

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL PARSİYEL MESANE ÇIKIM OBSTRÜKSİYONU
OLUŞTURULAN TAVŞANLARDA TERAZOSİN VE MELATONİN
UYGULAMALARININ, MESANE KONTRAKTİLİTESİ, HİSTOPATOLOJİ VE
OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Cemal TAŞDEMİR

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Rahmi ONUR

ELAZIĞ- 2006

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

Dekan

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

Üroloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık sınavı jüri üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Tıp ve uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin hazırlanması aşamasında her türlü destek ve yardımlarından dolayı değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Rahmi ONUR'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince desteklerinden dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Orhan YALÇIN, Doç. Dr. Arslan ARDIÇOĞLU, Doç. Dr. İrfan ORHAN, ve Doç. Dr. M. Kemal ATİKELER'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanması aşamasında bana yardımcı olan Patoloji A.D. Öğretim üyesi .Doç.Dr. Nusret AKPOLAT, Biyokimya A:D. Öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Dilara SEÇKİN ve Fizyoloji A.D. Öğretim üyesi Doç. Dr. Selim KUTLU'a teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanması aşamasında bana yardımcı olan Dr.Uğur Oktay TUYGUN, Dr. Tunç OZAN, ve tüm üroloji Anabilim Dalı Asistanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1.ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3.GİRİŞ.....	5
3.1. MELATONİN.....	10
3.1.1. Melatonin sentezi	10
3.1.2 Melatonin ve Antioksidan . Özellikleri.....	12
3.1.3. Melatoninle ilgili yapılan çalışmalar	14
3.2. TERAZOSİN.....	14
3.2.1. Farmakolojik Özellikleri.....	16
3.2.2. Farmakokinetik.....	16
3.2.3. Metabolizma.....	17
3.3. TERAZOSİNİN FARKLI SİSTEMLERE ETKİSİ.....	17
3.3.1. Ürogenital Sisteme Etkisi	17
3.3.2. Kardiyovasküler Sisteme Etkileri.....	18
3.3.3. Terazosinin Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonuna Etkileri ile İlgili Yapılan çalışmalar.....	19

4. MATERYAL METOD	21
4.1. Denek Seçimi	21
4.1.1. Deneysel grupların oluşturulması	21
4.2. İşlem	22
4.3. Antioksidan Uygulama ve peryodu	25
4.3.1. Melatoninin hazırlanışı	25
4.4. Terazosin uygulaması	25
4.5. Dekapitasyon İşlemi	25
4.6. Doku Çıkartılması	25
4.7. Ölçümler	25
4.7.1. Kontraktilite Çalışmaları	26
4.7.2. Patolojik İnceleme	27
4.7.3. Biyokimyasal Ölçümler.....	27
4.7.3.1. Doku Örneklerinin Biyokimyasal Hazırlanması.....	27
4.7.3.2. Doku Lipid Peroksit (LPO) Ölçüm Yöntemi	28
4.7.3.3. Doku Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi....	28
4.7.3.4. Doku GSH-Px Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	29
4.7.3.5. Doku Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	29
4.8. İstatiksel Analizler	29

5.BULGULAR	30
5.1. Mesane Kontraktilite Bulguları	30
5.2. Histopatolojik İnceleme Sonuçları	33
5.3. Doku MDA ve Antioksidan Düzeyleri	37
5.3.a. Doku MDA Düzeyleri	37
5.3.b. Doku Süperoksit Dismutaz Düzeyleri	38
5.3.c. Doku Katalaz Düzeyleri	39
5.3.d. Doku Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyleri	40
6. TARTIŞMA	42
7.KAYNAKLAR	53
8.ÖZGEÇMİŞ	61

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1- Melatonin serbest oksijen radikaller üzerine etkisi	13
Tablo 2- Tüm grupların mesane kontraktılite değerleri	31
Tablo 3- Bütün gruplardaki doku MDA düzeyleri	37
Tablo 4- Mesane dokusu SOD düzeyleri.....	38
Tablo 5: Bütün gruplardaki doku GSH-Px düzeyleri	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1- Melatoninin Kimyasal Yapısı	11
Şekil2- Melatonin sentezi	12
Şekil3- Mesane boynunda parsiyel obstrüksiyon meydana getirilmesi.....	23
Şekil 4- . Mesane boynunda parsiyel obstrüksiyon meydana getirilmesi..	24
Şekil 5- Mesane boynunda parsiyel obstrüksiyon meydana getirilmesi	24
Şekil 6- Sham ve çalışma grubundaki tavşanlarda mesane kontraktilite ölçüm değerleri.....	31
Şekil 7- Tüm grupların kontraktilite aktiviteleri.....	32
Şekil 8- Tüm gruplardaki mesane muskularis propria kalınlığı.....	33
Şekil 9- Sham operasyonu uygulanan (Grup I) tavşanların mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim	34
Şekil 10- Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan tavşanların (Grup II) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim	34
Şekil 11- Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak Terazosin uygulanan tavşanların (Grup III) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim	35
Şekil 12- Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak melatonin uygulanan tavşanların (GrupIV) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim.....	35
Şekil 13- Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak terazosin ve melatonin'in birlikte verildiği tavşanların (Grup V) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim	36
Şekil 14- Sham ve Çalışma grubundaki ratlarda doku MDA düzeyleri.....	38
Şekil 15- Tüm grupların doku SOD düzeyleri.....	39
Şekil 16- Tüm Grupların Doku Katalaz Düzeyleri.....	40
Şekil 17- Tüm gruplarda doku glutatyon peroksidaz düzeyleri	41

KISALTMALAR

BPH	: Benign Prostat Hiperplazisi
PMÇO	: Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonu
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
LPO	: Lipid Peroksit Radikalleri
MDA	: Malondialdehit
CAT	: Katalaz
GSH-PX	: Glutatyon Peroksidaz
SOD	: Süperoksid Dismutaz

3. GİRİŞ

Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunun önemli nedenlerinden biri olan Benign prostat hiperplazisi (BPH), 50 yaş üzeri erkeklerde görülen yaygın bir ürolojik patolojidir (1). Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu uzun süre yaşayabilen pek çok erkekte (90 yaşına giren erkeklerin %90'ında) mevcut olan histolojik bir tanıdır (2). Yapılan çalışmalarda toplumda görülme sıklığı yaşlara göre değişmektedir (2). Alt üriner sistem semptomlarının prevalansını ölçen bir çalışma, 40-79 yaş arası hastalığın başladığı ve yaşla beraber ilerlediğini ortaya koymuştur (3). Buna göre 40-79 yaş arası erkeklerin %13'ünde ve 70 yaş üstü erkeklerin %28'inde BPH'a bağlı orta-şiddetli işeme zorluklarının olduğu gösterilmiştir. Çinde yapılan otopsilerde yaşa göre BPH oranları 41-50 yaş için %13.2, 51-60 yaş için %20, 61-70 yaş için %50, 71-80 yaş için %57, 81-90 yaş için %83.3 olarak bulunmuştur (4).

Klasik olarak benign prostat hiperplazisi sonucu oluşan ve hastayı doktora getiren semptomlara alt üriner sistem semptomları (LUTS) adı verilir ve iki ana gruba ayrılır. Bunlar ; 1- Depolama semptomları (irritatif semptomlar): sık idrara gitme (frequency), gece idrara çıkma (nokturi), az az idrar yapma, idrar sıkıştırması (urgency), yetişememe tarzında idrar kaçırmaya (urge inkontinans) ; 2- İşeme semptomları (obstrüktif semptomlar): İdrar yapmaya başlamadan önce bekleme (hesitancy), idrar yaparken zorlanma, son damlaların ayak ucuna düşmesi, idrar yapma süresinde zamanında uzama, idrar retansiyonu ve taşma tarzında idrar kaçırmaya olarak sınıflandırılır (4).

Benign prostat hiperplazisi mesane çıkım obstrüksiyonunun en yaygın nedeni olmasına rağmen, karsinoma, mesane boynu sklerozu veya fibrozu, üretral striktür, üretral valvler, mesane boynundaki düz ve çizgili kas sfinkterlerinin dissinerjisi de, mesane çıkım obstrüksiyonuna neden olan diğer etyolojik faktörlerdir (5). Mesane çıkım obstrüksiyonu

sonrası oluşan değişikliklerin morfolojik, fizyolojik ve farmakolojik etkilerinin incelenmesi amacı ile literatürde rat, tavşan, kobay ve domuz gibi farklı türlerde deney hayvanları kullanılmıştır. Bu türler arasında mesane kapasitesi, kontraktilite özellikleri, kompliyans gibi yapısal ve fonksiyonel farklılıklar olsa da parsiyel obstrüksiyon uygulanan tüm deneysel çalışmalarda ortaya çıkan ortak bulgular; mesane kas kütlesinde artış, detrüör kontraktilitesinde progressif azalma ve mesane boşalma yeteneğinin geç dönemde kaybolması olarak bildirilmiştir (6,7,8).

Mesane çıkım obstrüksiyonunun mesane üzerindeki etkilerinin analiz edilmesi için normal mesanenin kontraktil cevabının çok iyi anlaşılması gerekir (8). Mesanenin kontraktil cevabı iki faza ayrılabilir : 1) Üretranın açılmasıyla birlikte olan ve mesaneyi şekillendiren intravezikal basıncın başlangıç olarak birden artışı; ve 2) mesanenin boşalma sürecince muhafaza edilen uzunca bir intravezikal basınç periyodu (9,10). Mesanenin bu iki fazı hem farmakolojik, hem metabolik indikatörler kullanarak tanınabilir. Bu fazların anlaşılabilmesi; mesanenin iskemisine, aşırı distansiyonuna ve çıkış obstrüksiyonuna ilişkin spesifik fonksiyon bozukluklarının incelenmesinde önemlidir (11-13). Obstrüksiyona insan mesanesinin cevabı hakkında sınırlı bilgi mevcuttur.

Hayvan deneyleri ile mesanenin parsiyel obstrüksiyona cevabı araştırılmış ve üç evreden geçtiği saptanmıştır: 1- Başlangıç, 2- Kompansatuar, 3- Dekompansatuar evre. İlk olarak mesanede oluşan distansiyonun başlattığı ve çeşitli büyüme faktörlerinin rol aldığına inanılan inflamatuar cevap oluşmakta, bunu takiben de tüm mesane duvarını içeren proliferasyon görülmektedir. Bir haftalık obstrüksiyon sonrasında tavşan mesanesinin kütlesi 1.7 gramdan 11 grama kadar artma yeteneğindedir (13). Mesane kütlesindeki artışla birlikte mesanenin farmakolojik agonistlerin stimülasyonuna karşı mesanenin kontraktil cevabı belirgin bir azalma gösterir. Kontraktil cevabın azalma şiddeti mesane kütlesindeki

artmayla direkt olarak orantılıdır (14). Böylece mesane kütlesi ne kadar artış gösterirse, kontraktıl fonksiyondaki azalma da aynı ölçüde fazla olur (15). Kompansatuar dönemde kitle artışı stabilize olmakta, mesane normale yakın basınçla ve boşalma fonksiyonu ile çalışabilmekte ise de düz kas ve kollajen dağılımı açısından morfolojik değişiklikler devam etmektedir. Ancak, bir süre sonra mesane normal fonksiyonlarını yerine getirememekte ve dekompanstatuar döneme girmektedir. Bu dönemde de kas dokusunun yerini bağ dokusunun almasıyla yeniden mesane ağırlığında hızlı bir artma izlenmektedir. Sonuçta özellikle boşalma fonksiyonu progresif olarak bozulmaktadır (15).

Parsiyel çıkım obstrüksiyonuna sekonder mesanede gelişen patolojik değişikliklerin etyolojisinde pek çok faktör öne sürülmüştür. İskemi/reperfüzyon hasarı, mesane kas kütlesinde ve duvar kalınlığında artış ve buna bağlı gelişen dekompanstasyon, detrüzyör ve üriner büyüme faktörlerindeki artış bunlardan başlıcalarıdır (9,14,16,17). Brading, parsiyel obstrüksiyon sonrası mesane duvar kalınlığında meydana gelen artma sonucu, her işeme ve inhibe edilemeyen kontraksiyonda siklik iskemi/reperfüzyon oluştuğunu bildirmiş ve bunun da reperfüzyon ve reoksijenasyonla reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumunu artırdığını öne sürmüştür (17). İskemi/reperfüzyon sonucunda da lipid peroksidasyonunda artma ve hücre membranında ise hasar saptanmıştır (6,9,17). Parsiyel obstrüksiyondaki sürekliliğin de çıkım obstrüksiyonuna sekonder progresif mesane disfonksiyonunun temelini oluşturduğu bildirilmiştir (6).

Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonuna bağlı gelişen mesane disfonksiyonunu önlemede deneysel ve klinik pek çok çalışma yapılmıştır. Bunlar arasında serbest radikaller yolu ile oluşan hücre membran düzeyindeki hasarın engellenmesinde, yağda çözünen ve güçlü bir anti-oksidan ajan olan Vitamin E uygulanmış ve 4 haftalık obstrüksiyon sonucunda Vitamin E uygulanan grupta kontraktılite özelliklerinin korunabildiği saptanmıştır (6). Öte yandan, güçlü bir antioksidan ajan olan melatonin bu özelliği nedeni

ile reaktif oksijen metabolitlerinin rol oynadığı pek çok patolojide koruyucu etkisi nedeni ile kullanılmıştır (18). Melatonin, mesane çıkım obstrüksiyonu uygulanan deney hayvanlarında olumlu etkileri bildirilen Vitamin E gibi yağda çözünebilen ancak Vitamin E'ye oranla çok daha güçlü bir antioksidandır (19). Bunun dışında Melatoninin agonistlerle indüklenen güçlü mesane kontraksiyonlarını da etkili bir biçimde önlediği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (20).

Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonuna bağlı gelişen mesane disfonksiyonunda son dönemlerde öne sürülen diğer bir mekanizma ise hücre içi enerji dengesindeki ve apoptozdaki değişiklikler olarak bildirilmiştir (11,12). Levin ve Hudson, mitokondriyal düzeyde enerji yetmezliği sonucu mesane kasında fonksiyonel kayıpların geliştiğini bildirmişlerdir (11). Prostatik stromadaki α reseptörlerinin %60-85 kadarı α -1a mRNA'sının insan detrüözör hücrelerinde bulunduğu ancak α -1b'nin bulunmadığı gösterilmiştir (21). Erkek prostat ve prostatik üretrasındaki baskın olarak α -1a adrenoseptörlerinin blokajı mesane çıkım direncine bağlı semptomları azaltırken α -1d adrenoseptörlerin de bloke olmasıyla irritatif semptomların azalacağı öne sürülmüştür (22). Erdoğan ve arkadaşları, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonlu 39 hastayı inceledikleri bir çalışmada alfa bloker kullanımı ile apoptozda artma saptamış ve bunun sonucunda da çıkım obstrüksiyonu sonrası mesane kas kütleindeki artışın dengelenebileceğini, dolayısıyla da çıkım obstrüksiyonuna yönelik bir tedavi uygulanıncaya kadar denge halinin korunabileceğini bildirmişlerdir (12). Bir alfa bloker olan doksazosinin uygulandığı parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonlu rat mesanesinde ise parsiyel obstrüksiyona bağlı kas kütleindeki artış engellenmiş ve doksazosinin kan akımında yarattığı artışla hipertrofi azalmış ve kontraktilite özelliklerinin korunabildiği bildirilmiştir (23).

Çalışmamızda, deneysel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulacak olan tavşanlarda bir alfa bloker olan terazosin, güçlü bir antioksidan olan melatonin ve her

ikisinin kombine kullanımı sonucunda mesane kontraktilite, hipertrofi ve oksidan-antioksidan sistemdeki değişikliklerin incelenmesi planlandı. Bu çalışmada kullanılması planlanan terazosinle çıkım obstrüksiyonuna sekonder oluşacak olan kas kütle artışının, obstrüksiyonun azaltılması yolu ile giderilmesi planlandı. Çalışmada kullanmayı planladığımız melatoninle de yine hem reaktif oksijen metabolitlerinin parsiyel obstrüksiyondaki oluşturabileceği mesane hasarının önlenmesi planlandı. Öte yandan melatoninin direk kas gevşetici etkisinden faydalanarak mesane kontraktilite özelliklerine olan etkilerinin de incelenmesi amaçlandı.

3. 1. MELATONİN

Bir endojen hormon olan melatonin, pineal bezden salgılanarak retina, tükrük bezleri, karaciğer ve bağırsaklarda sentezlenir ve dolaşıma salınır (24,25). Salınımında en patognomonik özelliği, sirkadian bir ritimde olması ve karanlık fazda serum düzeyinin gün içi konsantrasyonundan 5 ya da 10 kat daha fazla olmasıdır (19,26).

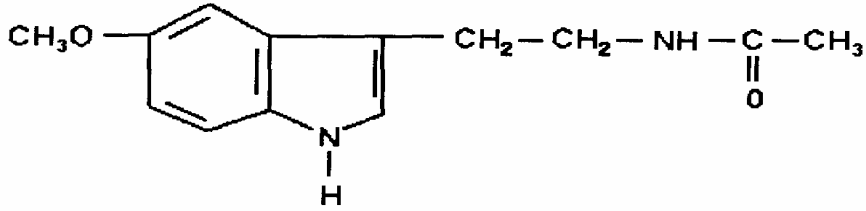
Bir indolamin olan melatonin, tüm subsellüler kompartmanlara ve hücre nükleuslarına geçiş gösterir ve çok büyük bir alanda oluşabilecek bir oksidatif hasarı önlemede etkili olabilir. Melatonin ortamdaki hidroksil radikallerini ortadan kaldırmada diğer iki antioksidan ajan olan glutatyon ve mannitolden daha etkilidir (26).

3. 1. 1. Melatonin Sentezi

Melatonin sentezinde ışık en önemli belirleyicidir. Karanlıkta uyarılan süperior servikal gangliondan gelen beta adrenerjik postganglionik sempatik sinir sistemi lifleri ile melatonin sentezi uyarılmış olur (27). Melatonin sentezinin ışık varlığında azaldığı bildirilmiştir (27,28).

Memelilerde pineal bez, elektrik sinyallerini hormonal sinyallere eviren nöroendokrin bir iletici olarak görev yapmaktadır. Pineal bezden iki grup endojen

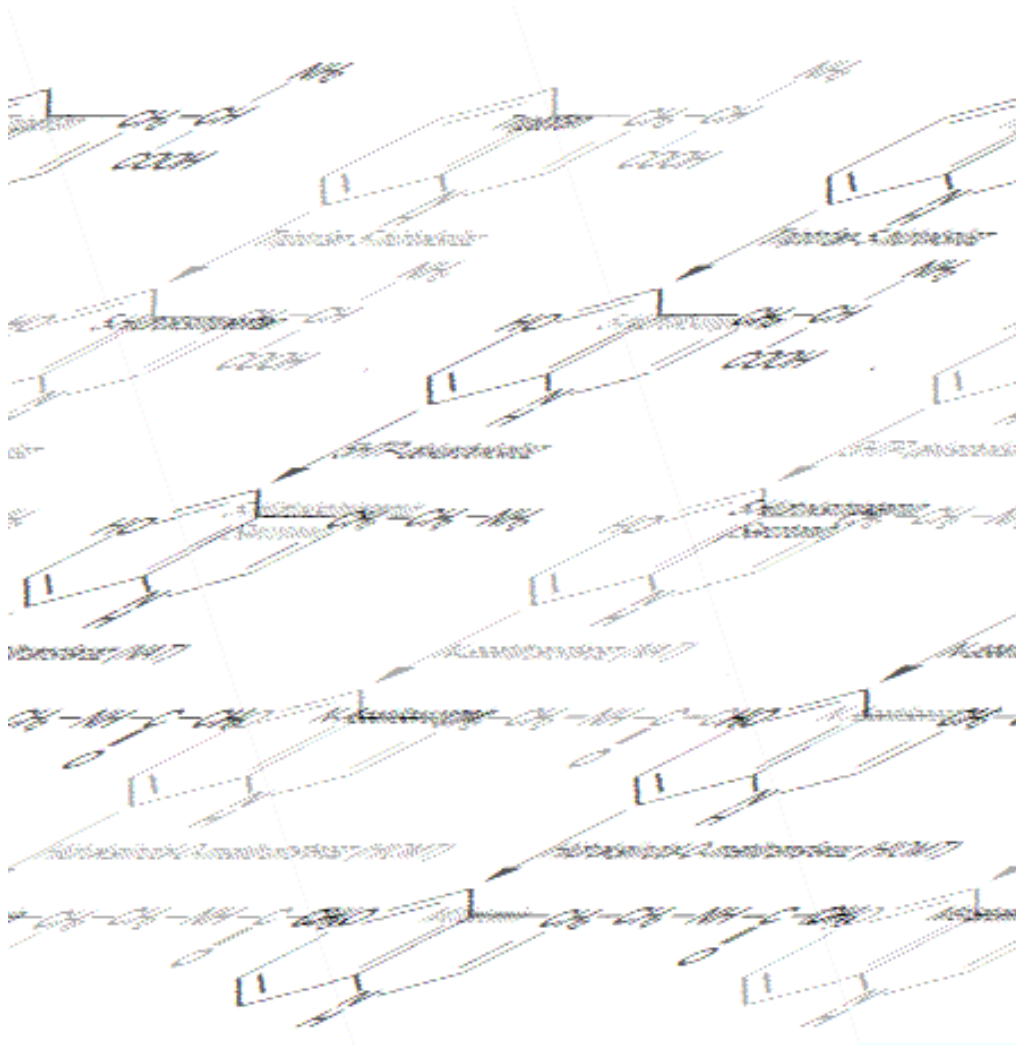
madde salgılanmaktadır. Bunlar indolaminler ve peptidlerdir. İndolaminlerden en önemlisi 232 molekül ağırlıklı melatonin olarak bilinen N-asetil-5- metoksitriptamindir (19,27,28) (Şekil 1).



Melatonin= N-Asetil-5-metoksitriptamin

Şekil 1. Melatoninin Kimyasal Yapısı. (19)

Melatonin sentezinde substrat olarak Triptofan kullanılır. Bu aminoasit, triptofan hidroksilaz enzimi katalizörlüğünde 5-hidroksitriptofana hidroksillenir. Daha sonraki basamakta ise 5-hidroksitriptofan, aromatik L-amino asit dekarboksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptamine (serotonin) dekarboksile olur. N-Asetiltransferaz enzimi serotoninini N-asetilserotonine ve daha sonra da hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enzimi ile melatonine dönüşüm gerçekleştirilir (Şekil 2) (29).



Şekil 2. Melatonin sentezi (29).

3. 1. 2. Melatonin ve Antioksidan Özellikleri

Yüksek oranda lipofilik özellikte olan melatonin rahatlıkla tüm dokulara geçiş gösterebildiğinden hücre içi organelleri serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı zararlı etkilerden korumada, bilinen en güçlü antioksidanlardan biridir (19,25).

DeneySEL olarak SOR artışı sağlanan ratlarda melatonin uygulaması ile hepatik hücrelerde DNA hasarının engellendiği dolayısıyla melatoninin dokuların yüksek serbest oksijen radikallerine maruz kaldıkları durumda oldukça koruyucu bir rol oynadığı

bildirilmiştir (29). Melatonin in vivo ve in vitro diğer antioksidanları da aktive eder, bu özelliği ile de güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir (29,30).

Tüm aerobik organizmalarda var olduğu düşünülen melatoninin oksijen kaynaklı radikallerin üretildiği her dokuya geçebileceği bildirilmiştir (29). Ayrıca bu molekülün yüksek dozlarda dahi bilinen bir yan etkisi yoktur çünkü, endojen olarak salgılanmasından dolayı aşırı konsantrasyondaki melatonin organizma tarafından ortadan kaldırılmaktadır. İnsanlarda, melatonin 5 yıl boyunca 300 mg/gün dozunda herhangi bir yan etkiye yol açmamıştır (31).

Melatonin direk radikal temizleyici bir ajandır. Toksik oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek detoksik maddeler oluşturur. Melatonin ve bazı serbest oksijen radikallerinin reaksiyonu sonucunda oluşan nontoksik maddeler tablo 1’de özetlenmiştir (32).

Tablo 1: Melatonin radikaller üzerine etkisi

ETKİLENEN MOLEKÜL	MELATONİNİN ETKİSİ
Hidroksil Radikali (OH [•])	Siklik 3-hidroksi melatonin
Singlet oksijen (O ₂)	N-asetil-N-formil-5-metoksikinuramin
Süperoksit Anyon Radikali (O ⁻)	N-asetil-N-formil-5-metoksikinuramin
Hidrojen Peroksit (HO ⁻)	N-asetil-N-formil-5-metoksikinuramin
Hipoklorik Asit (HOCl)	5-hidroksimelatonin
Nitrik oksit (NO [•])	N-nitrosomelatonin

3. 1. 3. Melatoninle ilgili yapılan çalışmalar

Hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal giderici ajan olduğu gösterilmiştir. Serbest radikal giderici etkisi bakımından, bilinen tüm

antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, vitamin E gibi) daha güçlüdür (33,34,35,36,37). Melatonin yağda ve suda çözünür özelliğe sahip olması nedeniyle vücudun her hücresine, sitozole ve hücre içindeki diğer yapılara kolaylıkla girer ve bu özelliği vitamin ve mineral antioksidanlara göre çok daha etkili antioksidan olmasının sebebidir (36,38,39). Böylece dejeneratif ve proliferatif değişikliklere neden olan hastalıklara karşı DNA'yı, membran lipidlerini ve sitozolik proteinleri korur (33,34). Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle de DNA'yi koruyabilir. Bu etkisini reseptörden bağımsız şekilde direk olarak oluşturur (34,41). Ayrıca indirek olarak spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi antioksidan enzimleri uyararak ve nitrik oksit sentetaz gibi prooksidatif enzimleri baskılayarak antioksidan etki göstermektedir (33,,36,40,41, 42,43).

Melatoninin farmakolojik dozlarda serbest radikallere bağlı protein degradasyonuna karşı koruyucu olduğu, Abe ve arkadaşları tarafından, ratlarda Buthionine Sulfoxamine (BSO) ile oluşturulan katarakt modelinde gösterilmiştir (44). Pieri ve arkadaşları melatoninin doku lipid peroksit radikallerini (LP⁰) temizleme yeteneği olduğunu göstermişlerdir (45). LP⁰; lipid peroksidasyonu süresince oluşan ve zincir reaksiyonunu uyaracak kadar reaktif olan bir radikaldir. Bu nedenle de yağ asitlerinin parçalanmasına yol açar. Yapılan deneysel çalışmalarda melatoninin lipid peroksidasyonu nötralize etmede vitamin E'den iki kez daha etkili olduğu saptanmıştır (46,47). Baydaş ve arkadaşları melatoninin sentez edildiği pineal bezi çıkararak yaptıkları bir deneysel çalışmada pineal bezi çıkarılan ratların beyin ve karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin arttığını saptamışlar (48).

Melatoninin antioksidan özelliğini ortaya koyan çalışmaların dışında uterus, damar ve mide düz kası üzerine inhibitör etkileri olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur.

Melatonin, spontan ve oksitosin ile indüklenen myometriyum kontraksiyonları üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (49). Bu hormonun damar düz kaslarında gevşemeye neden olduğu belirlenmiştir (50). Bir diğer çalışmada sıçanlarda, ince ve kalın barsak yapısında bulunan düz kasların kasılmasını azalttığı görülmüştür (51). Benzer şekilde melatoninin mide düz kasları üzerinde etkili olduğu ve doza bağlı olarak serotonin ile indüklenen kontraksiyonları inhibe ettiği bildirilmiştir (52). Bu ajanın düz kas tonusuna etkileri mevcut olup, diğer düz kaslardaki etkileri ile ilgili yaygın çalışmalar olmamasına rağmen, mesane kasılmasına üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar daha az sayıdadır. Semerciöz ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel çalışmada melatoninin KCL ile indüklenen kobay mesanesi üzerine inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiştir (20). Melatoninin düz kas üzerindeki inhibitör etkisinin mekanizmasının belirlenmesi amacıyla da çalışmalar yapılmıştır. Ayar ve arkadaşları miyometriyum kontraksiyonlarında melatoninin gösterdiği inhibitör etkide Ca^{+2} aktiveli K^{+} kanallarının muhtemel rolünü araştırmak için Ca^{+2} aktiveli K^{+} kanal blokeri apamin kullanmışlardır ve sonuç olarak apaminin bir değişiklik oluşturmadığını tespit etmişlerdir (49). Miyometriyal kasılmalar üzerine melatoninin sebep olduğu inhibisyonun muhtemel diğer bir mekanizmasının ise melatonin ile kalmodulin arasındaki etkileşimden dolayı olabileceği bildirilmiştir. Melatoninin Ca^{+2} aktiveli kalmoduline yüksek afinite ile bağlandığı tespit edilmiştir. Böylece melatoninin Ca^{+2} kalmodulin kompleksini, dolayısıyla miyozin hafif zincir kinaz aktivasyonunu önleyebileceği ileri sürülmüştür (53). Satake ve arkadaşları tavşana ait izole aorta, iliak ve renal arterlerde, 5-hydroxytryptamine (5-HT) ile indüklenen kontraksiyonların melatonin uygulaması ile inhibe olduğunu, bu etkisinin hücre içi depolardan Ca^{+2} akışından ziyade, reseptör bağımlı kalsiyum kanallarından kalsiyumun akışı ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir (54). Benzer şekilde Weekley sıçanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmasında, melatoninin aorta düz kaslarında relaksasyona yol açtığını ve

melatonin hormonunun düşük dozunun, damar düz kasının beta adrenerjik cevabında bir değişiklik oluşturmadığını, alfa-1 ve alfa-2 adrenerjik cevabı azalttığını belirtmiştir (55).

3. 2. TERAZOSİN

3. 2. 1. Farmakolojik Özellikleri

Terazosin hidroklorür selektif alfa-1 adrenoseptör blokeri olup,quinazolin türevidir.

3. 2. 2. Farmakokinetik

Terazosin hidroklorür insanlarda bağırsaklardan hemen tümüyle emilir. Gıdanın,terazosin kapsül formülünün biyoyararlığı üzerine etkisi ya hiç yoktur veya çok azdır. Terazosinin karaciğerdeki ilk geçiş metabolizmasına minimum derecede girdiği ve dolaşımdaki dozun hemen tamamının ana ilaç şeklinde olduğu gösterilmiştir. Plazma düzeyleri doz verildikten yaklaşık bir saat sonra doruğa çıkar ve yaklaşık 12 saatlik bir yarılanma ömrü ile azalmaya başlar. İlaç plazma proteinlerine ileri derecede bağlanır ve bağlanma klinik olarak gözlenen konsantrasyon sınırlarının üzerinde sabittir.

3. 2. 3. Metabolizma

Oral uygulanan bir dozun, ana ilaç olarak, yaklaşık %10'nu idrarla %20'si feçesle atılır. Kalanı metabolitler olarak elimine olur. Genel olarak verilen dozun yaklaşık %40'ı idrarla, yaklaşık %60'ı feçesle atılır. Terazosinin farmakokinetiği, böbrek fonksiyonunundan bağımsız gibi görünmektedir. Bu durum, böbrek fonksiyonu bozuk olan hastalar için doz rejiminin ayarlanması gereksinimini ortadan kaldırır.

3. 3. TERAZOSİNİN FARKLI SİSTEMLERE ETKİSİ

3. 3. 1. Ürogenital Sisteme Etkisi: Benign prostat hiperplazisi ile ilgili semptomlar mesane çıkışının obstrüksiyonu ile ilgilidir. Bu iki önemli unsurdan oluşur:statik unsur ve dinamik unsur. Statik unsur prostat ebadındaki bir artışın sonucudur. Zamanla, prostat büyümeye devam eder. Bununla birlikte klinik çalışmalar prostat ebadının semptomlarının derecesi ile bağlantılı olmadığını göstermiştir. Dinamik unsur, prostat ve mesane

çıkışındaki düz kas tonusundaki artışın fonksiyonu olup, mesane çıkışının konstrüksiyonuna sebep olur. Yıllardır, semptomların sadece prostattaki büyümenin mesane çıkımında oluşturduğu anatomik bir obstrüksiyon sonucunda ortaya çıktığı düşünülmekteydi. Ancak son yıllarda semptomların sadece statik prostatik obstrüksiyona bağlı olmadığı, dinamik obstrüksiyona yol açan prostat düz kas tonusunda etkili olduğu gösterilmiştir (56). Bununla beraber, semptomların yalnızca prostatın kitlesel büyüklüğü ile alakalı olmadığı ve cerrahi tedavi yapılan hastaların %30'unda semptomların tam düzelmediği ve önemli oranda morbidite geliştiği de gösterilmiştir (57). Bu da araştırmacıların dikkatini daha az invaziv tedavi metotları ve özellikle medikal tedaviler üzerine yoğunlaştırmıştır (58). Son yıllarda prostat dokusundaki sempatik innervasyonun daha iyi anlaşılmasına paralel olarak, selektif alfa ve alfa1a adrenerjik reseptör blokörleri geliştirilmiştir (59). Bu ajanların da üzerinde yapılan araştırmalarda hastaların semptomlarında ve idrar akım hızlarında anlamlı bir düzelme ve yan etki profillerinde azalma olduğunu gösterilmiştir (60). Deneysel araştırmalarda uzun yarılanma ömrüne sahip olan selektif alfa-1 reseptör blokörlerinin bulunması ile hem kullanım kolaylığı, hemde minimal de olsa yan etkilerinin ilacın akşam alındığında uyku perioduna denk gelmesi nedeni ile bu tür ilaçların daha güvenli olabileceği fikrini gündeme getirmiştir. Terazosin yarı ömrü 12 saat olan selektif uzun etkili alfa-1 reseptör blokörüdür. Alfa-1: Alfa-2 seçiciliği 400:1'dir. Kiper ve arkadaşları, terazosinin plaseboya göre, semptomları ve idrar akım hızlarını düzeltmede daha üstün olduğunu (terazosin grubunda %40,6 plasebo grubunda ise %4.7 düzelme) saptamışlardır (61).

Terazosin uygulanmasını takiben semptomlarda azalma ve idrar akış hızında düzelme , mesane boynu ve prostattaki alfa-1 adreseptörlerin blokajı ile oluşan düz kas gevşemesi ile alakalıdır. Mesane bünyesinde göreceli olarak daha az alfa-1 adreseptör bulunduğundan, terazosin mesane çıkışı obstrüksiyonunu mesane kontraktilesini

etkilemeden azaltır.

3. 3. 2. Kardiyovasküler Sisteme Etkileri

Terazosinin vazodilatatör hipotansif etkisi esas olarak alfa-1 adrenoseptörlerinin blokajı ile oluşur. Terazosin oral uygulamayı takiben kan basıncını 15 dakika içinde tedricen düşürür. Terazosin diastolik ve sistolik kan basıncını hem yatar hemde dik durumda düşürür. Bu etkisini en çok diastolik kan basıncı üzerinde gösterir. Bu değişiklikler genelde refleks taşikardiye neden olmaz.

3. 3. 3. Terazosinin Parsiyel Mesane Çıkım Obstrüksiyonuna Etkileri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Alfa-1 reseptör blokajı yapan ilaçların kullanılmasıyla mesane çıkım obstrüksiyonun azaltıldığı uzun yıllardır bilinmektedir (62,63,64). Selektif alfa-1 blokörlerinin kullanımı ise, prazosin ile yapılan deneylerden sonra yaygınlaşmıştır. Özellikle Hedlund, Martorana ve Kirby'nin bu konuda yaptıkları çalışmalar sonunda maksimum idrar akım hızının %40'lar düzeyinde arttığı gösterilmiştir (65,66,67). Lepor'un 285 hastayı değerlendirdiği 12 haftalık çalışmasında terazosinin, semptom skoru, ortalama ve maksimum idrar akım hızı açısından plaseboya anlamlı şekilde üstün olduğu, önemli farkların yüksek dozda saptandığını bildirmiştir (68,69). 1996 yılında New York Üniversitesi'nde yapılan 256 hastanın 1 yıllık takiplerini sunan çalışmada terazosinle semptom skorlarında %40, maksimum idrar akım hızında %30 gibi bir iyileşme saptanmıştır (70). Bu faydaları (etkileri) sonucu mesane düz kas dekompanasyonunun önlenebileceği bildirilmiştir (23). Çıkım obstrüksiyonu engellenince mesane dekompanasyonu önleneceği gibi mesanede fibrozis artışı ve iskemi-reperfüzyon hasarı olmayacağı da bildirilmiştir (15,16).

Bu çalışmada bir alfa bloker olan terazosinin mesane çıkım obstrüksiyonunu engellemedeki etkilerinden faydalanarak çıkım obstrüksiyona sekonder oluşan etkilerin

ortadan kaldırılıp kaldırılamayacağıının incelenmesi amaçlandı. Çalışmamızda bilinen bir güçlü antioksidan olan melatoninin de reaktif-oksijen metabolitlerini azaltarak mesane kas kütleinde ortaya çıkacak hasarı engelleyip engelleyemeyeceğini araştırmayı planladık. Ayrıca melatoninin düz kas kasılmasını inhibisyon özelliğini de incelemeyi planladık. Çalışmamızda, klinik uygulamalara model olabilecek bir tedavi olması açısından da her iki ajanın birlikte kullanımının mesane çıkım obstruksiyonuna olan etkilerinin araştırılması planlandı.

4. MATERYAL-METOD

4. 1. Denek Seçimi

Bu deneysel çalışma için kullanılan 40 adet erkek Yeni Zelanda tipi tavşan, Fırat Üniversitesi Veteriner Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Yaş olarak tüm tavşanlar 16-20 haftalık olup ağırlıkları 1200-2000 (Ort.1800 gr) gram arasında değişmekte idi. Çalışma, Mart 2006 ile Nisan 2006 tarihleri arasında yapıldı ve deneyde tavşanlara uygulanan cerrahi işlemler Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi.

Tavşanlar 5 farklı guruba randomize olarak ayrıldılar. Tüm tavşanlar 18-21° C sıcaklığında ve 12 saat karanlıkta kalmaları ve 12 saat ışık almaları sağlanarak diüurnal ışık şartlarında, standart tavşan yemi ile beslenerek ve şehir içme suyu verilerek her bir kafeste beşerli olarak saklandılar. Tavşanların bakımları ve barındırılmaları etik kurallar doğrultusunda Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi laboratuvarında gerçekleştirildi.

4. 1. 1. Deneysel grupların oluşturulması

Çalışmada toplam 40 adet erkek Yeni Zelanda tip tavşan kullanıldı. I.

Grup(n=8) - Sham operasyonu uygulanan tavşanlar: orta hat batın insizyonunu takiben, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulmadan batının tekrar kapatıldığı ve her gün intraperitoneal izotonik verilen grup.

II. Grup(n=8): Deneysel olarak parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan grup

III. Grup(n=8): Deneysel olarak parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak, deney süresince oral 5 mg/ gün dozunda Terazosin uygulanan grup.

IV. Grup (n=8): Deneysel olarak parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak, deney süresince intraperitoneal 10 mg/kg/gün dozunda melatonin (sigma, st. Lovis, MO) uygulanan grup.

V.Grup (n=8): Deneysel olarak parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak, deney süresince oral 5 mg/ gün dozunda Terazosin ve intraperitoneal 10 mg/kg/gün dozunda melatonin uygulanan grup.

4. 2. İşlem

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı (14.06.2005, karar no: 4) alındıktan sonra deneysel parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu ve sham operasyonu uygulanacak tavşanların tümü işlemden 18 saat öncesinden başlayarak sadece su içmelerine izin verilerek aç bırakıldılar. Tavşanlarda genel anestezi oluşturmak amacı ile 25 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar flakon, Eczacıbaşı, İstanbul) ve Xylazine hidroklorid (Rompun flakon, Bayer, İstanbul) kullanıldı. Anestezik ajanlar tavşanların musculus biceps femoris semitendiosus ve musculus gluteus maximus kaslarına uyan bölgeye intramusküler olarak uygulandı. Tüm tavşanlar sırt üstü yatırıldı ve batın orta hat çizgisi her iki yanda 1'er cm'lik alan traş edilerek tüylerden arındırıldı. Cerrahi alan açığa çıkarıldıktan sonra % 10 Povidone Iodine solüsyonu ile temizlendi ve 2 dakika süre ile bekletildi. Yalnızca cerrahi alan açıkta kalacak şekilde batın steril örtülerle kapatıldı.

Sham operasyonu (Grup I): Tavşanların mesanesine üretradan 8 French (Fr) kateter yerleştirildikten sonra steril cerrahi aletlerle karın ön yüzüne 2 cm'lik vertikal bir insizyon uygulandı. Cilt, ciltaltı, geçilerek mesaneye ulaşıldı. Tüm mesane çevre dokulardan arındırılarak, mesane boynunda üretra açığa çıkarıldı ve 2-0 ipek sütür mesane boynuna yerleştirildi. Ancak sütür bağlanmadan kateter çıkarıldı. Batın ön duvarı ve cilt tam kat 3-0 ipekle kapatıldı. Ve sham operasyonu sonlandırıldı.

Deneysel parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan grup (Grup II,III,IV,V): Sham operasyonu uygulanan grupta olduğu gibi ipek sütürün üretra etrafına yerleştirilme aşamasına kadar aynı işlemler uygulandı. Ancak önceden kateter yerleştirilen üretra 2-0 ipekle mesane boynunun hemen distalinde gevşek bağlanarak kateter çıkarıldı.



Şekil 3. Mesane boynunda parsiyel obstrüksiyon meydana getirilmesi



Şekil 4. Mesane boynunda diseksiyon yapılması



Şekil 5. Mesane boynunda parsiyel obstrüksiyon meydana getirilmesi

4. 3. Antioksidan Uygulama ve peryodu

Deneysel parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulmasını takiben mesanede biyokimyasal, histopatolojik değişikliklerin oluşumu için 2 hafta beklenilmesi önerilmiştir (71).

Bu çalışmada farklı gruplarda incelenen tavşanların son 2 grubuna (Grup IV ve V) 2 hafta boyunca her gün vücut ağırlıklarına göre 10 mg/kg/gün dozunda özel olarak hazırlanan melatonin intraperitoneal olarak uygulandı.

Melatonin uygulaması her gün diüurnal ritme uygun olarak aynı saatte melatoninin en düşük düzeylere indiği belirtilen saatlerde (öğle öncesi saat 8 ile 10 arasında) yapıldı (72) .

4. 3. 1. Melatoninin hazırlanışı

Melatonin, daha öncede belirtildiği gibi ışıktan olumsuz olarak etkilenen ve tamamen ışık olmayan ortamda -20°C saklanması önerilen bir maddedir. Bu nedenle deney süresince melatonin, belirtilen ısıda ışık almayacak şekilde saklandı. Günlük

enjeksiyonlar öncesinde ilacın yarılanma ömrünü ve etkinliğini değiştirmek için melatonin özel olarak ve bir günlük enjeksiyon dozunda hazırlandı. Bunun için her bir tavşana 10 mg/kg dozda melatonin steril şartlarda tartılarak 2 cc saf etanol içerisinde çözüldü ve vorteks denilen karıştırıcı cihazı ile karıştırıldı.

4. 4. Terazosin uygulaması

Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu yapıldıktan sonra 2 hafta boyunca Grup III ve V'deki tavşanlara Terazosin hidroklorür tabletler ezilip, %0.9 serum fizyolojik ilave edilerek süspansiyon hazırlandı ve 5mg/gün dozunda oral olarak uygulandı.

4. 5. Dekapitasyon İşlemi

Deney sonunda, mesane dokusunun alınabilmesi için tavşanlar giyotin ile dekapite edildiler. En az stres oluşması için işlemler 5-10 saniye içinde gerçekleştirildi. Tüm tavşanlar için artarda yapılan dekapitasyon işleminde, her bir hayvanın kesiminden önce giyotin musluk suyu ile yıkandı ve temizlenerek kurutuldu.

4. 6. Doku Çıkartılması

Dekapite edilen hayvanlarda orta hat insizyonu uygulandı ve tüm mesane çevre yağ dokulardan arındırılarak çıkartıldı. Çıkarılan mesaneden bir örnek histopatolojik inceleme için %10'luk formol içine koyuldu. Birer örnek de biyokimyasal inceleme için alüminyum folyoya sarıldı ve -20°C'de inceleme gerçekleştirilinceye kadar saklandı. Öte yandan kontraktilite çalışması için, mesane kas kütesinden uzunluğu 10 mm, genişliği 2 mm olan kas şeritleri hazırlandı.

4. 7. Ölçümler

4. 7. 1. Kontraktilite Çalışmaları

Bu çalışmada kontraktilite çalışmak için kas kesitleri 20 ml kapasiteli, içerisinde Thyrod's solüsyonu (124.9 mM.NaCl, 2.5 mM KCl, 0.4 mM NaHCO₃, 0.5 mM MgCl₂-

6H₂O, 04 mM Glukoz) bulunan %5 CO₂ + %95 O₂ ile havalandırılan çift çeperli cam izole organ banyosunda (Çalışkan Cam Teknik; Ankara) asılarak kayıtlar alındı. Mesane kesitinin üst kısmına bağlanan ipeğin serbest ucu hassas oynatıcı üzerine sabitleştirilmiş izometrik güç çevirgecine (Harward Apparatus Limited, Harward, İngiltere) bağlanarak asıldı ve kas asıldıktan sonra kasa bir gramlık bir gerim uygulanarak, kas bu gerime uyum sağlayana kadar beklendi. Bu esnada kas 15 dakikada bir taze kayıt solüsyonu ile yıkandı. Bekleme süresi sonunda (60 dk) spontan aktivite göstermeyen kaslar agonistlerle indüklendi. Mesane için güçlü kontraksiyon indükleyicisi olan KCL 30 mM dozunda in vitro uygulandı ve kasılmalar ossilograf (Harward Apparatus Limited, Harward, İngiltere) yardımıyla kaydedildi. Ölçüm ve değerlendirmeler bu kayıtlar üzerinden yapıldı.

4. 7. 2. Patolojik İnceleme

Dokular %10'luk tamponlu formaldehit içerisinde tesbit edildi. Daha sonra mesane trigonundan 2 mm kalınlığında doku örnekleri alındı. Bu örnekler alkol ksilol ve parafinden oluşan doku takip işleminden geçirildikten sonra parafin blokları gömülerek 5 mikron (μ) kalınlıkta kesildi. Deparafinize edilen kesitler Hemotoksilen – Eozin boyasıyla boyandı. Histopatolojik incelemede bütün örneklerde grup özellikleri bilinmeden mesane muskularis propria tabakası oküler mikrometre ile kalınlıkları ölçüldü.

4. 7. 3. Biyokimyasal Ölçümler

4. 7. 3. 1. Doku Örneklerinin Biyokimyasal Hazırlanması

Yaklaşık 1 g olarak tartılan dokular + 4 °C 'de temiz cerrahi bir makasla parçalara ayrıldı. Homojenizasyon tüpüne aktarılan doku üzerine 9 ml Tris-HCl tamponu (0.2 mM ve pH: 7,5) eklenerek 1/10 oranında dilüsyon yapıldı. Dilüe edilen doku örnekleri, 4000rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Hazırlanan homojenatların bir bölümünde malondialdehit (MDA) düzeyleri tayin edildi. Homojenatların geri kalan kısmı, + 4 °C'de soğutmalı santrifüjde, 3500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

Ayrılan süpernatantlardan, Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri ölçüldü. Süpernatantda; SOD aktivitesini tayin etmek için süpernatant, 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol karışımı ile (Kloroform/ Etanol 3/5 v/v oranında) karıştırıldı ve daha sonra 3500 rpm hızda 40 dakika +4 °C'de santrifüj edildi. Üstte oluşan etanol fazından SOD enzim aktivite tayini yapıldı.

4. 7. 3. 2. Doku Lipid Peroksid (LPO) Ölçüm Yöntemi

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malonildialdehid (MDA) tayini Ohkawa (73) tarafından belirlenen yöntem ile spektrofotometrik olarak yapıldı. Dokuda lipid peroksidasyonunun tayini pH'nın 3,5 olduğu ve aerobik şartlar altında, tiyobarbitürik asit (TBA) ile doku homojenatının kaynar su banyosunda 1 saat inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

4. 7. 3. 3. Doku Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Süperoksid dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metodu ile Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu modifikasyona göre tayin edildi (74,75). Bu metotta SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksidin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksid radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.

4. 7. 3. 4. Doku GSH-Px Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Glutasyon Peroksidaz (EC 1.11.1.9) aktivitesinin ölçümü Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre gerçekleştirildi (76). GSH-Px hidrojen peroksid varlığında redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyonu (GSSG) yükseltgenmesini katalizler. Hidrojen

peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplanır.

4. 7. 3. 5. Doku Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitesi Aebi metoduna göre çalışıldı (77). Hidrojen peroksit (H₂O₂) 240 nm'de maksimum absorbans verir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂ katalaz tarafından su ve oksijene parçalanmakta, bu ise kendini ultraviyole spektrumda absorbans azalması şeklinde göstermektedir. Absorbanstaki bu azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır.

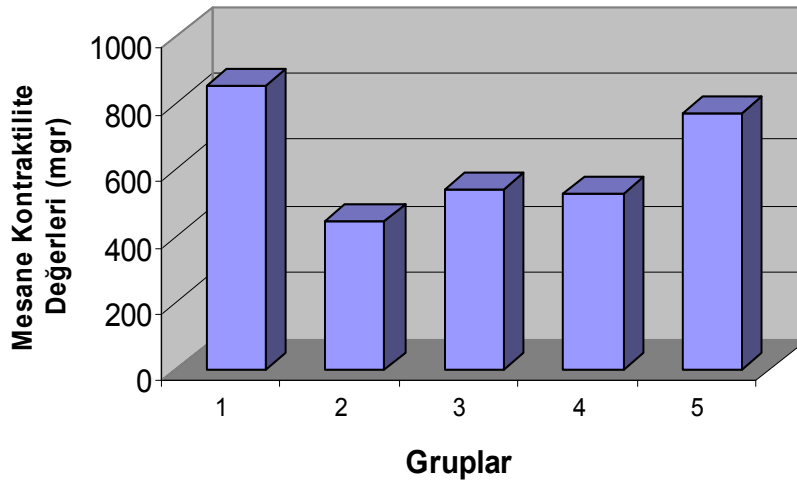
4. 8. İstatiksel Analizler

Verilerin istatiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 10.1 paket programı kullanıldı ve veriler ortalama \pm SD olarak sunuldu. Gruplar , LPO, SOD, GSH-Px, CAT açısından, kontraktilite verileri ve patolojik bulgular açısından karşılaştırıldı. Gruplar arası kontraksiyon ve patolojik karşılaştırmalarda Mann- Whitney U testi kullanıldı, p<0,05 olan değerler istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5. 1. Mesane Kontraktilite Bulguları

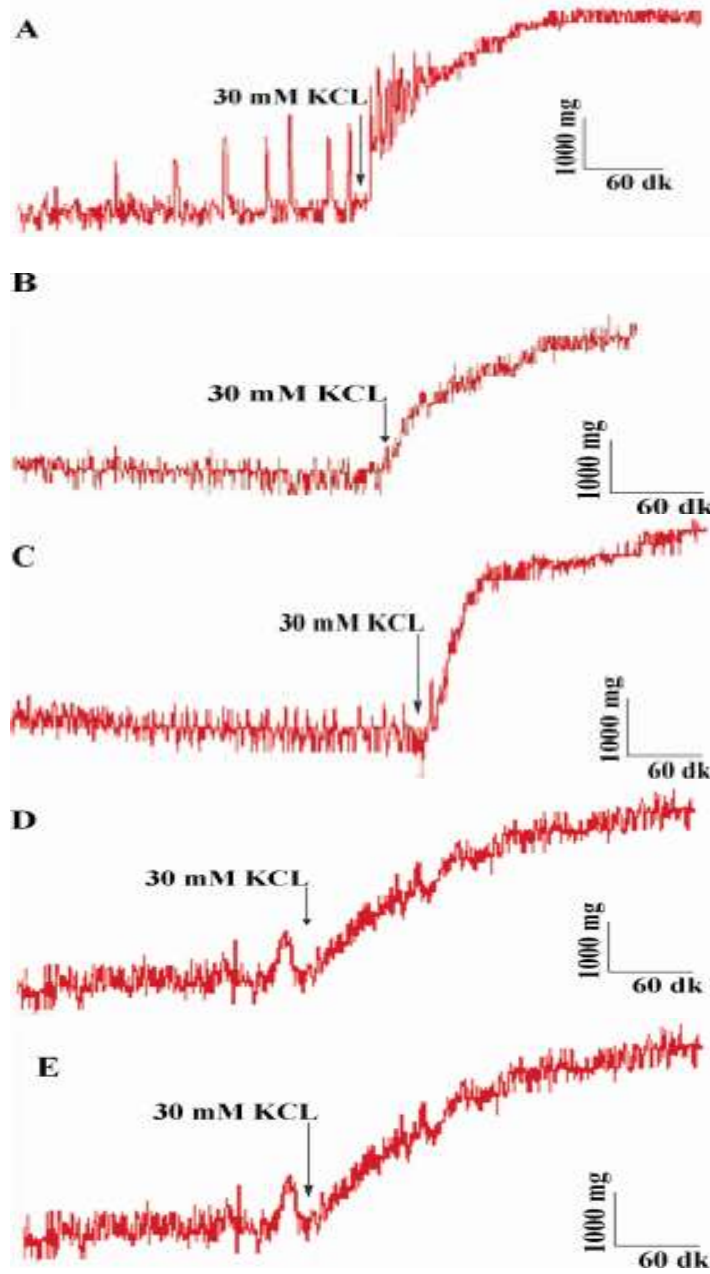
Şekil 6’de tüm grupların ortalama mesane kasılma değerleri görülmektedir. Sham (Grup I) ile yalnızca parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu uygunan grup II karşılaştırıldığında, mesane çıkım obstrüksiyonunun mesanenin kasılma gücünü anlamlı oranda azalttığı görüldü ($p<0.05$). Hem terazosin (Grup III) hem de melatonin (Grup IV) uygulanan grupta mesane Kontraktilite gücü korunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0.05$). Deney gruplarında incelenen tüm tavşanlarda mesane kasılma cevapları açısından Grup I’e en yakın değer terazosin ve melatoninin birlikte uygulandığı Grup V’de görüldü. Her iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Grup I ile II, III, IV arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Grup V ile grup II, III ve IV arasında da mesane kasılma değerleri incelendiğinde anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$) (Tablo 2). Tüm grupların kontraktilite aktiviteleri şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 6. Sham ve çalışma grubundaki tavşanlarda mesane kontraktilite değerleri

Tablo 2. Tüm grupların mesane kontraktilite değerleri

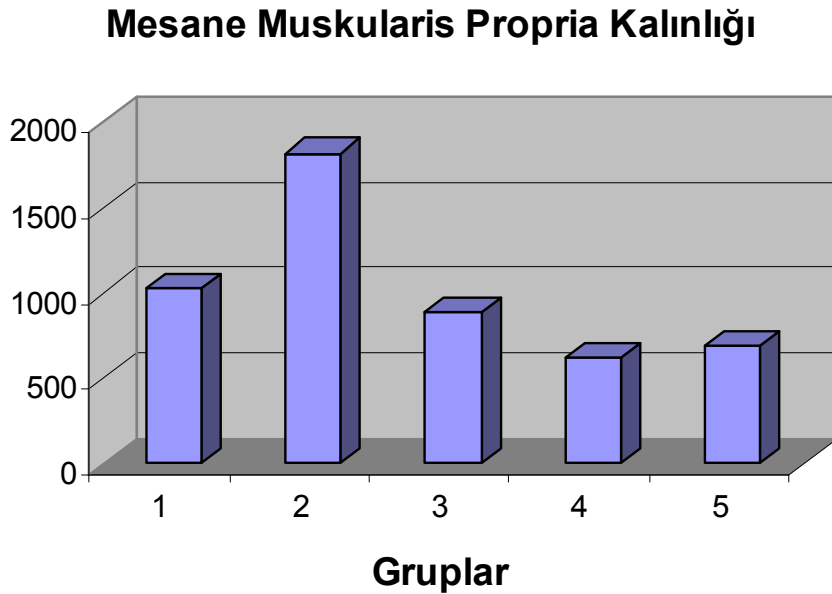
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Mesane Kontraktilite					
Değerleri (mgr)	848±99	444.1±69.1	536±72.9	527.5±99.3	766.4±33.2
Grup I- II :	p<0.05		Grup II, III, IV : p>0.05		
I-III :	p<0.05				
I-IV :	p<0.05				
Grup V- II :	p>0.05		Grup I- V : p>0.05		
V- III :	p>0.05				
V- IV :	p>0.05				



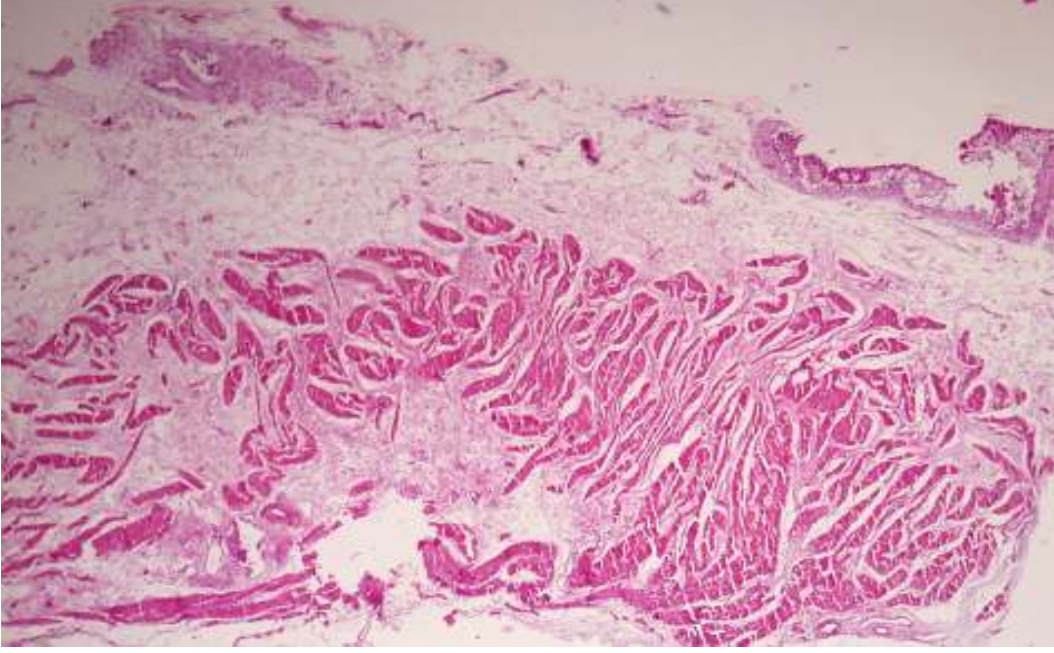
Şekil 7. A: Sham operasyonu uygulanan (Grup I) tavşanların, **B:** Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan tavşanların (Grup II), **C:** Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak Terazosin uygulanan tavşanların (Grup III), **D:** Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak melatonin uygulanan tavşanların (Grup IV), **E:** Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak terazosin ve melatonin'in birlikte verildiği tavşanların (Grup V) kontraktilite aktiviteleri.

5. 2. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

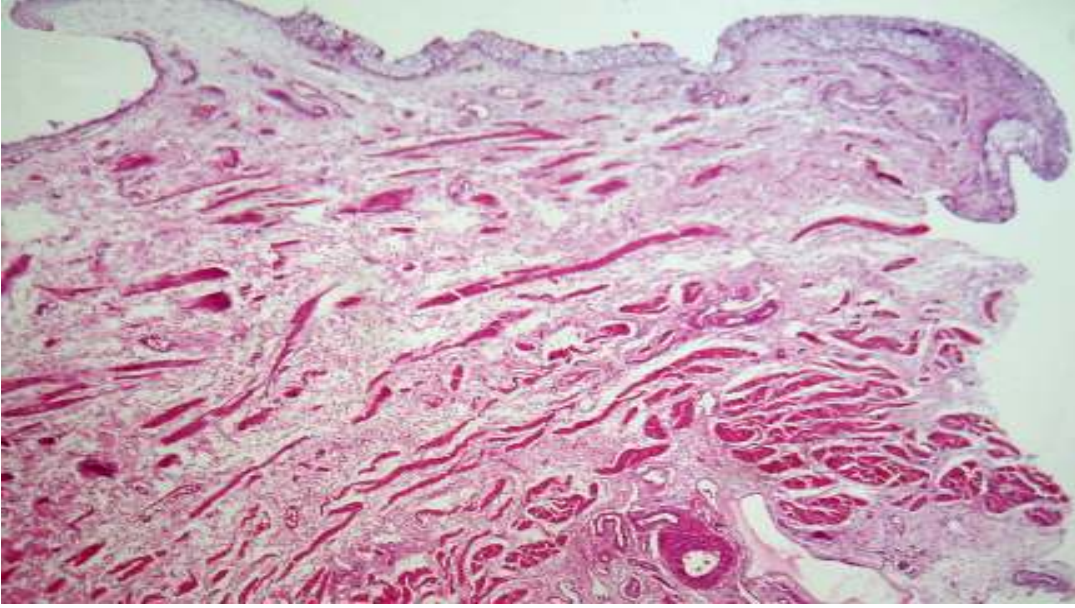
Çalışmada değerlendirilen mesane muskularis propria kalınlığı sham grubunda $1031 \pm 23.6 \mu$ olarak saptanırken, bu değer grup II, III, IV ve V' de sırasıyla 1819.2 ± 105 , 885.8 ± 83.7 , 621.5 ± 58.8 , $693.6 \pm 44.9 \mu$ olarak bulundu. Grup II'de mesane muskularis propria kalınlığı diğer tüm gruplara oranla anlamlı artış gösterdi ($p < 0.05$). Grup III (terazosin), Grup IV (melatonin) ve Grup V (terazosin ve melatonin)'de görülen mesane muskularis propria kalınlığındaki azalma en belirgin Grup IV'de saptandı. Elde edilen bu değerlerle tek başına melatoninin, tek başına terazosinin ya da her iki ajanın birlikte uygulanması ile mesane kas kütlelerinde artışın engellendiği saptandı (Şekil 8). Tüm gruplardaki tavşanların mesanelerinin yüksek büyültmede ($\times 40$) görünümü şekil 9,10,11,12,13'de gösterilmiştir.



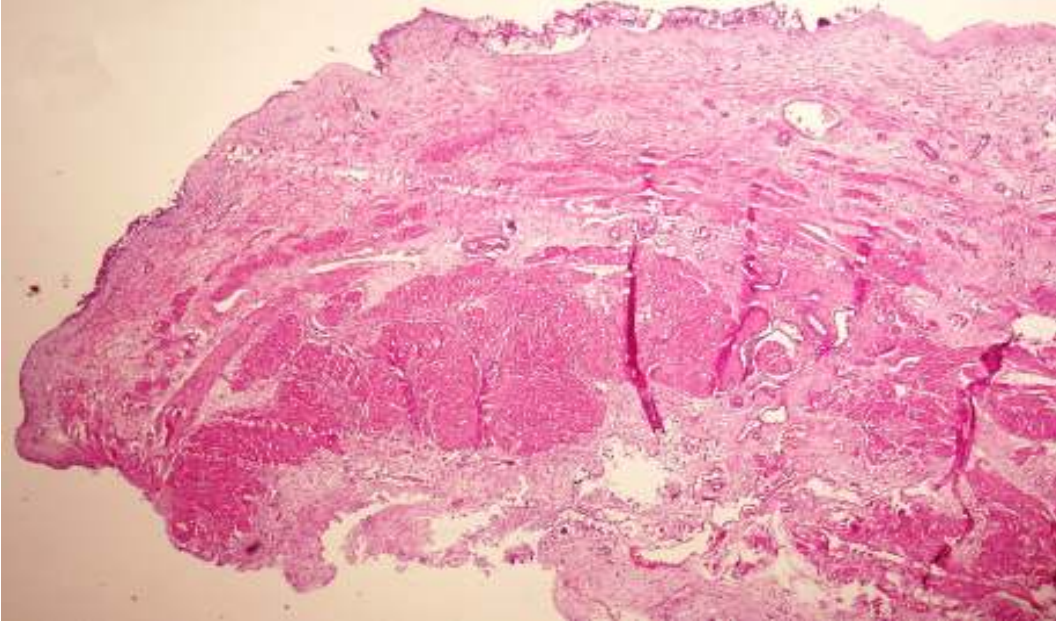
Şekil 8. Tüm gruplardaki mesane muskularis propria kalınlığı



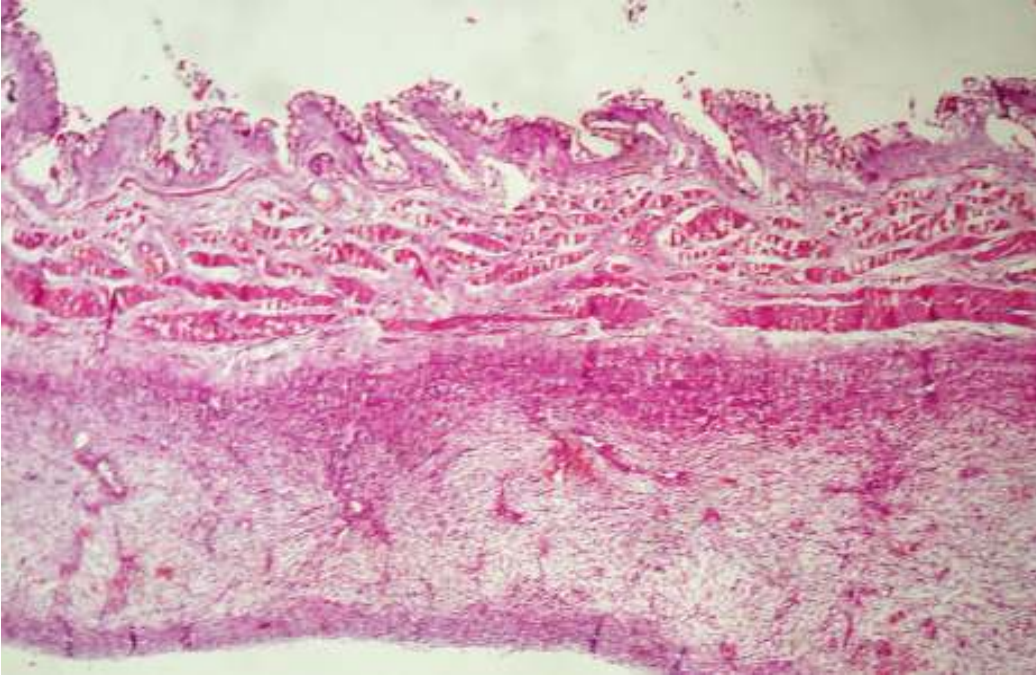
Şekil 9. Sham operasyonu uygulanan (Grup I) tavşanların mesane muskularispropria kalınlığını gösteren histopatolojik resim (X 40).



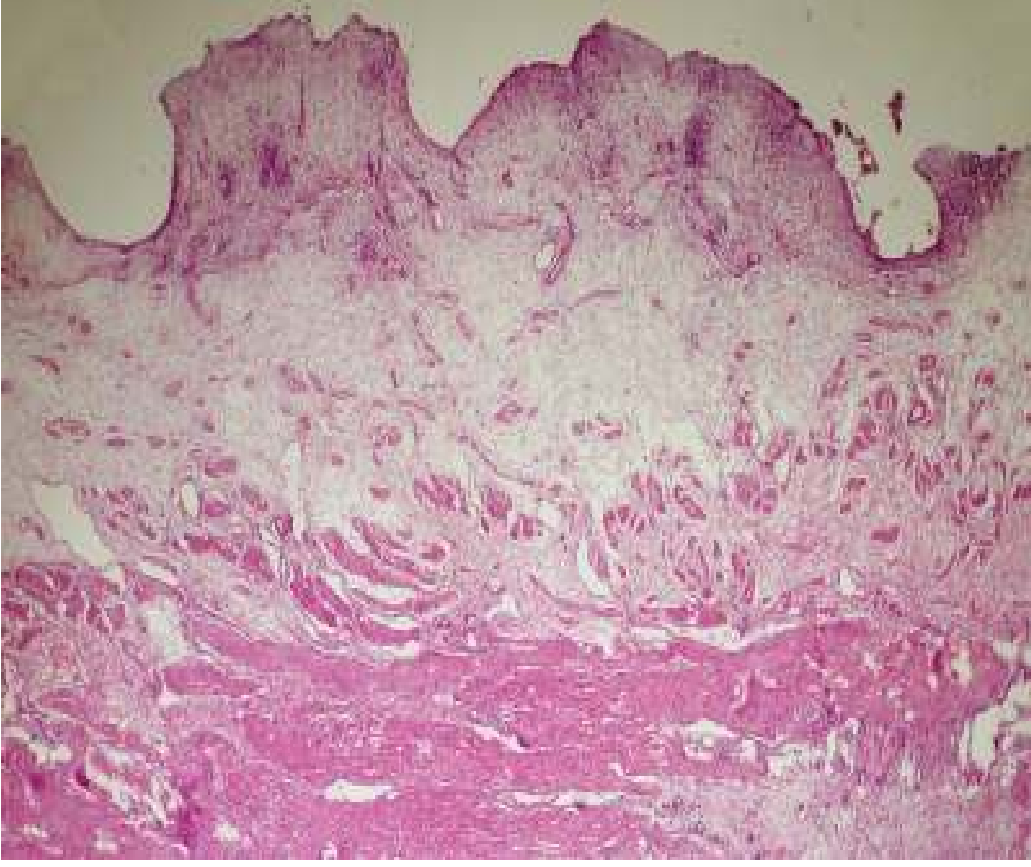
Şekil 10. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan tavşanların (Grup II) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim (X 40).



Şekil 11. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak Terazosin uygulanan tavşanların (Grup III) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim (X 40)



Şekil 12. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak melatonin uygulanan tavşanların (GrupIV) mesane muskularis propria kalınlığını gösteren histopatolojik resim (X 40).



Şekil 13. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturularak terazosin ve melatonin'in birlikte verildiği tavşanların (Grup V) mesanelerinin görünümü (X 40)

5. 3. Doku MDA ve Antioksidan Düzeyleri

5. 3. a. Doku MDA Düzeyleri

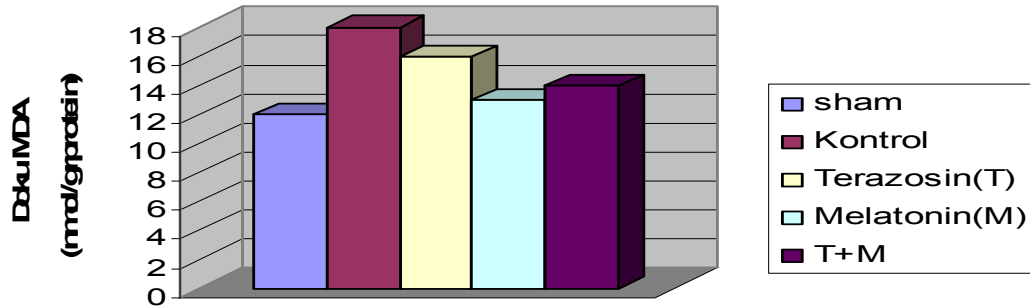
Tablo-3’de sham (Grup I), yalnızca parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu uygulanan (Grup II), terazosin uygulanan grup III, melatonin uygulanan grup IV ve terazosin ile melatoninin birlikte uygulandığı grup V’deki tavşanların mesane doku düzeyindeki ortalama MDA değerleri görülmektedir.

Tablo 3. Bütün gruplardaki doku MDA düzeyleri

	Grup I	Grup II	GrupIII	Grup IV	Grup V
Doku MDA (nmol/grprotein)	12.1 ± 0.6	18.4 ± 0.2 *	16.5 ± 0.4 *	13.7 ± 1.2	14.2 ± 0.7

* : (p<0.05)

Gruplar arasında doku MDA düzeyleri incelendiğinde grup I, IV ve V hariç tüm gruplarda mesane MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0.05). Grup I, IV ve V arasında ise doku MDA düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık izlenmedi (Şekil 14).



Şekil 14. Sham ve Çalışma grubundaki ratlarda doku MDA düzeyleri

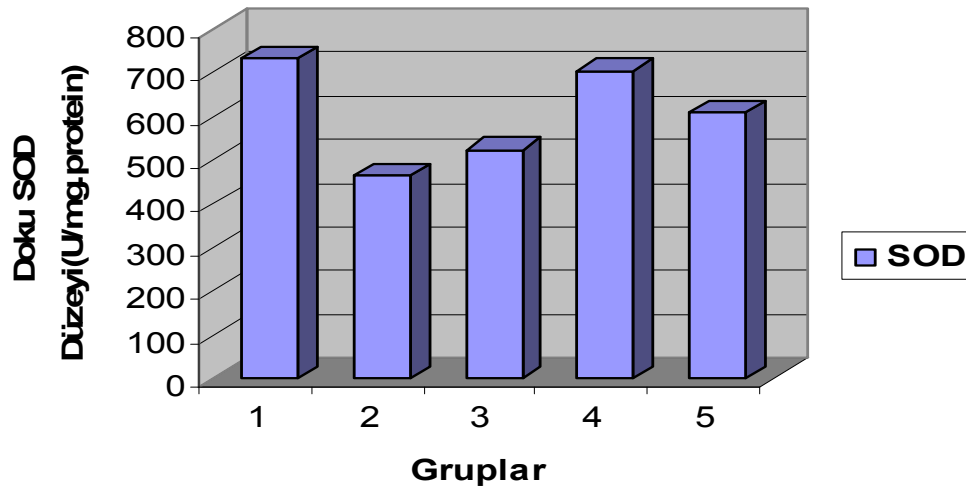
5. 3. b. Doku Süperoksit Dismutaz Düzeyleri

Mesane doku düzeyindeki SOD değerleri tablo 4’de görülmektedir. SOD düzeyleri incelemesinde grup II-III arasında anlamlı farklılık izlenmezken, bu iki gruptaki SOD düzeyi grup I, IV ve V’le karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. (Şekil 15)

Tablo 4. Mesane dokusu SOD düzeyleri

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Doku SOD (U/mgr.protein)	731.0 ± 13.4	465.3 ± 11.6	524.3 ± 13.,8	704.4 ± 30.8*	607.9 ± 28.1*

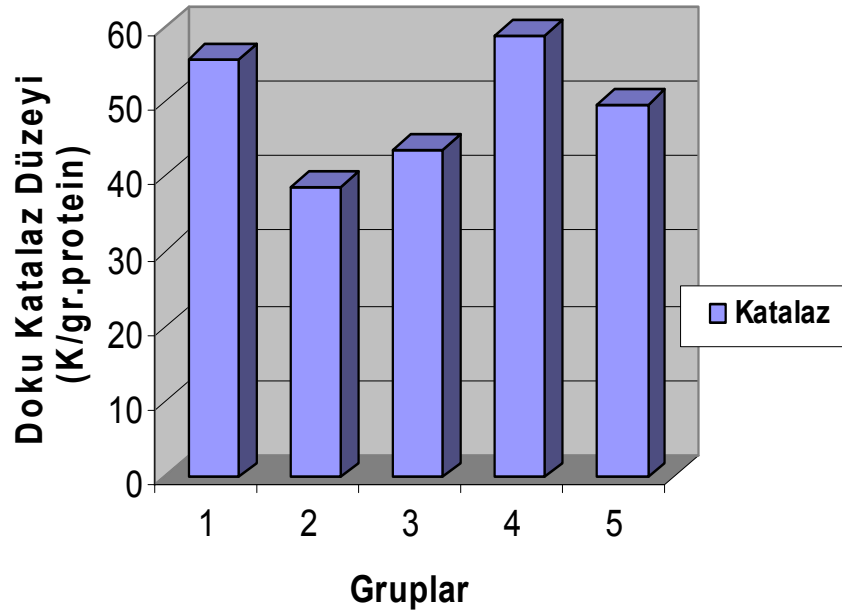
• : (p<0.05)



Şekil 15. Tüm grupların doku SOD düzeyleri

5. 3. c. Doku Katalaz Düzeyleri

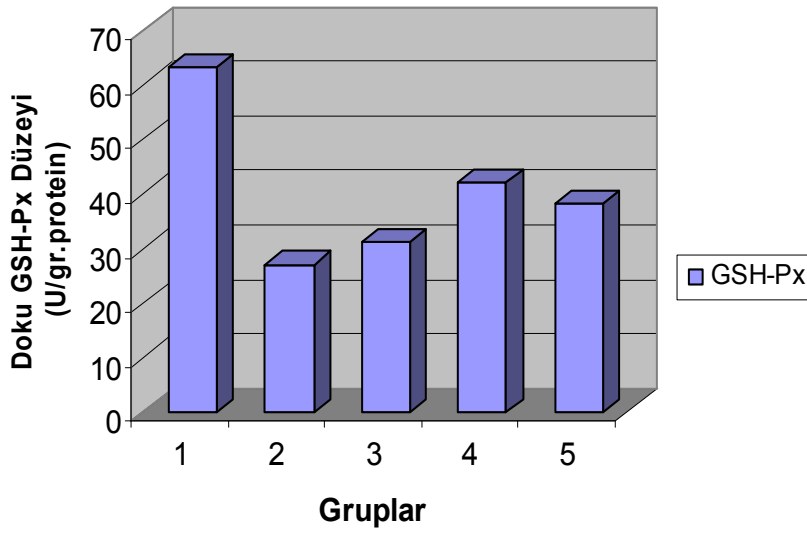
Mesane dokusu katalaz ölçümlerinde sham grubunda 56.1 ± 2.2 K/gr.protein katalaz oranı saptanırken, bu oran grup II, III, IV ve V'deki tavşanlarda sırasıyla 39.6 ± 1.8 , 44.8 ± 2.5 , 59.2 ± 0.9 , 50.2 ± 1.5 K/gr.protein olarak bulundu. Grup I katalaz düzeyleri grup II ve III'e göre anlamlı farklılık gösterirken, grup IV ve V ile aralarında anlamlı farklılık izlenmedi ($p < 0.05$) (Şekil 16).



Şekil 16. Tüm Grupların Doku Katalaz Düzeyleri

5. 3. d. Doku Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyleri

Şekil 17’de mesane dokusunda ölçülen glutasyon peroksidaz düzeyleri verilmiştir. Doku antioksidan düzeyi göstergelerinden GSH-Px değerleri ölçüldüğünde Grup I ile grup IV ve V arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Öte yandan Grup II ile grup III’de antioksidan GSH-Px diğer gruplara oranla anlamlı düşüş gösterdi veya o düzeylere çıkmadı (Tablo 5.).



Şekil 17. Tüm gruplarda doku glutasyon peroksidaz düzeyleri

Tablo 5. Bütün gruplardaki doku GSH-Px düzeyleri

	Grup I	Grup II	GrupIII	Grup IV	Grup V
Doku GSH-Px					
(U/gr.protein)	63.3 ± 2.4	27.3 ± 1.0	31.3 ± 2.5	42.4 ± 0.9*	38.5 ± 3.5*

* : ($p<0.05$)

6. TARTIŞMA

Benign prostat hiperplazisi'ne sekonder gelişen parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu (PMÇO), 50 yaş ve üzeri erkek hasta popülasyonunun yaklaşık %80'ini etkilemektedir (10,16). Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonuna bağlı mesanede gelişen patolojik değişikliklerin etyolojisinde pek çok faktör öne sürülmüştür. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu mesane kütlesinde ve duvar kalınlığında artışa neden olmaktadır (7,8,78). Mesane duvar kalınlığındaki artış, her işeme ve inhibe edilemeyen kontraksiyon süresince siklik iskemi/reperfüzyon hasarıyla sonlanmaktadır. İşeme ve inhibe edilemeyen sürekli kontraksiyonlar varlığında ise kan akımı ve doku oksijenasyonunda artma ortaya çıktığı bildirilmiştir (7). Reperfüzyon ve reoksijenasyon olarak adlandırılan bu olayda ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri hücre membranlarının lipid peroksidasyonu yolu ile membran hasarına neden olabilecekleri önceki çalışmalarda saptanmıştır (7,16,17). Aynı şekilde, membran hasarının sürekliliği parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu ile ilgili progresif mesane disfonksiyonunun temelini de oluşturabilir (16). Parekh ve arkadaşları, serbest radikaller yoluyla oluşan hücre membran düzeyindeki hasarın engellenmesinde yağda çözünen ve güçlü bir antioksidan olan vitamin E uyguladıkları tavşanlarda, dört haftalık obstrüksiyon sonucunda vitamin E uygulanan grupta kontraktilite özelliğinin korunabildiğini saptamışlardır (16). Ayrıca Das ve arkadaşları, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonlu rat mesanesinde bir alfa bloker olan doksazosin kullandıkları çalışmada, obstrüksiyona bağlı kas kütlesindeki artışı engelleyerek ve doksazosinin kan akımında yarattığı artışla, hipertrofiyi azalttığını ve kontraktilite özelliklerinin korunabildiğini bildirmişlerdir (14). Bu çalışmada, mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan deney hayvanlarında, bilinen en güçlü antioksidan olan ve düz kas kontraksiyonlarını inhibe edici özelliği de olan melatonin (19,20) ve bir alfa bloker olan terazosin kullanılarak mesane

disfonksiyonun engellenip engellenemeyeceği araştırıldı. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu uygulanan ve herhangi bir tedavi uygulanmayan kontrol grubu tavşanların mesaneleri dekapitasyon sonrasında çıkarıldığında, makroskopik olarak sham grubu ve tedavi uygulanan gruptaki tavşanların mesanelerine oranla gross olarak 2-3 kat daha büyük oldukları izlendi. Histopatolojik incelemede ise muskularis propria kalınlığı kontrol grubu (sadece obstrüksiyon uygulanan) tavşan mesanelerinde tüm gruplara oranla anlamlı olarak artmış idi (Şekil 10). Elde edilen bu bulgu, literatürde belirtilen parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu uygulanan tavşan çalışmalarında artan mesane düz kas kütlesi sonuçları ile uyumlu idi (23). Tedavi amaçlı ajanların verildiği grup III, IV ve V'de ise muskularis propria kalınlığı en çok grup IV'de azalmış olarak bulundu. Bu grupta muskularis propria kalınlığı sham grubu tavşanların mesane muskularis propria kalınlığından daha ince olarak bulundu. Grup III'de (obstrüksiyon uygulanıp terazosin verilen) ise muskularis propria kalınlığı sham grubu ile anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$). Terazosin verilen grupta muskularis propria kalınlığındaki azalmanın mekanizmasında başlangıçta öne sürülen hipotez olan obstrüksiyonun giderilmesinin etkili olabileceği düşünüldü. Ayrıca literatürde daha önce tanımlanan özelliği ile, terazosinin, apopitozda artışa yol açarak mesane muskularis propria kalınlığını da azaltabileceği düşünüldü (12).

Terazosin, melatonin ve hem terazosin hem de melatonin uygulanan tavşan mesaneleri incelendiğinde; mesane muskularis propria kalınlığındaki en fazla azalma daha önce de belirtildiği gibi grup IV'de idi. Bu grupta yüksek dozda melatonin uygulamasının tek başına oluşturduğu etkilerden dolayı muskularis propria kalınlığında en belirgin azalmaya yol açmış olabileceği sonucuna varıldı. Bu etkilerin en önemli bileşeni ise; melatoninin parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu sonrası oluşan metabolitler üzerindeki inhibitör etkileri idi. Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu sonucu oluşan hipoksi, termal fibroblast growth faktör ekspresyonuna, epidermal growth faktör reseptör aktivasyon

artışına ve transforming growth faktör beta (TGF- β) ekspresyonu azalmasına neden olabilir (13). Bu faktörlerin artışı sonucunda da mesanede patolojik ölçülerde hiperplazi meydana geldiği bildirilmiştir (23). Çalışmada uygulanan yüksek doz melatoninin hipoksi sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini anlamlı oranda azalttığı gösterildi (Şekil 14). Ayrıca mevcut çalışmada melatoninin 10 m/kg dozunda intraperitoneal uygulaması sonucu antioksidan enzim aktivitesinde anlamlı artış sağladığı saptandı (Şekil 15,16,17). Dolayısı ile, melatoninin, serbest oksijen radikallerini giderici etkisi ile hipoksiye bağlı oluşan büyüme faktörlerinin artışı engelleyerek tavşan mesane muskularis propria kalınlığında hiperplaziyi önleyici etkileri olabileceği düşünüldü (37). Melatoninin muskularis propriya kalınlığında oluşan artışa engel olması bir diğer mekanizma ile de açıklanabilir: Semerciöz ve ark. tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, agonistlerle indüklenen rat mesane striplerinde melatonin uygulaması ile in vitro kontraksiyonların önlendiği gösterilmiştir (20). Bu da melatoninin güçlü antioksidan özelliği yanında aynı zamanda detrüzör kas inhibisyonuna da yol açtığını göstermektedir. Dolayısıyla, melatoninin, çalışmamızda oluşturulan parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonuna bağlı erken dönemde oluşmuş olan ve tekrarlayan istenmeyen kontraksiyonları da engellediği varsayılacak olursa, mesane düz kasında hipertrofi ve hiperplaziyi engelleyerek muskularis propria kalınlığında artışa izin vermediği bu çalışmadan çıkarılacak bir diğer sonuç olabilir.

Terazosin uygulanan grup ile sham grubu karşılaştırıldığında muskularis propria kalınlığı açısından her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Bu grupta melatoninin kontraktilite baskılayıcı rolü olmadığından sham yani kontrol olgularına en yakın muskularis propria kalınlığı bu grupta elde edildi. Literatürde, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunda yaygın olarak kullanılan Doksazosinin normal ve obstrükte ratlarda “ α ” reseptör inhibisyonu ile mesane kontraktilite aktivitesini etkilediği daha önceki deneysel bir çalışmada gösterilmiştir (79). Das ve arkadaşları, parsiyel çıkım obstrüksiyonlu ratlarda

doksazosin tedavisinin faydalı etkilerinin mesanede spinal refleks inhibisyonu üzerinden parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonun yarattığı artmış spontan aktivitenin (hiperrefleksi) azalması ve mesane kan akımının artışı üzerinden olduğunu göstermişlerdir (23). Bu çalışmada, terazosin verilen grupta ise terazosinin obstrüksiyonu ve buna bağlı dekompanseasyonu engelleyerek kontraktiliteyi bir miktar koruduğu saptandı. Ancak bu oran daha önce de belirtildiği gibi anlamlı değildi. Dolayısıyla ile uzun dönem obstrüksiyonu olan olgularda alfa blokerlerin dekompanseasyonu bir süre geciktirebileceği ancak tamamen engelleyemeyeceği sonucuna varıldı.

Çalışmada incelenen bir diğer parametre parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan tavşanlarda terazosin ve melatoninin mesane kontraktilitesine olan etkileri idi. Kontraktilite ölçümlerinde 2 hafta boyunca obstrüksiyon uygulanan grupta, kontraktilitenin sham grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. KCL ile indüklenen obstrükte tavşan in vitro mesane düz kas striplerinde, kontraktilitenin % 47 oranında azaldığı görüldü. Bu da literatürde belirtilen parsiyel mesane çıkım obstrüksiyon uygulanan tüm tavşan ve rat çalışmalarında azalan mesane kontraktilite aktivitesi sonuçları ile uyumlu idi (71,78). Parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonuna bağlı olarak mesane kontraktilite cevaplarındaki azalma, kontraktil protein izoformlarında ve kontraktil regülatör proteinlerin seviyesindeki değişiklikler ile mesane düz kasındaki hücre içi kalsiyum iyon dağılımındaki değişikliklere bağlanmıştır (80,81,82,83,84,85). Rice-Evans ve arkadaşları, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunda hücre içinde artan kalsiyumun lipazlar dışında proteazları da aktive ederek myoglobin gibi proteinlerin hidrolizine yol açıp mesane kontraktilite aktivitesinde azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (86). Ayrıca parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunda iskemi-reperfüzyonla oluşan serbest oksijen radikallerinde hem sarkolemmal kalsiyum pompasının aktivitesini bozduğu hem de kontraktil proteinler üzerinde hasara neden olduğu gösterilmiştir (87,88). Tedavi gruplarında kontraktilite

ölçümlerinde ise kontraktilitenin en iyi terazosin+melatonin grubunda korunabildiği gözlemlendi. Grup III'de % 36 oranında, grup IV'de ise % 37 oranında kontraktilitede azalma görüldü. Elde ettiğimiz bulgular tek başına melatonin uygulaması ile kontraktilitenin bir miktar korunabildiği ancak bu değerlerin sham grubuna göre anlamlı olmadığı saptandı. Öte yandan Terazosinin de kontraktiliteyi tam anlamıyla koruyamadığı görüldü. Bir alfa bloker olarak terazosinin kontraktiliteyi sham grubundaki tavşanlardaki oranda korumamasındaki en önemli etken de terazosinin önemli apoptotik özelliklerine bağlanabilir (12). Apoptoz ve mesane kontraktilitesinin incelendiği güncel bir çalışmada, Aikawa ve arkadaşları tavşanlara overektomi ve östrodiol tedavisi uygulayarak mesane kontraktilitesini ve apoptozis oluşumunu araştırmışlardır. Bu çalışmada, araştırmacılar, ooferektomize tavşanlarda estradiol uygulaması ile apoptozun engellendiği bunun sonucunda da kontraktilitenin agonistlerle daha etkili olarak oluşturulduğunu ya da korunduğunu bildirmişlerdir (89). Aynı çalışmada, estradiolün etkilerinin ürodinamik açıdan incelenmesi sonucunda, mesane kapasitesi ve işeme basınçları, en yüksek estradiol grubunda bulunmuştur. Bu da, estradiol uygulaması ile önlenen apoptozun mesane kontraktilite ve dinamiklerinde koruma sağladığını göstermiştir. Mevcut çalışmada ise terazosin uygulanarak apoptoz sağlanmaya çalışılmakta ve bu yolla hipertrofiye prostat dokusunda programlı hücre ölümünü artırma hedeflenen tedavi prensibi olarak öne sürülmektedir. Çalışmada uyguladığımız terazosinin apoptotik etkisiyle de mesane kontraktilitesinde bir miktar bozulma ya da kontraktıl cevapta azalma beklenmesi bu apoptotik etkinin doğal bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısı ile başlangıçta beliren en iyi kalınlığın korunduğu grup olan terazosin grubunda en iyi kontraktıl cevabın elde edilmeyişi, terazosinin oluşturduğu apoptoza bağlı kontraktilite bozulması sonucu açıklanabilir. Öte yandan kontraktilite en iyi, grup V'de korunduğu gözlemlendi. Shcröder ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları çalışmada parsiyel mesane çıkım obstruksiyonu

sonucunda gelişen ilerleyici mesane disfonksiyonunu mesane ağırlığındaki artışın yanı sıra doku kan akımındaki azalmaya bağlamışlardır. Çünkü parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunun mesane kontraktilesinin korunduğu kompanse dönemde hipertrofi ile beraber normal kan akımı sağlanırken dekompanse dönemde ise hipertrofiye rağmen azalmış kan akımıyla kontraktilite disfonksiyonunun geliştiğini saptamışlardır (90). Bu çalışmada da uzun süreli parsiyel mesane çıkımı deneysel olarak uygulandığından kronik vasküler değişiklikler ve kronik azalmış kan akımı olduğu ve bunun da tek başına terazosinle engellenemediği için terazosinin tek başına yeterli kontraktilite koruyuculuğunu sağlayamadığı düşünüldü.

Sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda melatoninin ince ve kalın barsak yapısındaki düz kasların kasılmasında azalmaya neden olduğu görülmüştür (51,91). Melatoninin uterus düz kas tonusu üzerindeki etkileri de Ayar ve arkadaşları tarafından incelenmiş ve gebe ratlarda in vitro uterin striplerinin izometrik kasılmalarının inhibe edildiği gösterilmiştir (49). Melatoninin, diğer düz kaslardaki etkileri ile ilgili yaygın çalışmalar olmasına rağmen, mesane kasılmasına üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar daha az sayıdadır. Semerciöz ve arkadaşları melatoninin, KCL ile indüklenen kobay mesanesi üzerine inhibitör etkisinin olduğunu göstermişlerdir (20). Çalışmamızda, antioksidan özelliği ön planda tutularak uygulanan melatoninin, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu olan tavşanlarda kontraktilite kaybına engel olduğu saptanmıştır. Ancak melatonin verilen grup ile kontrol grubu tavşanların mesanesi incelendiğinde mesane kontraktilesinin melatonin verilen grupta bir miktar korunduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Bu sonucun ortaya çıkmasında, kontraktil cevapta direk inhibisyon yapması nedeni ile melatoninin yüksek dozda (anti-oksidan etki gösterecek dozda) kontraktiliteyi bir miktar azaltmasının etkili olabileceği düşünüldü. Bu nedenle kontraktilitede istenilen düzeyde korunma elde edilmemiş olabilir. Öte yandan melatonin

terazosinle birlikte verildiğinde ise obstrüksiyonu engelleyen bir alfa-bloker varlığında kas kütle artışındaki azalma ve anti-oksidan etkilerin sinerjistik rolleri nedeni ile kontraktilitenin en iyi grup V'de korunduğu görüldü.

Çalışmada ayrıca parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan tavşanlarda terazosin ve melatoninin oksidan-antioksidan sistem üzerine etkileri değerlendirildi. Lin ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları çalışmada parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonun'da detrusor kontraktilitesinde bozulma, mitokondriyel MDA düzeyi ve SOD aktivitesinde artış, fosfokreatin ve ATP düzeyinde azalma saptamışlardır (92) Sonuç olarak; parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunun detrusor mitokondrisinde lipid peroksidasyonunu ve reaktif oksijen radikallerinin üretimini artırdığını; mitokondriyal hasara bağlı olarak da enerji (ATP) üretiminin baskılayıp kontraktilite fonksiyonunda bozulma olduğunu bildirmişlerdir (92). Mevcut çalışmada, 2 gruba melatonin tek başına ve diğer bir gruba ise terazosinle kombine edilerek verilmiştir. Melatoninin tek başına uygulandığı ve terazosinle birlikte verildiği her iki grupta da doku antioksidan düzeyleri kontrol grubuna ve çalışma grubuna oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu bulgular çalışmada uygulanan melatoninin intraperitoneal uygulama ile yeterli antioksidan düzeyde etkili olduğunu göstermiştir. Öte yandan antioksidan enzim aktivitelerinde artışa paralel olarak doku serbest oksijen radikalleri de melatonin uygulanan her iki grupta anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Melatonin 10 mg/kg dozda daha önceki çalışmalarda gösterildiği gibi bu çalışmada da doku lipid peroksid radikallerini temizleme özelliği göstermiştir (45).

Çalışmada SOR dışında ayrıca, antioksidan defans sisteminin önemli bileşenleri olan SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz düzeyleri her grupta ayrı ayrı incelenmiştir. Her üç antioksidan ajanında kontrol grubu ratlarda anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Tedavi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında antioksidan enzim aktivite düzeylerinin en fazla melatonin uygulanan grupta arttığı görülmüştür. Anti-oksidan özellikleri nedeni ile

tek başına melatonin uygulanan grupta süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi antioksidan enzimlerin uyarıldığı ve nitrik oksit sentetaz gibi pro-oksidatif enzimlerin baskılandığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (33,36,40,41,42,43). Çalışma grubundaki grup IV ve V'deki tavşanların mesane doku homojenatlarındaki anti-oksidan düzeyleri incelendiğinde; grup II'deki tavşanların mesane dokusuna göre her üç ajanın anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır. Ancak grup IV ile grup V arasında her üç antioksidan ajanın seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p<0.05$). Bunun nedeninin ise terazosinin apopitotik etkisine bağlı olabileceği düşünüldü. Serbest oksijen radikallerinin apopitotik değişiklikler oluşturdukları ve artan glutatyon peroksidaz seviyesinde de azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (93). Hücresel hasarda önemli etkiler oluşturan serbest oksijen radikalleri ile apopitoz arasındaki ilişkinin incelendiği bir başka çalışmada ise apopitozisin bazı türlerinde hücre hasarına bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin oluştuğu ve oluşan serbest oksijen radikallerinin de oksidan-antioksidan defans sistemine olumsuz etki yaptığı vurgulanmıştır (94). Dolayısıyla çalışmada grup V'de elde edilen antioksidan seviyelerinin grup IV'e göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber daha düşük olmasının nedeninin bu mekanizmayla açıklanabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışma, ileride parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu tedavisinde ya da buna bağlı mesane dekompanasyonu, üst üriner sistem hasarı ve son evre böbrek yetmezliği tablosunu engellemede alfa-bloker ve güçlü anti-oksidan uygulamasının birlikte kullanımının literatürdeki ilk örneğidir. Araştırma sonucunda, her iki ajanın birlikte kullanımının etki-sonuç açısından mesane düz kas ve fonksiyon özelliklerine anlamlı koruyucu rolleri olduğunu gösterilmiştir. Ancak, çalışmada kullanılan ve varılan sonuçların yorumlanmasında çeşitli kısıtlamaların olduğunu belirtmek gerekmektedir. Öncelikle

çalışmada kullanılan terazosin ve melatoninin terapötik dozda etkin olup olmadıkları ilaç uygulamaları sonrası, bu ilaç ve metabolitlerinin serum/plazma konsantrasyonları ile teyit edilememiştir. Bu ölçümün gerçekleştirilememesi nedeni; Üniversite bünyesinde yaygın hizmet veren ilaç ve metabolitlerini değerlendirebilecek laboratuvar imkanlarına sahip olmadığımızdan kaynaklanmaktadır. Bir başka nokta ise uyguladığımız alfa-bloker olan terazosinin apoptotik etkilerinin gerek nitelik gerekse nicelik olarak ortaya konulamayıdır. Apoptozun doku düzeyinde saptanması için çeşitli immüno-histokimyasal ve flow-sitometrik ölçüm yöntemleri gerekmektedir. Bu yöntemler zaman alıcı, masraflı ve deneyim gerektirir. Bu çalışmada, apoptoz başlangıçta incelenmesi planlanan en önemli parametrelerden biri olarak düşünülse de araştırma bütçesi ve bu bütçeye Bilimsel Araştırmalar kapsamında sağlanan resmi desteğin (FÜBAP desteği) kısıtlı olması nedeni ile gerçekleştirilemedi. Ancak, apoptoz daha önceki çalışmalarda terazosin uygulaması sonrası ortaya çıkan bir veri olarak bildirilmiş ve apoptozun da bu anlamda parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunun yarattığı etkileri önlemede terazosine ilave avantajlar sağladığı öne sürülmüştür (12).

Sonuç olarak, ayrı ayrı kullanımlarında bir alfa bloker olan terazosinin mesane çıkım obstrüksiyonunu engelleyerek, bilinen güçlü bir antioksidan olan melatoninin ise reaktif oksijen metabolitlerini azaltarak mesaneyi parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonuna karşı koruduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, klinik uygulamalarda model olabilecek bir tedavi olması açısından da her iki ajanın birlikte kullanımının mesane çıkım obstrüksiyonuna sekonder oluşacak etkileri azaltabileceği kanısına varılmıştır. Yapılacak daha geniş serili ve randomize kontrollü çalışmalar, terazosinin apoptotik etkisi ile, melatoninin ise oksidan-antioksidan sistem iletişimi ile parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonunu engellemede ya da buna bağlı etkileri azaltmada her iki ajanın birlikte kullanımlarına olanak tanıyabilecektir.

7. KAYNAKLAR

1. Rohmann D, Levin RM, Duckett JW, Zderic SA. The decompensated detrusor in the effects of bladder outlet obstruction on the use of intracellular calcium stores prostatic hyperplasia with age. *J Urol* 1984; 132: 474-479.
2. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol* 1984;132: 474-479.
3. Chute CG., PanserLA., Girman,CJ, Oesterling JE, Gues HA, Jacobsen SJ, Lieber MM. The prevalence of prostatism: A Population-Based survey of urinary symptoms. *J Urol* 1993; 150: 85-89,
4. Walsh P. Epidemiology, Etiology, Pathophysiology and Diagnosis of Benign Prostatic Hyperplasia, in Campbell 's Urology. Editorler R. Walsh, Vaughan, Wein; 1998: 1429-1452.
5. Wein AJ, Levin RM., Barrett, DM. Voiding Function: Prevelans Anatomy, Physiology, and Pharmacology. in: Adult and Pediatric Urology. Editörler: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JD. Year Book Medical Publishers, Chicago; 1987: 800-862.
6. Parekh MH, Lobel R, O'Connor LJ, O'Connor LJ, Leggett RE , Levin RM. Protective effect of vitamin E on the response of the rabbit bladder to partial outlet obstruction. *J Urol* 2001; 166: 341-346.
7. Grayhack JT, Kozlowski JM. Benign prostatic hyperplasia.Editörler: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS. Adult and Pediatric Urology. Chicago: Year Book Medical; 1987: 1062.
8. Zderic SA, Levin RM, Wein AJ. Voiding function and dysfunction: relevant anatomy, physiology, pharmacology and molecular aspects. Editörler Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS . Adult and Pediatric Urology.3 . Chicago: Mosby Year Book;1996: 1159.
9. Nigro DA, Haugaard N, Wein AJ, Levin RM. Metabolic basis for contractile dysfunction following chronic partial bladder outlet obstruction in rabbits. *Mol Ceil Biochem* 1999; 200: 1-6.
10. Greenland JE, Hvistendah JJ, Andersen H. Detrusor and kidney blood flow is reduced in response to early bladder outlet obstruction in pigs. *J Urol* 1997; 157: 172.
11. Levin RM, Hudson AP. The molecular genetic basis of mitochondrial malfunction in bladder tissue following outlet obstruction. *Urol* 2004; 172: 438-447.
12. Erdogru T, Gulkesen KH, Kukul E, Yalcinkaya M, Karpuzoglu G, Baykara M. Increased bladder apoptosis with alpha-1 adrenoceptor antagonists in benign prostatic hyperplasia. *Scand J Urol Nephrol.* 2002; 36: 188-193.
13. Kim JC, Seo SI, Park YH, Hwang TK. Changes in detrusor and urinary growth factors according to detrusor function after partial bladder outlet obstruction in the rat. *Urology* 2001; 57:371-375.

14. Kato K, Monson FC, Longhurst PA, Wein AJ, Haugaard N, Levin RM. The functional effects of long-term outlet obstruction on the rabbit urinary bladder. *J Urol* 1990; 3: 600-606.
15. Akdaş A, Çam H, Özveri H. Benign Prostat Hiperplazisi,. Editörler: Anafarta K, et al. *Temel Üroloji*; 1998: 833-853.
16. Greenland JE, Brading AF. Urinary bladder blood flow changes during the micturition cycle in a conscious pig model. *J Urol* 1996; 156:1858-1861.
17. Brading AF. Alterations in the physiological properties of urinary bladder smooth muscle caused by bladder emptying against an obstruction. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1997; 184:51-58.
18. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997; 29: 363-372.
19. Pierrefiche G, Laborit H. Oxygen free radicals-melatonin and ageing. *Exp Gerontol* 1995; 30: 213-227.
20. Semerciöz A, Onur R, Ayar A, Orhan I. The inhibitory role of melatonin on isolated guinea-pig urinary bladder: an endogenous hormone effect. *BJU Int* 2004; 94: 1373-1376.
21. Malloy B, Price DT, Price RR, Bienstock AM, Dole MK. Alpha adrenergic receptor subtypes in human detrusor. *J Urol* 1998;160: 37-43
22. Mey C . Are There Difference? *Eur Urol* 1999; 36: 62-63
23. Das AK, Leggett RE, Whitbeck C, Eagen G, Levin RM. Effect of doxazosin on rat urinary bladder function after partial outlet obstruction. *Neurourol Urodyn* 2002; 21: 160-166.
24. Li H, Dubocg F, Jiang Y, Tiguert R, Gheiler LE, Dhabuwala CB.: Effect of surgically induced varicocele on testicular blood flow and Sertoli cell function. *Urology* 1999;53: 1258-1262.
25. Pang SF, Dubocovich ML, Brown GM. Melatonin receptors in peripheral tissues: A new area of melatonin research. *Biol Signals* 1993; 2: 177-180.
26. Kazez A, Demirbağ A, Üstündağ B, Özercan İ, Sağlam M. The Role of melatonin in prevention of intestinal ischemia reperfusion injury in rats. *J Pediatric Surgery* 2000; 35: 1444-1448.
27. Stokkan KA, Reiter RJ, Nonaka K, Lerchi A, Yu BP, Vaughan MK. Food restriction retards aging of pineal gland. *Brain Res* 1991; 545: 66-72.
28. Tan DX, Chen L, Poeggler B, Manchester L, Reiter RJ. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr* 1993;1: 57-60.
29. Reiter RJ, Tan DX, Poeggeler B, Chen L, Saarela S. Melatonin as a free radical scavenger: Implications for aging and age-related diseases. *Annals New York Academy of Sciences* 1990; 24: 3-10.
30. Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D, Chen L, Manchester L Guerrero JM. Antioxidant capacity of melatonin: A novel action not requiring a receptor. *Endocrinereview* 1991; 12: 151-153.

31. Siasak ME, Markey RW, Colburn RW, Zavadi AP, Kopin IJ. Identification of 6-hydroxymelatonin in normal urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Life Sci* 1979; 25: 803-809
32. Prem JT, Eppinger M, Lemmon G, Miller S, Nolan D, Peaples J. The role of glutamine in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in the rat hind limb model. *Am J Surg* 1999; 178: 147-150.
33. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem* 2002; 2:153-165.
34. Karakaya D, Barış S, Tür A. Nitrik oksit. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2000; 17:139-148.
35. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Qi W. Melatonin reduces oxidant damage and promotes mitochondrial respiration: implications for aging. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 238-250.
36. Altun A, Vardar A, Altun U. Melatonin ve kardiyovasküler sistem. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi* 2001; 1:283-288.
37. Ölmez E, Şahna E, Ağkadir M, Acet A. Melatonin: Emeklilik yaşı 80 olur mu? *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 2000; 7:177-187.
38. Saygılı E: Kolorektal Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistemler. Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 1997, Biyokimya Anabilim Dalı.
39. Gündüz B. Hidroksil temizleyici bir hormon olarak melatonin. *Gülhane Tıp Dergisi* 1999; 4: 252-257.
40. Şahna E, Acet A, Ozer MK, Ölmez E. Myocardial ischemia-reperfusion in rats: reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J Pineal Res* 2002; 33:234-238.
41. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, El-Sawi MR. Melatonin reduces oxidant damage and promotes mitochondrial respiration: implications for aging. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 238-250.
42. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci* 1997; 60: 2255-2271.
43. Marco M, Vincenzo PP, Gilberto S, et al: Melatonin. *Curr Med Chem* 1999; 6: 501-518.
44. Abc M, Reiter RJ, Orhi PB, Hara M. Inhibitory effect of melatonin on cataract formation in newborn rats: evidence for an antioxidative role for melatonin. *Pineal Res* 1994; 17: 94-100
45. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994; 55: 271-276.
46. Picri C, Recchioni R, Marcheselli F, Moroni F, Marra M, Benatti C. The impairment of mitochondrial membrane potential and mass in proliferating lymphocytes from vitamin E deficient animals is recovered by glutathione. *Cell Mol Biol* 1995; 41:755-762

47. Marshall KA, Reiter RJ, Poeggeler B, Aruoma O, Halliwell B. Evaluation of the antioxidant activity of melatonin in vitro. *Free Radic Biol Med* 1996; 2: 307-315.
48. Baydas G, Gursu MF, Yılmaz S, Canpolat S, Yaşar A, Çikim G, Canatan H. Daily rhythm of glutathione peroxidase activity, lipid peroxidation and glutathione levels in tissues of pinealectomized rats. *Neurosci Lett* 2002; 323:195-198.
49. Ayar A, Kutlu S, Yılmaz B, Keleştimur H. Melatonin inhibits spontaneous and oxytocin-induced contractions of rat myometrium in vitro. *Neuroendocrinology Letters* 2001; 22: 199- 207.
50. Ting N, Thambyraja A, Sugden D, Scalbert E, delagrang P, Wilson VG. Pharmacological studies on the inhibitory action of melatonin and putative melatonin analogues on porcine vascular smooth muscle. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000; 361: 327-333.
51. Harlow HJ, Weekley BL. Effect of melatonin on the force of spontaneous contractions of in vitro rat small and large intestine. *J Pineal Res* 1986; 3: 277-284.
52. Storr M, Schusdziarra V, Allescher HD. Inhibition of small conductance K⁺-channels attenuated melatonin-induced relaxation of serotonin-contracted rat gastric fundus. *Can J Physiol pharmacol* 2000; 78: 799-80.
53. Ouyang H, Vogel HJ. Melatonin and serotonin interactions with calmodulin: NMR, spectroscopic and biochemical studies. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1383: 37-44.
54. Satake N, Shibata S, Takagi T. The inhibitory action of melatonin on the contractile response to 5-hydroxytryptamine in various isolated vascular smooth muscles. *Gen Pharmacol* 1986; 17: 553- 558.
55. Weekley LB. Melatonin-induced relaxation of rat aorta: interaction with adrenergic agonists. *J Pineal Res* 1991; 11: 28- 34.
56. Mudiayala R, Ahmed A. Effect of Terazosin on Clinical Benign Prostatic Hyperplasia in older adults. Division of Gerontology and Geriatric Medicine, School of Medicine , University of Alabama of Birmingham, USA. *J Am Geriatr Soc* 2003; 51:424-426.
57. Mebust WK, Holtgrewe HL, Cockett ATK. Transurethral prostatectomy: immediate and postoperative complications. A cooperative study of 13 participating institutions evaluating 3885 patients. *J Urol* 1989; 141:243.
58. De Campos Feire G. BPH: The basis of pharmacological treatment. *Non-Surgical Treatment of BPH*. Editörler: Fitzpatrick JM, et al. London, Churchill Livingstone 1992: 47.
59. Beduschi MC, Beduschi R, Oesterling JE. Alphablochade therapy for benign prostatic hyperplasia: from a nonselective to a more selective alpha-1a adrenergic antagonist. *Urology* 1998; 51: 861-872.

60. Tanaka Y, Masumari N, Itoh N, Sato Y, Takahashi A, Ogura H, et al. Urodynamic effects of Terazosin treatment for Japanese patients with symptomatic benign prostatic hyperplasia. Department of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo Japan. *J Urol* 2002; 167: 2492-2495.
61. Kiper A, İmamoğlu MA, Tuycun C, gücük A. Beningn prostat hiperplazisi'nin semptomatik tedavisinde terazosi'nin etkinliği ve güvenilirliği. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2003; 56: 165-170.
62. Speakman MJ, Brading AF, Gilpin CJ. Bladder outflow obstruction: a cause of denervation supersensitivity. *J Urol* 1987; 138: 1461.
63. Boreham PF, Braithwaite P, Milewski P, Pearson H. Alpha-adrenergic blockers in prostatism. *Br J Surg* 1977; 64: 756.
64. Gerstenberg T, Blaabjerg J, Nielsen ML, Clausen S. Phenoxybenzamine reduces bladder outlet obstruction in benign prostatic hyperplasia. A urodynamic investigation. *Invest Urol* 1980; 18: 29.
65. Hedlund H, Anderson KE. Effects of prazosin in patients with benign prostatic obstruction. *J Urol* 1983; 130: 275-278.
66. Martorana G, Gilberti C, Damonte P, Ciprandi G, Dirienzo W, Giuliani L. The effects of prazosin in benign prostatic hypertrophy a placebo-controlled double blind study. *IRCS Med Sci* 1984; 12: 11-12.
67. Kirby RS, Coppinger SWC, Corcoran MO, Chapple Cr, Flannigan M, Milroy EJG. Prazosin in the treatment of prostatic obstruction.: A placebo-controlled study. *Br J Urol* 1987; 60: 136-143.
68. Lepor H, Auerbach S, Puras-Baez A. A randomized, placebo controlled multicenter study of the efficacy and safety of terazosin in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1992; 148: 1467.
69. Lepor H. Long-term safety and effectiveness of terazosin for the treatment of BPH. *Urology* 1995; 45: 406.
70. Lepor H, Williford WO. The efficacy of terazosin, finasteride, or both in benign prostatic hyperplasia. *J Of Medicine* 1996; 365: 533.
71. Su X, Stein R, Stanton MC, Zderic S, Zderic S, Moreland RS. Effect of partial outlet obstruction on rabbit urinary bladder smooth muscle function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003; 284: 644-652.
72. Sezer M, Fidan F, Unlu M. Effects of melatonin on the oxidant/antioxidant status and lung histopathology in rabbits exposed to cigarette smoke. *Tuberk Toraks* 2006; 54: 144-151.
73. Ohkawa H, Ohishi N. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979; 95:351-358.
74. Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
75. Durak I, Yurtarlan Z, Canbolat O. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta* 1993; 214:103-104.

76. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 1967;70: 158-169.
77. Aebi H. Catalase. Editör: Bergmeyer U. *Methods of enzymatic analysis*. New York and London; 1974; 673-677.
78. Yanagi K. Effects of nitrit oxide on bladder outlet obstruction in rats. *Yonago Acta medica* 2002; 19-26.
79. Ishizuka O, Mattiason A, Steers WD, Andersson KE. Effects of spinal alpha 1-adrenoceptor antagonism on bladder activity induced by apomorphine in conscius rats with and without bladder outlet obstruction. *Neurourol Urodyn* 1997; 16: 191-200
80. Burkhard FC, Lemack GE, Zimmerman PE. Contractile protein expression in bladder smooth muscle is a marker of phenotypic modulation after outlet obstruction in the rabbit model. *J Urol* 2001 165: 963-967.
81. Gosling JA, Kung LS, Dixon JS. Correlation between the structure and function of the rabbit urinary bladder following partial outlet obstruction. *J Urol* 2000; 163: 1349-1356.
82. Hypolite JA, DiSanto ME, Zheng Y. Regional variation in myosin isoforms and phosphorylation at the resting tone in urinary bladder smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: 254-264.
83. Rohrman D, Levin RM, Duckett JW. The decompensated detrusor The effects of bladder outlet obstruction on the use of intracellular calcium stores. *J Urol* 1996; 156: 578-581,
84. Stein R, Hutcheson JC, Krasnopolsky L. The decompensated detrusor. V. Molecular correlates of bladder function after reversal of experimental outlet obstruction. *J Urol* 2001; 166: 651-657.
85. Zderic SA, Rohrman D, Gong C. The decompensated detrusor. II. Evidence for loss of sarcoplasmic reticulum function after bladder outlet obstruction in the rabbit. *J Urol* 1996; 156: 587-592.
86. Rice-Evans CA. Transition metal complexes as sources of radicals. Editörler: Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR. *Techniques in freeradical research*. Amsterdam: Elsevier. 101-124.
87. Kaneko M, Beamish RE, Dhalla NS. Depression of heart sarcolemmal Ca^{2+} pump activity by oxygen free radicals. *AmJ Physiol* 1989; 256: 368-374.
88. Forman HJ. Oxidant radical production and lung injury. Editör: Das DK, *Oxygen radicals*. New York; 1990;76.
89. Aikawa K, Sugino T, Matsumoto S, Chichester P, Whitbeck C, M.levin R. The effect of ovariectomy and estradiol on rabbit bladder smooth muscle contraction and morphology. *J Urol* 2003; 170: 634-637.
90. Schröder A, Chichester P, Lieb J. Effect of chronic bladder outlet obstruction on blood flow of the rabbit bladder. *J Urol* 2001; 165: 640-646.
91. Bubenik GA. The effect of serotonin, N-acetylserotonin, and melatonin on spontaneous contractions of isolated rat intestine. *J Pineal Res* 1986; 3: 41-54..

92. Alex Tong-Long Lin, C.H. Yang, Kuang-Kuo Chen, Luke SC. Detrusor mitochondrial lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in partial bladder outlet obstruction of rabbits. *Neurourol Urodyn* 2005; 24:282-287.
93. Pararajasingam R, Weight SC, Bell PRF. Pulmonary nitric oxide metabolism following infrarenal aortic cross-clamp-induced ischemia-reperfusion injury. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 19: 47-51
94. Skulachev VP. Bioenergetic aspects of apoptosis, necrosis and mitoptosis. *Apoptosis* 2006; 11: 473-485.

8. ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Malatya’da doğdum. İlk öğrenimimi Malatya Barbaros İlkokulunda, orta öğrenimimi Atatürk Ortaokulunda, lise öğrenimimi Malatya Lisesinde tamamladım. 1993 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2000 yılında Tıp doktoru olarak mezun oldum. Malatya’da özel kliniklerde pratisyen hekim olarak görev yaptım.

2001 yılında tıpta uzmanlık sınavını kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi doktor olarak çalışmaktayım.