



**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM**

HYPERICUM PERFORATUM EKSTRESİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENEN SİSTİT ÜZERİNDE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

**Dr. İbrahim Halil ŞÜKÜR
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yıldırım BAYAZIT**

**Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından TTU-2018-11092 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ADANA-2021

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanış sürecinde, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, büyük bir sabır ve özveri gösteren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yıldırım Bayazıt'a,

Tezimin oluşumunda değerli yardım ve katkıları nedeniyle Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. H. Mahir Kaplan'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle klinik ve cerrahi olarak gelişimime katkı sağlayan hocalarım Prof. Dr. Şaban Doran'a, Prof. Dr. M. Zühtü Tansuğ'a, Prof. Dr. Nihat Satar'a, Prof. Dr. İ. Atilla Arıdoğan'a, Prof. Dr. Erkan Demir'e, Prof. Dr. Volkan İzol'a, Dr. Öğr. Üyesi Mutlu Değer'e ve Dr. Öğr. Gör. Nebil Akdoğan'a,

Eğitimim süresince çalışmaktan mutluluk duyduğum, sevgili asistan arkadaşlarıma,

Uzun yıllar birlikte keyifle çalıştığımız bölümümüzün hemşire ve personellerine,

Birlikte çalıştığımız süre boyunca hep yanımda olan ve şu an uzman olan arkadaşlarım Dr. Fesih Ok ve Dr. Bahattin Kızılgök'e,

Hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi fedakarlığı gösteren, sevgi ve desteklerini her daim yanımda hissettiğim aileme,

Hayatıma girdiği günden itibaren desteğini ve sevgisini hissettiğim sevgili eşim Burcu Şükür'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. İbrahim Halil Şükür

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
KISALTMA LİSTESİ	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mesane Histolojisi	2
2.2. Mesanenin Enflamatuvar Hastalıkları	4
2.3. İnterstisyel Sistit/ Mesane Ağrı Sendromu	4
2.3.1. Tanım.....	4
2.3.2. Tarihçe	5
2.3.3. Epidemiyoloji	7
2.3.4. Etiyoloji	8
2.3.4.1. Enfeksiyon.....	9
2.3.4.2. Enflamasyon.....	9
2.3.4.3. Mast Hücreleri.....	9
2.3.4.4. Epitelyal Geçirgenlik.....	10
2.3.4.5. Üroepitelyal Hücre Proliferasyonunun İnhibisyonu	11
2.3.4.6. Nörobiyoloji	11
2.3.4.7. Pelvik Organların Çapraz Sensitizasyonu	12
2.3.5. Tanı	13
2.3.5.1. Potasyum Klorid Testi	15
2.3.6. Tedavi	15
2.4. Hemorajik Sistit	16
2.5. Lipopolisakkarit İle İndüklenen Sistit.....	16
2.6. <i>Hypericum Perforatum</i>	21
2.6.1. <i>Hypericum perforatum</i> Ekstresi.....	23
2.6.2. <i>Hypericum perforatum</i> 'un Aktif Bileşenleri ve Etkileri.....	24

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Sistit İndüksiyonu:	26
3.2. Kantitatif Ölçümler	27
3.2.1. Doku Homojenizasyonu.....	27
3.2.2. Protein Miktar Tayini.....	28
3.2.3. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi	28
3.2.4. IL-6 ve TNF α Düzeylerinin Ölçümü	28
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. Enzim Düzeylerinin Değerlendirilmesi:	30
4.1.1. NF κ B Düzeyleri	30
4.1.2. Siklooksijenaz-2 Enzim Düzeyleri.....	30
4.1.3. iNOS Enzim Düzeyleri	31
4.1.4. sFLA ₂ Enzim Düzeyleri	32
4.2. Sitokin düzeylerinin Değerlendirilmesi	32
4.2.1. IL-6 Düzeyi	33
4.2.2. TNF α Düzeyi	33
5. TARTIŞMA	35
SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR	47
EKLER.....	56
EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	56
ÖZGEÇMİŞ	57

TABLO LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. İS/AMS ayırıcı tanısı ve tanı araçları	14
Tablo 2. Hypericum perforatum'un Aktif Bileşenleri.....	24
Tablo 3. Kontrol, sistit ve HP + sistit gruplarının mesane dokularında enflamatuvar enzim ve mediyatör düzeyleri.....	32
Tablo 4. HP'in sistit kaynaklı IL-6 ve TNF α düzeylerine etkisi.....	34

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Mesane ürotelyumu	3
Şekil 2. İS/MAS etiyolojik basamaklı hipotezi	8
Şekil 3. Pelvik organ çapraz sensitizasyonu ⁶⁶	12
Şekil 4. Endotoksinin temel yapısı. Lipopolisakkarit molekülünün bileşenleri, O- spesifik polisakkaritin tekrar eden birimini içeren monosakkaritlerin sayısı ve türleri, kor polisakkaritlerindeki monosakkarit türleri ve biyolojik olarak aktif bileşen olan lipit A'ya bağlı yağ asidi zincirlerinin uzunlukları ve sayısı ⁹¹	17
Şekil 5. Memeli makrofajları/monositleri, endotelial hücreler (EC) ve nötrofiller (NEUT) ile etkileşime giren lipit A / endotoksin reseptörlerinin şeması.	18
Şekil 6. Prostaglandinlerin siklooksijenaz yoluyla sentezi ¹⁰¹	20
Şekil 7. <i>Hypericum perforatum</i>	22
Şekil 8. Millepertuis perforé.	23
Şekil 9. (A) Hiperisin ve (B) Hiperforin ¹¹¹	24
Şekil 10. Transüretal madde enjeksiyonu	27
Şekil 11. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki NFκB düzeyine HP'nin etkisi (n=8)	30
Şekil 12. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki siklooksijenaz-2 enzimine HP'nin etkisi (n=8)	31
Şekil 13. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki iNOS enzimine HP'nin etkisi (n=8).	31
Şekil 14. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki fosfolipaz A2 enzimine HP'nin etkisi (n=8)	32
Şekil 15. LPS uygulanan farelerin IL-6 düzeyine HP'nin etkisi (n=8)	33
Şekil 16. LPS uygulanan farelerin TNFα düzeyine HP'nin etkisi (n=8)	34

KISALTMA LİSTESİ

- B1:** Bradikinin-1
BCG: Bacillus Calmette-Guerin
BT: Bilgisayarlı tomografi
CIS: Karsinoma in situ
COX-1: Siklooksijenaz-1
COX-2: Siklooksijenaz-2
CRP: C-reaktif protein
CYP: Siklofosfamid
ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GAG: Glikozaminoglikan
HP: Hypericum perforatum
HPE: Hypericum perforatum ekstresinin
IL: İnterlökin
I-κB: inhibitör kappa B
iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İS: İnterstisyel sistit
İS/MAS: İnterstisyel sistit /mesane ağrı sendromu
İYE: İdrar yolu enfeksiyonu
KCl: Potasyum klorür
LPS: Lipopolisakkarit
MRG: Manyetik rezonans görüntüleme
NFκB: Nükleer faktör kappa-B
NK-1: Nörokinin-1
NMDA: N-Metil-D-Aspartat
NO: Nitrik oksit
PGE₂: Prostaglandin E₂
ROT: Reaktif oksijen türevlerinin
sFLA₂: Sitozolik fosfolipaz A₂
TNFα: Tümör nekroz faktör alfa

USG: Ultrasonografi



ÖZET

Hypericum Perforatum Ekstresinin Lipopolisakkarit İle İndüklenen Sistit Üzerinde Koruyucu Etkisinin Araştırılması

Amaç: Çalışmamızda, *Hypericum perforatum* ekstresinin *E.coli* lipopolisakkariti ile indüklenen sistit üzerinde koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, 24 Balb/C türü fare sayıca eşit üç gruba ayrıldı. Kontrol grubuna transüretal yolla intravezikal serum fizyolojik verildi. İkinci ve üçüncü gruplara intravezikal LPS verilerek sistit oluşturuldu. Üçüncü grupta yer alan farelere LPS verilmeden önce koruyucu madde olarak on gün süresince günlük *H. perforatum* ekstresi gavaj yoluyla verildi. Deney sonunda serumda TNF- α , IL-6 seviyeleri ve mesane dokusunda iNOS, sFLA₂, COX-2, NF κ B düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. İstatistiksel karşılaştırmalar için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc testi olarak Bonferroni kullanıldı.

Bulgular: İntravezikal LPS uygulanan farelerde, serumda IL-6, TNF α düzeyleri ve mesane dokusunda enflamatuvar belirteçler olan NF κ B, COX-2, sFLA₂ ve iNOS düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu. LPS öncesinde *H. perforatum* ekstresi verilen grupta ise bu belirteçlerin tümünün düzeylerinin anlamlı olarak düşük olduğu saptandı.

Sonuç: LPS ile indüklenen sistitte, LPS öncesi oral yolla HPE verilmesi mesanedeki enflamatuvar yanıtı azaltmıştır. Bu çalışma, HPE'nin LPS ile indüklenen sistit modelinde hem serum hem de mesane dokusundaki enflamatuvar belirteçler üzerine etkisini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır ve sonuçları insanlarda enflamatuvar mesane hastalıklarının tedavisinde HPE'nin yerini araştırarak çalışmalara temel oluşturabilir.

Anahtar Kelimeler: Sistit, LPS, sarı kantaron, enflamasyon, *Hypericum perforatum*

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF HYPERICUM PERFORATUM EXTRACT ON LIPOPOLYSACCHARIDE INDUCED CYSTITIS

Objective: In our study, we aimed to investigate the protective effect of Hypericum perforatum extract on cystitis induced by lipopolysaccharide.

Materials and Methods: In this study, 24 Balb / C strain mice were divided into three equal groups. Intravesical saline was given to the control group transurethrally. Cystitis was induced by giving intravesical LPS to the second and third groups. Before LPS was given to the mice in the third group, daily H. perforatum extract was given by gavage for ten days as a protective. At the end of the experiment, TNF- α , IL-6 levels in serum and iNOS, sFLA2, COX-2, NF κ B levels in bladder tissue were measured by ELISA method. One-way analysis of variance (ANOVA) was used for statistical comparisons and Bonferroni was used as a post hoc test.

Results: In mice given intravesical LPS, serum IL-6, TNF α levels and inflammatory markers NF κ B, COX-2, sFLA2 and iNOS in the bladder tissue were found to be higher than the control group. In the group given H. perforatum extract before LPS, the levels of all these markers were found to be significantly lower.

Conclusion: In LPS-induced cystitis, administration of HPE orally before LPS reduced the inflammatory response in the bladder. This study is the first study in the literature investigating the effect of HPE on inflammatory markers in both serum and bladder tissue in LPS-induced cystitis model, and its results may form the basis for studies investigating the place of HPE in the treatment of inflammatory bladder diseases in humans.

Keywords: Cystitis, LPS, St. John's wort, inflammation, Hypericum perforatum

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hypericum perforatum (HP), tarla, yol ve orman kıyılarında, tepelerde ve çayırarda temmuzdan eylüle kadar çiçeklenen, ülkemizde sarı kantaron, kılıç otu, mayasıl otu ve yara otu gibi adlara sahip olan, bazı hastalıklara karşı yöresel insanlar tarafından kullanılan bir bitkidir ve yurt dışında St. John bitkisi olarak da bilinmektedir¹.². Yapılan çalışmalarda bu bitkinin çok güçlü bir antienflamatuvar olduğu bildirilmiştir. Bir çalışmada oral yolla verilen *Hypericum perforatum* ekstresinin (HPE) lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenmiş siklooksijenaz-2 (COX-2) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimlerini inhibe ettiği gösterilmiştir³. HPE biyoaktif maddelerinden hiperforinin güçlü bir siklooksijenaz-1 (COX-1) ve 5-lipooksijenaz inhibitörü olduğu ortaya konmuştur⁴. HPE oral yolla uygulanmasıyla enflamasyonda rol oynayan prostaglandin sentezini azaltmaktadır⁵. Oral yolla verilen HPE, LPS'nin neden olduğu enflamasyonu azaltır. HPE ayrıca nükleer faktör kappa-B (NFκB) translokasyonunu ve mitojenle aktive edilen protein kinaz C'nin fosforilasyonunu inhibe eder^{6, 7}. Bu inhibisyon, iNOS, COX-2, tümör nekroz faktör alfa (TNFα) gibi enflamatuvar faktörlerin ekspresyonunu azaltır. LPS, Gram negatif bakterilerin duvar yapısında bulunur ve enflamatuvar mediyatörlerin sentezini artırarak enflamasyonu tetikler.

HPE'nin, antienflamatuvar ve antioksidan aktiviteye sahip olması, LPS kaynaklı mesane enflamasyonu üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. HPE'nin antienflamatuvar etkileri bilinse de mesane enflamasyonu üzerine etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, HPE'nin LPS ile oluşturulan sistit üzerinde koruyucu etkisi olup olmadığını ve sistit tedavisindeki olası yerini araştırmak için tasarlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane Histolojisi

Mesane duvar yapısıyla ilgili hücresel düzeydeki ayrıntıların ortaya çıkmasıyla, sistit patogenezi daha iyi anlaşılmıştır.

Mesane duvarını oluşturan tabakalar içten dışa doğru şunlardır:

a. Tunika mukoza:

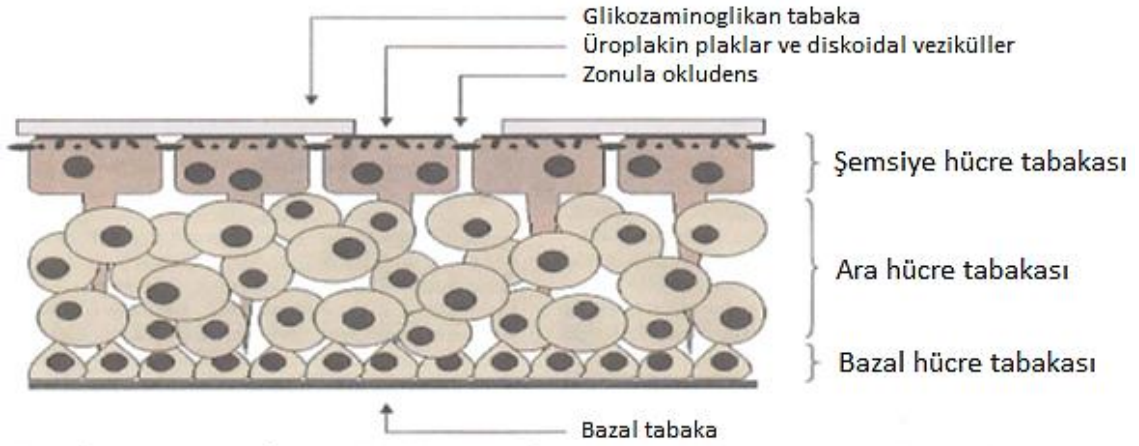
1. Lamina epitelyalis (ürotelyum).
2. Lamina propria.
3. Lamina muskularis mukoza.

b. Tunika muskularis.

c. Tunika adventisya.

a. Tunika Mukoza

Mesane iç yüzeyi, değişici çok katlı epitel ile döşelidir. Hücreler farklı şekillerdedir (poligonal). Ürotelyum üç ana katmandan oluşur. En altta bazal hücre tabakası, üstünde ara hücre tabakası ve en üstte şemsiye hücre tabakası yer almaktadır (Şekil 1)⁸.



Şekil 1. Mesane ürotelyumu

Bazal hücre tabakası: Bazal hücre tabakası olarak adlandırılan en alt tabaka 5-10 μm kalınlığındadır. Tek sıra hücrelerden oluşur.

Ara hücre tabakası: Yaklaşık 20 μm kalınlığındadır. Bir veya birkaç sıra epitel hücresinden oluşur.

Şemsiye hücre tabakası: Şemsiye benzeri şekilli hücrelerden oluştuğu için bu şekilde isimlendirilmiştir. Yüzeyel tabaka da denilir. Şemsiye hücreleri, vücuttaki en büyük epitel hücreleridir (100-200 μm). Apikal bölümleri yüzey alanını büyütüp küçültebilme özelliğine sahiptir. Bu özellikleriyle mesane dolduğunda yüzey alanını arttırıp boşaldığında azaltırlar. Birden çok çekirdeğe sahip olabilirler. Şemsiye hücrelerinde bulunan apikal asimetrik membranın idrar ana bariyeri olduğu düşünülmektedir. Yüzeyel hücreler kendi aralarında sıkı bağlantı kompleksleri (tight junction) ile bağlıdır⁹. Şemsiye hücrelerinin dış yüzeyi glikozaminoglikan (GAG) tabakasıyla kaplıdır. Glikozaminoglikanlar, birbirini takip eden disakkarid birimlerinden oluşur. Tekrar eden bu disakkaridler de hiyalüronik asit, kondroitin 4-sülfat, kondroitin 6-sülfat, dermatan sülfat, keratan sülfat, heparan sülfat ve heparindir¹⁰.

GAG tabakasının hücre yüzeyine bakteri tutunma ihtimalini 50-60 kez azalttığı belirtilmiştir¹¹. GAG tabakasında meydana gelecek herhangi bir hasarın yüzey permeabilitesini artırarak, interstisyel sistitte (İS) olduğu gibi enflamasyona ve aşırı hassasiyete sebep olabileceği bildirilmiştir¹².

b. Tunika Muskularis (Detrüsör Kası):

Mesanede içte longitudinal, ortada sirküler, dışta longitudinal kas demetleri olmak üzere üç kas tabakası bulunur¹³.

c. Tunika Adventisya:

Mesaneyi dıştan saran bağ dokusudur. Mesanenin kan damarları ve sinirsel uyarımında rol oynayan sinir lifleri bu tabakadan girip çıkar¹³.

2.2. Mesanenin Enflamatuvar Hastalıkları

İnsanlarda mesanenin enflamasyonu sıklıkla görülür. İnterstisyel sistit, nörojenik sistit, otoimmün sistit, kimyasallar, radyasyon sistiti veya bakteriyel ürünlere (özellikle LPS) maruziyet gibi nedenlerle ortaya çıkabilmektedir. Klinik olarak alt üriner sistemin enflamasyonu büyük çoğunlukla ağrı, ani sıkışma ve artan işeme sıklığı semptomları ile karakterizedir¹⁴.

Özellikle kadınlarda sıklıkla görülen interstisyel sistit / mesane ağrı sendromu (İS/MAS) da ağrı, ani sıkışma ve artan sıklık ile karakterize, nedenleri net olarak bilinmeyen yaygın bir sendromdur. İS/MAS tanısı tipik olarak diğer semptom nedenlerinin dışlanmasıyla yapılır ve mesane enflamasyonu, İS/MAS tanısı alan birçok hastada biyopsi ile doğrulanır¹⁵.

2.3. İnterstisyel Sistit/ Mesane Ağrı Sendromu

2.3.1. Tanım

İS/MAS, "ağrılı mesane" hastalık kompleksinin büyük bir kısmını oluşturur "Ağrılı mesane bozuklukları" üretral ve/veya pelvik ağrı yanında irritatif işeme semptomlarının (ani sıkışma hissi, işeme sıklığında artış, noktüri, dizüri) görüldüğü büyük bir hastalık grubunu içerir. Ayrıca, birçok jinekolojik bozukluk İS/MAS'i taklit edebilir. Uluslararası İnterstisyel Sistit Konsültasyonu (ICIC) ilk olarak İS/MAS ismini önermiştir. İS/MAS'in sadece tanımı tartışmalı olmakla kalmamış, aynı zamanda adı bile tartışma konusu olmuştur. Bu durumu tanımlamak için interstisyel sistit, ağrılı

mesane sendromu, üretral sendrom, trigonit ve mesane ağrısı sendromu gibi başka isimler de kullanılmıştır¹⁶.

2.3.2. Tarihçe

İnterstisyel sistit terimini ilk olarak Skene 1887 yılında mukozayı parsiyel veya tam olarak kas tabakasına kadar tahrip eden enflamasyonu tanımlamak amacıyla kullanmıştır¹⁷. Ancak Philadelphia'lı bir cerrah olan Joseph Parrish, 1836 tarihli bir makalede mesane taşı olmadığı halde şiddetli alt idrar yolu semptomları olan üç vakayı tanımlamış ve “mesanenin ağrılı tiki” (tic douloureux) olarak adlandırmıştır¹⁸. 1916'da Guy Hunner, sekiz hasta bildirmiştir. “Hunner ülseri” adıyla anılacak olan mesane duvarındaki kırmızı kanamalı alanlara ve hastalığa dikkat çekmiştir¹⁹. Hand (1949) ilk defa 223 hasta ile bu hastalık hakkında geniş bir gözden geçirme raporu yayımlayarak noktasal tarzda kanamaları tarif etmiş ve hastalığı şiddetine göre üç dereceye ayırmıştır. Üçüncü derece, Hunner'ın tariflediği mesane kapasitesi azalmış sikatrisli mesane ile uyumludur. Hand'in serisinde, hastaların %69'unda birinci derece hastalık varken, sadece %13'ünde üçüncü derece hastalık vardı²⁰. Walsh (1978), Hand'in tariflediği peteşiyal kanamaları tarif etmek için “glomerülasyon” tanımını kullanmıştır²¹. Messing ve Stamey (1978) bunu bir adım öteye taşıyarak anestezi altında mesane distansiyonu ile ortaya çıkan glomerülasyonların hastalığın “ayırt edici özelliği” olduğunu söylemişlerdir. Ayrıca, tanıyı öncelikle diğer hastalıkların ekartasyonuna dayandırmışlardır²². ABD'de Ulusal Diyabet Sindirim ve Böbrek Hastalıkları Enstitüsü (NIDDK) klinik ve temel çalışmalarda kullanılmak üzere İS için tanı kriterleri geliştirmiştir²³. Bu kriterler 1990 yılında revize edilmiş olup son hali aşağıdaki gibidir²⁴:

Hastaların İS tanısı almaları için ya genel anestezi altında yapılan sistoskopik incelemede glomerülasyonların olması ya da klasik Hunner ülserinin bulunmasına ek olarak mesane ile ilişkili ağrı ya da ani işeme hissinin olması gerekir. Glomerülasyonların incelenmesi için anestezi altında mesane 80-100 cm su basıncına 1-2 dakika süreyle getirilip, basınç düşürülmeye başlandıktan sonra sonra tetkik edilmelidir. Değerlendirmeden önce mesane iki kez distandü hale getirilebilir.

- Glomerülasyonlar diffüz olmalı.

- En az mesanenin üç kadranında izlenmeli ve ayrıca her kadranda en az 10 glomerülasyon bulunmalı.
- Glomerülasyonlar sistoskopi yapılan yol boyunca bulunmamalıdır (enstrümantasyona bağlı artefaktları elimine etmek için).

Aşağıdaki kriterlerden herhangi birinin varlığı, interstisyel sistit tanısını dışlar:

- Gaz veya sıvı bir madde kullanarak mesaneyi 350 ml'den daha fazla doldurabilmek.
- 100 ml gaz veya 150 ml sıvı ile doldurulmuş mesanede acil sıkışma hissinin oluşmaması.
- Sistometride yukarıda tarif edilen dolum miktarıyla istemsiz fazik mesane kasılmalarının varlığı.
- Semptomlarının süresinin 9 aydan kısa olması.
- Noktüri yokluğu.
- Semptomların antimikrobiyal, üriner antiseptik, antikolinerjik ve antispazmodiklerle hafiflemesi.
- Uyanırken günde 8'den az idrara çıkma sıklığı.
- Üç aylık periyotta kronik sistit ve/veya kronik prostatit tanısı almış olmak.
- Mesane ve/veya üreter taşının olması.
- Aktif genital herpes olması.
- Uterin, servikal, vajinal ve üretral kanserlerin biri veya birkaçının olması.
- Üretral divertikül.
- Siklofosfamid (CYP) veya herhangi bir çeşit kimyasal sistit.
- Tüberküloz sistit.
- Radyasyon sistiti.
- Benign veya malign mesane tümörü.
- Vajinit.
- Yaşın 18'den küçük olması.

Bununla birlikte İS tanısı konan hastaların hepsi bu kriterlere uymaz. Bu ikilem nedeniyle, Avrupa İnterstisyel Sistit Çalışma Derneği (ESSIC) (kısa süre önce Uluslararası Mesane Ağrı Sendromu (MAS) Çalışmaları Derneği olarak yeniden adlandırılmıştır), daha az katı kriterlerin gerekeceği bir tanım geliştirmiştir:

- Altı aydan uzun süren idrar kesesi ile ilgili olduğu algılanan basınç veya rahatsızlık.
- Sürekli işeme dürtüsü veya sıklık gibi en az bir başka idrar semptomunun eşlik etmesi.
- Semptomların nedeni olabilecek diğer hastalıkların dışlanması¹⁶.

Daha geniş tanım, aksi takdirde tanı konulmayacak olan birçok hastada tanı ve tedaviyi kolaylaştırdı²⁵. Zorunlu olmamakla birlikte, hidrodistansiyonlu sistoskopi ve biyopsi altı tiplere izin vermek için kullanılabilir¹⁶.

O'Leary ve arkadaşları (1997) İS semptom ve problem endeksleri geliştirmişlerdir. Ancak, valide edilmiş olsalar da bu endeksler İS tanısı koymaktan ziyade semptomların şiddetini değerlendirmek ve hastalığın progresyon veya regresyonunu takip etmek amacıyla kullanılmaktadır²⁶.

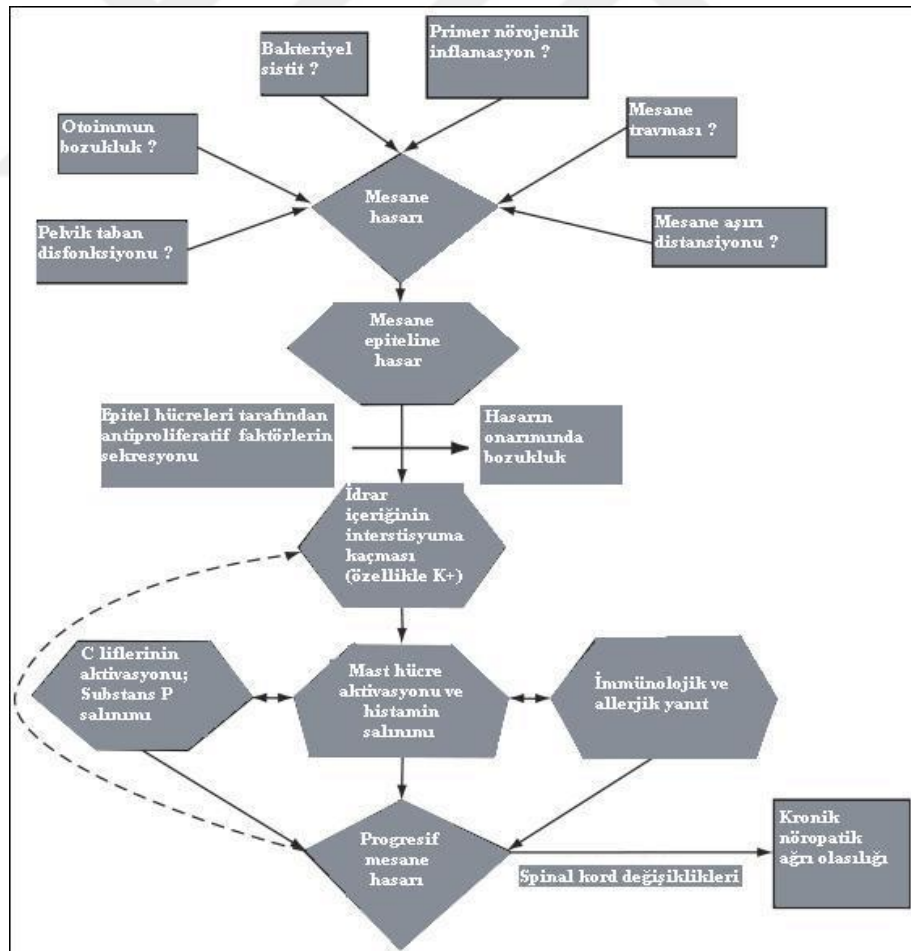
2.3.3. Epidemiyoloji

İS/MAS prevalansı, kesin bir tanımlamasının ve tanı kriterinin olmaması nedeniyle değişkenlikler göstermektedir²⁷. İlk toplum kökenli çalışma Helsinki'de yapılmıştır ve İS/MAS prevalansı kadınlarda 18,1/100.000 bulunmuştur. Kadın ve erkek toplam prevalans 10,6/100.000'dir. Kadınlarda insidans 1,2/100.000'dir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada prevalans 52-67/100.000 olarak saptanmıştır²⁸. Bir diğer çalışmada hastalık prevalansının kadınlarda 45-197/100.000, erkeklerde ise 8-41/100.000 arasında değiştiği gösterilmiştir²⁹. Japonya'da yapılan bir çalışmada İS/MAS prevalansı Amerika ve Avrupa'dan düşük bulunmuştur. İS/MAS prevalansı toplumda 1,2/100.000 iken kadınlarda 4,5/100.000 bulunmuş olup, kadın/erkek oranı ise 5,8/1 olarak saptanmıştır. Japon halkının ırksal özellikleri yanında halkın ve ürologların hastalık konusundaki farkındalıklarının yeterli olmaması, buna

neden olarak gösterilmiştir³⁰. Çoğu çalışma 5:1 veya daha yüksek bir kadın erkek oranı göstermektedir. Hastalığı önemli kılan diğer bir neden maliyettir. Hasta başı maliyetler yıllık dört ila yedi bin Amerikan doları arasında olabilir³¹. Hastalar sağlık problemleri nedeniyle çalışma sürelerini genel popülasyona göre altı kat azaltmaktadır³²

2.3.4. Etiyoloji

İS/MAS patogenezi ile ilgili pek çok teori bulunmaktadır. Epitelyum kaçağı, mast hücre aktivasyonu ve nörojenik enflamasyon veya bunların kombinasyonu ile kronik mesane ağrısı ve boşaltma disfonksiyonuna neden olan diğer durumlar patofizyolojide yer almaktadır (Şekil 2)³³. İS/MAS etiyojisi tam olarak anlaşılmasa da, idrar yolu enfeksiyonu ile tetiklensin veya tetiklenmesin kronik enflamasyonun patogenezin potansiyel bir mekanizması olduğu düşünülmektedir³⁴.



Şekil 2. İS/MAS etiyojik basamaklı hipotezi

2.3.4.1. Enfeksiyon

İdrar yolları enfeksiyonunun kadınlardaki yaygınlığı İS/MAS verilerini gölgelemektedir³⁵. Hastaların büyük bir kısmı idrar yolu enfeksiyonu ön tanısıyla çeşitli sürelerle antibiyotikler kullanmaktadır³⁶. Hatta, penisilin grubu başta olmak üzere bu antibiyotiklerin sistit etiyolojisinde yer alabileceği düşünülse de yapılan çalışmalar aksini göstermiştir³⁷. İlk olarak Hunner (1915) İS'nin, mesane duvarının kronik bakteriyel enfeksiyonunun bir sonucu olduğunu ortaya atmıştır. Daha sonra İS ile streptokokal ve post-streptokokal enflamasyon arasında bir ilişki öne sürülmüştür. Tavşanlarda mesane duvarına az sayıda *Streptococcus pyogenes* enjekte edilerek kronik enflamasyon üretilebildiği gösterilmiştir³⁸.

2.3.4.2. Enflamasyon

Enflamatuvar mekanizmaların İS/MAS etiyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir. Sistit semptomlarının, mast hücrelerinden salınan enflamatuvar mediyatörlerin ve duysal nörotransmitterlerin salgısındaki artıştan kaynaklandığı öne sürülmüştür³⁹. Enflamasyon, mesanenin sinir büyüme faktörü içeriğinin değişmesine ve mesaneyi inerve eden duysal ve motor nöronlarda morfolojik değişikliklere neden olur. Buna bağlı olarak, mesane sinirlerinde bulunan nöropeptitlerin ve nitrik oksit sentazın ekspresyonu artar⁴⁰. Bu şekilde ortaya çıkan nörojenik enflamasyonun önemli bir etiyolojik faktör olabileceği düşünülmektedir. Bunun nedeni, afferent sinir uçlarının enflamatuvar mediyatörlere maruz kalması sonucu iyon kanallarında ortaya çıkan değişikliğin mesane hiperaljezisine neden olabilmesidir⁴¹.

2.3.4.3. Mast Hücreleri

Mast hücrelerinin İS ile ilişkisi olduğu sıklıkla bildirilmiştir⁴². Mast hücreleri, spesifik antijenlere yanıt olarak, IgE antikorunun aracılığıyla alerjik reaksiyonlara (Tip I aşırı duyarlılık) katılır. IgE, mast hücre reseptörlerine bağlanır ve antijen IgE'ye bağlanarak degranülasyona yol açar⁴³. Ayrıca mast hücreleri birçok enflamatuvar durumda da proenflamatuvar mediyatörler salgılayarak bu süreci etkiler. Uyarılan mast hücreleri nötrofil, monosit, eozinofiller, T ve B lenfositlerin infiltrasyonunu başlatır. T lenfositler, mast hücrelerini aktive edebilen maddeler salgılayarak enflamasyon siklusuna katılır⁴⁴. Bakteriyel toksinler de mast hücre degranülasyonuna neden olan

ajanlardır. Bunun dışında, asetilkolin, kimyasallar, P maddesi, kontrast ajanlar, anafلاتoksinler, sitokinler, opioidler, egzersiz, hormonlar ve virüsler de aynı etkiye neden olabilir⁴⁵.

Mast hücreleri İS/MAS gibi stresle kötüleşebilen nöroenflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer alır⁴⁶. Histamin degranülasyonunu indükleyen maddelerin çoğunun, mast hücrelerini içeren organı inerve eden nöronlardan salındığı gösterilmiştir⁴⁷. Mast hücreleri tarafından üretilen histamin, İS/MAS'daki ağrı, hiperemi ve fibrozise neden olmaktadır⁴⁸.

Mesaneyi inerve eden kapsaisine hassas duyu nöronlarının ikili bir işlevi (afferent ve efferent) olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle proenflamatuvar uyaranlara bağlı ortaya çıkan akson refleksinin neden olduğu nöropeptit salınımı lokal iltihaplanma ile sonuçlanmaktadır⁴⁹. Özellikle bir nöropeptit olan P maddesini içeren liflerin İS'li hastaların mesanesinde arttığı ve mast hücreleri ile komşu olduğu tespit edilmiştir. Bu da mast hücre aracılı nöroenflamasyonu destekleyen bir bulgudur⁵⁰. Ayrıca farelerde yapılan bir deneysel sistit çalışmasında, P maddesi ve *Escherichia coli* lipopolisakkaritine karşı oluşan enflamatuvar cevabın mast hücreleri tarafından kontrol edildiği ortaya konmuştur⁵¹.

2.3.4.4. Epitelyal Geçirgenlik

1970'lerin başına kadar çoğu araştırmacı, idrar bileşenlerinin mesane duvarına geçişinin önündeki en büyük engelin, epitel hücreleri seviyesinde olduğunu düşünüyordu. Ürotelyal hücreler arasındaki sıkı bağlantıların, yüzeyi kaplayan özel “şemsiye hücreleri” ve vezikal mukozanın doğrudan bakterisidal aktivitesinin, iç ortamı idrardaki bakteri, molekül ve iyonlardan koruyabileceği düşünülmekteydi⁵². Bu nedenle araştırmacılar semptomlardan sorumlu bir ürotelyal kusur bulmaya çalışmışlardır⁵³. 1990'da İS'nin, mesane yüzeyindeki GAG'larda oluşan defekttten kaynaklandığı fikri yaygınlaştı. Bu tabakanın yokluğunda meydana gelen enfeksiyonlarda ürotelyal hücrelerdeki nitrik oksit (NO) ve afferent C liflerinden salınan P maddesi artmakta ve vazodilatasyona sekonder enflamatuvar bulgulara neden olmaktadır⁵⁴. Kedilerde yapılan bir deneysel çalışmada İS'de İNOS ve NO miktarında artış gösterilmesi bu bulguyu destekler niteliktedir⁵⁵. Artmış mukozal geçirgenlik, mesane enflamasyonunun

nonspesifik bir bulgusu olup bakteriyel enfeksiyonlarda ve CYP'e bağı gelişen sistitte de görülebilmektedir⁵⁶.

2.3.4.5. Üroepitelyal Hücre Proliferasyonunun İnhibisyonu

Normal insanların mesane ürotelyal hücrelerinin, İS hastalarının ürotelyal hücrelerinden daha hızlı büyüdüğüün saptanması mesane ürotelyumunda antiproliferatif faktörün (APF) keşfini sağladı. APF mesane ürotelyumundan üretilmektedir⁵⁷. İS/MAS hastalarının mesanesinde düzeyi artmıştır⁵⁸. APF, hücre döngüsünü düzenleyici bir protein olan p53'ün düzeyini arttırarak epitel hücre proliferasyonunu inhibe eder⁵⁹.

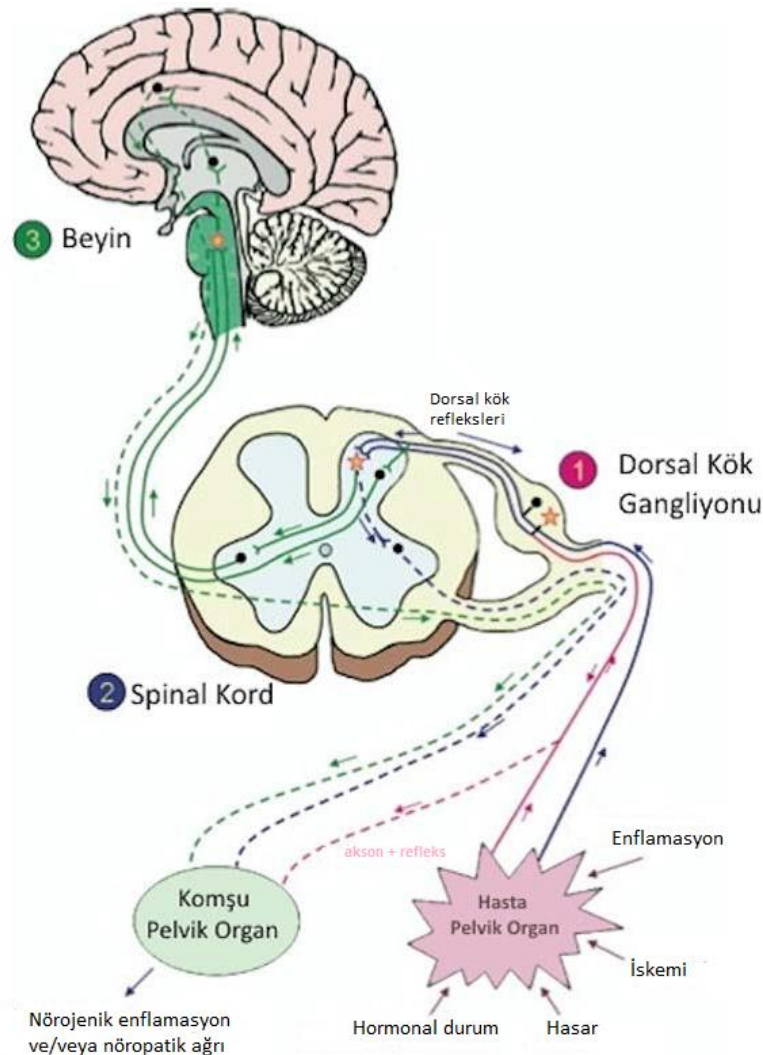
2.3.4.6. Nörobiyoloji

Duyusal sinirlerin, özellikle ağrı liflerinin aktivasyonunun, P maddesi, nörokinin A ve kalsitonin geni ile ilişkili peptit gibi nöropeptitlerin salınması yoluyla nörojenik enflamasyonu tetiklediği ve daha sonra lökosit adezyonu ve doku ödemi ile vasküler geçirgenlikte artış sağladığı bilinmektedir⁶⁰. Nöropeptit mediyatörler mast hücrelerinin degranüle olmasına neden olarak enflamatuvar mediyatörleri salgılatırlar ve bu da epitelde artmış geçirgenlik ve zedelenmeye neden olur⁶⁰. Bazı İS'li hastalarda bu patolojik siklusu bir üriner enfeksiyonun tetiklediği düşünülmektedir⁶¹. Nörojenik enflamasyon İS/MAS'da direkt neden olabilir veya otoimmünite ve enfeksiyon gibi başka etiyolojilerin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Aynı zamanda İS'deki kronik pelvik ağrının nedeni olabilmektedir⁶². Bazı çalışmalar İS'de sempatik aktivitenin arttığını göstermektedir. Kedilerde yapılan çalışmalarda plazma katekolaminlerinde artış saptanmış ve İS'li hastalarda da üriner katekolaminlerde artış görülmüştür⁶³. C liflerini aktive edecek kadar yeterli şiddette ve tekrarlayan periferik sinir uyarıları, dorsal boynuz nöronlarında artan elektriksel cevap olarak kayıt edilmektedir. Bu, "yukarı sarma" fenomeni olarak adlandırılır ve kronik ağrının merkezinde yer aldığı düşünülmektedir. Spinal korddaki reseptörler kimyasal olarak N-Metil-D-Aspartat (NMDA) etkisine bağlıdır⁶⁴. NMDA reseptörlerinin sürekli aktivasyonu, spinal korddaki hücrelerde trofik değişikliklere neden olur ve bir sonraki uyaran uzamış ve

artmış ağrıya yol açar. Bu "ağrı hafızası" nedeniyle İS'li hastalar değişik tedavilere refrakter hale gelir⁶⁵.

2.3.4.7. Pelvik Organların Çapraz Sensitizasyonu

Pelvik organlar arasında çapraz duyarlılaşma, nedeni belirsiz kronik pelvik ağrıların patofizyolojisinde yer alabilir (Şekil 3). Enflamasyon, metabolik bozukluklar, sinir hasarı, iskemi, periferik hiperaljezi ve diğer patolojiler, doğrudan etkilenen pelvik yapıların yanı sıra, yanında bulunan organların fonksiyonlarını da etkileyebilir⁶⁶.



Şekil 3. Pelvik organ çapraz sensitizasyonu⁶⁶.

2.3.5. Tanı

İS, sıkışmaya bağlı ağrıya eşlik eden ciddi rahatsızlık, basınç hissi ve genellikle herhangi bir nedene bağlanamayan sık idrara çıkmanın tanısıdır. Tanı, kronik semptomları olan hastalarda olası diğer nedenlerin ekarte edilmesiyle konur (Tablo 1). Ayrıntılı bir öykü, fizik muayene, idrar analizi ve kültür gerekecektir. Tanıda sitolojinin yeri, mikroskopik hematüri varlığı dışında net değildir⁶⁷. Sigara içen ve 40 yaşından büyük hastalarda mesanede karsinoma in situ (CIS) için ciddi bir risk olduğundan, sitolojinin ayırıcı tanıda önemli yeri bulunabilir. Geniş seriler İS/MAS hastalarının %1'inde aslında ürotelyal karsinom bulunabildiğini ve her altı ürotelyal karsinom vakasının dördünde mikroskopik hematüri olmadığını gösterdiğinden, sistoskopinin gerekli olduğu düşünülmektedir⁶⁸. Biyopsi her olguda gerekmez, ekarte edilmesi gereken şüpheli görünüm olduğunda endikedir. Hunner lezyonunu saptamak için distandü mesaneye anestezi altında sistoskopi yapılması önemlidir. Sistoskopi sırasında mesane doldurulup bir-iki dakika süresince 80 cm H₂O basınçta bekletildikten sonra boşaltılır ve tekrar doldurulur. Yeniden bakıldığında mesanede glomerülasyon olarak adlandırılan iğne ucu gibi noktasal kanamalar oluştuğu görülür. Bunun için, sistoskopinin anestezi altında yapılması gerekir⁶⁹. Ürodinaminin gerekliliği tartışmalıdır ancak mesane kompliyansını, duyusunu ve dolum sırasında hastanın semptomlarını değerlendirmek ve detrüsör aşırı aktivitesini dışlamak açısından faydalıdır⁷⁰. İS hastalarının sistometrisinde tipik olarak detrüsör işlevi normaldir, ancak azalmış mesane kapasitesi ve aşırı duyarlılık görülür. Mesane aşırı duyarlılık nedeniyle mesane kompliyansının sınırlanacağı noktaya kadar doldurulamayacağı için mesane kompliyansı normal bulunur⁷¹.

Tablo 1. İS/AMS ayırıcı tanısı ve tanı araçları

Ayırıcı tanı	Tanı aracı
Karsinom ve karsinoma in situ	Sistoskopi, biyopsi
İdrar yolu enfeksiyonu (sık karşılaşılan etkenler)	Tam idrar tetkiki ve idrar kültürü
İdrar yolu enfeksiyonu (spesifik etkenler: <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> , <i>Corynebacterium urealyticum</i> , <i>Corynebacterium spp</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>)	Özel kültürler
Herpes simpleks virüsü, herpes zoster	Fizik muayene
Radyasyon	Öykü
Siklofosamid kullanımı	Öykü
Tiaprofenik asit içeren antienflamatuvar tedavi	Öykü
Mesane boynu darlığı, nörojenik çıkım obstrüksiyonu	Öykü, ürodinami
Mesane taşı, üreter alt uç taşı	USG, BT, sistoskopik inceleme
Kolon kanseri, divertikülit, irritabil bağırsak sendromu, enflamatuvar bağırsak hastalığı	Öykü, fizik muayene, kolonoskopi
Üretral divertikül	Öykü ve fizik muayene, BT/MRG
Ürogenital prolapsus	Öykü ve fizik muayene
Endometriyozis	Öykü ve fizik muayene, MRG
Vajinal kandidiyazis	Öykü ve fizik muayene, vajinal kültür
Jinekolojik kanserler	Fizik muayene, pelvik USG
Yetersiz mesane boşaltımı (üriner retansiyon)	USG ile rezidüel idrar hacmi ölçümü
Aşırı aktif mesane	Öykü ve ürodinamik tetkikler
Prostat kanseri	Öykü, rektal muayene ve prostat spesifik antijen (PSA)

Mesane çıkım tıkanıklığı	Üroflovetri ve basınç-akım çalışması
Kronik bakteriyel veya nonbakteriyel prostatit	Öykü, fizik muayene ve idrar kültürü
Pudental sinir sıkışması	Öykü, fizik muayene ve sinir blokajı
Pelvik taban kasları ile ilişkili ağrı	Öykü ve fizik muayene

2.3.5.1. Potasyum Klorid Testi

İntravezikal potasyum klorür (KCl) uygulaması sonrası ağrı ve semptomların provokasyonu ile test pozitif kabul edilir. Test, belirli tedavilere yanıt verecek olan hastaları (belki de GAG tabakasının güçlendirilmesinden fayda görebilecek hastalar) belirleyebilme umudu taşır; fakat bu bilgiyi destekleyen yeterli kanıt yoktur⁷².

Prospektif ve retrospektif çalışmalar, İS/MAS belirtileri ile başvuran hastalarda tanı için standart olan diğer teknikler ile karşılaştırıldığında, KCl testinin hem tanıda hem de tedavinin sonuçlarını yorumlamada faydalı olmadığını göstermiştir^{16, 73}.

2.3.6. Tedavi

Konservatif tedavilerden biyogeribildirim (biofeedback), yumuşak doku masajı ve fizik tedaviler pelvik taban kası gevşemesine yardımcı olabilirler⁷⁴. Birçok hasta, semptomlarını artıran gıdalardan uzak durmaya çalışır. Bu da diyetin İS’de önemli olduğunu düşündürmektedir⁷⁵. Amitriptilin, simetidin, hidroksizin veya pentosan polisülfat, oral ilaçlar olarak uygulanabilir⁷⁶. İmmünosüpresif ajanlardan siklosporinin semptomlarda iyileşme yaptığı ve tedavi kesildikten sonra semptomların nüksettiği gösterilmiştir⁷⁷. İS gibi kronik ağrı ile giden bir hastalıkta analjezikler de yerini almıştır. Asetaminofen ve nonsteroidal antienflamatuvar ajanlar tedavide kullanılmaktadır. Gümüş nitrat intravezikal olarak kullanılan en eski ajanlardan biridir. İS tedavisinde günümüzde nadir olarak kullanılmasına rağmen deneysel mesane enflamasyonu modellerinde üriner histamin, TNF α ve mast hücre aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir⁷⁸. İntravezikal heparin kullanımı antienflamatuvar etkisinin yanı sıra fibroblast proliferasyonunu, anjiyogenezi ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe edici etkiler de gösterir. İntradetrüsör tedavi olarak botulinum toksin tip A (botoks)

flask paralizilere neden olmakta ve asetilkolin salınımını azaltmaktadır. P maddesi ve c-FOS gen salınımını azaltarak periferik duyarlılıkta azalma yaptığı gösterilmiştir. Anestezi altında mesanenin hidrodistansiyonu cerrahi bir işlem olarak görünmesine rağmen genellikle diyagnostik değerlendirmelerin bir parçasıdır. Sistoskopi sırasında mesanenin olarak gerilmesinin (hidrodistansiyon) dolumunun bazı hastalarda rahatlama sağlayabileceği gösterilmiştir⁷⁹.

2.4. Hemorajik Sistit

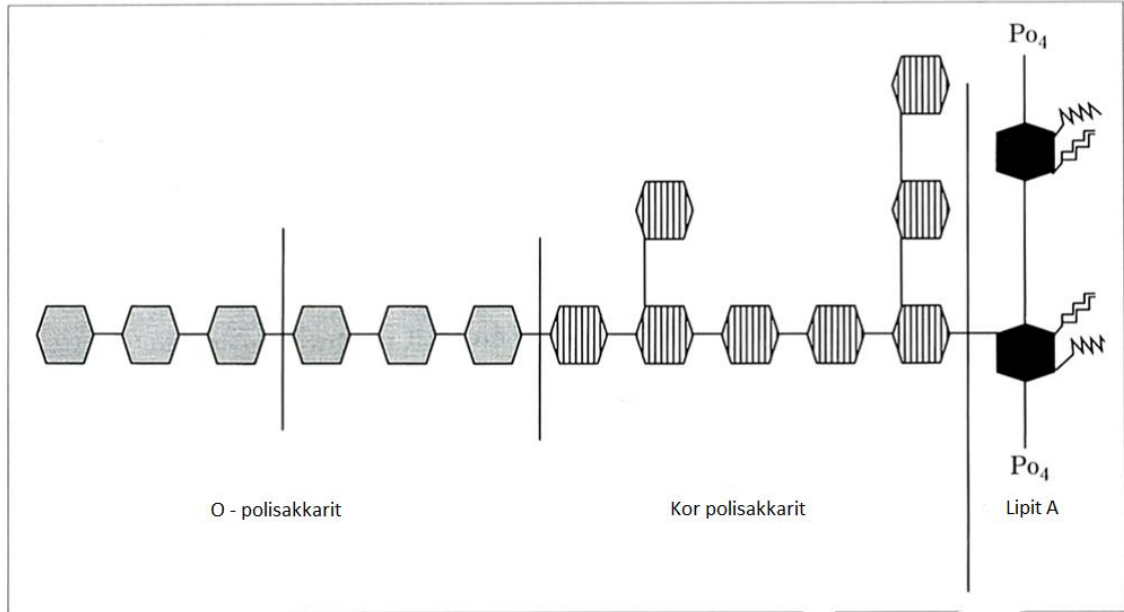
Hemorajik sistit, mesane mukozasında yaygın enflamasyon ve kanama ile karakterizedir⁸⁰. Viral kaynaklı hemorajik sistit, bağışıklığı baskılanmış çocuklarda ve yetişkinlerde (örn. böbrek veya kemik iliği transplantasyonundan sonra) görülür⁸¹. Poliomavirüs ailesinin bir üyesi olan BK virüsü, hemorajik sistit ile ilişkili en yaygın virüstür⁸². Ayrıca adenovirüs, özellikle 11 ve 35 tipleri, çocuklarda ve böbrek nakli hastalarında hemorajik sistit ile ilişkilendirilmiştir⁸³. Hemorajik sistit ayrıca oksazofosforin sınıfı kemoterapötik ajanlar olan siklofosamid ve ifosfamide maruziyet sonucu da meydana gelebilir⁸⁰. Oksazofosforin metaboliti olan akrolein, karaciğerde üretilip, mesane mukozasında ödem ve fibrozisi uyarak mesane toksisitesine neden olur. Mercaptoethane sulfonate (mesna), akroleine bağlanarak hemorajik sistite karşı koruyucu etki sağlar⁸⁴. Pelvik maligniteler nedeniyle bu bölgeye verilen radyoterapi, hemorajik sistite neden olan başka bir etiyolojik faktördür. Pelvik radyoterapiden altı ay ilâ on yıl sonra hastaların yaklaşık %5'inde, radyasyon dozuna bağlı olarak başlayan, orta veya şiddetli düzeyde hematüri bildirilmiştir⁸⁵. Penisilinler, danazol, temozolomid, bleomisin, tiaprofenik asit, allopurinol, metakualon, metenamin mandelat, eter, Gentian violet, intravezikal asetik asit gibi ilaçlar da hemorajik sistitle ilişkili bulunmuştur⁸⁶.

2.5. Lipopolisakkarit İle İndüklenen Sistit

İnsanlarda mesane enflamasyonu sıklıkla görülür. İdrar yolu enfeksiyonu dışındaki nedenler belirsizliğini korumaktadır. Mesane enflamasyonu ile ilişkili semptomların altında yatan mekanizmaları ve bu semptomları baskılama seçeneklerini araştırmak için hayvan modellerinin yararlı olduğu kanıtlanmıştır¹⁴. Mesane GAG

tabakasında oluşacak herhangi bir hasarın yüzey permeabilitesini artırdığı, bu durumun da İS'de görüldüğü gibi enflamasyona ve aşırı hassasiyete neden olabileceği bildirilmiştir⁸⁷. LPS ile yapılan bir hayvan deneyinde mesaneye LPS verilmesinin şiddetli ödem, mukozal hasar ve lökosit infiltrasyonuna yol açtığı histopatolojik olarak ortaya konmuştur⁸⁸. Bu enflamatuvar yanıtın mast hücreleri üzerinden ortaya çıktığı gösterilmiştir⁵¹. Sistit, yetişkin kadınları etkileyen en yaygın enfeksiyon hastalıklarından biridir. Konağın enflamatuvar ve immünolojik yanıtları İYE'nin klinik sonuçlarını belirler⁸⁹. Bakterilerin sistit patogenezindeki rolünde önemli bir bulgu da, negatif idrar kültürü varlığında bile tek başına bakteriyel toksinin mesanede enflamasyona neden olabileceğidir⁹⁰.

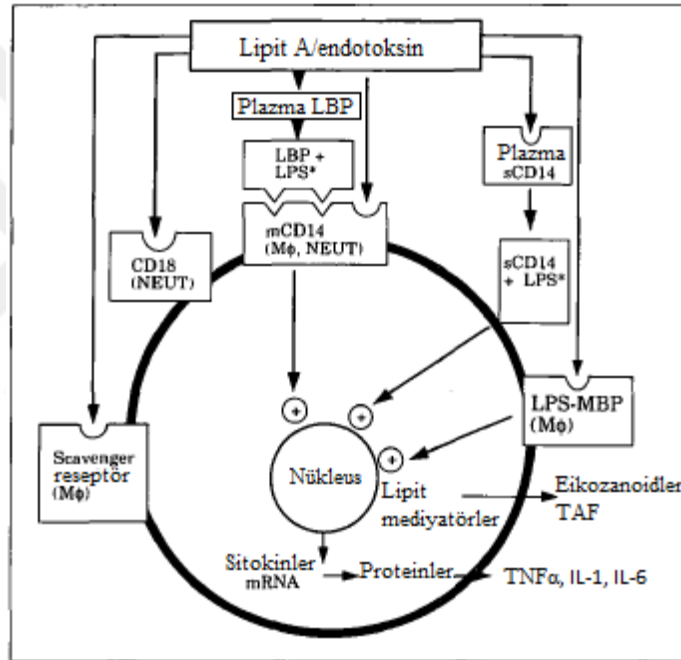
Gram-negatif bakterilerin dış duvarının dış bileşeni olan endotoksin (LPS), kompleks bir glikolipit olup lipit A, bir kor polisakkarit ve O-spesifik polisakkaritin tekrar eden birimlerinden oluşur (Şekil 4).



Şekil 4. Endotoksinin temel yapısı. Lipopolisakkarit molekülünün bileşenleri, O-spesifik polisakkaritin tekrar eden birimini içeren monosakkaritlerin sayısı ve türleri, kor polisakkaritlerindeki monosakkarit türleri ve biyolojik olarak aktif bileşen olan lipit A'ya bağlı yağ asidi zincirlerinin uzunlukları ve sayısı⁹¹.

LPS, gram-negatif organizmaların sitoplazmik zarında sentezlenir ve intakt olarak dış duvara taşınır. Endotoksin, canlı bakterilerde dış duvarda yer alsa da hücre lizisi veya mikroorganizmanın ölümü üzerine salınır. Lipit A, LPS molekülünün kritik bir

kısımdır ve holotoksin tarafından ortaya çıkan başlıca toksik etkileri yaratır. O- ve kor-polisakkarit bölgelerinin birincil immünojenler olarak işlev gördüğüne inanılmasına rağmen, polisakkarit bileşeninin mononükleer fagositik hücreler (yani monositler ve makrofajlar) üzerindeki reseptörler için ligand olduğuna ve kompleman alternatif yolunun aktivasyonunun modüle edilmesine neden olabileceğine dair kanıtlar vardır⁹². LPS'nin konakçı hücreler tarafından tanınması, bir dizi protein gerektirir. LPS-LBP (LPS bağlayıcı protein) kompleksi makrofajlara/monositlere bağlanarak (Şekil 5), bu hücrelerden enflamatuvar mediyatörlerin salınmasına neden olur⁹³.



Şekil 5. Memeli makrofajları/monositleri, endotelial hücreler (EC) ve nötrofiller (NEUT) ile etkileşime giren lipit A / endotoksin reseptörlerinin şeması. LPS-MBP (LPS membran bağlayıcı protein), LBP (LPS bağlayıcı protein), mCD14 (membrana bağlı CD14 reseptörü), sCD14 (çözünür CD14 reseptörü), * (bağlayıcı protein kompleksi).

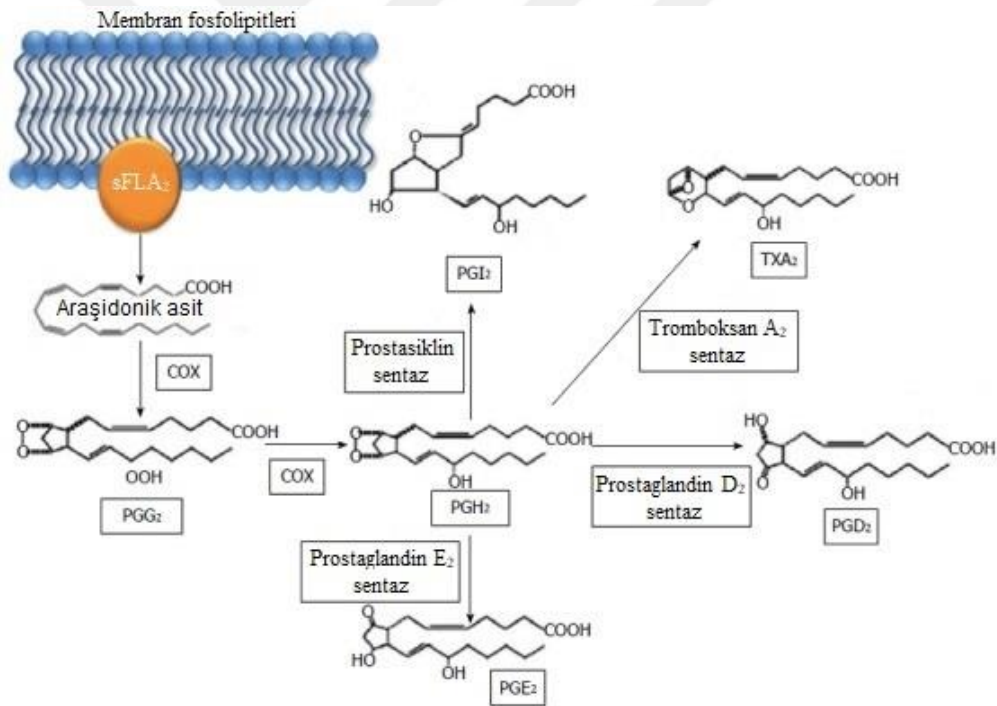
LBP ve çözünür CD14 (sCD14) serumda bulunur ve LPS'nin bazı konakçı hücrelerin yüzeylerinde glikozil-fosfatidilinositole bağlı bir reseptör olan membrana bağlı CD14'e (mCD14) transferini kolaylaştırır⁹⁴. mCD14 daha sonra LPS reseptörünün sinyal bileşeni olan TLR4 ile etkileşime girer. MD-2 olarak bilinen ve, hücre yüzeyindeki TLR4 ile fiziksel olarak ilişkili olan bir molekül, LPS'ye yanıtta aracılık

eder ve LPS'ye konakçı hücre yanıtlarını önemli ölçüde artırır⁹⁵. mCD14 ekspresyonu olmayan konakçı hücrelerde, bazı koşullar altında sCD14 bu reseptörün yokluğunu kısmen telafi edebilir⁹⁶. LPS, mCD14 reseptörüne (55 kDa) doğrudan bağlanarak hücre aktivasyonunu başlatabilirken, bunu nispeten düşük afinite ile yapar. LBP'ye bağlandığında, mCD14 reseptörü için afinitesi yüz kattan fazla artar⁹⁷. Normalde plazmada bulunan endojen bir akut faz glikoproteini olan LBP, LPS'yi hücrelerin yüzeyine getiren bir taşıyıcı protein olarak hizmet eder⁹⁷. Endotoksinin yokluğunda, LBP, mCD14 reseptörlerine bağlanmaz⁹³. Bu sinyal olaylarının sonucu, NFκB'nin nükleer translokasyonu ve transaktivasyonudur. Bu aktivasyon proenflamatuvar mediyatörlerin üretimine ve kostimülator moleküllerin artarak düzenlenmesine (yukarı doğru düzenleme, upregulation) yol açar.

LPS'nin neden olduğu sistitin olası mekanizmalarından birisi, bu endotoksinin, P maddesinin birincil reseptörleri olan bradikinin-1 (B1) ve nörokinin-1 (NK-1) gibi proenflamatuvar peptit reseptörlerinin regülasyonunu indüklemesidir⁹⁰. Nörofizyolojik faktörler açısından İS'li hastalarda da bir nöropeptid olan P maddesinin enflamasyonda etkin rol oynadığı belirtilmiştir. Substance P'nin vazodilatasyona, vasküler geçirgenliğin artmasına, mast hücrelerinden histamin salgılanmasına ve polimorfonükleer lökositlerin göçüne neden olduğu belirtilmiştir²³. Farelerdeki LPS ile indüklenen sistitte, NFκB kaskadı aktive olmaktadır⁹⁸. NFκB, immün yanıtta ve enflamatuvar süreçlerde yer alan birçok genin düzenlenmesinde rol alan bir pleiotropik transkripsiyon faktörüdür. İstirahat halindeki hücrelerde NFκB, I-κB(inhibitör kappa B) ailesinin inhibitör proteinleri ile birleşerek sitozole depolanır. TNF-α, LPS ve IL-1b gibi ajanlarla stimülasyon, fosforilasyon bağımlı I-κB'nin proteolitik bozunmasını başlatarak, aktif NFκB'nin çekirdek içine translokasyonuna neden olur ve tanımlanmış promotörlere bağlanarak transkripsiyonu indüklemesini sağlar. B1 reseptörünün, kininlerin kronik enflamasyondaki etkilerinde önemli bir rol oynadığı öne sürülür⁹⁹.

LPS'nin enflamatuvar hücrelerin toplanmasında, sitokin üretiminde, adezyon moleküllerinde, iNOS ve COX-2'de artışa yol açtığı düşünülmektedir. iNOS, NO üreterek pek çok enflamatuvar yanıtı neden olur. Bu nedenle, antienflamatuvar tedavideki önemli hedeflerden biri iNOS ekspresyonunu baskılayarak NO üretiminin inhibisyonudur¹⁰⁰.

Siklooksijenaz enzimi araşidonic asit metabolizmasında yer alır. Araşidonic asit membran fosfolipitlerinin hidrolizi ile salınır ve COX enzimi tarafından prostaglandinlerin sentezinde kullanılır¹⁰¹. COX enziminin iki tipi vardır. COX-1 yapısal, COX-2 indüklenebilir tiptir. COX-1 576 ve COX-2 587 amino asitten oluşmaktadır. COX-1'ler endoplazmik retikulum membranının yüzeyinde, COX-2'ler ise genellikle çekirdek membranında yerleşirler. COX-1 dokularda genellikle koruyucu etki gösterir. Trombosit agregasyonu ve homeostazis gibi fizyolojik koruyucu etkilere neden olur. COX-2 özellikle enflamasyon ve tümör mikroçevresinde sitokinler tarafından indüklenir¹⁰¹. COX-2 enziminin reaksiyonları sonucu oluşan prostaglandinler kızarıklık, ateş, şişlik, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi temel enflamatuvar bulgulara neden olur¹⁰². LPS gibi proenflamatuvar ajanlar, sitokinler, TNF'ler COX-2'nin ekspresyonuna yol açar¹⁰³.



Şekil 6. Prostaglandinlerin siklooksijenaz yoluyla sentezi¹⁰¹

LPS, hücre içi sitozolik fosfolipaz A₂ (sFLA₂) enziminin translokasyonu ve aktivasyonunu artırır. FLA₂ membran fosfolipitlerini hidrolize ederek araşidonic asidin oluşumunu sağlar. Araşidonic asidin siklooksijenaz ile metabolizasyonundan prostaglandinler meydana gelir. FLA₂ enzimleri dört gruba ayrılır. Bunlardan sekretuar

FLA₂ (secretory phospholypase A₂) katalizör olarak kalsiyuma ihtiyaç duyar, diğerleri kalsiyuma duyarlı sitozolik FLA₂ (cytosolic phospholypase A₂), kalsiyumdan bağımsız olan intraselüler FLA₂ (intracellular phospholypase A₂) ve kalsiyumdan bağımsız lipid mediyatörü olan trombosit aktive edici faktörü (TAF) ve okside fosfolipitleri hidrolize eden TAF asetilhidrolazlardır¹⁰⁴. Araşidonik asit metabolizmasında sFLA₂ önemli rol oynar. Büyüme faktörleri, mitojenler, vazoaktif peptitler, sitokinler, interferonlar gibi hücre dışı uyarılar trombositler, makrofajlar, nötrofiller, endotel hücreleri ve damar düz kas hücreleri gibi hücrelerde sFLA₂'nin aktivasyonuna neden olur¹⁰⁴. Bütün bunlar sistit patogeneze katkıda bulunur. Bu etkilerin çoğu, enflamasyonda ve mesanenin enfeksiyona yanıtlarında merkezi bir rol oynayan NFκB'ye bağlıdır. Epitel hücreleri, patojen girişine bir bariyer olarak işlev görmek için yanı sıra, sitokinler, kemokinler ve antimikrobiyal peptitlerin üretimi yoluyla konak savunmasında da aktif bir rol oynarlar.

Deneyisel sistit modellerinde LPS uygulanması sonrası incelenen histolojik mesane kesitleri, indüklenen enflamatuvar kaskad sürecine bağlı olarak çeşitli miktarlarda ödem, mitotik aktivite, düz kas hiperplazisi ve bu bölgeye enflamatuvar lökosit göçü olduğunu göstermiştir⁴⁰. Deneyisel modellerdeki bu histopatolojik bulgular interstisyel sistitli hastalarla örtüşmektedir⁴⁰. Bu nedenlerle bizim çalışmamızda da HP'nin mesane enflamasyonu üzerindeki koruyucu etkisini araştırmak üzere LPS ile indüklenen deneyisel sistit modeli kullanılmıştır.

2.6. *Hypericum perforatum*

Bitkiler yüzyıllardır tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadırlar. *Hypericum* türleri de sahip oldukları tıbbi açıdan önemli kimyasallar nedeniyle oldukça fazla ilgi çekmektedir. *Hypericum perforatum* (Şekil 7), *Hypericaceae* familyasının 469 alt türünden biri olup otsu bir bitkidir¹⁰⁵. *Hypericum perforatum* tarla, yol ve orman kıyılarında, tepeler ve çayırlar gibi pek çok yerde yetişebilen, temmuz ayından eylül ayına kadar çiçeklenen ve ülkemizde yetiştiği bölgeye göre sarı kantaron, kan otu, kılıç otu, mayasıl otu, yara otu, binbirdelik otu, kuzukıran otu¹⁰⁶ gibi adlara sahip bir bitkidir. Çiçeği sıkıldığında kırmızı renkli özünün akması nedeniyle kan otu olarak isimlendirilmiştir. Işığa tutulduğu zaman da yapraklarında delikli bir görünüm oluşması nedeniyle binbirdelik otu (*millepertuis perforé*) (şekil 8) olarak isimlendirilen

Hypericum perforatum yaklaşık 50-60 cm boya ulaşır. Ülkemizde Güneydoğu Anadolu, Marmara, Karadeniz, Ege, Doğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde görülmektedir. Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika’da yaygın yetişen bir bitkidir. İngilizce konuşan ülkelerde “St. John’s worth” (Aziz Yuhanna otu) olarak anılmasının nedeni, Aziz Yuhanna’nın doğum günü olan 24 Haziran’da çiçeklenmesidir¹⁰⁷. *Hypericum perforatum* ekstresi travma, yanık, romatizmal ağrılar, ağrı, gastroenterolojik şikayetler, idrar kaçırma, depresyon, ödem, enflamasyon, psikiyatrik rahatsızlıklar gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir. Antienflamatuvar, antispazmodik, sedatif, antiseptik, antidepresan, antioksidan, hepatoprotektif, yara iyileştirici ve diüretik etkileri bilinmektedir¹⁰⁸. Yapılan çalışmalarda bu bitkinin çok güçlü bir antienflamatuvar olduğu bildirilmiştir¹⁰⁹. Bir çalışmada kantaron uygulamasının LPS ile indüklenmiş COX-2 ve iNOS enzimlerini inhibe ettiği gösterilmiştir¹⁰⁹. Ayrıca kantaronun biyoaktif maddelerinden hiperforinin güçlü bir COX-1 ve 5-lipooksijenaz inhibitörü olduğu ortaya konmuştur ve kantaron uygulaması enflamasyonda rol oynayan prostaglandinin sentezini azaltmaktadır¹¹⁰.



Şekil 7. *Hypericum perforatum*.



Şekil 8. Millepertuis perforé.

2.6.1. *Hypericum perforatum* Ekstresi

Ekstre elde edilmesi, bitkinin uygun bir çözücüde çözülerek yoğunlaştırılması temeline dayanır. Yaklaşık 10-30 litre HPE elde etmek için bir ton sarı kantaron kullanmak gerekir. Yapısındaki biyoaktif maddelerin yıkımını önlemek için, bitkinin çiçek açtığı dönemde toplanarak kurutulması gereklidir. Metanol, etanol, propanol, aseton, etil asetat, n-heksan ve 2-propanol ekstraksiyon işlemi için kullanılan çözücülerden bazılarıdır¹¹.

Hypericum perforatum bitkisinin sarı çiçekleri etüvde 70°C’de 24 saat kurutulur. Parçalayıcı vasıtasıyla un haline getirilir. Daha sonra %80’lik etil alkol solüsyonu içerisinde bir gece çalkalayıcı üzerinde bekletildikten sonra filtre edilir. Alkolü evaporatör vasıtasıyla uçurularak ekstrenin son hali elde edilir.

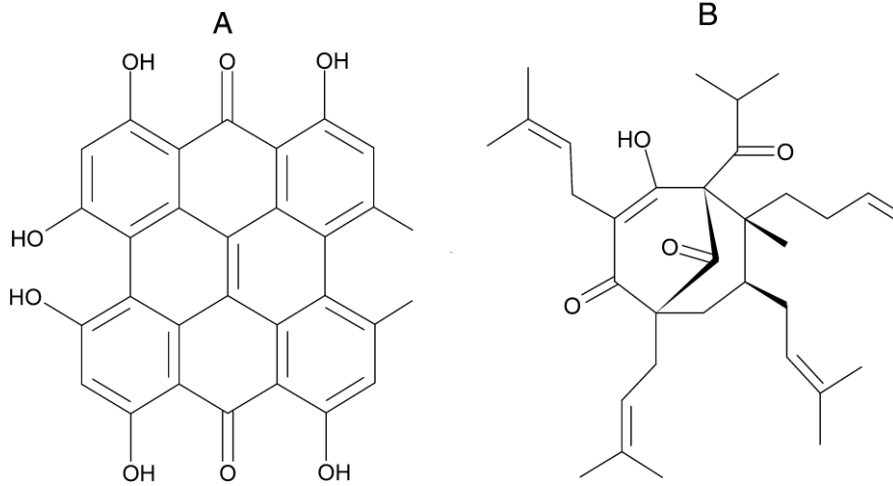
2.6.2. *Hypericum perforatum*'un Aktif Bileşenleri ve Etkileri

Hypericum perforatum'un yapısında birçok biyolojik aktif bileşik bulunmaktadır ve bu bileşikler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. *Hypericum perforatum*'un Aktif Bileşenleri

Naftodiantron türevleri	Floroglusinol türevleri	Biflavonlar	Flavonoidler	Diğer maddeler
• Hiperisin • Psödohiperisin • Protopsödohiperisin	• Hiperforin • Adhiperforin	• Biapigenin • Amentofla von	• Kuarsitrin • Kuarsetin • İzokuarsitrin • Rutin • Hiperozid	• Prosiyanidler • Tanenler • Uçucu yağlar • Ksantonlar • Aminoasitler • Fenilpropanlar • Vitaminler

HP'nin asıl aktif metabolitlerini naftodiantron türevlerinden hiperisin ve psödohiperisin, floroglusinol türevi olan hiperforin ve flavonoidler oluşturmaktadır¹¹².



Şekil 9. (A) Hiperisin ve (B) Hiperforin¹¹¹

Hiperforin COX-1 ve lipooksijenaz-5 enzimlerini inhibe ederek antienflamatuvar etkinlik gösterir⁴. Enflamasyon, ağrı, ateş, gibi olaylarda anahtar rol oynayan prostaglandin E₂ (PGE₂) lipid yapıda bir mediyatördür ve COX veya PGE₂ sentaz aktivitesi sonucu araşidonik asitten sentezlenir. Ayrıca hiperforin ve hiperisin, proenflamatuvar uyarılar sonucu etkinliği artan mikrozomal PGE₂ sentaz-1 enzimini de inhibe ederek PGE₂ üretimine engel olur. Hiperforin, trisiklik antidepresanlar (TCA) ve selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) ile benzer antidepresan özelliklere ve etkinliğe sahiptir⁴. Norepinefrin, dopamin, serotonin, GABA ve L-glutamat gibi nörotransmitterlerin geri alımını inhibe ederek sedatif, anksiyolitik ve antidepresan etkileri ortaya çıkarır¹¹³. HP'nin metabolitlerinden olan flavonoidler, kronik enflamasyonlarda lipopolisakkarit, sitokin ve P maddesi gibi enflamatuvar ajanlara maruziyet sonucu sentezi artan COX-2 ve iNOS enzimlerini inhibe ederek antienflamatuvar etkiyi katlar¹¹⁴. Hiperisin ise NFκB aktivasyonunu engellemektedir¹¹⁵. Bu sayede transkripsiyonu NFκB aracılığıyla regüle edilen IL-6 gibi enflamatuvar sitokinlerin düzeyi azaltılarak antienflamatuvar etki ortaya çıkar¹¹⁵.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi’den (ÇÜ-SABİDAM) elde edilen albino dişi fareler (n=24 ağırlık 30 g, 8 haftalık BALB/c) kullanılmıştır. Çalışma T.C. Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (04.07.2018 tarihli karar, toplantı sayısı 3 ve karar no 18).

Çalışmanın basamakları sistit indüksiyonu, kantitatif ölçümler ve sonuçların değerlendirilmesi şeklindedir.

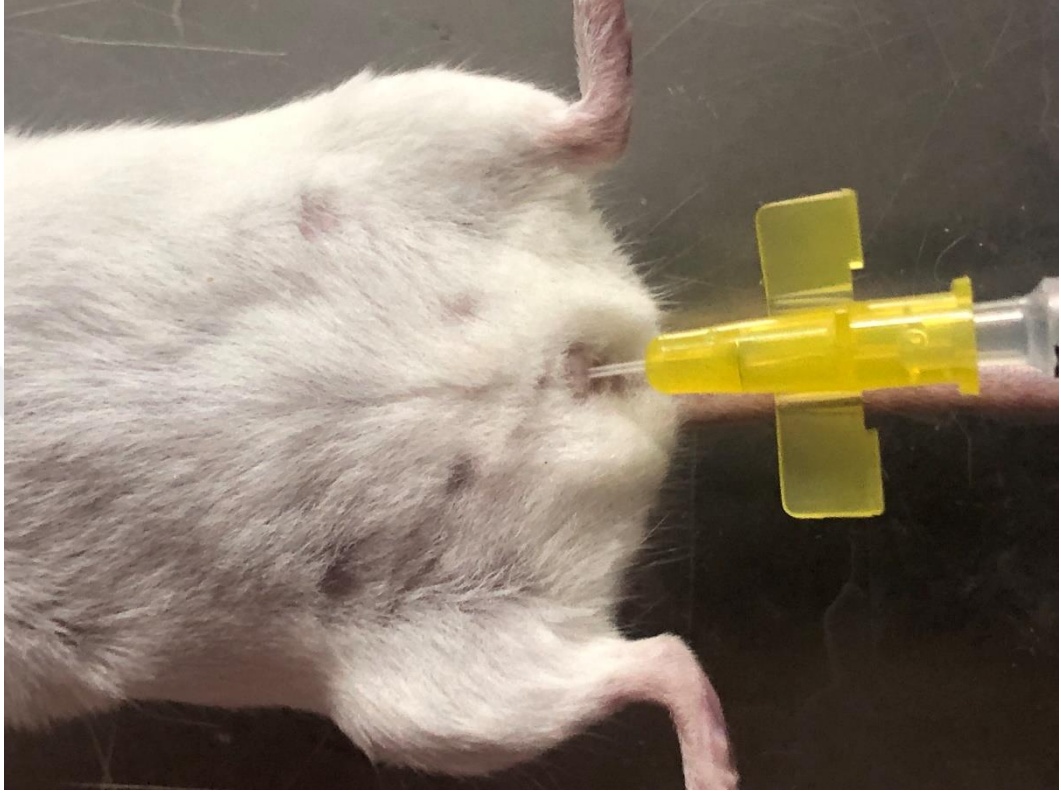
3.1. Sistit İndüksiyonu:

Deney fareleri üç gruba ayrıldı:

- 1- Kontrol grubu (n:8)
- 2- Sistit grubu (n:8)
- 3- Çalışma grubu (HP uygulanan sistit grubu) (n:8)

Farelere, ketamin HCl (40 mg/kg, im) ve ksilazin (2.5 mg/kg, im) ile anestezi uygulandı. Polipropilen kateter (24 gauge, 3/4 inç) transüretal olarak mesaneye yerleştirilip ilk idrar damlası görülüne kadar ilerletildi. Karın bölgesine hafif basınç uygulanarak idrar boşaltıldı. Kontrol grubunda mesaneye pirojensiz serum fizyolojik (%0.9), sistit ve HP uygulanan sistit gruplarında mesaneye 150 µl LPS (E.coli O111:B4-100 µg/ml) verildi. Travma ve vezikoüreteral reflüden kaçınmak için maddeler yavaş bir hızda infüze edildi (150 µl LPS 1.5 sn’de verildi, ortalama hız: 0.1 mL/sn). Ardından, kateterin ağzı kapatılarak 30 dakika boyunca geri akış veya sızıntı olmaması sağlandı. HP uygulanan sistit grubunda, intravezikal LPS ile sistit indüklenmeden önceki on gün boyunca, oral gavaj yoluyla günde tek doz 70 mg/kg HP uygulandı. LPS stimülasyonundan yirmi dört saat sonra fareler servikal dislokasyon ile kurban edildi ve hemen enjektör ile kalp boşluğuna girilerek kanları alındı. Karına

yapılan vertikal orta hat insizyonundan mesaneleri hızla çıkartılıp izole edildi ve ELISA deneylerinde kullanılmak üzere -80 °C'de Eppendorf tüpü içinde saklandı.



Şekil 10. Transüretral madde enjeksiyonu

3.2. Kantitatif Ölçümler

3.2.1. Doku Homojenizasyonu

Eppendorf içinde, -80 °C'de dondurulmuş dokuların üzerine gram başına üç ml RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) buffer, 30 µl PMSF (fenylmetanesulfonilfluoride), 30 µl sodyum vanadat, 30 µl proteaz inhibitörü eklendi ve ultrasonik parçalama cihazı ile dokular buz üzerinde parçalanarak homojenatlar elde edildi. Homojenatlar 10.000 RPM'de (revolutions per minute) 10 dakika santrifüj edildi. Altta çökeltiler (pelletler) atıldı. Üstte ayrılan kısımlar (süpernatantlar) ELISA testlerinde kullanılmak üzere alındı.

3.2.2. Protein Miktar Tayini

Homojenize edilmiş dokuların protein miktar tayini Bradford yöntemi ile yapıldı. Sığır serum albumini (1µg/ml) kullanılarak 1, 2, 3, 5, 7, 8, 10 (µg/ml) konsantrasyonlarda standart hazırlanıp her bir örnekten 10 µl alınarak distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. Standart ve örneklerin üzerine 1 ml Bradford solüsyonu eklenip vorteksle karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 595 nanometre dalga boyunda absorbans miktarları manuel olarak ölçüldü. Prism programında çizilen standart eğriye göre protein miktar tayini µg/µl cinsinden yapıldı.

3.2.3. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi

Homojenatlardan 100'er µl ELISA kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü alüminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp, yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip, 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip, 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek mesane dokusunda, COX-2, sFLA₂, iNOS enzimlerinin düzeyleri ve NFκB düzeyleri imalatçının talimatları doğrultusunda ELISA testi kitleri kullanılarak ölçüldü.

3.2.4. IL-6 ve TNFα Düzeylerinin Ölçümü

Her fareden yaklaşık 0,5 ml kan örneği alındı ve serum elde etmek için 3000 RPM'de 10 dakika santrifüj edildi. IL-6 ve TNFα'nın (Shanghai Sunred Biological Technology Co. Ltd) serum seviyeleri, imalatçının talimatları doğrultusunda ELISA testi kitleri kullanılarak ölçüldü.

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Enzim ve sitokin düzeyleri, ortalama ve standart sapmaları ile birlikte ($\pm$ SD) belirtildi. Grafiklerin izimi ve istatistiksel analiz için, bilgisayar ortamında Graph-Pad Prism (CA, USA) programı kullanıldı. İstatistiksel karşılaştırmalar için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc testi olarak Bonferroni kullanıldı. 0.05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

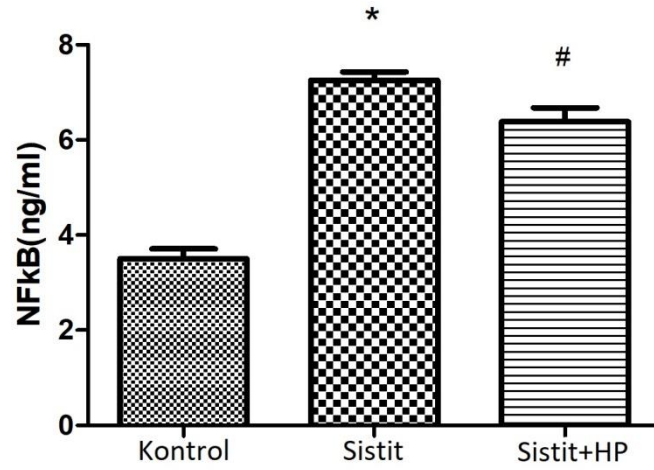


4. BULGULAR

4.1. Enzim Düzeylerinin Değerlendirilmesi:

4.1.1. NFκB Düzeyleri

Farelerde LPS uygulaması mesane dokusunda NFκB artışına neden olurken ($7,257 \pm 0,461$ ng/ml), HP uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı ($6,383 \pm 0,719$ ng/ml) (Şekil 11) (Tablo 3).

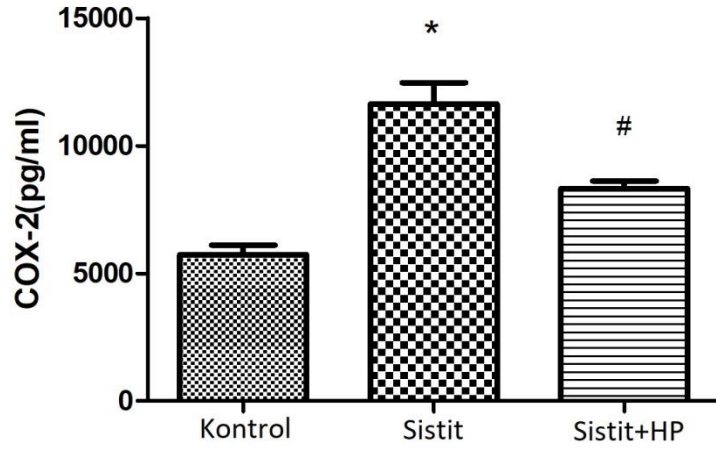


Şekil 11. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki NFκB düzeyine HP'nin etkisi (n=8)

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $p < 0,05$. #: LPS'ye göre $p < 0,05$)

4.1.2. Siklooksijenaz-2 Enzim Düzeyleri

Farelerde LPS uygulaması mesane dokusunda COX-2 enzim artışına neden olurken (11627 ± 2234 pg/ml), HP uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı ($8325 \pm 785,6$ pg/ml) (Şekil 12) (Tablo 3).

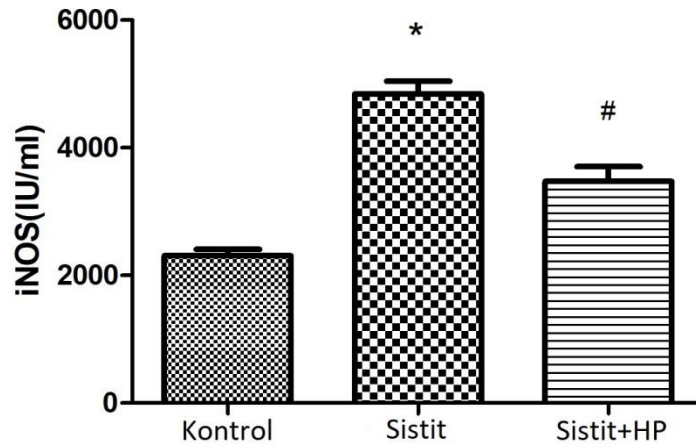


Şekil 12. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki siklooksijenaz-2 enzimine HP'nin etkisi (n=8)

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $p < 0,05$. #: LPS'ye göre $p < 0,05$).

4.1.3. iNOS Enzim Düzeyleri

Farelerde LPS uygulaması mesane dokusunda iNOS enziminin artışına neden olurken ($4845 \pm 524,4$ IU/ml), HP uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı ($3471 \pm 572,6$ IU/ml) (Şekil 13) (Tablo 3).

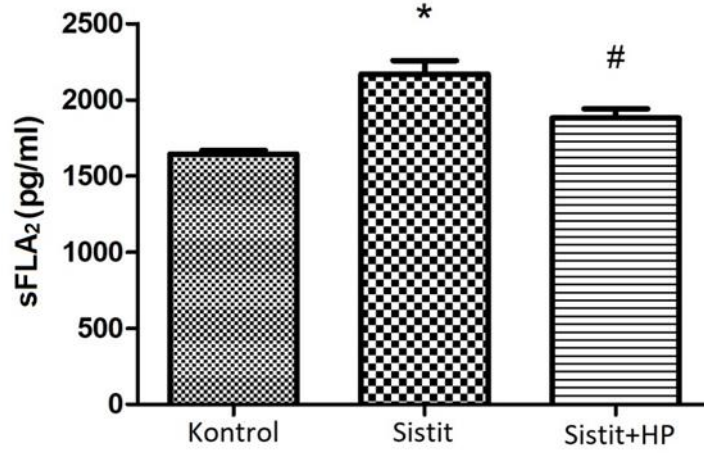


Şekil 13. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki iNOS enzimine HP'nin etkisi (n=8).

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $p < 0,05$. #: LPS'ye göre $p < 0,05$).

4.1.4. sFLA₂ Enzim Düzeyleri

Farelerde LPS uygulaması mesane dokusunda sFLA₂ enziminin artışına neden olurken (2167±221,2 pg/ml), HP uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı (1880±149,9 pg/ml) (Şekil 14) (Tablo 3).



Şekil 14. LPS uygulanan farelerin mesanelerindeki fosfolipaz A2 enzimine HP'nin etkisi (n=8)
İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre p<0,05. #: LPS'ye göre p<0,05)

Tablo 3. Kontrol, sistit ve HP + sistit gruplarının mesane dokularında enflamatuvar enzim ve mediyatör düzeyleri.

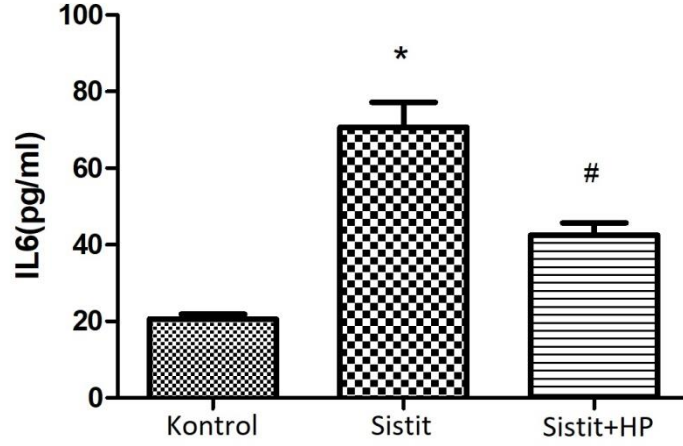
Enzim ve Mediyatörler	Kontrol	Sistit	Sistit + HP
COX-2 (pg/ml±SD)	5733(±919,6)	11627(±2234)*	8325(±785,6) #
sFLA ₂ (pg/ml±SD)	1642(±64,1)	2167(±221,2) *	1880(±149,9) #
iNOS (IU/ml±SD)	2309(±239,4)	4845(±524,4)*	3471(±572,6) #
NFκB (ng/ml±SD)	3,500 (±0,509)	7,257(±0,461)*	6,383(±0,719) #

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre p<0,05. #: LPS'ye göre p<0,05).

4.2. Sitokin düzeylerinin Değerlendirilmesi

4.2.1. IL-6 Düzeyi

Farelerde LPS uygulaması IL-6 düzeyinde artışa neden olurken ($70,71 \pm 17,10$ pg/ml), HP uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı ($42,50 \pm 7,81$ pg/ml) (Şekil 15) (Tablo 4).

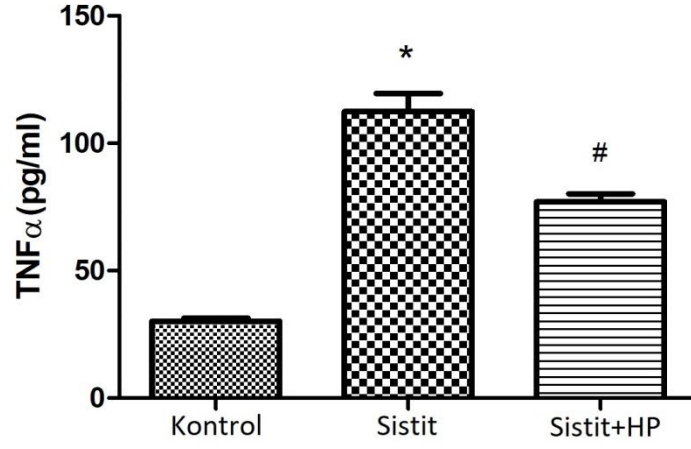


Şekil 15. LPS uygulanan farelerin IL-6 düzeyine HP'nin etkisi (n=8)

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $p < 0,05$. #: LPS'ye göre $p < 0,05$)

4.2.2. TNF α Düzeyi

Farelerde LPS uygulaması TNF α düzeyinde artışa neden olurken ($112,4 \pm 18,77$ pg/ml), HP uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı ($77,0 \pm 7,95$ pg/ml) (Şekil 16) (Tablo 4).



Şekil 16. LPS uygulanan farelerin TNFα düzeyine HP'nin etkisi (n=8)

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $p < 0,05$. #: LPS'ye göre $p < 0,05$)

Tablo 4. HP'in sistit kaynaklı IL-6 ve TNFα düzeylerine etkisi

Gruplar	IL-6 (pg/ml±SD)	TNFα (pg/ml±SD)
Kontrol	20,67(±2,87)	30,17(±3,18)
Sistit	70,71(±17,10)*	112,4(±18,77) *
Sistit + HP	42,50(±7,81)#	77,0(±7,95) #

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $p < 0,05$. #: LPS'ye göre $p < 0,05$).

5. TARTIŞMA

Mesaneenin enflamasyonu, birçok alt üriner sistem hastalığında ağrı, ani sıkışma, sıklık artışı gibi semptomların ortak patogeneğinde yer almaktadır. Bu enflamatuvar hastalıklara bakıldığında İS, bölgesel farklılıklar göstermekle beraber yüksek prevalansı ile özellikle genç kadın popülasyonda sıklıkla görülmektedir. Hastalığı önemli kılan diğer bir neden maliyettir. Kişi başı maliyetler yıllık dört ilâ yedi bin dolar arasında olabilir³¹. Hastalar sağlık problemleri nedeniyle çalışma sürelerini genel popülasyona göre altı kat fazla azaltmaktadır³².

Bütün bunlar ışığında, etkin bir tedavi gereksinimi doğmaktadır. Yeni tedavilerin insanlar üzerinde denenmesi mümkün ve etik olmadığından, deneysel olarak mesane enflamasyonu geliştirilen hayvan modelleri kullanılarak yeni tedaviler denenmektedir. Alt üriner sistem enflamasyonuna neden olan klinik bozuklukların hayvan modellerinde tipik olarak kemirgenler kullanılır. Alt üriner sistem enflamasyonunu araştırmak için hayvan modellerinin kullanımı, İS'nin altında yatan nedenlerin ve patogeneğinin tam anlamıyla anlaşılmamış olması nedeniyle karmaşıktır. Bu hastalığa neden olan faktörlerin net bir şekilde anlaşılamaması nedeniyle, hayvan modellerinin kullanıldığı çalışmaların sonuçlarının birebir İS ile sonuçlanan olayları özetlediğini kesin olarak belirtmek zordur. Ancak bu, hayvan modellerinin değersiz olduğu anlamına gelmez. İS etyopatogeneğinde mesane enflamasyonu önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle, hayvan modelleriyle gerçekleştirilen deneylerin bulguları, hastalarda semptomları hafifleten tedavilerin geliştirilmesinde önayak olacak sonuçlar vermiştir. Bunun bazı örnekleri arasında resiniferatoksin veya botulinum toksin A'nın intravezikal uygulanması yer alır.

Enflamatuvar süreç, İS'nin önemli bir etiyolojisi olduğu gibi hemorajik sistit, radyasyon sistiti veya kimyasal sistitler gibi pek çok sistitin patogeneğinde yer alır. Bu nedenle deneysel bir enflamasyon modeli oluşturulması önemlidir. Mesane enflamasyonuna neden olduğu hayvan deneyleri ile gösterilmiş çeşitli maddelerden aşağıda bahsedilecektir.

Kemirgenlerin CYP ile sistemik tedavisi, sistiti başlatmak için kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir¹¹⁶. Birder ve Andersson 2018 yılında yayımladıkları derlemede, CYP ile indüklenen sistitin insandaki İS için uygun bir modelleme olmadığını vurgulamışlardır¹¹⁷. Bunun nedeni intravezikal CYP'nin çok düşük dozda bile, kemirgenlerin mesanesinde ciddi harabiyete yol açması ve yoğun hemorajik bir sistite neden olmasıdır. Bu derlemede CYP ile sistit yapılacaksa düşük dozda uzun süreli maruziyet olması gerektiği de vurgulanmaktadır. Buna paralel olarak Vizzard ve ark. farelerde CYP'yi intraperitoneal yolla uygulayarak yaptıkları çalışmada mesane dokusunda enflamatuvar yanıtı 10 gün sonra elde edebilmişlerdir¹¹⁸. Bu enflamasyon ürotelyal hiperplazi içermesiyle İS histopatolojisinden uzaklaşır. Bu bilgiler ışığında CYP ile indüklenen sistitin insandaki İS için uygun bir modelleme olmadığı anlaşılmaktadır.

CYP, etkisini metaboliti olan akrolein üzerinden yapmaktadır. Akrolein reaktif oksijen türevlerinin (ROT) miktarını artırarak NFκB'nin çekirdeğe girmesine izin verir ve TNFα ile IL-11 gibi proenflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerin transkripsiyonuna yol açar. Akroleinin etki mekanizmasında yer alan TNFα ve NFκB, bizim çalışmamızda da ölçümü yapılan belirteçler arasındadır. Bu nedenle sonuçlarımızın CYP ile indüklenen sistit türünü de ilgilendirdiğini düşünmekteyiz.

Saban ve ark. *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) ile farelerde sistit yapmışlardır¹¹⁹. BCG *Mycobacterium bovis* suşundan hazırlanan, tüberküloza karşı aşı olarak kullanılan, sonraları kasa invaze olmayan mesane kanserini tedavi etmek amacıyla intravezikal olarak verilmeye başlanan bir ajandır. Saban ve ark. BCG'nin enflamatuvar etkinliğini araştırmak için BCG'yi, aynı amaçla sıkça kullandıkları ve özelliklerini bildikleri LPS ile kıyaslamışlardır. LPS'ye göre daha güçlü bir enflamatuvar yanıt elde edilmiş ve ek olarak granülomlar oluşmuştur. Oluşan bu enflamasyonun geri dönüşümsüz olabileceği belirtilmiştir¹¹⁹. Bu nedenle koruyucu maddelerin etkinliğini ölçmek isteyen çalışmalar için ideal bir sistit modeli olmayabilir. Koruyucu maddelerin etkinliğinin araştırılacağı ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yukarıda CYP sistiti konusunda değinildiği gibi bazı modeller, neden olunan sistitin ciddiyetinin çok şiddetli olduğu durumlarda, potansiyel terapötik müdahalelere verdiği yanıtta ince farklılıkları değerlendiremeyecek kadar büyük doku hasarı ve enflamasyona neden olabilir. Bu nedenle, mesane iltihabının veya çeşitli müdahalelere

yanıtın altında yatan mekanizmaları araştırmak için sistit modelleri seçilirken, indüklenen enflamasyonun yoğunluğunun dikkate alınması gerekmektedir¹⁴. Doku hasarı aşırı düzeyde değil yeterli enflamatuvar yanıt oluşturacak şekilde olmalıdır. Bu amaçla LPS, deneysel sistit oluşturmak için sıkça kullanılan ve yeterli bir enflamatuvar yanıt oluşturduğu birçok kez kanıtlanmış bir maddedir. Mesane enflamasyonu oluşturmak için en yaygın olarak *E. coli* LPS'si, mesaneye verilmektedir^{51, 120}. Kronik sistit hastalarının üçte birinde başlangıçta akut üriner trakt enfeksiyonu saptanması ve kronikleşen enflamatuvar yanıtı neden olan bakteriyel etyolojide LPS'nin önemli rol oynadığı düşünülmüş LPS'nin deneysel sistit indüklemek amacıyla kullanılabileceği fikrini güçlendirmiştir¹²¹.

Jerde ve ark.¹²⁰ fare mesanesine intravezikal yolla LPS uygulamışlardır. Sonrasında histopatolojik olarak yaptıkları incelemede ödem, lökosit infiltrasyonu ve kanama gibi enflamatuvar bulguları önemli ölçüde artmış bular da çalışmaları, kantitatif ölçümler olmaması yönünden eksikti. Wang ve ark. ise LPS ile indüklenen sistiti kantitatif olarak ölçmeyi amaçlamışlardır¹²². Enflamatuvar kaskadların ortak yolağı olduğu bilinen NFκB düzeyini ölçmüşlerdir. İntravezikal LPS uygulanması sonrası mesane dokusundaki NFκB düzeyinin anlamlı ölçüde arttığını ortaya koymuşlardır¹²². Bu çalışmanın kantitatif ölçüm yapılmış olmasının yanında diğer bir önemli noktası, NFκB düzeyinin arttığını göstererek, antienflamatuvar tedavide hedeflenecek moleküle de işaret edilmiş olmasıdır. Bu da koruyucu madde seçiminde NFκB düzeyini azaltabilecek bir ajana yönelmeyi sağlamıştır. Bu nedenlerle ve ekibimizin LPS ile indüklenen sistit konusunda deneyimli olması nedeniyle biz de çalışmamızda LPS ile indüklenen sistit modelini tercih ettik.

E. coli LPS'si sistit modeli oluşturmak amacıyla farklı yollarla verilebilmektedir. Farelerde ve sıçanlarda intravezikal instilasyonla lokal olarak verilebileceği gibi intraperitoneal veya intravenöz enjeksiyonla sistemik olarak da uygulanabilir⁵¹. Bu uygulama yollarını, birbiriyle doğrudan karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki birçok çalışmada^{88, 90, 123-126} LPS'nin intravezikal olarak güvenle uygulanması ve anlamlı enflamasyon elde edilmesi nedeniyle biz de çalışmamızda LPS'yi intravezikal yolla uyguladık.

LPS mesane duvarını geçerek, lenfatiklere veya kan damarlarına girebilir ve sonuçta lokalize bulguların yanı sıra sistemik bulgular da ortaya çıkabilir¹²⁴. Böylelikle

intravezikal LPS uygulamasının oluşturduğu enflamatuvar yanıt, mesane dokusundan yapılan kantitatif ölçümlerle veya serumda yükselmesi olası belirteçlerin düzeyinin ölçülmesiyle saptanabilir. Bu nedenle çalışmamızda hem serumda hem de dokuda ölçümler yaptık.

Kaplan ve ark.'nın farelerde intravezikal LPS uygulayarak yaptıkları çalışmada enflamasyonun serumdaki belirteçleri olan IL-6 ve TNF α düzeylerini artmış olarak bulmaları LPS'nin sistemik etkilerini ortaya koymaktaydı¹⁰³. Bu nedenle çalışmamızda enflamasyonun önemli iki serum belirteci olan IL-6 ve TNF α düzeylerini ölçtük.

Mesane dokusunda ise Wang ve ark.'nın LPS'ye bağlı enflamatuvar yanıtın oluşmasında katkısını gösterdiği NF κ B, aynı zamanda verilecek tedavi için de hedef molekül olmuştur. Bu nedenle çalışmamızda NF κ B düzeyini ölçtük. Koruyucu maddemizin etkinliği araştırmak amacıyla, günümüzde kullanılan pek çok antienflamatuvar ajanın hedefindeki enzim olan COX-2 ölçümü çalışmamıza dahil edildi. COX-2 enzimi araşidonik asitin metabolizmasından sorumludur. Membran fosfolipitlerinden araşidonik asitin sentezinden sorumlu enzim FLA₂'dir. Araşidonik asit metabolizmasının FLA₂ düzeyinde bloke edilmesinin antienflamatuvar etki sağlayacağı bilinmektedir (en yaygın bilinen inhibitörü kortikosteroidler). Bu nedenle tedavinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla bu enzim düzeyine çalışmamızda bakıldı. Enflamatuvar yanıtın başlangıcında vazodilatasyon, vasküler permeabilitede artış gibi bölgesel etkilerin oluşumunda NO önemli yer tutar. NO aynı zamanda serbest oksijen radikallerinin de oluşumunu artırarak doku hasarı ve enflamasyonu şiddetlendirir. NO oluşumunu sağlayan iNOS enziminin inhibe edilmesi tedavinin etkinliğinde önemli bir bulgudur. Bu nedenle çalışmamızda iNOS enzim düzeyine baktık.

H. perforatum'un yapısında bulunan birçok maddenin antienflamatuvar etkinliği bilinse de mesane enflamasyonunda etkileri üzerine kapsamlı bir deneysel çalışma bulunmamaktadır. Yapısında bulunan bir flavonoid olan kuersetin kullanılarak, yapılan bir çalışmada kuersetinin mesane enflamasyonu üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Okasha ve Bayomy farelerde stres ile İS oluşumunu indüklemişlerdir¹²⁷. Ortaya çıkan mesane enflamasyonu mikroskobik olarak incelenmiş ve koruyucu madde olarak kuersetin verilen grupta histopatolojik olarak enflamasyon bulgularının belirgin düzeyde daha az olduğu görülmüştür¹²⁷. Ancak kuersetinin başka pek çok bitkide de bulunması nedeniyle bu çalışma *H. perforatum*'a özgü olmamıştır. Aynı zamanda

sadece histopatolojik inceleme yapılması ve enflamasyonun biyokimyasal belirteçlerini ölçmemesi bu çalışmanın zayıf yönüdür.

HPE'nin yapısında bulunan flavonoidlerin, COX-2 ve iNOS enzimlerinde inhibisyona neden oldukları gösterilmiştir. NFκB , immün ve enflamatuvar olayların modülasyonunda rol oynayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür ve proenflamatuvar sitokinlerin, COX-2 ve iNOS enzimlerinin, hücre adezyon moleküllerinin, büyüme faktörlerinin, akut faz proteinlerinin ve çeşitli transkripsiyon faktörlerinin gen ekspresyonunu kontrol etmektedir. TNFα ve hidrojen peroksit gibi oksidan maddeler başta olmak üzere NFκB'yi uyararak enflamatuvar reaksiyon zincirini başlatmaktadır.

Bork ve ark. *H. perforatum*'dan hiperisini izole ederek antienflamatuvar etkinliğini araştırmışlardır¹¹⁵. Bir grupta serbest oksijen radikalleri ile NFκB düzeyi artırılmış, diğer grupta TNFα uyarımı ile NFκB düzeyi artırılmıştır. Hiperisinin sadece TNFα ile uyarılan NFκB aktivasyonunu engellediği bu çalışmada gösterilmiştir. LPS ile indüklenen sistitte NFκB artışının tümüyle TNFα artışına bağlı olup olmadığını ortaya koyan bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak LPS uyarımı ile her ikisinin de artışı bilindiğinden HPE'nin bu sistitte bahsi geçen belirteçlerin düzeyini azaltabileceğini düşündük. Bu bilgiler ışığında HPE'nin LPS ile indüklenen sistit üzerine koruyucu etkisinin olabileceği düşüncesiyle hayvan deneyimizdeki koruyucu madde olarak HPE'yi tercih ettik. HPE'nin mesane enflamasyonu üzerine koruyucu etkisini biyokimyasal belirteçler üzerinden değerlendirmesi açısından çalışmamız literatürdeki ilk çalışma olarak dikkati çekmektedir.

Literatürde sistit dozu ve uygulama şekliyle ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır^{51, 98, 115, 120, 128, 129}. Bjorling ve ark. intravenöz yolla 0,1 ml (2 mg./ml) uygulamışlardır⁵¹. Saban ve ark. intravezikal yolla 150 µl (100 µg/ml) dozunda LPS uygulamışlardır. Kaplan ve ark. da aynı metodla anlamlı enflamasyon elde etmişlerdir. Wang ve ark. intravezikal yolla aynı dozu yarım saat arayla iki kez tekrar etmişlerdir. Kaplan ve ark. ile Bjorling ve ark. intravezikal yolla ve tek seferlik uygulama ile yeterli enflamatuvar yanıt elde etmiş olduklarından bu yöntemi tercih ettik. HPE ile terapötik bir etki sağlamak için gereken minimum doz bilinmemektedir¹³⁰. İnsanda oral dozu 500-650 mg/gün arasında değişir. Hammer ve ark. yaptıkları çalışmada, fare ayağında oluşturdukları ödem ve enflamasyon için farelere gavaj yoluyla 50-300 mg/kg dozlarında HPE vermişlerdir¹³⁰. Doza bağımlı olarak tüm dozlarda ödem ve

enflamasyonda gerileme saptamışlardır¹³⁰. Kaplan ve ark. çalışmalarında oral yolla 70 mg/kg doz uygulayarak anlamlı antienflamatuvar etkinlik sağlamışlardır. Biz de çalışmamızda bu yöntemi kullandık.

Yukarıda belirtildiği gibi, TNF α ve IL-6 serum düzeyleri ölçülerek çalışmamızda değerlendirildi. Bunların yanı sıra mesane dokusunda COX-2, sFLA₂, iNOS, NF κ B düzeyleri ölçüldü.

NF κ B enflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Mesanedeki enflamatuvar yanıt sitokinler, kemokinler, enzimler, reseptörler ve adezyon molekülleri gibi enflamatuvar proteinleri kodlayan genlerin NF κ B aracılığıyla artan ekspresyonundan kaynaklanmaktadır¹³¹. Bu genler, hücre dışı uyarılarla aktive olan transkripsiyon faktörlerinin promotor bölgelerine bağlanmasıyla indüklenir. Bu enflamatuvar genlerin düzenlenmesinde birçok transkripsiyon faktörü yer alsa da, NF κ B özel bir öneme sahip gibi görünmektedir¹³². Wang ve ark. o güne kadar birçok enflamatuvar yolda rol oynadığı ispat edilmiş olan NF κ B'nin LPS ile indüklenen sistitteki yerini araştırmak için bir çalışma dizayn ettiler⁹⁸. Bu amaçla farelere intravezikal LPS uyguladılar. Bunu takiben bakılan NF κ B düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığı ortaya kondu. Bu son derece önemli bir bulguydu. Çalışma histopatolojik olarak da enflamasyonu doğrulamakla birlikte NF κ B düzeylerindeki artışı göstermesi en önemli bulgusuydu. Bu sayede bundan sonraki deneylerde NF κ B kaskadı tedavi hedefi olmuştur. Çalışmada bir diğer gruba NK-1 inhibitörü olan laktasistin verilmiş olup bu grupta NF κ B düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu bulgu LPS'nin etkinliğinin NK-1 üzerinden olduğunu ortaya koyup patogeneziyle ilgili bilgi vermesi açısından değerlidir. NF κ B artışının HPE'nin bir bileşeni olan hiperisin etkisiyle inhibe edilebildiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir¹¹⁵. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak HPE uygulanan grupta NF κ B düzeylerinin anlamlı ölçüde azaldığı gösterildi. Abdel ve ark. İS'li hastalarda yaptıkları çalışmada, İS'li hastaların mesanelerinden alınan dokularda, NF κ B düzeyinin yoğun olduğunu saptamışlardır¹³³. Fare deneyi insandaki etyolojileri tümüyle karşılamasa da ortak bir enflamatuvar yolağın saptanması modelleme açısından değerli görülmektedir. Bu veriler ışığında çalışmamız HPE'nin, İS'li hastalarda kullanılabilmesi açısından ümit vericidir.

iNOS, aktive makrofajlarda önemli bir enflamatuvar mediyatör olan NO üretimini artırır. Buna bağlı olarak artan ROT'lar doku hasarına aracılık etmektedir. Bu nedenle,

iNOS ekspresyonunun baskılanmasıyla NO üretiminin inhibisyonu, enflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli bir hedeftir. Bu nedenle çalışmamızda düzeyini değerlendirdiğimiz enzimlerden birisidir. Ren ve Chung sıçanlardan elde edilen makrofaj hücre hattı üzerinde yaptıkları çalışmada LPS uygulanması sonrası iNOS üretiminin arttığını gösterdiler¹³⁴. Çalışma her ne kadar LPS'nin iNOS düzeyini artırdığını gösterse de canlı dokuda yapılmaması zayıf yönüydü. Kaplan ve ark.'nın çalışmasında intravezikal LPS uygulanması sonucu iNOS enzim düzeylerinde artış olduğu ortaya koyulmuştur¹⁰³. Bu çalışma mesane dokusundaki iNOS artışını göstermesi açısından değerlidir. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak LPS verilen grupta iNOS düzeyi anlamlı oranda artarken, HPE uygulanan grupta anlamlı düzeyde düştüğü gösterilmiştir. Bulgularımız literatürde HPE'nin antienflamatuvar etkiyle iNOS düzeyi üzerine azaltıcı etkilerini gösteren çalışmaları^{3, 109, 135} destekler niteliktedir.

HPE'nin iNOS enzim düzeylerine etkisini değerlendiren çalışmalar mevcuttur^{135, 136}. Paterniti ve ark. farelerde diş etinde oluşturdukları enflamasyonda HPE uygulayarak iNOS düzeylerini düşürmüşlerdir¹³⁵. Bu çalışmanın bulguları HPE'nin antienflamatuvar etkinliği açısından fikir verse de mesane enflamasyonundaki etkisi konusunda bilgi vermemektedir. Tedeschi ve ark. alveolar hücre kültürü üzerinde yaptıkları çalışmada HPE ile iNOS enzim inhibitörünü karşılaştırmışlar ve benzer bulgular elde etmişlerdir¹³⁶. iNOS enzim inhibitörü ile yakın sonuçlar bulunması HPE'nin etkinlik düzeyi açısından değerli bir bulgudur. Çalışmamızda mesane dokusundaki iNOS düzeylerinin ölçülmesi, HPE'nin mesanedeki etkinliğini göstermesi açısından değerlidir. Bulgularımızı HPE'nin insanda kullanımı adına değerli kılan bir diğer çalışma Logadottir ve ark.'nın çalışmasıdır. İS/MAS hasta gruplarından alınan mesane biyopsilerinde, yüksek NO seviyelerini ve bunun altında yatan iNOS artışını ortaya koymuşlardır¹³⁷. Bu bulgu hayvan modelimizin insan hastalara benzer sonuçlar göstermesi açısından önemlidir.

COX-2 enflamatuvar metabolitlerin sentezinde görev alan bir enzim olarak çalışmalarda sıklıkla değerlendirilmiştir³. Raso ve ark. in vivo ve in vitro ayakları olan çalışmalarında önce in vivo olarak HPE'nin iki farklı dozunu indometazin ile karşılaştırmışlar, sonra in vitro olarak HPE'nin COX-2 düzeyine etkisini araştırmışlardır³. Çalışmanın in vivo kısmında farelerin ayağında enflamasyon oluşturup bir gruba 30mg/kg HPE, bir gruba 100 mg/kg HPE ve diğer bir gruba indometazin

vermişlerdir. HPE'nin 100 mg/kg dozda indometazin ile benzer etkinlik gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışma HPE'nin iki farklı dozunu karşılaştırması ve indometazin ile benzer etkinlik gösteren dozu belirlemesi açısından önemlidir. Çalışmanın in vitro kısmında, önceden koruyucu olarak HPE veya indometazin verilmiş farelerin makrofajları LPS ile muamele edilip COX-2 düzeyleri ölçülmüştür. COX-2 düzeyi HPE ve indometazin verilen gruplarda benzer oranda ve anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır. HPE'nin önemli bir COX-2 inhibitörü olan indometazin ile benzer etkinliğe sahip olması çalışmadaki önemli bir noktadır. Bizim çalışmamızda HPE verilen grupta COX-2 düzeyi anlamlı oranda düşük bulunmuştur ve bu bulgu literatürdeki HPE'nin COX-2 enzim düzeyleri üzerine azaltıcı etkisiyle uyumludur.^{3, 109}. Öte yandan bizim çalışmamız, Raso ve ark.'nın in vitro ortamda elde ettikleri HPE ile COX-2 ilişkisini in vivo ortama taşıyarak, HPE'nin COX-2 düzeyi üzerine etkisini kantitatif ölçümle göstermiştir.

LPS uygulamasının, bu çalışmada değerlendirdiğimiz diğer bir enzim olan sFLA₂ düzeyini arttırdığı gösterilmiştir¹³⁸. Çalışmamızda mesane dokusundaki sFLA₂ düzeyleri LPS uyarımı ile anlamlı düzeyde artmıştır. HPE'nin sFLA₂ düzeyini düşürerek antienflamatuvar etki yaptığını gösteren çalışmalar mevcuttur^{109, 139, 140}. Kim ve ark. epidermal sFLA₂'nin HPE'nin önemli bir bileşeni olan flavonoidler tarafından anlamlı düzeyde inhibe edildiğini göstermişlerdir¹⁴⁰. Hammer ve ark. HPE'nin bileşenleri olan naftodiantron, biflavonlar ve flavonoidlerden yaptıkları karışımla, LPS ile makrofajlarda indükledikleri sFLA₂ artışını anlamlı düzeyde azaltmışlardır¹⁴¹. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak HPE'nin, LPS etkisiyle artan sFLA₂ düzeyini anlamlı düzeyde azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamız HPE'nin mesane dokusundaki sFLA₂ üzerine etkisini göstermesi açısından değerlidir.

HPE'nin yapısında bulunan flavonoidler sayesinde potansiyel bir antioksidatif özelliği vardır¹⁴². Reus ve ark. sıçanlarda yaptıkları çalışmada HPE'nin antioksidan etkisini ortaya koymuşlardır¹⁴². LPS'nin oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir¹⁴³. Sokołowska ve ark. LPS ile sıçan striasında enflamasyon oluşturmuş ve serbest radikal düzeylerinin yükseldiğini ortaya koymuşlardır¹⁴³. Artan oksidatif strese bağlı hücre içinde artan kalsiyum seviyesi sFLA₂ enziminin aktivitesinde bir artışa yol açar¹⁴⁴. Bu bilgiler ışığında, antioksidan etkisi olan HPE'nin oksidatif stresle yükselen sFLA₂ düzeyinin azalmasına katkısı olacağı düşünülebilir. Buna ek olarak bu oksijen

radikalleri NFκB gibi transkripsiyon faktörlerini modüle ederek de enflamatuvar sürece katkı sağlar. Bu açıdan da oksijen radikallerinin azaltılması antienflamatuvar etkiyi güçlendirmektedir. HPE'nin, antioksidan özelliğinin de antienflamatuvar etkiye katkı sağladığı söylenebilir¹⁴⁵. Bu iç içe geçmiş antienflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin altında yatan mekanizmayı net olarak açıklamak güç olsa da, bu kombine etkiler HPE'yi güçlü bir tedavi edici ajan haline getirmektedir.

Enflamasyonun önemli birer serum belirteci olan TNFα ve IL-6'nın LPS ile indüklenen sistitte yükseldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur^{88, 103, 129}. Kaplan ve ark. (2017) intravezikal LPS uygulaması sonrası TNFα ve IL-6 seviyelerini serumda değerlendirmişlerdir. Serumdaki miktarları anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, hem enflamatuvar yanıtı göstermesi hem de lokal uygulanan LPS'nin sistemik etkisini göstermesi açısından değerlidir. Li ve ark. ise intravezikal LPS uygulanması sonrası TNFα ve IL-6 düzeylerini direkt mesane dokusunda ölçmüş ve yüksek bulmuşlardır¹²⁹. Bizim çalışmamızda, Li ve ark.'dan farklı olarak TNFα ve IL-6 serum düzeylerini ölçtük. Enflamasyonun hem lokal hem de sistemik bulgularını değerlendirmek açısından serumda ve dokuda farklı enflamatuvar belirteçlere baktık. Kaplan ve ark. da aynı şekilde serumda TNFα ve IL-6 düzeylerini, mesane dokusunda COX-2, sFLA2, iNOS, NFκB düzeylerini değerlendirmişler ancak koruyucu madde olarak alfa linoleik asit kullanmışlardır. Çalışmamızda ise farklı olarak HPE kullanılmıştır. Okasha ve Bayomy HPE yapısında bulunan bir flavonoid olan kuersetin kullanılarak bu maddenin mesane enflamasyonu üzerindeki koruyucu etkisini araştırmışlardır¹²⁷. Bu çalışma, kuersetinin başka pek çok bitkide bulunması nedeniyle *H. perforatum*'a özgü olmamıştır. HPE'nin mesane kontraksiyonları üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada Ganabathi ve ark. asetik asit ile indükledikleri sistitte bir gruba koruyucu madde olarak HPE vermişlerdir. HPE'nin, asetik asite bağlı oluşan kontraksiyonları azalttığını bulmuşlardır¹⁴⁶. Bu çalışma HPE kullanması açısından bizim çalışmamıza benzemekle birlikte, HPE'nin sadece mesane kontraksiyonları üzerine etkisini değerlendirmiş, antienflamatuvar etkinliğini ölçmemiştir. Bu nedenle, çalışmamızın HPE'nin sistit üzerine etkinliğini enflamatuvar belirteçler düzeyinde değerlendiren literatürdeki ilk çalışma olması dolayısıyla önemli olduğunu düşünmekteyiz.

TNF α sistemik enflamasyonda yer alan bir hücre sinyal proteinidir ve akut faz reaksiyonunu oluşturan sitokinlerden biridir. Birçok hücre tipi tarafından üretilmesine karşın, esas olarak aktif makrofajlarca üretilir. TNF α hipotalamusta yaptığı etkiyle ateş oluşumunu sağlarken, karaciğerde C-reaktif protein (CRP) ve diğer bazı araçlarda bir artışa yol açan akut faz yanıtını uyarır. Nötrofiller için güçlü bir kemoatraktan olarak, endotelial hücreler üzerinde yapışma moleküllerinin ekspresyonunu kolaylaştırarak nötrofillerin göç etmesine yardımcı olur. Makrofajlarda fagositozun uyarılması, oksidanların ve enflamatuvar lipid olan PGE₂ üretiminin uyarılması gibi etkileri vardır. Böylesi sistemik etkileri nedeniyle TNF α düzeyinin azaltılması güçlü bir antienflamatuvar etki oluşturmaktadır. HPE'nin TNF α düzeylerini azaltıcı etkisi bilinmektedir. El-Bakly ve ark. yaptıkları çalışmada üç gruba ayırdıkları bilateral ooforektomize sıçanlara 125mg/kg/gün, 250 mg/kg/gün ve 500 mg/kg/gün olmak üzere üç farklı dozda HPE vererek TNF α düzeylerini ölçmüşlerdir¹⁴⁷. TNF α düzeylerinde HPE dozuna bağlı olarak anlamlı oranda azalmalar saptamışlardır. Çalışmanın önemi hem yanıtı ortaya koyması hem de bu yanıtın doz bağımlı olduğunu göstermesidir. Bizim çalışmamızın dizaynı etkinlik belirlemeye yöneliktir ve HPE'nin farklı dozları karşılaştırılmamıştır. Buna karşın çalışmada kullanılan dozun enflamasyon belirteçlerini azaltmada etkili olduğunu göstermesi, literatüre katkı sağlayabilir.

Bork ve ark. hiperisinin, TNF α uyarısıyla artan NF κ B düzeylerini azalttığını saptamışlardır¹¹⁵. NF κ B'nin enflamatuvar süreçteki önemine bu tezde sıklıkla değinilmiştir. Bu açıdan HPE'nin TNF α düzeyini düşürmesi dolaylı yoldan antienflamatuvar etki ortaya çıkarmaktadır. Çalışmamızda sistit grubunda TNF α düzeyinin anlamlı düzeyde artması enflamasyonla uyumlu olup, koruyucu olarak HPE verilen grupta düzeyinin düşmesi antienflamatuvar etkinliği göstermektedir.

HPE'nin IL-6 düzeyini azaltarak antienflamatuvar etki ortaya çıkardığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir^{148, 149}. Xiuying ve ark. influenza A virüsüne maruz bıraktıkları fareleri HPE ile tedavi ederek IL-6 düzeylerine baktılar¹⁴⁹ ve anlamlı düşüş olduğunu saptadılar. Bu çalışma HPE'nin IL-6'yı düşürücü etkisinin, farklı patojenlerin neden olduğu enflamasyonlarda da ortaya çıktığını göstermiştir. Çalışmamızda da LPS uygulanması sonrası artan IL-6 düzeyinin, HPE verilen grupta önceki çalışmalarla uyumlu olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.

Çalışmamızda hayvan sistit modeli yapılmış ve sadece gram negatif bakterilerin duvar yapısında bulunan LPS kullanılmıştır. Burada LPS'nin enflamasyonu uyarıcı etkisinden yararlanılmış ve anlamlı bir enflamatuvar yanıt elde edilmiştir. Ancak tüm deneysel sistit modellerinde olduğu gibi çalışmamızda oluşturulan modeli de insanlardakiyle birebir örtüştürmek mümkün değildir. Koruyucu madde olarak kullandığımız HPE'nin enflamatuvar belirteçleri anlamlı düzeyde azaltması, başta İS olmak üzere mesane enflamasyonunun eşlik ettiği hastalıklarda kullanılabilmesi açısından ümit vericidir. Çalışmamız güçlü bir antienflamatuvar olduğu bilinen HPE'nin mesane enflamasyonuna etkisini araştırması açısından yeni ve değerlidir.

Bu çalışmanın sonuçlarından hareketle, HPE'nin insanlardaki enflamatuvar mesane hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği düşünülebilir.

İS hastalarındaki ağrı yakınması sinir uçlarında ortaya çıkan enflamasyondan kaynaklanmaktadır. Bu enflamasyon nörojenik enflamasyon olarak adlandırılmaktadır. LPS ile indüklenen deneysel sistit modellerinde de buna benzer enflamatuvar yanıt olduğu gösterilmiştir¹²⁴. HPE'nin antienflamatuvar etkisinin, İS hastalarındaki ağrı yakınmasını da giderebileceği öngörülebilir.

Şimdiye dek İYE üzerinde antimikrobiyal etkisi kanıtlanmamış olan HPE'nin insanlardaki olası kullanımında, enfeksiyöz sistitlerde enflamatuvar süreci baskılasa da tedavide tek başına kullanımı yeterli olmayabilir. Buna karşın enfeksiyöz sistitte ortaya çıkan ağrı ve sıklık artışı gibi bulgular, HPE yardımıyla, enflamasyon baskılanarak azaltılabilir ve sistitin tedavisinde, antibiyotiklerle birlikte HPE kullanılabilir.

İleride yapılacak deneysel veya klinik çalışmalarda, HPE'nin antienflamatuvar ve antioksidan etkisiyle sistit olgularının tedavi seçenekleri arasında yer alıp alamayacağı araştırılabilir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre HPE insanlarda mesanenin akut veya kronik enflamatuvar hastalıklarında bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilir. Geleneksel tıpta topikal uygulamayla yaraların çabuk iyileşmesine katkı sağlaması, ülser veya benzeri mukozal lezyonlar ile seyreden sistitlerde HPE'nin intravezikal kullanımı için umut vericidir.

SONUÇ

Çalışmamızda farelerde LPS ile sistit oluşturulmuş ve *H. perforatum* ekstresinin antienflamatuvar etkinliği serumda ve mesane dokusunda enflamatuvar belirteçler bakılarak araştırılmıştır. *H. perforatum* ekstresi verilen grupta serumda TNF α ve IL-6 düzeylerinin azaldığı görülmüştür. HPE'nin enflamasyonda ve oksidatif yollarda etkili olduğu bilinen NF κ B, COX-2, sFLA₂ ve iNOS düzeylerini mesane dokusunda anlamlı düzeyde azalttığı saptanmıştır. Bu bulgular LPS ile indüklenen sistitte oral yolla verilen HPE'nin antienflamatuvar ve antioksidan etkinliğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Umek A, Kreft S, Kartnig T, et al. Quantitative phytochemical analyses of six *Hypericum* species growing in Slovenia. *Planta medica*. **1999**;65(04):388-390.
2. Schwob I, Bessière J-M, Viano J. Composition of the essential oils of *Hypericum perforatum* L. from southeastern France. *Comptes Rendus Biologies*. **2002**;325(7):781-785.
3. Raso GM, Pacilio M, Di Carlo G, et al. In-vivo and in-vitro anti-inflammatory effect of *Echinacea purpurea* and *Hypericum perforatum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **2002**;54(10):1379-1383.
4. Albert D, Zündorf I, Dingermann T, et al. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*. **2002**;64(12):1767-1775.
5. Kumar V, Singh P, Bhattacharya S. Anti-inflammatory and analgesic activity of Indian *Hypericum perforatum* L. *Nisclair Online Periodicals Repository*. **2001**;39(4):339-343.
6. Kang BY, Chung SW, Kim TS. Inhibition of interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages by hypericin, an active component of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*. **2001**;67(04):364-366.
7. Galeotti N, Vivoli E, Bilia AR, et al. St. John's Wort reduces neuropathic pain through a hypericin-mediated inhibition of the protein kinase C γ and ϵ activity. *Biochemical Pharmacology*. **2010**;79(9):1327-1336.
8. Lewis SA. Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. **2000**;278(6):F867-F874.
9. Peter S. The junctional connections between the cells of the urinary bladder in the rat. *Cell and tissue research*. **1978**;187(3):439-448.
10. Höök M, Kjellén L, Johansson S, et al. Cell-surface glycosaminoglycans. *Annual review of biochemistry*. **1984**;53(1):847-869.
11. Parsons CL, Greenspan C, Moore SW, et al. Role of surface mucin in primary antibacterial defense of bladder. *Urology*. **1977**;9(1):48-52.
12. Parsons L, Boychuk D, Jones S, et al. Bladder surface glycosaminoglycans: an epithelial permeability barrier. *The Journal of Urology*. **1990**;143(1):139-142.
13. Hodges G, Rowlatt C. Analysis of structural and functional properties of the urinary bladder: the impact of the SEM and ancillary approaches. *Progress in clinical and biological research*. **1989**;295:213-224.
14. Bjorling DE, Wang ZY, Bushman W. Models of inflammation of the lower urinary tract. *Neurourology and urodynamics*. **2011**;30(5):673-682.
15. Berry SH, Bogart LM, Pham C, et al. Development, validation and testing of an epidemiological case definition of interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *The Journal of Urology*. **2010**;183(5):1848-1852.

16. **Van de Merwe JP, Nordling J, Bouchelouche P, et al.** Diagnostic criteria, classification, and nomenclature for painful bladder syndrome/interstitial cystitis: an ESSIC proposal. *European Urology*. **2008**;53(1):60-67.
17. **Skene AJC.** Diseases of the Bladder and Urethra in Women: W. Wood. **1878**;3:51-52.
18. **Christmas T, Smith G, Rode J.** Detrusor Myopathy: An Accurate Predictor of Bladder Hypocompliance and Contracture in Interstitial Cystitis. *The Journal of Urology*. **1999**;78(6):862-865.
19. **Hunner GL.** A rare type of bladder ulcer in women; report of cases. *The Boston Medical and Surgical Journal*. **1915**;172(18):660-664.
20. **Hand JR.** Interstitial cystitis: report of 223 cases (204 women and 19 men). *The Journal of Urology*. **1949**;61(2):291-310.
21. **Walsh A.** Interstitial cystitis. *European Urology*. **1977**;3:216-217.
22. **Messing EM, Stamey TA.** Interstitial cystitis early diagnosis, pathology, and treatment. *Urology*. **1978**;12(4):381-392.
23. **Gillenwater JY, Wein AJ.** Summary of the national institute of arthritis, diabetes, digestive and kidney diseases workshop on interstitial cystitis, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, August 28-29, 1987. *The Journal of Urology*. **1988**;140(1):203-206.
24. **Hanno Pm, Landis Jr, Matthews-Cook Y, et al.** The diagnosis of interstitial cystitis revisited: lessons learned from the National Institutes of Health Interstitial Cystitis Database study. *The Journal of Urology*. **1999**;161(2):553-557.
25. **Proano A, Garde G, Garrido G, et al.** ESSIC criteria for the diagnosis of bladder pain syndrome/interstitial cystitis (BPS/IC) and comparison with the NIDDK criteria. *Archivos Espanoles de Urologia*. **2013**;66(2):206-214.
26. **Moldwin R, Kushner L.** 366: The Diagnostic Value of Interstitial Cystitis Questionnaires. *The Journal of Urology*. **2004**;171(4):96.
27. **Davis N, Brady C, Creagh T.** Interstitial cystitis/painful bladder syndrome: epidemiology, pathophysiology and evidence-based treatment options. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. **2014**;175:30-37.
28. **Hanno PM.** Interstitial cystitis—epidemiology, diagnostic criteria, clinical markers. *Reviews in Urology*. **2002**;4(1):3.
29. **Clemens JQ, Meenan RT, Rosetti Mck, et al.** Prevalence and incidence of interstitial cystitis in a managed care population. *The Journal of Urology*. **2005**;173(1):98-102.
30. **Ito T, Miki M, Yamada T.** Interstitial cystitis in Japan. *BJU international*. **2000**;86(6):634-637.
31. **Clemens JQ, Brown SO, Calhoun EA.** Mental health diagnoses in patients with interstitial cystitis/painful bladder syndrome and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a case/control study. *The Journal of Urology*. **2008**;180(4):1378-1382.
32. **Hanno PM.** Interstitial cystitis and related disorders. *Campbell's Urology*. **2002**;1:631-670.
33. **Elbadawi A.** Interstitial cystitis: a critique of current concepts with a new proposal for pathologic diagnosis and pathogenesis. *Urology*. **1997**;49(5):14-40.
34. **Qu H-C, Zhang W, Yan S, et al.** Urinary nerve growth factor could be a biomarker for interstitial cystitis/painful bladder syndrome: a meta-analysis. *PloS one*. **2014**;13(4): 8609-8619.

35. **Warren JW.** Is interstitial cystitis an infectious disease? *Medical Hypotheses*. **1994**;43(3):183-186.
36. **Held P, Hanno P, Wein A, et al.** Epidemiology of interstitial cystitis: 2. Interstitial cystitis: Springer **1990**;4:29-48.
37. **Cook FV, Farrar Jr WE, Kreutner A.** Hemorrhagic Cystitis and Ureteritis, and Interstitial Nephritis Associated with Administration of Penicillin. *The Journal of Urology*. **1979**;122(1):110-111.
38. **Harn S, Keutel H, Weaver R.** Immunologic and histologic evaluation of the urinary bladder wall after group A streptococcal infection. *Investigative Urology*. **1973**;11(1):55-64.
39. **Luo Y.** A potential modality for interstitial cystitis: intravesical use of anti-inflammatory peptide RDP58. Wolters Kluwer Philadelphia, *The Journal of Urology*. **2005**;174(2):790-792.
40. **Dupont Mc, Spitsbergen Jm, Kim Kb, et al.** Histological and neurotrophic changes triggered by varying models of bladder inflammation. *The Journal of Urology*. **2001**;166(3):1111-1118.
41. **Buffington Ct, Wolfe Sa.** High affinity binding sites for [(3) H] substance p in urinary bladders of cats with interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1998**;160(2):605-611.
42. **Hofmeister MA, He F, Ratliff TL, et al.** Mast cells and nerve fibers in interstitial cystitis (IC): an algorithm for histologic diagnosis via quantitative image analysis and morphometry (QIAM). *Urology*. **1997**;49(5):41-47.
43. **Lagunoff D, Martin T, Read G.** Agents that release histamine from mast cells. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. **1983**;23(1):331-351.
44. **Kaplan A, Haak-Frendscho M, Fauci A, et al.** A histamine-releasing factor from activated human mononuclear cells. *The Journal of Immunology*. **1985**;135(3):2027-2032.
45. **Sant GR, Theoharides TC.** The role of the mast cell in interstitial cystitis. *The Urologic Clinics of North America*. **1994**;21(1):41-53.
46. **Theoharides TC, Cochrane DE.** Critical role of mast cells in inflammatory diseases and the effect of acute stress. *Journal of Neuroimmunology*. **2004**;146(1-2):1-12.
47. **Christmas T, Rode J, Bottazzo G, et al.** Cellular infiltration in interstitial cystitis; a study of T cell subpopulations and mast cells. *The Journal of Urology*. **1990**;143:373.
48. **Pang X, Boucher W, Triadafilopoulos G, et al.** Mast cell and substance P-positive nerve involvement in a patient with both irritable bowel syndrome and interstitial cystitis. *Urology*. **1996**;47(3):436-438.
49. **Spanos C, El-Mansoury M, Letourneau R, et al.** Carbachol-induced bladder mast cell activation: augmentation by estradiol and implications for interstitial cystitis. *Urology*. **1996**;48(5):809-816.
50. **Pang X, Marchand J, Sant G, et al.** Increased number of substance P positive nerve fibres in interstitial cystitis. *British Journal of Urology*. **1995**;75(6):744-750.
51. **Bjorling De, Jerde TJ, Zine MJ, et al.** Mast cells mediate the severity of experimental cystitis in mice. *The Journal of Urology*. **1999**;162(1):231-236.
52. **Ratliff TL, Klutke CG, McDougall EM.** The etiology of interstitial cystitis. *The Urologic Clinics of North America*. **1994**;21(1):21-30.
53. **Collan Y, Alfthan O, Kivilaakso E, et al.** Electron microscopic and histological findings on urinary bladder epithelium in interstitial cystitis. *European Urology*. **1976**;2:242-247.

54. **Hohlbrugger G.** Urinary potassium and the overactive bladder. *BJU International*. **1999**;83(2):22-28.
55. **Birder L, Wolf-Johnston A, Buffington C, et al.** Altered inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in the bladder of cats with feline interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **2005**;173(2):625-629.
56. **Engelmann U, Bürger R, Jacobi G.** Experimental investigations on the absorption of intravesically instilled mitomycin C in the urinary bladder of the rat. *European Urology*. **1982**;8:176-181.
57. **Keay S, Warren JW, Kleinberg M, et al.** Antiproliferative factor from patients with interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1999**;162(4): 1487-1489
58. **Keay SK, Zhang C-O, Shoenfelt J, et al.** Sensitivity and specificity of antiproliferative factor, heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor, and epidermal growth factor as urine markers for interstitial cystitis. *Urology*. **2001**;57(6):9-14.
59. **Kim J, Keay SK, Dimitrakov JD, et al.** p53 mediates interstitial cystitis antiproliferative factor (APF)-induced growth inhibition of human urothelial cells. *FEBS Letters*. **2007**;581(20):3795-3799.
60. **Elbadawi A, Light K.** Distinctive ultrastructural pathology of nonulcerative interstitial cystitis. *Urologia Internationalis*. **1996**;56(3):137-162.
61. **Herbst RH, Baumrucker GO, German KL.** Elusive ulcer (Hunner) of the bladder with an experimental study of the etiology. *The American Journal of Surgery*. **1937**;38(1):152-167.
62. **Zermann D-H, Wunderlich H, Schubert J, et al. Re:** The diagnosis of interstitial cystitis revisited: lessons learned from the National Institutes of Health Interstitial Cystitis Database Study. *The Journal of Urology*. **1999**;162(3 Part 1):807-807.
63. **Buffington Ct, Pacak K.** Increased plasma norepinephrine concentration in cats with interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **2001**;165(6 Part 1):2051-2054.
64. **Bennett DS, Aló KM, Oakley J, et al.** Spinal cord stimulation for complex regional pain syndrome I [RSD]: a retrospective multicenter experience from 1995 to 1998 of 101 patients. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*. **1999**;2(3):202-210.
65. **Brookoff D.** The causes and treatment of pain in interstitial cystitis. *Interstitial Cystitis*. **1997**;25(3):247-255.
66. **Malykhina A.** Neural mechanisms of pelvic organ cross-sensitization. *Neuroscience*. **2007**;149(3):660-672.
67. **Duldulao KE, Diokno AC, Mitchell B.** Value of urinary cytology in women presenting with urge incontinence and/or irritative voiding symptoms. *The Journal of Urology*. **1997**;157(1):113-116.
68. **Tissot WD, Diokno AC, Peters KM.** A referral center's experience with transitional cell carcinoma misdiagnosed as interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **2004**;172(2):478-480.
69. **Nigro DA, Wein AJ, Foy M, et al.** Associations among cystoscopic and urodynamic findings for women enrolled in the Interstitial Cystitis Data Base (ICDB) Study. *Urology*. **1997**;49(5):86-92.
70. **Pakgohar M, Sabetghadam S, Rahimparvar SFV, et al.** Quality of life (QoL) and help-seeking in postmenopausal women with urinary incontinence (UI): A population based study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. **2014**;59(2):403-407.
71. **Siroky M.** Is it interstitial cystitis? Diagnostic distinctions in reduced bladder capacity. *Contemp Urol*. **1994**;6(6):13-22.

72. **Teichman Jm, Nielsen-Omeis Bj.** Potassium leak test predicts outcome in interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1999**;161(6):1791-1796.
73. **Kuo H-C.** Urodynamic study and potassium sensitivity test for women with frequency-urgency syndrome and interstitial cystitis. *Urologia Internationalis*. **2003**;71(1):61-65.
74. **Warren JW.** Interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *Urologic Nursing*. **2007**;27(3):185-189.
75. **Koziol JA.** Epidemiology of interstitial cystitis. *The Urologic Clinics of North America*. **1994**;21(1):7.
76. **Hanno PM, Buehler J, Wein AJ.** Use of amitriptyline in the treatment of interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1989**;141(4):846-848.
77. **Forsell T, Ruutu M, Isoniemi H, et al.** Cyclosporine in severe interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1996**;155(5):1591-1593.
78. **Boucher W, Stern JM, Kotsinyan V, et al.** Intravesical nanocrystalline silver decreases experimental bladder inflammation. *The Journal of Urology*. **2008**;179(4):1598-1602.
79. **Dixon J, Holm-Bentzen M, Gilpin C, et al.** Electron microscopic investigation of the bladder urothelium and glycocalyx in patients with interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1986**;135(3):621-625.
80. **Kaplan JR, Wolf Jr JS.** Efficacy and survival associated with cystoscopy and clot evacuation for radiation or cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis. *The Journal of Urology*. **2009**;181(2):641-646.
81. **Linder BJ, Chao NJ, Gounder MM, et al.** Hemorrhagic cystitis in cancer patients. UpToDate, Waltham, MA. **2020**.
82. **Gorczyńska E, Turkiewicz D, Rybka K, et al.** Incidence, clinical outcome, and management of virus-induced hemorrhagic cystitis in children and adolescents after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. **2005**;11(10):797-804.
83. **Hofland C, Eron L, Washecka R.** Hemorrhagic adenovirus cystitis after renal transplantation. *Transplantation proceedings: Elsevier* **2004**;36(10):3025-3027.
84. **O'reilly K.** Hyperbaric oxygen in urology. *AUA Update Series*. **2002**;21:26.
85. **Smit SG, Heyns CF.** Management of radiation cystitis. *Nature Reviews Urology*. **2010**;7(4):206.
86. **Nellans RE, Ellis LR, Kenny GM.** Ether cystitis. *JAMA*. **1985**;254(4):530-531.
87. **Lilly JD, Parsons CL.** Bladder surface glycosaminoglycans is a human epithelial permeability barrier. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*. **1990**;171(6):493.
88. **Lee S-J, Kim SW, Cho Y-H, et al.** Anti-inflammatory effect of an Escherichia coli extract in a mouse model of lipopolysaccharide-induced cystitis. *World Journal of Urology*. **2006**;24(1):33-38.
89. **Sara L. Crockett aNKBR.** Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus Hypericum. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol* **2011**;5:1-13.
90. **Saban MR, Hellmich H, Nguyen N-B, et al.** Time course of LPS-induced gene expression in a mouse model of genitourinary inflammation. *Physiological Genomics*. **2001**;5(3):147-160.
91. **Olson N, Hellyer P, Dodam J.** Mediators and vascular effects in response to endotoxin. *British Veterinary Journal*. **1995**;151(5):489-522.
92. **Morrison DC, Ryan JL.** Endotoxins and disease mechanisms. *Annual Review of Medicine*. **1987**;38(1):417-432.

93. **Zanetti G, Heumann D, Gerain J, et al.** Cytokine production after intravenous or peritoneal gram-negative bacterial challenge in mice. Comparative protective efficacy of antibodies to tumor necrosis factor-alpha and to lipopolysaccharide. *The Journal of Immunology*. **1992**;148(6):1890-1897.
94. **Lee J, Kato K, Tobias P, et al.** Transfection of CD14 into 70Z/3 cells dramatically enhances the sensitivity to complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *The Journal of Experimental Medicine*. **1992**;175(6):1697-1705.
95. **Yang H, Young DW, Gusovsky F, et al.** Cellular events mediated by lipopolysaccharide-stimulated Toll-like receptor 4 MD-2 is required for activation of mitogen-activated protein kinases and Elk-1. *Journal of Biological Chemistry*. **2000**;275(27):20861-20866.
96. **Schilling JD, Martin SM, Hunstad DA, et al.** CD14-and Toll-like receptor-dependent activation of bladder epithelial cells by lipopolysaccharide and type 1 pilated *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. **2003**;71(3):1470-1480.
97. **Mathison J, Wolfson E, Steinemann S, et al.** Lipopolysaccharide (LPS) recognition in macrophages. Participation of LPS-binding protein and CD14 in LPS-induced adaptation in rabbit peritoneal exudate macrophages. *The Journal of Clinical Investigation*. **1993**;92(4):2053-2059.
98. **Wang X-C, Saban R, Kaysen Jh, et al.** Nuclear factor kappa B mediates lipopolysaccharide-induced inflammation in the urinary bladder. *The Journal of Urology*. **2000**;163(3):993-998.
99. **Ni A, Chao L, Chao J.** Transcription factor nuclear factor κ B regulates the inducible expression of the human B1 receptor gene in inflammation. *Journal of Biological Chemistry*. **1998**;273(5):2784-2791.
100. **MacMicking J, Xie Q-w, Nathan C.** Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology*. **1997**;15(1):323-350.
101. **Knab LM, Grippo PJ, Bentrem DJ.** Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: the roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *World Journal of Gastroenterology*. **2014**;20(31):10729.
102. **Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL.** Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and- 2. *Journal of Biological Chemistry*. **1996**;271(52):33157-33160.
103. **Kaplan HM, Ok F, Demir E.** Alpha-linolenic acid attenuates lipopolysaccharide induced cystitis. *International Journal of Pharmacology*. **2017**;13:649-653.
104. **Kudo I, Murakami M.** Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*. **2002**;68:3-58.
105. **HS Asan, HÇ Özen, O Ahmet.** *Hypericum retusum* Aucher'in Proliferasyonu ve Hiperisin İçerikleri Üzerine Farklı BAP Konsantrasyonlarının Etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. **2014**;7(2):2.
106. **Harşit B.** Doğu Karadeniz Bölgesi'nde halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. *Artvin Çoruh Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*. **2015**.
107. **Çakmak HE, Bayram E.** Muğla Orijinli Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Populasyonlarının Bazı Agronomik ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. **2003**;40(1):57-64.
108. **Bombardelli E, Morazzoni P.** *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia (Milano)*. **1995**;66(1):43-68.
109. **Kaplan M, İzol V, Aridoğan İA, et al.** Protective Effect of *Hypericum perforatum* Extract on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Mice. *International Journal of Pharmacology*. **2016**;12:663-668.

110. **Kaplan M.** Kantaron Ekstresinin Gentamisinin Neden Oldugu Ototoxisite Uzerinde Koruyucu Etkisi. *Gazi Medical Journal.* **2017**;28(1):8-10.
111. **Cossuta D, Vatai T, Bathori M, et al.** Extraction of hyperforin and hypericin from st. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) with different solvents. *Journal of Food Process Engineering.* **2012**;35(2):222-235.
112. **Crockett SL, Robson NK.** Taxonomy and chemotaxonomy of the genus *Hypericum*. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology.* **2011**;5(1):1.
113. **Linde K, Berner MM, Kriston L.** St John's wort for major depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* **2008**;4:37-38.
114. **Raso GM, Meli R, Di Carlo G, et al.** Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A. 1. *Life Sciences.* **2001**;68(8):921-931.
115. **Bork PM, Bacher S, Schmitz ML, et al.** Hypericin as a non-antioxidant inhibitor of NF- κ B. *Planta Medica.* **1999**;65(04):297-300.
116. **Locher G, Cooper E.** Repair of rat urinary bladder epithelium following injury by cyclophosphamide. *Investigative Urology.* **1970**;8(1):116-123.
117. **Birder L, Andersson K-E.** Animal modelling of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *International Neurourology Journal.* **2018**;22(1):3.
118. **Malley SE, Vizzard MA.** Changes in urinary bladder cytokine mRNA and protein after cyclophosphamide-induced cystitis. *Physiological Genomics.* **2002**;9(1):5-13.
119. **Saban MR, Simpson C, Davis C, et al.** Discriminators of mouse bladder response to intravesical *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG). *BMC Immunology.* **2007**;8(1):1-18.
120. **Jerde T, Bjorling D, Steinberg H, et al.** Determination of mouse bladder inflammatory response to *E. coli* lipopolysaccharide. *Urological Research.* **2000**;28(4):269-273.
121. **Warren JW, Brown V, Jacobs S, et al.** Urinary tract infection and inflammation at onset of interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *Urology.* **2008**;71(6):1085-1090.
122. **Garcia GE, Xia Y, Chen S, et al.** NF- κ B-dependent fractalkine induction in rat aortic endothelial cells stimulated by IL-1 β , TNF- α , and LPS. *Journal of Leukocyte Biology.* **2000**;67(4):577-584.
123. **Takezawa K, Kondo M, Kiuchi H, et al.** Combination of bladder ultrasonography and novel cystometry method in mice reveals rapid decrease in bladder capacity and compliance in LPS-induced cystitis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* **2014**;307(2):234-241.
124. **Saban MR, Saban R, Hammond T, et al.** LPS-sensory peptide communication in experimental cystitis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* **2002**;282(2):202-210.
125. **Tambaro S, Casu MA, Mastinu A, et al.** Evaluation of selective cannabinoid CB1 and CB2 receptor agonists in a mouse model of lipopolysaccharide-induced interstitial cystitis. *European Journal of Pharmacology.* **2014**;729:67-74.
126. **Podmoliková L, Mukanyangezi MF, Dahlqvist AJ, et al.** Radiation of the urinary bladder attenuates the development of lipopolysaccharide-induced cystitis. *International Immunopharmacology.* **2020**;83:106334.
127. **Okasha EF, Bayomy NA.** Protective role of quercetin (Phytochemical) against water avoidance stress induced interstitial cystitis of adult female albino rats light and electron microscopic study. *Egypt J Histol.* **2010**;33:649-658.

128. **Ekici ID, Ekici S.** Comparison of intravesical application of chondroitin sulphate and colchicine in rat protamine/lipopolysaccharide induced cystitis model. *Urology Journal*. **2014**;11(1):1296-1300.
129. **Li J, Luo H, Dong X, et al.** Therapeutic effect of urine-derived stem cells for protamine/lipopolysaccharide-induced interstitial cystitis in a rat model. *Stem Cell Research & Therapy*. **2017**;8(1):1-11.
130. **Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK, et al.** Inhibition of prostaglandin E2 production by anti-inflammatory *Hypericum perforatum* extracts and constituents in RAW264. 7 mouse macrophage cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2007**;55(18):7323-7331.
131. **Lockyer JM, Colladay JS, Alperin-Lea WL, et al.** Inhibition of nuclear factor- κ B-mediated adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Circulation Research*. **1998**;82(3):314-320.
132. **Baldwin Jr AS.** The NF- κ B and I κ B proteins: new discoveries and insights. *Annual Review of Immunology*. **1996**;14(1):649-681.
133. **Abdel-Mageed Ab, Ghoniem Gm.** Potential role of rel/nuclear factor-kappa B in the pathogenesis of interstitial cystitis. *The Journal of Urology*. **1998**;160(6):2000-2003.
134. **Xu Z, Huang C-X, Li Y, et al.** Toll-like receptor 4 siRNA attenuates LPS-induced secretion of inflammatory cytokines and chemokines by macrophages. *Journal of Infection*. **2007**;55(1):1-9.
135. **Paterniti I, Briguglio E, Mazzon E, et al.** Effects of *Hypericum Perforatum*, in a rodent model of periodontitis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **2010**;10(1):1-10.
136. **Tedeschi E, Menegazzi M, Margotto D, et al.** Anti-inflammatory actions of St. John's wort: inhibition of human inducible nitric-oxide synthase expression by down-regulating signal transducer and activator of transcription-1 α (STAT-1 α) activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **2003**;307(1):254-261.
137. **Logadottir Y, Delbro D, Fall M, et al.** Cytokine expression in patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis ESSIC type 3C. *The Journal of Urology*. **2014**;192(5):1564-1568.
138. **Ren J, Chung SH.** Anti-inflammatory effect of α -linolenic acid and its mode of action through the inhibition of nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression via NF- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2007**;55(13):5073-5080.
139. **Patocka J.** The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Journal of Applied Biomedicine*. **2003**;1(2):61-70.
140. **Kim H, Pham H, Ziboh V.** Flavonoids differentially inhibit guinea pig epidermal cytosolic phospholipase A2. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. **2001**;65(5-6):281-286.
141. **Hammer KD, Hillwig ML, Neighbors JD, et al.** Pseudohypericin is necessary for the light-activated inhibition of prostaglandin E2 pathways by a 4 component system mimicking an *Hypericum perforatum* fraction. *Phytochemistry*. **2008**;69(12):2354-2362.
142. **Sanchez-Reus M, Del Rio MG, Iglesias I, et al.** Standardized *Hypericum perforatum* reduces oxidative stress and increases gene expression of antioxidant enzymes on rotenone-exposed rats. *Neuropharmacology*. **2007**;52(2):606-616.
143. **Noworyta-Sokolowska K, Górska A, Golembiowska K.** LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum. *Pharmacological Reports*. **2013**;65(4):863-869.
144. **Adibhatla RM, Hatcher J.** Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in cerebral ischemia. *Free Radical Biology and Medicine*. **2006**;40(3):376-387.

- 145. Skyba M, Petijová L, Košuth J, et al.** Oxidative stress and antioxidant response in *Hypericum perforatum* L. plants subjected to low temperature treatment. *Journal of Plant Physiology*. **2012**;169(10):955-964.
- 146. Ganabathi R, Tyagi P, Kaufman J, et al.** 1176: Effect of St. John's Wort Formulation DP015 against Acetic Acid Induced Bladder Pain Responses in Rats. *The Journal of Urology*. **2006**;175(4S):378-378.
- 147. El-Bakly WM, Hasanin AH.** *Hypericum perforatum* decreased hippocampus TNF- α and corticosterone levels with no effect on kynurenine/tryptophan ratio in bilateral ovariectomized rats. *The Korean journal of physiology & pharmacology: official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*. **2014**;18(3):233.
- 148. Chen H, Muhammad I, Zhang Y, et al.** Antiviral Activity Against Infectious Bronchitis Virus and Bioactive Components of *Hypericum perforatum* L. *Frontiers in Pharmacology*. **2019**;10:1272.
- 149. Xiuying P, Jianping L, Ruofeng S, et al.** Therapeutic efficacy of *Hypericum perforatum* L. extract for mice infected with an influenza A virus. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. **2012**;90(2):123-130.