



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



PARSİYEL MESANE ÇIKIM OBSTRÜKSİYONLU SIÇANLARDA İNFLAMASYON VE OKSİDATİF STRES MEKANİZMALARI

Ecem KAYA

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Serpil NEBİOĞLU**

**ANKARA
2016**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PARSİYEL MESANE ÇIKIM OBSTRÜKSİYONLU
SIÇANLARDA İNFLAMASYON VE OKSİDATİF STRES
MEKANİZMALARI**

Ecem KAYA

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Serpil NEBİOĞLU

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
15L0237001 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2016**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonlu Sıçanlarda İnflamasyon ve Oksidatif Stres Mekanizmaları” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ecem Kaya

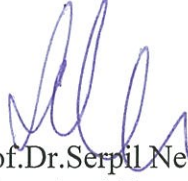
Tarih: 02/12/2016

İmza:



Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalında
ECEM KAYA tarafından hazırlanan
“Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonlu Sıçanlarda İnflamasyon ve Oksidatif
Stres Mekanizmaları” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:02/12/2016



Prof.Dr.Serpil Nebioğlu
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı



Prof.Dr.Fügen Aktan
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı



Prof.Dr.Serap Gür
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı



Prof.Dr.Sevgi Yardım Akaydın
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı



Prof.Dr.Fatma Meral Torun
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. K. Zafer Karaer
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. Prostatın Yapısı	2
1.2. Alt Üriner Sistem	3
1.2.1. Mesane	4
1.2.1.1. Mesane Boşaltım Fonksiyonu	4
1.2.3. Üretra	4
1.3. Benign Prostat Hiperplazisi (BPH)	5
1.3.1. Tanımı	5
1.3.2. Epidemiyolojisi	6
1.3.3. BPH'nın Neden Olduğu Patolojik Durumlar	6
1.3.3.1. Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonu (PBOO)	7
1.3.3.1.1. Mesanenin Obstrüksiyona Cevabı	8
1.3.3.2. Alt Üriner Sistem Semptomları (AÜSS)	10
1.3.3.2.1. AÜSS'nin Etiyolojisi	10
1.3.3.2.1.1. İnflamasyon	10
1.3.3.2.1.2. Mesane Çıkım Obstrüksiyonu (BOO)	11
1.3.3.2.1.3. İskemi	11
1.3.4. BPH Etiyolojisine Ait Teoriler	11
1.3.4.1. Prostatta Embriyonik Sürecin Yeniden Başlaması	12
1.3.4.2. Androjenler	12
1.3.4.3. Prostatta Yeniden Şekillenme	13
1.3.4.4. Kronik İnflamasyon	14
1.3.4.5. Büyüme Faktörleri	14
1.3.5. BPH/AÜSS Gelişimi	15
1.3.6. BPH/AÜSS Oluşumunda Rol Oynayan Mekanizmalar	15
1.3.6.1. İnflamasyon	16
1.3.6.2. Oksidatif Stres	17
1.3.6.3. Büyüme Faktörleri	18
1.3.6.4. Nitrik Oksit/Siklik Guanosin Monofosfat (NO/cGMP) Yolağı	18
1.3.6.4.1. NO'in Ürogenital Sistemdeki Rolü	19
1.4. PBOO'nun Oluşumunda Rol Oynayan Mekanizmalar	20
1.4.1. İnflamasyon	20
1.4.1.1. Tümör Nekrosis Faktör Alfa (TNF- α)	21

1.4.1.1.1. Etki Mekanizması	21
1.4.1.2. Interlökin-6 (IL-6)	22
1.4.1.2.1. Etki Mekanizması	23
1.4.1.3. Nükleer Faktör kappa B (NF-κB)	23
1.4.1.3.1. Etki Mekanizması	24
1.4.2. PBOO ve İnflamasyon	26
1.4.3. Oksidatif Stres	26
1.4.3.1. Nükleer Faktör E2 İlişkili Faktör-2 (Nrf2)	27
1.4.3.1.1. Etki Mekanizması	27
1.4.4. PBOO ve Oksidatif Stres	28
1.4.5. İnflamasyon ve Oksidatif Stres Arasındaki İlişki	29
1.4.5.1. Nrf2/Keap1 ve NF-κB Arasındaki Karşılıklı Etkileşim	29
1.4.6. Hipoksi	31
1.3.7.6.1. Hipoksi İndüklenebilir Faktör (HIF-1)	31
1.3.7.6.1.1. Etki Mekanizması	31
1.4.7. PBOO ve Hipoksi	32
1.4.8. İskemi	33
1.4.9. PBOO ve İskemi	34
1.4.10. PBOO'da İskemi ve Hipoksi Arasındaki İlişki	34
1.5. BPH'nın Tedavisi	35
1.6. Amaç	35
2. MATERYAL VE METOD	37
2.1. Kullanılan Cihazlar	37
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	37
2.3. Deney Grupları	38
2.4. PBOO Modelinin Oluşturulması	38
2.5. 24 Saatlik İdrar Hacimlerinin Ölçülmesi	39
2.6. İdrarların Elde Edilmesi	39
2.7. Plazmanın Elde Edilmesi	40
2.8. Mesane Ağırlıklarının Ölçülmesi	40
2.9. <i>İn vitro</i> Deneyler	40
2.10. Mesane Dokusundan Total Lizatların Hazırlanması	41
2.11. Mesane Dokusundan Sitozolik ve Nükleosolik Lizat Hazırlanması	41
2.12. Doku Lizatlarının Bikinkoninik Asit Metodu ile Protein Miktar Tayini	42
2.13. Western Blot Analizi	44
2.14. RNA İzolasyonu	44
2.15. cDNA Sentezi	45
2.16. Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real time PCR, RT-PCR) ile Gen Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi	46
2.17. Mesanede TNF-α Düzeyinin Saptanması	48
2.18. Serumda TNF-α Seviyesinin ELİSA Yöntemi ile Ölçülmesi	49
2.19. Serumda IL-6 Seviyesinin ELİSA Yöntemi ile Ölçülmesi	50
2.20. Mesanede cGMP Seviyelerinin Ölçülmesi	51
2.21. Mesanede MDA Seviyelerinin Ölçülmesi	53
2.22. İstatistiksel Analiz	54
3. BULGULAR	55
3.1. Deney Hayvanlarının Mesane Ağırlıkları	55

3.2. PBOO Öncesi ve Sonrası Sıçanlara ait 24 Saatlik İdrar Hacmi ve Tükettikleri Su Miktarı	55
3.3. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında 60 mM KCl ile Elde Edilen Kontraktil Yanıtlar	57
3.4. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında 0,1 mM Ve 1mM ATP ile Elde Edilen Kontraktil Yanıtlar	58
3.5. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında EFS (1-40 Hz) ile Elde Edilen Kontraktil Yanıtlar	59
3.6. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında Karbakol'ün 10^{-7} M- 10^{-4} M Konsantrasyonları Aralığında Doza Bağımlı Kontraktil Yanıtları	60
3.7. Tüm Deney Gruplarından Alınan Mesane Dokularının TNF- α Düzeyleri	61
3.8. Tüm Deney Gruplarından Toplanan Serum Örneklerinin TNF- α Düzeyleri	61
3.9. Tüm Deney Gruplarından Toplanan Serum Örneklerinin IL-6 Düzeyleri	62
3.10. Tüm Deney Gruplarından Alınan Mesane Dokularının cGMP Düzeyleri	63
3.11. Tüm Deney Gruplarından Alınan Mesane Dokularının MDA Düzeyleri	63
3.12. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının NF- κ B Gen Ekspresyonu	64
3.13. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının I κ B α Gen Ekspresyonu	65
3.14. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının HIF-1 α Gen Ekspresyonu	65
3.15. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının HIF-1 β Gen Ekspresyonu	66
3.16. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının ARNT2 Gen Ekspresyonu	67
3.17. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının Nrf2 Gen Ekspresyonu	67
3.18. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının NF- κ B Protein Ekspresyonu	68
3.19. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının I κ B α Protein Ekspresyonu	69
3.20. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Nükleer Lizatlarının NF- κ B Protein Ekspresyonu	70
3.21. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Sitozolik Lizatlarının NF- κ B Protein Ekspresyonu	71
3.22. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Sitozolik Lizatlarının I κ B α Protein Ekspresyonu	72
3.23. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının HIF-1 α Protein Ekspresyonu	73
3.24. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının ARNT2 Protein Ekspresyonu	74
3.25. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının Nrf2 Protein Ekspresyonu	75
4. TARTIŞMA	77
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	88
ÖZET	91
SUMMARY	92
KAYNAKLAR	93
EKLER	125



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, orta ve ileri yaşlardaki erkeklerde sıklıkla görülen benign prostat hiperplazisi (BPH)'nden kaynaklanan alt üriner sistem semptomları (AÜSS)'nin deneysel modeli olan mesane çıkımının kısmi obstrüksiyonu (PBOO)'nun şiddet derecesine bağlı olarak mesanede oluşan inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksinin mekanizmaları ve bununla birlikte mesane kontraktilesinde oluşan değişiklikler araştırılmıştır.

Tez çalışmamın planlanması ve uygulanması sırasında desteğini esirgemeyen, Sayın Danışmanım Prof. Dr. Serpil Nebioğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyerek verdikleri desteklerinden ötürü saygıdeğer hocalarım, Prof. Dr. Fügen Aktan, Prof. Dr. Serap Gür, Prof. Dr. Zeliha Büyükbingöl, Prof. Dr. Bilgehan Doğru, Prof. Dr. Fatma Meral Torun ve Prof. Dr. Sevgi Yardım Akaydın'a; deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyerek, bilgisini ve deneyimlerini paylaşan Yard. Doç. Dr. Arzu Karabay, Yard. Doç. Dr. Filiz Bakar ve arkadaşlarım Arş. gör. Didem Yılmaz ve Arş. gör. Mustafa Ergül'e desteklerinden ötürü teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Tez çalışmamdaki deneysel cerrahi prosedürler sırasında bana yardım eden Uzm. Dr. Utku Lokman'a ve Doç. Dr. Alp Özgür Akdemir'e teşekkür ederim.

Koruyucu ellerini her zaman omzumda hissettiğim, en büyük yardımcım canım aileme çok teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

APS	Amonyum persülfat
ARE	Antioksidan cevap elementi
ARNT	Aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator
ATP	Adenozin trifosfat
AÜSS	Alt üriner sistem semptomları
BPH	Benign prostat hiperplazisi
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
COX-2	Siklooksijenaz-2
DHT	Dihidrotestosteron
DTT	Ditiyotritol
EFS	Elektriksel alan stimülasyonu
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GAPDH	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz

HIF-1	Hipoksi ind�kylenebilir faktör-1
HRP	Horseradish peoksidaz
IFN�	�nterferon gamma
IGF	�ns�lin büyüme faktörü
�kB	�nhibitor kappa B
IKK	�nhibitor kappa B kinaz
IL	�nterl�kin
iNOS	�nd�kylenebilir nitrik oksit sentaz
JAK/STAT	Janus kinaz/sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü
Keap1	Kelch benzeri Ech ilişkili protein
MAPK	Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz
MDA	Malondialdehit
MIC-1	Makrofaj inhibe edici sitokin-1
NF-�B	Nükleer faktör kappa B
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
Nrf2	Nükleer faktör E2 ilişkili faktör-2
PBOO	Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu

PBS	Fosfat tampon solüsyonu
PHD	Prolil hidroksilaz domain
PVDF	Poliviniliden florid
RT-PCR	Eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
TEMED	Tetraetilmetilendiamin
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TNF- α	Tümör nekrosis faktör alfa
TNF-R1	TNF- α reseptör tip 1
TNF-R2	TNF- α reseptör tip 2
VHL	Von-hippel-lindau

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Prostat bezinin bölgeleri	3
Şekil 1.2. Üretranın yapısı	5
Şekil 1.3. BPH'da prostat ve mesane çıkımında oluşan morfolojik değişiklikler	6
Şekil 1.4. Normal prostatta androjenlerin rolü	13
Şekil 1.5. Prostat büyümesinde androjenlerin etki mekanizması	13
Şekil 1.6. TNF- α aracılı NF- κ B aktivasyonu	22
Şekil 1.7. NF- κ B'nin klasik yolak ile aktivasyonu	25
Şekil 1.8. Nrf2/Keap1 ve NF- κ B transkripsiyon faktörleri arasındaki etkileşim	30
Şekil 1.9. HIF-1 α 'nın normoksi ve hipoksi durumunda regülasyonu	32
Şekil 2.1. PBOO modelinin oluşturulması	39
Şekil 2.2. Total ve nükleer doku lizatları için hazırlanan standart eğrisi	43
Şekil 2.3. Sitozolik doku lizatları için hazırlanan standart eğrisi	43
Şekil 2.4. TNF- α Elisa yöntemi standart eğrisi	49
Şekil 2.5. TNF- α Elisa yöntemi standart eğrisi	50
Şekil 2.6. IL-6 Elisa yöntemi standart eğrisi	51
Şekil 2.7. cGMP enzim immunassay standart eğrisi	53
Şekil 2.8. MDA kolorimetrik standart eğrisi	54
Şekil 3.1. Tüm gruplardaki mesane ağırlıkları	55
Şekil 3.2. Tüm gruplardaki operasyon öncesi ve 2, 4 ve 6 hafta sonrası 24 saatlik idrar hacmi değişimi	56
Şekil 3.3. Tüm gruplardaki kontrol ve 6 haftalık PBOO gruplarında 24 saatlik içilen su hacmi	56
Şekil 3.4. Tüm gruplardaki kontrol ve 6 haftalık PBOO gruplarında 24 saatlik idrar hacmi	57
Şekil 3.5. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında KCl'ye (60 mM) ilişkin yanıtlar	57
Şekil 3.6. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında ATP'ye (0,1mM ve 1mM) ilişkin doz-yanıt grafiği	58
Şekil 3.7. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında EFS'ye (1, 5, 10, 15, 20 ve 40 Hz) ilişkin yanıtlar	59
Şekil 3.8. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında karbakole (10^{-7} M- 10^{-4} M) ilişkin doz-yanıt grafiği	60
Şekil 3.9. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının TNF- α düzeyleri	61
Şekil 3.10. Deney gruplarından toplanan serum örneklerinin TNF- α düzeyleri	62
Şekil 3.11. Deney gruplarından toplanan serum örneklerinin IL-6 düzeyleri	62
Şekil 3.12. Deney gruplarından alınan mesane dokularının cGMP düzeyleri	63
Şekil 3.13. Deney gruplarından alınan mesane dokularına ait MDA düzeyleri	64
Şekil 3.14. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının NF- κ B gen ekspresyonu	64

Şekil 3.15. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının IκBα gen ekspresyonu	65
Şekil 3.16. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının HIF-1α gen ekspresyonu	66
Şekil 3.17. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının HIF-1β gen ekspresyonu	66
Şekil 3.18. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının ARNT2 gen ekspresyonu	67
Şekil 3.19. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının Nrf2 gen ekspresyonu	68
Şekil 3.20. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının NF-κB protein ekspresyonu	69
Şekil 3.21. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının IκBα protein ekspresyonu	70
Şekil 3.22. Deney hayvanlarının mesane dokusu nükleer lizatlarının NF-κB protein ekspresyonu	71
Şekil 3.23. Deney hayvanlarının mesane dokusu sitozolik lizatlarının NF-κB protein ekspresyonu	72
Şekil 3.24. Deney hayvanlarının mesane dokusu sitozolik lizatlarının IκB α protein ekspresyonu	73
Şekil 3.25. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının HIF-1α protein ekspresyonu	74
Şekil 3.26. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu	75
Şekil 3.27. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının Nrf2 protein ekspresyonu	76

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Rata spesifik oligonükleotid primer dizileri

47



1.GİRİŞ

Benign prostat hiperplazisi (BPH), orta ve ileri yaşlardaki erkeklerde sıklıkla görülen prostat bezinin anormal büyümesinden kaynaklanan önemli sağlık problemlerinden birisidir (Mc Vary, 2006). BPH'lı hastalar genellikle üretradaki darlığa bağlı olarak gelişen çeşitli alt üriner sistem semptomları (AÜSS) ile kliniğe başvururlar. BPH'da görülen bu semptomlar, büyüyen prostat bezinden kaynaklanan mesane çıkımının kısmi obstrüksiyonu (partial bladder outlet obstruction; PBOO) ile büyük ölçüde ilişkilidir (Levin ve ark., 2004). BPH, büyüyen prostatın üretraya baskı yapması nedeni ile PBOO ile sonuçlanmaktadır (Patel ve Parsons, 2014).

BPH, deney hayvanlarında oluşturulan mesane çıkımının kısmi obstrüksiyon PBOO modeli ile deneysel olarak taklit edilebilmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar, PBOO'nun mesanede meydana gelen birçok morfolojik, kontraktıl ve biyokimyasal değişikliklerle ilişkili olabileceğini göstermektedir (Komninos ve Mitsogiannis, 2014). Yapılan çalışmalar PBOO'nun başlamasından kısa bir süre sonra moleküler düzeyde değişikliklerin olduğunu göstermiştir. BPH kaynaklı mesane çıkımının kronik obstrüksiyonu, mesane duvarında birçok hücresel ve yapısal değişikliklere neden olarak mesanenin tamamen boşalma yada doldurma yeteneğini azaltmaktadır (Levin ve ark., 1990).

Yapılan çalışmalar, BPH kaynaklı AÜSS'nin şiddeti ile prostat hacmi arasında bir ilişki olmadığını; ancak mesanede oluşan dejeneratif değişikliklerle yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Barry ve ark., 1993; Komninos ve Mitsogiannis, 2014; Nitti ve ark., 1994). Prostat büyümesi yada prostatın artan düz kas tonusundan kaynaklanan mesane çıkım obstrüksiyonu, mesane duvarının kalınlaşması ve optimal mesane fonksiyonunun olası kaybı ile sonuçlanmaktadır (St Sauver ve Jacobsen, 2008).

Androjenler, östrojenler, stromal-epiteliyal etkileşimler, büyüme faktörleri BPH'nın hiperplazik sürecinin etiyolojisinde rol oynayabilirler. BPH ve AÜSS yaşlı erkek popülasyonunda çoğunlukla gözlenen bir durum olmasına rağmen gelişimlerine neden olan mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. İnflamasyon, oksidatif stress, iskemi ve hipoksi hem prostat hem de mesaneyi etkileyerek, BPH ve AÜSS'nin oluşumu ve ilerlemesinde rol oynamaktadır (St Sauver ve Jacobsen 2008). PBOO'nun patofizyolojisini aydınlatmayı hedefleyen çalışmalar, BPH'dan kaynaklanan AÜSS için yeni koruma ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

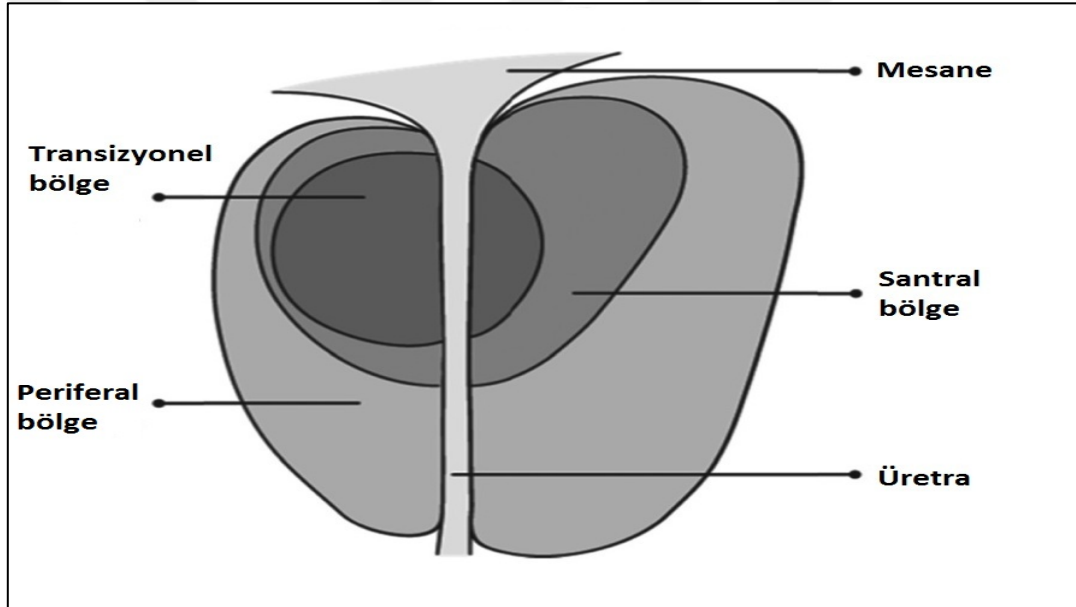
Bu tez çalışması Sprague Dawley erkek ratlarda oluşturulan hafif, orta ve şiddetli PBOO modelindeki üretra darlığı derecesinin, mesanede oluşan inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi mekanizmaları üzerindeki etkilerini ve mesanenin kontraksiyonu ile ilişkisini araştıran ilk çalışmadır.

1.1. Prostatın Yapısı

Prostat oval şekilde yaklaşık olarak 4 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığındadır. Prostatın boyutu kişiden kişiye değişmektedir. Prostat, mesanenin boynunu ve üretrayı çevreleyen iki loba sahiptir. Prostat bezi, prostatik kapsülü olarak adlandırılan konnektif doku tabakası ile çevrelenmiştir. İnsan prostatının yapısına özel olan prostat kapsülü, AÜSS'nin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Bu kapsül, prostat dokusunun büyümesi ve yayılması sonucu oluşan üretraya baskı yaparak üretral resistansta artışa neden olur (Roehrborn, 2008).

Prostat bezi farklı hücre tiplerinden oluşmaktadır. Bez hücreleri prostatın temel görevi olan semen sıvısını üretir, kas hücreleri de idrar akışını ve ejakülasyonu kontrol eder, fibröz hücreler ise prostat yapısında destekleyici olarak rol oynar. Prostat çevresinde seminal vezikül, vas deferens, sinir lifi demeti, kas gibi yapılar bulunmaktadır.

Prostat bezi periferik, geçiş ve merkez bölgesi olmak üzere üç alana ayrılmıştır (şekil 1.1). Periferik bölge, prostatın rektuma en yakın olan alanıdır ve prostat bezinin en büyük bölgesidir. Prostat tümörlerinin büyük kısmı periferik bölgede bulunmaktadır. Geçiş bölgesi, prostatın periferik ve merkez bölgesi arasında, orta kısmında yer alır. Geçiş bölgesi, prostat boyunca uzanarak üretrayı çevrelemektedir. Bu bölge 40 yaşına kadar prostat bezinin %20'sini oluşturmaktadır ancak erkeklerde ilerleyen yaşla genişleyerek prostatın en büyük alanı haline gelir. Bu durum BPH olarak adlandırılmaktadır. Geçiş bölgesi genişleyerek prostatın periferik bölgesini rektuma doğru iter. Merkez bölgesi de geçiş bölgesinin önünde bulunan prostatın rektuma en uzak alanıdır (Martini ve ark., 2012; Shier ve ark., 1998).



şekil 1.1. Prostat bezinin bölgeleri (Shier ve ark., 1998).

1.2. Alt riner Sistem

Alt riner sistemin idrarın vücutta depolanması ve idrarın vücuttan uzaklaştırılması olmak üzere iki temel görevi vardır. Bu fonksiyonlar beyin ve omurilikte yer alan kompleks nöronal kontrol sistemi ile düzenlenir. Bu kontrol sistemi, rezervuar (mesane) ve çıkış (retra ve üretral sfinkter) arasındaki karşılıklı etkileşimle, a-kapa mekanizması ile çalışır. Omurilik ise mesane ve üretral sfinkter

fonksiyonunu istemli ve istemsiz olarak kontrol eden yolakları birbirinden ayırır (de Groat, 1993).

1.2.1. Mesane

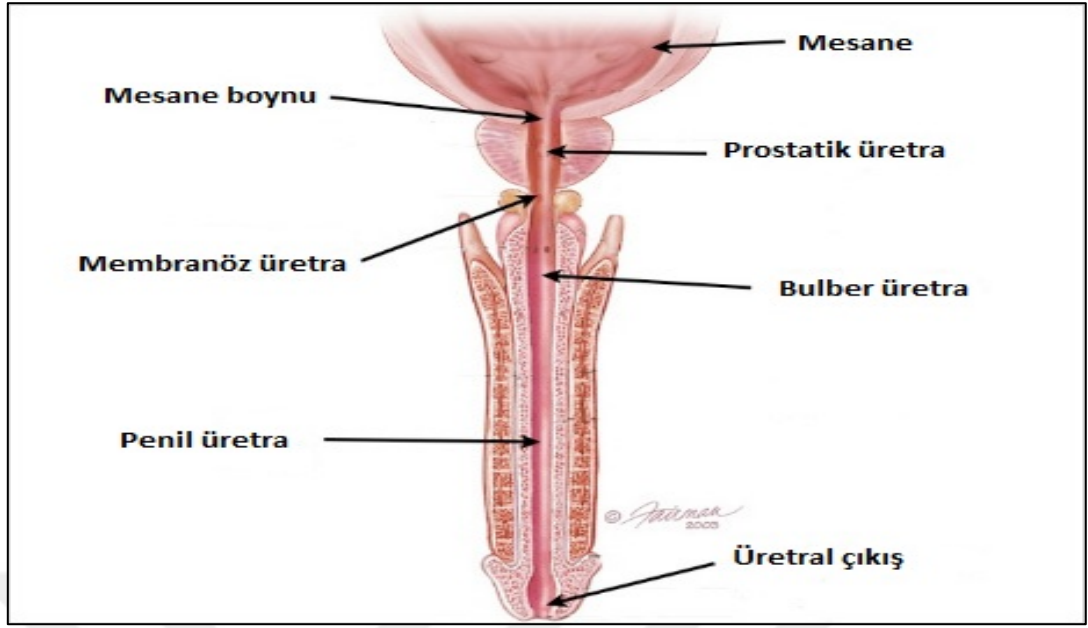
Mesane pelviste “pubic symphysis” adı verilen yapının arkasında, pelvis ve rektumun arasında yer alan alt üriner sisteme ait esnek bir organdır. Mesane boş iken tetrahedral; idrarla dolu iken oval şekildedir. Yapısında düz kas, kollajen ve az miktarda elastin bulunmaktadır (Macarak ve Howard, 1999).

1.2.1.1. Mesane Boşaltım Fonksiyonu

Normalde mesane fonksiyonunu, mesanenin dolması ve boşalmasını sağlayan kas-iskelet sistemi, nöronlar ve fizyolojik fonksiyonların kompleks koordinasyonu ile gösterir. İdrar tutulması, mesane dolumu ve idrar depolanması detrüsör kasların sinerjik gevşemesi ve mesane boynu ve pelvis kaslarının kasılması ile gerçekleşir. Normal yetişkin mesanesi 300-600 ml idrar depolama kapasitesine sahiptir. Santral sinir sistemi mesanedeki idrar 400 ml’ye ulaştığında beyine idrar boşaltma sinyali iletilir. Ancak idrar boşaltımı, periferik sinir sisteminin kortikal baskılanması yada eksternal üretral sfinkterin istemli kasılması ile önlenabilir (Fowler ve ark., 2008).

1.2.3. Üretra

Üretra, idrarı prostat boyunca mesaden penis dışına ve semeni ejakülasyon kanalından dışarı taşıyan dar fibromusküler bir tüptür (Şekil 1.2). Üretra basit bir yapı olmasına rağmen prostatik, membranöz ve süngersi segmentlerden oluşmaktadır. Prostatik üretra, mesane çıkım obstrüksiyonun olduğu mesane boynundan itibaren başlayan kısımdır (Brooks, 2007; Park, 2007).

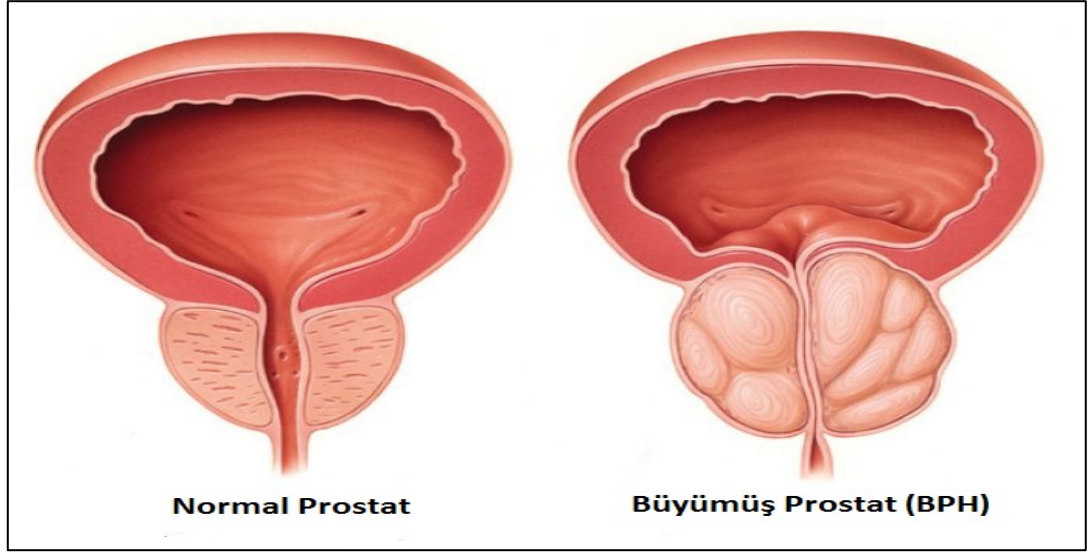


Şekil 1.2. Üretranın yapısı [<https://www.prostatitis.org/strictures.html>].

1.3. Benign Prostat Hiperplazisi (BPH)

1.3.1. Tanımı

BPH, prostatın geçiş bölgesinde veya periüretral alana girdiği noktada bulunan hiperplazi olmuş nodüllerle üretrayı çevreleyen prostatın, stromal ve epiteliyal dokusunun devamlı olarak büyümesi ve morfolojisinin değişimi ile karakterize bir hastalıktır (Şekil 1.3) (Lee ve Peehl, 2004; Roehrborn, 2008 ve Untergasser ve ark., 2005).



Şekil 1.3. BPH’da prostat ve mesane çıkımında oluşan morfolojik değişiklikler [http://www.melbourneurology.net.au/patient-information/benign-prostate-enlargement-bph].

1.3.2. Epidemiyolojisi

İlerleyen yaşla birlikte BPH’dan etkilenen erkeklerin sayısı önemli ölçüde artmaktadır (Jacobsen ve ark., 1995). Yaşa bağlı olarak 40 yaşın üzerindeki erkeklerin yarısında BPH gelişmektedir (Roehborn, 2008). Klinik olarak, BPH, 50-60 yaş arası erkeklerde %50 oranında, 80 yaş üstü erkeklerde %90 oranında rastlanan bir durumdur (Mc Vary, 2006). BPH’lı hastaların %30-50’si AÜSS’den yakınmaktadır (Girman ve ark., 1994; Girman ve ark., 1995 ve Girman ve ark., 1999). BPH kaynaklı BOO ise 60 yaş üzerindeki erkeklerin %30’unu etkilemektedir (Boyle ve ark., 2003).

1.3.3. BPH’nın Neden Olduğu Patolojik Durumlar

BPH kaynaklı patolojiler, idrar çıkış yolunun tıkanması ile ilişkilendirilmiştir. Bu idrar çıkış yolunun daralması ya prostat büyümesinden ya da mesane boynunda ve

prostatik üretrada artmış alfa adrenerjik aktiviteden kaynaklanmaktadır (Andersson, 2003; Lepor, 1989).

BPH'da prostat bezinin genişlemesi sonucu üretra obstrükte olduğundan, PBOO, BPH'nın neden olduğu sıkça rastlanan bir ürolojik patolojidir (Zhang ve ark., 2011). Elli yaşın üzerindeki erkeklerde görülen AÜSS'nin birincil nedeni BPH'tır. AÜSS, ilerleyen yaşa bağlı gelişen artan idrara çıkma sıklığı, idrar tutamama, azalmış idrar akım hızı, noktüri gibi semptomlarla karakterize sıkça rastlanan bir durumdur (Rosen ve ark., 2005).

1.3.3.1. Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonu (PBOO)

BPH, erkeklerde yaşlanmayla birlikte görülen PBOO'nun başlıca nedenlerinden birisidir. PBOO, mesanedeki morfolojik, kontraktıl ve biyokimyasal değişikliklerle ilişkili olan klinik bir durumdur. PBOO, BPH yanında nörojenik mesane, mesane boynu daralması gibi birçok patolojik durumda gözlenmektedir (Baskin ve ark., 1999). Klinik olarak BPH'ya bağlı olarak oluşan PBOO, özellikle mesane gibi alt üriner sistemde yer alan organlarda şiddetli ve geri dönüşümsüz değişiklikleri indükleyebilir (Buttayan ve ark., 1997).

BPH, mesane çıkımının kısmi olarak obstrükte edilmesi ile deneysel olarak taklit edilebilir (Buttayan ve ark., 1997). PBOO hayvan modelini oluşturmak için en çok kullanılan metodolojik yaklaşım kısmi olarak üretranın obstrüksiyonudur. Bu hayvan modelinde ip yada halka, kataterize olmuş mesane çıkımının etrafına yerleştirilir ve katater çıkarıldığında mesane artmış üretral direnç gösterir (Austin ve ark., 2004; Tanaka ve ark., 2003). Bu hayvan modeli klinikte gözlenen semptomları tam olarak göstermemesine rağmen, yapılan çalışmalar kısmi üretral obstrüksiyonlu ratların insanlardaki mesane çıkım obstrüksiyonuna benzer idrar boşaltma ve depolama semptomları gösterdiğini ispat etmiştir (Burmeister ve ark., 2012; Jang ve ark., 2013 ve Yuan ve ark., 2011).

1.3.3.1.1. Mesanenin Obstrüksiyona Cevabı

Mesane obstrüksiyonla indüklenen değişiklikler iki tiptir. Birincisi, mesane düz kas instabilitesine yada azalmış kompiyansa neden olan değişikliklerdir ve klinik olarak sık ve acil idrara çıkma isteği ile ilişkilidir. İkincisi idrar akışında azalma, idrar yapamama, idrar yaparken duraksama, artmış residual idrar gibi klinik semptomlarla kendini gösteren azalmış mesane düz kas kontraktilesi ile ilişkili olan değişikliklerdir. Obstrüksiyondan bağımsız olarak yaşlanma süreci de mesanede fonksiyonunda, histolojisinde ve hücre fonksiyonunda bazı değişikliklere neden olur (Azadzo ve ark., 2007; Azadzo ve ark., 2008).

Histopatolojik olarak mesane, obstrüksiyon modeline hücre proliferasyonu, hücre hipertrofi ve ekstraselüler matriks dokuda birikmesi şeklinde cevap verir. En son fazda ise mesane dekompanse olmaya ve hücreler apoptozis sürecine girmeye başlar (Azadzo ve ark., 1996; Buttyan ve ark., 1997).

PBOO'nun karakteristik özellikleri, mesane düz kas hiperplazisi, detrüör kontraktilesinin artmış gücü yada ekstraselüler matriks birikmesidir (Baskin ve ark., 1999). Ekstraselüler matriks aşırı birikmesi, kronik mesane çıkım obstrüksiyonu ile ilişkili klinik durumlarda gözlenen mesane doku fibrozisinin kaçınılmaz sonuçlarındandır. Mesane duvarındaki bu fibrozis, sinir ve fibroblast büyüme faktörü, TGF- β 1 gibi büyüme faktörlerinin artmış seviyesinden kaynaklanmaktadır (Imamura ve ark., 2007; Kikuno ve ark., 2009). Obstrükte mesanedeki yapısal değişiklikler, idrar hacminde azalma, artmış residual idrar hacmi gibi fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır (Liu ve ark., 2009; Schroder ve ark., 2006). PBOO'dan kaynaklanan bu fonksiyonel değişiklikler, obstrüksiyon rahatlatılsa bile tamamen düzelmemektedir. Bugüne kadar yapılan birçok çalışma PBOO'da detrüör kontraktilesinde değişiklikler olduğunu göstermiştir (Kang ve ark., 2011; Levin ve ark., 1990; Levin ve ark., 1995; Levin ve ark., 2000 ve O'Connor ve ark., 1997). Özellikle ileri yaştaki erkek hastalarda BPH'dan kaynaklanan PBOO, aşırı aktif mesaneye neden olmaktadır (Mirone ve ark., 2007;

Yamaguchi ve ark., 2009). Ayrıca, PBOO kadınlarda erkeklere göre nadiren rastlanır (Levin ve ark., 2004).

PBOO modelinde görülen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler insanda BPH'da görülen patolojiye benzer özellikler göstermektedir. Yapılan çalışmalar, deneysel olarak oluşturulan PBOO hayvan modelinde mesanenin hipertrofi, kompensasyon ve dekompensasyon olmak üzere birbirini takip eden üç evreye girdiğini göstermiştir (Levin ve ark., 2000). İlk olarak mesane, çıkım obstrüksiyonunun üstesinden gelmek için idrar boşaltımı esnasında normale göre daha fazla çalışır. Ancak obstrüksiyon devam ettikçe, mesane detrüör kasının fonksiyonunda azalma ile atonik yani tembelleşmiş mesane oluşur ve mesane dekompensasyon fazına girer (Azadzo ve ark., 1996; Steers ve De Groat., 1988). Birçok büyüme faktörü hipertrofi fazında rol oynamaktadır. Hipertrofi fazında, normal mesane fonksiyonu korunurken, kompensasyon ve dekompensasyon aşamasında azalma gösterir. Kompensasyon fazında, mesanenin dolumu sırasında detrüör kasının fazla aktivitesi görülür. Dekompensasyon fazı ise, idrar boşaltımı sırasında azalmış detrüör kontraktilitesi ile karakterize edilir (Levin ve ark., 1997).

BPH'nın erken dönemindeki erkeklerin çoğunda mesane fonksiyonları kısmen normal kaldığı için hastalar medikal tedavi aramayı erteleyebilirler. Çünkü hipertrofi olmuş mesane, ilk olarak prostatik obstrüksiyon kaynaklı üretral dirençteki ilerleyici artış ile kompanse edilir. İşeme basıncındaki ve idrar akışındaki değişikliklerle kendini erken gösteren semptomlar, genellikle orta ve ileri yaştaki erkek popülasyonunda medikal tedavi aramak için yeterli bir belirti olmamaktadır. Hastalığın ilerlemiş safhasında görülen tipik semptomlar oluştuğunda, tedaviye başvurma gereksinimi duymaktadırlar. BPH'sı olan hastaların teşhisi mesane disfonksiyonel (dekompanse) olmaya başlamadan önce kompensasyon fazında klinikteki yeni metodlarla mümkün olmaktadır. BPH'nın belirtileri insan hayatını tehdit etmemesine rağmen, yaşam kalitesini büyük ölçüde düşürmektedir (Levin ve ark., 2004).

1.3.3.2. Alt Üriner Sistem Semptomları (AÜSS)

AÜSS yaşlanma ile birlikte erkeklerde çok sık rastlanan bir problemidir. "International Continence Society (ICS)" 40 yaş ve üzeri erkeklerin üçte ikisinde AÜSS olduğunu göstermiştir (El-Zawahry ve ark., 2016). BPH, AÜSS'nin ilk nedenidir (Lin ve ark., 2012). BPH, doku düzeyinde değişikliklerle başlayıp AÜSS şeklinde gözlenen klinik semptomlara neden olmaktadır (Fitzpatrick, 2006; Roberts ve ark., 2000). AÜSS; yavaş idrar akışı, idrar akışında duraksama, lekeleme ve damlama, tam idrar yapamama hissi, artan idrara çıkma sıklığı, acil idrara çıkma, gece idrarı, idrar tutamama gibi şikayetlerle karakterizedir ve bireyin yaşam kalitesini oldukça düşürmektedir (de Groat, 2006; Novara ve ark., 2006).

AÜSS gelişiminde, prostat bezinin fazla büyümesinden kaynaklanan mekanik olarak üretral obstrüksiyon (statik) ve mesane düz kasının hipertrofisi, mesane boynu düz kasının fonksiyonel olarak bozulması gibi (dinamik) komponentler rol oynamaktadır (Nickel, 1994). Pinggera ve ark. (2008), AÜSS'li hastalarda mesaneye giden kan akışının önemli ölçüde azaldığını ve bu durumun mesane detrüsör kasının fazla aktivitesi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

1.3.3.2.1. AÜSS'nin Etiyolojisi

1.3.3.2.1.1. İnflamasyon

Yaşlı erkeklerin prostat örneklerinde inflamasyona rastlanması genel bir bulgudur. BPH'nın ve AÜSS'nin oluşumunda ve devam etmesinde inflamasyon önemli rol oynamaktadır. İnflamasyon süreci direk olarak prostat büyümesini uyarak, alternatif olarak da prostatik apoptozisini azaltarak prostat büyümesine neden olabilir. BPH'da görülen kronik inflamasyon, prostat yanında mesane gibi ürogenital sistemin diğer elemanlarını da etkileyerek AÜSS'nin oluşumunda ve devam etmesinde önemli rol oynamaktadır (Levin ve ark., 2004).

1.3.3.2.1.2. Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonu (PBOO)

AÜSS'nin oluşması ve ilerlemesi, tamamen prostat büyümesi ile ilişkilendirilemez. AÜSS'ye neden olan diğer bir komponent ise mesanedir. Prostat büyümesinden yada prostatın artmış düz kas tonusundan kaynaklanan PBOO, mesanenin optimal fonksiyonunun kaybı ile sonuçlanabilir. Yaşlı erkeklerde mesanede oluşan bu değişiklikler, AÜSS'ye neden olmaktadır (St Sauver ve Jacobsen, 2008). Ayrıca, BPH kaynaklı PBOO, mesanede siklooksijenaz-2 (COX-2)'yi uyarıp prostaglandin sentezini arttırarak AÜSS'yi şiddetlendirebilir (Park ve ark., 1999).

1.3.3.2.1.3. İskemi

PBOO'lu mesanede görülen kronik iskemi ve her idrara çıkma sırasında tekrarlanan akut iskemi, reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminden kaynaklanan oksidatif strese neden olarak mesanenin fonksiyonun bozulmasına neden olmaktadır (Azadzo ve ark., 1999; Greenland ve Brading, 2001 ve Yamaguchi ve ark., 2009). Yapılan bir çalışma mesanede oluşan iskeminin, yaşlılarda görülen AÜSS'nin temel nedeni olduğunu göstermiştir (Yamaguchi ve ark., 2014). AÜSS'li ileri yaşlı kişilerde, alt üriner sisteme giden kan akışı önemli ölçüde azalmaktadır (Pinggera ve ark., 2008). BPH/AÜSS tedavisinde mesane iskemisi terapötik hedef olarak düşünülebilir.

1.3.4. BPH Etiyolojisine Ait Teoriler

BPH'nın moleküler etiyolojisine ait birçok teori öne sürülmüştür. BPH'daki hiperplazik büyüme, prostatta embriyonik sürecin yeniden başlaması, androjen/östrojen sinyalleri arasındaki dengesizlik, ilerleyen yaşla prostatta yeniden şekillenme, epitelial mezenkimal geçiş, kök hücre defektleri, hipoksi, kronik inflamasyon, stromal ve epitelial büyüme faktörlerinin fazla ekspresyonu ve diğer

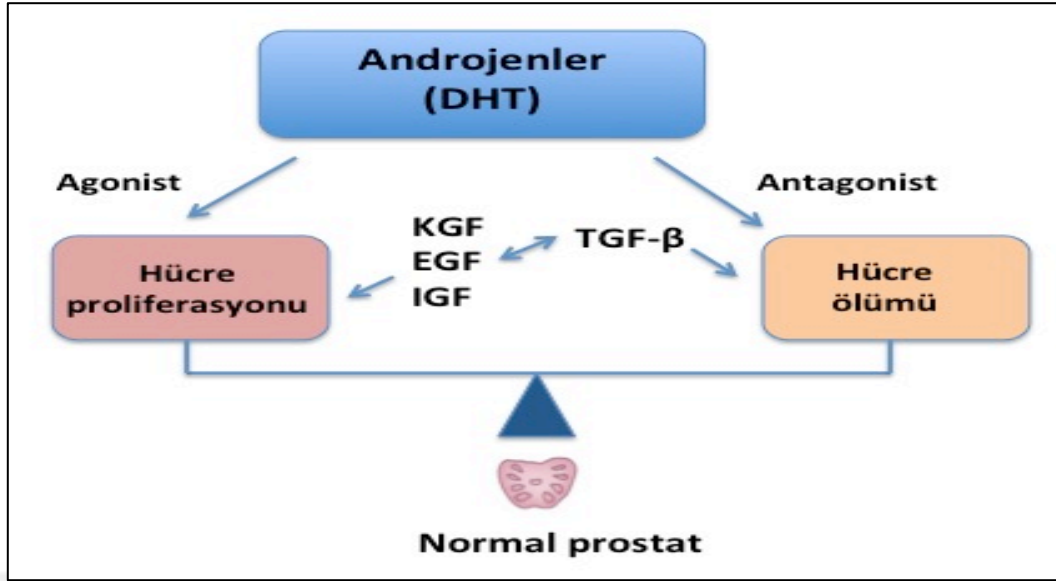
henüz açıklanmayan birçok faktörle ilişkilendirilmektedir (Coffey ve Walsh, 1990; Ho ve Habib, 2011; Kramer ve ark., 2007; Lin ve ark., 2007; Lucia ve Lambert, 2008; McNeal, 1978 ve Untergasser ve ark., 2005).

1.3.4.1. Prostatta Embriyonik Sürecin Yeniden Başlaması

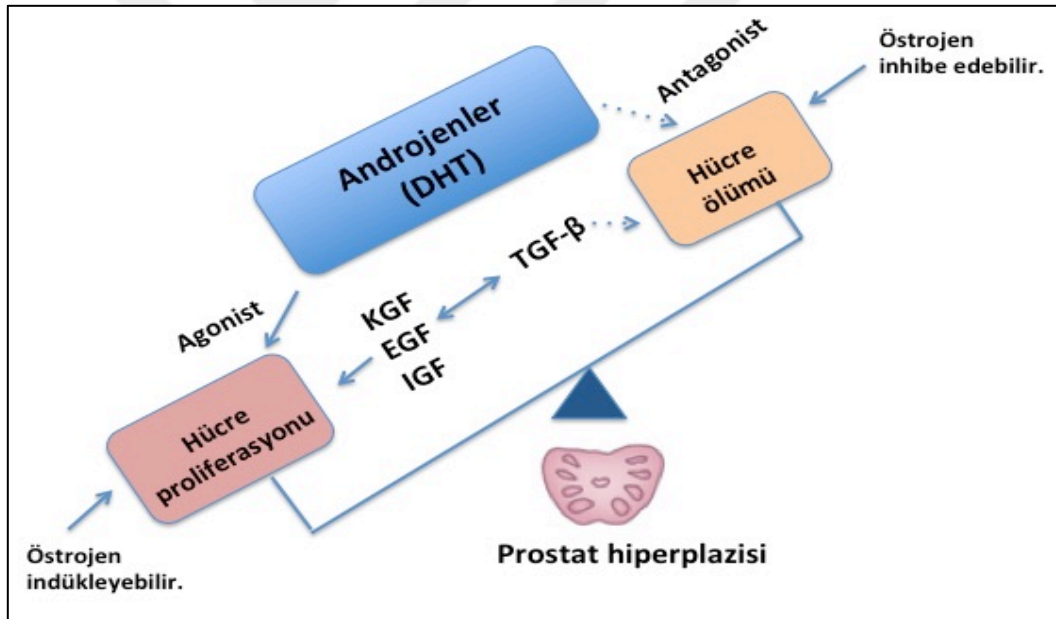
McNeal ve ark. (1978), tarafından BPH patogenezinin en önemli unsurlarından olan “embriyonik olarak yeniden uyanma teorisi” ortaya atılmıştır. Bu teoriye göre, prostat hiperplazisi hormonların aracılık ettiği gelişimsel sürecin yeniden başlaması sonucu oluşmaktadır (Mc Neal, 1978).

1.3.4.2. Androjenler

Androjenler, özellikle dihidrotestosteron (DHT) insanlarda prostatın büyümesi ve gelişimi için gereklidir (Şekil 1.4) (Ho ve Habib, 2011). Yaşlanmaya bağlı olarak DHT’nin anormal düzeyde artması ile prostatta androjen metabolizması değişmektedir. İlerleyen yaşla testosteronun periferik seviyeleri düşüş göstermesine rağmen, prostattaki DHT’nin ve androjen reseptörünün seviyesi artış göstermektedir (Peters ve Walsh, 1987). Şekil 1.5’de gösterildiği gibi DHT’nin artışı prostatın büyümesine neden olmaktadır (Isaacs ve Coffey, 1989). Yapılan klinik ve preklinik çalışmalar, BPH’nın patogenesinde östrojenlerin önemli rol oynadığını göstermiştir (Ho ve Habib, 2011). Prostat stromasında baskın olarak bulunan östrojen reseptör α , östrojenin prostat hücreleri üzerindeki proliferatif etkisine, prostat epitelinde yaygın olarak bulunan östrojen reseptör β , östrojenin apoptotik etkisine aracılık etmektedir (Lau ve ark., 2000; Tsurusaki ve ark., 2003). *İnvivo* çalışmalar, östrojenler ve androjenlerin birbiriyle etkileşime girerek prostat hücre büyümesini düzenlediğini göstermiştir (Ho ve Habib, 2011).



Şekil 1.4. Normal prostatta androjenlerin rolü (Griffiths, 1996).



Şekil 1.5. Prostat büyümesinde androjenlerin etki mekanizması (Griffiths, 1996).

1.3.4.3. Prostatta Yeniden Şekillenme

Yaşlanmayla prostat doku homeostazisi ve fonksiyonundan sorumlu olan hücre tiplerinde değişiklikler meydana gelmektedir (Untergasser ve ark., 2005). Yaşlanmaya bağlı olarak prostatta stromal-epitelyal hücre etkileşimindeki değişim ve

prostat kök hücre sayısının artışı yada kök hücrelerin çoğalan hücrelere klonal olarak yayılmasındaki artış (kök hücre teorisi) prostatın büyümesine neden olmaktadır (Isaacs ve Coffey, 1989). Alonso-Magdalena ve ark. (2009), BPH'nın stromanın proliferasyonundan değil; epitelial proliferasyon ve epitel-mezenkimal geçiş sonucu miyofibroblastların, düz kas hücrelerinin birikmesinden kaynaklandığını göstermiştir. Epitelial mezenkimal geçişin indüksiyonu ve devam etmesinde rol alan temel sinyal yolağı TGF- β /Smad3'dür (Zavadil ve Bottinger, 2005).

1.3.4.4. Kronik İnflamasyon

Çoğunlukla aktive edilmiş T hücreleri ve makrofajları barındıran kronik inflamasyon infiltratları, BPH nodülleri ile sıklıkla ilişkilendirilmektedir (Kohnen ve Drach, 1979; Theyer ve ark., 1992). Doku içerisinde toplanan T hücreleri ve makrofajlar, prostatta fibromusküler büyümeye neden olan sitokinlerin, interlökin (IL)-2 ve interferon gamma (IFN γ), üretilmesinden sorumludurlar (Kramer ve ark., 2002; Lucia ve Lambert, 2008). T hücrelerinin prostat hücrelerine göç etmesi ile IL-6, IL-8, IL-15 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezinde artış olur (Handisurya ve ark., 2001; Kramer ve ark., 2007; Steiner ve ark., 2003 ve Untergasser ve ark., 2005).

1.3.4.5. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, hücre bölünmesi ve farklılaşması sürecini stimüle eden, bazen inhibe eden küçük peptit molekülleridir (Lee ve Peehl, 2004). Büyüme faktörleri ve steroid hormonları arasındaki etkileşim, hücre proliferasyonuna karşı hücre ölüm dengesini değiştirebilir. Prostat büyümesinde, bazik fibroblast büyüme faktörü (FGF)-2, asidik FGF (FGF-1), FGF-3, keratinosit büyüme faktörü (FGF-7), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) ve epidermal büyüme faktörü rol oynamaktadır (Lee ve Peehl, 2004). Prostatik stromal hücrelerde oluşan hipoksi ile vasküler endotelial büyüme faktörü, FGF-2, FGF-7 ve TGF- β gibi birkaç büyüme

faktörünün sekresyonu artar ve prostatın büyümesine neden olur (Coffey ve Walsh, 1990).

1.3.5. BPH/AÜSS Gelişimi

Histolojik olarak BPH, prostatın periüretral ve geçiş bölgelerinde stromal ve epitelyal dokunun çoğalması şeklinde gelişmektedir (Lepor, 2005). BPH'nın oluşumu ilk (mikroskopik BPH) ve patolojik (makroskopik BPH) olmak üzere 2 fazdan oluşmaktadır. İki fazda da klinik olarak disüri (idrar yapma zorluğu) gözlenmemektedir. BPH, yaşlanmayla ilişkili olduğundan, neredeyse yaşlı erkeklerin tamamında mikroskopik BPH gelişmektedir. Mikroskopik BPH görülen yaşlı erkeklerin yarısında prostat bezinde gözle görülür düzeyde büyüme gözlenmesi (makroskopik BPH), BPH'nın mikroskopik fazdan makroskopik faza geçişinde yaşlanmadan başka faktörlerin etkili olduğunu göstermiştir. Patolojik BPH fazından sonraki aşamada, hastalarda idrar yapma zorluğu gibi birtakım semptomların görüldüğü klinik BPH oluşur. Makroskopik BPH'lı erkeklerin yarısı klinik BPH geliştirir. Prostatın makroskopik boyutta büyümesi klinik BPH'nın oluşmasına neden olan bir durum olmasına rağmen; bunun yanında prostatta oluşan inflamasyon, iskemi gibi pek çok faktör de rol oynamaktadır (Isaacs ve Coffey, 1989).

1.3.6. BPH/AÜSS Oluşumunda Rol Oynayan Mekanizmalar

BPH'nın moleküler patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır (Ahmad ve ark., 2012; Hickling ve ark., 2015). BPH, tek bir patolojik mekanizma üzerinden açıklanamamaktadır, yaşlanma sırasında birkaç olayın birlikte oluşması BPH'da etkili olabilmektedir (Rosen ve ark., 2005).

1.3.6.1. İnflamasyon

Prostatın büyümesinde ve AÜSS oluşumunda rol oynayan inflamasyon mekanizmaları hala tam olarak açıklanamamıştır; ancak prostat büyümesine inflamasyon direkt olarak katkıda bulunmaktadır.

Hem kronik hem de akut inflamasyon, BPH'lı hastalardan alınan prostat doku biyopsilerinde gözlenmektedir (Di Silverio ve ark., 2003; Gerstenbluth ve ark., 2002 ve Kohnen ve Drach, 1979). Medical Therapy of Prostate Symptoms (MTOPS) tarafından yapılan prospektif bir çalışmaya katılan BPH'lı erkeklerin prostat biyopsilerinin %2,6'sında akut, %43'ünde kronik inflamasyon saptanmıştır (Roehrborn, 2005). Yapılan bir çalışma, prostat hacminin artışı ile prostattaki kronik inflamasyonun doğru orantılı olarak arttığını göstermiştir (Di Silverio ve ark., 2003).

Prostatta inflamasyon oluşmaya başladığında, ilk olarak makrofajlar ve T lenfositler artmaktadır (Anim ve ark.,1998). BPH'da prostatta oluşan inflamasyonda, makrofajların ve T lenfositlerin prostat dokusuna göç etmesi ve makrofaj inhibe edici sitokin-1 (MIC-1) seviyesinin azalması sonucu makrofaj aktivitesinin artması gibi mekanizmalar rol oynamaktadır. Makrofajların ve T lenfositlerin prostat dokusuna göç edip aktif hale gelmesiyle prostat büyümesine neden olan birçok proinflamatuvar sitokinler salınmaktadır (Kakehi ve ark., 2004). IL-1 α , IL-2, IL-8, IL-15, IL-17 ve NF κ B gibi birçok proinflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar mediyatörler, BPH'da artış göstererek, BPH gelişiminde rol oynamaktadır (Hickling ve ark., 2015).

Handisurya ve ark. (2001), BPH'lı hastaların prostat örneklerinde IL-15'in kısmen artış göstererek, T lenfositlerin prostat dokusuna toplanmasını ve hücre proliferasyonuna neden olduğunu ve makrofaj aktivitesini inhibe eden MIC-1'in BPH doku örneklerinde azaldığını göstermiştir (Handisurya ve ark., 2001). Steiner ve ark. (2003), IL-17 mRNA ve protein seviyelerinin kontrol grubuna göre BPH'lı hastaların prostat doku örneklerinde %79 oranında artış gösterdiğini saptamıştır. Aynı zamanda BPH stromal hücre hattının, IL-17 ile stimülasyonu sonucunda IL-6 ve IL-8 sitokinlerin seviyesinde kısmen artış olduğunu göstermiştir (Steiner ve ark.,

2003). Başka bir çalışmada ise kontrole göre BPH'lı hastaların prostatlarının epitel tabakasında IL-6 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Royuela ve ark., 2004). IFN- γ , IL-2 ve IL-4 seviyeleri de kontrole göre prostat stromal hücrelerinde artış göstermiştir (Kramer ve ark., 2002).

Diğer çalışmalar, IL-8'in prostat stromal hücrelerinde fibroblast büyüme faktörü-2'yi indükleyerek prostat büyümesine katkıda bulunduğunu göstermiştir (Giri ve Ittman, 2001). Proinflamatuvar sitokinler, aynı zamanda prostat büyümesini sağlayan başka inflamatuvar mediyatörleri de indüklemektedir. Örneğin IL-17, arasıdonik asiti prostaglandine dönüştüren COX-2 enziminin mRNA'sını stabilize eder ve degrade olmasını engeller (Faour ve ark., 2003). Wang ve ark. (2004), BPH dokularında COX-2 ekspresyonunun yüksek olduğunu göstermiştir.

BPH'lı hastaların doku örneklerinde apoptozisin azaldığı ve antiapoptotik faktörlerin (Bcl-2) fazla seviyede eksprese olduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, COX-2'nin yüksek seviyesi, antiapoptotik bir gen olan Bcl-2'nin fazla ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Wang ve ark., 2004). Antiapoptotik özellikteki survivin proteinin düzeyi, normal prostat dokusu ile karşılaştırıldığında BPH'lı hastalarda artış göstermiştir (Shariat ve ark., 2005). Aynı zamanda survivin proteinin fazla eksprese olması ile AÜSS'nin şiddeti arasındaki ilişki gösterilmiştir (Shariat ve ark., 2005). Ayrıca, BPH'nın otoimmün bir hastalık olduğunu ve inflamasyonun direk olarak prostat büyümesine neden olduğunu savunan hipotezler de vardır (Bostancı ve ark., 2013; Kramer ve ark., 2007 ve Steiner ve ark., 1994).

1.3.6.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, lipit peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) ile belirlenir. Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, serbest radikallerin aksine kısmen daha stabil olduğundan hücrelerin içi ve dışına difüze olur. Prostatta herhangi bir nedenle meydana gelen doku hasarı ve oksidatif stres, hücre proliferasyonunu

artırarak prostat hiperplazisine neden olur (Chughtai ve ark., 2011; Minciullo ve ark., 2015).

BPH'lı hastalarda lipit peroksidasyonunda kontrole göre artış bulunmuştur (Palapattu ve ark., 2005). BPH'lı hastalarda sistemik MDA seviyesi, sağlıklı kişilere göre daha yüksek bulunurken, prostat hipertrofinin belirteci olan, prostat spesifik antijen seviyeleri ile aralarında korelasyon olduğu gözlenmiştir (Merendino ve ark., 2003). Ancak BPH'lı hastalarda kontrole göre sistemik MDA seviyelerinin değişmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Almushatat ve ark., 2006). Lipit peroksidasyonu aynı zamanda COX-2'yi aktive ederek prostaglandin sentezini başlatabilir (Sugar, 2006).

1.3.6.3. Büyüme Faktörleri

FGF-2, FGF-7, insülin büyüme faktörü (IGF)-I, IGF-II, TGF- β ve vasküler endotelial büyüme faktörü gibi çeşitli büyüme faktörleri BPH'nın patogenesinde rol oynamaktadır (Culig ve ark., 1996; Hickling ve ark., 2015 ve Lucia ve Lambert, 2008). TGF- β , çevre dokulardaki fibroblastları biraraya getirerek onların proliferasyonunu ve farklılaşmasını kolaylaştırıp, konnektif doku ve kollajen fibriller gibi ekstraselüler matriksin sentezini uyarır (Zhan ve ark., 2010).

1.3.6.4. Nitrik Oksit/Siklik Guanosin Monofosfat (NO/cGMP) Yolağı

Nitrik oksit (NO), birçok fizyolojik yolda ve vücut fonksiyonlarında rol oynayan bir sinyal molekülüdür ve endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak bilinmektedir. NO, endotelden hücreler tarafından salındığında vasküler düz kasların gevşemesini indükler (Furchgott ve Zawadzki, 1980). (Furchgott and Zawadzki 1980) NO, hem immunolojik cevaplarda hem de merkezi ve periferik sinir sisteminde nonkolinerjik ve nonadrenerjik nörotransmitter olarak rol oynar (Bredt ve Snyder, 1992; Hibbs ve ark., 1987).

Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi L-arginini, oksijen ve NADPH varlığında NO ve L-sitrülline dönüştürür. Nöronal, endotelial ve indüklenebilir NOS olmak üzere 3 adet izoformu bulunmaktadır. NO salındıktan sonra hedef dokuya giderek noradrenerjik, nonkolinerjik sinirler üzerinde nörotransmitter olarak rol oynar. NO, guanilat siklaz enzimini uyararak cGMP'nin intraselüler seviyesinin artışı ile etki gösterir (Morita ve ark., 1992; Person ve ark., 1995).

1.3.6.4.1. NO'in Ürogenital Sistemdeki Rolü

NO, ürogenital sistemde başta penis olmak üzere mesane, prostat düz kasında, üretrada ve eksternal üretral sfinkterde rol oynamaktadır. Hayvan ve insanlarda alt üriner sistemde NOS'ların izoformları nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS), ve indüklenebilir NOS (iNOS) olarak bulunmaktadır. NOS'lar çoğunlukla mesane çıkış bölgesinde bulunurken, mesane detrüör kasında bulunanlar da vardır. nNOS ve eNOS'un rol aldığı L-arginin-NO-cGMP yolağındaki herhangi bir patoloji, üretral çıkımın gevşemesinin azalmasına neden olarak detrüör düz kasının stabilitesinin bozulmasına, idrar tutamama ve çıkım obstrüksiyonuna neden olur. Mesanedeki inflamasyon ve infeksiyon durumlarında iNOS rol oynayabilir (Stothers ve ark., 2003). Mesane düz kas gevşemesinin ve kontraktilesinin NO seviyeleri tarafından regüle edildiğı gösterilmiştir (Theobald, 2003).

Takeda ve ark. (1995), tarafından NO'in prostat düz kas fonksiyonlarının kontrolünde rol oynadığı bulunmuştur. Hedlund ve ark. (1997), ise noradrenalinle kastırılan prostat dokusu üzerinde NO'in gevşetici etkisini göstermiştir. Hiperplazi gösteren prostat dokusunda nitrenerjik inervasyon, normal prostata göre düşük bulunmuştur (Bloch ve ark., 1997). nNOS ve eNOS, BPH'lı ve sağlıklı erkeklerin prostat dokusunda eksprese olmasına rağmen, iNOS sadece hiperplazi gösteren prostat dokusunda gözlenmiştir (Gradini ve ark., 1999). BPH'nin patogenesinde NO'in potansiyel rolü olduğu düşünülebilir (Gradini ve ark., 1999). Çünkü azalmış nitrenerjik inervasyon yada kısmi NO eksikliği, prostat düz kas tonusunu artırarak BOO'ya neden olabilir (Gradini ve ark., 1999).

NO aynı zamanda COX aktivitesini artırır (Palapattu ve ark., 2005; Sugar, 2006). NO ve COX aktivitesi inflamasyon ve prostat büyümesi arasındaki ilişkiyi belirlemek için önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar normal doku ile karşılaştırıldığında, BPH'lı insan prostat dokusunda NOS ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (Wang ve ark., 2004). NO/cGMP yolağı üzerinden etki gösteren ilaçlar, BPH kaynaklı PBOO tedavisinde potansiyel rol oynayabilir. NO'nın prostat düz kas hücreleri üzerindeki gevşetici etkisi mesane obstrüksiyonunu azaltarak AÜSS'yi azaltır (Theobald, 2003).

1.4. PBOO'da Rol Oynayan Mekanizmalar

PBOO, mesanede inflamasyon, oksidatif stres, iskemi ve hipokside artışa neden olarak mesane fonksiyonunun bozulmasına neden olmaktadır (Lin ve ark., 2014; Matsumoto ve ark., 2010). Ancak, PBOO ile indüklenen mesane hasarı sürecinde rol oynayan sinyal mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir (Yorimitsu ve ark., 2006).

1.4.1. İnflamasyon

İnflamasyon doku hasarı, travma veya enfeksiyona karşı gerekli olan doku cevabıdır. İnflamasyon, doku onarımı ve rejenerasyonu uyaran proinflamatuvar sitokinlerin biyosentezi ile başlar. Ancak inflamatuvar cevapların boyutunu ve süresini regüle eden kompleks feedback mekanizmalar gereklidir; çünkü kontrolsüz inflamasyon, doku hasarına neden olur (Sauter ve Jacobsen, 2008).

PBOO'da inflamasyonda rol oynayan birçok inflamatuvar belirteç vardır. Bu kısımda, sadece tez çalışmasında PBOO ile ilişkisi incelenen belirteçlerden bahsedilecektir.

1.4.1.1.Tümör Nekrosis Faktör Alfa (TNF- α)

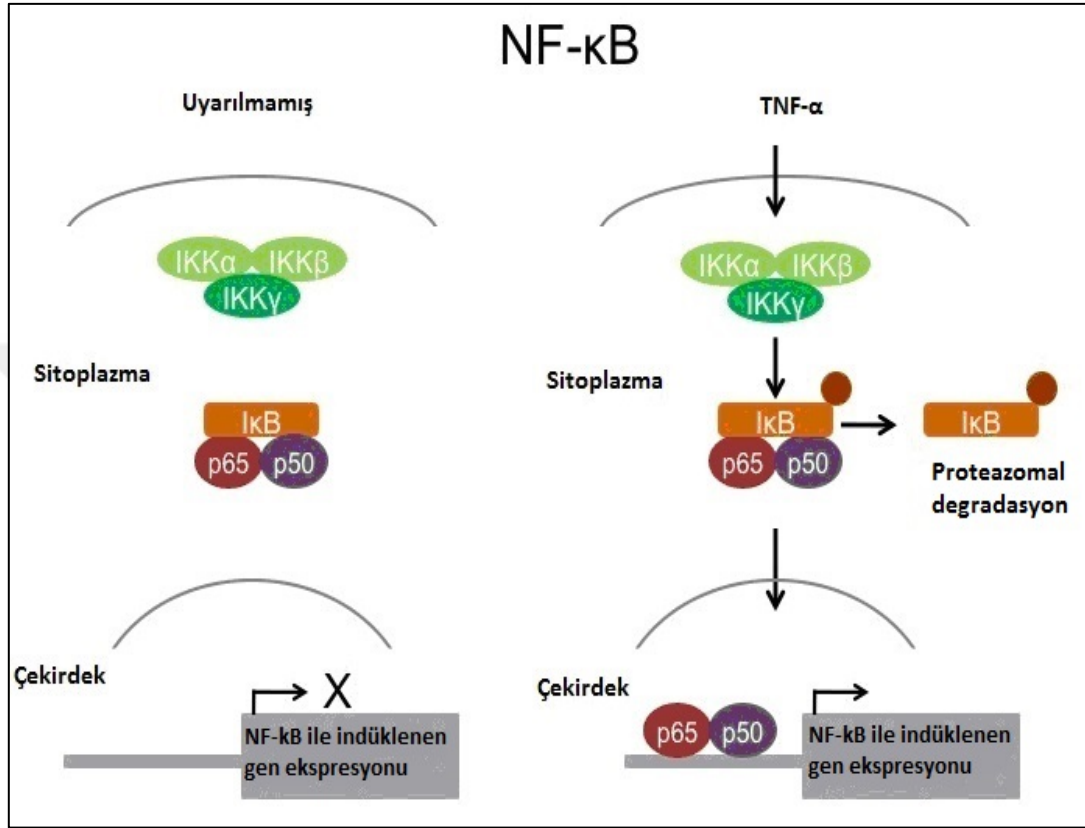
TNF- α , homotrimer olarak tip II transmembran protein olarak sentezlendikten sonra metalloproteaz TNF- α dönüştürücü enzim tarafından proteolitik yarılmaya uğrayan ve homotrimerik çözünebilir yapıda bir sitokindir (Black ve ark., 1997; Kriegler ve ark., 1988 ve Tang ve ark., 1996). Çözünebilir yapıdaki 51 kda'lık bu trimerik TNF- α , nanomolar seviyesinin altına düştüğünde bozulmaya yatkın hale gelmektedir (Bazan, 1993). TNF ligand ailesi üyeleri biyolojik etkilerini kendi TNF membran reseptörleri ile etkileşerek gösterirler. TNF- α reseptör tip 1 (TNF-R1) ve TNF- α reseptör tip 2 (TNF-R2) hem membrana bağlı ve çözünebilir TNF- α 'yı hem de lemfotoksin- α 'yı bağlar (Locksley ve ark., 2001).

1.4.1.1.1. Etki Mekanizması

TNF- α , TNF-R1 ve TNF-R2 reseptörlerine bağlanarak birçok sinyal yolağını uyarmaktadır. TNF- α reseptöre bağlandıktan sonra diğer adaptör moleküller, spesifik protein-protein etkileşimleri ile reseptör kompleksi oluşturup TNF- α sinyalinin iletilmesini sağlarlar. TNF- α 'ya hücrenin verdiği yanıt, ya hücre ölümünün indüklenmesi ya da hücre yaşamının devam etmesi için gen transkripsiyonunun aktivasyonudur (Leong ve Karsan, 2000).

TNF-R1 birçok dokuda konstitütif olarak eksprese olurken, TNF-R2 ekspresyonu çoğunlukla immün sisteme ait hücrelerde olur. Hücrelerin büyük çoğunluğunda TNF-R1, TNF sinyal yolağının temel mediyatörü iken; TNF-R2 lenfoid sistemde büyük rol oynamaktadır. TNF-R2 reseptörü sadece membrane bağlı TNF- α ile tamamen aktive edilebilir, çözülebilir TNF ile aktive olmaz (Grell ve ark., 1995). TNF-R1 protein-protein etkileşimini sağlayan fonksiyonel bir grup olan ölüm domaini (death domain) içermektedir (Tartaglia ve ark., 1993). Ölüm domaini diğer bu fonksiyonel gruba sahip proteinleri bir araya getirip ölüm reseptörleri ile birleşmesini sağlayarak kaspaz aktivasyonuna ve apoptozise neden olur (Tartaglia ve ark., 1993). TNF- α tarafından aktive edilen iki transkripsiyon faktörü, nükleer faktör-

kappa B (NF- κ B) ve AP-1 (aktive eden protein, activating protein 1)' dir (Şekil 1.6). Bu transkripsiyon faktörlerini aktive eden yollarda kinazlar, fosfolipazlar ve sfingomiyelinazlar gibi sinyal molekülleri yer alır (Leong ve Karsan, 2000).



Şekil 1.6. TNF- α aracılı NF- κ B aktivasyonu [http://www.slideserve.com/claudia/tumor-necrosis-factor-alpha-tnf-a-a-cytokine-protein-involved-in-inflammatory-and-immunologic-responses-by-mourad-ali].

1.4.1.2. Interlökin-6 (IL-6)

IL-6, inflamasyon, immun cevap, hematopoesis, karaciğer ve nöronal rejenerasyonda, embriyonal gelişimde ve fertilitede rol oynayan bir sitokindir. IL-6 stokininin sinyal mekanizmasının regülasyonunda oluşan bozukluklar, romatoid artrit, osteoporoz, multiple skleroz ve kanser gibi birçok hastalığın başlaması ve ilerlemesinde rol oynar. IL-6 sinyal iletiminde rol oynayan glikoprotein 130, janus kinaz/sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT) ve mitojenle aktive

olan protein kinaz (MAPK) yollarının aktivasyonu ile etkilerini gösterirler (Heinrich ve ark., 2003).

1.4.1.2.1. Etki Mekanizması

IL-6'nın ligand bağlayıcı IL-6 reseptörüne bağlanması, IL-6 ile sinyal iletiminde rol oynayan glikoprotein 130'un etkileşimine neden olur ve glikoprotein 130 sinyali iletir. Glikoprotein 130'un IL-6'yı bağlama özelliği olmamasına rağmen; glikoprotein 130, reseptörün IL-6'ya yüksek afinite göstermesi için IL-6'nın bağlanma bölgelerinin şekil değiştirmesine aracılık eder (Kishimoto ve ark., 1992).

1.4.1.3. Nükleer Faktör kappa B (NF- κ B)

İnflamasyonu kontrol eden mekanizmalardan birisi normal ya da patolojik bir durumda sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, hücre adhezyon molekülleri gibi genlerin ekspresyonunu regüle eden ve bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'dir. Memelilerde NF- κ B'nin homodimerize ya da heterodimerize olabilen 5 adet alt ünitesi tanımlanmıştır. Bu polipeptitlerin adları: NF- κ B1 (p50/p105), NF- κ B2 (p52/p100), p65 (RelA), RelB ve c-Rel'dir (Chen ve ark., 1995; Dobrzanski ve ark., 1994). Bu NF- κ B ailesine ait proteinler, transkripsiyonu aktive etme özelliği olan fonksiyonel grubun (domain) varlığına göre iki farklı gruba ayrılırlar. RelA (p65), RelB ve c-Rel proteinlerinin hepsi bu domaine sahipken, p50 ve p52 proteinlerinde bu domain bulunmadığından transkripsiyonu aktive etmeleri için Rel proteinleri ile heterodimerize olmaları gerekmektedir.

Bu 5 adet NF- κ B proteinleri, sitoplazma ve çekirdek arasında transloke olmalarını sağlayan Rel homoloji fonksiyonel grubuna sahiptirler (Baldwin, 1996). Rel homoloji fonksiyonel grubu, NF- κ B proteinlerine dimerleşme, NF- κ B inhibitörü olan I κ B proteinlerine bağlanma, nükleer lokalizasyon, DNA'ya bağlanma gibi birçok fonksiyon kazandırır (Chen ve Ghosh, 1999).

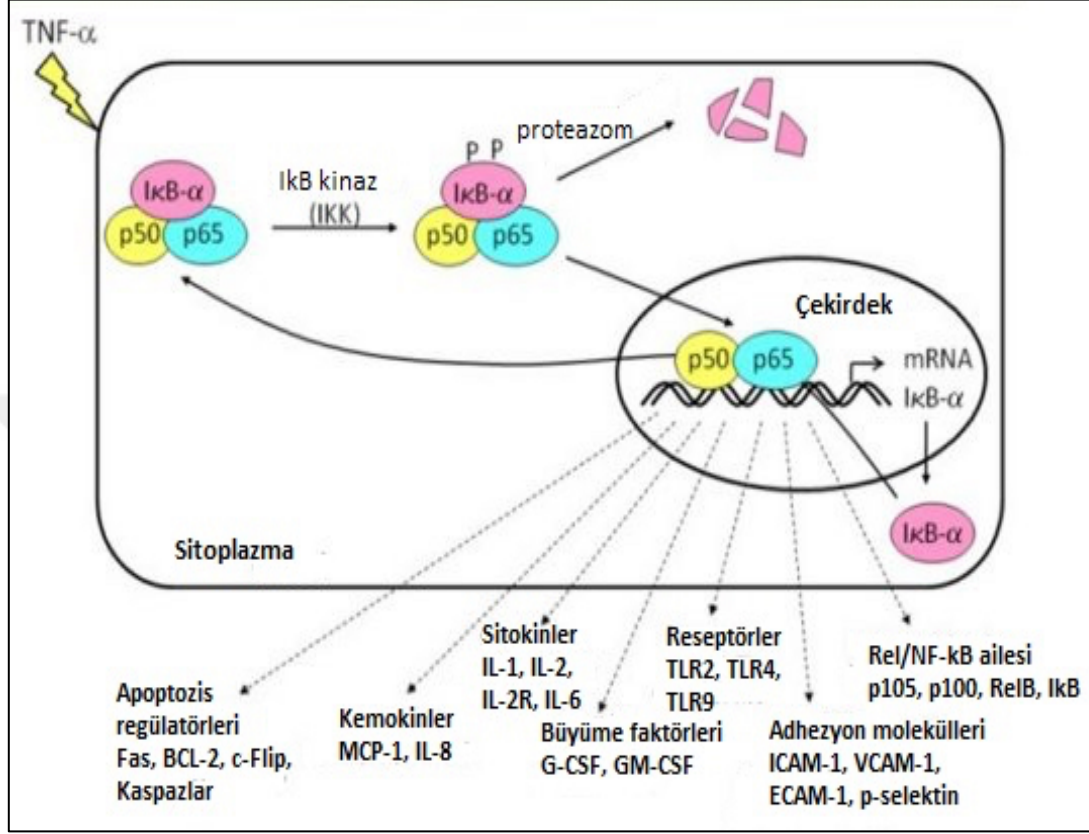
1.4.1.3.1. Etki Mekanizması

NF- κ B, sitoplazmada inaktif halde bulunmaktadır, aktif hale gelmek için çekirdeğe transloke olmak zorundadırlar (Baeuerle ve Baltimore, 1988). Uyarılmamış hücrelerde NF- κ B'nin DNA'ya bağlanmasına aracılık eden p65 (RelA) alt ünitesi NF- κ B transkripsiyon faktörünün spesifik inhibitörü olan sitoplazmik IKB proteinine bağlıdır (Baeuerle ve Baltimore, 1988; Brown ve ark., 1993; Rice ve Ernst, 1993 ve Sun ve ark., 1993). İnhibitor kappa B alfa (I κ B α), uyarılmamış hücrelerin sitoplazmasında bulunur ve NF- κ B'nin sitoplazmadan çekirdeğe gitmesini engelleyen bir proteindir. NF- κ B'nin transkripsiyonel aktivitesi I κ B α 'nın, inhibitor kappa B kinaz (IKK) tarafından fosforilasyonuna bağlıdır.

Stres, sitokinler, serbest radikaller, ultraviyole radyasyon, hidrojen peroksit (H₂O₂), TNF- α , IL-1, forbol esterleri, hipoksi, mikrobiyal infeksiyon gibi çeşitli ekstraselüler uyarılara karşı hücrel yanıt oluşturmak üzere I κ B α , IKK kompleksi tarafından spesifik olarak serin 32 ve serin 36 bölgelerinden biri yada ikisinden fosforillenir (Brown ve ark., 1995). Bu fosforilasyon I κ B α 'yı ubiquitin-proteasom yolağına hedeflendirirerek, ubiquitinasyona uğrayıp proteolize uğrayarak degrade olmasına neden olur ve I κ B α sitoplazmadan hızlıca kaybolur ve aktive olan NF- κ B, sitozolden çekirdeğe hareket ederek, DNA üzerindeki κ B olarak adlandırılan bölgelere bağlanarak hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır (Brockman ve ark., 1995; Brown ve ark., 1995; Chen ve ark., 1995 ve Chen, 2005).

NF- κ B'nin indüklenmesi hem I κ B α 'nın degradasyonu, hem de I κ B α gen ekspresyonunun aktive olması ile ilişkilidir. Uyarılmamış hücrelerde kendiliğinden devam eden I κ B α degradasyonu ve kompleks halindeki I κ B α 'nın tekrar oluşması şeklinde bir döngü vardır. Uyarılmamış hücrelerde aktif NF- κ B çok düşük seviyede iken, uyarılmayla IKB hızlı bir şekilde ortamdan uzaklaşır ve NF- κ B çekirdeğe transloke olur. NF- κ B'nin aktive olması, I κ B α 'nın yüksek seviyede eksprese olmasını indükler. Böylece, NF- κ B inaktif hale gelir ve hücre tekrar uyarılmamış duruma geçer (Arenzana-Seisdedos ve ark., 1995; Brown ve ark., 1993 ve Sun ve

ark., 1993). Bu durum NF- κ B'nin I κ B α gen ekspresyonunu indükleyebilir otoregülatör yollar aracılığı ile kontrol ettiğini göstermektedir (Sun ve ark., 1993).



Şekil 1.7. NF- κ B'nin klasik yolk ile aktivasyonu [<http://flipper.diff.org/app/items/5103>].

NF- κ B'nin transkripsiyonunu indüklediği hedef genler, kemokinler, sitokinler, immunoreseptörler, hücre adhezyon molekülleri, stresle ilişkili genler, apoptozis regülatörleri ve büyüme faktörleridir (Şekil 1.7). TNF- α , iNOS, interlökin-1 (IL-1), ve siklooksijenaz-2 (COX-2) genlerinin transkripsiyonu, NF- κ B tarafından indüklenmektedir (Pahl, 1999). NF- κ B'nin aktive olarak çekirdeğe göçü inflamasyonla ilişkili hastalıkların altında yatan mekanizmalarda yer almaktadır (Chen ve ark., 1999).

1.4.2. PBOO ve İnflamasyon

PBOO'lu ratların prostatında NF- κ B, IL1 β , TNF- α , COX-2'nin transkripsiyonu artmıştır. Prostatik inflamasyona NF- κ B sinyal yolağı ile regüle edilen kemokinler ve interlökinler aracılık etmektedir. PBOO'lu grupta ratların prostat dokusunda proinflamatuvar kemokin ligandlarının CCL2, CCL7, CXCL2, CXCL4, NF- κ B ve TNF- α 'nin ve interlökin 1 beta (IL-1 β)'nin ekspresyonunda artış gözlemlenmiştir (Hiscott ve ark., 1993; Inoue ve Tanabe, 1998 ve Shakhov ve ark., 1990).

PBOO modelinde oluşan mekanik gerilime cevap olarak, mesane düz kasında, araşidonik asitten prostaglandin sentezinde rol oynayan COX-2 enzimi aktive olmaktadır. Obstrüksiyona bağlı olarak aktive olan COX-2 ekspresyonu mesanede düz kas hücrelerinin proliferasyonunu uyarak, mesane duvarının kalınlaşmasında rol oynayabilir (Park ve ark., 1999). PBOO fare modelinde, mesanede COX-2 gen ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlenmiştir (Park ve ark., 1997). PBOO'lu grupta ratların mesane dokusunda TNF- α , IL-6, iNOS gibi apoptozisi uyaran sitokinlerin düzeyi artış göstermiştir (Bonvissuto ve ark., 2011; Chen ve ark., 2006). PBOO hayvan modelinde, sistemik inflamatuvar sitokinlerin düzeyi ve mesane ağırlığı pozitif korelasyon ilişkisi göstermektedir (Lin ve ark., 2014).

1.4.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, doku hasarına neden olan ROS'ların üretimi ve detoksifikasyonu arasındaki dengesizliktir (Kullisaar ve ark., 2012). Oksidatif streste özellikle mitokondri aşırı ölçüde ROS üretir. ROS'ların dengelenemeyen artmış seviyeleri normal hücre fonksiyonunu bozmaktadır. (Valko ve ark., 2007).

ROS'un fazla üretilmesi protein, lipid ve DNA hasarına neden olarak antioksidan savunma mekanizmasının önemli ölçüde azalmasına neden olur. Bunu hücresel fonksiyonların bozulması ve hücre ölümü takip eder. ROS'un ortamda

düşük seviyelerde olması intraselüler sinyal yollarında kısmen değişime neden olur (Seddon ve ark., 2007; Udensi ve Tchounwou, 2014).

1.4.3.1. Nükleer Faktör E2 İlişkili Faktör-2 (Nrf2)

Nükleer faktör E2 ilişkili faktör-2 (Nrf2) oksidatif stres için hücrel sensör rolü oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Nrf2 yolağı inflamasyon, hücrede meydana gelen bir hasar, oksidatif stres gibi birçok fizyolojik süreçte koruyucu rol oynamaktadır. Oksidatif stres olmadan Nrf2 sitoplazmada iken; oksidatif strese bağlı olarak çekirdeğe giderek aktive olur ve antioksidan cevap elementine bağlanarak, hücrede hasara karşı koruyucu olarak rol oynayan, antioksidan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu regüle ederek hücreyi oksidatif hasardan korur (Dinkova-Kostova ve Abramov, 2015; Kobayashi ve Yamamoto, 2005).

1.4.3.1.1. Etki Mekanizması

Normal şartlarda Nrf2, Kelch benzeri E2 ilişkili protein (Keap1) tarafından sitozolde tutulmaktadır ve hızlı bir şekilde ubiquitin-proteasom yolağı ile degrade olmaktadır. Keap1 proteini, Nrf2'nin ubiquitinasyonu ve degradasyonunda rol oynar. Ancak ROS ya da elektrofilik kaynaklı bir stres, Nrf2-Keap1 kompleksini hedef alır ve Nrf2, Keap1'den ayrılır. Stabilize olmuş Nrf2, daha sonra çekirdeğe transloke olur ve hedef genleri transkripsiyonel olarak aktive eder (Kobayashi ve Yamamoto, 2005).

Nrf2, antioksidan cevap elementi (antioxidant response element, ARE) aracılığı ile detoksifiye edici enzimlerin ve antioksidatif stres genlerinin ekspresyonunun indüklenmesi için gereklidir ve hücrel korumada rol oynayan farklı enzimleri transkripsiyonel olarak aktive edebilir (Ishii ve ark., 2000; Itoh ve ark., 1997 ve Zhang ve Hannink, 2003). Nrf2, glutatyon, superoksit dismutaz ve glutatyon S-transferaz gibi antioksidanların ekspresyonunu artırıp, serbest radikalleri ortamdan

uzaklaştırır. Buradan yola çıkılarak, Nrf2, hem oksidatif stres ve hem de inflamasyonu azaltmak için terapötik hedef olarak düşünülebilir (Xie ve ark., 2015).

1.4.4. PBOO ve Oksidatif Stres

PBOO, oksidatif stres ve buna bağlı oluşan ROS'ların oluşumu ile ilişkilidir (Lin ve ark., 2012). PBOO kaynaklı mesane fonksiyon bozukluğunun temel nedeni serbest radikallerin üretimi ve bunun sonucu olarak oluşan membran lipid peroksidasyonudur (Parekh ve ark., 2001).

Mesanenin obstrüksiyonundan sonra mukoza aniden ve kısmen hiperplaziye, düz kas ise hipertrofiye uğrar. Obstrüksiyon sürecinde özellikle dekompensasyon aşamasında ROS'lar ve reaktif nitrojen türleri devamlı olarak oluşmaktadır (Juan ve ark., 2007). Kronik obstrüksiyon kaynaklı oksidatif stres, metabolik son ürünlerin oluşumuna neden olarak mesane kas hücrelerinin membranındaki fosfolipitlere ve mesane detrüsör kas liflerine hasar verir (Bisogni ve ark., 2012; Levin ve ark., 2004 ve Zhao ve ark., 1997). Serbest radikallerden kaynaklanan membran hasarı da aynı zamanda PBOO'da görülen mesane fonksiyon bozukluğunun temel nedeni olabilir (Parekh ve ark., 2001). Masuda ve ark. (2008), oksidatif stresin ratların mesanesinde afferent yolları duyarlılaştırarak mesane hiperaktivitesine neden olduğunu göstermiştir.

PBOO'da ROS üretiminin artması sonucu MDA seviyesi artar ve SOD aktivitesi azalır (Yuan ve ark., 2011). Çalışmalar, PBOO'nun mesane fonksiyonunun progresif olarak bozulmasına neden olduğunu ve bunun artmış ROS üretimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Güven ve ark., 2007; Onur ve ark., 2008). Artmış ROS üretimi mesane inflamasyonuna ve bunu takiben mesane fibrozisine neden olur. Aynı zamanda ROS, mesane duvarında kısmen denervasyona neden olur ve bunu takiben mesanede hassasiyete ve instabiliteye neden olur ve buna bağlı olarak kişide idrara sık çıkma, acil idrara çıkma isteği ve idrar tutamama gibi semptomlar görülür (Oka ve ark., 2009).

1.4.5. İnflamasyon ve Oksidatif Stres Arasındaki İlişki

Oksidatif stres inflamasyona katkıda bulunurken; inflamasyon da oksidatif stresi artırmaktadır (Kotlyar ve ark., 2006; Lum ve Roebuck, 2001; Mervaala ve ark.,1999). Daha önce yapılan preklinik çalışmalar PBOO'nun inflamasyon ve oksidatif stresle yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Lin ve ark., 2008; Lin ve ark., 2012 ve Matsumoto ve ark., 2010).

İnflamasyon dokuda serbest radikallerin üretimini, COX aktivitesini, NO sentezini etkileyerek prostat dokusu üzerinde hasar verici oksidatif etkilere neden olur. Bu faktörler prostat dokusunun protein yapısını ve fonksiyonunu değiştirirler, gen ekspresyonunda değişikliklere neden olur, DNA tamir ve apoptotik süreçlerinde rol oynayan posttranslasyonel modifikasyonlara neden olurlar. Böylece prostat hücrelerinde proliferasyonu indüklerler. Prostat büyümesinin indüklenmesi ile prostattaki inflamasyon süreci arasında ilişki vardır (Sciarra ve ark., 2007).

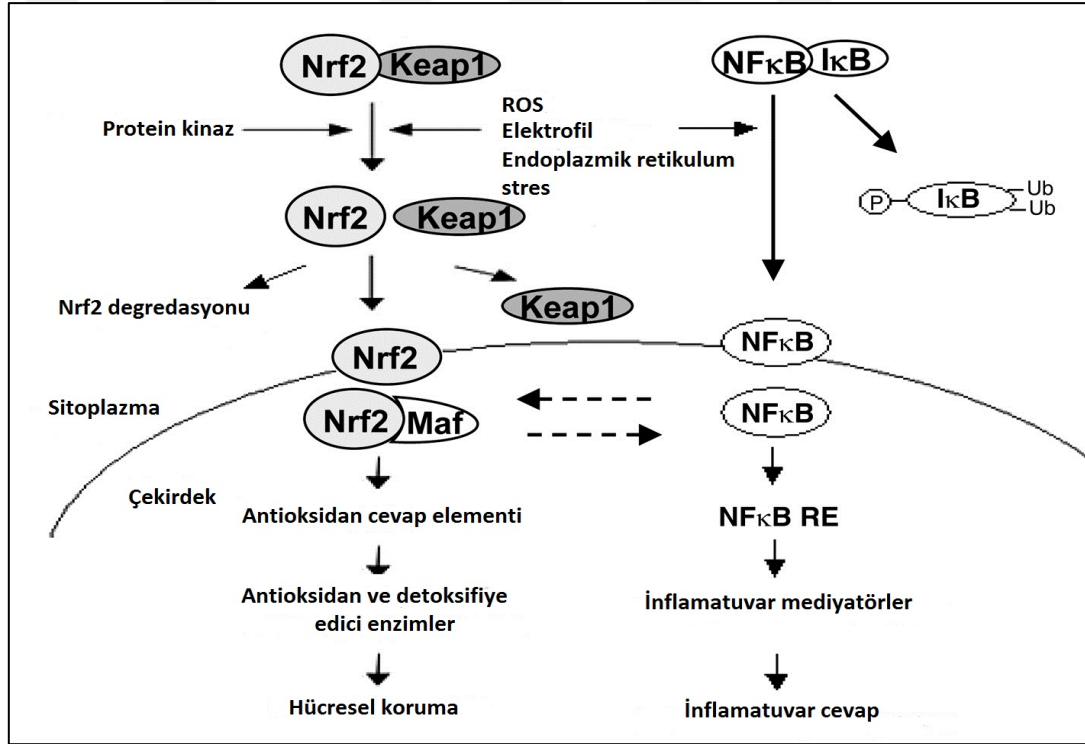
1.4.5.1.Nrf2/Keap1 ve NF-κB Arasındaki Karşılıklı Etkileşim

Birçok dokuda hücreler oksidatif stres ve inflamasyon seviyesinde anlık değişimlere maruz kalırlar. Nrf2 ve NF-κB, sırasıyla oksidatif stres ve inflamasyona karşı verilen hücresel cevabı düzenleyen iki anahtar transkripsiyon faktörüdür. Farmakolojik ve genetik çalışmalar, bu iki önemli transkripsiyon faktörü arasında karşılıklı iletişim olduğunu göstermiştir. NF-κB, Nrf2'nin hedef gen ekspresyonunu, pozitif veya negative yönde etkileyerek transkripsiyonel aktivitesini regüle edebilirken, Nrf2'nin yokluğu, artmış sitokin üretimine yol açarak NF-κB aktivitesini artırmaktadır (Wardyn ve ark., 2015).

NRF2 ve NF-κB karşılıklı olarak etkileşim halindedir (Şekil 1.8). Nrf2, p53, Notch1, AMP kinaz ve NF-κB gibi hücre yaşamını ve fonksiyonlarını etkileyen diğer sinyal yolları ile karşılıklı iletişimde bulunmaktadır (Wakabayashi ve ark., 2010). Nrf2 ve NF-κB sinyal yolları, birlikte ilgili genlerin transkripsiyonunu düzenlerler

ve hedef proteinlerin fonksiyonlarını düzenlerler (Baldwin, 1996; Chen ve Ghosh, 1999 ve Park ve ark., 1997).

NF- κ B'nin p65 alt ünitesi ve Nrf2, CREB bağlayıcı proteinin (CBP) aynı fonksiyonel grubuna bağlanırlar. CREB bağlayıcı protein, aynı zamanda Nrf2'nin koaktivatörüdür. NF- κ B'nin p65 alt ünitesi, serin 276 (ser276) bölgesinden fosforile olduktan sonra, kompetitif mekanizmalarla Nrf2'yi CBP'den yoksun bırakıp, ARE bağımlı genlerin transkripsiyonunu baskılar (Liu ve ark., 2008). Nrf2/Keap1 yolağı I κ B α fosforilasyonunu azaltarak NF- κ B'nin kontrolünde rol oynarlar (Zoja ve ark., 2014).



Şekil 1.8. Nrf2/Keap1 ve NF- κ B transkripsiyon faktörleri arasındaki etkileşim (Kim ve Vaziri, 2010).

Konstitütif olarak aktif olan NF- κ B birçok inflamasyonlu dokuda bulunmaktadır. NF- κ B'nin p65 alt ünitesi, Nrf2 yolağını ve ARE'yi transkripsiyonel seviyede baskılar. NF- κ B ve Nrf2'nin aktif durumda olduğu hücrelerde, p65 Nrf2'nin transkripsiyonel aktivitesini antagonize eder. p65 aracılı ARE

baskılanmasında iki mekanizma rol oynamaktadır.1) p65 seçici olarak CBP'nin CH1-KIX fonksiyonel grubu ile yarışmalı etkileşime girerek Nrf2'den CBP'yi yoksun bırakır ve Nrf2'yi inaktive eder. Bu inaktivasyon p65'in PKA katalitik alt ünitesi aracılığıyla serin 276 bölgesinden fosforilasyonuna bağlıdır. 2) Diğer mekanizma ise p65, ARE'nin korepresörü olan histon deasetilaz 3 enzimi ile etkileşmesinde rol oynar. p65, histon deasetilaz 3'ün CBP ya da Maf proteini ile etkileşimini sağlayarak histon hipoasetilasyonuna neden olur. NF- κ B p65'in Nrf2-ARE sinyal yolağının negatif regülasyonunda rol oynaması, antiinflamatuvar ve antitümör genlerin ekspresyonlarının baskılanmasındaki olası rolü olduğunu göstermektedir (Liu ve ark., 2008).

1.4.6. Hipoksi

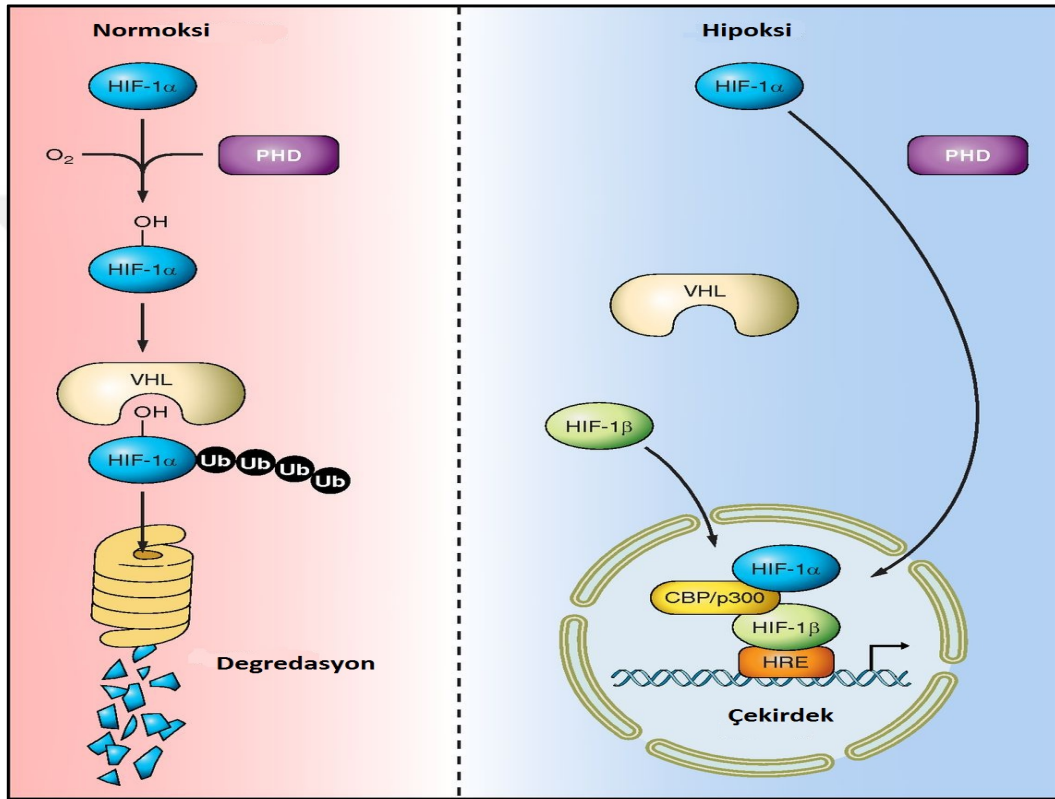
1.3.7.6.1. Hipoksi İndüklenebilir Faktör (HIF-1)

HIF-1, sitoplazmada bulunan ve oksijen ile regüle olan HIF-1 α ve nükleusta her zaman eksprese olan HIF-1 β (ARNT, aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator) alt ünitelerinden oluşan heterodimerik bir transkripsiyon faktörüdür. Hipoksi durumunda HIF-1 α nükleusa giderek HIF-1 β ile etkileşir ve fonksiyonel HIF-1'i oluşturur. HIF-1 α , aynı zamanda HIF-1 β ile olduğu gibi HIF-2 β (ARNT2, aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator 2) ile de transkripsiyon etkinliği olan dimer oluşturabilir (Sekine ve ark., 2006; Stephany ve ark., 2013)

1.3.7.6.1.1. Etki Mekanizması

HIF-1 α , substrat olarak moleküler oksijeni kullanan prolil hidroksilaz domain (PHD) proteinleri tarafından regüle edilir. Normoksi durumunda, PHD proteinleri moleküler O₂'yi, HIF-1 α 'yı hidroksillemek için kullanırlar. HIF-1 α hidroksillendiğinde, von-Hippel-Lindau (VHL) proteinine bağlanıp ubiquitinasyona ve ardından proteazomal degradasyona uğrar. Hipoksi durumunda, PHD'nin substratı

olan O₂ ortamda düşük olduğundan PHD aktivitesi azalır. Bu durumda Şekil 1.9'da gösterildiği gibi HIF-1 α hidroksilasyona uğramaz, hücrenin çekirdeğine giderek hipoksi cevap elementinin bulunduğu yerde transkripsiyonu aktive eden, CBP/p300 proteinlere bağlanır ve HIF-1 β ile dimerleşir ve HIF-1 heterodimeri hipoksi cevap elementi bulunduran genlerin transkripsiyonunu başlatır (Schofield ve Ratcliffe, 2004; Shimoda, 2012).



Şekil 1.9. HIF-1 α 'nın normoksi ve hipoksi durumunda regülasyonu (Shimoda, 2012).

1.4.7. PBOO ve Hipoksi

Sağlıklı bir mesanenin boşalması sırasında mesaneye giden kan akımı azalır ve doku hipoksiye uğrar, bu durum obstrükte ve hipertrofi olmuş mesanede önemli ölçüde artar (Greenland ve Brading., 2001; Greenland ve ark., 2000). Normal fonksiyon gösteren bir mesane, hipoksik koşulları tolere edebilir ve hipoksiye adapte olabilir (Greenland ve Brading, 2001).

PBOO'dan sonra mesanede oluşan mekanik gerilim ve hipoksi ile mesanede gözlenen fonksiyonel ve yapısal değişiklikler arasında ilişki olduğunu göstermiştir (Azadzo ve ark., 1996; Buttyan ve ark., 1997). Ancak, hipoksi ve obstrüksiyonla indüklenen mesane fonksiyon bozukluğunu birbiri ile ilişkilendiren anahtar mekanizmalar bilinmemektedir (Drzewiecki ve ark., 2012). Birçok çalışma mesane duvarına oluşan hipoksinin mesane fonksiyon bozukluklarına neden olduğunu göstermiştir (Scheepe ve ark., 2011).

PBOO'da sürekli olarak mesane duvarının gerilmesi ve mesane içindeki yüksek basınç mesanede hipoksi oluşmasına neden olur. PBOO'da mesanede kısmi denervasyon, düz kas hipertrofisi ve fibrozis gibi ikincil değişiklikler meydana gelir. Bu morfolojik değişiklikler detrüör kasının fazla aktivitesi ve mesane kompliyansında değişiklikler gibi mesane fonksiyon bozukluklarına neden olabilir (Juan ve ark., 2007). PBOO tarafından indüklenen kontraktıl fonksiyon bozukluğunun nedenleri, detrüör kasına gelen kan akımının azalması ve dokudaki hipoksi ve iskemidir. PBOO kaynaklı hipertrofi olmuş mesane, normal dokuya göre hipoksi/iskemi ve reperfüzyon hasara karşı daha dirençlidir (Levin ve ark., 2000).

İmmunohistokimyasal çalışmalar, PBOO tavşan modelinde, mesanesinin detrüör düz kasında ve seroza tabakasının altındaki bölgelerde orta ve yüksek şiddette hipoksi olduğunu, ancak mesane mukozasında hipoksiye rastlanmadığını göstermiştir (Levin ve ark., 2003).

1.4.8. İskemi

Herhangi bir nedenle dokulara kan sağlayan damarlarda kan akışının azalması sonucu iskemi meydana gelir. İskemi/reperfüzyon hasarından kaynaklanan serbest radikaller, obstrükte olmuş mesane fonksiyon bozukluklarında önemli bir etiyolojik faktördür (Levin ve ark., 2004; Matsumoto ve ark., 2005; Oka ve ark., 2009 ve Yuan ve ark., 2011).

1.4.9. PBOO ve İskemi

Normalde mesaneye giden kan akışında azalma (iskemi fazı), oksijen basıncında azalmaya (hipoksi) neden olur ve bunu idrar boşaltımından (reperfüzyon fazı) sonra tekrar mesaneye giden kan akışında ve oksijen basıncında artma takip eder (Azadzoi ve ark., 1999; Nomiya ve ark., 2012). Obstrükte olmuş mesanede, idrar boşaltımı sırasında artmış mesane içi basıncın etkisi ile kan akışında azalma oluşur ve dolumu esnasında mesane duvarındaki basınç artmaktadır (Greenland ve ark., 2000; Greenland ve Brading, 2001 ve Koritsiadis ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalar, PBOO'nun mesane kan akışında azalmaya neden olduğunu göstermiştir (Greenland ve Branding, 2001; Koritsiadis ve ark., 2008). PBOO'dan sonra iskemi önemli ölçüde artar. İlk olarak bu iskemi, PBOO'nun oluşturduğu stresin üstesinden gelmek için kompensasyon mekanizmalarını uyarabilir (Buttayan ve ark., 1997). Ancak kronik olarak mesaneye giden kan akımının azalmasıyla, mesane fonksiyonunu bozan dejeneratif değişiklikler meydana gelir (Buttayan ve ark., 1997). Diğer taraftan PBOO'nun rahatlatılması, iskemi/reperfüzyon siklusunu sonlandırır, ROS'un fazla üretilmesini azaltır ve denervasyon hasarını azaltır. Bununla birlikte idrara sık çıkma, acil idrar çıkma isteği gibi klinik semptomlarda düzelme meydana gelir (Lin ve ark., 2014).

1.4.10. PBOO'da İskemi ve Hipoksi Arasındaki İlişki

PBOO hayvan modelinde, mesane çıkım darlığına bağlı olarak, genellikle düz kas hipertrofisi ve fibrozis ile birlikte mesane fonksiyon bozukluklarına neden olan iskemi ve hipoksi meydana gelmektedir (Malmgren ve ark., 1987; Metcalfe ve ark., 2010 ve Song ve ark., 2013).

Kronik mesane iskemisi ve idrar boşaltımı sırasında tekrarlanan iskemi/reperfüzyon siklusu, ROS üretiminden kaynaklanan oksidatif strese neden olur, bunu takiben mesane sinir denervasyonu ve mesane duvarında sinir büyüme

faktörü ve prostaglandin gibi dokuya hasar veren moleküllerin ekspresyonu meydana gelir (Azadzo ve ark., 2003; Nomiya ve ark., 2012). Koritsiadis ve ark. (2008), PBOO'nun mesane kan akışında azalmaya ve hipoksiye neden olabileceğini göstermiştir. İskemi, oksidatif stresi indükleyerek AÜSS ve mesane fonksiyon bozukluğuna neden olabilir (Azadzo ve ark., 1999; Greenland ve Brading, 2001 ve Yamaguchi ve ark., 2009). Yapılan bir çalışma mesane iskemisinin, yaşlılarda görülen AÜSS'nin temel nedeni olduğunu göstermiştir (Yamaguchi ve ark., 2014). AÜSS'li ileri yaşı kişilerde kontrole göre alt üriner sisteme gelen kan akışında önemli ölçüde azalma görülmüştür (Pinggera ve ark., 2008).

1.5. BPH'nın Tedavisi

BPH kaynaklı AÜSS tedavisi için alfa adrenoseptör antagonistleri ve 5-alfa redüktaz inhibitörleri kullanılmaktadır. Alfa adrenoseptör antagonistleri, sempatik sinir uçlarından salınan noradrenalinin etkilerini bloke ederek prostat düz kas tonusunu azaltırlar. 5-alfa redüktaz inhibitörleri ise testosteronun DHT'ye çevrilmesini bloke ederek prostat hacmini azaltırlar (Sampson ve ark., 2008). BPH'nın tedavisi için kullanılan bu terapötik ajanlar mesane çıkım obstrüksiyonunu azaltarak, prostat hacmini ve prostat düz kas gerilimini azaltmayı hedeflemektedir (Lepor, 2005). BPH'ya neden olan mekanizmalardan yola çıkılarak selektif hormon antagonist/agonistler, fitoterapötik ilaçla, antistromal tedavi gibi yeni tedavi seçenekleri olarak düşünülebilir (Reitz ve ark., 2005; Sampson ve ark., 2008).

1.6. Amaç

Ratlarda deneysel olarak oluşturulan mesane çıkımının kısmen obstrüksiyonu, klinikte BPH'dan yakınan kişilerde gözlenen patolojik durumu yansıtan bir deneysel modeldir (Parsons ve Drake, 2011). Bu tez çalışmasında insanlardaki BPH'dan kaynaklanan AÜSS'nin deneysel modelini taklit etmek için, üretranın farklı

ölçülerde katater kullanarak bağlanması ile, şiddetli, orta ve hafif şiddette oluşturulan PBOO sıçan modeli kullanılmıştır.

Bu çalışmada, BPH'dan kaynaklanan AÜSS'nin deneysel hayvan modeli olan PBOO'nun şiddet derecesine bağlı olarak mesane kontraksiyonunda meydana gelen değişiklikler ile mesanede doku seviyesinde gözlenen inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada erkek Sprague Dawley ratlarda deneysel olarak oluşturulan PBOO modelinde mesane dokusunda inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksida rol alan NF- κ B, Nrf2, HIF transkripsiyon faktörlerinin gen ve protein ekspresyonu düzeyinin obstrüksiyonun derecesine bağlı olarak değişimi araştırılmıştır. Aynı zamanda, ratlara deneysel olarak farklı şiddet derecesinde uygulanan obstrüksiyonun, mesanenin fonksiyonu ile inflamasyon, oksidatif stres belirteçlerinden olan mesanedeki TNF- α , MDA düzeyi ve serumdaki TNF- α ve IL-6 düzeyleri üzerine etkisi ve aralarındaki ilişki araştırılmıştır.

Bu tez çalışması, farklı boyutta kataterler kullanılarak deneysel olarak farklı şiddette oluşturulan üretral darlığa bağlı olarak, erkek Sprague Dawley cinsi ratların mesanesinde oluşan fonksiyonel ve inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi ile ilişkili yollarda oluşan değişiklikleri moleküler düzeyde inceleyen ilk çalışmadır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Kullanılan Cihazlar

Santrifüj cihazı (Sigma), Mikrosantrifüj cihazı (Beckman Coulter), -20°C'lik derin dondurucu (Bosch), -80°C'lik derin dondurucu (Sanyo, Heto), Otomatik pipetler (Axygen), Real Time PCR cihazı (RT-PCR, Qiagen Rotor Gene Q), inkübatör (Heraeus), Manyetik karıştırıcı (Wisestir), vorteks cihazı (Velp Scientifica), pH metre (Sesa 1400), Buzdolabı (Vestel), Elektronik Terazı (Mettler Toledo), Çalkalayıcı (Biosan), Mikroplak okuyuculu spektrofotometre (Multiskan GO, ThermoScientific), Mini Protean elektroforez ve transfer sistemi (Biorad), Güç kaynağı (Biorad), Western görüntüleme cihazı (Gel logic 2200 Pro), NanoDrop (ND-1000 Spektrofotometre), MAY recorder equipment computer system (Commat Ltd. Ankara), Veri kayıt ve analiz sistemi (MP35 Biopac Student Lab Pro, Data Acquisition System), Stimülatör (Grass Instruments, Quincy, MA).

2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sıçan Yemi (Bil-Yem), Dietil eter (Sigma), Ketamin (Ketasol %10, Richter Pharma), Ksilazin (Basilazin %2, Bavet), Bikinkoninik asit kiti (ThermoScientific, Pierce), Trizol (Sigma), RNA izolasyon kiti (Macherey-Nagel), ProtoScript II First Strand cDNA sentez kiti (New England Biolabs), Proteom ekstraksiyon kiti (ProteoExtract), Rata reaktif NF- κ B p65, I κ B α , GAPDH primer tavşan antikorları (Cell signalling), HIF-1 α primer rat antikoru (Novus), HIF-2 β (ARNT2) ve Nrf2 primer tavşan antikorları (Abcam), Kemilüminesans görüntüleme ajanı (Milipore), Horseradish peoksidaz (HRP) bağılı sekonder antikör (Cell signalling), RIPA lizis tamponu (Cell signaling), Proteaz inhibitör kokteyli (Cell signalling), Akrilamid (Sigma), Bisakrilamid (Scharlau), Tween 20 (Scharlau), Amonyum persülfat (APS, Sigma), Tetraetilmetilendiamin (TEMED, Scharlau), Glisin (Biorad), Tris bazı (Sigma), Metanol (Milipore), Bromfenol mavisi (Cell signalling), Ditiyotreitöl (DTT,

Cell signalling), Potasyum klorür (KCl, Merck), Adenozin trifosfat (ATP, Sigma), Atropin (Sigma), Karbakol (Sigma).

2.3. Deney Grupları

Sıçanların bakımı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde (07:00-19:00 saatleri arası aydınlık, 19:00-07:00 saatleri arası karanlık, oda sıcaklığı $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$) yapılmıştır. Sprague-Dawley erkek sıçanlar 2015-6-112 karar nolu ile Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulu izni ile alınmıştır.

Yetişkin Sprague-Dawley erkek sıçanlar (n=40, 300-350 gram) 4 gruba ayrılmıştır:

Grup 1: Penoskrotal kesi ile mesanesi açığa çıkarılan ancak üretral ligasyon yapılmamış kontrol (sham) sıçanlar (n=10)

Grup 2: 3F kataterle şiddetli derecede 6 hafta süresince PBOO'lu sıçanlar (n=10)

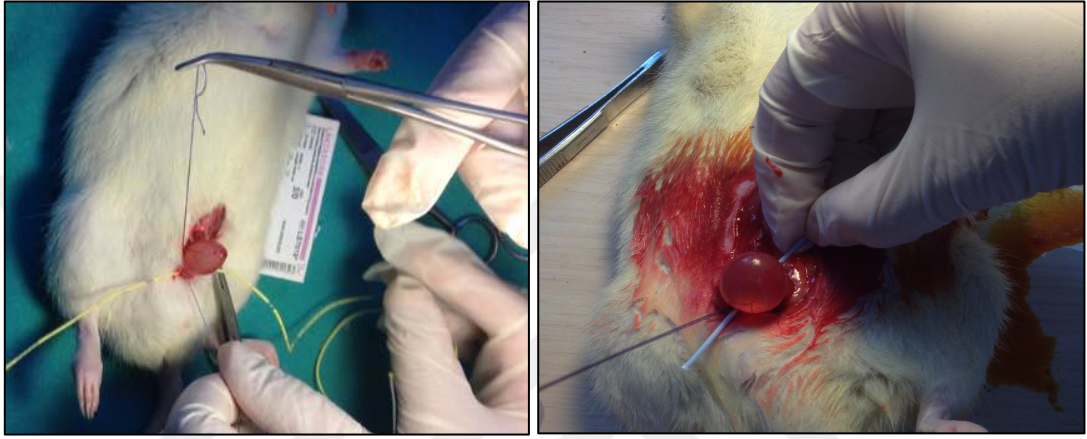
Grup 3: 4F kataterle orta derecede 6 hafta süresince PBOO'lu sıçanlar (n=10)

Grup 4: 5F kataterle hafif derecede 6 hafta süresince PBOO'lu sıçanlar (n=10)

2.4. PBOO Modelinin Oluşturulması

Üretranın ligasyonu ile oluşturulan PBOO, erkeklerde ilerleyen yaşla birlikte sık rastlanan BPH'dan kaynaklanan AÜSS için deneysel hayvan modeli olarak kullanılmaktadır (Das ve ark., 2002; Disanto ve ark., 2003). Ketamin (60 mg/kg, intraperitoneal) ve ksilazin (10 mg/kg) ile anestezi sonrası, mesaneyi açığa çıkarmak için aşağı abdominal duvar boyunca 2 cm'lik orta hat kesisi yapıldı. Grup 2, 3 ve 4'te prostatik üretra dikkatli bir şekilde izole edildi ve steril 3F, 4F ve 5F katater mesane boynunun hemen yanındaki üretral yüzeye yerleştirildi ve 3-0 polipropilen (absorbe olmayan) sütür prostatik üretranın ve kataterin etrafına bağlandı ve katater dikkatlice prostatik üretrayı kısmen tıkalı şekilde bırakarak çıkarıldı ve böylece prostatik üretrada PBOO-3F (şiddetli), PBOO-4F (orta), PBOO-5F (hafif) parsiyel

obstrüksiyon modeli oluşturuldu (Şekil 2.1). Bu işlemten sonra 4-0 ipek suturela (absorbe olan) üzerini örten kas tabakaları yaklaştırıldı ve cilt kapatıldı. Sham grubunda ise abdominal duvar boyunca orta hat kesi yapıldıktan sonra PBOO gruplarından farklı olarak sadece prostatik üretra izole edilip mesane duvarında herhangi bir obstrüksiyon işlemi yapılmadan 4-0 ipek suturela ratların kas ve cilt tabakası kapatıldı.



Şekil 2.1. PBOO modelinin oluşturulması.

2.5. 24 Saatlik İdrar Hacimlerinin Ölçülmesi

Sprague-Dawley erkek sıçanlar 24 saat süresince yem ve içme suyu sağlanarak metabolik kafese kondu. İçtikleri su ve ölçekli idrar toplama tüpleri yardımı ile 24 saatlik idrar hacmi ölçüldü.

2.6. İdrarların Elde Edilmesi

PBOO modeli oluşturulduktan 6 hafta sonra ratlar metabolik kafese konularak idrar toplama tüpleri yardımı ile idrarlar toplandı.

2.7. Plazmanın Elde Edilmesi

PBOO modeli oluşturulduktan 6 hafta sonra ratlar sakrifiye edildi. Ratlar, etere maruz bırakıldıktan sonra kalp atar durumda iken, 2 ml'lik enjektörle kalbin apeksinden son ventrikiülden kan alınarak 3 ml'lik EDTA'lı tüplere kondu ve tüp birkaç kez ters düz edilerek kanın pıhtılaşması engellendi ve 3500 rpm'de 10 dakika süresince santrifüj edilerek üstte kalan plazma, 2 ml'lik ependorf tüplere alınarak -80°C'ye kaldırıldı.

2.8. Mesane Ağırlıklarının Ölçülmesi

PBOO modeli oluşturulduktan 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratların mesaneleri alındı ve hızlı bir şekilde mesane içeriği boşaltıldı ve buz soğukluğundaki PBS çözeltisi (ph=7,4) ile mesane dokuları kandan kurtararak hassas terazide ağırlığı tartılıp ependorflara konuldu ve sıvı azot yardımı ile hızlı bir şekilde dondurularak -80°C'ye kaldırıldı.

2.9. *In vitro* Deneyler

İzometrik düz kas tonusunu ölçmek için her gruptaki sıçanlara ait mesane dokuları ile organ banyosu deneyleri yapıldı. Eterle anestezi sonrası mesane çıkarıldı ve Krebs-bikarbonat solüsyonu (mM =NaCl:118.1, KCl: 4.7, KH_2PO_4 : 1.0, $MgSO_4$: 1.0, $NaHCO_3$: 25.0, $CaCl_2$: 2.5 ve glukoz: 11.1) içeren cam petriye konuldu ve 37 °C'de %95 O_2 ve %5 CO_2 ile sürekli havalandırıldı. Strip şeklindeki mesane dokuları (1x1x8 mm), 1 g gerilim altında, bir ucu elektrot tutucusuna diğer ucu da güçlü dönüştürücüye bağlı şekilde 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirildi. Dokular, 37 °C'de 60 dakika dengelenmeye bırakıldı. Mekanik aktiviteler "MAY recorder equipment computer system" (COMMAT, Ankara, Türkiye) kullanılarak kaydedildi.

60 mM KCl, karbakol (10-7-10-4M), elektriksel alan stimölasyonu (EFS, voltage 100 V, pulse duration 1ms, frequency, 5-40 Hz) (Grass Instruments, Quincy, MA) ve 0,1-1 mM adenozin trifosfat (ATP)'ye cevap olarak gerilimde oluşan değişiklikler kaydedilerek kasılma yanıtları alınmıştır. Tüm doku cevapları gram doku ağırlığına göre normalize edildi.

2.10. Mesane Dokusundan Total Lizatların Hazırlanması

Mesane dokusunun homojenizasyonu, sıvı azot varlığında porselen havan ve havan eli kullanılarak yapıldı. Havanda homojenize edilen doku, metal spatöl yardımıyla alınarak hızlı bir şekilde ependorf tüplerine konuldu ve üzerlerine buz soğukluğunda RIPA ve proteaz inhibitör kokteylinden oluşan lizis tamponu ilave edildi ve dokunun daha iyi homojen olması için lizat birkaç kez enjektörden geçirildi. Daha sonra lizatlar 4°C'de 1 saat boyunca çalkalayıcı üzerinde (50 rpm) inkübasyona bırakıldı. Örnekler 4°C'de 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındı ve western blot analizi için -80°C'ye kaldırıldı.

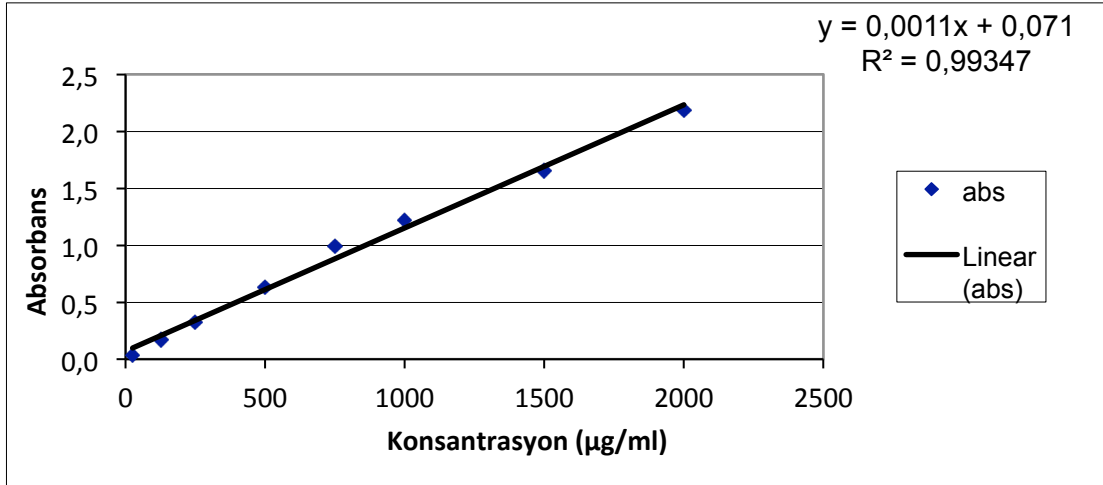
2.11. Mesane Dokusundan Sitozolik ve Nükleosolik Lizat Hazırlanması

Mesane dokusundan sitozolik ve nükleer lizat hazırlanması ProteoExtract® proteom ekstraksiyon kitinin protokolüne uygun şekilde yapıldı. -80°C'deki 25 miligram civarında mesane dokusu sıvı azotla havan ve havan eli yardımıyla homojenize edildi. Havanda homojenize edilen doku spatöl yardımıyla hızlı bir şekilde 1,5 ml'lik ependorf tüpüne alındı ve üzerine buz soğukluğunda 2 ml yıkama tamponu ilave edildi. Resüspande edilen doku homojenatı 300 X g'de 4°C'de santrifüj edildi. Yıkama tamponu uzaklaştırılır. Daha sonra her bir örnek için 1 ml ekstraksiyon tamponu I ve 5 µl proteaz inhibitör kokteyli olacak şekilde hazırlanan stok lizis tamponundan, doku homojenatının üzerine ilave edildi ve doku resüspande edildi ve doku lizatı birkaç kere enjektörden geçirildi. Daha sonra 4°C'de 50 rpm'de çalkalayıcı üzerinde 10 dakika boyunca ajitasyon yapıldı. Doku homojenatı 1000g'de

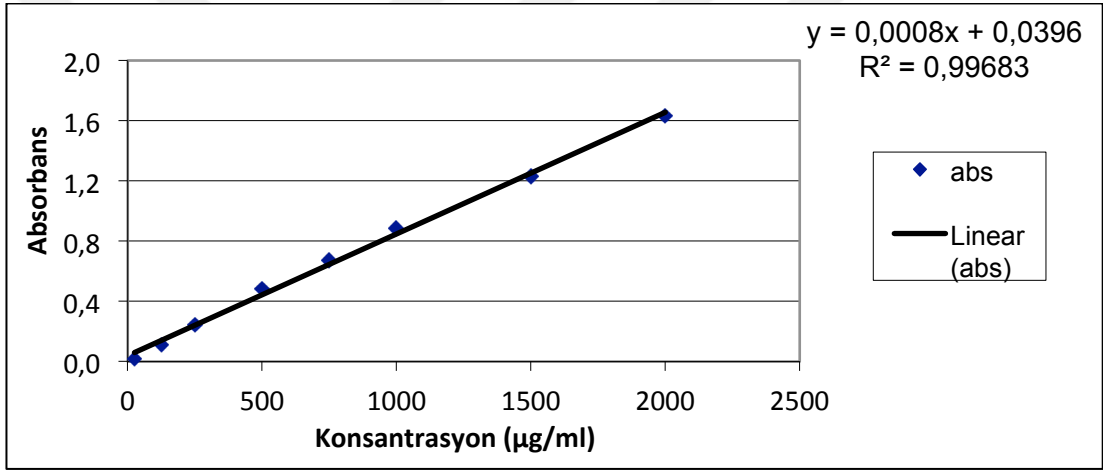
10 dakika süresince 4°C’de santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant (sitozolik ekstrakt) pelleti kaldırmadan dikkatlice temiz bir tüpe alındı ve buz üzerine kondu. Pellet üzerine her bir örnek için 1 ml ekstraksiyon tamponu II ve 5 µl proteaz inhibitör kokteyli olacak şekilde hazırlanan stok lizis tamponundan ilave edildi ve yavaşça pipetleme yapılarak pellet resüspande edildi. Daha sonra 4°C’de 50 rpm’de çalkalayıcı üzerinde 30 dakika boyunca ajitasyon yapıldı. Doku homojenatı 6000g’de 10 dakika süresince 4°C’de santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant (membran ekstraktı) pelleti kaldırmadan dikkatlice temiz bir tüpe alındı ve buz üzerine kondu. Pellet üzerine her bir örnek için 500 µl ekstraksiyon tamponu III ve 5 µl proteaz inhibitör kokteyli olacak şekilde hazırlanan stok lizis tamponundan ve 1,5 µl benzonase® nükleazdan ilave edildi ve yavaşça pipetleme yapılarak pellet resüspande edildi. Daha sonra 4°C’de 50 rpm’de çalkalayıcı üzerinde 10 dakika boyunca ajitasyon yapıldı. Doku homojenatı 10000 X g’de 10 dakika süresince 4°C’de santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant (nükleosolik ekstrakt) pelleti kaldırmadan dikkatlice temiz bir tüpe alındı ve lizatlar western blot analizi için -80°C’ye kaldırıldı.

2.12. Doku Lizatlarının Bikinkoninik Asit Metodu ile Protein Miktar Tayini

2000 µg/ml konsantrasyondaki sığır serum albumininden hareketle 1500, 1000, 750, 500, 250, 125, 25 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde total, sitozolik ve nükleer doku lizatları için sırasıyla 1X RIPA tamponu, ProteoExtract® proteom ekstraksiyon kitindeki ekstraksiyon tamponu I ve III içerisinde standartlar hazırlandı (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3). Kör olarak total, sitozolik ve nükleer doku lizatları için sırasıyla 1X RIPA tamponu, ProteoExtract® proteom ekstraksiyon kitindeki ekstraksiyon tamponu I ve III kullanıldı.



Şekil 2.2. Total ve nükleer doku lizatları için hazırlanan standart eğrisi.



Şekil 2.3. Sitozolik doku lizatları için hazırlanan standart eğrisi.

Çalışma solüsyonu, bikinkoninik asit kitindeki A ve B ajanlarının 50:1 oranında karıştırılması ile hazırlandı. 96'lık plaktaki kuyucuklara 200'er µl bu çalışma solüsyonundan ilave edildi. Standartlardan, dilüe edilmiş örneklerden her bir kuyucuğa 25'er µl ilave edildi. Daha sonra 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve 562 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Total, sitozolik ve nükleer doku lizatları için 2 adet standart eğri oluşturuldu ve oluşturulan standart eğri yardımı ile her bir örneğin protein konsantrasyonu mg/ml cinsinden hesaplandı.

2.13. Western Blot Analizi

Her bir örnek protein miktarı eşit olacak şekilde (20-40 µg protein), fosfat tampon solüsyonu (1X PBS, pH 7.4) ile dilüe edildi ve her bir örneğe eşit miktarda örnek yükleme tamponundan ilave edildi. Örnekler 95°C’de 4 dakika kaynatılarak denatüre edildi ve kuyulara yüklemeye hazır hale getirildi. Denature edilen örnekler, ilgilenilen proteinlerin molekül ağırlıklarına (kda) göre %7,5 ve %10’luk poliakrilamid jelde elektroforez tamponu varlığında 100 voltta yürütüldü. Jelde yürütülen proteinlerin, poliviniliden florid (PVDF) membrana transferi 100 voltta, 60 dakika süresince transfer tamponu varlığında yapıldı. Transferden önce PVDF membran, gözeneklerinin açılması için metanolde 90 saniye bekletildi. Transfer aşamasından sonra, membranlar, 1X PBS içerisinde hazırlanmış %5 (a/h) süt tozu içerisinde 90 dakika boyunca inkübe edildi ve 1X PBS içerisinde yıkandı. Daha sonra membranlar %0,1 tween-20 içeren PBS içerisinde hazırlanan rata spesifik NF-κB p65, IκB α, HIF-1α, HIF-2β (ARNT2), Nrf2, GAPDH primer tavşan antikorları ile 4°C’de gece boyu inkübe edildi. Sonrasında membran üç kez %0,1 tween-20 içeren PBS ile yıkandı ve daha sonra PBS-tween-20 içerisinde 1:1000 oranında dilüe edilmiş horseradish peroksidaz (HRP) bağlı tavşan sekonder antikoru ile membran 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra membran üzerinde ilgilenilen proteinler, kemilüminesans ajanı ile görünür hale getirildikten sonra ilgili proteinlerin ekspresyonunun analizi image J programı kullanılarak yapıldı.

2.14. RNA İzolasyonu

30 miligram civarında mesane dokusu havan ve havan eli kullanılarak sıvı azotla homojenize edildi. Havanda homojenize edilen doku spatül yardımıyla 1,5 ml’lik ependorf tüpüne alındı ve üzerine 500 µl trizolden konuldu. Dokunun daha homojen olması için birkaç kere enjektörden geçirildi ve doku lizatı oda sıcaklığında 30 dakika boyunca çalkalayıcı üzerinde (50 rpm) inkübasyona bırakıldı ve daha sonra 100 µl kloroform ilave edildi. Trizol ile kloroformun iyi bir şekilde karışması için ependorf yavaş bir şekilde 20 kez ters düz edildi ve 12000 rpm’de 4°C’de

santrifüj yapıldıktan sonra 3 tabaka oluşumu gözlemlendi. Üstteki tabaka (RNA tabakası) pipetle diğer tabakalara dokunmadan alınıp başka tüpe aktarıldı ve üzerine eşit hacimde %70'lik etanol ilave edildi ve 10 kez pipetleme yapılarak supernatant ve etanolün homojen karışması sağlandı. Bu presipitat Macherey-Nagel RNA izolasyon kitindeki NükleoSpin RNA kolonuna yüklendi ve 11000 X g'de 30 saniye boyunca santrifüj yapıldı. Santrifüj sonunda toplama tüpünde kalan sıvı uzaklaştırıldı ve NükleoSpin RNA kolonundaki silika membran üzerine 350 µl membrandaki tuzu uzaklaştırmayı sağlayan tampondan konuldu. Kolon 11000 X g'de 1 dakika boyunca santrifüj edilerek membranın tuzdan kurtarılması sağlandı. 90 µl DNase ve 10 µl DNase reaksiyon tamponu karıştırılarak NükleoSpin RNA kolondaki silika membranın merkezine yüklendi ve 15 dakika süresince silika membranın DNase reaksiyon karışımı ile inkübe olması sağlandı. NükleoSpin RNA kolonuna sırasıyla yüklenen 200 µl RAW2, 600 µl RA3 yıkama tamponları ile kolonun 11000 X g'de 30 saniye boyunca santrifüj edilmesi ile silika membran yıkandı. En son yıkama aşaması ise kolona yüklenen 250 µl RA3'ün kolonun 11000 X g'de 2 dakika boyunca santrifüj edilmesi ile yapıldı. 50 µl RNase içermeyen suyun NükleoSpin RNA kolonundaki silika membranın merkezine yüklenip kolonun 11000 X g'de 2 dakika boyunca santrifüj edilmesi ile RNA izolasyonu yapıldı.

2.15. cDNA Sentezi

Mesane dokusundan izole edilen RNA'dan cDNA sentezi ProtoScript II First Strand cDNA sentez kiti (New England Biolabs) ile yapıldı. cDNA sentezi, her bir örnekte 100 nanogram RNA olacak şekilde ve kitin protokolüne uygun olarak yapıldı.

RNA denatürasyonu

Total RNA (100 ng)	1-6 µl
d(T) ₂₃ VN (50 µM)	2 µl
<u>Rnase ve dnase içermeyen su</u>	<u>x µl</u>
Toplam	8 µl

Örnekler 65°C’de 5 dakika süresince su banyosunda inkübe edildi ve örnekler hızlı bir şekilde buz bloğuna alındı ve aşağıda belirtilen şekilde hazırlanan karışımdan her bir tüpe 12 µl ilave edildi ve 42°C’de 1 saat ve 80°C’de 5 dakika olacak şekilde kitteki PCR protokolüne uygun olarak Rotor-Gene® Q 5plex HRM (Qiagen) Real cihazında cDNA sentezi yapıldı.

2X reaksiyon karışımı	10 µl
<u>10X enzim karışımı</u>	<u>2 µl</u>
Son hacim	20 µl

2.16. Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real time PCR, RT-PCR) ile Gen Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Primerlerin tasarımı, Sprague Dawley rat türüne spesifik olarak “Ensembl genome browser” ve “Primer3 input” programları kullanılarak yapıldı (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Rata spesifik oligonükleotid primer dizileri.

Gen adı	İleri primer	Geri primer
NF-κB p65	5'-GGTGGAGTTTGGGAAGGATTTG-3'	5'-TTTTCTCCGAAGCTGAACAAACAC-3'
IκB α	5'-AAGTGATCCGCCAGGTGAAG-3'	5'-GCAATTTCTGGCTGGTTGGT-3'
HIF-1α	5'-AAGTACTCCGTGTGGATCGG-3'	5'-AAAGCCATGCCAATCTCATC-3'
HIF-1β (ARNT)	5'-TTGGCCCTGTGAAAGAAGGA-3'	5'-GGGATTCTGGAATGTGAAGC-3'
HIF-2β (ARNT2)	5'-TCACCTTCCAGAACCCCTACT-3'	5'-GGAGAAGATCGCATCTGCCTT-3'
Nrf2	5'-GGTTGCCACATTCCCAAAC-3'	5'-CTCTCAACGTGGCTGGGAAT-3'
GAPDH	5'-AAAGGGTCATCATCTCCGCC-3'	5'-AGTGATGGCATGGACTGTGG-3'

Son konsantrasyonları 10 µM olacak şekilde ileri ve geri primerlerin nükleaz içermeyen su ile dilüsyonları yapıldı. NF-κB p65, IκB α, HIF-1α, HIF-1β (ARNT), Nrf2, GAPDH genleri için her bir örneğe ait cDNA'lar 1/5 oranında dilüe edilirken, HIF-2β (ARNT2) geni için her bir örneğe ait cDNA'ların 1/2 oranında dilüsyonu yapılarak RT-PCR optimizasyonu yapıldı. 95°C'de 2 dakika (1 siklus), 95°C 15 saniye ve 60°C 60 saniye (40 siklus) olacak şekilde GoTaq® qPCR Master Mix (Promega) kiti protokolüne uygun olarak Rotor-Gene® Q 5plex HRM (Qiagen) cihazında RT-PCR sentezi yapıldı. Tüm reaksiyonlar ikişer tekrarlı olarak yapıldı. Amplifikasyon reaksiyonlarının spesifikitesi erime eğrisi (T_m) analizleri ile doğrulandı. Hedef genlerin ekspresyonları relatif kantifikasyon metodu (2^{-ΔΔCt}) ile değerlendirildi.

cDNA	5 µl
Master mix (2X)	12,5 µl
F/R primer (0,3 µM)	0,75 µl
Su	6,75 µl
Son hacim	25 µl

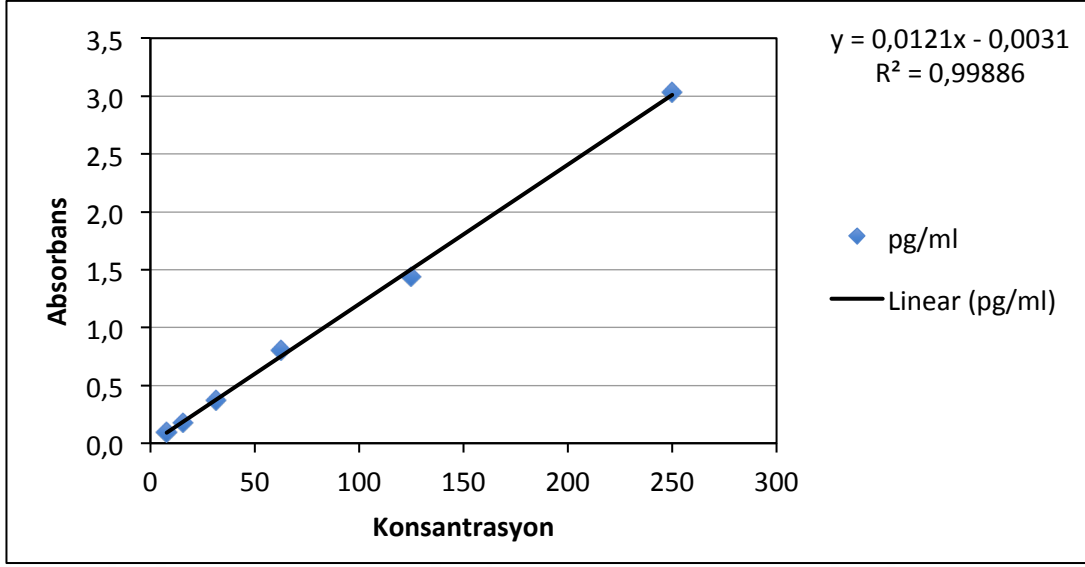
2.17. Mesanede TNF- α Düzeyinin Saptanması

Mesanede TNF- α düzeyi EZRTNFA katalog numaralı Rat TNF- α Elisa kiti (Milipore) ile ölçüldü. Mesane dokusunun homojenizasyonu, sıvı azot varlığında porselen havan ve havan eli kullanılarak yapıldı. Havanda homojenize edilen doku, metal spatül yardımıyla alınarak hızlı bir şekilde ependorf tüplerine konuldu ve üzerlerine buz soğukluğunda RIPA ve proteaz inhibitör kokteylinden oluşan lizis tamponu ilave edildi. Doku lizatı birkaç kere enjektörden geçirildi ve lizatlar 4°C'de 1 saat boyunca çalkalayıcı üzerinde (50 rpm) inkübasyona bırakıldı. Örnekler 4°C'de 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındı ve doku lizatları protein miktar tayini ve ELİSA için -80°C'ye kaldırıldı.

Deneyler kit prosedürüne uygun olarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

Kuyucuklar 4 kez 300 μ l 1X yıkama tamponu ile yıkandı. Tampon A solüsyonundan 50'şer μ l standartların ve örneklerin olduğu kuyucuklara konuldu. Mikroplak şeffaf yapışkan bantlı jelatin ile kapatıldı ve 2 saat süresince 200 rpm hızında, oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübe edildi. Kuyucukların içeriği boşaltıldı ve kuyucuklar 4 kez 300 μ l 1X yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyucuğa 100 μ l Rat TNF- α deteksiyon antikoruna ilave edildi ve 1 saat süresince 200 rpm hızında, oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübe edildi. Kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı ve 4 kez 300 μ l 1X yıkama tamponu ile yıkandı. 100 μ l Avidin HRP-D solüsyonundan her kuyucuğa eklendi ve mikroplak şeffaf yapışkan bantlı jelatin ile kapatıldı ve 30 dakika süresince 200 rpm hızında, oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübe edildi. Kuyucuklar boşaltıldı ve 5 kez 300 μ l 1X yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyuya 100 μ l substrat solüsyon F'den koyuldu ve mikroplak karanlıkta 15 dakika bekletildi. Kuyucuklara 100 μ l durdurma solüsyonundan koyuldu ve 450 nm dalga boyunda mikroplak okuyuculu spektrofotometrede kuyucukların absorbans değerleri ölçüldü. Örnekler ve standartlar ikiye tekrarlı olarak çalışıldı.

Standartlar Şekil 2.4'de gösterildiği gibi 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml, 7,8 pg/ml konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlandı.

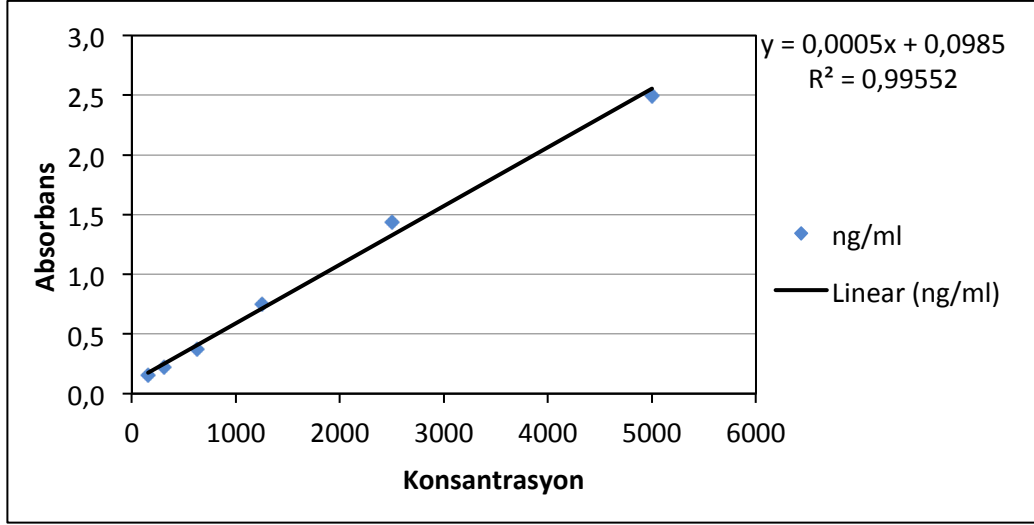


Şekil 2.4. TNF- α Elisa yöntemi standart eğrisi.

2.18. Serumda TNF- α Seviyesinin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi

Serumda TNF- α düzeyi E-EL-R0019 katalog numaralı Rat TNF- α Elisa kiti (Elabscience) ile ölçüldü. Tüm standartlar ve örnekler ikişer tekrarlı olarak çalışıldı. Her standart ve örnekten kuyucuklara 100 μ L ilave edildi. Plâğin üstü yapışkan bantlı jelatin ile kapatıldı ve 37°C’de 90 dakika inkübe edildi. Kuyucukların içeriği boşaltıldı ve her bir kuyuya 100’er μ L 1X konsantrasyonda biyotinlenmiş TNF- α antikorundan konuldu ve mikropalak 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. Kuyucuklar boşaltıldı ve 3 kez yıkandı. Herbir kuyucuğa 100 μ L 1X konsantrasyonda HRP konjugattan konuldu ve 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. Tekrar kuyucuklar 5 kez yıkandı. Kuyucuklara 90 μ L substrat solüsyonundan konulduktan sonra plâğin üstü kapatıldı ve 37°C’de 15 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 50 μ L reaksiyonu durdurma solüsyonundan ilave edildikten hemen sonra kuyucukların absorbans değerleri 450 nm’de okundu. Standartların konsantrasyonları ve absorbanslarından yararlanılarak çizilen standart eğri yardımıyla serumdaki TNF- α düzeyi hesaplandı.

Standartlar 5000 ng/ml, 2500 ng/ml, 1250 ng/ml, 625 ng/ml, 312,5 ng/ml, 156,25 ng/ml konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlandı (Şekil 2.5).



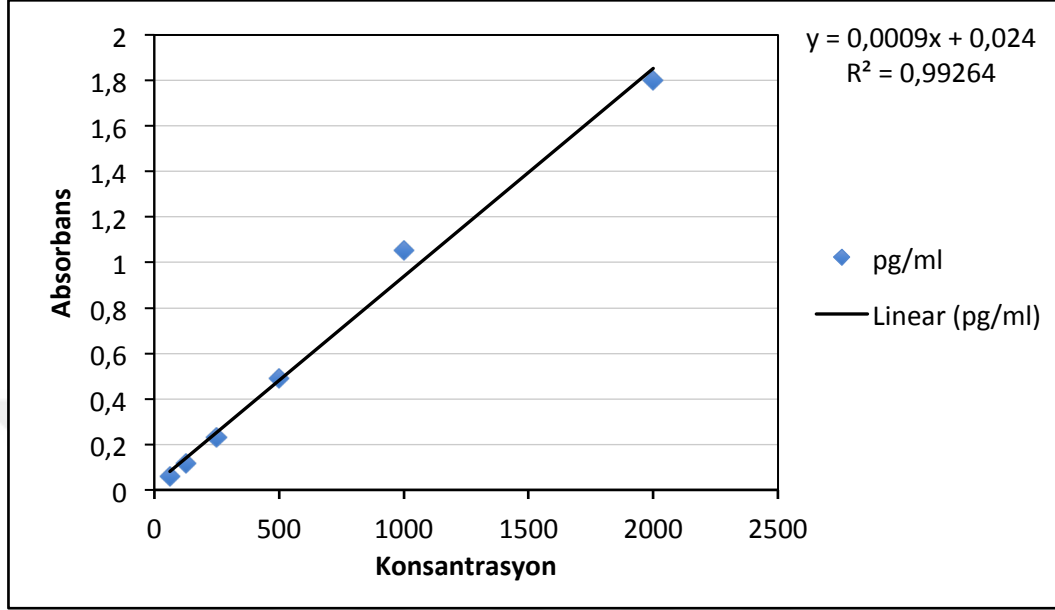
Şekil 2.5. TNF- α Elisa yöntemi standart eğrisi.

2.19. Serumda IL-6 Seviyesinin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi

Serumda IL-6 düzeyi E-EL-R0015 katalog numaralı Rat TNF- α Elisa kiti (Elabscience) ile ölçüldü.

Tüm standartlar ve örnekler ikişer tekrarlı olarak çalışıldı. Her standart ve örnekten 100 μ L kuyucuklara ilave edildi. Plağın üstü yapışkan bantlı jelatin ile kapatıldı ve 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Kuyucukların içeriği boşaltıldı ve her bir kuyuya 1X konsantrasyonda biyotinlenmiş IL-6 antikorundan 100'er μ L konuldu ve mikropalak 60 dakika 37°C'de inkübe edildi. Kuyucuklar boşaltıldı ve 3 kez yıkandı. Herbir kuyucuğa 1X konsantrasyonda HRP konjugattan 100 μ L konuldu ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Tekrar kuyucuklar 5 kez yıkandı. Kuyucuklara 90 μ L substrat solüsyonundan konulduktan sonra mikropalağın üstü kapatıldı ve 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa reaksiyonu durdurma solüsyonundan 50'er μ L ilave edildikten hemen sonra kuyucukların absorbans değerleri 450 nm'de okundu. Standartların konsantrasyonları ve absorbanslarından yararlanılarak çizilen standart eğri yardımıyla serumdaki IL-6 düzeyi hesaplandı.

Standartlar 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlandı (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. IL-6 Elisa yöntemi standart eğrisi.

2.20. Mesanede cGMP Seviyelerinin Ölçülmesi

Her bir gruba ait ratlardan mesane dokuları alındıktan hemen sonra sıvı nitrojenle dondurularak -80°C’de muhafaza edildi. Doku sıvı nitrojen yardımı ile havan ve havan eli ile ezildi. Homojenize halde donmuş doku üzerine (80-100 miligram) ağırlığının 5 katı hacmi olacak şekilde %5’lik trikloroasetik asitten konuldu ve 1500 X g’de 10 dakika süresince +4°C’de santrifüj edildi ve süpernatant alındı ve 15 ml’lik falkona kondu. Altta kalan doku üzerine 20 mM ph=7,4 olan Tris HCl’den 400 mikrolitre ilave edildi ve 2500 g’de 10 dakika süresince +4°C’de santrifüj edildi. Süpernatant alınarak bikinkoninik asit yöntemi ile protein miktar tayini yapıldı.

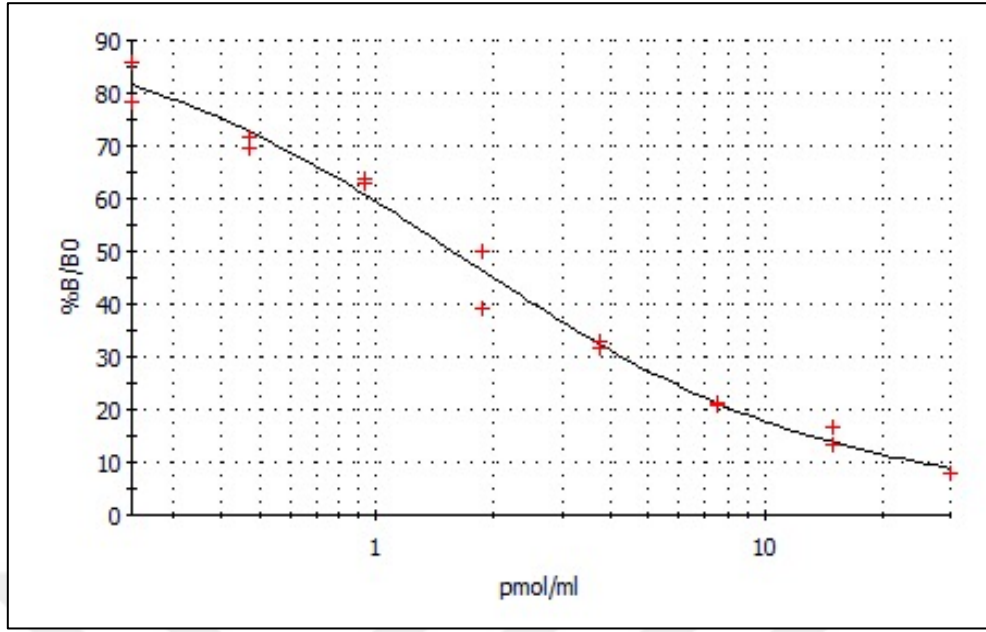
Daha sonra 1 hacim süpernatant üzerine 5 hacim suya doyurulmuş eter ilave edildi ve 10 saniye süresince ters düz edildi. Daha sonra üst eter fazı pipetle

uzaklaştırıldı. 2 kez daha bu şekilde ekstraksiyon işlemi yapıldı. Pipetle eter uzaklaştırıldı ve eterin tamamen uzaklaşması için son olarak 70°C’de 5 dakika boyunca inkübasyon yapıldı. Mesane dokusundaki cGMP konsantrasyonu üretici firma protokolüne uygun olarak elisa kiti ile ölçüldü. Plak kör, nonspesifik bağlanma, maximum bağlanma (B0), total aktivite, standart ve örnek kuyuları olacak şekilde düzenlendi.

Protokol ise şu şekilde uygulandı. Önce nonspesifik bağlanma kuyucuğuna 50 µL enzim immunassay tamponundan ilave edildi. Sonra non spesifik bağlanma ve maximum bağlanma kuyucuklarına 50 µL eterle doyurulmuş trikloroasetik asit ilave edildi. Her kuyucuğa 50 µL standart ve örneklerden ilave edildi. Total aktivite bakılan ve kör kuyucuğu haricindeki diğer kuyucuklara 50 µL cGMP asetilkolin esteraz tracer’dan ilave edildi. Total aktivite, non spesifik bağlanma ve kör kuyucukları haricindeki diğer kuyulara 50 µL cGMP enzim immunassay antiserumundan ilave edildi. Mikroplağın üstü yapışkan bantlı jelatinle kapatıldı ve 18 saat süresince +4°C’de inkübe edildi. Kuyucuklardaki solüsyonlar boşaltıldı ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Kite bulunan ellman’s ajanından her bir kuyucuğa 200’er µL ilave edildi, sadece total aktivite kuyucuğuna, 5 µL cGMP asetilkolin esteraz tracer’dan ilave edildi. Mikroplak, jelatinle ve alüminyum folyo ile kaplanarak, 50 rpm hızındaki çalkalayıcı üzerinde 90 dakika süresince inkübe edildi ve kuyuların absorbansı 420 nm’de ölçüldü.

Kit protokolüne uygun şekilde maximum bağlanma kuyucuğunun absorbans değeri kör kuyusunun absorbans değerinden çıkarıldığında okunacak değer en az 0,3 olacak şekilde inkübasyon süresi optimize edildi. Kite belirtilen standart eğri yardımı ile “mg protein başına düşen pmol” cinsinden örneklerin cGMP seviyesi hesaplandı.

Standartlar 30 pmol/ml, 15 pmol/ml, 7,5 pmol/ml, 3,75 pmol/ml 1,87 pmol/ml, 0,93 pmol/ml, 0,46 pmol/ml ve 0,23 pmol/ml konsantrasyonda, örneklerle aynı şekilde hazırlandı. Standart eğrinin korelasyon katsayısı $R^2=0,981$ ’dir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. cGMP enzim immunoassay standart eğrisi.

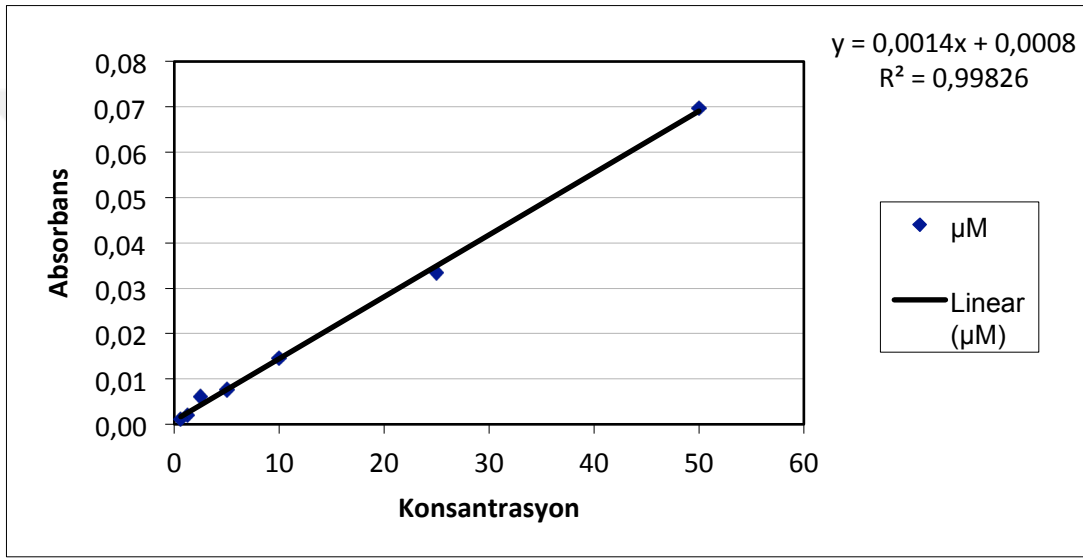
2.21. Mesanede MDA Seviyelerinin Ölçülmesi

Mesanede MDA düzeyi 10009055 katalog numaralı Rat TBARS analiz kiti (Cayman) ile ölçüldü. Mesane dokusunun homojenizasyonu, sıvı azot varlığında porselen havan ve havan eli kullanılarak yapıldı. Homojenize haldeki donmuş doku (80-100 mg), metal spatül yardımıyla havandam alınarak hızlı bir şekilde ependorf tüplerine konuldu ve üzerlerine buz soğukluğunda 250 µl RIPA ve proteaz inhibitör kokteylinden oluşan lizis tamponu ilave edildi ve örnekler +4°C’de 1600 X g’de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındı ve doku lizatları protein ve MDA miktar tayini için -80°C’ye kaldırıldı.

Deneyler kit prosedürüne uygun olarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

15 ml’lik polipropilen tüplere 100’er µl örnek ve standartlardan ilave edildi. 100 µl sodyum dodesilsülfat solüsyonundan ilave edildikten sonra tüpler vortekslendi. Daha sonra her bir tüpe kitin protokolüne uygun olarak hazırlanan renk ajanından 4’er ml konulduktan sonra tüpler güçlü bir şekilde alt üst edilerek

karıştırıldı. Tüpler daha sonra dik konumda kaynayan su üzerinde 1 saat süresince bekletildi daha sonra reaksiyonu durdurmak için hızlı bir şekilde buz üzerinde 10 dakika bekletildi ve 1500 X g'de 10 dakika süresince +4°C'de santrifüj edildi ve süpernatantlardan 150'şer µl alınarak 96'lık plak kuyularına kondu. Kuyuların absorbansı 532 nm'de ölçüldü. Standartlar da örneklerle aynı şekilde 50 µmol/L, 25 µmol/L, 10 µmol/L, 5 µmol/L, 2,5 µmol/L, 1,25 µmol/L ve 0,625 µmol/L konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Standart eğrinin korelasyon katsayısı $R^2=0,998$ 'dir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. MDA kolorimetrik standart eğrisi.

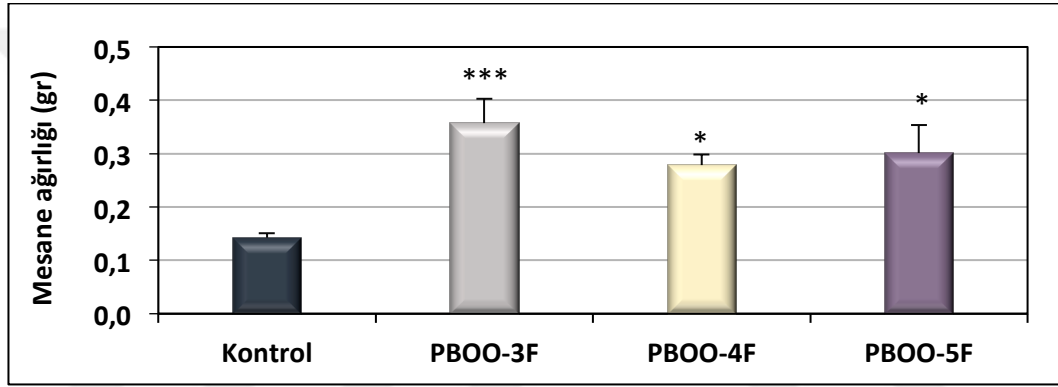
2.22. İstatistiksel Analiz

Bulgular ortalamalar $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Grupların kendi içlerindeki dağılımlarının karşılaştırılmasında ANOVA (Bonferroni post hoc) testi, iki grup arasındaki karşılaştırmalarda ise student t testi kullanılmıştır. $p<0.05$, $p<0,01$ ve $p<0,001$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler ve grafiklerin yapılmasında “GraphPad InStat” ve “Microsoft Office Word ve Excel 2010 programları” kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Deney Hayvanlarının Mesane Ağırlıkları

Kontrol, PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarına ait sıçanların mesane ağırlıkları Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Bulgularımıza göre, 6 haftalık PBOO-3F grubunda ($p<0,001$) ve PBOO (-4F, -5F) ($p<0,05$) gruplarında mesane ağırlığı kontrole göre anlamlı olarak artış göstermiştir.

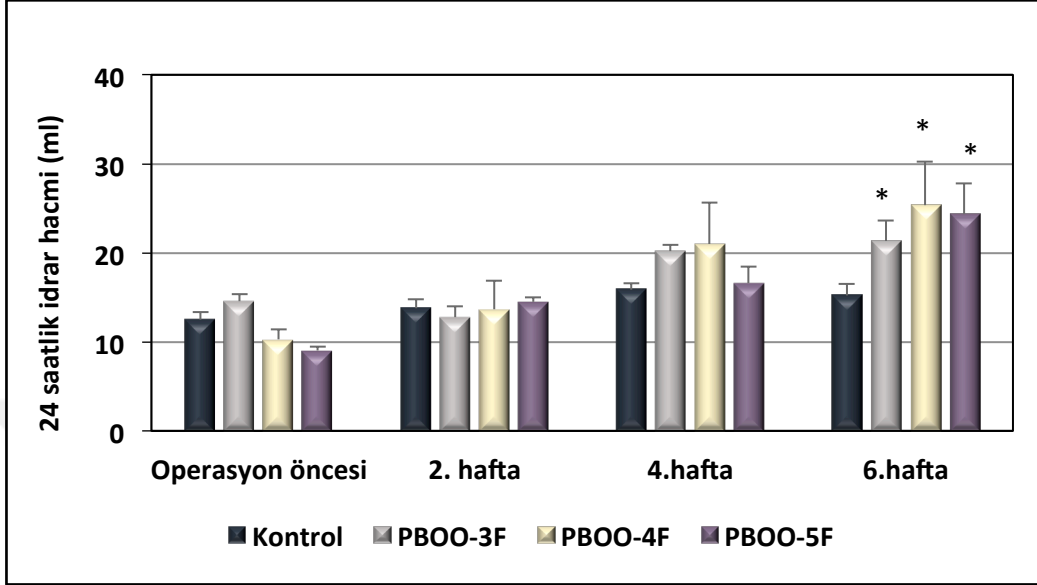


Şekil 3.1. Tüm gruplardaki mesane ağırlıkları (* $p<0,05$ ve *** $p<0,001$ kontrole göre anlamlılık).

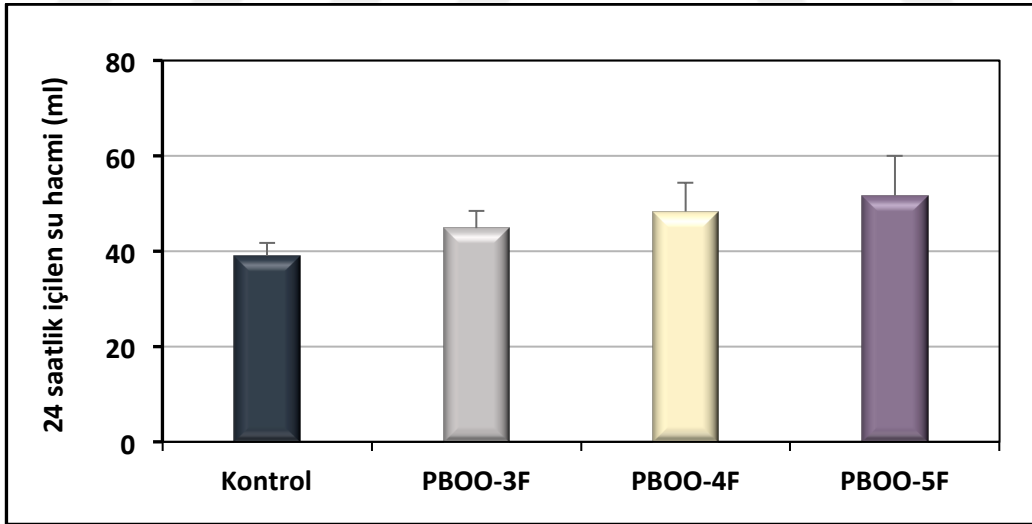
3.2. PBOO Öncesi ve Sonrası Sıçanlara ait 24 Saatlik İdrar Hacmi ve Tükettikleri Su Miktarı

Kontrol, PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarına ait operasyon öncesi ve 2, 4 ve 6 hafta sonrası 24 saatlik idrar hacmindeki değişimi Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda abdominal duvar boyunca orta hat kesi yapılmadan önce ve yapıldıktan 2, 4 ve 6 hafta sonra, 24 saatlik idrar hacminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. PBOO’lu gruplarda PBOO öncesine göre, PBOO’nun 2 ve 4. haftası arasında 24 saatlik idrar hacminde operasyon öncesine göre değişim gözlenmezken, 6. haftasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Aynı zamanda Şekil 3.3 ve 3.4’de gösterildiği gibi 6 haftalık PBOO (-4F, -5F) gruplarında 24 saatte tüketilen su

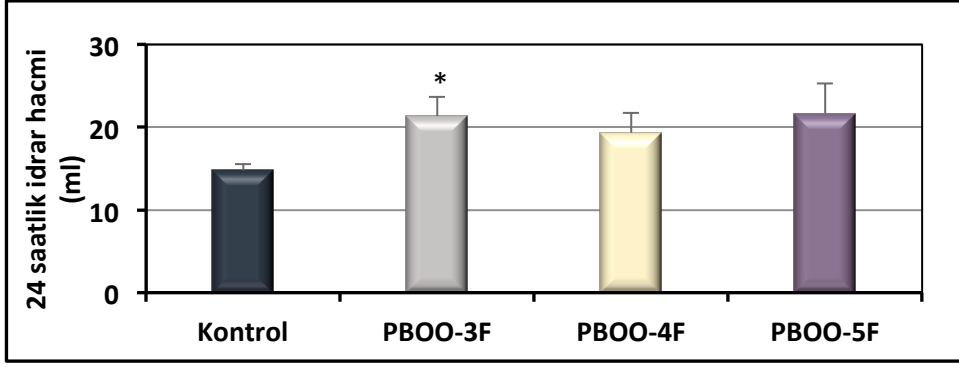
hacminde kontrole göre bir fark gözlenmezken; PBOO-3F grubunda PBOO'nun 6.haftasında 24 saatlik idrar hacmi kontrole göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).



Şekil 3.2. Tüm gruplardaki operasyon öncesi ve 2, 4 ve 6 hafta sonrası 24 saatlik idrar hacmi değişimi (* $p<0.05$ operasyon öncesine göre anlamlılık).



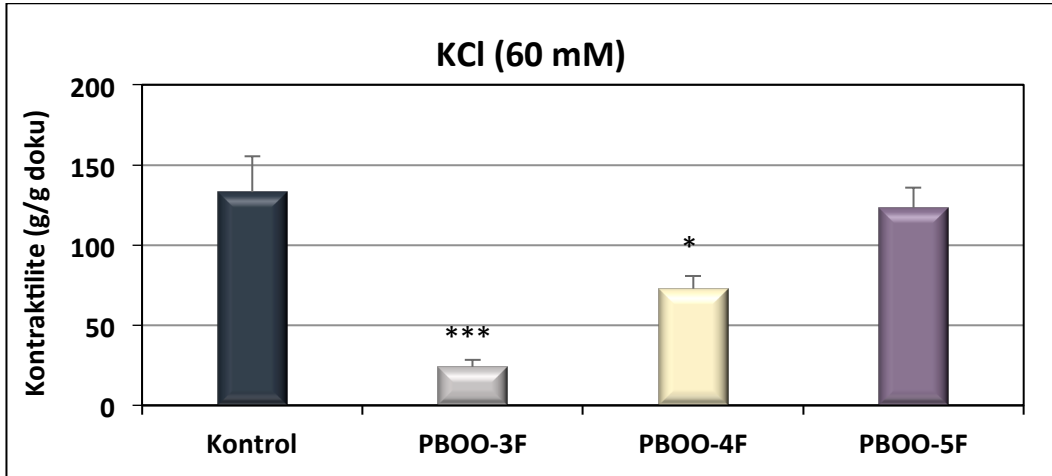
Şekil 3.3. Tüm gruplardaki kontrol ve 6 haftalık PBOO gruplarında 24 saatlik içilen su hacmi



Şekil 3.4. Tüm gruplardaki kontrol ve 6 haftalık PBOO gruplarında 24 saatlik idrar hacmi (* $p < 0,05$ kontrole göre anlamlılık).

3.3. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında 60 mM KCl ile Elde Edilen Kontraktıl Yanıtlar

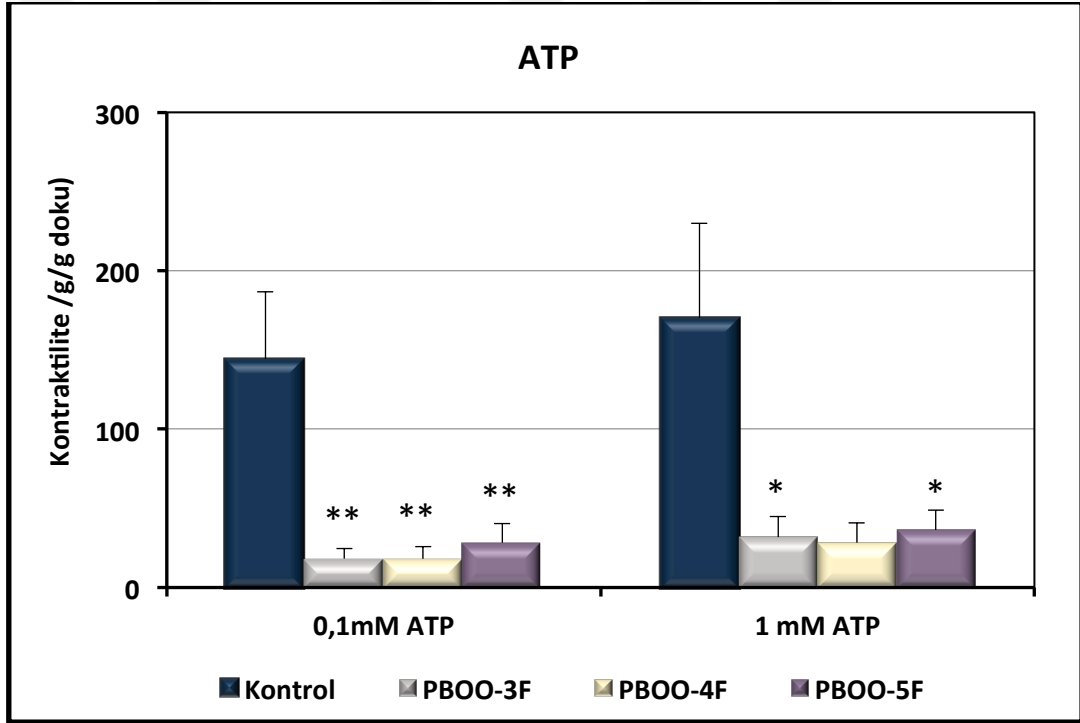
Tüm gruplardan alınan mesane striplerindeki 60 mM KCl'ye ilişkin kontraktıl yanıtları gösterilmiştir (Şekil 3.5). 60 mM KCl'ye ilişkin kontraktıl yanıtlar, kontrol grubuna göre, PBOO-3F grubunda ($p < 0,001$), ve PBOO-4F grubunda ($p < 0,05$) azalma göstermiştir. PBOO-5F grubunda kontrole göre anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 3.5. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında KCl'ye (60 mM) ilişkin yanıtlar (* $p < 0,05$ ve *** $p < 0,001$ kontrole göre anlamlılık).

3.4. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında 0,1 mM Ve 1mM ATP ile Elde Edilen Kontraktıl Yanıtlar

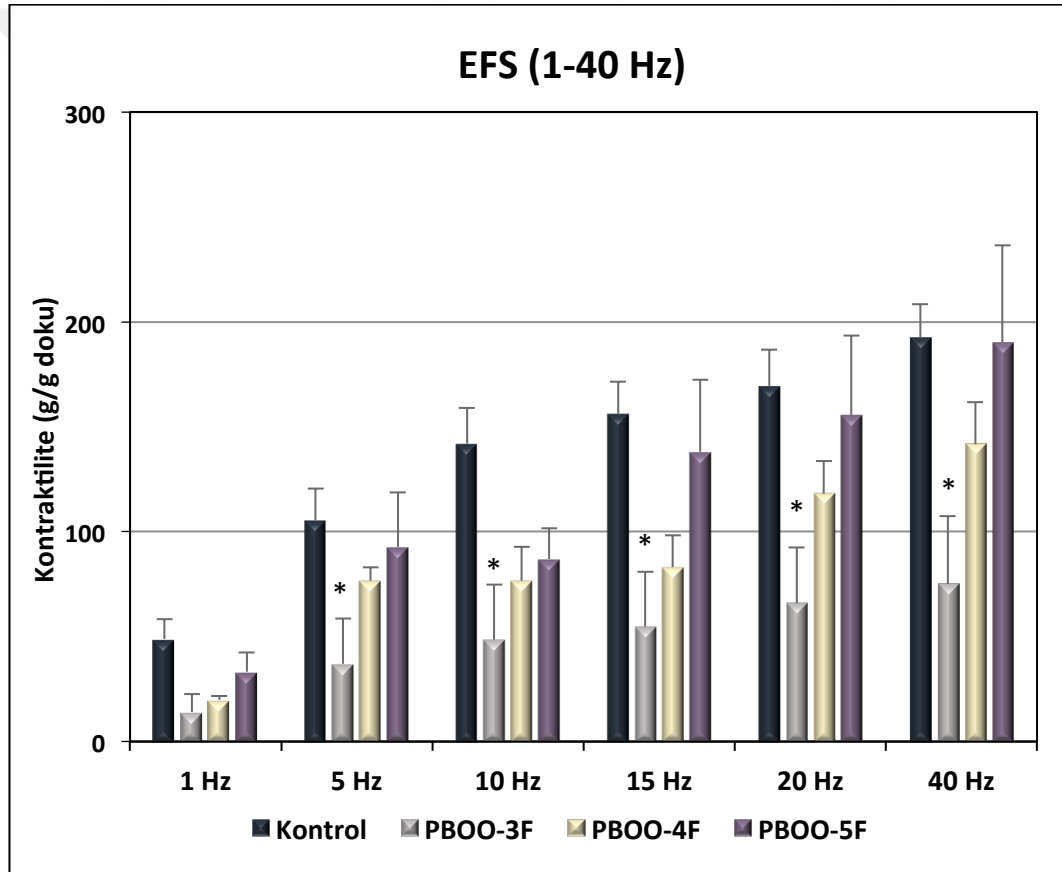
Şekil 3.6’da görüldüğü gibi 0,1 mM konsantrasyonda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlarında PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarında kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0,01$). 1 mM konsantrasyonda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlarında, PBOO (-3F, -5F) gruplarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0,05$). PBOO-4F grubunda ise, kontrole göre 1 mM konsantrasyonda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlarda düşüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmamıştır.



Şekil 3.6. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında ATP’ye (0,1mM ve 1mM) ilişkin doz-yanıt grafiği (* $p<0,05$ ve ** $p<0,01$ kontrole göre anlamlılık).

3.5. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında EFS (1-40 Hz) ile Elde Edilen Kontraktıl Yanıtlar

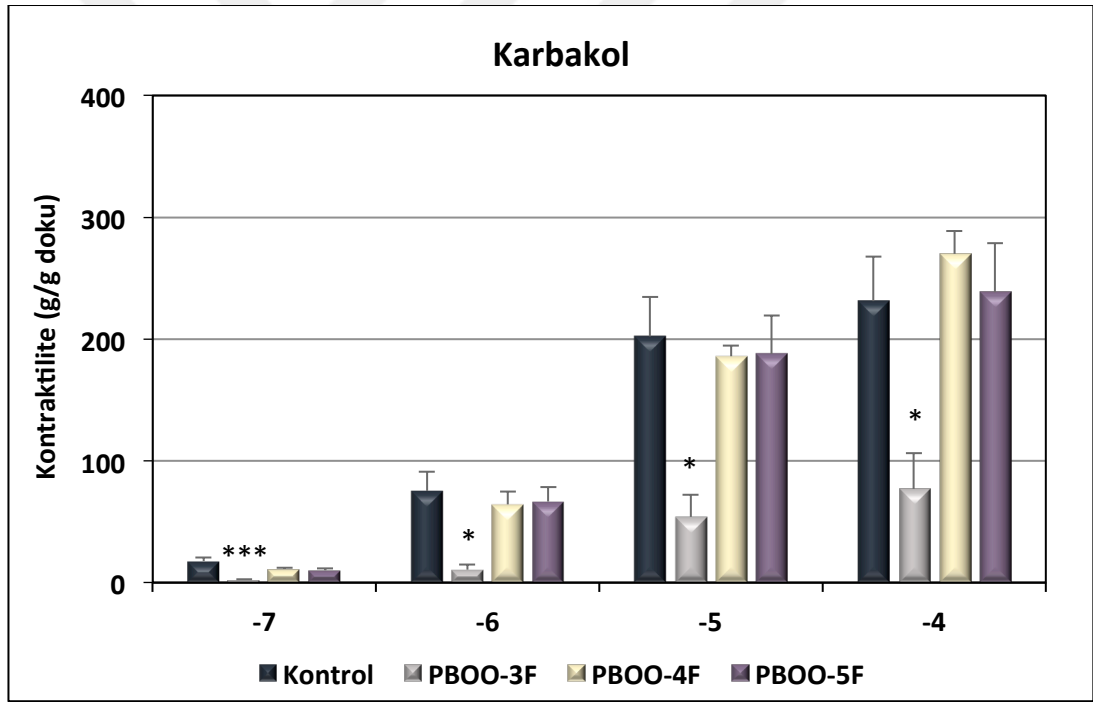
Tüm gruplarda, mesane dokularında, EFS'nin (1-40 Hz frekansları arasında) direk nörojenik kontraktıl yanıtları elde edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sadece 6 haftalık PBOO-3F gruplarından alınan dokularda 5-40 Hz frekans aralığındaki nörojenik kontraktıl yanıtlar düşük bulunmuştur ($p<0,05$). PBOO (-4F, -5F) gruplarında EFS'ye verilen yanıtlarda kontrole göre anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında EFS'ye (1, 5, 10, 15, 20 ve 40 Hz) ilişkin yanıtlar (* $p<0,05$ kontrole göre anlamlılık).

3.6. Tüm Deney Gruplarından İzole Edilen Mesane Düz Kas Dokularında Karbakol'ün 10^{-7}M - 10^{-4}M Konsantrasyonları Aralığında Doza Bağımlı Kontraktil Yanıtları

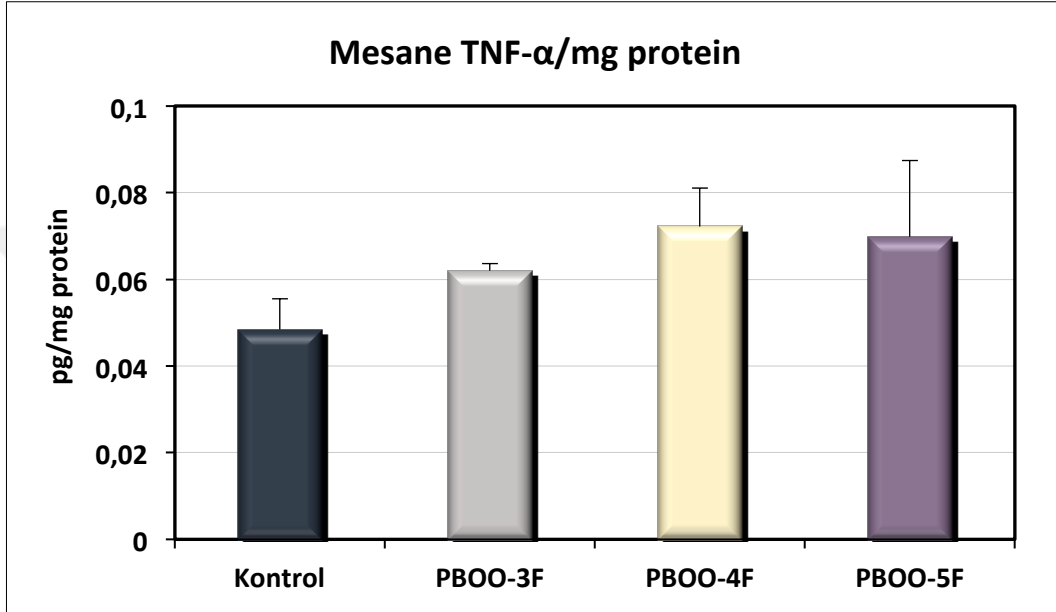
Tüm gruplardan alınan izole mesane dokularında, karbakole (10^{-7} - 10^{-4}M) ilişkin kontraktil yanıtlar gösterilmiştir (Şekil 3.8). Bulgularımıza göre, 6 haftalık PBOO-3F grubuna ait 10^{-7} - 10^{-4}M konsantrasyon aralığındaki karbakole verilen kontraktil yanıtlarda, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur (Şekil 3.8). Bu konsantrasyon aralığındaki karbakole verilen kontraktil yanıtlarda 6 haftalık PBOO (-4F, -5F) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.



Şekil 3.8. Tüm deney gruplarından izole edilen mesane düz kas dokularında karbakole (10^{-7}M - 10^{-4}M) ilişkin doz-yanıt grafiği (* $p<0,05$ ve *** $p<0,001$ kontrole göre anlamlılık).

3.7. Tüm Deney Gruplarından Alınan Mesane Dokularının TNF- α Düzeyleri

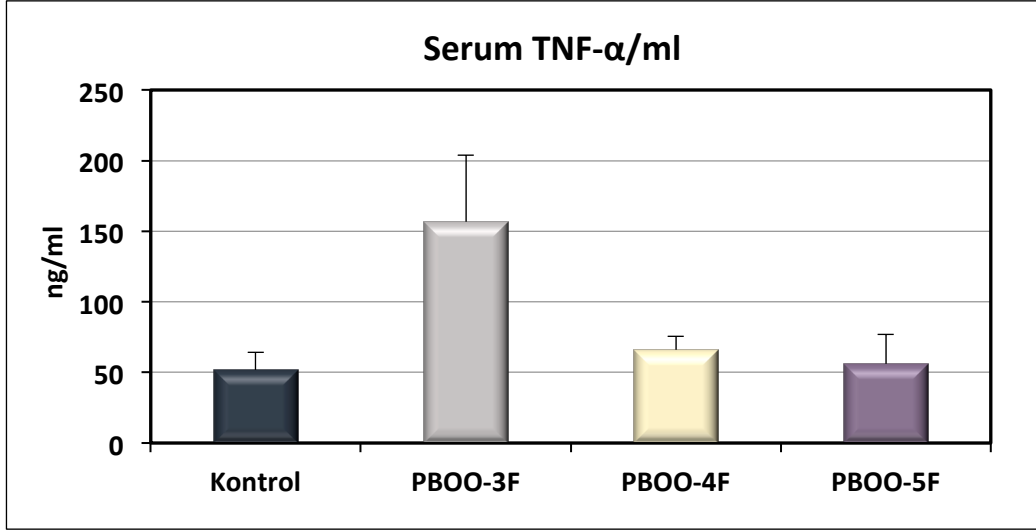
PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarının mesane dokularının TNF- α düzeylerinde kontrole göre artış bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının TNF- α düzeyleri (pg/mg protein).

3.8. Tüm Deney Gruplarından Toplanan Serum Örneklerinin TNF- α Düzeyleri

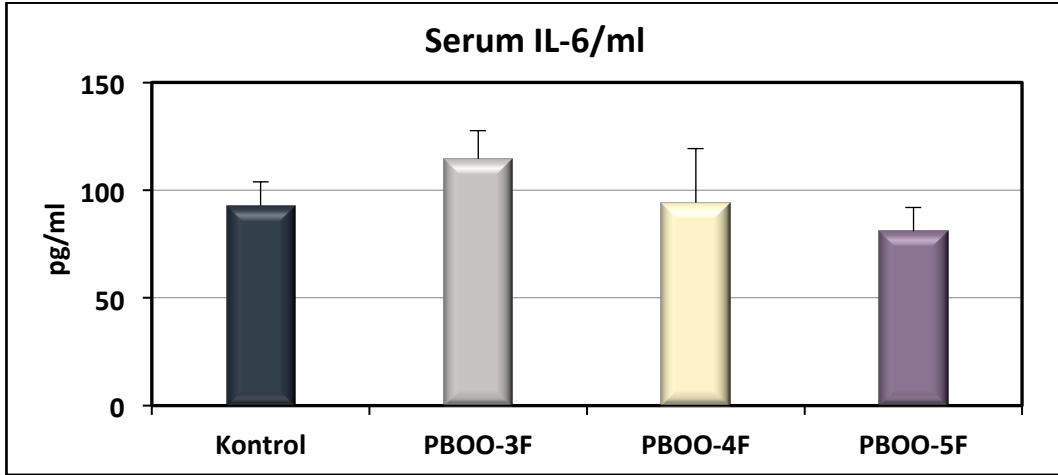
PBOO-3F grubuna ait serumların TNF- α düzeylerinde kontrole göre artış gözlenmiştir ancak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. PBOO (-4F, -5F) gruplarına ait serum TNF- α düzeyleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktur (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Deney gruplarından toplanan serum örneklerinin TNF- α düzeyleri (ng/ml).

3.9. Tüm Deney Gruplarından Toplanan Serum Örneklerinin IL-6 Düzeyleri

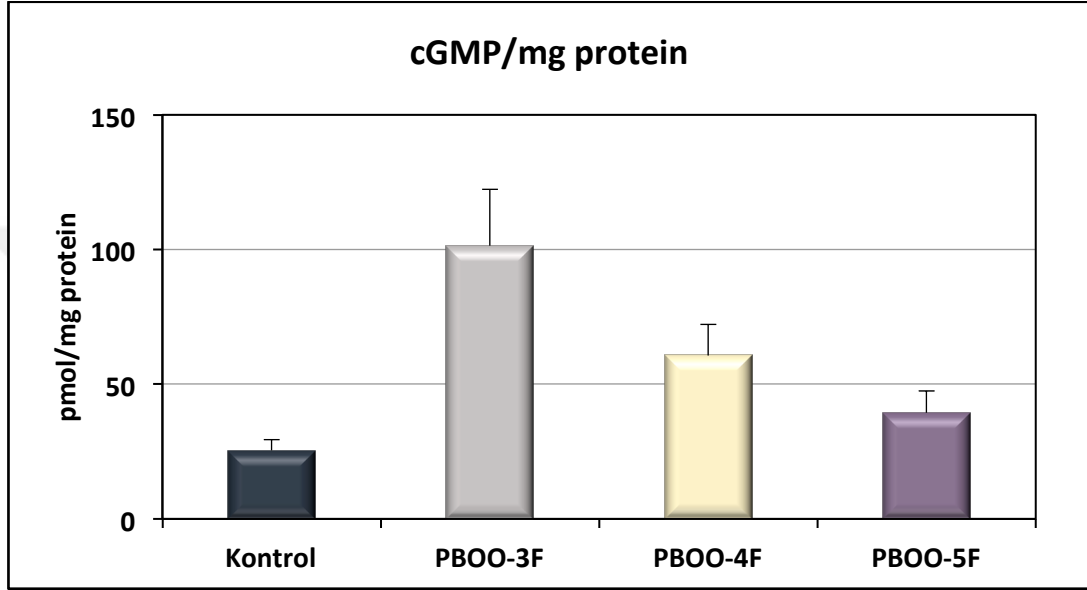
PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarının serumlarında IL-6 düzeylerinde kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Deney gruplarından toplanan serum örneklerinin IL-6 düzeyleri (pg/ml).

3.10. Tüm Deney Gruplarından Alınan Mesane Dokularının cGMP Düzeyleri

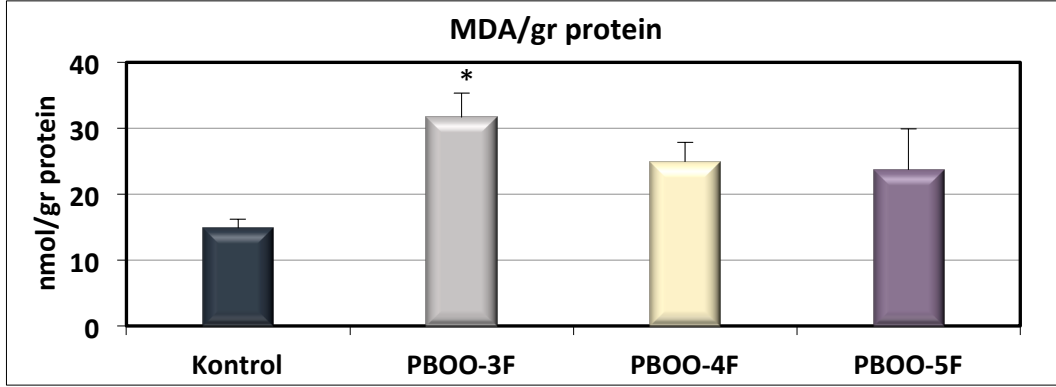
PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarında mesane dokularının cGMP düzeylerinde kontrole göre artış bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Deney gruplarından alınan mesane dokularının cGMP düzeyleri (cGMP/mg protein).

3.11. Tüm Deney Gruplarından Alınan Mesane Dokularının MDA Düzeyleri

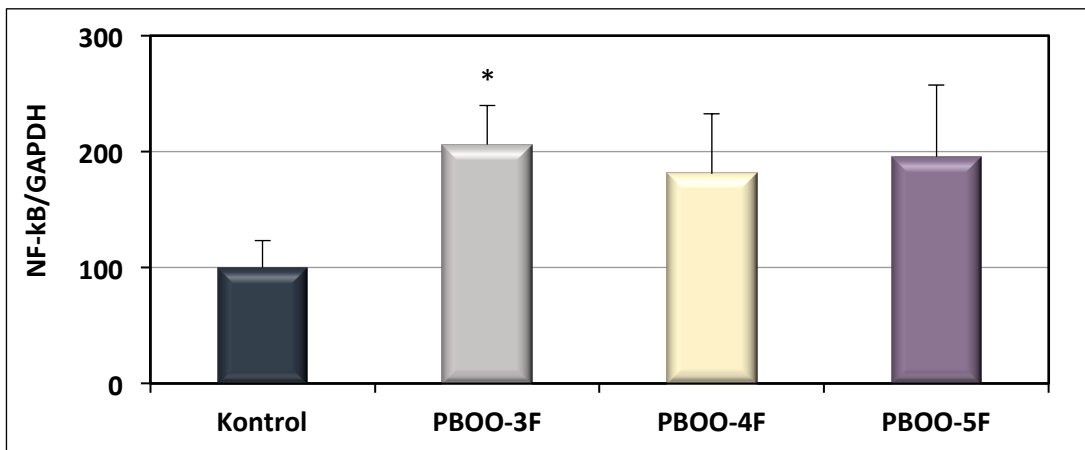
PBOO-3F grubuna ait MDA düzeyinde kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış bulunmuştur ($p < 0,05$). PBOO (-4F, -5F) gruplarına ait mesane dokularında ise MDA düzeyinde kontrole göre artış bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Deney gruplarından alınan mesane dokularına ait MDA düzeyleri (nmol/gr protein) (* $p < 0,05$ kontrole göre anlamlılık).

3.12. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının NF- κ B Gen Ekspresyonu

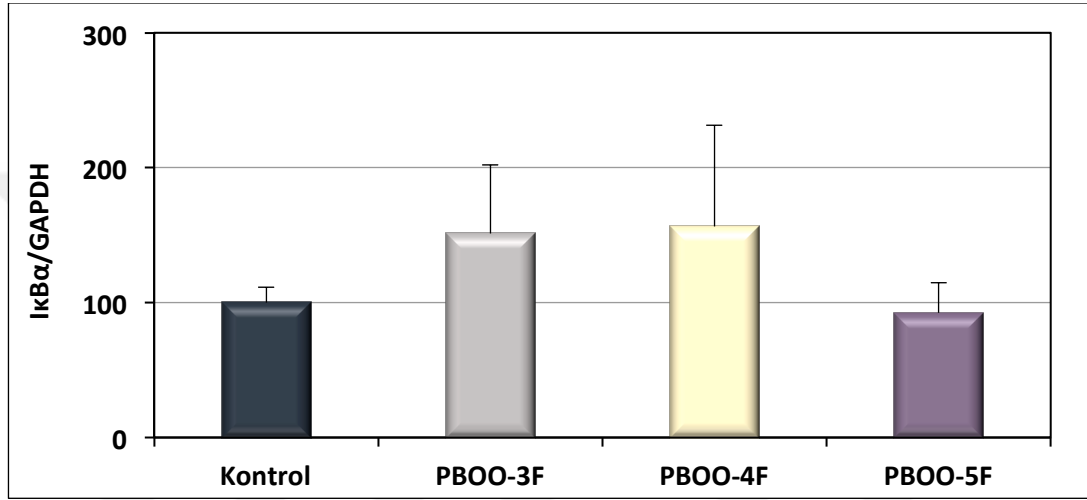
Şekil 3.14'te, gruplardan alınan mesane dokularının NF- κ B gen ekspresyonu gösterilmiştir. Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO-3F grubunda, kontrole göre anlamlı bir artış bulunmuştur (Şekil 3.14). PBOO (-4F, -5F) gruplarında kontrole göre NF- κ B gen ekspresyonunda artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 3.14. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının NF- κ B gen ekspresyonu (* $p < 0,05$ kontrole göre anlamlılık).

3.13. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının I κ B α Gen Ekspresyonu

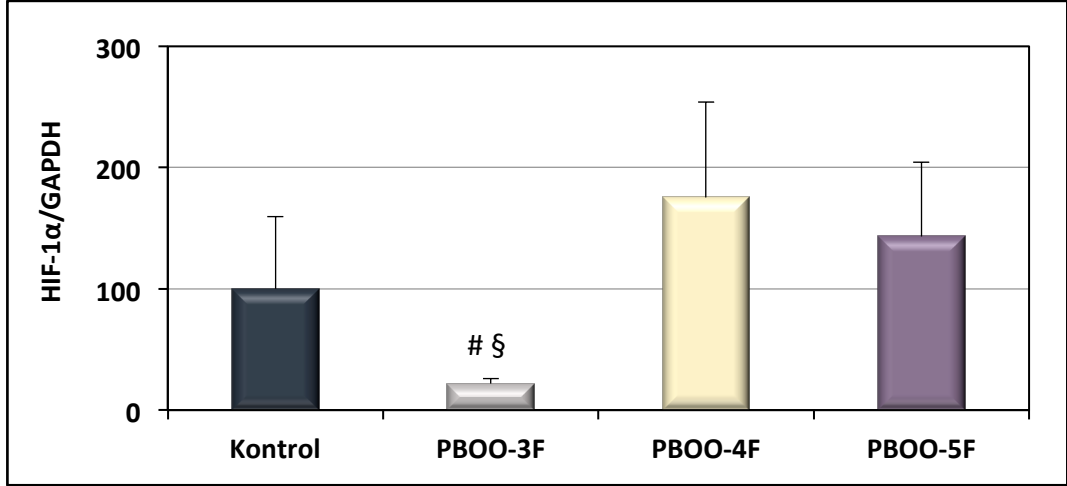
Şekil 3.15'te, gruplardan alınan mesane dokularının I κ B α gen ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO (-3F, -4F) gruplarında, kontrole göre I κ B α gen ekspresyonu artış göstermesine rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.



Şekil 3.15. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının I κ B α gen ekspresyonu.

3.14. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının HIF-1 α Gen Ekspresyonu

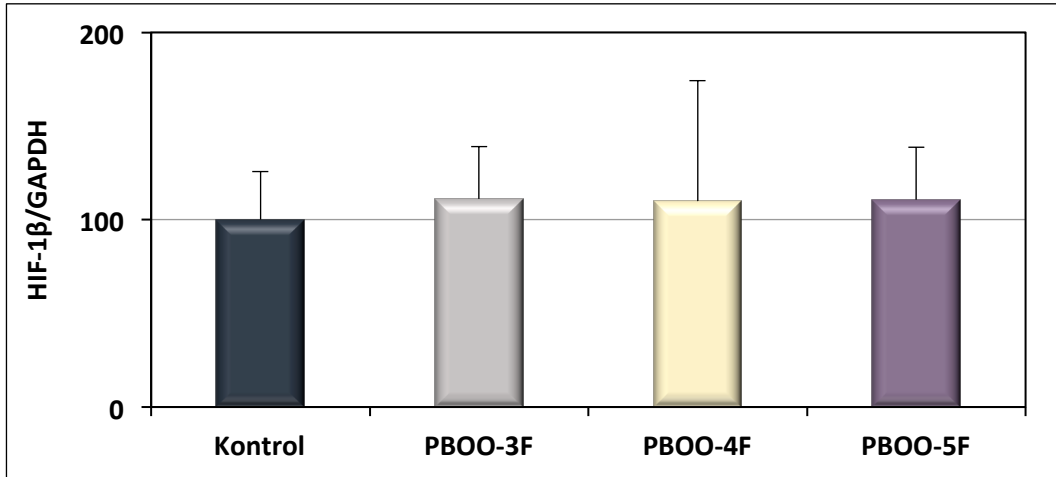
Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO-3F grubunda, PBOO-4F ve PBOO-5F'e göre HIF-1 α gen ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.16, $p < 0,05$). 6 haftalık PBOO (-4F, -5F) gruplarında ise kontrole göre HIF-1 α gen ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 3.16. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının HIF-1 α gen ekspresyonu (# $p<0,05$ PBOO-4F'e göre anlamlılık, § $p<0,05$ PBOO-5F'e göre anlamlılık).

3.15. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının HIF-1 β Gen Ekspresyonu

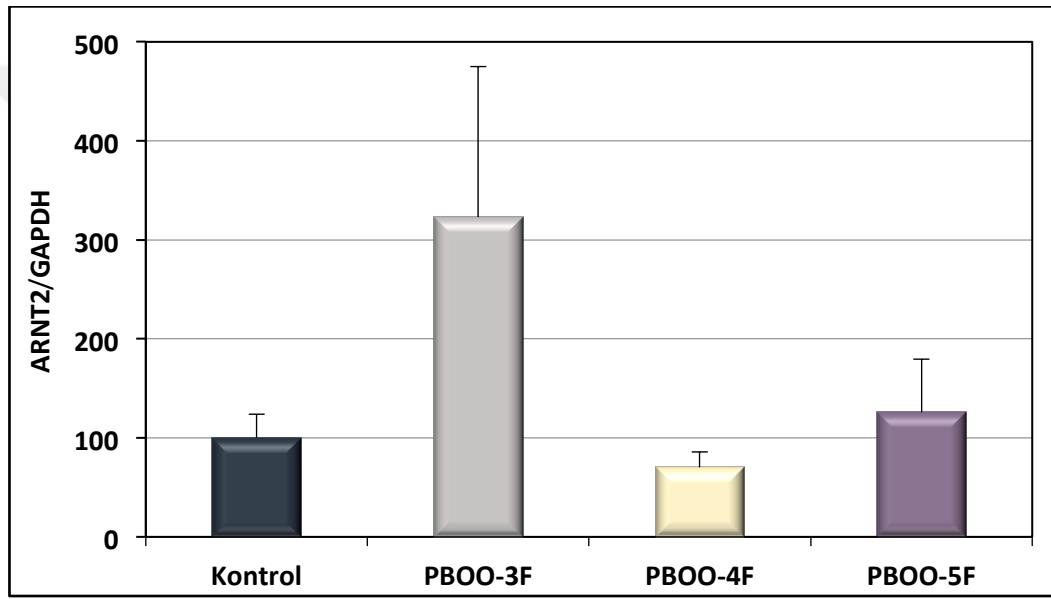
PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarından alınan mesane dokularında, kontrole göre HIF-1 β gen ekspresyonu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının HIF-1 β gen ekspresyonu

3.16. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının ARNT2 Gen Ekspresyonu

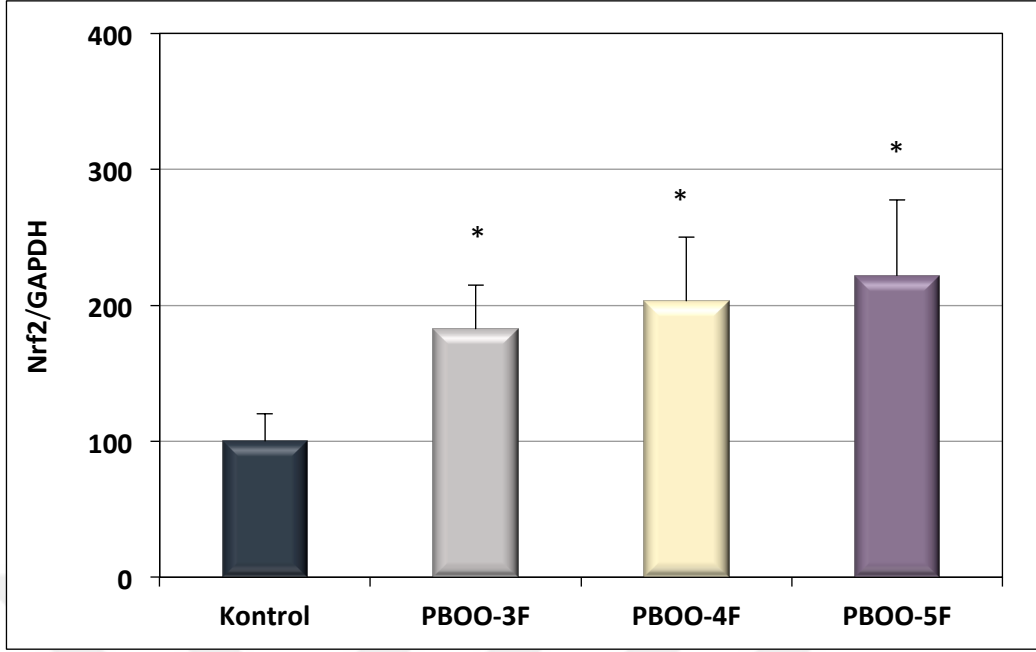
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 6 haftalık PBOO-3F gruplarından alınan mesane dokularında ARNT2 gen ekspresyonu istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir artış göstermiştir. PBOO (-4F, -5F) gruplarında mesane dokularının ARNT2 gen ekspresyonu ile kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının ARNT2 gen ekspresyonu.

3.17. Deney Hayvanlarından Alınan Mesane Dokularının Nrf2 Gen Ekspresyonu

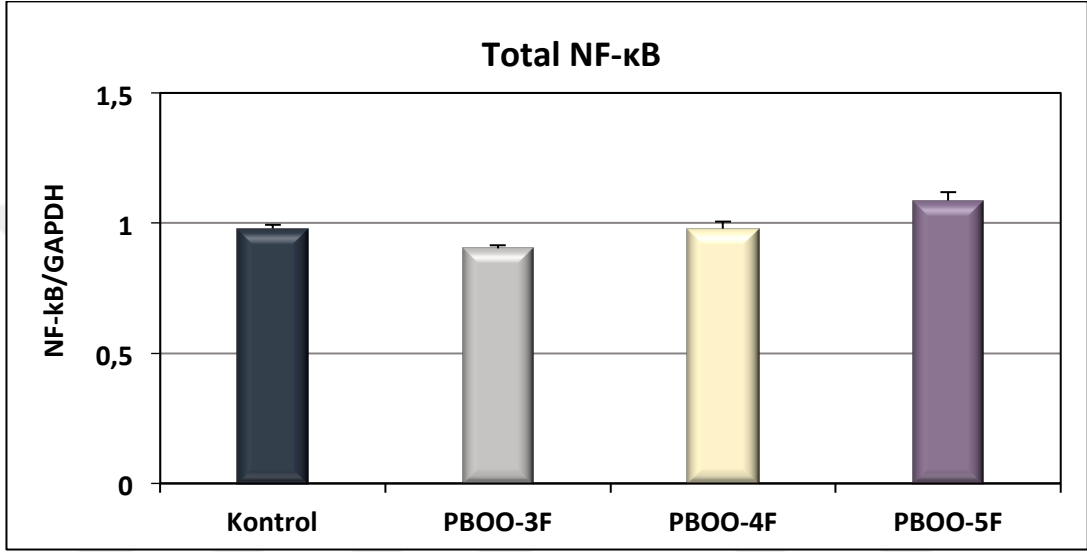
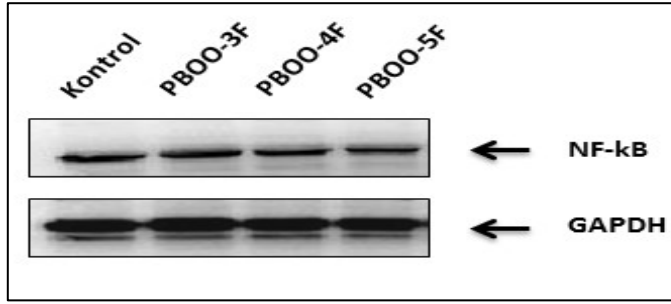
Şekil 3.19’da gösterildiği gibi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 6 haftalık PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarından alınan mesane dokularında Nrf2 gen ekspresyonu önemli ölçüde bir artış göstermiştir ($p<0,05$).



Şekil 3.19. Deney hayvanlarından alınan mesane dokularının Nrf2 gen ekspresyonu (* $p < 0,05$ kontrole göre anlamlılık).

3.18. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının NF- κ B Protein Ekspresyonu

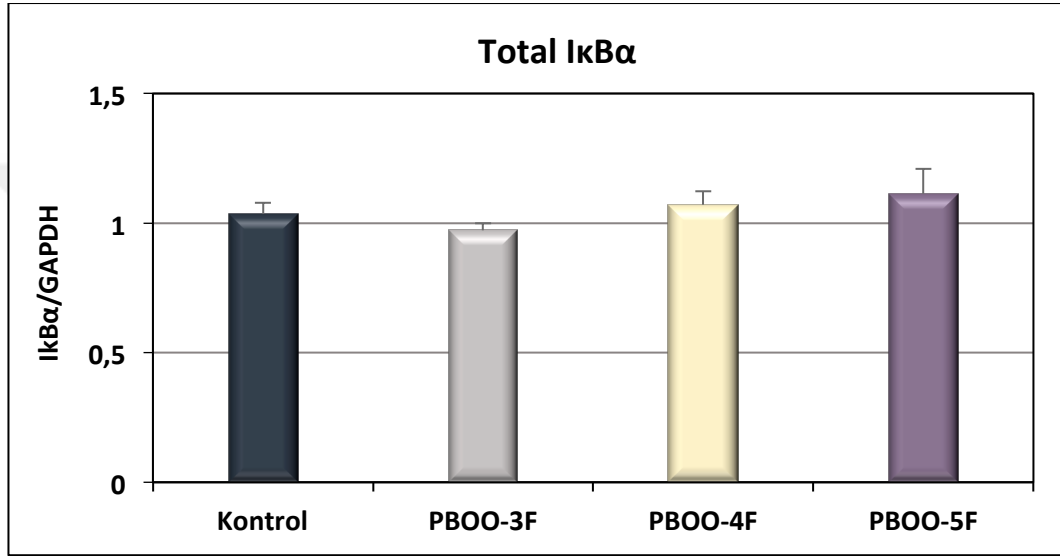
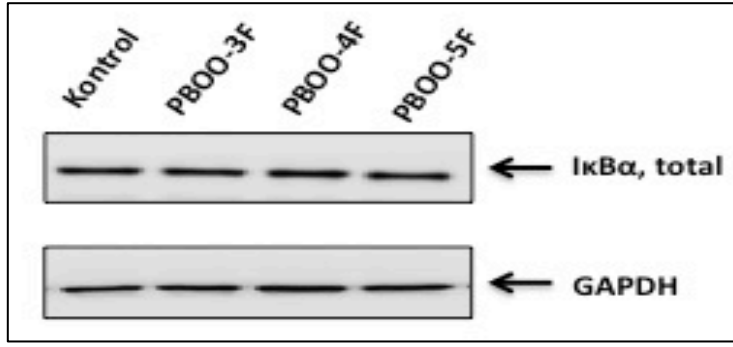
Şekil 3.20’de deney gruplarından alınan mesane dokusu total lizatlarının NF- κ B protein ekspresyonu gösterilmiştir. Mesane dokularında NF- κ B protein ekspresyonuna bakıldığında, 6 haftalık PBOO (-3F, -4F, -5F) grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.



Şekil 3.20. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının NF-κB protein ekspresyonu.

3.19. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının IκBα Protein Ekspresyonu

Şekil 3.21’de deney gruplarından alınan mesane dokusu total lizatlarının IκBα protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarının mesane dokularında IκBα protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

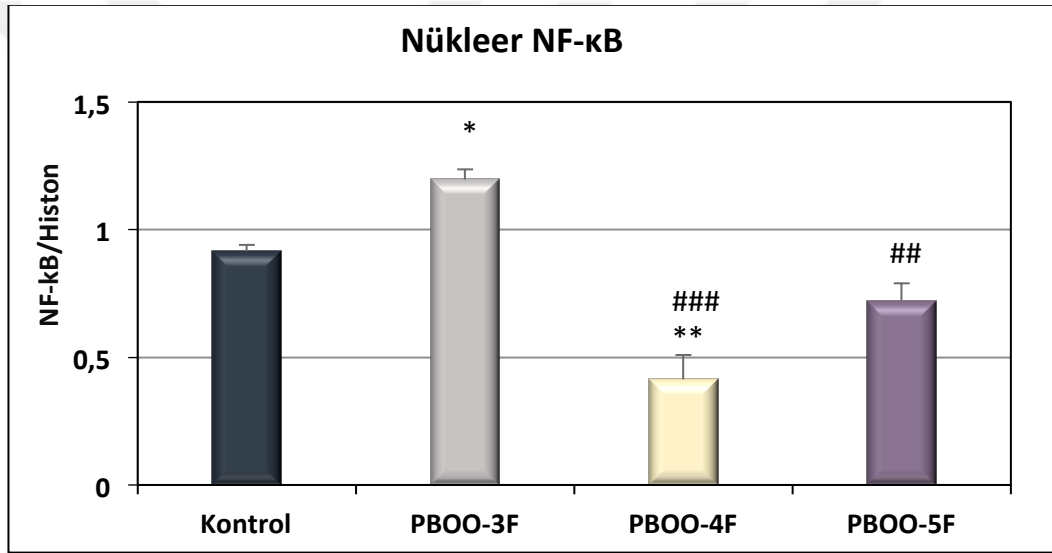
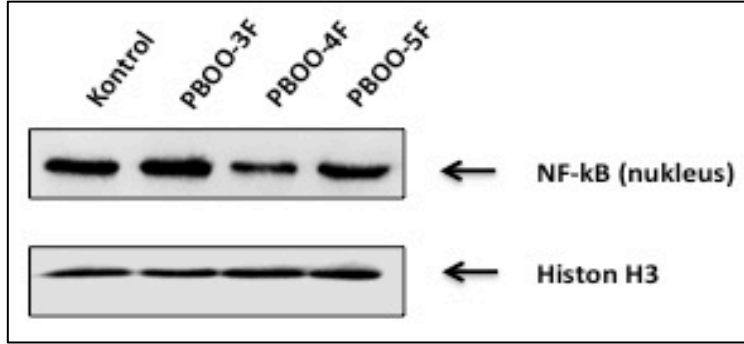


Şekil 3.21. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının IκBα protein ekspresyonu.

3.20. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Nükleer Lizatlarının NF-κB Protein Ekspresyonu

Şekil 3.22’de deney gruplarından alınan mesane dokusu nükleer NF-κB protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO-3F grubunun mesane dokusu nükleer NF-κB protein ekspresyonunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0,05$). PBOO-4F grubunun mesane dokusu nükleer lizatının NF-κB protein ekspresyonu, kontrol grubu ve PBOO-3F grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalma göstermiştir ($p<0,01$ kontrole göre, $p<0,001$ PBOO-3F’e göre anlamlılık). PBOO-5F grubunun mesane dokusu nükleer lizatının NF-κB protein

ekspresyonunun, PBOO-3F grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,01$).

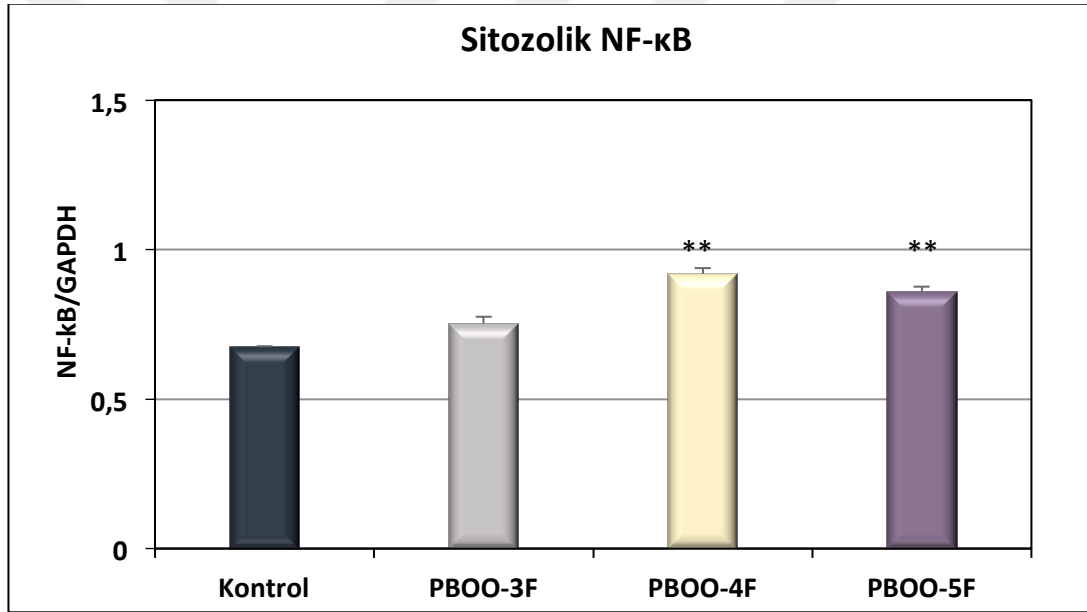
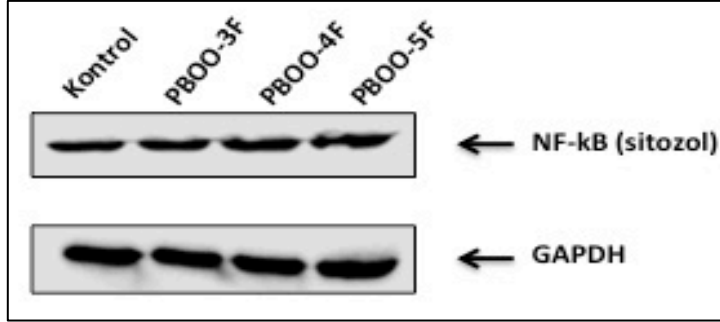


Şekil 3.22. Deney hayvanlarının mesane dokusu nükleer lizatlarının NF-κB protein ekspresyonu (* $p<0,05$ ve ** $p<0,01$ kontrole göre anlamlılık, ## $p<0,01$ ve ### $p<0,001$ PBOO-3F'e göre anlamlılık).

3.21. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Sitozolik Lizatlarının NF-κB Protein Ekspresyonu

Şekil 3.23'de deney gruplarından alınan mesane dokusu sitozolik lizatlarının NF-κB protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO (-4F,-5F) grubunun mesane dokusu sitozolik lizatının NF-κB protein ekspresyonu, kontrol grubuna göre istatistiksel

açından anlamlı olarak artış göstermiştir ($p<0,01$). PBOO-3F grubunun mesane dokusu sitozolik lizatının NF- κ B protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

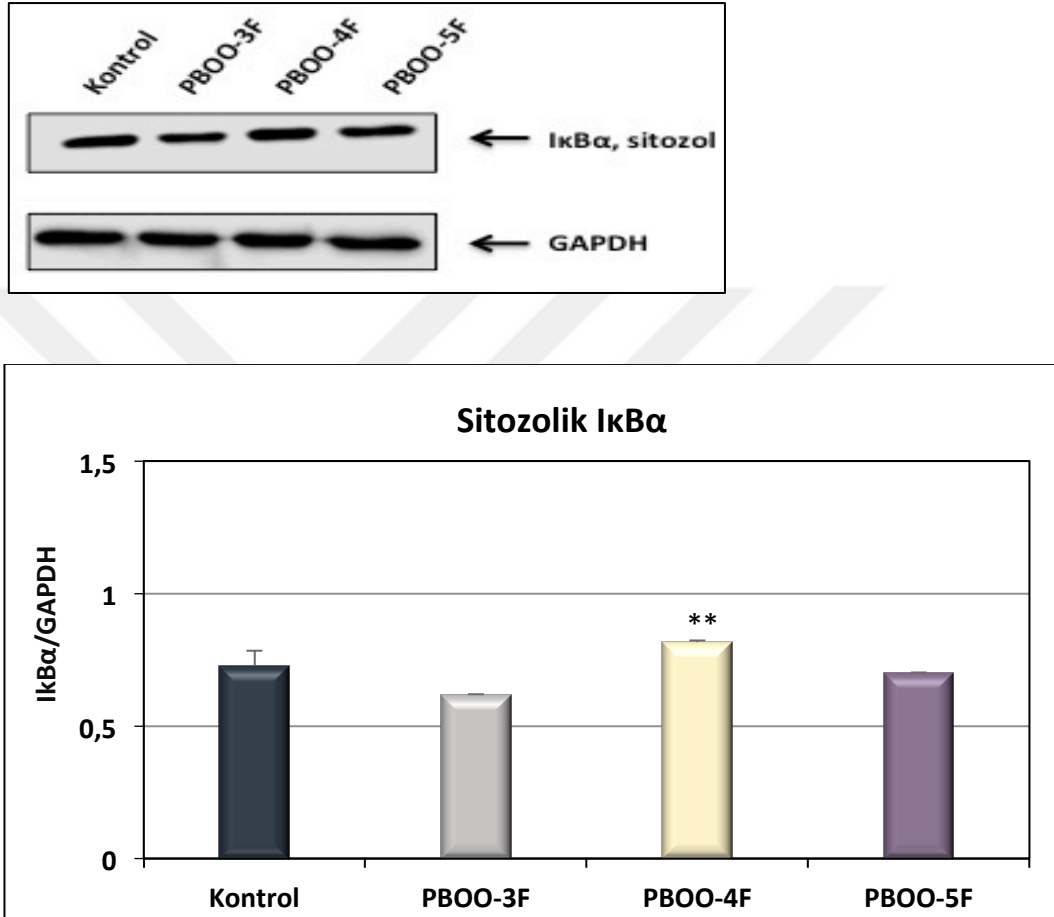


Şekil 3.23. Deney hayvanlarının mesane dokusu sitozolik lizatlarının NF- κ B protein ekspresyonu (** $p<0,01$ kontrole göre anlamlılık).

3.22. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Sitozolik Lizatlarının I κ B α Protein Ekspresyonu

Şekil 3.24’de deney gruplarından alınan mesane dokusu sitozolik lizatlarının I κ B α protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO-4F grubuna ait mesane dokularının

sitozolik lizatlarının I κ B α protein ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,01$). PBOO (-3F, -5F) gruplarına ait mesane dokularının sitozolik lizatlarının I κ B α protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında bir fark gözlenmemiştir.

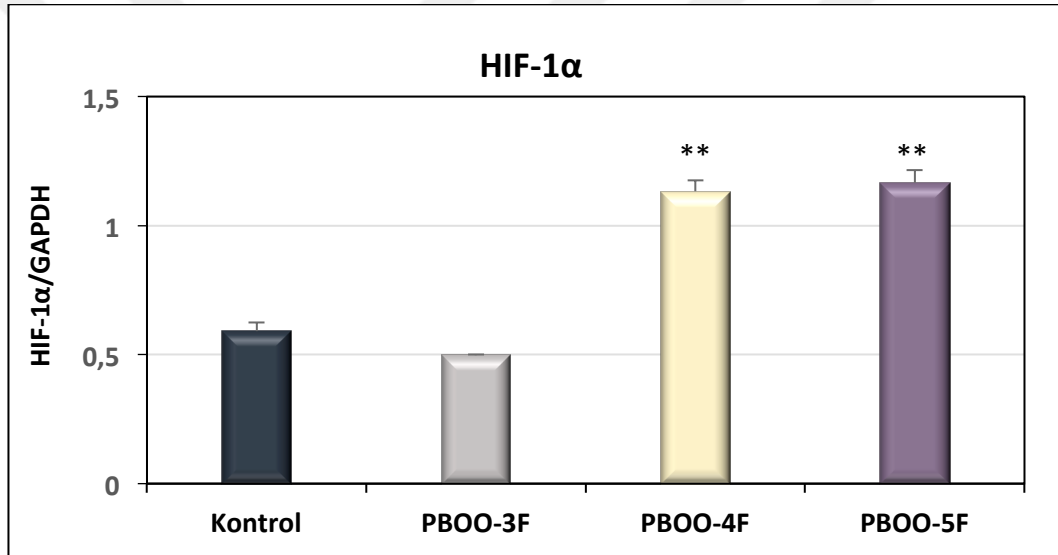
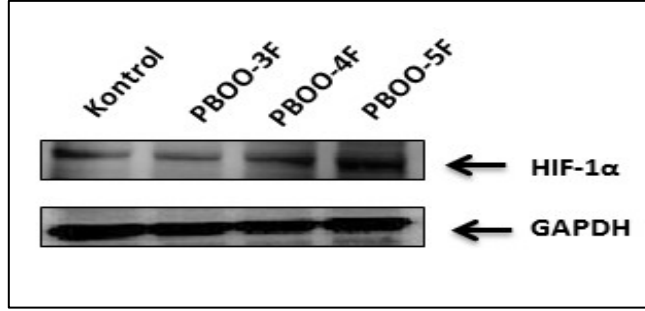


Şekil 3.24. Deney hayvanlarının mesane dokusu sitozolik lizatlarının I κ B α protein ekspresyonu (** $p<0,01$ kontrole göre anlamlılık).

3.23. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının HIF-1 α Protein Ekspresyonu

Şekil 3.25’de deney gruplarından alınan mesane dokusu total lizatlarının HIF-1 α protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO (-4F,- 5F) grubuna ait mesane dokularının total lizatlarının HIF-1 α protein ekspresyonu, kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,01$). PBOO-3F grubu mesane dokularının total HIF-1 α protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

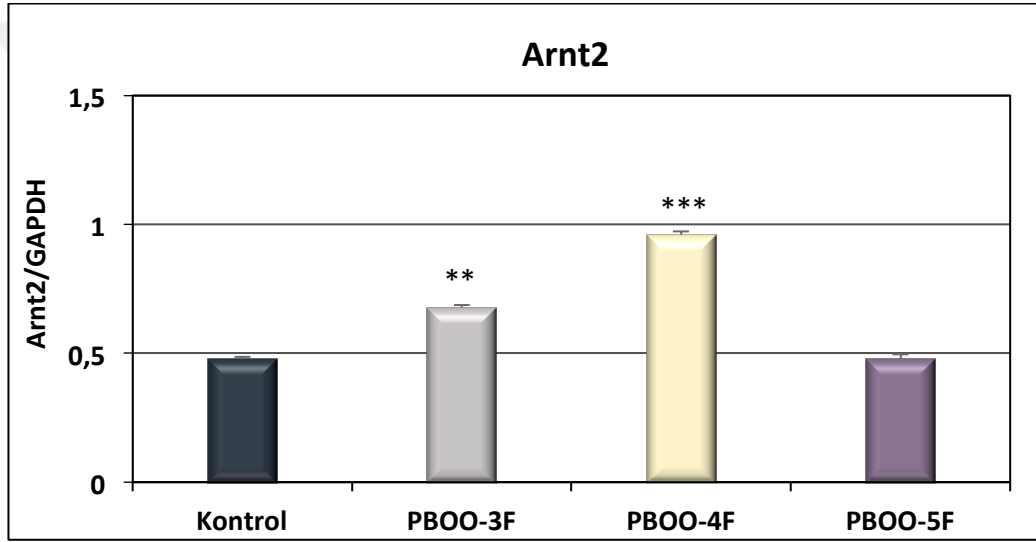
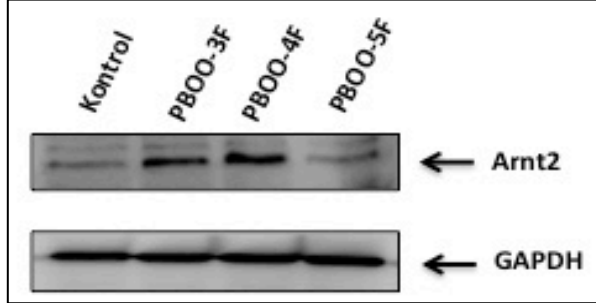


Şekil 3.25. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının HIF-1 α protein ekspresyonu (** $p<0,01$ kontrole göre anlamlılık).

3.24. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının ARNT2 Protein Ekspresyonu

Şekil 3.26’da deney gruplarından alınan mesane dokusu total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO (-3F, -4F) grubuna ait mesane dokularının total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,01$, $p<0,001$). PBOO-5F

grubu mesane dokularının total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

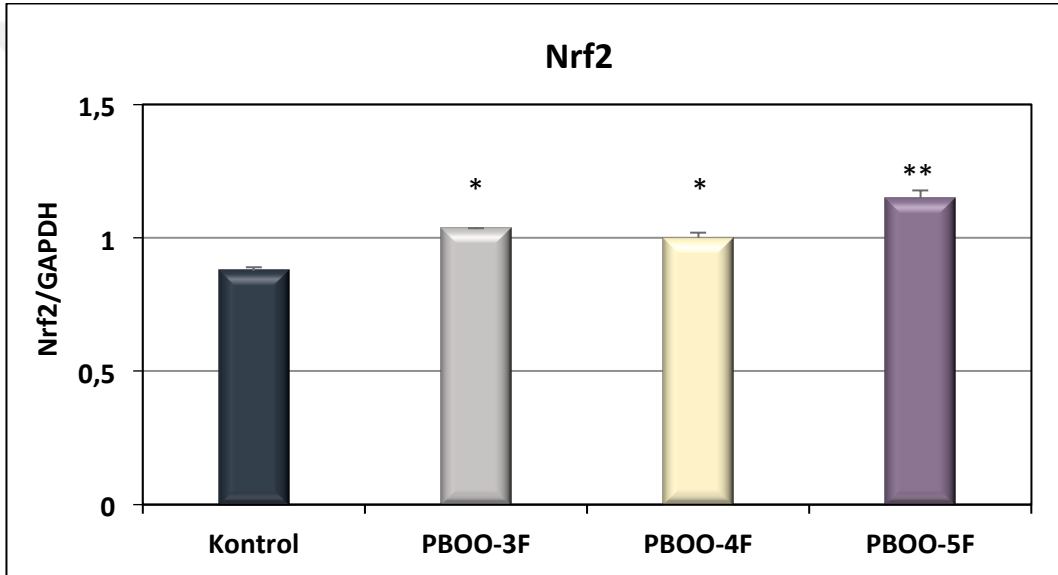
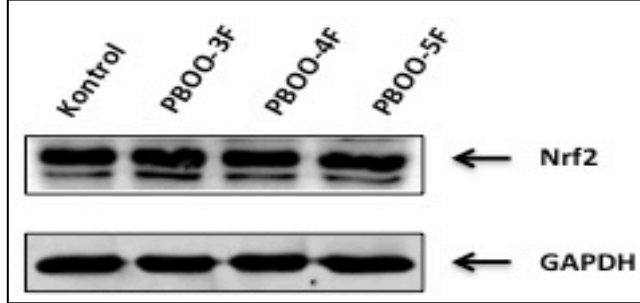


Şekil 3.26. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu (** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ kontrole göre anlamlılık).

3.25. Deney Hayvanlarının Mesane Dokusu Total Lizatlarının Nrf2 Protein Ekspresyonu

Şekil 3.27’de deney gruplarından alınan mesane dokusu total lizatlarının Nrf2 protein ekspresyonu gösterilmiştir. PBOO (-3F, -4F) grubuna ait mesane dokularının total lizatlarının Nrf2 protein ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p < 0,05$). PBOO-5F grubu mesane dokularının

total lizatlarının Nrf2 protein ekspresyonu ise kontrole göre istatistiksel olarak önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0,01$).



Şekil 3.27. Deney hayvanlarının mesane dokusu total lizatlarının Nrf2 protein ekspresyonu (* $p<0,05$ ve ** $p<0,01$ kontrole göre anlamlılık).

4. TARTIŞMA

BPH, mesane çıkımının kısmı olarak obstrükte edilmesi ile deneysel olarak taklit edilebilir (Buttyan ve ark., 1997). İnsanlardaki BPH kaynaklı PBOO'yu taklit etmek için en çok kullanılan metodolojik yaklaşım kısmi olarak üretranın obstrüksiyonu ile oluşturulan hayvan modelidir. PBOO'nun hangi moleküler mekanizmalar üzerinden mesane fonsiyon bozukluklarına neden olduğu hala bilinmemektedir (Liu ve ark., 2016). Bu tez çalışmasında, deneysel olarak farklı şiddetlerde oluşturulan ve 6 hafta süresince üretraları obstrükte halde bulunan PBOO rat modelinde inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi mekanizmaları üzerinden mesanede oluşan kontraktıl ve biyokimyasal değışiklikler ilk kez araştırılmıştır.

Bulgularımıza göre, 6 haftalık PBOO-3F grubunda ($p<0,001$) ve PBOO (-4F, -5F) ($p<0,05$) gruplarında ratların total mesane ağırlığı kontrole göre anlamlı olarak artış göstermiştir. Çalışmamızda, PBOO'lu gruplardaki ratların mesane ağırlığındaki artış PBOO'nun şiddeti ile doğru orantı göstermektedir. Aynı şekilde, farklı hayvan modellerinde yapılan PBOO çalışmaları da bulgularımıza paralel sonuçlar elde etmişlerdir. 2 ve 4 haftalık PBOO tavşan modelinde mesane ağırlıklarında kontrole göre anlamlı bir artış olmuştur. 8 haftalık PBOO tavşan modelinde ise kontrole ve 2, 4 haftalık obstrüksiyon grubuna göre mesane ağırlığı anlamlı ölçüde artmıştır (Lin ve ark., 2012). Myers ve ark. (2009), PBOO grubundaki farelerde, kontrol grubuna göre obstrüksiyonun süresi ile doğru orantılı olarak mesane ağırlığında anlamlı bir artış olduğunu saptamıştır. Saito ve ark. (1993), 1 ve 2 haftalık şiddetli PBOO rat modelinin mesane ağırlığının, hafif şiddetli PBOO modeline göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. PBOO ile meydana gelen mesane ağırlığındaki artış, mesanede çıkışındaki daralmaya bağılı olarak oluşan mesane duvarındaki fibrozisten kaynaklanabilir. PBOO kaynaklı mesane ağırlığındaki artışın derecesi, üretral obstrüksiyonun şiddeti ve obstrüksiyona maruz kalma süresi ile doğrudan ilişkilidir.

Çalışmamıza göre, kontrol grubunda abdominal duvar boyunca orta hat kesi yapılmadan önce ve yapıldıktan 2, 4 ve 6 hafta sonra, 24 saatlik idrar hacminde orta

hat kesisi yapılmadan önceye göre değişme göstermemiştir. PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarında PBOO öncesine göre, PBOO' nun 2 ve 4. haftası arasında 24 saatlik idrar hacminde kontrol grubuna göre değişme gözlenmezken, 6. haftasında anlamlı bir artış gözlenmiştir. Aynı zamanda, 6 haftalık PBOO (-4F, -5F) gruplarında, 24 saatlik idrar hacminde artış olmasına rağmen, kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenmezken; 6 haftalık PBOO-3F grubunda 24 saatlik idrar hacmi kontrole göre anlamlı olarak artış göstermiştir. Tüm PBOO gruplarında 24 saatlik içilen su hacmi, kontrole göre artış göstermesine rağmen aralarında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Benzer şekilde, Dobrek ve ark. (2014),’na göre, 46 haftalık yaşlı wistar cinsi ratların, PBOO’dan 12 ve 15 gün sonraki 24 saatlik idrar hacmi kontrole göre anlamlı artış göstermiştir. Bizim çalışmamızda PBOO’lu ratlarda, 24 saatlik idrar hacminde, 2. ve 4. haftada PBOO öncesine göre değişim gözlenmezken, 6.haftada artış olması, üretranın obstrüksiyonu için kullanılan kataterin çapından yada bu tez çalışmasında kullanılan ratların yaşlı ve cinslerinin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Kawai ve ark. (2016)’ na göre 2 hafta süresince obstrüksiyona maruz bırakılan dişi Sprague Dawley PBOO rat modelinde, 24 saat süresince idrara çıkma sıklığı, kontrole göre önemli ölçüde artış, ortalama idrar hacmi ise PBOO gruplarında kontrole göre önemli ölçüde azalma göstermektedir. Ancak, Kawai ve ark. (2016), total idrar hacminde kontrol ve PBOO grupları arasında anlamlı bir fark bulmamıştır. Çalışmamızda da benzer şekilde PBOO (-4F, -5F) gruplarında, 24 saatlik idrar hacminde kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Sadece PBOO-3F grubunda, 24 saatlik idrar hacminde artış gözlenmesinin nedeni, üretra darlığının şiddetinin diğer gruplara göre daha fazla olmasına bağlanabilir.

Literatürde, farklı hayvan modellerinde ve şiddette yapılan PBOO’nun, mesane ağırlığındaki artışla beraber, fonksiyonun bozulmasına neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Buttyan ve ark., 1997; Levin ve ark., 1995). Yeni Zelanda cinsi tavşanlarda, obstrüksiyondan sonra mesane ağırlığında dört kat artış ve bununla birlikte mesanenin kasılma fonksiyonlarında bozukluklar gözlenmiştir (Levin ve ark., 2003). Bu çalışmada, 60 mM KCl’ye ilişkin kontraktıl yanıtlar, kontrol grubuna göre,

PBOO-3F grubunda ($p<0,001$), ve PBOO-4F grubunda ($p<0,05$) azalma göstermiştir. PBOO-5F grubunda ise, kontrole göre anlamlı değişiklik bulunmamıştır. KCl'ye ilişkin kontraktıl yanıtlar, hafif derecede obstrükte olmuş modelde şiddetli PBOO modeline göre yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde, Oka ve ark. (2009), 6 gün süresince obstrükte olmuş ratların mesane striplerinin KCl'ye verilen yanıtlarında azalma olduğunu göstermiştir. Saito ve ark. (1993), şiddetli PBOO modelinde KCl'ye verilen yanıtların kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Diğer taraftan, Saito ve ark. (1993), 1 ve 2 hafta süresince hafif derecede obstrükte olmuş mesanede KCl'ye ilişkin kontraktıl yanıtların, kontrol grubunun yanıtlarına göre önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Bizim sonuçlarımızla örtüşmemesinin nedeni, ratların obstrüksiyona maruz kalma süresinin bizim çalışmamıza göre daha az olması ve buna bağlı olarak kontraktıl yanıtların obstrüksiyondan daha az etkilenmiş olmasından kaynaklanabilir.

0,1 mM konsantrasyonda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlarında tüm PBOO gruplarında kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0,01$). 1 mM konsantrasyonda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlara bakıldığında, PBOO (-3F, -5F) gruplarında kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0,05$). PBOO-4F grubunda ise, kontrole göre 1 mM konsantrasyonda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlarda düşüş olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır. Benzer şekilde, Saito ve ark. (1993), şiddetli PBOO modelinde ATP'ye verilen yanıtların kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Diğer taraftan, 1 ve 2 hafta süresince hafif derecede obstrükte olmuş mesanede ATP'ye ilişkin kontraktıl yanıtlarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde artış bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda hafif obstrüksiyon modeli olan PBOO-5F grubunda ATP'ye ilişkin kontraktıl yanıtlarda azalma olması obstrüksiyona maruz kalma süresinin daha uzun olmasından kaynaklanabilir.

Bulgularımıza göre, 6 haftalık PBOO 3F'de 10^{-7} - 10^{-4} M konsantrasyon aralığındaki karbakole verilen kontraktıl yanıtlar kontrole göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu konsantrasyon aralığındaki karbakole verilen kontraktıl yanıtlarda 6 haftalık PBOO (-4F, -5F) gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir

değişiklik bulunamamıştır. Siflinger-Birnboim ve ark. (2008), 3 gün süresince obstrükte olmuş beyaz Yeni Zelanda cinsi tavşanlarda, karbakole verilen kontraktıl yanıtlarda önemli ölçüde azalma olduğunu ve 2 haftalık obstrüksiyon süresince de düşüşün devam ettiğini göstermiştir. Diğer taraftan, 2 haftalık PBOO rat modelinde yapılan bir çalışmada, aynı derecede obstrüksiyon/hipertrofi olmasına rağmen, PBOO'lu mesane düz kasının aktivitesi fazla olan ratlardan alınan striplerde karbakole verilen kontraktıl yanıtlar kontrole göre daha yüksek iken, EFS'ye verilen kontraktıl yanıtlar azalmıştır (Aboushwareb ve ark., 2007). Aboushwareb ve ark. (2007), mesane düz kasının fazla aktivitesini ve karbakolle indüklenmiş detrusör düz kasının artmış kontraktilitesini artış gösteren intraselüler kalsiyum seviyesi ile ilişkilendirmiştir. Bizim çalışmamızda, PBOO-3F'de karbakole verilen kontraktıl yanıtların kontrole göre düşük olması, mesane düz kasının fazla aktivitesinden kaynaklanan aşırı aktif mesane durumunun çalışmamızdaki şiddetli rat modelinde gözlenmemesinden kaynaklanabilir.

Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sadece 6 haftalık PBOO-3F gruplarından alınan dokularda 5-40 Hz frekans aralığındaki nörojenik kontraktıl yanıtlar düşük bulunmuştur ($p<0,05$). PBOO (-4F, -5F) gruplarında EFS'ye verilen yanıtlarda kontrole göre anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Saito ve ark. (1993), şiddetli PBOO modelinde EFS'ye verilen yanıtların kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Siflinger-Birnboim ve ark. (2008), PBOO'dan 1 gün sonra beyaz Yeni Zelanda cinsi tavşanlarda, EFS'ye verilen kontraktıl yanıtlarda önemli ölçüde azalma olduğunu ve 2 haftalık PBOO süresince de düşüşün devam ettiğini göstermiştir. Aynı şekilde, Oka ve ark. (2009), 6 gün süresince obstrükte olmuş ratların mesane striplerinin EFS'ye verilen yanıtlarında azalma olduğunu göstermiştir. PBOO dişi rat modelinde yapılan başka bir çalışmada, EFS'ye verilen kasılma yanıtlarının obstrüksiyondan sonra azaldığı ve obstrüksiyonun rahatlatılmasından sonra yanıtların tekrar normale döndüğünü göstermiştir (Kim ve ark., 2000). PBOO-3F modelinde kontrole göre, EFS yanıtlarındaki belirgin düşüşün nedeni, mesane ağırlığının diğer PBOO'lu gruplara göre daha fazla artmasından kaynaklı mesanedeki nöronal elementlerin spesifik olarak dejenerasyonu olabilir. Diğer taraftan, Saito ve ark. (1993), 1 ve 2 hafta süresince hafif derecede obstrükte

olmuş mesanede EFS'ye ilişkin kontraktıl yanıtlarda kontrol grubunun yanıtlarına göre önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Çalışmamızda, hafif obstrüksiyon modeli olan PBOO-5F grubunun EFS'ye ilişkin kontraktıl yanıtlarında kontrole göre anlamlı bir fark olmamasının nedeni, mesane ağırlığının şiddetli PBOO-3F grubuna göre daha az artış göstermesine bağlı olarak mesanede herhangi bir nöronal dejenerasyon meydana gelmemesi olabilir.

KCl, ATP, karbakol ve EFS'ye verilen kontraktıl yanıt, PBOO'nun şiddetine bağlı olabilir. Aynı zamanda deneysel olarak oluşturulan bu obstrüksiyonun, iskemi ile birlikte nöronların denervasyonuna neden olduğu ve çıkım obstrüksiyonunun şiddeti, mesanenin kontraktıl yanıtlarını önemli ölçüde değiştirdiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, PBOO kaynaklı mesane fonksiyon bozukluğunun temel nedeninin, obstrüksiyondan sonra mesanede oluşan iskemik hasarın ve ROS'ların fazla üretiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonu olduğunu göstermiştir (Güven ve ark., 2007; Lin ve ark., 2012; Matsumoto ve ark., 2010; Parekh ve ark., 2001). Üretral obstrüksiyonun şiddetine bağlı olarak mesanede oluşan iskemi ve fazla ROS üretimi, PBOO-3F grubunda mesane kontraktıl yanıtların azalması ile ilişkilendirilebilir.

cGMP, mesane düz kasının gevşemesinde rol oynayan bir siklik nükleotittir (Rahnama'i ve ark., 2013). PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarında mesane dokularının cGMP düzeylerinde kontrole göre artış bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Diğer taraftan Khan ve ark. (1999), PBOO'lu tavşan modelinde mesanede cGMP düzeylerinin kontrole göre azaldığını göstermiştir. Prostaglandinler ve siklik nükleotidler (cAMP ve cGMP) hem mesane düz kas tonusuna hem de hücre proliferasyonuna aracılık ettiğinden mesanede cGMP düzeyindeki değişiklik obstrüksiyonla ilişkili mesane fonksiyon bozuklukları ile ilişkilendirilebilir. Bu çalışmada, PBOO (-4F, -5F) gruplarında EFS ve karbakole verilen kasılma yanıtlarının kontrole göre değişiklik göstermemesinin nedeni, PBOO (-4F,-5F) gruplarında mesaneki cGMP düzeyindeki artışın PBOO-3F grubuna göre daha düşük olması ile açıklanabilir. Ancak, bizim çalışmamızda PBOO-3F grubunda, diğer orta ve hafif şiddette üretral obstrüksiyonlu gruplara göre mesane düz kasının

gevşemesinde rol oynayan cGMP düzeyinin daha yüksek olması, mesane düz kas tonusunun kontrolünde rol oynayan prostaglandinler ve cAMP gibi başka mediyatörler arasındaki dengeyi bozmaktadır. Bu nedenle, PBOO-3F grubundaki KCl, ATP, EFS ve karbakole verilen yanıtlarda, kontrole göre önemli ölçüde azalma bulunmuş olabilir.

PBOO kaynaklı oluşan ROS'lar mesane duvarı düz kasında (detrüsör) inflamasyona neden olmaktadır. (Oka ve ark., 2009; Parekh ve ark., 2001). Bu çalışmada, birçok genin ekspresyonunu regüle ederek, inflamasyona karşı verilen hücresel cevabı düzenleyen NF- κ B transkripsiyon faktörünün farklı şiddetlerde oluşturulan PBOO rat modelindeki rolü incelenmiştir. Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO-3F grubunda, kontrole göre NF- κ B gen ekspresyonunda anlamlı bir artış bulunmuştur. PBOO (-4F, -5F) gruplarında kontrole göre NF- κ B gen ekspresyonunda artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gruplardan alınan mesane dokusu total lizatlarının NF- κ B protein ekspresyonuna bakıldığında, 6 haftalık PBOO (-3F, -4F, -5F) grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. NF- κ B protein ekspresyonu ile benzer şekilde, PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarının mesane dokularının total lizatlarının I κ B α protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. NF- κ B'nin mesane dokusu total lizatlarının ekspresyonunda değişim olmamasına rağmen; PBOO-3F grubunun mesane dokusu nükleer lizatı NF- κ B protein ekspresyonu, kontrole göre anlamlı bir artış göstermiştir. PBOO-3F grubunda nükleer NF- κ B protein ekspresyonu artış göstermesine rağmen, mesane dokusu sitozolik lizatının NF- κ B protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. PBOO-3F grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösteren nükleer NF- κ B protein ekspresyonu, NF- κ B transkripsiyon faktörünün çekirdeğe göç ederek aktive olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$).

PBOO-4F grubunun mesane dokusu nükleer lizatının NF- κ B protein ekspresyonu ise kontrol ve PBOO-3F grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalma göstermiştir ($p < 0,01$ kontrole göre, $p < 0,001$ PBOO-3F'e göre anlamlılık). PBOO-5F grubunun mesane dokusu nükleer lizatının NF- κ B protein

ekspresyonunun, PBOO-3F grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,01$). Buna bağlı olarak PBOO (-4F, -5F) grubunun mesane dokusu sitozolik lizatının NF- κ B protein ekspresyonu, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak artış göstermiştir ($p<0,01$). Bunun yanında, PBOO-4F grubuna ait mesane dokularının sitozolik lizatlarının I κ B α protein ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,01$). Buradan yola çıkılarak, PBOO (-4F, 5F) gruplarında kontrol grubuna göre NF- κ B transkripsiyon faktörünün daha az aktif halde olduğu anlaşılmaktadır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, PBOO-3F grubunda NF- κ B transkripsiyon faktörünün mesanede kontrol grubuna göre aktif halde olduğunu göstermektedir. NF- κ B'nin aktive olarak çekirdeğe translokasyonu, inflamasyonla ilişkili patolojik durumlarda rol oynamaktadır (Chen ve ark., 1999). Bu yüzden, PBOO-3F modelinde mesanede gözlenen NF- κ B'nin aktive olması nedeniyle, mesanede oluşan inflamasyonda NF- κ B'nin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Persson ve ark. (2001), 1 gün süresince obstrüksiyon maruz bırakılan dişi PBOO rat modelinde, mesane dokusunun primer hücre kültürünü yaptıktan sonra, PBOO modelini hücre ortamında da taklit etmek amacıyla, hücrelere mekanik gerilim uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, mesane obstrüksiyonunun ve mekanik gerilimin NF- κ B DNA komplekslerinin oluşumuna neden olduğunu göstermiştir. Tagaya ve ark. (2009), inflamasyon görülen PBOO'lu ratların prostatında NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , COX-2 gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, PBOO sıçan modelinde mesanede oluşan inflamasyonda, sitokinlerin rol oynadığı gösterilmiştir (Sano ve ark., 2012; Song ve ark., 2013). Buradan yola çıkarak, şiddetli PBOO-3F modelinde mesanede oluşan inflamasyona, aktif halde bulunan NF- κ B sinyal yolağı tarafından ekspresyonu regüle edilen ve indüklenen kemokinler ve sitokinlerin aracılık ettiği düşünülebilir.

Bulgularımıza göre, PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarının serumlarında bir sitokin olan, IL-6 düzeylerinde kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Lin ve ark. (2014), 4 ve 8 haftalık PBOO sıçan modelinde IFN- γ , IL-10 sitokinlerinin plazma düzeyinin arttığını göstermiştir ve PBOO'nun

rahatlatılmasından sonra, plazmada inflamatuvar sitokin seviyesinde azalma görülmüştür. Başka çalışmalarda ise, 6 gün süresince obstrükte olmuş PBOO'lu ratlarda, proinflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β 'nin ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Oka ve ark., 2009). Kanno ve ark. (2015), tarafından yapılan çalışmada, PBOO fare modelinde gözlenen mesane yapı ve fonksiyonunun bozulmasında, mesanedeki IL-1 β gen ekspresyonundaki artışın rol oynadığı gösterilmiştir. Çalışmamızda daha önce yapılan çalışmaların aksine, farklı şiddetlerdeki PBOO'lu gruplar arasında serum IL-6 düzeylerinde anlamlı bir fark olmaması, çalışmamızda oluşturulan PBOO (3F, -4F, -5F) rat modelinde inflamasyonun sistemik değil, doku düzeyinde olabileceğini göstermiştir. Plazmada sirküle halde bulunan monositlerde IL-6 ekspresyonu indüklenmemiş olabilir.

Bulgularımızda PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarının mesane dokularının TNF- α düzeylerinde artış bulunmasına rağmen; kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Gruplara ait serum TNF- α düzeyinde, sadece PBOO-3F grubuna ait serum TNF- α düzeylerinde kontrole göre artış gözlenmiştir; ancak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. Öte yandan başka bir çalışmada, 1,2 mm'lik kataterle 1 ay süresince orta şiddette obstrüksiyon yapılan dişi rat modelinin mesane dokusunda ve serumunda TNF- α 'nın düzeyi sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir (Yildirim ve ark., 2013). Çalışmamızda, PBOO-3F grubunda, serumdaki TNF- α düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olmasada önemli ölçüde artışı, PBOO-3F grubunda plazmalarında sirküle halde bulunan monositlerde aktif hale bulunan NF- κ B'nin, TNF- α gen transkripsiyonunu indüklemesinden kaynaklanmış olabilir.

Hipoksi ve obstrüksiyonla indüklenen mesane fonksiyon bozukluğu arasındaki temel mekanizmalar bilinmemektedir. Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO-3F grubunda, PBOO-4F ve PBOO-5F'e göre HIF-1 α gen ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlenmiştir. 6 haftalık PBOO (-4F, -5F) gruplarında ise kontrole göre HIF-1 α gen ekspresyonunda artış gözlenmiştir; ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. HIF-1 α gen ekspresyonu ile paralel olarak, PBOO (-4F, -5F) grubuna ait mesane dokularının total lizatlarının HIF-1 α protein ekspresyonu, kontrol

grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir. PBOO-3F grubu mesane dokularının total lizatlarının HIF-1 α protein ekspresyonunda, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir azalma bulmuştur. PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarından alınan mesane dokularının HIF-1 β gen ekspresyonu, kontrole göre anlamlı bir fark göstermemiştir. Bu çalışmada, PBOO (-4F, -5F) gruplarında kontrole göre HIF-1 α gen ve protein ekspresyonundaki artışın nedeni, mesane çıkımının obstrüksiyonuna bağlı olarak mesaneye giden kan akımının azalması sonucu oluşan hipoksi olabilir. Levin ve ark. (2000), hipertrofi olmuş mesane dokusunun, normal mesane dokusuna göre hipoksiye karşı daha dirençli olduğunu göstermiştir. Şiddetli obstrüksiyon modeli olan PBOO-3F modelinde HIF-1 α gen ve protein düzeyinin orta ve hafif şiddetteki PBOO (-4F, -5F) modeline göre düşük olmasının nedeni, mesane çıkımının şiddetli derecede daralmasına bağlı olarak hipertrofi olmuş mesanenin, iskemi ve hipoksiye karşı daha dirençli hale gelerek bu durumu kompanse edebilmesinden kaynaklanabilir. PBOO (-4F, -5F) gruplarındaki bulgularımıza benzer olarak, daha önce yapılan çalışmada, 4 haftalık PBOO dişi fare modelinde, mesanedeki HIF-1 α gen ekspresyonu kontrole göre önemli ölçüde artış göstermiştir (Drzewiecki ve ark., 2012). Iguchi ve ark. (2014), 7 gün süresince obstrüksiyona maruz kalmış erkek farelerde PBOO'nun hipoksiye bağlı olarak hem HIF-1 α gen ve protein hem de HIF-2 α gen ekspresyonunu artırdığını ve hedef genlerin ekspresyonunu indüklediğini göstermişlerdir. Koritsiadis ve ark. (2008), PBOO'ya bağlı AÜSS görülen hastaların mesanesinde HIF-1 α protein ekspresyonunun arttığını göstermiştir. HIF-1 β ise, HIF-1 α 'dan farklı olarak ortamda bulunan oksijenden bağımsız olarak konstitütif olarak eksprese olmaktadır (Richard ve ark., 2000). Bulgularımıza göre PBOO'lu gruplarda HIF-1 β gen ekspresyonunda kontrole göre fark olmaması, HIF-1 β 'nin ortamda bulunan oksijenden bağımsız ve konstitütif olarak eksprese olmasından kaynaklanabilir.

HIF-1 α , HIF-1 β ile olduğu gibi aynı zamanda HIF-2 β (ARNT2) ile de çekirdekte transkripsiyon etkinliği olan dimer oluşturabilir (Sekine ve ark., 2006; Stephany ve ark., 2013). Bulgularımıza göre, 6 haftalık PBOO-3F gruplarından alınan mesane dokularında ARNT2 gen ekspresyonu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir artış göstermiştir. PBOO (-4F, -5F) gruplarında mesane

dokularının ARNT2 gen ekspresyonu ile kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. PBOO (-3F, -4F) grubuna ait mesane dokularının total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir. PBOO-5F grubu mesane dokularının total lizatlarının ARNT2 protein ekspresyonu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ekman ve ark. (2014), dişi ratlarda şiddetli obstrüksiyon modelinde, ARNT2 protein ekspresyonunun obstrüksiyondan 2 gün sonra istatistiksel olarak anlamlı arttığını ve bu artışın obstrüksiyondan 10 gün sonra daha da belirgin hale geldiğini göstermiştir. Stephany ve ark. (2013), yumurtalıkları çıkarılan ve mesaneye gerilim uygulanan dişi farelerde mesane gerilimi ile ARNT2 gen ekspresyonunun arttığını, obstrükte olmuş mesanede ARNT2'nin, HIF-1 transkripsiyon faktörünün transkripsiyonel etkinliğine aracılık ettiğini göstermiştir. Buradan yola çıkılarak, şiddetli obstrüksiyon modeli olan PBOO-3F modelinde HIF-1 α gen ve protein ekspresyon düzeyinin, PBOO (-4F, -5F) modeline göre düşük olmasına rağmen, HIF-1 transkripsiyon faktörünün alt birimi olan ARNT2 gen ve protein ekspresyonunun artması, HIF-1 α protein ekspresyonundan bağımsız olarak ARNT2'nin HIF-1 α transkripsiyon faktörü ile nükleusta transkripsiyonel etkinliği olan bir dimer oluşturarak, HIF-1 α transkripsiyon faktörünün aktivasyonuna aracılık ettiği şeklinde açıklanabilir.

Nrf2, hücrede oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (Dinkova-Kostova ve Abramov, 2015). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 6 haftalık PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarından alınan mesane dokularında Nrf2 gen ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Nrf2 gen ekspresyonuna benzer şekilde, PBOO (-3F, -4F, -5F) grubuna ait mesane dokularının total lizatlarının Nrf2 protein ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış göstermiştir. Aynı şekilde, Liu ve ark. (2016), tarafından yapılan çalışma da 4 hafta süresince şiddetli obstrüksiyona maruz bırakılan ratlarda, mesanedeki Nrf2 protein düzeylerinin kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da arttığını göstermiştir. PBOO (-3F, -4F, -5F) gruplarından alınan mesane dokularında Nrf2 gen ve protein ekspresyonunun kontrole göre artması, PBOO modelinde mesanede oksidatif stresin olduğunu göstermiştir. PBOO

modelinde mesanede artış gösteren Nrf2 gen ve protein ekspresyon düzeyi, oksidatif stresin belirteci olarak rol oynamaktadır.

Oksidatif stresin belirteci olan MDA düzeyinde, PBOO-3F grubunda kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış bulunmuştur. PBOO (-4F, -5F) gruplarına ait mesane dokularında ise MDA düzeyinde kontrole göre artış bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Literatürdeki çalışmalar bulgularımıza benzer şekilde, 6 gün, 4 hafta ve şiddetli derecede 6 hafta süresince PBOO'lu ratların mesanedeki MDA düzeylerinin kontrole göre önemli ölçüde arttığını göstermiştir (Liu ve ark., 2016; Oka ve ark., 2009; Yuan ve ark., 2011). Lin ve ark. (2012), PBOO tavşan modelinde oksidatif stres belirteçlerinden MDA'nın plazmadaki seviyesi artarken, obstrükte edilen mesane boynunun rahatlatılması sonucu önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. PBOO-3F grubunda MDA seviyesinin kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermesinin nedeni, üretral darlığın şiddetine bağlı olarak oluşan iskemiden kaynaklanan artan ROS üretimi olabilir. Aynı zamanda, oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynayan Nrf2 transkripsiyon faktörünün gen ve protein ekspresyonu şiddetli obstrüksiyon modelinde artış göstermesine rağmen; PBOO-3F grubunda kontrole göre artan MDA düzeyi Nrf2'nin dokuda oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynayamadığını göstermiştir. PBOO-3F grubunda artan oksidatif stres, oksidatif strese bağlı olarak da uyarılabilen NF-κB transkripsiyon faktörünün çekirdeğe translokasyonu indüklemiş olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

BPH'ya bağılı AÜSS, ilerleyen yaşla erkeklerin yaşam kalitesini düşürmesi ve her yıl sağıık harcamalarının büyük kısmını oluşturmaları nedeniyle kamu sağıığı açısından önemli bir yere sahiptir. BPH'dan kaynaklanan AÜSS, erkeklerde ilerleyen yaşla birlikte çok sık gözlenen bir durum olmasına rağmen altında yatan mekanizmalar henüz bilinmemektedir. BPH'da görülen kronik inflamasyon, prostat yanında mesane gibi ürogenital sistemin diğere elemanlarını da etkileyerek AÜSS'nin oluşumunda ve devam etmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu yüzden günümüzde araştırmalar, BPH'dan kaynaklanan AÜSS'nin tedavi yöntemlerini geliştirmek için inflamatuvar yolların aydınlatılmasına yönelmiştir.

Yakın gelecekte BPH kaynaklı AÜSS'den yakın hasta sayısının belirgin bir şekilde artması beklenmektedir. Bu hastalarda, prostat genişlemesinden dolayı, acil idrara çıkma, zayıf idrar akışı, aralıklarla idrara çıkma, idrar çıkışı sırasında zorlanma ve tam boşalmanın olmadığı hissi gibi obstrüktif semptomlar görülmeye başlar. Ürolojik patolojilerde sıklıkla görülen BPH kaynaklı PBOO'nun patofizyolojisi hala tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar PBOO'nun başlamasından kısa bir süre sonra mesanede morfolojik, fonksiyonel ve moleküler düzeyde değişikliklerin olduğunu göstermiştir.

Çalışma sonuçları, PBOO'lu ratların total mesane ağırlığının kontrole göre anlamlı olarak arttığını göstermiştir. Mesane ağırlığında artış ile kontraktilite yanıtlarında azalma paralellik göstermektedir. Mesanenin KCl, ATP, karkakol ve EFS'ye verdiği purinerjik, kolinerjik ve nörojenik kontraktıl yanıtlar değerlendirildiğinde, PBOO-3F grubunda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

PBOO-3F grubunun mesane dokusu nükleer lizatı NF-κB protein ekspresyonu, kontrole göre anlamlı bir artış göstermiştir. Şiddetli obstrüksiyon modelinde, NF-κB transkripsiyon faktörünün aktivitesi artma eğilimindedir.

PBOO (-4F, -5F) gruplarına ait mesanede artan HIF-1 α protein ekspresyonu ve PBOO (-3F, -4F) grubunda HIF-1 transkripsiyon faktörünün aktive olmasına aracılık eden ARNT2 protein ekspresyonundaki artış hipoksinin obstrüksiyon şiddetinden bağımsız olarak arttığını göstermiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm PBOO'lu gruplarda oksidatif stres belirteci olan artan Nrf2 gen ve protein ekspresyonu ve bunun yanında sadece PBOO-3F grubuna ait mesane MDA düzeyindeki artış oksidatif stresin şiddetli obstrüksiyon modelinde diğer PBOO'lu gruplara göre daha fazla arttığını göstermiştir.

Sonuç olarak, insanlarda BPH kaynaklı oluşan PBOO'yu taklit etmek amacıyla üretranın bağlanması ile deneysel olarak oluşturulan bu hayvan modelinde, şiddetli obstrüksiyon modeli olan PBOO-3F grubunun kolinerjik, nörojenik ve purinerjik kontraktilite yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur. Ortalama mesane ağırlıkları benzer olan orta ve hafif şiddetli PBOO gruplarında yine birbirine yakın kontraktilite yanıtları elde edilmiştir.

Şiddetli obstrüksiyonlu PBOO-3F rat modelinde mesanedeki inflamasyonla ilişkili mekanizmalar, orta ve hafif şiddetli PBOO rat modeline göre daha aktif durumda iken; PBOO-4F modelinde hipoksinin gen ve protein düzeyinde diğer gruplara göre belirgin şekilde arttığı saptanmıştır. Oksidatif stres, şiddetli PBOO-3F grubunda daha belirgin olmak üzere, PBOO gruplarında kontrole göre artış göstermiştir. Farklı şiddetteki üretral darlığa bağlı olarak, mesane fonksiyonundaki ve mesanedeki inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi mekanizmalarındaki değişiklikleri ilk kez inceleyen bu çalışma, klinikte PBOO'nun farklı fazlarında rol oynayan mekanizmalar hakkında bilgi verebilir. Aynı zamanda, BPH'daki temel tedavi prosedürü yanında inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltan bireysel ek tedavi seçeneklerinin sunulmasına katkıda bulunabilir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında olduğu gibi BPH ve AÜSS'nin gelişiminde rol oynayan biyolojik yolakların tanımlanmasına yönelik yapılan alışmalar, BPH'dan yakının orta ve ileri yaşlı erkek popülasyonunun yaşam kalitesinin artmasını sağlayabilir.



ÖZET

Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonlu Sıçanlarda İnflamasyon ve Oksidatif Stres Mekanizmaları

Benign prostat hiperplazisi (BPH), prostat stromal hücrelerinin proliferasyonundan kaynaklanan prostat bezi büyümesi olarak tanımlanır. BPH, orta ve ileri yaşlardaki erkeklerde sıklıkla görülen önemli sağlık problemlerinden birisidir. BPH'lı hastalar, genellikle büyümüş bir prostatın neden olduğu üretradaki darlığa bağlı olarak gelişen çeşitli alt üriner sistem semptomları (AÜSS) ile kliniğe başvururlar. BPH'tan kaynaklanan AÜSS, üretranın bağlanması ile oluşturulan parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu (PBOO) modeli kullanılarak deneysel olarak taklit edilebilmektedir. Bu çalışmada, BPH'dan kaynaklanan AÜSS'nin deneysel hayvan modeli olan PBOO'nun şiddet derecesine bağlı olarak mesane fonksiyonunda meydana gelen değişiklikler ile mesanedeki inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi mekanizmalarının ilk kez aydınlatılması amaçlanmıştır.

Sprague-Dawley erkek sıçanlar (n=40), 1) Kontrol, 2) 3F kataterle şiddetli derecede PBOO, 3) 4F kataterle orta derecede PBOO, 4) 5F kataterle hafif derecede PBOO olmak üzere dört eşit gruba ayrılmıştır. PBOO'lu grupların 6 hafta süreyle üretraları bağlanmıştır. Bu çalışmada üretral darlığa bağlı olarak farklı şiddet derecesinde deneysel olarak oluşturulan PBOO grupları ile kontrol grubu arasındaki inflamasyon, oksidatif stres ve hipokside rol oynayan nükleer faktör kapp B (NF- κ B), nükleer faktör E2 ilişkili faktör-2 (Nrf2), hipoksi indüklenbilir faktör (HIF) transkripsiyon faktörlerinin gen ve protein ekspresyon düzeyleri farkı sırasıyla eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve western blot yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Aynı zamanda, organ banyosu deneyleri ile mesanenin kontraktilitesi ve ELISA yöntemi ile mesanedeki tümör nekrosis faktör alfa (TNF- α), malondialdehit (MDA) düzeyi ve serumdaki TNF- α ve interleukin (IL)-6 düzeyleri belirlenmiştir.

Sonuç olarak, PBOO hayvan modelinde, mesane ağırlığında artış ile kontraktilite yanıtlarında azalma paralellik göstermiştir. Şiddetli obstrüksiyonlu PBOO-3F rat modelinde inflamasyonda rol oynayan NF- κ B transkripsiyon faktörünün aktivitesi artma eğiliminde iken; tüm PBOO'lu gruplarda hipoksinin kontrole göre arttığı saptanmıştır. Oksidatif stres, şiddetli PBOO modelinde diğer PBOO'lu gruplara göre daha fazla artış göstermiştir. PBOO rat modelinde, mesanede rol oynayan inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi ile ilişkili mekanizmaların tanımlanması ve aydınlatılması, BPH/AÜSS için yeni tedavi stratejilerinin oluşumuna katkıda bulunulabilir.

Anahtar Kelimeler: Benign prostat hiperplazisi, Hipoksi, İnflamasyon, Oksidatif stres, Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu

SUMMARY

The Mechanisms of Inflammation and Oxidative Stress in Rats with Partial Bladder Outlet Obstruction

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is defined as a proliferation of prostatic stromal cells which results an enlarged prostate gland. BPH is one of the major health problems typically seen in middle-aged and elderly men. Patients with BPH, apply to the clinic with lower urinary tract symptoms (LUTS) which is associated with urethra obstruction caused by prostate growth. Partial bladder outlet obstruction (PBOO) created by binding of urethra in laboratory is used as an experimental animal model for LUTS linked BPH. This study is aimed to determine the relationship between bladder function and inflammation, oxidative stres and hypoxia mechanisms for the first time, depending on severity degree of PBOO, which is an experimental animal model for LUTS linked BPH.

A total of 40 Sprague-Dawley male rats were divided into 4 groups equally: 1) Control, 2) 3F catheterized severe PBOO, 3) 4F catheterized normal severity PBOO, 4) 5F catheterized mild PBOO. PBOO groups were subjected by ligation of the urethra for 6 week. In this study, the difference of nuclear factor kappa B (NF- κ B), Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) and hypoxia inducible factor (HIF) transcription factors (which have role in inflammation, oxidative stres and hypoxia mechanisms) gen and protein expression levels was investigated by using real time-PCR (RT-PCR) and western blot between control and PBOO groups depending on urethral obstruction degree. Also, bladder contractility and the levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), malondialdehyde (MDA) in rat bladder and interleukin (IL)-6, TNF- α in rat serum was determined by tissue bath and ELISA.

The results showed that the increase in bladder weight and the decrease in contractile responses have positive correlation in PBOO groups depending on uretral obstruction severity. While the activity of NF- κ B, which have a role in inflammation, tended to increase in severe PBOO-3F rat model, hypoxia is significantly increased in all PBOO groups compared to control. The oxidative stress in severe PBOO-3F group showed increased oxidative stress when compared with other obstructed groups. The identification and clarification of mechanisms which have a role in inflammation, oxidative stress and hypoxia in the bladder of PBOO rat model could contribute to develop new treatment strategies.

Key words: Benign prostatic hyperplasia, Hypoxia, Inflammation, Oxidative stress, Partial bladder outlet obstruction

KAYNAKLAR

ABOUSHWAREB T, JARAJAPU YPR, BLAHA S, HODGES S , TURNER C, ZHAO W, ANDERSSON KE, CHRIST GJ (2007). Mechanistic studies of detrusor over activity in male rats following partial urethral obstruction: Implications to identification of novel therapeutics *The FASEB Journal*, **21**:949.12

AHMAD M, SUHAIL N, MANSOOR T, BANU N, AHMAD S (2012). Evaluation of oxidative stress and DNA damage in benign prostatic hyperplasia patients and comparison with controls. *Indian J Clin Biochem*, **27**(4): 385-388.

ALMUSHATAT AS, TALWAR D, MCARDLE PA, WILLIAMSON C, SATTAR N, O'REILLY DS, UNDERWOOD MA, MCMILLAN DC (2006). Vitamin antioxidants, lipid peroxidation and the systemic inflammatory response in patients with prostate cancer. *Int J Cancer*, **118**(4): 1051-1053.

ALONSO-MAGDALENA P, BROSSNER C, REINER A, CHENG G, SUGIYAMA N, WARNER M, GUSTAFSSON JA (2009). A role for epithelial-mesenchymal transition in the etiology of benign prostatic hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **106**(8): 2859-2863.

ANDERSSON KE (2003). Storage and voiding symptoms: pathophysiologic aspects. *Urology*, **62**(5 Suppl 2): 3-10.

ANIM JT, UDO C, JOHN B (1998). Characterisation of inflammatory cells in benign prostatic hyperplasia. *Acta Histochem*, **100**(4): 439-449.

- ARENZANA-SEISDEDOS F, THOMPSON J, RODRIGUEZ MS, BACHELERIE F, THOMAS D, HAY RT (1995). Inducible nuclear expression of newly synthesized I kappa B alpha negatively regulates DNA-binding and transcriptional activities of NF-kappa B. *Mol Cell Biol*, **15(5)**: 2689-2696.
- AUSTIN JC, CHACKO SK, DISANTO M, CANNING DA, ZDERIC SA (2004). A male murine model of partial bladder outlet obstruction reveals changes in detrusor morphology, contractility and Myosin isoform expression. *J Urol*, **172(4 Pt 1)**: 1524-1528.
- AZADZOI KM, PONTARI M, VLACHIOTIS J, SIROKY MB (1996). Canine bladder blood flow and oxygenation: changes induced by filling, contraction and outlet obstruction. *J Urol*, **155(4)**: 1459-1465.
- AZADZOI KM, TARCAN T, KOZLOWSKI R, KRANE RJ, SIROKY MB (1999). Overactivity and structural changes in the chronically ischemic bladder. *J Urol*, **162(5)**: 1768-1778.
- AZADZOI KM, TARCAN T, SIROKY MB, KRANE RJ (1999). Atherosclerosis-induced chronic ischemia causes bladder fibrosis and non-compliance in the rabbit. *J Urol*, **161(5)**: 1626-1635.
- AZADZOI KM, SHINDE VM, TARCAN T, KOZLOWSKI R, SIROKY MB (2003). Increased leukotriene and prostaglandin release, and overactivity in the chronically ischemic bladder. *J Urol*, **169(5)**: 1885-1891.
- AZADZOI KM, YALLA SV, SIROKY MB (2007). Oxidative stress and neurodegeneration in the ischemic overactive bladder. *J Urol*, **178(2)**: 710-715.

- AZADZOI KM, RADISAVLJEVIC ZM, SIROKY MB (2008). Effects of ischemia on tachykinin-containing nerves and neurokinin receptors in the rabbit bladder. *Urology*, **71(5)**: 979-983.
- BAEUERLE PA, BALTIMORE D (1988). Activation of DNA-binding activity in an apparently cytoplasmic precursor of the NF-kappa B transcription factor. *Cell*, **53(2)**: 211-217.
- BAEUERLE PA, BALTIMORE D (1988). I kappa B: a specific inhibitor of the NF-kappa B transcription factor. *Science*, **242(4878)**: 540-546.
- BALDWIN AS (1996). The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*, **14**: 649-683.
- BARRY MJ, COCKETT AT, HOLTGREWE HL, MCCONNELL JD, SIHELNIK SA, WINFIELD HN (1993). Relationship of symptoms of prostatism to commonly used physiological and anatomical measures of the severity of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, **150(2 Pt 1)**: 351-358.
- BASKIN LS, HAYWARD SW, DISANDRO MS., LI YW, CUNHA GR (1999). Epithelial-mesenchymal interactions in the bladder. Implications for bladder augmentation. *Adv Exp Med Biol*, **462**: 49-61.
- BAZAN JF (1993). Emerging families of cytokines and receptors. *Curr Biol*, **3(9)**: 603-606.
- BERRY SJ, COFFEY DS, WALSH PC, EWING LL (1984). The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol*, **132(3)**: 474-479.
- BISOONI S, FERREIRA FT, AMSTALDEN NETO A, CHIARELLI LO, ORTIZ V (2012). Influence of oxidative stress on inducing micturition dysfunction

following chronic infravesical obstruction and the protective role of an antioxidant diet-association of in vivo and in vitro studies in rats. *Int Braz J Urol*, **38(4)**: 552-560.

BLACK RA, RAUCH CT, KOZLOSKY CJ, PESCHON JJ, SLACK JL, WOLFSON MF, CASTNER BJ, STOCKING KL, REDDY P, SRINIVASAN S, NELSON N, BOIANI N, SCHOOLEY KA, GERHART M, DAVIS R, FITZNEJ NR, JOHNSON RS., PAXTON RJ, MARCH CJ, CERRETTI DP (1997). A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*, **385(6618)**: 729-733.

BLOCH, W, KLOTZ T, LOCH C, SCHMIDT G, ENGELMANN U, ADDICKS K (1997). Distribution of nitric oxide synthase implies a regulation of circulation, smooth muscle tone, and secretory function in the human prostate by nitric oxide. *Prostate*, **33(1)**: 1-8.

BONVISSUTO G, MINUTOLI L, MORGIA G, BITTO A, POLITO F, IRRERA N, MARINI H, SQUADRITO F, ALTAVILLA D (2011). Effect of *Serenoa repens*, lycopene, and selenium on proinflammatory phenotype activation: an in vitro and in vivo comparison study. *Urology*, **77(1)**: 248 e249-216.

BOSTANCI Y, KAZAZI A, MOMTAHEN S, LAZE J, DJAVAN B (2013). Correlation between benign prostatic hyperplasia and inflammation. *Curr Opin Urol*, **23(1)**: 5-10.

BOYLE P, ROBERTSON C, MAZZETTA C, KEECH M, HOBBS FD, FOURCADE R, KIEMENEY L, LEE C (2003). The prevalence of lower urinary tract symptoms in men and women in four centres. *BJU Int*, **92(4)**: 409-414.

- BREDT, DS, SNYDER SH (1992). Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, **8(1)**: 3-11.
- BROCKMAN JA., SCHERER DC, MCKINSEY TA., HALL SM, QI X, LEE WY, BALLARD DW (1995). Coupling of a signal response domain in I kappa B alpha to multiple pathways for NF-kappa B activation. *Mol Cell Biol*, **15(5)**: 2809-2818.
- BROOKS JD (2007). *Anatomy of the Lower Urinary Tract and Male Genitalia*. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW (eds): *Campbell-Walsh Urology*, 9nd Ed. **1**: p.:38-77.
- BROWN K, GERSTBERGER S, CARLSON L, FRANZOSO G, SIEBENLIST U (1995). Control of I kappa B-alpha proteolysis by site-specific, signal-induced phosphorylation. *Science*, **267(5203)**: 1485-1488.
- BROWN K, PARK S, KANNO T, FRANZOSO G, SIEBENLIST U (1993). Mutual regulation of the transcriptional activator NF-kappa B and its inhibitor, I kappa B-alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **90(6)**: 2532-2536.
- BURMEISTER D, ABOUSHWAREB T, D'AGOSTINO R, ANDERSSON KE, CHRIST GJ (2012). Impact of partial urethral obstruction on bladder function: time-dependent changes and functional correlates of altered expression of Ca(2)(+) signaling regulators. *Am J Physiol Renal Physiol*, **302(12)**: F1517-1528.
- BUTTYAN R, CHEN MW, LEVIN RM (1997). Animal models of bladder outlet obstruction and molecular insights into the basis for the development of bladder dysfunction. *Eur Urol*, **32 Suppl 1**: 32-39.

- CHEN F, CASTRANOVA V, SHI X, DEMERS LM (1999). New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clin Chem*, **45(1)**: 7-17.
- CHEN FE, GHOSH G (1999). Regulation of DNA binding by Rel/NF-kappaB transcription factors: structural views. *Oncogene*, **18(49)**: 6845-6852.
- CHEN LM, WANG C, CHEN M, MARCELLO MR, CHAO J, CHAO L, CHAI KX (2006). Prostatin attenuates inducible nitric oxide synthase expression in lipopolysaccharide-induced urinary bladder inflammation. *Am J Physiol Renal Physiol*, **291(3)**: F567-577.
- CHEN Z, HAGLER J, PALOMBELLA VJ, MELANDRI F, SCHERER D, BALLARD D, MANIATIS T (1995). Signal-induced site-specific phosphorylation targets I kappa B alpha to the ubiquitin-proteasome pathway. *Genes Dev*, **9(13)**: 1586-1597.
- CHEN ZJ (2005). Ubiquitin signalling in the NF-kappaB pathway. *Nat Cell Biol*, **7(8)**: 758-765.
- CHUGHTAI B, LEE R, TE A, KAPLAN S (2011). Role of inflammation in benign prostatic hyperplasia. *Rev Urol*, **13(3)**: 147-150.
- COFFEY DS, WALSH PC (1990). Clinical and experimental studies of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am*, **17(3)**: 461-475.
- CULIG Z, HOBISCH A, CRONAUER MV, RADMAYR C, HITTMAR A, ZHANG J, THURNHER M, BARTSCH G, KLOCKER H (1996). Regulation of prostatic growth and function by peptide growth factors. *Prostate*, **28(6)**: 392-405.

- DAS AK, LEGGETT RE, WHITBECK C, EAGEN G, LEVIN RM (2002). Effect of doxazosin on rat urinary bladder function after partial outlet obstruction. *Neurourol Urodyn*, **21(2)**: 160-166.
- DE GROAT WC (1993). Anatomy and physiology of the lower urinary tract. *Urol Clin North Am*, **20(3)**: 383-401.
- DE GROAT WC (2006). Integrative control of the lower urinary tract: preclinical perspective. *Br J Pharmacol*, **147 Suppl 2**: S25-40.
- DI SILVERIO F, GENTILE V, DE MATTEIS A, MARIOTTI G, GIUSEPPE V, LUIGI PA, SCIARRA A (2003). Distribution of inflammation, pre-malignant lesions, incidental carcinoma in histologically confirmed benign prostatic hyperplasia: a retrospective analysis. *Eur Urol*, **43(2)**: 164-175.
- DINKOVA-KOSTOVA AT, ABRAMOV AY (2015). The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radic Biol Med*, **88(Pt B)**: 179-188.
- DISANTO ME, STEIN R, CHANG S, HYPOLITE JA, ZHENG Y, ZDERIC S, WEIN AJ, CHACKO S (2003). Alteration in expression of myosin isoforms in detrusor smooth muscle following bladder outlet obstruction. *Am J Physiol Cell Physiol*, **285(6)**: C1397-1410.
- DOBREK L, KASZUBA-ZWOINSKA J, SKOWRON B, BARANOWSKA A, THOR PJ (2014). Urine uromodulin estimation in partial bladder outlet obstruction and cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis models in rats. *Postepy Hig Med Dosw*, **68**:1184-92.
- DOBRZANSKI P, RYSECK RP, BRAVO R (1994). Differential interactions of Rel-NF-kappa B complexes with I kappa B alpha determine pools of constitutive and inducible NF-kappa B activity. *EMBO J*, **13(19)**: 4608-4616.

- DRZEWIECKI BA, ANUMANTHAN G, PENN HA, TANAKA ST, THOMAS JC, ADAMS MC, BROCK JW, POPE JCT, MATUSIK RJ, HAYWARD S, CLAYTON DB (2012). Modulation of the hypoxic response following partial bladder outlet obstruction. *J Urol*, **188(4 Suppl)**: 1549-1554.
- EKMAN M, BHATTACHARIYA A, DAHAN D, UVELIUS B, ALBINSSON S, SWARD K (2013). Mir-29 repression in bladder outlet obstruction contributes to matrix remodeling and altered stiffness. *PLoS One*, **8(12)**: e82308.
- EKMAN M, UVELIUS B, ALBINSSON S, SWARD K (2014). HIF-mediated metabolic switching in bladder outlet obstruction mitigates the relaxing effect of mitochondrial inhibition. *Laboratory investigation*, **94(5)**: 557-68.
- EL-ZAWAHRY A, ALANEE S, MALAN-ELZAWAHRY A (2016). The use of urodynamics assessment before the surgical treatment of BPH. *Curr Urol Rep*, **17(10)**: 73
- FAOUR WH, MANCINI A, HE QW, DI BATTISTA JA (2003). T-cell-derived interleukin-17 regulates the level and stability of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA through restricted activation of the p38 mitogen-activated protein kinase cascade: role of distal sequences in the 3'-untranslated region of COX-2 mRNA. *J Biol Chem*, **278(29)**: 26897-26907.
- FITZPATRICK JM (2006). The natural history of benign prostatic hyperplasia. *BJU Int*, **97 Suppl 2**: 3-6; discussion 21-22.
- FOWLER CJ, GRIFFITHS D, DE GROAT WC (2008). The neural control of micturition. *Nat Rev Neurosci*, **9(6)**: 453-466.
- FURCHGOTT RF, ZAWADZKI JV (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, **288(5789)**: 373-376.

GERSTENBLUTH RE, SEFTEL AD, MACLENNAN GT, RAO RN, CORTY EW, FERGUSON K, RESNICK MI (2002). Distribution of chronic prostatitis in radical prostatectomy specimens with up-regulation of bcl-2 in areas of inflammation. *J Urol*, **167(5)**: 2267-2270.

GIRI D, ITTMANN M (2001). Interleukin-8 is a paracrine inducer of fibroblast growth factor 2, a stromal and epithelial growth factor in benign prostatic hyperplasia. *Am J Pathol*, **159(1)**: 139-147.

GIRMAN CJ, EPSTEIN RS, JACOBSEN SJ, GUESS HA, PANSER LA, OESTERLING JE, LIEBER MM (1994). Natural history of prostatism: impact of urinary symptoms on quality of life in 2115 randomly selected community men. *Urology*, **44(6)**: 825-831.

GIRMAN, CJ, JACOBSEN SJ, GUESS HA, OESTERLING JE, CHUTE CG, PANSER LA, LIEBER MM (1995). Natural history of prostatism: relationship among symptoms, prostate volume and peak urinary flow rate. *J Urol*, **153(5)**: 1510-1515.

GIRMAN CJ, JACOBSEN SJ, RHODES T, GUESS HA, ROBERTS RO, LIEBER MM (1999). Association of health-related quality of life and benign prostatic enlargement. *Eur Urol*, **35(4)**: 277-284.

GRADINI R, REALACCI M, GINEPRI A, NASO G, SANTANGELO C, CELA O, SALE P, BERARDI A, PETRANGELI E, GALLUCCI M, DI SILVERIO F, RUSSO MA (1999). Nitric oxide synthases in normal and benign hyperplastic human prostate: immunohistochemistry and molecular biology. *J Pathol*, **189(2)**: 224-229.

GREENLAND JE, BRADING AF (1996). Urinary bladder blood flow changes during the micturition cycle in a conscious pig model. *J Urol*, **156(5)**: 1858-1861.

GREENLAND JE, HVISTENDAHL JJ, ANDERSEN H, JORGENSEN TM, MCMURRAY G, CORTINA-BORJA M, BRADING AF, FROKIAER J (2000). The effect of bladder outlet obstruction on tissue oxygen tension and blood flow in the pig bladder. *BJU Int*, **85(9)**: 1109-1114.

GREENLAND JE, BRADING AF (2001). The effect of bladder outflow obstruction on detrusor blood flow changes during the voiding cycle in conscious pigs. *J Urol*, **165(1)**: 245-248.

GRELL M, DOUNI E, WAJANT H, LOHDEN M, CLAUSS M, MAXEINER B, GEORGOPOULOS S, LESSLAUER W, KOLLIAS G, PFIZENMAIER K, SCHEURICH P (1995). The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell*, **83(5)**: 793-802.

GRIFFITHS K (1996). *Molecular control of prostate growth*. In: KIRBY R, MCCONNELL J, FITZPATRICK JM, ROEHRBORN CG, BOYLE P (eds). Textbook of Benign Prostatic Hyperplasia. Isis Medical Media: Oxford, p.: 23–56.

GUVEN A, KALORIN C, ONAL B, WHITBECK C, CHICHESTER P, KOGAN BA, LEVIN RM, MANNIKAROTTU A (2007). Novel biomarkers of bladder decompensation after partial bladder obstruction. *Neurourol Urodyn*, **26(7)**: 1036-1042.

HANDISURYA A, STEINER GE, STIX U, ECKER RC, PFAFFENEDER-MANTAI S, LANGER D, KRAMER G, MEMARAN-DADGAR N,

- MARBERGER M (2001). Differential expression of interleukin-15, a pro-inflammatory cytokine and T-cell growth factor, and its receptor in human prostate. *Prostate*, **49(4)**: 251-262.
- HEDLUND P, EKSTROM P, LARSSON B, ALM P, ANDERSSON KE (1997). "Heme oxygenase and NO-synthase in the human prostate--relation to adrenergic, cholinergic and peptide-containing nerves." *J Auton Nerv Syst*, **63(3)**: 115-126.
- HEINRICH PC, BEHRMANN I, HAAN S, HERMANNNS HM, MULLER-NEWEN G, SCHAPER F (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J*, **374(Pt 1)**: 1-20.
- HIBBS JB, VAVRIN Z, TAINTOR RR (1987). L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. *J Immunol*, **138(2)**: 550-565.
- HICKLING DR, SUN TT, WU XR (2015). Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. *Microbiol Spectr*, **3(4)**.
- HISCOTT J, MAROIS J, GAROUFALIS J, D'ADDARIO M, ROULSTON A, KWAN I, PEPIN N, LACOSTE J, NGUYEN H, BENSI G, FENTON M (1993). Characterization of a functional NF-kappa B site in the human interleukin 1 beta promoter: evidence for a positive autoregulatory loop. *Mol Cell Biol*, **13(10)**: 6231-6240.
- HO CK, HABIB FK (2011). Estrogen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. *Nat Rev Urol*, **8(1)**: 29-41.

IGUCHI N, HOU A, KOUL HK, WILCOX DT (2014). Partial bladder outlet obstruction in mice may cause E-cadherin repression through hypoxia induced pathway. *J Urol*, **192(3)**: 964-972.

IMAMURA M, KANEMATSU A, YAMAMOTO S, KIMURA Y, KANATANI I, ITO N, TABATA Y, OGAWA O (2007). Basic fibroblast growth factor modulates proliferation and collagen expression in urinary bladder smooth muscle cells. *Am J Physiol Renal Physiol*, **293(4)**: F1007-1017.

INOUE H, TANABE T (1998). Transcriptional role of the nuclear factor kappa B site in the induction by lipopolysaccharide and suppression by dexamethasone of cyclooxygenase-2 in U937 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **244(1)**: 143-148.

ISAACS JT, COFFEY DS (1989). Etiology and disease process of benign prostatic hyperplasia. *Prostate Suppl*, **2**: 33-50.

ISHII T, ITOH K, TAKAHASHI S, SATO H, YANAGAWA T, KATOH Y, BANNAI S, YAMAMOTO M (2000). Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J Biol Chem*, **275(21)**: 16023-16029.

ITOH K, CHIBA T, TAKAHASHI S, ISHII T, IGARASHI K, KATOH Y, OYAKE T, HAYASHI N, SATOH K, HATAYAMA I, YAMAMOTO M, NABESHIMA Y (1997). An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun*, **236(2)**: 313-322.

JACOBSEN SJ, GIRMAN CJ, GUESS HA, OESTERLING JE, LIEBER MM (1995). New diagnostic and treatment guidelines for benign prostatic

hyperplasia. Potential impact in the United States. *Arch Intern Med*, **155(5)**: 477-481.

JIANG H, HAN DS, YUK SM (2013). Changes of neuregulin-1 (NRG-1) expression in a rat model of overactive bladder induced by partial urethral obstruction: is NRG-1 a new biomarker of overactive bladder? *BMC Urol*, **13**: 54.

JIANG X, CHEN Y, ZHU H, WANG B, QU P, CHEN R, SUN X (2015). Sodium Tanshinone IIA Sulfonate ameliorates bladder fibrosis in a rat model of partial bladder outlet obstruction by inhibiting the TGF-beta/Smad pathway activation. *PLoS One*, **10(6)**: e0129655.

JUAN YS, LIN WY, KALORIN C, KOGAN BA, LEVIN RM, MANNIKAROTTU A (2007). The effect of partial bladder outlet obstruction on carbonyl and nitrotyrosine distribution in rabbit bladder. *Urology*, **70(6)**: 1249-1253.

KAKEHI Y, EGAWAT S, WU XX, KULKARNI P, DHIR R, GETZENBERG RH (2004). Down-regulation of macrophage inhibitory cytokine-1/prostate derived factor in benign prostatic hyperplasia. *Prostate*, **59(4)**: 351-356.

KANG YJ, JIN LH, PARK CS, SHIN HY, YOON SM, LEE T (2011). Early sequential changes in bladder function after partial bladder outlet obstruction in awake sprague-dawley rats: focus on the decompensated bladder. *Korean J Urol*, **52(12)**: 835-841.

KANNO Y, MITSUI T, KITTA T, MORIYA K, TSUKIYAMA T, HATAKEYAMA S, NONOMURA K (2015). The inflammatory cytokine IL-1beta is involved in bladder remodeling after bladder outlet obstruction in mice. *Neurourol Urodyn*, **35(3)**: 377-81

- KAWAI YM, OKA R, YOSHINAGA C, FUCHIKAMI, OYAMA T (2016). Effects of the phosphodiesterase 5 inhibitor Tadalafil on bladder function in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Neurourol Urodyn*, **35(4)**: 444-449.
- KEFI A, KOSEOGLU H, CELEBI I, YORUKOGLU K, ESEN A (2006). Relation between acute urinary retention, chronic prostatic inflammation and accompanying elevated prostate-specific antigen. *Scand J Urol Nephrol*, **40(2)**: 155-160.
- KHAN MA, THOMPSON CS, ANGELINI GD, MORGAN RJ, MIKHAILIDIS DP, JEREMY JY (1999). Prostaglandins and cyclic nucleotides in the urinary bladder of a rabbit model of partial bladder outlet obstruction. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, **61(5)**: 307-314.
- KIKUNO N, KAWAMOTO K, HIRATA H, VEJDANI K, KAWAKAMI K, FANDEL T, NUNES L, URAKAMI S, SHIINA H, IGAWA M, TANAGHO E, DAHIYA R (2009). Nerve growth factor combined with vascular endothelial growth factor enhances regeneration of bladder acellular matrix graft in spinal cord injury-induced neurogenic rat bladder. *BJU Int*, **103(10)**: 1424-1428.
- KIM HJ, VAZIRI ND (2010). Contribution of impaired Nrf2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*, **298(3)**:F662-71.
- KIM JC, YOON JY, SEO SI, HWANG TK, PARK YH (2000). Effects of partial bladder outlet obstruction and its relief on types I and III collagen and detrusor contractility in the rat. *Neurourol Urodyn*, **19(1)**: 29-42.
- KISHIMOTO T, AKIRA S, TAGA T (1992). IL-6 receptor and mechanism of signal transduction. *Int J Immunopharmacol*, **14(3)**: 431-438.

- KOBAYASHI M, YAMAMOTO M (2005). Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal*, **7(3-4)**: 385-394.
- KOHNEN PW, DRACH GW (1979). Patterns of inflammation in prostatic hyperplasia: a histologic and bacteriologic study. *J Urol*, **121(6)**: 755-760.
- KOMNINOS C, MITSOGIANNIS I (2014). Obstruction-induced alterations within the urinary bladder and their role in the pathophysiology of lower urinary tract symptomatology. *Can Urol Assoc J*, **8(7-8)**: E524-530.
- KORITSIADIS G, STRAVODIMOS K, KOUTALELLIS G, AGROGIANNIS G, KORITSIADIS S, LAZARIS A, CONSTANTINIDES C (2008). Immunohistochemical estimation of hypoxia in human obstructed bladder and correlation with clinical variables. *BJU Int*, **102(3)**: 328-332.
- KOTLYAR E, VITA JA, WINTER MR, AWTRY EH, SIWIK DA, KEANEY JF, SAWYER DB, CUPPLES LA, COLUCCI WS, SAM F (2006). The relationship between aldosterone, oxidative stress, and inflammation in chronic, stable human heart failure. *J Card Fail*, **12(2)**: 122-127.
- KRAMER G, STEINER GE, HANDISURYA A, STIX U, HAITEL A, KNERER B, GESSL A, LEE C, MARBERGER M (2002). Increased expression of lymphocyte-derived cytokines in benign hyperplastic prostate tissue, identification of the producing cell types, and effect of differentially expressed cytokines on stromal cell proliferation. *Prostate*, **52(1)**: 43-58.
- KRAMER G, MITTEREGGER D, MARBERGER M (2007). Is benign prostatic hyperplasia (BPH) an immune inflammatory disease? *Eur Urol*, **51(5)**: 1202-1216.

- KRIEGLER M, PEREZ C, DEFAY K, ALBERT I, LU SD (1988). A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*, **53(1)**: 45-53.
- KULLISAAR T, TURK S, PUNAB M, MANDAR R (2012). Oxidative stress--cause or consequence of male genital tract disorders? *Prostate*, **72(9)**: 977-983.
- LAU KM, LASPINA M, LONG J, HO SM (2000). Expression of estrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta in normal and malignant prostatic epithelial cells: regulation by methylation and involvement in growth regulation. *Cancer Res*, **60(12)**: 3175-3182.
- LEE, KL, PEEHL DM (2004). Molecular and cellular pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, **172(5 Pt 1)**: 1784-1791.
- LEMACK GE, SZABO Z, URBAN Z, BOYD CD, CSISZAR K, VAUGHAN ED, FELSEN D (1999). Altered bladder function in transgenic mice expressing rat elastin. *Neurourol Urodyn*, **18(1)**: 55-68.
- LEONG KG, KARSAN A (2000). Signaling pathways mediated by tumor necrosis factor alpha. *Histol Histopathol*, **15(4)**: 1303-1325.
- LEPOR H (1989). Nonoperative management of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* **141(6)**: 1283-1289.
- LEPOR H (2005). Pathophysiology of benign prostatic hyperplasia in the aging male population. *Rev Urol*, **7 Suppl 4**: S3-S12.
- LEVIN R, CHICHESTER P, LEVIN S, BUTTYAN R (2004). Role of angiogenesis in bladder response to partial outlet obstruction. *Scand J Urol Nephrol*, **Suppl(215)**: 37-47.

- LEVIN RM, LONGHURST PA, MONSON FC, KATO K, WEIN AJ (1990). Effect of bladder outlet obstruction on the morphology, physiology, and pharmacology of the bladder. *Prostate*, **Suppl 3**: 9-26.
- LEVIN RM, MONSON FC, HAUGAARD N, BUTTYAN R, HUDSON A, ROELOFS M, SARTORE S, WEIN AJ (1995). Genetic and cellular characteristics of bladder outlet obstruction. *Urol Clin North Am*, **22(2)**: 263-283.
- LEVIN RM, LEVIN SS, ZHAO Y, BUTTYAN R (1997). Cellular and molecular aspects of bladder hypertrophy. *Eur Urol*, **32 Suppl 1**: 15-21.
- LEVIN RM, ENGLISH M, BARRETTO M, DUBUC M, O'CONNOR L, LEGGETT R, WHITBECK C (2000a). Normal detrusor is more sensitive than hypertrophied detrusor to in vitro ischemia followed by re-oxygenation. *Neurourol Urodyn*, **19(6)**: 701-712.
- LEVIN RM, HAUGAARD N, O'CONNOR L, BUTTYAN R, DAS A, DIXON JS, GOSLIN JA (2000b). Obstructive response of human bladder to BPH vs. rabbit bladder response to partial outlet obstruction: a direct comparison. *Neurourol Urodyn*, **19(5)**: 609-629.
- LEVIN RM, O'CONNOR LJ, LEGGETT RE, WHITBECK C, CHICHESTER P (2003). Focal hypoxia of the obstructed rabbit bladder wall correlates with intermediate decompensation. *Neurourol Urodyn*, **22(2)**: 156-163.
- LEVIN RM, LEGGETT RE, WHITBECK C, MURAKAMI T, KAMBARA T, AIKAWA K (2004). Oral Kohki Tea and its protective effect against in vitro ischemic damage to the bladder. *Neurourol Urodyn*, **23(4)**: 355-360.

- LIN AT, CHEN MT, YANG CH, CHANG LS (1995). Blood flow of the urinary bladder: effects of outlet obstruction and correlation with bioenergetic metabolism. *Neurol Urodyn*, **14(3)**: 285-292.
- LIN VK, WANG SY, VAZQUEZ DV, ZHANG S, TANG L (2007). Prostatic stromal cells derived from benign prostatic hyperplasia specimens possess stem cell like property. *Prostate*, **67(12)**: 1265-1276.
- LIN WY, GUVEN A, JUAN YS, NEUMAN P, WHITBECK C, CHICHESTER P, KOGAN B, LEVIN RM, MANNIKAROTTU A (2008). Free radical damage as a biomarker of bladder dysfunction after partial outlet obstruction and reversal. *BJU Int*, **101(5)**: 621-626.
- LIN WY, CHANG PJ, LIN YP, WU SB, CHEN CS, LEVIN RM, WEI YH (2012). Increased penile expression of transforming growth factor and elevated systemic oxidative stress in rabbits with chronic partial bladder outlet obstruction. *Int J Androl*, **35(1)**: 79-85.
- LIN WY, WU SB, LIN YP, CHANG PJ, LEVIN RM, WEI YH (2012). Reversing bladder outlet obstruction attenuates systemic and tissue oxidative stress. *BJU Int*, **110(8)**: 1208-1213.
- LIN WY, HSIEH CC, YANG TY, CHEN ML, HUANG LY, LIN YP, CHANG PJ, LEVIN RM, WEI YH (2014). Transient increase in circulating myeloid-derived suppressor cells after partial bladder outlet obstruction. *J Urol*, **192(5)**: 1569-1573.
- LIU C, XU H, FU S, CHEN Y, CHEN Q, CAI Z, ZHOU J, WANG Z (2016). Sulforaphane ameliorates bladder dysfunction through activation of the Nrf2-ARE pathway in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Oxid Med Cell Longev*, **2016**: 7598294.

- LIU F, YAO L, YUAN J, LIU H, YANG X, QIN W, WU G, YANG L, WANG H, TAKAHASHI N, YAMAGUCHI O (2009). Protective effects of inosine on urinary bladder function in rats with partial bladder outlet obstruction. *Urology*, **73(6)**: 1417-1422.
- LIU GH, QU J, SHEN X (2008). NF-kappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK. *Biochim Biophys Acta*, **1783(5)**: 713-727.
- LOCKSLEY RM, KILLEEN N, LENARDO MJ (2001). The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*, **104(4)**: 487-501.
- LUCIA MS, LAMBERT JR (2008). Growth factors in benign prostatic hyperplasia: basic science implications. *Curr Urol Rep*, **9(4)**: 272-278.
- LUM H, ROEBUCK KA (2001). Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol*, **280(4)**:C719-41.
- MACARAK EJ, HOWARD PS (1999). The role of collagen in bladder filling. *Adv Exp Med Biol*, **462**: 215-223; discussion 225-233.
- MALMGREN A, SJOGREN C, UVELIUS B, MATTIASSON A, ANDERSSON KE, ANDERSSON PO (1987). Cystometrical evaluation of bladder instability in rats with infravesical outflow obstruction. *J Urol*, **137(6)**: 1291-1294.
- MARTINI FH, TIMMONS MJ, TALLITSCH RB. (2012). *Human Anatomy*. 7th Ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings
- MASUDA H, KIHARA K, SAITO K, MATSUOKA Y, YOSHIDA S, CHANCELLOR MB, DE GROAT WC, YOSHIMURA N (2008). Reactive

oxygen species mediate detrusor overactivity via sensitization of afferent pathway in the bladder of anaesthetized rats. *BJU Int*, **101(6)**: 775-780.

MATSUMOTO S, HANAI T, YOSHIOKA N, SHIMIZU N, SUGIYAMA T, UEMURA H, LEVIN RM (2005). Edaravone protects against ischemia/reperfusion-induced functional and biochemical changes in rat urinary bladder. *Urology*, **66(4)**: 892-896.

MATSUMOTO S, HANAI T, MATSUI T, OKA M, TANAKA M, UEMURA H (2010). Eviprostat suppresses urinary oxidative stress in a rabbit model of partial bladder outlet obstruction and in patients with benign prostatic hyperplasia. *Phytother Res*, **24(2)**: 301-303.

MCCONNELL JD (1995). Prostatic growth: new insights into hormonal regulation. *Br J Urol*, **76 Suppl 1**: 5-10.

MCNEAL J (1990). Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *Urol Clin North Am*, **17(3)**: 477-486.

MCNEAL JE (1978). Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol*, **15(4)**: 340-345.

MCVARY KT (2006). BPH: epidemiology and comorbidities. *Am J Manag Care* **12(5 Suppl)**: S122-128.

MERENDINO RA, SALVO F, SAIJA A, PASQUALE G, DI, TOMAINO A, MINCIULLO PL, FRACCICA G, GANGEMI S (2003). Malondialdehyde in benign prostate hypertrophy: a useful marker? *Mediators Inflamm*, **12(2)**: 127-128.

- MERVAALA EM, MULLER DN, PARK JK, SCHMIDT F, LOHN M, BREU V, DRAGUN D, GANTEN D, HALLER H, LUFT FC (1999). Monocyte infiltration and adhesion molecules in a rat model of high human renin hypertension. *Hypertension*, **33(1 Pt 2)**: 389-395.
- METCALFE PD, WANG J, JIAO H, HUANG Y, HORI K, MOORE RB, TREDGET EE (2010). Bladder outlet obstruction: progression from inflammation to fibrosis. *BJU Int*, **106(11)**: 1686-1694.
- MINCIULLO PL, INFERRERA A, NAVARRA M, CALAPAI G, MAGNO C, GANGEMI S (2015). Oxidative stress in benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *Urol Int*, **94(3)**: 249-254.
- MIRONE V, IMBIMBO C, LONGO N, FUSCO F (2007). The detrusor muscle: an innocent victim of bladder outlet obstruction. *Eur Urol* **51(1)**: 57-66.
- MORITA T, TSUJII T, DOKITA S (1992). Regional difference in functional roles of cAMP and cGMP in lower urinary tract smooth muscle contractility. *Urol Int*, **49(4)**: 191-195.
- MYERS JB, DALL'ERA JE, KOUL S, KUMAR B, KHANDRIKA L, FLYNN BJ, KOUL HK (2009). Biochemical alterations in partial bladder outlet obstruction in mice: up-regulation of the mitogen activated protein kinase pathway. *J Urol*, **181(4)**: 1926-1931.
- NICKEL JC (1994). Prostatic inflammation in benign prostatic hyperplasia - the third component? *Can J Urol*, **1(1)**: 1-4.
- NITTI VW, KIM Y, COMBS AJ (1994). Correlation of the AUA symptom index with urodynamics in patients with suspected benign prostatic hyperplasia. *Neurourol Urodyn*, **13(5)**: 521-527; discussion 527-529.

NOMIYA M, SAGAWA K, YAZAKI J, TAKAHASHI N, KUSHIDA N, HAGA N, AIKAWA K, MATSUI T, OKA M, FUKUI T, ANDERSSON KE, YAMAGUCHI O (2012). Increased bladder activity is associated with elevated oxidative stress markers and proinflammatory cytokines in a rat model of atherosclerosis-induced chronic bladder ischemia. *Neurourol Urodyn*, **31(1)**: 185-189.

NOMIYA M, YAMAGUCHI O, ANDERSSON KE, SAGAWA K, AIKAWA K, SHISHIDO K, YANAGIDA T, KUSHIDA N, YAZAKI J, TAKAHASHI N (2012). The effect of atherosclerosis-induced chronic bladder ischemia on bladder function in the rat. *Neurourol Urodyn*, **31(1)**: 195-200.

NOVARA G, GALFANO A, FICARRA V, ARTIBANI W (2006). Anticholinergic drugs in patients with bladder outlet obstruction and lower urinary tract symptoms: A systematic review. *Eur Urol*, **50(4)**: 675-683.

O'CONNOR LT, VAUGHAN ED, FELSEN D (1997). In vivo cystometric evaluation of progressive bladder outlet obstruction in rats. *J Urol*, **158(2)**: 631-635.

OKA M, FUKUI T, UEDA M, TAGAYA M, OYAMA T, TANAKA M (2009). Suppression of bladder oxidative stress and inflammation by a phytotherapeutic agent in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *J Urol*, **182(1)**: 382-390.

OKUTSU H, MATSUMOTO S, HANAI T, NOGUCHI Y, FUJIYASU N, OHTAKE A, SUZUKI M, SATO S, SASAMATA M, UEMURA H, KURITA T (2010). Effects of tamsulosin on bladder blood flow and bladder function in rats with bladder outlet obstruction. *Urology*, **75(1)**: 235-240.

- ONUR R, TASDEMIR C, SECKIN D, ILHAN N, KUTLU S, AKPOLAT N (2008). Combined use of melatonin and terazosin restores bladder contractility in rabbits with partial outlet obstruction. *Urology*, **72(2)**: 439-443.
- PAHL HL (1999). Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene*, **18(49)**: 6853-6866.
- PALAPATTU GS, SUTCLIFFE S, BASTIAN PJ, PLATZ EA, DE MARZO AM, ISAACS WB, NELSON WG (2005). Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. *Carcinogenesis*, **26(7)**: 1170-1181.
- PAREKH MH, LOBEL R, O'CONNOR LJ, LEGGETT RE, LEVIN RM (2001). Protective effect of vitamin E on the response of the rabbit bladder to partial outlet obstruction. *J Urol*, **166(1)**: 341-346.
- PARK JM, YANG T, AREND LJ, SMART AM, SCHNERMANN JB, BRIGGS JP (1997). Cyclooxygenase-2 is expressed in bladder during fetal development and stimulated by outlet obstruction. *Am J Physiol*, **273(4 Pt 2)**: F538-544.
- PARK JM, YANG T, AREND LJ, SCHNERMANN JB, PETERS CA, FREEMAN MR, BRIGGS JP (1999). Obstruction stimulates COX-2 expression in bladder smooth muscle cells via increased mechanical stretch. *Am J Physiol*, **276(1 Pt 2)**: F129-136.
- PARK JM (2007). *Normal Development of the Urogenital System*. Wein AJ (eds): Campbell-Walsh Urology, 9th Ed. **4**: p.: 3121-48.
- PARSONS BA, DRAKE MJ (2011). Animal models in overactive bladder research. *Handb Exp Pharmacol*, **(202)**: 15-43.

- PATEL ND, PARSONS JK (2014). Epidemiology and etiology of benign prostatic hyperplasia and bladder outlet obstruction. *Indian J Urol*, **30(2)**: 170-176.
- PERSSON K, ALM P, JOHANSSON K, LARSSON B, ANDERSSON KE (1995). Co-existence of nitrergic, peptidergic and acetylcholine esterase-positive nerves in the pig lower urinary tract. *J Auton Nerv Syst*, **52(2-3)**: 225-236.
- PERSSON K, DEAN-MCKINNEY T, STEERS WD, TUTTLE JB (2001). Activation of the transcription factors nuclear factor-kappaB and activator protein-1 in bladder smooth muscle exposed to outlet obstruction and mechanical stretching. *J Urol*, **165(2)**: 633-639.
- PETERS CA, WALSH PC (1987). The effect of nafarelin acetate, a luteinizing-hormone-releasing hormone agonist, on benign prostatic hyperplasia. *N Engl J Med*, **317(10)**: 599-604.
- PINGGERA GM, MITTERBERGER M, PALLWEIN L, SCHUSTER A, HERWIG R, FRAUSCHER F, BARTSCH G, STRASSER H (2008a). Alpha-blockers improve chronic ischaemia of the lower urinary tract in patients with lower urinary tract symptoms. *BJU Int*, **101(3)**: 319-324.
- PINGGERA GM, MITTERBERGER M, STEINER E, PALLWEIN L, FRAUSCHER F, AIGNER F, BARTSCH G, STRASSER H (2008b). Association of lower urinary tract symptoms and chronic ischaemia of the lower urinary tract in elderly women and men: assessment using colour Doppler ultrasonography. *BJU Int*, **102(4)**: 470-474.
- RAHNAMA'I MS, UCKERT S, HOHNEN R, VAN KOEVERINGE GA (2013). The role of phosphodiesterases in bladder pathophysiology. *Nat Rev Urol*, **10(7)**: 414-424.

- REITZ A, MUNTENER M, HAFERKAMP A, HOHENFELLNER M, SCHURCH B (2005). Targeting bladder outlet obstruction from benign prostatic enlargement via the nitric oxide/cGMP pathway? *BJU Int*, **96(3)**: 250-253.
- RICE NR, ERNST MK (1993). In vivo control of NF-kappa B activation by I kappa B alpha. *EMBO J*, **12(12)**: 4685-4695.
- RICHARD DE, BERRA E, POUYSSEGUR J (2000). Nonhypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1alpha in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, **275(35)**: 26765-26771.
- ROBERTS RO, JACOBSEN SJ, JACOBSON DJ, RHODES T, GIRMAN CJ, LIEBER MM (2000). Longitudinal changes in peak urinary flow rates in a community based cohort. *J Urol*, **163(1)**: 107-113.
- ROEHRBORN CG (2008). Pathology of benign prostatic hyperplasia. *Int J Impot Res*, **20 Suppl 3**: S11-18.
- ROSEN RC, GIULIANO F, CARSON CC (2005). Sexual dysfunction and lower urinary tract symptoms (LUTS) associated with benign prostatic hyperplasia (BPH). *Eur Urol*, **47(6)**: 824-837.
- ROYUELA M, RICOTE M, PARSONS MS, GARCIA-TUNON I, PANIAGUA R, DE MIGUEL MP (2004). Immunohistochemical analysis of the IL-6 family of cytokines and their receptors in benign, hyperplastic, and malignant human prostate. *J Pathol*, **202(1)**: 41-49.
- SAITO, M, WEIN AJ, LEVIN RM (1993). Effect of partial outlet obstruction on contractility: comparison between severe and mild obstruction. *Neurourol Urodyn*, **12(6)**: 573-583.

- SAMPSON N, MADERSBACHER S, BERGER P (2008). Pathophysiology and therapy of benign prostatic hyperplasia. *Wien Klin Wochenschr*, **120(13-14)**: 390-401.
- SANO H, MITSUI T, KANNO Y, MORIYA K, TANAKA H, KITTA T, NONOMURA K (2012). Stromal cell-derived factor 1 alpha induces accumulation of intravenously administered marrow-derived stromal cells in the partially obstructed rat bladder. *Low Urin Tract Symptoms*, **4(3)**: 154-160.
- SCHEEPE JR, AMELINK A, DE JONG BW, WOLFFENBUTTEL KP, KOK DJ (2011). Changes in bladder wall blood oxygen saturation in the overactive obstructed bladder. *J Urol*, **186(3)**: 1128-1133.
- SCHOFIELD CJ, RATCLIFFE PJ (2004). Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **5(5)**: 343-354.
- SCHRODER A, COLLI E, MAGGI M, ANDERSSON KE (2006). Effects of a vitamin D(3) analogue in a rat model of bladder outlet obstruction. *BJU Int*, **98(3)**: 637-642.
- SCIARRA A, DI SILVERIO F, SALCICCIA S, AUTRAN GOMEZ AM, GENTILUCCI A, GENTILE V (2007). Inflammation and chronic prostatic diseases: evidence for a link? *Eur Urol*, **52(4)**: 964-972.
- SEDDON M, LOOI YH, SHAH AM (2007). Oxidative stress and redox signalling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Heart*, **93(8)**: 903-907.
- SEKINE H, MIMURA J, YAMAMOTO M, FUJII-KURIYAMA Y (2006). Unique and overlapping transcriptional roles of arylhydrocarbon receptor nuclear translocator (Arnt) and ARNT2 in xenobiotic and hypoxic responses. *J Biol Chem*, **281(49)**: 37507-37516.

- SHAKHOV AN, COLLART MA, VASSALLP I, NEDOSPASOV SA, JONGENEEL CV (1990). Kappa B-type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha gene in primary macrophages. *J Exp Med*, **171(1)**: 35-47.
- SHARIAT SF, ASHFAQ R, ROEHRBORN CG, SLAWIN KM, LOTAN Y (2005). Expression of survivin and apoptotic biomarkers in benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, **174(5)**: 2046-2050.
- SHIER D, BUTLER J, LEWIS R (1998). *Hole's Essentials of Human Anatomy and Physiology*. WCB McGraw-Hill, 6th Ed.
- SHIMODA LA (2012). 55th Bowditch Lecture: Effects of chronic hypoxia on the pulmonary circulation: role of HIF-1. *J Appl Physiol (1985)*, **113(9)**: 1343-1352.
- SIFLINGER-BIRNBOIM A, LEVIN RM, HASS MA (2008). Partial outlet obstruction of the rabbit urinary bladder induces selective protein oxidation." *Neurourol Urodyn*, **27(6)**: 532-539.
- SONG YS, LEE HJ, DOO SW, AN J, KIM SU (2013). Enhanced angiogenesis and relaxation of bladder as early response to bladder outlet obstruction. *Int J Urol*, **20(1)**: 116-122.
- ST SAUVER, JACOBSEN SJ (2008). Inflammatory mechanisms associated with prostatic inflammation and lower urinary tract symptoms. *Curr Prostate Rep*, **6(2)**: 67-73.
- STEERS WD, DE GROAT WC (1988). Effect of bladder outlet obstruction on micturition reflex pathways in the rat. *J Urol*, **140(4)**: 864-871.

- STEINER G, GESSL A, KRAMER G, SCHOLLHAMMER A, FORSTER O, MARBERGER M (1994). Phenotype and function of peripheral and prostatic lymphocytes in patients with benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, **151(2)**: 480-484.
- STEINER GE, NEWMAN ME, PAIKL D, STIX U, MEMARAN-DAGDA N, LEE C, MARBERGER MJ (2003). Expression and function of pro-inflammatory interleukin IL-17 and IL-17 receptor in normal, benign hyperplastic, and malignant prostate. *Prostate*, **56(3)**: 171-182.
- STEPHANY HA, STRAND DW, CHING CB, TANAKA ST, MILNE GL, CAJAIBA MM, THOMAS JC, POPE JCT, ADAMS MC, BROCK JW, HAYWARD SW, MATUSIK RJ, CLAYTON DB (2013). Chronic cyclic bladder over distention up-regulates hypoxia dependent pathways. *J Urol*, **190(4 Suppl)**: 1603-1609.
- STOTHERS L, LAHER I, CHRIST GT (2003). A review of the L-arginine - nitric oxide - guanylate cyclase pathway as a mediator of lower urinary tract physiology and symptoms. *Can J Urol*, **10(5)**: 1971-1980.
- SUGAR LM (2006). Inflammation and prostate cancer. *Can J Urol*, **13 Suppl 1**: 46-47.
- SUN SC, GANCHI PA, BALLARD DW, GREENE WC (1993). NF-kappa B controls expression of inhibitor I kappa B alpha: evidence for an inducible autoregulatory pathway. *Science*, **259(5103)**: 1912-1915.
- TAGAYA M, OKA M, UEDA M, TAKAGAKI K, TANAKA M, OHGI T, YANO J (2009). Eviprostat suppresses proinflammatory gene expression in the prostate of rats with partial bladder-outlet obstruction: a genome-wide DNA microarray analysis. *Cytokine*, **47(3)**:185-93.

- TAKEDA M, TANG R, SHAPIRO E, BURNETT AL, LEPOR H (1995). Effects of nitric oxide on human and canine prostates. *Urology*, **45(3)**: 440-446.
- TANAKA H, KAKIZAKI H, SHIBATA T, MITSUI T, KOYANAGI T (2003). Effect of preemptive treatment of capsaicin or resiniferatoxin on the development of pre-micturition contractions after partial urethral obstruction in the rat. *J Urol*, **170(3)**: 1022-1026.
- TANAKA ST, MARTINEZ-FERRER M, MAKARI JH, WILLS ML, THOMAS JC, ADAMS MC, BROCK JW, POPE JCT, BHOWMICK NA (2009). Recruitment of bone marrow derived cells to the bladder after bladder outlet obstruction. *J Urol*, **182(4 Suppl)**: 1769-1774.
- TANG P, HUNG MC, KLOSTERGAARD J (1996). Human pro-tumor necrosis factor is a homotrimer. *Biochemistry*, **35(25)**: 8216-8225.
- TARTAGLIA LA, AYRES TM, WONG GH, GOEDDEL DV (1993). A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell*, **74(5)**: 845-853.
- THEOBALD RJ (2003). Differing effects of N(G)-monomethyl L-arginine and 7-nitroindazole on detrusor activity. *Neurol Urodyn*, **22(1)**: 62-69.
- THEYER G, KRAMER G, ASSMANN I, SHERWOOD E, PREINFALK W, MARBERGER M, ZECHNER O, STEINER GE (1992). Phenotypic characterization of infiltrating leukocytes in benign prostatic hyperplasia. *Lab Invest*, **66(1)**: 96-107.
- TSURUSAKI T, AOKI D, KANETAKE H, INOUE S, MURAMATSU M, HISHIKAWA Y, KOJI T (2003). Zone-dependent expression of estrogen receptors alpha and beta in human benign prostatic hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, **88(3)**: 1333-1340.

- TUNCEL A, UZUN B, ERUYAR T, KARABULUT E, SECKIN S, ATAN A (2005). Do prostatic infarction, prostatic inflammation and prostate morphology play a role in acute urinary retention? *Eur Urol* **48(2)**: 277-283; discussion 283-274.
- UDENSI UK, TCHOUNWOU PB (2014). Dual effect of oxidative stress on leukemia cancer induction and treatment. *J Exp Clin Cancer Res*, **33**: 106.
- UNTERGASSER G, MADERSBACHER S, BERGER P (2005). Benign prostatic hyperplasia: age-related tissue-remodeling. *Exp Gerontol*, **40(3)**: 121-128.
- VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, MAZUR M, TELSER J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, **39(1)**: 44-84.
- WAKABAYASHI N, SLOCUM SL, SKOKO JJ, SHIN S, KENSLER TW (2010). When NRF2 talks, who's listening? *Antioxid Redox Signal*, **13(11)**: 1649-1663.
- WANG W, BERGH A, DAMBER JE (2004). Chronic inflammation in benign prostate hyperplasia is associated with focal upregulation of cyclooxygenase-2, Bcl-2, and cell proliferation in the glandular epithelium. *Prostate*, **61(1)**: 60-72.
- WARDYN JD, PONSFORD AH, SANDERSON CM (2015). Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF-kappaB response pathways. *Biochem Soc Trans*, **43(4)**: 621-626.
- WOO LL, TANAKA ST, ANUMANTHAN G, POPE JCT, THOMAS JC, ADAMS MC, BROCK JW, BHOWMICK NA (2011). Mesenchymal stem cell recruitment and improved bladder function after bladder outlet obstruction: preliminary data. *J Urol*, **185(3)**: 1132-1138.

- XIE JL, LIN MB, HOU Q (2015). Recent advances in the study of Nrf2 and inflammatory respiratory diseases *Yao Xue Xue Bao*, **50(9)**: 1080-1087.
- YAMAGUCHI O, AIKAWA K, SHISHIDO K, NOMIYA M (2009). Place of overactive bladder in male lower urinary tract symptoms. *World J Urol*, **27(6)**: 723-728.
- YAMAGUCHI O, NOMIYA M, ANDERSSON KE (2014). Functional consequences of chronic bladder ischemia. *Neurourol Urodyn*, **33(1)**: 54-58.
- YILDIRIM A, BASESKIOGLU B, TEMEL HE, ERKASAP N, YENILMEZ A, USLU S, OZER C, OZKURT M, DONMEZ T (2013). Effect of alaphalipoic acid and silymarin on bladder outlet obstruction. *Exp Ther Med*, **5(2)**: 596-602.
- YORIMITSU T, NAIR U, YANG Z, KLIONSKY DJ (2006). Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy. *J Biol Chem*, **281(40)**: 30299-30304.
- YUAN X, WU S, LIN T, HE D, LI X, LIU S, LI L, WEI G (2011). Role of nitric oxide synthase in bladder pathologic remodeling and dysfunction resulting from partial outlet obstruction. *Urology*, **77(4)**: 1008 e1001-1008.
- ZAVADIL J, BOTTINGER EP (2005). TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene*, **24(37)**: 5764-5774.
- ZHANG D, SUN L, XIAN W, LIU F, LING G, XIAO L, LIU Y, PENG Y, HARUNA Y, KANWAR YS (2010). Low-dose paclitaxel ameliorates renal fibrosis in rat UUO model by inhibition of TGF-beta/Smad activity. *Lab Invest*, **90(3)**: 436-447.
- ZHANG DD, HANNINK M (2003). Distinct cysteine residues in Keap1 are required for Keap1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by

chemopreventive agents and oxidative stress. *Mol Cell Biol*, **23(22)**: 8137-8151.

ZHANG X, SEFTEA L, DISANTO ME (2011). Blebbistatin, a myosin II inhibitor, as a novel strategy to regulate detrusor contractility in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *PLoS One*, **6(10)**: e25958.

ZHAO Y, LEVIN SS, WEIN AJ, LEVIN RM (1997). Correlation of ischemia/reperfusion or partial outlet obstruction-induced spectrin proteolysis by calpain with contractile dysfunction in rabbit bladder. *Urology*, **49(2)**: 293-300.

ZOJA C, BENIGNI A, REMUZZI G (2014). The Nrf2 pathway in the progression of renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, **29 Suppl 1**: i19-i24.

Üretranın yapısı, Erişim: [<https://www.prostatitis.org/strictures.html>]. Erişim Tarihi: 08-09-2016

BPH’da prostat ve mesane çıkımında oluşan morfolojik değişiklikler, Erişim: [<http://www.melbourneurology.net.au/patient-information/benign-prostate-enlargement-bph>]. Erişim Tarihi: 08-09-2016

TNF- α aracılı NF- κ B aktivasyonu, Erişim: [<http://www.slideserve.com/claudia/tumor-necrosis-factor-alpha-tnf-a-a-cytokine-protein-involved-in-inflammatory-and-immunologic-responses-by-mourad-ali>]. Erişim Tarihi: 08-09-2016

NF- κ B’nin klasik yolak ile aktivasyonu, Erişim: [<http://flipper.diff.org/app/items/5103>]. Erişim Tarihi: 08-09-2016

EKLER

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ : 08/04/2015
TOPLANTI NO : 2015-6
DOSYA NO : 2015-81
KARAR NO : 2015-6-112

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Serpil Nebioğlu'nun yaptığı ve araştırmacı olarak Ecem Kaya ve Dr.Alp Özgür Akdemir'in katıldığı "Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda İnflamasyon ve Oksidatif Stres Mekanizmaları" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 35
Geçerlilik Süresi : 01/05/2015-01/05/2017

ASLININ AYNIIDIR
08/04/2015



Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU
A.Ü. HADYЕК Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Ecem

Soyadı: Kaya

Doğum yeri ve tarihi: Bahçe / 01-01-1989

İletişim adresi: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

Tandoğan, Ankara

Tel: (0312) 2033054

e-mail: ecemkaya@ankara.edu.tr

II- Eğitimi

2012 : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora

2007-2012 : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Lisans

2003-2007 : Adana Anadolu Lisesi

Yabancı Dil : İngilizce

III- Ünvanları

2007 : Eczacı

IV- Mesleki Deneyimi

2013: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Biyokimya Derneği

VI-Bilimsel İlgi Alanları

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

- 1) Ozge Un, Yilmaz Didem, Nur Bayatli, Kaya Ecem, Gür Serap (2014). Arginine and tetrahydrobiopterin, but not sodium nitrite partially restored erectile dysfunction in aged rats. *The Aging Male*, 17(4), 248-255.
- 2) Kaya Ecem, Suresh C Sikka, Gür Serap (2015). A Comprehensive Review of Metabolic Syndrome Affecting Erectile Dysfunction. *The Journal of Sexual Medicine*, 12(4), 856-875.
- 3) Bastaskın Tugce, Kaya Ecem, Ozakca Isil, Yilmaz Didem, Bayatlı Nur, Akdemir Alp Ozgur, Gur Serap (2016). Effects of silodosin, a selective alpha-1A adrenoceptor antagonist, on erectile function in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Neurourology Urodynamics* (doi: 10.1002/nau.23015).
- 4) Ebru Onal, Didem Yilmaz, Ecem Kaya, Tugce Bastaskın, Nur Bayatlı ve Serap Gur (2016). Pomegranate juice causes a partial improvement through lowering oxidative stress for erectile dysfunction in streptozotocin-diabetic rat. *International Journal of Impotence Research* (doi: 10.1038/ijir.2016.34).

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve kongre kitaplarında özeti yayınlanan bildiriler:

1) Ecem Kaya, Filiz Bakar, Serpil Nebioglu (2014). The fatty acid composition of type 1 diabetic patients in Turkish population and its relation with glycosylated hemoglobin FEBS JOURNAL 281, 175-175

2) Ecem Kaya, Hatice Yildizhan, Serap Gur, Didem Yilmaz, Serpil Nebioglu, Duygu Ozel Demiralp. (2014). Preliminary Proteomic Data of Penile Tissue from the Neonatal Non-Insulin Dependent (Type 2) Diabetic Rats DIABETES 63, A578-A578

3) Yilmaz Didem, Gür Serap, Onal Ebru, Bastaskin Tugce, Kaya Ecem (2015). The treatment of pomegranate juice restored erectile dysfunction in diabetic rats. 12, 219

4) Gür Serap, Yilmaz Didem, Kaya Ecem (2015). The beneficial effect of intracavernosal fesoterodine (competitive muscarinic receptor antagonist) on erectile dysfunction of diabetic rats. proceedings of the 17th annual congress of the european society for sexual medicine, 12, 212

5) Gür Serap, Kaya Ecem, Tugce Bastaskin, Onal Ebru, Yilmaz Didem, Nur Bayatli (2014). Effects of a selective alpha-1a adrenoceptor antagonist, silodosin treatment on erectile dysfunction of rats with partial bladder outlet obstruction. 20th annual fall scientific meeting of SMSNA, 12, 108

VII- Bilimsel Etkinlikler

Projeleri:

Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Selektif alfa1-A Adrenoseptör Antagonist Silodosin Tedavisinin Erektile Disfonksiyon üzerine Etkisi (Tübitak 1002 Hızlı Destek projesi-114S068, Araştırmacı)

Yurtdışı Eğitim Faaliyetleri:

Florence University, Andrology Unit, Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences (İtalya) 31.08.2015-30.10.2015 (2 ay)

