

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENMİŞ FARE SİSTİT MODELİNDE  
AGONİST İLE İNDÜKLENEN KASILMA YANITLARINDAKİ  
BOZULMADA HİDROJEN SÜLFÜR İLE REAKTİF OKSİJEN  
TÜREVLERİNİN ROLÜ VE ETKİLEŞİMİ**

**Ecz. Ayberk Onur YILMAZ**

**Farmakoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2023**



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENMİŞ FARE SİSTİM MODELİNDE AGONİST  
İLE İNDÜKLENEN KASILMA YANITLARINDAKİ BOZULMADA HİDROJEN  
SÜLFÜR İLE REAKTİF OKSİJEN TÜREVLERİNİN ROLÜ VE ETKİLEŞİMİ**

**Ecz. Ayberk Onur YILMAZ**

**Farmakoloji Programı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Nezahat Tuğba KANDİLCİ**

**ANKARA**

**2023**

**ONAY SAYFASI**

SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENMİŞ FARE SİSTİT MODELİNDE AGONİST İLE  
İNDÜKLENEN KASILMA YANITLARINDAKİ BOZULMADA HİDROJEN SÜLFÜR İLE  
REAKTİF OKSİJEN TÜREVLERİNİN ROLÜ VE ETKİLEŞİMİ

**Öğrenci: Ayberk Onur YILMAZ**

**Danışman: Prof. Dr. Nezahat Tuğba KANDİLCİ**

Bu tez çalışması 17.07.2023 tarihinde jürimiz tarafından “Farmakoloji Programı” nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. Bilgen BAŞGUT*  
*(Başkent Üniversitesi)*

**Tez Danışmanı:** *Prof. Dr. Nezahat Tuğba KANDİLCİ*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:** *Dr. Öğr. Merve DENİZALTI*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

*Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.<sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 (altı) ay ertelenmiştir.<sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

...../...../.....

Ecz. AYBERK ONUR YILMAZ

### 1“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metodların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir*

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Nezahat Tuğba KANDİLCİ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Ecz. AYBERK ONUR YILMAZ

## TEŞEKKÜR

*“Başarıdan değil, hatalardan öğreniriz.” Bram Stoker*

Hem lisans hem de yüksek lisans eğitim sürecimde bana hocalık yapan, gün veya saatten bağımsız her zaman yanımda olan ve benden bilgisini, tecrübelerini ve manevi desteğini esirgemeyen, her konuda her şeyi paylaşıp rahatça konuşabildiğim ve attığım her adımda beni destekleyip bana yol gösteren tez danışman hocam sayın Prof. Dr. Nezahat Tuğba Kandilci'ye,

Deneylerimde sabır ve sükûnet ile her daim yanımda bulunan, desteğini ve tecrübelerini eksik etmeyen, yanlış yaptığımda doğruyu gösteren, hep yanımda hissettiren sayın Dr. Öğr. Üyesi Merve Denizaltı'ya,

Eczacılık mesleğimde bana farmakolojiyi öğreten ve ilgimi açığa çıkartan, lisansüstü eğitimimde bana öğreten, ilgilerini ve alakalarını eksik etmeyen Farmakoloji Anabilim Dalı hocalarıma,

Ne olursa olsun yanımda olan, her zaman sevgilerini, varlıklarını ve desteklerini gösteren, Eczacılık mesleğini bana ilk gösteren ve bu yolculuğuma vesile olan babam ve anneme,

Araştırmamı yürütmek için maddi destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne,

Teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Yılmaz, A.O., Siklofosfamid ile İndüklenmiş Fare Sistit Modelinde Agonist ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarındaki Bozulmada Hidrojen Sülfür ile Reaktif Oksijen Türevlerinin Rolü ve Etkileşimi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2023.** İnterstisyel sistit, alt üriner sistemin duysal ve motor disfonksiyonu ile karakterize bir sendromdur. Hidrojen sülfür, endojen olarak üretilen bir gazotransmitter olup birçok fonksiyonun düzenlenmesinden sorumludur. Bu tez çalışmasında, farede intraperitoneal olarak uygulanan siklofosfamid ile oluşturulan akut sistit modelinde, mesane ürotelyum dokusunun agonist ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisinin yanı sıra hidrojen sülfür ile reaktif oksijen türevleri süpürücülerinin sistitteki rolü ve etkileşimi incelenmiştir. Sistit geliştirilen mesane preparatlarında karbakol ile indüklenen kasılma yanıtları artmakta ve ürotelyumun fonksiyonu hasarlanmaktadır. Bunun yanı sıra, sistit geliştirilen farelerde kümülatif karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları, ürotelyumlu mesane detrusor düz kası şeritlerinde katalaz, süperoksit dismutaz ve N-asetil sistein ile değişmezken NaHS ile inhibe olmaktadır. Ayrıca, ürotelyumu çıkarılmış mesane detrusor şeritlerinde, katalaz ve NaHS'in birlikte uygulanması ile, maksimum karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları azalmaktadır. Elde edilen sonuçlar, sistitin mesanedeki patofizyolojik etkilerini anlamak ve yeni tedavi hedefleri geliştirebilmek açısından önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Siklofosfamid, mesane, ürotelyum, hidrojen sülfür, katalaz

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri ve Koordinasyon Birimi (Proje No: TYL-2022-20185) tarafından desteklenmiştir.



## ABSTRACT

**Yilmaz, A.O., The Role and Interaction of Hydrogen Sulfide and Reactive Oxygen Species in The Impaired Agonist Induced Contractile Responses in Cyclophosphamide Induced Mouse Model of Cystitis, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences Master of Science in Pharmacology, Ankara 2023.** Interstitial cystitis is a syndrome characterized by sensory and motor dysfunction of the lower urinary tract. Hydrogen sulfide is an endogenously produced gasotransmitter and is responsible for regulating many functions. In this thesis, the effect of urothelium tissue in the bladder on agonist induced contractile responses in an acute cystitis mouse model obtained by intraperitoneally administered cyclophosphamide, as well as the roles and interaction of hydrogen sulfide and reactive oxygen derivatives scavengers in cystitis were investigated. In the bladder tissue having cystitis, carbachol-induced contractile responses were increased and the functions of the urothelium was deteriorated. Besides, carbachol-induced cumulative contractile responses in detrusor smooth muscle tissues with urothelium in cystitis group were not altered by catalase, superoxide dismutase and N-acetyl cysteine, but inhibited by NaHS. Moreover, in urothelium denuded bladder detrusor strips, maximum contractile response induced by carbachol was decreased by catalase and NaHS. The results obtained are important in terms of understanding the pathophysiological effects of cystitis in the bladder and developing new treatment targets.

**Keywords:** Cyclophosphamide, bladder, urothelium, hydrogen sulfide, catalase

This thesis study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects and Coordination Unit (Project No: TYL-2022-20185).

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Mesane Anatomisi, Fizyolojisi ve İnervasyonu	3
2.2. Ürotelyum Tabakası	5
2.3. İnterstisyel Sistit	7
2.4. Hidrojen Sülfür	8
2.5. Reaktif Oksijen Türevleri	11
2.6. Hidrojen Sülfür ve Reaktif Oksijen Türevlerinin Etkileşimi	13
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>14</b>
3.1. Deneysel Sistit Modelinin Oluşturulması	14
3.2. Dokuların Hazırlanması	14
3.3. Deney Protokolü	14
3.4. İstatistiksel Analiz	15
3.5. Deneyleerde Kullanılan Solüsyonlar ve İlaçlar	15

<b>4. BULGULAR</b>	16
4.1. Zaman Bağımlı Kasılma Yanıtları	16
4.2. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtları	17
4.3. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına Ürotelyumun Etkisi	18
4.4. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına NaHS İnkübasyonunun Etkisi	19
4.5. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına H <sub>2</sub> S Enzim İnhibitörlerinin Etkisi	20
4.6. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına Katalaz Enziminin Etkisi	21
4.7. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına N-Asetil Sistein'in Etkisi	22
4.8. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına Süperoksit Dismutaz Enziminin Etkisi	23
4.9. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Maksimum Kasılma Yanıtlarına NaHS ile Birlikte Kullanılan Antioksidanların Etkisi	24
<b>5. TARTIŞMA</b>	27
<b>6. SONUÇ</b>	34
<b>7. KAYNAKLAR</b>	35
<b>8. EKLER</b>	
EK 1. Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul Kararı	
EK 2. Tez çalışması Orijinallik Raporu	
EK 3. Dijital Makbuz	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>3-MST</b>	3-merkaptopiruvat sülfürtransferaz
<b>AAT</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>Ach</b>	Asetilkolin
<b>AOAA</b>	Aminooksiasetik asit
<b>ATP</b>	Adenozin trifosfat
<b>BK<sub>Ca</sub></b>	Büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalı
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Kalsiyum klorür
<b>CAT</b>	Sistein aminotransferaz
<b>CBS</b>	Sistatyonin $\beta$ -sentaz
<b>cGMP</b>	Siklik guanozin monofosfat
<b>CO</b>	Karbonmonoksit
<b>CSE</b>	Sistatyonin $\gamma$ -liyaz
<b>CYP</b>	Siklofosfamid
<b>DADS</b>	Diallil disülfür
<b>DAS</b>	Diallil sülfür
<b>DATS</b>	Diallil trisülfid
<b>eNOS</b>	Endotelial nitrik oksit sentaz
<b>ER</b>	Endoplazmik retikulum
<b>GAG</b>	Glikozaminoglikan
<b>GPx</b>	Glutasyon peroksidaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Hidrojen sülfür

<b>I/R</b>	İskemi / reperfüzyon
<b>İS</b>	İnterstisyel Sistit
<b>K<sub>ATP</sub></b>	ATP duyarlı potasyum kanalları
<b>KCl</b>	Potasyum klorür
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Potasyum dihidrojen fosfat
<b>M<sub>1-5</sub></b>	Muskarinik reseptörler
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Magnezyum sülfat
<b>NAC</b>	N-asetil sistein
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>NADH</b>	Nikotinamid adenin dinükleotit
<b>NADPH</b>	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Sodyum bikarbonat
<b>NaHS</b>	Sodyum Hidrosülfid
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>NOX</b>	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Süperoksit anyonu
<b>OH<sup>-</sup></b>	Hidroksil anyonu
<b>PAG</b>	Propargilglisin
<b>PAR</b>	Proteaz ile aktive olan reseptörler
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türevleri
<b>SK<sub>Ca</sub></b>	Küçük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalı
<b>SOD</b>	Süperoksit dismutaz
<b>TRP</b>	Geçici reseptör potansiyeli
<b>TRPA</b>	Geçici reseptör potansiyeli ankirin

<b>TRPM</b>	Geçici reseptör potansiyeli melastatin
<b>TRPV</b>	Geçici reseptör potansiyeli vanilloid
<b>UDIF</b>	Ürotelyumdan saliverilen inhibitör faktör

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Mesane anatomisi.	4
<b>2.2.</b>	Ürotelyum katmanları.	5
<b>2.3.</b>	Enzimatik olmayan yollar aracılığıyla endojen H <sub>2</sub> S üretimi.	9
<b>2.4.</b>	Enzimatik yollar aracılığıyla endojen H <sub>2</sub> S üretimi.	10
<b>4.1.</b>	Ürotelyumlu kontrol grubu, ürotelyumu çıkarılmış kontrol grubu, ürotelyumlu sistit grubu ve ürotelyumu çıkarılmış sistit grubu fare mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarında zamana bağımlı değişim.	16
<b>4.2.</b>	Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane dokularında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları.	17
<b>4.3.</b>	Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış detrusor düz kaslarında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları.	18
<b>4.4.</b>	Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına NaHS'nin (300 µM) etkisi.	19
<b>4.5.</b>	Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına sırası ile PAG (300 µM), AOAA (1 mM) ve PAG+AOAA'nın (300 µM ve 1 mM) etkisi.	20
<b>4.6.</b>	Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına katalazın (1000 U / mL) etkisi.	21

- 4.7.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına NAC'ın (0,1 mM) etkisi. 22
- 4.8.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına SOD enziminin (150 µ/mL) etkisi. 23



**TABLolar**

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
<b>4.1.</b>	Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen ürotelyumlu mesane dokularında Katalaz, NaHS, NAC ve kombinasyonlarının karbakol (30 µM) ile elde edilen maksimum kasılma ve pD <sub>2</sub> değerleri.	25
<b>4.2.</b>	Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen ürotelyumu çıkarılmış mesane dokularında Katalaz, NaHS, NAC ve kombinasyonlarının karbakol (30 µM) ile elde edilen maksimum kasılma ve pD <sub>2</sub> değerleri.	26

## 1. GİRİŞ

Mesane, pelvis boşluğunda yer alan ve idrarı geçici olarak depolayarak işeme ile uzaklaştıran bir organdır. Sağlıklı bireylerde işeme fizyolojisi mesane depolama fazında detrusor kasının gevşemesi ve üretral sfinkter kasının kasılması, boşaltım fazında ise bu durumun tersi ile gerçekleşir (1). Mesane ürotelyumu uzun süredir idrar ve mesane düz kası arasında bariyer olarak kabul edilmiş; ancak deneysel çalışmalar, ürotelyumun işeme, metabolik sekresyon, inflamasyonun düzenlenmesi ve afferent fonksiyonlarla ilgili oldukça özelleşmiş bir yapı olduğu göstermiştir (2, 3). Ayrıca detrusor kasının aşırı aktivitesi, inflamasyon, hücre büyümesi ve kanser gibi çok sayıda patolojik durumda da rol aldığı belirtilmiştir (4).

İnterstisyel sistit (İS); aşırı aktif mesane semptomları ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve detrusor düz kasının kasılmasını etkilemektedir. Siklofosfamid (CYP) ile sistit oluşturulan sıçan mesanesinde karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarının arttığı bilinmektedir. Ancak bu değişimin hücrel mekanizmaları henüz aydınlatılmamıştır.

Hidrojen sülfür ( $H_2S$ ), nitrik oksit (NO) ve karbonmonoksit (CO) gibi endojen olarak oluşan, çürük yumurta kokusu ile karakterize, renksiz, toksik ve gaz yapısında bir nörotransmitterdir (5). Yakın zamanda ise organizmada sentezlendiği ve birçok fonksiyonlardan sorumlu bir gazotransmitter olduğu anlaşılmıştır. Çoğu dokuda  $H_2S$ 'nin fizyolojik konsantrasyonlarda etkili olduğu, ancak belirli bir konsantrasyonun üzerinde canlılar üzerinde zararlı etkiler sergilediği gösterilmiştir (6). Ancak,  $H_2S$  donörlerinin sistit ile ürogenital sistemde oluşan kasılma bozukluklarını önleyici olası etkilerini ürotelyum varlığında ve yokluğunda gösteren fonksiyonel bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

Reaktif oksijen türevleri (ROS), hücrel homeostazı düzenleyen ve hastalıkların patofizyolojisine etki eden hücrel işlev bozukluğunun ana

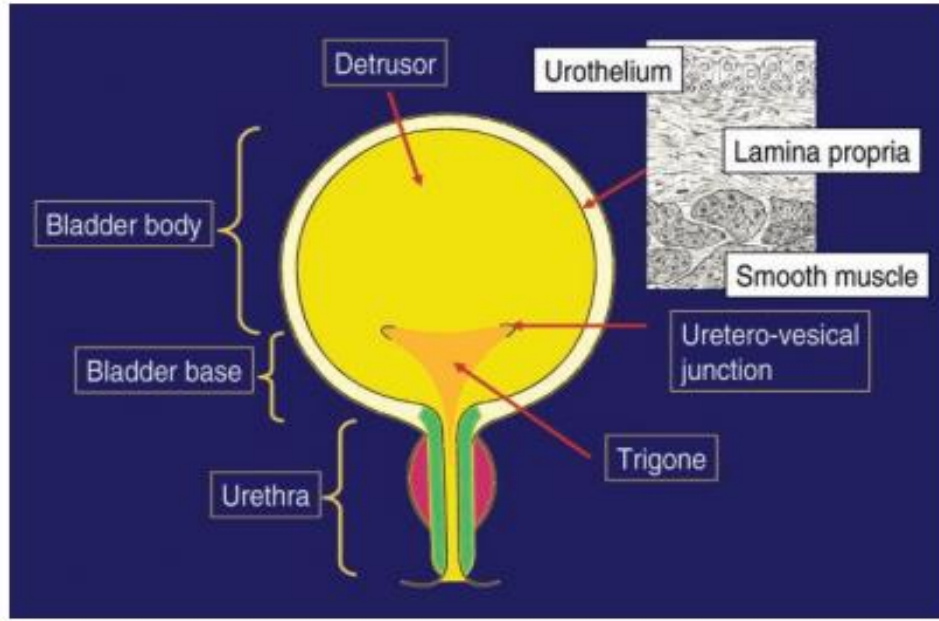
modulatorleri olarak bilinmektedir. ROS, bazal metabolik fonksiyonun bir parçası olarak sitoplazma, hücre zarı, endoplazmik retikulum (ER), mitokondri ve peroksisom dahil olmak üzere çeşitli hücre bölmelerinde çok sayıda enzimatik reaksiyonun yan ürünleri olarak, ayrıca nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NOX) gibi enzimler tarafından özel olarak üretilir ve hücrelerde bir sinyal işlevi olarak görev yaparlar (7). ROS'un patolojik durumlarda inflamatuvar yollara etki ettiği ve ateroskleroz, kardiyak iskemi veya sepsis gibi durumlarda artmış konsantrasyonda üretilerek doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir (8). Ayrıca; ROS ile yapılan çalışmalarda mesane düz kasının kasılma fonksiyonları üzerinde de etkisi olduğu gösterilmiştir (9, 10).

H<sub>2</sub>S ve ROS'un olası etkileşiminin ürotelyum varlığında ve yokluğunda mesane düz kas kasılmasına etkilerinin gösterildiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır. H<sub>2</sub>S'nin sistitte detrusor ve / veya ürotelyumu koruyucu ve inflamasyonu azaltıcı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, mesane detrusor düz kasında sistit geliştirilmesi ile oluşacak inflamasyon modelinde bozulan kasılabilirliğin H<sub>2</sub>S ve ROS ile ilişkisini incelemek yeni tedavi prensiplerinin geliştirilmesi açısından önemlidir. Bu tez çalışmasının amacı; CYP ile oluşturulan sistit modelinde farede agonist ile indüklenen detrusor düz kas kasılmasının ürotelyum tabakası varlığında ve yokluğunda nasıl değiştiğinin gösterilmesi ve kasılma yanıtları üzerinde H<sub>2</sub>S ve ROS'un olası etkileşimlerinin incelenmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mesane Anatomisi, Fizyolojisi ve İnervasyonu

Mesane idrarın boşaltılması ve depolanmasında görev alan düz kas yapısında bir organdır (11). Mesane duvarı; epiteli oluşturan ürotelyum, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmaktadır. Ürotelyum ise ince bir bazal membran üzerine oturmuş bir epitel tabakasıdır. Bu tabakanın altında belli bir oranda distansiyona olanak sağlayan kalın fibroelastik bağ dokudan oluşan lamina propria tabakasında çeşitli kan damarları ve muskularis mukozayı oluşturan düz kas demetleri mevcuttur. Düz kas tabakası; detrusor ve trigon olmak üzere iki farklı düz kas yapısından oluşur. Mesanedeki düz kasların oryantasyonu ve etkileşimi önemlidir; çünkü bu, mesane duvarının nasıl davranacağını ve hücrelerdeki aktivitenin şekli ve lümen içi basınç üzerinde ne gibi bir etkisinin olacağını belirler. Detrusor düz kas hücreleri dış ve iç katmanlarda longitudinal, orta katmanda sirküler yapıda bulunur. Detrusorun birbirlerini serbestçe çaprazlayan düz kas demetleri, mesane boynunda dairesel özellik alarak fonksiyonel bir sfinkter özelliği kazanır. Trigon, üreterlerin giriş deliklerinden mesane boynuna uzanır. Derin trigon detrusor düz kasının; yüzeysel trigon ise üreter kaslarının uzantısıdır (Şekil 2.1.) (1).



**Şekil 2.1.** Mesane anatomisi (1).

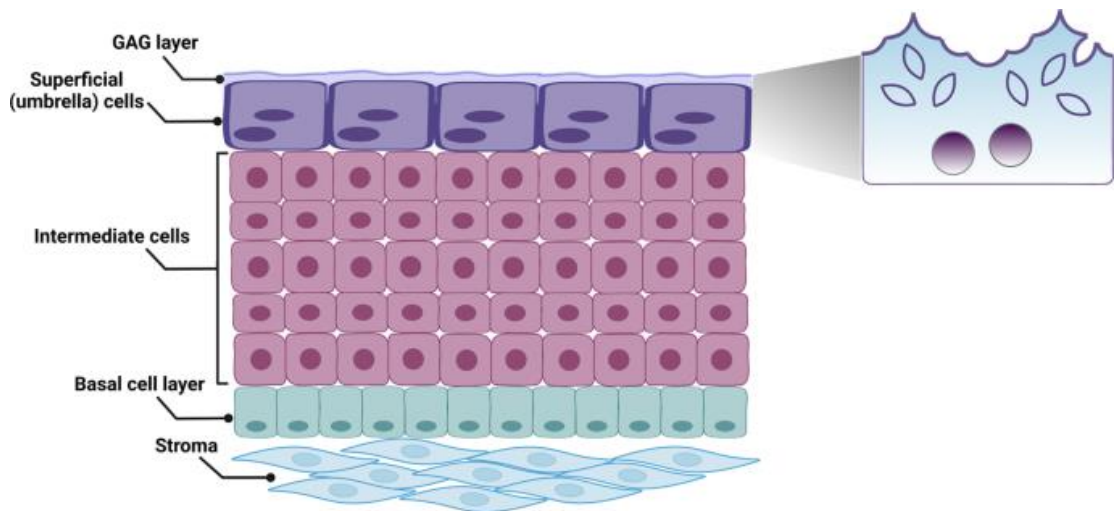
Detrusor düz kası mesanenin idrar depolamasında ve işeme esnasında idrarı boşaltmak için gerekli basıncı üretmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Mesane fonksiyonu; depolama fazında detrusor düz kasının gevşemesi ve üretral sfinkterin kasılması, boşaltım fazında ise bu durumun tersi ile sağlanmaktadır. Depolama fazındayken giderek artan sempatik uyarı ve baskılanan parasempatik uyarı yolu ile mesane içi basınç düşük tutulur. Normal mesane kapasitesi 400-500 mL arasında değişiklik gösterebilir. İlk doluluk hissi 100-200 mL, doluluk hissi 300-400 mL, acilen boşaltma gereksinimi ise 400-500 mL'de hissedilir. Doluluk hissi ile birlikte detrusor kasını gevşeten, sfinkteri kasan refleks yollar aktive olur (12).

Mesanenin depolama ve boşaltım fonksiyonları omuriliğin sakral ve torakolomber seviyelerinden çıkan parasempatik, sempatik ve somatik sinirler tarafından koordine edilmektedir. Sakral S2-S4 segmentlerinden çıkan parasempatik kolinerjik lifler mesanenin gerilme ve dolgunluk hissini oluşturur. Sinir-kas kavşağında kasın uyarılması için asetilkolin (Ach) salıverilir. Ach muskarinik reseptörler ( $M_3$ ) aracılığıyla detrusor düz kasında kasılmaya neden olur ve mesanenin boşalma olayı gerçekleşir. Boşaltım fazında üretral sfinkter basıncı düşer. Sfinkter mekanizmasının sakral işeme merkezine refleks inhibisyonu ortadan kalkar, sempatik aktivitenin inhibe olmasıyla işeme başlar. Sempatik lifler T11-12 ve L1-2 segmentlerden gelir. Sempatik

postgangliyonik sinirlerden salıverilen noradrenalin,  $\beta_3$  adrenerjik reseptörlerinin aktivasyonu ile mesane düz kasında gevşemeye ve üretra düz kasında  $\alpha_1$  adrenerjik reseptörler üzerinden kasılmaya neden olur ve depolamayı sağlar. Somatik sinir lifleri ise, kas kasılmasını indüklemek için nikotinik reseptörler üzerinde etki gösteren Ach salıvererek üretranın kasılmasını sağlar (1, 13).

## 2.2. Ürotelyum Tabakası

Ürotelyum, dış uyarınları algılayabilen, çeşitli mediyatörleri salıverebilen ve böylece düz kas tonusunu ve mesane duvarındaki diğer hücre tiplerinin işlevini değiştiren oldukça aktif bir hücre tabakasıdır (14). Bazal, orta ve yüzeysel olmak üzere 3 farklı hücre katmandan oluşur. Bazal hücreler ürotelyumun iç tarafında yer alır ve lamina propria tabakası ile doğrudan temas halindedir (15). İkinci kısımda bir orta tabaka yer alır. Yüzeysel tabaka ise, idrarla doğrudan temas halindedir ve terminal olarak farklılaşmış 'şemsiye hücreler' olarak bilinen büyük ve altıgen hücrelerden oluşur (Şekil 2.2.) (16). Şemsiye hücrelerinin uç yüzeyi, asimetrik bir birim zara sahiptir ve çok sayıda proteinden oluşur (17, 18). Bu proteinler ürotelyal bariyer fonksiyonuna katkıda bulunur. Ayrıca; glikozaminoglikandan (GAG) oluşan bir tabaka, şemsiye hücrelerinin idrar ile temas ettiği bölgeyi kaplar ve ürotelyal bariyer işlevine katkıda bulunur (19).



Şekil 2.2. Ürotelyum katmanları (16).

Ürotelyumun bariyer görevi görmesinin yanında, ürotelyal hücrelerin nosiseptör ve mekanoreseptörler gibi duyuşal nöronlara benzer bazı özellikler gösterdiği ve çeşitli sinyal iletim yollarını kullandığı bildirilmiştir (20). Ürotelyumun hem normal hem de patolojik durumlarda mesanenin regülasyonunda yer alan bazı reseptörlere ve iyon kanallarına sahip olduğu bilinmektedir (21, 22). Bu reseptörler ve iyon kanalları arasında; bradikinin reseptörleri (22), pürin reseptörleri (23), adrenerjik reseptörler ( $\alpha$  ve  $\beta$ ) (24), kolinerjik reseptörler (muskarinik ve nikotinik) (25), proteaz ile aktive olan reseptörler (PAR) (26), epitelyal  $\text{Na}^+$  kanalları (27) ve geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanalları (TRP vanilloid 1 (TRPV1), TRPV2, TRPV4, TRP melastatin 8 (TRPM8), TRP ankirin 1 (TRPA1)) yer almaktadır (28-32). Ürotelyal hücreler kimyasal ya da mekanik uyarılar, idrarda bulunan bazı faktörler veya inflamatuvar hücrelerden ve kan damarlarından salıverilen kimyasal mediyatörler, peptitler veya transmitterlere yanıt olarak bu reseptör veya iyon kanalları ile aktive olabilir ve bunun sonucunda NO, adenzin trifosfat (ATP), Ach, prostaglandin ve P maddesi gibi kimyasal mediyatörler salıverilir (20, 33-36).

Nikotinik ve muskarinik reseptörler, ürotelyumda ve lamina propriada gösterilmiştir (37-42). Domuz ürotelyumunda ve lamina propriasında, mesane düz kasından daha yüksek yoğunlukta muskarinik reseptörler bulunur (37). Sıçan ve insan ürotelyumunda, muskarinik reseptör alt tiplerinin ( $M_1$ - $M_5$ ) bulunduğu bilinmektedir (43). Yapılan çalışmalarda, sıçan ürotelyumunda nikotinik Ach reseptörlerinin bazı alt birimlerinin ekspresyonu ve bu reseptörlerin mesane refleksinin modülasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir (44).

Mesanenin detrusor düz kası çoğu zaman gevşemeden sorumludur. NO gibi iyi bilinen inhibitör araçların yanı sıra, ürotelyumdan salıverilen bir inhibitör faktörün (UDIF) varlığını gösteren çalışmalar vardır (45). Ürotelyumu çıkarılmış domuz mesanesinde, kontraktıl maddelere karşı mesanenin kasılma yanıtlarının arttığı; ürotelyumu sağlam dokuda ise bozulmuş olan mesanenin kasılma fonksiyonunun normale döndüğü gösterilmiştir (37).

Ürotelyumdan NO'nun yanı sıra, diğer bir gazotransmitter olan H<sub>2</sub>S'nin de salıverildiği bilinmektedir. İnsan ürotelyumunda hem sistatyonin β-sentaz (CBS) hem de sistatyonin γ-liyaz (CSE) enzimlerinin ekspresyonu gösterilmiştir (46). İnsanda, mesane inervasyonu yapan parasempatik sinirlerin öncü nörotransmitteri Ach'dir (47). İnsan dışındaki diğer memelilerde ise bu öncü nörotransmitterin ATP olduğu düşünülmektedir (48). Salıverilme için uyarılar arasında gerilme, mekanik gerilim, kolinerjik, adrenerjik ve taşıkinin reseptörü uyarımı yer alır ve aynı zamanda mesane düz kasının spontan kasılma aktivitesini de etkiler (49). Bu nedenle ürotelyumun mesanenin kasılabilirliği üzerindeki düzenleyici etkisi halen tartışma konusudur.

### 2.3. İnterstisyel Sistit

Mesanenin temelde iki ana görevi bulunur. Bu görevler; idrarı depolamak ve mesane dolduğunda idrarı boşaltmaktır (1). Depolama veya boşaltım fonksiyonundaki bozukluklar, aşırı aktif mesane sendromunun bileşenleri olan aciliyet, idrar boşaltmada sıklık ve sıkışma hissiyatı gibi alt üriner sistem semptomlarına neden olabilir (50). İS; tekrarlayan pelvik ağrı, rahatsızlık ve artan idrara çıkma sıklığı ile karakterize kronik bir durumdur (51). Hastalarda zihinsel ve fiziksel yaşam kalitelerinde önemli bozulmalar meydana gelir; depresyon, anksiyete, cinsel işlev bozukluğu ve sosyal etkileşim kaybı gibi faktörler ortaya çıkabilir (52). Kesin tanı kriterlerinin olmaması nedeniyle tedavisi oldukça komplike bir durumdur (53). İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan klinik bozuklukların araştırılmasında kullanılan hayvan modelleri tanı ve tedavinin aydınlatılması için oldukça önemlidir (54). Günümüzde, özellikle kemirgenlerde alt üriner sistem enfeksiyonları oluşturmak için; spontane gelişen sistit (özellikle kedilerde) (55), nörojenik inflamasyon kaynaklı sistit (56), antijen ile indüklenen sistit (57), viral kaynaklı sistit (nörojenik sistit) (58), otoimmün sistit (59) ve irritan maddeler tarafından indüklenen sistit gibi birden çok deneysel yöntem uygulanmaktadır.

İrritan maddeler tarafından indüklenen sistit; bakteriyel lipopolisakkarit, asit, terebentin, hardal yağı, kroton yağı ve akrolein olmak üzere çeşitli tahriş edici maddelerin intravezikal damlatılmasıyla indüklenir. Deney hayvanlarında; özellikle

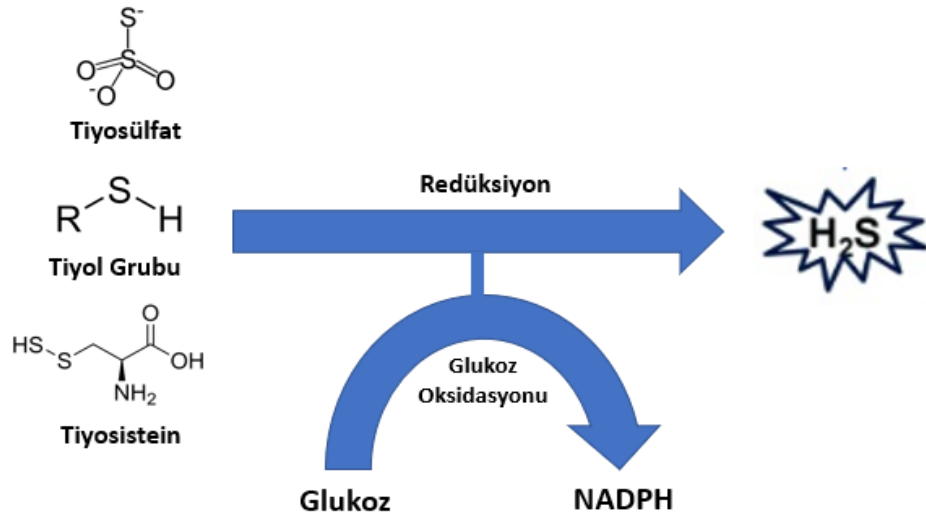


fare ve sıçanlarda, CYP ile oluşturulan sistit modeli, uzun yıllardır yaygın olarak kullanılan deneysel bir yöntemdir (60-62). CYP; antineoplastik bir ajandır ve bu ilaçla tedavi edilen hastalarda sistit sık görülen bir komplikasyondur (63). CYP'nin ana metaboliti olan akrolein, idrarın depolanması sırasında mesanede birikir. Yüksek oranda reaktif doymamış bir aldehit olan akroleinin mesane duvarı ile teması mesanede steril inflamasyon, hemoraji, mesane endotel dokusunda hasar ve ödem oluşturur (64). Yapılan çalışmalar, mesanedeki inflamasyonun detrusor düz kasını, mesanenin inervasyonunu, kan akışını ve ürotelyumun yapı ile fonksiyonunu etkileyerek idrarın depolanmasını ve boşaltılmasını etkileyebileceğini göstermektedir (65).

CYP ile oluşturulan sistit modelinde, sıçan detrusor düz kasında,  $M_2$  ve  $M_3$  reseptör ekspresyonlarında artış bildirilmiştir (66). Kronik sistit oluşturulan sıçanlarda, detrusor düz kasında elektriksel alan stimülasyonu, karbakol ve potasyum klorür (KCl) (120 mM) ile kasılma yanıtlarının kontrol ile kıyaslandığında arttığı gösterilmiştir (67). İnsan detrusor düz kasında yapılan bir çalışmada ise, aşırı aktif mesane sendromu olan hastalardan elde edilen detrusor kası numunelerinde, hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonlarında ve  $Ca^{+2}$  saliverilmelerinde artış gözlenmiştir (68).

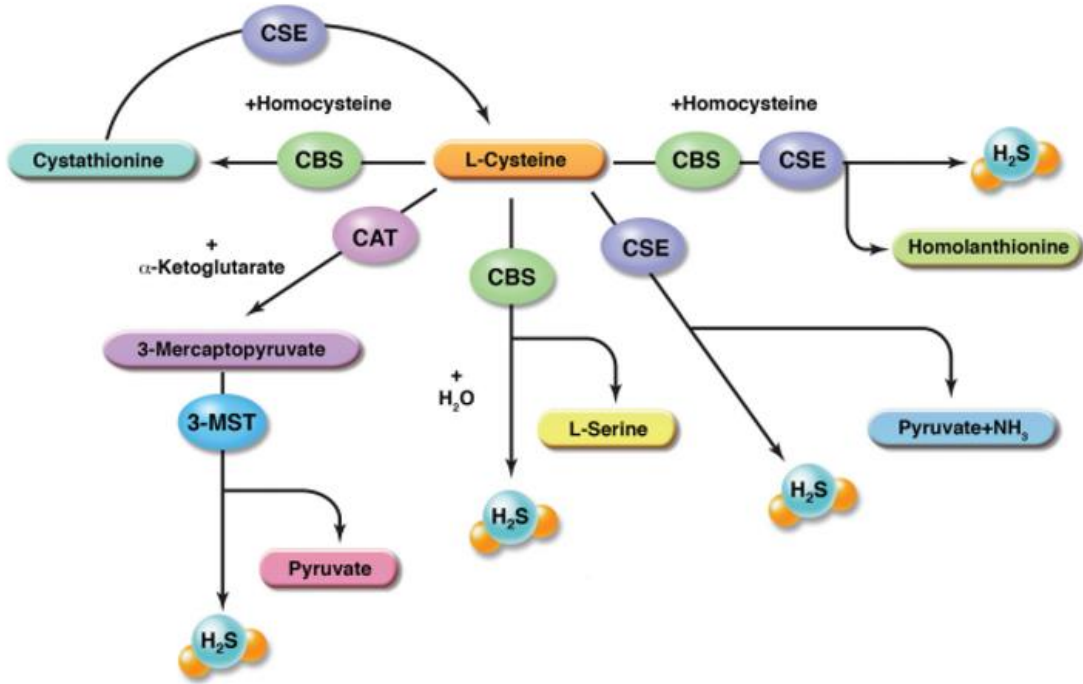
#### **2.4. Hidrojen Sülfür**

$H_2S$ ; endojen olarak üretilen, çürük yumurta kokusu ile karakterize, renksiz, toksik ve gaz yapısında bir nörotransmitterdir (5).  $H_2S$  memeli dokusunda enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla yapısal olarak üretilir (69). Enzimatik olmayan yolak,  $H_2S$ 'nin endojen üretim kaynağı olarak daha önemsiz kabul edilir ve tiyol, tiyosülfat ve tiyosistein gibi tiyol içeren moleküllerin veya glikoz oksidasyonundan türetilen nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) gibi indirgeyici eşdeğerler kullanılarak elemental sülfürün indirgenmesinden oluşur (Şekil 2.3.) (70). Enzimatik olmayan yolağın tüm bileşenleri memelilerde mevcuttur. Ancak bu reaksiyonun fizyolojik önemi tam olarak aydınlatılmamıştır (71).



**Şekil 2.3.** Enzimatik olmayan yollar aracılığıyla endojen H<sub>2</sub>S üretimi.

H<sub>2</sub>S; CBS, CSE ve 3-merkaptopiruvat sülfürtransferaz (3-MST) enzimleri aracılığıyla endojen olarak üretilir. Endojen H<sub>2</sub>S üretimi için primer substrat L-sisteindir. CBS üzerinden H<sub>2</sub>S üretimi, sistasyonin ve H<sub>2</sub>S verecek şekilde homosisteinin ve L-sisteinin konsantrasyonları ile bağlantılıdır. CSE, L-sisteini piruvat, amonyak ve H<sub>2</sub>S'ye dönüştürür. L-sistein ile a-ketoglutarat reaksiyonu sistein aminotransferaz (CAT) veya aspartat aminotransferaz (AAT) varlığında 3-merkaptopiruvattan elde edilir. 3-merkaptopiruvat daha sonra H<sub>2</sub>S oluşturmak için 3-MST tarafından metabolize edilir (Şekil 2.4.) (72).



**Şekil 2.4.** Enzimatik yollar aracılığıyla endojen H<sub>2</sub>S üretimi (72).

H<sub>2</sub>S üretiminde rol oynayan enzimler; karaciğer, böbrek, kalp, vasküler sistem, beyin ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere çok çeşitli organ ve sistemlerde bulunur. CBS'nin sinir sistemi ve beyinde H<sub>2</sub>S üretiminde majör rol oynayan enzim olduğu; ancak aynı zamanda karaciğer ve böbrekte de yüksek oranda eksprese edildiği bilinmektedir (73). CSE ise esas olarak vasküler ve vasküler olmayan düz kaslarda eksprese edilir ve CSE aracılı H<sub>2</sub>S biyosentezinin sadece vasküler düz kasta değil aynı zamanda vasküler endotel hücrelerde de meydana geldiği bilinmektedir (74, 75). 3-MST ise, AAT/CAT ile birlikte hem beyinde hem de vasküler endotelde H<sub>2</sub>S üretiminden sorumludur (76, 77).

H<sub>2</sub>S'nin birçok fizyolojik sistem üzerindeki etkileri araştırılmıştır. İlk olarak kardiyovasküler sistemde H<sub>2</sub>S'nin güçlü bir vazodilatör olduğu gösterilmiş ve damar düz kasında H<sub>2</sub>S'nin gevşetici etkisinden ATP-duyarlı potasyum kanallarının (K<sub>ATP</sub>) sorumlu olduğu bildirilmiştir (74, 78). Ayrıca; akut ve kronik olarak H<sub>2</sub>S donörü sodyum hidrosülfid (NaHS) uygulamasının, kan basıncını düşürdüğü de gösterilmiştir (74, 78, 79). CSE *knock-out* farelerde, belirgin hipertansiyon, anjiyogenezin inhibisyonundan kaynaklanan azalmış yara iyileşmesi ve kardiyoprotektif etkilerde

azalma bildirilmiştir (75, 80, 81). Başka bir H<sub>2</sub>S donörü olan GYY4137, endotoksik şok modelinde farelerde antiinflamatuvar etkiler göstermiştir (82). H<sub>2</sub>S'nin ayrıca sıçanlarda ülser iyileşmesine katkıda bulunduğu da gösterilmiştir (83). Sorumlu mekanizmalar tam olarak aydınlatılmamış olsa da H<sub>2</sub>S'nin hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkili olabileceği konusunda tartışmalar devam etmektedir.

H<sub>2</sub>S'nin domuz ve insan mesane kas dokularını gevşetmesinin yanında (84, 85); sıçan ve kobay mesanesinde detrusor düz kas kasılmalarının eksojen H<sub>2</sub>S ile indüklendiği de gösterilmiştir (86, 87). Son zamanlarda, eksojen H<sub>2</sub>S'nin, sıçanlarda trigon düz kasında gevşemeyi indüklediği ve sıçanlarda bir H<sub>2</sub>S donörünün intravezikal olarak uygulanması sonucu, mesanede spontan kasılma aralıklarını uzattığı bildirilmiştir (88). Ayrıca sıçan detrusor ve trigon dokularında CAT/3-MST yolağı aracılı endojen H<sub>2</sub>S üretiminin eksprese edildiği de gösterilmiştir (88). Yapılan çalışmalar, H<sub>2</sub>S'nin mesanedeki fizyolojik rollerinin tartışmalı olduğunu göstermektedir.

## 2.5. Reaktif Oksijen Türevleri

ROS, hücrel homeostazı düzenleyen ve hastalıkların patofizyolojisine katkıda bulunan hücrel fonksiyon bozukluklarının ana modülatörleri olarak görev yaparlar (7). Vücutta düşük veya orta konsantrasyonlarda hücrel yanıtlar ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde faydalı etkiler gösterirken; yüksek konsantrasyonlarda ise, tüm hücre yapılarına zarar verebilecek, zararlı bir süreç olan oksidatif stresi oluşturur (89). Oksidatif stres ise, potansiyel biyolojik hasara neden olabilecek serbest radikallerin zararlı etkileri olarak tanımlanır (90). ROS, bazal metabolik fonksiyonun bir parçası olarak sitoplazma, hücre zarı, ER, mitokondri ve peroksizom dahil olmak üzere hücrelerin bu bölümlerinde enzimatik reaksiyonların yan ürünleri olarak, ayrıca NOX gibi enzimler tarafından da özel olarak üretilirler ve hücrede bir sinyal işlevi görürler (7). Kaynağına, hücre tipine ve dokuya bağlı olarak, ROS sinyali normal fizyolojik süreçlere katılabilir veya metabolik bozukluklara yol açabilir, ya da inflamatuvar sinyal yollarını etkileyip inflamatuvar bir cevaba katkıda bulunabilir (7). Ateroskleroz, diyabet ve felç gibi yüksek inflamatuvar sinyalleme ve metabolik işlev bozukluğu ile ilişkili hastalıklar, değiştirilmiş bir redoks dengesi ile ilişkilidir (91).

Oksidatif stres; kanser, artrit, yaşlanma, otoimmün bozukluklar, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik ve dejeneratif rahatsızlıkların gelişiminde önemli bir rol oynar. İnsan vücudu, doğal olarak veya dışarıdan gıdalar ve / veya takviyeler yoluyla sağlanan antioksidanları üreterek oksidatif strese karşı koymak için çeşitli mekanizmalara sahiptir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, ROS'un neden olduğu hasarı önleyerek ve onararak "serbest radikal süpürücüleri" görevi görür ve bu nedenle bağışıklık sistemini destekler (92-95). Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz gibi enzimler enzimatik antioksidan savunması olarak; askorbik asit (C vitamini),  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini), glutatyon, karotenoidler, flavonoidler enzimatik olmayan antioksidan savunmasında rol oynar (96).

Katalaz, karakterize edilen ilk antioksidan enzimdir ve hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ )  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye iki aşamalı dönüşümünü katalize eder (97). Mitokondride üretilen katalazın aşırı eksprese edildiği farelerde ateroskleroz ve katarakt prevalansının azaldığı bildirilmiştir (98, 99). Katalazın aşırı ekspresyonunun kardiyovasküler işlev bozukluklarına ve yaralanmalara karşı koruyucu etkisi olduğu da bilinmektedir (100). Ancak, fizyolojik konsantrasyonlardan daha düşük ROS seviyelerinin, tip 2 diyabet gibi patolojilerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (101).

SOD, süperoksit anyonunun ( $O_2^-$ )  $H_2O_2$ 'ye dismutasyonunu katalize eder (97).  $H_2O_2$  daha sonra katalaz veya GPx ile  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye dönüştürülür. Memeli dokularında SOD'un üç izoformu vardır (97). SOD1, memeli hücrelerinin sitoplazma ve organellerinde; SOD2 mitokondride, SOD3 ise fibroblastlar ve endotel hücreleri dahil olmak üzere yalnızca birkaç hücre tipi tarafından sentezlenir (102, 103). Yapılan çalışmalarda; izole sıçan mesanesi detrusor kasının  $H_2O_2$  ile inkübasyonunun karbakol ve potasyum ile indüklenen kasılmaları azalttığı gösterilmiştir (10). Ayrıca; NO plazmada  $O_2^-$  tarafından nötralize edilebilir, bundan dolayı SOD'un, vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (104).

## 2.6. Hidrojen Sülfür ve Reaktif Oksijen Türevlerinin Etkileşimi

ROS'un iskemi / reperfüzyon (I/R) hasarında, kardiyak hipertrofi ve miyokardiyal fibrozis dahil olmak üzere birçok kardiyovasküler hastalıkta önemli rol oynar. Kardiyak hücrelerde CSE aşırı ekspresyonu veya eksojen H<sub>2</sub>S tedavisi, farelerde I/R hasarını takiben sol ventrikülün yeniden şekillenmesine ve işlev bozukluğuna karşı koruma sağlar (105). CSE *knock out* farelerde; I/R'den sonra artan oksidatif stres, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve şiddetlenen kardiyak hasarın eksojen H<sub>2</sub>S varlığında azaldığı gösterilmiştir (106). H<sub>2</sub>S'nin doğrudan ROS süpürücüsü olarak hareket ettiği ve temel antioksidan enzimleri *upregüle* edebildiği bildirilmiştir (72).

İzoproterenol ile indüklenen miyokardiyal hasar modelinde H<sub>2</sub>S'nin O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi süpürücü etkisi ile lipid peroksidasyonunu azalttığı ve sistein transportunu *upregüle* ederek glutatyon seviyelerini arttırdığı bildirilmiştir (107, 108). Ayrıca; NaHS'nin artan SOD ve mitokondriyal kompleks IV aktiviteleri yoluyla hipoksi / reoksijenasyonu takiben sıçan kardiyomiyositlerinde ROS seviyelerini sınırladığı gösterilmiştir (109).

H<sub>2</sub>S ve ROS'un olası etkileşiminin araştırıldığı diğer bir çalışmada, pulmoner arter endotel hücrelerinde, eksojen olarak uygulanan H<sub>2</sub>S'nin O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretimini baskıladığı (110), ayrıca hipertansif sıçanlarda NaHS infüzyonunun da O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretimini baskıladığı gösterilmiştir (111). H<sub>2</sub>S ve ROS'un olası etkileşiminin mesanedeki düz kas kasılması üzerindeki etkilerinin gösterildiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır. H<sub>2</sub>S'nin sistitte detrusor veya ürotelyumu koruyucu ve inflamasyonu azaltıcı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, H<sub>2</sub>S'nin sitoprotektif etkisinin bulunması ROS süpürücü bir etkisinin olduğunu da düşündürmektedir. Bu nedenle, mesane detrusör düz kasında sistit geliştirilmesi ile oluşacak inflamasyon durumunda bozulan kasılabilirliğin H<sub>2</sub>S ve ROS ile ilişkisini incelemek yeni tedavi prensiplerinin geliştirilmesi açısından önemlidir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylerde 20-25 g ağırlığında Swiss dişi albino fareler kullanıldı. Hacettepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'ndan 2022/07-11 karar numaralı izin alındı.

#### 3.1. Deneysel Sistit Modelinin Oluşturulması

Sistit oluşturulacak sıçanlara intraperitoneal yol ile bir kez 200 mg/kg CYP, kontrol grubuna CYP'nin çözücüsü olarak serum fizyolojik uygulandı (60).

#### 3.2. Dokuların Hazırlanması

Fareler enjeksiyondan 24 saat sonra servikal dislokasyon ile ötenazi edildikten sonra abdomen açılarak mesane izole edildi ve Krebs' Henseleit solüsyonu içeren diseksiyon kabına alındı. Mesane 2 eşit parçaya bölündü. Birinci parçanın mesane duvarından 2 adet detrusor düz kas şeriti diseke edildi. İkinci parçanın ise önce diseksiyon mikroskopu altında ürotelyumu temizlendi ve ardından 2 adet detrusor düz kası şeriti izole edildi. İzole edilen detrusor düz kas şeritlerinin bir ucu organ askısına bağlandı ve organ askısı yardımı ile 37°C'de, %95 O<sub>2</sub> -%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan Krebs' Henseleit solüsyonu içeren 5 ml'lik organ banyosuna alındı. Detrusor düz kas şeritlerinin serbest kalan ucu izometrik kuvvet transdüserine bağlandı ve 800 mg bazal gerim uygulandı. Dokular deney protokolünden önce 1 saat boyunca 15'er dakikalık aralıklarla yıkanarak dinlendirildi. Deneyler sırasında gerimdeki değişiklikler izometrik kuvvet transdüseri ile "MP 150-Transducer Data Acquisition System (BIOPAC Systems)" aracılığı ile bilgisayara kaydedildi.

#### 3.3. Deney Protokolü

Dokular asıldıktan sonra 1 saatlik dinlenme süreci sonunda, dokulardan 80 mM K<sup>+</sup> içeren Krebs' Henseleit solüsyonu ile kasılma yanıtları alındı. Ardından 30 dakika dinlenen dokulardan kümülatif karbakol (10 nM-30 µM) ile konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtı elde edildi. 1 saatlik dinlenme süresi sonrası dokular sodyum

hidrosülfid (NaHS; 300 µM), propargilglisin (PAG; 300 µM), aminoksiasetik asit (AOAA; 1 mM), katalaz (1000 U/mL), N-asetil sistein (NAC; 100 µM), süperoksit dismutaz (SOD; 150 U/mL), NaHS+Katalaz, NaHS+NAC ile 30 dakika inkübe edildi. NaHS'nin dahil olduğu gruplarda, NaHS inkübasyonu 30 dakikalık sürenin son 5 dakikasında yapıldı. İnkübasyondan sonra kümülatif karbakol (10 nM-30 µM) ile konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları tekrarlandı.

### 3.4. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi. Karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları 80 mM K<sup>+</sup> kasılmasının %'si olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve *post doc* Tukey ile değerlendirildi.  $P<0,05$  ise ortalamalar arasındaki fark anlamlı olarak kabul edildi. Verilerin analizinde GraphPad Prism v 6,01 kullanıldı.

### 3.5. Deneylede Kullanılan Solüsyonlar ve İlaçlar

Deneylede standart fizyolojik solüsyon olarak Krebs' Henseleit solüsyonu (mM): NaCl; 118, KCl; 4.7, MgSO<sub>4</sub>; 1.2, CaCl<sub>2</sub>; 2.5 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1.2, NaHCO<sub>3</sub>; 25, glukoz; 11.6 kullanıldı. 80 mM K<sup>+</sup> solüsyonu NaCl'nin ekivalan miktarda KCl ile değiştirilmesi ile hazırlandı.

Kullanılan ilaçlardan CYP serum fizyolojik; karbakol, NaHS, katalaz, NAC, SOD, PAG ve AOAA distile su içerisinde çözüldü.

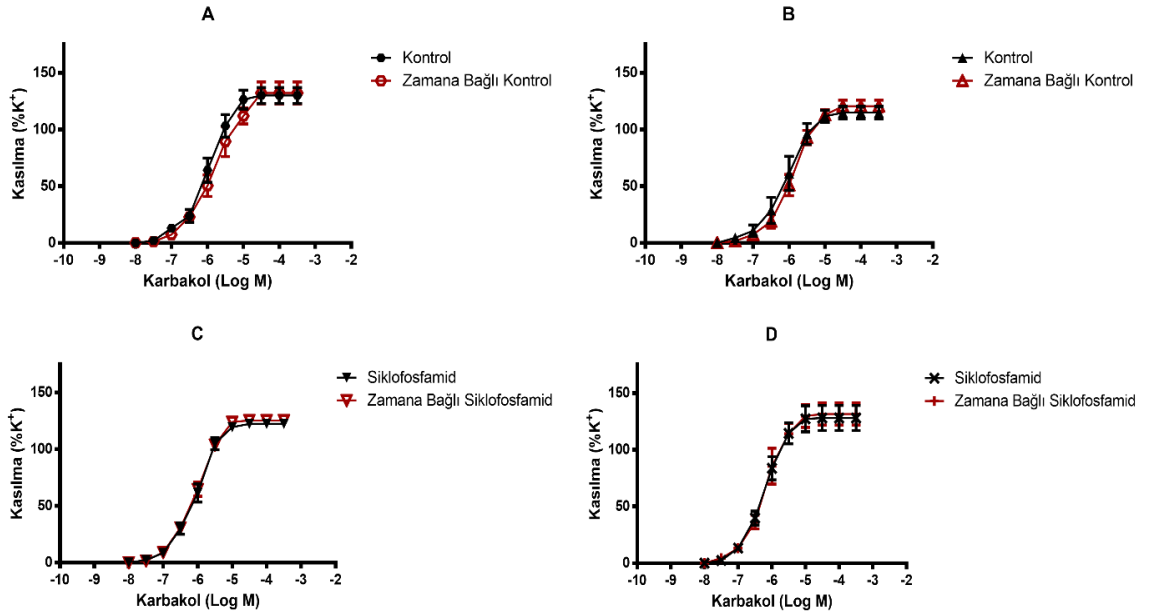
Deneylede kullanılan siklofosamid (Endoxan, 1g) Baxter'den, karbakol, NaHS, katalaz, NAC, SOD, PAG ve AOAA Sigma (St. Louis, Missouri)'dan alındı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Zaman Bağımlı Kasılma Yanıtları

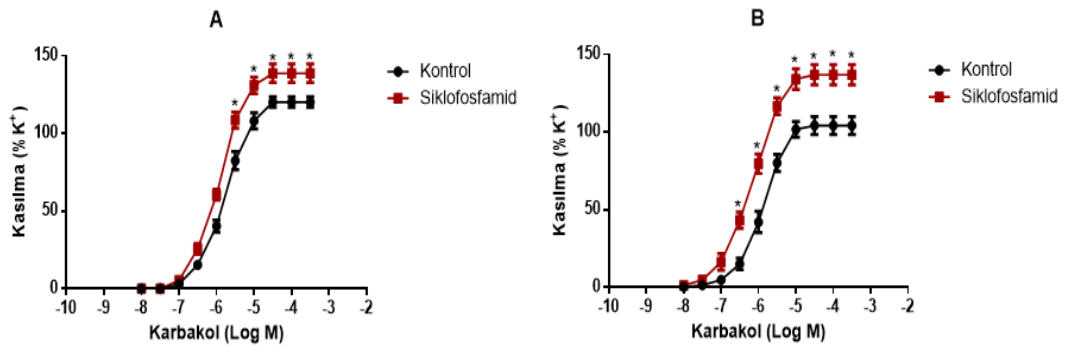
Ürotelyumlu (Şekil 4.1., A) ve ürotelyumu çıkarılmış (Şekil 4.1., B) kontrol grubu ile ürotelyumlu (Şekil 4.1., C) ve ürotelyumu çıkarılan (Şekil 4.1.D) sistit grubu farelerin mesane detrusor düz kasına deney prosedürleri sırasıyla uygulandı. İnkübasyon evresinde organ banyolarına madde ilave edilmedi. Kullandığımız deney prosedüründe, zamana bağımlı olarak kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarının etkilenmediği görüldü (Şekil 4.1.).



**Şekil 4.1.** Ürotelyumlu kontrol grubu (A), ürotelyumu çıkarılmış kontrol grubu (B), ürotelyumlu sistit grubu (C) ve ürotelyumu çıkarılmış sistit grubu (D) fare mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarında zamana bağımlı değişim (n=5).

#### 4.2. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtları

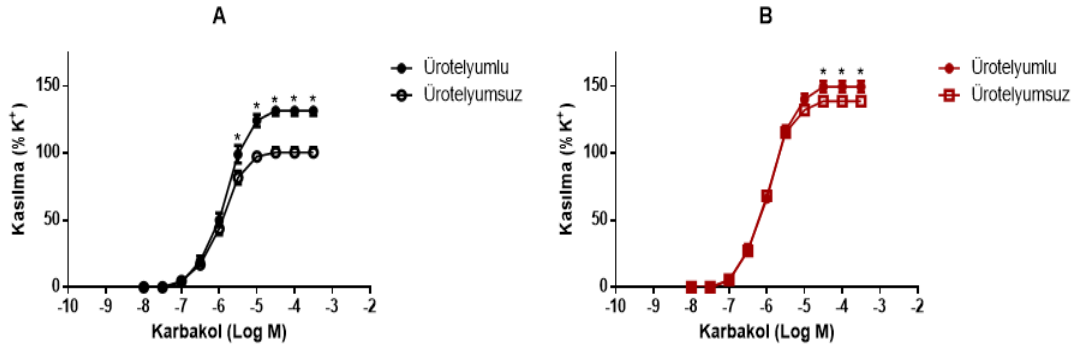
Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarında, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış sistit gruplarında, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.2.).



**Şekil 4.2.** Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen ürotelyumlu (A) ve ürotelyumu çıkarılmış (B) mesane dokularında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları (n=7-11, \* $P < 0,05$  kontrol yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı).

### 4.3. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına Ürotelyumun Etkisi

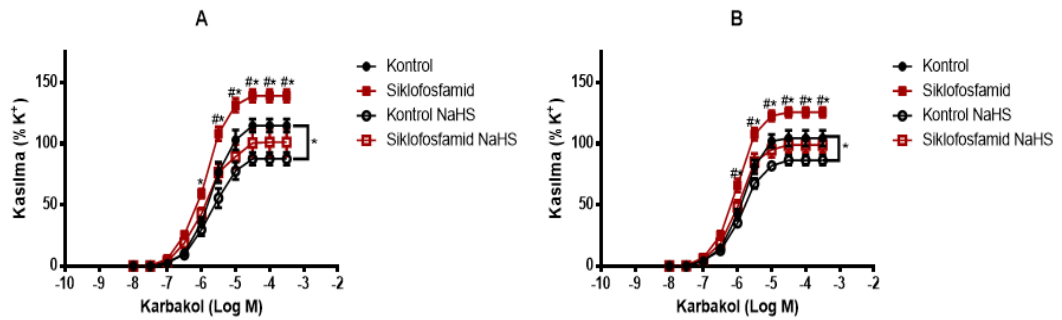
Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30  $\mu$ M) karbakol kasılma yanıtlarında, ürotelyumu çıkarılmış dokularda, ürotelyumlu dokulara göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.3.).



**Şekil 4.3.** Kontrol (A) ve sistit grubu (B) farelerden izole edilen ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış detrusor düz kaslarında kümülatif (10 nM – 30  $\mu$ M) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları (n=7, \*P<0,05 ürotelyumlu dokuların yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı).

#### 4.4. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına NaHS İnkübasyonunun Etkisi

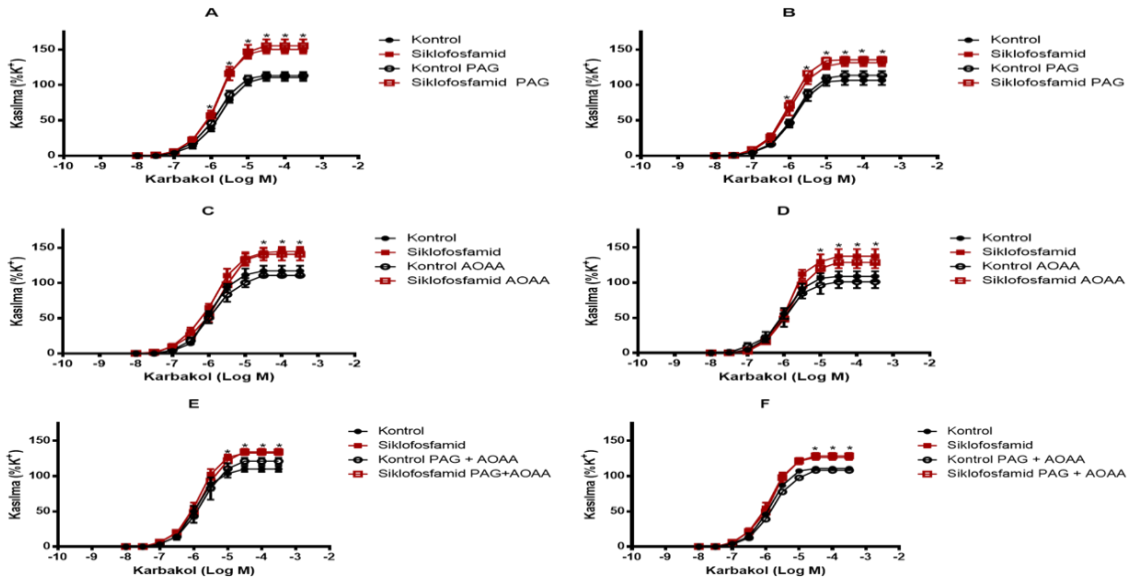
Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kas dokuları H<sub>2</sub>S donörü olan NaHS (300 µM) ile inkübe edilip, ardından kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarını incelenmiştir. NaHS inkübasyonundan sonra kontrol ve sistit grubu farelerde, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış dokularda, kümülatif karbakol kasılma yanıtlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.4.).



**Şekil 4.4.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu (A) ve ürotelyumu çıkarılmış (B) mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına NaHS'nin (300 µM) etkisi (n=6-7, \* $P < 0,05$  kontrol grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı, # $P < 0,05$  Siklofosfamid NaHS yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı).

#### 4.5. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına H<sub>2</sub>S Enzim İnhibitörlerinin Etkisi

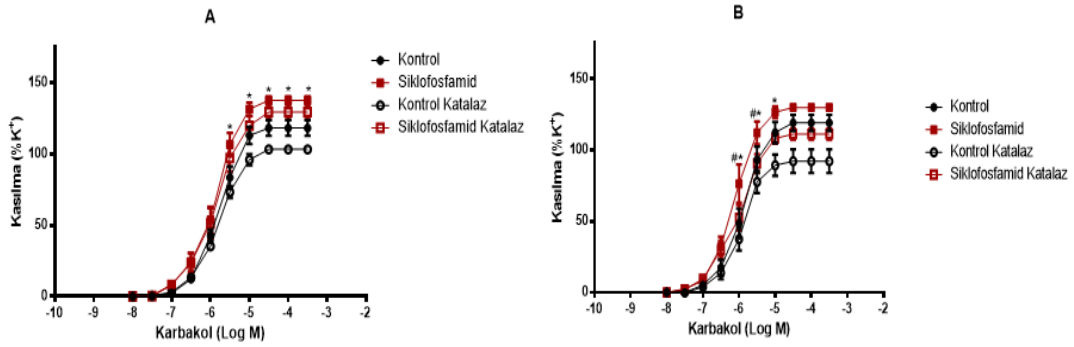
Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kas dokuları bir CSE enzim inhibitörü olan PAG (300 µM) ve bir CBS enzim inhibitörü olan AOAA (1 mM) ile ayrı ayrı ve birlikte olarak inkübe edilip, ardından kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarını incelenmiştir. Hem ürotelyumlu hem de ürotelyumu çıkarılmış dokularda enzim inhibitörleri karbakol kasılma yanıtlarını değiştirmedir (Şekil 4.5.).



**Şekil 4.5.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu (A, C, E) ve ürotelyumu çıkarılmış (B, D, F) mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına sırası ile PAG (A ve B, 300 µM), AOAA (C ve D, 1 mM) ve PAG+AOAA'nın (E ve F, 300 µM ve 1 mM) etkisi (n=4-7, \*P<0,05 kontrol grubu yanıtlarına göre istatistiksel olarak anlamlı).

#### 4.6. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına Katalaz Enziminin Etkisi

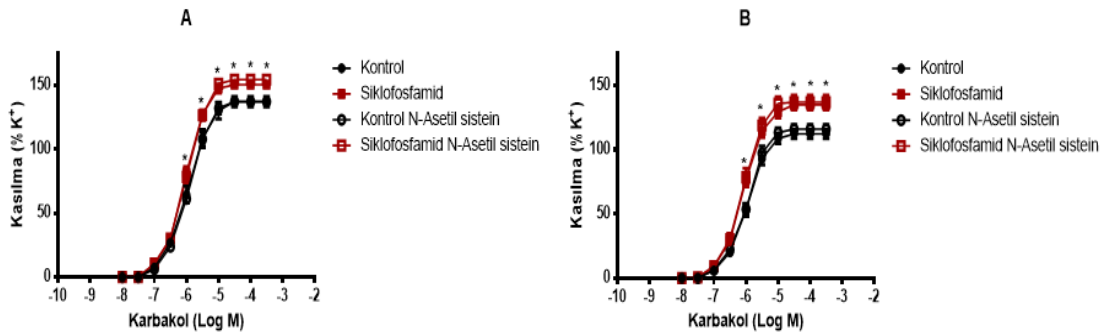
Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kas dokuları  $H_2O_2$  süpürücüsü olan katalaz enzimi (1000 U/mL) ile inkübe edilip, ardından kümülatif (10 nM – 30  $\mu$ M) karbakol kasılma yanıtlarını incelenmiştir. Ürotelyumlu mesane dokularında, hem kontrol hem de sistit grubu farelerde, karbakol kasılma yanıtlarında katalaz enzimi varlığında anlamlı bir fark görülmedi. Ürotelyumu çıkarılmış dokularda ise, sistit grubu farelerde karbakol kasılma yanıtlarında katalaz enzimi varlığında anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 4.6.).



**Şekil 4.6.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu (A) ve ürotelyumu çıkarılmış (B) mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30  $\mu$ M) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına katalazın (1000 U/mL) etkisi (n=5-6, \* $P$ <0,05 kontrol grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı, # $P$ <0,05 Siklofosamid Katalaz yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı).

#### 4.7. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına N-Asetil Sistein'in Etkisi

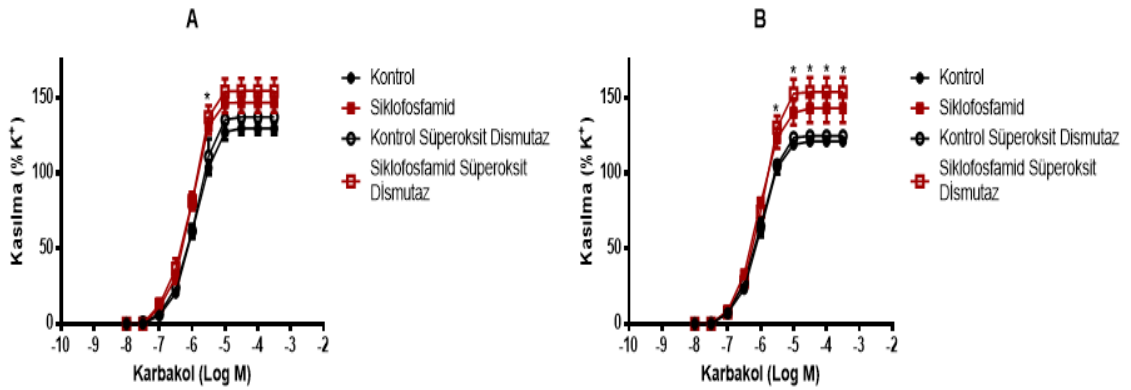
Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kas dokuları hidroksil grubu (OH<sup>-</sup>) radikali süpürücüsü olan NAC (100 µM) ile inkübe edilip, ardından kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarını incelenmiştir. NAC inkübasyonu ile kontrol ve sistit grubu farelerde karbakol kasılma yanıtları değişmedi (Şekil 4.7.).



**Şekil 4.7.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu (A) ve ürotelyumu çıkarılmış (B) mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına NAC'ın (0,1 mM) etkisi (n=6-10, \*P<0,05 kontrol grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı).

#### 4.8. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarına Süperoksit Dismutaz Enziminin Etkisi

Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kas dokuları  $O_2^-$  radikali süpürücüsü olan SOD enzimi ( $150 \mu\text{mL}$ ) ile inkübe edilip, ardından kümülatif ( $10 \text{ nM} - 30 \mu\text{M}$ ) karbakol kasılma yanıtlarını incelenmiştir. SOD inkübasyonu ile kontrol ve sistit grubu farelerde karbakol kasılma yanıtları değişmedi (Şekil 4.8.).



**Şekil 4.8.** Kontrol ve sistit oluşturulmuş farelerden izole edilen ürotelyumlu (A) ve ürotelyumu çıkarılmış (B) mesane detrusor düz kasında kümülatif ( $10 \text{ nM} - 30 \mu\text{M}$ ) karbakol ile elde edilen kasılma yanıtlarına SOD enziminin ( $150 \mu\text{mL}$ ) etkisi ( $n=4,5$ ,  $*P<0,05$  kontrol grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı).



#### **4.9. Kontrol ve Sistit Grubu Fare Mesanelerinde Karbakol ile İndüklenen Maksimum Kasılma Yanıtlarına NaHS ile Birlikte Kullanılan Antioksidanların Etkisi**

Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kas dokuları H<sub>2</sub>S donörü olan NaHS (300 µM) ile birlikte ROS süpürücüleri olan Katalaz (1000 U/mL) veya NAC (0,1 mM) ile inkübe edilip, ardından kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarını incelenmiştir.

Ürotelyumlu detrusor preparatlarında, sistit grubu farelerde, NaHS'nin katalaz ve NAC ile birlikte inkübasyonu sonrasında, maksimum karbakol konsantrasyonu (30 µM) ile indüklenen kasılma yanıtlarında, sadece NaHS inkübe edilen sistit grubu farelere göre anlamlı bir fark elde edilemedi (Tablo 4.1.).

Ürotelyumu çıkarılmış dokularda, sistit grubu farelerde, NaHS'nin katalaz ve NAC ile birlikte inkübasyonu sonrasında, maksimum karbakol konsantrasyonu (30 µM) ile indüklenen kasılma yanıtlarında, sadece NaHS inkübe edilen sistit grubu farelere göre anlamlı bir fark elde edilemedi (Tablo 4.2.).

**Tablo 4.1.** Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen ürotelyumlu mesane dokularında Katalaz, NaHS, NAC ve kombinasyonlarının karbakol (30 µM) ile elde edilen maksimum kasılma ve pD<sub>2</sub> değerleri.

Gruplar		E <sub>MAX</sub>	pD <sub>2</sub>	n
Kontrol		121.36 ± 2.99	5.83 ± 0.03	24
Sistit		141.85 ± 2.07*	5.93 ± 0.02	30
Katalaz	Kontrol	103.4 ± 2.68*	5.79 ± 0.03	5
	Sistit	129.52 ± 5.14	5.87 ± 0.06	6
NaHS	Kontrol	87.78 ± 5.15*	5.72 ± 0.07	6
	Sistit	101.23 ± 11.16 <sup>#</sup>	5.91 ± 0.10	7
Katalaz + NaHS	Kontrol	88.41 ± 7.92*	5.68 ± 0.13	6
	Sistit	115.59 ± 7.98 <sup>#</sup>	5.88 ± 0.06	5
NAC	Kontrol	137.22 ± 4.09	5.93 ± 0.03	6
	Sistit	154.31 ± 2.28	6.01 ± 0.02	7
NAC + NaHS	Kontrol	84.29 ± 4.17*	5.95 ± 0.04	6
	Sistit	114.24 ± 7.60 <sup>#</sup>	6.02 ± 0.07	5

\*P<0,05 kontrol grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı, <sup>#</sup>P<0,05 sistit grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı.

**Tablo 4.2.** Kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen ürotelyumu çıkarılmış mesane dokularında Katalaz, NaHS, NAC ve kombinasyonlarının karbakol (30 µM) ile elde edilen maksimum kasılma ve pD<sub>2</sub> değerleri.

Gruplar		E <sub>MAX</sub>	pD <sub>2</sub>	n
Kontrol		111.36 ± 2.63	5.93 ± 0.02	25
Sistit		130.15 ± 1.91*	6.05 ± 0.02	31
Katalaz	Kontrol	92.22 ± 8.2*	5.91 ± 0.07	5
	Sistit	111.31 ± 4.03 <sup>#</sup>	6.01 ± 0.06	5
NaHS	Kontrol	86.58 ± 4.04*	5.89 ± 0.04	6
	Sistit	99.06 ± 6.03 <sup>#</sup>	6.00 ± 0.06	7
Katalaz + NaHS	Kontrol	92.41 ± 3.67*	6.01 ± 0.06	5
	Sistit	95.35 ± 10.21 <sup>#</sup>	6.03 ± 0.10	5
NAC	Kontrol	115.98 ± 3.84	5.98 ± 0.04	8
	Sistit	137.04 ± 5.34	6.09 ± 0.04	10
NAC + NaHS	Kontrol	63.09 ± 2.92*	6.10 ± 0.03	4
	Sistit	92.16 ± 10.93 <sup>#</sup>	6.05 ± 0.10	4

\*P<0,05 kontrol grubu yanıtına göre istatistiksel olarak anlamlı, <sup>#</sup>P<0,05 sistit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı.

## 5. TARTIŞMA

İS veya aşırı aktif mesane sendromu, pelvik ağrı, rahatsızlık hissi ve idrara çıkma sıklığında artışın yanı sıra, mesanede gelişen inflamasyon ile karakterize kronik bir durumdur ve mesane detrusor düz kasının kasılma fonksiyonunu değiştirebilmektedir (51). CYP ile oluşturulan deneysel sistit modellerinde detrusor düz kasının karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarının değiştiği bilinmektedir. Ancak bu değişimin altında yatan mekanizmalar henüz aydınlatılmamıştır. Bu tez çalışmasında CYP ile indüklenen sistitli farelerin mesaneleri incelenmiştir. Şekil 4.2.'de görülebileceği üzere, kontrol ve sistit grubu farelerden izole edilen mesane detrusor düz kasında kümülatif (10 nM – 30 µM) karbakol kasılma yanıtlarında, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış sistit gruplarında, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlenmektedir. Bu bulgu, laboratuvarımızda daha önce farklı türlerde kimyasal permeabilizasyon ile hücre membranı soyulmuş ve böylece sadece detrusor düz kası içeren preparatlarda yaptığımız deneylerde karbakol, sfingosin-1-fosfat ve tripsin kasılmaları ile elde ettiğimiz sonuçlarımız ile paraleldir (61, 62, 112).

Mesane ürotelyumunun, detrusor düz kasının kasılabilirliğini etkilediği bilinmektedir ancak bu etkinin yolağı henüz net olarak belirlenmemiştir. Ürotelyumun mesane düz kasındaki inhibitör etkisi, ilk olarak kobay mesanesinin detrusor düz kasında gösterilmiş ve P maddesi ile mesane kasılması indüklendiğinde, ürotelyumu tahrip edilen dokularda, sağlam dokulara kıyasla daha fazla kasılma yanıtı elde edilmiştir (113). Ürotelyumun düz kas üzerindeki bu inhibitör etkisi, kemirgenler, domuz, kedi, köpek ve insan mesanelerinde de gösterilmiştir (114-118). Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz bulgularda, dişi Swiss albino fare mesanesinde, ürotelyumu çıkarılmış dokularda, ürotelyumlu dokulara kıyasla karbakol kasılma yanıtlarının azaldığı gösterilmiştir. Bu sonuç bir önce bahsedilen çalışmalara ters yöndedir. 2000 yılında yapılan bir başka araştırmada ise, domuz mesanesinde, ürotelyumlu kas şeritlerinde, ürotelyumu çıkarılmış kas şeritlerine göre karbakol kasılma yanıtlarında bir azalma gösterilmiştir (37). Araştırmacılar, karbakol kasılma

yanıtlarındaki azalmanın, ürotelyumdan salıverilen bir maddeden kaynaklandığını ve bu inhibisyonun, mesane düz kasını direkt olarak gevşetici etkiden ziyade, kasılmasını engellediğini öne sürmüşlerdir. Ancak bu inhibitör etki, KCl veya nörokinin A ile ilişkili bulunmamıştır (37). Ürotelyumdan salıverilen bu inhibitör etki, köpek mesanesinde nörokinin A'ya (114), kedi mesanesinde ATP, KCl ve sinir stimülasyonuna (119), fare mesanesinde KCl'ye (120) ve insan mesanesinde KCl ve sinir stimülasyonuna yanıt olarak gözlenmiştir (121). Ürotelyumdaki inhibitör faktörün salıverilmesi, uyarım için gerekli olan mediyatöre ve deney hayvanı türüne bağlı olarak değişmektedir. Örneğin; sıçan mesanesinde türe özgü olarak UDIF ile ilgili bir tartışma vardır. Bazı çalışmalar, ürotelyumun, sıçan mesanesi kasılmalarında inhibe edici bir etkiye sahip olmadığını gösterirken (122); başka bir çalışmada ise sıçan mesanesinde ürotelyum çıkarıldığında inhibe edici bir etki göstermiştir (123). İnsan mesane düz kası, KCl veya karbakol ile önceden kasıldığında, ürotelyumun varlığı bu kasılmalar üzerinde inhibitör etki gösterirken (124); aynı araştırmacılar fare mesane düz kasında, ürotelyumun karbakol ile indüklenen kasılmalar üzerinde bir etkisini gözlemlememiştir (125). Mesane, nöronal kökenli olmayan spontan kasılmalar sergiler ve ürotelyumun, mesane kasılması üzerindeki inhibe edici etkisine zıt olarak, ürotelyum dokusu bu spontan kasılmaları modüle edebilir (126). Yapılan bir çalışmada, dişi Swiss albino fare mesane dokusunda, karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında ürotelyumu çıkarılan dokular, ürotelyumlu dokulara kıyasla daha düşük kasılabilirlik göstermiştir (126). Ek olarak, kobay ve sıçan mesane detrusor preparatlarında, ürotelyumu çıkarılan dokularda, ürotelyumlu dokulara kıyasla mesanenin spontan kasılmalarında önemli ölçüde azalma gözlenmiştir (127, 128). Yine, kobay mesanesinde, 50  $\mu$ M karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında, karbakolün ürotelyumdan ATP salıverilmesini indüklediğini, ATP'nin ise  $P_2X$  reseptörleri üzerinden mesane düz kasının spontan kasılmalarını arttırdığı da gösterilmiştir (129). Ürotelyumun bu etkisi, daha önce bahsettiğimiz inhibe edici etkisine zıttır. Bu da bize, dişi Swiss albino fare mesanesinde elde ettiğimiz deney bulgularımızın ürotelyumun inhibe edici etkisinin değil, nöronal kökenli olmayan ve mesanenin spontan kasılmalarını düzenleyen faktörleri etkileyecek şekilde bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ürotelyumun etkisinin

kullanılan deney hayvanı türü, deney koşulları, uygulanan agonist madde ve mesanenin patolojik durumu gibi birçok faktörden etkilendiği düşünülmektedir. Sonuç olarak, ürotelyum mesane hacmi, nörotransmitterler, sıcaklık ve çeşitli kimyasallardaki değişiklikler için bir sensör görevi görür. Buna karşılık, düz kas aktivitesini etkiler, birçok uyarana karşı kas kasılmasını inhibe ederken, aynı zamanda detrusor düz kasının kasılma fonksiyonuna yardımcı da olur.

H<sub>2</sub>S nöroprotektif ve kardiyoprotektif etkiler göstermekte, oksidatif stresi azaltmakta, ayrıca vasküler tonusu da azaltmaktadır (80, 130, 131). Sıçan mesane detrusor kasında H<sub>2</sub>S'in konsantrasyona bağımlı kasılma yaptığı ve bu etkiyi kapsaisine duyarlı primer afferent sinirleri stimüle ederek gerçekleştirdiği öne sürülmüştür (86, 132). Fare mesanesinde CYP ile oluşturulan akut sistit modelinin kullanıldığı bir çalışmada ise, H<sub>2</sub>S donörleri diallil sülfür (DAS) ile diallil disülfürün (DADS) ile tedavinin CYP'nin neden olduğu ürotoksik etkileri önlediği morfolojik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir (133). NaHS veya L-sistein'in, sıçan ve insan mesane düz kasını, konsantrasyona bağlı bir şekilde gevşettiği, bu gevşemenin ise K<sub>ATP</sub> kanallarını aktive ederek gerçekleştirdiği bilinmektedir (84). Ek olarak domuz üreterinde ve mesane boynunda H<sub>2</sub>S'nin, K<sub>ATP</sub> kanallarını aktive ederek duyuşal nöropeptitlerin saliverilmesini modüle ettiği, bunun sonucunda üreter ve mesane boynunda gevşemeyi indüklediği de öne sürülmüştür (85). Literatürdeki bulgulara paralel olarak, elde ettiğimiz sonuçlarda H<sub>2</sub>S donörü olan NaHS'nin, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılan mesane dokularında, karbakol ile indüklenen kasılmaları anlamlı bir şekilde sırasıyla yaklaşık olarak % 22 ve % 25 oranında inhibe ettiğini gözlemledik. Çelişkili olarak, H<sub>2</sub>S'nin kobaylarda sinir uçlarından nöronal Ach saliverilmesini arttırdığı, bunun sonucunda büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanallarını (BK<sub>Ca</sub>) inhibe ederek membran depolarizasyonuna neden olduğu ve detrusoru kasıcı etkisi de gösterilmiştir (87).

H<sub>2</sub>S, bazı memelilerin mesanesinde endojen olarak üretilebilir ve üretiminden sorumlu olarak CBS, CSE ve 3-MST enzimleri eksprese edilir (84). İnsanda ürotelyumda L-sistein H<sub>2</sub>S'ye dönüşür ve detrusor kası üzerinde etki göstererek mesane

homeostazına katkıda bulunabilir (134). İnsan mesanenesinde ürotelyumlu dokuda, karbakol ile indüklenen kasılmaların, H<sub>2</sub>S sentez enzimlerinin inhibisyonu ile arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada, muskarinik reseptörlerin karbakol ile uyarılması sonucu oluşan siklik guanozin monofosfatın (cGMP), Protein kinaz G'yi fosforile ederek H<sub>2</sub>S oluşumunda artışa yol açtığı da gösterilmiştir (135). Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz bulgulara göre, kontrol ve sistit grubu farelerden elde ettiğimiz detrusor dokularını CBS ve CSE enzim inhibitörleri ile inkübe ettiğimizde, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılan dokularda karbakol ile indüklenen kasılmalarda anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi. H<sub>2</sub>S; CBS, CSE ve 3-MST enzimlerinin yanı sıra, sistein ile homosistein arasında gerçekleşen bir kondenzasyon yolu ile de üretilebilir (136). Farelerde genel olarak CSE enzimi aktif olarak rol alsa da, 3-MST'nin varlığı da yapılan bazı çalışmalara göre göz ardı edilmemelidir (130). Bulgularımız, CBS ve CSE inhibisyonuna rağmen, 3-MST üzerinden veya homosistein yolu ile de H<sub>2</sub>S üretiminin olabileceğini bize düşündürmektedir.

H<sub>2</sub>S'nin antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu sayede kalbi kanser ilaçlarının yol açtığı toksik etkilerden koruduğu bilinmektedir (137). Yine kanser ilaçları ile yapılan bir çalışmada, diallil trisülfitin (DATS; sarımsakta bulunan bir H<sub>2</sub>S donörü) sıçan karaciğer hepatositlerini CYP'nin toksik etkilerine karşı koruduğu gösterilmiştir (138). Ayrıca, DATS'ın farede geliştirilen melanoma modelinde tümör büyümesini inhibe ettiği de belirlenmiştir (139). Dolayısı ile H<sub>2</sub>S, CYP'nin mesanede yol açtığı toksik etkiler olan hemorajiler, kasılma bozuklukları ve fonksiyonel kayıpları engellemede yararlı olabilir. Daha önce yaptığımız bir çalışmada, H<sub>2</sub>S'nin permeabilize kobay tenia çekumunda karbakol kasılmasını azalttığını ve bu etkiden hücre içi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumu ile Ca<sup>+2</sup> deposu olan mitokondrinin sorumlu olduğunu gösterdik (140). Mitokondri, ATP üretimi sırasında yan ürün olarak ROS üretir. Mitokondriyal kaynaklı ROS, pulmoner arter vazokonstriksiyonu ve serebral arter vazodilatasyonu gibi vazomotor tonusun düzenlenmesinde veya hipoksida yanıtta rol oynamaktadır (141). ROS aynı zamanda, düz kas hücrelerinde hücre büyümesi, hücre göçü, inflamatuvar sitokinlerin salgılanması, hücre farklılaşması ve apoptoz gibi birçok fizyolojik veya patofizyolojik süreçlerde de yer alır (142). Bu etkilerden sorumlu ROS arasında O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve OH<sup>-</sup>;

antioksidan sistemler olarak da SOD ve katalaz enzimleri yer alır (143). Sistit gibi idrar yolu enfeksiyonları, oksidatif hasara neden olur ve lipid peroksidasyon seviyelerini artırarak kan ve idrarda antioksidan enzim aktivitelerinde inhibisyona yol açar (144). Sistit patogenezinde oksidan hasar, inflamatuvar süreç sırasında görülen nötrofiller ve monositlerin serbest radikaller ve ROS üretmesi ile başlar (145). Fare mesanesinde, *E.coli* ile oluşturulan sistit modelinde ödem, lökosit infiltrasyonu ve hemorajinin önemli ölçüde arttığı ve proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (146).

Katalaz, hücreleri oksidatif stresten koruyan önemli bir ROS süpürücüsüdür ve  $H_2O_2$ 'nin parçalanmasını katalizler. Şekil 4.6.'da görülebileceği gibi, sistit grubu farelerde, ürotelyumlu mesane dokusunda, katalaz inkübasyonu sonrasında karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark gözlenmezken; ürotelyumu çıkarılan mesane dokularında karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak bir azalma gözlenmiştir. Başka bir çalışmada,  $H_2O_2$  inkübasyonunun sıçan detrusor düz kas şeritlerinde kasılmaları arttırdığı ve bunun nedeninin siklooksijenaz ve Rho-kinaz yollarının aktivasyonu olduğu gösterilmiştir (147). Diğer bir araştırmada, sıçan mesane şeritlerinde  $H_2O_2$  inkübasyonunun, küçük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalını ( $SK_{Ca}$ ) inhibe ederek, mesanedeki bazal tonusu ve kasılma şiddetini anlamlı bir şekilde arttırdığı belirlenmiştir (148). Yine, fare mesanesinde ürotelyum hücrelerinden  $H_2O_2$ 'nin üretildiği öne sürülmektedir (143). Ek olarak, erkek Wistar sıçan mesanesinde *E.coli* ile oluşturulan sistit modelinde, kontrol grubu sıçanlarına kıyasla, mesanedeki katalaz ekspresyonunda anlamlı bir inhibisyon gözlenmiştir (149). Dolayısı ile, sistitte antioksidan enzimlerin ekspresyonu azaldığından ve  $H_2O_2$  ekspresyonu arttığından dolayı, dışarıdan katalaz enziminin eklenmesi bu ROS-ROS süpürücü dengesini iyileştiriyor gibi görünmektedir. Fare mesanesinde, ürotelyumu çıkarılmış dokuda bu etkinin gözlenip, ürotelyumlu dokuda gözlenmemesinin nedeni, mesanedeki  $H_2O_2$  kaynağının ürotelyum olmasından dolayı kaynaklanıyor olabilir. Daha yüksek konsantrasyonlarda katalaz uygulanması ile, CYP ile oluşturulan sistitte,



ürotelyumlu dokuda da karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarının inhibe edilmesi olasıdır.

NAC,  $\text{OH}^-$  radikallerini direkt süpürücü etkiye sahip bir tiyol bileşiğidir (100). Antioksidan bir madde olan glutasyonun öncüsü olan NAC, klinikte mukolitik, idiyopatik pulmoner akciğer fibrozunda önleyici ve hepatoprotektif ajan olarak kullanılmaktadır (150, 151). Sıçanda ketamin ile oluşturulan sistit modelinde, i.p. olarak NAC enjeksiyonu yapılan sıçanlarda, NAC uygulanmayan gruba kıyasla mesane fibrozunda ve işeme fonksiyonunun iyileşmesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (152, 153). Bunun yanı sıra, sıçanda lipopolisakkarit ile oluşturulan sistit modelinde, i.p. olarak NAC enjeksiyonu yapılan sıçan mesanesinde, NAC uygulanmayan gruba göre mesane inflamasyonu, ürotelyumun bütünlüğü ve işeme fonksiyonunun iyileşmesinde anlamlı bir fark elde edilmiştir (154). Bulgularımıza göre, sistit grubu farelerin mesane dokusunda, kontrol grubu farelerin mesane dokusuna kıyasla karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında NAC inkübasyonu sonucunda anlamlı bir fark elde edilememiştir. Bu bulgumuz literatürdeki çalışmalara ters düşmekte olup, deney koşullarımızın farklılığından dolayı kaynaklanmakta olabilir.

SOD, katalaz gibi endojen olarak sentezlenen bir antioksidandır. Memelilerde SOD'un üç izoformu bulunur ve üçü de  $\text{O}_2^-$  anyonunun  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'ye dismutasyonunu katalizler ve hücreleri oksidatif strese korur (97). Hipertansif sıçan modelinde  $\text{O}_2^-$ , endoteli sağlam olan damarlarda NO ile reaksiyona girerek NO'nun vazodilatasyon etkisini inaktive ederken (155); domuz koroner arterinde ise  $\text{BK}_{\text{Ca}}$  kanallarını aktive ederek vazodilatasyona da katkıda bulunabilir (156). Bu tez çalışmasında, kontrol ve sistit grubu farelerin, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane dokularında, SOD enzimi ile inkübasyon sonrasında karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Halbuki sıçanda yapılan başka bir çalışmada, *E.coli* ile oluşturulan sistit modelinde, katalaz gibi SOD ekspresyonlarında da, sistit ile gelişen bir inhibisyon görülmektedir (149). Başka bir çalışmada da, erkek Wistar sıçan mesanesinde, SOD1'in inhibisyonu sonucu ATP ile indüklenen kasılma yanıtlarında ve karbakol ile indüklenen kasılma yanıtlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir (157).

Bizim bulgularımıza göre, fare mesane detrusorunda karbakol ile indüklenen kasılmalarda, ROS'tan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin fonksiyonel etkileri görülmekte, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve OH<sup>-</sup> ile bir değişim elde edilmemektedir. Dolayısı ile, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve OH<sup>-</sup> anyonlarının, mesane düz kasında fonksiyonel etkilerinden ziyade, inflamatuvar regülatörler olarak rol oynadıkları düşünülebilir.

H<sub>2</sub>S ve ROS'un olası etkileşiminin incelendiği sınırlı sayıda çalışmalardan birinde, Muzaffar ve ark. (110), pulmoner arter endotel hücrelerinde, H<sub>2</sub>S'in O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretimini baskıladığını göstermişlerdir. Başka bir çalışmada ise, hipertansif sıçanlarda, NaHS infüzyonunun O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretimini azalttığı gösterilmiştir (111). H<sub>2</sub>S ve ROS'un olası etkileşiminin düz kas kasılmasına etkilerinin gösterildiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bulgularımıza göre; sistitte artan karbakol kasılma yanıtları ürotelyumlu mesane dokularında katalaz ve NAC varlığında değişmezken; NaHS varlığında bu yanıtlar azalmaktadır. Ürotelyumu çıkarılmış detrusor preparatlarında ise, sistitte artan karbakol kasılma yanıtları NAC varlığında değişmezken; katalaz ve NaHS varlığında azalmaktadır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>S'nin memelilerdeki karmaşık redoks düzenlemelerinde düzenleyici roller oynadığını gösteren çalışmalar vardır (158, 159). Ayrıca; NaHS'nin, katalaz ile ve NAC ile ayrı ayrı olarak kombine inkübasyonu sonucunda sistit grubu farelerde, ürotelyumlu ve ürotelyumu çıkarılmış mesane dokularında, NaHS ile inkübasyonuna kıyasla, karbakol kasılma yanıtlarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

## 6. SONUÇ

H<sub>2</sub>S'nin sistitte detrusor ve/veya ürotelyumu koruyucu ve inflamasyonu azaltıcı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, H<sub>2</sub>S'nin sitoprotektif etkisinin bulunması ROS süpürücü bir etkisinin olabileceğini de düşündürmektedir. Bu nedenlerle, mesane detrusor düz kasında sistit geliştirilmesi ile oluşacak inflamasyon durumunda bozulan kasılabilirliğin H<sub>2</sub>S ve ROS ile ilişkisini incelemek yeni tedavi prensiplerinin geliştirilmesi açısından önemlidir. Bu tez çalışmasındaki bulgularımıza göre, CYP ile indüklenen sistitte fare mesane detrusor düz kasında, karbakol ile elde edilen kasılma yanıtları artmakta, ürotelyum dokusunun çıkarılması ile karbakol kasılmaları azalmakta, ayrıca sistitte artan karbakol yanıtları H<sub>2</sub>S ve katalaz ile inhibe olmaktadır. Dolayısıyla; bu bulgular bize katalaz ve H<sub>2</sub>S'nin sistitte mesane detrusor düz kası kasılmasında rol oynadığını; hem kanser tedavisinde kullanımı yaygın olan CYP'nin olası yan etkisinde, hem de aşırı aktif mesane sendromu gibi hastalıklarda etkili olabileceğini düşündürmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2004;84(3):935-86.
2. Apodaca G. The uroepithelium: not just a passive barrier. *Traffic.* 2004;5(3):117-28.
3. Birder L. Role of the urothelium in bladder function. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2004(215):48-53.
4. Lazzeri M. The physiological function of the urothelium--more than a simple barrier. *Urol Int.* 2006;76(4):289-95.
5. Chahl LA. Hydrogen sulphide: an endogenous stimulant of capsaicin-sensitive primary afferent neurons? *Br J Pharmacol.* 2004;142(1):1-2.
6. Li L, Rossoni G, Sparatore A, Lee LC, Del Soldato P, Moore PK. Anti-inflammatory and gastrointestinal effects of a novel diclofenac derivative. *Free Radic Biol Med.* 2007;42(5):706-19.
7. Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ Res.* 2018;122(6):877-902.
8. Canty TG, Jr., Boyle EM, Jr., Farr A, Morgan EN, Verrier ED, Pohlman TH. Oxidative stress induces NF-kappaB nuclear translocation without degradation of IkappaBalpha. *Circulation.* 1999;100(19 Suppl):Ii361-4.
9. Callahan LA, Nethery D, Stofan D, DiMarco A, Supinski G. Free radical-induced contractile protein dysfunction in endotoxin-induced sepsis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001;24(2):210-7.
10. Aikawa K, Leggett R, Levin RM. Effect of age on hydrogen peroxide mediated contraction damage in the male rat bladder. *J Urol.* 2003;170(5):2082-5.
11. Vahabi B, Drake MJ. Physiological and pathophysiological implications of micromotion activity in urinary bladder function. *Acta Physiol (Oxf).* 2015;213(2):360-70.
12. Lisenmeyer T. Neurogenic bladder following spinal cord injury. *Spinal cord medicine.* 2002:181-206.
13. Zaidi Z. Body Asymmetries: Incidence, Etiology and Clinical Implications. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.* 2011;5:2157-91.
14. Birder LA, Kanai AJ, de Groat WC, Kiss S, Nealen ML, Burke NE, et al. Vanilloid receptor expression suggests a sensory role for urinary bladder epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(23):13396-401.

15. Romih R, Korosec P, de Mello W, Jr., Jezernik K. Differentiation of epithelial cells in the urinary tract. *Cell Tissue Res.* 2005;320(2):259-68.
16. Jafari NV, Rohn JL. The urothelium: a multi-faceted barrier against a harsh environment. *Mucosal Immunol.* 2022;15(6):1127-42.
17. Hicks RM. The mammalian urinary bladder: an accommodating organ. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1975;50(2):215-46.
18. Sun TT. Altered phenotype of cultured urothelial and other stratified epithelial cells: implications for wound healing. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;291(1):F9-21.
19. Parsons CL, Boychuk D, Jones S, Hurst R, Callahan H. Bladder surface glycosaminoglycans: an epithelial permeability barrier. *J Urol.* 1990;143(1):139-42.
20. Birder L, Andersson KE. Urothelial signaling. *Physiol Rev.* 2013;93(2):653-80.
21. Candenas L, Lecci A, Pinto FM, Patak E, Maggi CA, Pennefather JN. Tachykinins and tachykinin receptors: effects in the genitourinary tract. *Life Sci.* 2005;76(8):835-62.
22. Chopra B, Barrick SR, Meyers S, Beckel JM, Zeidel ML, Ford AP, et al. Expression and function of bradykinin B1 and B2 receptors in normal and inflamed rat urinary bladder urothelium. *J Physiol.* 2005;562(Pt 3):859-71.
23. Lee HY, Bardini M, Burnstock G. Distribution of P2X receptors in the urinary bladder and the ureter of the rat. *J Urol.* 2000;163(6):2002-7.
24. Limberg BJ, Andersson KE, Aura Kullmann F, Burmer G, de Groat WC, Rosenbaum JS.  $\beta$ -Adrenergic receptor subtype expression in myocyte and non-myocyte cells in human female bladder. *Cell Tissue Res.* 2010;342(2):295-306.
25. Beckel JM, Birder LA. Differential expression and function of nicotinic acetylcholine receptors in the urinary bladder epithelium of the rat. *J Physiol.* 2012;590(6):1465-80.
26. Dattilio A, Vizzard MA. Up-regulation of protease activated receptors in bladder after cyclophosphamide induced cystitis and colocalization with capsaicin receptor (VR1) in bladder nerve fibers. *J Urol.* 2005;173(2):635-9.
27. Smith PR, Mackler SA, Weiser PC, Brooker DR, Ahn YJ, Harte BJ, et al. Expression and localization of epithelial sodium channel in mammalian urinary bladder. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* 1998;274(1):F91-F6.
28. Gevaert T, Vriens J, Segal A, Everaerts W, Roskams T, Talavera K, et al. Deletion of the transient receptor potential cation channel TRPV4 impairs murine bladder voiding. *J Clin Invest.* 2007;117(11):3453-62.

29. Stein RJ, Santos S, Nagatomi J, Hayashi Y, Minnery BS, Xavier M, et al. Cool (TRPM8) and hot (TRPV1) receptors in the bladder and male genital tract. *J Urol*. 2004;172(3):1175-8.
30. Kullmann FA, Shah MA, Birder LA, Groat WCd. Functional TRP and ASIC-like channels in cultured urothelial cells from the rat. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2009;296(4):F892-F901.
31. Mochizuki T, Sokabe T, Araki I, Fujishita K, Shibasaki K, Uchida K, et al. The TRPV4 cation channel mediates stretch-evoked Ca<sup>2+</sup> influx and ATP release in primary urothelial cell cultures. *J Biol Chem*. 2009;284(32):21257-64.
32. Yamada T, Ugawa S, Ueda T, Ishida Y, Kajita K, Shimada S. Differential localizations of the transient receptor potential channels TRPV4 and TRPV1 in the mouse urinary bladder. *J Histochem Cytochem*. 2009;57(3):277-87.
33. Ferguson DR, Kennedy I, Burton TJ. ATP is released from rabbit urinary bladder epithelial cells by hydrostatic pressure changes--a possible sensory mechanism? *J Physiol*. 1997;505 ( Pt 2)(Pt 2):503-11.
34. Birder LA, Apodaca G, De Groat WC, Kanai AJ. Adrenergic- and capsaicin-evoked nitric oxide release from urothelium and afferent nerves in urinary bladder. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 1998;275(2):F226-F9.
35. Burnstock G. Purine-mediated signalling in pain and visceral perception. *Trends Pharmacol Sci*. 2001;22(4):182-8.
36. Chess-Williams R. Potential therapeutic targets for the treatment of detrusor overactivity. *Expert Opin Ther Targets*. 2004;8(2):95-106.
37. Hawthorn MH, Chapple CR, Cock M, Chess-Williams R. Urothelium-derived inhibitory factor(s) influences on detrusor muscle contractility in vitro. *Br J Pharmacol*. 2000;129(3):416-9.
38. Mansfield KJ, Liu L, Mitchelson FJ, Moore KH, Millard RJ, Burcher E. Muscarinic receptor subtypes in human bladder detrusor and mucosa, studied by radioligand binding and quantitative competitive RT-PCR: changes in ageing. *Br J Pharmacol*. 2005;144(8):1089-99.
39. Bschleipfer T, Schukowski K, Weidner W, Grando SA, Schwantes U, Kummer W, et al. Expression and distribution of cholinergic receptors in the human urothelium. *Life Sci*. 2007;80(24-25):2303-7.
40. Arrighi N, Bodei S, Peroni A, Mirabella G, Zani D, Simeone C, et al. Detection of muscarinic receptor subtypes in human urinary bladder mucosa: age and gender-dependent modifications. *Neurourol Urodyn*. 2008;27(5):421-8.
41. Gupta GN, Lu SG, Gold MS, Chai TC. Bladder urothelial cells from patients with interstitial cystitis have an increased sensitivity to carbachol. *Neurourol Urodyn*. 2009;28(8):1022-7.

42. Moro C, Uchiyama J, Chess-Williams R. Urothelial/lamina propria spontaneous activity and the role of M3 muscarinic receptors in mediating rate responses to stretch and carbachol. *Urology*. 2011;78(6):1442.e9-15.
43. Tyagi S, Tyagi P, Van-le S, Yoshimura N, Chancellor MB, de Miguel F. Qualitative and quantitative expression profile of muscarinic receptors in human urothelium and detrusor. *J Urol*. 2006;176(4 Pt 1):1673-8.
44. Zarghooni S, Wunsch J, Bodenbenner M, Brüggmann D, Grando SA, Schwantes U, et al. Expression of muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors in the mouse urothelium. *Life Sci*. 2007;80(24-25):2308-13.
45. Guan NN, Gustafsson LE, Svennersten K. Inhibitory Effects of Urothelium-related Factors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2017;121(4):220-4.
46. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Mitidieri E, Esposito D, Donnarumm E, Russo A, Fusco F, et al. Human Cystathionine- $\beta$ -Synthase Phosphorylation on Serine227 Modulates Hydrogen Sulfide Production in Human Urothelium. *PLOS ONE*. 2015;10(9):e0136859.
47. Yoshida M, Inadome A, Maeda Y, Satoji Y, Masunaga K, Sugiyama Y, et al. Non-neuronal cholinergic system in human bladder urothelium. *Urology*. 2006;67(2):425-30.
48. Burnstock G. Purinergic signalling in the urinary tract in health and disease. *Purinergic Signal*. 2014;10(1):103-55.
49. Cheng Y, Mansfield KJ, Allen W, Chess-Williams R, Burcher E, Moore KH. ATP during early bladder stretch is important for urgency in detrusor overactivity patients. *Biomed Res Int*. 2014;2014:204604.
50. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*. 2003;61(1):37-49.
51. HANNO PM. Painful bladder syndrome/interstitial cystitis and related disorders. *Campbell-Walsh Urology*. 2007:330-70.
52. Offiah I, McMahan SB, O'Reilly BA. Interstitial cystitis/bladder pain syndrome: diagnosis and management. *Int Urogynecol J*. 2013;24(8):1243-56.
53. Propert KJ, Schaeffer AJ, Brensinger CM, Kusek JW, Nyberg LM, Landis JR. A prospective study of interstitial cystitis: results of longitudinal followup of the interstitial cystitis data base cohort. The Interstitial Cystitis Data Base Study Group. *J Urol*. 2000;163(5):1434-9.
54. Bjorling DE, Wang ZY, Bushman W. Models of inflammation of the lower urinary tract. *Neurourol Urodyn*. 2011;30(5):673-82.

55. Martens JG, McConnell S, Swanson CL. The role of infectious agents in naturally occurring feline urologic syndrome. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1984;14(3):503-11.
56. Pan XQ, Gonzalez JA, Chang S, Chacko S, Wein AJ, Malykhina AP. Experimental colitis triggers the release of substance P and calcitonin gene-related peptide in the urinary bladder via TRPV1 signaling pathways. *Exp Neurol.* 2010;225(2):262-73.
57. Saban R, Christensen M, Keith I, Graziano FM, Udem BJ, Aagaard J, et al. Experimental model for the study of bladder mast cell degranulation and smooth muscle contraction. *Semin Urol.* 1991;9(2):88-101.
58. Jasmin L, Janni G, Manz HJ, Rabkin SD. Activation of CNS circuits producing a neurogenic cystitis: evidence for centrally induced peripheral inflammation. *J Neurosci.* 1998;18(23):10016-29.
59. Luber-Narod J, Austin-Ritchie T, Banner B, Hollins C, 3rd, Maramag C, Price H, et al. Experimental autoimmune cystitis in the Lewis rat: a potential animal model for interstitial cystitis. *Urol Res.* 1996;24(6):367-73.
60. Golubeva AV, Zhdanov AV, Mallel G, Dinan TG, Cryan JF. The mouse cyclophosphamide model of bladder pain syndrome: tissue characterization, immune profiling, and relationship to metabotropic glutamate receptors. *Physiol Rep.* 2014;2(3):e00260.
61. Anjum I, Denizalti M, Kandilci HB, Durlu-Kandilci NT, Sahin-Erdemli I. Enhancement of S1P-induced contractile response in detrusor smooth muscle of rats having cystitis. *Eur J Pharmacol.* 2017;814:343-51.
62. Denizalti M, Durlu-Kandilci NT, Simsek G, Bozkurt TE, Sahin-Erdemli I. Rho Kinase and Protein Kinase C Pathways are Responsible for Enhanced Carbachol Contraction in Permeabilized Detrusor in a Rat Model of Cystitis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2018;123(5):567-76.
63. Cox PJ. Cyclophosphamide cystitis--identification of acrolein as the causative agent. *Biochem Pharmacol.* 1979;28(13):2045-9.
64. Moghe A, Ghare S, Lamoreau B, Mohammad M, Barve S, McClain C, et al. Molecular mechanisms of acrolein toxicity: relevance to human disease. *Toxicol Sci.* 2015;143(2):242-55.
65. Tudrej KB, Piecha T, Kozłowska-Wojciechowska M. Role of NLRP3 inflammasome in the development of bladder pain syndrome interstitial cystitis. *Ther Adv Urol.* 2019;11:1756287218818030.
66. Lee WC, Wu CC, Chuang YC, Tain YL, Chiang PH. Ba-Wei-Die-Huang-Wan (Hachimi-jio-gan) can ameliorate cyclophosphamide-induced ongoing bladder overactivity and acidic adenosine triphosphate solution-induced hyperactivity on rats prestimulated bladder. *J Ethnopharmacol.* 2016;184:1-9.



67. Wang R, Hong M, Huang J, Zhou N, Zhang Y, Xu S, et al. Low-Dose Cyclophosphamide Induces Nerve Injury and Functional Overactivity in the Urinary Bladder of Rats. *Front Neurosci.* 2021;15:715492.
68. Sui G, Fry CH, Malone-Lee J, Wu C. Aberrant Ca<sup>2+</sup> oscillations in smooth muscle cells from overactive human bladders. *Cell Calcium.* 2009;45(5):456-64.
69. Kolluru GK, Shen X, Bir SC, Kevil CG. Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. *Nitric Oxide.* 2013;35:5-20.
70. Searcy DG, Lee SH. Sulfur reduction by human erythrocytes. *J Exp Zool.* 1998;282(3):310-22.
71. Wang Q, Liu HR, Mu Q, Rose P, Zhu YZ. S-propargyl-cysteine protects both adult rat hearts and neonatal cardiomyocytes from ischemia/hypoxia injury: the contribution of the hydrogen sulfide-mediated pathway. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009;54(2):139-46.
72. Donnarumma E, Trivedi RK, Lefer DJ. Protective Actions of H<sub>2</sub>S in Acute Myocardial Infarction and Heart Failure. *Compr Physiol.* 2017;7(2):583-602.
73. Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci.* 1996;16(3):1066-71.
74. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *Embo j.* 2001;20(21):6008-16.
75. Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, et al. H<sub>2</sub>S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science.* 2008;322(5901):587-90.
76. Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J Biochem.* 2009;146(5):623-6.
77. Chen WL, Niu YY, Jiang WZ, Tang HL, Zhang C, Xia QM, et al. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide and the underlying signaling pathways. *Rev Neurosci.* 2015;26(2):129-42.
78. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;237(3):527-31.
79. Cai WJ, Wang MJ, Moore PK, Jin HM, Yao T, Zhu YC. The novel proangiogenic effect of hydrogen sulfide is dependent on Akt phosphorylation. *Cardiovasc Res.* 2007;76(1):29-40.
80. Papapetropoulos A, Pyriochou A, Altaany Z, Yang G, Marazioti A, Zhou Z, et al. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(51):21972-7.
81. Salloum FN, Chau VQ, Hoke NN, Abbate A, Varma A, Ockaili RA, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial

- ischemia/reperfusion through protein-kinase g-dependent generation of hydrogen sulfide. *Circulation*. 2009;120(11 Suppl):S31-6.
82. Whiteman M, Li L, Rose P, Tan CH, Parkinson DB, Moore PK. The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. *Antioxid Redox Signal*. 2010;12(10):1147-54.
  83. Wallace JL, Dickey M, McKnight W, Martin GR. Hydrogen sulfide enhances ulcer healing in rats. *FASEB J*. 2007;21(14):4070-6.
  84. Gai JW, Wahafu W, Guo H, Liu M, Wang XC, Xiao YX, et al. Further evidence of endogenous hydrogen sulphide as a mediator of relaxation in human and rat bladder. *Asian J Androl*. 2013;15(5):692-6.
  85. Fernandes VS, Ribeiro AS, Martínez MP, Orensanz LM, Barahona MV, Martínez-Sáenz A, et al. Endogenous hydrogen sulfide has a powerful role in inhibitory neurotransmission to the pig bladder neck. *J Urol*. 2013;189(4):1567-73.
  86. Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Maggi CA. Pharmacological investigation of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) contractile activity in rat detrusor muscle. *Eur J Pharmacol*. 2005;509(2-3):171-7.
  87. Fernandes VS, Xin W, Petkov GV. Novel mechanism of hydrogen sulfide-induced guinea pig urinary bladder smooth muscle contraction: role of BK channels and cholinergic neurotransmission. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2015;309(2):C107-16.
  88. Zou S, Shimizu T, Shimizu S, Higashi Y, Nakamura K, Ono H, et al. Possible role of hydrogen sulfide as an endogenous relaxation factor in the rat bladder and prostate. *Neurourol Urodyn*. 2018;37(8):2519-26.
  89. Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, Matsuoka TA. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:453892.
  90. Kovacic P, Jacintho JD. Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr Med Chem*. 2001;8(7):773-96.
  91. Goncharov NV, Avdonin PV, Nadeev AD, Zharkikh IL, Jenkins RO. Reactive oxygen species in pathogenesis of atherosclerosis. *Curr Pharm Des*. 2015;21(9):1134-46.
  92. Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O. Oxidants and antioxidants in atherogenesis. An appraisal. *J Lipid Res*. 1999;40(12):2143-57.
  93. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005;12(10):1161-208.
  94. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40.

95. Chatterjee M, Saluja R, Kanneganti S, Chinta S, Dikshit M. Biochemical and molecular evaluation of neutrophil NOS in spontaneously hypertensive rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2007;53(1):84-93.
96. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
97. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001;54(3):176-86.
98. Ozmen B, Ozmen D, Erkin E, Güner I, Habif S, Bayindir O. Lens superoxide dismutase and catalase activities in diabetic cataract. *Clin Biochem*. 2002;35(1):69-72.
99. Yang H, Roberts LJ, Shi MJ, Zhou LC, Ballard BR, Richardson A, et al. Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E. *Circ Res*. 2004;95(11):1075-81.
100. Lei XG, Zhu J-H, Cheng W-H, Bao Y, Ho Y-S, Reddi AR, et al. Paradoxical Roles of Antioxidant Enzymes: Basic Mechanisms and Health Implications. *Physiological Reviews*. 2016;96(1):307-64.
101. Watson JD. Type 2 diabetes as a redox disease. *The Lancet*. 2014;383(9919):841-3.
102. Weisiger RA, Fridovich I. Mitochondrial superoxide simutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem*. 1973;248(13):4793-6.
103. Liou W, Chang LY, Geuze HJ, Strous GJ, Crapo JD, Slot JW. Distribution of CuZn superoxide dismutase in rat liver. *Free Radic Biol Med*. 1993;14(2):201-7.
104. McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension*. 1999;34(4 Pt 1):539-45.
105. Calvert JW, Elston M, Nicholson CK, Gundewar S, Jha S, Elrod JW, et al. Genetic and pharmacologic hydrogen sulfide therapy attenuates ischemia-induced heart failure in mice. *Circulation*. 2010;122(1):11-9.
106. King AL, Polhemus DJ, Bhushan S, Otsuka H, Kondo K, Nicholson CK, et al. Hydrogen sulfide cytoprotective signaling is endothelial nitric oxide synthase-nitric oxide dependent. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(8):3182-7.
107. Geng B, Chang L, Pan C, Qi Y, Zhao J, Pang Y, et al. Endogenous hydrogen sulfide regulation of myocardial injury induced by isoproterenol. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;318(3):756-63.
108. Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *Faseb j*. 2004;18(10):1165-7.
109. Sun WH, Liu F, Chen Y, Zhu YC. Hydrogen sulfide decreases the levels of ROS by inhibiting mitochondrial complex IV and increasing SOD activities in

- cardiomyocytes under ischemia/reperfusion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;421(2):164-9.
110. Muzaffar S, Jeremy JY, Sparatore A, Del Soldato P, Angelini GD, Shukla N. H<sub>2</sub>S-donating sildenafil (ACS6) inhibits superoxide formation and gp91phox expression in arterial endothelial cells: role of protein kinases A and G. *Br J Pharmacol.* 2008;155(7):984-94.
  111. Yu H, Xu H, Liu X, Zhang N, He A, Yu J, et al. Superoxide Mediates Depressive Effects Induced by Hydrogen Sulfide in Rostral Ventrolateral Medulla of Spontaneously Hypertensive Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:927686.
  112. Denizalti M, Anjum I, Simsek G, Onder SC, Durlu-Kandilci NT. Trypsin-induced elevated contractile responses in a rat model of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: Involvement of PAR2 and intracellular Ca<sup>2+</sup> release pathways. *Life Sci.* 2022;293:120359.
  113. Maggi CA, Santicioli P, Parlani M, Astolfi M, Patacchini R, Meli A. The presence of mucosa reduces the contractile response of the guinea-pig urinary bladder to substance P. *J Pharm Pharmacol.* 1987;39(8):653-5.
  114. Saban R, Keith IM, Nielsen KT, Christensen MM, Rhodes PR, Bruskewitz RC. In vitro effects of bladder mucosa and an enkephalinase inhibitor on tachykinin induced contractility of the dog bladder. *J Urol.* 1992;147(3):750-5.
  115. Sadananda P, Chess-Williams R, Burcher E. Contractile properties of the pig bladder mucosa in response to neurokinin A: a role for myofibroblasts? *Br J Pharmacol.* 2008;153(7):1465-73.
  116. Canda AE, Chapple CR, Chess-Williams R. Pharmacologic responses of the mouse urinary bladder. *Central European Journal of Medicine.* 2009;4(2):192-7.
  117. Propping S, Wuest M, Eichhorn B, Wirth MP, Kaumann AJ, Ravens U. Mucosa of human detrusor impairs contraction and  $\beta$ -adrenoceptor-mediated relaxation. *BJU Int.* 2013;112(8):1215-22.
  118. Guan NN, Nilsson KF, Wiklund PN, Gustafsson LE. Release and inhibitory effects of prostaglandin D<sub>2</sub> in guinea pig urinary bladder and the role of urothelium. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(12):3443-51.
  119. Levin RM, Wein AJ, Krasnopolsky L, Atta MA, Ghoniem GM. Effect of mucosal removal on the response of the feline bladder to pharmacological stimulation. *J Urol.* 1995;153(4):1291-4.
  120. Wuest M, Kaden S, Hakenberg OW, Wirth MP, Ravens U. Effect of rilimakalim on detrusor contraction in the presence and absence of urothelium. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2005;372(3):203-12.
  121. Chaiyaprasithi B, Mang CF, Kilbinger H, Hohenfellner M. Inhibition of human detrusor contraction by a urothelium derived factor. *J Urol.* 2003;170(5):1897-900.

122. Pinna C, Caratozzolo O, Puglisi L. A possible role for urinary bladder epithelium in bradykinin-induced contraction in diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 1992;214(2-3):143-8.
123. Munoz A, Gangitano DA, Smith CP, Boone TB, Somogyi GT. Removal of urothelium affects bladder contractility and release of ATP but not release of NO in rat urinary bladder. *BMC Urol.* 2010;10:10.
124. Propping S, Roedel M, Wirth MP, Ravens U. Pharmacological Modulation of Mucosa-Related Impairment of  $\beta$ -Adrenoceptor-Mediated Relaxation in Human Detrusor. *Urol Int.* 2015;95(3):300-8.
125. Propping S, Neue M, Lorenz K, Wirth MP, Ravens U.  $\beta$ -Adrenoceptor-Mediated Relaxation of Carbachol-Pre-Contracted Mouse Detrusor. *Urol Int.* 2015;95(1):92-8.
126. Lyle AN, Griendling KK. Modulation of vascular smooth muscle signaling by reactive oxygen species. *Physiology (Bethesda).* 2006;21:269-80.
127. Kanai A, Roppolo J, Ikeda Y, Zabbarova I, Tai C, Birder L, et al. Origin of spontaneous activity in neonatal and adult rat bladders and its enhancement by stretch and muscarinic agonists. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292(3):F1065-72.
128. Sui GP, Wu C, Roosen A, Ikeda Y, Kanai AJ, Fry CH. Modulation of bladder myofibroblast activity: implications for bladder function. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;295(3):F688-97.
129. Sui G, Fry CH, Montgomery B, Roberts M, Wu R, Wu C. Purinergic and muscarinic modulation of ATP release from the urothelium and its paracrine actions. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;306(3):F286-98.
130. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2007;6(11):917-35.
131. Whiteman M, Moore PK. Hydrogen sulfide and the vasculature: a novel vasculoprotective entity and regulator of nitric oxide bioavailability? *J Cell Mol Med.* 2009;13(3):488-507.
132. Patacchini R, Santicoli P, Giuliani S, Maggi CA. Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol.* 2004;142(1):31-4.
133. Manesh C, Kuttan G. Alleviation of cyclophosphamide-induced urotoxicity by naturally occurring sulphur compounds. *J Exp Clin Cancer Res.* 2002;21(4):509-17.
134. Fusco F, di Villa Bianca R, Mitidieri E, Cirino G, Sorrentino R, Mirone V. Sildenafil effect on the human bladder involves the L-cysteine/hydrogen sulfide pathway: a novel mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibitors. *Eur Urol.* 2012;62(6):1174-80.

135. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Mitidieri E, Fusco F, Russo A, Pagliara V, Tramontano T, et al. Urothelium muscarinic activation phosphorylates CBS<sup>Ser227</sup> via cGMP/PKG pathway causing human bladder relaxation through H<sub>2</sub>S production. *Scientific Reports*. 2016;6(1):31491.
136. Singh S, Padovani D, Leslie RA, Chiku T, Banerjee R. Relative contributions of cystathionine beta-synthase and gamma-cystathionase to H<sub>2</sub>S biogenesis via alternative trans-sulfuration reactions. *J Biol Chem*. 2009;284(33):22457-66.
137. Barr LA, Calvert JW. Discoveries of hydrogen sulfide as a novel cardiovascular therapeutic. *Circ J*. 2014;78(9):2111-8.
138. Deng DJ, Mueller K, Kasper P, Mueller L. Effect of diallyl trisulfide on induction of UDS by mutagenic drugs in primary rat hepatocytes. *Biomed Environ Sci*. 1994;7(1):85-90.
139. Panza E, De Cicco P, Armogida C, Scognamiglio G, Gigantino V, Botti G, et al. Role of the cystathionine  $\gamma$  lyase/hydrogen sulfide pathway in human melanoma progression. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2015;28(1):61-72.
140. Denizalti M, Durlu-Kandilci NT, Bozkurt TE, Sahin-Erdemli I. Hydrogen sulphide inhibits carbachol-induced contractile responses in  $\beta$ -escin permeabilized guinea-pig taenia caecum. *Eur J Pharmacol*. 2011;658(2-3):229-35.
141. Schumacker PT. Current paradigms in cellular oxygen sensing. *Adv Exp Med Biol*. 2003;543:57-71.
142. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*. 2003;42(6):1075-81.
143. Donkó A, Ruisanchez E, Orient A, Enyedi B, Kapui R, Péterfi Z, et al. Urothelial cells produce hydrogen peroxide through the activation of Duox1. *Free Radic Biol Med*. 2010;49(12):2040-8.
144. Pavlova EL, Lilova MI, Savov VM. Oxidative stress in children with kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2005;20(11):1599-604.
145. Biyikli NK, Tuğtepe H, Sener G, Velioglu-Oğünç A, Cetinel S, Midillioğlu S, et al. Oxytocin alleviates oxidative renal injury in pyelonephritic rats via a neutrophil-dependent mechanism. *Peptides*. 2006;27(9):2249-57.
146. Jerde TJ, Bjorling DE, Steinberg H, Warner T, Saban R. Determination of mouse bladder inflammatory response to *E. coli* lipopolysaccharide. *Urol Res*. 2000;28(4):269-73.
147. Han JH, Lee MY, Lee SY, Chang IH, Kim HJ, Kim W, et al. Effect of low concentrations of hydrogen peroxide on the contractile responses of rat detrusor smooth muscle strips. *Eur J Pharmacol*. 2010;638(1-3):115-20.
148. Wang M, Xing N, Wu L, Huang WC, Xu Z, Liu G. Regulation of Spontaneous Contractions in Intact Rat Bladder Strips and the Effects of Hydrogen Peroxide. *Biomed Res Int*. 2018;2018:2925985.

149. Yıldız N, Alpay H, Tuğtepe H, Özdemir Kumral ZN, Akakin D, İlki A, et al. Intravesical hyaluronic acid treatment improves bacterial cystitis and reduces cystitis-induced hypercontractility in rats. *Int J Urol*. 2015;22(6):598-603.
150. Kerksick C, Willoughby D. The antioxidant role of glutathione and N-acetylcysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *J Int Soc Sports Nutr*. 2005;2(2):38-44.
151. Holdiness MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet*. 1991;20(2):123-34.
152. Kim A, Yu HY, Heo J, Song M, Shin JH, Lim J, et al. Mesenchymal stem cells protect against the tissue fibrosis of ketamine-induced cystitis in rat bladder. *Sci Rep*. 2016;6:30881.
153. Lee SW, Ryu CM, Shin JH, Choi D, Kim A, Yu HY, et al. The Therapeutic Effect of Human Embryonic Stem Cell-Derived Multipotent Mesenchymal Stem Cells on Chemical-Induced Cystitis in Rats. *Int Neurourol J*. 2018;22(Suppl 1):S34-45.
154. Ryu CM, Shin JH, Yu HY, Ju H, Kim S, Lim J, et al. N-acetylcysteine prevents bladder tissue fibrosis in a lipopolysaccharide-induced cystitis rat model. *Sci Rep*. 2019;9(1):8134.
155. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest*. 1996;97(8):1916-23.
156. Barlow RS, White RE. Hydrogen peroxide relaxes porcine coronary arteries by stimulating BKCa channel activity. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1998;275(4):H1283-H9.
157. Khattab MM, Al-Hrasen MN. Contractile activity of ATP and diadenosine tetraphosphate on urinary bladder in the rats: role of superoxide anion and urothelium. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*. 2006;26(2):149-56.
158. Carballal S, Trujillo M, Cuevasanta E, Bartsaghi S, Möller MN, Folkes LK, et al. Reactivity of hydrogen sulfide with peroxynitrite and other oxidants of biological interest. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;50(1):196-205.
159. Velusamy N, Thirumalaivasan N, Bobba KN, Podder A, Wu S-P, Bhuniya S. FRET-based dual channel fluorescent probe for detecting endogenous/exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>S formation through multicolor images. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2019;191:99-106.

## 8. EKLER

## EK 1. Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul Kararı

**6**

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 – 119

**HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI**

<b>TOPLANTI TARİHİ</b>	: 28.09.2021 (SALI)
<b>TOPLANTI SAYISI</b>	: 2021/07
<b>DOSYA KAYIT NUMARASI</b>	: 2021/55
<b>KARAR NUMARASI</b>	: 2021/07- 01
<b>ONAY BİTİŞ TARİHİ</b>	: 28.09.2026
<b>ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ</b>	: Prof. Dr. N. Tuğba KANDILCI
<b>HAYVAN DENEYLERİNDE</b>	: Dr. Öğr. Üyesi Merve DENİZALTI, Prof. Dr. N.
<b>GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR</b>	: Tuğba KANDILCI
<b>DİĞER YARDIMCI</b>	:
<b>ARAŞTIRMACILAR</b>	: Ecz. Ayberk Onur YILMAZ
<b>ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI</b>	: 90 Adet Swiss Albino Fare (8-12 Haftalık)

Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. N. Tuğba KANDILCI'nin araştırma yürütücüsü olduğu 2021/55 kayıt numaralı "*Siklofosamid ile İndüklenmiş Fare Sistir Modelinde Agonist ile İndüklenen Kasılma Yanıtlarındaki Bozulmada Hidrojen Sülfür ile Reaktif Oksijen Türlerinin Rolü ve Etkileşimi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Araştırma yürütücüsü en geç, onay bitiş tarihinden sonraki 1 ay içerisinde proje sonuç raporunu Kurulumuza teslim etmekle yükümlüdür.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı

Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06100 Sıhhiye-Ankara  
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580  
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index\_hdk.php

Ayrıntılı Bilgi için:

Scanned with CamScanner



**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU İMZA SİRKÜLERİ**

**TOPLANTI TARİHİ VE SAATİ** : 28.09.2021 (SALI)  
**TOPLANTI SAATİ** : 14.00  
**TOPLANTI SAYISI** : 2021/07  
**PROJE NUMARASI** : 2021/55  
**KARAR NUMARASI** : 2021/07-01

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ (Başkan)	Prof. Dr. Nüket Örnek BÜKEN (Üye)	Prof. Dr. Aytekin AKYOL (Üye)
Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI (Üye)	(İZİNLİ) Prof. Dr. Abdullah C. AKMAN (Üye)	(İZİNLİ) Prof. Dr. Ersoy KONAŞ (Üye)
Doç. Dr. Meltem TUNCER (Üye)	Doç. Dr. Güray SOYDAN (Üye)	Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR (Üye)
Doç. Dr. Banu Cahide TEL (Üye)	Doç. Dr. M. Alper ÇETİNKAYA (Üye)	Dr. Öğr. Üyesi Esin ÇETİN (Üye)
(İZİNLİ) Mevlüt ÖKSÜZOĞLU (Üye)	H. Serdar ÇAKIROĞLU (Üye)	Avukat Mehmet YALÇIN (Üye)

## EK 2. Tez Çalışması Orijinallik Raporu

SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENMİŞ FARE SİSTİT MODELİNDE  
AGONİST İLE İNDÜKLENEN KASILMA YANITLARINDAKİ  
BOZULMADA HİDROJEN SÜLFÜR İLE REAKTİF OKSİJEN  
TÜREVLERİNİN ROLÜ VE ETKİLEŞİMİ

## ORJİNALLİK RAPORU

% <b>12</b>	% <b>12</b>	% <b>1</b>	% <b>3</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>acikbilim.yok.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>6</b>
<b>2</b>	<b>docs.neu.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>3</b>	<b>www.tfd.org.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	<b>acikerisim.uludag.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>Submitted to TechKnowledge Turkey</b> Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>nek.istanbul.edu.tr:4444</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>Submitted to Çankırı Karatekin University</b> Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>8</b>	<b>docplayer.biz.tr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

9	<a href="http://avesis.hacettepe.edu.tr">avesis.hacettepe.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% 1
10	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
11	<a href="http://acikerisim.karabuk.edu.tr:8080">acikerisim.karabuk.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<% 1
12	<a href="http://www.ftrdergisi.com">www.ftrdergisi.com</a> İnternet Kaynağı	<% 1
13	Yamada, T.. "Functional expression of transient receptor potential vanilloid 3 (TRPV3) in corneal epithelial cells: Involvement in thermosensation and wound healing", <i>Experimental Eye Research</i> , 201001 Yayın	<% 1
14	<a href="http://9lib.net">9lib.net</a> İnternet Kaynağı	<% 1
15	<a href="http://dspace.kocaeli.edu.tr:8080">dspace.kocaeli.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<% 1
16	<a href="http://openaccess.ogu.edu.tr:8080">openaccess.ogu.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<% 1

Alıntıları çıkart üzerinde Eşleşmeleri çıkar < 5 words  
Bibliyografyaya Çıkart üzerinde

### EK 3. Dijital Makbuz



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Ayberk Onur Yılmaz
Odev başlığı:	SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENMİŞ FARE SİSTIT MODELİNDE ...
Gönderi Başlığı:	SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENMİŞ FARE SİSTIT MODELİNDE ...
Dosya adı:	Ayberk_Y_Imaz_YL_Tezi_20.07.23.docx
Dosya boyutu:	973.14K
Sayfa sayısı:	36
Kelime sayısı:	6,586
Karakter sayısı:	45,246
Gönderim Tarihi:	20-Tem-2023 03:19ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2134027521



Copyright © 2023 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

**AYBERK ONUR YILMAZ**