



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE SİKLOFOSFAMİDLE
OLUŞTURULAN DENEYSEL SİSTİM
MODELİNDE FOSAPREPİTANTIN
TERAPÖTİK ETKİSİNİN VE OLASI
MEKANİZMALARININ İNCELENMESİ**

Yaren YEŞİLBAŞ AKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Elif Nur BARUT

TRABZON-2024

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 aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih

Yaren YEŞİLBAŞ AKSEL

(İmza)

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren ders dönemi dahil olmak üzere tez çalışmamın planlanmasından gerçekleştirilmesine tüm aşamalarında her daim yanımda olan, sevgili tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Elif Nur BARUT'a,

Yüksek lisans eğitim sürecinde desteğini, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mine DUMAN başta olmak üzere değerli Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Lisans döneminde eczacılık mesleğini bize bilgi birikimiyle sevdiren KTÜ Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. F. Sena SEZEN'e,

Yüksek lisans dönemimde hayvan deneyi aşamalarında bize yardımcı olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Seçkin ENGİN'e,

Sürecin başından itibaren maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen eşim Arş. Gör. Ahmet Buğra AKSEL'e,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Yaren YEŞİLBAŞ AKSEL

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TYL-2023-10681

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Mesane Anatomisi	4
2.2. Mesane Fizyolojisi	7
2.3. Sistit	9
2.3.1. Sistitin Nedenleri	9
2.3.2. Sistit Sınıflandırması	10
2.3.3. Sistit Epidemiyolojisi	12
2.3.4. İC Etiyolojisi	13
2.3.5. İC Tedavisi	16
2.4. TLR4 Sinyal Yolağı	18
2.5. Sistit ve TLR4 Yolağı İlişkisi	21
2.6. Fosaprepitant (FOS)	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Gereç	26
3.1.1. Kimyasallar	26
3.1.2. Cihazlar	27
3.2. Deney Hayvanları	29
3.3. SFD Uygulaması ile Deneysel Sistit Modelinin Oluşturulması ve Deney Grupları	30

3.4. İzole Organ Banyosu Çalışması	30
3.4.1. Doku Kesitlerinin Hazırlanışı	30
3.4.2. İzole Organ Banyosu	30
3.4.3. İzole Organ Banyosu Deney Protokolü	31
3.5. Western Blot Analizi	31
3.5.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Protein Tayini	31
3.5.2. Örneklerin Hazırlanması	32
3.5.3. Protein Elektroforezi ve Transfer İşlemi	32
3.5.4. Bloklama	33
3.5.5. Antikorlarla İşaretleme	34
3.5.6. Görüntüleme	34
3.6. Evans Mavisi ile Vasküler Permeabilitenin Değerlendirilmesi	34
3.7. Biyokimyasal Analiz	35
3.7.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	35
3.7.2. Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin ölçümü	36
3.8. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
4.1. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Mesane Ağırlıklarına Etkisi	37
4.2. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Detrusor Düz Kas Kontraktilitesi Üzerine Etkisi	37
4.3. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Vezikal Vasküler Permeabilite Üzerine Etkisi	41
4.4. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Mesane MPO Aktivitesi Üzerine Etkisi	42
4.5. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Mesane TLR4/MyD88/ NFκB Sinyal Yolağı Üzerine Etkisi	42
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	45
6. KAYNAKLAR	50
EKLER	60
EK 1. Etik Kurul Onayı	61
ÖZGEÇMİŞ	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Kullanılan kimyasallar, marka ve kodları	26
Tablo 2.	Kullanılan cihazlar ve markaları	28
Tablo 3.	Tüm deney gruplarının CCh ile indüklenen kasılmalara ait $E_{\max}$ ve pEC_{50} değerleri	39



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Mesane anatomisinin şematik gösterimi	5
Şekil 2.	Mesane duvarı tabakaları	6
Şekil 3.	Alt üriner sistemin inervasyonu	7
Şekil 4.	IC gelişimine neden olan potansiyel mekanizmalar	14
Şekil 5.	IC tedavi şeması	18
Şekil 6.	TLR4'ün aktivasyon yolları	21
Şekil 7.	Aprepitant ve fosaprepitantın molekül şekli	23
Şekil 8.	Deney grupları ve deney planı	30
Şekil 9.	Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin mesane ağırlıklarına etkisi	37
Şekil 10.	Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin CCh indüklenen kasılmalara etkisi	38
Şekil 11.	Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile indüklenen kasılmalara etkisi	40
Şekil 12.	Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin vasküler permeabilite üzerine etkisi	41
Şekil 13.	Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin MPO aktivitesi üzerine etkisi	42
Şekil 14.	Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin mesane TLR4/MyD88/NFκB sinyal yolağı üzerine etkisi	43

RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Protein elektroforezi	32
Resim 2.	Transfer işlemi	33
Resim 3.	Ponceau S çözeltisi ile boyanmış membran görüntüsü	34
Resim 4.	Evans mavisi uygulaması	35



KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ACh	Asetilkolin
ATP	Adenozin 5' trifosfat
AÜSS	Alt idrar yolu semptomları
BCA	Bikinkoninik asit
BPS	Mesane ağrısı sendromu
BTX-A	Botulinum toksini-A:
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CCh	Karbakol
DAMP	Hasarla ilişkili moleküler patern
DMSO	Dimetilsülfoksit
DO	Detrüsör aşırı aktivitesini
DTT	Ditiyotreitol
EAA	Eğri altındaki alan
EAS	Elektriksel alan stimülasyonu
EGTA	Etilen glikol-bis(2-aminoetileter)-N,N,N',N'-tetraasetik asit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FOS	Fosaprepitant
GAG	Glikozaminoglikan
HC	Hemorajik sistit
HGN	Hipogastrik sinir
IC	İnterstisyel sistit
IFN-β	İnterferon beta
IL-1 β	İnterlökin 1 beta
IMP	İnferior mezenterik gangliyon
IP3	İnositol tri fosfat
IRF-3	İnterferon düzenleyici faktör 3
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İYE	İdrar yolu enfeksiyonları
LPS	Lipopolisakkarit

MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MPO	Miyeloperoksidaz
MyD88	Miyeloid farklılaşma birincil yanıt 88
NA	Noradrenalin
NFkB	Nükleer faktör kappa B
NGF	Sinir büyüme faktörü
NK1R	Nörokinin 1 reseptörü
NLRP3	Nod benzeri reseptör proteini 3
OAB	Aşırı aktif mesane
PAMP	Patojenle ilişkili moleküler patern
PG	Prostaglandin
PP	Pelvik pleksus
PPS	Pentosan polisülfat sodyum
PPS	Polifenilen sülfid
PVDF	Poliviniliden florür
ROS	Reaktif oksijen türleri
SDH	Spinal dorsal boynuz
SFD	Siklofosfamid
TAK1	Dönüştürücü büyüme faktörü ile aktive olan kinaz 1
TIR	Toll-interlökin-1 reseptörü
TIRAP	Toll benzeri reseptörlerle ilişkili adaptör molekül
TLR	Toll benzeri reseptör
TRAF6	TNF-reseptör ilişkili faktör 6
VIP	Vazoaktif intestinal peptid

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
κ	Kappa
μ	Mikro

Formüller

CaCl₂

Kalsiyum klorür

MgSO₄

Magnezyum sülfat

KCl

Potasyum klorür

NaHCO₃

Sodyum bikarbonat

Na₂H₂P₂O₇

Sodyum pirofosfat dibazik

NaH₂PO₄

Sodyum dihidrojen fosfat

Na₃VO₄

Sodyum ortovanadat

NaCl

Sodyum klorür

NaF

Sodyum florür

ÖZET

Farelerde Siklofosfamidle Oluşturulan Deneysel Sistit Modelinde Fosaprepitantın Terapötik Etkisinin ve Olası Mekanizmalarının İncelenmesi

İnflamatuvar süreçlerin inhibisyonu, interstisyel sistit (IC) tedavisi için önemli bir terapötik hedeftir. Son raporlar, nörokinin 1 reseptörü (NK1R) antagonistlerinin inflamatuvar temelli hastalıklarda önemli terapötik rollere sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, siklofosfamid (SFD) kaynaklı sistitte bir NK1R antagonisti olan fosaprepitantın (FOS) olası üroprotektif etkisini araştırdık. Sistit modeli, yedi gün boyunca birer gün arayla çoklu SFD (80 mg/kg; i.p.) enjeksiyonu ile oluşturuldu ve fareler yedi ardışık gün boyunca FOS (20 ve 60 mg/kg/gün; i.p.) veya serum fizyolojik ile tedavi edildi. Detrusor kontraktilitesi, mesane vasküler geçirgenliği, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ve TLR4 yolağının protein ekspresyon seviyeleri fare mesanesinde değerlendirildi. Detrusor şeritlerinin karbakol ve elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan kasılmaları SFD ile tedavi edilen farelerde önemli ölçüde arttı ve bu artış FOS (60 mg/kg/gün) tedavisi ile önemli ölçüde azaldı ($p<0.001$, $p<0.05$). Özellikle, mesane vasküler geçirgenliği SFD ile indüklenen sistitte belirgin şekilde arttı ve bu durum FOS (60 mg/kg/gün) tedavisi ile azaldı ($p<0.01$). MPO aktivitesi sistit grubunda önemli ölçüde artarken, FOS (20 ve 60 mg/kg/gün) tedavisi mesane dokusunda bu aktiviteyi önemli ölçüde baskıladı ($p<0.001$). TLR4 ekspresyonu sistit ile artmasına rağmen, MyD88 ve p-NF κ B^{ser536}/total NF κ B oranı değişmedi, FOS (20 ve 60 mg/kg/gün) tedavisi TLR4 ekspresyonunda önemli bir azalmaya neden oldu ($p<0.001$) ve bu durum FOS'un antiinflamatuvar etkisinin olabileceğini gösterdi. Sonuç olarak FOS, MPO aktivitesini ve TLR4 ekspresyonunu inhibe ederek detrusor aşırı aktivitesini ve inflamatuvar yanıtı iyileştirdi ve bunun sonucunda FOS tedavisiyle SFD kaynaklı sistitte fonksiyonel ve histolojik iyileşme sağlandı.

Anahtar Sözcükler: İnflamasyon, İzole organ banyosu, Kronik sistit, Nörokinin antagonisti, Toll benzeri reseptörler

ABSTRACT

Investigation of the therapeutic effect and possible mechanisms of fosaprepitant in an experimental cystitis model induced by cyclophosphamide in mice

Inhibition of inflammatory process is a key therapeutic target for the treatment of interstitial cystitis (IC). Recent reports indicate neurokinin 1 receptor (NK1R) antagonists have important therapeutic roles in inflammatory-based diseases. Herein, we investigate the potential uroprotective effects of fosaprepitant (FOS), a NK1R antagonist, in cyclophosphamide (CP)-induced cystitis. The cystitis model was established multiple CP (80 mg/kg; i.p.) injection one day apart, and mice were treated with FOS (20 and 60 mg/kg/day; i.p.) or saline for seven consecutive days. Detrusor contractility, vesical vascular permeability, myeloperoxidase (MPO) activity and protein expression levels of the TLR4 pathway were evaluated in mice bladder. Carbachol and electric field stimulation-evoked contractions of detrusor strips were significantly increased in CP-treated mice, and this increase was significantly attenuated by FOS (60 mg/kg/day) treatment ($p < 0.001$, $p < 0.05$). Notably, vesical vascular permeability was markedly impaired in CP-induced cystitis, that was restored by FOS (60 mg/kg/day) treatment ($p < 0.01$). MPO activity was significantly increased in cystitis group whereas FOS (20 and 60 mg/kg/day) treatment remarkably suppressed this activity in bladder tissue ($p < 0.001$). Although TLR4 expression increased with cystitis, MyD88 and the ratio of p-NF κ B^{ser536}/total NF κ B did not change, FOS (20 and 60 mg/kg/day) treatment caused a dramatic decrease in TLR4 expression ($p < 0.001$), indicating the potential antiinflammatory effect of FOS. In conclusion, FOS improved detrusor overactivity and inflammatory response by inhibiting MPO activity and TLR4 expression, resulting in functional and histological recovery in CP-induced cystitis.

Keywords: Inflammation, Isolated organ bath, Chronic cystitis, Neurokinin antagonist, Toll like receptors

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Mesane, idrarın dışarı kaçışını önleyerek depolayan ve miksiyon esnasında kasılarak oluşturduğu basınç sayesinde idrarı dışarı atarak depo görevi gören bir alt üriner sistem organıdır. Böbreklerin nefronları tarafından oluşturulan idrar, üreterlerden ve üreterovezikal birleşimden mesaneye geçer ve dışarı atılmadan önce depolanmak üzere mesaneye taşınır. Sağlıklı bireylerde mesanenin kapasitesi yaklaşık 500 mL civarındadır (1).

Mesane, idrar için bir rezervuar ve aktif boşaltım organı olarak işlev görür. Mesane idrarla dolduğunda, santral sinir sistemine uyarı ileten duyuusal sinirler, iç ve dış üretral sfinkterlerin eş zamanlı gevşemesiyle detrusor kasının uyarılması yoluyla idrar boşaltımını kontrol etmek için somatik ve otonom sinirlerle iletişim kurar (2). Mesane hem depolama hem de boşaltma işlevlerini düzenlemek için karmaşık nöronal uyarı altındadır. İşlevsel olarak idrarın depolanması ve düzenli aralıklarla boşaltılması, somatik ve otonom sinir sistemi yanı sıra beyin sapı, serebral korteks ve beyincik gibi supraspinal yollar tarafından koordine edilir (3). Bu süreç belirgin şekilde sempatik, parasempatik ve somatik sinirlerin kontrolünde yönetilmektedir (4).

Sistit; idrar yapmada zorluk, idrar yapma sıklığında artış, noktüri ve ciddi pelvik ağrı ile karakterize bir mesane problemi olup hastaların yaşam kalitesini ciddi oranda azaltan önemli bir klinik problemdir (5). Klinik gözlemler bakteriyel enfeksiyonun sistit gelişimine neden olmasının yanında çeşitli malformasyonların varlığı ve mesane taşı gibi yapısal bozukluklar varlığında sistit gelişimine neden olmaktadır (6). İlaçla kullanımına bağlı gelişen sistit ise, hafif üriner semptomlardan, hekimlerin tedavi etmesi zor olabilen hematüri ve mesane disfonksiyonu ile karakterize etiyolojisi kesin olarak bilinmeyen bir tablodur. Şimdiye kadar özellikle alkileyici ajanlardan siklofosfamid (SFD) ve ifosfamid kullanımı sonucu, intravenöz tedavi gören hastalarda yüksek prevalansla yaygın olarak sistite yol açan kemoterapötiklerdir (7).

SFD, güçlü bir antineoplastik ajan olarak hem otoimmün hastalıkların hem de kanserin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alkileyici ajan, karaciğerde sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla aktif hale gelir ve bu süreçte sitotoksik ve ürotoksik etkili metaboliti akrolein oluşur (8). SFD ile tedavi edilen hastalarda sistit önemli bir komplikasyon olarak bildirilmiştir. SFD'nin ürotoksisitesi, doğrudan alkileyici aktiviteye değil, özellikle akrolein olmak üzere böbrekler yoluyla atılan 4-hidroksi metabolitlerinin oluşumuna bağlıdır (9).

İnflamatuvar sinyalizasyonun önemli rolü olduğu bilinen sistit koşullarında TLR'lerin rolü araştırıldığında çeşitli çalışmalarda TLR'nin SFD kaynaklı mesane disfonksiyonu ve inflamasyonunu başlatmada majör bir rol oynadığını hem moleküler hem de fonksiyonel düzeyde gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, TLR4^{-/-} farelerde veya TLR4'ün seçici antagonistinin kullanıldığı çalışmalarda, sistit ile ilişkili idrar yapma ve inflamatuvar olaylardaki disfonksiyonunun önlediğine dair ikna edici kanıtlar sunulmuştur. Bu veriler, TLR4 yolağının SFD kaynaklı sistit ile ilgili önemli etiyolojik bilgileri ilk kez doğrudan göstermiş ve araştırmaların ilgisini bu yolağa kaydırmıştır (10, 11).

Yapılan çalışmalar TLR4 yolağının farklı sinyalizasyon yollarıyla da etkileşimde olduğunu göstermektedir. Bunlardan biri de nörokinin reseptörleridir. Nörokinin-1-reseptörü (NK1R) uyarıldığında da TLR4 yolağının downstream molekülü olan NFkB aktive olmakta ve böylece doğrudan etkileşime girmektedir ve bu yolak inflamatuvar koşullarda aktive olmaktadır (12). NK1R antagonistlerinin TLR4/NFkB yolağının aktivasyonu sonucu oluşan proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı ve önemli bir inflamasyon belirteçlerini baskıladığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (13, 14). Bu bilgiler NK1R ile TLR4 yolağı etkileşimine dikkat çekmektedir.

Fosaprepitant (FOS) suda çözünebilen bir ön ilaç olup hızla aprepitantta dönüştürülerek etki gösteren ve kemoterapi ile ilişkili bulantı ve kusmanın önlenmesi için dünya çapında birçok ülkede kullanımı onaylanan bir NK1R antagonistidir (15). Bulantı ve kusmanın önlenmesinin yanı sıra çeşitli çalışmalar (*in vitro* ve *in vivo*) aprepitant ve fosaprepitantın kanser hücresi ölümünü indüklediğini ve kanser hücresi canlılığını/hücre proliferasyonunu ve tümör hacmini azalttığını ayrıca NK1R antagonistlerinin kemorezistant kanser hücrelerinin ölümünü indüklediği gösterilmiş ve inflamatuvar süreçlerin baskın olduğu deney modellerinde FOS tedavisinin inflamatuvar sinyalizasyonu azalttığı saptanmıştır (16, 17).

Literatür bilgileri ışığında bu çalışmada, son yıllarda klinikte yaygın olarak kullanılan, kanser kemoterapisi sonucu gelişen bulantı-kusma tedavisinde güvenli ve etkin olduğu tanımlanan bir nörokinin-1 reseptör antagonisti olan FOS'un SFD ile indüklenen kronik sistit tedavisindeki olası terapötik etkisi, bu etkinin bir inflamatuvar sinyal yolağı olan TLR4 yolağıyla ilişkisi ve inflamasyon belirteçleri üzerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu sayede ilaçta yeniden konumlandırma yaklaşımıyla klinikte yaygın

olarak kullanılan, etkin ve güvenli olduğu bilinen FOS'un sistit tedavisinde etkinliğine yönelik klinik çalışmalar için n veriler elde edilmiş olacaktır.



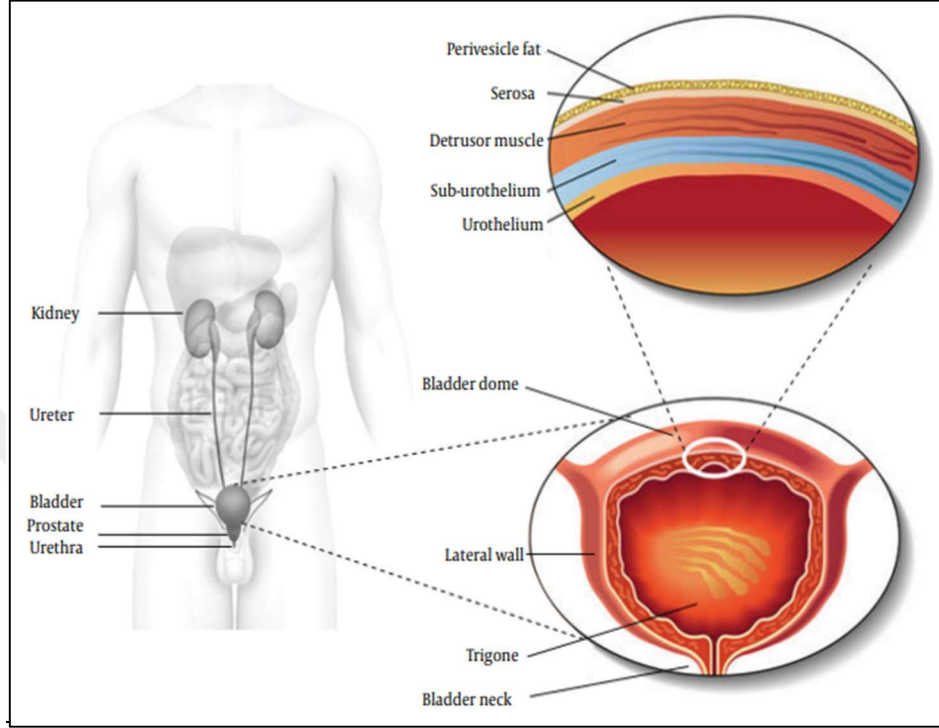
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane Anatomisi

Mesane, idrarın dışarı kaçışını önleyerek depolayan ve miksiyon esnasında kasılarak oluşturduğu basınç sayesinde idrarı dışarı atarak depo görevi gören bir alt üriner sistem organıdır. Böbreklerin nefronları tarafından oluşturulan idrar, üreterlerden ve üreterovezikal birleşimden mesaneye geçer ve dışarı atılmadan önce depolanmak üzere mesaneye taşınır. Mesane, pelvisin ekstrapéritoneal boşluğunda bulunur ve idrarla dolduğunda karın içine doğru uzanır. Üreter açıklıklarının üstünde üst kısım apeks ve gövdeden, alt kısım ise fundus, trigon ve mesane boynundan oluşur. Sağlıklı bireylerde mesanenin kapasitesi yaklaşık 500 mL civarındadır (1).

Mesane, her iki cinsiyette rektumun, kadınlarda ise uterusun önünde, pelviste yer alan içi boş bir yapıdır. Üst yüzeyi kısmen peritonla kaplıdır ve dört katmandan oluşur. Geçiş epitelini içeren mukoza, mesanenin astarıdır ve mesanenin gerilmesine izin verir. Gerildiğinde yüzey pürüzsüzdür, ancak gevşetildiğinde mukozada kıvrımlar oluşur. Mukoza ayrıca, mukozayı idrar içeriğindeki inflamatuvar reaksiyona neden maddelerle doğrudan temastan koruyan yüzeysel kaplamayı oluşturan glikozaminoglikanları da üretir. Submukoza elastik bağ dokusundan oluşur ve ayrıca mesanenin gerilmesine yardımcı olur. Muskularis tabakası (detrusor kası), bir kasılma tetiklendiğinde mesaneyi verimli bir şekilde boşaltan tekdüze, eş zamanlı bir kasılma yanıtı üreten, birden çok yönde yönlendirilmiş birkaç düz kas katmanından (iç uzunlamasına, orta dairesel ve dış uzunlamasına) oluşur. Kaslar ayrıca mesanenin açıklığı ile üretra arasındaki alanı çevreleyen küçük bir bant oluşturur. Bu kısım, iç üriner sfinkter olarak bilinir ve otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Üretranın etrafındaki bir başka distal bant dış sfinkter adı verilen, bilinçli miksiyonu kontrol edip, iskelet kasından oluşur ve somatik sinir sistemi tarafından innerve edilir. Kadınlarda dış üretral sfinkter mesane boynunun distalinde ve altındadır. Kadınlardaki dış sfinkter aynı zamanda ürogenital sfinkter olarak da bilinir. Fibröz bağ dokusu tabakası ise paryetal periton tarafından kaplanan üst yüzey hariç, mesanenin en dış örtüsüdür. Mesane tabanında ayrıca trigon adı verilen sabit, üçgen şeklinde bir kas tabakası da bulunur. Her üretere açılan açıklıklar ve üretraya çıkış trigonu oluşturur. Her bir yan kanatta bir üretral delik ve üretraya giren üçüncü kol ile 3 apeks vardır. Trigon, mesanenin fundusu olarak da bilinen arka tabanında yer alır. Her üreterin distal intramural kısmı, detrusör kasından

mesaneye doğru ilerlerken sık bir submukozal yol izler. Bu anatomi, idrarın böbreğe geri akışını önleyen bir anti-reflü mekanizması veya valf görevi görür (18).

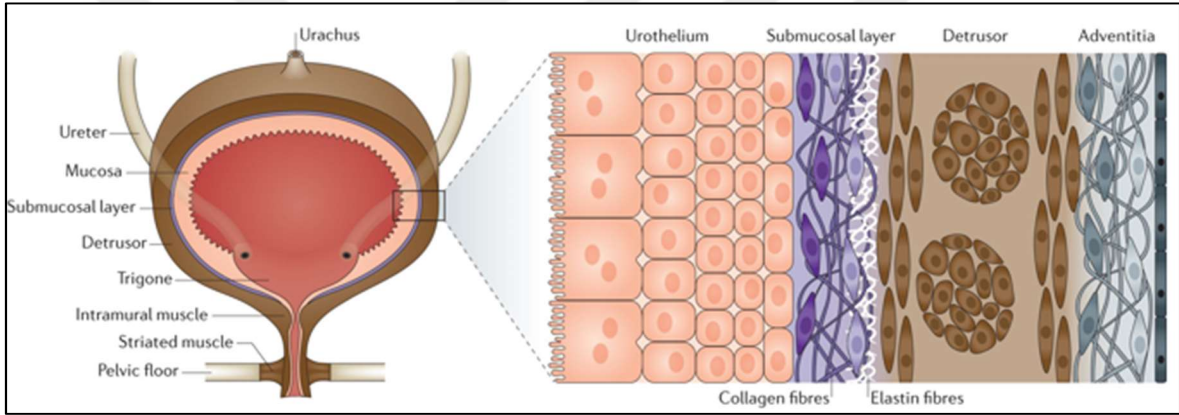


Şekil 1. Mesane anatomisinin şematik gösterimi (Rahnama'i'den, 19)

Mesane, idrar için bir rezervuar ve aktif boşaltım organı olarak işlev görür. Mesane idrarla dolduğunda, santral sinir sistemine uyarı ileten duysal sinirler, iç ve dış üretral sfinkterlerin eş zamanlı gevşemesiyle detrusor kasının uyarılması yoluyla idrar salınımını kontrol etmek için efferent somatik ve otonom sinirlerle iletişim kurar (2).

Mesane doldukça afferent sinyalleri stimüle ederek gerilir. Efferent sinyaller mesane kas sisteminin kasılmasına ve ardından üretral sfinkterin gevşemesine neden olur. Mekanoreseptörlere ek olarak stres, fiziksel çevre hissi ve duygusal durum gibi çeşitli psikolojik faktörler de miksiyonun zamanlaması ve düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Mesane duvarının mikroskopik yapısı içten dışa doğru aşağıdaki katmanlar halinde düzenlenir. Histolojik olarak; ürotelyum, lamina propria, muskularis propria ve adventisya/seroza olmak üzere dört katmandan oluşur. Mesanenin iç tabakası özelleşmiş çok katmanlı bir epitel olan ürotelyumdur. Ürotelyum yalnızca üreter, mesane ve proksimal üretra gibi idrar yapılarında bulunur. Ürotelyum da üç farklı histolojik katmandan oluşur.

Bunlardan apikal katman en içteki katmandır ve mesane lümeni ile altta yatan doku arasında bir bariyer görevi görür. Sıklıkla iki çekirdekli olan tek katmanlı şemsiye şeklindeki hücrelerden oluşur. Ürotelyumun bu apikal şemsiye hücreleri geçirgenliği düşük bir bariyer oluşturur. Hücreler arasındaki sıkı bağlantılar paraselüler akışı azaltırken, şemsiye hücrelerin yüzeyindeki üroplakin glikoprotein tabakası yüzeysel alanı kaplayan yüzeysel bir plak oluşturur. Ara katman ise iki-üç kat çokgen hücreden oluşur. Bazal katman da iki-üç katmandan oluşan küçük kübik hücrelerden oluşur. Mesane gevşediğinde ürotelyum beş ile yedi yapısal katmanla kalınlaşır. Bununla birlikte, mesane idrarla dolduğunda mesane duvarı artan hacmi karşılamak için gerilir. Ürotelyum, genişlemiş mesanede yapısal hasar olmaksızın iki veya üç katman halinde yeniden düzenlenir. Ürotelyum, bu geçiş yeteneğinden dolayı geçiş epiteli olarak da bilinir (20).



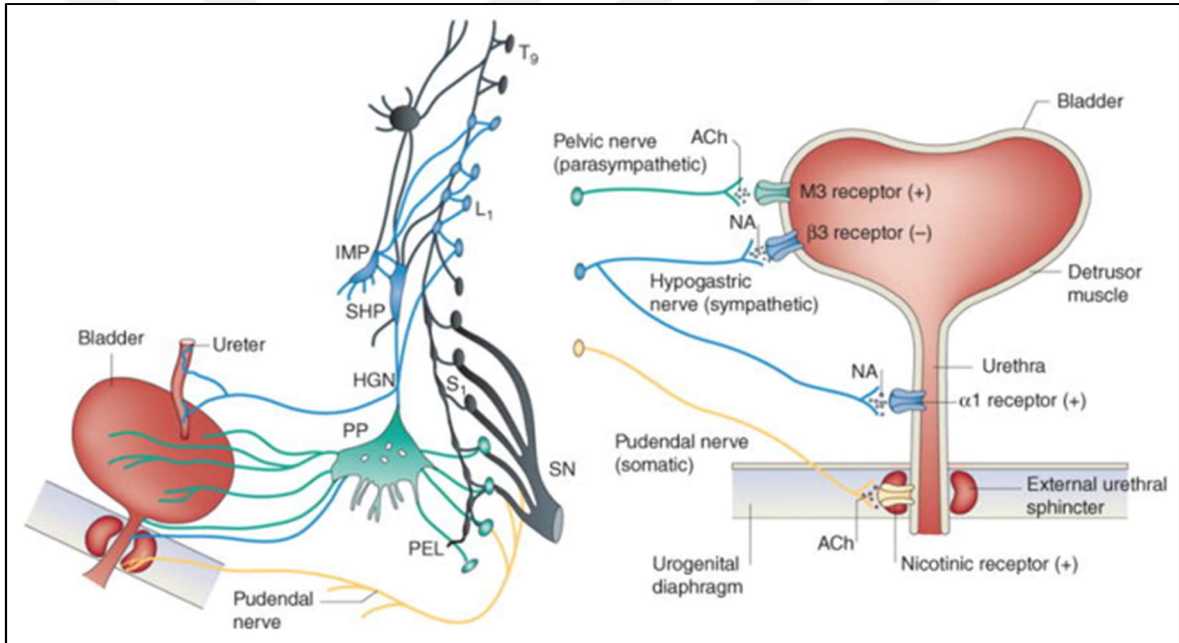
Şekil 2. Mesane duvarı tabakaları (Ajalloueian'tan, 21)

Lamina propria, ürotelyum ile altta yatan muskularis propriayı (detrusor kası) ayıran subürotelyal tabakadır. Bir bazal membran tabakası, üstteki ürotelyumu lamina propriadan ayırır. Bu tabaka, elastik lifler, kılcıl damarlar, bağışıklık hücreleri, afferent ve efferent sinir uçları, fibroblastlar, miyofibroblastlar, adipositler, Cajal'ın interstisyel hücreleri veya telositler, belirsiz düz kas hücreleri ve muskularis mukozadan oluşan hücre dışı bir matrsten oluşan heterojen bir yapısal protein ve hücre ağıdır. Detrusor kası olarak da bilinen muskularis propria üç alt katmandan oluşur. Bu alt katmanlar mesanenin boyun çevresinde iyi tanımlanmıştır ancak mesane duvarının geri kalanıyla rastgele hizalanmıştır. Serosa, mesane kubbesini kaplayan ve karın duvarının periton tabakası ile devam eden ince bir bağ dokusu tabakasıdır. Ayrıca çeşitli boyutlarda kan damarları içerir. Adventisya, mesanenin

seroza bulunmayan bölgelerinde mesanenin dış tabakası olarak görev yapan gevşek bir bağ dokusu tabakasıdır (22).

2.2. Mesane Fizyolojisi

Bu inervasyon sistemi, mesanenin hem depolama hem de boşaltma işlevlerini düzenlemek için karmaşık bir sinirsel düzenlemeyi içerir. İşlevsel olarak idrarın depolanması ve düzenli aralıklarla boşaltılması, somatik ve otonom sinir sistemi yanı sıra beyin sapı, serebral korteks ve beyincik gibi supraspinal yollar tarafından koordine edilen karmaşık bir süreci içerir (3). Bu süreç belirgin şekilde sempatik, parasempatik ve somatik sinirlerin kontrolünde yönetilmektedir (4).



Şekil 3. Alt üriner sistemin inervasyonu (de Groat'tan, 4)

Parasempatik sinir lifleri omuriliğin sakral kısımlarından çıkarken, sempatik sinirler omuriliğin torasik ve lumbal kısımlarından çıkar. Sempatik lifler omurilikteki T11-L2 segmentlerinden çıkar ve inferior mezenterik gangliyonlar (inferior mezenterik pleksus, IMP) ve hipogastrik sinir (HGN) veya paravertebral zincir yoluyla mesane ve üretra tabanındaki pelvik sinirlere girer. Parasempatik preganglionik lifler S2-S4 spinal segmentlerinden çıkar ve sakral kökler ve pelvik sinirler (PEL) içinde pelvik pleksus (PP) ve mesane duvarındaki ganglionlara gider. Mesaneye parasempatik innervasyon sağlayan

postganglionik sinirler burada ortaya çıkar. Dış üretral sfinkterin çizgili kaslarını besleyen somatik motor sinirler S2-S4 motor nöronlarından çıkar ve pudental sinirlerden geçer. Alt üriner sistemi düzenleyen efferent yollar ve nörotransmitter mekanizmalarına bakıldığında pelvik sinirdeki parasempatik postganglionik aksonların salgıladığı asetilkolinin (ACh) önemli rolü olduğu görülmüştür (23).

Yapılan çalışmalar insan detrusor düz kasında tüm muskarinik reseptörlerin eksprese olduğunu gösterse ana baskın alt tiplerin M2 ve M3 reseptörleri olduğu bilinmektedir. Miksiyon kasılmasından ana sorumlu muskarinik reseptörün M3 alt tipi olduğu kanıtlanmıştır. Detrusor düz kasındaki M3 reseptörlerinin uyarılmasına bağlı olarak fosfoinozid hidrolizi sonucu hücre içi haberciler aktive olur, inositol tri fosfat (IP3) aktivasyonuna bağlı olarak hücre içi Ca^{++} artar ve düz kas kasılması gerçekleşir. Mesane çıkış obstrüksiyonu, nörojenik mesane, belirgin nörojenik neden olmaksızın gelişen detrusor aşırı aktivitesi (idiyopatik) ve diyabetik komplikasyonlar gibi çeşitli ürolojik bozukluklarda muskarinik reseptör fonksiyonları değişebildiği bilinmekte ve bu nedenle bu reseptörlerin modülasyonu terapötik açıdan önemli hedefler olarak çalışılmaktadır. Sempatik postganglionik nöronlar noradrenalin (NA) salgılar, bu da mesane detrusor düz kasını gevşetmek için β -adrenerjik reseptörleri aktive eder ve üretral düz kası kasmak için $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörleri aktive ederek miksiyon fizyolojisine katkıda bulunur (23). Yapılan çalışmalarda detrusor düz kasının gevşemesinden sorumlu ana adrenerjik reseptörün $\beta 3$ alt tipi olduğu saptanmıştır. β adrenerjik reseptörler agonistlerinin adenilil siklazı uyararak cAMP'yi artırdığı, cAMP'nin de protein kinaz A'yı aktive ederek hücre içi olaylar kaskadını aktive etmesi sonucu gevşeme yanıtı oluşturduğu bilinmektedir (24).

Mesane gerilmesi sonucu salıverilen ATP ise pürinerjik reseptörler (P2X ve P2Y) aracılığıyla detrusor düz kası kasılmasına ve miksiyon davranışının başlamasına aracılık eder. Santral dopaminerjik yollar ve serotonin varlığı da kendilerine özgü reseptörler aracılığıyla miksiyon kontrolünde önemli görevler üstlenmektedir. GABA hem spinal ve hem de supraspinal düzeyde miksiyonu etkilerken vazoaaktif intestinal peptid (VIP) ve prostaglandinler (PG) gibi çeşitli maddelerin de alt üriner sistemin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (25).

Taşikininler, ana üyeleri P maddesi, nörokinin A ve nörokinin B olan küçük peptidler ailesidir. Taşikininler hem santral sinir sisteminde hem de periferik sinir sisteminde bulunurlar. Periferik sinirlerde, P maddesi ve nörokinin A özellikle miyelinsiz, duyuşal C-

lif uçlarında bulunur. Taşikininler biyolojik etkilerini NK1, NK2 ve NK3 olmak üzere G-protein kenetli üç reseptör aracılığıyla iletilir. Çeşitli çalışmalar, kobay mesanesinde NK1 ve NK2 reseptörlerinin varlığını desteklerken, NK3 reseptörlerinin varlığını göstermemektedir (26). Taşikininlerin kendine özgü reseptörlere bağlanarak L-tip voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarını aktive ederek ve/veya fosfolipaz C üzerinden mesan kontraktilesini arttırdığı tanımlanmıştır. Bazı çalışmlaar bu kontraktıl yanıtta Rho-kinaz yolağının da rolünün olduğunu vurgulamaktadır ancak kesin etki mekanizmayı tam olarak bilinmemektedir (24). Taşikininlerin mesane fizyolojisindeki rolünün aydınlatmaya yönelik çalışmalar sürmekle birlikte elde edilen kanıtlar taşininlerin hem santral hem de periferik mekanizlarla miksiyon refleksini kontrol edebildiğini kanıtlamaktadır (27).

2.3. Sistit

Sistit; idrar yapmada zorluk, idrar yapma sıklığında artış, noktüri ve ciddi pelvik ağrı ile karakterize bir mesane problemi olup hastaların yaşam kalitesini ciddi oranda azaltan önemli bir klinik problemdir (1). Sistitli bireyler miksiyon işlevini kontrol etme kapasitelerini genellikle kaybetmiş ve sıklıkla acil idrara çıkma hissi ve mesane ağrısı yaşarlar. Bu durumun devamında ise inkontinansı önlemek için pelvik bölgede spazm nedeniyle hastalarda yaygın olarak pelvik ağrı görölmektedir (28). Uluslararası Mesane Ağrısı Sendromu Araştırma Derneği, sistiti sıklıkla pelvik bölgede kronik ağrı, mesaneyle bağlantılı olarak artmış basınç ve işme güçlüğü, işeme sıklığı ve sürekli idrara çıkma isteği ile ilişkili bir sendrom olarak tanımlamıştır (29).

2.3.1. Sistitin Nedenleri

Tüm sistit alt tipleri etiyolojiden bağımsız olarak sık idrara çıkma isteği, suprapubik bölgede ağrı ve dizüri olmak üzere üç temel semptomla karakterizedir. Sistitin lokal semptomları hastayı rahatsız edici olabilse de özellikle enfeksiyöz tipleri daha ciddi bir rahatsızlık olan piyelonefritin gelişimine neden olabilir. Sistit bazen prostat hipertrofisi, sistosel, üriner taşlar veya mesane neoplazmaları gibi idrar stazıyla ilişkili altta yatan bir rahatsızlığın ikincil bir komplikasyonu olarak da görölmektedir. Bu nedenle sistit tedavisinde önce bu birincil lezyonların düzeltilmesi gereklidir (30).

Klinik gözlemler bakteriyel enfeksiyonun sistitin en yaygın nedenlerinden biri olduğunu ve genellikle *Escherichia coli*, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* türlerinden kaynaklandığı bilinmektedir. Enfeksiyöz sistite yatkınlık üretral malformasyonların varlığı ve mesane taşı gibi yapısal bozukluklar varlığında artmaktadır (6). Ayrıca özellikle

kadınlarda aktif cinsel yaşam, rahim içi araç kullanımı, gebelik ve yaş gibi faktörler de sistit ataklarını artırmaktadır (31).

Enfeksiyöz sistit haricinde ilaç kullanımına bağlı gelişen sistit, ilaçların ürotoksisitesinin bir türü olarak tanımlanmakta ve hastaların yaşam kalitesinin bozulmasına, ilaç uyumsuzluklarına yol açmaktadır. İlaçla ilişkili sistit, hafif idrar semptomlarından, hekimlerin tedavi etmesi zor olabilen brüt hematüriye kadar çeşitli biçimlerde ortaya çıkabilir. Şimdiye kadar kemoterapi ilaçları, ketamin, tiaprofenik asit ve çeşitli ilaçların sistit ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Özellikle alkileyici ajanlardan siklofosamid (SFD) ve ifosfamid, intravenöz tedavi gören hastalarda yüksek prevalansı nedeniyle yaygın olarak bilinen hemorajik sistite yol açan kemoterapötiklerdir (7). SFD'nin neden olduğu hemorajik sistitin mekanizması kesin olarak bilinmemekte ancak sistitin ilaç dozuyla ilişkili olmadığı ve akrolein metabolitinden kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (32).

2.3.2. Sistit Sınıflandırması

Sistit, enfeksiyöz veya non enfeksiyöz nedenlerden kaynaklanabilir. Enfeksiyöz sistit genel olarak komplike olmayan veya komplike olarak kategorize edilebilir. Akut sistit tipik olarak idrar kesesinin bakteriyel bir enfeksiyonundan kaynaklanır. Komplike sistit ise enfeksiyonun virülansını veya antibiyotik tedavisinin başarısız olma potansiyelini artıran risk faktörleriyle ilişkilidir. Kadınlar, rektumun üretral meatusa yakınlığı ve kadınlarda üretral uzunluğun nispeten kısa olması nedeniyle özellikle hassastır (33).

İnterstisyel sistit/mesane ağrısı sendromu (IC/BPS), için genel kabul görmüş bir tanım yoktur. İnterstisyel sistit (IC/BPS), değişen sıklıkta görülen ağrı, pollaküri, noktüri ve zorunlu idrara çıkma ile karakterize, bulaşıcı olmayan, kronik bir mesane hastalığıdır. IC/BPS semptomları psikolojik ve/veya fiziksel stres altında sıklıkla kötüleşebilse de bu tamamen psikosomatik bir hastalık değildir (34). Bununla birlikte, IC/BPS hastalarının hem klinik semptomlarında hem de patofizyolojik durumlarının yönetimi ve etkili tedavilerin geliştirilmesinde büyük bir zorluk teşkil etmektedir. IC/BPS'nin anlaşılmasını ve yeni terapötiklerin geliştirilmesini ilerletmek için, ürotelyal geçirgenlik, mesane iltihabı, mesane/pelvik ağrı ve idrar sıklığı dahil olmak üzere IC/BPS'nin en yaygın patofizyolojik özelliklerini özetleyen çok sayıda hayvan modeli geliştirilmiştir. Bununla birlikte, IC/BPS'nin zorlayıcı semptomları için hala etkili uzun vadeli tedaviler bulunmamaktadır. IC/BPS hastalarında psikososyal komorbiditeler yaygındır ve hastanın zihinsel ve fiziksel sağlığında kronik bir düşüşe yol açan anksiyete ve depresyon vakalarının daha yüksek

olduğu rapor edilmiştir. IC/BPS hastaları mesane ağrısı ve alt üriner sistem semptomları gibi ortak semptomlarla başvursa da, bu heterojen bir klinik sendromdur. Oldukça farklı patofizyolojiye veya tedaviye verilen yanıtlara göre kategorize edilen farklı alt gruplar veya fenotipler mevcuttur. IC/BPS hastalarının %5-57'sinde Hunner lezyonları vardır, daha ciddi mesane iltihabı ve ürotelyal denüdasyonla ilişkili anormal kılcak yapıların eşlik ettiği kırmızımsı mukozal lezyonlar. Hunner olmayan lezyonlu IC/BPS hastaları daha az mesane inflamasyonu sergiler, ancak genellikle irritabl bağırsak sendromu, fibromiyalji ve migren dahil olmak üzere daha yaygın semptomlar ve ağırlı komorbiditeler rapor edilir, bu da sistemik bir sendromun göstergesidir. IC/BPS'nin etiyopatofizyolojisi hala bilinmemekle birlikte, Hunner lezyonlu IC/BPS'nin ve Hunner lezyonları olmayan IC/BPS'nin farklı patofizyolojik kökenlere sahip olma olasılığı giderek artmaktadır. IC/BPS tanısı ağırlıklı olarak, diğer tanımlanabilir hastalıkların yokluğunda suprapubik ağrı, mesane dolumu ile ilgili basınç veya rahatsızlık ve pelvis boyunca ağrıyı içerebilen kronik pelvik ağrının varlığına dayanır. Bu nedenle, klinik tanı, ilaç tedavisi, kemo veya radyoterapinin neden olduğu sistit veya omurilik yaralanması, felç gibi mesane fonksiyon bozukluğu ile ilişkili nörolojik bozukluklar gibi mesane ağrısı ve fonksiyon bozukluğunun alternatif kaynaklarını dışlamak için hastanın kişisel ve tıbbi geçmişinin kapsamlı bir analizini gerektirir (35).

İnterstisyel sistit/mesane ağrısı sendromu (IC/BPS), Amerikalı kadınların %2,5 ile %6,7'sini etkileyen ve üroloji muayenehanesine yapılan ziyaretlerin kabaca %2,5'ini oluşturan, tam olarak anlaşılamayan bir kronik ağrı durumudur. Hastalar, tanımlanabilir bir neden olmaksızın 6 haftadan uzun süre boyunca idrar torbasında ağrı, basınç veya rahatsızlık hissi ile ilişkili alt idrar yolu semptomları (AÜSS) ile başvururlar. IC/BPS'nin diğer kronik ağrı durumlarıyla yüksek oranda komorbid olması, ortak bir patofizyolojiye işaret etmektedir. Hastalığın heterojen doğası nedeniyle, IC/BPS'de güvenilir bir biyobelirtecin tanımlanması zorlu ve aktif bir araştırma alanı olmuştur. Aday biyobelirteçler arasında anormal şekilde eksprese edilen mesane epitelyal proteinleri, mast hücreleri, nörotransmitterler ve inflamatuvar proteinler yer alır. IC/BPS'nin patofizyolojisi yeterince anlaşılmamıştır ve aktif bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir. Ürotelyal yüzeyin koruyucu glikozaminoglikan (GAG) tabakasının içsel fonksiyon bozukluğu, ürotelyumun mast hücre infiltrasyonu, enfeksiyon, aşırı duyarlılığa neden olan nöral değişiklikler ve otoimmün süreçlere bağlı kronik inflamasyon dahil olmak üzere çeşitli etiyolojik mekanizmalar önerilmiştir (36).

Hemorajik sistit (HC), radyoterapi veya kemoterapiyi takiben kalıcı hematüri ve alt idrar yolu semptomlarıyla karakterizedir. Patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır ancak kemoterapiyi takiben akrolein toksisitesi veya radyoterapi sonrasında fibrozis/vasküler yeniden yapılanma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (37).

2.3.3. Sistit Epidemiyoloji

Sistiti de içeren idrar yolu enfeksiyonları (İYE) kadınlarda en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardır. Kadınların yaklaşık %40 ila %60'ı hayatlarının bir noktasında idrar yolu enfeksiyonu geçiriyor; yarısı 32 yaşında. Bu hastalığın çoğunluğu, ABD'de sekiz milyon insan acil veya klinik ziyaretlerine, 100.000 insanın hastaneye başvurusuna ve yılda 3,5 milyar dolarlık sağlık harcamalarına neden olmaktadır. Kadınların %30 ila %44'ünün ilk enfeksiyondan sonraki altı ay içinde ikinci bir idrar yolu enfeksiyonu geçireceği tahmin edilmektedir (38).

Her yıl toplam 1,5 milyon kişi İYE'den muzdariptir ve bu da onu en yaygın sağlık sorunlarından biri haline getirmektedir. Kadınlar erkeklerden sekiz kat daha fazla İYE yaşamaktadır ve yetişkin kadınların %50-60'ı yaşamları boyunca en az bir İYE geçirerek yaşam kalitelerini ve psikolojik refahlarını etkilemektedir. Anatomik özellikler, cinsel davranış, ürogenital yaşlanma, pelvik organ prolapsusu, üretral divertikül, veziko-vajinal fistül, üriner inkontinans, menopoz ve gebelik kadınlar için olası risk faktörlerini temsil etmektedir (39).

Erkeklerde görülme sıklığı çok daha düşüktür; yılda 65 yaşın altındaki her 10.000 erkekte 10'dan az vaka görülür. Erkeklerde semptomlar kadınlardakiyle aynıdır, ancak tekrarlayan veya tedavi edilemeyen semptomlar olası prostatiti düşündürür. Erkeklerde daha uzun üretranın yanı sıra, kontamine anüsten daha uzakta bir üretral kanal, daha kuru bir periüretral ortam ve üretral ve prostatik savunmalar da vardır. Geleneksel olarak erkeklerdeki tüm İYE'lerin komplike olduğu düşünülürken, artık bazılarının 15-50 yaşları arasında olması ve mesane çıkım tıkanıklığı, anatomik anormallikler, zayıflamış bağışıklık, komplike tıbbi eşlik eden hastalıklar (böbrek yetmezliği, kontrolsüz diyabet veya böbrek nakli gibi) veya ürolitiazis ürolojik gibi herhangi bir risk faktörü taşıması durumunda komplike olmayan enfeksiyonlar olarak tedavi edilebileceğine inanılmaktadır (38).

Hastalığın tanımına bağlı olarak IC/BPS prevalansı 100.000 kadında 52 ile 500 arasında ve 100.000 erkekte 8 ile 41 arasında değişmektedir. En sık kadınların etkilendiği

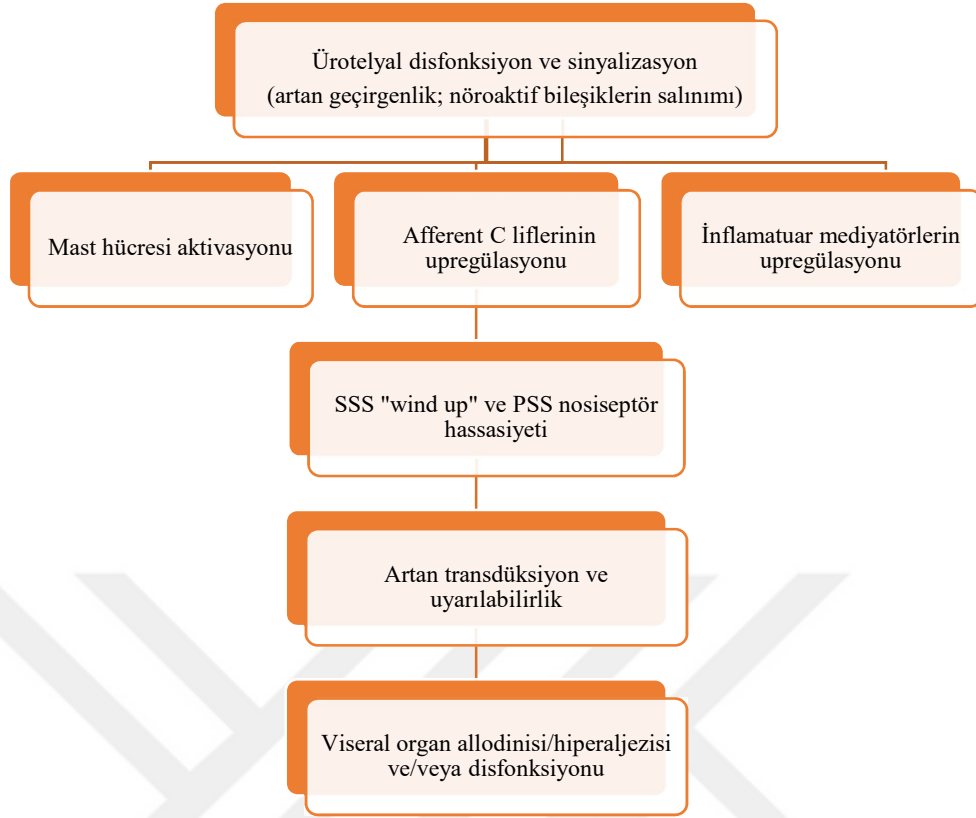
bilinmektedir. Her yaştan bireyin etkilenebilmesine rağmen en yüksek görülme sıklığı 42 ile 53 yaş aralığı arasındadır (40).

2.3.4. IC Etiyolojisi

IC'nin etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da, ürotelyal bariyerdeki bozukluklar, otoimmünite, nörojenik ve miyojenik inflamasyon gibi çok sayıda multifaktöriyel teori öne sürülmüştür (41). Özellikle IC'nin oluşumunda epitel disfonksiyonunun, mesane duysal sinirlerinin up-regülasyonunun ve mast hücresi aktivasyonunun ana rolü üstlendiği konusunda çeşitli kanıtlar bulunmaktadır. Omurilik, santral sinir sistemi ve pelvik tabanın IC'nin patogenezi ve klinik görünümündeki rolü artık bilinmektedir ve IC yalnızca ürolojik bir durum olmamakla birlikte jinekolojik, nörojenik, pelvik taban ve gastrointestinal bulguları olabilir (42).

Ürotelyal yüzey, glikozaminoglikanlar (GAG'ler) ve glikoproteinlerden oluşan geçirgen olmayan bir mesane yüzeyini ile kaplıdır. Bu yüzeydeki değişiklikler, potasyum iyonlarının ürotelyumu geçmesine, duysal ve motor sinirleri depolarize etmesine ve mast hücrelerini aktive etmesine izin veren geçirgenlik değişikliklerine neden olabilir. Bu geçirgenlik disfonksiyonu, IC hastalarında artan üre emilimi ve pozitif potasyum duyarlılık testleriyle kendini gösterir (42). Özellikle potasyumun alttaki dokulara difüzyonunun artması, kronik inflamasyona, doku hasarına, mast hücresi degranülasyonuna neden olur. Ürotel bariyerinde oluşan bu değişiklikler, su, üre ve diğer toksik maddelerin alttaki dokulara (sinir ve/veya kas tabakaları) geçmesine izin verebilir ve bunun sonucunda mesane dolumu ve boşaltımı sırasında aciliyet, sıklık ve ağrı semptomları ortaya çıkabilir. Üretra epitel, çeşitli nörotransmitterleri salıveren (örneğin asetilkolin, serotonin veya somatostatin) paranöronlar olarak adlandırılan birkaç özel hücre sınıfına sahiptir. Bu hücrelerin duysal sinirlere yakın anatomik konumu nedeniyle, üretra duysal ağrıdan birden fazla faktörün salınması duysal uyarılabilirliği düzenlemede rol oynayabilir ve bu durum hassasiyet ve ağrıya katkıda bulunabilir. Bu durumun IC'ye bağlı gelişen abdominal ağrı ve suprapubik hassasiyetin ana nedenlerinden biri olduğu tahmin edilmektedir (41).

Ürotelyumun rolüne ilişkin yeni bilgiler, adenozin 5' trifosfat (ATP) yolu ve vanilloid ve purinerjik (P2X3) reseptörler aracılığıyla purinerjik nörotransmisyonun önemine dikkat çekmektedir. Bu bilgilerin IC'nin patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına ve yeni tedavilerin geliştirilmesine yol açacağı tahmin edilmektedir (42).



Şekil 4. IC gelişimine neden olan potansiyel mekanizmalar

Aktif C-lif afferentleri tarafından salgılanan bir taşıyıcının olan P maddesi, santral ve periferik sinir sistemlerinde nosisepsiyonda rol oynar ve ayrıca bir inflamatuvar mediyatör olarak işlev görür. P maddesinin salınımı, mast hücresi aktivasyonu ve komşu nöronların (duyusal, otonomik, motor) up-regülasyonu ile bir inflamatuvar kaskad ile sonuçlanır. IC'de artan sayıda P maddesi içeren nöron ve nörokinin reseptörlerinin upregüle olduğu görülmüştür. Ayrıca sinir büyüme faktörü (NGF) de IC'de artar ve bu da nörojenik inflamasyonun IC'deki rolünü daha da doğrular (42).

IC'nin ardındaki patogenezi aydınlatmak için elektron mikroskobu ve immünohistokimyasal boyama teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda hem insan hem de hayvan çalışmalarında inflamasyonun merkezi bir rolü doğrulanmıştır. Etiyolojiden bağımsız olarak, zararlı uyarana maruziyet daha uzun süre devam ederse kronik inflamasyona yol açar. Gelişen kronik inflamasyonu takiben de mesane disfonksiyonu kaçınılmaz hale gelir (43).

Enfeksiyöz sistitte mesanenin ürotelyumunun bakteriyel istilası, bakterilerin rektumdan göç etmesi ve bakterilerin perine ve vajinadan kolonizasyonundan kaynaklanır.

Yaş, östrojenin yaşla birlikte azalması ve pH'nın artması nedeniyle önemli bir faktördür, bu da vajina ve perinenin *E. coli* gibi gram negatif enterik organizmalarla kolonizasyonunu teşvik eder (38).

Çoğu sistit vakasına neden olan en baskın tanımlanabilir bakteri *Escherichia coli*'dir. Sistite neden olan diğer organizmalar arasında *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* bulunmaktadır. Yakın zamanda hastaneye yatmış veya daha önce İYE tedavisi görmüş hastalarda *Pseudomonas*, *enterokok* ve *S. saprophyticus* gibi stafilokoklar görülebilir. *Laktobasiller*, B Grubu *streptokoklar* ve koagülaz-negatif *stafilokoklar* gibi diğer birçok organizma, gerçek bir enfeksiyonun mümkün olduğu tek bir organizmanın çok yüksek sayıları olmadıkça genellikle kontaminant olarak kabul edilir (33).

Hemorajik sistitin (HS) ise mesane inflamasyonu ve bunu izleyen endarterit ve fibrozis ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Siklofosfamid ve ifosfamid ile indüklenen HS'ye primer olarak akrolein ve neden olduğu hücre içi olaylar aracılık eder. Akrolein, siklofosfamid ve ifosfamid hepatik metabolizmasının bir ürünüdür ve böbrekler tarafından süzildükten sonra mesanede yoğunlaşır. Akrolein, reaktif oksijen türlerinin (ROS) up-regülasyonu ve nitrik oksit sentaz indüksiyonu yoluyla nitrik oksit üretiminin artması yoluyla mesane ürotelyumunda inflamatuvar hücre ölümüne yol açar. ROS ve nitrik oksit, lipid ve protein açısından toksik peroksinitritler üretir, DNA iplikçiklerinin kırılmasına neden olur ve transkripsiyon faktörlerini (NF-kB) aktive ederek pro-inflamatuvar sitokin ve interlökin (IL)-1B gen ekspresyonuna ve mesane ülserasyonuna neden olur. Radyasyondan kaynaklanan hemorajik sistit ise 'radyasyon sistiti' olarak adlandırılır. Radyasyon sistitinin patogenezi üç aşamada ilerler. Akut faz, mesane mukozasına doğrudan RT hasarından kaynaklanır ve inflamasyon ve doku ödemi ile sonuçlanır. Bu durum ürotelyumu deskuamasyona uğratar ve ürotelyal rejenerasyonu tehlikeye sokar. Radyasyon sistiti tedaviden aylar ile yıllar sonra ortaya çıkabilir (yani latent-kronik radyasyon sistiti). Gizli-kronik radyasyon sistitinin patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır, ancak araştırmalar fibrozis ve vasküler yeniden şekillenmenin temel özellikleri olduğunu göstermiştir. Vasküler fibrozisi, damar hasarı ve endarterit ile sonuçlanır, bu da sonuçta zayıf perfüzyon ve iskemi nedeniyle ürotelyal atrofiye neden olur. Bu da neovaskülarizasyonu kanamaya eğilimli telenjiektatik damarları tetikler. Ayrıca, mesane düz kas hücreleri fibroblastlarla yer değiştirerek kolajen birikimine ve ek fibrozise yol açar. Son aşamalarda, tam mesane fibrozu, fistülasyon ve ülserler, komplikasyonu ciddi şekilde azalmış kontrakte bir mesane ile sonuçlanır (37).

2.3.5. IC Tedavisi

IC'de tedavi stratejileri genellikle konservatif, oral tıbbi tedaviler, intravezikal ilaç uygulamaları, nöromodülasyon ve cerrahi tedavi olarak sınıflandırılabilir. Tedavi stratejileri, konservatif yaklaşımlarla semptom kontrolü kabul edilebilir yaşam kalitesi için yetersizse diğer tedavi şemalarına geçerek kullanılarak ilerlemelidir. Geri döndürülemezlikleri nedeniyle cerrahi tedaviler genellikle yalnızca diğer tedavi alternatifleri etkisiz olduktan sonra veya nadir durumlarda son evrede, fibrotik mesane doğrulandığında ve hastanın yaşam kalitesi büyük cerrahi için pozitif bir risk-fayda oranı önerdiğinde uygundur. Konservatif tedaviler arasında sıvı alımı kontrolü, pelvik taban egzersizleri, düzenli idara çıkma alışkanlıklarının kazandırılmasını içeren hasta eğitimi; fiziksel terapiler; hasta stresinin azaltılması; alkol, asidik içeriği yüksek besinler, kahve tüketiminin azaltılması gibi önlemler yer almaktadır (5).

Oral tedavi yaklaşımlarına baktığımızda pentosan polisülfat sodyum (PPS), şu anda IC/BPS tedavisi için ABD'de FDA tarafından onaylanan tek oral ilaç olan bir heparin analogudur. PPS'nin IC/BPS ile ilişkili GAG tabakasındaki eksikliği düzelttiği düşünülmektedir. Bu ilaca ait kanıtlar IC/BPS tedavisi açısından diğer tüm ilaçlardan daha fazladır. Önerilen doz günde 3 kez 100 mg'dır. Ancak terapötik yanıt genellikle geç ortaya çıkmakta ve hastanın yanıt vermesi 12 aya kadar sürebilmektedir. Bu durum da hasta uyuncu açısından klinik kullanımını kısıtlamaktadır (44, 45).

IC tedavisinde en sık kullanılan antihistaminik olan hidrokizin, mast hücre aktivasyonunu azaltır ve özellikle alerjisi olan hastalarda etkili olabilir. Randomize kontrollü çalışmada, hidrokizin genel olarak semptomları %40 oranında azaltırken, ancak önemli alerji geçmişi olan hastalarda semptomları %55 oranında azalttığı görülmüştür. Hidrokizin ayrıca PPS ile kombinasyon halinde de kullanılabilir. Histamin H2 reseptör antagonisti olan simetidin plasebodan daha iyi olduğu, ucuz olduğu ve nispeten güvenli olduğu gösterilmiştir. Ancak saptanan oranlar IC semptomlarının kontrolü için hala yeterli değildir. (44).

Trisiklik antidepresanlardan amitriptilin; H1 reseptörleri blokörü etkisiyle mast hücrelerini stabilize eder ve sonuçta sistitle birlikte vasküler geçirgenlikte oluşan bozulmayı önler. Ayrıca serotonin ve adrenalinin sinaptik aralıktan geri alımını inhibe ederek santral yolla mesaneden gelen ağrılı nosisepsiyonu engeller. Amitritilin dışında doksepin ve desipramin gibi trisiklik diğer antidepresanlar da IC tedavisinde yararlı etkiler

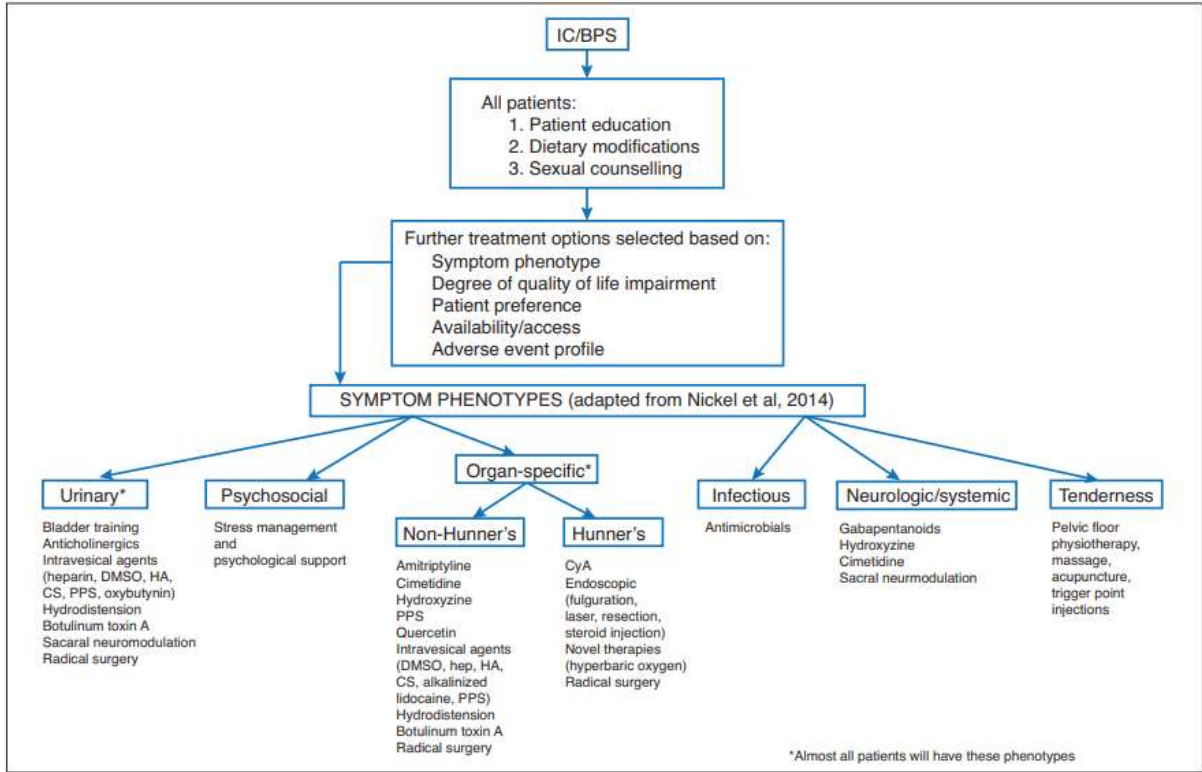
göstermektedir. Ancak trisiklik antidepresanların antikolinerjik yan etkileri yönünden dikkatli olunmalıdır (5, 45)

IC tedavisine yönelik bir klinik çalışmada, şiddetli IC semptomlarını kontrol etmek için uygulanan ikinci basamak stratejiler arasında kortikosteroidler (prednizon) ve siklosporin gibi immünosüpresif ajanların terapötik etkilerine yer verilmiştir. Siklosporinin ağır IC semptomlarını hafiflettiği başka çalışmalarda da gösterilmiştir. Fakat tedavi kesildikten sonra semptomların sıklıkla tekrarlandığı ve hastalarda plazma kreatinin düzeyinin arttığı ve hipertansiyon geliştiği görülmüştür (44, 45).

Son yıllarda IC tedavisinde intravezikal uygulamalar da dikkat çekmektedir. İntravezikal tedavide ajan bir kateter aracılığıyla mesaneye doğrudan verilmektedir. Hala ikinci basamak tedavi olarak kabul edilmelerine rağmen, bu tedaviler konservatif tedavi ve oral ilaçlarla başarısız olan hastalar için uygulanmaktadır. İntravezikal uygulamaların başında bir organosülfür bileşiği olan DMSO gelmektedir. DMSO'nun IC'yi hafiflettiği kesin mekanizma bilinmemekle birlikte, birkaç mekanizma aracılığıyla çalıştığı düşünülmektedir. Çalışmalar özellikle inflamasyonu azaltarak, detrusor gevşemesine neden olarak veya kolajeni çözerek ve ayrıca bir analjezik olarak etki ederek terapötik etki gösterdiğini öne sürmüştür. DMSO ayrıca geçici ürotelyal hasara neden olabilir ve bu nedenle diğer ajanların daha iyi nüfuz etmesine izin verebilir. Bu nedenle, DMSO genellikle multimodal bir rejimde bir "kokteyl" in parçası olarak verilir. Bu kokteyller, DMSO, heparin, lidokain, sodyum bikarbonat ve/veya steroidin bir kombinasyonunu içerir, ancak hiçbir kombinasyonun diğerlerinden daha etkili olduğu kanıtlanmamıştır. Heparin, hematolojik kullanımlarına ek olarak, IC için intraveziküler tedavi olarak da benimsenmiştir. Heparinin bu hastalardaki teorik faydası, IC'de sergilenen histopatolojik değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Oral PPS gibi, heparin de ekzojen bir GAG olarak davranır ve ürotelyumun doğal işlevlerinin bir kısmını yerine getirebilir. Heparin ayrıca anti-inflamatuar, fibroblast proliferasyon inhibisyonu, anjiyogenez ve düz kas hücresi proliferasyonu dahil olmak üzere çeşitli diğer potansiyel olarak yararlı etkiler gösterir ve bu nedenle IC'de birden fazla mekanizma ile yararlı olabilir (46). Benzer şekilde hyalüronik asit ve kondroitin sülfatın intravezikal uygulamaları da IC hastalarında semptomları kontrol etmek için denenmektedir (44).

IC için dördüncü basamak tedaviler arasında intradetrusor Botulinum toksini-A (BTX-A) enjeksiyonları ve nöromodülasyon yer alır. Botulinum toksini, Clostridium botulinum bakterisi tarafından üretilen nörotoksik bir proteindir. Doğada şiddetli alt tiplerde

(A-G) bulunmasına rağmen, tıbbi uygulamada kullanılan tek alt tipler BTX-A ve daha az yaygın olarak BTX-B'dir. BTX-A, aşırı aktif mesane (OAB) ve nörojenik mesane gibi çeşitli mesane patolojileri için uzun zamandır etkili bir tedavi olarak kabul edilmiştir, ancak IC tedavisi için yalnızca yakın zamanda araştırılmaya başlanmıştır (46).



Şekil 5. IC tedavi şeması (Cox'tan, 47)

2.4. TLR4 Sinyal Yolağı

Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), patern tanıyan reseptörler ailesinin üyesi olup, mikrobiyal patojenlere karşı oluşturulan immün yanıtta önemli roller üstlenmektedir. Son yıllarda TLR'lerin sadece patojenle ilişkili moleküler paternlere (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) değil aynı zamanda hücre hasarı sonucu salınan tehlike ilişkili moleküler paternler (damage-associated molecular patterns, DAMP) olarak adlandırılan birtakım endojen moleküllere karşı oluşturulan inflamatuvar yanıtta da önemli rolleri olduğu gösterilmiştir. Birçok çalışma, özellikle TLR4 alt tipinin patojenik faktörlere yanıt olarak doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemleri arasında bir "köprü" görevi gördüğünü göstermiştir. TLR4, patojenik bakterilerin spesifik moleküler yapılarını veya hasarla ilişkili moleküler paternleri (DAMP'ler) tanıyabilir ve ardından bir inflamatuvar kaskadı

başlatabilir. İlk tanımlandıklarında immün yanıtta rolleriyle ön plana çıkmış olsalar da 2004 yılından sonra immün yanıt harici çeşitli fizyolojik ve fizyopatolojik olaylarda da önemli roller üstlendikleri saptanmış ve günümüzde hala önemli bir araştırma konusu olarak güncelliğini sürdürmektedir (48).

TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 ve TLR6 hücre yüzeyinde yer alır ve büyük ölçüde mikrobiyal membran bileşenlerini tanıırken TLR3, TLR7, TLR8 ve TLR9 hücre içi veziküller içinde ifade edilir ve nükleik asitleri tanıır. Ligand etkileşiminin ardından, TLR'lerin sitoplazmik TIR alanları, MyD88, TIRAP, TRAM ve/veya TRIF sinyal adaptörlerini aktifleştirir. Kullanılan adaptörün doğasına bağlı olarak, çeşitli kinazlar (IRAK4, IRAK1, IRAK2, TBK1 ve IKKε) ve ubiquitin ligazları (TRAF6 ve pellino 1) uyarır ve aktive eder, biyolojik yanıt NF-κB, tip I interferon, p38 MAP kinaz (MAPK) ve JNK MAPK yollarının etkileşimiyle sonuçlanır (49).

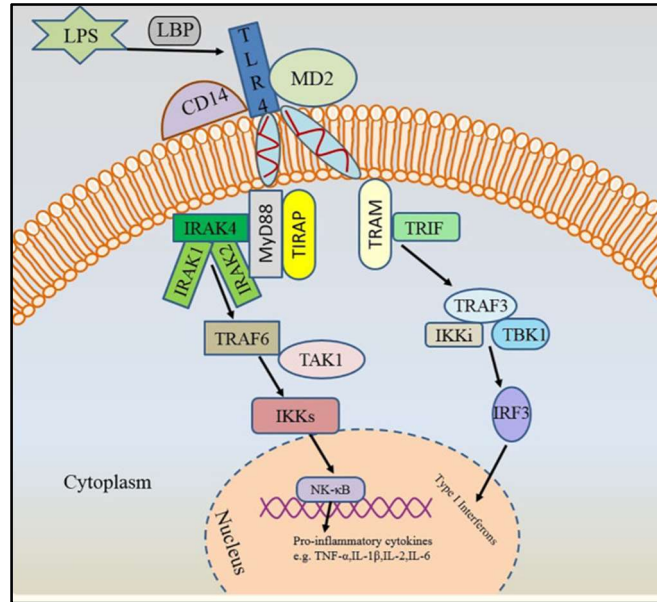
TLR4 en çok çalışılan reseptörlerden biridir ve obezite, endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, diyabet ve metabolik sendromda inflamatuvar yanıtın temel tetikleyicisi olarak kabul edilir. Nötrofillerin, makrofajların, dendritik hücrelerin ve endotel hücrelerinin hücre zarlarında bulunabilir. Viral proteinler, polisakkaritler ve endojen proteinler (β-defensinler ve ısı şoku proteinleri) gibi birkaç ligand bu reseptörün aktivasyonu ile ilişkilidir (50). TLR4 uyarılmasıyla NF-B'yi aktive olmasıyla proinflamatuvar sitokinlerin üretimi artar ve başta immün sistem aktivasyonu olmak üzere ototimmün hastalıklar, kanser ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi birçok patolojinin gelişmesinde anahtar rol oynar (48).

TLR4 çeşitli hücre yüzeylerinin yanı sıra endozomlarda, özellikle de bağışıklık ve glial hücrelerde yer alır. Miyeloid farklılaşma birincil yanıt 88 (MyD88) adaptör molekülü, TLR4'ün hücre içi alanı ile etkileşime giren ve NF-κB ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive edebilen en yaygın adaptör proteindir. Hasarı takiben, hücre yüzeyindeki TLR4 aktivasyonu, inflamatuvar bir fenotipe doğru kaymalarına ve dolayısıyla IL-1β, TNF-α ve IL-6 dahil olmak üzere inflamatuvar faktörlerin salınmasına katkıda bulunur. TLR4 antagonistlerinin intratekal uygulaması ve TLR4 sinyalinin siRNA aracılı baskılanması, NF-κB yolunun aktivasyonunu ve TNF ve IL-1β üretimini önleyerek inflamatuvar yanıtı baskılamaktadır (51).

TLR4 aşırı aktivasyonunun kronik inflamasyonu tetikleyebileceği çok sayıda veriyle kanıtlanmıştır. Sonuç olarak, kardiyovasküler hastalıklar, insülin direnci, kanser, kronik böbrek hastalığı ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı dahil olmak üzere bir dizi morbiditeye

neden olabileceği saptanmıştır (50). Bu nedenle son yıllarda TLR4/NFκB sinyalizasyonu çeşitli inflamatuvar hastalıklar için önemli bir ilaç hedefi haline gelmiştir.

TLR4'ün sinyalizasyonu detaylı olarak incelendiğinde sonucu iki ana hücre içi sinyalizasyon yolağının aktive olduğu görülmektedir. İlki miyeloid farklılaşma birincil yanıtı 88 (MyD88) bağımlı yol ve diğeri toll-interlökin-1 reseptörü (TIR) yapısal alan içeren adaptörle indüklenen IFN-β (TRIF) yoldur. Bu iki sinyal yolu, iki proinflamatuvar sitokin üretimine yol açar. MyD88 ve TIR homoloji alanı içeren adaptör proteinin (TIRAP) etkileşimi, IRAK1 ve IRAK2' nin aktivasyonunun eşlik ettiği IRAK4' ün aktivasyonuna yol açar. IRAK4 bu yoldaki en yukarı yönlü kinazdır ve doğrudan MyD88 ile ilişkilidir. IRAK4, TIR sinyal yolunda belirleyici bir rol oynar. Aktive IRAK4, TNF-reseptör ilişkili faktör 6'ya (TRAF6) bağlanır, bu da daha sonra dönüştürücü büyüme faktörü ile aktive olan kinaz 1 (TAK1) aracılığıyla IκB kinaz (IKK) sinyalini aktive eder, sonuçta NF-κB aktivasyonuna ve diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonuna yol açar. TRIF yolu, tip 1 IFN genlerini aktive etmek ve IFN düzenleyici faktör 3 (IRF-3) aracılığıyla NF-κB'yi geciktirmek için TRIF ve TRIF ile ilişkili adaptör molekül (TRAM) tarafından aracılık edilirken. Bu yollar inflamatuvar sitokinlerin dengesi üzerinde etkili olmaktadır (Şekil 6). Özellikle, TLR4 hem MyD88 hem de TRIF yollarına dayanan tek TLR'dir ve TLR4/MyD88 sinyal yolağı birçok patolojiyle ilişkilidir (52).



Şekil 6. TLR4'ün aktivasyon yolları (Kang'tan, 52)

Yapılan çalışmalar TLR4 yolağının farklı sinyalizasyon yollarıyla da etkileşimde olduğunu göstermektedir. Bunlardan biri de nörokinin reseptörleridir. Nörokinin-1-resptörü (NK1R) uyarıldığında da TLR4 yolağının downstream molekülü olan NFkB aktive olmakta ve böylece doğrudan etkileşime girmektedir. P maddesi ile tedavi, NFkB ekspresyonunu artırmakta ve seçici NK1R antagonizması ile NFkB aktivasyonuna bağlı proinflamatuvar sitokin üretimi azalmaktadır (12). NK1R antagonisti aprepitantın TLR4 agonisti LPS ile muamele edilen makrofajlarda TLR4/NFkB yolağının aktivasyonu sonucu oluşan proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı ve önemli bir inflamasyon belirteci olarak kabul edilen iNOS ekspresyon artışını önlediği saptanmıştır (13). Nazal epitelyal hücrelerde P maddesi uygulamasının NK1R aktivasyonu yoluyla TLR4 ekspresyon düzeyini ciddi oranda arttırdığı ve NK1R antagonisti aprepitantın da bu artışı önlediği bu sayede NK1R ve TLR4 yolağı arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (14).

2.5. Sistit ve TLR4 Yolağı İlişkisi

İnflamatuvar sinyalizasyonun önemli rolü olduğu bilinen sistit koşullarında TLR'lerin rolü araştırıldığında Oliveira ve ark. TLR4'ün siklofosamid kaynaklı mesane disfonksiyonu ve inflamasyonunu başlatmada majör bir rol oynadığını hem moleküler hem de fonksiyonel düzeyde ilk kez göstermişlerdir. Bu çalışmada, TLR4^{-/-} fareler kullanılarak yapılan genetik delesyonun veya TLR4'ün seçici antagonisti resatorvid ile farmakolojik inhibisyonunun, sistit ile ilişkili idrar yapma ve inflamatuvar olaylardaki disfonksiyonu önlediğine dair ikna edici kanıtlar sunulmuştur. Bu veriler, TLR4 alt akış sinyali MyD88 ve TRIF'in artmış ekspresyonunda SFD kaynaklı sistit ile ilgili önemli etiyolojik bilgileri ilk kez doğrudan göstermektedir ve bu da TLR4 sinyalizasyonunun sistit koşullarında önemli bir rol üstlendiğini desteklemektedir (10, 11).

Spinal dorsal boynuzdaki nöroinflamasyonun, IC/BPS patogenezinde mesane aşırı duyarlılığına katkıda bulunduğunu göstermiştir. Bu ilerleme sırasında, nöronlardaki TLR4/p65/NLRP3 yolu, oksidatif stresin eşlik ettiği inflamatuvar faktörleri üretmek üzere aktive edilir ve inflamatuvar hasarı daha da kötüleştirir. Ayrıca mikroglia ve astrositler, p38/JNK sinyal yolu yoluyla proinflamatuvar sitokinler üretmek üzere aktive edilir ve bu, merkezi duyarlılığı uyarmış olur. Bu nedenle IC/BPS'de nöroinflamasyonun tedavi edilmesinde TLR4 yolağının hedef alınması yararlı bir strateji olabilir. Bazı deneysel çalışmalarda da SFD enjekte edildikten sonra sistitli sıçanlarda TLR4'ün ekspresyon seviyesi, p65'in fosforilasyon oranı ve NLRP3'ün önemli ölçüde arttığı görüldü. Bu durum

sistit patogenezinde TLR4 yolağının rolünü doğrulamış oldu (53). Bu nedenle son yıllarda TLR4/NFκB sinyalizasyonu çeşitli inflamatuvar hastalıklar için önemli bir ilaç hedefi haline gelmiştir. TLR4 geninin silinmesi veya farmakolojik blokajının, SFD kaynaklı sistit modelinde mesane inflamasyonunu önlediği gösterilmiştir, bu da TLR4 sinyalinin SFD'nin neden olduğu mesane hasarına aracılık ettiğini doğrulamaktadır (54). Ayrıca grubumuz tarafından yürütülen bir çalışmada tek doz SFD uygulaması sonucu oluşan akut sistit modelinde mesanede TLR4 ve p-NFκB ekspresyonunun arttığı ve yolağın aktive olduğu gösterilmiştir (55).

TLR4 aracılı inflamasyonun, kadın IC/BPS hastalarında ağrılı semptomların güçlü bir öncüsü olduğu iddaa edilmektedir. Çünkü TLR-4 aracılı inflamasyon ile seks hormonları arasındaki etkileşimler, kadınlarda ağrı durumlarının daha fazla yaygınlaşmasında potansiyel bir mekanizma olarak öne sürülmüştür. Glial hücrelerin östrojen reseptörlerini eksprese ettiği bilinmektedir ve *in vivo* kronik östrojen uyarımı, LPS uyarımını takiben mikrogliadaki proinflamatuvar gen ekspresyonunu artırır. Bu nedenle, TLR aracılı inflamasyon ile seks hormonları/menstrüel döngülerin aşamaları arasındaki etkileşimin araştırılması, kadın IC/BPS hastalarının yaşadığı ağrılı semptomlara ilişkin öngörüyü ortaya çıkarabilir (56).

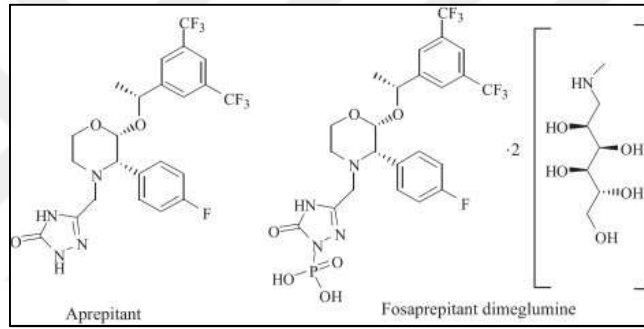
Tüm bu bulgular TLR-4 'ün uyarılmasıyla verilen inflamatuvar yanıtın, IC/BPS hastalarında ağrı ile ilişkili olduğuna dair ikna edici kanıtlar sunulmaktadır. Daha da önemlisi, bu bulgular aynı zamanda TLR-4' ün IC/BPS'de terapötik bir hedef olabileceğini de ortaya koymaktadır.

2.6. Fosaprepitant

Fosaprepitant (FOS) suda çözünebilir bir ön ilaç olup hızla aprepitantta dönüştürülerek etki gösteren ve kemoterapi ile ilişkili bulantı ve kusmanın önlenmesi için dünya çapında birçok ülkede kullanımı onaylanan bir NK1R antagonistidir (57). NK-1 reseptör antagonistleri, area postrema, nucleus tractus solitarius ve visseral afferent sinirlerde santral blokaj yoluyla etki ederek bulantı ve kusma önleyici özellikler sergiler. NK-1 reseptörleri, P maddesinin santral ve periferik etkilerinin çoğuna aracılık eder. P maddesi, nörokininler olarak bilinen bir nöropeptit sınıfına aittir ve ağrı algısında önemli bir rolü olan uyarıcı bir nörotransmitterdir. P maddesinin reseptörü olan NK-1, 7 transmembran sarmaldan oluşan G proteinine bağlı bir reseptördür. Bu nedenle, NK-1 reseptör antagonistleri kusma merkezlerinin hem merkezi hem de periferik uyarılmasını önleyebilir (58).

FOS, 3 günlük aprepitant rejimine alternatif olarak FDA tarafından onaylanmıştır. Ayrıca, tek doz fosaprepitanttan oluşan antiemetik rejim, yetişkin hastalarda oral aprepitant ile 3 günlük tedaviden oluşan antiemetik rejime benzer etkinlik gösterdiği bulunmuştur (59).

In vitro araştırmalar fosaprepitantın insan karaciğeri, böbrek, akciğer ve ileum tarafından hızla aprepitanta dönüştürüldüğünü göstermiştir, bu da geniş bir metabolizma dağılımına işaret etmektedir. Aprepitantın kararlı durumdaki görünür dağılım hacmi insanlarda ~70 L'dir ve >%95 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Aprepitantın majör metabolik yolu sitokrom P450 (CYP) 3A4, minör metabolizması ise CYP1A2 ve CYP2C19'dur. Esas olarak CYP3A4 tarafından metabolize edilen Fosaprepitant dimeglumin veya aprepitant ilaçları kullanılırken, bu ilaçların ve aprepitantın EAA'sında artışa neden olabileceğinden dikkatli olunmalıdır (60).



Şekil 7. Aprepitant ve fosaprepitantın molekül şekli (Yang'tan, 57)

Fosaprepitant dimeglumin ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde Merck Sharp & Dohme tarafından geliştirilmiş ve 25 Ocak 2008 tarihinde Gıda ve İlaç Dairesi tarafından “EMEND®” ticari adıyla onaylanmıştır (60). Fosaprepitant dimegluminin aktif bileşiğe dönüşümü hızlıdır ve 15 dk sonra ön ilacın sadece %3'ü kaldığı saptanmıştır. Fosaprepitantın 15 dk'lık IV infüzyonundan sonra plazma eliminasyon yarı ömrü ortalama ~2,3 dk'dır ve insanlarda dağılım hacmi ~5 L'dir. 115 mg fosaprepitantın aprepitanta dönüşümüyle 18,3 mg fosfat ve 73 mg meglumin açığa çıkarır. Sağlıklı gönüllülerde 115-mg IV fosaprepitant dozuyla aprepitantın ortalama AUC- 31.7 (±14.3) mcg-saat/mL ve C_{maks} 3.27 (±1.16) mcg/mL'dir. Doz sonrası 24 saatte 115 mg IV fosaprepitant, 125 mg oral aprepitant ile benzer bir ortalama plazma aprepitant konsantrasyonu ile sonuçlanır. Sağlıklı gönüllülere tek doz işaretlenmiş [¹⁴C]-fosaprepitant 100 mg intravenöz olarak uygulandığında, ilacın %57'sinin idrarda ve %45'inin de dışkıda geri kazanıldığı raporlanmıştır (57).

FOS, CYP3A4 için bir substrat olmasının yanı sıra, CYP3A4'ün zayıf ile orta derecede bir inhibitörüdür (58).

FOS, randomize çalışmalarda bildirilen minimal yan etkilere sahip güvenli bir ilaçtır. Ağrı, tahriş ve tromboflebit gibi infüzyon bölgesi reaksiyonları, standart tedaviye kıyasla fosaprepitant ile nispeten daha yaygın olarak görülmüştür. Bu reaksiyonların, antrasiklinler gibi vezikant ilaçlar alan hastalarda daha yaygın olduğu gözlenmiştir. FDA, fosaprepitantın çocuklarda santral bir hattan verilmesini önermektedir. Ancak, çocuklarda yakın zamanda yapılan bir randomize çalışma, tromboflebit insidansında artış olmadan fosaprepitantın periferik bir hattan verilmesinin de güvenli olduğunu göstermiştir (61).

Bulantı ve kusmanın önlenmesinin yanı sıra çeşitli çalışmalar (*in vitro* ve *in vivo*) aprepitant ve fosaprepitantın kanser hücresi ölümünü indüklediğini ve kanser hücre canlılığını/hücre proliferasyonunu ve tümör hacmini azalttığını ayrıca NK1R antagonistlerinin kemorezistant kanser hücrelerinin ölümünü indüklediği gösterilmiştir (26, 27). FOS'un ayrıca nöroblastoma hücrelerini sitotoksik ajanlara duyarlı hale getirerek sinerjistik bir antikanser aktivite gösterdiği de saptanmıştır (62).

In vitro ve prelinik çalışmalar, NK1 reseptör blokörlerinin bulantı, aljezi, migren, astım, üriner inkontinans ve gastrointestinal bozukluklar dahil olmak üzere diğer bazı terapötik endikasyonlarda da etkili olabileceğini öne sürmüştür. NK1 reseptör blokörlerinin aşırı aktif mesane tedavisinde etkili olabileceğini gösteren bir pilot çalışma ve kanserli hastalarda biyolojik ajanların kullanımıyla ilişkili ciddi kaşıntının tedavisinde yararlı olabileceğini öne süren bir aprepitant çalışması da mevcuttur (63).

Korneal sinirler tarafından salınan bir nöropeptid olan P maddesi oküler yüzey ağrısı ve nöroinflamasyonun desteklenmesinde önemli bir role sahiptir. P maddesi salınımı oküler yüzey hasarından sonra artar ve korneal perforasyon ve opasiteyi destekler. Özellikle SP, işlevini tercihen hem nöronal hem de nöronal olmayan kornea hücrelerinde eksprese edilen nörokinin-1 reseptörü aracılığıyla uygular. Daha önce fosaprepitant dahil olmak üzere NK1R antagonistlerinin, oküler yüzey hastalığının çoklu klinik öncesi modellerinde korneal ağrısı, enflamasyonu ve neovaskülarizasyonu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini bulundu. Ayrıca, şiddetli oküler yüzey enflamasyonu olan hastaların gözyaşı sıvısında SP seviyelerinin arttığını ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olduğunu bildirildi (64).

NK1R antagonisti FOS'un topikal uygulaması, gözyaşı sıvısında ve trigeminal gangliyonlar'da SP salınımını ve korneal lökosit infiltrasyonunu azaltarak oküler yüzey

nosisepsiyonunu etkili bir şekilde azaltır. FOS oküler ağrı tedavisi için yeniden konumlandırılması umut vaat etmektedir (65).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kimyasallar

Kullanılan kimyasallar Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Kullanılan kimyasallar, marka ve kodları

Kimyasal adı	Marka/ Kod
% 0.9 İzotonik Sodyum Klorür (NaCl)	Polifarma İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Amonyum persülfat (APS)	Bio-Rad®, 161-0700
Anti-mouse IgG HRP-linked antikoru	Bio-Rad, 170-5047
Anti-MyD88 antikoru	Cell Signaling Technology®, #4283
Anti-phospho-NFκB ^{ser536} antikoru (p-NFκB ^{ser536})	Cell Signaling Technology®, #3033
Anti-rabbit IgG HRP-linked antikoru	Bio-Rad, 170-5045
Anti-TLR4 antikoru	Santa Cruz®, sc293072
Anti-total NFκB antikoru	Cell Signaling Technology®, #8242
Anti-β aktin antikoru	Cell Signaling Technology®, #4967
BCA protein konsantrasyonu ölçüm kiti	Thermo scientific®, 23225
Bromofenolblue	Biomatik®, A2223
Clarity Western ECL Substrate	Bio-Rad®, 1705061
Dithiothreitol (DTT)	Sigma Aldrich®, 43815
Evans mavisi	Isolab®, 314-13-6
Formamid	Tekkim®, TK.930134.01001
Fosmazon® 150 mg IV Toz Flakon (FOS)	Polifarma İlaç San. ve Tic. A.Ş.

Tablo 1. (devam)

Gliserol	Sigma Aldrich®, G5516
Glisin	Sigma Aldrich®, G8898
Hidroklorik asit (HCl)	Sigma Aldrich®, 320331
Metanol	Isolab®, 67-56-1
Myeloperoksidaz (MPO) aktivite kiti	Elabscience®, E-BC-K074-M
PMSF (Fenil metil sülfonil florid)	Sigma Aldrich®, 78830
Ponceau S	Sigma Aldrich®, P7170
Proteaz inhibitör kokteyl	Sigma Aldrich®, P8340
Sığır serum albümin (BSA)	Capricorn Scientific®, BSA-1U
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma Aldrich®, L3771
Sodyum florür (NaF)	Sigma Aldrich®, S7920
Sodyum hidroksit (NaOH)	Tekkim®, 1318-79-2
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma Aldrich®, 71383
Sodyum orthovanadat (NaVan-Na ₃ VO ₄)	Sigma Aldrich®, S6508
Sodyum pirofosfat dibazik (Na ₂ H ₂ P ₂ O ₇)	Sigma Aldrich®, 71501
Tetrametiletildiaminden (TEMED)	Sigma Aldrich®, T9281
TGX Stain-Free FastCast Acrylamide Kit, %10	Bio-Rad®, 161-0183
Tris/Glycine Buffer 10x	Bio-Rad®, 161-0734
Tris-Baz (C ₄ H ₁₁ NO ₃)	Sigma Aldrich®, T1503
Triton X 100	Sigma Aldrich®, T8787
Tween 20	Sigma Aldrich®, P1379

3.1.2. Cihazlar

Kullanılan cihazlar Tablo 2’te sunulmuştur.

Tablo 2. Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihazın Adı	Marka/ Menşei
Buz makinesi	Hoshaizaki®, Japonya
Buzdolabı (+4 °C)	Arçelik®, Türkiye
Chemidoc görüntüleme sistemi	Bio-Rad®, ABD
Data kayıt ve analiz sistemi	MP35 BIOPAC®, ABD
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik®, Türkiye
Derin dondurucu (-80 °C)	Thermo Scientific®, ABD
Dikey elektroforez ve transfer sistemi	Bio-Rad®, ABD
Deiyonize su cihazı	Sartorius®, Almanya
Elektriksel alan stimülatörü	MAY®, Türkiye
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	Isolab®, Türkiye
Otomatik Pipetler	Eppendorf®, ABD
pH metre	Ohaus®, ABD
Sıvı azot tankı	Isotherm®, Türkiye
Soğutmalı santrifüj	Sigma Aldrich®, ABD
Su banyolu çalkalayıcı	Memmert®, Almanya
Vorteks	Isolab®, Türkiye

3.2. Deney Hayvanları

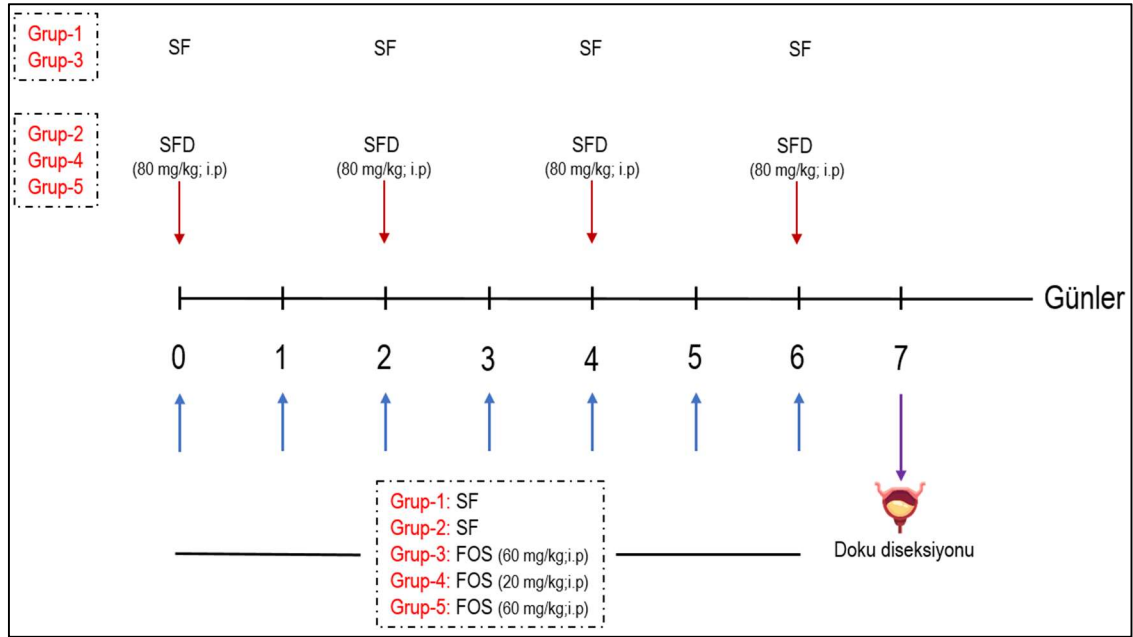
Deneylerde 25-30 g ağırlığında 6-8 haftalık 120 adet yetişkin Balb/c cinsi dişi fareler kullanıldı. Deney hayvanları $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, %55 nem düzeyinde 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde barındırıldı ve *ad libitum* beslenildi. Deneyssel çalışmanın yapılabilmesi için KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'na başvuru yapıldı ve çalışmaya ait etik kurul 2022/59 başvuru numarasıyla onaylandı.

3.3. SFD Uygulaması ile Deneyssel Sistit Modelinin Oluşturulması ve Deney Grupları

Deney hayvanları randomize olarak 5 gruba ayrılmıştır (Şekil 8).

- **Kontrol grubu (Grup-1):** 7 gün boyunca (0., 2., 4. ve 6. günler 30 dk arayla iki ayrı) SF (i.p) uygulandı.
- **SFD grubu (Grup-2):** 0., 2., 4. ve 6. günler SFD (80 mg/kg; i.p), 7 gün boyunca SF (i.p) uygulandı.
- **FOS-60 grubu (Grup-3):** 7 gün boyunca (0., 2., 4. ve 6. günler SF uygulaması şartıyla) fosaprepitant (FOS; 60 mg/kg; i.p) (i.p) uygulandı.
- **FOS-20+SFD grubu (Grup-4):** 0., 2., 4. ve 6. günler SFD (80 mg/kg; i.p); SFD uygulanan günler SFD uygulamasından 30 dk önce olmak üzere 7 gün boyunca FOS (20 mg/kg; i.p) uygulandı.
- **FOS-60+SFD grubu (Grup-5):** 0., 2., 4. ve 6. günler SFD (80 mg/kg; i.p); SFD uygulanan günler SFD uygulamasından 30 dk önce olmak üzere 7 gün boyunca FOS (60 mg/kg; i.p) uygulandı.

Biyokimyasal, moleküler ve fonksiyonel çalışmalar ayrı deney grupları oluşturuldu. Randomize ayrılan deney hayvanları tartılıp kuyrukları boyanarak her bir grup ayrı kafeslerde barındırıldı. Kronik sistit modelinin indüklenmesi için deney hayvanlarına intraperitoneal yoldan 80 mg/kg siklofosamid (SFD) 0., 2., 4. ve 6. günler aynı saatlerde uygulandı. SFD uygulamasından 30 dk önce ve SFD uygulanmadığı günler FOS (20 ve 60 mg/kg/gün; i.p) uygulandı. Kontrol grubuna yalnızca SF uygulaması gerçekleştirildi. Çalışmanın 7. gününde farelere (son SFD uygulamasından 24 saat sonra) servikal dislokasyon uygulandı ve ardından abdominal transvers kesi yardımıyla mesane bütün olarak çıkarıldı.



Şekil 8. Deney grupları ve deney planı

3.4. İzole Organ Banyosu Çalışması

3.4.1. Doku Kesitlerinin Hazırlanışı

Yaşlarına göre eşleştirilmiş yetişkin Balb/c cinsi dişi fareler cerrahi işlem öncesi anestezi maddelerin detrusor düz kas kontraktilitesini değiştirmesi nedeniyle anestezi uygulanmadan servikal dislokasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve ardından farelerin linea alba üzerinden karın alt yarısına transvers kesi ile girilerek mesane görülüp bütün olarak çıkarıldı. Elde edilen fare mesanesi, soğuk Krebs Henseleit (mmol/L: NaCl 118, KCl 4.7, NaH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.3, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 25 ve glukoz 11) çözeltisi dolu petri kapları içine alındı. Çıkarılan mesaneler, çevre dokudan temizlendi ve sfinkter de kesilerek strip şeklinde her bir mesaneden 2 adet preparat hazırlandı.

3.4.2. İzole Organ Banyosu

Hazırlanan preparatlar, Krebs Henseleit çözeltisi içeren 30 mL'lik çift cidarlı cam organ banyolarında, bir ucu izotonik kuvvet-yer değiştirme transdüsörüne bağlı olacak; diğer ucu ise banyo tabanında bulunan organ askısına sabitlenecek şekilde dikey olarak asıldı. Banyo içerisindeki Krebs Henseleit çözeltisi, deney boyunca sürekli olarak karbojen gazı (%95 O₂ + %5 CO₂ karışımı) ile gazlandırıldı ve sıcaklığı termostatik kontrollü bir su

sirkulatorü aracılığıyla 37°C’de sabit tutuldu. Preparatlar izole organ banyolarına yerleştirildikten sonra, tüm preparatlar, 1 g dinlenme gerilimi altında, 20 dk’da bir taze çözelti ile yıkanarak 60 dk boyunca dinlenmeye bırakıldı. İzole organ banyoları içine eklenecek olan test maddelerinin detrusor preparatlarının tonusunda oluşturacakları izometrik gerilim değişiklikleri, bilgisayar aracılı veri toplama ve kaydetme sistemi aracılığıyla kaydedildi. Kullanılan test maddelerinin konsantrasyonları organ banyosundaki son konsantrasyon olacak biçimde hesaplandı (66).

3.4.3. İzole Organ Banyosu Deney Protokolü

Karbakol (CCh) ile indüklenen kasılmalar: 60 dk’lık dinlenme dönemini takiben doku canlılığını ortaya koymak için 80 mol/L KCl yanıtı alındı. Preparatlar art arda üç kez taze çözelti ile yıkanarak 20 dk dengelenmeye bırakıldı. Ardından banyo ortamlarına kümülatif karbakol (CCh; 10^{-8} - 10^{-4} mol/L) eklenerek, kolinerjik kontraksiyonlar kaydedildi. Deney bitiminde preparat ağırlıkları alındı. Veriler, kasılmanın doku ağırlığına oranı olarak ifade edildi ve ortalama + standart hata (SH) olarak sunuldu (66).

Elektriksel alan stimülasyonu (EAS): Bipolar platin elektrodlar arasına yerleştirilen dokulardan 60 dk’lık dinlenme dönemini takiben doku canlılığını ortaya koymak için 80 mol/L KCl yanıtı alındı. Preparatlar art arda 3 kez taze çözelti ile yıkanarak 20 dk dengelenmeye bırakıldı. Ardından preparatlara, bir stimülatör kullanılarak 1 dk’lık aralıklarla 8, 16 ve 32 Hz’lik elektriksel alan stimülasyonu (EAS; 50 volt, 1 msn delay, 5 ms duration, main interval 50 ms, main interval cycle 1) uygulandı. Deney bitiminde preparat ağırlıkları alındı. Veriler, kasılmanın doku ağırlığına oranı olarak ifade edildi ve ortalama + standart hata (SH) olarak sunuldu (66).

3.5. Western Blot Analizi

Deney gruplarından elde edilen mesane homojenatlarında TLR-4, MyD88, NFκB, p-NFκB protein ekspresyon düzeyleri western blot tekniği ile değerlendirildi.

3.5.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Protein Tayini

Servikal dislokasyonun ardından çıkarılan, sıvı azotta dondurularak saklanan mesane dokuları ve 10x hacimde soğuk tampon çözeltisinde (50 mM Tris, pH 7.5, 2 mM EDTA, 2 mM EGTA, 150 mM NaCl, %1 Triton X-100, %10 (h/h) gliserol, fosfataz ve proteaz inhibitörleri [50 mM NaF/ 5 mM sodyum pirofosfat/ 30 mM β-gliserofosfat (BGP)/ 1 mM sodyum ortovanadat/ 2x fosfataz inhibitor karışımı/ 2 µg/mL aprotinin/ 10 µg/mL löpeptin/

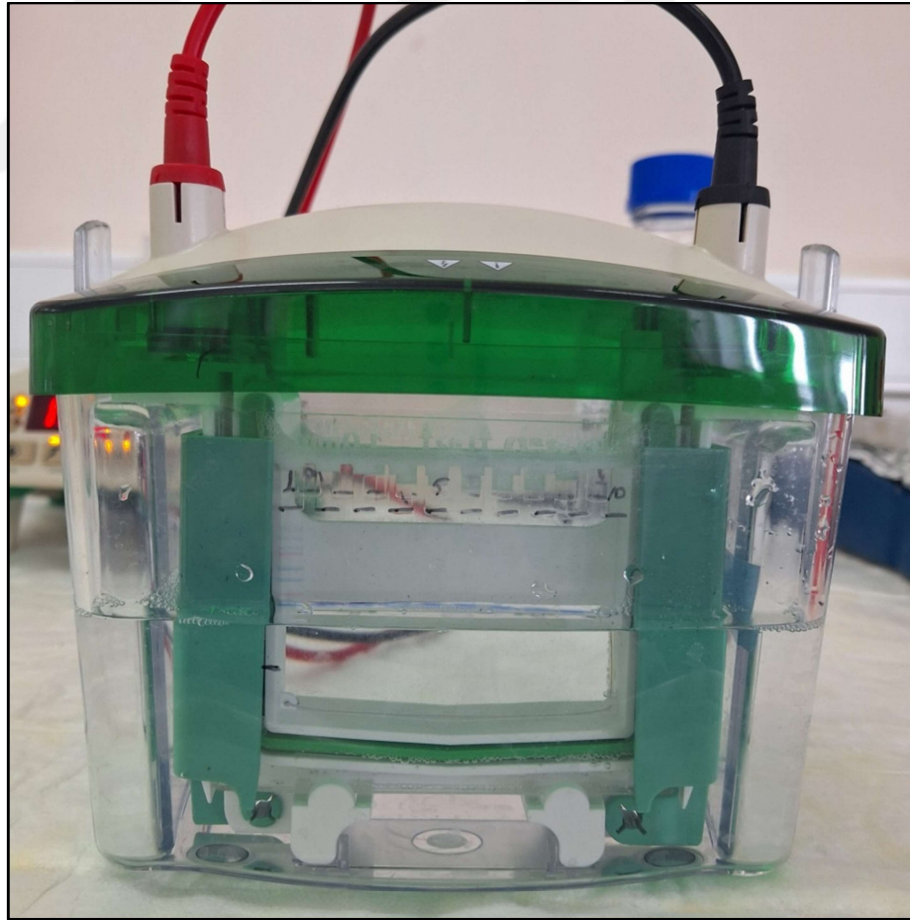
1 mM Pefablok]) homojenize edildi. Ardından +4 °C 10000x g'de 30dk'lık santrifüj işlemini takiben elde edilen süpernatant western blot analizlerinde kullanılmak üzere ayrıldı. Doku homojenatlarının total protein konsantrasyonu, Bikinkoninik asit (BCA) protein konsantrasyonu ölçüm kiti (Thermo Scientific®, ABD) kullanılarak firmanın önerdiği şekilde ölçüldü.

3.5.2. Örneklerin Hazırlanması

Örneklere Laemmli tamponu [0,25 Tris-CI (pH:6,8), %10 SDS, %50 gliserol, %0,01 bromofenol blue, 0,5 mM ditiyotritol (DTT)] eklenerek (5x) kaynar su banyosunda 5 dk kaynatıldı (67).

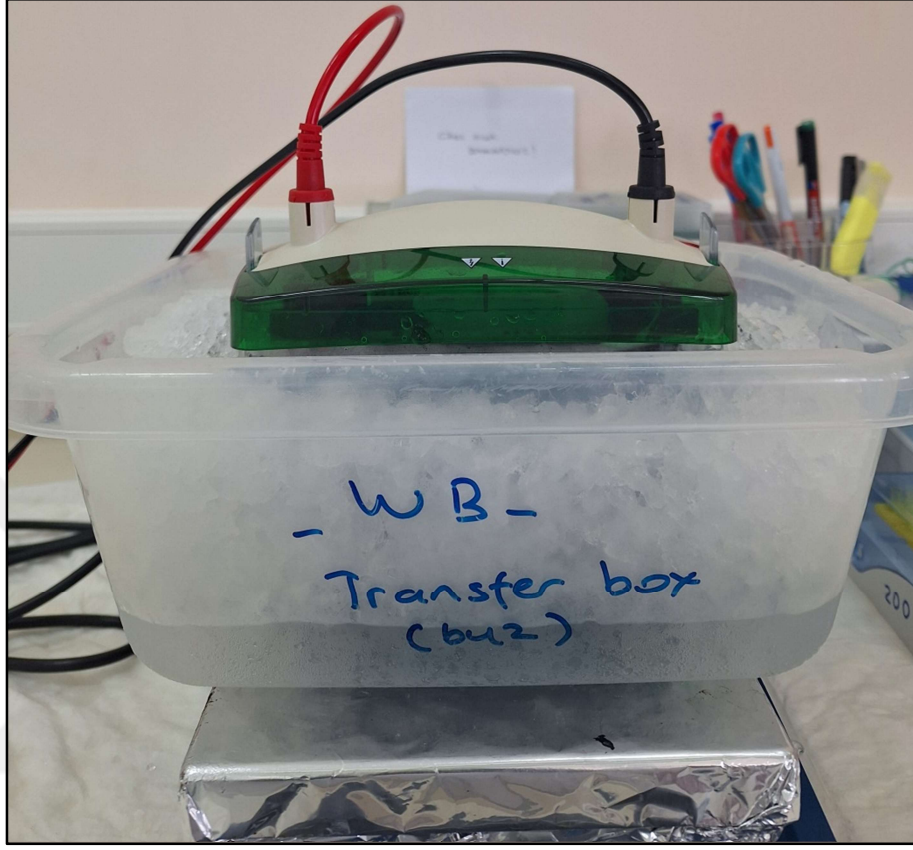
3.5.3. Protein Elektroforezi ve Transfer İşlemi

Örnekler (30 µL) %10'luk poliakrilamid jellere (Bio-Rad TGX Stain Free FastCast Acrylamide kit®) yüklenerek; SDS içeren Tris/Glisin yürütme tamponu ile 100 voltta protein elektroforezi işlemi uygulandı (Resim 1).



Resim 1. Protein elektroforezi

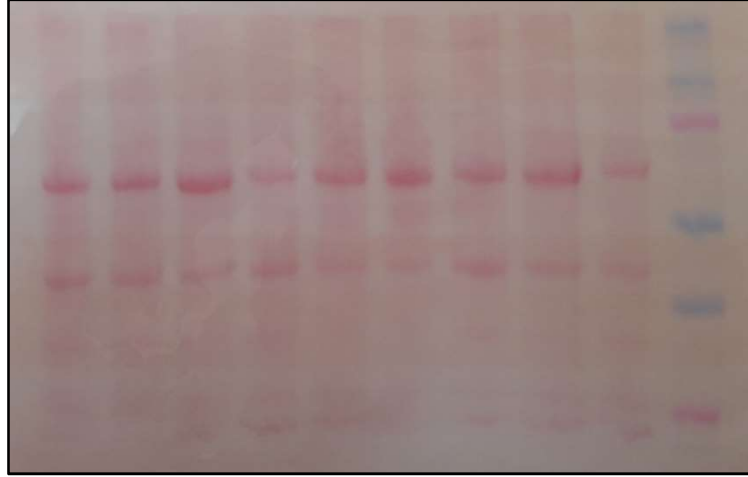
Jel elektroforezi ile ayrıştırılan proteinler ıslak transfer yöntemi (80 volt, 2 saat) ile poliviniliden florür (PVDF) membrana transfer edildi (Resim 2) (68).



Resim 2. Transfer işlemi

3.5.4. Bloklama

Membranlar Ponceau S çözeltisi (%0.1; %5'lik asetik asitte) ile boyanarak transfer doğruluğu/etkinliği teyit edildikten sonra membran TBST (%0.1 tween-20 içeren tris-tamponlu salin çözeltisi) ile 30 dk yıkandı (Resim 3).



Resim 3. Ponceau S çözeltisi ile boyanmış membran görüntüsü

Daha sonra membranlar %2.5 yağsız süt tozu içeren TBST çözeltisi ile oda sıcaklığında 90 dk inkübe edilerek spesifik olmayan bağlanma noktaları bloklama işlemi ile kapatıldı (68).

3.5.5. Antikorlarla işaretleme

Membranlar belirlenen dilüsyon oranlarında TLR4 antikoru (Santa Cruz® sc293072, 1:1000), MyD88 antikoru (Cell Signaling Technology® #4283, 1:1000), phospho-NFκB^{ser536} antikoru (p-NFκB; Cell Signaling Technology® #3033, 1:1000), total NFκB antikoru (Cell Signaling Technology® #8242, 1:1000) ve β-aktin antikoru (Cell Signaling Technology® #4967, 1:1000) primer antikorlarını içeren TBST (%3 BSA+%0.1 tween 20+TBS) çözeltisinde gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası membranlar TBST ile yıkanarak primer antikor uzaklaştırıldıktan sonra goat antirabbit IgG HRP-linked antikoru (Abcam® ab97080, 1:5000) ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Yükleme kontrolü için β-aktin proteini kullanıldı.

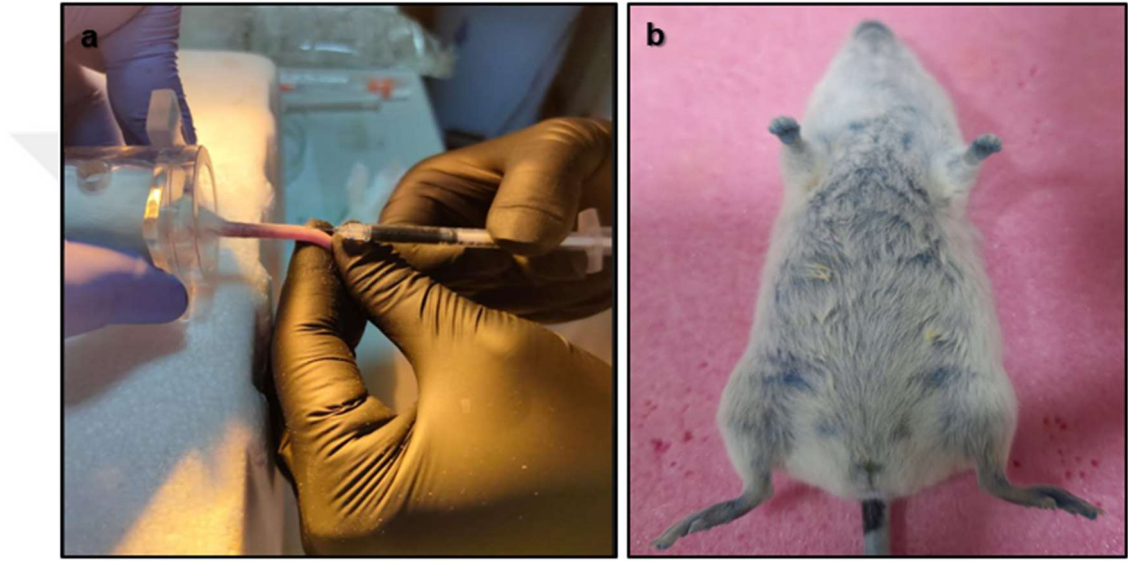
3.5.6. Görüntüleme

Membrandaki bantlar Pierce enhanced chemiluminescence (ECL) western blotting substratı (Clarity Max Western ECL substrate, Bio-Rad®) ile görünür hale getirildi. Bantlardaki ışımaya CCD kamera ile kaydedildi (ChemiDoc™ XRS+ , Bio-Rad®) ve yoğunluk analizi için Image J® yazılımı kullanıldı (68).

3.6. Evans Mavisi ile Vasküler Permeabilitenin Değerlendirilmesi

SFD'nin neden olduğu inflamasyon, mesane hasarı ve vasküler geçirgenlikte değişimlere neden olduğundan plazma ekstravazasyonu evans mavisi yöntemiyle

değerlendirildi. Kısaca SFD uygulamasında 24 saat sonra evans mavisi (SF içinde %0,5 a/h, 200 μ L) farelere intravenöz uygulama yolu ile enjekte edildi (Resim 4). İşlemi takiben 30 dk sonra deney hayvanları sakrifiye edilerek mesane dokuları çıkarılıp tartıldıktan sonra 1 mL formamid içine konulup, 24 saat 56 °C'de tutuldu ve ardından 4°C'de 45 dk 14000g'de santrifüj edilerek süpernatantı ayrıldı. Ardından standart evans mavisi eğrisi çizilerek örnek absorbansı 620 nm dalga boyunda bir spektrofotometre ile ölçülerek evans mavisi konsantrasyonu (μ g/mg doku) standart absorbans eğrisinden hesaplandı (69, 70).



Resim 4. Evans mavisi uygulaması. (a) Deney hayvanına intravenöz yolla evans mavisi uygulaması. (b) Evans mavisi uygulamasından 30 dk sonraki deney hayvanı görüntüsü

3.7. Biyokimyasal Analiz

3.7.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Cerrahi işlemleri takiben çıkarılan mesane dokusu %0.9'luk NaCl ile yıkandı ve dokular deney gününe kadar -80°C'de saklandı. Deneyin gerçekleştireceği gün dokular uygun lizis solüsyonuyla homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 10000 rpm'de +4°C'de santrifüj edildi ve süpernatant fraksiyonu üzerinden BCA yöntemiyle protein tayini (BCA protein konsantrasyonu ölçüm kiti; Thermo Scientific®) gerçekleştirildi. Hazırlanan homojenatlar, myeloperoksidaz aktivite ölçümlerinde kullanıldı.

3.7.2. Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Ölçümü

Mesane MPO aktivitesini değerlendirmek için mesane homojenatında myeloperoksidaz düzeyleri ticari kit (Elabscience® Myeloperoxidase (MPO) Activity Assay Kit, E-BC-K074-M) kullanılarak tespit edildi. Ölçüm için kit protokolünde bulunan basamaklar uygulandı. Deney günü mesane dokuları PBS çözeltisi ile yıkandı. Kitin önerileri doğrultusunda kit içinde bulunan homojenizasyon çözeltisi (reagent 2) her 20 mg dokuya 380 µL olacak şekilde eklendi ve mekanik homojenizatör aracılığıyla dokular soğukta 5000 rpm'de 60 sn homojenize edildi. Örneklerden 90 µL alınarak 10 µL reagent 3 eklendi ve 37°C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı. Her bir numune için kitte yer alan direktifler doğrultusunda kendi kontrol ve örnek tüpleri hazırlandı ve 37°C'de 30dk inkübe edildi. Örnek ve kontrol tüpleri asit çözeltisiyle karıştırıldı ve 60°C'de 10 dk inkübe edildi. Ardından 3000xg'de 10 dk santrifüj edildi ve supernatanlar ayrıldı. Elde edilen supernatanların 460 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü ve kitte yer alan eşitlik kullanılarak MPO aktivitesi U/g doku ağırlığı cinsinden hesaplandı.

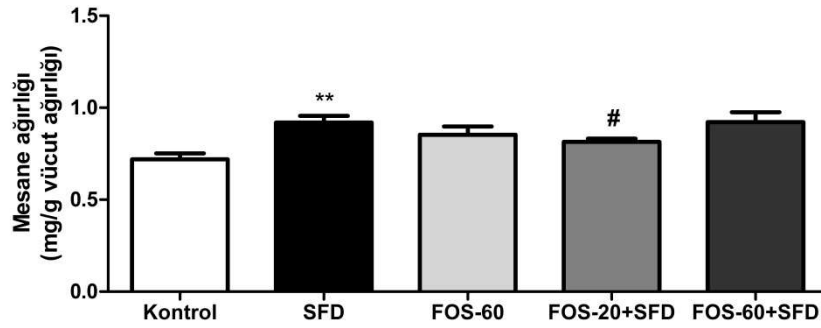
3.8. İstatistiksel Analiz

Veriler Graph Pad Prism 5.0 programı kullanılarak analiz edildi. Deneylerden elde edilecek değerler ortalama±standart hata olarak sunuldu. Değerlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilks veya Kolmogorov-Smirnov yöntemi ile test edildi. İstatistiksel analizde ikili grup karşılaştırılmasında student-t test ve tek yönlü varyans analizi; çoklu grup karşılaştırılmasında varyans analizi post hoc Bonferroni testi kullanıldı. P<0.05 ise ortalamalar arası fark anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Mesane Ağırlıklarına etkisi

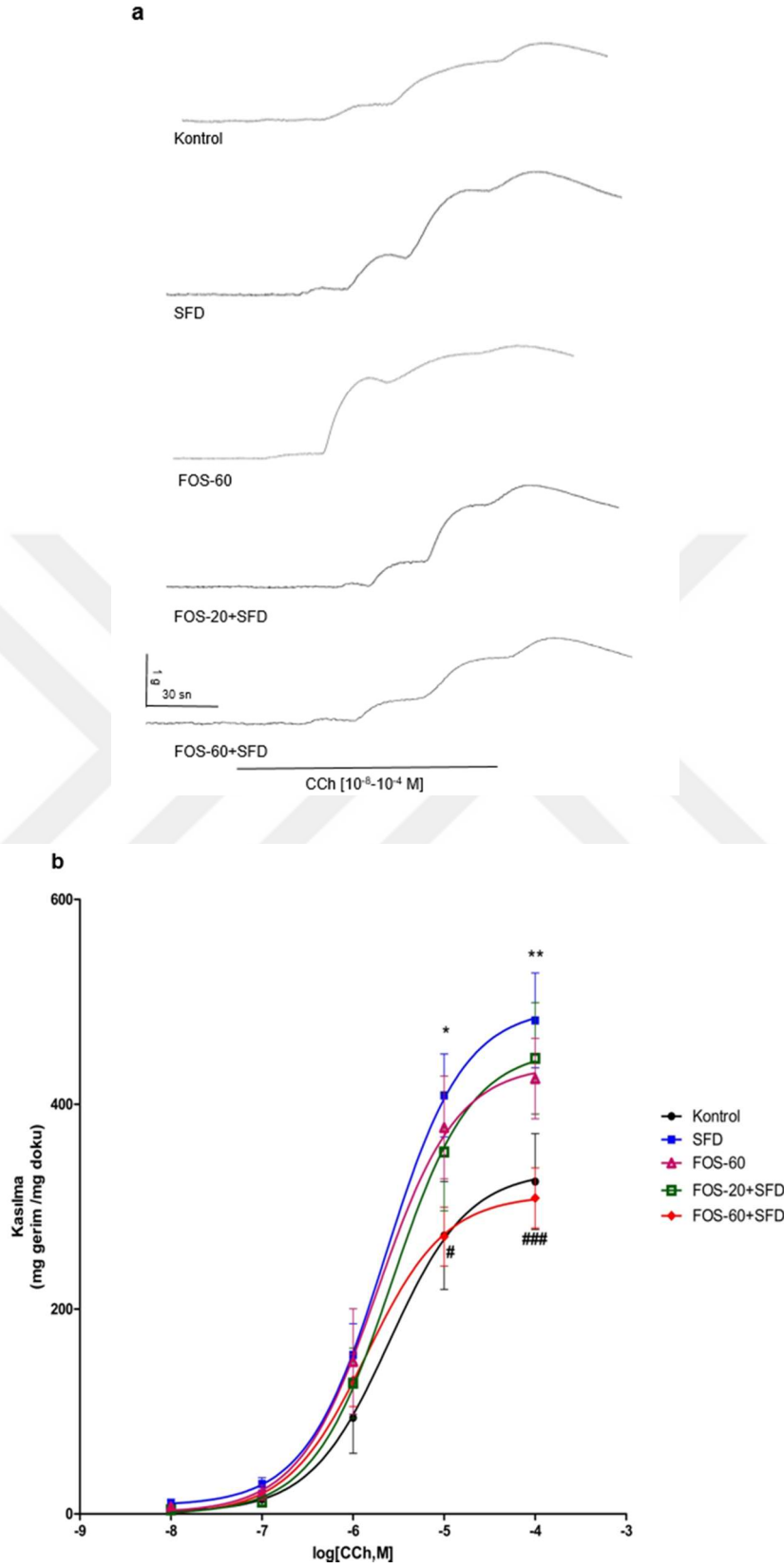
Bütün olarak çıkarılan mesaneler içi boşaltıldıktan sonra tartıldı ve mesane ağırlıkları farelerin vücut ağırlıklarına oranlandı. Kronik SFD uygulamasıyla kontrol grubu ile kıyaslandığında mesane ağırlıklarında anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.01$, Şekil 9). Tek başına FOS uygulaması mesane ağırlık ortalamasını değiştirmede. Düşük doz FOS tedavisi SFD'nin neden olduğu mesane ağırlığındaki artışı kısmen düzeltirken ($p<0.05$) yüksek doz FOS tedavisiyle herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 9).



Şekil 9. Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin mesane ağırlıklarına etkisi. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir (Ort±SH, n=5-7). ** $p<0.01$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, # $p<0.05$ SFD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkları ifade etmektedir. SFD, siklofosfamid; FOS, fosaprepitant

4.2. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Detrusor Düz Kas Kontraktilitesi Üzerine Etkisi

Yalnızca kronik SFD uygulamasının kontrol grubu ile kıyaslandığında CCh kasılmalarında anlamlı artışa neden olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, $p<0.01$, Şekil 10, Tablo 3). Tek başına yüksek doz FOS uygulaması kontrol grubuna kıyasla kasılma yanıtına anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. Düşük doz FOS tedavisi (20 mg/kg) SFD'nin neden olduğu CCh kontraktıl yanıtında artışı engelleyemezken, yüksek doz FOS tedavisi (20 mg/kg) SFD'nin neden olduğu CCh kontraktıl yanıtında artışı anlamlı düzeyde önledi ($p<0.05$, $p<0.001$, Şekil 10, Tablo 1). Dokuların CCh'a karşı duyarlılıkları arasında pEC_{50} değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 3).



Şekil 10. Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin CCh indüklenen kasılmalara etkisi. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir (Ort±SH, n=5-7). (a) Tüm deney gruplarına ait CCh kaynaklı kasılmalarının temsili trase örneği, (b) Tüm

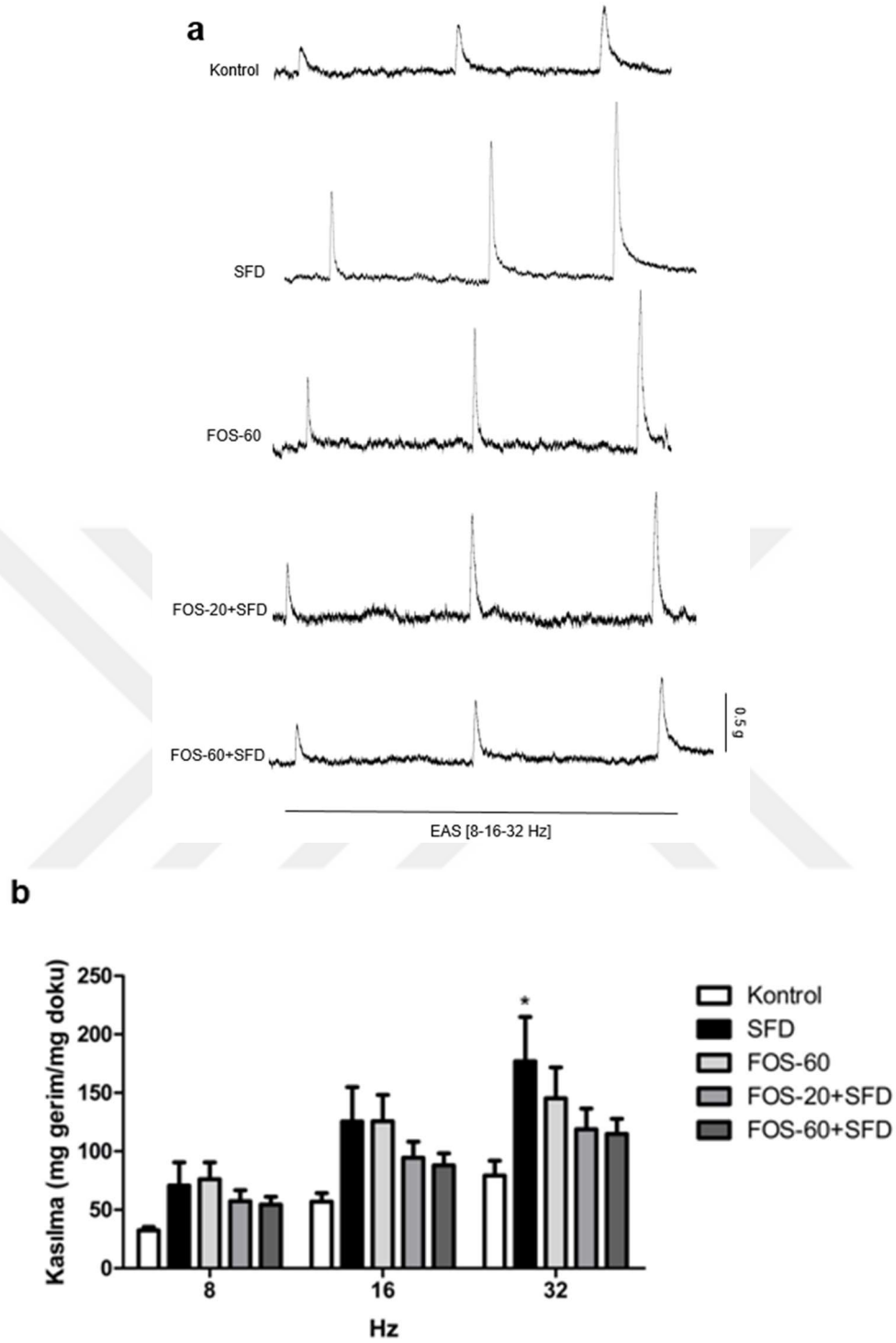
deney gruplarına ait kümülatif CCh konsantrasyon-yanıt eğrileri * $p<0.05$, ** $p<0.01$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, # $p<0.05$, ### $p<0.001$ SFD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkları ifade etmektedir. CCh, karbakol; SFD, siklofosfamid; FOS, fosaprepitant.

Tablo 3. Tüm deney gruplarının CCh ile indüklenen kasılmalara ait E_{max} ve pEC_{50} değerleri.

Deney grubu	E_{max} (mg/mg doku)	pEC_{50}
Kontrol	324.6 ± 46.77	5.602 ± 0.25
SFD	481.9 ± 46.31 *	5.622 ± 0.15
FOS-60	425.1 ± 39.22	5.854 ± 0.15
FOS-20+SFD	444.8 ± 54.38	5.572 ± 0.20
FOS-60+SFD	308.5 ± 29.39 ##	5.725 ± 0.19

* $p<0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ## $p<0.01$ SFD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkları ifade etmektedir. CCh, karbakol; SFD, siklofosfamid; FOS, fosaprepitant.

Dokulara elektriksel alan stimülasyonu uygulandığında yalnızca kronik SFD uygulamasının kontrol grubu ile kıyaslandığında 32 Hz'lik uyarı ile indüklenen kasılmaları anlamlı artışa neden olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Şekil 11). Tek başına yüksek doz FOS uygulaması veya sistit oluşturulmuş farelerdeki FOS tedavisi her iki dozda da kasılma yanıtları üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadi (Şekil 11).

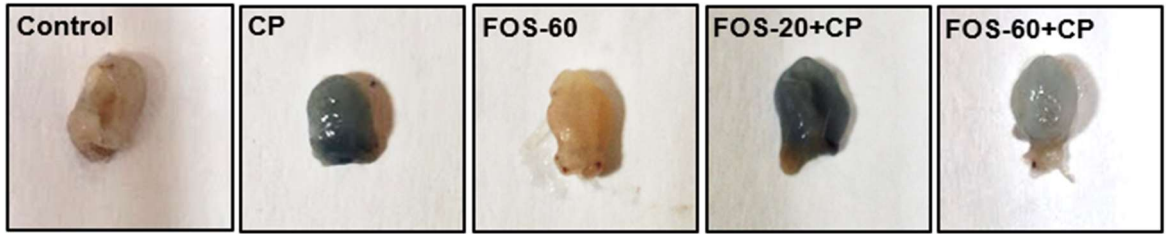


Şekil 11. Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile indüklenen kasılmalara etkisi. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir (Ort±SH, n=5-7). (a) Tüm deney gruplarına ait EAS kaynaklı kasılmalarının temsili trase örneği, (b) Tüm deney gruplarına ait EAS ile indüklenen kasılma yanıtları. * $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. SFD, siklofosfamid; FOS, fosaprepitant

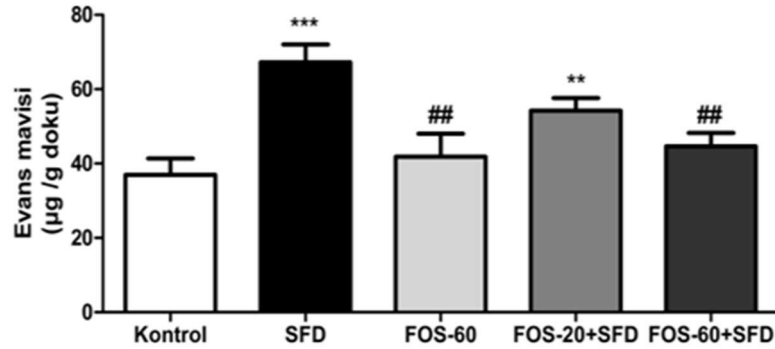
4.3. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Vezikal Vasküler Permeabilite Üzerine Etkisi

Yalnızca kronik SFD uygulanan grupta mesanede Evans mavisinin konsantrasyonunu kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artırdığı ve böylece kronik SFD uygulamasının mesane hasarına bağlı vasküler geçirgenliği artırdığı saptandı ($p < 0.001$, Şekil 12). Yalnızca yüksek doz FOS tedavisi mesane dokusundaki Evans mavisinin miktarını değiştirmedi. Sistit oluşturulan farelerde düşük doz FOS uygulaması SFD'nin neden olduğu vasküler permeabilite artışı önleyemezken yüksek doz FOS tedavisi SFD'nin neden olduğu vasküler permeabilite artışı anlamlı olarak önledi ($p < 0.01$, Şekil 12).

a



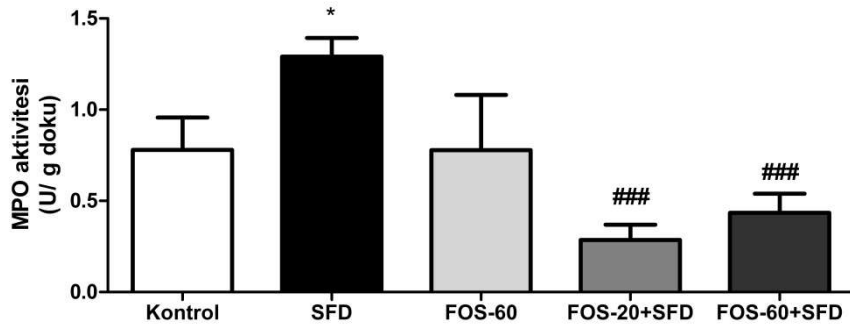
b



Şekil 12. Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin vasküler permeabilite üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir (Ort±SH, n=6-8). (a) Evans mavisinin enjeksiyonundan 30 dk sonra çıkarılmış her bir gruba ait mesane dokularının temsili görüntüleri, (b) Mesane dokularındaki Evans mavisinin miktarlarının doku ağırlığına oranı. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ## $p < 0.01$ SFD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. SFD, siklofosfamid; FOS, fosaprepitant

4.4. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Mesane MPO Aktivitesi Üzerine Etkisi

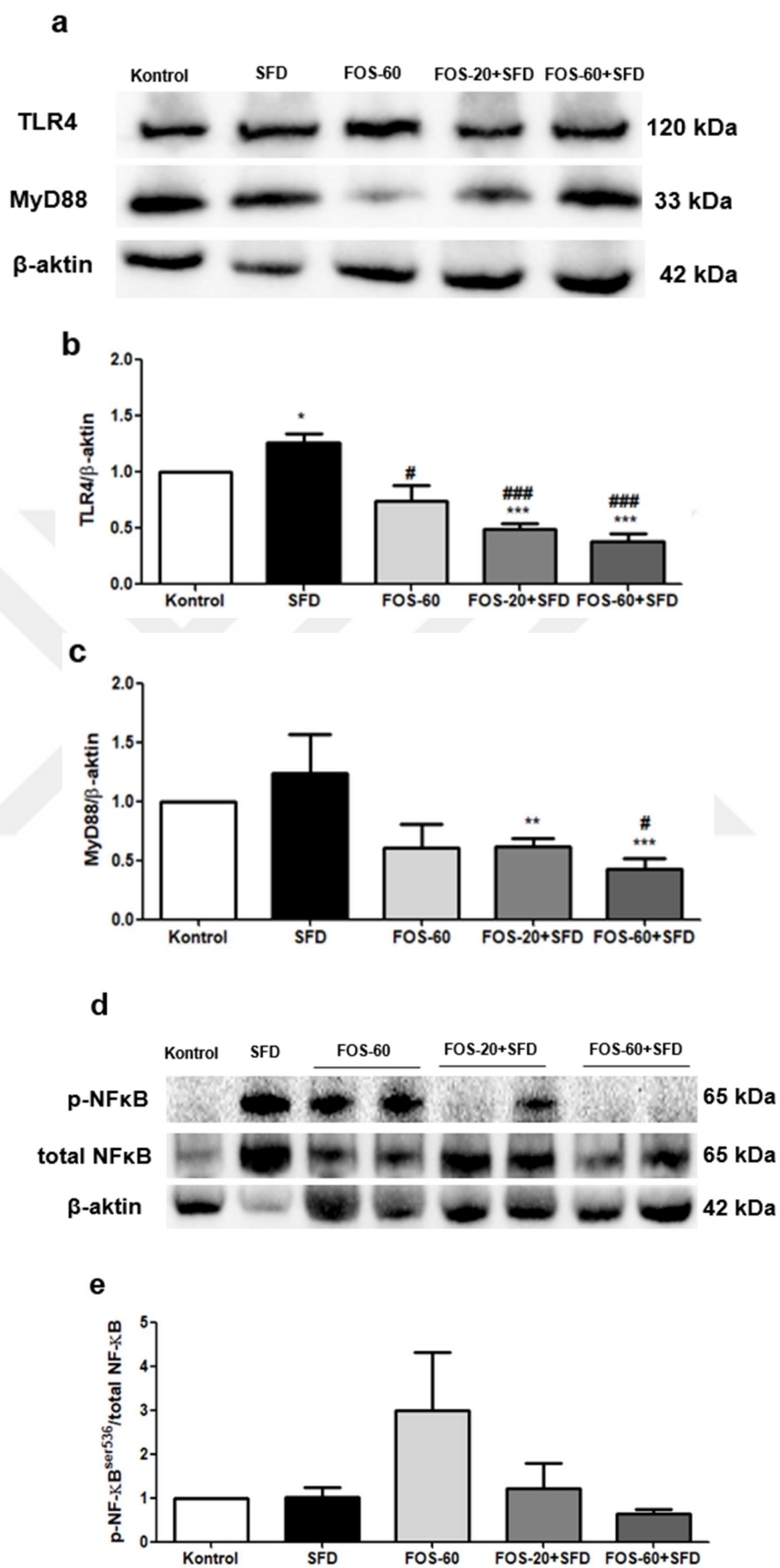
Kronik SFD uygulamasının mesane dokusundaki MPO aktivitesini kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak arttırdı ($p<0.05$, Şekil 13). Yalnızca yüksek doz FOS tedavisi mesane dokusundaki MPO aktivitesini değıştirmedi. Ancak sistit oluşurulan farelerde hem düşük hem de yüksek doz FOS tedavisi SFD'nin neden olduğu MPO aktivitesindeki artışı anlamlı olarak önledi ($p<0.001$, Şekil 13).



Şekil 13. Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin MPO aktivitesi üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir (Ort±SH, n=4-5). * $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ### $p<0.001$ SFD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkları ifade etmektedir. SFD, siklofosfamid; FOS, fosaprepitant

4.5. SFD ile İndüklenen Kronik Sistit Modelinde FOS Tedavisinin Mesane TLR4/MyD88/ NFκB Sinyal Yolağı Üzerine Etkisi

Kronik SFD tedavisi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TLR4 protein ekspresyonunda belirgin bir artışa neden oldu ($p<0.05$, Şekil 14a-b) ve tüm dozlarda FOS tedavisiyle anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0.001$). MyD88 düzeyi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SFD kaynaklı sistitte artma eğiliminde olmasına rağmen, anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$, Şekil 14a,c). Ancak FOS tedavisi, kontrol ve SFD ile tedavi edilen grupla karşılaştırıldığında MyD88 düzeyini belirgin şekilde azalttı ($p<0.001$, $p<0.05$). Tüm gruplarda $p\text{-NF}\kappa\text{B}^{\text{ser536}}/\text{total NF}\kappa\text{B}$ oranında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$, Şekil 14d-e).



Şekil 14. Kronik sistit modelinde FOS tedavisinin mesane TLR4/MyD88/ NFκB sinyal yolağı üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir (Ort±SH, n=3-5). (a) Mesane dokularında TLR4 ve MyD88 protein ekspresyonlarını gösteren temsili membran görüntüleri, (b) Mesane dokularında TLR4 protein ekspresyonunun dansitometrik analizi, (c) Mesane dokularında MyD88 protein ekspresyonunun dansitometrik analizi, (d) Mesane dokularında p-NFκB^{ser536} ve total NFκB protein ekspresyonlarını gösteren temsili membran görüntüleri, (e) Mesane dokularında p-NFκB^{ser536}/total NFκB oranı dansitometrik analizi ***p<0.001, *p<0.05, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ###p<0.01, #p<0.05 SFD grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir. SFD, siklofosamid; FOS, fosaprepitant



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

IC, idrar aciliyetinden pelvik ağrıya kadar hastaların yaşam konforunu etkileyen komplikasyonlara neden olan karmaşık bir mesane disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır (71). Bu patolojinin hastaların yaşam kalitesi üzerinde mesane fonksiyon bozukluğu haricinde anksiyete artışı, uyku bozukluğu, seksüel aktivitede bozukluklar, sosyal etkileşimlerin kaybı ve depresyon gibi ciddi sonuçları bulunmaktadır (72, 73). IC, özellikle hafif veya orta dereceli vakalarda yıllarca teşhis edilemeyebilir. Tipik olarak IC ile ilişkili semptomlar, sıklıkla idrar sıkışması ile karakterize aşırı aktif mesane (OAB) dahil olmak üzere diğer jinekolojik ve ürolojik durumlarla örtüşür (74). IC'nin etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da, ürotelyal bariyerdeki bozukluklar, otoimmünite, nörojenik ve miyojenik inflamasyon gibi çok sayıda multifaktöriyel teori öne sürülmüştür (72). Yüksek prevalansına rağmen, tanı kriterlerindeki eksiklikler ve kesin etiyolojinin bilinmemesi nedeniyle tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır (75). Bugüne kadar, sistitin patofizyolojik mekanizmaları, masif mesane inflamasyonu ile birlikte şiddetli mesane hasarının en önemli kritik bileşeni olduğunu ve inflamatuvar durumu azaltmanın sistit tedavisi için umut verici bir terapötik hedef olduğunu göstermektedir (71, 72, 76). Bu nedenle, hastalığı yansıtan prelinik çalışmaların yaygınlaşması, yenilikçi ilaçları taramak için oldukça değerli olacaktır.

SFD, meme kanseri, lenfoma ve multipl skleroz başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılan kemoterapötik bir ajandır. SFD, karaciğer tarafından akroleine metabolize edilir ve akrolein mesanede birikerek hemorajik sistit ile sonuçlanabilmekte ve hastalarda mesane kanseri insidansının artmasına neden olmaktadır. SFD, mesane inflamasyonunu artırır, abdominal aşırı duyarlılığı indükler, mesane ağrısı ve visseral ağrı davranışlarına neden olur (7, 77). SFD insanlarda ve kemirgenlerde ürotelyum/mukozadaki reseptörlerin ve sinyal moleküllerinin ekspresyonu gibi fonksiyonel ve histolojik değişikliklere neden olur. SFD ayrıca detrusor aşırı aktivitesini (DO) indükleyebilir (78). Kronik olarak SFD tedavisi alan hastalarda aşırı aktif mesane sendromu uzun süreli bir sağlık sorunu olarak tanımlanabilmektedir (79). Yapılan deneysel çalışmalar, kemirgenlerde düşük doz kronik SFD uygulamasının kronik inflamasyon ve altta yatan mekanizmalar ile ilişkili mesane nöronal yollarındaki patolojik değişiklikleri yansıtan iyi bir model olduğunu göstermektedir (80). Boudes ve arkadaşları da C57Bl6 erkek farelerde kronik düşük dozda SFD uygulamasının detrusor aşırı aktivitesine, idrar sıklığında artışa ve alt solunum yolu hiperaljezisine neden olduğunu göstermiştir (79). Bu nedenle, SFD uygulaması, tedavi

seçeneklerini genişletmek için inflamatuvar yolakların aktivasyonuna neden olduğundan prelinik bir deney modeli elde etmek için literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır (72). Benzer prensiple laboratuvarımızda gerçekleştirilen daha önceki çalışmalarda, tek doz SFD tedavisinin oksidatif ve inflamatuvar yolları aktive ederek mesane hasarına neden olduğunu ve antiinflamatuvar ajanların bu değişiklikleri işlevsel ve histolojik perspektifler olarak iyileştirdiğini de gözlemledik (55, 66, 68). Bu nedenle SFD uygulamasıyla kronik sistit modeli oluşturmaya karar verdik.

P maddesi, memelilerin vücudunda geniş çapta dağılım gösteren bir nöropeptit olup esas olarak Nörokinin-1 reseptörlerinin (NK1R) uyarılması yoluyla çok çeşitli fizyolojik işlevlerin sürdürülmesine aracılık eder. NK1R, önemli bir inflamatuvar ve ağrı uyarıcı faktör olan P maddesine yüksek afinite gösteren bir G protein kenetli reseptör alt tipidir. Günümüzde NK1R'leri hedef alan antagonistlerin, ağrı, depresyon, astım ve kusma gibi çeşitli patolojilerin tedavisinde büyük potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (81). Nörokinin reseptörleri, başta santral sinir sistemi, kardiyovasküler, genitoüriner, bağışıklık, sindirim sistemi olmak üzere tükürük bezi, deri ve kaslar dahil olmak üzere farklı doku ve bezlerde eksprese olmaktadır (82). Ayrıca SP-NK1R etkileşimi, mesane fonksiyonunun düzenlenmesinde yer alan başlıca taşıkinin sinyalizasyonu olarak tanımlanmaktadır. NK1R, genel olarak inflamasyonda ve ayrıca mesane plazma ekstrasvazasyonunda rol oynayan baskın alt tip olarak tanımlanmaktadır. Yapılan alışmalar, mesane inflamasyonunda NK1R ekspresyonunda bir artış olduğunu göstermekte ve sistit hastalarından alınan mesane biyopsilerinde, NK1R ekspresyonunun ciddi düzeyde arttığını vurgulamaktadır. Seçici taşıkinin reseptör antagonistlerinin kullanıldığı çok sayıda çalışma, bu peptitlerin mesane kasılmalarının duysal kontrolünde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. NK1R antagonistlerinin intratekal uygulamasının anestezi uygulanmış sıçanlarda mesane kapasitesini arttırdığı, buna karşın NK2R antagonistlerinin etkisiz olduğu bildirilmiştir (83, 84).

FOS, aprepitantın suda çözünebilen bir ön ilacıdır ve kemoterapiyle ilişkili bulantı ve kusmanın önlenmesinde kullanım için onaylanmış ve klinikte sıklıkla bu amaçla kullanılan bir NK1R antagonistidir (15). Bulantı ve kusmayı önlemeye ek olarak, çeşitli in vivo ve in vitro alışmalar NK1R antagonistlerinin kanser hücresi ölümünü indüklediğini ve kanser hücresi canlılığını/hücre çoğalmasını ve tümör hacmini azalttığını göstermiştir (16, 17). Ayrıca FOS'un nöroblastoma hücrelerini sitotoksik ajanlara duyarlı hale getirerek sinerjik bir antikanser aktivite gösterdiği belirlenmiştir (62). FOS tedavisinin, inflamatuvar

süreçlerin baskın olduğu oküler greft hastalığı olan farelerde inflamatuvar sinyalizasyonu azalttığı belirlenmiştir (65). Suanno ve arkadaşları, FOS'un topikal uygulanmasının, anti-inflamatuvar özellikleri nedeniyle hastalarda inflamatuvar oküler ağrıyı ve klinik semptomlarını iyileştirdiğini öne sürmüşlerdir (64). Bugüne kadar, NK1R antagonistlerinin mesane fizyolojisindeki rolüne ilişkin bilgilerimiz, tavşanlarda ateroskleroz kaynaklı mesane iskemisindeki artan mesane kontraktilitesinin NK1R antagonisti uygulamasıyla azaldığını göstermektedir (67). Benzer şekilde, sistometrik çalışmalar, NK1R antagonisti netupitantın kobay mesane kontraktilitesini azalttığını göstermiştir (81). Bu çalışmamızda önceki araştırmalarla uyumlu olarak, çoklu doz SFD uygulamasının DSM'nin CCh ve elektriksel alanla indüklenen kasılmaları belirgin şekilde artırdığını ve FOS tedavisinin SFD kaynaklı kronik sistitte bu kasılma yanıtlarını önemli ölçüde azalttığını gösterdik. Bu etkinin kesin mekanizmasını tanımlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, sonuçlar FOS tedavisinin farelerde SFD kaynaklı mesane disfonksiyonunu işlevsel olarak iyileştirdiğini göstermektedir.

Vasküler sızıntı, ekstrasvazasyon veya organlardaki post kapiller venüllerin endotelinde oluşan boşluklardan kan plazmasının sızması anlamına gelir. Bir tür inflamatuvar yanıttan kaynaklanabilen bu plazma ekstrasvazasyonu veya artan vasküler geçirgenlik bir çokk organ fonksiyonu açısından ciddi sonuçlara yol açabilir. Endotel boşlukları bir dizi uyaranla üretilir, ancak genellikle peptit nörotransmitterlerinin ve/veya endotel üzerindeki taşıyıcıların etkisiyle oluşur. Plazma ekstrasvazasyonunun artmasına neden olan, doğal olarak oluşan başlıca araçlarından biri, undekapeptid taşıyıcısının nöropeptidi, P maddesidir (85). Bu amaçla evans mavisi toksik olmadığı, intravital boya olarak uygulanabildiği ve serum albüminine bağlandığı için kan damarı ve hücre zarı geçirgenliğini incelemek için yaygın olarak kullanılır. Evans mavisi-albumin konjugatı; (i) doku içindeki çarpıcı mavi renkle makroskopik olarak tanımlanabilir; (ii) floresan mikroskobu ile incelenen doku kesitlerinde kırmızı oto-floresan ile gözlemlenebilir; ve (iii) serum veya homojenize edilmiş doku örneklerinde spektrofotometri ile değerlendirilebilir ve miktarı belirlenebilir. Biz de bu çalışmada mesane mukozasının geçirgenliğinin artması nedeniyle gelişen, mesanede evans mavisi ekstrasvazasyonu ile anormal vasküler geçirgenliği spektrofotometrik olarak değerlendirdik. Bu tekniğin mesane inflamasyonunun doğrudan bir belirteci olduğu literatürde gösterilmiştir (86). Kronik SFD tedavisinin mesane vasküler geçirgenliğini önemli ölçüde bozduğunu ve yüksek doz FOS tedavisinin mesanenin bozulan permeabilitesini evans mavisi sızıntısını azaltarak baskıladığını saptadık. Bulgumuz,

SFD'nin mesanede evans mavisi ekstrevasyonu yoluyla aşırı inflamatuvar yanıtı neden olduğunu ve antiinflamatuvar tedavinin mesane inflamasyonunun önlenmesinde önemli bir role sahip olduğunu belirten önceki çalışmalarla uyumluydu (72, 87-89).

MPO, ise hem-peroksidaz enzim ailesinin peroksidaz-siklooksijenaz alt grubuna ait bir enzimdir. Nötrofiller ve monositler tarafından salgılanır ve immün sistemde önemli bir rol oynar. Patojenlere karşı bağışıklık savunmasındaki önemli rolünün yanı sıra, MPO düzeyi çeşitli lipitler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek hedef dokularda genellikle devam eden inflamatuvar durumlarla ilişkili bazı hastalıklarda değişir (90). Kronik sistitte, nötrofiller inflamasyonlu mesaneye hızla göç eden ve diğer immün sistem elemanları arasında en bol bulunan hücrelerdir (91). Bu açıdan MPO anahtar bir enzimdir ve aktivitesindeki artış, inflamasyon olan bölgeye nötrofil infiltrasyonunu gösterir (92, 93). Bu nedenle, nötrofil infiltrasyonunu değerlendirmek için sistit oluşturulmuş mesane örneklerindeki MPO aktivitesini değerlendirdik. SFD kaynaklı sistitte mesane MPO aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir artış bulduk ve FOS tedavisi MPO aktivitesindeki bu artışta önemli bir azalmaya neden oldu. Böylece inflamatuvar mesaneye nötrofil göçünü dolaylı olarak baskıladığı çıkarımında bulunduk. Bulgularımızla benzer şekilde önceki çalışmalarda NK1R antagonistlerinin ayrıca dokuya nötrofil akışını inhibe ederek inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (94, 95). Sepsis fare modelinde, akciğerde sepsis indüksiyonunu takiben MPO aktivitesinin arttığı ve seçici NK1R antagonisti varlığında MPO düzeyinin hala yüksek kaldığı gözlenmiştir. Araştırmacılar taşıkininlerin proinflamatuvar aktivitesinin esas olarak NK1R'ye atfedildiği ve yalnızca seçici NK1R antagonistlerinin inflamatuvar yanıtı baskılamada yararlı etkilere sahip olduğu sonucuna varmışlardır (96).

TLR'ler patojen ve hasarla ilişkili moleküller tarafından aktive edilen ve böylece bağışıklık yanıtını aracılık eden ve idrar yolu ve mesane gibi farklı dokularda ifade edilen membran glikoproteinleridir (68, 97). TLR sinyalizasyonu, inflamatuvar bozuklukların gelişimi ve/veya ilerlemesini aracılık eden proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonuna yol açar (98, 99). TLR'ler arasında özellikle TLR4/MyD88/NFκB sinyal yolağı yakın zamanda mesane inflamasyonu ve sistit ile ilişkilendirilmiştir (54, 68, 100). MyD88'e bağlı TLR4 yolağının aktivasyonu NFκB ekspresyonunu artırır ve sonuç olarak proinflamatuvar sitokinlerin üretimine neden olur (101). Bu çalışmada, SFD kaynaklı sistitte FOS'un iyileştirici etkisinin mekanizmasını belirlemek için TLR sinyal yoluyla ilişkili proteinlerin ekspresyon düzeylerini analiz ettik. TLR4 protein ekspresyonunun SFD ile oluşturulan

kronik sistitte önemli ölçüde arttığını bulduk. Öte yandan, MyD88 düzeyinde sistit koşullarında artış eğilimi olmasına rağmen anlamlı bir değişiklik saptanmadık. Proinflamatuvar sitokinlerin üretiminden sorumlu olan ana transkripsiyon faktörü NFκB ve aktif formunun SFD ile indüklenen kronik sistitte ekspresyon düzeylerini de değerlendirdik. Sonuçta p-NFκB^{ser536}/total NFκB oranının kontro grubuna benzer olduğunu bulduk. FOS tedavisinin inflamatuvar yolağa etkisini değerlendirdiğimizde tedavi alan gruplarda TLR4 ve MyD88 proteini ekspresyon düzeylerini SFD kaynaklı sistit grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldı ancak p-NFκB^{ser536}/total NFκB oranında anlamlı bir değişiklik olmadı. Laboratuvarımızda gerçekleştirilen önceki bir çalışmada, TLR4 ve p-NFκB^{ser536}/total NFκB'nin SFD kaynaklı akut sistit modelinde önemli ölçüde arttığını gözlemledik (68). Sonuçlarımıza dayanarak, TLR4 sinyalleşmesinin akut sistitte SFD kaynaklı kronik sistitten daha baskın rolü olan hücresel yolak olduğu sonucuna varılabilir. Ancak FOS tedavisinin TLR4 ve adaptör proteini MyD88 ekspresyonunda oluşturduğu inhibisyon, inflamatuvar hastalıklardaki terapötik etkiye kısmen katkıda bulunabilir. Bunun yanı sıra TLR4 aktivasyonu ile birlikte MyD88'e bağımlı veya bağımsız olarak adlandırılan iki farklı sinyal yolağı tanımlanmıştır. MyD88'e bağımlı yolda, TLR4 uyarımını takiben MAP kinazları ve NFκB hızla aktive olur ve çeşitli sitokinler salgınır, oysa MyD88'den bağımsız yolda, interferon beta, interferon düzenleyici faktör 3 (IRF-3) ve 7'nin hızlı aktivasyonu ile gerçekleşir, ancak NFκB'nin aktivasyonu gecikir (102, 103). Dahası, IRF-3 ve IRF-7'nin üriner sistemdeki inflamatuvar yanıtta önemli transkripsiyonel düzenleyiciler olduğu gösterilmiştir (104, 105). Bu çalışmalara dayanarak, modelimizde p-NFκB^{ser536}/total NFκB oranında bir değişim görülmeyip TLR4 düzeyinin değişimin, NFκB aktivasyonundan bağımsız şekilde TLR4 aktivasyonunu takiben IRF-3 ve IRF-7 kaskadının aktivasyonundan kaynaklanabileceği öngörülebilir. Ancak, MyD88'den bağımsız sinyal yolunun kronik sistitte yer alıp almadığını ve FOS tedavisinin MyD88'den bağımsız kaskadı baskılayıp baskılamadığını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, çalışmamız NK1R antagonisti FOS'un SFD kaynaklı IC üzerindeki potansiyel üroprotektif etkisini araştıran ilk çalışmadır. FOS'un kesin üroprotektif mekanizmalarını ve inflamatuvar süreçlerle ilişkisini açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, sonuçlarımız, mesanedeki inflamatuvar yanıtı azaltarak FOS'un SFD kaynaklı kronik sistitte terapötik etkisini gösteren güçlü kanıtlar sunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

1. Fry CH, Meng E, Young JS (2010). The physiological function of lower urinary tract smooth muscle. *Auton Neurosci* 154(1-2): 3-13.
2. Clemens JQ (2020). Basic bladder neurophysiology. *Urol Clin North Am* 37(4): 487-494.
3. Gernone F, Uva A, Maiolini A. and Zatelli A (2022). A review of the neural control of micturition in dogs and cats: neuroanatomy, neurophysiology and neuroplasticity. *Vet Res Commun* 46: 991–998.
4. de Groat WC, Griffiths D, Yoshimura N (2015). Neural control of the lower urinary tract. *Compr Physiol* 5(1): 327–396.
5. Vij M, Srikrishna S, Cardozo L (2012). Interstitial cystitis: diagnosis and management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 161(1): 1-7.
6. Lopez-Beltran A, Young, RH (2019). Nonneoplastic Disorders of the Urinary Bladder. *Urologic Surgical Pathology*, Cheng L, MacLennan GT, Bostwick DG (Ed.) *Urologic Surgical Pathology*. Elsevier Health Sciences. USA; Sayfa: 195-229.
7. Engin S (2023). Drug-related cystitis: an overview. Palleschi G, Cardi A (Ed.), *Cystitis - Updates and Challenges*, 1-16. <https://www.intechopen.com/chapters/86970#>
8. Saleh SMM, Mahmoud AB, Al-Salahy MB, Mohamed Moustafa FA (2023) Morphological, immunohistochemical, and biochemical study on the ameliorative effect of gallic acid against bisphenol A-induced nephrotoxicity in male albino rats. *Sci Rep* 13(1):1732.
9. Ozcan A, Korkmaz A, Oter S, Coskun O (2005). Contribution of flavonoid antioxidants to the preventive effect of mesna in cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *Arch Toxikol* 79(8):461-465.
10. Asehnoune K, Strassheim D, Mitra S, Kim JY, Abraham E (2005). Involvement of PKC α/β in TLR4 and TLR2 dependent activation of NF- κ B. *Cell Signal* 17(3): 385-394.
11. Sellers DJ, McDermott C, Chess-Williams R (2018). A central role for Toll-like 4 receptors in interstitial cystitis?. *Am J Physiol Renal Physiol* 315(4): 910-912.
12. Fulenwider HD, Smith BM, Nichenko AS, Carpenter JM, Nennig SE, Cheng K, Rice KC, Schank JR (2018). Cellular and behavioral effects of lipopolysaccharide treatment are dependent upon neurokinin-1 receptor activation. *J Neuroinflammation* 15(1): 60.

13. Zhao XN, Bai ZZ, Li CH, Sheng CL, Li HY (2020). The NK-1R antagonist aprepitant prevents LPS-induced oxidative stress and inflammation in RAW264.7 macrophages. *Drug Des Devel Ther* 14: 1943–1952.
14. Larsson O, Tengroth L, Xu Y, Uddman R, Kumlien Georén S, Cardell LO (2018). Substance P represents a novel first-line defense mechanism in the nose. *J Allergy Clin Immunol* 141(1): 128–136.
15. Garnock-Jones KP (2016). Fosaprepitant dimeglumine: a review in the prevention of nausea and vomiting associated with chemotherapy. *Drugs* 76(14): 1365–1372.
16. Munoz M, Coveñas R (2020). The neurokinin-1 receptor antagonist aprepitant: an intelligent bullet against cancer?. *Cancers* 12(9): 2682.
17. Munoz M, Gonzalez-Ortega A, Salinas-Martín MV, Carranza A, Garcia-Recio S, Almendro V, Covenas R (2014). The neurokinin-1 receptor antagonist aprepitant is a promising candidate for the treatment of breast cancer. *Int J Oncol* 45(4): 1658–1672.
18. Lim Y, Leslie SW, O'Rourke S (2023). Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570588/>
19. Rahnama'i MS, Van Koeveringe GA, Van Kerrebroeck PE (2013). Overactive bladder syndrome and the potential role of prostaglandins and phosphodiesterases: an introduction. *Nephrourol Mon* 5(4): 934-945.
20. Thurai Raja R, Parsons BA (2020). Bladder and urethra. *Gray's Surgical Anatomy*. Brennan PA, Standring SM, Wiseman SM (Ed.), Elsevier, İngiltere; Sayfa: 517.
21. Ajallouei F, Lemon G, Hilborn J, Chronakis IS, Fossum M (2018). Bladder biomechanics and the use of scaffolds for regenerative medicine in the urinary bladder. *Nat Rev Uro* 15(3): 155–174.
22. Standring S (2021). Bladder, prostate and urethra. *Gray's Anatomy*. 42nd Edition. Elsevier, İngiltere; Sayfa: 1276-1291.
23. Unger CA, Tunitsky-Biton E, Muffly T, Barber MD (2014). Neuroanatomy, neurophysiology, and dysfunction of the female lower urinary tract: a review. *Female Pelvic Med Reconstr Surg* 20(2): 65–75.
24. Andersson KE, Arner A (2004). Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 84(3): 935–986.

25. Kontani H, Inoue T, Sakai T (1990). Dopamine receptor subtypes that induce hyperactive urinary bladder response in anesthetized rats. *Jpn J Pharmacol* 54(4): 482–486.
26. Yoshimura N, Chancellor MB (2003). Neurophysiology of lower urinary tract function and dysfunction. *Rev Urol* 5(8): 3–10.
27. Lecci A, Maggi CA (2001). Tachykinins as modulators of the micturition reflex in the central and peripheral nervous system. *Regul Pept* 101(1-3):1–18.
28. Riedl CR, Hohlbrugger G (2000). Re: A prospective study of interstitial cystitis: results of longitudinal followup of the interstitial cystitis data base cohort. *J Urol* 164(6): 2029–2030.
29. Amanat S, Shal B, Seo EK, Ali H, Khan S (2022). Icarin attenuates cyclophosphamide-induced cystitis via down-regulation of NF- κ B and up-regulation of Nrf-2/HO-1 signaling pathways in mice model. *Int Immunopharmacol* 106: 108604.
30. Netto GJ, Amin MA (2021). The lower urinary tract and male genital system. Kumar V, Abbas AK, Fausto NR (Ed.), *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. Elsevier, Philadelphia, Sayfa: 953-983.
31. Rutter P (2020). *Community pharmacy: symptoms, diagnosis and treatment*. Elsevier Health Sciences. Churchill Livingstone, İngiltere; Sayfa: 129-153
32. Wang CC, Weng TI, Lu MY, Yang RS, Lin KH, Wu MH, Liu SH (2015). Hemorrhagic cystitis in children treated with alkylating agent cyclophosphamide: the experience of a medical center in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 114(8): 691-697.
33. McLellan LK, Hunstad DA (2016). Urinary tract infection: pathogenesis and outlook. *Trends Mol Med* 22(11): 946-957.
34. Li J, Yi X, Ai J (2022). Broaden horizons: the advancement of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Int J Mol Sci* 23(23): 14594.
35. Tay C, Grundy L (2023). Animal models of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Front Physiol* 14: 1232017.
36. Masterson JM, Castañeda PR, Kim J (2023). Pathophysiology and clinical biomarkers in interstitial cystitis. *Urol Clin North Am* 50(1): 39–52.
37. Li KD, Jones CP, Hakam N, Erickson BA, Vanni AJ, Chancellor MB, Breyer BN (2023). Haemorrhagic cystitis: a review of management strategies and emerging treatments. *BJU Int* 132(6): 631–637.

38. Salari N, Karami MM, Bokaei S, Chaleshgar M, Shohaimi S, Akbari H, Mohammadi M (2022). The prevalence of urinary tract infections in type 2 diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Med Res* 27(1): 20.
39. Dominoni M, Scatigno AL, La Verde M, Bogliolo S, Melito C, Gritti A, Pasquali MF, Torella M, Gardella B (2023). Microbiota ecosystem in recurrent cystitis and the immunological microenvironment of urothelium. *Healthcare (Basel)* 11(4): 525.
40. Vahlensieck W (2023). Interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS). *Urol* 62(6): 582-589.
41. Birder LA (2019). Pathophysiology of interstitial cystitis. *Int J Urol* 26(1): 12–15.
42. Sant GR (2002). Etiology, pathogenesis, and diagnosis of interstitial cystitis. *Rev Urol* 4(1): 9-15.
43. Grover S, Srivastava A, Lee R, Tewari AK, Te AE (2011). Role of inflammation in bladder function and interstitial cystitis. *Ther Adv Urol* 3(1): 19-33.
44. Barr S (2014). Diagnosis and management of interstitial cystitis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 41(3): 397-407.
45. Chermansky CJ, Guirguis MO (2022). Pharmacologic management of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Urol Clin* 49(2): 273-282.
46. Colaco M, Evans R (2015). Current guidelines in the management of interstitial cystitis. *Transl Androl Urol* 4(6): 677-683.
47. Cox A (2018). Management of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Can Urol Assoc J* 12(6-3): 157-160.
48. Ma N, Guo J, Wu X, Liu Z, Yao T, Zhao Q, Li B, Tian F, Yan X, Zhang W, Qiu Y, Gao Y. (2023). Meta-analysis of TLR4 pathway-related protein alterations induced by arsenic exposure. *Biol Trace Elem Res* 201(7): 3290-3299.
49. Lim KH, Staudt LM (2013). Toll-like receptor signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5(1): a011247.
50. Coutinho-Wolino KS, Almeida PP, Mafra D, Stockler-Pinto MB (2022). Bioactive compounds modulating Toll-like 4 receptor (TLR4)-mediated inflammation: pathways involved and future perspectives. *Nutr Res* 107: 96-116.
51. Zhang D, Jing B, Chen ZN, Li X, Shi HM, Zheng YC, Chang SQ, Gao L, Zhao GP (2023). Ferulic acid alleviates sciatica by inhibiting neuroinflammation and promoting nerve repair via the TLR4/NF- κ B pathway. *CNS Neurosci Ther* 29(4): 1000-1011.

52. Kang C, Li X, Liu P, Liu Y, Niu Y, Zeng X, Zhao H, Liu J, Qiu S (2023). Tolerogenic dendritic cells and TLR4/IRAK4/NF- κ B signaling pathway in allergic rhinitis. *Front Immunol* 14: 1276512.
53. Gao Q, Gao Z, Su M, Huang Y, Zhang C, Li C, Zhan H, Liu B, Zhou X (2023). Umbilical cord mesenchymal stem cells overexpressing heme oxygenase-1 promotes symptoms recovery in cystitis rats by alleviating neuroinflammation. *Stem Cells Int* 2023(1): 8887091.
54. de Oliveira MG, Mónica FZ, Calmasini FB, Alexandre EC, Tavares E, Soares AG, Costa S, Antunes E (2018). Deletion or pharmacological blockade of TLR4 confers protection against cyclophosphamide-induced mouse cystitis. *Am J Physiol Renal Physiol* 315(3): 460–468.
55. 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 NF κ B signaling in mice. *Life Sci* 301: 120590.
56. Schrepf A, Bradley CS, O'Donnell M, Luo Y, Harte SE, Kreder K, Multidisciplinary Approach to the Study of Chronic Pelvic Pain (MAPP) Research Network (2015). Toll-like receptor 4 and comorbid pain in interstitial cystitis/bladder pain syndrome: a multidisciplinary approach to the study of chronic pelvic pain research network study. *Brain Behav Immun* 49: 66-74.
57. Yang Q, Zou X, Xie YL, Lin C, Ouyang YF, Liu YL, Duan CY, You R, Liu YP, Liu RZ, Huang PY, Guo L, Hua YJ, Chen MY (2023). Fosaprepitant weekly vs every 3 weeks for the prevention of concurrent chemoradiotherapy-induced nausea and vomiting: a pilot randomized clinical trial. *JAMA Netw Open* 6(7): e2326127.
58. Patel P, Leeder JS, Piquette-Miller M, Dupuis LL. (2017). Aprepitant and fosaprepitant drug interactions: a systematic review. *Br J Clin Pharmacol* 83(10):2148-2162.
59. Saito Y, Kumamoto T, Arima T, Shirakawa N, Ishimaru S, Sonoda T, Nakajima M, Sugiyama M, Arakawa A, Hashimoto H, Makino Y, Ogawa C, Yamaguchi M (2019). Evaluation of aprepitant and fosaprepitant in pediatric patients. *Pediatr Int* 61(3): 235-239.
60. Lu K, Lin S, Wang Y, Hao R, Fang L, Zhu J, Zhao D, Yu J, Tong S, Wu Y, Si Y, Ye T, Yang Q, Wang Y (2021). Pharmacokinetics and safety of fosaprepitant dimeglumine in healthy chinese volunteers: bioequivalence study. *Clin Pharmacol Drug Dev* 10(7): 748-755.

61. Radhakrishnan V, Joshi A, Ramamoorthy J, Rajaraman S, Ganesan P, Ganesan TS, Dhanushkodi M, Sagar TG (2019). Intravenous fosaprepitant for the prevention of chemotherapy-induced vomiting in children: a double-blind, placebo-controlled, phase III randomized trial. *Pediatr Blood Cancer* 66(3): e27551.
62. Henssen AG, Odersky A, Szymansky A, Seiler M, Althoff K, Beckers A, Speleman F, Schäfers S, De Preter K, Astrahanseff K, Struck J, Schramm A, Eggert A, Bergmann A, Schulte JH (2017). Targeting tachykinin receptors in neuroblastoma. *Oncotarget* 8(1): 430–443.
63. Aapro M, Carides A, Rapoport BL, Schmoll HJ, Zhang L, Warr D (2015). Aprepitant and fosaprepitant: a 10-year review of efficacy and safety. *Oncologist* 20(4): 450-458.
64. Suanno G, Pederzoli M, Lasagni Vitar RM, Fonteyne P, Ferrari G (2023). Topical fosaprepitant for the treatment of ocular pain and inflammation. *Am J Ophthalmol Case Rep* 32: 101964.
65. Lasagni Vitar RM, Bonelli F, Atay A, Triani F, Fonteyne P, Di Simone E, Rama P, Mondino A, Ferrari G (2021). Topical neurokinin-1 receptor antagonist fosaprepitant ameliorates ocular graftversus-host disease in a preclinical mouse model. *Exp Eye Res* 212: 108825.
66. Barut EN, Engin S, Barut B, Kaya C, Kerimoğlu G, Özel A, Kadioğlu M (2019). Uroprotective effect of ambroxol in cyclophosphamide-induced cystitis in mice. *Int Urol Nephrol* 51: 803-810.
67. Palea S, Guilloteau V, Rekik M, Lovati E, Guerard M, Guardia MA, Lluet P, Pietra C, Yoshiyama M (2016). Netupitant, a potent and highly selective NK1 receptor antagonist, alleviates acetic acid-induced bladder overactivity in anesthetized guinea-pigs. *Front Pharmacol* 7: 234.
68. Engin S, Yasar YK, Barut EN, Sezen SF (2021). Improved endothelium-dependent relaxation of thoracic aorta in niclosamide-treated diabetic rats. *Cardiovasc Toxicol* 21(7): 563–571.
69. Radu M, Chernoff J (2013). An *in vivo* assay to test blood vessel permeability. *J Vis Exp* (73): e50062.
70. Brash JT, Ruhrberg C, Fantin A (2018). Evaluating vascular hyperpermeability-inducing agents in the skin with the miles assay. *J Vis Exp* (136): 57524.
71. 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 Sci* 254:117590.

72. Auge C, Gamé X, Vergnolle N, Lluel P, Chabot S (2020). Characterization and validation of a chronic model of cyclophosphamide-induced interstitial cystitis/bladder pain syndrome in rats. *Front Pharmacol* 11: 1305.
73. Hepner KA, Watkins KE, Elliott MN, Clemens JQ, Hilton LG, Berry SH (2012). Suicidal ideation among patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Urol* 80(2): 280–285.
74. Macdiarmid SA, Sand PK (2007). Diagnosis of interstitial cystitis/painful bladder syndrome in patients with overactive bladder symptoms. *Rev Urol* 9(1): 9–16.
75. Marcu I, Campian EC, Tu FF (2018). Interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Semin Reprod Med* 36(2):123-135.
76. Fang W, Song Q, Lv T, Lv J, Cai Z, Wang Z, Song X, Ji X, Huang J. (2023). Serpina3n/serpina3 alleviates cyclophosphamide-induced interstitial cystitis by activating the Wnt/ β -catenin signal. *Int Urol Nephrol* 55(12): 3065-3075.
77. Dobrek Ł, Baranowska A, Skowron B, Thor P (2013). Autonomic nervous system estimation by heart rate variability analysis in experimental short and long-lasting bladder outlet obstruction model. *Przegl Lek* 70(9); 719-723.
78. Lee H, Koh BH, Peri LE, Woodward HJ, Perrino BA, Sanders KM, Koh SD (2022). Role of detrusor PDGFR α ⁺ cells in mouse model of cyclophosphamide-induced detrusor overactivity. *Sci Rep* 12(1): 5071.
79. Boudes M, Uvin P, Kerselaers S, Vennekens R, Voets T, De Ridder D (2011). Functional characterization of a chronic cyclophosphamide-induced overactive bladder model in mice. *Neurourol Urodyn* 30(8): 1659–1665.
80. Golubeva AV, Zhdanov AV, Mallel G, Dinan TG, Cryan JF (2014). The mouse cyclophosphamide model of bladder pain syndrome: tissue characterization, immune profiling, and relationship to metabotropic glutamate receptors. *Physiol Rep* 2(3): e00260.
81. Hoffmann T, Bös M, Stadler H, Schnider P, Hunkeler W, Godel T, Galley G, Ballard TM, Higgins GA, Poli SM, Sleight AJ (2006). Design and synthesis of a novel, achiral class of highly potent and selective, orally active neurokinin-1 receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* 16(5): 1362–1365.
82. Mishra A, Lal G (2021). Neurokinin receptors and their implications in various autoimmune diseases. *Curr Res Immunol* 2: 66–78.

83. Liu BK, Jin XW, Lu HZ, Zhang X, Zhao ZH, Shao Y (2019). The effects of neurokinin-1 receptor antagonist in an experimental autoimmune cystitis model resembling bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Inflammation* 42(1): 246–254.
84. Marchand JE, Sant GR, Kream RM (1998). Increased expression of substance P receptor-encoding mRNA in bladder biopsies from patients with interstitial cystitis. *Br J Urol* 81(2): 224–228.
85. Wick MJ, Harral JW, Loomis ZL, Dempsey EC (2018). An optimized evans blue protocol to assess vascular leak in the mouse. *J Vis Exp* 139: 57037.
86. Hughes FM Jr, Vivar NP, Kennis JG, Pratt-Thomas JD, Lowe DW, Shaner BE, Nietert PJ, Spruill LS, Purves JT (2014). Inflammasomes are important mediators of cyclophosphamide-induced bladder inflammation. *Am J Physiol Renal Physiol* 306(3): 299-308.
87. Nishijima T, Kawakami M, Kita I (2013). Long-term exercise is a potent trigger for FosB induction in the hippocampus along the dorso–ventral axis. *Plos One* 8(11): e81245.
88. Wróbel A, Zapala Ł, Zapala P, Piecha T, Radziszewski P (2020). The effect of O-1602, a GPR55 agonist, on the cyclophosphamide-induced rat hemorrhagic cystitis. *Eur J Pharmacol* 882: 173321.
89. Wróbel A, Zapala Ł, Kluz T, Rogowski A, Misiek M, Juszczak K, Sieńko J, Gold D, Stangel-Wójcikiewicz K, Poleszak E, Radziszewski P (2021). The potential of asiatic acid in the reversion of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in Rats. *Int J Mol Sci* 22(11): 5853.
90. Frangie C, Daher J (2022). Role of myeloperoxidase in inflammation and atherosclerosis. *Biomed Rep* 16(6): 53.
91. Hannan TJ, Roberts PL, Riehl TE, van der Post S, Binkley JM, Schwartz DJ, Miyoshi H, Mack M, Schwendener RA, Hooton TM, Stappenbeck TS, Hansson GC, Stenson WF, Colonna M, Stapleton AE, Hultgren SJ (2014) Inhibition of cyclooxygenase-2 prevents chronic and recurrent cystitis. *EBioMedicine* 1(1): 46-57.
92. González-Cano R, Artacho-Cordón A, Romero, L, Tejada MA, Nieto FR, Merlos M, Baeyens JM (2020). Urinary bladder sigma-1 receptors: a new target for cystitis treatment. *Pharmacol Res* 155: 104724.

93. Ochiai T, Sasaki Y, Yokoyama C, Kuwata H, Hara S (2021). Absence of prostacyclin greatly relieves cyclophosphamide-induced cystitis and bladder pain in mice. *FASEB J* 5(10): e21952.
94. Perretti M, Ahluwalia A, Flower RJ, Manzini S (1993). Endogenous tachykinins play a role in IL-1-induced neutrophil accumulation: involvement of NK-1 receptors. *Immunology* 80(1): 73-77.
95. Kähler CM, Pischel A, Kaufmann G, Wiedermann CJ (2001). Influence of neuropeptides on neutrophil adhesion and transmigration through a lung fibroblast barrier in vitro. *Exp Lung Res* 27(1): 25-46.
96. Hegde A, Koh YH, Moochhala SM, Bhatia M (2010). Neurokinin-1 receptor antagonist treatment in polymicrobial sepsis: molecular insights. *Int J Inflam* 2010: 601098.
97. Behzadi E, Behzadi P (2016). The role of toll-like receptors (TLRs) in urinary tract infections (UTIs). *Cent European J Urol* 69(4): 404-410.
98. Kawai T, Akira S (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 11(5): 373–384.
99. Ohadian MS, Nowroozi MR (2019). Toll-like receptors: the role in bladder cancer development, progression and immunotherapy. *Scand J Immunol* 90(6): e12818.
100. Cui X, Jing X, Lutgendorf SK, Bradley CS, Schrepf A, Erickson BA, Magnotta VA, Ness TJ, Kreder KJ, O'Donnell MA, Luo Y (2019). Cystitis-induced bladder pain is toll-like receptor 4 dependent in a transgenic autoimmune cystitis murine model: a MAPP research network animal study. *Am J Physiol Renal Physiol* 317(1): 90-98.
101. Nicotra L, Loram LC, Watkins LR, Hutchinson MR (2012). Toll-like receptors in chronic pain. *Exp Neurol* 234(2): 316-329.
102. Akira S, Hoshino K (2003). Myeloid differentiation factor 88-dependent and -independent pathways in toll-like receptor signaling. *J Infect Dis* 187(2): 356–363.
103. Zughaier SM, Zimmer SM, Datta A, Carlson RW, Stephens DS (2005). Differential induction of the toll-like receptor 4-MyD88-dependent and -independent signaling pathways by endotoxins. *Infect Immun* 73(5): 2940–2950.
104. Fischer H, Lutay N, Ragnarsdóttir B, Yadav M, Jönsson K, Urbano A, Al Hadad A, Rämisch S, Storm P, Dobrindt U, Salvador E, Karpman D, Jodal U, Svanborg C (2010). Pathogen specific, IRF3-dependent signaling and innate resistance to human kidney infection. *Plos Pathog* 6(9): e1001109.

105. Butler D, Ambite I, Wan MLY, Tran TH, Wullt B, Svanborg C (2022). Immunomodulation therapy offers new molecular strategies to treat UTI. *Nat Rev Urol* 19(7): 419-437.





EKLER

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yaren Yeşilbaş Aksel

Uyruğu :

Doğum Tarihi

Telefon (İş)

E-Posta

Yazışma Adresi (İş)

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece		Mezuniyet Yılı
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2019
Lise	Affan Kitapçıoğlu Lisesi	2013

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. İkinci Eczacı	İnanır Eczanesi	2019-2020
2. Kamu Eczacısı	Bulancak Devlet Hastanesi-Ahi Evren G.K.D.E.A.H	2020-2024
3. Mesul Müdür	Merkez Eczanesi	2024- Devam ediyor

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Sağlık Bilimleri Temel Alan, Farmakoloji