkla mesane çıkarıldıktan sonra da devam eder, bu da devam eden pelvik inflamasyonun merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisinde önemli bir role işaret etmektedir (59). Yapılan çalışmalar sonucunda hastalığın patogenezinin tam olarak aydınlatılamamasından dolayı hastalara mevcut uygulanan tedaviler semptomatik olup genellikle yetersiz olmaktadır (47).

2.8. Siklofosfamid ile Sistit Modeli

Siklofosfamid (CP); lösemi, lenfomalar ve solid tümörler dahil olmak üzere çeşitli maligniteler için yaygın olarak kemoterapötik ve immünosüpresif bir ilaç olarak kullanılan sentetik bir nitrojen mustard grubundan alkilleyici ajandır. Terapötik aktivitesi öncelikle vücuttaki aktif metabolitlere aktivasyonuna dayanır ve sitotoksik etkilerini DNA alkilasyonu yoluyla uygulamak için sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla biyoaktivasyonu gerektirir ve hücrel apoptoza yol açar (60). Bunların dışında CP trombositopenik purpura, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis ve nefritik sendrom gibi nonneoplastik hastalıkların tedavisinde de tercih edilmektedir (61). Bununla birlikte, siklofosfamidin klinik kullanımı

 rolojik sonuçlar da dahil olmak üzere ciddi komplikasyonlar nedeniyle sınırlıdır (62). CP'nin karsinojenik ve teratojenik etkilerine ek olarak kalp, mesane ve hematopoietik sistem üzerinde de toksik etkisi bilinmektedir. Yüksek doz CP interstisyel sistit olarak da bilinen ve özellikle mesane mukoza hasarı, pelvik ağrı ve mesane disfonksiyonu olarak kendini gösteren sistite neden olmaktadır (63).

Etkinli ine rağmen siklofosfamid, hem akut hem de kronik olmak üzere önemli bir toksisite spektrumuyla da ilişkilidir. Başlıca komplikasyonlarından biri, metaboliti olan akroleinin ürotelyuma olan toksisitesi nedeniyle oluşan sistittir (64).

Siklofosfamid, başta karaciğerde olmak üzere mikrozomal oksidaz enzim sistemleri aracılığıyla aktif metabolitlerine ayrılır. Oluşan akrolein metaboliti ürotoksik etkiye sahip olup üriner sistem ile doğrudan temas ederek bu etkisini gösterir (65, 66, 67).

Reaktif oksijen türevleri (ROS) ve reaktif nitrojen türevlerinin (RNT) mesane dokusundaki artışı membran lipidlerinin peroksidasyonuna, protein denatürasyonuna ve DNA hasarına neden olur (68, 69). Yapılan deneysel çalışmalarda siklofosfamid uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı ifade edilmiştir (70). Siklofosfamid ile oluşan sistit hasarında sadece akrolein rol oynamamakta olup ROS ve RTN'nin de bu hasara ortak olduğu bildirilmiştir (71).

CP uygulaması hem TNF-alfa, interlökin-1  (IL-1 ) salınımına yol açar hem de NO (nitrik oksit) açığa çıkmasına neden olarak epitel hasar serbest radikallerin de katılmasına neden olmaktadır (72). NO, nitrojen kökenli serbest radikallerden biri olup aşırı NO  retimi vazodilatasyon ve ödeme sebep olmaktadır (68, 69).

Çeşitli maligniteleri ve otoimmün bozuklukları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bir kemoterapi ilacı olan CP'in, mesanenin inflamasyonu ve kanaması ile karakterize önemli bir yan etki olan sistite neden olduğu iyi belgelenmiştir (73, 74). Siklofosfamid uygulandıktan sonra metabolik aktivasyona uğrar ve mesane mukozasına zarar verebilen toksik bir metabolit olan akrolein üretir ve bu da hematüri, dizüri, sık idrara çıkma ve rahatsızlık gibi semptomlara yol açar (73, 75).

Akrolein; karaciğerde CP metabolizması sonucu oluşan bir ürün olup, böbreklerden atıldıktan sonra mesanede birikerek istenmeyen etkilere neden olur. Akroleinin  roepitelyumu geçerek; oksidatif stresi ve inflamasyonu hızlandırmak için ROS üretimini

indükleyerek oksidatif strese neden olduğu ve sonuçta kademeli reaksiyonlar ile interstisyel sistiti indükleyebileceği bildirilmiştir (61, 62).

CP kaynaklı sistitin görülme sıklığı hastalar arasında büyük ölçüde değişmektedir ve ilgili alkileyici ajanlarla tedavi edilenlerin %40'ı kadarını etkilediği bildirilmiştir (74, 76). Oluşumu için risk faktörleri arasında siklofosfamidin kümülatif dozu yer alır; daha yüksek dozlar daha yüksek mesane toksisitesi riski ile ilişkilidir (76). Özellikle aldehit dehidrogenaz aktivitesini etkileyenler gibi bazı genetik varyantlar, bir bireyin bu komplikasyona olan duyarlılığını değiştirebilir ve bu da farmakogenomik farklılıkların tedavi planlaması sırasında dikkate alınmasını gerektirebileceğini düşündürmektedir (77).

Yapılan çalışmalar CP uygulamasının aşırı ROS üretimi nedeniyle böbrekte MDA (malonaldehit) seviyesini arttırdığı, GSH (glutatyon) düzeyini ve SOD (süperoksit dismutaz) aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. CP uygulaması ile ROS'un fazla üretimi; membran lipidlerinin peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarını kapsayan mekanizmalar sonucunda oluşan oksidatif stres hücrel hasar ve nekroza neden olur (61).

Yapılan çalışmalarda interlökin-6 (IL-6), interlökin-1(IL-1), TNF- α , dönüştürücü büyüme faktörü 1- β (TGF 1- β), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve katalaz (CAT) gibi çeşitli araçların IC'nin patofizyolojisinde rol oynadıkları bildirilmiştir. Bunlar akrolein birikiminin neden olduğu ürotelyal hasarın bir sonucu olarak üretilir (78).

CP kaynaklı sistit kemirgenlerde sistit için yaygın olarak kullanılan modellerden biridir. Bu model IC ile ortak özelliklerin yanı sıra CP ile tedavi edilen hastalarda oluşan sistit ile birçok özelliği paylaşır. CP, insanlarda ve kemirgenlerde ürotelyumdaki reseptörlerin ve sinyal moleküllerinin ekspresyonu gibi fonksiyonel ve histolojik değişikliklere neden olur. Bununla birlikte CP enjeksiyonundan sonra up-regüle edilmiş aferent ve eferent nöral etkilere bağlı olan daha az işeme hacimleri kaydedilmiş olup, CP'in ayrıca detrusör aşırı aktivitesini indükleyebileceği bildirilmiştir (79).

Mesna bir sülfidril bileşiği olup, akroleinle bağlanma yeteneğine sahip olduğu için siklofosfamid ile birlikte uygulanır. Mesna ile bağlı akrolein ürotelyumda yoğunlaşamaz ve oksidatif stres, inflamasyon ve nekrozun inhibisyonuna yol açar (78). Yapılan çalışmalarda mesna tedavisinde en etkili protokolü, intraperitoneal (i.p.) yolla kemoterapötik ajandan 20 dk önce, oral yolla ise 60 dk önce verilmesinin uygun olduğu bildirilmiştir (65).

CP kaynaklı sistitin hafifletilmesine yönelik yönetim stratejileri genellikle mesna gibi üroprotektif ajanlarla farmakolojik profilaksiyi içerir; bu ajanlar akroleine bağlanarak toksik etkilerini nötralize eder (73, 80). Mesnanın kullanımı sistit insidansını azaltmada etkili olduğunu göstermiş olsa da, etkililiğiyle ilgili veriler tutarsız olabilir ve bireysel hasta özellikleri bağlamında dikkatlice değerlendirilmelidir (74, 80).

Araştırmalar bu durumu yönetmek için yenilikçi terapötik yaklaşımları keşfetmeye devam ediyor. Çalışmalar, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar medyatörlerin CP kaynaklı sistitin patogeneğinde kritik roller oynadığını belirtmiştir (75, 81).

2.9. İnterstisyel Sistitte Oksidatif Stres ve Toll-like Reseptörlerinin Rolü

Oksidatif stres; antioksidan savunma sistemi ile reaktif bileşiklerin arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanmakta olup bir canlı için hayati bir öneme sahiptir (82, 83). Oksidan-antioksidan dengenin bozulmasıyla antioksidan savunma sistemi çalışmaz ve oksidatif dengenin oksidanlar yönüne doğru kayması ile canlının ölümüne neden olabilecek hücresel hasar ve oksidatif stres tablosu ortaya çıkmaktadır (84, 85). CP tedavi dozunda uygulandığında organizmada öncelikle üriner sistem olmak üzere birçok sistemde toksik etkilere sebep olmakta olup, toksisitenin ana nedenlerinden biri antioksidan enzimlerinin işlevlerinin azalması ve organizmanın hayati organlarında akrolein ile ilişkili lipid peroksidasyonunun artmasıdır (70, 86, 87).

Oksidatif stres, CP'nin neden olduğu zararlı etkilerden biridir ve interstisyel sistitte önemli bir rol oynamaktadır. CP'nin bir metaboliti olan akrolein, ürotelyumda ROS oluşumunu destekleyen reaktif bir doymamış aldehit olup mesanenin oksidatif hasarında rol oynamaktadır (62). Histolojik olarak akrolein; subepitelyal ödem, nötrofil infiltrasyonu, hemoraj ve nekroz ile karakterize inflamatuvar yanıtı neden olan ROS'ni üretir (88). Aşırı ROS üretimi lipid, protein ve DNA hasarına neden olarak ya da indükleyerek hücre ölümüne neden olur (62). Ek olarak fazla miktarda oluşan ROS, ürotelyumda proinflamatuvar mikro ortamı düzenleyen ve TNF- α , IL-1 β gibi proinflamatuvar mediyatörleri uyaran, proinflamatuvar gen ekspresyonunun ana düzenleyicilerinden biri olan NF κ B'yi aktive etmektedir (88).

Çeşitli inflamatuvar reaksiyonlarda yaygın olarak yer alan bir proinflamatuvar transkripsiyon faktörü NF κ B inflamasyon sırasında aktive olur ve TNF- α , IL-1 β gibi proinflamatuvar faktörlerin salınımını düzenleyerek inflamatuvar yanıtı güçlendirir. Ayrıca oksidatif stres ile NF κ B, sinyal transdüseri ve transkripsiyon 3 aktivatörü (STAT3) ve diğer

proinflamatuar yolları aktive eden TLR (Toll-like reseptörler)'ler gibi doğal immün model tanıma reseptörleri de indüklenebilir (54). Yapılan çalışmalarda CP kaynaklı sistit oluşturulan farelerde mesane dokusunda NFκB aktivitesinin bir göstergesi olan NFκB alt birimi fosfo p-65 protein seviyesi artmış olup bu durum NFκB sinyal yolağının mesane inflamasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (89).

TLR'ler, doğuştan gelen immün sistem aktivasyonu yoluyla mikrobiyal enfeksiyonun saptanmasında önemli bir role sahip olan bir transmembran reseptör ailesini oluşturur (90). Bu reseptörler patojenlerden türetilen molekülleri ve ayrıca endojen tehlike sinyallerini tanıyarak bir immün tepki başlatabilir (49). Bu ailede en çok çalışılan üye, hasarlı veya iskemik dokulardan salınan endojen moleküllerin varlığını tespit edebilen TLR4'tür (90).

TLR4 sinyalleri mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), PI3K (fosfatidilinositol-3-kinaz) ve NFκB kaskadlarını aktive eder. Bu sinyal yolları hücrelerin hem hayatta kalmasını hem de apoptozunu etkileyen proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu kontrol etmektedir. TLR4 sinyal yolunun uyarılması; NFκB p65'in çekirdeğe transferini içeren bir dizi olayı başlatır ve TNF-α, IL-1β gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımı ile sonuçlanır (91). Bu bulgular sonucunda yapılan çalışmalarda TLR4/NFκB sinyal yolağı inflammatuar hastalıkların tedavisi için önemli bir hedef haline gelmiştir.

Yapılan bir çalışmada TLR4 silinmesi veya farmakolojik blokajı CP kaynaklı deneysel sistit modelinde koruma sağladığı görülmüştür. Bulgular, TLR4 sinyal yolunun CP'nin neden olduğu mesane disfonksiyonu ve inflamasyonunu başlatmada merkezi bir rol oynadığını ortaya koymakta ve TLR4 reseptör blokajının IC tedavisi için klinik değeri olabileceğini vurgulamaktadır. TLR4'ün aktivasyonu, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (MyD88) ve TIR-domain içeren adaptör indükleyici interferon B'nin (TRIF), aracılık ettiği aşağı sinyal yolları yoluyla doğuştan gelen immün yanıtlarını tetikler, her iki adaptör proteini de proinflamatuar sitokin üretimi için gereklidir. TLR4; insan ve farelerin alt idrar yollarında, enfeksiyonlara karşı önemli bir savunma hattı görevi gördüğüne inanılan ürotelyal hücrelerde yoğun bir şekilde eksprese edilmektedir (49).

Bunlara ek olarak yapılan bir çalışmada TLR4, diyabetik böbrek hastalığının gelişiminde inflammatuar süreçte yer aldığı bildirilmiştir. İmmün ve böbrek hücrelerinde salınan endojen ligandları bağlayarak aktivasyon üzerine TLR4, NFκB'nin aktivasyonunu

başlatır. DPP-4 inhibitörlerinin, TLR4/ NFκB yolunu modüle ederek antiinflamatuvar etkiler gösterdiği gösterilmiştir (92).

2.10. İnterstisyel Sistit ve NFκB Sinyal Yolağı İlişkisi

NF-κB sinyal yolağı; pro-inflamatuvar sitokinler, bakteriyel enfeksiyonlar ve diğer inflamatuvar tetikleyiciler gibi çeşitli uyaranlara yanıt olarak aktive olur. Vykhoanets ve arkadaşları, NF-κB'nin sistitte aktive olduğunu, özellikle mesane dokularındaki inflamatuvar yanıtları düzenlemedeki rolünü vurgulamıştır. Bu yol, sistitin karakteristik inflamatuvar ortamına katkıda bulunan sitokinler ve kemokinler dahil olmak üzere çok sayıda pro-inflamatuvar medyatörün ekspresyonunu düzenler. NF-κB aktivasyonu, inflamatuvar yanıt daha da artıran ve ağrı, artan idrar sıklığı gibi sistit semptomlarını teşvik eden sitokinler olan TNF-α ve IL-1β'nin ekspresyonunun artmasına yol açar (93).

NF-κB ile inflamatuvar mediatörler arasındaki ilişki sistitte kritik öneme sahip olup mesanede NF-κB, lipopolisakkarit (LPS) ve diğer bakteriyel bileşenler tarafından indüklenen inflamatuvar yanıtın birincil düzenleyicisi olarak görev yapar (94). NF-κB'nin aktivasyonu, çeşitli inflamatuvar genlerin transkripsiyonel aktivasyonu ile sonuçlanır ve böylece inflamatuvar döngüyü sürdürür. Yapılan çalışmalarda bu yolun farmakolojik inhibisyonu, inflamasyonu azaltarak ve proinflamatuvar sitokin ortamına karşı koyarak sistit ile ilişkili semptomları iyileştirmek için bir terapötik strateji olarak önerilmiştir (93).

NF-κB'nin sistit patofizyolojisindeki merkezi rolü göz önüne alındığında, bu yolağı hedeflemek terapötik müdahale için bir fırsat sunmaktadır. Bonizzi ve Karin, NF-κB'nin etkili modülasyonunun sistit dahil olmak üzere inflamatuvar hastalıklarda inflamasyonu kontrol etmek ve sonuçları iyileştirmek için rasyonel bir yaklaşım olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu strateji, NF-κB aktivasyonunu önleyen spesifik inhibitörlerin kullanımını veya NF-κB'ye bağlı sitokinlerin etkilerini doğrudan antagonize eden biyolojiklerin geliştirilmesini içerebilir (95, 96).

TLR4, patojenlere karşı bağışıklık tepkisinde önemli bir rol oynayan ve bakteri hücre duvarlarından LPS'ler gibi uyaranlar tarafından aktive edilen bir desen tanıma reseptör olup; sistit bağlamında, TLR4 aktivasyonu NF-κB gibi transkripsiyon faktörlerini aktive eden bir sinyalleme kaskadı başlatır. Oliveira ve arkadaşları, TLR4 blokajının CP gibi kimyasal ajanlar tarafından indüklenen sistite karşı inflamasyonun azalması ve koruma ile sonuçlandığını göstererek, bu reseptörün mesane hasarı ile ilişkili inflamatuvar yanıtındaki rolünü vurgulamıştır (4).

TLR4 yolağının aktivasyonu, çeşitli kinazlar aracılığıyla NF-κB'yi aktive eden miyeloid farklılaşma birincil yanıt 88 (MyD88) gibi adaptör proteinlerin devreye girmesine yol açar (4, 97). NF-κB aktive olduğunda çekirdeğe taşınır ve burada TNF-α, IL-6 ve IL-1β dahil olmak üzere çok sayıda proinflamatuvar sitokinin transkripsiyonunu indükler. Bu sitokinler, inflamasyonu indükleyerek ve artırarak, ağrıya ve mesane disfonksiyonuna yol açarak sistitin özelliklerine daha fazla katkıda bulunur. Baker ve arkadaşları TLR4 aktivasyonunun inflamatuvar mediyatörlerin NF-κB tarafından yönlendirilen transkripsiyonuna yol açtığını belirterek, bu yolun inflamatuvar hastalıklarda oynadığı temel rolün altını çizmiştir (97).

TLR4/NF-κB yolağı ayrıca sistit ile ilişkili ağrıya yer alan nöroinflamatuvar süreçlere bağlanır. Cui ve arkadaşları tarafından yapılan araştırma, TLR4 sinyallemesinin blokajının sistitli bir fare modelinde pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azalttığını bulmuş ve bu yolun merkezi sinir sistemi ağrı sinyalleme mekanizmalarında yer aldığını göstermiştir. TLR4 aracılığıyla astrositler ve mikroglialar dahil glial hücrelerin aktivasyonu, inflamatuvar mediyatörleri serbest bırakarak ve omurilik boyunca nosiseptif iletimi artırarak ağrı algısını şiddetlendirebilir (98).

TLR4/NF-κB sinyal yolağı ile sistit arasındaki ilişkiyi anlamak kritik terapötik çıkarımlara sahiptir. Bu yolu hedef alarak, sistit gibi durumlarda semptomları hafifletmek ve inflamatuvar yanıtları yönetmek için anti-inflamatuvar tedavilerin geliştirilebileceği bildirilmiştir. TLR4 blokajı, potansiyel olarak inflamasyon yükünü azaltabilir ve mesane rahatsızlıklarıyla ilişkili ağrıyı hafifletebilir (4, 99).

2.11. Dipeptidil Peptidaz - 4 (DPP-4) Enzimi ve İnhibitörleri

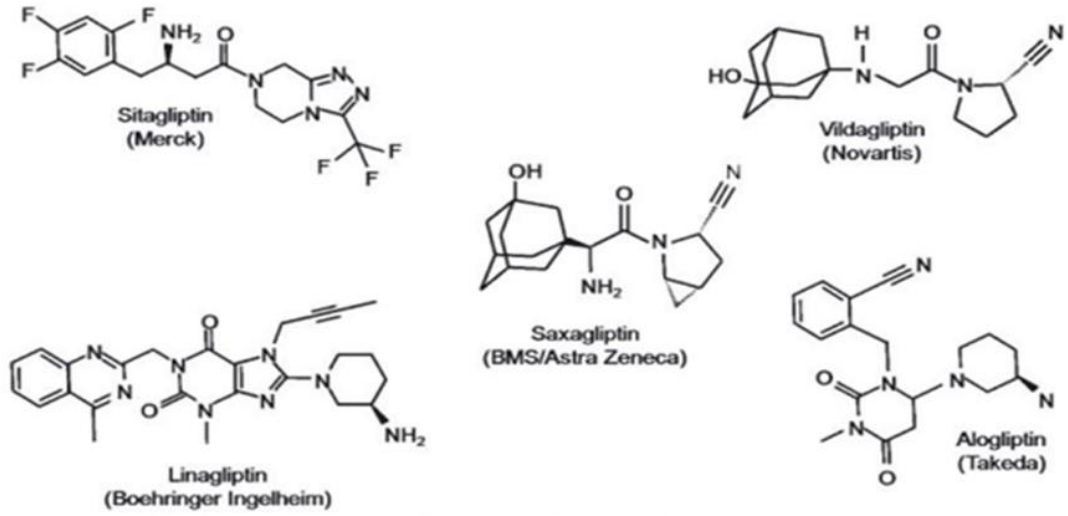
DPP-4; bağırsak, böbrek, hepatositlerde, kapiler endotel hücrelerinde ve plazma olmak üzere vücutta yaygın olarak bulunan bir serin proteazdır (100). DPP-4 çeşitli biyolojik aktiviteler sergileyen birçok vücut organına yayılır. Serumdaki glukozaya bağımlı insülinotropik polipeptit (GIP) ve glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) olmak üzere iki inkreatin hormonun parçalanmasını uyarır. Bu hormonlar beta hücrelerinden insülin salgılanmasını uyarır ve glukagon salgılanmasını inhibe eder. DPP-4; çeşitli hormonların, sitokinlerin, kemokinlerin, nöropeptitlerin ve büyüme faktörlerinin N-terminal dipeptitlerini bölen, biyolojik yarı ömrü dolayısıyla bu polipeptitlerin aktivitesini modüle eden düzenleyici bir proteaz olup bu enzim dokularda yaygın olarak çözünür ve membrana bağlı glikoprotein olarak dağılmaktadır (101).

DPP-4 enzimi sıçan karaciğerinden 1960 yılında izole edilen bir aminopeptidaz olup 1990 yılı içinde yapılan in vivo çalışmalar sonucunda bu enzimin sitokinlerin, kemokinlerin ve diğer peptid hormonlarının metabolizması ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu durum DPP-4 inhibitörlerinin tip 2 diabetes mellitus (T2DM) tedavisinde kullanılabileceği sonucunu doğurmuştur (102, 103).

Yapılan çalışmalarda DPP-4 enziminin pankreas, beyin, akciğer, böbrek, bağırsak, böbreküstü bezi ve lenf bezlerinde eksprese edildiği bildirilmiştir (104). DPP-4 enzimi; GIP’i 5 dakikadan az bir sürede yıkımına neden olurken, GLP-1’in ise 2 dakikadan az bir sürede yıkımına neden olmaktadır. Bu durum sonucunda DPP-4 enziminin inhibisyonu inkreatin etkisini uzatmaktadır (103, 105).

İnsülin salgılatıcı GLP-1 ve GIP, inkretinler olarak adlandırılan insülin salgılanmasının kontrolünde rol oynayan kısa etkili bağırsak hormonlarıdır. Bu hormonların yarılanma ömürleri birkaç dakika olup, DPP-4 enzimi ile kan dolaşımına salgıladıktan sonra hızlıca inaktive edilirler. Bu duruma bağlı olarak inkreatin agonistleri ve DPP-4 inhibitörleri tip 2 DM tedavisinde kullanılmaktadır (106, 107).

T2DM tedavisinde kullanılan DPP-4 inhibitörlerinin sülfonilüre ve glinid gibi diğer insülin salgılanmasını arttıran gruplardan daha fazla yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir. DPP-4 inhibitör ajanlar glukoz bağımlı yolda pankreastan insülin salınımını uyarır ve kan glukoz seviyesinin kontrol altında tutulmasını sağlarlar. Yapılan çalışmalarda diğer insülin salgılatıcı ajanlara göre DPP-4 inhibitörlerinin hastalarda daha düşük hipoglisemi riski olduğu saptanmıştır (108). Tüm bunlara ek olarak DPP-4 inhibitörlerinin pankreas beta hücre fonksiyonlarını iyileştirdiği ifade edilmiştir. Sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, alogliptin ve linagliptin en önemli DPP-4 inhibitör ajanlardır (Şekil 5) (109, 110, 111).



Şekil 5. DPP-4 inhibitörlerinin kimyasal yapısı (Deacon'dan, 108)

2.11.1. Sitagliptin

DPP-4 enzim inhibitörlerinden sitagliptin (Sita) kimyasal olarak $C_{16}H_{15}F_6N_5O \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$ yapısında olup moleküler ağırlığı 523.32 Da 'dır (111). Aktif madde olarak monohidratfosfat tuzu yapısında olup Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'nce 7-((3R)-3-amino-1-oxo-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butyl)-5,6,7,8-tetrahydro-3-(trifluoromethyl)-1,2,4-triazolo-(4,3-a)pyrazine phosphate(1:1) monohydrate şeklinde isimlendirilmiştir. Sitagliptin fosfat monohidrat beyaz, kristalize, non-higroskopik bir tozudur. Suda ve N,N-dimetil formamid'de çözünürken metanolde az, etanol, aseton ve asetonitrilde ise oldukça az çözünür (112, 113).

Oral antidiyabetik olarak Sita "sitagliptin fosfat monohidrat" şeklinde bulunur ve Januvia olarak da bilinir. Sita'nın yaklaşık %70'i değişmemiş ilaç olarak böbreklerden atılır ve metabolizma esas olarak sitokrom P450 CYP3A4 ve CYP2C8 aracılığıyla yalnızca %16'lık küçük bir rol oynar. DPP-4 inhibisyonu doza bağlı olup sitagliptin, oral yoldan alındıktan sonra hızla emilir ve plazmadaki en yüksek konsantrasyonlara genellikle 1 ila 4 saat içinde ulaşılır (114). Sita'nın mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %87'dir ve bu, ilacın önemli bir miktarının oral dozlamadan sonra sistemik dolaşıma ulaştığını gösterir. Bu yüksek biyoyararlanım, günde bir kez dozlama rejimine elverişlidir (115).

Sita'nın yarı ömrü 12.4 saat olup, böbrekten atılımı yaklaşık 350 ml/dk'dır. Sitagliptin sadece DPP- 4 enzimi ile inhibe olmaktadır. Diğer DPP enzimleri olan DPP-8 ve DPP-9 enzimleri ile inhibe olmamaktadır (116, 117).

Sita için dağılım hacmi yaklaşık 168 L'dir ve bu da geniş doku dağılımını gösterir (115). Esas olarak plazma proteinlerine yaklaşık olarak %38 oranında bağlanır, bu da bu bağlanma dinamiği nedeniyle diğer ilaçlarla etkileşimlerin meydana gelebileceğini düşündürmektedir (118). Yüksek dağılım hacmi ayrıca böbrekler ve pankreas gibi çeşitli dokular tarafından aktif olarak alındığını da yansıtabilir, her ikisi de farmakolojik etkisi için kritik bölgelerdir (115).

Sita, farmakolojik aktivitenin küçük bir kısmını oluşturan tek bir aktif metabolit üretmek için öncelikle sitokrom P450 enzim sistemi aracılığıyla minimal hepatik metabolizmaya uğrar. Bu minimal metabolizma, kapsamlı bir şekilde metabolize edilen ajanlara kıyasla ilaç-ilaç etkileşimleri potansiyelini azalttığı için özellikle avantajlıdır. Sita'nın farmakokinetik profili yaygın metabolik indükleyiciler veya inhibitörlerden nispeten etkilenmez (115, 118).

Böbrek yolu, Sita'nın atılımı için birincil yoldur ve uygulanan dozun yaklaşık %79'u idrarda değişmeden atılır (118). Bu böbrek klerensi, özellikle önceden var olan böbrek rahatsızlıkları olan Sita alan hastalarda böbrek fonksiyonunun izlenmesinin önemini vurgular. Böbrek yetmezliği durumlarında, yan etki riskini azaltmak için doz ayarlamaları esastır (119, 120).

Sitagliptin, T2DM yönetimindeki rolü nedeniyle önemli ilgi gören bir DPP-4 inhibitörüdür. Sita 2006 yılında FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanan ilk DPP-4 inhibitörü olup, o zamandan beri kullanımıyla ilişkili hipoglisemi riskleri oldukça düşükken glisemik kontrolü iyileştirmek için kullanılmaktadır (121, 122).

Sita'nın antidiyabetik etkisi, inkreatin fonksiyonunun artmasına bağlıdır. Bu nedenle DPP4'ün sitagliptin tarafından inhibisyonu, inkreatin hormonların biyoyararlanımını artırabilir ve ardından serum glukoz seviyesini azaltabilir (91). Sita, DPP-4'ü seçici olarak inhibe eden ve T2DM tedavisinde kullanılan bir ilaçtır (101).

GLP-1 ve GIP inkretin hormonları gün boyunca bağırsaktan salgılanmakta olup, yemek yenmesiyle düzeyleri artmaktadır. GLP-1 ve GIP hormonları kan glukoz seviyesi normal seviyenin üzerine çıktığı zaman insülin sentezini artırır. cAMP dahil hücre içi sinyal

yolakları ile pankreastaki beta hücrelerinden insülin salınımı artmakta olup bu süreçte alfa hücrelerinden salınan glukagon miktarı azalmaktadır. Tüm bunların sonucunda insülin konsantrasyonunun artması ve glukagon konsantrasyonunun azalması ile karaciğerdeki glukoz üretimi azalmasına bağlı olarak kandaki glukoz düzeyi düşer (117, 123, 124).

Sita, inkretin hormonların DPP-4 enzimi ile parçalanmasını önleyerek inkretin hormonların aktif formlarının kandaki düzeyleri yükselir. Bu durumda Sita'nın aktif inkretinlerin düzeylerinin artması pankreastan insülin salınımını uyarır. Bu elde edilen sonuç T2DM hastalarında HbA1c seviyesinin azalmasına, açlık ve tokluk kan glukoz düzeylerinin de düşmesine neden olur (111, 125).

Yapılan çalışmalar ile T2DM tedavisi için Sita'nın uzun dönemde günde 100 mg ve 200 mg dozlarda verilmesi HbA1c düzeyi, açlık ve tokluk kan glukoz seviyelerini düzelttiği gözlemlenmiştir (124, 126).

Sita, T2DM tedavi yönetiminde kullanılmasının yanında potansiyel antioksidan özellikleri çeşitli klinik öncesi ve klinik çalışmalarda dikkat çekmiştir. Sita'nın dikkate değer bir yönü, oksidatif stresin kardiyovasküler hastalıklar, diyabetik komplikasyonlar ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birden fazla patolojiye katkıda bulunması nedeniyle önemli olan farklı biyolojik bağlamlarda oksidatif stresi azaltma yeteneğidir.

Çalışmalar, Sita'nın antioksidan etki sergilediğini göstermektedir. Örneğin; Abbas ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, Sita'nın bir fare modelinde lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stres belirteçlerini önemli ölçüde azalttığını ve kaygı ile oksidatif stres tepkileriyle bağlantılı davranış kalıplarında iyileşmelere yol açtığını göstermiştir. Bu, Sita'nın serbest radikalleri etkili bir şekilde temizleyebileceğini ve oksidatif stres yollarını düzenleyebileceğini gösterir ve bu da onu diyabet yönetiminin ötesinde terapötik uygulamalar için bir aday haline getirir (5).

Yapılan çalışmalarda, Sita'nın deneysel olarak indüklenen hepatotoksisitede hepatik MDA, GSH düzeylerini ve SOD aktivitesini önemli ölçüde normalleştirdiği görülmüştür. Bu sonuç, Sita'nın ovalbümin ile indüklenen astım modelinde MDA içeriğini azaltarak, GSH seviyesini ve SOD aktivitesini normalleştirerek oksidatif stresi azalttığını gösteren daha önceki bir çalışma ile uyumluydu. Bu çalışmalar Sita'nın, ROS üretimini azaltarak oksidatif yükü azaltabileceğini ayrıca Sita'nın TLR4'ün hepatik ekspresyon seviyesini ve sonuç olarak NF- κ B üretimini önemli ölçüde azaltarak TNF- α ve IL-1 β salınımının inhibe ettiğini göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada farelere oral olarak verilen 20 mg/kg Sita'nın,

NFκB sinyal yolunu modüle ederek TNF-α ve IL-1β gibi inflamatuvar mediyatörleri inhibe ettiğini göstermiştir. TLR4 ekspresyonunu güçlü bir şekilde baskılamasının yanı sıra NFκB sinyal kaskadını ve inflamatuvar sitokinlerin salınmasını inhibe etmesi nedeniyle, Sita'nın antiinflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Araştırma, Sita'nın TLR4/NF-κB sinyal yolunu düzenleyerek antiinflamatuvar özellikler gösterdiğini göstermektedir. Özellikle, El-Kashef ve Serrya, Sita'nın bu yolu düzenleyerek farelerde tiyoasetamid kaynaklı akut karaciğer hasarını hafiflettiğini göstererek, inflamatuvar karaciğer hasarına karşı potansiyel koruyucu etkilerini vurgulamıştır (91).

Plazma membranından serbest bırakılan katalitik olarak aktif DPP-4, çözünür dolaşımdaki formu temsil etmekte olup; TNF-α, bu DPP-4'ün çözünür formunun salınımını arttırabilir. Çözünür DPP-4'ün konsantrasyona bağlı bir şekilde NFκB alt birimi p65'in fosforilasyonunu indüklediği, iNOS aktivitesini, proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyon ve sekresyonunu uyardığı bildirilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda inflamasyon, oksidatif stres, fibroz ve apoptoz araçları üzerindeki baskılayıcı etkiler açısından onaylı DPP-4 inhibitörlerinin kardiyovasküler ve renal koruma sağladığı, belirli hücre düzeylerinde in vitro olarak, deneysel hayvan modellerinde in vivo olarak kanıtlanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise Sita'nın inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltma açısından koruyucu etkileri in vitro olarak sıçanlarda aortik düz kas hücrelerinde gösterilmiştir. Antiinflamatuvar, antioksidan, antifibrotik ve antiapoptotik etkiler sıçan miyokardında kanıtlanmış olup, Sita sıçan aortik düz kas hücrelerinde NFκB aktivasyonunu ve proliferasyonunu baskılamış ve diyabetik sıçanlarda ise sitagliptinin dolaşımdaki TNF-α, IL-6 düzeylerini azalttığı görülmüştür. Çalışmada iskemi hasarından sonra verilen Sita ile sıçanlarda myokard ve böbrekteki antioksidan enzimlerin aktivitesi indüklenirken TNF-α, IL-1β, NFκB inflamatuvar belirteçlerinin ekspresyonunu azaltmıştır. Ek olarak sitagliptin; oksidatif hasarı başlatan enzim olan miyeloperoksidazın yüksek aktivitesini ve serum TNF-α seviyesini düşürmüş ve ROS oluşumunu önlediği bildirilmiştir (101).

Sita'nın bazı hayvan karaciğer hasarı modelinde hepatoprotektif bir etki gösterdiği başka bir çalışmada bulunmuştur. Makdissi ve arkadaşları (2012), bir dizi proinflamatuvar sitokin ekspresyonunun baskılanması ve plazma CRP ve IL-6 konsantrasyonlarının azalması ile Sita'nın insanda güçlü bir antiinflamatuvar etki uyguladığını göstermiştir. Ek olarak Lin ve arkadaşları (2016), Sita dozuna bağlı olarak inflamatuvar araçların (IL-6, IL-1β, iNOS) ekspresyonunu inhibe ettiğini ve NFκB aktivasyonunu in vitro olarak baskıladığını

göstermiştir. Abo-Haded ve arkadaşları ise (2017), Sita'nın antiinflamatuvar ve antiapoptotik aktivite ile NFκB sinyal yolunun modülasyonu ile metotreksat indüksiyonlu hepatotoksisiteyi iyileştirdiğini bildirmiştir (127). Birçok deneysel çalışmada DPP-4 inhibitörlerinin inflamasyonu, oksidatif stresi ve fibrozu inhibe ederek diyabetik böbrek hastalığını hafiflettiğini göstermiş olup DPP-4 inhibitörlerinin ROS oluşumunu azalttığı ve SOD aktivitesini arttırdığı görülmüştür (92).

Mevcut veriler, Sita tarafından hepatositlerde DPP-4 aktivitesinin spesifik olarak inhibe edilmesinin, diyabetik koşullar altında hücre apoptozunun yanı sıra NFκB yolunun ve oksidatif stresin aktivasyonunun azalmasına katkıda bulunduğunu ve Sita'nın ROS temizleme fonksiyonunun NFκB yolunun deaktivasyonunu teşvik ettiğini göstermektedir. Yapılan çalışmada Sita'nın, NFκB yolunun aktivasyonunu engelleyebilen streptozosin ile sıçanlarda oluşturulan diyabette hepatotoksisiteyi etkili bir şekilde azaltabilen ROS temizleyici bir rol oynadığı bulunmuştur. DPP4'ün hepatositlerdeki aktivitesinin Sita tarafından spesifik olarak inhibe edilmesi, diyabetik koşullar altında NFκB yolunun ve oksidatif stresin yanı sıra hücre apoptozunun azalmasına katkıda bulunur. Sita ayrıca TLR4/NFκB sinyal yolu aracılığıyla farelerde tiyoasetamid tarafından indüklenen akut karaciğer hasarını iyileştirebildiği görülmüştür (91).

Wang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada streptozosin ile indüklenen diyabet modelinde artan karaciğer DPP-4 aktivitesinin, doku oksidatif stresini ve aktive edilmiş NFκB sinyal yolunu önemli ölçüde arttırdığını ve ayrıca kronik karaciğer inflamasyonunu indüklediğini göstermiştir. Sita bir antioksidan olarak rol oynamış ve özellikle hepatositlerde DPP4 aktivitesini inhibe etmiş ve hücre apoptozunu daha da azaltmıştır (128).

Yapılan çalışmalar; oksidatif stres, lipid metabolizması ve inflamatuvar mediyatörlerinin modülasyonu yoluyla bir fare steatohepatit modelinde Sita'nın hepatoprotektif aktivitesini bildirmiştir. Bunun yanı sıra yeni kanıtlar, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) ve NF-κB sinyal yollarının modülasyonu yoluyla Sita'nın koruyucu etkisini ve ardından metotreksat toksisitesinde inflamatuvar ve apoptotik süreçlerin baskılanmasını önermiştir. Sita'nın, nod benzeri reseptör proteini 3 (NLPR3) inflamatuvar üretimini ve TLR4 ve NF-κB protein ekspresyonunu azaltarak tiyoasetamid kaynaklı karaciğer hasarına karşı hepatoprotektif etkiler gösterdiği saptanmıştır. Daha önce NF-κB aktivasyonunun, karaciğer hasarını ağırlaştıran sitotoksik sitokinlerin indüksiyonuna yol açtığı bildirilmişti. Ancak NF-κB/Rel ailesi, p65 proteinleri de dahil olmak üzere beş üyeden

oluşur. Kanonik yol boyunca patolojik uyarılarla aktive edilen NF- κ B'nin en yaygın formu p65:p50 heterodimerdir. Birçok kronik hastalığın gelişimi, aktive edilmiş p65'teki anormal bir artışa ve bunun sonucunda efektör moleküllerin transaktivasyonuna bağlıdır. Sonuçlar önceki çalışmalarla uyumlu olarak, T2DM'in NF- κ B/p65 ekspresyonunu güçlü bir şekilde artırdığını, Sita tedavisinin ise bu etkiyi azalttığını göstermektedir. Sita tedavisi, NF- κ B aktivasyon yolu üzerinde belirgin bir inhibitör etki göstermiştir. Önceki raporlar, bu ilacın NF- κ B aktivasyonunu ve Sita'nın hepatoproteksiyonunu önleme yeteneğini göstererek bu sonuçları desteklemiştir (129).

Jiang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Sita (10 ve 20 mg/kg) tedavisi dietilnitrozamin ile indüklenen karaciğer kanseri modelinde sıçanlarda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerini düşürmüş ve aynı zamanda NF- κ B ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuçlar ile Sita'nın inflamatuvar medyatörlerin salınımını kontrol etmek için NF- κ B sinyalini düzenleyerek dietilnitrozaminin neden olduğu hepatik hasarı iyileştirdiği ileri sürülmüştür (130).

Mevcut bir çalışmada ise Sita, serum IL-6 ve TNF- α düzeylerini etkili bir şekilde azaltmıştır. TLR4/NF- κ B sinyal yolu, inflamatuvar yanıtlara önemli bağlantı olarak bilindiğinden, TLR4/NF- κ B sinyal yolunu inhibe eden Sita'nın moleküler olay basamaklarını araştırmak için sıçanlarda adjuvanın neden olduğu artrit belirlenmiştir. MyD88, TLR4'ün sinyal iletimini teşvik eden ana adaptör proteinlerinden biridir. Dolayısıyla MyD88'in yüksek mRNA seviyesi, TLR4 yolunun aktive olduğunu gösterebilir. Bu arada MyD88'e bağımlı yol, TNF-reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF6) ve kappa B inhibitörü alfa (I κ B α) aracılı molekülleri yoluyla NF- κ B yolunu aktive edebilir. Artritlik sıçanlarda TLR4, MyD88, TRAF6, I κ B α ve NF- κ B p65'in mRNA seviyelerinin önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Tedavi edilen gruplarda bu genlerin mRNA düzeylerinin tümü down regüle olmuştur ve Sita ile tedavi edilen grupta daha fazla azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar, adjuvan kaynaklı artrit, TRAF6'nın alınması ve I κ B α 'nın fosforile edilmesi yoluyla MyD88'in TLR4 ile kombinasyonunu teşvik eden, ardından NF- κ B'yi aktive eden inflamatuvar reaksiyonun oluşumunu uyardığını göstermiştir. Sita, MyD88'in TLR4 ile kombinasyonunun inhibisyonu ve ayrıca NF- κ B sinyal yollarının kademeli aktivasyonunun baskılanması yoluyla antiinflamatuvar ve koruyucu etkiler göstermiştir. Çalışmada artritlik sıçanlarda NF- κ B p65 düzeyinde normal kontrol gruplarına göre anlamlı artış gözlenmiş

olup Sita NF- κ B p65 düzeyinde anlamlı azalmaya neden olmuştur. Bu durum Sita'nın NF- κ B yolunu inhibe edebildiğini göstermiştir (131).

Çeşitli çalışmalar ile DPP-4 inhibitörlerinin, inflamatuvar karaciğer fonksiyon bozukluklarına karşı deneysel veya klinik olarak inflamatuvar sitokinlerin modülasyonu yoluyla koruyucu rolü kanıtlanmıştır. Mevcut bir araştırmada, Sita'nın hepatitin neden olduğu fibroza karşı terapötik potansiyellerinin daha yeni yönlerini araştırılmıştır. Sonuçlar; Sita'nın, NF- κ B sinyal yolağının inhibisyonu ile bağlantılı olabilecek hepatik fibroze karşı hepatoprotektif aktivitesini göstermiştir. Çalışmada Con A ile zehirlenmiş farelerin karaciğerinde hepatik oksidatif stres parametresi olan MDA'nın yükseldiği görülmüştür. Buna hepatik dokudaki düşük seviyelerde antioksidanlar, GSH ve SOD eşlik etmiştir. Sita, GSH seviyesi ve SOD aktivitesinde önemli bir artışa ek olarak MDA içeriğinde de önemli bir azalmaya neden olmuştur. NF- κ B sinyal yolu, inflamatuvar yanıtta temel bir role sahiptir ve çok sayıda inflamatuvar sitokin transkripsiyonunun aktivasyonu ROS tarafından indüklenebilir. Con A ile tedavi edilen hayvanların NF κ B seviyesinde önemli bir artış göstermesi nedeniyle sonuçlar yukarıda belirtilenleri doğrulamıştır. Bu sonuçlara TNF- α 'nın immün ekspresyonundaki artış eşlik etmiştir. İlginç bir şekilde Sita tedavisi, NF- κ B'nin ve TNF- α 'nın immün ekspresyonunda down regülasyonla sonuçlanmıştır. Bu gözlemler, Sita'nın NF- κ B aktivasyonunu ve bunun inflamatuvar sitokinlerin salınımını engelleme yeteneğini ortaya koyan önceki sonuçlarla uyumlu bulunmuştur (132).

Karaciğer sağlığı açısından, Alameen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma Sita tedavisinin hepatoselüler karsinoma hücre hatlarında oksidatif stres seviyelerini düşürdüğünü, oksidatif stresin bir belirteci olan malondialdehiti azalttığını ve kanser hücrelerinde apoptotik yolları desteklediğini belirtmiştir. Bu durum Sita'nın diyabet yönetiminin dışındaki alanlarda, özellikle karaciğerdeki oksidatif hasara karşı korumada faydalar sağlayabileceğini düşündürmektedir (133).

Sita ayrıca hem NF- κ B translokasyonunu hem de IL-1 β üretimini önleyerek anti-inflamatuvar etkiler de gösterdi. Sita, diyabetik retinalarda oluşan ROS üretimi ve antioksidan savunmalar arasındaki diyabet kaynaklı dengesizliği önlemektedir. Ramos ve arkadaşları tarafından yapılan araştırma; Sita'nın diyabet kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu rolünü, özellikle diyabetik retinopati bağlamında vurgulamıştır. Çalışma Sita'nın süperoksit seviyelerini düşürdüğünü ve DNA ile proteinleri oksidatif hasardan koruduğunu göstererek,

önemli antioksidan enzim Nrf2'nin korunması yoluyla oksidatif stresle mücadelele ilgili çok yönlü bir yaklaşım sergilemiştir (134).

TLR4 ve NF- κ B arasındaki etkileşim iyi bilinmektedir; burada TLR4 aktivasyonu MyD88'in alınmasına yol açar ve sonuçta NF- κ B'nin aktivasyonu ile sonuçlanır. Sitagliptin'in bu yolun sinyallemesini inhibe ettiği ve böylece antiinflamatuar etkiler gösterdiği bulunmuştur (135). Dahası, Tang ve arkadaşları Sita'nın tipik olarak TLR4 aracılığıyla aktive edilen NF- κ B/I κ B α sinyalleme yolunu baskılayarak diyabetli sıçan modellerinde endotelin-1 ekspresyonunu inhibe edebileceğini göstermiştir. Bu inhibisyon, vasküler inflammatuar yanıtları azaltmada kritik bir rol oynar ve Sita'nın diyabetle ilişkili vasküler komplikasyonlara karşı koruyucu etkilerini vurgular (136).

Özellikle Sita tarafından NF- κ B'nin inhibisyonu, Elbadr'ın belirttiği gibi, GLP-1 yollarından bağımsız olarak gerçekleşiyor gibi görünmektedir ve bu da Sita'nın yalnızca inkretin aktivitesine bağlı olmayan mekanizmalar aracılığıyla inflamasyon tepkileri etkileme potansiyelini vurgulamaktadır. Bu çift etkili yaklaşım, Sita'yı hem diyabet hem de diğer kronik koşullarla ilişkili inflamasyonu ele almada çok yönlü bir ajan haline getirir (137).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kimyasallar

Kullanılan kimyasallar Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Kullanılan kimyasallar, marka ve kodları

Kimyasallar	Marka/Kod
% 0.9 İzotonik Sodyum Klorür (NaCl)	Polifarma İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Amonyum persülfat (APS)	Bio-Rad, 161-0700
Clarity Western ECL Substrate	Bio-Rad, 1705061
Dithiothreitol (DTT)	Sigma Aldrich, 43815
Gliserol	Sigma Aldrich, G5516
Glisin	Sigma Aldrich, G8898
Glukoz	Riedel-de Haen, 5996-10-1
Hidroklorik asit (HCl)	Sigma Aldrich, 320331
Kalsiyum klorür (CaCl ₂)	Riedel-de Haen, 10035-04-8
Karbakol	Sigma, C-4382
Magnezyum sülfat (MgSO ₄)	Riedel-de Haen, 31420
Mesna (Uromitexan)	Eczacıbaşı-Baxter
PMSF (Fenil metil sülfonil florid)	Sigma Aldrich, 78830
Ponceau S	Sigma, P7170
Potasyum fosfat (KH ₂ PO ₄)	Carlo Erba, 471687
Potasyum klorür (KCl)	J.T.Baker, 0209
Proteaz inhibitör kokteyl	Sigma Aldrich, P8340
Sığır serum albümin (BSA)	Capricorn Scientific, BSA-DG
Siklofosamid (Endoxan)	Eczacıbaşı-Baxter

Tablo 2. (Devam)

Sitagliptin	Sanovel İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃)	Merck İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma, L3771
Sodyum florür (NaF)	Sigma, S7920
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma, 71383
Sodyum ortovanadat (Na ₃ VO ₄)	Sigma, S6508
Sodyum pirofosfat dibazik (Na ₂ H ₂ P ₂ O ₇)	Sigma, 71501
Tetrametiletilendiamin (TEMED)	Bio-Rad, 161-0800
Tris/Glycine/SDS Buffer 10x	Bio-Rad, 161-0771
Tris-Baz (C ₄ H ₁₁ NO ₃)	Sigma, T1503
Triton X 100	Sigma, T8787
Tween 20	Biofroxx, 9005-64-5
Yağsız süt tozu	Regilait

3.1.2. Antikorlar

Kullanılan antikorlar Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan antikorlar, marka ve kodları

Antikorlar	Marka/Kod
Anti-NF-Kb p65(Ser276) antikor	Cell Signaling Technology®, #8242
Anti-Phospho-NF- Kb p65(Ser536) antikor	Cell Signaling Technology®, #3033
Anti-β aktin antikor	Cell Signaling Technology®, 4967
Anti-TLR4 antikor	Santa Cruz® Biotechnology, sc293072
Anti-rabbit IgG HRP-linked antikor	Elabscience, E-AB-1003

3.1.3.Cihazlar

Kullanılan cihazlar Tablo 4’te sunulmuştur.

Tablo 4. Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihazın adı	Marka/Menşei
Buz makinesi	Hoshaizaki, Japonya
Buzdolabı (+4 °C)	Arçelik, Türkiye
C-DiGit Blot Scanner	LI-COR, ABD
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik, Türkiye
Data kayıt ve analiz sistemi	MP35 BIOPAC, ABD
Derin dondurucu (-80 °C)	Thermo Scientific, ABD
Dikey elektroforez ve transfer sistemi	Bio-Rad, ABD
Deiyonize su cihazı	Sartorius, Almanya
Elektroforez güç kaynağı	Bio-Rad, ABD
Hassas analitik terazi	Ohaus, ABD
Homojenizatör	Heidolph, Almanya
Isıtıcı	Witeg, Almanya
Kaba terazi	Premier, Türkiye
Magnetik karıştırıcı	Witeg, Almanya
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific, ABD
Minisantrifüj cihazı	Isolab, Türkiye
Otomatik Pipetler	Eppendorf, ABD
Sıvı azot tankı	Isotherm, Türkiye
Soğutmalı santrifüj	Sigma, ABD
Veri kayıt ve analiz sistemi	MP35 BIOPAC, ABD
Vorteks	Isolab, Türkiye

3.1.4. Kitler

Kullanılan kitler Tablo 5’te sunulmuştur.

Tablo 5. Kullanılan kitler, marka ve kodları

Kitler	Marka/Kod
BCA protein konsantrasyonu ölçüm kiti	Thermo scientific, 23209
TGX Stain-Free FastCast Acrylamide Kit	Bio-Rad, 161-0183
Mouse IL-1 beta Elisa Kit	A.B.T./ ABT1074Mo
Mouse GSH (Glutasyon) Elisa Kit	A.B.T./ ABT10155Mo
Mouse TNF- α Elisa Kit	A.B.T./ ABT1060Mo

3.1.5. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

Sitagliptin çözeltisinin hazırlanması

Sitagliptin, Sanovel ilaç firmasından temin edildi. 20 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında sitagliptin hazırlamak için tartılan miktarlar %0.9 izotonik sodyum klorürde çözündürülerek gerekli miktarda hazırlanmıştır.

Siklofosfamid hazırlanması

Siklofosfamid, Endoxan (Baxter)'dan temin edilmiştir. 300 mg/kg dozunda siklofosfamid hazırlamak için; tartılan miktar siklofosfamid %0.9 izotonik sodyum klorürde çözündürülerek gerekli miktarda hazırlanmıştır.

Mesna hazırlanması

Mesna, Uromitexan (Baxter)'dan temin edilmiştir. 60 mg/kg dozunda mesna hazırlamak için; flakondan gerekli miktarlarda mesna çekilip %0.9 izotonik sodyum klorür ile tamamlanmıştır.

KCl (80 mM) hazırlanması

Çalışma çözeltisini hazırlamak için, hesaplanan potasyum klorür (KCl) distile suya eklendi ve tamamen çözünene kadar vorteks ile karıştırıldı. Hazırlanan çözelti, çalışmanın süresi boyunca oda sıcaklığında saklandı.

Karbakol (CCh) hazırlanması

Stok çözeltisini hazırlamak için, hesaplanan miktarda CCh distile suda çözülerek tamamen çözünene kadar vortex ile karıştırıldı. Seri dilüsyon yöntemiyle çalışma çözeltilerini hazırlamak için, hazırlanmış stok çözeltiden (10^{-3} M) 100 μ L alınıp 900 μ L distile suya eklendi ve tamamen çözünene kadar vorteks ile karıştırıldı. Aynı işlem, karbakolün 10^{-4} M'den 10^{-8} M'ye kadar olan konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlamak için tekrarlandı. Stok ve çalışma çözeltileri eppendorf tüplerinde hazırlandı ve çalışma süresince -20 °C'de saklandı.

Krebs çözeltisi

İzole organ banyosu çalışmaları için Krebs-Henseleit çözeltisi kullanıldı. Krebs-Henseleit çözeltisi içeriği; 118 mmol/L NaCl, 25 mmol/L NaHCO₃, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 4.7 mmol/L KCl, 1.2 mmol/L MgSO₄, 11 mmol/L glikoz, 2.5 mmol/L CaCl₂. Bu kimyasal maddeler hesaplanan miktarlarda deiyonize su içerisinde çözüldü. Hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı. Krebs Henseleit çözeltisi, deney boyunca sürekli olarak karbojen gazı (%95 O₂ + %5 CO₂ karışımı) ile gazlandırıldı.

1 M Tris-Cl (pH:7.4) tamponu

121.1 g Trizma baz (MA: 121.14 g/mol) 800 mL deiyonize su içerisinde çözüldü. pH, derişik HCl çözeltisi kullanılarak 7.4'e ayarlandı, ardından toplam hacim 1 L'ye tamamlandı. Elde edilen çözelti oda sıcaklığında muhafaza edildi.

5 M NaCl çözeltisi

29.22 g NaCl (MA: 58.44 g/mol) 100 mL deiyonize suda çözülerek hazırlanan çözelti oda sıcaklığında muhafaza edildi.

Triton-X 100 (%20) çözeltisi

20 mL Triton-X 100 80 mL deiyonize suda çözülerek hazırlanan çözelti +4°C'de muhafaza edildi.

0.5 M EDTA çözeltisi

EDTA tetrasodyum tuzu (MA: 416.201 g/mol) 20.81 g tartılarak bir miktar deiyonize su içinde çözüldü. pH, derişik sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi kullanılarak 8.0'a ayarlandıktan sonra, toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında muhafaza edildi.

50 mM Sodyum pirofosfat (NaPPi) çözeltisi

NaPPi (MA: 444.06 g/mol) 1.115 g tartıldıktan sonra 50 mL deiyonize suda çözüldü. Hazırlanan çözelti 1.5 mL/2 mL'lik eppendorf tüplerde alikotlandı ve ardından -20°C'de saklandı.

200 mM Sodyum ortovanadat (NaVan) çözeltisi

Na₃VO₄ (MA: 183.91 g/mol) 3.68 g tartıldıktan sonra 90 mL deiyonize suda çözüldü ve 1N HCl ilavesi ile pH 10.0'a ayarlandı. Çözelti, sarı rengi kaybolup renksiz hale gelene kadar kaynatıldı, ardından soğutuldu ve pH yeniden kontrol edildi. Hazırlanan çözelti 1.5 mL/2 mL'lik eppendorf tüplerde alikotlandı ve -20°C'de depolandı.

1 M Sodyum florür (NaF) çözeltisi

NaF (MA: 41.99 g/mol) 4.2 g tartılarak 100 mL deiyonize suda çözüldü. Ardından hazırlanan çözelti 1.5 mL/2 mL'lik eppendorf tüplerde alikotlandı ve -20 °C'de saklandı.

100 mM PMSF çözeltisi

PMSF (MA: 174.19 g/mol) 0.174 g tartılarak 10 mL etanol içinde çözüldü. Hazırlanan çözelti 1.5 mL/2 mL'lik eppendorf tüplerde alikotlandı ve -20°C'de saklandı.

10X Tris-Glisin tamponu

Trizma baz (MA: 121.14 g/mol) 30.3 g ve Glisin (MA: 75.07 g/mol) 144 g tartılarak 1 L deiyonize suda çözüldü. Ardından hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklandı.

10X TBS çözeltisi

Trizma baz (MA: 121.14 g/mol) 29.71 g ve 110 g (MA: 58.44 g/mol) NaCl 800 mL deiyonize suda çözüldü. Ardından pH, derişik HCl çözeltisi kullanılarak 7.6'ya ayarlandıktan sonra, çözelti deiyonize su ile 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklandı.

%20'lik SDS çözeltisi

SDS 1 g tartıldıktan sonra 5 mL deiyonize suda çözüldü. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklandı.

Homojenizasyon tamponu

Son konsantrasyonları 50 mM Tris-Cl, pH: 7.4, 150 mM NaCl, % 1 Triton X-100, 1 mM EDTA pH: 7.0, 5 mM NaPPi, %1 proteaz inhibitör kokteyli, % 10 gliserol, 2 mM

NaVan, 20 mM NaF, 1 mM PMSF olacak şekilde çözeltiler birleştirildi. Ardından hacim deiyonize su ile 50 mL'ye tamamlandı. Çözelti taze şekilde hazırlandı ve deney süresince kuru buz içerisinde tutuldu.

Tris-Glisin-SDS (TGS) yürütme tamponu

100 mL 10X TGS ve 900 mL deiyonize su cam şişede karıştırıldı. Deney süresince çözelti her seferinde taze olarak hazırlandı.

Transfer tamponu

100 mL 10X Tris-Glisin tamponu ve 200 mL metanol balonda karıştırılarak, deiyonize su ile çözelti hacmi 1 L'ye tamamlandı. Deney boyunca çözelti her seferinde taze olarak hazırlandı ve transfer işlemine kadar +4°C'de soğumaya bırakıldı.

TBS-T çözeltisi

100 mL 10X TBS stok çözeltisi, 800 mL deiyonize su ile seyreltildi. Ardından, son konsantrasyonu %0.05 olacak şekilde %20'lik Tween 20 çözeltisinden 2.5 mL eklendi. Deiyonize su ilavesiyle toplam hacim 1 litreye tamamlandı ve hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklandı.

%0.1 Tween 20 içeren TBS çözeltisi

10X TBS çözeltisi, deiyonize su ile 1X olacak şekilde seyreltildi. Daha sonra, 100 µL Tween 20 eklendi ve toplam hacim 1X TBS çözeltisiyle 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında saklandı.

%3'lük Sığır serum albümini (BSA) çözeltisi

BSA 1.5 g tartıldıktan sonra 50 mL %0.1 Tween 20 içeren TBS çözeltisinde çözüldü. Ardından hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı.

%5'lik süt tozu çözeltisi

Yağsız süt tozu 2.5 g tartıldıktan sonra 50 mL %0.1 Tween 20 içeren TBS çözeltisinde çözüldü. Ardından hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı.

3.2. Deney Hayvanları

Deneylerde 144 adet 6-8 haftalık ve 25-30g ağırlığında yetişkin Balb/c cinsi dişi fareler kullanılmıştır. Hayvanlar yeme ve suya erişiminin serbest olduğu ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde, 21 ± 2 °C sıcaklıkta, nem düzeyi 50 ± 5 olacak şekilde barındırılmıştır. Deneyssel çalışmanın yürütülebilmesi için KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'na başvuruda bulunuldu ve 2023/42 numaralı onayla etik kurul izni alındı.

3.3. Deneyssel Sistit Modelinin Oluşturulması ve Deney Grupları

Deney hayvanları her biri 24 hayvandan oluşan rastgele 6 gruba ayrılmıştır. Biyokimyasal, moleküler ve fonksiyonel çalışmalar için her grup başına 24 adet olmak üzere toplam 144 adet fare kullanıldı. Tüm enjeksiyonlar intraperitoneal (i.p.) yoldan uygulandı.

Çalışmada akut sistit modelinde 5 günlük tedavi sonrası sitagliptinin etkinliğinin değerlendirilmesi planlandı. Akut sistit modelinin oluşturulması için deney hayvanlarına i.p. olarak 300 mg/kg şeklinde tek doz CP uygulandı. CP uygulamadan hemen önce % 0.9 izotonik sodyum klorür (NaCl) içerisinde çözüldü. 6.günde hayvanlar servikal dislokasyon yöntemiyle ötanazi edildi.

- **Kontrol grubu (n=8) :** Herhangi bir protokol uygulanmamıştır. Bu gruptaki farelere art arda 5 gün boyunca günde bir kez yalnızca serum fizyolojik (SF) (10 ml/kg) ip uygulandı.
- **CP grubu (n=8):** Bu gruptaki farelere art arda 5 gün boyunca günde bir kez ip yolla SF (10 ml/kg) verildi. 5. gün son SF dozu verildikten yarım saat sonra ip yolla tek bir doz CP (300 mg/kg) ile akut sistit indüklendi.
- **CP+Mesna grubu (n=8) :** Bu gruptaki farelere art arda 5 gün boyunca günde bir kez SF (10 ml/kg) verildi. 5. gün son SF dozu verildikten yarım saat sonra akut sistit indüksiyonu için ip yolla tek doz CP (300 mg/kg) verilmiş olup, fareler CP uygulamasından 20 dk önce ve 4, 8 saat sonra ip yolla mesna (60 mg/kg) ile tedavi edildi.
- **CP+Sita20 grubu (n=8) :** Bu gruptaki farelere arka arkaya 5 gün boyunca günde bir kez ip yolla Sita (20 mg/kg) verildi. 5.günde son Sita dozundan 30 dakika sonra akut sistit ip yolla verilen CP (300 mg/kg) ile indüklendi.

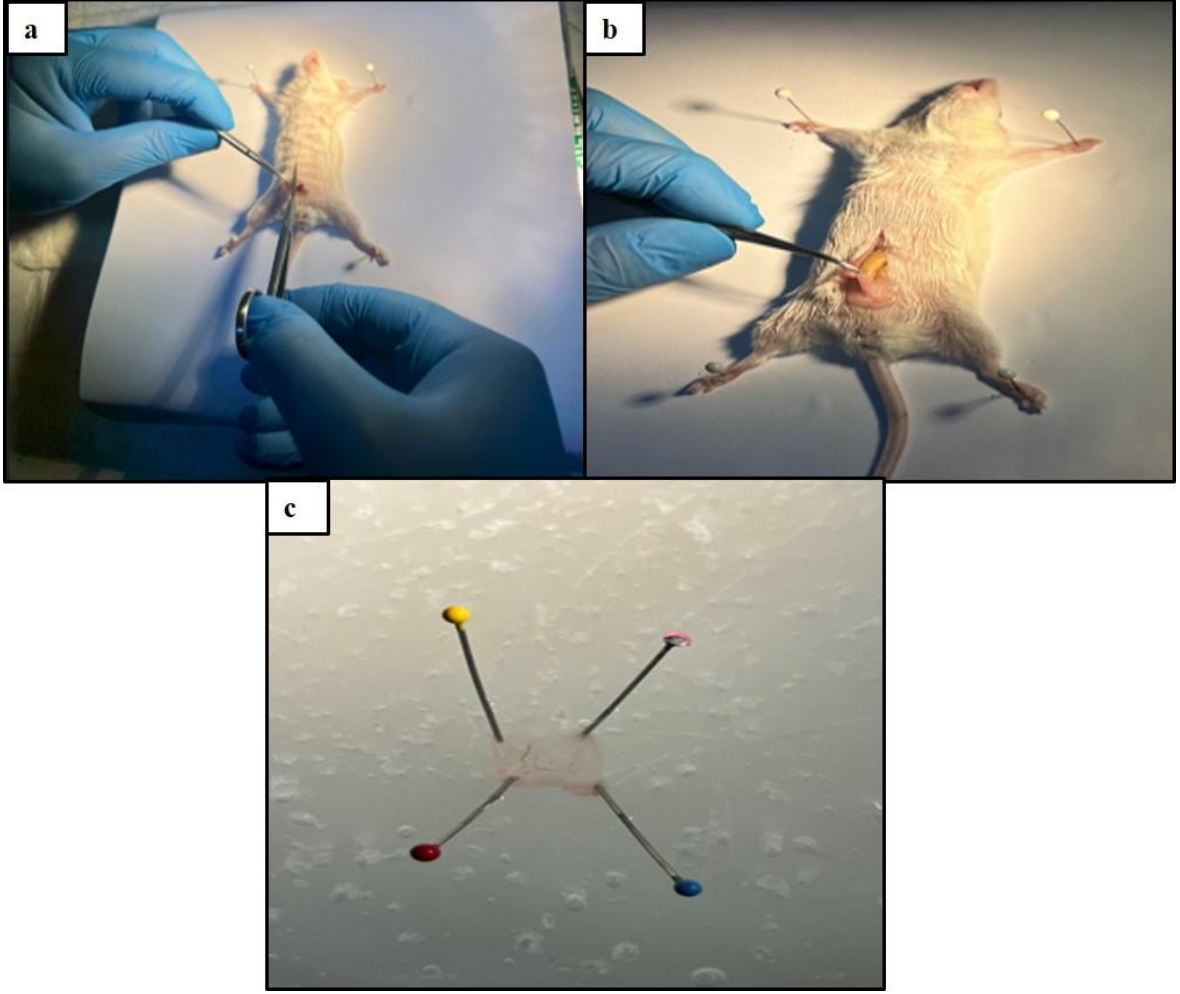
- **CP+Sita100 grubu (n=8)** : Bu gruptaki farelere arka arkaya 5 gün boyunca günde bir kez ip yolla Sita (100 mg/kg) verildi. 5.günde son Sita dozundan 30 dakika sonra akut sistit ip yolla verilen CP (300 mg/kg) ile indüklendi.
- **Sita100 grubu (n=8)** : Bu gruptaki farelere art arda 5 gün boyunca günde bir kez ip yolla Sita (100 mg/kg) verildi.

Etik kurallara uygun olarak deneyin sonunda, farelerin mesaneleri moleküler, biyokimyasal ve fonksiyonel analizler için alındı. İzole organ banyosu çalışması (n=8) için in vitro mesane fonksiyonu değerlendirilmesinde mesane dokuları hemen kullanıldı. Moleküler çalışmalar (n=8) ve biyokimyasal çalışmalar (n=8) için mesane dokuları sıvı nitrojen içinde dondurulup kullanılana kadar -80 °C'de saklandı.

3.4. İzole Organ Banyosu Çalışması

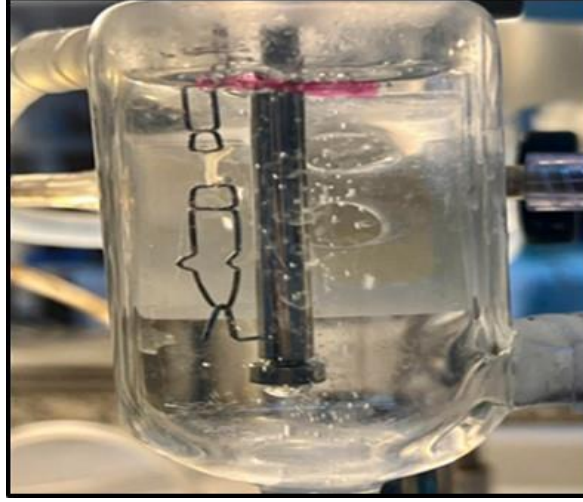
3.4.1. Cerrahi işlem ve mesane striplerinin hazırlanması

Ötanazi yapılan farelerin abdominal bölgesine yapılan insizyon ile mesane görünür hale getirildi (Resim 1a) ve mesane çıkarıldı (Resim 1b). Ardından içerisinde Krebs-Henseleit çözeltisi bulunan petri kabına alındı. Petri kabına alınan mesane çevre dokulardan temizlendi (Resim 1c).



Resim 1. Cerrahi işlem ve mesane striplerinin hazırlanması. **(a)** Mesane insizyonu. **(b)** Mesanenin çıkarılması. **(c)** Mesane dokusunun temizlenmesi.

Detrüsör kısmı şerit halinde kesilerek strip şeklinde preparatlar hazırlandı. Hazırlanan striplerin alt ucu çelik çengeller ile içerisinde Krebs-Henseleit çözeltisi bulunan ve %95 O₂ / %5 CO₂ karışımı ile gazlandırılan 37,2 °C sıcaklıktaki 30 ml’lik çift cidarlı cam organ banyosunun içindeki kancaya sabitlendi. Diğer ucu da çelik çenge ile izometrik güç transdüsörüne bağlı olacak şekilde dikey olarak asıldı (Resim 2).



Resim 2. Preparatların izole organ banyolarına yerleştirilmesi

3.4.2. İzole organ banyosu deney protokolü

Preparatlar izole organ banyolarına yerleştirildikten sonra 1 g bazal gerim uygulandı ve 15 dakikada bir taze çözelti ile yıkanarak 90 dk boyunca dinlenmeye bırakıldı. İzole organ banyoları içine eklenecek olan test maddelerinin detrusor preparatlarının tonusunda oluşturacakları izometrik gerilim değişiklikleri izometrik kuvvet transdüseri aracılığı ile ölçülerek Biopac MP35 programı ile mg cinsinden kaydedildi (Resim 3).



Resim 3. Dokulardaki gerilim değişiklikleri izometrik kuvvet transdüseri aracılığı ile ölçülmesi

Dengelenme süresinden sonra, doku canlılığını ortaya koymak için stripler KCl (80 mM) ile kasıldı. Dokulara her banyoda 80 mM olacak şekilde KCl eklendi ve elde edilen kasılma yanıtları kaydedildi. Kontraktil fonksiyonları devam eden dokular ard arda üç kez taze çözelti ile yıkanarak dengelenmeye bırakıldı. Daha sonra banyo ortamlarına kümülatif karbakol (CCh; 10^{-8} - 10^{-4} mol/L) eklenerek, kolinerjik kontraksiyonlar kaydedildi. Karbakolün detrusör preparatlarının tonusunda oluşturdıkları izometrik gerilim değişiklikleri bilgisayar aracılı veri toplama ve kaydetme sistemi ile kaydedildi.

3.5. Biyokimyasal Analiz

3.5.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

-80 °C’de muhafaza edilen deney hayvanlarına ait mesane dokuları, buz üzerine yerleştirilmiş tüplerin içine alındı ve her tüpe 700 µl fosfat tamponlu salin (PBS) eklendi. İlk olarak, mesane dokuları cerrahi makas kullanılarak küçük parçalara ayrıldı. Ardından, homojenatların bulunduğu her bir tüp, buzla dolu bir kaba konularak 3 kez 10 saniye süreyle homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Bu işlemi takiben, homojenatlar 10.000 xg’de, +4 °C sıcaklıkta, 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar eppendorf tüplerine aktarılıp, analiz gününe kadar -80 °C’de saklandı. Süpernatant fraksiyonu üzerinden bikinkoninik asit (BCA) yöntemiyle protein tayini gerçekleştirildi.

3.5.2. Total Protein Tayini

Elde edilen homojenatlarda toplam protein konsantrasyonu, BCA protein tayin kiti (Thermo Scientific) kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde belirlendi. Konsantrasyonu 2 mg/mL olan BSA standardından uygun dilüsyonlar hazırlanarak 0, 25, 125, 250, 500, 750, 1000, 1500 ve 2000 µg/mL düzeylerinde standart çözeltiler elde edildi. Kitte bulunan Solüsyon A ve Solüsyon B 50:1 oranında karıştırıldı ve çalışma çözeltisi hazırlandı. Her bir örnek ve standarttan 25 µL, çift tekrar halinde mikropilaya kuyucuklarına aktarıldı ve ardından tüm kuyucuklara hızlı bir şekilde 200 µL çalışma çözeltisi ilave edildi. Mikropilaya kapatıldıktan sonra yaklaşık 30 saniye boyunca tezgah üzerinde hafifçe çalkalanarak karıştırıldı ve ardından 37 °C’deki su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süreç sonunda gerçekleşen renk değişimi 562 nm dalga boyunda mikropilaya okuyucuda ölçüldü ve elde edilen BCA standart çözeltileri absorbanslarından yararlanılarak Microsoft Excel aracılığıyla konsantrasyon-absorbans grafiği çizilip grafik denklemi

hesaplandı. Örneklerin absorbansları grafik denklemine yerleştirilerek her bir örnek için total protein miktarı mg/mL cinsinden hesaplandı.

3.5.3. Mesane homojenatlarında GSH Düzeyinin Belirlenmesi

Hazırlanan mesane homojenatlarından enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA) yöntemi yardımıyla oksidatif stres ile ilişkili doku hasarının önemli belirteçlerinden olan GSH düzeyi ölçüldü. Bu biyobelirtecın düzeyi ticari olarak temin edilen ELISA kitleleri kullanılarak ölçüldü. Kit kullanımı kendi kılavuzu ile birlikte sağlanmış olup, kılavuzdaki prosedürlere birebir uyulmuştur.

Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve örnekler kit protokolünde belirtilen talimatlara uygun olarak hazırlandı. Ölçümler 96 kuyucuklu plaklarda gerçekleştirilmiştir. Standart ve örnekler, her bir kuyucuğa 50 µL olacak şekilde çiftli tekrarlarla eklenmiştir. Bu standart çözeltiler biotin ile işaretlenmiş antikor içerdiğinden, bu kuyucuklara ek antikor ilavesi yapılmadı. Numune kuyucuklarına GSH protokolünde 50 µL örnek eklendikten sonra her kuyucuğa 50 µL biyobelirteç antikorı eklendi. 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plakalar 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Ardından hem standart hem de numune kuyucuklarına 100 µL streptavidin-HRP çözeltisi eklendi ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plakalar 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her kuyucuğa 100 µL substrat reaktifi eklenip 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Kuyucuklarda oluşan reaksiyon 50 µL durdurma solüsyonu ekleyerek durdurulmuştur. Bu işlem sonucunda kuyucuklardaki renk mavi renkten sarıya dönüştü.

Her bir kuyucuğun optik yoğunluk (OD) değerleri mikropilaka okuyucu ile 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart eğri, her plak için uygun olan sitokin standartları ile oluşturuldu ve örneklerle ait sitokin düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek, mesane dokusundaki GSH düzeyi ng/mL cinsinden belirlendi. OD değeri, fare GSH konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Numunelerin OD değerlerini standart bir eğriyle karşılaştırarak, numunelerdeki fare GSH konsantrasyonu belirlendi.

3.5.4. Mesane Homojenatlarında TNF-α ve IL-1β Düzeylerinin Belirlenmesi

Mesane homojenatlarında TNF-α ve IL-1β seviyesi ticari olarak temin edilen ELISA kiti ile belirlendi. TNF-α ve IL-1β için alınan ticari kitlerin kullanımı kendi kılavuzu ile birlikte sağlanmış olup, kılavuzdaki prosedürlere birebir uyulmuştur. Tüm reaktifler,

standart çözeltiler ve örnekler kit protokolünde belirtilen talimatlara uygun olarak hazırlandı. Ölçümler 96 kuyucuklu plaklarda gerçekleştirilmiştir. Standart ve örnekler, her bir kuyucuğa 100 µL olacak şekilde çiftli tekrarlarla eklenmiştir. Bu standart çözeltiler biotin ile işaretlenmiş antikor içerdiğinden, bu kuyucuklara ek antikor ilavesi yapılmadı. Numune kuyucuklarına TNF-α ve IL-1β protokolünde 100 µL örnek eklendikten sonra 37°C'de 70 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µL biyobelirteç antikoru eklendi ve 37°C'de 50 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plakalar 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Ardından hem standart hem de numune kuyucuklarına 100 µL streptavidin-HRP çözeltisi eklendi ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plakalar 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her kuyucuğa 100 µL substrat reaktifi eklenip IL- 1β kiti için 37°C'de 30 dakika inkübe edilirken, TNF-α kiti için 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Kuyucuklarda oluşan reaksiyon 50 µL durdurma solüsyonu ekleyerek durdurulmuştur. Bu işlem sonucunda kuyucuklardaki renk mavi renkten sarıya dönüştü.

Her bir kuyucuğun optik yoğunluk (OD) değerleri mikropilaka okuyucu ile 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart eğri, her plak için uygun olan sitokin standartları ile oluşturuldu ve örnekler için sitokin düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek, mesane dokusundaki TNF-α ve IL-1β düzeyleri ng/mL cinsinden belirlendi. OD değeri, fare TNF-α ve IL-1β konsantrasyonlarıyla doğru orantılıdır. Numunelerin OD değerlerini standart bir eğriyle karşılaştırarak, numunelerdeki fare TNF-α ve IL-1β konsantrasyonları belirlendi.

3.6. Western Blot Analizi

Mesane dokularında TLR4, total NFκB, p-NFκB protein seviyeleri western blot analizi ile belirlendi.

3.6.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Protein Tayini

Servikal dislokasyonun ardından çıkarılan, sıvı azotta dondurularak saklanan mesane dokularına 500 µl TNTE lizis tamponu eklendi ve mekanik olarak cerrahi makasla parçalandı. Daha sonra homojenat içeren tüp buzla dolu bir kaba konularak 3 kez 10 saniye süreyle homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Ardından +4 °C 10000x g'de 30dk'lık santrifüj işlemini takiben elde edilen süpernatant western blot analizlerinde kullanılmak üzere ayrıldı. Doku homojenatlarının total protein konsantrasyonu, BCA protein konsantrasyonu ölçüm kiti (Thermo Scientific) kullanılarak firmanın önerdiği şekilde ölçüldü.

3.6.2. Jellerin Hazırlanması

Jel dökümü için cam plakalar jel standına yerleştirildi ve jel içeriği *TGX Stain-Free FastCast %10 Acrylamide Kit* kullanılarak hazırlandı. Ayırma jelinin hazırlanması için kit içerisindeki *Resolver A* ve *Resolver B* çözeltilerinden 3'er mL alınarak bir tüpte homojen şekilde karıştırıldı. Bu karışıma 30 μ L %10'luk APS (amonyum persülfat) ve 3 μ L TEMED (tetrametiletildiamin) eklendi. Hazırlanan yükleme jeli kısa camın üzerine çıkacak şekilde döküldü. Daha sonra cam plakalar arasına her bir kuyucuğu 50 μ L hacimli 10 kuyucuklu tarak yerleştirilip polimerizasyon işlemi için jeller oda sıcaklığında 30 dk bekletildi.



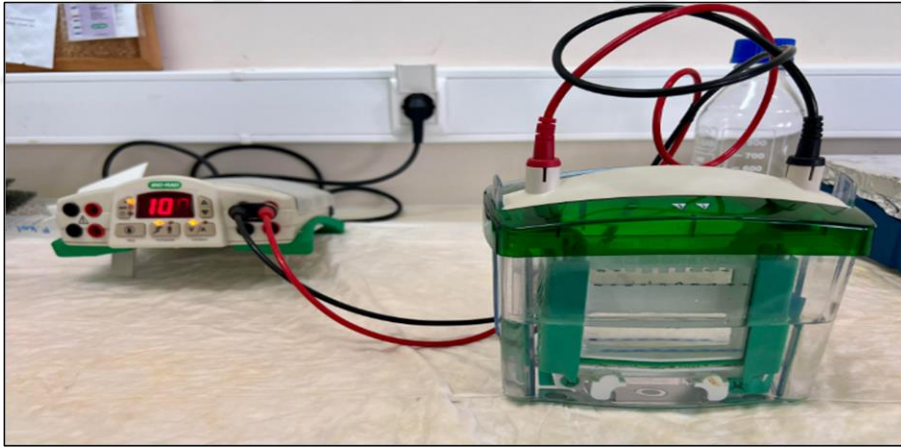
Resim 4. Jellerin hazırlanması işleminin gösterimi

3.6.3. Örneklerin Hazırlanması

-80 °C'de saklanan ve deney öncesinde buz üzerinde çözödürülen mesane homojenatlarından, her kuyucuğa eşit miktarda 30 μ g protein yüklenebilmesi amacıyla gerekli miktar hesaplamaları yapıldı. Hesaplanan hacimdeki homojenatlar mikrosantrifüj tüplerine alındı. Üzerlerine uygun miktarda 5X örnek yükleme tamponu eklendi ve son hacim 30 μ L olacak şekilde deiyonize su ile seyreltilerek tamponun 1X'lik son konsantrasyonu sağlandı. Hazırlanan örnekler kısa süre vortekslenip, ardından 2–3 saniye santrifüjlendi. Proteinlerin denatürasyonu amacıyla örnekler, kaynar su banyosu üzerinde 5 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda örnekler tekrar vortekslenip santrifüjlenerek yükleme için hazır hale getirildi.

3.6.4. Elektroforez

Hazırlanan jeller deiyonize su ile yıkanarak temizlendi. Yükleme işlemini kolaylaştırmak amacıyla, kuyucukların alt kısımları asetat kalemi ile işaretlenerek görsel olarak belirginleştirildi. Daha sonra jeller, elektroforez tankına yerleştirildi ve jeller arasına yürütme tamponu dökülerek herhangi bir sızdırma olup olmadığı kontrol edildi. Sızdırma gözlenmedikten sonra, tank belirtilen seviyeye kadar yürütme tamponu ile dolduruldu. Taraklar dikkatlice çıkarıldı ve kuyucukların tamamen örtüleceği şekilde yürütme tamponu eklemesi yapıldı. Ardından her bir jelin ilk kuyucuğuna 3 μ L moleküler ağırlık markörü, diğer kuyucuklara ise 30 μ L hacminde hazırlanmış örnekler dikkatlice yüklendi. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra elektroforez tankı güç kaynağına bağlandı ve sistem 100 volta ayarlanarak elektroforez başlatıldı. Örneklerin yükleme tamponu sayesinde mavi renk alması, elektroforez süresince jel içerisindeki göç hareketinin görsel olarak izlenmesini sağladı. Örneklerin elektroforez sırasında jeldeki sürüklenmeleri izlenip uygun noktada elektroforez kontrollü bir şekilde sonlandırıldı (Resim 5).



Resim 5. Protein elektroforezi görüntüsü

3.6.5. Jelden Membrana Transfer İşlemi

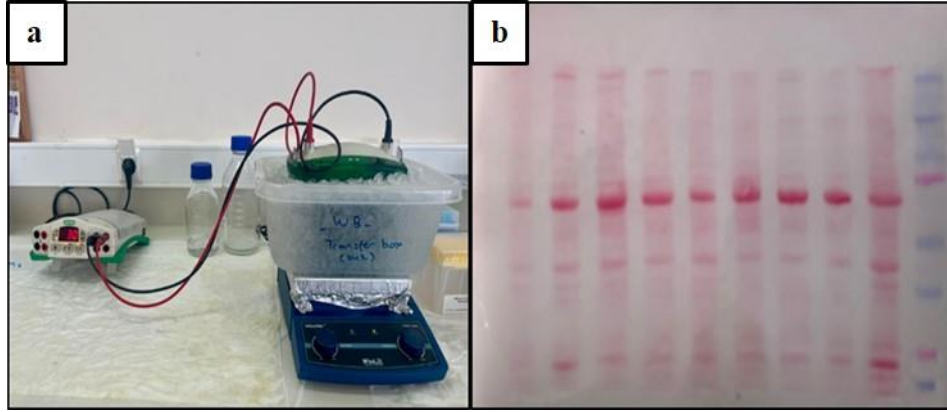
Jeldeki örneklerin membrana aktarımı için poliviniliden florür (PVDF) membranlar kullanılarak ıslak transfer yöntemi uygulandı. PVDF membranlar uygun boyutlarda kesilerek, 5–10 dakika boyunca metanol içerisinde orbital çalkalayıcıda bekletildi. Metanolden çıkarılan membranlar, soğuk transfer tamponu içinde 15 dakika süreyle 60 rpm hızında orbital çalkalayıcıda bekletilerek tampon ile tamamen doygun hale getirildi.

Elektroforezin tamamlanmasının ardından jeller elektroforez tankından çıkarıldı, deiyonize su ile yıkandı ve kısa cam altta kalacak şekilde temiz bir yüzeye yerleştirildi. Cam plakalar ince uçlu bir spatula yardımıyla dikkatlice ayrıldı ve jel üzerinde istenmeyen fazla kısımlar temiz bir jilet kullanılarak kesildi. Hazırlanan jel, soğuk transfer tamponu içeren bir kaba aktarıldı.

Transfer kasedi içerisinde soğuk transfer tamponu bulunan başka bir kaba yerleştirildi. Kasetin siyah (anot) yüzeyine sırasıyla, transfer tamponuyla ıslatılmış iki sünger, ardından bir adet whatman kağıdı yerleştirildi. Jel, ıslak bir whatman kağıdı yardımıyla dikkatlice alınarak kasetteki kağıdın üzerine yerleştirildi. Daha sonra, hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek aktiflenmiş PVDF membran jelin üzerine yerleştirildi. Membran üzerine ise, yine transfer tamponuyla ıslatılmış iki whatman kağıdı ve iki transfer süngeri sırasıyla yerleştirilerek kaset içeriği tamamlandı.

Hazırlanan kasetler, transfer tamponu ile doldurulmuş tank içerisine yerleştirildi. Siyah yüzeyin anoda, şeffaf yüzeyin katoda bakacak şekilde konumlandırıldı. İçerisine buz aküsü ve balık koyulan tank, manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş buz dolu bir kap içinde, 80 voltta 2 saat süreyle protein transferi işlemine bırakıldı (Resim 6a).

Transfer işleminin ardından, aktarımın başarılı olup olmadığını değerlendirmek için PVDF membranlar Ponceau S çözeltisi ile boyandı. (Resim 6b). Protein bantları görünür hale geldikten sonra membranlar deiyonize su ile yıkanarak boya uzaklaştırıldı. Sonraki adımda membranlar 5–10 saniye süreyle metanol ile yıkandı ve ardından oda sıcaklığında 15 dakika boyunca kurumaya bırakıldı. Kuruyan membranlar yeniden metanol ile ıslatıldıktan sonra, TBS-T tamponu ile 3 kez, her biri 10 dakika sürecek şekilde yıkama işlemine tabi tutuldu.



Resim 6. Jelden membrana transfer işlemi. **(a)** Islak transfer işlemi gösterimi. **(b)** Transfer işleminden sonra Ponceau S ile boyanan PVDF membran görüntüsü.

3.6.6. Bloklama

Membranlar, TBST ile yıkama işleminin ardından bloklama işlemi için %0.1 Tween 20 içeren TBS çözeltisi içinde hazırlanan %5'lik BSA çözeltisi ile oda sıcaklığında 60 rpm devirde orbital çalkalayıcıda 90 dk inkübasyona bırakıldı. Böylece spesifik olmayan bağlanma noktaları bloklama işlemiyle kapatıldı.

3.6.7. Primer Antikorla İnkübasyon

Primer antikorlar, %0.1 Tween 20 içeren TBS çözeltisi içinde hazırlanan %3'lük BSA içerisinde kullanım kılavuzlarında önerilen konsantrasyonlarda hazırlandı. Bloklama işleminin ardından membranlar belirlenen dilüsyon oranlarında TLR4 (1:1000), phospho-NFκB (1:1000), total NFκB (1:1000) ve beta-aktin (1:1000) primer antikorlarını içeren TBST (%3 BSA+%0.1 tween 20+TBS) çözeltisinde +4°C'de 20 rpm devirde orbital çalkalayıcıda gece boyunca inkübasyona bırakıldı. β-aktin proteini ise çalışmada yükleme kontrolü olarak kullanıldı.

3.6.8. Sekonder Antikorla İnkübasyon

Primer antikor inkübasyonunun tamamlanmasının ardından, membranlar oda sıcaklığında %0.1 Tween 20 içeren TBS (TBST) tamponu ile 3 kez 10 dakika boyunca yıkandı. Yıkama işleminin ardından, membranlar Anti-rabbit IgG HRP-linked sekonder antikor (1:5000 dilüsyonda) ile 20 rpm devirde orbital çalkalayıcıda 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edildi. Sekonder antikor çözeltisi, %0.1 Tween 20 içeren TBS tamponu içerisinde hazırlanmış %5 yağsız süt tozu çözeltisi kullanılarak hazırlandı.

3.6.9. Görüntüleme

Sekonder antikor ile yapılan inkübasyonun ardından, membranlar TBST tamponu ile oda sıcaklığında, 3 kez 10 dakika boyunca yıkandı. Yıkama sonrası membran, temiz bir pens yardımıyla dikkatlice başka bir kaba aktarıldı ve ardından membrandaki bantlar Pierce enhanced chemiluminescence (ECL) western blotting substratı (Clarity Max Western ECL substrate, Bio-Rad) ile görünür hale getirildi.

Protein bantlarının tespiti, LI-COR C-DiGit Blot Scanner cihazı kullanılarak gerçekleştirildi (Resim 7). Görüntüleme işleminin ardından, membranlar yeniden oda sıcaklığında, 60 rpm devirde orbital çalkalayıcıda, 3 kez 10 dakika boyunca TBST çözeltisiyle yıkandı. Son olarak, membranlar TBST ile nemli kalacak şekilde ıslatıldı, streç filmle sarılarak uygun koşullarda saklamaya alındı.



Resim 7. Görüntüleme işlemi

3.3. İstatistiksel Analiz

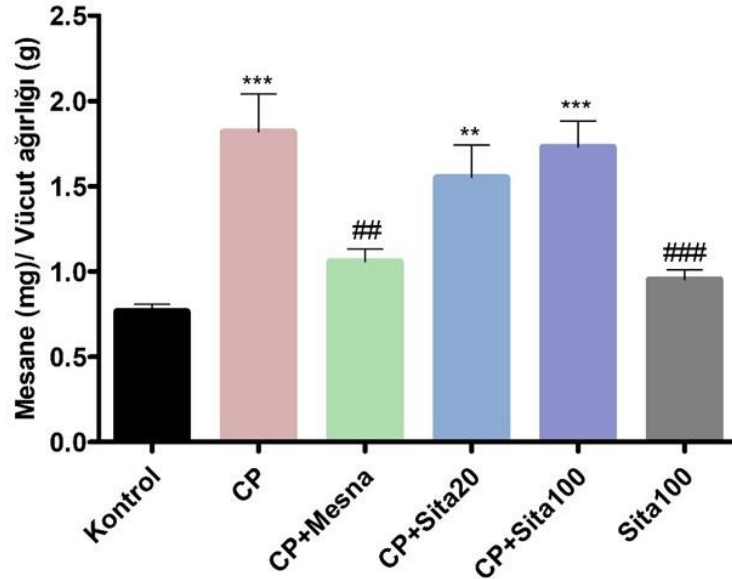
Veriler, aritmetik ortalama değer $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz ve grafikler GraphPad Prism (Sürüm 5.01; Graphpad yazılımı, San Diego, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Birden fazla bağımsız değişkenin olduğu koşullarda çift yönlü, tek bağımsız değişkenin olduğu durumlarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ardından Post hoc testi olarak Bonferroni veya Dunnet testi kullanıldı. GraphPad Prism programı kullanılarak konsantrasyon-yanıt eğrilerinden hareketle non-lineer regresyon analizi ile pD2

değerleri hesaplandı. Western blot sonuçlarının densitometrik analizi için bant yoğunluğu aynı blot üstündeki β aktin bant yoğunluğu ile oranlanıp kontrol grubuna göre normalize edildi. Gruplar arasındaki farklar student t-testi kullanılarak karşılaştırıldı. P değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi.

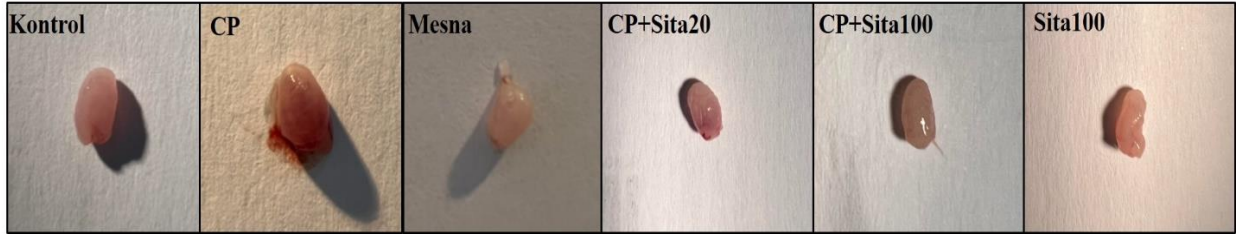
4. BULGULAR

4.1. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Ödemi Üzerine Etkisi

Sitagliptin tedavisinin inflamasyonun bir göstergesi olan mesane ödemi üzerine etkisini araştırmak için mesane ağırlığı/vücut ağırlığı oranı değerlendirildi. Bu oran, CP uygulanan farelerde (1.818 ± 0.2227) kontrol grubu (0.7663 ± 0.0435) ile karşılaştırıldığında anlamlı arttı ($p < 0.001$). Mesna tedavisi (1.058 ± 0.0763), CP grubuna göre bu oranı anlamlı olarak azalttı ($p < 0.01$). Sita tedavilerinin (20 ve 100 mg/kg) ise, CP grubu ile karşılaştırıldığında bu oran üzerinde bir etkisi olmadı (Şekil 6). CP'den 24 saat sonra her bir gruba ait mesane dokularının görüntülerinden CP grubunun mesanesinin hemorajik bir görünümde olduğunu gördük (Resim 8).



Şekil 6. Deney gruplarına ait mesane/vücut ağırlığı oranı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunuldu (n=8). *** $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ kontrol grubu; ### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$ CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CP, siklofosamid. Sita, sitagliptin.

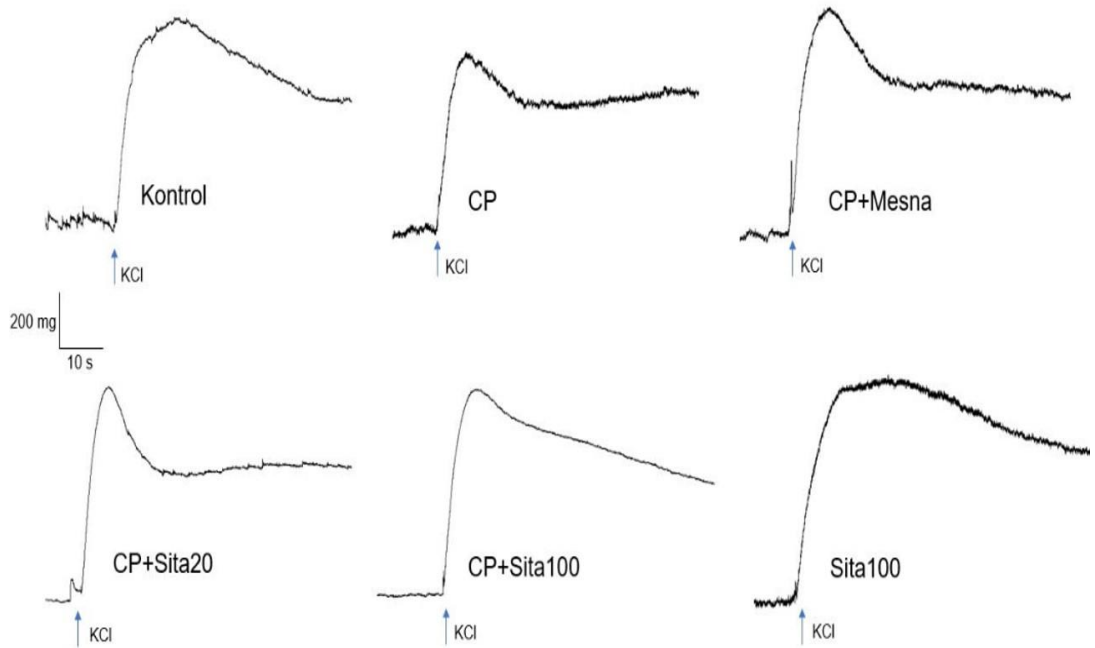


Resim 8. CP uygulamasından 24 saat sonra her bir gruba ait mesane dokularının görüntüleri

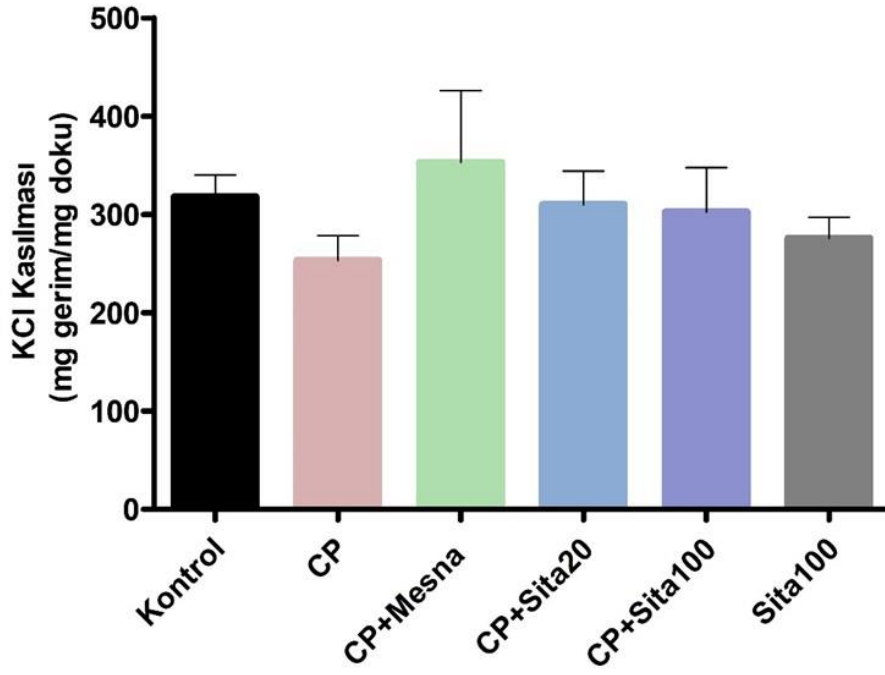
4.2. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Detrüsör Düz Kas Kontraktilitesi Üzerine Etkisi

4.2.1. KCl ile İndüklenen Detrüsör Kasılma Yanıtları

KCl (80 mM) ile indüklenen detrüsör kasılma yanıtları, deney grupları arasında anlamlı fark göstermedi (Şekil 7,8).



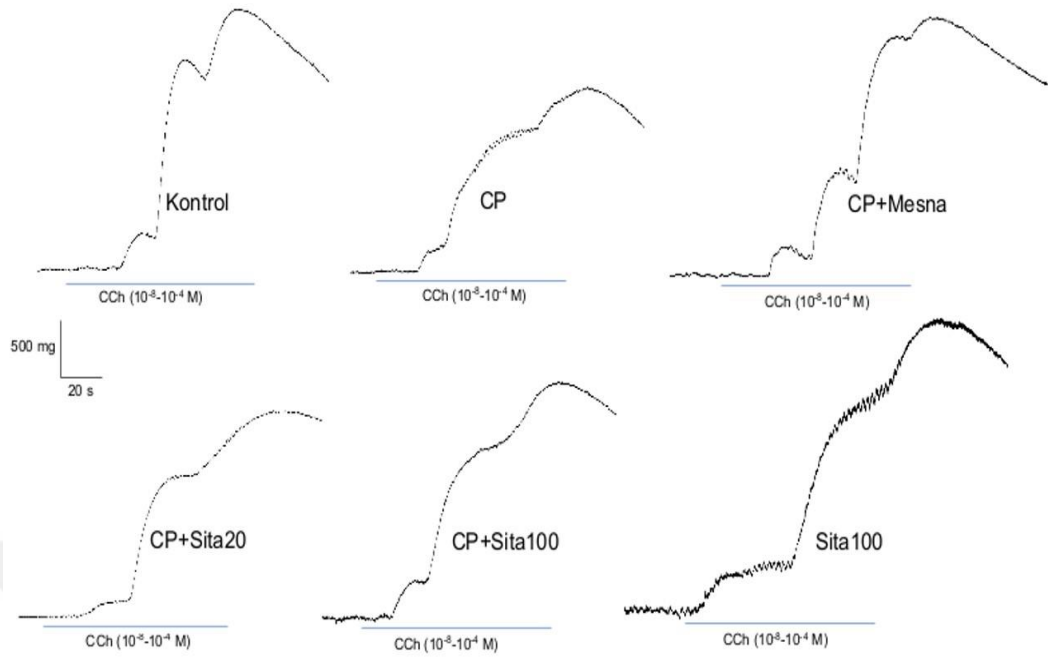
Şekil 7. KCl ile indüklenen detrüsör kasılma yanıtlarına ait temsili kayıt örnekleri. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=7-8). CP, siklofosamid. Sita, sitagliptin.



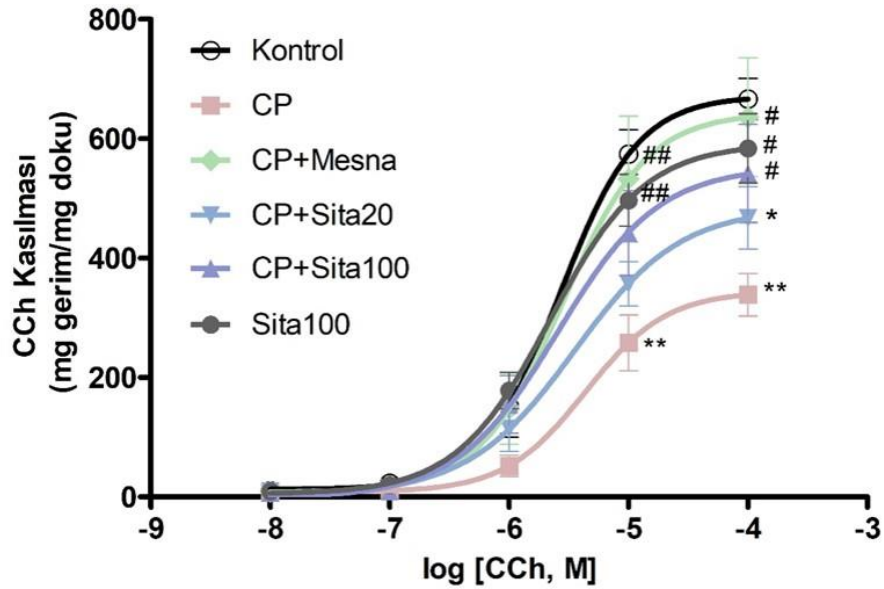
Şekil 8. Deney gruplarına ait KCl ile indüklenen detrüör kasılma yanıtları. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=7-8). CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.

4.2.2. Sita Tedavisinin CCh ile İndüklenen Detrüör Kasılmaları Üzerine Etkisi

CP grubunda, CCh (10^{-8} - 10^{-4} M) ile indüklenen detrüör kasılma yanıtları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldı. Mesna ve 100 mg/kg dozda Sita tedavisi, CP grubunda CCh ile indüklenen maksimum kasılma yanıtındaki azalmayı önledi. 20 mg/kg dozda Sita tedavisi ise CCh ile indüklenen detrüör kasılmaları üzerine etkisi olmadı (Şekil 9,10). pD₂ değerlerinde ise gruplar arasında bir fark tespit edilmedi (Tablo 6).



Şekil 9. CCh ile indüklenen detrüör kasılma yanıtlarına ait temsili kayıt örnekleri. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-8). CCh, karbakol. CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.



Şekil 10. Deney gruplarına ait CCh (10^{-8} - 10^{-4} M) ile indüklenen detrüör kasılma yanıtları. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-8). *p<0.05 ve **p<0.01 kontrol grubu; ##p<0.01 ve #p<0.05 CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CCh, karbakol. CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.

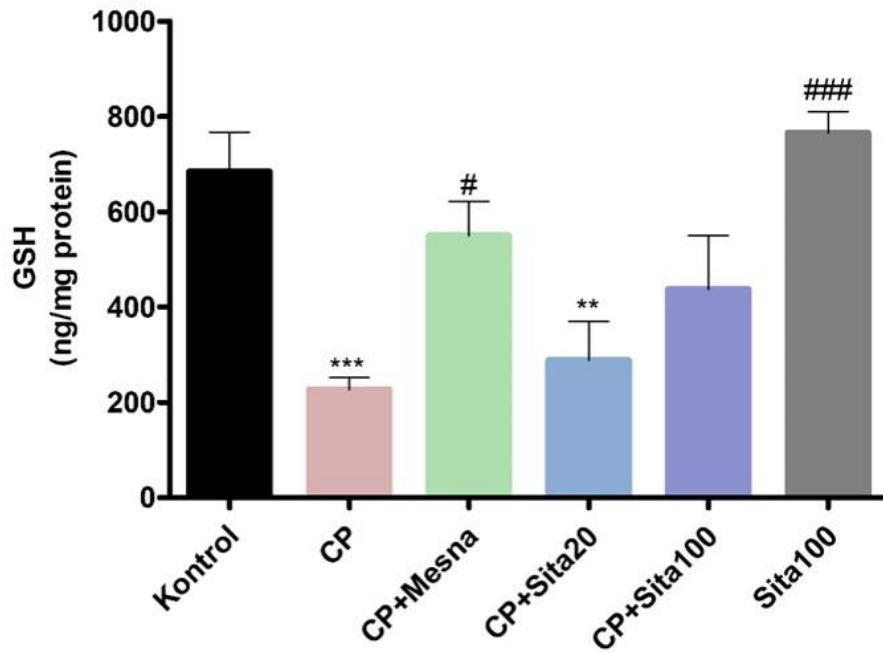
Tablo 6. Deney gruplarına ait CCh ile indüklenen kasılma yanıtlarının Emaks ve pD2 değerleri

Deney grupları	Emaks (mg gerim/mg doku ağırlığı)	pD2
Kontrol	666.40±34.66	5.571±0.1115
CP	338.60±35.75**	5.359±0.1715
CP+Mesna	635.90± 99.30 [#]	5.552±0.2480
CP+Sita20	467.00±52.40*	5.453±0.1827
CP+Sita100	541.60±82.21 [#]	5.594±0.2381
Sita100	583.60±58.06 [#]	5.653±0.1409

Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-8). *p<0.05 ve **p<0.01 kontrol grubu; [#]p<0.05 CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.

4.3. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında GSH Düzeyi Üzerine Etkisi

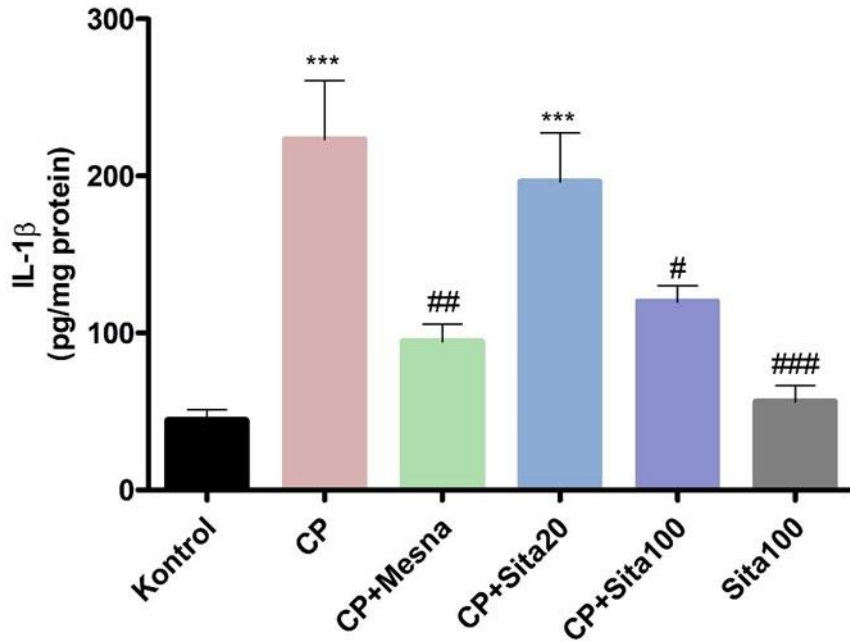
Mesane GSH düzeyi, CP uygulanan farelerde (226.4±25.41 ng/mg protein) kontrol grubu (683.7±83.29 ng/mg protein) ile karşılaştırıldığında anlamlı azaldı (p<0.001). Mesna tedavisi (549.0±72.51 ng/mg protein), mesane GSH düzeyindeki azalmayı önledi (p<0.05). Sita tedavilerinin ise etkisi olmadı (Şekil 11).



Şekil 11. Deney gruplarına ait mesane dokularında GSH düzeyi. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=6-7). ***p<0.001 ve **p<0.01 kontrol grubu; ###p<0.001 ve #p<0.05 CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.

4.4. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında IL-1 β Düzeyi Üzerine Etkisi

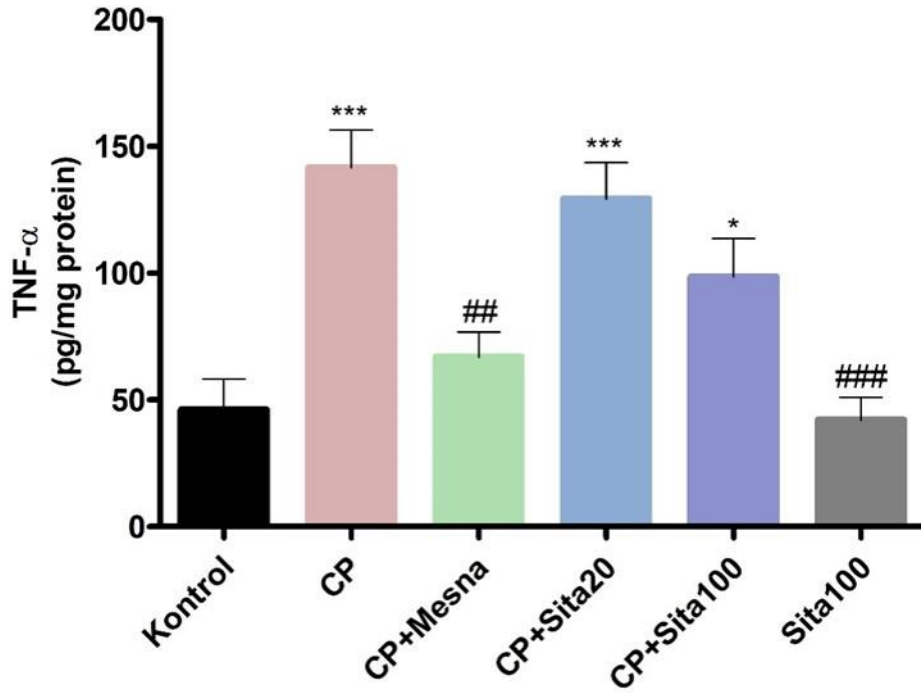
CP uygulaması, mesane IL-1 β düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışa neden oldu (sırasıyla 223.3±37.30 ve 44.33±6.631 pg/mg protein; p<0.001). Mesna (94.50±11.01 pg/mg protein) ve 100 mg/kg dozda Sita (119.90±10.28 pg/mg protein) tedavileri, mesane IL-1 β düzeyindeki artışı önledi. 20 mg/kg dozda Sita tedavisinin ise etkisi olmadı (p>0.05, Şekil 12).



Şekil 12. Deney gruplarına ait mesane dokularında IL-1 β düzeyi. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunuldu (n=6-7). ***p<0.05 kontrol grubu; #p<0.05, ##p<0.01 ve ###p<0.001 CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.

4.5. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında TNF- α Düzeyi Üzerine Etkisi

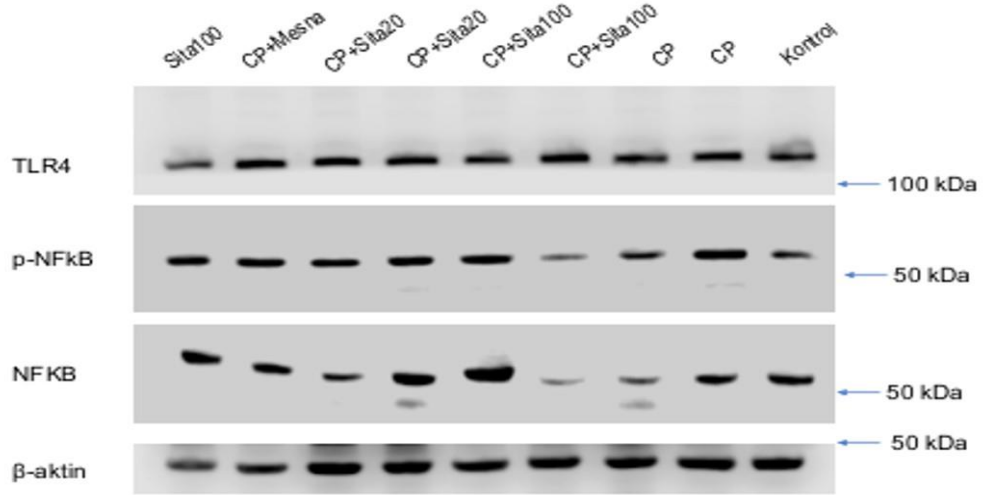
CP uygulaması, mesane TNF- α düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışa neden oldu (sırasıyla 141.5 $\pm$ 14.91 ve 45.99 $\pm$ 12.23 pg/mg protein; p<0.001). Mesna tedavisi (66.81 $\pm$ 9.99 pg/mg protein), mesane TNF- α düzeyindeki artışı önledi (p<0.01). Sita tedavilerinin ise etkisi olmadı (p>0.05, Şekil 13).



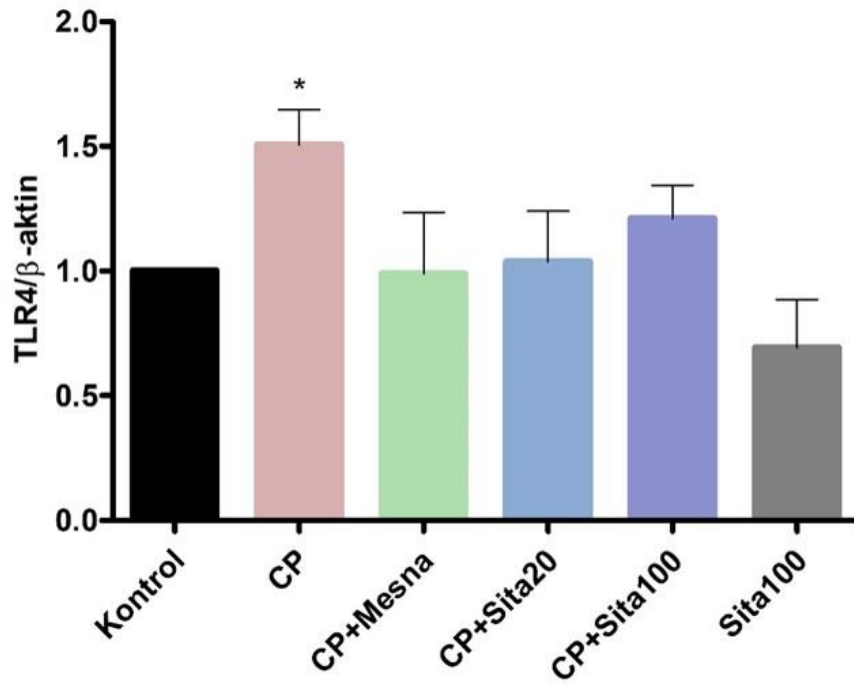
Şekil 13. Deney gruplarına ait mesane dokularında TNF- α düzeyi. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunuldu (n=6-7). ***p<0.01 ve *p<0.05 kontrol grubu; ###p<0.001 ve ##p<0.01 CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin.

4.6. CP ile İndüklenen Sistit Modelinde Sita Tedavisinin Mesane Dokularında TLR4 ve NFkB Protein Ekspresyon Düzeyi Üzerine Etkisi

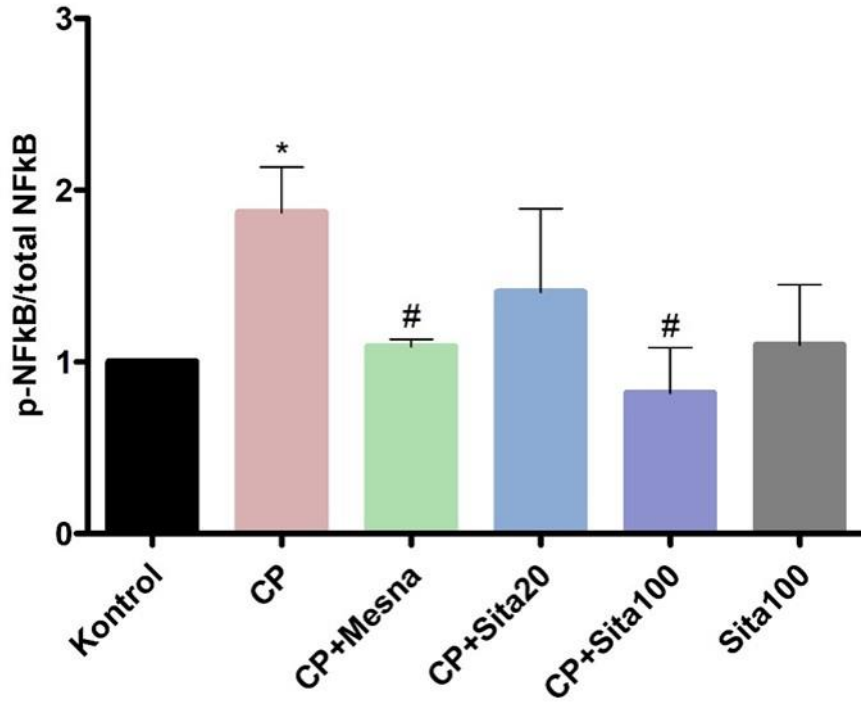
CP uygulaması, mesane dokularında TLR4 protein ekspresyonu düzeyinde anlamlı artışa neden oldu (p<0.05). Mesna ve Sita tedavileri CP uygulanan farelerin mesane dokularında, TLR4 protein ekspresyonu düzeyinde değişikliğe neden olmadı (p>0.05, Şekil 14,15). CP uygulaması, NFkB fosforilasyon düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışa neden oldu (p<0.05). Mesna ve 100 mg/kg dozda Sita tedavileri, NFkB fosforilasyon düzeyinde CP'nin neden olduğu artışı önledi (p<0.05). 20 mg/kg dozda Sita tedavisinin ise etkisi olmadı (Şekil 14, 16).



Şekil 14. Deney gruplarına ait mesane dokularında TLR4, p-NFkB, total NFkB ve β-aktin ekspresyonunu gösteren temsili membran görüntüleri. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-6). CP, siklofosfamid. NFkB, Nükleer faktör-kappa B. Sita, sitagliptin. TLR4, Toll benzeri reseptör 4.



Şekil 15. Mesane dokularında TLR4 protein ekspresyon düzeyi. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-7). CP, siklofosfamid. Sita, sitagliptin. TLR4, Toll benzeri reseptör 4.



Şekil 16. Mesane dokularında NFkB fosforilasyon düzeyi. Veriler ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-6). *p<0.05 kontrol grubu; #p<0.05 CP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. CP, siklofosfamid. NFkB, Nükleer faktör-kappa B. Sita, sitagliptin.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

IC; nokturi, sık idrara çıkma ve suprapubik ağrı ile karakterize olan etiyolojisi henüz saptanmamış mesanenin inflamatuvar bir hastalığıdır. IC semptomları hastadan hastaya farklılık göstermekte olup, pelvik ağrı ve günlük aktivitelerin kısıtlanması hastalığın değişmeyen bulgularıdır (1). Onlarca yıl süren temel ve klinik araştırmalara rağmen IC'in tedavisi zordur ve her biri tek bir etiyolojiye yönelik olan çeşitli tedaviler kullanılmaktadır (2). IC hastanın yaşam kalitesi üzerinde ciddi olumsuz etkiye sahip olabilen rahatsız edici bir durum olup, görülme sıklığı dünya çapında artmaktadır (3). Depresif bozukluklar, anksiyete, uyku bozukluğu ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları bildiren bazı raporlarla birlikte, hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileme potansiyeli vardır (45).

IC altında yatan patojenik mekanizmalar arasında ürotelyuma verilen hasar ve buna bağlı olarak mesane permeabilitesinde artış, nörojenik inflamasyon ve mast hücre aktivasyonunun yanı sıra nöronal ve immün fonksiyondaki değişiklikler yer almaktadır (49). IC patogenezi açıklamak için birçok teori önerilmiş ancak hiçbirinin doğruluğu kesin olarak kanıtlanamamıştır (58). Yapılan çalışmalar sonucunda hastalığın patogenezinin tam olarak aydınlatılamamasından dolayı hastalara mevcut uygulanan tedaviler semptomatik olup genellikle yetersiz olmaktadır (47).

Bu çalışmada CP ile indüklenen deneysel sistit olgularında Sita'nın üroprotektif etkisi ve bu etkide önemli bir rol oynayabileceğini düşündüğümüz TLR-4/ NFκB sinyal yolağıyla ilişkisini fonksiyonel, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Literatür araştırmaları sonucunda çalışmamızda sitagliptinin etkinliğinin değerlendirmek üzere deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilen 20 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün dozları farelere uygulanmak üzere seçilmiştir. Öncelikli hedefimiz Sita'nın literatürde daha önce incelenmemiş CP ile oluşturulan akut sistit modelindeki üroprotektif etkinliğini değerlendirmektir. Yapılan literatür taramalarında CP kaynaklı akut sistitten koruma ve tedavide Sita'nın kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri birçok araştırmada gösterilmiş olan Sita'nın CP ile indüklenmiş akut sistit modelindeki üroprotektif etkisi fonksiyonel, moleküler ve biyokimyasal açıdan incelenmiştir.

Çalışmamızda akut sistit modeli oluşturmak için literatür taranmış ve 300 mg/kg/gün CP tek bir doz şeklinde uygulanmıştır. Klinik uygulama sıklığı nedeniyle CP'nin i.p.

uygulama yolu seçilmiştir. Farelerde CP'nin neden olduğu mesane hasarına karşı Sita'nın etkisini görebilmek için 6 gruptan oluşan bir çalışma düzeneği oluşturuldu. Çalışmada kontrol grubundaki farelere 5 gün boyunca sadece i.p. yolla serum fizyolojik, CP grubundaki hayvanlara ise 5 gün boyunca SF ve 5.günde CP verildi. Çalışmada CP'ye karşı mesnanın önleyici ya da tedavi edici etkisini görmek için "CP+Mesna" grubu da oluşturuldu. Yapılan literatür araştırmasında CP ile ilişkili akut sistit modelinde i.p. yolla mesna uygulamasının (30 mg/kg/gün) kemoterapötik ajandan 20 dk önce ve 4, 8 saat sonra verildiğinde en etkili protokol olduğu görülmüştür (65). Diğer iki grupta etken maddemiz olan Sita'nın 20 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün olmak üzere iki farklı dozu 5 gün boyunca i.p. verilmiş ve 5. gün son Sita dozundan 30 dk sonra CP ile akut sistit indüklenmiştir. Son grupta ise sadece Sita farelere 100 mg/kg/gün dozunda 5 gün boyunca i.p. olarak verilmiş, kendisinin süreçte tek başına nasıl bir etkisinin olduğuna bakılmıştır.

CP; lösemi, lenfomalar ve solid tümörler dahil olmak üzere çeşitli maligniteler için yaygın olarak kemoterapötik ve immünoşüpresif bir ilaç olarak kullanılan sentetik bir nitrojen mustard grubundan alkilleyici ajandır (58). CP, geniş bir terapötik kullanım yelpazesine sahip olmasına rağmen; ürotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite, immünotoksisite, nefrotoksisite ve pulmoner fibrozis gibi çeşitli toksik etkilerle sıklıkla ilişkilendirilmekte ve bu durum ilacın klinik kullanımını önemli ölçüde kısıtlamaktadır (137, 138). Yüksek doz CP interstisyel sistit olarak da bilinen ve özellikle mesane mukoza hasarı, pelvik ağrı ve mesane disfonksiyonu olarak kendini gösteren sistite neden olmaktadır (61). CP kaynaklı sistit kemirgenlerde sistit için yaygın olarak kullanılan modellerden biridir. Bu model IC ile ortak özelliklerin yanı sıra CP ile tedavi edilen hastalarda oluşan sistit ile birçok özelliği paylaşır. CP, insanlarda ve kemirgenlerde ürotelyumdaki reseptörlerin ve sinyal moleküllerinin ekspresyonu gibi fonksiyonel ve histolojik değişikliklere neden olur. Bununla birlikte CP enjeksiyonundan sonra up-regüle edilmiş aferent ve eferent nöral etkilere bağlı olan daha az işeme hacimleri kaydedilmiş olup, CP'nin ayrıca detrusör aşırı aktivitesini indükleyebileceği bildirilmiştir (77). CP kaynaklı sistitin patogenezeine ilişkin mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olsa da, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtların bu sürecin temel tetikleyicileri olduğu bilinmektedir. CP, karaciğerde metabolize olarak ürotoksik bir metabolit olan akroleine dönüşen bir proilaştır. Bu metabolit, çeşitli hücreyel yolları etkileyerek mesane dokusunda belirgin oksidatif stres ve inflamasyona neden olur (139, 140). Bu durum mesane dokusunda hasara ve ürotelyal hücrelerde kaspaz-3 aracılı apoptoza yol açmaktadır. Bu durumda, CP kaynaklı sistitin tedavisinde antioksidan ve anti-

inflatuar özelliklere sahip ajanlar üzerinde yoğun araştırmalar yürütölmektedir. CP'ye baēlı sistite karşı klinik olarak onaylanmış tek ilaç olan mesna akroleini detoksifiye ederek etki göstermektedir. Ancak mesnanın kullanımı gastrointestinal rahatsızlıklar ve yaşamı tehdit edebilecek aşırı duyarlılık reaksiyonları gibi bazı yan etkilerle ilişkili olmakla birlikte mesna tedavisi gören hastaların %10–40'ında sistit gelişmeye devam etmekte olup, bu durum mesnanın koruyucu etkinliğinin sınırlı kaldığını ortaya koymaktadır (141, 142). Bu nedenle günümüze kadar, CP kaynaklı sistitin tedavisinde da güvenilir antioksidan ve antiinflatuar özelliklere sahip birçok bileşik araştırılmıştır; ancak bu durumu tedavi etmek amacıyla klinik olarak onaylanmış bir ajan henüz bulunmamaktadır (143, 144). Tüm bu bilgiler doğrultusunda CP uygulaması yoluyla oluşturulan model, hem CP'nin mesane üzerindeki toksik etkilerinin mekanizmasını incelemek hem de olası tedavi edici ajanların etkinliğini deēerlendirmek için uygun, güvenilir ve klinik durumu yansıtan bir deneysel model sunmaktadır. Bu nedenlerle, çalışmamızda CP kullanılarak farelerde akut sistit modeli oluşturulmasına karar verdik.

CP ile indöklenen interstisyel sistit, mesane kapasitesinde azalma, mesane düz kasının kontraksiyonlarında artma ve küçük volömlerde sık ürinasyon ile karakterize olup mesanede ciddi ödem oluşumu ve mukozal hematomlu hemorajiler olması gözlenen deēişikliklerden bir kısmıdır (138, 139, 140). Yapılan bir çalışmada CP ile sistit modeli oluşturulan deney gruplarındaki ratların mesane dokularının makroskopik incelemesi yapıldığında, CP grubunun mesane dokularında ödemleşme olduēu, hemorajiler meydana geldiēi görölmüş olup CP grubundaki ratların mesane dokularının ebatları diēer gruplardakinden daha büyük olduēu tespit edilmiştir (141). Bu çalışmada mesanede inflamasyonun bir göstergesi olan mesane ödemini araştırmak için farelerin mesane aēırlığı/vücut aēırlığı oranı deēerlendirildi. Bu oranda, CP uygulanan farelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış oldu. Aynı zamanda CP uygulamasından 24 saat sonra her bir gruba ait mesane dokularının görüntülerinden CP grubunun mesanesinin hemorajik bir görünümde olduēunu gördük (Resim 8). Bu durum bize deney modelinin başarılı bir şekilde olduēunu gösterdi. Mesna tedavisi, CP grubuna göre bu oranı anlamlı olarak azalttı (Şekil 6). Sitagliptinin CP uygulamasına baēlı oluşan semptomları azaltabileceēi öngörüsüyle “CP+Sita20” ve “CP+Sita100” grupları oluşturuldu. Sitagliptin (20 ve 100 mg/kg) tedavisinin mesane aēırlığı/vücut aēırlığı oranına bir etkisinin olmadığı göröldü (Şekil 6).

Yapılan çalışmalarda CP kaynaklı mesane disfonksiyonu; sistometri, boşaltım noktası testi ve detrüsör kası kasılma çalışmaları gibi çeşitli yöntemlerle değerlendirilmiştir (142, 143). Mevcut çalışmamızda, mesane fonksiyonunu fare detrüsör şeritlerinin izometrik gerginliğinin ölçümü olarak değerlendirdik. Önceki çalışmalarla uyumlu olarak, muskarinik reseptör agonisti CCh ile uyarılan kasılmaların CP grubunun detrüsör şeritlerinde önemli ölçüde azaldığını (Şekil 9), KCl (80 mM) ile uyarılan kasılma tepkilerinin ise gruplar arasında değişmediğini gösterdik (Şekil 7); bu durumun önceki çalışmalarla uyumlu olduğunu gördük (144, 145). Mesna ve 100 mg/kg dozda Sita tedavileri ise, CP grubunda CCh ile indüklenen maksimum kasılma yanıtındaki azalmayı önlerken, 20 mg/kg dozda Sita tedavisi ise CCh ile indüklenen detrüsör kasılmaları üzerine etkisi olmadığını gördük (Tablo 6). Bu çalışmamızda önceki araştırmalarla uyumlu olarak, tek doz CP uygulamasının CCh ile indüklenen kasılmaları belirgin şekilde azalttığını ve 100 mg/kg Sita tedavisinin CP kaynaklı akut sistitte CCh ile indüklenen maksimum kasılma yanıtındaki azalmayı önlediğini gösterdik (Tablo 6). Bu etkinin kesin mekanizmasını tanımlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, sonuçlar 100 mg/kg Sita tedavisinin farelerde CP kaynaklı mesane disfonksiyonunu fonksiyonel olarak iyileştirdiğini göstermektedir.

Sita, T2DM tedavisinde kullanılmasının yanında potansiyel antioksidan özellikleri çeşitli prelinik ve klinik çalışmalarda dikkat çekmiştir. Örneğin, Abbas ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, Sita'nın bir fare modelinde lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stres belirteçlerini önemli ölçüde azalttığını ve kaygı ile oksidatif stres tepkileriyle bağlantılı davranış kalıplarında iyileşmelere yol açtığını göstermiştir. Bu durum, Sita'nın serbest radikalleri etkin bir şekilde temizleyip oksidatif stres mekanizmalarını düzenleyebileceğini göstererek, onu diyabet yönetiminin ötesinde terapötik uygulamalar için potansiyel bir aday haline getirir (5). Çalışmalar Sita'nın, ROS üretimini azaltarak oksidatif stresi hafiflettiği ve TLR4/NF- κ B sinyal yolunu baskılayarak TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığını göstermiştir. Yapılan bir çalışmada farelere oral olarak verilen 20 mg/kg Sita'nın; NF κ B sinyal yolunu düzenleyerek TNF- α ve IL-1 β inflamatuvar mediyatörleri inhibe ettiğini gösterilmiştir (100). Çalışmamızda CP uygulaması, mesane IL-1 β düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışa neden olduğu görüldü. Mesna ve 100 mg/kg Sita tedavileri mesane IL-1 β düzeyindeki artışı önledi. 20 mg/kg dozda Sita tedavisinin ise etkisi olmadı (Şekil 12). CP uygulaması, mesane TNF- α düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışa neden oldu. Mesna tedavisi

mesane TNF- α düzeyindeki artışı önlerken, Sita tedavilerinin ise bir etkisi olmadığı görüldü (Şekil 13). Bu çalışmada CP uygulamasının mesanede anlamlı düzeyde IL-1 β ve TNF- α artışına neden olduğu bulgusu; CP'nin mesane dokusunda inflamatuvar yanıtı güçlü bir şekilde uyardığını ve sistit modelinde IL-1 β ve TNF- α 'nın inflamasyonun önemli bir belirteci olduğunu ortaya koymaktadır. Mesna tedavisinin hem IL-1 β hem de TNF- α düzeylerini anlamlı şekilde baskılaması, mesanın CP'ye bağlı inflamatuvar yanıt üzerinde geniş spektrumlu antiinflamatuvar etkilere sahip olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık, 100 mg/kg dozda uygulanan Sita tedavisinin sadece IL-1 β düzeylerini anlamlı şekilde azaltırken, TNF- α düzeyleri üzerinde belirgin bir etkide bulunmamış olması Sita'nın inflamasyonun belirli bileşenlerini hedef alabileceğini düşündürmektedir. Sita'nın IL-1 β üretimini hangi yollar üzerinden baskıladığına dair daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Diğer taraftan TNF- α 'nın üretimi için etkili olan yollar Sita tarafından yeterince baskılanmamış olabileceği düşünülmüştür.

GSH, hücre içindeki pek çok önemli reaksiyonda görev üstlenir. GSH, serbest radikaller ile diğer reaktif oksijen türlerini etkili bir biçimde temizler. Ayrıca glutatyon, enzimler aracılığıyla dolaylı yoldan da bu zararlı moleküllerin etkilerini azaltmada rol oynar (146). Artan kanıtlar, oksidatif stres ve inflamasyonun CP kaynaklı sistitin başlangıcına ve ilerlemesine katkıda bulunan başlıca faktörler olduğunu desteklemektedir. Ürotoksik metabolit akrolein, antioksidan molekül GSH'ye hızla bağlanır ve hücre içi antioksidan kapasitesini tüketir. Daha önce yapılan çalışmalarda, 300 mg/kg CP'nin hem GSH seviyesinde hem de antioksidan enzim SOD aktivitesinde önemli bir düşüşe neden olduğunu ve bunun da oksidatif stres durumunda artışa neden olduğu belirlendi (147). Çalışmalarda, Sita'nın deneysel olarak indüklenen hepatotoksistide hepatik MDA, GSH düzeylerini ve SOD aktivitesini önemli ölçüde normalleştirdiği görülmüştür. Bu sonuç, Sita'nın ovalbümin ile indüklenen astım modelinde MDA içeriğini azaltarak, GSH seviyesini ve SOD aktivitesini normalleştirerek oksidatif stresi azalttığını gösteren daha önceki bir çalışma ile uyumluydu (89). Başka bir çalışmada ise Con A ile zehirlenmiş farelerin karaciğerinde hepatik oksidatif stres parametresi olan MDA'nın yükseldiği görülmüştür. Buna hepatik dokudaki düşük seviyelerde antioksidanlar, GSH ve SOD eşlik etmiştir. Sita, GSH seviyesi ve SOD aktivitesinde önemli bir artışa ek olarak MDA içeriğinde de önemli bir azalmaya neden olmuştur. (130). Bu çalışmada mesane GSH düzeyi, CP uygulanan farelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı azaldı. Mesna tedavisi, mesane GSH düzeyindeki azalmayı önlerken, Sita tedavilerinin ise bir etkisi olmadı (Şekil 11). Sita tedavisinin mesane

dokusundaki GSH düzeyleri üzerinde anlamlı bir etki göstermemesi, ilacın antioksidan potansiyelinin sınırlı olmasına bağlanabilir. Sita yapılan çalışmalarda bazı dokularda antioksidan etkisinin olduğu bildirilmiş olsa da, mesane dokusunda CP kaynaklı oksidatif stresi yeterince modüle edememiş olabilir. Bunun yanında, Sita'nın etkinliği doku özgüllüğü gösterebilir; mesane dokusundaki oksidatif hasar mekanizmaları ve enzimatik yanıtlar, ilacın antioksidan etkisini sınırlamış olabilir. Tüm bu bulgular ışığında, Sita'nın mesane GSH düzeyleri üzerindeki etkisinin daha kapsamlı biçimde incelenmesi; farklı dozlar, tedavi süreleri ile değerlendirilebilir. Bununla birlikte oksidatif stresin doğrudan belirteçlerinden biri olan lipid peroksidasyonunun ölçümü için MDA düzeyinin incelenmesi, CP'nin neden olduğu oksidatif hasara karşı Sita'nın potansiyel antioksidan etkisi değerlendirilebilir.

TLR4 ekspresyonunu güçlü bir şekilde baskılamasının yanı sıra NF- κ B sinyal kaskadını ve inflamatuvar sitokinlerin salınmasını inhibe etmesi nedeniyle, Sita'nın antiinflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Araştırma, Sita'nın TLR4/NF- κ B sinyal yolunu düzenleyerek antiinflamatuvar etkiler ortaya koyduğunu göstermektedir. Özellikle El-Kashef ve Serrya, Sita'nın bu yolu düzenleyerek farelerde tiyoasetamid kaynaklı akut karaciğer hasarını hafiflettiğini göstererek, inflamatuvar karaciğer hasarına karşı potansiyel koruyucu etkilerini vurgulamıştır (89). Ayrıca, sıçan aortik düz kas hücrelerinde ve miyokard dokusunda yapılan deneysel çalışmalarda da Sita'nın NF- κ B aktivitesini baskıladığı, inflamatuvar ve oksidatif belirteçleri azalttığı, antioksidan enzim aktivitesini artırdığı ve miyeloperoksidaz düzeylerini düşürdüğü ortaya konmuştur (99). Bu veriler, Sita'nın çok yönlü antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerini desteklemektedir.

TLR'ler, öncelikle patojenlere ait moleküller ile hasar görmüş doku ile nekrotik hücrelerden salınan maddeler tarafından aktive edilen membran bağlı glikoproteinler olup doğuştan gelen bağışıklık yanıtında önemli rol oynarlar (148, 149). Yapılan çalışmalar, TLR sinyal yolunun inflamatuvar hastalıkların gelişimi ve ilerlemesinde etkili olan proinflamatuvar yolların uyarılmasına aracılık ettiğini ortaya koymuştur. Özellikle TLR4'ün aktive olması, NF- κ B proteininin fosforilasyonunu artırarak aktif hale gelmesini sağlar ve böylece TNF- α ile IL-1 β gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımını tetikler (150, 151). Bu sebeple, TLR4/NF- κ B sinyal yolu, sistit tedavisinde önemli bir ilaç hedefi olarak kabul edilmektedir. CP kaynaklı sistit modelinde yapılan çalışmalar, TLR4'ün farmakolojik olarak engellenmesinin mesanedeki inflamasyonu önlediğini göstermiştir; bu da TLR4

sinyallemesinin CP'ye bağı mesane hasarında kritik bir rol oynadığını desteklemektedir (4, 98).

TLR'ler idrar yolu sisteminde ifade edilir ve idrar yolu enfeksiyonları, mesane kanseri, mesane disfonksiyonu ve mesane çıkışı tıkanıklığı gibi çeşitli hücrel patolojilere aracılık ederler (148, 152, 153). TLR/NFκB sinyalleme sisteminin yakın zamanda CP ile indüklenen sistitte rol oynadığı gösterilmiştir (4). TLR sinyalleme, proinflatuar sitokinlerin salınımını teşvik ederek inflammatuar yanıtı aracılık eden anahtar transkripsiyon faktörü olan NFκB'nin aktivasyonunu tetikler. İnaktif haldeyken NFκB, inhibitör protein IKBα'ya bağı p50 ve p65 alt birimlerinden oluşan bir heterodimer olarak bulunur. Aktivasyon üzerine IKBα kinaz, NFκB'nin fosforilasyonu yoluyla kompleksin bozunmasını katalize eder ve bu da apoptoz ve inflammatuar yanıtı modüle etmede kritik rolleri olan hedef genlerin transkripsiyonunu indüklediği nükleer translokasyona neden olur (150, 154, 155).

Abo-Haded ve arkadaşları (2017), Sita'nın antiinflammatuar ve antiapoptotik aktivite ile NFκB sinyal yolunun modülasyonu ile metotreksat indüksiyonlu hepatotoksisteyi iyileştirdiğini bildirmiştir (125). Mevcut veriler, Sita tarafından hepatositlerde DPP-4 aktivitesinin spesifik olarak inhibe edilmesinin, diyabetik koşullar altında hücre apoptozunun yanı sıra NFκB yolunun ve oksidatif stresin aktivasyonunun azalmasına katkıda bulunduğunu ve Sita'nın ROS temizleme fonksiyonunun NFκB yolunun deaktivasyonunu teşvik ettiğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada Sita'nın, NFκB yolunun aktivasyonunu engelleyebilen streptozosin ile sıçanlarda oluşturulan diyabette hepatotoksisteyi etkili bir şekilde azaltabilen ROS temizleyici bir rol oynadığı bulunmuştur. DPP-4'ün hepatositlerdeki aktivitesinin Sita tarafından spesifik olarak inhibe edilmesi, diyabetik koşullar altında NFκB yolunun ve oksidatif stresin yanı sıra hücre apoptozunun azalmasına katkıda bulunur. Sita'nın ayrıca TLR4/NFκB sinyal yolu aracılığıyla farelerde tiyoasetamid tarafından indüklenen akut karaciğer hasarını iyileştirebildiği görülmüştür (89). Önceki çalışmalarda, Sita'nın oksidatif stres, lipid metabolizması ve inflammatuar mediyatörlerin düzenlenmesi yoluyla deneysel steatohepatit modellerinde hepatoprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, son çalışmalar Sita'nın Nrf2 ve NF-κB sinyal yolları üzerinden etki ederek metotreksat toksisitesi sırasında inflammatuar ve apoptotik yanıtları baskıladığını da ortaya koymuştur. Benzer şekilde, tiyoasetamid kaynaklı karaciğer hasarında Sita'nın NLPR3 inflammatuar oluşumunu ve TLR4 ile NF-κB protein ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir. NF-κB yolları, hepatik hasar süreçlerinde kritik bir

rol oynamakta ve p65 alt birimindeki artışın çeşitli kronik hastalıkların patogenezinde etkili olduğu bilinmektedir. Mevcut çalışmada da, T2DM'nin NF- κ B/p65 ekspresyonunu artırdığı ve Sita tedavisinin bu artışı anlamlı şekilde baskıladığı görülmüştür. Bu bulgular, Sita'nın NF- κ B sinyal iletim yolu üzerindeki inhibitör etkisini vurgulamakta ve literatürdeki önceki verilerle uyumluluk göstermektedir (127). Jiang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Sita (10 ve 20 mg/kg) tedavisi dietilnitrozamin ile indüklenen karaciğer kanseri modelinde sıçanlarda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerini düşürmüştü ve aynı zamanda NF- κ B ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır (128). Çalışmamızda, TLR sinyal yolu ile ilişkili proteinlerin ekspresyon düzeylerini western blotting yöntemiyle analiz ederek, TLR/NF κ B sinyal iletiminin Sita'nın CP kaynaklı sistit üzerindeki etkisindeki rolünü belirledik. Çalışmamızda CP uygulaması, mesane dokularında TLR4 protein ekspresyonu (Şekil 15) ve NF κ B fosforilasyon düzeyinde anlamlı artışa neden oldu (Şekil 16). Mesna ve Sita tedavileri ise CP uygulanan farelerin mesane dokularında, TLR4 protein ekspresyonu düzeyinde değişikliğe neden olmadı. Buna karşı mesna ve 100 mg/kg dozda Sita tedavileri, NF κ B fosforilasyon düzeyinde CP'nin neden olduğu artışı önledi. 20 mg/kg dozda Sita tedavisinin ise bir etkisinin olmadığı görüldü. Sonuçlarımızda, TLR4 aracılı NF κ B sinyal iletiminin CP kaynaklı sistitte mesane iltihabına aracılık ettiğini ve mesna ve 100 mg/kg Sita tedavilerinin CP ile tedavi edilen farelerin mesanesinde TLR4 aracılı NF κ B sinyal iletimini üzerinde bir etkisinin olmadığını gördük. Proinflamatuvar sitokinlerin üretiminden sorumlu olan ana transkripsiyon faktörü NF κ B ve aktif formunun CP ile indüklenen akut sistitte ekspresyon düzeylerini değerlendirdik. Sonuçta Sita tedavisinin inflamatuvar yolağa etkisini değerlendirdiğimizde; 100 mg/kg dozda Sita tedavisi alan grupta, NF κ B fosforilasyon düzeyinde CP kaynaklı sistit grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldı (Şekil 16) ancak TLR4 ekspresyon düzeyinde anlamlı bir değişiklik olmadı (Şekil 15). Bu çalışmalara dayanarak tedavi grubunda TLR4 düzeyinde bir değişim görülmeyip, p-NF κ B/total NF κ B oranındaki değişimin, Sita'nın TLR4 reseptör düzeyinden bağımsız bir şekilde NF κ B aktivasyonunu baskıladığından kaynaklanabileceği öngörülebilir.

Bu tez çalışmasında, klinikte T2DM tedavisinde kullanılan Sita'nın CP kaynaklı IC modelindeki potansiyel üroprotektif etkisini araştıran ilk çalışmadır. Sita'nın kesin üroprotektif mekanizmalarını ve inflamatuvar süreçlerle ilişkisini açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen sonuçlarımız, mesanedeki inflamatuvar yanıtı gösteren bazı parametreleri düzenleyerek Sita'nın CP kaynaklı akut sistitte terapötik etkisini gösteren kanıtlar sunmaktadır. Ayrıca Sita'nın sistit patofizyolojisine etkilerini daha iyi

anlayabilmek için farklı dozlar, tedavi süreleri veya farklı model uygulamalarıyla daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. KAYNAKLAR

1. Atuğ F Canoruç N (2005). İnterstisyel Sistit: Kronik Pelvik Ağrı Sendromu. Dicle Tıp Dergisi 32(4): 204-210.
2. Belknap S, Blalock E, Erickson D (2015). The Challenges of Interstitial Cystitis: Current Status and Future Prospects. Drugs 75: 2057-2063.
3. Davis N, Brady C, Creagh T (2014). Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome: Epidemiology, Pathophysiology and Evidence-Based Treatment Options. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 175: 30-37.
4. de Oliveira MG, Mónica FZ, Calmasini FB, Alexandre EC, Tavares EB, Soares AG, Costa SK, Antunes E (2018). Deletion or Pharmacological Blockade of Tlr4 Confers Protection against Cyclophosphamide-Induced Mouse Cystitis. American Journal of Physiology-Renal Physiology 315(3): F460-F468.
5. Abbas AS, Selman SM, Mahrath AJ (2024). The Impact of Sitagliptin on Sodium Valproate-Induced Autism in a Mouse Model. Medical Journal of Babylon 21(3): 544-550.
6. Mahadevan V (2019). Anatomy of the Lower Urinary Tract. Surgery (Oxford) 37(7): 351-358.
7. Andersson K-E Arner A (2004). Urinary Bladder Contraction and Relaxation: Physiology and Pathophysiology. Physiological Reviews 84(3): 935-986.
8. Guyton AC Hall JE (2017) Guyton Ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Güneş Tıp Kitabevleri.
9. Moore KL Dalley AF (2018) Clinically Oriented Anatomy. Wolters kluwer india Pvt Ltd.
10. Shermadou ES, Rahman S, Leslie SW (2018). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Bladder.
11. Lanzotti NJ, Tariq MA, Bolla SR (2019). Physiology, Bladder.
12. Sam P, Nassereddin A, LaGrange CA (2018). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Bladder Detrusor Muscle.
13. Moore KL, Dalley AF, Agur A (1992). Lower Limb. Clinically Oriented Anatomy 3: 403-468.
14. Sivrioğlu K (2005). Mesane Anatomisi Ve İşeme Fizyolojisi. Türk Fiz Tıp Rehab Dergisi 51: 16-8.
15. de Groat WC (1993). Synaptic Transmission in Pelvic Ganglia. The autonomic nervous system., Nervous Control of The Urogenital System 3: 291-347.

16. Yoshimura N De Groat WC (1997). Neural Control of the Lower Urinary Tract. *International Journal of Urology* 4: 111-125.
17. Hall J (2013). *Guyton Ve Hall Tıbbi Fizyoloji* (12. Basım). Çev: Ö. Yılmaz). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
18. Kanai A Andersson K-E (2010). Bladder Afferent Signaling: Recent Findings. *The Journal of Urology* 183(4): 1288-1295.
19. Aykanat C, Aslan B, Aslan Y (2020). Omurilik Yaralanmalı Hastalarda Ürogenital Sorunlar Ve Tedavileri. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 30(3): 492-500.
20. Özyurt C, Nörofizyolojisi ŞAM, Mekanizması K (2009). Yalçın Ö (Editör). *Temel Ürojinekoloji* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri: 21-6.
21. Hayta SC (2013). Mesane Anatomisi Ve Nörofizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Physical Medicine Rehabilitation-Special Topics* 6(2): 1-7.
22. Hegde S, Choppin A, Bonhaus D, Briaud S, Loeb M, Moy T, Loury D, Eglen R (1997). Functional Role of M2 and M3 Muscarinic Receptors in the Urinary Bladder of Rats in Vitro and in Vivo. *British journal of pharmacology* 120(8): 1409-1418.
23. Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Peters CA (2015). *Campbell-Walsh Urology E-Book: 4-Volume Set*. Elsevier Health Sciences.
24. Andersson K-E Wein AJ (2004). Pharmacology of the Lower Urinary Tract: Basis for Current and Future Treatments of Urinary Incontinence. *Pharmacological reviews* 56(4): 581-631.
25. Tanagho E Üroloji MJSG (2009). 17. Baskı. İstanbul: Nobel: 1-254.
26. Yamaguchi O Chapple CR (2007). B3-Adrenoceptors in Urinary Bladder. *Wiley Online Library* 26 752-756.
27. Kenneth, S.S. (2020). *Anatomy & physiology: The Unity of Form and Function*. McGraw Hill.
28. Thor K, Morgan C, Nadelhaft I, Houston M, WC De Groat (1989). Organization of Afferent and Efferent Pathways in the Pudendal Nerve of the Female Cat. *Journal of Comparative Neurology* 288(2): 263-279.
29. De Groat, W.C. (1986). Spinal Cord Projections and Neuropeptides in Visceral Afferent Neurons. *Progress in Brain Research* 67: 165-187.
30. Pontari MA, Braverman AS, Ruggieri Sr MR (2004). The M2 Muscarinic Receptor Mediates in Vitro Bladder Contractions from Patients with Neurogenic Bladder

- Dysfunction. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 286(5): R874-R880.
31. Müftüoğlu Y, Karaoğlu Ü, Özkardeş H, Anafarta K, Göğüş O, Arıkan N, Bedük Y (1998). Ürogenital Sistem Fizyolojisi, 3. Bölüm, Böbrek, Pelvis Renalis ve Üreterler, Alt Üriner Sistem, Temel Üroloji, Güneş Kitap Evi, Ankara: 39-43.
 32. Fry CH Vahabi B (2016). The Role of the Mucosa in Normal and Abnormal Bladder Function. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 119: 57-62.
 33. Jafari NV Rohn JL (2022). The Urothelium: A Multi-Faceted Barrier against a Harsh Environment. Mucosal Immunology 15(6): 1127-1142.
 34. Acharya P, Beckel J, Ruiz WG, Wang E, Rojas R, Birder L, Apodaca G (2004). Distribution of the Tight Junction Proteins Zo-1, Occludin, and Claudin-4,-8, and-12 in Bladder Epithelium. American Journal of Physiology-Renal Physiology 287(2): F305-F318.
 35. Andersson K-E (2004). Detrusor Contraction. Scandinavian Journal of Urology and Nephrology 38(215): 54-57.
 36. Brading, A. and J. Williams (1990). Contractile Responses of Smooth Muscle Strips from Rat and Guinea-pig Urinary Bladder to Transmural Stimulation: Effects of Atropine and Alpha, Beta-Methylene ATP. British journal of pharmacology 99(3): 493.
 37. Takeda M, Obara K, Mizusawa T, Tomita Y, Arai K, Tsutsui T, Hatano A, Takahashi K, Nomura S (1999). Evidence for B3-Adrenoceptor Subtypes in Relaxation of the Human Urinary Bladder Detrusor: Analysis by Molecular Biological and Pharmacological Methods. The Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics 288(3): 1367-1373.
 38. Sacco E Bientinesi R (2012). Mirabegron: A Review of Recent Data and Its Prospects in the Management of Overactive Bladder. Therapeutic Advances in Urology 4(6): 315-324.
 39. Kaneda T., Takeuchi M., K., Urakawa N., Nakajyo S., Mochizuki-Kobayashi M., UEDA F., Hondo R. (2006). Inhibitory Mechanism of Monensin on High K⁺-Induced Contraction in Guinea-Pig Urinary Bladder. Journal of pharmacological sciences 100(2): 133-141.
 40. Dinçel N (2023). Mesane Anatomisi Ve Fizyolojisi. Türkiye Klinikleri Pediatric Nephrology-Special Topics 4(1): 1-6.

41. Cabelin M, Te A, Kaplan S (2001). Urogenital Physiology. Downey & Darling's Physiological Basis of Rehabilitation Medicine 3th. ed. Woburn: Butterworth-Heinemann: 191-208.
42. Kirshblum, S. (2002). Neurogenic Bladder Following Spinal Cord Injury. Spinal Cord Medicine, 1st ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
43. Cortivo R, Pagano F, Passerini G, Abatangelo G, Castellani I (1981). Elastin and Collagen in the Normal and Obstructed Urinary Bladder. British Journal of Urology 53(2): 134-137.
44. de Groat C., Vizzard M., Araki I., Roppolo J. (1996). Spinal Interneurons and Preganglionic Neurons in Sacral Autonomic Reflex Pathways. Progress in Brain Research 107: 97-111.
45. Offiah I, McMahon S, O'Reilly B (2013). Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome: Diagnosis and Management. International urogynecology journal 24: 1243-1256.
46. Davis NF, Gnanappiragasam S, Thornhill JA (2015). Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome: The Influence of Modern Diagnostic Criteria on Epidemiology and on Internet Search Activity by the Public. Translational Andrology and Urology 4(5): 506.
47. Önen B. (2020). Bölüm 6 İnterstiyel Sİstİt Tedavİsİnde Yenİ Yaklaşİmlar. SAĞLIK ARAŞTIRMALARINDA: 147.
48. Patnaik SS, Laganà AS, Vitale SG, Buttice S, Noventa M, Gizzo S, Valenti G, Rapisarda AMC, La Rosa VL, Magno C (2017). Etiology, Pathophysiology and Biomarkers of Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome. Archives of gynecology and obstetrics 295: 1341-1359.
49. Alexandre EB, Soares AG, Costa SK, Antunes E (2018). Deletion or Pharmacological Blockade of Toll-Like Receptor 4 (Tlr4) Confers Protection against Cyclophosphamide-Induced Mouse Cystitis 2.
50. Wein A, Hanno P, Gillenwater J (1990). Interstitial Cystitis: An Introduction to the Problem, in Interstitial Cystitis. Springer 3-15.
51. Colemeadow J, Sahai A, Malde S (2020). Clinical Management of Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis: A Review on Current Recommendations and Emerging Treatment Options. Research and Reports in Urology: 331-343.

52. Katz A, Epelman S, Anelli A, Gorender EF, Cruz SM, Oliveira RM, Marques LA (1995). A Prospective Randomized Evaluation of Three Schedules of Mesna Administration in Patients Receiving an Ifosfamide-Containing Chemotherapy Regimen: Sustained Efficiency and Simplified Administration. *Journal of cancer Research and Clinical Oncology* 121: 128-131.
53. Scheulen ME, Niederle N, Bremer K, Schütte J, Seeber S (1983). Efficacy of Ifosfamide in Refractory Malignant Diseases and Uroprotection by Mesna: Results of a Clinical Phase II-Study with 151 Patients. *Cancer Treatment Reviews* 10: 93-101.
54. Brock N Pohl J (1983). The Development of Mesna for Regional Detoxification. *Cancer Treatment Reviews* 10: 33-43.
55. Shaw I, Graham M, Jones M (1986). The Fate of [14c]-Mesna in the Rat. *Arzneimittel-forschung*. 36(3): 487-489.
56. Soysal, T. (2004). Hemorajik sistit. *Türk Hematol Derneği Kan ve Kemik İliği Transplantasyonu Kursu*. Erişim tarihi. 1: 2020.
57. Reinhold-Keller E, Mohr J, Christophers E, Nordmann K, Gross W (1992). Mesna Side Effects Which Imitate Vasculitis. *The Clinical Investigator* 70: 698-704.
58. Evans RJ (2002). Treatment Approaches for Interstitial Cystitis: Multimodality Therapy. *Reviews in Urology* 4(Suppl 1): S16.
59. Chancellor MB Yoshimura N (2004). Treatment of Interstitial Cystitis. *Urology* 63(3): 85-92.
60. Korany M, Ritacco I, Dabbish E, Sicilia E, Shoeib T (2022). Analysis of the Fragmentation Pathways for the Collision-Induced Dissociation of Protonated Cyclophosphamide: A Mass Spectrometry and Quantum Mechanical Study. *Journal of Chemical Information and Modeling* 62(18): 4411-4419.
61. Yılmaz S Kaya E (2018). Ratlarda Siklofosfamid ile Oluşturulmuş Hemorajik Sistitte Propolis Ve Enginarın Koruyucu Etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 32(2): 93-98.
62. Hassanein EH, Ahmed MA, Sayed AM, Rashwan EK, Abd El-Ghafar OA, Mahmoud AM (2021). Edaravone Mitigates Hemorrhagic Cystitis by Modulating Nrf2, Tlr-4/Nf-Kb, and Jak1/Stat3 Signaling in Cyclophosphamide-Intoxicated Rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 35(11): e22889.

63. Zhang H, Zhao J, Lu Q, Sun B, Liu X, Yang C, Li S, Li L, Yi S, Yang Z (2021). Luteolin Improves Cyclophosphamide-Induced Cystitis through Txnip/Nlrp3 and Nf-Kb Pathways. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2021(1): 1718709.
64. Chan CM, Frimberger AE, Moore AS (2016). Incidence of Sterile Hemorrhagic Cystitis in Tumor-Bearing Dogs Concurrently Treated with Oral Metronomic Cyclophosphamide Chemotherapy and Furosemide: 55 Cases (2009–2015). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 249(12): 1408-1414.
65. Brock N, Pohl J, Stekar J (1981). Studies on the Urotoxicity of Oxazaphosphorine Cytostatics and Its Prevention—I: Experimental Studies on the Urotoxicity of Alkylating Compounds. *European Journal of Cancer* 17(6): 595-607.
66. Gray K., Engelmann U.H., Johnson E.H., Fishman I.J. (1986). Evaluation of Misoprostol Cytoprotection of the Bladder with Cyclophosphamide (Cytosan) Therapy. *The Journal of Urology* 136(2): 497-500.
67. Smith D.R., Balashov K., Hafler D., Khoury S., Weiner D.R (1997). Immune Deviation Following Pulse Cyclophosphamide/methylprednisolone Treatment of Multiple Sclerosis: Increased Interleukin-4 Production and Associated Eosinophilia. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 42(3): 313-318.
68. Szabó C (1996). The Pathophysiological Role of Peroxynitrite in Shock, Inflammation, and Ischemia-Reperfusion Injury. *Shock* 6(2): 79-88.
69. Virág L., Szabó É, Gergely P., Szabó C (2003). Peroxynitrite-Induced Cytotoxicity: Mechanism and Opportunities for Intervention. *Toxicology Letters* 140: 113-124.
70. Keles I, Bozkurt MF, Cemek M, Karalar M, Hazini A, Alpdagtas S, Keles H, Yildiz T, Ceylan C, Buyukokuroglu ME (2014). Prevention of Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis by Resveratrol: A Comparative Experimental Study with Mesna. *International urology and nephrology* 46: 2301-2310.
71. Halliwell B (1991). Drug Antioxidant Effects: A Basis for Drug Selection? *Drugs* 42: 569-605.
72. Ribeiro R, Freitas H, Campos M, Santos C, Figueiredo F, Brito G, Cunha FdQ (2002). Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-1 β Mediate the Production of Nitric Oxide Involved in the Pathogenesis of Ifosfamide Induced Hemorrhagic Cystitis in Mice. *The Journal of urology* 167(5): 2229-2234.

73. Doshi BR, Sajjan VV, Manjunathswamy B (2019). Managing a Side Effect: Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis. *Indian Journal of Drugs in Dermatology* 5(1): 66-71.
74. Almalag HM, Alasmari SS, Alrayes MH, Binhameed MA, Alsudairi RA, Alosaimi MM, Alnasser GA, Abuzaid RA, Khalil N, Abouzaid HH (2021). Incidence of Hemorrhagic Cystitis after Cyclophosphamide Therapy with or without Mesna: A Cohort Study and Comprehensive Literature Review. *Journal of Oncology Pharmacy Practice* 27(2): 340-349.
75. Dornelles FN, Andrade EL, Campos MM, Calixto JB (2014). Role of Cxcr2 and Trpv1 in Functional, Inflammatory and Behavioural Changes in the Rat Model of Cyclophosphamide-Induced Haemorrhagic Cystitis. *British Journal of Pharmacology* 171(2): 452-467.
76. de Souza AWS, Dantas JG, Calich AL, Alverne ARdSM, Gasparin AA, Bianchi D, Yuki EFN, Sacilotto N, Reis Neto ETd, Monticelo OA (2024). Position Statement of the Brazilian Society of Rheumatology on Mesna Use as a Preventive Therapy for Bladder Disease in Patients with Systemic Autoimmune Diseases and Systemic Vasculitis under Cyclophosphamide Treatment. *Advances in Rheumatology* 64: 41.
77. Marshall A, McGrath C, Torigian D, Papanicolaou N, Lal P, Tweed CK (2012). Low-Dose Cyclophosphamide Associated with Hemorrhagic Cystitis in a Breast Cancer Patient. *The Breast Journal* 18(3): 272-275.
78. Saima, Anjum I, Mobashar A, Jahan S, Najm S, Nafidi H-A, Jordan YAB, Bourhia M (2023). Spasmolytic and Uroprotective Effects of Apigenin by Downregulation of Tgf-B and Inos Pathways and Upregulation of Antioxidant Mechanisms: in Vitro and in Silico Analysis.
79. Lee H, Koh BH, Peri LE, Woodward HJ, Perrino BA, Sanders KM, Koh SD (2022). Role of Detrusor Pdgfra⁺ Cells in Mouse Model of Cyclophosphamide-Induced Detrusor Overactivity. *Scientific Reports* 12(1): 5071.
80. Kyung, Y.S., H.Y. Park, and G. Lee (2011). Preservation of Uroplakins by 2-Mercaptoethanesulfonate in Cyclophosphamide-Induced Rat Cystitis. *Archives of Toxicology* 85: 51-57.
81. Beatrice M, Girard B.M, Cheppudira B.P, Cheppudira S, Malley S, Malley Kristin C, Schutz Kristin C, Victor S, Margaret V, Vizzard M (2011). Increased Expression of Interleukin-6 Family Members and Receptors in Urinary Bladder with

- Cyclophosphamide-Induced Bladder Inflammation in Female Rats. *Frontiers in Neuroscience* 5: 20.
82. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (2010). Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer: How Are They Linked? *Free Radical Biology and Medicine* 49(11): 1603-1616.
 83. Sies, H. (2015). Oxidative Stress: a Concept in Redox Biology and Medicine. *Redox Biology* 4: 180-183.
 84. Emecen Ö, İnal BB, Erdenen F, Usta M, Aral H, Güvenen G (2010). Evaluation of Oxidant/Antioxidant Status and Ecp Levels in Asthma. *Turkish Journal of Medical Sciences* 40(6): 889-895.
 85. Fidan A, Küçükkurt I, Eryavuz A, Ciğerci I.H, Yardımcı M, Özdemir A (2009). Effects of shearing procedures on oxidant-antioxidant status in Chios sheep. *Revue Méd Vét* 160(349): 55.
 86. Aktürk E, Kurtoğlu E, Harputluoğlu H (2011). Kanser İlaçlarının Kardiyovasküler Yan Etkileri: Bu Yan Etkiler Nasıl Belirlenmeli, Tedavi Ve Takip Nasıl Yapılmalı? *Journal of Turgut Ozal Medical Center* 18(2): 137-142.
 87. Kim S.H, Lee C, Lim J, Moon C, Bae C, Kim S., Shin D, Park S, Kim H, Kim J (2012). Protective Effects of Pine Bark Extract on Developmental Toxicity of Cyclophosphamide in Rats. *Food and Chemical Toxicology* 50(2): 109-115.
 88. Mohamed BM, Ismail RS, Saleh IG, Abo-Salem OM, El-Sayed E-SM (2022). Olmesartan Ameliorates Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis in Rats Via Nrf2/Ho-1 Signaling Pathway. *Tissue and Cell* 78: 101877.
 89. Ozaki T, Tsubota M, Sekiguchi F, Kawabata A (2018). Involvement of Nf-Kb in the Upregulation of Cystathionine- Γ -Lyase, a Hydrogen Sulfide-Forming Enzyme, and Bladder Pain Accompanying Cystitis in Mice. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 45(4): 355-361.
 90. Sherif IO, Al-Shaalan NH (2018). Vildagliptin Attenuates Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury Via the Tlr4/Nf-Kb Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018(1): 3509091.
 91. El-Kashef DH, Serrya MS (2019). Sitagliptin Ameliorates Thioacetamide-Induced Acute Liver Injury Via Modulating Tlr4/Nf-Kb Signaling Pathway in Mice. *Life Sciences* 228: 266-273.

92. Kawanami D, Takashi Y, Takahashi H, Motonaga R, Tanabe M (2021). Renoprotective Effects of Dpp-4 Inhibitors. *Antioxidants* 10(2): 246.
93. Vykhovanets EV, MacLennan GT, Vykhovanets OV, Cherullo EE, Ponsky LE, Gupta S (2012). Molecular Imaging of Nuclear Factor-Kb in Bladder as a Primary Regulator of Inflammatory Response. *The Journal of Urology* 187(1): 330-337.
94. Wang X-C, Saban R, Kaysen JH, Saban MR, Allen PL, Benes EN, Hammond TG (2000). Nuclear Factor Kappa B Mediates Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in the Urinary Bladder. *The Journal of Urology* 163(3): 993-998.
95. Bonizzi G Karin M (2004). The Two Nf-Kb Activation Pathways and Their Role in Innate and Adaptive Immunity. *Trends in immunology* 25(6): 280-288.
96. Lawrence, T (2009). The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 1(6): a001651.
97. Zhu L, Gong X, Gong J, Xuan Y, Fu T, Ni S, Xu L, Ji N (2020). [Retracted] Notoginsenoside R1 Upregulates Mir-221-3p Expression to Alleviate Ox-Ldl-Induced Apoptosis, Inflammation, and Oxidative Stress by Inhibiting the Tlr4/Nf-Kb Pathway in Huvecs. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 53: e9346.
98. Cui X, Jing X, Lutgendorf SK, Bradley CS, Schrepf A, Erickson BA, Magnotta VA, Ness TJ, Kreder KJ, O'Donnell MA (2019). Cystitis-Induced Bladder Pain Is Toll-Like Receptor 4 Dependent in a Transgenic Autoimmune Cystitis Murine Model: A Mapp Research Network Animal Study. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 317(1): F90-F98.
99. Zhang C, Huang Y, Ouyang F, Su M, Li W, Chen J, Xiao H, Zhou X, Liu B (2022). Extracellular Vesicles Derived from Mesenchymal Stem Cells Alleviate Neuroinflammation and Mechanical Allodynia in Interstitial Cystitis Rats by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation. *Journal of Neuroinflammation* 19(1): 80.
100. Vilsbøll T (2008). Initial Combination Therapy with Sitagliptin, a Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor, and Metformin for Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism* 3(1): 13-19.
101. Tomovic K, Lazarevic J, Kocic G, Deljanin-Ilic M, Anderluh M, Smelcerovic A (2019). Mechanisms and Pathways of Anti-Inflammatory Activity of Dpp-4 Inhibitors in Cardiovascular and Renal Protection. *Medicinal Research Reviews* 39(1): 404-422.

102. Hopsu-Havu VK, Glenner GG (1966). A New Dipeptide Naphthylamidase Hydrolyzing Glycyl-Prolyl-B-Naphthylamide. *Histochemie* 7: 197-201.
103. Mentlein R, Gallwitz B, Schmidt WE (1993). Dipeptidyl-Peptidase Iv Hydrolyses Gastric Inhibitory Polypeptide, Glucagon-Like Peptide-1 (7–36) Amide, Peptide Histidine Methionine and Is Responsible for Their Degradation in Human Serum. *European Journal of Biochemistry* 214(3): 829-835.
104. Gautier J-F, Choukem S-P, Girard J (2008). Physiology of Incretins (Gip and Glp-1) and Abnormalities in Type 2 Diabetes. *Diabetes & Metabolism* 34: S65-S72.
105. Tahrani, A.A., M.K. Piya, A.H. Barnett (2009). Saxagliptin: a New DPP-4 Inhibitor for The Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Advances in Therapy* 26: 249-262.
106. Ahren B (2007). Dpp-4 Inhibitors. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 21(4): 517-533.
107. Holst, J.J., J. Gromada (2004). Role of Incretin Hormones in the Regulation of Insulin Secretion in Diabetic and Nondiabetic Humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 287(2): E199-E206.
108. Gooßen K, Gräber S (2012). Longer Term Safety of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Systematic Review and Meta-Analysis. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 14(12): 1061-1072.
109. Aschner P, Kipnes MS, Lunceford JK, Sanchez M, Mickel C, Williams-Herman DE, Group SS (2006). Effect of the Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Sitagliptin as Monotherapy on Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 29(12): 2632-2637.
110. Deacon, C.F. (2011). Dipeptidyl peptidase-4 Inhibitors in the Treatment of Type 2 Diabetes: a Comparative Review. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 13(1): p. 7-18.
111. Zerilli T, Pyon EY (2007). Sitagliptin Phosphate: A Dpp-4 Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Clinical therapeutics* 29(12): 2614-2634.
112. Hansen KB, Rosner T, Kubryk M, Dormer PG, Armstrong JD (2005). Detection and Elimination of Product Inhibition from the Asymmetric Catalytic Hydrogenation of Enamines. *Organic Letters* 7(22): 4935-4938.
113. Hansen K.B, Hsiao Y, Xu F, Rivera N, Clausen A, Kubryk M, Krska S, Rosner T, Simmons B, Balsells J, Ikemoto N, Sun Y, Spindler F, Malan C, Grabowski E, Armstrong J (2009). Highly Efficient Asymmetric Synthesis of Sitagliptin. *Journal of the American Chemical Society* 131(25): 8798-8804.

114. Herman GA, Mistry GC, Yi B, Bergman AJ, Wang AQ, Zeng W, Chen L, Snyder K, Ruckle JL, Larson PJ (2011). Evaluation of Pharmacokinetic Parameters and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibition Following Single Doses of Sitagliptin in Healthy, Young Japanese Males. *British Journal of Clinical Pharmacology* 71(3): 429-436.
115. Chen XW, He ZX, Zhou ZW, Yang T, Zhang X, Yang YX, Duan W, Zhou SF (2015). Clinical Pharmacology of Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors Indicated for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 42(10): 999-1024.
116. Bergman AJ, Stevens C, Zhou Y, Yi B, Laethem M, De Smet M, Snyder K, Hilliard D, Tanaka W, Zeng W (2006). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Multiple Oral Doses of Sitagliptin, a Dipeptidyl Peptidase-Iv Inhibitor: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study in Healthy Male Volunteers. *Clinical Therapeutics* 28(1): 55-72.
117. Kim D, Wang L, Beconi M, Eiermann G, Fisher M, He H, Hickey G, Kowalchick J, Leiting B, Lyons K, Marsilio F, McCann M, Patel R, Petrov A, Scapin G, Patel S, Roy R, Wu J, Wyvratt M, Zhang B, Zhu L, Thornberry N, Weber A (2005). (2 R)-4-Oxo-4-(3-(Trifluoromethyl)-5, 6-Dihydro (1, 2, 4) Triazolo (4, 3-a) Pyrazin-7 (8 H)-yl)-1-(2, 4, 5-Trifluorophenyl) Butan-2-Amine: a Potent, Orally Active Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry* 48(1): 141-151.
118. Johnson KM Schurr K (2011). Sitagliptin: A Dpp-4 Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Clinical Medicine Insights: Therapeutics* 3: CMT. S6227.
119. Hoffmann-Petersen IT, Holt CB, Jensen L, Hage C, Mellbin LG, Thiel S, Hansen TK, Østergaard JA (2021). Effect of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors on Complement Activation. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 37(3): e3385.
120. Zhou C, Zhou S, Wang J, Xie L, Lv Z, Zhao Y, Wang L, Luo H, Xie D, Shao F (2024). Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Cetagliptin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Frontiers in Endocrinology* 15: 1359407.
121. Mudher Mikhael E (2016). Effectiveness and Safety of Newer Antidiabetic Medications for Ramadan Fasting Diabetic Patients. *Journal of Diabetes Research* 2016(1): 6962574.

122. Zaman Huri, H., N. Selamat, and S.R. Vethakkan (2014). Factors Associated with Utilization of Dipeptidyl-4 Inhibitors in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Retrospective Study. *International Journal of Endocrinology* 1: 367564.
123. Choy M Lam S (2007). Sitagliptin: A Novel Drug for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Cardiology in Review* 15(5): 264-271.
124. Gallwitz B (2007). Sitagliptin: Profile of a Novel Dpp-4 Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Drugs Today* 43(1): 13-25.
125. Subbarayan S Kipnes M (2011). Sitagliptin: A Review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 12(10): 1613-1622.
126. Rosenstock, J. and B. Zinman (2007). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and the management of type 2 diabetes mellitus. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 14(2): 98-107.
127. Hewedy WA (2020). Effects of Treatment with Sitagliptin on Hepatotoxicity Induced by Acetaminophen in Mice. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 56: e18482.
128. Wang X, Ke J, Zhu Y-j, Cao B, Yin R-l, Wang Y, Wei L-l, Zhang L-j, Yang L-y, Zhao D (2021). Dipeptidyl Peptidase-4 (Dpp4) Inhibitor Sitagliptin Alleviates Liver Inflammation of Diabetic Mice by Acting as a Ros Scavenger and Inhibiting the Nfkb Pathway. *Cell Death Discovery* 7(1): 236.
129. Alqahtani QH, Alshehri S, Alhusaini AM, Sarawi WS, Alqarni SS, Mohamed R, Kumar MN, Al-Saab J, Hasan IH (2023). Protective Effects of Sitagliptin on Streptozotocin-Induced Hepatic Injury in Diabetic Rats: A Possible Mechanisms. *Diseases* 11(4): 184.
130. Jiang W, Wen D, Cheng Z, Yang Y, Zheng G, Yin F (2018). Effect of Sitagliptin, a Dpp-4 Inhibitor, against Dena-Induced Liver Cancer in Rats Mediated Via Nf-Kb Activation and Inflammatory Cytokines. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 32(12): e22220.
131. Ibrahim SSA, Salama MA, Selima E, Shehata RR (2020). Sitagliptin and Tofacitinib Ameliorate Adjuvant Induced Arthritis Via Modulating the Cross Talk between Jak/Stat and Tlr-4/Nf-Kb Signaling Pathways. *Life Sciences* 260: 118261.

132. Sharawy MH, El-Kashef DH, Shaaban AA, El-Agamy DS (2021). Anti-Fibrotic Activity of Sitagliptin against Concanavalin a-Induced Hepatic Fibrosis. Role of Nrf2 Activation/Nf-Kb Inhibition. *International Immunopharmacology* 100: 108088.
133. Alameen R, Bairam A, Al-Haddad M (2023). Antioxidant and Apoptotic Activities of Sitagliptin against Hepatocellular Carcinoma: An in Vitro Study. *F1000 Research* 12: 962.
134. Ramos H, Bogdanov P, Huerta J, Deàs-Just A, Hernández C, Simó R (2022). Antioxidant Effects of Dpp-4 Inhibitors in Early Stages of Experimental Diabetic Retinopathy. *Antioxidants* 11(7): 1418.
135. Lin C-P, Huang P-H, Chen C-Y, Wu M-Y, Chen J-S, Chen J-W, Lin S-J (2021). Sitagliptin Attenuates Arterial Calcification by Downregulating Oxidative Stress-Induced Receptor for Advanced Glycation End Products in Ldlr Knockout Mice. *Scientific Reports* 11(1): 17851.
136. Tang S-T, Su H, Zhang Q, Tang H-Q, Wang C-J, Zhou Q, Wei W, Zhu H-Q, Wang Y (2016). Sitagliptin Inhibits Endothelin-1 Expression in the Aortic Endothelium of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes by Suppressing the Nuclear Factor-Kb/Ikba System through the Activation of Amp-Activated Protein Kinase. *International journal of Molecular Medicine* 37(6): 1558-1566.
137. Elbadr MM, Galal HA, Hetta HF, Elfadil H, Alanazi FE, Fawzy S, Aljohani HM, Abd Ellah NH, Ali MF, Dyab AK (2025). Immunomodulatory Effect of Rivaroxaban Nanoparticles Alone and in Combination with Sitagliptin on Diabetic Rat Model. *Diseases* 13(3): 87.
138. Ahluwalia A, Maggi C, Santicioli P, Lecci A, Giuliani S (1994). Characterization of the Capsaicin-Sensitive Component of Cyclophosphamide-Induced Inflammation in the Rat Urinary Bladder. *British Journal of Pharmacology* 111(4): 1017-1022.
139. Giglio D, Ryberg A.T, To K, Delbro D.S, Tobin (2005). Altered Muscarinic Receptor Subtype Expression and Functional Responses in Cyclophosphamide Induced Cystitis in Rats. *Autonomic Neuroscience* 122(1-2): 9-20.
140. Jamshidzadeh A, Niknahad H, Azarpira N, Bardbori A, Delnavaz M (2009). Effect of Lycopene on Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis in Rats. *Iranian Journal of Medical Sciences* 34(1): 46-52.
141. Gelen V, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A (2018). Ratlarda Cyclophosphamide Ile Indüklenen Hemorajik Sistitte Mesane Kontraktilitesi Ve

- Histopatolojisi Üzerine Rutin'in Etkileri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi 13(3): 337-346.
142. Engin S, Barut EN, Soysal AC, Keskin O, Kerimoglu G, Kadioglu M, Sezen S (2021). Double Benefit of Metformin Treatment: Improved Bladder Function in Cyclophosphamide-Induced Cystitis and Enhanced Cytotoxicity in Cancer Cells. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 394(6): 1167-1175.
 143. Everaerts W, Zhen X, Ghosh D, Voets T (2010). Inhibition of the Cation Channel TRPV4 Improves Bladder Function in Mice and Rats with Cyclophosphamide-Induced Cystitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(44): 19084-19089.
 144. Barut EN, Engin S, Barut B, Kaya C, Kerimoglu G, Ozel A, Kadioglu M (2019). Uroprotective Effect of Ambroxol in Cyclophosphamide-Induced Cystitis in Mice. *International Urology and Nephrology* 51(5): 803-810.
 145. de Oliveira MG, Calmasini FB, Alexandre EC, De Nucci G, Mónica FZ, Antunes E (2016). Activation of Soluble Guanylyl Cyclase by Bay 58-2667 Improves Bladder Function in Cyclophosphamide-Induced Cystitis in Mice. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 311(1): F85-F93.
 146. Fang Y-Z, Yang S, Wu G (2002). Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition* 18(10): 872-879.
 147. Engin S, Barut EN, Yaşar YK, Soysal AÇ, Arıcı T, Kerimoğlu G, Kadioğlu M, Sezen SF (2022). Trimetazidine Attenuates Cyclophosphamide-Induced Cystitis by Inhibiting Tlr4-Mediated Nfkb Signaling in Mice. *Life sciences* 301: 120590.
 148. Ohadian Moghadam S, Nowroozi MR (2019). Toll-Like Receptors: The Role in Bladder Cancer Development, Progression and Immunotherapy. *Scandinavian Journal of Immunology* 90(6): e12818.
 149. Taskin E, Güven C, Kaya S, Şahin L, Kocahan S, Değirmencioğlu A, Gur F, Sevgiler Y (2019). The Role of Toll-Like Receptors in the Protective Effect of Melatonin Against Doxorubicin-Induced Pancreatic Beta Cell Toxicity. *Life Sciences* 233: 116704.
 150. Kawai T, Akira S (2010). The Role of Pattern-Recognition Receptors in Innate Immunity: Update on Toll-Like Receptors. *Nature Immunology* 11(5): 373-384.

151. Garcia, M.M , Goicoechea C, Alvarez M, Pascual D (2020). Toll-Like Receptor 4: a Promising Crossroads in the Diagnosis and Treatment of Several Pathologies. *European Journal of Pharmacology* 874: 172975.
152. Behzadi, E. and P. Behzadi (2016). The Role of Toll-Like Receptors (TLRs) in Urinary Tract Infections (UTIs). *Central European journal of urology* 69(4): 404.
153. Niemczyk G, Fus L, Czarzasta K, Jesion A, Radziszewski P, Gornicka B, Cudnoch-Jedrzejewska A (2020). Expression of Toll-Like Receptors in the Animal Model of Bladder Outlet Obstruction. *BioMed Research International* 2020(1): 6632359.
154. Famurewa A.C, Edeogu C.O, Offor F, Besong E, Akunna G, Maduagwuna E (2021). Downregulation of Redox Imbalance and iNOS/NF- κ B/Kaspase-3 Signalling with Zinc Supplementation Prevents Urotoxicity of Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis in Rats. *Life Sciences* 266: 118913.
155. Luo J, Yang C, Luo X, Yang Y, Li J, Song B, Zhao J, Li L, (2020). Chlorogenic Acid Attenuates Cyclophosphamide-Induced Rat Interstitial Cystitis. *Life Sciences* 254: 117590.



EKLER

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İpek KONAK

Uyruğu : T.C.

Doğum Tarihi :

Telefon (İş) :

E-Posta : :

Yazışma Adresi (İş)

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2019
Lise	Tevfik Serdar Anadolu Lisesi	2014

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre
1. Mesul müdür	İpek Eczanesi	2020-Devam ediyor

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Sağlık Bilimleri Temel Alan, Farmakoloji