

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENEN  
HEMORAJİK SİSTİTİSDE ELLAJİK ASİTİN KORUYUCU  
ETKİLERİNİN PATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

**Adile KANKAYA**

**VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİMDALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Hikmet KELEŞ**

**Bu Tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından 15. SAĞ. BİL. 04 proje numarası ile  
desteklenmiştir.**

**Tez-No: 2017-004**

**2017-AFYONKARAHİSAR**

**KABUL ve ONAY**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Patoloji Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki Jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 07/04/2017



Prof. Dr. Erkan KARADAŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

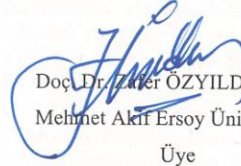
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Hikmet KELEŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye



Doç. Dr. Züker ÖZYILDIZ

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Üye

Veteriner Patoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Adile KANKAYA'nın "**Ratlarda Siklofosamid ile İndüklenen Hemorajik Sistitide Ellajik Asitin Koruyucu Etkilerinin Patolojik Olarak İncelenmesi**" başlıklı tezi ~~02.10.2017~~ günü saat ~~16:30~~'da, Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Mesane, üriner yolla atılan pek çok kimyasal için uğrak noktasıdır. Bu maddelerin ürotelyum ile teması, kısa süreli de olsa, hasara yol açabilmektedir. Ortaya çıkan hasar bazen iyi tolere edilebilirken bazı durumlarda mortaliteye uzanabilmektedir. Bu hasarlardan biri olan hemoraji toksin-enfeksiyöz nedenlere bağlı olabildiği gibi ilaçlara ve özellikle de anti-neoplastik ajanlara ilgili de olabilmektedir.

Siklofosamid neoplastik ve non-neoplastik olgularda yaygın kullanılan bir ajandır. Terapötik dozuna ilişkin parankim organ hasarları ve ayrıca mesane kanaması, doz sınırlamasına zorlamakta veya yan etkileri minimize edecek idame uygulamaları gerekli kılmaktadır. Bu amaçla en yaygın kullanılmakta olan Mesna ve diğer idame uygulamaların çoğu zaman yetersiz kaldığı ve kısa ve/veya uzun dönemde zararlı etkiler gösterdiği bilinmektedir.

Son yıllarda bu alandaki araştırmaların bitki ve bitki ekstraktlarına doğru kaydığı, bu tür çalışmalardan elde edilen sonuçların oksidan-antioksidan dengeye yönelik olduğu görülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda antioksidan özellikleri ortaya konmuş olan Ellajik asit tercih edilmiş ve umut verici sonuçlara ulaşılmıştır.

Yüksek Lisans tezi seçiminde beni yönlendiren, çalışmayı projelendiren, Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini aktaran, bilimsel ve akademik her konuda sabrı ve anlayışıyla desteklerini esirgemeyen çok değerli hocam Doç. Dr. Hikmet KELEŞ'e, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erkan KARADAŞ'a, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. M. Fatih BOZKURT'a, maddi katkı sağlayan Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşan Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. İbrahim KELEŞ'e, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. A. Fatih FİDAN'a ve Arş. Grv. Barış DENK ile Arş. Grv. Mürüvvet DÜZ'e, her zaman yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi, şükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL ve ONAY</b> .....	ii
<b>ÖNSÖZ</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER</b> .....	vii
<b>TABLolar</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Hemorajik Sistitisin Etiyolojisi ve Patogenezisi .....	1
1.2. Hemorajik Sistitisin Tipleri .....	2
1.2.1. Erken Başlayan Tip .....	2
1.2.2. Geç Başlayan Tip .....	4
1.3. Hemorajik Sistitisin Tanısı .....	5
1.4. Hemorajik Sistitiste Rutin Tedaviler .....	6
1.4.1. Mesna Uygulamaları .....	6
1.4.2. Hiperhidrasyon Uygulaması .....	7
1.4.3. Hiperhidrasyon ve Kombine Uygulamalar .....	8
1.4.4. Antiviral Ajanlar .....	8
1.4.5. Anti-Radioterapötik Ajanlar .....	8
1.4.6. Semptomatik Uygulamalar .....	9
1.4.7. İntravezikal Tedaviler .....	9
1.5. Hemorajik Sistitis ve Oksidatif Stres .....	10
1.5.1. Hemorajik Sistitiste Anti-Oksidatif Temelli Tedaviler .....	11
1.6. EllajikAsit .....	14
1.6.1. Ellajik Asit ile İlgili Genel Bilgiler .....	14
1.6.2. Ellajik Asit İçeren Ürünler .....	18
1.6.3. Ellajik Asitin Koruyucu Etkileri .....	21
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEMLER</b> .....	26
2.1. Gereç .....	26
2.1.1. Hayvan Materyali .....	26
2.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler .....	26
2.1.3. Kimyasal Maddeler ve Kitler .....	27

2.2. Yöntem.....	27
2.2.1. Deneme Gruplarının Oluşturulması .....	27
2.2.2. Örneklerin Toplanması .....	29
2.2.3. Makroskopik Yöntem .....	29
2.2.4. Histopatolojik Yöntem.....	29
2.2.5. Biyokimyasal Yöntem.....	30
2.2.6. İstatistiksel Yöntem.....	31
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>32</b>
3.1. Klinik Bulgular .....	32
3.2. Makroskopik Bulgular .....	32
3.3. Histopatolojik Bulgular.....	37
3.4. Biyokimyasal Bulgular .....	40
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>42</b>
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>48</b>
<b>ÖZET .....</b>	<b>49</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>50</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>51</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>64</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>4-HC</b>	: Hidroperoksisiklofosamid
<b>ABTS</b>	: 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotazolin-6-sulfonik asit)
<b>AFB1</b>	: Aflotoksin B1
<b>cGMP</b>	: Siklik Guanozin Monofosfat
<b>CP</b>	: Siklofosamid
<b>DPPH 2</b>	: 2-difenil-1-picrylhydrazyl
<b>EA</b>	: Ellajik Asit
<b>ET</b>	: Ellajitanin
<b>FeCL3</b>	: Demir-3-klorür
<b>GG</b>	: Gastrik Gavaj
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GS</b>	: Glutasyon Sentetaz
<b>H2O2</b>	: Hidrojen peroksit
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>HE</b>	: Hemotoksilen-Eozin
<b>HS</b>	: Hemorajik sistitis
<b>İF</b>	: İfosamid
<b>İP</b>	: İntraperitoneal
<b>LDL</b>	: Düşül dansiteli lipoprotein
<b>Mesna</b>	: 2-merkaptioethan sodyum sulfonat
<b>mg /kg</b>	: miligram /kilogram
<b>mol/L</b>	: mol/Litre
<b>MDA</b>	: Molandialdehit
<b>nm</b>	: nanometre
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksit Sentaz
<b>PJ</b>	: Punikalajin
<b>RNT</b>	: Reaktif Nitrojen Türevleri
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türevleri
<b>rpm</b>	: Dakikadaki dönüş sayısı
<b>SOD</b>	: Süper Oksit Dismutaz
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Kapasite
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Kapasite
<b>X <math>\pm</math> SD</b>	: Standart sapma
<b><math>\mu</math>g</b>	: mikrogram
<b><math>\mu</math>l</b>	: mikrolitre
<b><math>\mu</math>mol</b>	: mikromol

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil 1.</b> EA'in Yapısı.....	15
<b>Şekil 2.</b> Bağırsakta ET, EA, ve Urolitin Metabolizasyonu.....	18
<b>Şekil 3.</b> CP, Kontrol ve CP+Mesna gruplarındaki ratlarda mesane makroskobisi. ....	33
<b>Şekil 4.</b> CP+EA50, CP+EA75, CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki ratlarda mesane makroskobisi.....	35
<b>Şekil 5.</b> CP, Kontrol ve CP+Mesna gruplarındaki ratlarda mesane histolojisi.....	38
<b>Şekil 6.</b> CP+EA50, CP+EA75, CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki ratlarda mesane histolojisi.....	39
<b>Şekil 7.</b> Kontrol, CP+Mesna ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki ratlarda mesane histolojisi. ....	40

**TABLÖLAR**

<b>Tablo 1.</b> Hemorajik Sistitisin Nedenleri.....	2
<b>Tablo 2.</b> Bazı Bitki, Meyve ve Türevlerindeki EA Miktarları .....	20
<b>Tablo 3.</b> Çalışma Gruplarındaki Histopatolojik Parametreler .....	36
<b>Tablo 4.</b> Çalışma Gruplarındaki TAS ve TOS Düzeyleri.....	41



## 1. GİRİŞ

Hemorajik sistitis (HS), mesanenin kanamalı yangısı olup, canlı hastalık etkenlerinin yanı sıra ilaç, çevresel toksinler ve radyasyona maruziyet ile bazı sistemik durumlarda komplikasyon olarak ortaya çıkan ve mortalite potansiyelli semptomatik bir durumdur (Manikandan ve ark., 2010).

Mesane, idrar yoluyla atılan pek çok ilaç ve kimyasal madde için bir son organdır. Bu maddelerin yoğunlukları ve mesaneyle olan uzamış temasları mukozada akut ve/veya kronik hasarlara sebep olmaktadır. Bu hasar bazen direkt etki ile şekillenir. Ancak, kemoterapötik ilaçlardan Siklofosfamid (CP) ve İfosfamid (İF) gibi bazı alkile edici ajanlar mesane üzerine direkt etkili olmayıp metabolik ürünleri üzerinden HS'e yol açarlar (deVries ve Freiha, 1990).

Hemorajik sistitisin tedavisine yönelik çeşitli yöntemler olmasına rağmen ideal olan, risk faktörlerini önceden tanımlamak ve uygun profilaktik tedbirler ile HS oluşmadan önlem alabilmektir (Gemalmaz, 2007).

### 1.1. Hemorajik Sistitisin Etiyolojisi ve Patogenezisi

Hemorajik sistitis hematüri, dizüri, pollakiüri, suprapubik ağrı gibi semptomlarla ortaya çıkar (Gray ve ark., 1986). Klinik olarak çoğunlukla CP ve İF'in kullanıldığı kemoterapi uygulamalarını takiben gözlenir (deVries ve Freiha, 1990). Bakteriyel enfeksiyonları takiben gözlenen HS'in insidenside yüksek olup (Manikandan ve ark., 2010) profilaksi uygulanmayan hematopoetik kök hücre nakli olgularında %70 oranında HS bildirilmiştir (Atkinson ve ark., 2003). Hemorajik sistitis oluşturabilen oldukça fazla neden (Tablo 1) tespit edilmiş olup bu nedenlerin birçoğunda serbest radikallerin doğrudan veya dolaylı etkileri ortaya konmuştur (Kim ve ark., 2012).

**Tablo 1.** Hemorajik Sistitisin Nedenleri (Manikandan ve ark., 2010).

<b>İlaçlar</b>		Siklofosamid	Piperasilin
		İfosfamide	Danazol
		Busulphan	Tiaprofenik asit
		Thiotepa	Allopurinol
		Temozolamide	Qualone
		Trocampthecin	Methenaminemandelate
		Penisilintürevleri	Gentianviolet
		Metisilin	Tikarsilin
		Karbenisilin	Asetik asit
<b>Çevresel Toksinler</b>		Aniline boyaları	Klorodimeform
		Toluidine	Eter
<b>Radyasyon</b>		Meslekimaruziyet	Tedavi maruziyeti
<b>Enfeksiyöz etkenler</b>	<b>Viruslar</b>	Adenovirus	Sitomegalovirus
		BK polyomavirus	JC virüs
		Herpesvirus	
	<b>Bakteriler</b>	<i>Escherichiacoli</i>	<i>Proteusmirabilis</i>
	<i>Staphylococcussaprophyticus</i>	<i>Klebsiella</i>	
<b>Parazitler</b>	<i>Schistosomiasis</i>	<i>Echinococcosis</i>	
<b>Mantarlar</b>	<i>Candidaalbicans</i>	<i>Aspergillusfumigatus</i>	
	<i>Cryptococcusneoformans</i>	<i>Candida glabrata</i>	
<b>İmmun-Yangısal Hastalıklar</b>		Sistemik lupuseritematosis	Crohn hastalığı
		Romatoitartritis	Boon hastalığı

## 1.2. Hemorajik Sistitisin Tipleri

### 1.2.1. Erken Başlayan Tip

Daha çok kemoterapi ve radyoterapi ile ilişkili olan bu tipteki HS, özellikle yüksek doz CP ve İF uygulamalarını takiben ortaya çıkar. Genellikle CP ilişkili HS'in prognozu İF ilişkili vakalara göre daha kötü seyirlidir (Lima ve ark., 2007).

Siklofosamid, başta karaciğerde olmak üzere çok fonksiyonlu mikrozomal oksidaz enzim sistemleri ile aktif metabolitlerine biyotransforme edilir. Güçlü anti-neoplastik etkisini tümör hücre DNA'sına çapraz bağlanarak gösterir (Smith ve ark., 1997). Terapötik etkisinin yanı sıra toksik etkiye de sahip olan CP, aynı zamanda B ve T hücrelerini etkileyerek hücrel ve humoral bağışıklık sistemini de baskılar (Watson ve Notley 1973; Shepherd ve ark., 1991).

Tedavi amacıyla kullanıldığı hastalıkların başında akut ve/veya kronik lenfositik/myelositik lösemi ile ovaryum ve meme tümörleri bulunmaktadır. Ayrıca, immünolojik böbrek hastalıkları, bazı granümatöz hastalıklar ve bazı vaskülit tipleri ile klasik tedaviye dirençli romatoidartrit gibi non-neoplastik hastalıklarda da CP kullanılmaktadır (Levine ve Richie, 1989).

Yüksek dozlarda verildiğinde nadiren hipotiroidi, katarakt ve sarılığa yol açarken, çok yoğun dozlarda akut myokarditis ve perikarditise neden olabilmektedir. İlacın en önemli ve doz sınırlaması gerektiren yan etkileri kemik iliği süpresyonu (özellikle lökopeni) ve HS'dir (Kayaalp, 2017). Siklofosamid karaciğerin mikrozomal P-450 sistemi tarafından hidroksilasyonla hidroperoksi siklofosamid'e (4-HC) dönüştürülür. Bu metabolit dokularda önce aldofosamid, sonra da akrolein ve fosforamid mustard haline getirilir. Fosforamid mustard aktif anti-tümöral bir ajandır. Akrolein ise, üriner sistem epiteline toksik etkili bir üründür. Üriner sisteme geçtiğinde hemoraji, mukozada hiperemi, ülserasyon ve nekroz oluşturabilir. Temas süresi ile ilişkili olarak en fazla risk altında olan doku mesane mukoza epiteli olduğundan epitelin tümünün hasar görme olasılığı vardır (Cox, 1979). Mesane mukozasına makroskopik olarak bakıldığında duvarda ödem, hiperemi ve kanama odakları görülür (Cox, 1979).

Hemorajik sistitiste kanamanın görülmesi, çoğunlukla CP'nin yüksek doz intravenöz verilmesini takiben hemen ortaya çıkar ya da uzun süre düşük doz oral uygulamaya bağlı olarak aylar sonra görülebilir. Hemorajik sistit gelişme riskini etkileyen faktörler CP'nin sadece verilme yolu değil; verilme sıklığı, dozu ve metabolize edilme hızı olup, tüm bunların yanında hastanın hidrasyon durumu, çıkardığı idrar miktarı, idrara çıkma sıklığı ve ayrıca eş zamanlı başka toksik ajanlar ile radyasyon uygulanması sayılabilir (deVries ve Freiha, 1990).

Siklofosamid sülfidril, karboksil, amino grup ve fosfat gruplarına kovalent bağlanarak hücre fonksiyonlarını bozmaktadır. Bu bağlanmalar çoğunlukla DNA, RNA ve proteinler ile olmaktadır (Yagoda ve ark., 1972).

Şiddetli seyreden hatta ölümcül olabilen HS olguları CP ile tedavi edilen hastaların %2-40'ında ortaya çıkar. Bu etkisi metaboliti olan akrolein'in üroepitelyuma olan kimyasal iritan etkisinden kaynaklanmaktadır (Gray ve ark., 1986). Organizma için akrolein tehlikesi sadece CP kaynaklı olmayıp, yanmış organik malzemeler, sigara, böcek ilaçları vebazı yiyeceklerde bu konuda sorumlu olabilmektedir (Masuda ve ark., 2006). Siklofosfamid ile gelişen HS'de oluşan hasarda serbest radikaller de rol oynamaktadır (Uysal, 2009; Keles ve ark., 2012). Siklofosfamid TNF- $\alpha$  ve interleukin-1 $\beta$  salınımına da yol açarak Nitrik Oksit (NO) açığa çıkmasına sebep olur ve epitel hasarına serbest radikaller de katılır (Ribeiro ve ark., 2002). Ürotelyal hasarın bir göstergesi olarak Uroplakin 3 yapısının bozulduğu ve bu bölgelerde indüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (NOS) artışı bildirilmiştir (Keles ve ark., 2012).

### 1.2.2. Geç Başlayan Tip

Hemorajik sistitisin geç başlayan tipinin etiyolojisinde birden fazla etkenden bahsedilmektedir (Manikandan ve ark., 2010).

Radyasyona maruz kalan hastalarda HS görülme sıklığı artmakta ve erişkinlere kıyasla çocuklarda daha sık görülmektedir. Radyasyona maruziyetle ilişkili HS akut olarak görülebildiği gibi aylar veyahut yıllar sonra da ortaya çıkabilmektedir. Radyasyon etkisine bağlı mukozal hasar, buradaki arterlerin yangısı sonu sekonder gelişen hipoksik yüzey hasarına ilgili olup, damar hasarını takiben ülserasyon ve kanama ortaya çıkar (Corman ve ark., 2003).

Kemoterapi kullanımı ile infeksiyöz nedenler geç başlayan HS için tetikleyici faktör olabilir. Bakteri, mantar, parazit ve özellikle de virus enfeksiyonları immun yetersiz hastalarda sıklıkla HS komplikasyonuna neden olur. Bu konuda rapor edilmiş etkenlerden bazıları *Escherichia coli*, Adenoviruslar (tip 7, 11, 21ve 35), İnfluenza A ve Papovavirus etkenleridir (Gorczyńska ve ark., 2005). Komplike vakalarda erkeklerde Adenovirus, bayanlarda ise *E. Coli* daha sık izole edilmiştir

(Longhman-Adham ve ark., 1988). Salmonellozis olgularında, genellikle tifoid ateş sırasında idrarda sıkça bakteri saptanmasına rağmen sistitis oldukça azdır (Arad ve ark., 1996). Polioma viro-ürü'si olan bireylerde, viro-ürü olmayanlara göre 4 kat daha fazla HS geliştiği bildirilmiştir (Arthur ve ark., 1986). Transplantasyon, önceden geçirilmiş bir HS ve Graft-Versus Host hastalığında benzeri tipte HS oluşturabilir (Soysal, 2004). Amiloidozis, SLE, romatoid artrit, Crohn ve Boon hastalıkları gibi sistemik hastalıklarda da nadiren HS oluşabilir (Malek ve ark., 2002).

Penisilin ilişkili HS gelişen hastaların idrarında sıklıkla eozinofiliye rastlanmakta ve gelişen HS'in immun aracılı hipersensitivite reaksiyonu olduğu düşünülmektedir (Marx ve Alpert 1984; Nielsen ve Hornstrup 1997). Danazol (semisentetik bir anaboliksteroid) tedavisini takiben herediter anjio-ödemi olan hastalarda uzun bir süre sonra meydana gelen ve semptomsuz seyreden HS vakasında Danazolun kesilmesi ile hematüri gerilemiştir (Andriole ve ark., 1986). Enfeksiyon tespit edilmeyen bazı HS vakalarında mesleki maruziyet ilişkili ürotoksik ajanlar sorumlu tutulmuştur. Pestisitler ile her türlü boyada bulunan anilin ve toluidin ve ayrıca klorodimeform ve eter bu kimyasallar içinde yer alır (Manikandan ve ark., 2010). Bu maruziyet ayrıca transisyonel hücreli kanser riskini de beraberinde getirmektedir. Genellikle maruziyetin kesilmesi tedavinin temelini oluşturur (Crawford ve ark., 1997).

### **1.3. Hemorajik Sistitisin Tanısı**

Hematüri, dizüri, ani idrara çıkma hissi, idrara çıkma sıklığında artma gibi non-spesifik semptomların varlığı HS'i düşündüren başlıca klinik bulgulardır. Ayrıca idrar mikroskopisinde anormal hücre morfolojisi HS vakalarında fikir verici olabilmektedir (deVries ve Freiha, 1990). Mesane mukozasında kanama ve artmış ödeme bağlı suprapubik hassasiyet, üriner inkontinans ve ileri vakalarda gözlenen hematoglob (oluşan pıhtı retansiyonu ile idrar akımının engellenmesi) siktir (Levine ve Richie 1989).

Hemorajik sistit klinik açıdan 4 evrede incelenebilir. Bu evreler; (1): Mikroskobik hematüri, (2): Makroskobik hematüri, (3): Makroskobik hematüri ve küçük pıhtılar, (4): Masif makroskobik hematüri ve pıhtı (bu tür olgular da idrar retensiyonu mevcut olup pıhtı ve dolayısıyla idrarı boşaltmak için girişimlere gereksinim duyulur) olarak tanımlanmıştır (Droller ve ark., 1982).

Tanıda görüntüleme yöntemleri çok etkili olmasa da ultrasonografi ile mesane duvarında farklı derecelerde kalınlaşma, lumen içi kitle görüntüsü gibi izlenimler tanımlanmıştır (Soysal, 2004). Sistoskopiyle tanı doğrulanabilir. Oluşan hasarın şiddeti minör telenjiaktazik kanamadan diffüz nekrotik ülseresyona kadar değişebilir. Bulgular şiddetli olduğunda mesane kontraksiyonu, anemi, tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonları, hidronefroz, mesane perforasyonu, renal yetmezlik ve en sonunda da bu nedenlerden birine ya da bir kaçına bağlı ölüm ortaya çıkabilir (Droller ve ark., 1982).

#### **1.4. Hemorajik Sistitide Rutin Tedaviler**

Hafif şekilli HS bazen spontan veya çok basit girişimlerle düzelerken, şiddetli HS'in tedavisi zor olabilir. Bu nedenle öncelikli olarak profilaktik girişimleri ciddiye almakta yarar vardır (Soysal, 2004).

##### **1.4.1. Mesna Uygulamaları**

Siklofosfamid ilişkili HS'te Mesna kullanımına rağmen hastalarda mikroskobik ya da makroskobik hematüri, idrar yapma sıklığında artma gibi semptom ve bulgular görülmektedir (Gressier ve ark., 1995). Mesna (2-merkaptioethan sodyum sulfonat), bir sülfidril bileşiğidir ve akrolein toksisitesine karşı çok etkin bir koruyucudur. Serumda di-mesna halinde iken, idrara Mesna olarak geçer ve akroleine bağlanır. Oluşan inaktif thioether, toksik etki yapmaz. Mesna iyi tolere edilir ve kemoterapötik etkiyi azaltmadığı görüşü hakimdir (Soysal, 2004). Di-mesna formu da aktif olup bu

aktivite Mesna'ya oranla çok sınırlı düzeydedir (Brock ve ark., 1981). Mesna uygulamalarında en etkin protokolü elde edilebilmek için intraperitoneal (İP) yolla kemoterapötik ajandan 20 dk. önce, oral yolla ise 60 dk önce verilmesinin uygun olacağı ifade edilmiştir (Brock ve ark., 1981). Ayrıca CP ile oluşan hasarın daha aza indirilmesinde intravenöz bolus olarak verilen Mesna'nın devamlı infüzyon uygulamasına göre daha üstün olduğu gösterilmiştir (Skinner ve ark., 1993). Akroleine bağlı HS semptomlarını tamamen düzeltmek için Mesna'nın tam anlamda yeterli olmadığı ve NO artışının HS gelişiminde önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle CP ile indüklenen HS'de oluşan hasarın sadece akroleinin mesane yüzeyi ile temasıyla oluşmadığı, bunda ROT ve RNT'lerin de etkisinin olduğu bildirilmiştir (Uysal, 2009).

#### **1.4.2. Hiperhidrasyon Uygulaması**

Hemarajik sistitis, yüksek doz kemoterapi ve hemotopoetik kök hücre nakli uygulamalarından sonra da gelişmektedir. Dolayısıyla bu gibi durumlarda da hastanın hemodinamik dengesinin değerlendirilmesi unutulmamalıdır (Brugieres ve ark., 1989; Sencer ve ark., 1993).

Hemarajik sistitis görülen hastalarda hiperhidrasyon gayesiyle yapılacak uygulamalarda hasta konjestif kalp yetmezliği ve elektrolit denge yönünden sürekli takip edilmelidir. İdrar çıkışının beklenenden az olması durumunda diüretik uygulaması yapılabilir. Hiperhidrasyon kaynaklı kolik ağrı için semptomatik tedavi uygulanmalıdır. Olası mesane spazmları için düz kas gevşetici, ağrı giderici narkotik analjezikler verilebilir (Güneş ve Uysal, 2007). Dehidre hastalarda CP'e bağlı HS daha çok görüldüğünden bu tip hastaların tedavisi sırasında hidrasyon dengelenmeli ve gereken durumlarda üretral kateter uygulanmalıdır (Ballen ve ark., 1999).

### **1.4.3. Hiperhidrasyon ve Kombine Uygulamalar**

Hemorajik sistitiste sık kullanılan profilaksi yöntemlerinden biri olan hiperhidrasyon ile birlikte eş zamanlı Mesna veya farklı ajanların kullanılması, CP'nin biyodönüşümü sürecinde akroleinin mesane mukozası ile temas süresini en aza indirilmektedir. İntravenöz hidrasyona CP'den 12-24 saat önce başlanmalı ve CP tedavisi bittikten 24-48 saat sonraya kadar devam ettirilmelidir. Eğer günlük idrar miktarı 100 ml/saatin altına düşerse diüretikler uygulanmalıdır. Mesna, günlük CP dozunun %100-160'ı dozunda devamlı infüzyon şeklinde, CP'den 15-20 dakika önce başlanarak verilir. Mesanenin normal fizyolojik tuzlu su ile 250-1000 ml/saat dozunda devamlı irrigasyonu sayesinde toksinin mesaneden uzaklaştırılması sağlanabilir. Tedavi seçimi genellikle klinisyenin tercihinine ve tecrübesine göre olmaktadır (West, 1997).

### **1.4.4. Antiviral Ajanlar**

Viral bulaşma ile ilişkili HS düşünüldüğünde uygun antiviral tedavilerden yararlanılabilir. Bu amaçla Adenovirus ve BK virus için antiviral ajanlar denenmiştir (Soysal, 2004).

### **1.4.5. Anti-Radioterapötik Ajanlar**

Klinik çalışmalarda radyasyon hasarından korunmak amacı ile kullanılan Amifostine HS önleyici etki de gösterebilir, ancak etkisi tartışmalıdır (Srivastava ve ark., 1999).

Radyoterapi veya kemoterapiye bağlı mukozal hasar klasik tedavilere direnç gösterebilir. Bu gibi olgularda hiperbarik oksijen tedavisini öneren araştırmacılar mevcuttur (Bratsas ve ark., 2004).



#### 1.4.6. Semptomatik Uygulamalar

Hemorajik sistitisin en belirgin semptomu olan kanamayı durdurmak amacıyla Epsilonaminokaproik asit (Amicar®) oral veya intravenöz yolla kullanılabilir. Üriner ürokinaz enzim aracılığı ile pıhtının lizisi sağlanır. Ancak üst üriner sistem kanaması olan hastalarda üretral obstruksiyon sonucu böbrek kaybetme riski nedeni ile kullanımı kontrendikedir (Lakhani ve ark., 1999).

Östrojenin mikrovasküler stabilizasyonda görev yaptığına inanıldığı için virus ve radyasyonun neden olduğu HS tedavisinde konjüge östrojenler de kullanılmaktadır (Heath ve ark., 2006).

Yumuşak doku travmasına ilişkin kanamaları durdurmak ya da kontrolünü sağlamak için kullanılan ajanlar, HS'de de kullanılmaktadır. Argon ışın koagülatörleri, aktive trombin ve fibrin ajanları, angiogenez inhibitörleri (özellikle CP ilişkili HS olgularında) bu grupta yer alır (Quinlan ve ark., 1992; Tirindelli ve ark., 2009).

Siklofosamid ilişkili deneysel HS olgularında plateletten zengin plazma'nın tüm hayvanlarda kanamayı gözle görülür oranda azaltması, maddenin içerdiği fibrin, fibronektin ve vitronektin gibi hemostaz ve adhezyonu sağlayan plazma proteinleri ve aktive olmuş trombositlere yorumlanmıştır (Dönmez, 2013).

#### 1.4.7. İntravezikal Tedaviler

İntravezikal tedavilerde hematüri ve pıhtı varlığı tedavi yöntemini etkileyen en önemli faktörlerdir. Hastanın kan değerleri dengeli, mesanede pıhtı yok veya hasta pıhtıyı idrarda atabiliyorsa mesane kateterizasyonu yapılmadan klinik izlem yapılır (Güneş ve Uysal, 2007). Aksi durumda tedavi şekilleri arasında önemli bir yere sahip olan mesane irrigasyonuna başvurulur. Bazı olgularda pıhtıların temizlenmesi veya kanayan odakların koterizasyonu için sistoskopi gerekebilir (Soysal, 2004). Steril su,

alüminyum amonyumsülfat, alüminyum potasyum sülfat veya gümüş nitrat mesanenin yıkanmasında tercih edilebilir (deVries ve Freiha, 1990). Mesane yıkamasında alum kullanıldığı zaman kanayan yüzeyin üzerine proteinli bir materyal yerleşir. Ancak bu uygulama üreter veya sondanın tıkanmasına da yol açabilir. Mesane içine uygulanan diğer örnekler formalin ve prostaglandinlerdir (Soysal, 2004). Prostaglandin E1 ve E2 vazodilatasyona neden olarak mesaneye kan akımını arttırıp ağrıyı azaltırken, damar düz kas kontraksiyonunu uyarmada etkili olan Carboprost (prostaglandin F2)CP ilişkili HS olgularında mesane irrigasyonunda kullanılmaktadır (Trigg ve ark., 1990).

Medikal tedavinin yetersiz daha doğrusu başarısız olduğu olgularda cerrahi işlemlere başvurulur. Bu vakalarda hipogastrik arterin selektif veya süperselektif transarteriyel embolizasyonu düşünülebilir. Ancak, çoğu vakada yaygın venöz kanama olduğundan embolizasyon kanamayı kontrol etmede istenen etkiyi sağlamayabilir (Palandri ve ark., 2005). Kanama kontrolü amacıyla yapılan tedavilerden biri de üriner diversiyon operasyonudur. Takip eden zamanda sistektomi gerektirebilmektedir (Fazili ve ark., 2006).

### **1.5. Hemorajik Sistitis ve Oksidatif Stres**

Biyolojik süreçlerde önemli rol oynayan serbest radikaller, çoğunlukla Reaktif Oksijen Türevleri (ROT) ve Reaktif Nitrojen Türevleri (RNT) olup (Vajragupta ve ark., 2004), bu reaktif bileşiklerin protein, lipid, RNA ve DNA'ya zararlı etkileri söz konusudur (Janos ve Krishnamurti, 2005). Oksidatif stres, temel olarak antioksidan savunma sistemi ile reaktif türevler arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (Sies, 2015). Normal organizma için hayati role sahip olan oksidan-antioksidan denge (Reuter ve ark., 2010) bozulursa antioksidan savunma sistemi görevini tam olarak yerine getiremez veya yetersiz kalır. Oksidatif dengenin oksidanlar yönüne kaydığı durumlarda organizmayı ölüme kadar götürebilecek hücresel hasar ve oksidatif stres tablosu şekillenir (Fidan ve ark., 2009; Emecen ve ark., 2010; Passantino ve ark., 2014).

Normal şartlarda organizma, endojen ve eksojen kaynaklı serbest radikaller ve bunlara ilişkin oksidatif stres ile mücadele edebilen bir seri antioksidan savunma sistemine sahiptir (Prior ve Cao, 1999). Antioksidanlar kendilerine has etkilerinin yanı sıra diğer antioksidanlarla ortak etkiler de sergilerler. Böylece organizmanın total antioksidan kapasitesi antioksidanların tek başlarına ve diğer antioksidanlarla sinerjik oluşturdukları etkilerin toplamına denk gelmektedir. Organizmadaki antioksidan seviyeyi belirlerken her bir antioksidanın ayrı ayrı ölçülmesi ve/veya antioksidanların ortak etkilerinin total ölçülmesi yoluna gidilir. Total antioksidan seviyenin ölçümü, antioksidanların ayrı ayrı ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir (Prior ve Cao, 1999; Polidori ve ark., 2001). Vücut sıvılarındaki antioksidanların toplam etkisini total antioksidan kapasite (TAS), oksidanların toplam etkisini ise total oksidan kapasite (TOS) yansıtır ve genel antioksidan/oksidan durum TAS ve TOS ölçümü ile daha kolay değerlendirilebilir (Erel, 2004; Erel, 2005).

Siklofosfamid'in tedavi dozu başta üriner sistem olmak üzere (Güneş ve Uysal, 2007) bir çok sistemde toksik etkilere neden olmaktadır (Aktürk ve ark., 2011). Siklofosfamid uygulamalarında toksisitenin ana nedenlerinden biri antioksidan enzimlerin işlevinin azalması (Keles ve ark., 2014) ve hayati organlarda akrolein-ilişkili lipid peroksidasyonunun artmasıdır (Kim ve ark., 2012).

### **1.5.1. Hemorajik Sistitide Anti-Oksidatif Temelli Tedaviler**

Alfa-lipoik asit hayvansal ve bitkisel gıdalarda ve maya ekstralarında bulunur ve aynı zamanda orgnizmada sentezlenebilir. Farelerde CP kaynaklı HS'e karşı denenen  $\alpha$ -lipoik asit ve Mesnannın ROT üzerinden etki ederek potansiyel terapötik etki gösterdiği ifade edilmiştir (Song ve ark., 2014).

Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) doğal bir antioksidandır. Stilbenlerin alt grubunda olup üzüm, üzüm ürünleri, yaban mersini ve yer fıstığında bulunur (Li ve ark., 2006). Resveratrol hem süperoksit hem de hidroksil radikalini süpürme

yeteneğindedir (de la Lastra ve Villegas, 2007). Oksidatif stres ilişkili damar hasarına karşı direnci artırır (Ungvari ve ark., 2007). Siklofosfamid'in neden olduğu HS'in ortaya çıkan patolojik lezyonlarının önlenmesinde Resveratrol'ün 20 ve 40 mg/kg dozlarının etkin olduğu, fakat bu etkinin Mesna'ya göre zayıf kaldığı; 80 mg/kg dozunda ise koruyucu özelliği olmadığı, ancak biyokimyasal parametereleri düzeltme açısından Resveratrol'ün 40 ve 80 mg/kg dozlarının ön plana çıktığı ifade edilmiştir (Keles ve ark., 2014).

Tıbbi ve aromatik bitkilerden karışım olarak hazırlanan Ankaferd; geleneksel tıpta kanama durdurucu olarak kullanılır (Goker ve ark., 2008). Ayrıca, Ankaferd'in anti-inflamatuar, antibakteriyel, anti-trombin ve anti-tümöral etkileri ortaya konmuştur (Lee ve ark., 2005). Ankaferd uygulamalarında Süper Oksit Dismutaz (SOD) düzeyinin artması, myeloperoksidaz ve Malondialdehit (MDA) düzeylerinin azalması, antioksidan etkisini göstermektedir (Küçükbayrak, 2010). Literatürler detaylı incelendiğinde Ankaferd'in içerdiği bitkilerden havlıcan'ın (*Alpinia oppicinarrum*) NO oluşumunu inhibe ettiği (Matsuda ve ark., 2006), meyan'ın (*Glycyrrhiza glabra*) vasküler endotelial growthfaktör'ü azaltarak anjiogenezisi inhibe ettiği (Sheela ve ark., 2006), kekik'in (*Timus vulgaris*) antioksidan etki gösterdiği ve lipid peroksidasyonu ile arteriosklerozisi engellediği (Lee ve ark., 2005), üzüm'ün (*Vitis vinifera*) güçlü antioksidan özellikleri yanı sıra sitotoksik, anti-aterosklerotik, kemopreventatif ve sitoprotektif etkilerinin bulunduğu (Bagchi ve ark., 1999; Zhao ve ark., 1999), ısırgan'ın (*Urticadioica*) anti-viral ve anti-fungal özelliklerinin ön plana çıktığı (Bombardelli ve Morazzoni, 1997) gözlenmektedir.

Siklofosfamid ile indüklenen üro-toksisite ve nefro-toksisite üzerine *Ipomoea obscura*'nın (Gündüz sefası) etkisinin incelendiği bir çalışmada interferon- $\gamma$  ve interlökin-2 seviyelerinde artış gözlenmiş, pro-inflamatuar sitokin TNF- $\alpha$  seviyesinin azaldığı gözlenmiştir. Rutin kan değerleri ve antioksidan değerler ile histopatolojik incelemeler ışığında adı geçen bitkinin CP ilişkili idrar kesesi ve böbrek hasarında koruyucu olabileceği gözlenmiştir (Hamsa ve Kuttan, 2011).

Papatya'dan (*Egletes viscosa Less.*) ekstrekte edilen bir flavonoid olan Ternatin, (bazı mantar türlerinde de mevcuttur) CP ve İF ile indüklenen HS'de incelenmiş ve üç dozluk Mesna protokolünde ilk dozun Mesna olarak kaldığı, 2. ve 3. dozun Ternatin olarak değiştirildiği grupta etkili bir koruma sağladığı gözlenmiştir. Her üç dozun Ternatin olarak uygulandığı grupta beklenen etkinin gözlenmemesi öncü ürotelyal koruma için Mesnanın gerekli olduğu kanısını doğrumuştur (Vieira ve ark., 2004).

Zerdeçal'ın (*Curcuma longa*) bir ekstraksiyon ürünü olan Curcumin, muhtemel ürotelyal koruyucu olarak CP kaynaklı HS'de denenmiş, gerek histopatolojik gerekse de biyokimyasal veriler (özellikle TNF- $\alpha$  ve NO üzerinden) ışığında koruyucu özellik gösterdiği ifade edilmiştir (Arafa, 2009). Berberis türlerinden (Kadın Tuzluğu, Karamuk) elde edilen Berberin, CP ilişkili rat HS modellerinde uygulanmış, 100 ve 200 mg/kg dozlarında idrar kesesi ödemi ve hemorajiyi tamamen bloke etmiştir. Aynı zamanda idrar ve plazma NO seviyelerinin de pozitif yönde olduğu gözlenmiş ve bu bağlamda ajan umut verici bulunmuştur (Xu ve Malavé, 2001).

Mandevilla bitkisinin (*Mandevilla velutina*) aktif içeriklerinden MV8608 ve MV8612, ratlarda CP ile indüklenen HS'de araştırılmış; MV8608'in belirgin olarak hemoraji oluşumunu ve nötrofil birikimini inhibe ettiği, MV8612'nin ise belirgin olarak idrar kesesi ağırlığını azalttığı, ancak nötrofil birikimine etki etmediği gözlenmiştir. Bu bulgular ışığında alternatif bir ürün olabileceği ifade edilmiştir (Santos ve ark., 2010).

Siklofosfamidin farelerde neden olduğu HS modelinde *Phyllanthus niruri* bitkisinin hidro-alkolik ekstresinden yüksek anti-inflamatuar ve anti-oksidatif sonuçlar elde edilmiş, CP'nin toksik etkilerinin yanı sıra Mesna'nın yan etkilerine karşı da önerilmiştir (Boeira ve ark., 2011).

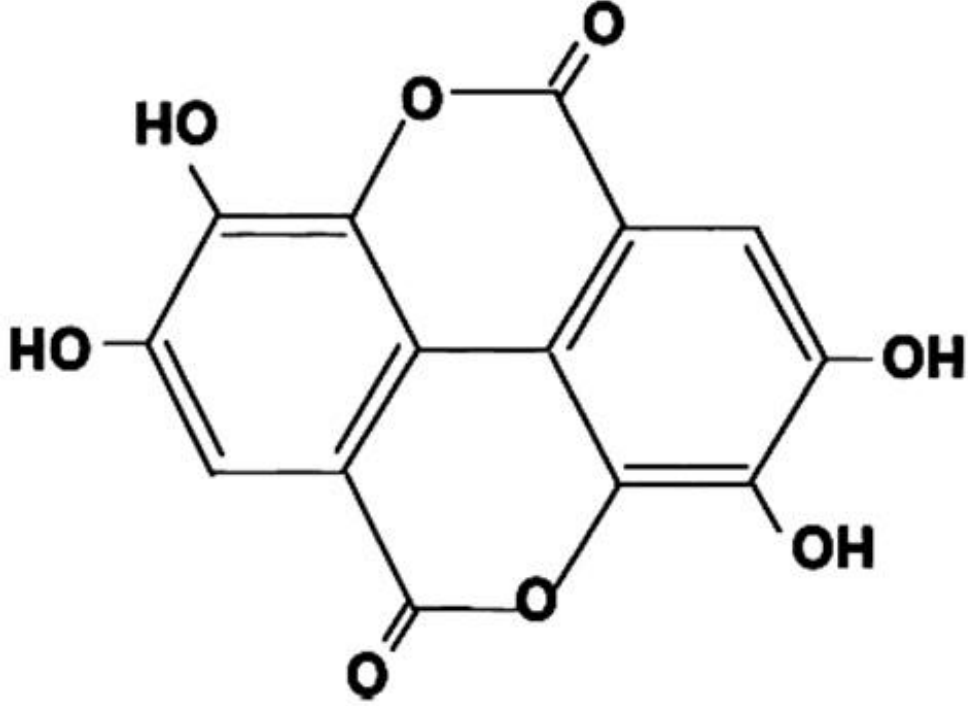
## 1.6. EllajikAsit

### 1.6.1. Ellajik Asit ile İlgili Genel Bilgiler

Son zamanlarda yapay antioksidanların önemi giderek azalmakta iken, doğal kaynaklı antioksidanlara ilgi oldukça artış göstermekte ve bu antioksidanların bitkisel materyallerden elde edilmesine özen gösterilmektedir (Çam ve Hışıl, 2006).

Bitki kaynaklı antioksidanlardan biri de Ellajik asittir (EA). Birçok sebze ve meyvede bulunan EA doğal bir antioksidandır (Kang ve ark., 2016). Ellajik asit (2,3,7,8-tetrahidroksil [1] benzapiranol[5,4,3 cde][1] benzopiran-5,10-dione) bitkisel fenolik bir bileşiktir (Hassoun ve ark., 2004; Seeram ve ark., 2005). Suda az, metanol ve etanolde iyi çözünen EA (Bala ve ark., 2006), bitkilerde doğal şekilde bulunmayıp Ellajitaninlerden (ET), bazı kimyasal işlemleri takiben oluşmaktadır (Chung ve ark., 1998).

Moleküler ağırlığı ile heksahidrosidifenik asidin dilaktonu olan EA, hidrofilik kısmı temsil eden dört fenolik ve iki lakton grubu (hidrojen bağ vericisi ve alıcısı olarak rol oynayabilir) ve lipofilik alanı temsil eden dört halka ile termodinamik olarak oldukça kararlı bir moleküldür (Şekil 1) ve dolayısıyla ısıya oldukça dayanıklıdır.



**Şekil 1.** EA'in Yapısı (Meyer ve ark., 1998).

Tıbbi bitki ve ürünlerdeki fenolik bileşikler, polifenoller veya polihidroksifenoller olarak da bilinmektedirler (Çam ve Hışıl, 2006).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonid türevleri olmak üzere başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Bitkilerde bu bileşiklerin aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen ikincil metabolitler oldukları varsayılır. Fenolik asitler, hidroksisinnamik asitler ve hidroksibenzoik asitler şeklinde iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, fenolik bileşikler içinde en önemli grubu oluşturan flavan (2fenolbenzodihidropiran) türevleridir. Yapısal olarak antosiyanidinler, flavonollar, flavonlar-flavanonlar, kateşinler ve proantosiyanidinler olmak üzere beş gruba ayrılırlar (Nizamlıoğlu ve Nas,2010).

Bitkilerde bolca bulunan fenolik bileşikler kimyasal yapılarında ki “benzen” halkası sayesinde diğer bileşiklerle kolaylıkla etkileşime girebilmektedirler (Khanbabaee ve van Ree, 2001).

Miktarı ve kompozisyonu bakımından bitkilere özgü olan fenolik bileşikler meyve ve sebzelerin kendine has buruk tadını vermektedirler. Fenolik bileşiklerin aroma, renk oluşumu ve değişimi, antimikrobiyal ve antioksidatif etki ve enzim inhibisyonu gibi önemli özelliklerinin yanı sıra bazı gıdalarda saflık kriteri belirteci olmaları gibi işlevleri bulunmaktadır (Escarpa ve Gonzalez, 2001; Tomás-Barberán ve ark., 2001).

Taninler bitkilerde bulunan ve suda çözünebilen fenolik bileşiklerdir. Sekonder metabolit olan taninlerin sayısız fonksiyonları mevcuttur (Quideau ve Feldman, 1996; Bakkalbaşı ve ark., 2009). Bitkileri haşarelerden ve dış etkenlerden koruyabilen bu yapılar, bazı metabolik süreçlere de aracılık etmektedirler. Bu yapılar FeCl<sub>3</sub> (demir-3-klorür) ile reaksiyona girdiklerinde mavi bir renk oluşumu ile karakterize edilirler (Haslam, 1996).

Taninler hidrolizlenebilir ve kondanse taninler olmak üzere 2 ana gruba ayrılmaktadır (Niemetz ve Gross, 2005; Haslam, 2007). Hidrolizlenebilir taninler; sıcak su, asit, baz ve tannaz (taninleri sindirime uğratan enzim) ile hidrolize olabilen taninlerdir. Hidrolizlenmeyen polimerik ve oligomerik taninler ise kondanse taninler olarak sınıflandırılırlar (Khanbabaee ve van Ree, 2001). Hidrolizlenebilir taninler de Ellajitaninler ve Gallotaninler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. ET'ler, Gallotaninlere göre doğada daha bol bulunmaktadır ve bugüne kadar 500 civarında ET içeren doğal ürün karakterize edilmiştir (Khanbabaee ve van Ree, 2001; Niemetz ve Gross, 2005; Bakkalbaşı ve ark., 2009).

Ellajitaninler, antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteye sahip biyoaktif polifenollerdir. Nar suyunda yüksek konsantrasyonlarda ET vardır ve yaygın olarak tüketilen bu meyve suyu kıymetli bir ET olan Punikalajin (PJ) içerir (Heber, 2008). Karaciğerdeki varlığı 12-56 saate kadar gösterilen ET'ler dolaşıma katılarak hedef organlara ulaşabilir ve etkilerini gösterirler. PJ uzunca bir süre kana salınmakla birlikte diğer bazı ET'ler gibi tam olarak absorbe edilemez. Ancak, kolayca EA'e hidrolize edilir ve bağırsak florası tarafından urolitinlere metabolize olur. Urolitinler karaciğerde konjuge edilerek idrarla dışarı atılırlar (Heber, 2008). İnsan prostat

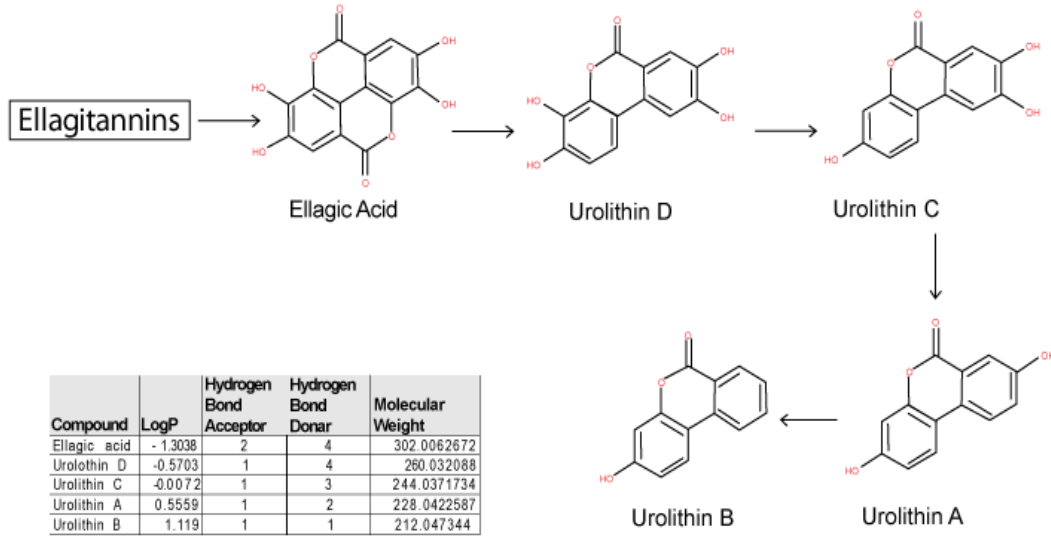


kanser hücresi transplante edilen şiddetli kombine immun yetersiz farelerde nar suyu alımının önemi ET açısından incelenmiş ve pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte diyet yolu ile alınan PJ'in; Nükleer Faktör kappa B ilişkili yangının hücre altı yollarla inhibisyonu, hipoksik durumlarda hypoxia induced factor-1 alfa tarafından indüklenen angiogenezisin inhibisyonu ve apoptozisin uyarılması ile hücre çoğalmasının önlenmesi gibi multipl yollarla anti-kanserojen etkiler sergileyebileceği ifade edilmektedir (Heber, 2008).

Sağlıklı insanlarda yapılan bir çalışmada ET'lerin hızla emildiği ortaya konmuş, PJ alınımını takiben 48 saate kadar ET'nin metaboliti olan urolitin idrarda varlığı ortaya konmuştur (Seeram ve ark., 2006).

Ellajitanin metabolizmasına yönelik domuzlarda yapılan bir çalışmada, yüksek ET içerikli besinlerle beslenen hayvanlarda plazma, idrar, safra ve dışkı örnekleri ile jejunum, kolon, karaciğer, böbrek, kalp, beyin, akciğer, kas ve deri altı yağ dokusu incelenmiş ve jejunumda serbest halde bulunan EA'in bağırsak florası tarafından başta urolitin D, C, A ve B olmak üzere 25 tip urolitine metabolize edildiği gözlenmiştir (Şekil 1). Bu metabolitlerin entero-hepatik dolaşım ve periferik plazmada tespiti sindirimin midede emilerek başlayacağına yorumlanmıştır (Espín ve ark., 2007).

Yüksek dozda ET verilen sıçanların idrar ve dışkı örneklerinde metabolit olarak EA'in bulunması, sindirim prosesini takiben ET'den EA oluşabileceğini ortaya koymaktadır. Sıçan bağırsak içeriğindeki ET'lerin ince bağırsak ve sekumdaki pH'dan etkilenerek EA'lara dönüşebileceği, sekum mikroflorasının da bu dönüşümde rol oynayabileceği iddia edilmektedir (Doyle ve Griffiths, 1980).



Şekil 2. Bağırsakta ET, EA, ve Urolitin Metabolizasyonu (Espín ve ark., 2007).

### 1.6.2. Ellajik Asit İçeren Ürünler

Ellajik asit ve ayrıca gallic asit, rutin ve isoquercitin içerikli fenol ve flavonoid bileşiklerin tüm üzümü meyvelerde yüksek oranlarda olduğu bilinmektedir (Tablo 2). Bu fenolik bileşikler içerisinde en önemlisi ve laboratuvar koşullarında, hayvanlarda tümör gelişimini engellediği ortaya konulan bileşik EA'dır. Bahse konu meyveler kıyaslandığında en yüksek değerdeki EA siyah ahududunda bulunmaktadır. Bununla beraber Boysen üzümünde de (*Rubus ursinus x idaeus*) serbest formulu EA konsantrasyonunun yüksek olduğu belirlenmiştir (Häkkinen ve ark., 2000; Kähkönen ve ark., 2001). Yapılan bir çalışmada çilek çekirdeklerinin %95.7, meyve özünün ise %4.3, ahududu çekirdeğinin %87.8, meyve özünün ise %12.2 oranlarında EA içerdiği tespit edilmiştir (Daniel ve ark., 1989). Ahududu, böğürtlen, kızılıcık, ceviz ve bazı çilek çeşitlerinde de (bulutlu, deniz tırmığı, gül kalemi) yüksek oranda EA varlığı bildirilmiştir (Daniel ve ark., 1989; Koponen ve ark., 2007).

Saf nar suyu (Seeram ve ark., 2005; Lansky 2006) ve ayrıca narın meyve kabuğunda da, EA ve gallic asit başta olmak üzere pek çok polifenolik madde tespit edilmiştir (Dikmen ve ark., 2008). Nar meyvesinin kabuk ve özünde bol miktarda bulunan ET'ler, antioksidan etkinin %92'sinden sorumludur (Seeram ve

ark., 2004). Saf olarak 180 ml nar suyu 25 mg EA içerir ve içildikten 1 saat sonra plazmadaki konsantrasyonu 32 ng/ml'dir. Bir saat içinde bütün vücut sıvılarında saptanabilir ve 4 saat içerisinde vücuttan hızla atılır (Seeram ve ark., 2004; Seeram ve ark., 2006).

Üzüm kabuğu ve çekirdeği polifenollerden EA ve gallik asit gibi fenolik asitleri; kateşin, epikateşin, prosiyanidin ve antosiyanidin gibi flavonoidleri ve resveratrol ile piseid gibi stilbenleri ihtiva etmektedir (Jayaprakasha ve ark., 2003; Yılmaz ve Toledo, 2006). Lipid peroksidasyonunu başlatabilen ve/veya devam ettirebilen peroksil radikalinin etkilerinin önlenmesinde, üzüm çekirdeği ve kabuğunda bulunan polifenollerin aktivite sırası: resveratrol > kateşin > epikateşin = gallokateşin > gallik asit = elajik asit olarak belirlenmiştir (Yılmaz ve Toledo, 2004).

Ellajik asit, bütün meyve ve sebzeler içerisinde en fazla kırmızı ve siyah ahududunda bulunur (Stoner ve Mukhtar, 1995). Bursa da yetiştirilen beş ahududu (Aksu kırmızısı, Rubin, Newburgh, Hollanda boduru, Heritage) ve dört böğürtlen (Bursa 1, Bursa 2, Chester, Jumbo) çeşidinin taze, ilk dondurulmuş ve altı ay süreyle -22<sup>0</sup>C de muhafaza edilmiş formları fenolik madde içerikleri bakımından LC-MS/MS ile incelenmiştir. Fenolik bileşiklerden EA'in ahududu ve böğürtlen çeşitlerinin temel fenolik bileşiği olduğu tayin edilmiştir. Dondurarak muhafaza etme süresince EA'nın en fazla bozulan fenolik bileşik olduğu ve bunu *para*-hidroksibenzoik asitin izlediği ortaya konmuştur (Sarıburun, 2009).

Yaban mersini meyvelerinde ölçülebilir düzeyde EA içerdiği ve karsinogeneze karşı savaşma yeteneği olduğu ifade edilmiştir (Çelik, 2006).

Üzümömsü bazı bitkilerin reçel vb. ısıtılma işlem gerektiren proseslerinde, quercetin, myricetin ve kaempferol gibi flavonoidlerde %15-40 arası kayıplar oluşurken, EA miktarlarında önemli bir değişiklik meydana gelmediği belirlenmiştir (Häkkinen ve ark., 2000; Zafrilla ve ark., 2001).

Balın içeriğinde bulunan kafeik, p-kumarik ve ferulik asit gibi çeşitli fenolik bileşiklerin yanı sıra EA ve üstelik apigenin, pinosembrin, kampferol, kuersetin, galangin, krisin ve hesperitin gibi flavonoidlerin antioksidan özellikler sergilediği belirtilmiştir (Turkmen ve ark., 2006).

**Tablo 2.** Bazı Bitki, Meyve ve Türevlerindeki EA Miktarları (Olğar 2013).

	EA miktarı	Referans
Nar suyu	66.87**	(Marchesini ve ark., 2003)
Ahududu suyu	28.00**	(Marchesini ve ark., 2003)
Ahududu	5.37*	(Amakura ve ark., 2000)
Böğürtlen	3.69*	(Lei ve ark., 2001)
Ahududu reçeli	2.25*	(Marchesini ve ark., 2003)
Çilek reçeli	2.01*	(Amakura ve ark., 2000)
Çilek	1.77*	(Amakura ve ark., 2000)
Nar	1.73*	(Amakura ve ark., 2000)
Mum ağacı	0.18*	(Amakura ve ark., 2000)
Ananas	0.08*	(Marchesini ve ark., 2003)

Yapılan bir çalışmada, Türk Amber Durum buğdayının fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Buğday 15, 30 ve 40 gün süre ile üç farklı zamanda çimlendirilmiş, kurutulmuş ve öğütüldükten sonra etil asetat ile ekstrakte edilerek 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikaline karşı antioksidan kapasitesi kıyaslanmış ve toplam fenolik içeriğinde tayin edilmiştir. Buğday çimindeki başlıca fenolik bileşiklerin ferulik asit, gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, EA, benzoik asit, phidroksibenzoik asit, şiringik asit, kuersetin ve bütihidroksianisol olduğu bildirilmiş; çalışmada en yüksek antioksidan aktivite 15 günlük çim grubunda gözlenmiştir (Akcan-Kardas ve Durucasu, 2014). Meşe palamudunda ise EA, gallik asit, tannik asit tespit edilmiştir (Güneş, 2010).

### 1.6.3. Ellajik Asitin Koruyucu Etkileri

Antioksidan özelliği birçok çalışmada (Priyadarsini ve ark., 2002; Seeram ve ark., 2005; Bakkalbaşı ve ark., 2009) gösterilmiş olan EA; anti-mutojenik (Zahin ve ark., 2014), anti-karsinojenik (Heber, 2008), anti-hepatotoksik (Ambrose ve ark., 2013), HIV-1 ters transkriptaz inhibitörü (Martino ve ark., 2004) ve anti-bakteriyel (Tunç ve ark., 2013) zelliklere de sahiptir.

Antioksidan savunma sistem aktivitesini artırmak suretiyle etki gösteren EA, kirli hava, sigara dumanı ve organik maddelerin yanıkrnlerinin hücre DNA'sına olan zararlı etkilerini önleyebilmektedir (Soni ve ark., 1997). Ayrıca, kan basıncını düşürücü etkileri mevcut olan EA, kan pıhtılaştırıcı olarak da kullanılabilirliktedir (Ratnoff ve ark., 1993).

Elajik asidin sıçan C6 glioma hücre kltr üzerine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada (Ekinci ve ark., 2012) hücre çoğalmasını engelleyen EA'in tümör hücre yapısında bozulmalara neden olduğu ve hücre yaşayabilirliğini azalttığı bulunmuştur.

Ratlarda Cuprizon ile oluşturulan deneysel Multipl skleroz modelinde, Cuprizona bağlı artmış beyin oksidatif hasarının EA ve Likopen uygulamaları ile anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir. Çalışmada, SOD düzeyi EA uygulamalarında kanda yükselirken, Likopen uygulamalarında dokuda artış göstermiş ve bu sonuçlardan yola çıkılarak deneysel MS modelinde antioksidan etkili bu iki maddenin hastalığın önlenmesinde veya ilerlemesinde umut verici olabileceği ifade edilmiştir (Yavuz, 2010).

Malathion ile ratlarda yapılmış başka bir çalışmada ise EA ve kafeik asit enetil ester uygulamalarının oksidatif stresi azalttığı ve dokular üzerine koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (Alp ve ark., 2011).

İn vitro koşullarda EA'in mikrozomal lipit peroksidasyonunu kuvvetli bir şekilde önlediği (Osawa ve ark., 1987), insan LDL oksidasyonunda ise kateşin, kuarsetin, siyanidin ve kafeik aside kıyasla düşük olmakla birlikte inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir (Meyer ve ark., 1998).

Nanomolar konsantrasyonlardaki EA'in sıçan kalbi ventrikül miyositlerinde Ca<sup>2+</sup> akımını azalttığı, bu etkisini nitrik oksit sentaz (NOS)-glutasyon sentetaz (GS)-siklik guanozin monofosfat (cGMP) aracılığıyla gerçekleştirdiği ifade edilmiştir. EA'nın aksiyon potansiyeli repolarizasyon süresini uzatması, potasyum akımları üzerinde de etkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Olğar, 2013).

Ratlarda Sisplatin ilişkili anormal sperm üretiminin EA uygulamasına bağlı olarak azaldığı ve üstelik, bu uygulamanın epididimal sperm yoğunluğu ile sperm motilitesini artırdığı belirtilmiştir (Türk ve ark., 2008). Adriamisin uygulanan ratlarda EA'nın epididimal sperm parametreleri üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra testis dokusunda da gerek lipit peroksidasyonu gerekse deapoptozis bakımından koruyucu etki gösterdiği vurgulanmıştır (Çeribaşı ve ark., 2012).

Erkek ratlarda renal iskemi-reperfüzyon sonucunda meydana gelen hasara karşı uygulanan EA'in oksidatif hasarı azalttığı ve böbrek histolojisini kontrol grubuna kıyasla koruduğu bildirilmiştir (Bozkurt ve ark., 2012).

Fötal dönemde nikotine maruz bırakılan ratlarda oluşan böbrek hasarının engellenmesinde EA'in koruyucu etkisi araştırılmış, nikotin uygulanan gebe ratların yavrularına ait böbrek dokularındaki hasar, hem biyokimyasal olarak [(kontrol grubuna göre MDA ve NO düzeylerinde artış, glutasyon (GSH), glutasyon-peroksidaz (GSH-Px) ve SOD gibi antioksidan enzim düzeylerinde ise düşüş)] hem de immuno histokimyasal olarak tespit edilmiştir. Çalışmada, EA uygulaması ile nikotinin böbrekte oluşturduğu oksidatif stres ve histolojik değişikliklerin azaltılabileceği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, EA içeren doğal fenolik içerikli meyve ve sebzelerin gebelik sırasında alınmasının sadece nikotin alan annelerde değil, aynı zamanda nikotin almayan annelerde gebeliğin ilerlemesiyle

yükselen oksidatif stresin azaltılmasında veya vücuttaki antioksidan enzim düzeylerinin artırılmasında önemli bir rolü olabileceği düşünülmüştür (Akkoyun, 2012).

Nitrozodietilamin verilen ratların böbrek dokusunda serbest radikal metabolizmasında görev alan enzimlerin aktiviteleri ile lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA seviyeleri ve EA'in bu parametreler üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, Nitrozodietilamin uygulamasının böbrek dokusunda lipid peroksidasyonuna neden olarak oksidatif stres oluşumunu önemli ölçüde arttırdığı, buna karşılık EA'in oksidatif stresi azaltıcı ve koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Abas, 2010).

Ratlarda CP'in neden olduğu renal oksidatif stres ve genotoksisiteye karşı EA'in antigenotoksik ve antioksidan etkisi değerlendirilmiş; elde edilen bulgular doğrultusunda CP kaynaklı böbrek hasarı, DNA hasarı ve genotoksisiteye karşı EA'in önemli bir rol oynayabileceği düşünülmüştür (Rehman ve ark., 2012).

Kitosan adsorbant (Zhang ve ark., 2008), antimikrobiyel (Chung ve Chen, 2008), antioksidant (Kanatt ve ark., 2008) ve hemostatik (Pusateri ve ark., 2003), özellikleri bakımından geniş kullanım alanına sahip bir aminopolisakkarittir. Kitosan parçacıklarıyla kapsüllenmiş ve ayrıca kapsüllenmemiş serbest EA'in, pıhtılaşma zamanı ve pıhtı retraksiyon zamanı üzerine etkileri kıyaslanmış ve bu çalışma sonucunda Kitosan kaplı EA'in pıhtı zamanını %34 ve retraksiyon zamanını %16,4 oranında azalttığı; bu oranların serbest EA'de sırasıyla %4,6 ve %13, oranlarına düştüğü gözlemlenmiştir (Gopalakrishnan ve ark., 2014).

Ellajik asitin farelerde spesifik ve non-spesifik siklooksijenaz inhibitörleriyle benzerliklerini araştıran bir çalışmada trombosit aktivasyonu, p-selektin akış sitometrisi ile incelenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, EA'in non-spesifik bir siklooksijenaz gibi davrandığı; ayrıca, EA'in bir non-spesifik siklooksijenaz inhibitörü olan katerolak ile birleştirilmesi durumunda ise trombosit aktivitesinde

önemli bir düşüğe ve kan kaybında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Attilio ve ark., 2010).

Farelerde kuyruk ampütasyonunu takiben ayrı ayrı ve birlikte verilen trombin ve EA sonuçları kıyaslandığında trombinle birlikte verilen EA'in trombine kıyasla kan kaybını daha fazla azalttığı, tek başına EA'in ise diğerlerinden daha başarılı sonuç verdiği ortaya konmuştur (Cliffon ve ark., 1966).

Sağlıklı insanlara 800 mg dozunda standart nar ekstresi vermek suretiyle yapılan bir çalışmada, EA'nın plazma metabolitlerinden olan urolithin A, urolithin B, hidroksil-urolithin A, urolithin A-glukuronid, ve dimetil ellajik asit ölçülmüştür. Bu çalışmada antioksidan kapasitenin yarım saatte maksimum (%32) seviyeye çıktığı ancak ROT üretimini azaltmadığı gözlenmiştir. Ekstrakt alımını takip eden dördüncü saatte yangı belirteci olan interleukin-6 seviyesinde ise belirgin bir etkilenme gözlenmemiştir (Mertens-Talcott ve ark., 2006).

*Salmonella typhimurium* TA 100 türü üzerine aflatoksin B1 (AFB1)'in mutagenetik etkisine karşı EA uygulanmış ve EA'in yüksek doza bağlı olarak bu mutasyonları inhibe ettiği gözlenmiştir. En fazla inhibisyon 1000 $\mu$ g dozunda ve %90 oranından fazla gözlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca rat trake ve insan trake-bronş kültüründe AFB1'nin DNA'ya kovalent bağlanmasına karşı EA'in etkileri incelenmiş, hem rat trake (%9-57 inhibisyon) ve hem de insan trake-bronş (% 24-79 inhibisyon) kültüründe doza bağlı bir düşüş gözlenmiştir (Mandal ve ark., 1987).

Ellajik asit; serumda tümör oluşumuna sebep olan kimyasalları temizleyerek (Mandal ve ark., 1987); hücrel DNA'ya karsinojenlerin bağlanmasını önleyerek (Mandal ve ark., 1987); ROT ve RNT'ni temizleyerek veya bağlayarak (Priyadarsini ve ark., 2002); tümör hücrelerinin büyümesini durdurarak (Heber, 2008) ve hemotolojik parametreler ile immun sistem üzerine olumlu etkiler göstererek (Mişe Yonar ve ark., 2014) anti-kanserojen olarak etki göstermektedir.



Prostat kanseri hücrelerinin büyümesini hücre siklusunu durdurarak ve apoptozisi stimüle ederek inhibe eden EA'in, prostat kanserinde anjiogenezi inhibe ettiği de *in vivo* ve *in vitro* olarak gösterilmiştir (Heber, 2008).

Karaciğer kanser hücre dizisi ile yapılan bir çalışmada EA metaboliti olan urolitin A'nın güçlü anti-proliferatif ve anti-oksidan aktiviteleri ortaya konmuştur. Çalışma sonuçlarından yola çıkılarak hepatosellüler kanser tedavisinde urolitin A'nın hücre çoğalmasını inhibe edebileceği ve oksidatif stresi azaltabileceği ifade edilmiştir (Wang ve ark., 2015).

Meme tümörlerinde östrojen hücre proliferasyonunu uyarır ve önemli bir rol oynar. Urolitin B'nin güçlü anti-aromataz etki üzerinden östrojen duyarlı meme tümörlerinde pozitif etkileri tespit edilmiştir (Adams ve ark., 2010).

İnsan mesane kanseri T24 hücre hatlarında EA ve üç urolitin türevi (Urolitin A, Urolitin B, ve 8-OMe-urolithin A) antiproliferatif aktivite bakımından *in vitro* bir çalışmada denenmiş, kullanılan ajanların anti-oksidan etki göstererek oksidatif stresi azalttıkları ve mesane kanserinde hücre çoğalmasını inhibe ettikleri belirtilmiştir (Qiu ve ark., 2013).

On yıllar öncesine kadar oldukça revaçta olan yapay antioksidanların önemi, doğala dönüş akımına bağlı olarak giderek azalmakta, buna karşın antioksidan özelliği bilinen doğal ürünlerin tüketimi artmaktadır. Bu doğal ürünler büyük çoğunlukla bitkilerden elde edilmektedir. Doğal yollardan ve maksimum fayda ile erişilebilecek bitki kaynaklı antioksidanlardan biri de Ellajik asittir. Ellajik asit ile ilgili yaptığımız literatür taramasında CP kaynaklı HS'den koruma ve tedaviye yönelik herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu tez çalışmasında, kuvvetli antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinen EA'in ratlarda CP ile indüklenmiş HS'de koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## **2. GEREÇ ve YÖNTEMLER**

### **2.1. Gereç**

#### **2.1.1. Hayvan Materyali**

Bu çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan AKÜHADYEK-413-15- referans numarasıyla izin alındı. Araştırma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütüldü. Çalışmada bu merkezden temin edilen 49 adet, 220-250 gr ağırlığında, erkek, Sprague Dawley rat kullanıldı. Her biri 7 rattan oluşan 7 deney grubu oluşturuldu. Deney süresince hayvanlara ad libitum standart rodent yemi ve çeşme suyu verildi. Hayvanlar polikarbonat kafeslerde,  $22 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve uygun nemdeki odalarda 12 saat aydınlık/12 saat karanlık olacak şartlarda barındırıldı ve bir haftalık adaptasyon sürecinden sonra deneye başlandı.

#### **2.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler**

Cam jelli tüp

Dondurucu (Uğur UDF 7SL Vertical Frezer)

Enjektör

Ependrof tüp

Hassas Terazı (Bel Engineering, Italy)

Klinik santrifüj cihazı (Soğutmalı Nüve NF 1000R)

Kronometre (Isolab Laborgerate GmbH)

Mikro küvet

Eliza (ELx800 Absorbanca Reader)

Portüp

Distile su cihazı (Nüve ND8)

Doku takip cihazı (Leica TP 1020)

Mikrotom (Leica RM 2155)

Işık mikroskobu (Nikon Eclipse Ci)

Görüntüleme cihaz ve yazılımı (Kameram<sup>®</sup>, Mikro sistem)

### 2.1.3. Kimyasal Maddeler ve Kitler

Ellajik Asit (Santa Cruz, sc-486822)

Siklofosfamid (Endoxan<sup>®</sup>, 500 mg flakon, Eczacıbaşı-Baxter)

Mesna (Uromitexan<sup>®</sup>, 400 mg amp, Eczacıbaşı-Baxter)

Ketamin HCl (Alfamın<sup>®</sup>, 100 mg flakon, EGE-VET)

Ksilazin HCl (Alfazyne<sup>®</sup>, 20 mg flakon, EGE-VET)

Total antioksidan (TAS) kit assay (Rel Assay Diagnostics)

Total oksidan (TOS) kit assay (Rel Assay Diagnostics)

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Deneme Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada kullanılan 49 hayvan, rastgele örnekleme ile 7'şerli olarak gruplara ayrıldı. Kafeslerde 3 veya 4 hayvan olacak şekilde taksimat yapıldı. Bu bağlamda çalışma grupları ve uygulanan yöntemler gruplara göre ayrıntılı bir şekilde aşağıda belirtildi.

**Kontrol Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara sadece gastrik gavaj (GG) ile fizyolojik tuzlu su uygulandı ve toplamda 48 saati takiben diğer gruplardaki hayvanlarla birlikte ötenazi edildi.

**CP Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara deneyin başlangıcında İP yolla 150 mg/kg CP verildi. Sakrifikasyona kadar başka bir uygulama yapılmayan bu gruptaki hayvanlar 48 saatlik toplam sürenin ardından ötenaziye alındı.

**CP+Mesna Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara ilk önce İP yolla 30 mg/kg Mesna uygulandı. Mesna uygulamasını takip eden 20. dakikada yine İP yolla 150 mg/kg CP verildi. CP uygulamasından 4 ve 8 saat sonra 30 mg/kg dozunda 2 Mesna uygulaması İP olarak tatbik edildi. İlk uygulamadan başlamak üzere 48 saat sonra hayvanlara ötenazi uygulandı.

**CP+EA50 Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara ilk önce GG yolla 50 mg/kg EA uygulandı. Takip eden 20. dakikada İP yolla 150 mg/kg CP verildi. CP uygulamasından 4 ve 8 saat sonra 50 mg/kg dozunda 2 kez daha GG yolla EA tatbik edildi. İlk uygulamadan başlamak üzere 48 saat sonra hayvanlara ötenazi uygulandı.

**CP+EA75 Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara ilk önce GG yolla 75 mg/kg EA uygulandı. Takip eden 20. dakikada İP yolla 150 mg/kg CP verildi. CP uygulamasından 4 ve 8 saat sonra 75 mg/kg dozunda 2 kez daha GG yolla EA tatbik edildi. İlk uygulamadan başlamak üzere 48 saat sonra hayvanlara ötenazi uygulandı.

**CP+Mesna+EA50 Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara ilk önce İP yolla 30 mg/kg Mesna uygulandı. Mesna uygulamasını takip eden 20. dakikada yine İP yolla 150 mg/kg CP verildi. CP uygulamasından 4 ve 8 saat sonra 50 mg/kg dozunda 2 kez daha GG yolla EA tatbik edildi. İlk uygulamadan başlamak üzere 48 saat sonra hayvanlara ötenazi uygulandı.

**CP+Mesna+EA75 Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara ilk önce İP yolla 30 mg/kg Mesna uygulandı. Mesna uygulamasını takip eden 20. dakikada yine İP yolla 150 mg/kg CP verildi. CP uygulamasından 4 ve 8 saat sonra 75 mg/kg dozunda 2 kez daha GG yolla EA tatbik edildi. İlk uygulamadan başlamak üzere 48 saat sonra hayvanlara ötenazi uygulandı.

### **2.2.2. Örneklerin Toplanması**

Deney sonunda hayvanlar 5 mg/kg Ksilazin HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl ile anesteziye alındı. Kıstırma, kas tonusları ve palpebral refleksler gözlenerek anestezi derinliği kontrol altında tutuldu. Anestezi altındaki tüm hayvanlardan intra kardiyak punksiyon ile enjektör yardımıyla alınan kan örnekleri jelli cam serum ve hemogram tüplerine alındı. Ratlardan alınan kanlar 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrılıp biyokimyasal ölçümler yapılmaya kadar -20°C sıcaklıkta saklandı.

### **2.2.3. Makroskopik Yöntem**

Kardiyak kan örneklemesinin ardından, hayat belirtileri sonlanan tüm ratlar nekropsiyeye alınarak mesaneleri cerrahi koşullara uygun olarak çevre dokulardan disseke edilerek çıkartıldı. Mesanenin serozası ve lümeni açılarak mukozal yüzü gözle görülür hemoraji, ödem, konjesyon ve hematüri açısından makroskopik olarak muayene edildi. Mesane kalınlığı ve doku bütünlüğü izlenimlerinin ardından resimlenen dokular %10'luk tamponlu nötral formalinde tespit edildi.

### **2.2.4. Histopatolojik Yöntem**

Formalin tespitindeki mesane örnekleri uygun büyüklükte küçültülerek doku takip kasetlerine alındı. Çeşme suyunda bir gece yıkanan dokular otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1020) düşükten-yüksek dereceli alkole olmak üzere (50, 70, 80, 96'lık ve absöüt alkol) dehidre edilip ksilolle şeffaf hale getirildi. Ksilollü parafin ve 56-58°C'de erimiş parafinde ikişer saat tutulan dokular parafinle bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica RM 2155) ile alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler su banyosu aracılığıyla lamlara alındı. Etüvde kurutulan kesitler ksilol serileri ile absöüt, 96, 80, 70 ve 50'lik alkollerden geçirilerek hematoksilen-eozin (HE) ile boyanıp (Luna, 1968) entallen yardımıyla lamelle kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda konjesyon, ödem, hemoraji, dejenerasyon, deskuamasyon ve inflamasyon açısından incelenerek 0'dan 6'ya kadar skorlandı. İzlenen bu bulguların yokluğu 0, varlığında ise hafiften şiddetliye doğru 1-6 arasında değerlendirildi. Gözlenen histopatolojik bulgular dijital kamera ile mikroskobik olarak görüntülendi.

### 2.2.5. Biyokimyasal Yöntem:

**Tas ölçümü:** Serum TAS düzeyleri Eliza ile Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Rel Assay Diagnostics) kullanılarak ölçüldü.

*Prensip:* İndirgenmiş 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotazolin-6-sulfonik asit (ABTS) molekülü asit ortamda (asetat tamponu, 30 mmol/L, pH: 3.6) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılarak ABTS•+ molekülüne okside edilir. Asetat tampon solüsyonunda, konsantre (koyu yeşil) ABTS•+ molekülü uzun süre dayanıklılığını korur. Yüksek pH'daki daha konsantre bir asetat tampon solüsyonu (asetat tamponu, 0.4 mol/L, pH: 5.8) ile dilüe edildiğinde, renk kendiliğinden yavaşça açılır. Örnekte bulunan antioksidanlar konsantrasyonları ile orantılı olarak renkteki açılmayı hızlandırır. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak izlenebilir ve renkteki açılma örnekteki total antioksidan kapasite ile ters orantılıdır. Reaksiyon hızı, total antioksidan kapasite ölçüm yöntemleri için geleneksel standart olarak kullanılan Trolox ile kalibre edilir. Ölçüm sonuçları mmol Trolox ekivalent/L olarak ifade edilir (Erel, 2004). *Deneyin yapılışı:* 250µl reaktif1+15 µl numune (standart) ile birlikte 30 saniye içinde 660 nm'de okundu. Okuması yapılan numune 38 µl reagent2 eklenerek 5 dakika 37°C'de etüvde shaker ile karıştırılarak inkübe edildi ve 660 nm'de okundu. *Hesaplama:* 3 dakika sonra okunan absorbanstan (A2), başlangıç absorbansı (A1) çıkarılarak her örnek/standart için ΔAbs değeri bulundu.

$$A2 - A1 = \Delta Abs \text{ (örnek/standart)}$$

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{AbsH}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})]}{[(\Delta\text{AbsH}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Standart})]}$$

Units= mmol/L

**Tos ölçümü:** Serum TOS düzeyleri Eliza ile Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Rel Assay Diagnostics) kullanılarak ölçüldü.

*Prensip:* Örnekte bulunan oksidanlar, Fe<sup>2+</sup>-o-dianisidine kompleksini Fe<sup>3+</sup> iyonuna okside eder. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile arttırılır. Fe<sup>3+</sup> iyonu asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli bir kompleks yapar. Renk şiddeti, örnekte bulunan oksidan moleküllerin miktarı ile orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Ölçüm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile kalibre edilir ve sonuçlar µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ekivalent/L olarak ifade edilir (Erel, 2005). *Deneyin yapılışı:* 250 µl reagent1+37,5 µl numune (standart) Abs 1530 nm'de okundu. Okuması yapılan numune 12,5 µl reaktif 25 dakika 37°C'e etüvde karıştırıcı üstünde inkübe edildi ve 530 nm'de Abs değeri okundu.

$$\text{Sonuç} = \frac{\Delta\text{Abs Örnekte}}{\Delta\text{Abs Standart}} \times \text{XCons. of Standart}$$

Units= µmol/ L

Cons. Of Standart= 10µmol/ L

### 2.2.6. İstatistiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 13,0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin ortalamaları ± standart hatalarıyla ifade edilmiştir. Elde edilen verilerin normallik testleri yapılmış ve gruplar arasındaki istatistiksel farkları saptamak için ANOVA testi, post-test olarak Duncan testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için p<0,05 olarak kabul edilmiştir (Özdamar, 2003).

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Klinik Bulgular

İlaç ve etken madde uygulamalarını takiben hayvanların kafes köşelerine çekildikleri ve bir süre bu şekilde kısıtlı hareket ettikleri izlendi. Adaptasyon dönemine kıyasla deney gruplarında su tüketiminin arttığı, yem tüketiminin ise az miktarda düştüğü dikkati çekti. CP grubundaki hayvanlar elle tutulduğunda daha da yoğunlaşan hematurî gözleniyordu.

#### 3.2. Makroskobik Bulgular

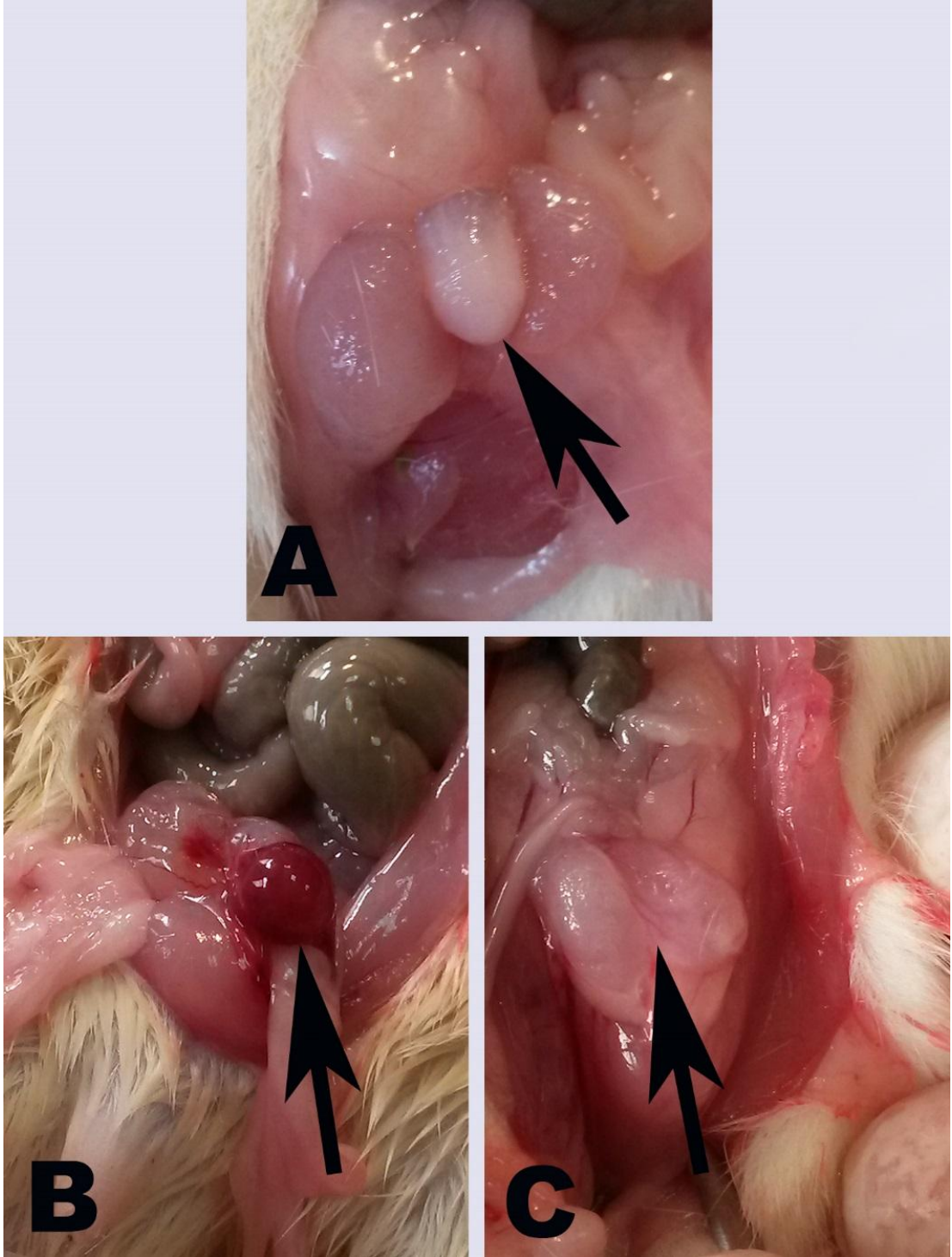
Çalışma gruplarına ait mesane örneklerinde gözlenen makroskobik bulgular gruplara göre aşağıda sunulmuş ve makroskobik resimlerle desteklenmiştir.

**Kontrol Grubu:** Gastrik gavaj ile sadece fizyolojik tuzlu su uygulanan bu gruba ait hayvanların mesanelerinde herhangi bir makroskobik bulgu izlenmedi (Şekil 3A).

**CP Grubu:** İntraperitoneal yolla 150 mg/kgCP uygulanan bu gruba ait hayvanların mesane duvarlarında kalınlaşma, hem serozal hem de mukozal yüzeyde kanamalı görünüm ve lümende kısmen pıhtılaşmış kan kitlesi gözlendi (Şekil 3B).

**CP+Mesna Grubu:** İntraperitoneal yolla CP ve Mesna uygulanan bu gruptaki hayvanların mesaneleri makroskobik olarak, Kontrol grubu hayvanları ile benzerlik gösteriyordu (Şekil 3C).





**Şekil 3.** CP, Kontrol ve CP+Mesna gruplarındaki ratlarda mesane makroskobisi.

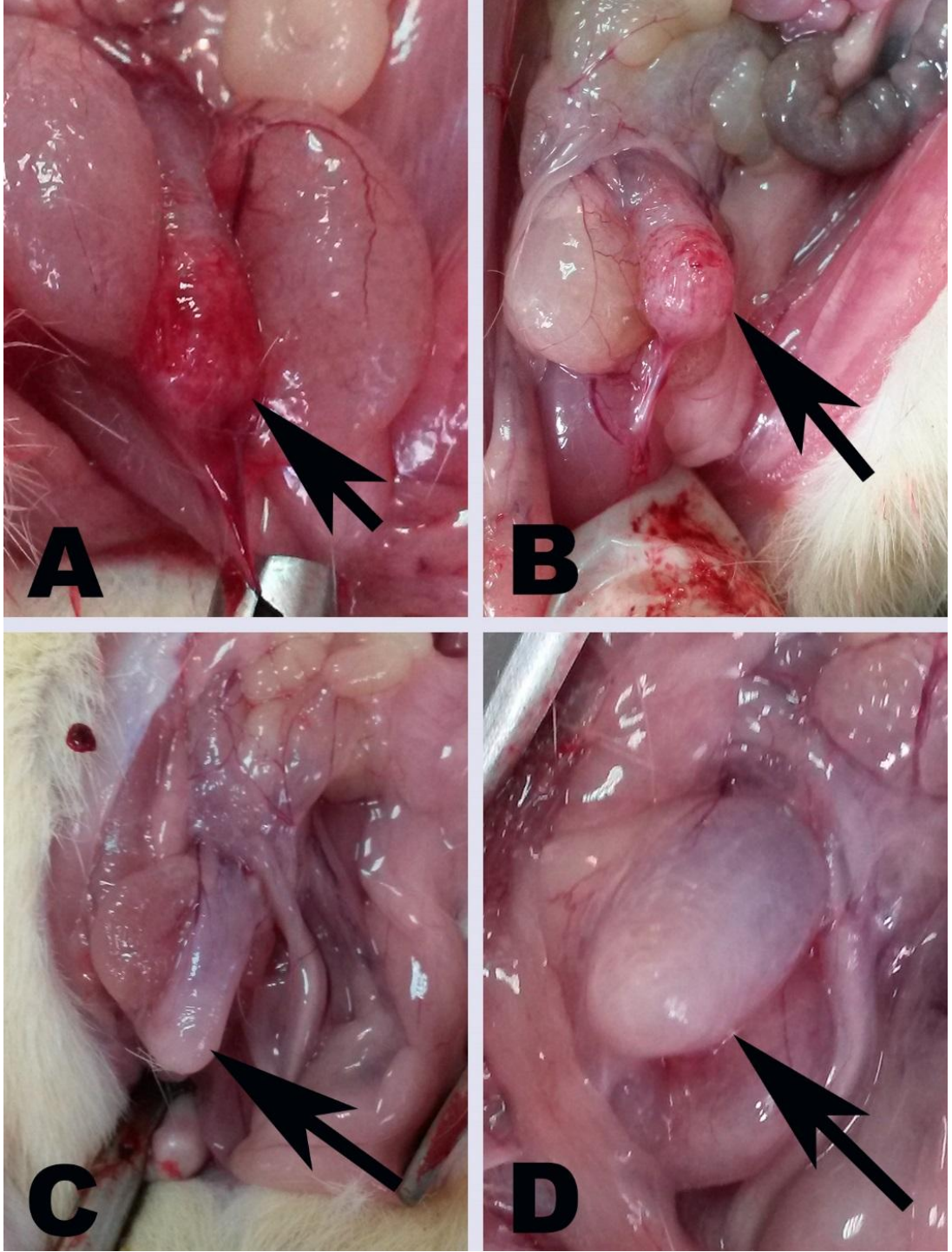
**A-Kontrol Grubu:** Normal mesanenin makroskobik görünümü. **B-CP Grubu:** Mesane duvarında kalınlaşma, serozada hemorajik görünüm. Mesane lümeni açıldığında kısmen pıhtılaşmış kan ve mukozal hemoraji gözlendi. **C-CP+Mesna Grubu:** Kontrol grubuna benzer görünümde mesane.

**CP+EA50 Grubu:** İnteraperitoneal yolla CP ve GG yolla düşük doz EA verilen bu gruptaki hayvanların mesaneleri Kontrol grubu ile kıyaslandığında mesane duvarının daha kalın olduğu ve hem serozal, hem mukozal hem de lüminal hemorajik görünümün CP grubuna nazaran daha hafif seyrettiği gözlemlendi (Şekil 4A).

**CP+EA75 Grubu:** İnteraperitoneal yolla CP ve GG yolla yüksek doz EA verilen bu gruptaki hayvanların mesane bulguları CP+EA50 grubundaki hayvanların mesane bulgularına nazaran daha hafif seyretmekle birlikte büyük oranda bu grupla benzerlik göstermekteydi (Şekil 4B).

**CP+Mesna+EA50 Grubu:** İnteraperitoneal yolla CP, Mesna ve GG yolla düşük doz EA verilen bu gruptaki hayvanların mesane bulguları CP grubuna kıyasla oldukça hafif şekillenmişti. Lezyonlar CP+EA50 ve CP+EA75 gruplarında şekillenen lezyonlara kıyasla da oldukça selimdi (Şekil 4C).

**CP+Mesna+EA75 Grubu:** İnteraperitoneal yolla CP, Mesna ve yüksek doz EA verilen bu gruptaki hayvanların mesane bulguları CP grubuna kıyasla oldukça hafif şekillenmişti. Lezyonlar, CP+EA50 ve CP+EA75 gruplarının yanı sıra CP+Mesna+EA50 grubunda gözlenen lezyonlardan da daha hafifti. Ancak Kontrol grubu ve CP+Mesna grubuna kıyasla tam bir doku bütünlüğü gözlenmedi (Şekil 4D).



**Şekil 4.** CP+EA50, CP+EA75, CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki ratlarda mesane makroskobisi.

**A-CP+EA50Grubu:** Mesane duvarında kontrol grubuna göre daha kalın görünüm ve serozal hemoraji. Mesane lümeni açıldığında mukozal hemoraji de mevcuttu. **B-CP+EA75Grubu:** Mesane lezyonları CP+EA50 grubuna benzerdi ancak daha hafif şekillenmişti. **C-CP+Mesna+EA50Grubu:** Mesna almayan önceki iki gruba kıyasla mesanedeki hemorajik ve ödematöz lezyonlar oldukça azalmıştı. **D-CP+Mesna+EA75Grubu:** Makroskobik olarak Kontrol ve CP+Mesna gruplarına oldukça benzer görünümde mesane. Çalışma grupları içerisinde en iyi makroskobik sonuçlar bu grupta gözlemlendi.

**Tablo 3.** Çalışma Gruplarındaki Histopatolojik Parametreler

Gruplar	İnflamasyon	Ödem	Dejenerasyon	Deskuamasyon	Konjesyon	Hemoraji
<b>Kontrol</b>	0±0 <sup>c</sup>	0±0 <sup>e</sup>	0±0 <sup>c</sup>	0±0 <sup>e</sup>	0, 17±0, 167 <sup>e</sup>	0±0 <sup>c</sup>
<b>CP</b>	4, 33±0, 558 <sup>a</sup>	5, 5±0, 224 <sup>a</sup>	5, 17±0, 307 <sup>a</sup>	5, 17±0, 307 <sup>a</sup>	3, 33±0, 333 <sup>a, b</sup>	5±0, 447 <sup>a</sup>
<b>Cp+M</b>	1, 5±0, 719 <sup>a, b</sup>	2, 33±0, 494 <sup>d</sup>	2, 33±0, 558 <sup>b</sup>	1±0, 516 <sup>c, d, e</sup>	2, 5±0, 224 <sup>c</sup>	0±0 <sup>c</sup>
<b>Cp+50</b>	3, 17±0, 307 <sup>a</sup>	4, 83±0, 477 <sup>a, b</sup>	2, 83±0, 477 <sup>b</sup>	1, 5±0, 342 <sup>c</sup>	4±0 <sup>a</sup>	4, 83±0, 477 <sup>a</sup>
<b>Cp+75</b>	3, 33±0, 715 <sup>a</sup>	4±0, 258 <sup>b, c</sup>	2, 83±0, 543 <sup>b</sup>	2, 5±0, 5 <sup>b</sup>	2, 83±0, 307 <sup>b, c</sup>	3, 5±0, 428 <sup>b</sup>
<b>Cp+M+50</b>	1, 67±0, 422 <sup>a, b</sup>	3±0, 683 <sup>c, d</sup>	1±0, 258 <sup>c</sup>	1, 33±0, 211 <sup>c, d</sup>	2, 33±0, 211 <sup>c</sup>	2, 33±0, 76 <sup>b</sup>
<b>Cp+M+75</b>	0, 67±0, 333 <sup>b, c</sup>	2±0, 683 <sup>d</sup>	0, 5±0, 224 <sup>c</sup>	0, 33±0, 211 <sup>d, e</sup>	1, 5±0, 224 <sup>d</sup>	0, 33±0, 333 <sup>c</sup>

Tüm değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel farklılık vardır. P<0.05

### 3.3. Histopatolojik Bulgular

Çalışma gruplarına ait mesane örneklerinde değişen derecelerde konjesyon, ödem, hemoraji, dejenerasyon, deskuamasyon ve inflamasyon gözlemlendi (Tablo 3).

Çalışmada tüm gruplarda gözlenen lezyonların ışık mikroskopik görünüşleri ayrı başlıklar halinde grup kıyaslamaları yapılarak verilmiş, bu veriler grupları yansıtacak mikroskopik resimlerle de (Resim 5-7) desteklenmiştir.

**Konjesyon:** Çalışmada konjesyon düzeyi CP ve CP+EA50 grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Diğer tüm gruplarda konjesyon düzeyi anlamlı olarak azalmış, CP+Mesna+EA75 grubunda ise en düşük konjesyon düzeyi tespit edilmiştir.

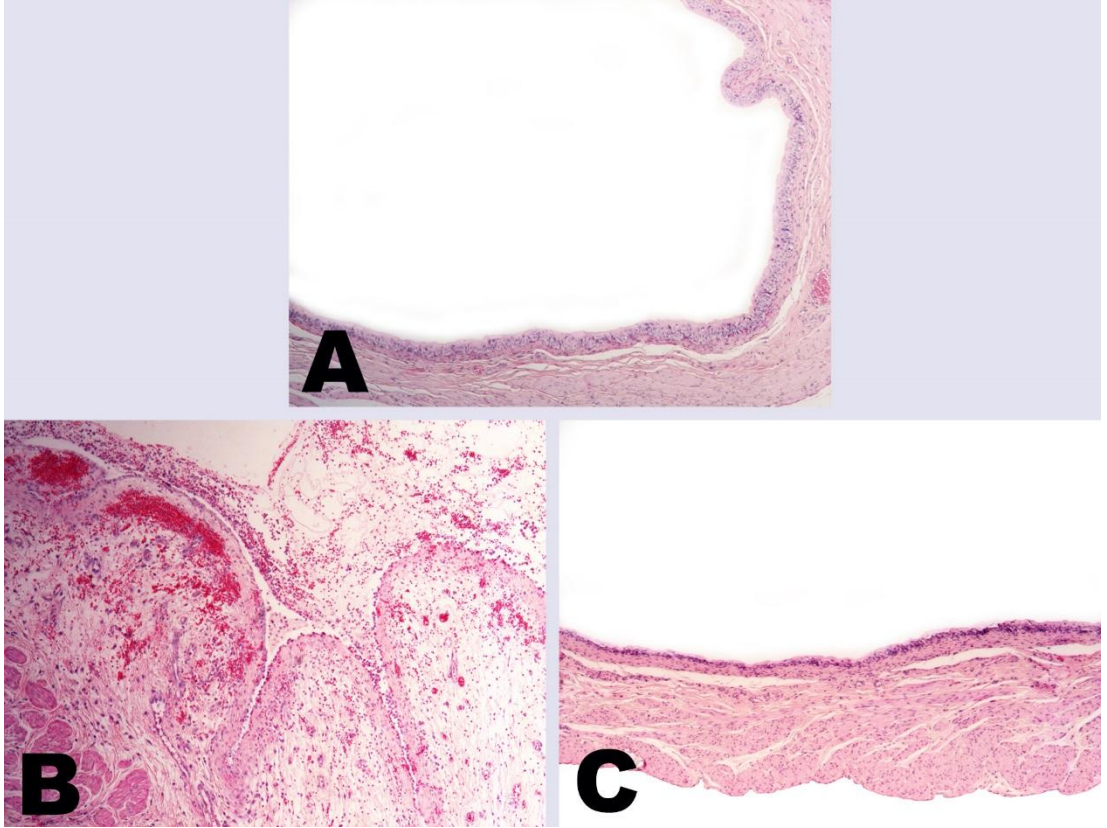
**Ödem:** Çalışmada CP'in mesanede Kontrol grubuna göre şiddetli ödeme neden olduğu görülmektedir. CP+EA50 grubunda uygulanan protokolün CP'nin neden olduğu ödemin önlenmesinde yetersiz olduğu izlenmiştir. Diğer yandan CP+Mesna, CP+EA75, CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki protokolün CP'nin neden olduğu ödemin azaltılmasında başarılı olduğu izlenmiştir.

**Hemoraji:** Çalışmada CP ve CP+EA50 gruplarında hemoraji düzeyinin diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak arttığı izlenmiştir. Oluşan hemorajinin engellenmesinde en iyi protokolün CP+Mesna ve CP+Mesna+EA75 gruplarında olduğu görülmüştür.

**İnflamasyon:** Çalışmada CP'in mesanede inflamasyonu anlamlı olarak arttırdığı ve CP'in neden olduğu inflamasyonun azaltılmasında CP+EA50 ve CP+EA75 gruplarındaki protokolün yetersiz olduğu görülmüştür. Bununla birlikte CP+Mesna, CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarında CP'nin oluşturduğu inflamasyonun anlamlı olarak azaldığı ve hatta CP+Mesna+EA75 grubunda Kontrol grubu düzeyine düştüğü görülmüştür.

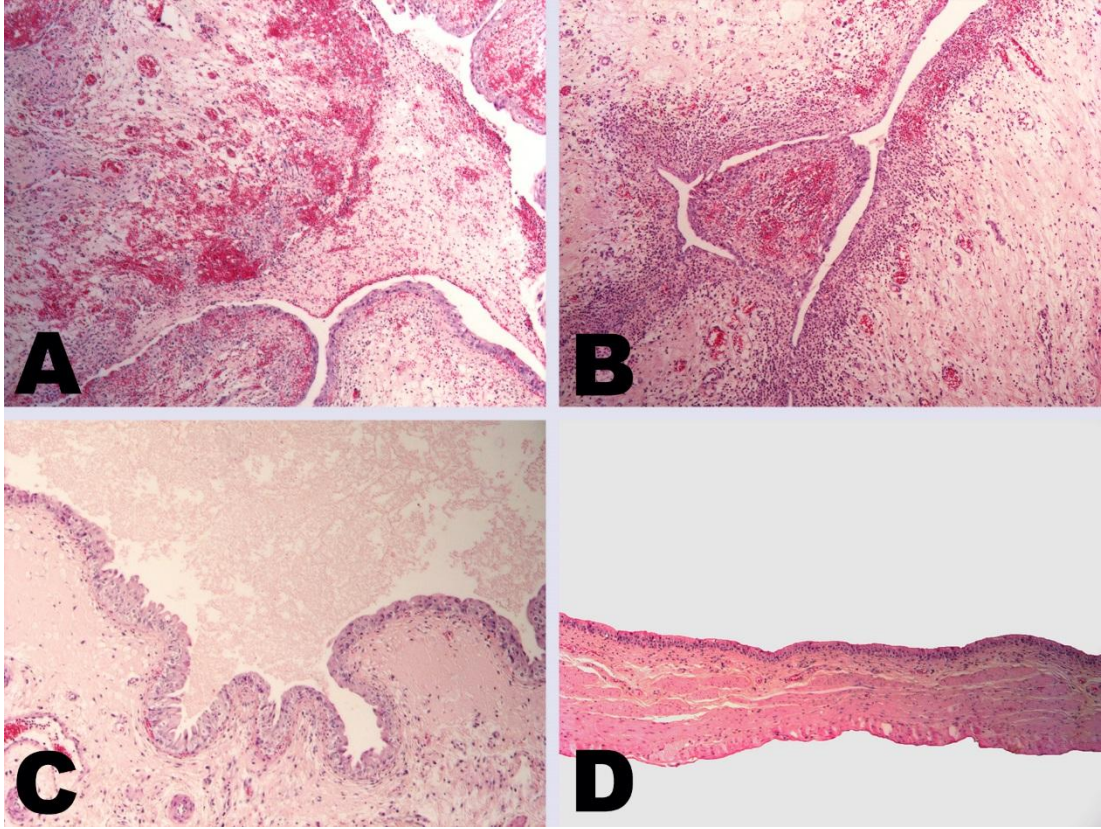
**Dejenerasyon:** CP'in Kontrol grubuna göre şiddetli dejenerasyona neden olduğu görülmüştür. Oluşan dejenerasyonun önlenmesinde diğer tüm deneme gruplarında uygulanan protokoller başarılı olmuş, ancak, en başarılı sonuçların CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarına ait protokoller olduğu izlenmiştir. Hatta bu iki grupta dejenerasyon düzeyinin Kontrol grubu düzeyine çekildiği görülmüştür. CP+Mesna grubunda epitel bütünlüğü korunmakla birlikte belirgin atipi izlenmiştir.

**Deskuamasyon:** CP'nin Kontrol grubuna göre şiddetli deskuamasyona neden olduğu izlenmiştir. CP sonucu oluşan deskuamasyonun diğer tüm deneme gruplarında anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Deskuamasyonun önlenmesinde en başarılı sonuçların CP+Mesna ve CP+Mesna+EA75 gruplarına ilişkin protokoller olduğu izlenmiştir. Bu gruplarda deskuamasyon düzeyi Kontrol grubu seviyesine inmiştir.



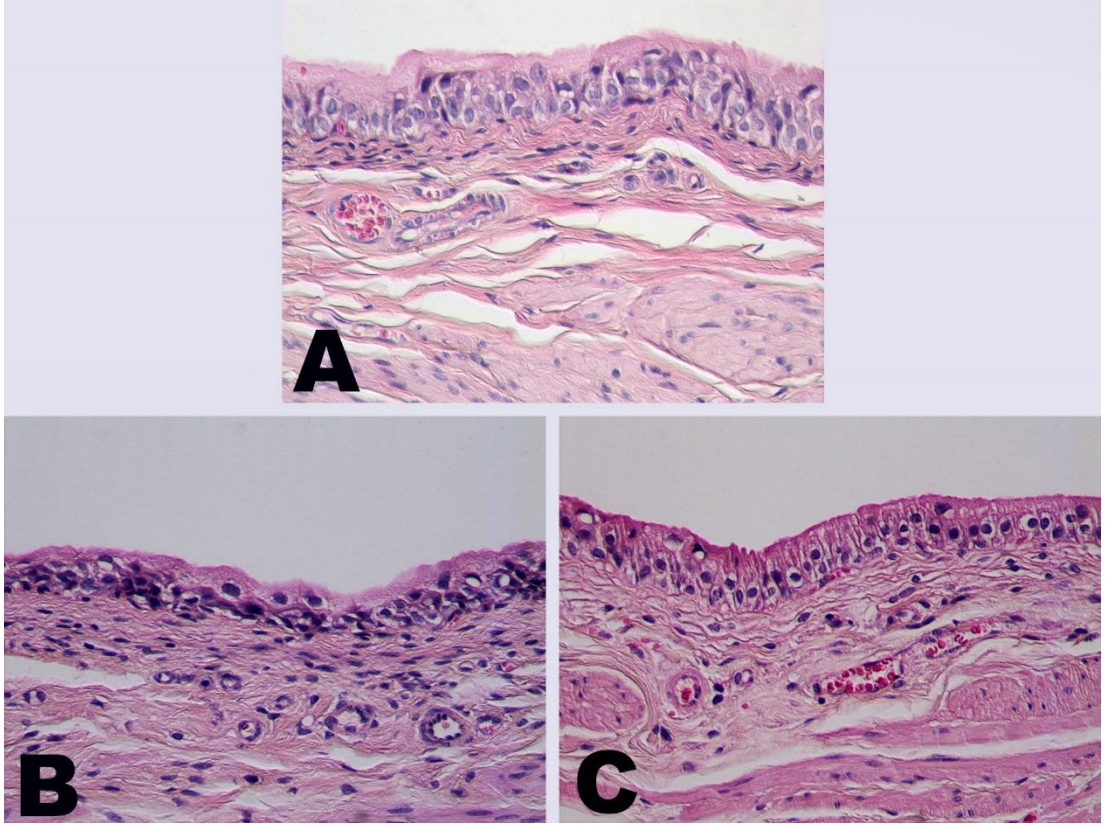
**Şekil 5.** CP, Kontrol ve CP+Mesna gruplarındaki ratlarda mesane histolojisi.

Sunulan resimler hematoksin-eozin ile boyanmış olup, orijinal büyütme x4'tür. **A-Kontrol Grubu:** Normal mesane epiteli. **B-CP Grubu:** Mesanede şiddetli konjesyon, hemoraji, ödem, yangı, dejenerasyon ve deskuamasyon. **C-CP+Mesna Grubu:** Hafif displazi sergileyen normal sınırlar içerisindeki mesane.



**Şekil 6.** CP+EA50, CP+EA75, CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki ratlarda mesane histolojisi.

Sunulan resimler hematoksilin-eozin ile boyanmış olup, orijinal büyütme  $\times 4$ 'tür. **A-CP+EA50 Grubu:** CP grubuna göre biraz daha hafif şiddette konjesyon, hemoraji, ödem, yangı, dejenerasyon ve deskuamasyon. **B-CP+EA75 Grubu:** CP+EA50 grubuna göre biraz daha hafif şiddette konjesyon, hemoraji, ödem, yangı, dejenerasyon ve deskuamasyon. **C-CP+Mesna+EA50 Grubu:** Epitel bütünlüğü korunmuş, hafif konjesyone ve ödematöz mesane. **D-CP+Mesna+EA75 Grubu:** Kontrol grubuna benzer histolojiye sahip mesane.



**Şekil 7.** Kontrol, CP+Mesna ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki ratlarda mesane histolojisi. Sunulan resimler hematoxilen-eozin ile boyanmış olup orijinal büyütme x20'dir. **A-Kontrol Grubu:** Normal mesane epiteli. **B-CP+Mesna Grubu:** Bütünlüğü korunmakla birlikte atipi sergileyen mesane epiteli. **C-CP+Mesna+EA75 Grubu:** Hem bütünlüğü korunmuş hem de normal limitler içerisindeki mesane epiteli.

### 3.4. Biyokimyasal Bulgular

Çalışmada kan numunelerinde TAS ve TOS değerleri incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4'de sunulmuştur. TAS değerleri Kontrol grubuna kıyasla CP ve CP+EA75 gruplarında istatistiksel önemde azalmıştır. CP+M, CP+EA50 ve CP+M+EA50 gruplarında TAS seviyesinin Kontrol grubu seviyesinde olduğu ve CP ve CP+EA75 gruplarına oranla önemli ölçüde arttığı izlenmiştir. CP+M+EA75 grubu TAS seviyesinde istatistiksel önem arz etmeyen bir azalma görülmüştür. Elde ettiğimiz TOS sonuçları incelendiğinde, CP grubunda diğer tüm çalışma gruplarına oranla TOS düzeyinin istatistiksel oranda artırdığı izlenmiştir.



**Tablo 4.** Çalışma Gruplarındaki TAS ve TOS Düzeyleri.

	<b>TAS</b>	<b>TOS</b>
<b>Kontrol</b>	0, 69±0, 12 <sup>a</sup>	8, 32±0, 58 <sup>b</sup>
<b>Cp</b>	0, 54±0, 03 <sup>b</sup>	14, 43±4, 35 <sup>a</sup>
<b>CP+Mesna</b>	0, 67±0, 09 <sup>a</sup>	10, 06±1, 45 <sup>b</sup>
<b>CP+EA50</b>	0, 67±0, 09 <sup>a</sup>	10, 17±2, 52 <sup>b</sup>
<b>CP+EA75</b>	0, 52±0, 08 <sup>b</sup>	8, 82±2, 27 <sup>b</sup>
<b>CP+Mesna+EA50</b>	0, 67±0, 07 <sup>a</sup>	7, 29±1, 31 <sup>b</sup>
<b>CP+Mesna+EA75</b>	0, 59±0, 12 <sup>a, b</sup>	8, 09±1, 46 <sup>b</sup>

Tüm değerler, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel farklılık vardır. P<0.05.

#### 4. TARTIŞMA

Tedavisi oldukça zor olan HS, çok sayıda nedene bağı olarak gelişen bir komplikasyon olup oluşumunda ilk sırayı CP ve İF'in kullanıldığı kemoterapi uygulamaları almaktadır (deVries ve Freiha, 1990). CP'in metaboliti olan akrolein'in ürotelyuma iritan etkisinde (Cox, 1979) kısmen ROT ve RNT türevleri de sorumludur (Halliwell, 1991). Hasar antioksidan savunma sistemlerinin tüketilmesine ilgilidir (Virág ve ark., 2003). Tedavide rutin olarak Mesna (2-merkaptioethan sodyum sulfonat) kullanılır ve iyi tolere edilen bu ajanın kemoterapötik etkiyi azaltmadığı görüşü hakimdir (Soysal, 2004). Ancak, Mesnanın bazı klinik, makroskobik ve mikroskobik semptomları gideremediğinden (Gressier ve ark., 1995) ve ayrıca, bazı yan etkilerinin de mevcudiyetinden bahsedilmektedir. Bu yan etkilerden bazıları deride alerjik reaksiyon, dermatozis ve hipersensitivitedir (Khaw ve ark., 2007; Dorris ve ark., 2011; Lin ve Keefe 2012).

Geçmişte CP-ilişkili HS'den korunma ve tedavi için çeşitli klasik seçenekler denenmiş, ancak her hasta için aynı oranda etki ve başarı sağlanamamıştır (Ballen ve ark., 1999). Güncel çalışmalarda ise hem oksidan-antioksidan dengeyi koruma hem de HS'e bağı gelişen semptomları giderme yada en aza indirme (Vieira ve ark., 2004; Keles ve ark., 2014) ve dolayısıyla da hastaların bedensel ve ruhsal olarak günlük yaşama uyumunu güçlendirme amaçlanmaktadır.

Yapılan literatür taramalarında CP kaynaklı HS'den koruma ve tedavide EA'in kullanıldığı herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, kuvvetli antioksidan özellikleri birçok araştırmada (Priyadarsini ve ark., 2002; Seeram ve ark., 2005; Bakkalbaşı ve ark., 2009) gösterilmiş olan EA'in ratlarda CP ile indüklenmiş HS'de koruyucu etkileri patolojik ve biyokimyasal açıdan incelenmiştir. Böylece EA'in CP ile indüklenen HS'de oluşan semptomları önleyici/giderici etkilerinin gözlenebileceği kontrollü bir düzenek inşa edilmiştir.

Bu çalışmada CP'in klinik uygulama dozu olan 150 mg/kg dozu benimsenmiş ve yine klinik uygulama sıklığı nedeniyle İP uygulama yolu tercih edilmiştir. Siklofosfamidin neden olduğu mesane hasarına karşı EA'in etkisini görebilmek için 3 kontrollü bir çalışma düzeneği oluşturulmuştur. Çalışmada Kontrol grubundaki hayvanlara sadece GG yolla fizyolojik tuzlu su (Kontrol), CP Grubundaki hayvanlara ise İP yolla sadece CP verilmiştir (Negatif Kontrol). Çalışmada sadece fizyolojik tuzlu su verilen Kontrol grubundaki ratların mesanelerinde herhangi bir makroskobik ve mikroskobik bulguya rastlanmazken, sadece CP verilen ratların mesanelerindeki hemorajinin hem makroskobik hem de mikroskobik olarak yüksek düzeyde izlenmesi oluşturulan deney modelinin başarılı olduğunu göstermiştir. CP grubunda, hemorajiye ek olarak ödem, deskuamasyon, inflamasyon, dejenerasyon ve konjesyonda makroskobik ve mikroskobik olarak izlenmiştir. Çalışmada CP'e karşı Mesna'nın önleyici ya da tedavi edici etkisini görmek için CP+Mesna grubu (Pozitif Kontrol) oluşturulmuştur. Siklofosfamid ilişkili HS'de Mesna uygulamasının kemoterapötik ajandan, İP yolla 20 dk önce, oral yolla ise 60 dk önce verildiğinde etkili protokol elde edildiği kabul edilmektedir (Brock ve ark., 1981). CP+Mesna grubundaki ratların makroskobik mesane bulgularının Kontrol grubuyla benzer olduğu gözlenmiştir. Histopatolojik incelemede Mesnanın CP'in neden olduğu inflamasyon, ödem, dejenerasyon, deskuamasyonun ve hemorajinin engellenmesinde başarılı olduğu, özellikle de inflamasyon, dejenerasyon ve deskuamasyon seviyelerini Kontrol grubu seviyesine çektiği gözlenmiştir. Bu bulgular pozitif kontrolünde başarısına işaret etmiştir.

Afyonkarahisar ve yöresinde halk arasında hemoroid ve çeşitli yaralara karşı kullanılan böğürtlen kökü EA içeriği bakımından zengindir. Epitel ve damarlar üzerine pozitif etkileri bulunan EA'in (Cliffon ve ark., 1966; Ratnoff ve ark., 1993; Süntar ve ark., 2011) CP uygulamasına bağlı gelişen semptomları azaltabileceği öngörüsüyle CP+EA50 ve CP+EA75 grupları oluşturulmuştur. Makroskobik incelemelerde CP+EA50 grubundaki ratların mesane duvar kalınlığı, serozal ve mukozal yüzey ile lüminal hemorajik görünümün CP grubuna nazaran daha hafif seyrettiği gözlenmiştir. Mikroskobik incelemede CP-ilişkili inflamasyon, konjesyon, ödem ve hemorajiyi azaltmakta yetersiz kalan 50mg/kg EA, dejenerasyon ve

deskuamasyon konusunda kısmen başarılı bulunmuştur. Büyük oranda bu gruba benzemekle birlikte CP+EA75 grubunda gözlenen makroskobik bulguların daha hafif seyrettiği izlenmiştir. Mikroskobik incelemede inflamasyonun önlenmesinde yetersiz olduğu gözlenen 75mg/kg EA, konjesyon, ödem ve dejenerasyonun önlenmesinde başarı kaydetmiştir.

Yapılan bazı alternatif araştırmalarda, etken maddeler tek başına ve ayrıca öncü akrolein hasarından koruma gayesiyle Mesna ile kombine uygulanmış ve bu uygulamalardan başarılı sonuçlar elde edildiği ifade edilmiştir (Vieira ve ark., 2004). Buradan yola çıkılarak çalışmamızda CP+Mesna+EA50 ve CP+Mesna+EA75 grupları oluşturulmuştur. Çalışmamızda, Mesna+EA kombinasyonlarında gözlenen makroskobik ve mikroskobik mesane bulgularının oldukça hafif olduğu, 75mg/kg EA grubunda ise tatminkâr seviyelere ulaştığı izlenmiştir. Dejenerasyon, deskuamasyon, konjesyon ve hemorajiyi önlemede oldukça başarılı olan bu son grupta inflamasyon ve ödemin Kontrol grubu seviyelerine çekildiği görülmüştür.

Kilic ve ark. (2016), CP ilişkili HS modelinde, Ankaferd ve epinefrin uygulamışlar ve elde ettikleri sonuçlar ışığında her iki ajanında konjesyon ve ödemi önlemede etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Xu ve Malavé (2001), Berberin ile yaptıkları CP ilişkili HS modelinde etken maddenin artan dozlarında mesane ödemi ve hemorajiyi tamamen bloke ettiğinden bahsetmişlerdir. Santos ve ark. (2010) *Mandevilla velutina* bitkisinin aktif içeriklerinin, CP-ilişkili mesane hemorajisi ve ağırlık artışıını inhibe ettiğini ifade etmişlerdir. Keles ve ark. (2014), Resveratrol'ün farklı dozları ile yaptıkları çalışmada, etken maddenin konjesyon, ödem ve hemorajiyi önlemede etkin olduğunu, ancak, bu etkinin Mesna'ya göre zayıf kaldığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda CP ve düşük doz EA uygulamalarında konjesyon, ödem ve hemorajinin artmış olduğu; yüksek doz EA, Mesna ve Mesna-EA kombinasyonlarında ise bu lezyonların şiddetlerinin düşük olduğu izlenmiştir. Bu sonuçlar konjesyon ve ödeme karşı EA'in yüksek dozlarda pozitif etkilerine işaret etmektedir. Hatta yüksek doz EA ile Mesna kombinasyonunda Kontrol grubu seviyesinde sonuçlar elde edilmesi konjesyon ve ödemi önleme konusunda bu ikili kombinasyonun başarısına işaretir. Ancak hemorajinin engellenmesinde Mesna ve

Mesna-yüksek doz EA'in sağladığı yüksek başarıya diğer grupların erişemediği görülmüştür.

Santos ve ark. (2010), *Mandevilla velutina* bitki içeriklerinden biri olan MV8608'nin mesanede polimorf hücre birikimini inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Hamsa ve Kuttan (2011) ise *Ipomoea obscura* bitkisinin proinflamatuvar sitokinler üzerinden antiinflamatuvar etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Boeira ve ark. (2011) CP'in indüklediği HS modelinde *Phyllanthus niruri* bitkisinin anti-inflamatuvar sonuçlarından bahsetmişlerdir. Bizim çalışmamızda CP'in neden olduğu inflamasyonun azaltılmasında EA'in etkisinin var olduğu, ancak, Mesna kombinasyonlarına göre biraz daha zayıf kaldığı görülmüştür. Ayrıca, CP-Mesna-EA75 uygulamasında inflamasyonun Kontrol grubu düzeyine düşmesi, Mesna ve yüksek doz EA kombinasyonunun daha etkili olduğunu göstermektedir.

Siklofosamid ilişkili HS modelinde Ankaferd ve epinefrin'in nekroz ve ülserasyonu önlemede etkili olduğu ortaya konmuş, epitel rejenerasyonunda ise Ankaferd daha başarılı bulunmuştur (Kilic ve ark., 2016). *Curcuma longa*'nın bir ekstraksiyon ürünü olan Curcumin'in, CP kaynaklı HS'de üretelyal koruyucu özellikte olduğu belirlenmiştir (Arafa, 2009). Çalışmamızda, CP'e bağlı şiddetli dejenerasyonun önlenmesinde tüm deneme grupları başarılı olmuştur. En fazla başarı CP-Mesna-EA50 ve CP-Mesna-EA75 uygulamalarında görülmüştür. Deskuamasyonun önlenmesinde ise Mesna ve Mesna-EA75 kombinasyonundan en fazla başarı elde edilmiştir. Bu sonuçlar, CP-ilişkili mesane epitel dejenerasyonunun elimine edilmesinde EA'in tek başına kısmen yetersiz kaldığını ve Mesna ile kombinasyonlarının daha başarılı olabileceğini göstermiştir. Deskuamasyonun önlenmesinde ise yüksek doz EA'in Mesna ile kombine uygulanması daha başarılı kaydedilmiştir. Sadece Mesna uygulanan gruptaki hayvanların mesane epitellerinin dejenerasyon ve deskuamasyon gibi CP-ilişkili patolojilerden korunmuş olduğu, ancak, epiteldeki histolojik görünümün normal morfoloji dışında atipik seyrettiği dikkate şayan bulunmuş, konunun detaylıca irdelenme gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Hemorajik sistitise karşı kullanılan Ankaferdin içerdiğinde bulunan *Alpinia oppicinarrum* (Matsuda ve ark., 2006), *Vitis vinifera* (Bagchi ve ark., 1999; Zhao ve ark., 1999) ve *Timus vulgaris*'in antioksidan etki gösterdiğ ve lipid peroksidasyonunu engellediğı belirlenmiştir (Lee ve ark., 2005). *Curcuma longa*'nın bir ekstraksiyon ürünü olan Curcumin'in CP kaynaklı HS'de üretilen koruyucu etkisiyle birlikte antioksidan özelliklerde sergilediğı ifade edilmiştir (Arafa, 2009). Boeira ve ark. (2011), CP'in indüklediğı HS modelinde *Phyllanthus niruri* bitkisinin hidro-alkolik ekstresinden yüksek anti-oksitatif ve anti-inflamatuar sonuçlar elde etmişler ve CP'nin toksik etkilerinin yanı sıra Mesna'nın yan etkilerine karşı da bu ekstreyi önermişlerdir. Çalışmamızda kan numunelerinde TAS ve TOS değerleri incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4'de sunulmuştur. TAS değerleri Kontrol grubuna kıyasla CP ve CP-EA75 gruplarında istatistiksel önemde azalmıştır. CP-Mesna, CP-EA50 ve CP-Mesna-EA50 gruplarında TAS seviyesinin Kontrol grubu seviyesinde olduğu ve CP ve CP+EA75 gruplarına oranla önemli ölçüde arttığı izlenmiştir. CP+Mesna+EA75 grubu TAS seviyesinde istatistiksel önem arz etmeyen bir azalma görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar, CP, CP+EA75 ve CP+Mesna+EA75 gruplarındaki TAS düzeylerinin Kontrol, CP-Mesna, CP-EA50 ve CP-Mesna-EA50 kombinasyonlarına göre yetersiz olduğunu göstermektedir. Buna karşılık düşük doz EA'in hem CP ile birlikte uygulandığında hem de CP-Mesna-EA kombinasyonunda başarılı bir antioksidan özellik sergilediğı gözlenmiştir. TOS sonuçları incelendiğinde, CP grubunda diğer tüm çalışma gruplarına oranla TOS düzeyinin istatistiksel oranda artması CP'in toksik etkisini doğrular niteliktedir.

Ellajik asitin, serbest radikal süpürücü ve lipid peroksidasyonunu önleyici etkileri ortaya konmuştur (Iino ve ark., 2001). Khanduja ve ark. (1999), farelerde yaptıkları bir çalışmada EA'in lipid peroksidasyonunu azaltma ve glutatyonu arttırmada kuersetinden daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Pari ve Sivasankari (2008), karaciğerde Siklosporin ile indüklenen oksidatif hasarı önlemede EA'in önemli bir rol oynayabileceğini bildirmişlerdir. Anılan bu çalışmada, tiobarbitürik asit reaktif substans düzeyleri ve hidroperoksidlerin önemli derecede azalmasının ve enzimatik-nonenzimatik antioksidan düzeylerinin artmasının koruyucu etkiden sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. Devipriya ve ark. (2007), ise alkole bağlı

olarak yükselmiş olan tiobarbitürik asit reaktif substans ve NO düzeylerinin EA'in etkisiyle önemli derecede azaldığını ve hatta normale yakın düzeylere indiğini bildirmişlerdir. Kaya ve ark. (2015), Piridin verilen erkek sıçanlarda kontrol grubuna göre TAS seviyelerinde azalma, TOS seviyelerinde önemli oranda artma gözlemlenmişler ve EA'in Piridin tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiğinden bahsetmişlerdir. Rehman ve ark. (2012), ratlarda CP'in neden olduğu renal oksidatif stres ve genotoksisiteye karşı EA'in önemli bir rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamızda TAS değerleri incelendiğinde, Kontrol grubuna göre CP ve CP+EA75 gruplarında TAS seviyesinin istatistiksel önemde azaldığı kaydedilmiştir. CP+M, CP+EA50 ve CP+M+EA50 gruplarında TAS seviyesinin Kontrol grubu seviyesinde olduğu ve CP ve CP+EA75 gruplarına oranla önemli ölçüde arttığı izlenmektedir. CP+M+EA75 grubunda ise TAS seviyesinde istatistiksel önem arz etmeyen bir azalma görülmektedir. TAS seviyelerinden elde edilen sonuçlar incelendiğinde CP uygulamasının TAS seviyesini önemli düzeyde azalttığı görülmektedir. Bu bulgu CP'in neden olduğu oksidatif stres tablosunu gösteren çalışmalarla paralellik arz etmektedir. Diğer yandan pozitif Kontrol grubunu oluşturan Mesna, CP'in neden olduğu oksidatif hasarı düzeltmiş ve TAS değerini Kontrol grubu seviyesine yükseltmiştir. Bununla birlikte EA verilen gruplar incelendiğinde CP'in neden olduğu TAS değerindeki azalmanın, hem tek başına 50 mg/kg EA uygulamasıyla hemde Mesna ile kombine edilen 50 mg/kg EA uygulamasıyla önüne geçilmiş ve bu gruplarda total antioksidan statü Kontrol grubu seviyesine yükselmiştir. Ayrıca, hem tek başına, hemde Mesna ile kombine edilen 75 mg/kg EA uygulamasının CP nedeniyle azalan TAS seviyesini regüle etmede de başarısız olduğu izlenmiştir.

Elde ettiğimiz TOS sonuçları incelendiğinde, CP grubunda diğer tüm çalışma gruplarına oranla TOS düzeyinin istatistiksel oranda artırdığı izlenmiştir. Bu bulgu, CP uygulamasının total oksidan statüyü artırdığını ifade etmekte ve oksidatif stres tablosunu ortaya koymakta olup diğer yandan EA uygulanan gruplarda oksidan üretiminin baskılandığını göstermektedir.

## 5. SONUÇ

Çalışmada EA'in 50mg/kg ve 75mg/kg dozlarının tek başına uygulandığı gruplarda CP grubuna göre mesane histopatolojisinin oldukça korunmuş olduğu, ancak, bu korunmanın Mesna ve EA+Mesna kombinasyonlarına göre daha zayıf kaldığı, bu sonuçların TAS ve TOS sonuçları ile de uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Ellajik asitin 50mg/kg ve 75mg/kg dozlarının Mesna ile kombine edildiği gruplarda histopatolojik olarak CP kaynaklı mesane hasarını önlemede başarı sağlanmıştır. Bu başarının yüksek dozda daha iyi olduğu görülmüştür. Biyokimyasal parametrelerden TAS ve TOS değerleri göz önünde tutulduğunda EA'in düşük dozu olan 50mg/kg'ın hem tek başına hem de Mesna ile kombinasyonunda başarılı sonuçlar verdiği izlenmiştir.

Siklofosfamid kaynaklı hemorajik sistitisi önlemek üzere klinik olarak kullanılan Mesna İP uygulanmaktadır. Bu yolla yapılan uygulamalarda etken maddenin emilim hızı ve miktarı maksimum seviyelere ulaşmaktadır. Çalışmamızda uygulanan EA ve ideal çözücüsü olan sodyum hidroksit İP uygulamaya uygun olmayan maddelerdir. Bu bağlamda zorunlu olarak tercih edilen GG uygulamanın elde edilen başarıyı bir miktar sınırladığı; daha sonraki çalışmalarda EA'in İP uygulanabilir formlarının geliştirilmesiyle birlikte başarının yüksek seviyelere çıkabileceği kanaatindeyiz.



## ÖZET

### **Ratlarda Siklofosfamid ile İndüklenen Hemorajik Sistitide EllajikAsitin Koruyucu Etkilerinin Patolojik Olarak İncelenmesi**

Siklofosfamid tümör tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir kematerapötik ajandır. Tedaviyi takiben olguların çoğunda HS ve zaman zaman da mortalite görülmektedir. CP'e bağlı yan etkileri önlemek için Mesna kullanılır. Ancak, bu ajanın da bir takım yan etkileri bulunmaktadır. Bu çalışmada, damar ve epitel koruyucu özellikleri ortaya konmuş olan EA, CP'in yan etkilerine karşı alternatif bir tedavi olarak incelenmiştir.

Çalışmada kullanılan hayvanlar (49 adet, erkek Sprague Dawley rat) 7 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna GG yolla sadece fizyolojik tuzlu su verilmiştir. CP grubu İP yolla 150 mg/kg CP'e maruz bırakılmıştır. CP+Mesna grubu İP yolla 150 mg/kg CP ve ayrıca, CP'den 20 dakika önce, CP'den 4 ve 8 saat sonra Mesna uygulamasına maruz bırakılmıştır. Diğer dört grup deney grupları olarak ihdas edilmiş ve aşağıdaki protokoller uygulanmıştır. CP+EA50 ve CP+EA75 gruplarındaki hayvanlara İP yolla 150 mg/kg CP ve CP'den 20 dakika önce ve takip eden 4 ve 8'inci saatlerde sırasıyla 50 mg/kg ve 75 mg/kg üç doz EA verilmiştir. Son iki deneme grubuna da bir önceki protokol uygulanmış, fakat sadece ilk EA uygulaması Mesna ile değiştirilmiştir.

Mesna ve EA+Mesna kombinasyonlarına göre biraz daha zayıf kalmakla birlikte EA'in tek başına uygulandığı gruplarda CP grubuna göre mesane histopatolojisinin oldukça korunmuş olduğu gözlenmiştir. Histopatolojik bulguların TAS ve TOS sonuçları ile de uyumlu olduğu izlenmiştir. Elde edilen bu bulgular ışığında EA'in HS'i önlemede destekleyici bir ajan olabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ellajik asit, Hemorajik sistitis, Histopatoloji, Mesna, Rat, Siklofosfamid

## SUMMARY

### **Pathologic Examination of the Protective Effects of Ellagic Acid on Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis in Rats.**

Cyclophosphamide is a widely used chemotherapeutic agent in the treatment of tumors. Following treatment, HS and occasional mortality are seen in the majority of cases. Mesna is used to prevent side effects related to CP, but this agent also has some side effects. In this study, EA, whose vascular and epithelial protective properties have been demonstrated, has been investigated as an alternative treatment against side effects of CP.

The animals used in the study (49 male Sprague Dawley rats) were divided into 7 groups. Only physiological saline solution was administered to the control group via the GG route. The CP group was exposed to 150mg/kg CP by IP route. The CP+Mesna group was exposed to 150mg/kg CP by IP route, and also a total of three Mesna administrations 20 minutes before CP, and 4 and 8 hours after CP. The other four groups were established as experimental groups and the following protocols were applied. Animals in the CP+50 and CP+75 groups were received to 150mg/kg CP by IP route at the beginning of the study and also a total of three EA administrations, 20 minutes before CP, and 4 and 8 hours after CP with 50 mg/kg and 75 mg/kg dose, respectively. For the last two experimental groups, the previous protocol was applied, but only the first EA application was replaced with Mesna.

It was observed that bladder histopathology was highly conserved in the EA alone groups compared to the CP group, while being slightly weaker than the Mesna and EA+Mesna combinations. Histopathological findings were also consistent with TAS and TOS results. These findings have led to the conclusion that EA may be a supporting agent in the prevention of HS.

**Key Words:** Cyclophosphamide, Ellagic acid, Hemorrhagic cystitis, Histopathology, Mesna, Rat.

## KAYNAKLAR

- ABAS, M. (2010). N-Nitrozodietilamin Verilen Rat Böbrek Dokusunda Oksidan/Antioksidan Sistemlerin Araştırılması. Ellagik Asitin Etkisi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ADAMS, L.S., ZHANG, Y., SEERAM, N.P., HEBER, D., CHEN, S. (2010). Pomegranate ellagitannin-derived compounds exhibit antiproliferative and antiaromatase activity in breast cancer cells in vitro. *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, **3** (1): 108–113.
- AKCAN-KARDAS, T., DURUCASU, I. (2014). A New Analytical Method for the Determination of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activities in Different Wheat Grass Varieties. *Ekoloji Dergisi*, **23**: 73-80.
- AKKOYUN, H. (2012). Fötal Dönemde Nikotine Maruz Kalan Sıçanlarda Oluşan Böbrek Hasarının Engellenmesinde Ellajik Asitin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- AKTÜRK, E., KURTOĞLU, E., HARPUTLUOĞLU, H. (2011). Kanser ilaçlarının Kardiyovasküler Yan Etkileri: Bu Yan Etkiler Nasıl Belirlenmeli, Tedavi ve Takip Nasıl Yapılmalı? *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **18**: 137-42.
- ALP, H., AYTEKİN, İ., ATAKIŞI, O. (2011). Ratlarda Akut Malathion Toksisitesinin Neden Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester ve Ellajik Asit'in Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **6** (2):117–124.
- AMAKURA, Y., OKADA, M., TSUJI, S., TONOGAI, Y. (2000). Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **891** (1): 183–188.
- AMBROSE, S.S., SOLAIRAJ, P., SUBRAMONIAM, A. (2013). Effectiveness of ellagic acid on isoniazid-rifampicin induced liver damage in rats. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, **4** (1): 60–62.
- ANDERSON, K.J., TEUBER, S.S., GOBEILLE, A., CREMIN, P., WATERHOUSE, A.L., STEINBERG, F.M. (2001). Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. *The Journal of Nutrition*, **131** (11): 2837–2842.
- ANDRIOLE, G.L., BRICKMAN, C., LACK, E.E., SESTERHENN, I.A., JAVADPOUR, N., LINEHAN, W.M., FRANK, M.M. (1986). Danazol-induced cystitis: an undescribed source of hematuria in patients with hereditary angioneurotic edema. *The Journal of Urology*, **135** (1): 44–46.
- ARAD, E., NASCHITZ, J., YESHURUN, D. (1996). Hemorrhagic cystitis as a presenting symptom of acute infection with Salmonella typhi. (Makale İbranice dilindedir) *Harefuah*, **130** (12): 815–816.
- ARAFI, H.M.M. (2009). Uroprotective effects of curcumin in cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis paradigm. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **104** (5): 393–399.

- ARTHUR, R.R., SHAH, K.V., BAUST, S.J., SANTOS, G.W., SARAL, R. (1986). Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *The New England Journal of Medicine*, **315** (4): 230–234.
- ATKINSON, K., CHAMPLIN, R., RITZ, J., FIBBE, W.E., LJUNGMAN, P., BRENNER, M.K. (2003). *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation*. 3.edition. Cambridge University Press.
- ATTILIO, P., MERRITT, C., SIMS, J., KANE, N., O’SULLIVAN, J. (2010). The effect of ellagic acid on platelet activation as measured by the quantification of P-selectin using flow cytometry. *AANA Journal*, **78** (6): 453–459.
- BAGCHI, M., BALMOORI, J., BAGCHI, D., RAY, S.D., KUSZYNSKI, C., STOHS, S.J. (1999). Smokeless tobacco, oxidative stress, apoptosis, and antioxidants in human oral keratinocytes. *Free Radical Biology & Medicine*, **26**: 992–1000.
- BAKKALBAŞI, E., MENTEŞ, O., ARTIK, N. (2009). Food ellagitannins-occurrence, effects of processing and storage. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **49** (3): 283–298.
- BALA, I., BHARDWAJ, V., HARIHARAN, S., KUMAR, M.N.V.R. (2006). Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **40** (1): 206–210.
- BALLEN, K.K., BECKER, P., LEVEBVRE, K., EMMONS, R., LEE, K., LEVY, W., STEWART, F.M., QUESENBERRY, P., LOWRY, P. (1999). Safety and cost of hyperhydration for the prevention of hemorrhagic cystitis in bone marrow transplant recipients. *Oncology*, **57** (4): 287–292.
- BOEIRA, V.T., LEITE, C.E., SANTOS, A.A., EDELWEISS, M.I., CALIXTO, J.B., CAMPOS, M.M., MORRONE, F.B. (2011). Effects of the hydroalcoholic extract of *Phyllanthus niruri* and its isolated compounds on cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in mouse. *Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology*, **384**, 265.
- BOMBARDELLI, E., MORAZZONI, P. (1997). *Urtica dioica* L. *Fitoterapia*, **68** (5): 387–402.
- BOZKURT, Y., FIRAT, U., ATAR, M., SANCAKTUTAR, A.A., PEMBEGUL, N., SOYLEMEZ, H., YUKSEL, H., ALP, H., BODAKÇI, M.N., HATIPOĞLU, N.K., BUYUKBAŞ, S. (2012). The Protective Effect of Ellagic Acid Against Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Male Rat. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, **18**: 823-828.
- BRATSAS, K.S., STEPHANIDES, A.A., SPYROPOULOS, E., ZACHARIADES, B.P., ANDROULAKAKIS, P.A. (2004). Hyperbaric oxygen therapy for cyclophosphamide induced refractory hemorrhagic cystitis in a child. *The Journal of Urology*, **172** (2): 679.
- BROCK, N., POHL, J., STEKAR, J. (1981). Studies on the urotoxicity of oxazaphosphorine cytostatics and its prevention. 2. Comparative study on the uroprotective efficacy of thiols and other sulfur compounds. *European Journal of Cancer & Clinical Oncology*, **17** (11): 1155–1163.

- BRUGIERES, L., HARTMANN, O., TRAVAGLI, J.P., BENHAMOU, E., PICO, J.L., VALTEAU, D., KALIFA, C., PATTE, C., FLAMANT, F., LEMERLE, J. (1989). Hemorrhagic cystitis following high-dose chemotherapy and bone marrow transplantation in children with malignancies: incidence, clinical course, and outcome. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, **7 (2)**: 194–199.
- COX, P.J. (1979). Cyclophosphamide cystitis identification of acrolein as the causative agent *Biochem Pharmacology*, **28**: 2045-9.
- ÇAM, M., HIŞİL, Y. (2006). Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu Ve Uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. **3**: 79–86.
- ÇELİK, H. (2006). Karadeniz Bölgesindeki Asitli Topraklar İçin Mükemmel Bir Meyve, Likapa (Yaban Mersini). Erişim [<http://docplayer.biz.tr/5265165-Karadeniz-bolgesindeki-asitli-topraklar-icin-mukemmel-bir-meyve-likapa-yaban-mersini.html>]. Erişim tarihi: 27.02.2017.
- ÇERİBAŞI, A.O., SAKİN, F., TÜRK, G., SÖNMEZ, M., ATEŞŞAHİN, A. (2012). Impact of ellagic acid on adriamycin-induced testicular histopathological lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages. *Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*, **64**: 717–724.
- CHUNG, K.T., WONG, T.Y., WEI, C.I., HUANG, Y.W., LIN, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **38 (6)**: 421–464.
- CHUNG, Y.-C., CHEN, C.-Y. (2008). Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan. *Bioresource Technology*, **99 (8)**: 2806–2814.
- CLIFFTON, E.E., GIROLAMI, A., AGOSTINO, D. (1966). The effect of ellagic acid on the thrombin-induced hemorrhagic syndrome in the rat. *Blood*, **28 (2)**: 253–257.
- CORMAN, J.M., MCCLURE, D., PRITCHETT, R., KOZLOWSKI, P., HAMPSON, N.B. (2003). Treatment of radiation induced hemorrhagic cystitis with hyperbaric oxygen. *The Journal of Urology*, **169 (6)**: 2200–2202.
- CRAWFORD, M.L., WALLER, P.C., WOOD, S.M. (1997). Severe cystitis associated with tiaprofenic acid. *British Journal of Urology*, **79 (4)**: 578–584.
- DANIEL, E.M., KRUPNICK, A.S., HEUR, Y.-H., BLINZLER, J.A., NIMS, R.W., STONER, G.D. (1989). Extraction, stability, and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2**: 338–349.
- DEVIPRIYA, N., SRINIVASAN, M., SUDHEER, A.R., MENON, V.P. (2007). Effect of ellagic acid, a natural polyphenol, on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose dependent study. *Singapore Medical Journal*, **48**: 311–318.
- DEVRIES, C.R., FREIHA, F.S. (1990). Hemorrhagic cystitis: a review. *The Journal of Urology*, **143 (1)**: 1–9.
- DIKMEN, M., ÖZTÜRK, N., ÖZTÜRK, Y. (2008). Nar Meyve Kabuğu Ekstresinin Mcf-7 Hücre Proliferasyonu Üzerine Sitotoksik ve İnhibitör Etkileri. *Ankara Ecacılık Fakültesi Dergisi*, **37 (3)**: 179–190.

- DÖNMEZ, M.I. (2013). Yapay Olarak Sistit Modeli Oluşturulan Yeni Zelanda Beyaz Tavşan Mesanelerinin PRP (Plateletten Zengin Plazma) İnstillasyonuna Cevabı. Uzmanlık tezi, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı.
- DORRIS, K., FOULADI, M., DAVIES, S.M., PERENTESIS, J.P., LAWRENCE, J.M., CHOW, L.M.L., ASSA'AD, A., UYGUNGIL, B., JODELE, S. (2011). Severe allergic reactions to thiol-based cytoprotective agents mesna and amifostine in a child with a supratentorial primitive neuroectodermal tumor. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, **33**: e250-252.
- DOYLE, B., GRIFFITHS, L.A. (1980). The metabolism of ellagic acid in the rat. *Xenobiotica; the Fate of Foreign Compounds in Biological Systems*, **10**: 247–256.
- DROLLER, M.J., SARAL, R., SANTOS, G. (1982). Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Urology*, **20**: 256–258.
- EKİNCİ, C., EKİNCİ, A., AHISHALI, B., BİLİR, A. (2012). Elajik asidin sıçan C6 glioma hücre kültürlerinde sitotoksikite ve proliferasyon üzerine in vitro etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **3**: 350–356.
- EMECEN, Ö., BERÇİK-İNAL, B., ERDENEN, F., USTA, M., ARAL, H., GÜVENEN, G. (2010). Evaluation of oxidant/antioxidant status and ECP levels in asthma. *Turkish Journal of Medicine Sciences*, **40 (6)**: 889–895.
- EREL, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38**: 1103–1111.
- EREL, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, **37**: 277–285.
- ESCARPA, A., GONZALEZ, M.C. (2001). An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic Compounds in Foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **31**: 57–139.
- ESPÍN, J.C., GONZÁLEZ-BARRIO, R., CERDÁ, B., LÓPEZ-BOTE, C., REY, A.I., TOMÁS-BARBERÁN, F.A. (2007). Iberian pig as a model to clarify obscure points in the bioavailability and metabolism of ellagitannins in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**: 10476–10485.
- FAZILI, T., BHAT, T.R., MASOOD, S., PALMER, J.H., MUFTI, G.R. (2006). Fate of the leftover bladder after supravescical urinary diversion for benign disease. *The Journal of Urology*, **176 (2)**: 620–621.
- FIDAN, A. F., KUCUKKURT, I., CIGERCI, I., YARDIMCI, M., OZDEMIR, A. (2009). Effects of shearing procedures on oxidantantioxidantstatus in Chios sheep. *Revue de Medicine. Veterinaire*, **160**: 349–355.
- GEMALMAZ, H. (2007). Hemorajik Sistit. *Turkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences*, **3**: 41–47.
- GOKER, H., HAZNEDAROGLU, I., ERCETIN, S., KIRAZLI, S., AKMAN, U., OZTURK, Y., FIRAT, H. (2008). Haemostatic Actions of the Folkloric Medicinal Plant Extract Ankaferd Blood Stopper®. *Journal of International Medical Research*, **36 (1)**: 163–170.

- GOPALAKRISHNAN, L., RAMANA, L.N., SETHURAMAN, S., KRISHNAN, U.M. (2014) Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agent. *Carbohydrate Polymers*, **111**: 215–221.
- GORCZYNSKA, E., TURKIEWICZ, D., RYBKA, K., TOPORSKI, J., KALWAK, K., DYLA, A., SZCZYRA, Z., CHYBICKA, A. (2005). Incidence, Clinical Outcome, and Management of Virus-Induced Hemorrhagic Cystitis in Children and Adolescents after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **11** (10): 797–804.
- GRAY, K.J., ENGELMANN, U.H., JOHNSON, E.H., FISHMAN, I.J. (1986). Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (Cytosan) therapy. *The Journal of Urology*, **136**: 497–500.
- GRESSIER, B., LEBEGUE, N., BRUNET, C., LUYCKX, M., DINE, T., CAZIN, M., CAZIN, J.C. (1995). Scavenging of reactive oxygen species by letosteine, a molecule with two blocked -SH groups. *Pharmacy World and Science*, **17**: 76–80.
- GÜNEŞ, A. (2010). Mazi Meşesi (*Quercusinfectoria* Olivier) Gomalağında Doğal Pigment Eldesi. Yüksek Lisans tezi, Marmara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- GÜNEŞ, D., UYSAL, K.. (2007). Yüksek Doz Kemoterapi ve Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu Uygulanan Çocuklarda Hemorajik Sistit. *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, **17** (2): 118–128.
- HÄKKINEN, S.H., KÄRENLAMPI, S.O., MYKKÄNEN, H.M., TÖRRÖNEN, A.R. (2000). Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 2960–2965.
- HALLIWELL, B. (1991). Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? *Drugs*. **42**: 569–605.
- HAMSA, T.P., KUTTAN, G. (2011). Protective role of *Ipomoea obscura* (L.) on cyclophosphamide-induced uro- and nephrotoxicities by modulating antioxidant status and pro-inflammatory cytokine levels. *Inflammopharmacology*, **19**: 155–167.
- HASLAM, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, **59**: 205–215.
- HASLAM, E. (2007). Vegetable tannins-lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, **68**: 2713–2721.
- HASSOUN, E.A., VODHANEL, J., ABUSHABAN, A. (2004). The modulatory effects of ellagic acid and vitamin E succinate on TCDD-induced oxidative stress in different brain regions of rats after subchronic exposure. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **18**: 196–203.
- HEATH, J.A., MISHRA, S., MITCHELL, S., WATERS, K.D., TIEDEMANN, K. (2006). Estrogen as treatment of hemorrhagic cystitis in children and adolescents undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, **37**: 523–526.
- HEBER, D. (2008). Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. *Cancer Letters*, **269**: 262–268.

- IINO, T., NAKAHARA, K., MIKI, W., KISO, Y., OGAWA, Y., KATO, S., TAKEUCHI, K. (2001). Less damaging effect of whisky in rat stomachs in comparison with pure ethanol. Role of ellagic acid, the nonalcoholic component. *Digestion*, **64**: 214–221.
- JANOS, Z., KRISHNAMURTI, D. (2005). *Nutrients and Cell Signaling. Oxidative Stress and Disease*. Publisher: Boca Raton: Taylor and Francis, Sy. 760-87.
- JAYAPRAKASHA, G.K., SELVI, T., SAKARIAH, K.K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, **36 (2)**: 117–122.
- KÄHKÖNEN, M.P., HOPIA, A.I., HEINONEN, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 4076–4082.
- KANATT, S.R., CHANDER, R., SHARMA, A. (2008). Chitosan glucose complex – A novel food preservative. *Food Chemistry*, **106 (2)**: 521–528.
- KANG, I., ESPÍN, J.C., CARR, T.P., TOMÁS-BARBERÁN, F.A., CHUNG, S. (2016). Raspberry seed flour attenuates high-sucrose diet-mediated hepatic stress and adipose tissue inflammation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **32**: 64–72.
- KAYA, İ., DEVECI, H.A., KARAPEHLIVAN, M., KÜKÜRT, A. (2015). Piridin ve ellagik asit uygulanan farelerde oksidatif stres indeksinin araştırılması. *Avrasya Veteriner Bilimleri Dergisi*, **31**: 148–151.
- KAYAALP, O. (2017). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 1*. Baskı Pelikan Yayınları.
- KELES, H., ÖZKUL, I., KARADAŞ, E., DEMIREL, H.. (2012). Sığırların enzootik hematüriye İlgili Sidik Kesesi Tümörlerinde Nitrik Oksitin (NO) Rolünün İmmunohistokimyasal Yöntemlerle Araştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu. Proje No: 08.VF.15.
- KELES, I., BOZKURT, M.F., CEMEK, M., KARALAR, M., HAZINI, A., ALPDAGTAS, S., KELES, H., YILDIZ, T., CEYLAN, C., BUYUKOKUROGLU, M.E. (2014). Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by resveratrol: a comparative experimental study with mesna. *International Urology and Nephrology*, **46 (12)**: 2301–2310.
- KHANBABAEE, K., VAN REE, T. (2001). Tannins: classification and definition. *Natural Product Reports*, **18**: 641–649.
- KHANDUJA, K.L., GANDHI, R.K., PATHANIA, V., SYAL, N. (1999). Prevention of N-nitrosodiethylamine-induced lung tumorigenesis by ellagic acid and quercetin in mice. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, **37**: 313–318.
- KHAW, S.L., DOWNIE, P.A., WATERS, K.D., ASHLEY, D.M., HEATH, J.A. (2007). Adverse hypersensitivity reactions to mesna as adjunctive therapy for cyclophosphamide. *Pediatric Blood & Cancer*, **49 (3)**: 341-343.
- KILIC, O., AKAND, M., KARABAGLI, P., PISKIN, M.M. (2016). Hemostatic Efficacy and Histopathological Effects of Ankaferd Blood Stopper in an Experimental Rat Model of Cyclophosphamide-induced Hemorrhagic Cystitis. *Urology*, **94**: 313.e7-313.e13.



- KIM, S.-H., LEE, I.-C., LIM, J.-H., MOON, C., BAE, C.-S., KIM, S.-H., SHIN, D.-H., PARK, S.-C., KIM, H.-C., KIM, J.-C. (2012). Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, **50**: 109–115.
- KOPONEN, J.M., HAPPONEN, A.M., MATTILA, P.H., TÖRRÖNEN, A.R. (2007). Contents of Anthocyanins and Ellagitannins in Selected Foods Consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55** (4): 1612–1619.
- KÜÇÜKBAYRAK, Z.S. (2010). Deneyisel Hemorajik Sistit Modelinde Ankaferd'in Etkileri. Tıpta Uzmanlık tezi, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı.
- LAKHANI, A., RAPTIS, A., FRAME, D., SIMPSON, D., BERKAHN, L., MELLON-REPPEN, S., KLINGEMANN, H. (1999). Intravesicular instillation of E-aminocaproic acid for patients with adenovirus-induced hemorrhagic cystitis. *Bone Marrow Transplantation*, **24** (11): 1259–1260.
- LANSKY, E.P. (2006). Beware of pomegranates bearing %40 ellagic Acid. *Journal of Medicinal Food*, **9**: 119–122.
- DE LA LASTRA, C.A., VILLEGAS, I. (2007). Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochemical Society Transactions*, **35**: 1156–1160.
- LEE, S.-J., UMANO, K., SHIBAMOTO, T., LEE, K.-G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, **91**: 131–137.
- LEI, Z., JERVIS, J., HELM, R.F. (2001). Use of Methanolysis for the Determination of Total Ellagic and Gallic Acid Contents of Wood and Food Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 1165–1168.
- LEVINE, L.A., RICHIE, J.P. (1989). Urological complications of cyclophosphamide. *The Journal of Urology*, **141** (5): 1063–1069.
- LI, Y., CAO, Z., ZHU, H. (2006). Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Pharmacological Research*, **53**: 6–15.
- LIMA, M.V.A., FERREIRA, F.V., MACEDO, F.Y.B., DE CASTRO BRITO, G.A., RIBEIRO, R.A. (2007). Histological changes in bladders of patients submitted to ifosfamide chemotherapy even with mesna prophylaxis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **59**: 643–650.
- LIN, C.Y., KEEFE, M. (2012). Mesna-induced photodistributed dermatosis. *Clinical and Experimental Dermatology*, **37**: 358–360.
- LONGHMAN-ADHAM, M., TEJERO, H., LONDON, R. (1988). Acute hemorrhagic cystitis due to *Escherichia coli*. *Child Nephrology and Urology*, **9**: 29–32.
- LUNA, L.G. (1968). *Manuel of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Book Company, New York.

- MALEK, R.S., WAHNER-ROEDLER, D.L., GERTZ, M.A., KYLE, R.A. (2002). Primary localized amyloidosis of the bladder: experience with dimethyl sulfoxide therapy. *The Journal of Urology*, **168** (3): 1018–1020.
- MANDAL, S., AHUJA, A., SHIVAPURKAR, N.M., CHENG, S.J., GROOPMAN, J.D., STONER, G.D. (1987). Inhibition of aflatoxin B1 mutagenesis in *Salmonella typhimurium* and DNA damage in cultured rat and human tracheobronchial tissues by ellagic acid. *Carcinogenesis*, **8** (11): 1651–1656.
- MANIKANDAN, R., KUMAR, S., DORAIRAJAN, L.N. (2010). Hemorrhagic cystitis: A challenge to the urologist. *Indian journal of urology: IJU: Journal of the Urological Society of India*, **26**: 159–166.
- MARCHESINI, A.F., WILLINER, M.R., MANTOVANI, V.E., ROBLES, J.C., GOICOECHEA, H.C. (2003). Simultaneous determination of naphazoline, diphenhydramine and phenylephrine in nasal solutions by capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **31**: 39–46.
- MARTINO, V., MORALES, J., MARTÍNEZ-IRUJO, J.J., FONT, M., MONGE, A., COUSSIO, J. (2004). Two ellagitannins from the leaves of *Terminalia triflora* with inhibitory activity on HIV-1 reverse transcriptase. *Phytotherapy research*, **18**: 667–669.
- MARX, C.M., ALPERT, S.E. (1984). Ticarcillin-induced cystitis. Cross-reactivity with related penicillins. *American Journal of Diseases of Children*, **138**: 670–672.
- MASUDA, H., CHANCELLOR, M.B., KIHARA, K., YOSHIMURA, N. (2006). 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 attenuates development of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *Urology*, **67** (2): 435–439.
- MATSUDA, H., ANDO, S., KATO, T., MORIKAWA, T., YOSHIKAWA, M. (2006). Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**: 138–142.
- MERTENS-TALCOTT, S.U., JILMA-STOHLAWETZ, P., RIOS, J., HINGORANI, L., DERENDORF, H. (2006). Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenols after ingestion of a standardized extract in healthy human volunteers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 8956–8961.
- MEYER, A.S., HEINONEN, M., FRANKEL, E.N. (1998). Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*, **61**, 71–75.
- MİŞE YONAR, S., YONAR, M.E., YÖNTÜRK, Y., PALA, A. (2014). Effect of ellagic acid on some haematological, immunological and antioxidant parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **98**: 936–941.
- NIELSEN, F.T., HORNSTRUP, M.K. (1997). Antibiotic-induced hemorrhagic cystitis. (Makale Dan dilindedir). *Ugeskrift for Laeger*, **159**: 7150–7151.
- NIEMETZ, R., GROSS, G.G. (2005). Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. *Phytochemistry*, **66** (17): 2001–2011.

- NİZAMLIOĞLU, N.M., NAS, S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, **5**: 20–35.
- OLĞAR, Y. (2013). Ellagik Asidin Sıçan Kardiyomiyositlerinin Kontraktilitesi ve Kalsiyum Akımları Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- OSAWA, T., IDE, A., SU, J.D., NAMIKI, M. (1987). Inhibition of Lipid Peroxidation by Ellagic Acid. *Journal of Agricultural. Food Chemistry*, **35**: 808-812.
- ÖZDAMAR, K. (2003). SPSS ile Biyoistatistik. 5. Baskı. Kaan Kitabevi. Eskişehir.
- PALANDRI, F., BONIFAZI, F., ROSSI, C., FALCIONI, S., ARPINATI, M., GIANNINI, M.B., ANSALONI, F., BANDINI, G., BACCARANI, M. (2005). Successful treatment of severe hemorrhagic cystitis with selective vesical artery embolization. *Bone Marrow Transplantation*, **35 (5)**: 529–530.
- PARI, L., SIVASANKARI, R. (2008). Effect of ellagic acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **22 (4)**: 395–401.
- PASSANTINO, A., QUARTARONE, V., PEDILIGGERI, M.C., RIZZO, M., PICCIONE, G. (2014). Possible application of oxidative stress parameters for the evaluation of animal welfare in sheltered dogs subjected to different environmental and health conditions. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, **9**: 290–294.
- POLIDORI, M.C., STAHL, W., EICHLER, O., NIESTROJ, I., SIES, H. (2001). Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, **30 (5)**: 456–462.
- PRIOR, R.L., CAO, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**: 1173–1181.
- PRIYADARSINI, K.I., KHOPDE, S.M., KUMAR, S.S., MOHAN, H. (2002). Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 2200–2206.
- PUSATERI, A.E., MCCARTHY, S.J., GREGORY, K.W., HARRIS, R.A., CARDENAS, L., MCMANUS, A.T., GOODWIN, C.W. (2003). Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *The Journal of Trauma*, **54**: 177–182.
- QIU, Z., ZHOU, B., JIN, L., YU, H., LIU, L., LIU, Y., QIN, C., XIE, S., ZHU, F. (2013). In vitro antioxidant and antiproliferative effects of ellagic acid and its colonic metabolite, urolithins, on human bladder cancer T24 cells. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, **59**: 428–437.
- QUIDEAU, S., FELDMAN, K.S. (1996). Ellagitannin Chemistry. *Chemical Reviews*, **96 (1)**: 475–504.
- QUINLAN, D.M., NASLUND, M.J., BRENDLER, C.B. (1992). Application of argon beam coagulation in urological surgery. *The Journal of Urology*, **147**: 410–412.

- RATNOFF, O.D., GLEICH, G.J., SHURIN, S.B., KAZURA, J., EVERSON, B., EMBURY, P. (1993). Inhibition of the activation of hageman factor (factor XII) by eosinophils and eosinophilic constituents. *American Journal of Hematology*, **42** (1): 138–145.
- REHMAN, M.U., TAHIR, M., ALI, F., QAMAR, W., LATEEF, A., KHAN, R., QUAIYOOM, A., ODAY-O-HAMIZA, null, SULTANA, S. (2012). Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of Ellagic acid. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **365**: 119–127.
- REUTER, S., GUPTA, S.C., CHATURVEDI, M.M., AGGARWAL, B.B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, **49** (11): 1603–1616.
- RIBEIRO, R.A., FREITAS, H.C., CAMPOS, M.C., SANTOS, C.C., FIGUEIREDO, F.C., BRITO, G. a. C., CUNHA, F.Q. (2002). Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta mediate the production of nitric oxide involved in the pathogenesis of ifosfamide induced hemorrhagic cystitis in mice. *The Journal of Urology*, **167**: 2229–2234.
- SANTOS, A.A., LEAL, P.C., EDELWEISS, M.I.A., LOPES, T.G., CALIXTO, J.B., MORRONE, F.B., CAMPOS, M.M. (2010). Effects of the compounds MV8608 and MV8612 obtained from *Mandevilla velutina* in the model of hemorrhagic cystitis induced by cyclophosphamide in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **382**: 399–407.
- SARIBURUN, E. (2009). Bursa'da Yetiştirilen Bazı Ahududu (*Rubus idaeus* L.) Ve Böğürtlen (*Rubus Fruticosus* L.) Çeşitlerinin Fenolik Bileşiklerinin Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi (lc-ms) ile İncelenmesi ve Antioksidan Aktivite Tayinleri. Yüksek Lisans tezi, Uludağ Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- SEERAM, N.P., ADAMS, L.S., HENNING, S.M., NIU, Y., ZHANG, Y., NAIR, M.G., HEBER, D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **16**: 360–367.
- SEERAM, N.P., HENNING, S.M., ZHANG, Y., SUCHARD, M., LI, Z., HEBER, D. (2006) Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *The Journal of Nutrition*, **136**: 2481–2485.
- SEERAM, N.P., LEE, R., HEBER, D. (2004). Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, **348**: 63–68.
- SENCER, S.F., HAAKE, R.J., WEISDORF, D.J. (1993). Hemorrhagic cystitis after bone marrow transplantation. Risk factors and complications. *Transplantation*, **56** (4): 875–879.
- SHEELA, M.L., RAMAKRISHNA, M.K., SALIMATH, B.P. (2006). Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *International Immunopharmacology*, **6**: 494–498.

- SHEPHERD, J.D., PRINGLE, L.E., BARNETT, M.J., KLINGEMANN, H.G., REECE, D.E., PHILLIPS, G.L. (1991). Mesna versus hyperhydration for the prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, **9** (11): 2016–2020.
- SIES, H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, **4**: 180–183.
- SKINNER, R., SHARKEY, I.M., PEARSON, A.D., CRAFT, A.W. (1993). Ifosfamide, mesna, and nephrotoxicity in children. *Journal of Clinical Oncology*, **11** (1): 173–190.
- SMITH, D.R., BALASHOV, K.E., HAFLER, D.A., KHOURY, S.J., WEINER, H.L. (1997). Immune deviation following pulse cyclophosphamide/methylprednisolone treatment of multiple sclerosis: Increased interleukin-4 production and associated eosinophilia. *Annals of Neurology*, **42**: 313–318.
- SONG, J., LIU, L., LI, L., LIU, J., SONG, E., SONG, Y. (2014). Protective effects of lipoic acid and mesna on cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis in mice. *Cell Biochemistry and Function*, **32**: 125–132.
- SONI, K.B., LAHIRI, M., CHACKRADEO, P., BHIDE, S.V., KUTTAN, R. (1997). Protective effect of food additives on aflatoxin-induced mutagenicity and hepatocarcinogenicity. *Cancer Letters*, **115**: 129–133.
- SOYSAL, T. (2004). Hemorajik Sistit. Kan ve Kemik İliği Transplantasyonu Kursu. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. 192-194.
- SRIVASTAVA, A., NAIR, S.C., SRIVASTAVA, V.M., BALAMURUGAN, A.N., JEYASEELAN, L., CHANDY, M., GUNASEKARAN, S. (1999). Evaluation of uroprotective efficacy of amifostine against cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis. *Bone Marrow Transplantation*, **23**: 463–467.
- STONER, G.D., MUKHTAR, H. (1995). Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *Journal of Cellular Biochemistry*, **59**: 169–180.
- SÜNTAR, I., KOCA, U., KELES, H., KÜPELİ AKKOL, E. (2011). Wound Healing Activity of *Rubus sanctus* Schreber (Rosaceae): Preclinical Study in Animal Models. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2011**: 816-156.
- TIRINDELLI, M.C., FLAMMIA, G., SERGI, F., CERRETTI, R., CUDILLO, L., PICARDI, A., POSTORINO, M., ANNIBALI, O., GRECO, R., AVVISATI, G., ARCESE, W. (2009). Fibrin glue for refractory hemorrhagic cystitis after unrelated marrow, cord blood, and haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion*, **49** (1): 170–175.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A., GIL, M.I., CREMIN, P., WATERHOUSE, A.L., HESS-PIERCE, B., KADER, A.A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 4748–4760.
- TRIGG, M., O'REILLY, J., RUMELHART, S., MORGAN, D., HOLIDA, M., DE ALARCON, P. (1990). Prostaglandin E1 bladder instillations to control severe hemorrhagic cystitis. *The Journal of Urology*, **143**: 92–94.

- TUNÇ, K., KONCA, T., HOŞ, A. (2013). *Punica granatum* Linn. (Nar) Bitkisinin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması. Sakarya Üniversitesi. *Fen Bilimleri Dergisi*, **17**: 167-172.
- TÜRK, G., ATEŞŞAHİN, A., SÖNMEZ, M., ÇERİBAŞI, A.O., YÜCE, A. (2008). Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertility and Sterility*, **89** (5): 1474–1481.
- TURKMEN, N., SARI, F., POYRAZOĞLU, E.S., VELİOĞLU, Y.S. (2006). Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, **95** (4): 653–657.
- UNGVARI, Z., OROSZ, Z., RIVERA, A., LABINSKY, N., XIANGMIN, Z., OLSON, S., PODLUTSKY, A., CSISZAR, A. (2007). Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **292**: H2417-2424.
- UYŞAL, E. (2009). Ratlarda Siklofosamid ile İndüklenen Hemorajik Sistitte Kafeik Asit Fenetil Ester'in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
- VAJRAGUPTA, O., BOONCHOONG, P., BERLINER, L.J. (2004). Manganese complexes of curcumin analogues: evaluation of hydroxyl radical scavenging ability, superoxide dismutase activity and stability towards hydrolysis. *Free Radical Research*, **38**: 303-314.
- VIEIRA, M.M., MACÊDO, F.Y.B., FILHO, J.N.B., COSTA, A.C.L.V., CUNHA, A.N., SILVEIRA, E.R., BRITO, G.A.C., RIBEIRO, R.A. (2004). Ternatin, a flavonoid, prevents cyclophosphamide and ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. *Phytotherapy Research*, **18** (2): 135-141.
- VIRÁG, L., SZABÓ, E., GERGELY, P., SZABÓ, C. (2003). Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicology Letters*, **140–141**: 113–124.
- WANG, Y., QIU, Z., ZHOU, B., LIU, C., RUAN, J., YAN, Q., LIAO, J., ZHU, F. (2015). In vitro antiproliferative and antioxidant effects of urolithin A, the colonic metabolite of ellagic acid, on hepatocellular carcinomas HepG2 cells. *Toxicology in Vitro*, **29**: 1107–1115.
- WATSON, N.A., NOTLEY, R.G. (1973). Urological Complications of Cyclophosphamide. *British Journal of Urology*, **45**: 606–609.
- WEST, N.J. (1997). Prevention and Treatment of Hemorrhagic Cystitis. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, **17**: 696–706.
- XU, X., MALAVÉ, A. (2001). Protective Effect of Berberine on Cyclophosphamide-Induced Haemorrhagic Cystitis in Rats. *Pharmacology & Toxicology*, **88**: 232–237.
- YAGODA, A.M., BIJAY-MUKHERJI, M.D, CHARLES-YOUNG, M.D, ERLINDA-ETCUBANAS, M.D, CHARLES-LAMONTE, M.D, JULIUS R. SMITH, M.D, CHARLOTTE T. C. TAN, M.D, IRWIN H. KRAKOFF, M.D. (1972). Bleomycin, an Antitumor Antibiotic: Clinical Experience in 274 Patients. *Annals of Internal Medicine*, **77** (6): 861.

- YAVUZ, B. (2010). Cuprizon ile İndüklenmiş Deneysel Multipl Skleroz Modeline Ellagik asit ve Likopenin (*Lycopersicon esculentum*) İntragastrik Uygulamasının Oksidatif ve Nitrozatif Stres Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Biyokimya Uzmanlık tezi. Cerrah Paşa Tıp Fakültesi. İstanbul Üniversitesi.
- YILMAZ, Y., TOLEDO, R.T. (2004). Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52** (2): 255–260.
- YILMAZ, Y., TOLEDO, R.T. (2006). Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19** (1): 41–48.
- ZAFRILLA, P., FERRERES, F., TOMÁS-BARBERÁN, F.A. (2001). Effect of processing and storage on the antioxidant ellagic acid derivatives and flavonoids of red raspberry (*Rubus idaeus*) jams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49** (8): 3651–3655.
- ZAHIN, M., AHMAD, I., GUPTA, R.C., AQIL, F. (2014). Punicalagin and Ellagic Acid Demonstrate Antimutagenic Activity and Inhibition of Benzo[a]pyrene Induced DNA Adducts. *BioMed Research International*, **2014**: 467-465.
- ZHANG, G., QU, R., SUN, C., JI, C., CHEN, H., WANG, C., NIU, Y. (2008). Adsorption for metal ions of chitosan coated cotton fiber. *Journal of Applied Polymer Science*, **110** (4): 2321–2327.
- ZHAO, J., WANG, J., CHEN, Y., AGARWAL, R. (1999). Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*, **20** (9): 1737–1745.

## ÖZGEÇMİŞ

Afyonkarahisar'ın Çay ilçesinde 1979 yılında doğmuşum. İlk ve orta öğrenimimi Afyonkarahisar'da 1993 yılında tamamladım. İzmir Atatürk Sağlık Meslek Lisesi'nden 1997 yılında mezun oldum. On Dokuz Mayıs Üniversitesi Ebelik Yüksekokulu'ndan 2011 yılında mezun oldum. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Patoloji Anabilim Dalı'nda 2013 yılında Yüksek Lisans eğitimime başladım. Osmangazi Üniversitesi'nde 2015 yılında pedagojik formasyon sertifikası aldım. Halen Afyonkarahisar Devlet Hastanesi'nde ebe-hemşire olarak görev yapmaktayım. Bekarım. İngilizce bilmekteyim.