

**ACHILLEA MİLLEFOLIUM (CİVANPERÇEMİ)
EKSTRAKTLARININ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİF
BİLEŞİKLERİNİN İN VİTRO ORTAMDA RAT
MESANESİ DÜZ KASLARI ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Emin ŞENGÜL

Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Doktora Tezi - 2014

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ACHILLEA MİLLEFOLIUM (CİVANPERÇEMİ)
EKSTRAKTLARININ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİF
BİLEŞİKLERİNİN İN VİTRO ORTAMDA RAT
MESANESİ DÜZ KASLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Emin ŞENGÜL

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ**

**ERZURUM
2014**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ACHİLLEA MİLLEFOLIUM (CİVANPERÇEMİ)
EKSTRAKTLARININ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİF
BİLEŞİKLERİNİN İN VİTRO ORTAMDA RAT MESANESİ DÜZ
KASLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Emin ŞENGÜL

Tez Savunma Tarihi : 21.07.2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ali ÇINAR

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Nadide NABİL KAMILOĞLU

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yunusemre ÖZKANLAR

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Serap YILDIRIM

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mesane	3
2.2. Mesanenin Reseptörleri	9
2.2.1. Adrenerjik reseptörler	10
2.2.2. Kolinerjik reseptörler	11
2.2.3. Kalsiyum kanalları	15
2.2.4. Vanilloid reseptörler	16
2.2.5. Dopamin reseptörleri	17
2.2.6. Serotonin reseptörleri.....	18
2.2.7. Histamin reseptörleri.....	18
2.2.8. Purinerjikreseptörler	19
2.3. Mesanenin Fonksiyon Bozuklukları	20
2.3.1. Üriner inkontinans	20
2.3.2. Aşırı aktif mesane (over active bladder-OAB).....	21
2.3.3. Obstruktif mesane	21
2.3.4. Mesane atonisi	22
2.4. Achillea millefolium (Civanperçemi)	22
2.4.1. Apigenin.....	24
2.4.2. Chloroquine	25

2.4.3. Luteolin.....	26
2.4.4. Rutin.....	27
2.4.5. Quercetin.....	28
3. MATERYAL VE METOT.....	29
3.1. Kullanılan Deney Hayvanları	29
3.2. Kullanılan Etken Maddeler	29
3.3. Rat Mesane Dokusunun İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması	32
3.4. Deney Grupları	37
3.4.1. CPE grubu (I.grup)	38
3.4.2. Apigenin grubu (II. grup).....	40
3.4.3. CQ grubu (III. grup).....	43
3.4.4. Luteolin grubu (IV. grup)	46
3.4.5. Quercetin grubu (V. grup)	49
3.4.6. Rutin grubu (VI. grup).....	51
4. BULGULAR.....	55
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	101
KAYNAKLAR	103
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	134
EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU	135

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada, değerli bilgi ve katkıları ile tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ'ye en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Fikirleri ile bizlere ufuk aan anabilim dalı üretim üyesi Sayın Prof. Dr. Ali ÇINAR'a; bitki ekstralarımızın hazırlanmasında bize yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Neslihan ÇELEBİ'ye; çalışmalarına katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Emre KARAKUŐ ve Yrd. Doç. Adem KARA'ya; beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum ve çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Volkan GELEN'e; anabilim dalımızın değerli yüksek lisans ğrencileri Sayın Tubanur ASLAN ve Aslıhan ATASEVER'e; bu güne kadar maddi manevi destelerini hiçbir zaman esirgemeyen ve hayatımın bu safhasına gelmemde en büyük paya sahip olan annem, babam ve kardeşlerime; sabır ve desteği ile her zaman yanımda olan ve başarılarımda büyük emeği olan eşime; bu çalışmayı **2012/362 BAP proje numarası** ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Emin ŞENGÜL

ÖZET

Achillea Millefolium (Civanperçemi) Ekstraktlarının ve Bazı Biyolojik Aktif Bileşiklerinin İn Vitro Ortamda Rat Mesanesi Düz Kasları Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Civanperçemi (CP) alternatif tıp alanında, farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılan bir bitki türüdür. Civanperçemi ekstraktı (CPE) ve CP'nin yapısında bulunan bileşiklerin organizmada farklı sistemler üzerine birçok etkilerinin yanı sıra, in vitro düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri birçok çalışmada belirlenmiştir. CPE ve bazı biyolojik aktif bileşiklerinin mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri ile ilgili yeterli literatür bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, CPE ve bazı biyolojik aktif bileşiklerinin in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri belirlenerek, literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 60 adet erkek ergin Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Fizyolojik şartlar altında bakım beslemesi yapılan ratlar, anestezi altında servikal dislokasyon metodu ile ötenazi edildiler. Ratların abdomenleri açılarak mesaneleri izole edildi. Mesanelerin temizlikleri yapıldıktan sonra, hazırlanan kas şeritleri içerisinde Krebs solüsyonu bulunan 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirildi. Dokuya 1gram (g) gerim uygulanarak 1 saatlik inkübasyon periyoduna bırakıldı. Inkübasyon periyodu sonunda banyoya ACh, KCl, Nifedipine, CPE ve CP bileşikleri bir protokol çerçevesinde uygulandı. Elde edilen değerler one way ANOVA'da Tukey testi ve Kruskal Wallis testleri ile değerlendirildi.

Bulgular: CPE ve CP'nin bazı bileşiklerinin farklı dozlarının, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesini inhibe ettiği belirlendi. ACh ve KCl'nin submaksimal dozları ile indüklenen mesane düz kas kontraktıl cevaplarını, CPE ve bileşiklerin inhibe edici etkilerinin mekanizmaları antagonist kullanılarak tespit edildi.

Sonuç: CPE ve bileşiklerinin ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığı belirlendi. CPE ve bileşikleri L tipi Ca²⁺ kanalları üzerinden etkili olurken, CPE ve Quercetin'in ayrıca M₃ reseptör yolağı üzerinden de etkili oldukları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: ACh, Apigenin, Chloroquine, Civanperçemi, Düz kas, KCl, Luteolin, Mesane, Rat.

ABSTRACT

Investigation of the in vitro effects of *Achillea Millefolium* (yarrow) extract and some of its biologically active compounds on rat urinary bladder smooth muscle

Aim: Yarrow is a herb species used commonly for different purposes in the alternative medicine. That the yarrow extract and yarrow compounds have role in the many systems of the organism as well as the role on the smooth muscle contractility have been reported by many researches. However, there is not sufficient knowledge in literature about effects of yarrow extract its biologically active compounds on the smooth muscle contraction of the bladder. The present study aimed to investigate the in vitro effects of the yarrow extract and its active compounds on smooth muscle of the rat bladder and also to make contribution to the literature.

Material and method: In the present study, 60 adult male Sprague Dawley rats were used for the experiment. All rats, fed and kept under physiologic condition, were euthanized by cervical dislocation under anesthesia. Abdomens of the rats were opened and the bladders were removed. After bladder cleaning, the prepared muscle sections were placed inside the tissue bath containing the 20 ml volume of crebs solution. Then 1g tension were applied the tissue and kept for the incubation for 1 hour. At the end of the incubation period, acetylcholine, potassium chloride, Nifedipine, yarrow extract and compounds of yarrow extract were administrated to the organ bath. Data were analyzed statistically by ANOVA using Tukey and Kruskal-Wallis tests ($P < 0.05$).

Results: It has been determined that various doses of yarrow extract and its compounds inhibited smooth muscle contraction of the in vitro rat bladder induced by acetylcholine and potassium chloride. Furthermore, yarrow extract and its compounds have been detected the inhibitor effect of the mechanism using antagonist on the bladder smooth muscle contraction induced by submaximal doses of acetylcholine and potassium chloride.

Conclusions: It has been concluded that yarrow extracts and its compounds decreased the response of smooth muscle contraction of the in vitro rat bladder induced by acetylcholine and potassium chloride. While, yarrow extract and its compounds are effective over L type Ca^{2+} channel, yarrow extract and quercetin are effective over M_3 receptor pathway.

Key Words: ACh, Apigenin, Chloroquine, Yarrow, Smoth muscle, KCl, Luteolin, Bladder, Rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim (angiotensin converting enzyme)
ACh	: Asetilkolin
AR	: Adrenoreseptör
ATP	: Adenozin trifosfat
bFGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
Ca²⁺	: Kalsiyum
CQ	: Chloroquine
CP	: Civanperçemi
CPE	: Civanperçemi ekstraktı
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EC50	: Etkili konsantrasyon 50
EFS	: Elektriksel alan stimülasyonu (electrical field stimulation)
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
G	: Gram
H	: Hidrojen
HB-EGF	: Heparin bağlayıcı EGF-benzeri büyüme faktörü
HPLC	: Yüksek performans likid kromatografi (High-performance liquid chromatography)
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü I
IL	: İnterlökin
IP3	: İnozitol trifosfat
K	: Potasyum

KCl	: Potasyum klorür
KO	: Knock-out
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein (low density lipoprotein)
LTD4	: Lökotrien D ₄
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NE	: Norepinefrin
NO	: Nitrik oksit
OAB	: Aşırı aktif mesane (Over active bladder)
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
PGE2	: Prostaglandin E ₂
PLC-B1	: Fosfatidilinozitol-4,5-bifosfat fosfodiesteraz β -1
TNF	: Tümör nekroz faktör
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa
TNFL-α	: Tümör nekroz faktör ligand alfa
TRP	: Vanilloid reseptör
5-HT	: 5-hidroksitriptamin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 2.1.	Mesanenin anatomik ve histolojik yapısı.....	5
Şekil 2.2.	Mesanenin sinirsel kontrolü.....	10
Şekil 2.3.	Düz kasların M ₃ reseptörü aracılığıyla kasılım mekanizması.....	16
Şekil 2.4.	Civanperçemi bitkisi (<i>Achillea millefolium</i>).....	25
Şekil 3.1.	İzole organ banyosuna yerleştirilmiş rat mesanesi düz kas şeridinin görünümü.....	34
Şekil 4.1.	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	57
Şekil 4.2.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10 ⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 2 mg/ml CPE'nin etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	58
Şekil 4.3.	20 -100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	60
Şekil 4.4.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 2 mg/ml CPE'nin etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	61
Şekil 4.5.	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Apigenin'in farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	63
Şekil 4.6.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10 ⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10 ⁻⁴ M Apigenin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	64

Şekil 4.7.	20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Apigenin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).....	65
Şekil 4.8.	10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10^{-4} M Apigenin'in etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).....	66
Şekil 4.9.	10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CQ'nun farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).....	68
Şekil 4.10.	10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10^{-3} M CQ'nun etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).....	69
Şekil 4.11.	20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CQ'nun farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).....	70
Şekil 4.12.	10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10^{-3} M CQ'nun etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).....	71
Şekil 4.13.	10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Luteolin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).....	73
Şekil 4.14.	10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 4×10^{-5} M Luteolin'in etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).....	74
Şekil 4.15.	20-100 Mm KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Luteolin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).....	75
Şekil 4.16.	10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 4×10^{-5}	

	M Luteolin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	76
Şekil 4.17.	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Quercetin'in farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	78
Şekil 4.18.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10 ⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3x10 ⁻⁴ M Quercetin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	79
Şekil 4.19.	20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Quercetin'in farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	80
Şekil 4.20.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3x10 ⁻⁴ M Quercetin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	81
Şekil 4.21.	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Rutin'in farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	83
Şekil 4.22.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10 ⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3x10 ⁻⁴ M Rutin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	84
Şekil 4.23.	20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Rutin'in farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).....	85
Şekil 4.24.	10 ⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3x10 ⁻⁴ M Rutin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	86

TABLolar DİZİNİ

Tablo No		Sayfa No
Tablo 3.1.	ACh ile indükelenen in vitro mesane düz kas kontraktilesi üzerine CPE ve CP bileşiklerinin etkilerinin araştırıldığı deneysel protokol.....	35
Tablo 3.2.	KCI ile indükelenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine CPE ve CP bileşiklerinin etkilerinin araştırıldığı deneysel protokol.....	36
Tablo 3.3.	Nifedipine varlığında ACh ve KCI ile indükelenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine CPE ve bileşiklerinin etkilerinin araştırıldığı deneysel protokol.....	37
Tablo 3.4.	Tez deney grupları.....	38
Tablo 4.1.	CPE'nin ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. p<0.05*).....	56
Tablo 4.2.	CPE'nin farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	57
Tablo 4.3.	CPE'nin KCI ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda aynı harfi içermeyen değerler arasındaki fark anlamlıdır. (p<0.05*).....	58
Tablo 4.4.	CPE'nin farklı dozlarının KCI ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	60
Tablo 4.5.	Apigenin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda aynı harfleri içermeyen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	61
Tablo 4.6.	Apigenin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	63
Tablo 4.7.	Apigenin'in KCI ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	64

Tablo 4.8.	Apigenin'in farklı dozlarının KCI ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	65
Tablo 4.9.	CO'nun ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	67
Tablo 4.10.	CQ'nun farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	68
Tablo 4.11.	CQ'nun KCI ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	69
Tablo 4.12.	CQ'nun farklı dozlarının KCI ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	70
Tablo 4.13.	Luteolin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	72
Tablo 4.14.	Luteolin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	73
Tablo 4.15.	Luteolin'in KCI ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	74
Tablo 4.16.	Luteolin'in farklı dozlarının KCI ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	75
Tablo 4.17.	Quercetin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	77
Tablo 4.18.	Quercetin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	78
Tablo 4.19.	Quercetin'in KCI ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	79
Tablo 4.20.	Quercetin'in farklı dozlarının KCI ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	80

Tablo 4.21.	Rutin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	82
Tablo 4.22.	Rutin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	83
Tablo 4.23.	Rutin'in KCI ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).....	84
Tablo 4.24.	Rutin'in farklı dozlarının KCI ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.....	85

1. GİRİŞ

Achillea millefolium (civanperçemi) dünyanın çeşitli bölgelerinde, özellikle Asya, Avrupa ve Amerika kıtalarında yetişen, haziran ve eylül ayları arasında çiçeklenen çok yıllık bir bitkidir.¹⁻⁴ Civanperçemi (CP)'nin alternatif tıp alanında yaklaşık bin yıldır yaygın olarak kullanılmakta olduğu ifade edilmektedir.⁵ Kandil çiçeği, Akbaşı, Binbir yaprak otu ve Barsama otu olarak da isimlendirilen CP'nin, yapısında yüzün üzerinde biyolojik aktif bileşik bulundurduğu rapor edilmiştir.⁶ CP'nin biyoaktivitesi ile ilgili yapılan araştırmalar neticesinde antimikrobiyal, iltihabı azaltıcı, karaciğer koruyucu ve Ca²⁺ antagonist aktivitesinin olduğu belirlenmiştir.⁷ Farklı biyolojik aktivitelere sahip civanperçemi, menstrüal düzensizliklerde⁸ ve gastrointestinal rahatsızlıklarda^{6,9} kullanılmaktadır.

CP'nin yapısında bulunan bileşiklerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.¹⁰ Ayrıca etanolik ve hidroalkolik ekstraktının antispermatojenik etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalar neticesinde rapor edilmiştir.¹¹ CP metanol ekstraktının hipotansif etkiye sahip olduğu¹² ve bu etkisinin yapısındaki artemetin bileşiğinin Anjiotensin Konverting Enzim (ACE)'i inhibe ederek gerçekleştirdiği belirlenmiştir.¹³ Deneysel akut gastritis indüklenen ratlarda, civanperçemi sulu ekstraktı tedavisinden olumlu sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir.¹⁴

CP sulu ekstraktının farelerde *in vitro* mide düz kas kontraksiyonlarını indüklediği¹⁵ ve CP'nin yapısındaki flavonoidlerin *in vitro* ileum düz kas kontraksiyonlarını gevşettiği belirlenmiştir.^{9, 16} CPE'nin ve CP'nin içeriğindeki biyolojik aktif bileşiklerin çeşitli düz kaslar üzerine etkileri birçok farklı çalışma ile belirlenmiş olmasına rağmen, mesane düz kas kontraktilesi üzerine yeterli literatür bilgi bulunmamaktadır.

Bu alışmada CP metanol ekstraktı ve bazı biyolojik aktif bileşiklerinin, asetil kolin (ACh) ve potasyum klorür (KCl) ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkileri ve etki mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan bu çalışma sonunda elde edilecek bulgular ile farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılan CP'nin mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisinin belirlenmesinin, civanperçeminin daha bilinçli tüketimini sağlayacağı, ileride mesane ve fonksiyonları ile ilgili problemlerin çözümüne yönelik yapılacak araştırmalara yön verebileceği ve literatüre katkıda bulunabileceği düşünölmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane

Mesane, böbrekler tarafından gün içinde sürekli oluşturulan idrarı depolayan ve belirli aralıklarla dış ortama atılmasını sağlayan muskulomembranöz bir organdır. Pelvik bölgede yer alan mesane; mesane gövdesi, mesane tabanı ve mesane boynu olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Böbrekler tarafından oluşturulan idrar iki adet ureter aracılığıyla mesaneye gelir. Mesanede depolanan idrar miktarı insanlarda 300 ml'ye veya mesane içi basınç 150 mmHg su basıncına ulaştığında ürinerasyon hissi meydana gelir ve mesane gövdesindeki kaslar kasılıp mesanenin boyun kısmındaki sfinkterler gevşeyerek idrar uretra aracılığıyla dışarı atılır.

2.1.1. Mesanenin Embriyolojisi: Mesanenin gelişimi üç aşamalı olarak gebeliğin 12. haftasına kadar tamamlanmaktadır.¹⁷ Ürogenital septum embriyonal dönemin 4. ve 7. haftaları arasında kloakayı primitif ürogenital sinüs ve anorektal kanal olmak üzere ikiye böler.¹⁸ İlk olarak mezonefrik kanal dilate olur ve mezonefrik kanal gebeliğin 4. haftasında ürogenital sinüsle birleşerek, trigon bölgesinin oluşmasına zemin hazırlanır. Mezonefrik kanalın kademeli olarak içe doğru çekilmesi sonucunda trigon bölgesinde ureterlerin mesaneye açıldığı bölüm oluşmaktadır. Kloaka ile ürorektal septum bölündükten sonra oluşan ürogenital sinüsün etrafındaki mezenkim dokudan, mesanenin arka duvarı gelişir. Bir diğer olay abdominal duvarın kapanması sonucunda mesanenin ön duvarının oluşmasıdır.¹⁷

Detrusör kası endodermden, trigon mukozası ise mezodermden köken almaktadır.¹⁹ Mezonefrik kanallar ve ureterler mezodermden köken aldıklarından, bu iki yapının birleşimiyle oluşan trigon mukozası da mezodermden köken almaktadır. Bu yapılar dışında ki mesanenin diğer bölümleri ise endodermden köken almaktadır.

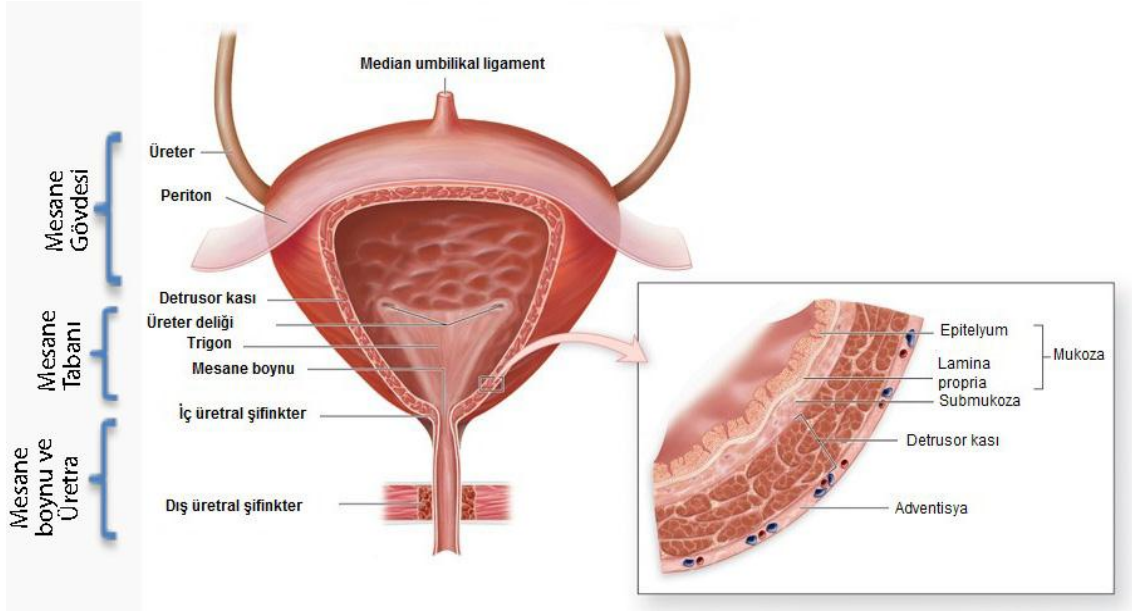
Zamanla trigon bölgesinin mezodermal epiteli endoderm epiteline dönüşerek tüm mesane epiteli endoderm kaynaklı epitelden oluşmaktadır.²⁰

2.1.2. Mesanenin Anatomisi: Mesane, pelvis boşluğunun tabanında, simfizis pubisin arka bölgesine yerleşmiş boşluklu bir organdır.^{21,22} Erişkinlerde boş mesane tamamen pelvis bölgesinde yer alırken, dolu mesanenin üst duvarı proksimal yönde yükselir.²³ Mesanenin, dişilerde ve erkeklerde önde simfizis pubis ile arkada ise erkeklerde rektum, dişilerde uterus ile komşuluğu vardır.^{22,24} Mesane, erkeklerde plika genitalisin dişilerde ise uterusun alt kısmında yer almaktadır.²² Mesane, içinde depoladığı idrar miktarına göre şekli, pozisyonu ve komşuları değişebilen muskulomembranöz bir organdır.²⁵ Özellikle köpeklerde dolu olduğu zaman karın boşluğuna doğru ilerlemektedir. Mesane; apeks vezika, korpus vezika ve serviks vezika olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır (Şekil 2.1).

Apeks vezika veya diğer bir adıyla verteks vezika bölümü, mesanenin abdominal boşluğa bakan bölümüdür.

Korpus vezika bölümü mesanenin gövde kısmıdır ve bu bölümün üst kesimine böbrekten idrarı getiren ureterler açılmaktadır. Mesanenin asıl bölümü olan korpus vezika, idrarı depolamaktadır. Bu bölümün büyük bir kısmını, mesanenin düz kası olan detrusör kası oluşturmaktadır.²² Detrusör kası dışta ve içte longitudinal, ortada sirküler olmak üzere üç kas katmanından oluşmaktadır.²⁶ Sirküler kas katmanı, ostium uretrae internum'un açılıp kapanmasına vesile olan mesanenin internal sfinkterini oluşturur.

Serviks vezika kısmı ise mesanenin boyun bölümüdür. Bu bölümün gerisinde ostium uretrae internum ile uretra başlangıç almaktadır. Mesanenin ligamentlerle tespit edilmiş ve hareket etmeyen bölümü burasıdır. Serviks vezika erkeklerde prostat bezi ile komşudur.



Şekil 2.1. Mesanenin anatomik ve histolojik yapısı²⁷

Mesanenin fasies dorsalis ve fasies ventralis olmak üzere iki yüzü vardır. Fasies dorsalis dişilerde uterusu erkeklerde ise plika genitalise bakmaktadır. Fasies ventralis ise mesanenin os pubise bakan yüzüdür.²²

Mesane pelviste etrafı fibröz yağ dokusu ile çevrili şekilde, kısmen serbest durumda bulunmaktadır. Mesane kısmi serbestliğe sahip olduğundan dolayı, idrar ile dolduğu zaman genişleyebilmektedir. Mesanenin hacmi türler arasında farklılık arz etmektedir. İnsan mesanesinin hacmi ortalama 500 ml ve rat mesanesinin hacmi 1 ml kadar iken, farelerde bu değer yaklaşık 0,15 ml'dir.²⁶

Mesaneyi besleyen arterler a. vezikalis kranialis ve a. vezikalis kaudalis'tir. A. vezikalis kranialis, a. umbilikalıs'den köken alır. A. vezikalis kaudalis ise a. pudenda interna'dan köken alan erkeklerde a. prostatika'nın dişilerde ise a. vaginalısın dalıdır Mesanenin toplardamarları ise v.vezikalis kranialis ve v. vezikalis kaudalis'tir. Bu toplardamarlar erkeklerde v. prostatika'ya dişilerde ise v. vaginalıs'e açılırlar.²²

2.1.3. Mesanenin Histolojisi: Mesanenin, üreterin ve renal pelvisin epitel, kas ve serozal katmanları birbirlerine benzer yapıya sahiptirler.¹⁸ Mesane dokusu dıştan içe doğru; tunika seroza, tunika muskularis (detrusör), tunika submukoza ve tunika mukoza

tabakaları olmak üzere 4 katmandan oluşmaktadır.^{21-26,28,29} Boş olan mesanenin mukoza tabakası kıvrımlı bir yapıya sahipken, mesane dolduğu zaman bu kıvrım yapısı kaybolarak mukoza tabakası düz bir hal almaktadır.²³

Mesanenin serozal katmanı yağ ve birçok sinir ve damar dallarını içeren elastin lif ve kollajen demetler ihtiva eden bağ dokudan oluşmaktadır. Pelvik peritonun bir bölümü olan tunika seroza, mesanenin alt ve arka kısmı hariç diğer bütün bölümlerini kaplar.¹⁸

Tunika muskularis tabakası iyi gelişmiştir. Muskular tabaka birbirinden kolay ayırt edilememekle beraber, içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler düz kaslardan oluşmaktadır. Üreterlerin mesaneye giriş yaptığı bölümde sadece longitudinal seyirli kas lifleri bulunmaktadır. İnsan detrusör kasında çeşitli büyüklükteki kas demetleri kollojenden zengin bağ dokusu ile çevrelenmiştir.²⁶ Detrusör düz kası hücreleri, diğer organların düz kaslarına benzer olarak tipik düz kas hücreleridir. Merkezinde çekirdek bulunan ve iğ şeklinde uzun hücrelerdir. Kas gevşediği zaman, kasın uzunluğu birkaç yüz mikron ve genişliği ise 5-6 mikron ebatlarındadır. Muskular katmanın kalınlığı yaşa, mesanenin dolu veya boş olmasına ve bireye göre değişmektedir.²⁹ Mesane düz kasında mitokondri ve oldukça seyrek olarak sarkoplazmik retikulum mevcuttur.³⁰

Mesanenin mukoza katmanı çok katlı yenilenen epiteldir ve gevşek bir submukozal katman ile çevrilidir. Tunika mukoza, lamina propria ve lamina epiteliyalisten (ürothelium) oluşmaktadır. Epitel tabakası çok katlı yenilenen epiteldir. Epitelde yüzeysel, bazal ve intermediyer hücre olmak üzere üç tip hücre bulunmaktadır. Mesane epiteli 6-8 hücre katından oluşmaktadır. Epitelin kalınlığı ve şekli organın dolu ya da boş olmasına, bir diğer ifadeyle duvarın gerginlik durumuna göre değişmektedir. Mesane boşken epitel tabakası kalındır. Epitelin altında bulunan lamina propria ise kalın kollajen ve elastik liflerden oluşan bağ doku tabakasıdır. Lamina propria tabakasının içinde küçük lenf follikülleri bulunabilir.^{31,32}

Mesanede dokusunda ekstrasellüler bileşik olarak başlıca kollajen fibriller ve elastik fiberler bulunmaktadır.³³ Elastin fiberler tropoelastinden kollojen fibriller ise kollojen tip 1 ve tip 3'ten oluşmaktadır.³⁴

2.1.4. Mesanenin Fizyolojisi: Muskulomembranöz bir yapıya sahip olan mesanenin asıl rolü, gün içinde sürekli olarak böbrekler tarafından oluşturulan idrarın, depolanması ve belirli aralıklarla dışarı atılmasıdır.³⁵ Bu olay, sinirsel kontrol sistemleri ve üriner kanalın anatomik bölümleri arasındaki çok karmaşık mekanizmalar sonucunda gelişmektedir.²⁶ Mesane dokusunda büyümenin olabilmesi için öncelikli faktör mesane duvarı bileşenlerinin gerilmesidir. Büyüme cevabının yönetimi hücrel sinyaller tarafından yapılmasına rağmen, tam olarak karakterize değildir. İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I), epidermal büyüme faktörü (EGF),³⁶ heparin bağlayıcı EGF-benzeri büyüme faktörü (HB-EGF),³⁷ angiotensin II reseptörleri,³⁸ temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF)³⁹ ve Ca^{2+} işlenmesinin değişimi⁴⁰ gibi çeşitli reseptörler, sinyal yolları ve büyüme faktörleri mesane dokusunun büyümesine katkıda bulunmaktadır.

Mesane duvarı, dolma ve boşalma fazları esnasında büyük değişikliklere uğrar. Mesane kasının uzunluğu, kasın aktif gücünde önemli rol oynar. Bu nedenle mesane düz kasının gücü büyük ölçüde mesane duvarının gerimine bağlıdır.⁴¹ Mesanenin duvar tansiyonu ve uzunluğu arasındaki ilişki in vitro mesane şeritlerinde incelenerek belirlenmiştir.²⁸ Mesane düz kasında pasif tansiyon ve gerim arasında nonlinear bir ilişki vardır.^{28,42}

İdrar volümünün artması veya mesane gerimindeki artışın bir sonucu olarak mesane büyümesinin meydana gelmesi; herediter diabetes insipidus,⁴³ farmakolojik olarak diabet indüklenmesi,⁴⁴⁻⁴⁷ osmotik diüresis,⁴⁸ mesaneye parafin bolus uygulaması²⁴ ve preganglionik denervasyon veya pelvik ganglionun ayrılması⁴⁹ gibi hayvan modeli çalışmalarıyla tespit edilmiştir.

Mesane düz kas kontraksiyonunda aktin ve myosin proteinleri arasındaki ilişki, diğer düz kaslardaki aktin myosin ilişkileri gibi olmaktadır.³⁴ Düz kastaki aktin konsantrasyonu, iskelet kasındaki aktin konsantrasyonuna benzerdir. Fare ve rat mesane düz kas hücrelerinde aktin konsantrasyonunun, yaklaşık olarak 40 mg/g olduğu belirlenmiştir.⁴²

İdrar kesesi içinde artan idrar miktarı kese içindeki basıncın artmasına neden olur. Artan basınç afferent sinirler tarafından algılanarak merkezi sinir sistemine iletilir. Son araştırmalara göre ürotelyumun bu süreçte çok önemli bir rolünün olduğu ifade edilmektedir.⁵⁰

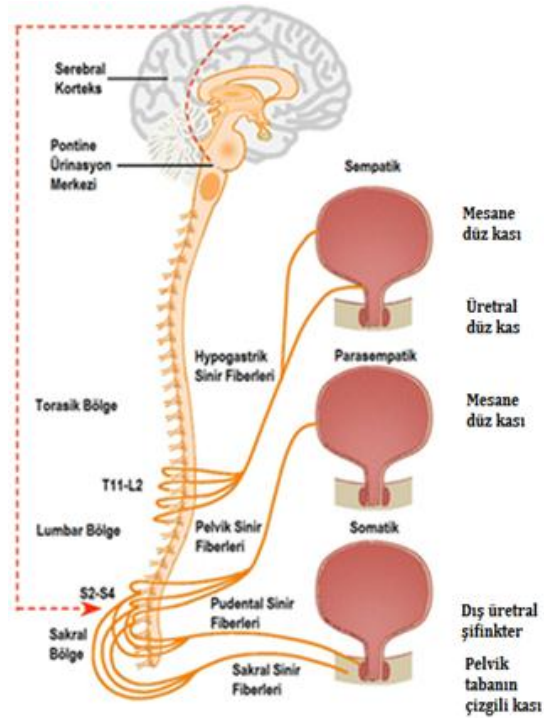
Detrusör kasının aktivasyonu için sarkoplasmik retikulumdan Ca^{2+} 'un serbest bırakılması önemli bir adımdır. Bu durum sarkoplasmik retikulum fonksiyon blokörleri kullanılarak ispatlanmıştır.⁵¹ Ca^{2+} 'un serbestlenmesi, Ca^{2+} aracılı ryanodin reseptörleri ve IP3 reseptörleri tarafından başlatılır.⁵²

Mesanedeki kasılmaların yaş ile ilgisi, yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. NE ve isoproterenol gibi β -adrenerjik reseptör agonistleri tarafından indüklenen relaksasyonun erginlere göre juvenillerde daha fazla olduğu gösterilmiştir.⁵³ Bir tavşan çalışmasında isoproterenol tarafından indüklenen gevşemenin, mesanenin trigon bölgesinde erkeklerdence dişilerde daha fazla olduğu, ancak detrusör kasında farklılık olmadığı belirlenmiştir. Adenil siklaz stimulatorü forskolinin dişilerde daha zayıf bir gevşemeye neden olduğu bildirilmiştir.⁵⁴

Mesane ve üretral sfinkter sempatik, parasempatik ve somatik sinirlerin kusursuz kombinasyonu ile innerve edilir. Ürinyasyonun kontrolü spinal kord, beyin sistemi ve yüksek merkezlerin koordinasyonu ile gerçekleşir. Mesaneden çıkan afferent sinyaller, beynin pontin bölgesinde depolama ve ürinyasyon merkezinde işlenmektedir.⁵⁵ Bu

periferel sinirler bilgiyi spinal kord ve organlar arasında çift yönlü taşırlar.⁵⁶ Alt üriner kanaldan gelen afferent sinir lifleri hypogastrik, pelvik ve pudental sinirlerdir (Şekil 2.2).

Mesenenin sempatik innervasyonu T₁₀-L₂'den köken alan N. Hypogastrikus aracılığıyla olmaktadır. N. Hypogastrikus, mesenenin dolum fazında mesane kasının gevşemesine internal sfinkterin ise kasılmasına sebep olur. Mesenenin parasempatik innervasyonu ise S₂-S₄'den köken alan N. Pelvikus aracılığıyla olmaktadır. N. Pelvikus, mesane kasının kasılmasına internal sfinkterin gevşemesine sebep olarak mesenenin boşaltılmasını sağlar. Mesenenin somatik siniri ise N. Pudentalis'tir. N. Pudentalis S₂-S₄'ten köken almaktadır. Mesenenin dış sfinkterinin kontrolünü sağlamaktadır. İnsan ve hayvanlarda afferent sinirler detrusör kasında ve subürotelyumda belirlenmiştir.⁵⁷



Şekil 2.2. Mesenenin sinirsel kontrolü⁵⁸

2.2. Mesenenin Reseptörleri

Mesane duvarında farklı tipte reseptörük yapılar mevcuttur. Mesane kontraktilesinde, norepinefrin (NE) ve ACh'nin dışında, ATP,⁵⁹ bradikinin,⁶⁰ taşikinin,⁶¹

endothelin,⁶² serotonin⁶³ ve proteaz⁶⁴ gibi agonistler rol oynar. Mesane fonksiyonlarının gerçekleşebilmesinde etkili olan reseptörük yapılar özetle aşağıdaki gibi açıklanabilir.

2.2.1. Adrenerjik reseptörler

İdrarın depolanması esnasında β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla detrusör kası gevşer, α 1-adrenerjik reseptörler aracılığıyla ise mesanenin boyun kısmı kasılır.³⁵ NE, mesane dokusunda adrenerjik sinirlerin elektriksel sitümülayonu sonucunda salgılanmaktadır.⁶⁵ Normal detrusörün NE'e cevabı gevşemektir.⁶⁶ Serbest bırakılan NE, β -adrenerjik reseptörü uyararak detrusör düz kasında gevşemeye neden olur ve böylece mesane kompliyansını artırır.^{67,68} NE aynı zamanda mesane boynunda, üretrada ve erkelerde prostattaki α 1-adrenerjik reseptörleri aktive ederek kasılmaya neden olur. Böylece mesanenin çıkış direnci artmış olur.⁶⁸

Alfa (α) adrenerjik reseptörler: Walden ve ark. α 1A-adrenoreseptör (AR) mRNA'sının trigon bölgesinde ve mesane tabanında bulunduğunu rapor etmişlerdir.⁶⁹ Bunun yanı sıra Malloy ve ark. insan mesanesinde sadece α 1A ve α 1D mRNA'larının bulunduğunu ifade etmişlerdir. α 1A %34, α 1D %66 olarak tespit edilirken, α 1B ekspresyonunun olmadığını belirtmişlerdir.⁷⁰ Mesanede nörojenik hasar⁷¹ ve çıkışın tıkanması⁶⁶ ile ilişkili detrusör overaktivitesi durumlarında α -AR'lerin alt tiplerinin ekspresyonu ve fonksiyonel durumları değişebilir. Çıkışı tıkalı veya daralmış olan mesanede, mesane ağırlığı altı kat artar ve α 1A-AR yoğunluğu değişmezken, α 1D yoğunluğu artar.

Beta (β) adrenerjik reseptörleri: Mesane düz kasında fizyolojik gevşeme başlıca β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla olur.⁷² Ancak β adrenerjik reseptörler aracılığıyla mesane düz kasında meydana gelen gevşemenin mekanizması tam olarak aydınlatılamadığı ifade edilmiştir.^{73,74} Bununla beraber yapılan farklı çalışmalar sonucunda mesanedeki adrenerjik sinirlerden salınan NE aracılığıyla β -AR'ler tarafından adenilat siklaz aktive edilerek siklik adozin monofosfatın (cAMP) arttırıldığı

belirtilmektedir. cAMP'nin de protein kinaz A'yı aktive ederek detrusör kasında gevşemeye neden olduğu ifade edilmektedir.^{26,75}

Polymerase chain reaction (PCR), in situ hybridization ve in vitro izometrik kontraksiyonlar gibi çeşitli çalışmalarla, insan detrusör dokusunda β_1 , β_2 ve β_3 reseptör ekspresyonu yapılabilmektedir. Bu reseptörler arasında en etkili gevşemeye β_3 -AR agonistleri neden olmaktadır.⁷⁵ β_3 reseptörleri çeşitli hayvan türlerinin detrusörlerinde gösterilmiştir.^{76,77} İlk çalışmalarda detrusörde birçok türde, β_2 -AR'lerin baskın olduğu görülmüştür.⁷⁸ Fakat örneğin; kobay detrusöründe hem β_1 hem de β_2 mevcutken, gevşetici etkiyi başlıca β_1 reseptörünün yaptığı belirlenmiştir.⁷⁹

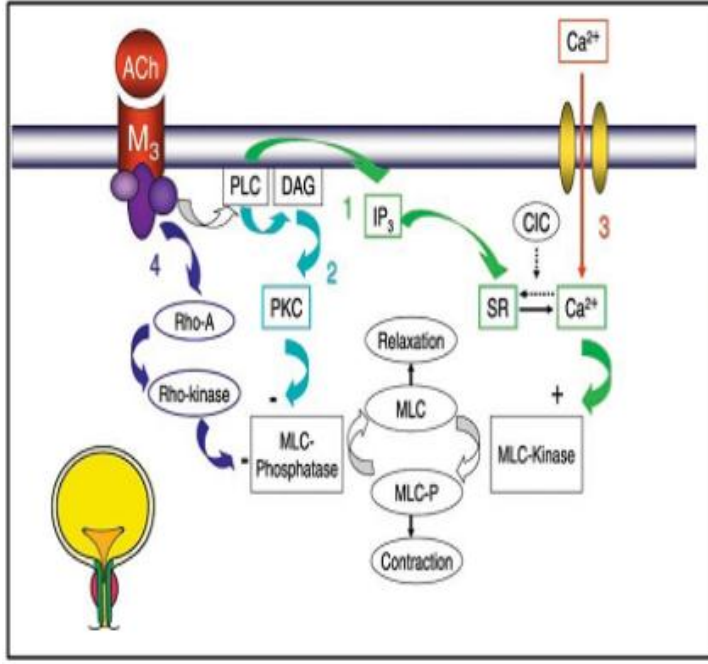
2.2.2. Kolinerjik reseptörler

Mesane düz kası, başlıca muskarinik reseptörlerin uyarılması sonucunda kasılır. İnsanların ve farklı canlıların mesanelerinde; M_1 , M_2 , M_3 , M_4 ve M_5 olmak üzere 5 tip muskarinik reseptör mRNA'sı tespit edilmiştir.^{35,75,78} Muskarinik reseptörler G protein çiftidirler, fakat sinyal iletiminde çeşitli sistemleri vardır. M_1 , M_3 ve M_5 reseptör çifti Gq/11'i tercih ederler ve intrasellüler kalsiyum mobilizasyonuna yol açarlar. M_2 ve M_4 çifti ise boğmaca toksinine duyarlı Gi/o 'ı tercih ederler ve adenil siklaz aktivitesini inhibe ederler.⁸⁰ İnsan mesanesinde muskarinik reseptörlerin %70'i M_2 , %20'si M_3 ve %10'u ise M_1 alt tipinden oluşmaktadır.⁸¹

Muskarinik reseptörler mesanede; detrusör kasında, lamina propria ve mesanenin yüzey epitelinde bulunurlar.⁸² Bununla birlikte muskarinik reseptörler kolinerjik sinirlerin presinaptik uçlarında bulunurlar. Presinaptik uçtaki M_1 reseptörleri ACh salınımını uyarırlarken, M_2 ve M_4 reseptörleri bu nörotransmitterin salınımını engellerler. M_2 ve M_4 reseptörleri uyarıldığı zaman, ACh'nın depolanma fazında salınımını durdurarak mesanenin dolumu esnasında kasılmalar engellenmiş olur. M_1 reseptörü uyarıldığı zaman ise salınan ACh ürünasyon fazında mesanenin kasılmasına

sebebe olur.⁸³⁻⁸⁵ Muskarinik reseptörler aynı zamanda merkezi sinir sisteminde ve parasempatik ganglionlarda nikotinik taşınımı düzenlerler.⁵⁶ Muskarinik reseptör tiplerinin mesane düz kasındaki görevleri hakkında yapılan çalışmalardan birisi de knock-out (KO) farelerle yapılan çalışmalardır. Bu çalışmalardan birinde, M₃ reseptörü oluşumu engellenmiş KO farelerde karbakol ile indüklenen kontraksiyonların amplitüdlerinde %95'e varan azalmalar tespit edilmiştir.^{86,87} Ayrıca bu farelerle yapılan sistometrik çalışmalar sonucunda, farelerin mesane kapasitelerinde ve ürinasyon aralıklarında artış olduğu belirlenmiştir.⁸⁸

Yapılan reseptör bağlamaları çalışmaları sonucunda, M₂ / M₃ oranının insanlarda 3/1, sıçanlarda ise 9/1 olduğu tespit edilmiştir.^{89,90} M₂ reseptörlerinin mesane dokusunda daha yoğun olmasına rağmen mesanenin kasılımlında M₃ reseptörlerinin daha büyük rol oynadığı bilinmektedir.^{26,91} M₂ ve M₄ reseptörleri mesane düz kasında kontraksiyonlarını inhibe ederken, M₁, M₃, M₅ reseptörleri kontraksiyonları uyarırlar.⁹¹ Fizyolojik mesane kontraksiyonu daha çok M₃ reseptörü ile ilişkilidir. M₂ reseptörleri özellikle patofizyolojik şartlar altında mesane kontraktilesine katkıda bulunabilir.^{92,93} ACh, M₃ ve M₂ reseptörlerine bağlanmaktadır. M₃ reseptörlerine bağlandığı zaman fosfolipaz C aktive olarak inozitol trifosfat (IP₃) oluşumuna neden olur. IP₃ ise endoplazmik retikulumdan Ca²⁺ salınımını uyararak kalmodulinin konformasyonel değişime uğramasına neden olur. Bunun sonucunda miyozin hafif zincir kinaz yolu aktive olarak mesane düz kasında kasılma meydana gelir. Bunun yanı sıra M₃ reseptörleri uyarıldığı zaman, Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanallarından hücre içine Ca²⁺ girişini artırarak mesane düz kasının kasılmasına neden olur.⁹⁴ Ca²⁺ kanallarının açılması ile hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonu artarken, riokinaz aktivasyonu sonucunda kontraktif filamentlerin Ca²⁺'a duyarlılığı artmaktadır (Şekil 2.3).^{73,95}



- ACh** : Asetil kolin
PLC : Fosfolipaz C
DAG : Diaçilgliserol
PKC : Protein Kinaz C
MLC : Miyozin Hafif Zinciri
IP3 : İnozitol Trifosfat
SR : Sarkoplazmik Retikulum
CIC : Kalsiyum ile İndüklenen Ca Salıverilmesi

Şekil 2.3. Düz kasların M₃ reseptörü aracılığıyla kasılım mekanizması²⁶

Jeziro ve ark.'nın tavşan detrusör kasında yapmış oldukları çalışmada betanikol ile indüklenen kontraksiyonların, nonselektif katyon kanal inhibitörü (LOE-908) ile kombine riokinaz inhibitörü (Y27632, HA1077) tarafından ortadan kaldırdığı belirlenmiştir. Onlar; detrusör kasındaki muskarinik reseptör aktivasyonunun hem nonselektif katyon kanalları hem de Riokinaz aktivasyonu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.⁹⁶ Ayrıca yapılan çalışmalar neticesinde muskarinik reseptörlerin IP3 üretimini uyardığı yüksek konsantrasyonda muskarinik agonistler kullanılarak gösterilmiştir.⁹⁷ M₂ reseptörleri uyarıldığı zaman, Protein Kinaz A'nın aktivasyonuna neden olan cAMP oluşumu baskılanır.⁹³

Muskarinik reseptör fonksiyonları; nörojenik bladder, detrusör overaktivitesi, mesane çıkışının daralması gibi nörojenik olmayan bazı ürolojikal hastalık durumlarında ve diyabette değişebilir.²⁶

Kedi detrusör kasında ACh ile indüklenen kontraksiyonların M₃ reseptörüne bağlı, Gq/11, Fosfatidilinozitol-4,5-bifosfat fosfodiesteraz β-1 (PLC-B1) ve IP₃'e bağlı olarak Ca²⁺ salınmasının aktivasyonu ile olduğu ifade edilmiştir.⁹⁸

M₂ reseptörleri uyarıldığında; protein kinaz C aktivasyonu aracılığıyla ATP'ye duyarlı K kanalları inhibe olur⁹⁹ ve aynı zamanda nonsipetik katyon kanalları aktive olabilir.¹⁰⁰ Nakamura ve ark. rat mesane düz kas hücrelerinin membranları üzerine karbakolün etkisi araştırılarak, Ca²⁺ ile aktive olan K kanalları ve M₂ reseptörleri arasındaki fonksiyonel ilişkiyi ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar rat mesane düz kas kontraksiyonlarını karbakol ile uyardıklarında, sarkoplazmik retikulumdan Ca²⁺'un hücre içine serbest bırakıldığını göstermişlerdir. Rat mesanesi düz kaslarında, M₃ reseptörü ile başlatılan kontraksiyonların M₂ reseptörleri aracılığıyla artırıldığı belirtilmiştir.¹⁰¹

M₃ reseptörlerinin normal ürinyasyon kontraksiyonunda başlıca sorumlu olduğu genel bir görüştür.¹⁰² Rat mesanesinin obstruksiyonunda bile, M₃ reseptörlerinin detrusör kontraksiyonlarının düzenlenmesinde baskın bir rol oynadığı belirtilmektedir.¹⁰³

Normal detrusörde M₂ reseptörünün fonksiyonel rolü çok açık değildir. M₂ KO farelerde, mesanede karbakol cevabı, hem in vitro hem de in vivo pratik olarak değişmediği¹⁰⁴ ve M₃ reseptörü eksik olan farede M₂ reseptör aracılı karbakol cevabı yaklaşık %5 olduğu belirlenmiştir.⁸⁷

Mesanede farklı cinsiyetler üzerinde yapılan çalışmalarda muskarinik reseptörlerin ekspresyonu ve fonksiyonları ratlarda belirlenmiştir.¹⁰⁵ Domuzlarda erkek ve dişilerde muskarinik reseptör ekspresyonunun benzer olduğu ifade edilmiştir.¹⁰⁶ Muskarinik reseptör antagonisti olan tolterodine'nin, aşırı aktif mesane (OAB)'li erkek ve kadın hastalarda eşit derecede etkili olduğu bildirilmiştir.¹⁰⁷

Fetal tavşanlarla erginlerin mesanelerindeki M₂ ve M₃ reseptör yoğunluğu karşılaştırıldığında, fetal tavşan mesanesinde M₂ ve M₃ reseptörlerinin iki kat daha fazla

olduğu belirlenmiştir.⁶⁸ Başka bir çalışmada ise 1 günlük, 1 ve 8 haftalık tavşanlar karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada yeni doğan mesanesinde ATP, serotonin, histamin ve P maddesine verilen cevapların çok daha güçlü olduğu belirlenmiştir. Bu ajanlara bir günlüklerin mesanesinin verdiği cevap 8 haftalıkların verdiği cevabın en az iki katıdır. KCl ile indüklenen kontraksiyonların cevapları 1 günlüklerde, erginlerden %40 daha fazladır. Bu çalışmada yeni doğanların mesanelerinde nonadrenerjik ve nonkolinerjik cevapların erginlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.¹⁰⁸ Atropine dirençli yapıların juvenil domuzlarda daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹⁰⁹ Yaşlı Sprague Dawley cinsi ratlarda muskarinik reseptör aracılı kontraksiyonlarda azalma olduğu belirlenmiştir.^{110,111} Aksine Wistar ratlarında böyle bir değişkenliğin olmadığı bulunmuştur.^{112,113} Yaşlanma ile detrusör kasının longitudinal kas tabakasında kontraksiyonlar azalırken, sirküler kas kontraksiyonlarının değişmediği rapor edilmiştir.¹¹⁴ Fare çalışmalarında yaşlılarda muskarinik agonistlerle indüklenen kontraksiyonlarda ya azalma olduğu¹¹⁵ ya da kontraksiyon artışında önemli bir değişiklik olmadığı rapor edilmiştir.¹¹⁶ İnsanlarda çeşitli yaş gruplarında yapılan çalışmalarda yaş ile karbakol kontraktıl cevaplarının çok değişmediği belirlenmiştir.^{109,117}

2.2.3. Kalsiyum kanalları

Düz kasların kontraksiyonları, hücre içi Ca^{2+} seviyeleri tarafından düzenlenir.¹¹⁸ Düz kaslarda farklı tipte Ca^{2+} kanalları bulunmaktadır.¹¹⁹ Bunlar voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalları, ikincil haberci aracılı Ca^{2+} kanalları ve reseptör aracılı Ca^{2+} kanallarıdır. Voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalları; Voltaja duyarlı L tipi, T tipi, P tipi, R tipi ve N tipi olmak üzere beş tiptir. Detrusör kasının kasılabilmesi için hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artması gerekmektedir. Hücre içi Ca^{2+} artışının, hücre dışından kalsiyum girişi sonucunda mı yoksa hücre içi Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salınımı neticesinde mi olduğu tartışılmaktadır. Detrusör kasında voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalları mevcuttur.²⁶ Voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalları

aracılığıyla Ca^{2+} transportunun, Ca^{2+} 'a bağlı depolarizasyonda kilit rol oynadığı belirtilmiştir. Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları aracılığıyla, ekstrasellüler alandan hücre içine kalsiyum girişi olmaktadır. Ayrıca hücre içine kalsiyum girişi, hücre içi depolardan kalsiyumun serbest bırakılmasını indüklemektedir.¹²⁰ Hücre içinde kalsiyum konsantrasyonunun artması, -40 mV olan hücre içi elektriksel potansiyeli +10 mV'a yükselterek depolarizasyona neden olmaktadır.¹²¹

Çeşitli çalışmalarda hayvan detrusör düz kas dokusu üzerinde Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları aracılığıyla ekstrasellüler Ca^{2+} girişi araştırılmıştır. ACh ve ATP aracılığıyla detrusör kasının aktivasyonu için intrasellüler Ca^{2+} mobilizasyonunun önemi gösterilmiştir. Farklı çalışmalarda, muskarinik reseptör stimülasyonunun Ca^{2+} 'un ekstrasellüler akışına ve intrasellüler depolardan salınımına katkıda bulunduğu ifade edilmektedir.^{122,123} Bununla birlikte muskarinik reseptör stimülasyonunun, kontraktil mekanizmanın Ca^{2+} 'a duyarlılığını artırdığı belirtilmektedir.¹²⁴ İnsan detrusör kasında ekstrasellüler Ca^{2+} 'un, detrusörün aktivasyon sürecinde çok önemli bir role sahip olduğu belirtilmiştir.¹²⁵ Wu ve ark. intrasellüler Ca^{2+} depolarının tekrar dolmasının, Voltaja duyarlı L tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla Ca^{2+} akışı ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir.¹²⁶ Ayrıca Ca^{2+} un hücre içine akışının durdurulmasında, hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak Ca^{2+} ile aktive olan potasyum kanallarının aktivitesinin azalmasıyla ilişkili bir feedback mekanizmasının rol oynadığı ifade edilmektedir.¹²⁷ İnsan ve kobay detrusör hücrelerinde Ca^{2+} akışına T tipi Ca^{2+} kanallarının katkısının önemli olmadığı kabul edilmiştir.¹²⁰

2.2.4. Vanilloid reseptörler

Vanilloid reseptörler (TRP) nonspesifik iyon kanallarıdır. Vanilloid reseptörlerin memelilerde TRPC, TRPV, TRPP, TRPA ve TRPML olmak üzere alt aileleri mevcuttur.¹²⁸

TRPV1 reseptörleri Ca^{2+} a geçirgen iyon kanallarındırlar ve mesane detrusör kasında, üretelial hücrelerde ve mesanenin afferent sinirleri üzerinde belirlenmişlerdir. Bu reseptörler ısı ve kapsaisin gibi vanilloid bileşikler tarafından aktive edilirler.¹²⁹ TRPV1 reseptörlerinin mesanede visseral ağrının gelişiminde önemli rol oynadıklarına inanılmaktadır.¹³⁰ TRPV1 knock out farelerde mesane kapasitesinin arttığı ürinyasyon kontraksiyonlarının gücünün azaldığı belirlenmiştir.⁵⁰ Üriner kanal infeksiyonlarında veya bazı anti tümör ilaçların kese içi varlığında, merkezi sinir sistemine mesaneden sinyaller gidebilir. Bu patofizyolojik sinyallerin TRPV1 alt tipi aracılığı ile iletiliyor olabileceği düşünülmektedir.^{129,131}

Bir diğer TRPV reseptör alt tipi olan TRPV4 reseptörlerinin mesane ürotelyumunda bol miktarda bulunduğu ifade edilmektedir. TRPV4 knock out farelerde ürinyasyon kontraksiyonu frekanslarında artış olduğu belirlenmiştir.¹³² Ayrıca TRPV4 reseptörleri yangı durumunda aktive olmaktadır. TRPV4 ekspresyonunun, artrit, ^{133,134} pankreatit, ¹³⁵ sistit ¹³⁶ ve sindirim kanalı yangılarında ¹³⁷ arttığı belirlenmiştir.

2.2.5. Dopamin reseptörleri

Dopaminergic reseptörlerin D₁, D₂, D₃, D₄ ve D₅ tipleri mevcuttur. Mesanede bulunan D₁ ve D₅ reseptörleri uyarıldığı zaman, mesane düz kasında eksitator etki meydana gelirken, D₂, D₃ ve D₄ reseptörleri uyarıldığı zaman ise mesane kontraktilesinin inhibe olduğu belirlenmiştir.¹³⁸ Yapılan çalışmalarda, pontin ürinyasyon merkezine mikroenjeksiyon yöntemi ile dopamin enjeksiyonu sonucunda mesane kapasitesi azalmış ve ürinyasyon refleksi oluşturulmuştur.¹³⁹ Parkinsonlu hastalarda nörojenik detrusör overaktivitesi ve mesanenin boşalmasında disfonksiyon mevcuttur.¹³⁸ Bu durumda muhtemelen, substantia nigra ve corpus striatum arasında bağlantı yeri olan nigrostriatal bölgesinde dopamin yetersizliği ve D₁ reseptörünün aktivitesinin yetersiz inhibisyonu söz konusudur.¹⁴⁰

2.2.6. Serotonin reseptörleri

Serotonin veya diğer adıyla 5-hidroksitriptamin (5-HT), sentral ve periferel sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak görev yaparken, gastrointestinal kanal, kardiyovasküler sistem ve immun hücrelerde lokal bir hormon vazifesini görmektedir. Serotoninin, uyku, duyuusal fonksiyonlar, motor aktiviteler, ağrı duyusunun alınması, iştah ve cinsel davranışlar gibi birçok beyin fonksiyonunda görev aldığı bilinmektedir. 5-HT reseptörlerinin 5-HT_{1A, B, D, E, F}, 5-HT_{2A, B, C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A, B}, 5-HT₆ ve 5-HT₇ olmak üzere yedi ana alt tipi mevcuttur ve bu alt tiplerden 18 adet gen sorumludur.¹⁴¹ 5-HT, sinir sistemi, kalp, damar ve solunum yollarının yanı sıra ürünasyonun kontrolünde de rol oynamaktadır.¹³⁹

5HT reseptörlerinin alt tipleri, lumbosakral spinal kord içinde mevcuttur. 5-HT_{1A} ve 5-HT₂ reseptörleri mesanenin parasempatik siniri olan N. Pelvikusta bulunmaktadır.¹¹⁶ Serotonin, mesane düz kasında bulunan 5-HT₂ reseptörlerine bağlanarak etkili olmaktadır. 5-HT₂ reseptörlerinin uyarılması sonucunda iki yoldan etki oluşmaktadır. İlk olarak, serotonin direkt mesane düz kasma etki ederek kontraksiyona neden olur. İkinci olarak ise mesanede bulunan otonomik innervasyon yoluyla indirekt olarak, mesane düz kasında kontraksiyona sebep olur.¹⁴²

2.2.7. Histamin reseptörleri

Histamin organizmada çeşitli fizyolojik mekanizmalarda rol oynayan endojen bir biyojenik amidir. Periferel fonksiyonlarının dışında bir nörotransmitter olarak görev yapmaktadır.^{78,143} Merkezi sinir sisteminde hücre proliferasyonu ve hücrelerin farklılaşmasında rol oynamaktadır. Histamin organizmadaki etkilerini H₁, H₂, H₃ ve H₄ reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirmektedir.^{144,145}

Histamin detrüsor kasında bulunan H₁ reseptörleri aracılığıyla mesane düz kasının kasılmasına neden olur.⁷⁸ Histaminin düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi genellikle

kasıcı yöndedir. Damar düz kasında bunun tersine gevşetici etkiye sahiptirler. Düz kaslarda histamin aracılığıyla kasılım genellikle H₁ reseptörleri üzerinden olurken gevşeme ise H₂ reseptörleri üzerinden olmaktadır. Histamin damar dışındaki diğer düz kasları nadiren gevşetir, genellikle kasar. Vazodilatatör etkiden H₁ ve H₂ reseptörleri, permeabilite artışından ise sadece H₁ reseptörleri sorumludur. Kasılma çoğunlukla H₁, gevşeme ise H₂ reseptör aktivasyonu ile olur. İnsan bronş düz kaslarında H₁ reseptörlerinin kasıcı etkileri baskındır. Histaminin mesane, safra kesesi, üreter ve iris gibi düz kaslar üzerine etkilidir fakat bu etki çok önemli değildir. H₃ reseptörlerinin merkezi sinir sisteminde var olduğu ve histaminerjik nöronlardan histamin sentezi ve histaminin serbest bırakılmasını inhibe ettiği ifade edilmiştir.¹⁴⁵ H₃ reseptörleri aynı zamanda merkezi ve periferik sinir sisteminde 5-HT, dopamin, ACh, noradrenalin ve GABA gibi nörotransmitterlerin salınımı düzenlemektedir.^{146, 147}

H₄ reseptörleri mast hücreleri ve immun sistemin çeşitli hücrelerinde belirlenmiştir.¹⁴⁸ Ayrıca T lenfositler, bazofiller ve dentritik hücreler üzerinde de tanımlanmıştır. H₄ reseptör antagonistlerinin astım ve inflamasyonun tedavisinde etkili olduğu ifade edilmektedir.¹⁴⁵

2.2.8. Purinerjik reseptörler

Mesane ürinerji refleksi, nörotransmitter salınımı ve afferent aktivitede esas rolü oynayan sistemler arasında purinerjik reseptörler ve TRP kanalları yer almaktadır.^{149,150}

Pürinerjik reseptörler P1 ve P2 olmak üzere iki tiptirler. P1 tipi adenosin gibi nükleozitlerle aktive olurken, P2 tipi ATP ile aktive olmaktadır. P2 tipi P2X ve P2Y olmak üzere iki ana alt tipe ayrılmaktadır. Parasempatik sinir terminallerinden serbest bırakılan ATP, mesane düz kas hücreleri üzerinde bulunan P2X reseptörlerine bağlanarak

Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarının açılmasını sağlayarak mesane düz kasında kasılmaya neden olur.¹⁵¹

2.3. Mesanenin Fonksiyon Bozuklukları

Mesane ile ilişkili rahatsızlıklar günümüzde çok yaygındır. Depolama fonksiyon bozuklukları, idrarını tutamama, OAB, obstruktif mesane ve mesane atonisi gibi alt üriner kanal semptomlarıyla sonuçlanabilir.¹⁵²

2.3.1. Üriner inkontinans

Üriner inkontinans; hastanın yaşam kalitesini bozan, sosyal yaşamını kısıtlayan ve psikolojik sorunlara neden olabilen istem dışı idrar kaçırma durumudur. Üriner inkontinans vakaları erkeklere nazaran kadınlarda daha sık görülmektedir. Mevcut verilere göre Amerika'da yıllık tedavi maliyetinin, yaklaşık olarak 16.4 milyar dolar civarında olduğu tahmin edilmektedir.¹⁵³ Her yaşta görülebilen üriner inkontinans vakaları, mesane ile alakalı rahatsızlıkların en yaygın görülenlerinden birisidir.¹⁵⁴ Dünya'nın gelişmiş ülkelerinde 50 milyondan fazla insanın üriner inkontinans müzdarip olduğu tahmin edilmektedir. Bu hastaların %30-60'ının 65 yaşından daha yaşlı olduğu bildirilmiştir. İdrar depolama problemleri üretral çıkışın zayıflığı veya anatomik bir defektin sonucu olarak oluşabilir. Üriner inkontinans hem miyojenik hem de nörolojik bozuklukların sonucunda ortaya çıkan bir patolojidir.¹⁵⁵ α -AR antagonistleri kullanan kişiler sfinkter kaynaklı inkontinansa yatkın hale gelirler. Ayrıca koroner damar rahatsızlıkları ve hipertansiyon için kullanılan Ca^{2+} kanal blokörleri üriner inkontinans oluşumuna katkı sağlayabilir.¹⁵⁶ Üriner inkontinansın tedavisinde mesane eğitimi ve pelvik taban egzersizi gibi konserve tedavilerin yanı sıra antimuskarinikler ve Ca^{2+} kanal blokörleri gibi farmakolojik ajanlarla medikal tedavi de uygulanmaktadır.

2.3.2. Aşırı aktif mesane (over active bladder-OAB)

OAB; mesane gövdesi veya çıkışında afferent sinir terminallerinin duyarlılığının artması ve multiple sklerozis, serebro vasküler hastalıklar, Parkinson, beyin tümörleri ve spinal kord yaralanmaları gibi nörolojik bozukluklarda merkezi sinir sisteminin inhibe edici yollarında meydana gelen patolojiler sonucunda ortaya çıkan bir durumdur.¹⁵⁷ Nörolojik bozukluklarla ilişkili olmaksızın aşırı aktif mesanelerde muskarinik reseptör sayısının azaldığı gösterilmiş, fakat bu iki durum arasındaki ilişki belirlenememiştir.¹⁵⁸ Yaşlanma ile detrusör kontraktilesi ve mesane kapasitesinde bir azalmanın olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ürinyasyon sonrası rezidüel idrarın ve detrusör kasında ürinyasyon dışı kontraksiyonların sayısının arttığı ifade edilmektedir. Bu durum, yaşlılarda OAB ve idrarını tutamama yoğunluğunun artması ile uyumludur.^{159,160} β_2 agonisti terbutalinin detrusörün aşırı aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir.¹⁶¹ Sağlıklı ve overaktif bladderli insan mesanelerinde β -AR yoğunluğunda farklılık olmadığı reseptör bağ çalışmaları ile ortaya konulmuştur.¹⁵⁸ OAB'li hayvan modellerinde β_3 agonistlerinin mesane düz kası üzerine gevşetici etkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.⁷⁶ OAB olgularında muskarinik reseptörlerin fonksiyonlarında farklılıklar olduğu bildirilmektedir.²⁶ OAB tedavisinde kullanılan başlıca farmakolojik ajanlardan birisi muskarinik reseptör antagonistleridir.

2.3.3. Obstrüktif mesane

Obstrüktif mesane olgularında β -AR'lerin azaldığı gözlemlenmiştir.^{76,162,163} Çıkış obstrüksiyonlu 7-12 köpek mesanesinde kasılmaların arttığını, bunun β -AR'lerin fonksiyonlarının azalması, α -AR'lerin fonksiyonlarının ise artmasından dolayı olabileceğini belirtmişlerdir.⁷⁶ Ayrıca Perlberg ve Caine mesane çıkışı daralması olan hastalarda NE'nin, mesane şeritlerinde gevşeme yerine kasılmaya neden olduğunu ifade etmişlerdir.⁶⁶ Smith ve Chapple obstrüktif mesanenin overaktivitesinde, α -AR'lerin fonksiyonunda artma olmadığını bildirmektedirler.¹⁶⁴ Kontrol hayvanlarında α_1 -AR alt

tiplerinin mRNA'larının yoğunluğu; α_{1A} %70, α_{1D} %25 ve α_{1B} %5 iken, obstrüktif hayvanlarda α_{1A} %23, α_{1D} %75 ve α_{1B} %2 olmaktadır. α_1 -AR'lerin mRNA'larındaki bu değişimler mesane gövdesi, boynu ve tabanında paralel şekilde olmaktadır.¹⁶⁵

2.3.4. Mesane atonisi

Mesane atonisi başlıca yaşlı insanlarda meydana gelen bir mesane patolojisidir. Mesane atonisinde, mesane düz kas hücrelerinin sayısında azalma, akson dejenerasyonu ve kollojen birikiminden dolayı interstisyel boşluklarda genişleme meydana gelmektedir.¹⁶⁶ Mesane atonisi oluşumunda rol oynan olası diğer sebepler; kabızlık, anestezi, pelvik bölgenin cerrahisi ve kemik kırıkları, sakral nöropatiler ve diyabetis mellitustur.¹⁶⁷ Köpeklerde yapılan çalışmalarda, kısırlaştırılan dişi köpeklerde mesane düz kas kontraktilesinin azaldığı ve düz kas fiberlerinin azalması ile kollojen miktarının arttığı belirlenmiştir. Bu yapısal değişikliklerin, muskarinik reseptörlerin efektör yolağını ve nörotransmisyonunu değiştirebildiği belirtilmiştir.¹⁶⁸

2.4. Achillea millefolium (Civanperçemi)

Civanperçemi (CP) Asya, Avrupa ve Amerika'da yetişen Haziran ayından Eylül ayına kadar çiçeklenen çok yıllık bir bitkidir (Şekil 2.4).¹⁻⁴ Bin yıldır alternatif tıp alanında yaygın olarak kullanılan bir bitki türüdür.⁵ CP bitkisinin halk arasında yöreden yöreye değişen, birden fazla bilinen ismi vardır. En çok kullanılan isimler arasında kandil çiçeği, akbaşı, binbir yaprak otu ve barsama otu bulunmaktadır. Güneşin bol olduğu bölgelerde ve azotça zengin topraklarda yetişmektedir. Nemli topraklar, bu bitkinin yetişmesi için uygun değildir. Yapısında yüzün üzerinde biyolojik aktif bileşik bulunduran CP'nin monoterpenler, sesquiterpenler, flavonoidler ve caffeolquinik asit derivatlarını içerdiği rapor edilmiştir.⁶ Yine yapılan çeşitli çalışmalarda CP'nin fitokimyasal analizleri sonucu flavonoidler ve kaffeik asit derivatları identifiye edilmiştir.⁹



Şekil 2.4. Civanperçemi bitkisi (*Achillea millefolium*)

Bu bitkinin biyoaktivitesi ile ilgili yapılan araştırmalarda CP ekstraktının antimikrobiyal, antiflojistik (iltihabı azaltan), hepatoprotektif ve Ca^{2+} antagonist aktivitelerinin olduğu ifade edilmiştir.^{7, 169} Bu bitki geleneksel olarak gastrointestinal^{6, 9}, karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıklarında¹⁷⁰, menstüral düzensizliklerde⁸, yara iyileşmesinde¹⁷¹, ateşin düşürülmesinde¹⁷² ve kardiovasküler rahatsızlıklarda¹⁷³ kullanılmaktadır. CP'nin yapısında bulunan fenoller ve diğer bileşiklerin antioksidan aktiviteleri yapılan araştırmalar sonucunda rapor edilmiştir.¹⁰ CP'nin de içinde bulunduğu *Achillea* türlerinin antioksidan özellikleriyle ilgili yapılan çalışmalarda, insan eritrosit ve lökositlerinde hidrojen peroksit tarafından indüklenen oksidatif hasarı önledikleri ifade edilmiştir.¹⁷⁴ Bazı bilimsel makalelerde bitkinin yapısında bulunan flavonoidlerin antimalaryal etkilerinin olduğu belirtilmiştir.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷ Ayrıca CP'nin sulu ekstraktının *Plasmodium falsipaurum*'a karşı pozitif sonuçlar verdiği gösterilmiştir.¹⁷⁸ CP ekstraktı (CPE)'nin akut ve kronik uygulanması sonucunda, anksiyolitik benzeri etkisinin olduğu çalışmalarda ifade edilmiştir.¹⁷⁹ CP'nin etanolik ve hidroalkolik ekstraktlarının Swiss

farelerine uygulanması sonucunda germinal epitelyumlarında morfolojik değişimler olduğu rapor edilerek, CP'nin antispermatojenik etkisinin varlığı gösterilmiştir.¹¹ Ayrıca araştırmalar sonucunda CP'nin östrojenik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.¹⁸⁰ CPE'nin damar düz kas hücrelerinde, hücre proliferasyonu artırdığı ifade edilmiştir.¹⁸¹ CP'nin metanol ekstraktının hypotansif, kardiyosupresant, vasodilatatör ve bronşodilatatör etkilerinin olduğunu ifade eden çalışmalar mevcuttur.¹² CP'nin yapısında bulunan bir flavonoid olan artemetin bileşiğinin, anjiotensin konverting enzim (ACE)'i inhibe ederek hipotansiyonu indüklediği rapor edilmiştir.¹³ CP'nin çiçek bölümlerinin çoğunlukla çay formunda tüketilmesiyle sindirim şikâyetleri, spazmlar ve hazımsızlık gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı ifade edilmektedir.¹⁷² Akut gastritis oluşturulmuş ratlarda CP yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın, gastrik koruyucu aktivitesinin olduğu yapılan araştırmalar sonucunda ifade edilmiştir.¹⁴ Yine başka bir bilimsel araştırma sonucunda CP'nin, karaciğerde safra yapımını artırıcı etkisinin olduğu ifade edilmiştir.¹⁸² CP'nin sulu ekstraktının doza bağımlı olarak in vitro ortamda fare ve insan midesi antrumunda düz kas kontraksiyonlarını indüklediği görölmüştür.¹⁵ Yapısında bulunan flavonoidlerin ileum üzerinde gevşetici etkisinin olduğu, tavşan ve kobay ileumunda yapılan çalışmalar neticesinde belirlenmiştir.^{16,17} Kobay ileumunda in vitro ortamda yapılan bir başka çalışmada, CP'nin hidroalkolik ekstraktının doza bağımlı olarak ileumda elektriksel alan stimölasyonu (EFS) ile indüklenen kontraksiyonları inhibe ettiği ifade edilmiştir.¹⁸³ CP'nin yapısında bulunan flavonoid bileşiklerinin, izole kobay ileumunda Ca²⁺'un hücre içine akımını bloke etmesiyle spazmolitik etkili olduğu gösterilmiştir.¹⁷

2.4.1. Apigenin

Apigenin, CP'nin yapısında bulunan önemli flavonoidlerden biridir.¹⁸⁴ Tıbbi amaçlı olarak kullanılan birçok bitkinin yapısında ve kerevizde Apigenin bulunmaktadır.¹⁸⁵

Flavonoidlerin flavon grubundan olan Apigenin birçok bitki çayının içeriğinde bulunmaktadır. Apigenin, bitkinin yaprak, dal ve kök kısımlarında tespit edilebilmiştir. Kozmetikte, gıda ve boya endüstrisinde kullanım alanları mevcuttur.¹⁸⁶ Apigenin'in farklı kanser türleri tarafından indüklenen tümör büyümesi ve anjiogenezisi durdurduğu ifade edilmiştir.¹⁸⁷ Pankres, kolon ve prostat kanser hücrelerinde antitümör ve antiproliferatif etkiye sahip olduğu bilinmektedir.^{188,189} Apigenin kanserli dokuda hipoksinin indüklediği damar endoteli büyüme faktörünü inhibe ederek, kanser hücrelerinin gelişimini durdurur.¹⁹⁰ Aynı zamanda antiinflamatuvar etkisi olan¹⁹¹ ve inflamasyon alanına nötrofil migrasyonunu azaltan¹⁹² bir flavonoittir. Apigenin, nitrik oksit (NO) üretimini ve tümör nekrosiz faktör (TNF) salınmasını inhibe etmektedir. Böylece inflamasyonda bu iki faktörün salınımını engelleyerek antiinflamatorik etki göstermektedir.¹⁹³ Apigenin'in, akciğer kanseri hücrelerinin metastazını inhibe ettiği¹⁹⁴ ve farelerde ultraviyole β ışınının indüklediği deri kanseri oluşumunu önlediği belirlenmiştir.¹⁹⁵ Apigenin'in, tümör hücrelerinin invazyon, migrasyon ve proliferasyonunu önlediği¹⁹⁶ ve hem hücre kültüründe hem de farelerde tümör hücresi apoptosisini indüklediği ifade edilmiştir.¹⁹⁷ Yapılan çalışmalar neticesinde Apigenin'in, N-nitrosodiethylamine tarafından indüklenen karaciğer hücrelerinde kanser oluşumunu etkili bir şekilde engellediği ve oksidatif stresi azaltarak koruyucu etkili olduğu rapor edilmiştir.¹⁹⁸ Spazmolitik ve östrojenik etkiye sahip bir bileşik olan Apigenin'in,¹⁸⁰ insan ve fare midesi antrum bölgesi düz kaslarında agonistler tarafından indüklenen kontraksiyonları inhibe ettiği belirtilmiştir.¹⁵ Kobay ileumunda yapılan çalışmalar sonucunda ise Apigenin'in ileum düz kas kontraktilesi üzerine spazmolitik etkili olduğu belirlenmiştir.¹⁷

2.4.2. Chloroquine

Chloroquine (CQ) ilk kez, Alman kimyacı Hans Andersag tarafından 1934 yılında sentez edilmiştir.¹⁹⁹ CQ romatik hastalıklar ve sistemik lupus eritromatözün tedavisinde

kullanılmaktadır.²⁰⁰ CQ aynı zamanda viral enfeksiyonların kontrolünde de kullanılmaktadır.^{201,202} CO'nun TNF- α üretimini azalttığı ve TNF- α reseptör ekspresyonunu baskıladığı belirtilmiştir. Aynı zamanda makrofajlar ve T lenfositlerde üretilen IL-1 ve IL-6 üretimini düzenlediği belirlenmiştir.²⁰³ CQ'nun H₁N₁ ve H₃N₂ insan virüslerinin ve H₅N₉ avian virüsünün replikasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir.²⁰⁴ CQ'nun rat ileum düz kasında spontan kontraksiyonları inhibe ettiği belirlenmiştir.²⁰⁵ CQ'nun EFS ile indüklenen kobay ileum düz kas kontraksiyonlarını inhibe ettiği yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir.²⁰⁶ CQ'nun kobayların düz kaslarında herhangi bir mekanik cevaba sebep olmadığı, aksine histamin, ACh ve 5-HT ile indüklenen kontraksiyonları inhibe ettiği belirlenmiştir.²⁰⁷

2.4.3. Luteolin

Luteolin yenilebilen bitkilerin yapısında bulunabilen ve çeşitli patolojik durumların tedavisinde kullanılan bir bileşiktir. Luteolin bileşiği HPLC tekniği ile CP bitkisinden izole edilmiştir. Aynı zamanda Luteolin tatlı kırmızıbiber olarak bilinen *Fructus copsisini* yapısında bulunmaktadır.¹⁸⁵ İnsanlarda oral Luteolin uygulamasından sonra, Luteolin'in serbest formu plazmada tespit edilmiştir.²⁰⁸ Luteolin; havuç, kırmızıbiber, zeytinyağı, nane, biberiye, keklik otu, marul, nar, enginar, çikolata, şalgam ve salatalık gibi yiyeceklerde bulunmaktadır.²⁰⁹ Ayrıca limon, lahana, karnabahar, rezene, maydanoz, ıspanak ve yeşil çayda da Luteolin bileşiği bulunmaktadır. Luteolin; antiinflamatuvar ve antikanser gibi biyolojik aktivitesi olan bir flavonoidtir.^{210,211} Antiinflamatuvar etkisi, makroafajlardan TNF- α salınımının inhibe edilmesi sonucunda olmaktadır.¹⁹⁷ Hücre sikluslarını düzenleyerek birçok kanser tipinin gelişmesini önlediği rapor edilmiştir.²¹² Aynı zamanda Luteolin pankreas, akciğer ve karaciğer tümörlerinde tümör hücrelerinin apoptosisini indüklemektedir.²¹³ Luteolinden zengin besinlerle beslenen kişilerde akciğer²¹⁴ ve mide kanseri²¹⁵ yoğunluğunun düşük olduğu ifade

edilmiştir. İçeriğinde Luteolin bulunan diyetle beslenen kişilerde akut myokardial infarktüs riskinin düşük olduğu belirlenmiştir.²¹⁶ Luteolin'in güçlü antioksidan özelliği de mevcuttur. Yapılan çalışmalar sonucunda Luteolin'in, reaktif oksijen ve nitrojen moleküllerini ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir.²¹⁷ İçme sularına Luteolin katılan farelerin plazma interlökin-6 (IL-6) seviyesinin ve üretiminin azaldığı belirlenmiştir.²¹⁸ Ayrıca inflamasyonda görevli bazı enzimleri inhibe ettiği de bilinmektedir.²¹⁹ Bununla birlikte Luteolin'in antibakteriyel (*Chlamydia pneumonia*),²²⁰ antiviral,²²¹ antifungal²²² ve antiparaziter²²³ etkili olduğu ifade edilmektedir. Luteolin, farklı mekanizmalar aracılığıyla histaminin serbest bırakılmasını inhibe ederek antiallerjik rol oynamaktadır.²²⁴ Damarlarda güçlü bir vazodilatör olan NO sentezinden sorumlu olan endotelial nitrik oksit sentetaz enziminin üretimini artırarak damarlarda genişlemeye neden olmaktadır. Bununla birlikte, ratlarda kalp kası hücrelerinde iskemi hasarının Luteolin tarafından önemli ölçüde önlediği gösterilmiştir.²²⁵ Luteolin'in kobay ileumu kontraksiyonlarını inhibe ettiği, ileum kontraksiyonları üzerine spazmolitik etkili olduğu belirlenmiştir.¹⁷

2.4.4. Rutin

Bu bileşiğin vazoaktif ve antiinflamatuvar etkili olduğu bilinmektedir. Stres ve etanol ile ülser oluşturulmuş hayvan modellerinde, Rutin'in ülser oluşumunu önlediği ifade edilmiştir. Aynı zamanda güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda rapor edilmiştir. Rutin'in diyabet olgularında insülin seviyesini artırıp plazma glikoz seviyesini düşürerek glikoz homeostazisini sağladığı ifade edilmiştir.²²⁶ Aynı zamanda yapılan çalışmalar neticesinde Rutin'in plasmada düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) azalttığı, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerini ise artırdığı belirlenmiştir.²²⁷ Rutin'in periferik kan damarları üzerine daraltıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Rutin'in düz kaslarda gevşetici etkiye sahip olduğu ve izole edilmiş

fare midesi antrum bölgesi düz kaslarında düz kas kontraksiyonlarını önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür.¹⁵

2.4.5. Quercetin

3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon olarak da adlandırılan Quercetin, flavonoidlerin flavon grubundandır. Yapısında 3,3',4' ve 5,7 pozisyonlarında –OH grubu bağlıdır. Greyfurt, elma, soğan, az miktarlarda yapraklı yeşil sebzelerde ve fasulyede, siyah çay ve çeşitli bitki çaylarının yapısında bulunmaktadır. Özellikle soğanda bol miktarda Quercetin bileşiği bulunmaktadır.¹⁸⁵ Quercetin güçlü antioksidan özelliğe sahip bir flavonoittir.²²⁸ Parasetamolün indüklediği karaciğer hasarına karşı Quercetin'in koruyucu etkisi deney hayvanlarında araştırılmıştır. Araştırmanın sonucunda Quercetin'in histopatolojik bozuklukları düzelttiği, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve karaciğer antioksidan enzimlerini yenilediği belirlenmiştir.²²⁹ Japonya'da yapılan bir çalışma neticesinde Quercetin alımına bağlı olarak plazma LDL-kolesterol ve total kolesterol konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür. Finlandiya'daki bir başka çalışmada ise Quercetin 'den zengin elma ve soğan tüketimi arttığında koroner mortalitenin azaldığı bulunmuştur.²³⁰ Quercetin koroner kalp hastalıklarının neden olduğu ölümleri önemli ölçüde azaltmaktadır.²³¹ Quercetin'in, kobay ileum düz kontraksiyonları üzerine spazmolitik etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalar neticesinde belirlenmiştir.¹⁷

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'nun 2012/655 kararı ile onaylandı ve Atatürk Üniversitesi BAP birimi tarafından 2012/362 No'lu proje kapsamında desteklendi.

3.1. Kullanılan Dene Hayvanları

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen, ortalama 200-250 gr ağırlığında, 8-12 haftalık, ergin 60 adet erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. Tüm hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık dene hayvanları ünitesi ortamında, %55-60 nem oranı ve 22°C oda sıcaklığında bakım ve standart pelet yem ile beslemeye tabi tutuldu. Deneyle süresince etik değerlere riayet edildi.

3.2. Kullanılan Etken Maddeler

Deneylelerde kullanılan etken maddeler ve dozları aşağıda belirtildiği gibi düzenlendi. Etken maddelerin 0.2 ml'deki derişimleri, izole organ banyosunda istenilen final konsantrasyonu sağlayacak şekilde hazırlandı.

Çalışmada kullandığımız etken maddeler;

CPE; Kurutulmuş olan CP bitkisinin çiçek kısımları öğütülerek toz haline getirildi. 30 gr alınarak üzerine 400 ml etanol eklendi. Karışım manyetik karıştırıcı ile 48 saat karıştırıldı ve bu süre sonunda filtre edilerek büyük parçacıklardan arındırıldı. Daha sonra elde edilen solüsyonun 84°C'de alkol kısmı uçurularak ekstrakt elde edildi.²³² Elde edilen ekstraktan final konsantrasyonu 0.125, 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml olmak üzere beş farklı doz Krebs solüsyonunda çözdürülerek hazırlandı.²³³

ACh (CAS numarası: 60-31-1, Sigma, Almanya); mesane düz kas kontraktilitelerini indükleyici ajan olarak kullanıldı.

KCl (CAS numarası: 7447-40-7, Sigma, Almanya); mesane düz kas kontraktilitelerini indükleyici ajan olarak kullanıldı.

Apigenin (CAS numarası: 520-36-5, Sigma, Almanya); Final konsantrasyonları 10^{-9} M/ml, 10^{-8} M/ml, 10^{-7} M/ml, 10^{-6} M/ml, 10^{-5} M/ml ve 10^{-4} M/ml olmak üzere altı farklı doz, dimethyl sulphoxide (DMSO) de çözdürülerek hazırlandı.¹⁵

CQ (CAS numarası: 50-63-5, Sigma, Almanya); Final konsantrasyonları 10^{-8} M/ml, 10^{-7} M/ml, 10^{-6} M/ml, 10^{-5} M/ml, 10^{-4} M/ml ve 10^{-3} M/ml olmak üzere beş farklı doz, distile suda çözdürülerek hazırlandı.²³⁴

Luteolin (CAS numarası: 491-70-3, Sigma, Almanya); Final konsantrasyonları 4×10^{-9} M/ml, 4×10^{-8} M/ml, 4×10^{-7} M/ml, 4×10^{-6} M/ml ve 4×10^{-5} M/ml olmak üzere beş farklı doz, DMSO'da çözdürülerek hazırlandı.²³⁵

Quercetin (CAS numarası: 117-39-5, Sigma, Almanya); Final konsantrasyonları 3×10^{-8} M/ml, 3×10^{-7} M/ml, 3×10^{-6} M/ml, 3×10^{-5} M/ml ve 3×10^{-4} M/ml olmak üzere beş farklı doz, DMSO'da çözdürülerek hazırlandı.²³⁶

Rutin (CAS numarası: 207671-50-9, Sigma, Almanya); Final konsantrasyonları 3×10^{-8} M/ml, 3×10^{-7} M/ml, 3×10^{-6} M/ml, 3×10^{-5} M/ml ve 3×10^{-4} M/ml olmak üzere beş farklı doz, DMSO'da çözdürülerek hazırlandı.²³⁷

Nifedipine (CAS numarası: 21829-25-4, Sigma, Almanya); final konsantrasyonu 10^{-7} M/ml, 10^{-6} M/ml ve 10^{-5} M/ml olmak üzere üç farklı doz, DMSO'da çözdürülerek hazırlandı.²³⁸

Ketamine hidroklorid (CAS numarası: 1867-66-9, Sigma, Almanya); deney hayvanını anesteziye almak için kullanıldı.

Ksilazin hidroklorid (rompun) (CAS numarası: 23076-35-9, Sigma, Almanya); deney hayvanlarını anesteziye almak için kullanıldı.

Krebs Solüsyonu için kullanılan kimyasallar

NaCl (119 mM), KCl (4.75 mM), KH₂PO₄ (1.2 mM), NaHCO₃ (25 mM), MgSO₄ (1.5 mM), CaCl₂ (2.5 mM) ve glikoz (11 mM).¹⁵

2.3.3. Kullanılan Alet ve Malzemeler

İzole organ banyosu; mesane dokusundan hazırlanan düz kas şeritlerinin canlılığını korumak ve kimyasal bileşik ve etken maddelere karşı biyolojik aktivitelerini test etmek için kullanıldı.

İzometrik transduser; mesane kas şeritlerinin uygulanan etken maddeye verdiği cevapları, elektriksel sinyallere çevirerek amplifikatör sistemine aktarmak için kullanıldı.

Amplifikatör; izometrik transduserden alınan elektriksel sinyalleri büyüterek data analiz sistemine aktarmak için kullanıldı.

Data analiz sistemi; amplifikatörden alınan elektriksel sinyallerin bilgisayar kayıt sistemine göre düzenlenip aktarılması için kullanıldı.

Bilgisayar kayıt sistemi; data analiz sisteminden alınan elektriksel sinyallerin IOX yazılımı ile rakamsal değerlere dönüştürmek ve kaydetmek için kullanıldı.

Sirkülatörlü su banyosu; izole organ banyo ortamının sıcaklığının sürekli 37°C'de tutulması için kullanıldı.

Karbojen tüpü (%95 O₂, %5 CO₂); dokunun O₂ ve CO₂ ihtiyacını karşılamak için kullanıldı.

Dijital termometre; organ banyosunun sürekli sabit tutulan sıcaklığının kontrolü için kullanıldı.

Buzdolabı; kimyasal maddeleri muhafaza etmek için kullanıldı.

Etüv; cam malzemelerin yıkandıktan sonra kurutulması için kullanıldı.

Mikropipetler; Kimyasal bileşiklerin ve ekstraktın belirlenen dozlarda banyo ortamına verilmesi için kullanıldı.

pH metre; Hazırlanan Krebs solüsyonunun pH'sının ayarlanması için kullanıldı.

Isıtmalı manyetik karıştırıcı; Krebs solüsyonu, kimyasal bileşikler ve ekstraktın hazırlanması için kullanıldı.

Makas; değişik ebatlarda kullanılan makaslar kas preparatının hazırlanması için kullanıldı.

Pens; değişik ebatlarda kullanılan pensler diseksiyon ve kas preparatının hazırlanmasında kullanıldı.

Hassas terazi; Kimyasal maddelerin ve ekstraktın tartımı için kullanıldı.

Erlen; Krebs solüsyonunun hazırlanması için kullanıldı.

Petri; içerisinde krebs solüsyonu bulunan petri kabı, mesane dokusunun temizliği ve kas şeritlerinin hazırlanması için kullanıldı.

Mezür; Krebs solüsyonu ve diğer solüsyonların hazırlanması için gerekli çözücünün ölçümünde kullanıldı.

3.3. Rat Mesane Dokusunun İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması

Deneylerden önce ratların bakım ve beslenme şartlarına herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Ketamin (75mg/kg)-Rompun (15mg/kg) eşliğinde anesteziye alınan hayvanlar servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Median hattın abdomen açıldı ve mesane çıkarılarak içerisinde Krebs solüsyonu bulunan petri kabına alındı. Mesane çevresindeki bağ dokular temizlendi ve mesane boyun kısmından apex yönünde longitudinal bir kesi ile açılarak mukoza tabakası hafifçe kazınarak kas dokusundan ayrıldı. Mesaneden vertikal yönde, 2x10 mm ebadında iki veya üç kas şeridi hazırlandı.^{239,240} Hazırlanan düz kas şeritleri pH'sı 7.4 ve sıcaklığı 37°C olan, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan Krebs solüsyonu içeren (mM: NaCl 119, KCl 4.75, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, MgSO₄ 1.5, CaCl₂

2.5, glukoz 11) 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirilerek alt ucu banyo tabanındaki çelik çengele üst ucu ise bir çelik tel ile transdusere (ELJ-S045C-EMKA-R04003 ve R04004) bağlandı (Şekil 3.1.). Doku şartlarına banyo ortamında 1gr gerim uygulandı ve 1 saatlik inkübasyon periyoduna tabi tutuldu. Bu sırada banyo ortamı 15 dakikalık periyotlarla Krebs solüsyonu ile yıkandı. İnkübasyon periyodu sonunda 3.1, 3.2 ve 3.3 nolu tablolarda belirtilen protokollerde ifade edildiği gibi kimyasal ve etken maddeler uygulanmaya başlandı.



Şekil 3.1. İzole organ banyosuna yerleştirilmiş mesane düz kas şeridinin görünümü.

Tablo 3.1. ACh ile indükelenen in vitro mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CPE ve CP bileşiklerinin araştırıldığı deneysel protokol

Test Anı (sn)	Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döngüsü		
600 sn	600 sn	Dokunun asılması		I		
3600 sn	3600 sn (1 saat)	Dinlenme periyodu				
470 sn x 3	90 sn	ACh uygulaması kümülatif	Kasılma	II (Bu bölüm üç kez tekrarlandı)		
		Maruziyet				
	35 sn	10 sn	Yıkama		Kısmi gevşeme	
		25 sn	Bekleme		Dinlenme durumuna yaklaşım	
	35 sn	10 sn	Yıkama		Dinlenme durumuna yaklaşım	
		25 sn	Bekleme		Dinlenme durumuna yaklaşım	
	310 sn	10 sn	Yıkama		Dinlenme durumuna dönüş	
		300 sn	Bekleme		Dinlenme durumunu sürdürme	
	741 sn	301 sn	1 sn		Etken madde uygulaması	Dokuda kontraktıl cevap yok
			300 sn		Maruziyet	
60 sn		60 sn	ACh uygulaması kümülatif	Kasılma		
35 sn		10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna yaklaşım		
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım		
35 sn		10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna yaklaşım		
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım		
310 sn		10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna dönüş		
		300 sn	Bekleme	Dinlenme durumunu sürdürme		
					III	

Tablo 3.2. KCl ile indükelenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CPE ve CP bileşiklerinin araştırıldığı deneysel protokol

Test Anı (sn)	Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döngüsü		
600 sn	600 sn	Dokunun asılması		I		
3600 sn	3600 sn (1 saat)	Dinlenme periyodu				
470 sn x 3	90 sn	KCl uygulaması kümülatif	Kasılma	II (Bu bölüm üç kez tekrarlandı)		
		Maruziyet				
	35 sn	10 sn	Yıkama		Kısmi gevşeme	
		25 sn	Bekleme		Dinlenme durumuna yaklaşım	
	35 sn	10 sn	Yıkama		Dinlenme durumuna yaklaşım	
		25 sn	Bekleme		Dinlenme durumuna yaklaşım	
	310 sn	10 sn	Yıkama		Dinlenme durumuna dönüş	
		300 sn	Bekleme		Dinlenme durumunu sürdürme	
741 sn	301 sn	1 sn	Etken madde uygulaması	III		
		300 sn			Maruziyet	
	60 sn	60 sn	KCl uygulaması kümülatif		Kasılma	
			35 sn			10 sn
	35 sn	10 sn	25 sn		Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım
			35 sn		10 sn	Yıkama
	310 sn	10 sn	25 sn		Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım
			310 sn		10 sn	Yıkama
		300 sn	Bekleme		Dinlenme durumunu sürdürme	

Tablo 3.3. Nifedipine varlığında ACh ve KCl ile indükelenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CPE ve bileşiklerinin araştırıldığı deneysel protokol

Test Anı (sn)	Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döngüsü			
600 sn	600 sn	Dokunun asılması		I			
3600 sn	3600 sn (1 saat)	Dinlenme periyodu					
410 sn x 3	30 sn	1 sn	ACh uygulaması	Kasılma	II (Bu bölüm üç kez tekrarlandı)		
		29 sn	Maruziyet				
	35 sn	10 sn	Yıkama	Kısmi gevşeme			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
	35 sn	10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna yaklaşım			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
	310 sn	10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna dönüş			
		300 sn	Bekleme	Dinlenme durumunu sürdürme			
711 sn	301 sn	1 sn	Etken madde uygulaması	Dokuda kontraktıl cevap yok	III		
		300 sn	Maruziyet				
	30 sn	1 sn	ACh uygulaması	Kasılma			
		29 sn	Maruziyet				
	35 sn	10 sn	Yıkama	Kısmi gevşeme			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
	35 sn	10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna yaklaşım			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
	310 sn	10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna dönüş			
		300 sn	Bekleme	Dinlenme durumunu sürdürme			
	711 sn	301 sn	1 sn	10 ⁻⁷ M Nifedipine uygulaması		Spontan kontraksiyonlarda azalma	IV
			300 sn	Maruziyet			
30 sn		1 sn	ACh uygulaması	Kasılma			
		29 sn	Maruziyet				
35 sn		10 sn	Yıkama	Kısmi gevşeme			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
35 sn		10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna yaklaşım			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
310 sn		10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna dönüş			
		300 sn	Bekleme	Dinlenme durumunu sürdürme			
1012 sn		301 sn	1 sn	10 ⁻⁷ M Nifedipine uygulaması	Spontan kontraksiyonlarda azalma	V	
			300 sn	Maruziyet			
	301 sn	1 sn	Etken madde uygulaması	Dokuda kontraktıl cevap yok			
		300 sn	Maruziyet				
	30 sn	1 sn	ACh uygulaması	Kasılma			
		29 sn	Maruziyet				
	35 sn	10 sn	Yıkama	Kısmi gevşeme			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
	35 sn	10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna yaklaşım			
		25 sn	Bekleme	Dinlenme durumuna yaklaşım			
	310 sn	10 sn	Yıkama	Dinlenme durumuna dönüş			
		300 sn	Bekleme	Dinlenme durumunu sürdürme			

Bu protokol indükleyici ajan olarak KCl kullanılarak da çalışıldı

3.4. Deney Grupları

Çalışmamızda, CPE, Apigenin, Luteolin, CQ, Quercetin ve Rutin olmak üzere altı deney grubu oluşturuldu. Her bir deney grubunda ise dört alt grup bulunmaktadır. Deney grupları Tablo 3.4.'deki gibi belirlenmiştir.

Tablo 3.4. Tez deney grupları

DENEY GRUPLARI	I. Grup	CPE grubu n= 10	I.A Grubu: CPE + ACh I.B Grubu: Nifedipine + CPE + ACh I.C Grubu: CPE + KCl I.D Grubu: Nifedipine + CPE + KCl
	II. Grup	Apigenin grubu n= 10	II. A Grubu: Apigenin + ACh II. B Grubu: Nifedipine + Apigenin + ACh II. C Grubu: Apigenin + KCl II. D Grubu: Nifedipine + Apigenin + KCl
	III. Grup	CQ grubu n= 10	III. A Grubu: CQ + ACh III. B Grubu: Nifedipine + CQ + ACh III. C Grubu: CQ + KCl III. D Grubu: Nifedipine + CQ + KCl
	IV. Grup	Luteolin grubu n= 10	IV. A Grubu: Luteolin + ACh IV. B Grubu: Nifedipine + Luteolin + ACh IV. C Grubu: Luteolin + KCl IV. D Grubu: Nifedipine + Luteolin + KCl
	V. Grup	Quercetin grubu n= 10	V. A Grubu: Quercetin + ACh V. B Grubu: Nifedipine + Quercetin + ACh V. C Grubu: Quercetin + KCl V. D Grubu: Nifedipine + Quercetin + KCl
	VI. Grup	Rutin grubu n= 10	VI. A Grubu: Rutin + ACh VI. B Grubu: Nifedipine + Rutin + ACh VI. C Grubu: Rutin + KCl VI. D Grubu: Nifedipine + Rutin + KCl

3.4.1. CPE grubu (I. grup)

ACh ve KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Nifedipine varlığında ve yokluğunda CPE'nin etkilerinin araştırıldığı grupları tanımlamaktadır.

3.4.1.1. CPE+ACh (I. A grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CPE'nin etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nın doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra CPE'nin 0.125 mg/ml dozu banyoya uygulandı. Ekstraktın 10 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

CPE'nin 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozları da aynı protokol ile çalışılarak, CPE'nin farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.1.2. Nifedipine+CPE+ACh (I. B grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CPE'nin etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde ACh'nın submaksimal etkili olan 10^{-4} M dozu kullanıldı. ACh'nın 10^{-4} M dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya CPE'nin 2 mg/ml olan etkili dozu ilave edildi. CPE ile 10 dk maruziyet süresi sonunda 10^{-4} M ACh uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 10^{-4} M ACh uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 2 mg/ml CPE uygulanarak dokunun CPE ile 10 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 10^{-4} M ACh uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.1.3. CPE+KCl (I. C grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CPE'nin etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra CPE'nin 0.125 mg/ml dozu banyoya uygulandı. Ekstraktın 10 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

CPE'nin 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozları da aynı protokol ile çalışılarak, CPE'nin farklı dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.1.4. Nifedipine+CPE+KCl (I. D grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CPE'nin etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde KCl'nin submaksimal etkili olan 60 mM dozu kullanıldı. KCl'nin 60 mM dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya CPE'nin 2 mg/ml olan etkili dozu ilave edildi. CPE ile 10 dk maruziyet süresi sonunda 60 mM KCl uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 60 mM KCl uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 2 mg/ml CPE uygulanarak dokunun CPE ile 10 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 60 mM KCl uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.2. Apigenin grubu (II. grup)

ACh ve KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Nifedipine varlığında ve yokluğunda Apigenin'in etkilerinin araştırıldığı grupları tanımlamaktadır.

3.4.2.1. Apigenin+ACh (II. A grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Apigenin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nın doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Apigenin'in 10^{-9} M dozu banyoya uygulandı. Apigenin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Apigenin'in 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Apigenin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.2.2. Nifedipine+Apigenin+ACh (II. B grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Apigenin'in etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde ACh'nın submaksimal etkili olan 10^{-4} M dozu kullanıldı. ACh'nın 10^{-4} M dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Apigenin'in 10^{-4} M olan etkili dozu ilave edildi. Apigenin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 10^{-4} M ACh uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 10^{-4} M ACh uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi ve 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 10^{-4} M Apigenin uygulanarak Apigenin'in 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 10^{-4} M ACh uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.2.3. Apigenin+KCl (II. C grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Apigenin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Apigenin'in 10^{-9} M dozu banyoya uygulandı. Apigenin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Apigenin'in 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Apigenin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.2.4. Nifedipine+Apigenin+KCl (II. D grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Apigenin'in etkilerinin, Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde KCl'nin submaksimal etkili olan 60 mM dozu kullanıldı. KCl'nin 60 mM dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez

tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Apigenin'in 10^{-4} M olan etkili dozu ilave edildi. Apigenin ile 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 60 mM KCl uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 60 mM KCl uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 10^{-4} M Apigenin uygulanarak dokunun Apigenin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 60 mM KCl uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.3. CQ grubu (III. grup)

ACh ve KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Nifedipine varlığında ve yokluğunda CQ'nun etkilerinin araştırıldığı grupları tanımlamaktadır.

3.4.3.1. CQ+ACh (III. A grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CQ'nun etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nın doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra CQ'nun 10^{-8} M dozu banyoya uygulandı. CQ'nun 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif

olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

CQ'nun 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, CQ'nun farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.3.2. Nifedipine+CQ+ACh (III. B grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CQ'nun etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde ACh'nin submaksimal etkili olan 10^{-4} M dozu kullanıldı. ACh'nin 10^{-4} M dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya CQ'nun 10^{-3} M olan etkili dozu ilave edildi. CQ'nun 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 10^{-4} M ACh uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 10^{-4} M ACh uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 10^{-3} M CQ uygulanarak dokunun CQ ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 10^{-4} M ACh uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.3.3. CQ+KCl (III. C grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CQ'nun etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin mesane düz kasları üzerinde oluşturulan doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra CQ'nun 10^{-8} M dozu banyoya uygulandı. CQ'nun ile 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

CQ'nun 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, CQ'nun farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.3.4. Nifedipine+CQ+KCl (III. D grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine CQ'nun etkilerinin, Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde KCl'nin submaksimal etkili olan 60 mM dozu kullanıldı. KCl'nin 60 mM dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya CQ'nun 10^{-3} M olan etkili dozu ilave edildi. CQ ile 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 60 mM KCl uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 60 mM KCl uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 10^{-3} M CQ uygulanarak dokunun CQ ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 60 mM KCl uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.4. Luteolin grubu (IV. grup)

ACh ve KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Nifedipine varlığında ve yokluğunda Luteolin'in etkilerinin araştırıldığı grupları tanımlamaktadır.

3.4.4.1. Luteolin+ACh (IV. A grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Luteolin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nın doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Luteolin'in 4×10^{-9} M dozu banyoya uygulandı. Luteolin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Luteolin'in 4×10^{-8} , 4×10^{-7} , 4×10^{-6} ve 4×10^{-5} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Luteolin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.4.2. Nifedipine+Luteolin+ACh (IV. B grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Luteolin'in etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde ACh'nin submaksimal etkili olan 10^{-4} M dozu kullanıldı. ACh'nin 10^{-4} M dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Luteolin'in 4×10^{-5} M olan etkili dozu ilave edildi. Luteolin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 10^{-4} M ACh uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 10^{-4} M ACh uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi ve 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 4×10^{-5} M Luteolin uygulanarak dokunun Luteolin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 10^{-4} M ACh uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.4.3. Luteolin+KCl (IV. C grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Luteolin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Luteolin'in 4×10^{-9} M dozu banyoya uygulandı. Luteolin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Luteolin'in 4×10^{-8} , 4×10^{-7} , 4×10^{-6} ve 4×10^{-5} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Luteolin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.4.4. Nifedipine+Luteolin+KCl (IV. D grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Luteolin'in etkilerinin, Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde KCl'nin submaksimal etkili olan 60 mM dozu kullanıldı. KCl'nin 60 mM dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Luteolin'in 4×10^{-5} M olan etkili dozu ilave edildi. Luteolin ile 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 60 mM KCl uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 60 mM KCl uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 4×10^{-5} M Luteolin uygulanarak dokunun Luteolin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 60 mM KCl uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.5. Quercetin grubu (V. grup)

ACh ve KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Nifedipine varlığında ve yokluğunda Quercetin'in etkilerinin araştırıldığı grupları tanımlamaktadır.

3.4.5.1. Quercetin+ACh (V. A grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Quercetin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nın doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Quercetin'in 3×10^{-8} M dozu banyoya uygulandı. Quercetin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Quercetin'in 3×10^{-7} , 3×10^{-6} , 3×10^{-5} ve 3×10^{-4} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Quercetin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.5.2. Nifedipine+Quercetin+ACh (V. B grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Quercetin'in etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde ACh'nın submaksimal etkili olan 10^{-4} M dozu kullanıldı. ACh'nın 10^{-4} M dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Quercetin'in 3×10^{-4} M olan etkili dozu ilave edildi. Quercetin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 10^{-4} M ACh uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 10^{-4} M ACh uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi ve 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 3×10^{-4} M Quercetin uygulanarak dokunun Quercetin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 10^{-4} M ACh uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.5.3. Quercetin+KCl (V. C grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Quercetin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Quercetin'in 3×10^{-4} M dozu banyoya uygulandı. Quercetin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Quercetin'in 3×10^{-7} , 3×10^{-6} , 3×10^{-5} ve 3×10^{-4} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Quercetin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.5.4. Nifedipine+Quercetin+KCl (V. D grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Quercetin'in etkilerinin, Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde KCl'nin submaksimal etkili olan 60 mM dozu kullanıldı. KCl'nin 60 mM dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Quercetin'in 3×10^{-4} M olan etkili dozu ilave edildi. Quercetin ile 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 60 mM KCl uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 60 mM KCl uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 3×10^{-4} M Quercetin uygulanarak dokunun Quercetin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 60 mM KCl uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.6. Rutin grubu (VI. grup)

ACh ve KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Nifedipine varlığında ve yokluğunda Rutin'in etkilerinin araştırıldığı grupları tanımlamaktadır.

3.4.6.1. Rutin+ACh (VI. A grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Rutin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nın doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Rutin'in 3×10^{-8} M dozu banyoya uygulandı. Rutin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Rutin'in 3×10^{-7} , 3×10^{-6} , 3×10^{-5} ve 3×10^{-4} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Rutin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.6.2. Nifedipine+ Rutin +ACh (VI. B grubu)

ACh ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Rutin'in etkilerinin Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde ACh'nın submaksimal etkili olan 10^{-4} M dozu kullanıldı. ACh'nın 10^{-4} M dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Rutin'in 3×10^{-4} M olan etkili dozu ilave edildi. Rutin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 10^{-4} M ACh uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 10^{-4} M ACh uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 3×10^{-4} M Rutin uygulanarak dokunun Rutin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 10^{-4} M ACh uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.4.6.3. Rutin+KCl (VI. C grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Rutin'in etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra Rutin'in 3×10^{-4} M dozu banyoya uygulandı. Rutin'in 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Rutin'in 3×10^{-7} , 3×10^{-6} , 3×10^{-5} ve 3×10^{-4} M dozları da aynı protokol ile çalışılarak, Rutin'in farklı dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

3.4.6.4. Nifedipine+Rutin+KCl (VI. D grubu)

KCl ile indüklenmiş mesane düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine Rutin'in etkilerinin, Nifedipine eşliğinde çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

Mesane düz kas kontraksiyonlarının indüklenmesinde KCl'nin submaksimal etkili olan 60 mM dozu kullanıldı. KCl'nin 60 mM dozu banyoya uygulanarak kontraksiyon cevabı elde edildi ve doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez

tekrar edildi ve elde edilen kontraksiyon cevaplarının ortalaması alınarak kontrol değeri olarak kabul edildi.

Banyoya Rutin'in 3×10^{-4} M olan etkili dozu ilave edildi. Rutin ile 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda 60 mM KCl uygulanarak dokunun kontraksiyon cevabı kaydedildi. Doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Banyo ortamına 10^{-7} M Nifedipine eklenerek doku 5 dakikalık maruziyet süresine tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda banyoya 60 mM KCl uygulandı. Dokunun cevabı kaydedilerek doku üç kez yıkanıp 5 dk dinlendirildi.

Daha sonra banyoya önce 10^{-7} M Nifedipine verildi 5 dakikalık maruziyet süresi sonunda ortama 3×10^{-4} M Rutin uygulanarak dokunun Rutin ile 5 dakikalık maruziyeti sağlandı. Bu sürenin sonunda banyo ortamına 60 mM KCl uygulanarak mesane dokusundan elde edilen kontraksiyon cevapları kaydedildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS20 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde Kruskal Wallis ve One Way ANOVA'da Tukey testi uygulandı. Değerler, ortalama \pm Standard sapma (SD) olarak verildi. $P < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda CPE, Apigenin, CQ, Luteolin, Quercetin ve Rutin olmak üzere altı farklı ana grubumuz bulunmaktadır. Her bir ana grubun dört alt grubundan elde edilen bulgular aşağıda ifade edilmiştir.

CPE grubunda; Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda ACh ve KCI ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CPE'nin beş farklı dozunun etkilerinin araştırıldığı dört alt grup bulunmaktadır.

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkileri Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de sunulmuştur.

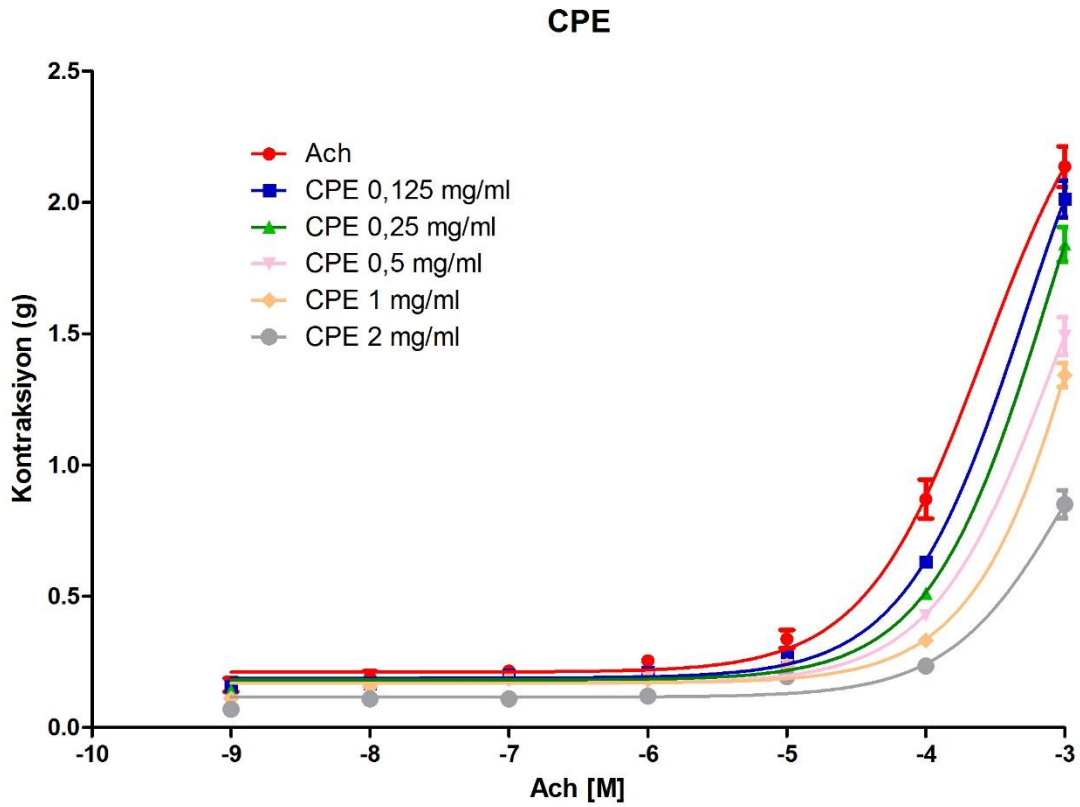
Tablo 4.1. CPE'nin ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. p<0.05*).

ACh (log doz)	CPE					
	Kontrol	0.125 mg/ml	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml	2 mg/ml
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
10⁻⁹ M	0.16±0.09 ^a	0.15±0.06 ^a	0.14±0.04 ^a	0.1±0.03 ^a	0.11±0.04 ^a	0.07±0.04 ^b
10⁻⁸ M	0.19±0.09 ^a	0.16±0.05 ^a	0.17±0.04 ^a	0.16±0.03 ^a	0.15±0.02 ^a	0.11±0.04 ^b
10⁻⁷ M	0.21±0.07 ^a	0.2±0.04 ^a	0.19±0.03 ^a	0.19±0.04 ^a	0.18±0.04 ^a	0.1±0.04 ^b
10⁻⁶ M	0.25±0.07 ^a	0.2±0.05 ^{ab}	0.2±0.6 ^{ab}	0.19±0.04 ^b	0.18±0.03 ^b	0.12±0.04 ^c
10⁻⁵ M	0.33±0.13 ^a	0.27±0.07 ^{ab}	0.24±0.07 ^b	0.23±0.05 ^{bc}	0.23±0.05 ^{bc}	0.19±0.05 ^c
10⁻⁴ M	0.87±0.28 ^a	0.63±0.04 ^a	0.51±0.04 ^b	0.42±0.07 ^{bc}	0.33±0.04 ^c	0.23±0.05 ^c
10⁻³ M	2.13±0.29 ^a	2.01±0.27 ^a	1.84±0.25 ^a	1.49±0.28 ^b	1.34±0.17 ^b	0.85±0.2 ^c

CPE'nin 0.125 mg/ml dozunun, ACh ile indüklenen kontraksiyonlar üzerine etkisinin istatistiksel öneme sahip olmadığı belirlendi (p>0.05, n=5). CPE'nin 0.25 mg/ml dozu 10⁻⁴ ve 10⁻⁵ M ACh cevaplarını sırasıyla % 41.37±4.93 ve % 27.27±11.21 azalttı (p<0.05, n=5). CPE'nin 0.5 mg/ml dozu 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ ve 10⁻³ M ACh cevaplarını sırasıyla; % 24±16, % 30.30±5.15, % 51.72±8.04 ve % 30.04±13.14 oranında azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5). CPE'nin 1 mg/ml dozu 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ ve 10⁻³ M ACh cevaplarını

sırasıyla; % 28±12, % 30.30±15.15, % 62.06±4.59 ve % 37.08±7.98 oranında azalttı (p<0.01, n=5). CPE'nin 2 mg/ml dozu 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ ve 10⁻³ M ACh cevaplarını sırasıyla; % 56.25±25, % 42.10±21.05, % 52.38±19.04, % 52±16, % 42.42±15.15, %73.56±5.74 ve % 60.09±9.38 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5, Tablo 4.1).

ACh'nın 10⁻⁹-10⁻³ M dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. CPE'nin 0.125, 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozlarının ACh ile indüklenmiş in vitro mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkileri incelendi. (Şekil 4.1).

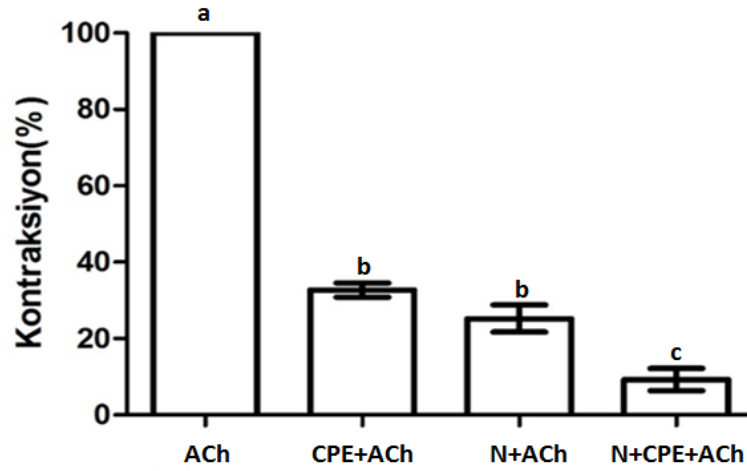


Şekil 4.1. 10⁻⁹-10⁻³ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkisi (p<0.05, n=5).

Tablo 4.2. CPE'nin farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	ACh	CPE 0,125mg/ml	CPE 0,25mg/ml	CPE 0,5mg/ml	CPE 1mg/ml	CPE 2mg/ml
Log EC50	0.0002645	0.0005184	0.0007854	0.0008084	0.001990	0.001146

CPE'nin 2mg/ml dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanal blokörü olan 10⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10⁻⁴ M ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. CPE'nin 2 mg/ml dozunun, 10⁻⁴ M ACh cevaplarını % 67.50±1.66 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5). 10⁻⁷ M Nifedipine 10⁻⁴ M ACh cevaplarını %75±3.33 oranında azalttı (p<0.01, n=5). 10⁻⁷ M Nifedipine varlığında 2 mg/ml CPE'nin 10⁻⁴ M ACh cevaplarını % 90.84±2.50 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5, Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. 10⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 2 mg/ml CPE'nin etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

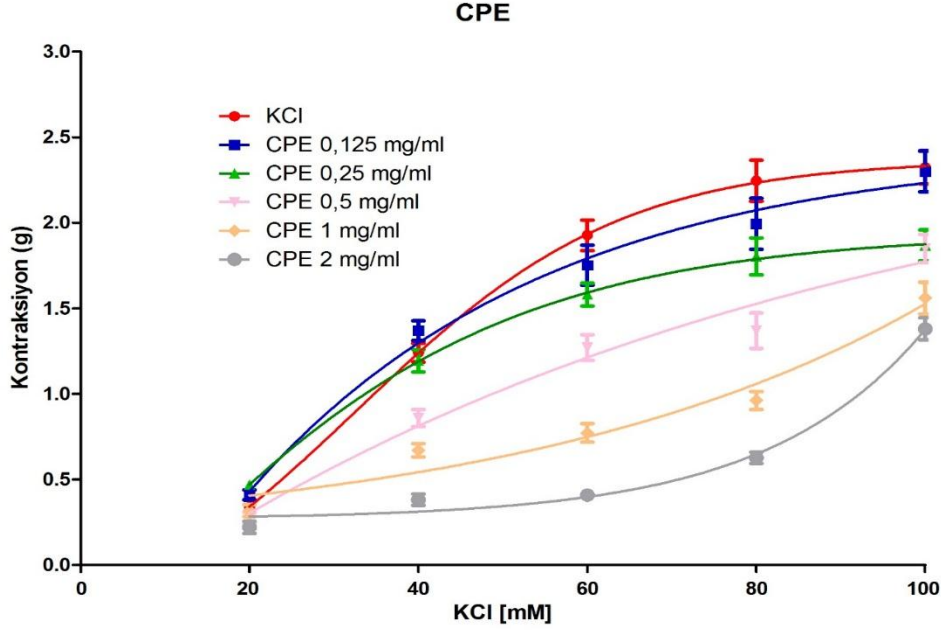
KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkileri Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'de sunulmuştur.

Tablo 4.3. CPE'nin KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda aynı harfi içermeyen değerler arasındaki fark anlamlıdır. (p<0.05*).

KCl	CPE					
	Kontrol	0,125 mg/ml	0,25 mg/ml	0,5 mg/ml	1 mg/ml	2 mg/ml
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
20 mM	0.34±0.01 ^a	0.41±0.1 ^{ab}	0.47±0.06 ^b	0.27±0.1 ^c	0.33±0.12 ^c	0.22±0.12 ^c
40 mM	1.24±0.19 ^a	1.37±0.2 ^a	1.19±0.22 ^a	0.85±0.17 ^b	0.67±0.13 ^{bc}	0.38±0.11 ^c
60 mM	1.92±0.3 ^a	1.75±0.4 ^a	1.58±0.23 ^{ab}	1.27±0.25 ^b	0.77±0.18 ^{bc}	0.4±0.08 ^c
80 mM	2.24±0.41 ^a	1.99±0.51 ^a	1.8±0.37 ^{ab}	1.37±0.35 ^{bc}	0.96±0.18 ^{cd}	0.62±0.11 ^d
100mM	2.32±0.33 ^a	2.3±0.41 ^a	1.86±0.31 ^b	1.85±0.28 ^b	1.56±0.31 ^{bc}	1.38±0.22 ^c

CPE'nin 0.125, 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozlarının, KCl ile indüklenmiş mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi. KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. CPE'nin 0,125 mg/ml dozunun KCl ile indüklenen kontraksiyonlar üzerine etkisinin istatistiksel öneme sahip olmadığı belirlendi (p>0.05, n=5). CPE'nin 0,25 mg/ml dozu 20 mM KCl cevaplarını % 38.23±17.64 artırırken (p<0.01, n=5), 100 mM KCl cevaplarını % 19.82±13.36 oranında azalttı (p<0.05, n=5). CPE'nin 0,5 mg/ml dozunun 40, 60, 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 31.45±13.70, % 33.85±13.02, % 38.83±15.62 ve % 20.25±12.06 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5). CPE'nin 1 mg/ml dozunun 40, 60, 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 45.96±10.48, % 59.89±9.37, % 57.14±8.03 ve % 32.75±13.36 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5). CPE'nin 2 mg/ml dozunun 20, 40, 60, 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 35.29±14.70, % 69.35±8.87, % 79.16±4.16, % 72.32±4.91 ve % 40.51±9.48 oranında azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5, Tablo 4.3).

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. CPE'nin 0.125, 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.3).



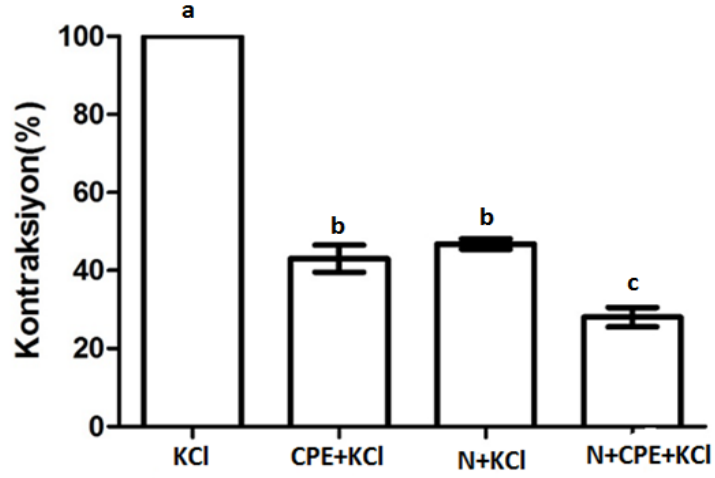
Şekil. 4.3. 20 -100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.4. CPE'nin farklı dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	KCl	CPE 0,125mg/ml	CPE 0,25mg/ml	CPE 0,5mg/ml	CPE 1mg/ml	CPE 2mg/ml
LogEC50	0.03283	~-0.1480	-7.845e-005	~-0.3681	~-0.4073	~-0.1974

CPE'nin 2mg/ml dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. CPE'nin 2 mg/ml dozunun 60 mM KCl cevaplarını % 57.14 ± 2.28 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 60 mM KCl cevaplarını % 53.14 ± 2.28 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M

Nifedipine varlığında 2 mg/ml CPE, 60 mM KCl cevaplarını % 72±1.71 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5, Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 2 mg/ml CPE'nin etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

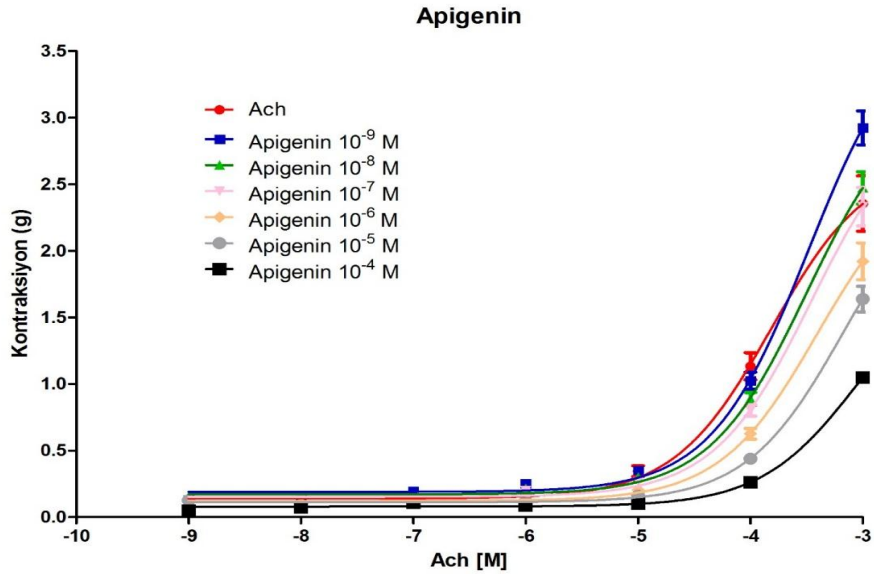
Apigenin grubunda, Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda ACh ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Apigenin'in etkilerinin araştırıldığı dört alt grup bulunmaktadır.

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Apigenin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.5 ve Şekil 4.5'de sunulmuştur.

Tablo 4.5. Apigenin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda aynı harfleri içermeyen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

ACh (log)	APIĞENİN						
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	10^{-9} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-8} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-7} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-6} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-5} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-4} M $\bar{X} \pm SD$
10^{-9} M	0.08±0.05 ^{ac}	0.13±0.07 ^b	0.14±0.06 ^b	0.11±0.04 ^{ab}	0.08±0.03 ^a	0.12±0.07 ^{ab}	0.04±0.02 ^c
10^{-8} M	0.11±0.04 ^a	0.15±0.02 ^b	0.14±0.02 ^{ab}	0.13±0.02 ^{ab}	0.1±0.03 ^{ac}	0.07±0.02 ^{cd}	0.07±0.05 ^{cd}
10^{-7} M	0.16±0.08 ^{ab}	0.2±0.07 ^a	0.16±0.05 ^{ab}	0.15±0.05 ^a	0.13±0.05 ^{bc}	0.12±0.03 ^{bc}	0.11±0.03 ^c
10^{-6} M	0.18±0.1 ^{ac}	0.25±0.06 ^b	0.21±0.05 ^b	0.19±0.05 ^{ab}	0.15±0.03 ^c	0.12±0.02 ^{cd}	0.09±0.02 ^d
10^{-5} M	0.35±0.15 ^a	0.35±0.12 ^a	0.3±0.1 ^a	0.26±0.09 ^{ab}	0.2±0.06 ^{bc}	0.16±0.05 ^{cd}	0.1±0.02 ^d
10^{-4} M	1.13±0.39 ^a	1.02±0.24 ^a	0.88±0.18 ^a	0.78±0.16 ^{ab}	0.62±0.15 ^{bc}	0.44±0.1 ^{cd}	0.26±0.05 ^d
10^{-3} M	2.35±0.77 ^{ac}	2.92±0.47 ^b	2.47±0.45 ^{ab}	2.33±0.53 ^{ac}	1.92±0.51 ^{cd}	1.63±0.35 ^d	1.04±0.12 ^c

Apigenin'in 10^{-9} - 10^{-4} M dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkileri incelendi. ACh'nin 10^{-9} - 10^{-3} M dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi (Şekil 4.5). Apigenin'in 10^{-9} M dozunun 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 62.5 ± 25.00 , % 36.36 ± 18.18 , % 38.88 ± 16.16 ve % 24.25 ± 20.00 oranında artırdığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$). Apigenin'in 10^{-8} M dozunun, 10^{-9} ve 10^{-6} M ACh cevaplarını sırasıyla % 75 ± 37.50 ve % 16.16 ± 5.55 artırdığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$). Apigenin'in 10^{-7} M dozunun ACh'nin farklı dozları ile indüklenen mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkisinin olmadığı belirlendi ($p > 0.05$, $n=5$). Apigenin'in 10^{-6} M dozu, 10^{-5} ve 10^{-4} M ACh cevaplarını sırasıyla % 42.85 ± 22.85 ve % 45.13 ± 14.15 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). Apigenin'in 10^{-5} M dozunun ACh'nin 10^{-8} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 30 ± 18.18 , % 33.33 ± 22.20 , % 54.28 ± 11.41 , % 61.06 ± 9.73 ve % 30.63 ± 14.89 azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). Apigenin'in 10^{-4} M dozunun ise ACh'nin 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 30 ± 9.09 , % 31.25 ± 9.09 , % 50 ± 16.16 , % 71.42 ± 8.57 , % 76.99 ± 5.30 ve % 55.74 ± 5.10 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$, Tablo 4.5).

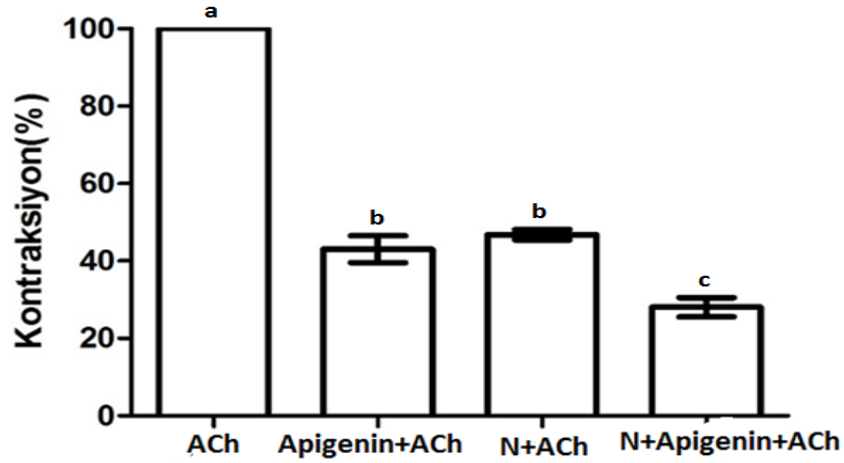


Şekil 4.5. 10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Apigenin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.6. Apigenin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	Ach	Apigenin 10 ⁻⁹ M	Apigenin 10 ⁻⁸ M	Apigenin 10 ⁻⁷ M	Apigenin 10 ⁻⁶ M	Apigenin 10 ⁻⁵ M	Apigenin 10 ⁻⁴ M
LogEC50	0.0001536	0.0003296	0.0003187	0.0003484	0.0003937	0.0006793	0.0009253

Apigenin'in 10⁻⁴ M dozunun, Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanal blokörü olan 10⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10⁻⁴ M ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Apigenin'in 10⁻⁴ M dozu, 10⁻⁴ M ACh cevaplarını % 30.46±17.18 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5). 10⁻⁷ M Nifedipine, 10⁻⁴ M ACh cevaplarını % 72.65±7.81 oranında azalttı (p<0.01, n=5). 10⁻⁷ M Nifedipine varlığında Apigenin 10⁻⁴ M ACh cevaplarını % 78.12±8.59 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5, Şekil 4.6).



Şekil 4.6. 10⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10⁻⁴ M Apigenin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

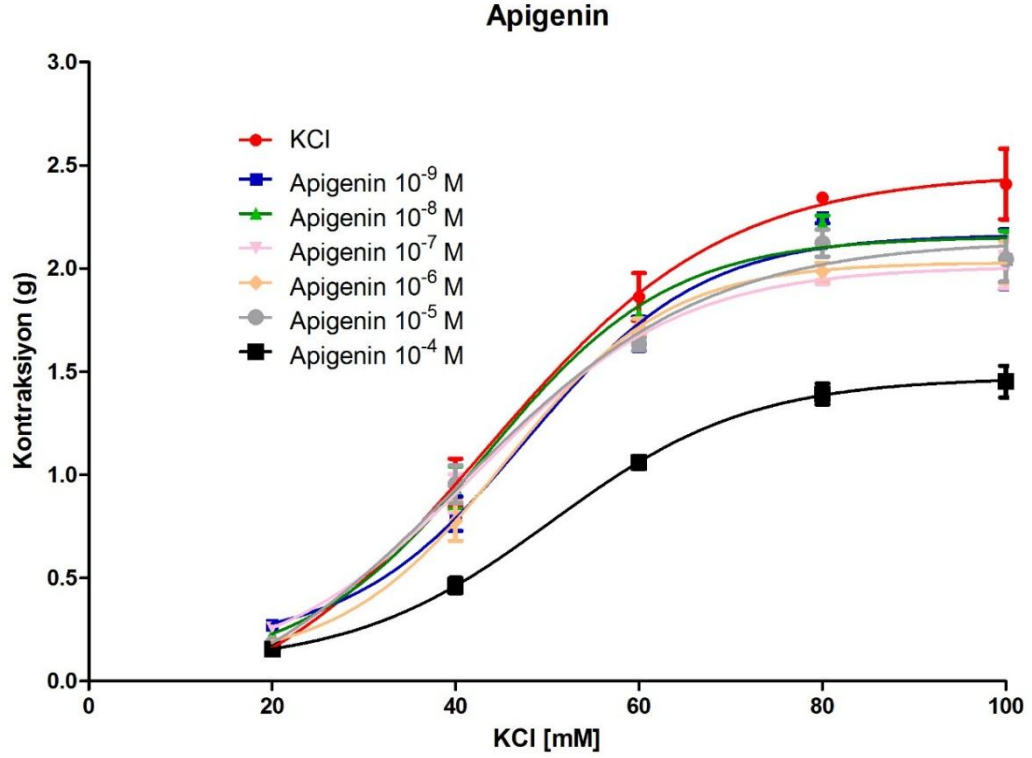
KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CPE'nin farklı dozlarının etkileri ve karşılaştırmaları Tablo 4.7 ve Şekil 4.7'de sunulmuştur

Tablo 4.7. Apigenin'in KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

KCl	APIGENİN						
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	10 ⁻⁹ M $\bar{X} \pm SD$	10 ⁻⁸ M $\bar{X} \pm SD$	10 ⁻⁷ M $\bar{X} \pm SD$	10 ⁻⁶ M $\bar{X} \pm SD$	10 ⁻⁵ M $\bar{X} \pm SD$	10 ⁻⁴ M $\bar{X} \pm SD$
20 mM	0.16±0.04 ^a	0.27±0.04 ^b	0.22±0.04 ^{bc}	0.25±0.05 ^b	0.19±0.06 ^{ac}	0.18±0.08 ^{ac}	0.15±0.04 ^{ac}
40 mM	0.96±0.4 ^a	0.81±0.28 ^a	0.93±0.06 ^a	0.91±0.33 ^a	0.77±0.33 ^a	0.95±0.31 ^a	0.46±0.12 ^b
60 mM	1.86±0.39 ^a	1.68±0.28 ^{ab}	1.77±0.08 ^a	1.66±0.05 ^b	1.71±0.13 ^{ab}	1.63±0.1 ^{bc}	1.06±0.11 ^d
80 mM	2.34±0.08 ^a	2.24±0.09 ^{ac}	2.22±0.11 ^{ac}	1.95±0.1 ^b	1.98±0.14 ^b	2.12±0.22 ^{cb}	1.39±0.17 ^d
100 mM	2.4±0.59 ^a	2.04±0.5 ^{ab}	2.05±0.42 ^{ab}	1.99±0.3 ^b	2.03±0.35 ^{ab}	2.04±0.37 ^{ab}	1.45±0.26 ^c

Apigenin'in 10⁻⁹ ve 10⁻⁸ M dozları, 20 mM KCl cevaplarını sırasıyla % 68.75±25.00 ve % 37.25±25.00 oranında artırdı (p<0.01, n=5). Apigenin'in 10⁻⁷ M dozunun 20 mM KCl cevaplarını % 56.25±31.25 artırdığı, 60, 80 ve 100 mM KCl cevaplarını ise sırasıyla % 10.75±2.68, % 16.66±4.27 ve % 17.08±12.50 oranında azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5). Apigenin'in 10⁻⁶ M dozu 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 15.38±5.98 ve % 15.41±14.58 azalttı (p<0.05, n=5). Apigenin'in 10⁻⁵ M dozunun 60 ve 80 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 12.36±5.37 ve % 9.40±7.40 azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5). Apigenin'in 10⁻⁴ M dozu ise KCl'nin 40, 60, 80 ve 100 mM dozlarının cevaplarını sırasıyla % 52.08±12.50, % 43.01±5.91, % 40.59±7.26 ve % 39.58±10.83 oranında azalttı (p<0.01, n=5, Tablo 4.7).

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Apigenin'in 10⁻⁹-10⁻⁴ M dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.7).

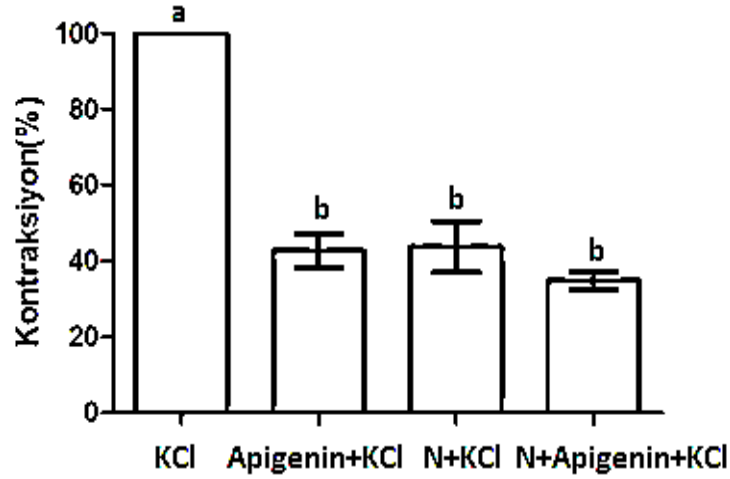


Şekil 4.7. 20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Apigenin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo. 4.8. Apigenin'in farklı dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	KCl	Apigenin 10 ⁻⁹ M	Apigenin 10 ⁻⁸ M	Apigenin 10 ⁻⁷ M	Apigenin 10 ⁻⁶ M	Apigenin 10 ⁻⁵ M	Apigenin 10 ⁻⁴ M
LogEC50	0.04315	0.04773	0.04331	0.04247	0.04533	0.04019	0.05045

Apigenin'in 10⁻⁴ M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanal blokörü olan 10⁻⁷ M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Apigenin'in 10⁻⁴ M dozunun, 60 mM KCl cevaplarını % 57.69±2,56 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10⁻⁷ M Nifedipine 60 mM KCl cevaplarını % 56.41±5.12 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10⁻⁷ M Nifedipine varlığında 10⁻⁴ M Apigenin, 60 mM KCl cevaplarını % 65.38±2.56 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.8).



Şekil 4.8. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mm KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10^{-4} M Apigenin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

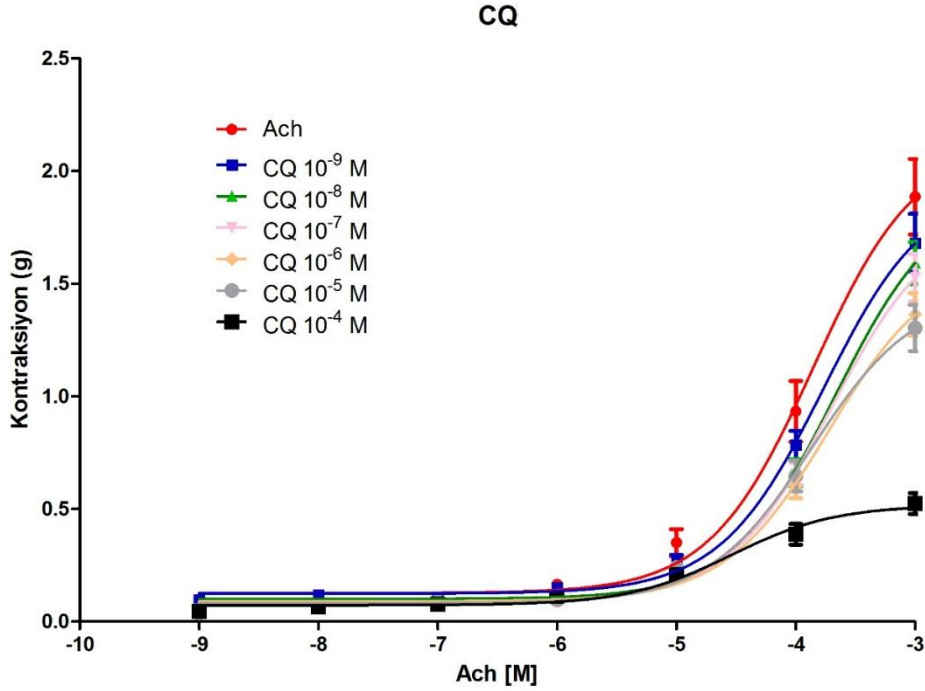
CQ grubunda, Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda ACh ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CQ'nun etkilerinin araştırıldığı dört alt grup bulunmaktadır.

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CQ'nun farklı dozlarının etkileri Tablo 4.9 ve Şekil 4.9'da sunulmuştur.

Tablo 4.9. CO'nun ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

ACh (log)	CQ						
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	10^{-8} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-7} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-6} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-5} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-4} M $\bar{X} \pm SD$	10^{-3} M $\bar{X} \pm SD$
10^{-9} M	0.07±0.04 ^{abc}	0.09±0.03 ^b	0.06±0.02 ^a	0.05±0.01 ^{ac}	0.05±0.02 ^{ac}	0.04±0.01 ^c	0.04±0.01 ^c
10^{-8} M	0.1±0.03 ^a	0.11±0.03 ^a	0.08±0.01 ^{ab}	0.07±0.02 ^b	0.07±0.02 ^b	0.06±0.02 ^b	0.06±0.02 ^b
10^{-7} M	0.1±0.03 ^a	0.1±0.04 ^a	0.1±0.02 ^a	0.11±0.03 ^a	0.09±0.03 ^{ab}	0.08±0.02 ^{ab}	0.07±0.02 ^b
10^{-6} M	0.16±0.05 ^a	0.15±0.03 ^a	0.1±0.02 ^b	0.1±0.02 ^b	0.1±0.03 ^b	0.09±0.02 ^b	0.11±0.02 ^b
10^{-5} M	0.35±0.02 ^a	0.27±0.1 ^a	0.24±0.07 ^a	0.2±0.07 ^b	0.22±0.08 ^{ab}	0.24±0.06 ^{ab}	0.2±0.05 ^b
10^{-4} M	0.93±0.5 ^a	0.78±0.24 ^a	0.66±0.23 ^a	0.65±0.18 ^a	0.6±0.2 ^a	0.64±0.26 ^a	0.38±0.17 ^b
10^{-3} M	1.88±0.62 ^a	1.68±0.48 ^a	1.59±0.34 ^{ab}	1.52±0.39 ^{abc}	1.36±0.35 ^{bc}	1.3±0.38 ^c	0.52±0.17 ^d

CQ'nun 10^{-8} - 10^{-3} M dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi. ACh'nin 10^{-9} - 10^{-3} M dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi (Şekil 4.9.). CQ'nun 10^{-8} M dozunun ACh ile indüklenen kontraksiyon cevaplarını değiştirmediği belirlendi ($p>0.05$, $n=5$). CQ'nun 10^{-7} M dozunun 10^{-6} M ACh cevaplarını % 39.75 ± 12.04 oranında azalttığı belirlendi ($p<0.01$, $n=5$). CQ'nun 10^{-6} M dozunun ACh'nin 10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarının cevaplarını sırasıyla % 30 ± 20.00 , % 39.75 ± 12.04 ve % 42.85 ± 20.00 azalttığı belirlendi ($p<0.01$, $n=5$). CQ'nun 10^{-5} M dozu ACh'nin 10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 30 ± 20.00 , % 39.75 ± 18.07 ve % 27.65 ± 18.61 azalttı ($p<0.05$, $n=5$). CQ'nun 10^{-4} M dozunun ACh'nin 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 42.85 ± 14.28 , % 40.00 ± 20.00 , % 23.07 ± 19.23 , % 31.42 ± 17.14 ve % 30.85 ± 20.21 oranında azalttığı belirlendi ($p<0.05$, $n=5$). CQ'nun 10^{-3} M dozunun ise ACh'nin 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 42.85 ± 14.28 , % 40.00 ± 20.00 , % 32.69 ± 19.23 , % 32.73 ± 12.04 , % 42.85 ± 14.28 , % 59.13 ± 18.27 ve % 72.34 ± 9.04 azalttığı belirlendi ($p<0.05$, $n=5$, Tablo 4.9).

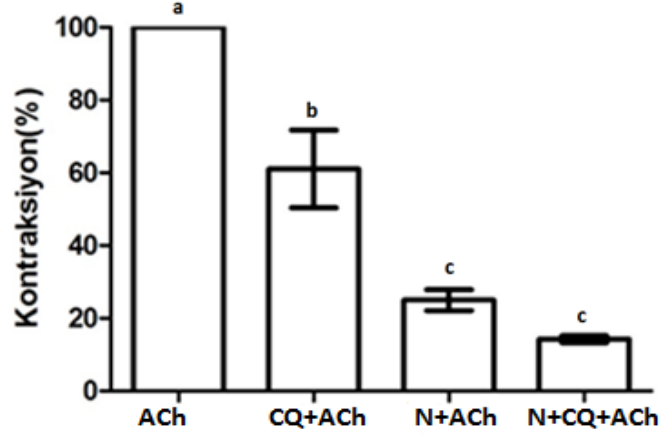


Şekil 4.9. 10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CQ'nun farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n = 5$)

Tablo 4.10. CQ'nun farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	ACh	CQ 10^{-8} M	CQ 10^{-7} M	CQ 10^{-6} M	CQ 10^{-5} M	CQ 10^{-4} M	CQ 10^{-3} M
LogEC50	0.0001401	0.0001715	0.0002164	0.0001991	0.0001891	0.0001378	2.877e-005

CQ'nun 10^{-3} M dozunun, Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. CQ'nun 10^{-3} M dozu, 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 39.59 \pm 5.36$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n = 5$). 10^{-7} M Nifedipine 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 75.16 \pm 5.36$ oranında azalttı ($p < 0.01$, $n = 5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında CQ'nun, 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 85.90 \pm 4.76$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n = 5$, Şekil 4.10).



Şekil 4.10. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10^{-3} M CQ'nun etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CQ'nun farklı dozlarının etkileri ve karşılaştırmaları Tablo 4.11 ve Şekil 4.11.'de sunulmuştur.

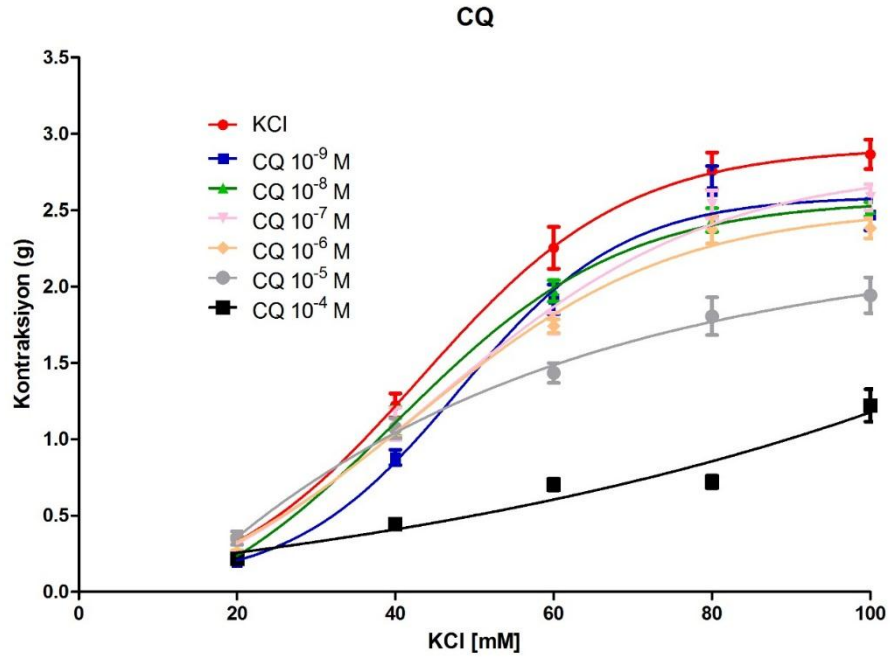
Tablo 4.11. CQ'nun KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

KCl	CQ						
	Kontrol	10^{-8} M	10^{-7} M	10^{-6} M	10^{-5} M	10^{-4} M	10^{-3} M
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
20 mM	0.33±0.1 ^a	0.19±0.1 ^b	0.23±0.1 ^b	0.3±0.12 ^{ab}	0.32±0.16 ^a	0.35±0.15 ^a	0.21±0.09 ^b
40 mM	1.22±0.27 ^a	0.88±0.17 ^b	1.11±0.32 ^a	1.1±0.36 ^{ab}	1.07±0.2 ^{ab}	1.07±0.22 ^{ab}	0.44±0.07 ^c
60 mM	2.25±0.47 ^a	1.91±0.33 ^a	1.97±0.24 ^a	1.76±0.23 ^b	1.74±0.15 ^b	1.43±0.22 ^{bc}	0.7±0.13 ^c
80 mM	2.75±0.42 ^a	2.62±0.57 ^a	2.43±0.27 ^a	2.53±0.32 ^{ab}	2.37±0.31 ^{bc}	1.8±0.42 ^{cd}	0.72±0.14 ^d
100 mM	2.86±0.33 ^a	2.47±0.35 ^{bc}	2.5±0.16 ^{ab}	2.58±0.29 ^{ab}	2.38±0.22 ^c	1.94±0.4 ^{cd}	1.22±0.36 ^d

CQ'nun 10^{-8} M dozunun 20 ve 40 mM KCl cevaplarını sırasıyla % 42.42±10.30 ve % 27.86±13.19 azalttığı görüldü ($p < 0.01$, n=5). CQ'nun 10^{-7} M dozu 20 mM KCl cevaplarını % 30.30±5.15 azalttı ($p < 0.05$, n=5). CQ'nun 10^{-6} M dozunun 60 mM KCl cevaplarını % 21.77± 10.22 azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, n=5). CQ'nun 10^{-5} M dozunun 60, 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 22.66±6.66, % 13.81±11.27 ve % 16.78±7.69 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, n=5). CQ'nun 10^{-4} M dozu 60, 80 ve

100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 36.44±9.77, % 34.54±15.27 ve % 32.16±13.98 azalttı ($p<0.01$, $n=5$). CQ'nun 10^{-3} M dozunun ise KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozlarının cevaplarını sırasıyla % 36.36±27.27, % 63.93±5.73, % 68.88±5.77, % 73.81±5.09 ve % 57.34±12.58 oranında azalttığı belirlendi ($p<0.05$, $n=5$, Tablo 4.11).

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. CQ'nun 10^{-8} - 10^{-3} M dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.11).

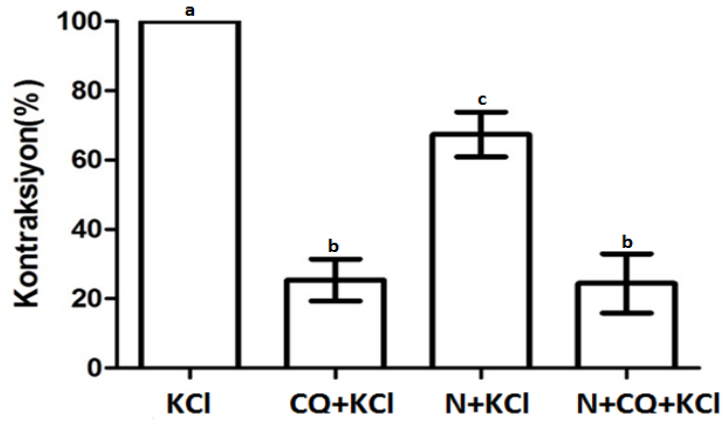


Şekil 4.11. 20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine CQ'nun farklı dozlarının etkisi ($p<0.05$, $n=5$).

Tablo 4.12. CQ'nun farklı dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	KCl	CQ 10^{-9} M	CQ 10^{-8} M	CQ 10^{-7} M	CQ 10^{-6} M	CQ 10^{-5} M	CQ 10^{-4} M
LogEC50	0.04323	0.04799	0.04023	0.04426	0.04259	~-0.1469	~-0.5128

CQ'nun 10^{-3} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. CQ'nun 10^{-3} M dozunun, 60 mM KCl cevaplarını % 74.43 ± 6.76 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 60 mM KCl cevaplarını % 33.08 ± 6.01 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında 10^{-3} M CQ'nun, 60 mM KCl cevaplarını % 75.93 ± 6.76 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.12).



Şekil 4.12. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 10^{-3} M CQ'nun etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

Luteolin grubunda, Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda ACh ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Luteolin'in etkilerinin araştırıldığı dört alt grup bulunmaktadır.

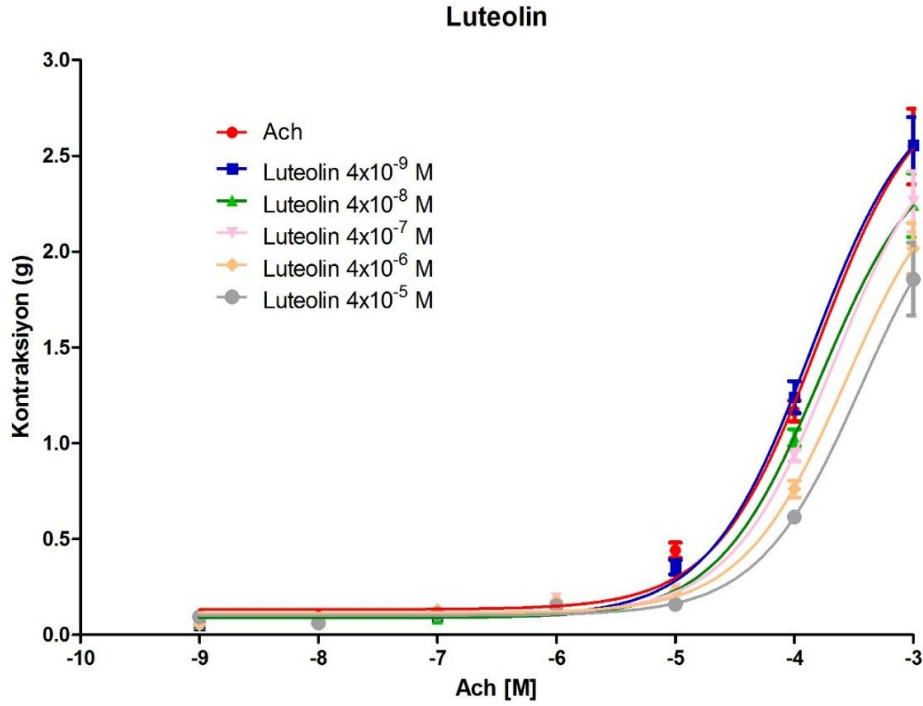
ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Luteolin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.13 ve Şekil 4.7'de sunulmuştur.

Tablo 4.13. Luteolin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

ACh (log)	LUTEOLİN					
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	4×10^{-9} M $\bar{X} \pm SD$	4×10^{-8} M $\bar{X} \pm SD$	4×10^{-7} M $\bar{X} \pm SD$	4×10^{-6} M $\bar{X} \pm SD$	4×10^{-5} M $\bar{X} \pm SD$
10^{-9} M	0.07±0.05 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.02 ^a	0.05±0.02 ^a	0.09±0.01 ^b
10^{-8} M	0.09±0.05 ^a	0.07±0.02 ^{abc}	0.07±0.01 ^{bc}	0.07±0.02 ^{abc}	0.08±0.02 ^{ab}	0.06±0.02 ^c
10^{-7} M	0.1±0.05 ^{abc}	0.09±0.03 ^{ac}	0.08±0.02 ^a	0.1±0.03 ^{abc}	0.13±0.04 ^b	0.11±0.02 ^{bc}
10^{-6} M	0.15±0.04 ^a	0.13±0.02 ^b	0.15±0.02 ^{ab}	0.19±0.02 ^c	0.17±0.03 ^{ac}	0.15±0.03 ^{ab}
10^{-5} M	0.42±0.15 ^a	0.35±0.14 ^a	0.24±0.1 ^b	0.24±0.08 ^b	0.23±0.07 ^b	0.15±0.03 ^c
10^{-4} M	1.16±0.2 ^a	1.24±0.32 ^a	1.02±0.16 ^{ab}	0.93±0.12 ^b	0.76±0.17 ^c	0.61±0.07 ^c
10^{-3} M	2.51±0.78 ^a	2.56±0.57 ^a	2.37±0.58 ^{ab}	2.28±0.64 ^{ab}	1.96±0.44 ^b	1.94±0.19 ^b

Luteolin'in 4×10^{-9} M dozunun 10^{-6} M ACh cevaplarını % 13.13 ± 3.13 azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-8} M dozu 10^{-8} ve 10^{-5} M ACh cevaplarını sırasıyla % 22.22 ± 11.11 ve % 42.85 ± 23.80 azalttı ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-7} M dozunun 10^{-6} M ACh cevaplarını % 26.26 ± 13.13 artırdığı, 10^{-4} M ACh cevaplarını ise % 19.82 ± 10.34 azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-6} M dozu, ACh'nin 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 45.23 ± 16.16 , % 34.48 ± 14.65 ve % 21.91 ± 17.52 azalttığı görüldü ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-5} M dozunun ise ACh'nin 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 28.57 ± 14.28 , % 33.33 ± 22.22 , % 64.28 ± 7.14 , % 47.41 ± 6.03 ve % 22.70 ± 7.56 azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$, Tablo 4.13).

ACh'nin 10^{-9} - 10^{-3} M dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Luteolin'in 4×10^{-9} - 4×10^{-5} M dozlarının, ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.13).

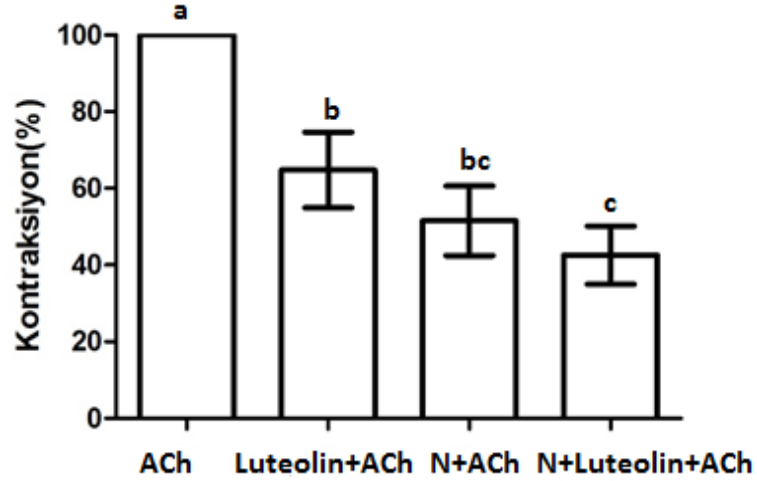


Şekil 4.13. 10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Luteolin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.14. Luteolin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	Ach	Luteolin 10^{-9} M	Luteolin 10^{-8} M	Luteolin 10^{-7} M	Luteolin 10^{-6} M	Luteolin 10^{-5} M
Log EC50	0.0001605	0.0001402	0.0001656	0.0002126	0.0002695	0.0003684

Luteolin'in 4×10^{-5} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Luteolin'in 4×10^{-5} M dozunun, 10^{-4} M ACh cevaplarını % 35.63 ± 5.74 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 10^{-4} M ACh cevaplarını % 48.27 ± 8.04 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında 4×10^{-5} M Luteolin'in, 10^{-4} M ACh cevaplarını % 54.02 ± 4.59 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.14).



Şekil 4.14. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 4×10^{-5} M Luteolin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

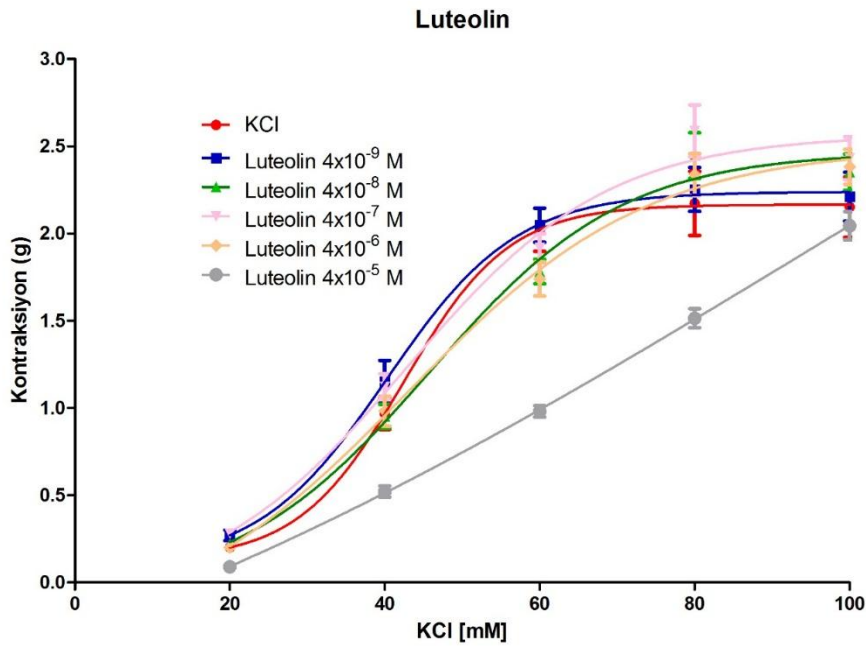
KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Luteolin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.15 ve Şekil 4.15'de sunulmuştur.

Tablo 4.15. Luteolin'in KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

KCl	LUTEOLİN					
	Kontrol	4×10^{-9} M	4×10^{-8} M	4×10^{-7} M	4×10^{-6} M	4×10^{-5} M
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
20 mM	0.2 ± 0.08^a	0.27 ± 0.1^{ab}	0.22 ± 0.09^{ab}	0.28 ± 0.07^b	0.2 ± 0.05^a	0.09 ± 0.05^c
40 mM	0.96 ± 0.31^a	1.15 ± 0.42^a	0.95 ± 0.23^a	1.12 ± 0.25^a	0.98 ± 0.29^a	0.52 ± 0.11^b
60 mM	2.02 ± 0.42^a	2.04 ± 0.33^a	1.78 ± 0.24^b	1.91 ± 0.28^a	1.73 ± 0.33^b	0.98 ± 0.11^c
80 mM	2.17 ± 0.63^a	2.25 ± 0.43^a	2.44 ± 0.45^b	2.58 ± 0.51^b	2.33 ± 0.41^{ab}	1.51 ± 0.18^c
100 mM	2.15 ± 0.59^{ab}	2.21 ± 0.48^{abc}	2.35 ± 0.35^{ac}	2.43 ± 0.42^c	2.38 ± 0.34^c	2.04 ± 0.28^b

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Luteolin'in 4×10^{-9} - 4×10^{-5} M dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.15). Luteolin'in 4×10^{-9} M dozunun KCl dozlarının cevaplarını değiştirmedeği belirlendi ($p > 0.05$, n=5).

Luteolin'in 4×10^{-8} M dozunun 80 mM KCl cevaplarını $\% 12.44 \pm 9.67$ artırdığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-7} M dozu 20, 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; $\% 40 \pm 25$, $\% 18.89 \pm 9.21$ ve $\% 13.02 \pm 19.53$ artırdı ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-6} M dozunun 100 mM KCl cevaplarını $\% 10.69 \pm 15.66$ artırdığı görüldü ($p < 0.05$, $n=5$). Luteolin'in 4×10^{-5} M dozunun ise 20, 40, 60 ve 80 mM KCl'nin cevaplarını sırasıyla; $\% 55 \pm 25$, $\% 45.83 \pm 11.45$, $\% 51.48 \pm 5.44$ ve $\% 30.41 \pm 8.29$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$, Tablo 4.15).



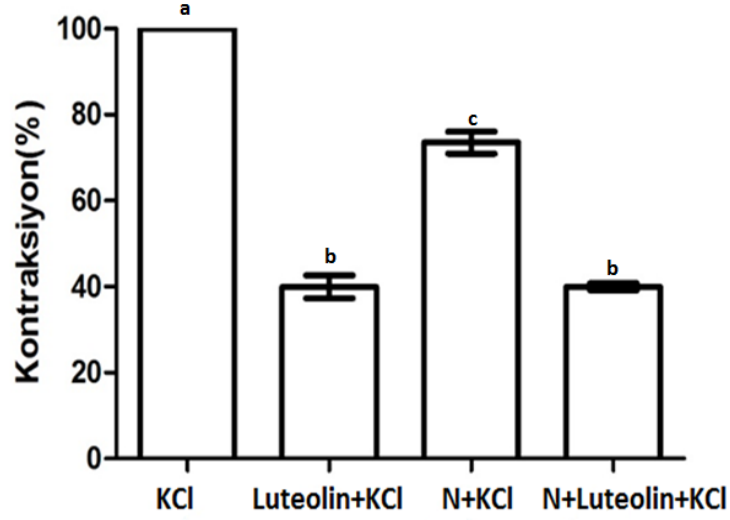
Şekil 4.15. 20-100 Mm KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Luteolin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.16. Luteolin'in farklı dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	KCl	Luteolin 4×10^{-9} M	Luteolin 4×10^{-8} M	Luteolin 4×10^{-7} M	Luteolin 4×10^{-6} M	Luteolin 4×10^{-5} M
LogEC50	0.04242	0.04029	0.04579	0.04281	0.04296	~ 0.09454

Luteolin'in 4×10^{-5} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Luteolin'in 4×10^{-5} M

dozunun, 60 mM KCl cevaplarını % 60 ± 2.75 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 10^{-4} M KCl cevaplarını % 28.57 ± 4.13 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında 10^{-3} M CQ'nun, 60 mM KCl cevaplarını % 60 ± 2.06 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.16).



Şekil 4.16. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 4×10^{-5} M Luteolin'in etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

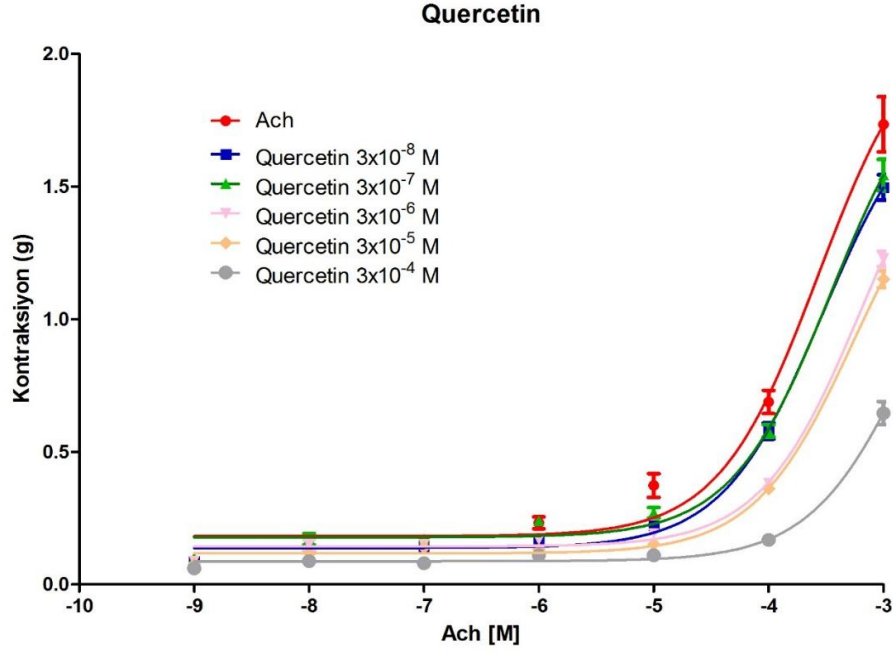
Quercetin grubunda, Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda ACh ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Quercetin'in etkilerinin araştırıldığı dört alt grup bulunmaktadır.

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Quercetin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.17 ve Şekil 4.17'de sunulmuştur.

Tablo 4.17. Quercetin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

ACh (log)	QUERCETİN					
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-8} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-7} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-6} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-5} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-4} M $\bar{X} \pm SD$
10^{-9} M	0.08±0.06 ^a	0.09±0.05 ^a	0.1±0.06 ^a	0.08±0.04 ^a	0.07±0.03 ^a	0.06±0.03 ^a
10^{-8} M	0.15±0.08 ^a	0.13±0.06 ^a	0.17±0.08 ^a	0.15±0.07 ^a	0.11±0.03 ^a	0.08±0.04 ^a
10^{-7} M	0.16±0.06 ^a	0.14±0.06 ^{ab}	0.17±0.06 ^a	0.15±0.06 ^{ab}	0.14±0.04 ^{ab}	0.08±0.02 ^b
10^{-6} M	0.23±0.08 ^a	0.17±0.02 ^b	0.24±0.03 ^a	0.16±0.03 ^b	0.13±0.02 ^{bc}	0.11±0.02 ^c
10^{-5} M	0.37±0.17 ^a	0.22±0.07 ^{bc}	0.27±0.07 ^b	0.19±0.03 ^{bcd}	0.15±0.03 ^{cd}	0.11±0.03 ^d
10^{-4} M	0.68±0.16 ^a	0.57±0.07 ^b	0.57±0.09 ^b	0.38±0.06 ^c	0.36±0.03 ^c	0.16±0.03 ^d
10^{-3} M	1.73±0.4 ^a	1.49±0.18 ^a	1.54±0.22 ^a	1.22±0.1 ^b	1.15±0.12 ^b	0.64±0.16 ^c

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Quercetin'in 3×10^{-8} - 3×10^{-4} M dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.17). Quercetin'in 3×10^{-8} M dozunun 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 26.08±5.78, % 40.54±18.91 ve % 16.17±10.29 azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5). Quercetin'in 3×10^{-7} M dozu 10^{-5} ve 10^{-4} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 27.02±18.91 ve % 16.17±13.23 azalttı (p<0.05, n=5). Quercetin'in 3×10^{-6} M dozunun 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 30.43±13.04, % 48.64±8.10, % 44.11±12.50 ve % 29.47±5.78 oranında azalttığı görüldü (p<0.05, n=5). Quercetin'in 3×10^{-5} M dozu 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 30.43±13.04, % 48.64±8.10, % 44.11±8.82 ve % 28.65±5.78 azalttı (p<0.05, n=5). Quercetin'in 3×10^{-4} M dozunun ACh'nın 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının cevaplarını sırasıyla sırasıyla; % 52.17±8.69, % 70.27±8.10, % 76.47±4.41 ve % 63.01±9.24 azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5, Tablo 4.17).

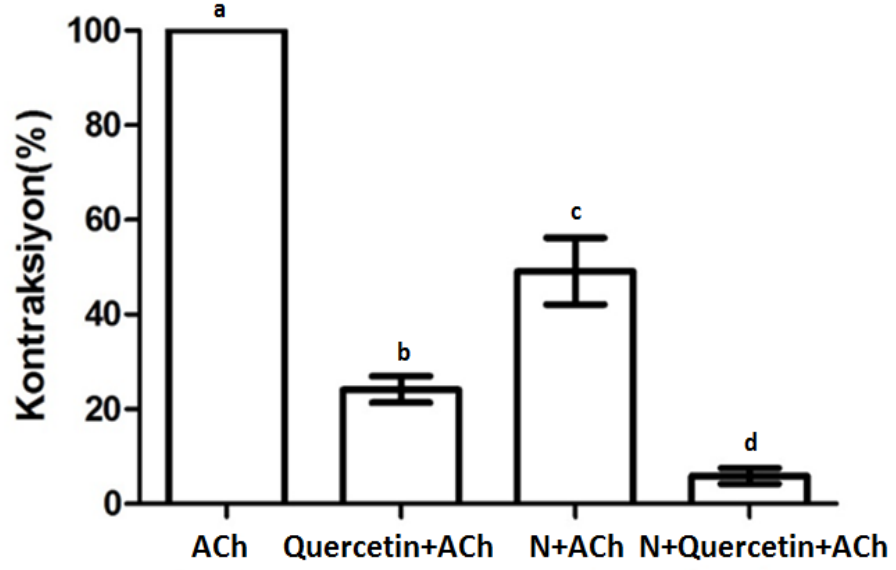


Şekil 4.17. 10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Quercetin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.18. Quercetin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	ACh	Quercetin 3×10^{-8} M	Quercetin 3×10^{-7} M	Quercetin 3×10^{-6} M	Quercetin 3×10^{-5} M	Quercetin 3×10^{-4} M
Log EC50	0.0002719	0.0002935	0.0003499	0.0006264	0.0005584	0.001769

Quercetin'in 3×10^{-4} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Quercetin'in 3×10^{-4} M dozunun, 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 75.86 \pm 2.75$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 50.34 \pm 11.03$ oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında 3×10^{-4} M Quercetin'in, 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 94.48 \pm 1.38$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.18).



Şekil 4.18. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3×10^{-4} M Quercetin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

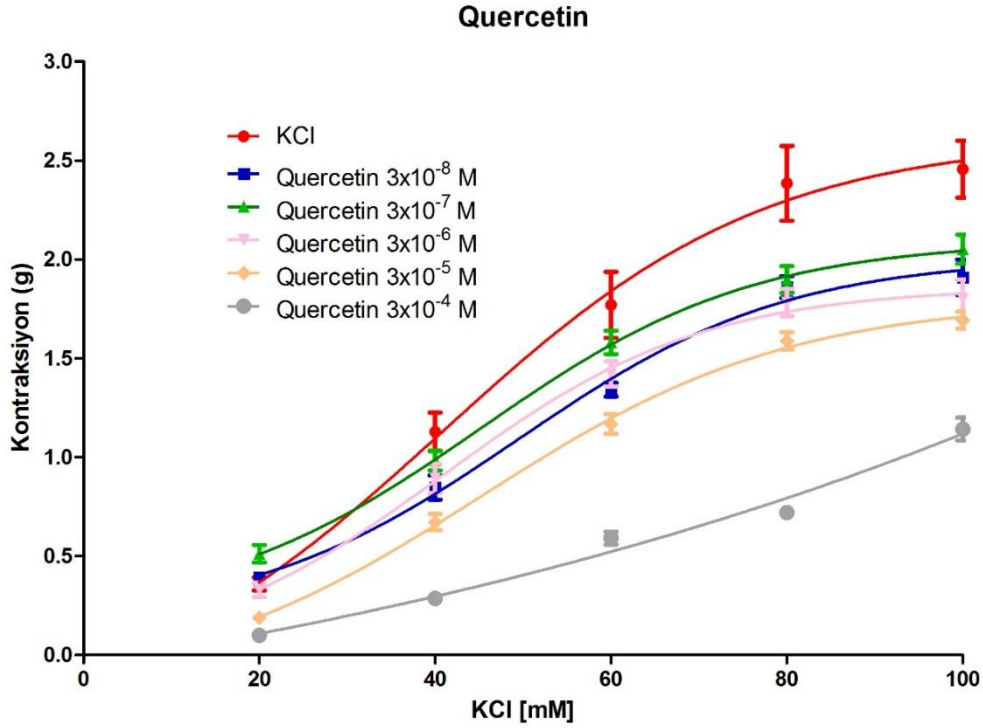
KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Quercetin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.19 ve Şekil 4.19'da sunulmuştur.

Tablo 4.19. Quercetin'in KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

KCl	QUERCETİN					
	Kontrol	3×10^{-8} M	3×10^{-7} M	3×10^{-6} M	3×10^{-5} M	3×10^{-4} M
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
20 mM	0.36±0.11 ^a	0.39±0.09 ^{ab}	0.51±0.06 ^b	0.32±0.12 ^a	0.18±0.06 ^c	0.1±0.06 ^c
40 mM	1.12±0.33 ^a	0.84±0.21 ^{ab}	0.98±0.17 ^a	0.89±0.25 ^a	0.67±0.14 ^b	0.28±0.07 ^c
60 mM	1.77±0.58 ^a	1.34±0.12 ^{bc}	1.58±0.2 ^a	1.42±0.22 ^{ab}	1.16±0.16 ^c	0.59±0.11 ^d
80 mM	2.38±0.65 ^a	1.86±0.19 ^{ab}	1.89±0.23 ^{ab}	1.78±0.24 ^b	1.58±0.15 ^b	0.72±0.07 ^c
100 mM	2.45±0.5 ^a	1.91±0.3 ^{bc}	2.05±0.25 ^{ab}	1.8±0.33 ^{bc}	1.69±0.14 ^c	1.14±0.19 ^d

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Quercetin'in 3×10^{-8} - 3×10^{-4} M dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.19). Quercetin'in 3×10^{-8} M dozunun 60 ve 100 mM KCl'nin cevaplarını sırasıyla; % 24.29 ± 6.77 ve

%22.04±12.24 azalttığı belirlendi ($p<0.05$, $n=5$). Quercetin'in 3×10^{-7} M dozu 20 mM KCl cevabını % 41.66±16.66 artırdı ($p<0.05$, $n=5$). Quercetin'in 3×10^{-6} M dozunun 80 ve 100 mM KCl cevaplarını sırasıyla; % 25.21±10.08 ve % 26.53±13.46 azalttığı görüldü ($p<0.05$, $n=5$). Quercetin'in 3×10^{-5} M dozunun KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 50.00±16.16, % 40.17±12.50, % 34.46±9.03, % 33.61±6.30 ve % 31.02±5.71 azalttığı belirlendi ($p<0.01$, $n=12$). Quercetin'in 3×10^{-4} M dozu KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozlarının cevaplarını sırasıyla; % 72.22±16.16, % 75.00±6.25, % 66.66±6.21, % 69.74±2.94 ve % 53.46±7.75 azalttı ($p<0.01$, $n=5$, Tablo 4.19)

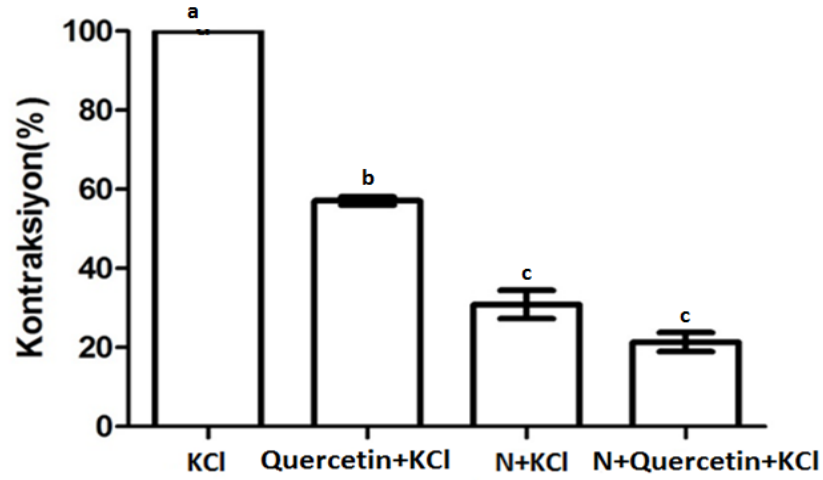


Şekil 4.19. 20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Quercetin'in farklı dozlarının etkisi ($p<0.05$, $n=5$).

Tablo 4.20. Quercetin'in farklı dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	KCl	Quercetin 3×10^{-8} M	Quercetin 3×10^{-7} M	Quercetin 3×10^{-6} M	Quercetin 3×10^{-5} M	Quercetin 3×10^{-4} M
LogEC50	0.04080	0.04946	0.04525	0.04097	0.04528	~ 0.5247

Quercetin'in 3×10^{-4} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Quercetin'in 3×10^{-4} M dozunun, 60 mM KCl cevaplarını % 42.50 ± 3.75 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 10^{-4} M KCl cevaplarını % 38.75 ± 5.00 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında 3×10^{-4} M Quercetin, 60 mM KCl cevaplarını % 78.75 ± 2.50 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.20).



Şekil 4.20. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3×10^{-4} M Quercetin'in etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

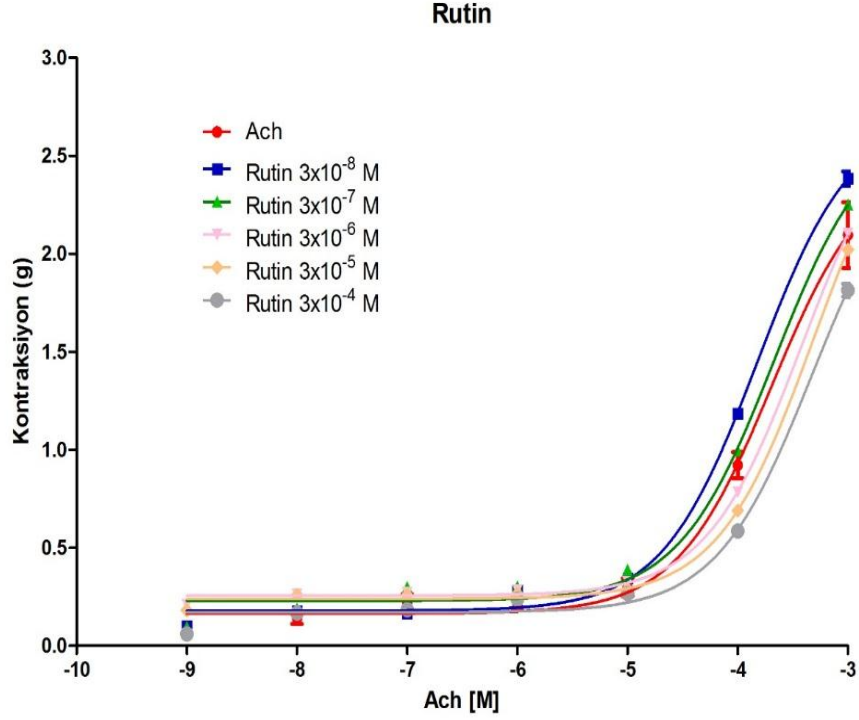
Rutin grubunda, Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda ACh ve KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Rutin'in etkilerinin araştırıldığı dört alt grup bulunmaktadır.

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Rutin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.21 ve Şekil 4.21'de sunulmuştur.

Tablo 4.21. Rutin'in ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. P<0.05*).

ACh (log)	RUTİN					
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-8} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-7} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-6} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-5} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-4} M $\bar{X} \pm SD$
10^{-9} M	0.07±0.03 ^a	0.1±0.02 ^a	0.1±0.01 ^a	0.21±0.04 ^b	0.18±0.03 ^b	0.06±0.01 ^a
10^{-8} M	0.14±0.11 ^a	0.17±0.03 ^{ab}	0.19±0.03 ^{bc}	0.26±0.05 ^c	0.26±0.04 ^c	0.16±0.01 ^a
10^{-7} M	0.22±0.16 ^a	0.16±0.03 ^a	0.3±0.04 ^b	0.27±0.03 ^b	0.26±0.04 ^b	0.18±0.03 ^a
10^{-6} M	0.21±0.12 ^a	0.28±0.03 ^b	0.3±0.04 ^b	0.28±0.03 ^b	0.26±0.03 ^{ab}	0.23±0.04 ^a
10^{-5} M	0.29±0.17 ^a	0.34±0.05 ^{ab}	0.39±0.04 ^b	0.32±0.03 ^a	0.29±0.03 ^a	0.26±0.03 ^a
10^{-4} M	0.92±0.25 ^a	1.18±0.07 ^b	0.99±0.08 ^a	0.78±0.09 ^{ac}	0.69±0.09 ^{cd}	0.58±0.08 ^d
10^{-3} M	2.09±0.65 ^a	2.38±0.13 ^b	2.25±0.07 ^b	2.1±0.09 ^a	2.02±0.1 ^a	1.81±0.12 ^c

ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Rutin'in 3×10^{-8} - 3×10^{-4} M dozlarının ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.21). Rutin'in 3×10^{-8} M dozunun 10^{-6} , 10^{-4} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 33.33±14.28, % 28.26±7.60 ve % 13.87±6.22 artırdığı belirlendi (p<0.01, n=5). Rutin'in 3×10^{-7} M dozu ise 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 35.71±21.42, % 36.36±18.18, % 42.85±19.04, % 34.48±13.79 ve % 7.65±3.34 artırdı (p<0.05, n=5). Rutin'in 3×10^{-6} M dozunun 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 300±57.14, % 85.71±35.71, % 22.72±13.63 ve % 33.33±14.28 artırdığı görüldü (p<0.01, n=5). Rutin'in 3×10^{-5} M dozu 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} M ACh'nın cevaplarını sırasıyla; % 257.14±42.85, % 85.71±28.57 ve % 18.18±9.09 artırırken, 10^{-4} M ACh'nın cevabını % 25±9.78 azalttığı belirlendi (p<0.05, n=5). Rutin'in 3×10^{-4} M dozunun ise 10^{-4} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını sırasıyla; % 36.95±8.69 ve % 13.39±5.74 oranında azalttığı belirlendi (p<0.01, n=5, Tablo 4.21).

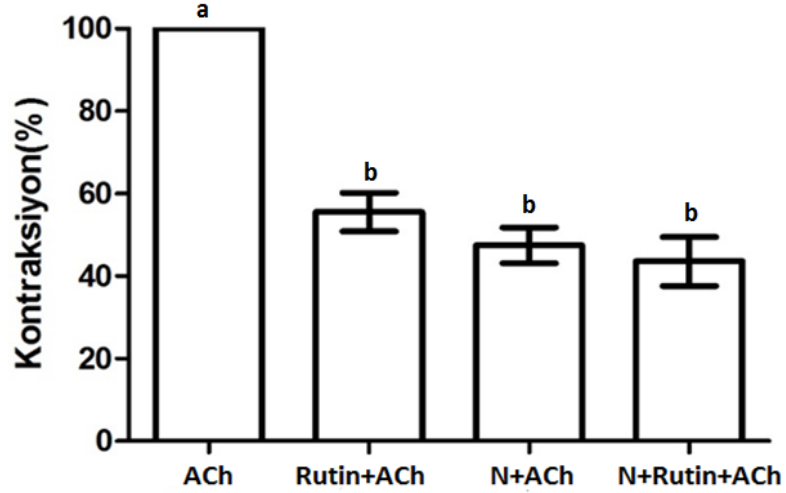


Şekil 4.21. 10^{-9} - 10^{-3} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine Rutin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.22. Rutin'in farklı dozlarının ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	ACh	Rutin 3×10^{-8} M	Rutin 3×10^{-7} M	Rutin 3×10^{-6} M	Rutin 3×10^{-5} M	Rutin 3×10^{-4} M
LogEC50	0.0002042	0.0001507	0.0002145	0.0003806	0.0004880	0.0004726

Rutin'in 3×10^{-4} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Rutin'in 3×10^{-4} M dozunun, 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 44.56 \pm 7.60$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 53.26 \pm 5.43$ oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M Nifedipine varlığında 3×10^{-4} M Rutin'in, 10^{-4} M ACh cevaplarını $\% 56.52 \pm 7.60$ oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.22).



Şekil 4.22. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 10^{-4} M ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3×10^{-4} M Rutin'in etkisi (n=5, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

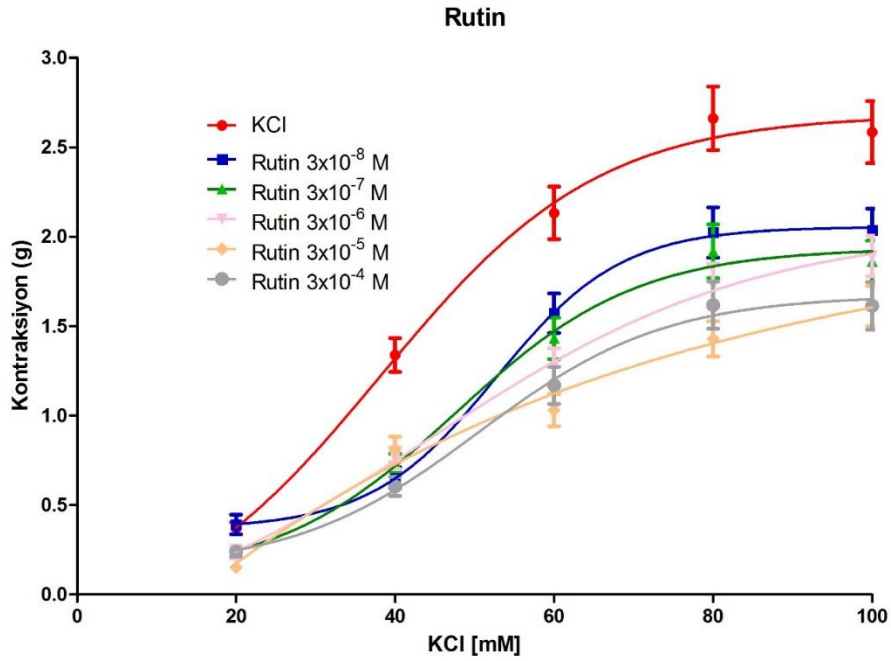
KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Rutin'in farklı dozlarının etkileri Tablo 4.23 ve Şekil 4.23'de sunulmuştur.

Tablo 4.23. Rutin'in KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkisi (n=5, Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

KCl	RUTİN					
	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-8} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-7} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-6} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-5} M $\bar{X} \pm SD$	3×10^{-4} M $\bar{X} \pm SD$
20 mM	0.37±0.11 ^a	0.39±0.18 ^a	0.23±0.09 ^b	0.23±0.12 ^{bc}	0.15±0.05 ^c	0.24±0.09 ^b
40 mM	1.33±0.32 ^a	0.65±0.2 ^b	0.73±0.17 ^{bc}	0.76±0.21 ^{bc}	0.81±0.24 ^c	0.6±0.18 ^b
60 mM	2.13±0.51 ^a	1.57±0.38 ^{ab}	1.43±0.39 ^{bd}	1.27±0.35 ^{bcd}	1.03±0.3 ^{cd}	1.17±0.35 ^d
80 mM	2.71±0.61 ^a	2.02±0.48 ^{ab}	1.91±0.51 ^{bd}	1.72±0.42 ^{bcd}	1.42±0.34 ^{cd}	1.61±0.45 ^d
100 mM	2.58±0.6 ^a	2.03±0.41 ^{ab}	1.86±0.38 ^{bc}	1.89±0.38 ^{bc}	1.61±0.38 ^c	1.61±0.46 ^c

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. Rutin'in 3×10^{-8} - 3×10^{-4} M dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.23). Rutin'in 3×10^{-8} M dozu 40 mM KCl'nin cevaplarını % 51.12 ± 15.03 azalttı ($p < 0.01$, n=5). Rutin'in 3×10^{-7} M dozunun 20, 40, 60, 80 ve 100 mM KCl'nin cevaplarını sırasıyla; % 37.83 ± 24.32 , % 45.11 ± 12.78 , % 32.86 ± 18.30 , % 29.52 ± 18.81 ve % 27.90 ± 15.50 azalttığı görüldü

($p < 0.05$, $n=5$). Rutin'in 3×10^{-6} M dozunun 20, 40, 60, 80 ve 100 mM KCl'nin cevaplarını sırasıyla; % 37.83 ± 32.43 , % 42.85 ± 15.78 , % 40.37 ± 16.43 , % 36.53 ± 15.49 ve % 26.74 ± 14.72 azalttığı görüldü ($p < 0.01$, $n=5$). Rutin'in 3×10^{-5} M dozu 20, 40, 60, 80 ve 100 mM KCl'nin cevaplarını sırasıyla; % 59.45 ± 13.51 , % 39.09 ± 18.04 , % 51.64 ± 14.08 , % 47.60 ± 12.54 ve % 37.59 ± 15.50 azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). Rutin'in 3×10^{-4} M 20, 40, 60, 80 ve 100 mM KCl'nin cevaplarını sırasıyla; % 35.13 ± 24.32 , % 54.88 ± 13.53 , % 45.07 ± 16.43 , % 40.59 ± 16.60 ve % 37.59 ± 17.82 azalttığı belirlendi ($p < 0.05$, $n=5$, Tablo 4.23.).

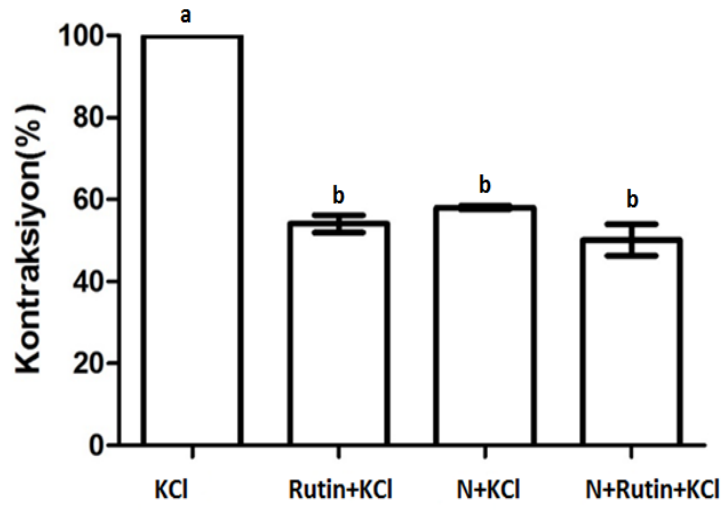


Şekil 4.23. 20-100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilitesi üzerine Rutin'in farklı dozlarının etkisi ($p < 0.05$, $n=5$).

Tablo 4.24. Rutin'in farklı dozlarının KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının EC50 değerleri.

	KCl	Rutin 3×10^{-8} M	Rutin 3×10^{-7} M	Rutin 3×10^{-6} M	Rutin 3×10^{-5} M	Rutin 3×10^{-4} M
LogEC50	0.03818	0.05268	0.04765	0.04404	~ -0.2593	0.05052

Rutin'in 3×10^{-4} M dozunun, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü olan 10^{-7} M Nifedipine varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri incelendi. Rutin'in 3×10^{-4} M dozunun, 60 mM KCl cevaplarını % 45.83 ± 3.33 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M nifedipin 10^{-4} M KCl cevaplarını % 41.46 ± 2.50 oranında azalttı ($p < 0.01$, $n=5$). 10^{-7} M nifedipin varlığında 10^{-3} M Rutin'in, 60 mM KCl cevaplarını % 50.00 ± 1.66 oranında azalttığı belirlendi ($p < 0.01$, $n=5$, Şekil 4.24).



Şekil 4.24. 10^{-7} M Nifedipine'nin varlığında ve yokluğunda 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonları üzerine 3×10^{-4} M Rutin'in etkisi ($n=5$, farklı harflerle ifade edilen sütunlar arasındaki fark anlamlıdır. $P < 0.05^*$).

5. TARTIŞMA

CPE alternatif tıp alanında yaygın olarak kullanılan çok yıllık bir bitki türüdür.⁵ Yapısında yüzden fazla biyolojik aktif bileşik bulunduğu rapor edilmiştir.⁶ Bu bitkinin biyoaktivitesi ile ilgili yapılan araştırmalarda CPE ekstraktlarının antimikrobiyal, antiflojistik ve hepatoprotektif aktivitelerinin olduğu ifade edilmiştir.⁷

Düz kaslarda yapılan çalışmalarda, CPE sulu ekstraktının doza bağımlı olarak in vitro ortamda fare ve insan midesi antrumunda düz kas kontraksiyonlarını indüklediği rapor edilmiştir.¹⁵ CPE'nin yapısında bulunan flavonoidlerin ileum üzerinde gevşetici etkisinin olduğu belirlenmiştir.^{16,17} Aynı zamanda bu flavonoid bileşiklerinin, izole kobay ileumunda Ca^{2+} 'un hücre içine akımını bloke etmesiyle spazmolitik etkili olduğu ifade edilmiştir.¹⁷

Yaptığımız bu çalışmada, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine CP metanol ekstraktı ve CP'nin beş farklı bileşiğinin muhtemel etkileri ve bu etkilerin hangi mekanizma üzerinden olduğu araştırıldı. Ayrıca in vitro rat mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine etkili olan CPE ve CP'nin biyolojik aktif bileşiklerinin etkin dozları da belirlenmeye çalışıldı.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine CPE'nin etkisi; Bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre, banyoda CPE'nin 0.125 mg/ml dozunun varlığı, KCl dozlarının cevaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı belirlendi. CPE'nin 0.25, 0.50, 1 ve 2 mg/ml dozlarının ise doza bağımlı olarak KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttıkları belirlenmiştir. CPE'nin farklı dozlarının KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azaltıcı etkisinin voltaja duyarlı

Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu düşünülmektedir. Çünkü düz kas kontraksiyonları KCl ile indüklendiği zaman ortamda K^+ yoğunluğunun artmasına bağlı olarak kas fiberlerinde depolarizasyon oluşur. Kas fiberlerinde meydana gelen depolarizasyon voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarının açılmasına sebep olur. Voltaja duyarlı Ca^{2+} kanallarının açılması aracılığı ile de ekstrasellüler alandan hücre içine Ca^{2+} girişi meydana gelmektedir.¹¹⁸ Ayrıca hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak hücre içi Ca^{2+} depolarındaki Ca^{2+} serbest bırakılmaktadır.⁷⁸ Bu olaylar sonucunda düz kasta kasılma meydana gelmektedir. Biz 10^{-7} M Nifedipine'i pozitif kontrol olarak kullandık ve Nifedipine ile CPE'nin, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon değerlerini eşit derecede azalttıkları görüldü. Nifedipine ile CPE'yi birlikte kullandığımızda, KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını daha güçlü bir şekilde azalttıklarını belirledik. Bu durumda CPE ile Nifedipine'nin birlikte kullanımının etki güçlenmesine neden olabileceği düşünüldü. Bulgularımıza paralel olarak Moradi ve ark. CPE etanol ekstraktının 60 mM KCl ile indüklenen izole rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığını belirlemişler ve bu etkinin voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğunu belirtmişlerdir.²⁴¹

ACh ile indüklenmiş in rat vitro mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine CPE'nin etkisi; ürinyasyon esnasında parasempatik kolinerjik sinirlerden, mesane düz kasındaki muskarinik reseptörler üzerindeki bazı bölgelerden ve ürotelyum içinde bulunan non-nöronal hücrelerden ACh salınımı olmaktadır. ACh'nın salınımı sonucunda mesane düz kasında güçlü kontraksiyonlar meydana geldiği rapor edilmiştir.⁹² ACh salınımı, presinaptik sinir terminallerinde bulunan M_1 reseptörlerinin uyarılması sonucunda artarken, M_2 ve M_4 reseptörlerinin uyarılması ile azalmaktadır.¹⁰² ACh salınımına neden olan bir diğer etken ise ürotelyumun gerilmesidir. Mesanenin dolma

fazında ürotelyum belli bir gerime ulaştığı zaman, ACh salınımı olmakta ve ürinyasyon kontraksiyonları başlatılmaktadır. ACh, M₃ reseptörlerine bağlandığı zaman fosfolipaz C aktive olarak IP3 oluşumuna neden olmaktadır. IP3 ise endoplazmik retikulumdan Ca²⁺ salınımını uyararak kalmodulinin konformasyonel değişime uğramasına yol açmaktadır. Kalmodulinin konformasyonel değişime uğraması sonucunda mesane düz kasında kasılma meydana gelmektedir. Ayrıca ACh M₃ reseptörlerine bağlandığı zaman, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanallarından hücre içine Ca²⁺ girişini artırarak, mesane düz kasının kasılmasını sağlamaktadır.⁹⁴

Bu çalışmada, ACh'nin 10⁻⁹-10⁻³ M logaritmik doz aralığı banyoya kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımız banyoda CPE'nin en düşük dozu olarak kullandığımız 0.125 mg/ml dozunun, ACh dozlarının cevaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı belirlendi. Ancak Niazmand ve Saberi'nin yaptıkları çalışma neticesinde CPE aköz-etanolik ekstraktının 0.125 mg/ml dozunun izole rat kalp kası kontraktilelerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığını belirlemişlerdir.²³³ Çalışmamızda, CPE'nin 0.25, 0.50, 1 ve 2 mg/ml dozlarının ise doza bağımlı olarak ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttıkları belirlenmiştir. Babaei ve ark. yapmış oldukları çalışma neticesinde CP'nin hidroalkolik ekstraktının farklı dozlarının, in vitro kobay ileum düz kas kontraksiyonlarını doza bağımlı olarak baskıladıklarını belirlemişlerdir.¹⁸³ Borrelli ve ark. ise çalışmalarını neticesinde, CPE'nin sulu ekstraktının in vitro fare antrum mide düz kas kontraktilelerini indüklediğini rapor etmişlerdir.¹⁵ Moradi ve ark. CPE etanol ekstraktının ACh ile indüklenen izole rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığını belirlemişlerdir.²⁴¹

CPE'nin farklı dozlarının ACh cevaplarını azaltıcı etkisi için muhtemel üç mekanizma söz konusu olabilir.

i; CPE'nin M₃ reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nin etkisini azaltmak.

ii; voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca²⁺ girişini engellemek.

iii; her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

CPE'nin Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CPE'nin etkisi çalışılarak belirlendi. CPE'nin Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanalları üzerinden etkisinin olmasının yanı sıra, M₃ reseptör yolağı üzerinden de etkili olarak ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığını belirlemek için Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanal blokörü Nifedipine kullanıldı. Nifedipine ile Ca²⁺ kanalları kapatılarak M₃ yolağı açık bırakıldı. Böylece CPE'nin M₃ reseptör yolağı üzerinden de etkili olması durumunda, ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevapları üzerine Nifedipine'nin etkisinden daha fazla bir gevşetici etki göstermesi beklendi. Banyoda 10⁻⁷ M Nifedipine varlığında 10⁻⁴ M ACh'ya verilen cevapla, banyoda Nifedipine+CPE varlığında 10⁻⁴ M ACh cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi. Dolayısıyla, CPE'nin ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraktıl cevaplarını azaltıcı etkisinin, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanallarının yanı sıra M₃ reseptör yolağı üzerinden de olduğu düşünülmektedir.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktilesi üzerine Apigenin'in etkisi; Bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre banyoda Apigenin'in 10⁻⁹ ve 10⁻⁸ M dozlarının 20 mM KCl cevaplarını artırdığı belirlendi. Apigenin'in 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M dozlarının ise doza bağımlı olarak KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyonlarını azalttıkları belirlendi. Apigenin'in 10⁻⁹ ve 10⁻⁸ M dozlarının 20 mM KCl cevaplarını artırıcı etkisinin nedeni

henüz bilinmemektedir. Ancak Apigenin'in diğer dozlarının KCl cevaplarını azaltıcı etkilerinin voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu düşünülmektedir. Apigenin'in 10^{-4} M dozu ile 10^{-7} M Nifedipine'nin 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını eşit derecede azalttıkları belirlendi. Ayrıca Nifedipine ve Apigenin'in birlikte kullanımının bir etki güçlenmesine neden olmadığı görüldü. Apigenin'in izole rat aort şeritlerinde KCl ile indüklenen kontraksiyon cevaplarını azalttığı ve bu etkinin ekstrasellüler Ca^{2+} 'un hücre içine alınımının azalması sonucunda olduğu rapor edilmiştir.²⁴² Bir başka çalışmada Apigenin'in, 45 mM KCl ile indüklenen in vitro fare mide düz kas kontraksiyon cevaplarını doza bağımlı olarak azalttığını ve bu etkinin Ca^{2+} kanallarının bloke edilmesiyle olduğunu ifade etmişlerdir.²³⁶ Bir başka çalışmada ise Apigenin'in gastrik relaksant aktivitesinin K^+ kanalları, prostoglandin ve NO üretimi ile ilişkili olmadığı rapor edilmiştir.²⁴³ Apigenin'in izole fare mide kontraktilesi üzerine gevşetici etkileri yapılan farklı çalışmalarla rapor edilmiştir. Pinto ve ark. Apigenin'in prostaglandin E_2 (PGE_2) and lökotrien D_4 (LTD_4) tarafından indüklenen in vitro kobay ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığını rapor etmişlerdir.²⁴⁴ Diğer bir çalışmada ise Apigenin'in düz kas bazal tansiyonu üzerine önemli bir etkisinin olmadığı, Riokinaz aktivatörü tarafından indüklenen kontraksiyonları inhibe ettiği belirlenmiştir.²⁴⁵ Gharzouli and Holzer yapmış oldukları çalışmada, Apigenin'in kobay ince bağırsak peristalsislerini enterik yollarla inhibe ettiğini belirlemişlerdir.²⁴⁶

ACh ile indüklenmiş in rat vitro mesanesi düz kas kontraktilesi üzerine Apigenin'in etkisi; bu çalışmada, banyoda Apigenin'in farklı dozlarının varlığında ve yokluğunda ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik doz aralığı banyoya kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımız Apigenin'in 10^{-9} M ve 10^{-8} M dozlarının, ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını artırdığını

gösterdi. Apigenin'in 10^{-7} M dozunun ACh cevapları üzerine etkisinin olmadığı belirlenirken, 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M Apigenin'in ACh cevaplarını doza bağımlı olarak azalttığı belirlendi. Benzer şekilde, Rotondo ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada, Apigenin'in 10^{-6} M karbakol ile indüklenen in vitro fare mide düz kas kontraksiyon cevaplarını doza bağımlı olarak azalttığını rapor etmişlerdir.²³⁶ Yapılan farklı bir çalışmada ise Apigenin'in farklı dozlarının agonistlerle indüklenen in vitro rat torasik aort kontraksiyonlarını inhibe ettiği belirlenmiştir.²⁴⁵ Bununla birlikte Apigenin'in intrasellüler Ca^{2+} seviyesini azalttığı rapor edilmiştir.²³⁶ Borrelli ve ark. yapmış oldukları çalışma neticesinde, Apigenin'in konsantrasyona bağımlı olarak in vitro fare mide düz kas kontraksiyonları üzerine gevşetici etkili iken, in vitro insan mide düz kas kontraksiyonları üzerine önemli bir kontraktıl etkisinin olmadığını belirlemişlerdir.¹⁵

Apigenin'in, ACh cevaplarını azaltıcı etkisinin muhtemel üç mekanizma söz konusu olabilir.

i; Apigenin bileşiğinin M_3 reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nin etkisini azaltmak.

ii Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca^{2+} girişini engellemek.

iii; Her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

Apigenin'in Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Apigenin'in etkisi çalışılarak belirlendi. Apigenin'in Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkisinin olmasının yanı sıra, M_3 reseptör yolağı üzerinden de etkili olarak ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığını belirlemek için, Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü Nifedipine kullanıldı. Nifedipine ile Ca^{2+} kanalları kapatılarak M_3 yolağı açık bırakıldı. Böylece Apigenin'in M_3 reseptör yolağı üzerinden etkili olması durumunda,

ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevapları üzerine Nifedipine'nin etkisinden daha fazla bir gevşetici etki göstermesi beklendi. Nifedipin varlığında 10^{-4} M ACh cevapları ile Nifedipine+Apigenin varlığında 10^{-4} M ACh cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Dolayısıyla, Apigenin'in ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktıl cevaplarını azaltıcı etkisinin, M_3 reseptör yolağı üzerinden olamayacağı düşünölmektedir.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktılıtesi üzerine CQ'nun etkisi; Bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre, CQ'nun tüm dozlarının KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını genellikle doza bağımlı olarak azalttığı belirlendi. CQ'nun bu etkisinin voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu düşünölmektedir. Çünkü düz kas kontraksiyonları KCl ile indüklendiğı zaman voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları açılarak ekstrasellöler Ca^{2+} 'un intrasellöler alana akışı gerçekleşmekte ve sonuçta düz kasta kasılım meydana gelmektedir. Biz 10^{-7} M Nifedipine'i pozitif kontrol olarak kullandık ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını Nifedipine'nin CQ'dan daha fazla azalttığını belirledik. Ayrıca Nifedipine ile CQ'nun beraber kullanımının herhangi bir etki güçlenmesine neden olmadığı göröldü. Fangmiao Jing ve ark. yapmış oldukları çalışma neticesinde, CQ'nun doza bağımlı olarak in vitro rat ileum kontraksiyon cevaplarını inhibe ettiğini belirlemişlerdir. CQ uygulandıktan sonra ileum düz kaslarının tonik kontraksiyonlarında azalma meydana geldiğı rapor edilmiştir. Ayrıca ekstrasellöler Ca^{2+} iyon konsantrasyonundaki azalmaların, CQ'nun inhibitör etkisinde azalmalara neden olduğunu da rapor etmişlerdir.²⁰³ Çünkü Ca^{2+} NO salınımını aktive edebilmektedir.²⁴⁷ NO ise ince bağırsaklarda motiliteyi, özellikle de tonik kontraksiyonları inhibe etmektedir.^{248,249} Bir başka çalışmada ise, CQ'nun, 15 ve 60

mM KCl ile indüklenen in vitro rat torasik aort kontraksiyonlarını inhibe ettiği rapor edilmiştir. CQ'nun bu etkisinin membran hiperpolarizasyonundan değil de Ca^{2+} duyarlılığının değişmesinden olabileceği ileri sürülmüştür.²⁵⁰

ACh ile indüklenmiş in rat vitro mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine CQ'nun etkisi; bu çalışmada, ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik doz aralığı banyoya kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımız CQ'nun 10^{-8} M dozunun ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını değiştirmediyi gösterdi. CQ'nun 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarının ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını genellikle doza bağımlı olarak azalttıkları belirlendi. İzole rat aortunda 10^{-6} M noradrenalin ile indüklenen kontraksiyonların 10^{-4} M CQ tarafından inhibe edildiği belirlenmiştir. Bu inhibisyonun CQ'nun 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları arasında doza bağımlı olarak arttığı ifade edilmiştir. CQ'nun bu etkisinin guanilat siklaz inhibitörü olan metilen mavisi varlığında değişmediği belirlendi. Bu sonuca göre CQ'nun ileum düz kası üzerine inhibitör etkisinin guanilat siklaz enziminin aktivasyonu ile ilişkili olmadığı belirlenmiştir.²⁵⁰

CQ'nun, ACh cevaplarını azaltıcı etkisinin muhtemel üç mekanizma söz konusu olabilir.

- i; CQ'nun M_3 reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nın etkisini azaltmak.
- ii; Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca^{2+} girişini engellemek.
- iii; Her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

CQ'nun voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine CQ'nun etkisi çalışılarak belirlendi. CQ'nun Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkisinin olmasının yanı sıra, M_3 reseptör yolağı üzerinden de etkili olup olmadığını belirlemek

için, voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü Nifedipine kullanıldı. Nifedipine ile Ca^{2+} kanalları kapatılarak M_3 yolağı açık bırakıldı. Böylece CQ'nun M_3 reseptör yolağı üzerinden etkili olması durumunda, ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevapları üzerine Nifedipine'nin etkisinden daha fazla bir gevşetici etki göstermesi beklendi. Nifedipine ile CQ varlığında 10^{-4} M ACh cevapları ile yalnızca Nifedipine varlığında 10^{-4} M ACh cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Dolayısıyla, CQ'nun ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktıl cevaplarını azaltıcı etkisinin, M_3 reseptör yolağı üzerinden olamayacağı düşünülmektedir.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine Luteolin'in etkisi; Bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre, Luteolin'in 4×10^{-9} dozunun KCl dozlarının cevaplarını değiştirmedığı belirlendi. Luteolin'in 4×10^{-8} , 4×10^{-7} ve 4×10^{-6} M dozlarının KCl'nin cevaplarını artırırken, Luteolin'in 4×10^{-5} M dozunun ise KCl cevaplarını azalttığı belirlendi. 10^{-7} M Nifedipine'i pozitif kontrol olarak kullandık ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını Nifedipine'nin Luteolin'den daha fazla azalttığını belirledik. Ayrıca Nifedipine ile Luteolin'in birlikte kullanımının herhangi bir etki güçlenmesine neden olmadığı görüldü. Önceden yapmış bir çalışma neticesinde Luteolin'in antispazmodik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir.²⁵¹ Luteolin'in KCl ile indüklenen in vitro rat aort düz kas şeritlerinde kontraksiyon cevaplarını azalttığı ve vazodilatatör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu etkinin ise hücre dışından hücre içine Ca^{2+} alımının azalmasından olabileceği ifade edilmiştir.²⁴²

ACh ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine Luteolin'in etkisi; bu çalışmada, ACh'nin 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik doz aralığı banyoya

kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımız Luteolin'in bütün dozlarının ACh'nin logaritmik dozları ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını önemli ölçüde azalttığı belirlendi. Bizim çalışmamıza benzer şekilde yapılan bir çalışmada luteolinin ACh ile indüklenen in vitro kobay ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını %45 civarında azalttığı belirlenmiştir. Yine bu çalışmada Luteolin'in baryum iyonu tarafından indüklenen in vitro kobay trakea düz kas kontraksiyon cevaplarını konsantrasyona bağlı olarak azalttığı ifade edilmiştir.²⁵²

Luteolin'in, ACh cevaplarını azaltıcı etkisinin muhtemel üç mekanizma söz konusu olabilir.

i; Luteolin'in M₃ reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nin etkisini azaltmak.

ii; voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca²⁺ girişini engellemek.

iii; Her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

Luteolin'in, Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Luteolin'in etkisi çalışılarak belirlendi. Luteolin'in Voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanalları üzerinden etkisinin olmasının yanı sıra, M₃ reseptör yolağı üzerinden de etkili olup olmadığını belirlemek için, voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanal blokörü Nifedipine kullanıldı. Nifedipine ile Ca²⁺ kanalları kapatılarak M₃ yolağı açık bırakıldı. Böylece Luteolin'in M₃ reseptör yolağı üzerinden etkili olması durumunda, ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevapları üzerine Nifedipine'nin etkisinden daha fazla bir gevşetici etki göstermesi beklendi. Nifedipine+ACh grubu ile Nifedipine+Luteolin+ACh gruplarında 10⁻⁴ M ACh cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Dolayısıyla, Luteolin'in

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktıl cevaplarını azaltıcı etkisinin, M₃ reseptör yolağı üzerinden olamayacağı düşünölmektedir.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktılıtesi üzerine Quercetin'in etkisi; bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre, Quercetin'in 3×10^{-7} M dozunun 20mM KCl cevaplarını artırdığı belirlendi. Quercetin'in diğer dozlarının ise KCl dozlarının cevaplarını önemli derecede azalttığı belirlendi. KCl ile düz kas kontraksiyonları indüklendiği zaman voltaja duyarlı L tipi Ca²⁺ kanallarının açılması sonucunda kontraksiyon meydana geldiğinden, Quercetin'in KCl ile indüklenen düz kas kontraksiyon cevaplarını voltaja duyarlı L tipi Ca kanalları üzerinden azalttığı düşünölebilir. Quercetin'in KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas cevaplarını azaltmasına binaen 10^{-7} M Nifedipine'i pozitif kontrol olarak kullandık ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını Quercetin'in Nifedipine gibi azalttığını belirledik. Ayrıca Nifedipine ile Quercetin'in birlikte kullanımının, bu bileşiklerin tek başına kullanımlarından daha daha etkili oldukları ve bu sebeple Nifedipine ile Quercetin arasında bir etki güçlenmesi olabileceği düşünöldü. Rotondo ve ark. Quercetin'in voltaja duyarlı Ca²⁺ kanallarını baskılayarak in vitro fare mide düz kas kontraksiyon cevaplarını doza bağımlı olarak azalttığını ifade etmişlerdir.²³⁶ Bir başka çalışmada ise Quercetin'in kobay ince bağırsak peristalsislerini enterik yolaklarla inhibe ettiğini belirlemişlerdir.²⁴⁶ Başka bir çalışmada ise bu flavonidin gastrik relaksant aktivitesinin K⁺ kanalları, prostoglandin ve NO üretimi ile ilişkili olmadığı ifade edilmiştir.²⁴³ Quercetin'in uterus düz kasında gevşemeye neden olduğu ve bunu cAMP'i kısmen artırarak yaptığı belirlenmiştir.²⁵³ Quercetin'in fosfodiesterazı inhibe ettiği bazı çalışmalarıyla belirlenirken,^{242,254} bir başka çalışmada Quercetin'in gastrik relaksiyon

etkisinin adenilat siklaz aktivasyonu ve fosfodiesteraz inhibisyonu ile ilişkili olmadığı rapor edilmiştir.²³⁶

ACh ile indüklenmiş in rat vitro mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine Quercetin'in etkisi; bu çalışmada, ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik doz aralığı banyoya kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımız Quercetin'in bütün dozlarının ACh'nın logaritmik dozları ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını önemli ölçüde azalttığı belirlendi. Rotondo ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada, Quercetin'in 10^{-6} M karbakol ile indüklenen in vitro fare mide düz kas kontraksiyon cevaplarını doza bağımlı olarak azalttığını rapor etmişlerdir.²³⁶

Quercetin'in, ACh cevaplarını azaltıcı etkisinin muhtemel üç mekanizma ile ilgili olabilir.

i; Quercetin bileşiğinin M_3 reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nın etkisini azaltmak.

ii; Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca^{2+} girişini engellemek.

iii; Her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

Quercetin'in, Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Quercetin'in etkisi çalışılarak belirlendi. Quercetin'in voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkisinin olmasının yanı sıra, M_3 reseptör yolağı üzerinden de etkili olup olmadığını belirlemek için, Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanal blokörü Nifedipine kullanıldı. Nifedipine ile Ca^{2+} kanalları kapatılarak M_3 yolağı açık bırakıldı. Böylece Quercetin'in M_3 reseptör yolağı üzerinden etkili olması durumunda, ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevapları üzerine Nifedipine'nin etkisinden daha fazla bir gevşetici etki göstermesi beklendi. Nifedipine varlığında 10^{-4} M ACh cevapları ile Nifedipine+Quercetin

varlığında 10^{-4} M ACh cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi. Dolayısıyla, Quercetin'in ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktıl cevaplarını azaltıcı etkisinin, M_3 reseptör yolağı üzerinden de olabileceğı düşünölmektedir.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat mesanesi düz kas kontraktılıtesi üzerine Rutin'in etkisi; bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre, Rutin'in tüm dozlarının ise KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas cevaplarını önemli derecede azalttığı belirlendi. KCl ile düz kas kontraksiyonları indüklendiğı zaman voltaja duyarlı L tipi Ca kanallarının açılması sonucunda kontraksiyon meydana gelir. Bu nedenle Rutin'in KCl ile indüklenen düz kas kontraksiyon cevaplarını voltaja duyarlı voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden azalttığı düşünölebilir. Rutin'in KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas cevaplarını azaltmasına binaen 10^{-7} M Nifedipine'i pozitif kontrol olarak kullandık ve KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını Rutin'in Nifedipine gibi azalttığını belirledik. Ayrıca Nifedipine ile Rutin'in birlikte kullanımının, bu bileşiklerin tek başına kullanımlarından daha daha etkili olmadıklarını ve bu sebeple Nifedipine ile Rutin arasında bir etki güçlenmesinin olmadığından söz edilebilir. Rutin ve diğér bazı flavonoid bileşiklerin izole fare midesi üzerine gevşetici etkiye sahip olduğu yapılan birçok çalışma ile rapor edilmiştir.^{236, 243, 255} Bir diğér çalışmada ise Rutin'in organ banyosunda 0.5 µg/ml dozunun KCl ile indüklenen in vitro kobay ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir.²⁵⁶ Çelebi ve ark. yapmış oldukları çalışmada, siklofosamid ile hemorajik sistit oluşturulan ve Rutin uygulaması yapılan ratlarda KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının, sistit grubuna göre azaldığını ifade etmişlerdir.²⁵⁷

ACh ile indüklenmiş in rat vitro mesanesi düz kas kontraktilitesi üzerine Quercetin'in etkisi; bu çalışmada, ACh'nın 10^{-9} - 10^{-3} M logaritmik doz aralığı banyoya kümülatif uygulanarak doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımız Rutin'in 3×10^{-8} , 3×10^{-7} ve 3×10^{-6} M dozlarının ACh'nın logaritmik dozları ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını önemli ölçüde artırdığı belirlendi. Rutin'in 3×10^{-5} M dozunun 10^{-4} M ACh cevaplarını azaltırken ACh'nın diğer dozlarının cevaplarını artırdığı belirlendi. Rutin'in 3×10^{-4} M dozunun ise 10^{-4} ve 10^{-3} M ACh cevaplarını azalttığı belirlendi. Rutinin ACh ile indüklenen in vitro fare mide düz kas kontraksiyon cevaplarını doza bağımlı olarak azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca Rutin'in in vitro insan mide düz kaslarında kontraktıl bir etki oluşturmadığı, aksine gevşetici etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir.¹⁵ Ayrıca Rutin'in organ banyosunda $0.5 \mu\text{g/ml}$ dozunun ACh ile indüklenen in vitro kobay ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir.²⁵⁶ Bir diğer çalışmada ise, siklofosfamid ile hemorajik sistit oluşturulan ve Rutin uygulaması yapılan ratlarda ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının, sistit grubuna göre azaldığını ifade etmişlerdir.²⁵⁷

Rutin'in, ACh cevaplarını azaltıcı etkisi muhtemel üç mekanizma ile ilgili olabilir.

i; Rutin bileşiğinin M_3 reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nın etkisini azaltmak.

ii; Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca^{2+} girişini engellemek.

iii; Her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

Rutin'in, Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyonları üzerine Rutin'in etkisi çalışılarak belirlendi. Rutin'in voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkisinin olmasının yanı sıra, M_3 reseptör yolağı üzerinden de etkili olup olmadığını belirlemek için, voltaja duyarlı L tipi

Ca²⁺ kanal blokörü Nifedipine kullanıldı. Nifedipine ile Ca²⁺ kanalları kapatılarak M₃ yolağı açık bırakıldı. Böylece Rutin'in M₃ reseptör yolağı üzerinden etkili olması durumunda, ACh ile indüklenen mesane düz kas kontraksiyon cevapları üzerine Nifedipine'nin etkisinden daha fazla bir gevşetici etki göstermesi beklendi. Nifedipine varlığında 10⁻⁴ M ACh cevapları ile Nifedipine+Rutin varlığında 10⁻⁴ M ACh cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Dolayısıyla, Rutin'in ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraktıl cevaplarını azaltıcı etkisinin, M₃ reseptör yolağı üzerinden olamayacağı düşünöldü.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

CPE ve CP'nin bazı biyolojik aktif bileşiklerinin in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzeriene etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada;

- CPE ve CP'nin bazı biyolojik aktif bileşiklerinin, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkileri ilk kez çalışılmıştır.
- CPE ve CP'nin bazı biyolojik aktif bileşiklerinin in vitro rat mesane düz kas kontraktilesi üzerine etkileri belirlenerek gelecekte yapılacak çalışmalara yön vereceği ve CP'nin daha bilinçli kullanılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.
- Elde edilen sonuçların literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.
- Elde ettiğimiz sonuçlara göre;
- CPE ve quercetin'in farklı dozlarının ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azalttığı belirlendi. CPE ve quercetin'in bu etkilerinin voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalları ve muskarinik reseptör mekanizması üzerinden olduğu görülmüştür.
- Apigenin, CQ, Luteolin ve Rutin bileşiklerinin farklı dozlarının ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı belirlendi. Bileşiklerin bu etkilerinin voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azaltıcı etkiye sahip ekstrakt ve bileşiklerin etki mekanizmalarının voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu anlamına gelmektedir.

ACh ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyon cevaplarını azaltan ekstrakt ve bileşiklerin M_3 reseptör mekanizması üzerinden ve/veya voltaja duyarlı Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili oldukları düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda CPE ve bazı biyolojik aktif bileşiklerin, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro mesane düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri ve bu etkilerin kontraksiyonları indükleyici ajanların etki yolları üzerinden olup olmadığının çalışılmıştır. İleride yapılacak farklı çalışmalarla bu bileşiklerin in vitro mesane düz kas kontraksiyonunda görev alan mekanizmalar üzerine etkileri çalışılabilir. Bunun yanı sıra yapısında yüze yakın biyolojik aktif bileşik bulunan CP'nin farklı bileşiklerinin de mesane düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri çalışılabilir. Ayrıca, deneysel çalışmalarla mesane dokusunda çeşitli patojenler oluşturularak CPE ve CP'nin biyolojik aktif bileşikleriyle tedavilerin, deneysel olarak oluşturulmuş mesane patolojilerine karşı koruyucu veya tedavi edici etkilerinin olup olmadığı araştırılabilir.

KAYNAKLAR

1. Passalacqua N, Guarrera P, De Fine G. Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia*, 2007, 78: 52-68.
2. Pieroni A, Quave CL. Traditional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy: A comparison. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 101: 258-270.
3. Radušiene J, Gudaityte O. Distribution of proazulenes in *Achillea millefolium* wild populations in relation to phytosociological dependence and morphological characters. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 2005, 3: 136-143.
4. Vitalini S, Tomè F, Fico G. Traditional uses of medicinal plants in Valvestino (Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 121: 106-116.
5. Lakshmi T, Geetha R, Roy A, Aravind Kumar S. Yarrow (*Achillea Millefolium* Linn.) A Herbal Medicinal Plant with Broad Therapeutic Use—A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2011, 9.
6. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.). *Current Pharmaceutical Design*, 2008, 14: 3151-3167.
7. Stojanović G, Radulović N, Hashimoto T, Palić R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: the composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *Journal Ethnopharmacology*, 2005, 101: 185–190.
8. Newall, Carol A, Linda A, Anderson and J. David Phillipson. *Herbal Medicines. A Guide For Health-Care Professionals*. The pharmaceutical press, 1996.
9. Benedek B, Gjoncaj N, Saukel J, Kopp B. Distribution of phenolic compounds in middleeuropean taxa of the *Achillea millefolium* L. aggregate. *Chemistry and Biodiversity*, 2007, 4: 849-857.

10. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1998, 247: 60-64.
11. Montanari T, de Carvalho JE, Dolder H. Antispermatic effect of *Achillea millefolium* L. in mice. *Contraception*, 1998, 58: 309-313.
12. Khan Au, Gilani AH. Blood pressure lowering, cardiovascular inhibitory and bronchodilatory actions of *Achillea millefolium*. *Phytotherapy Research*, 2011, 25: 577-583.
13. Souza P, Gasparotto Jr A, Crestani S, Stefanello MÉA, Marques MCA, Silva-Santos JEd, Kassuya CAL. Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L.(Asteraceae) in rats. *Phytomedicine*, 2011, 18: 819-825.
14. Dalsenter PR, Cavalcanti AM, Andrade AJ, Araújo SL, Marques MC. Reproductive evaluation of aqueous crude extract of *Achillea millefolium* L.(Asteraceae) in Wistar rats. *Reproductive Toxicology*, 2004, 18: 819-823.
15. Borrelli F, Romano B, Fasolino I, Tagliatela-Scafati O, Aprea G, Capasso R, Capasso F, Coppola Bottazzi E, Izzo A. Prokinetic effect of a standardized yarrow (*Achillea millefolium*) extract and its constituent choline: studies in the mouse and human stomach. *Neurogastroenterology and Motility*, 2012, 24: 164-190.
16. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. *Herbal Medicines: A Guide for Healthcare Professionals*. Pharmaceutical Press, 2003.
17. Lemmens-Gruber R, Marchart E, Rawnduzi P, Engel N, Benedek B, Kopp B. Investigation of the Spasmolytic Activity of the Flavonoid Fraction of *Achillea millefolium* on Isolated Guinea-pig Ilea. *Arzneimittelforschung*, 2006, 56: 582-588.

18. Reuter VE. Urinary bladder and renal pelvis. İçinde: Stenberg SS (editör). *Histology for Pathologists*, 2. Baskı. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1997: 835-847.
19. Sadler TW. Neoplasm of embriology. *Langman's Medikal Embrioloji*, 7. Baskı. Ankara Palme yayıncılık, 1996.
20. Güner H, Yazıcı G. Ürojinekoloji İçinde: Güner H (editör). *Kadın Genital Sistemi ve Pelvik Taban Anatomisi*, Ürojinekoloji Atlas kitapçılık, 2000: 1-10.
21. Semelka RC. *Abdominal-Pelvic MRI*. John Wiley & Sons, 2011.
22. Dursun N. *Veteriner Anatomi II*. 8. Baskı. Medisan Yayınevi, 2002.
23. Snell RS, Travill AA. Clinical Anatomy for Medical Students. *Annals of Plastic Surgery*, 1979, 2: 542.
24. Peterson CM, Goss RJ, Atryzek V. Hypertrophy of the rat urinary bladder following reduction of its functional volume. *Journal of Experimental Zoology*, 1974, 187: 121-126.
25. Evans HE, De Lahunta A. *Miller's Anatomy of the Dog*. Elsevier Health Sciences, 2013.
26. Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 2004, 84: 935-986.
27. <http://theexcretorysystem.weebly.com/diagram.html> (Erişim tarihi: 22.05.2014).
28. Uvelius B. Length-tension relations of in vitro urinary bladder smooth muscle strips. *Journal Pharmacology Toxicology Methods*, 2001, 45: 87-90.
29. Ordanez NG, Rosai J. Urinary tract. In: Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. Ninth ed. Toronto. 2004.
30. Dixon JS, Gosling JA. Ultrastructure of smooth muscle cells in the urinary system. *Ultrastructure of Smooth Muscle*, Springer, 1990: 153-169.

31. Ross MH, Pawlina W. *Histology*. Lippincott Williams and Wilkins, 2006.
32. Dash RC. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 2003, 127: 896-897.
33. Gabella G, Uvelius B. Urinary bladder of rat: fine structure of normal and hypertrophic musculature. *Cell and Tissue Research*, 1990, 262: 67-79.
34. Kim K, Keller TC. Smitin, a novel smooth muscle titin-like protein, interacts with myosin filaments in vivo and in vitro. *The Journal of Cell Biology*, 2002, 156: 101-112.
35. Michel MC, Barendrecht MM. Physiological and pathological regulation of the autonomic control of urinary bladder contractility. *Pharmacology and Therapeutics*, 2008, 117: 297-312.
36. Vinter-Jensen L, Uvelius B, Nexø E, Arner A. Contractile and cytoskeletal proteins in urinary bladder smooth muscle from rats treated with epidermal growth factor. *Urological Research*, 1996, 24: 229-234.
37. Nguyen HT, Adam RM, Bride SH, Park JM, Peters CA, Freeman MR. Cyclic stretch activates p38 SAPK2-, ErbB2-, and AT1-dependent signaling in bladder smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2000, 279: 1155-1167.
38. Park JM, Borer JG, Freeman MR, Peters CA. Stretch activates heparin-binding EGF-like growth factor expression in bladder smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1998, 275: 1247-1254.
39. Chen MW, Levin R, Buttyan R. Peptide growth factors in normal and hypertrophied bladder. *World Journal of Urology*, 1995, 13: 344-348.

40. Kushida N, Kabuyama Y, Yamaguchi O, Homma Y. Essential role for extracellular Ca^{2+} in JNK activation by mechanical stretch in bladder smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2001, 281: 1165-1172.
41. Uvelius B. Influence of Muscle Length on the Force-Velocity Relation of K^{+} -contractures in Smooth Muscle from Rabbit Urinary Bladder. *Acta Physiologica Scandinavica*, 1977, 101: 270-277.
42. Sjuve R, Arner A, Li Z, Mies B, Paulin D, Schmittner M, Small J. Mechanical alterations in smooth muscle from mice lacking desmin. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 1998, 19: 415-429.
43. Malmgren A, Uvelius B, Andersson K, Andersson P. Urinary bladder function in rats with hereditary diabetes insipidus; a cystometrical and in vitro evaluation. *The Journal of Urology*, 1992, 148: 930-934.
44. Arner A, Malmqvist U, Österman Å, Uvelius B. Energy turnover and lactate dehydrogenase activity in detrusor smooth muscle from rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiologica Scandinavica*, 1993, 147: 375-383.
45. Chen Y, Gustafsson B, Arnqvist H. IGF-binding protein-2 is induced during development of urinary bladder hypertrophy in the diabetic rat. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 1997, 35: 297.
46. Lincoln J, Haven A, Sawyer M, Burnstock G. The Smooth Muscle of Rat Bladder in the Early Stages of Streptozotocin-induced Diabetes. *British Journal of Urology*, 1984, 56: 24-30.
47. Uvelius B. Detrusor smooth muscle in rats with alloxan-induced diabetes. *The Journal of Urology*, 1986, 136: 949-952.

48. Longhurst PA, Kang J, Wein AJ, Levin RM. Comparative length-tension relationship of urinary bladder strips from hamsters, rats, guinea-pigs, rabbits and cats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1990, 96: 221-225.
49. Ekström J, Malmberg L, Wallin Å. Biochemical and functional evidence for nerve sprouting in the decentralized, hypertrophied rat urinary bladder. *Pharmacology and Toxicology*, 1987, 60: 86-89.
50. Birder LA, de Groat WC. Mechanisms of disease: involvement of the urothelium in bladder dysfunction. *Nature Clinical Practice Urology*, 2007, 4: 46-54.
51. Damaser MS, Kim KB, Longhurst PA, Wein AJ, Levin RM. Calcium regulation of urinary bladder function. *The Journal of Urology*, 1997, 157: 732-738.
52. Brading A. The sarcoplasmic reticulum in disease and smooth muscle dysfunction: therapeutic potential. *Role of the Sarcoplasmic Reticulum in Smooth Muscle*, 2002: 244.
53. Nishimoto T, Latifpour J, Wheeler MA, Yoshida M, Weiss RM. Age-dependent alterations in beta-adrenergic responsiveness of rat detrusor smooth muscle. *The Journal of Urology*, 1995, 153: 1701-1705.
54. Morita T, Masuda H, Tosaka A, Ishizaka K, Tshii T and Kondo S. Sex differences in function and distribution of β -adrenoceptors in rabbit urinary bladder. *Journal Urology*, 1998, 159: 555-558.
55. Michel MC, Oelke M, Peters SL. The neuro-urological connection. *European Urology Supplements*, 2005, 4: 18-28.
56. Yoshimura N, Groat WCd. Neural control of the lower urinary tract. *International Journal of Urology*, 1997, 4: 111-125.
57. Gabella G, Davis C. Distribution of afferent axons in the bladder of rats. *Journal of Neurocytology*, 1998, 27: 141-155.

58. Kanai AJ. Afferent mechanism in the urinary tract. *Handb Exp Pharmacol*, 2011, 202: 171-205.
59. Rapp DE, Lyon MB, Bales GT, Cook SP. A role for the P2X receptor in urinary tract physiology and in the pathophysiology of urinary dysfunction. *European Urology*, 2005, 48: 303-308.
60. Chopra B, Barrick SR, Meyers S, Beckel JM, Zeidel ML, Ford APW, De Groat WC, Birder LA. Expression and function of bradykinin B1 and B2 receptors in normal and inflamed rat urinary bladder urothelium. *The Journal of Physiology*, 2005, 562: 859-871.
61. Andersson K-E. Tachykinins: role in detrusor overactivity? *European Urology*, 2006, 49: 423-425.
62. Ukai M, Yuyama H, Noguchi Y, Someya A, Okutsu H, Watanabe M, Yoshino T, Ohtake A, Suzuki M, Sato S. Participation of endogenous endothelin and ETA receptor in premicturition contractions in rats with bladder outlet obstruction. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2006, 373: 197-203.
63. Chetty N, Coupar I, Chess-Williams R, Kerr K. Demonstration of 5-HT₃ receptor function and expression in the mouse bladder. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2007, 375: 359-368.
64. Moffatt JD. Proteinase-activated receptors in the lower urinary tract. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2007, 375: 1-9.
65. Mattiasson A, Andersson K, Elbadawi A, Morgan E, Sjögren C. Interaction between adrenergic and cholinergic nerve terminals in the urinary bladder of rabbit, cat and man. *The Journal of Urology*, 1987, 137: 1017-1019.
66. Perlberg S, Caine M. Adrenergic response of bladder muscle in prostatic obstruction: its relation to detrusor instability. *Urology*, 1982, 20: 524-527.

67. Yamaguchi O, Chapple CR. β_3 -Adrenoceptors in urinary bladder. *Neurourology and Urodynamics*, 2007, 26: 752-756.
68. Barendrecht MM, Abrams P, Schumacher H, de la Rosette JJ, Michel MC. Do α_1 -adrenoceptor antagonists improve lower urinary tract symptoms by reducing bladder outlet resistance? *Neurourology and Urodynamics*, 2008, 27: 226-230.
69. Walden PD, Durkin MM, Lepor H, Wetzel JM, Gluchowski C, Gustafson EL. Localization of mRNA and Receptor Binding Sites for the alpha sub 1a-Adrenoceptor Subtype in the Rat, Monkey and Human Urinary Bladder and Prostate. *The Journal of Urology*, 1997, 157: 1032-1038.
70. Malloy BJ, Price DT, Price R, Bienstock AM, Dole MK, Funk BL, Rudner XL, Richardson CD, Donatucci CF, Schwinn DA. Alpha 1-adrenergic receptor subtypes in human detrusor. *The Journal of Urology*, 1998, 160: 937-943.
71. Sundin T, Dahlström A. The sympathetic innervation of the urinary bladder and urethra in the normal state and after parasympathetic denervation at the spinal root level: an experimental study in cats. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 1973, 7: 131-149.
72. Michel MC, Vrydag W. α_1 , α_2 -and β -adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 147: 88-119.
73. Petkov GV, Nelson MT. Differential regulation of Ca^{2+} -activated K^+ channels by β -adrenoceptors in guinea pig urinary bladder smooth muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2005, 288: C1255-C1263.
74. Uchida H, Shishido K, Nomiya M, Yamaguchi O. Involvement of cyclic AMP-dependent and-independent mechanisms in the relaxation of rat detrusor muscle via β -adrenoceptors. *European Journal of Pharmacology*, 2005, 518: 195-202.

75. Canda AE, Cross CR, Chapple CR. Pharmacology of the Lower Urinary Tract and Management of Overactive Bladder. . *J Turkish-German Gynecol Assoc*, 2006, 7: 146-157.
76. Yamanishi T, Chapple CR, Yasuda K, Yoshida K-I, Chess-Williams R. Identification of β -adrenoceptor subtypes in lower urinary tract of the female pig. *The Journal of Urology*, 2002, 168: 2706-2710.
77. Yamazaki Y, Takeda H, Akahane M, Igawa Y, Nishizawa O, Ajisawa Y. Species differences in the distribution of β -adrenoceptor subtypes in bladder smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, 1998, 124: 593-599.
78. Anderson KE. Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacological Reviews*, 1993, 45: 253-308.
79. Li J, Yasay G, Kau S. β -Adrenoceptor subtypes in the detrusor of guinea-pig urinary bladder. *Pharmacology*, 1992, 44: 13-18.
80. Caulfield MP, Birdsall NJ. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacological Reviews*, 1998, 50: 279-290.
81. Mansfield KJ, Liu L, Mitchelson FJ, Moore KH, Millard RJ, Burcher E. Muscarinic receptor subtypes in human bladder detrusor and mucosa, studied by radioligand binding and quantitative competitive RT-PCR: changes in ageing. *British Journal of Pharmacology*, 2005, 144: 1089-1099.
82. Andersson K-E. Antimuscarinic mechanisms and the overactive detrusor: an update. *European Urology*, 2011, 59: 377-386.
83. Braverman AS, Luthin GR, Ruggieri MR. M₂ muscarinic receptor contributes to contraction of the denervated rat urinary bladder. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 1998, 275: 1654-1660.

84. Somogyi GT, Tanowitz M, Zernova G, de Groat WC. M₁ muscarinic receptor-induced facilitation of ACh and noradrenaline release in the rat bladder is mediated by protein kinase C. *The Journal of Physiology*, 1996, 496: 245-254.
85. Somogyi G, Zernova G, Tanowitz M, De Groat W. Role of L-and N-type Ca²⁺ channels in muscarinic receptor-mediated facilitation of ACh and noradrenaline release in the rat urinary bladder. *The Journal of Physiology*, 1997, 499: 645-654.
86. Ehlert FJ, Griffin MT, Abe DM, Vo TH, Taketo MM, Manabe T, Matsui M. The M₂ muscarinic receptor mediates contraction through indirect mechanisms in mouse urinary bladder. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2005, 313: 368-378.
87. Matsui M, Motomura D, Fujikawa T, Jiang J, Takahashi S-i, Manabe T, Taketo MM. Mice lacking M₂ and M₃ muscarinic acetylcholine receptors are devoid of cholinergic smooth muscle contractions but still viable. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22: 10627-10632.
88. Igawa Y, Zhang X, Nishizawa O, Umeda M, Iwata A, Taketo MM, Manabe T, Matsui M, Andersson K-E. Cystometric findings in mice lacking muscarinic M₂ or M₃ receptors. *The Journal of Urology*, 2004, 172: 2460-2464.
89. Wang P, Luthin G, Ruggieri M. Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1995, 273: 959-966.
90. Yamanishi T, Chapple CR, Yasuda K, Chess-Williams R. The role of M₂-muscarinic receptors in mediating contraction of the pig urinary bladder in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 2000, 131: 1482-1488.
91. Giglio D, Tobin G. Muscarinic receptor subtypes in the lower urinary tract. *Pharmacology*, 2009, 83: 259-269.

92. Abrams P, Andersson KE, Buccafusco JJ, Chapple C, Groat WC, Fryer AD, Kay G, Laties A, Nathanson NM, Pasricha PJ. Muscarinic receptors: Their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 148: 565-578.
93. Hegde SS. Muscarinic receptors in the bladder: from basic research to therapeutics. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 147: S80-S87.
94. Andersson K-E, Wein AJ. Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. *Pharmacological Reviews*, 2004, 56: 581-631.
95. Somlyo AP, Somlyo AV. *Signal transduction and regulation in smooth muscle*. 1994.
96. Jezior JR, Brady JD, Rosenstein DI, McCammon KA, Miner AS, Ratz PH. Dependency of detrusor contractions on calcium sensitization and calcium entry through LOE-908-sensitive channels. *British Journal of Pharmacology*, 2001, 134: 78-87.
97. Hashitani H, Bramich N, Hirst G. Mechanisms of excitatory neuromuscular transmission in the guinea-pig urinary bladder. *The Journal of Physiology*, 2000, 524: 565-579.
98. An J, Yun H, Lee Y, Yang S, Shim J, Jeong J, Shin C, Kim J, Kim D, Sohn U. The intracellular pathway of the acetylcholine-induced contraction in cat detrusor muscle cells. *British Journal of Pharmacology*, 2002, 137: 1001-1010.
99. Bonev AD, Nelson MT. Muscarinic inhibition of ATP-sensitive K⁺ channels by protein kinase C in urinary bladder smooth muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1993, 34: C1723.
100. Kotlikoff MI, Dhulipala P, Wang Y-X. M₂ signaling in smooth muscle cells. *Life Sciences*, 1999, 64: 437-442.

101. Nakamura T, Kimura J, Yamaguchi O. Muscarinic M₂ receptors inhibit Ca²⁺-activated K⁺ channels in rat bladder smooth muscle. *International Journal of Urology*, 2002, 9: 689-696.
102. Chess-Williams R. Muscarinic receptors of the urinary bladder: detrusor, urothelial and prejunctional. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 2002, 22: 133-145.
103. Krivevsky VP, Pagala MK, Vaydovsky I, Damer V, Wise GJ. Function of M₃ Muscarinic Receptors In The Rat Urinary Bladder Following Partial Outlet Obstruction. *The Journal of Urology*, 1999, 161: 1644-1650.
104. Igawa Y, Zhang X, Umeda M, Iwata A, Nishizawa O, Takedo M, Manabe T, Matsui M, and Andersson KE. In vivo and in vitro functional changes of the urinary bladder of mice lacking M₂ and M₃ receptors. *Neurourol Urodynamic*, 2003, 22: 384–385.
105. Kories C, Czyborra C, Fetscher C, Schneider T, Krege S, Michel MC. Gender comparison of muscarinic receptor expression and function in rat and human urinary bladder: differential regulation of M₂ and M₃ receptors? *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2003, 367: 524-531.
106. Goepel M, Gronewald A, Krege S, Michel MC. Muscarinic receptor subtypes in porcine detrusor: comparison with humans and regulation by bladder augmentation. *Urological Research*, 1998, 26: 149-154.
107. Michel MC, Schneider T, Krege S, Goepel M. Does gender or age affect the efficacy and safety of tolterodine? *The Journal of Urology*, 2002, 168: 1027-1031.
108. Zderic S, Duckett J, Wein A, Snyder III H, Levin R. Developmental factors in the contractile response of the rabbit bladder to both autonomic and non-autonomic agents. *Pharmacology*, 1990, 41: 119-123.

109. Wuest M, Braeter M, Schoeberl C, Ravens U. Juvenile pig detrusor: effects of propiverine and three of its metabolites. *European Journal of Pharmacology*, 2005, 524: 145-148.
110. Lluel P, Deplanne V, Heudes D, Bruneval P, Palea S. Age-related changes in urethrovesical coordination in male rats: relationship with bladder instability? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2003, 284: 1287-1295.
111. Yu H-J, Wein AJ, Levin RM. Contractile responses and calcium mobilization induced by muscarinic agonists in the rat urinary bladder: effects of age. *General Pharmacology: The Vascular System*, 1997, 28: 623-628.
112. Lluel P, Palea S, Barras M, Grandadam F, Heudes D, Bruneval P, Corman B, Martin D. Functional and morphological modifications of the urinary bladder in aging female rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2000, 278: 964-R972.
113. Schneider T, Hein P, Michel-Reher MB, Michel MC. Effects of ageing on muscarinic receptor subtypes and function in rat urinary bladder. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2005, 372: 71-78.
114. Pagala MK, Tetsoti L, Nagpal D, Wise GJ. Aging effects on contractility of longitudinal and circular detrusor and trigone of rat bladder. *The Journal of Urology*, 2001, 166: 721-727.
115. Lagou M, Gillespie J, Kirkwood T, Harvey I, Drake M. Muscarinic stimulation of the mouse isolated whole bladder: physiological responses in young and ageing mice. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 2006, 26: 253-260.

116. Lai HH, Boone TB, Thompson TC, Smith CP, Somogyi GT. Using caveolin-1 knockout mouse to study impaired detrusor contractility and disrupted muscarinic activity in the aging bladder. *Urology*, 2007, 69: 407-411.
117. Yoshida M, Homma Y, Inadome A, Yono M, Seshita H, Miyamoto Y, Murakami S, Kawabe K, Ueda S. Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles. *Experimental Gerontology*, 2001, 36: 99-109.
118. Karaki H, Ozaki H, Hori M, Mitsui-Saito M, Amano K-I, Harada K-I, Miyamoto S, Nakazawa H, Won K-J, Sato K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacological Reviews*, 1997, 49: 157-230.
119. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2003, 4: 517-529.
120. Ganitkevich VY, Isenberg G. Contribution of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release to the $[\text{Ca}^{2+}]$ transients in myocytes from guinea-pig urinary bladder. *The Journal of Physiology*, 1992, 458: 119-137.
121. Fry C, Wu C, Sui G. Electrophysiological properties of the bladder. *International Urogynecology Journal*, 1998, 9: 291-298.
122. Masters J, Neal D, Gillespie J. The contribution of intracellular Ca^{2+} release to contraction in human bladder smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 127: 996-1002.
123. Visser A, Van Mastrigt R. Simultaneous recording of mechanical and intracellular electrical activity in human urinary bladder smooth muscle. *BJU International*, 2000, 86: 113-120.

124. Kishii K, Hisayama T, Takayanagi I. Comparison of contractile mechanisms by carbachol and ATP in detrusor strips of rabbit urinary bladder. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1992, 58: 219-229.
125. Fovaeus M, Andersson K, Batra S, Morgan E, Sjögren C. Effects of calcium, calcium channel blockers and Bay K 8644 on contractions induced by muscarinic receptor stimulation of isolated bladder muscle from rabbit and man. *The Journal of Urology*, 1987, 137: 798-803.
126. Wu C, Bayliss M, Newgreen D, Mundy A, Fry C. A comparison of the mode of action of ATP and carbachol on isolated human detrusor smooth muscle. *The Journal of Urology*, 1999, 162: 1840-1847.
127. Wu C, Sui G, Fry C. The role of the L-type Ca²⁺ channel in refilling functional intracellular Ca²⁺ stores in guinea-pig detrusor smooth muscle. *The Journal of Physiology*, 2002, 538: 357-369.
128. Montell C, Birnbaumer L, Flockerzi V. The TRP channels, a remarkably functional family. *Cell*, 2002, 108: 595-598.
129. Avelino A, Cruz F. TRPV1 (vanilloid receptor) in the urinary tract: expression, function and clinical applications. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2006, 373: 287-299.
130. Wang Z-Y, Wang P, Merriam FV, Bjorling DE. Lack of TRPV1 inhibits cystitis-induced increased mechanical sensitivity in mice. *Pain*, 2008, 139: 158-167.
131. Szallasi A. Small molecule vanilloid TRPV1 receptor antagonists approaching drug status: can they live up to the expectations? *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2006, 373: 273-286.
132. Gevaert T, Vriens J, Segal A, Everaerts W, Roskams T, Talavera K, Owsianik G, Liedtke W, Daelemans D, Dewachter I. Deletion of the transient receptor potential

- cation channel TRPV4 impairs murine bladder voiding. *The Journal of Clinical Investigation*, 2007, 117: 3453-3462.
133. Denadai-Souza A, Martin L, de Paula MAV, de Avellar MCW, Muscará MN, Vergnolle N, Cenac N. Role of transient receptor potential vanilloid 4 in rat joint inflammation. *Arthritis and Rheumatism*, 2012, 64: 1848-1858.
134. Chen Y, Williams SH, McNulty AL, Hong JH, Lee SH, Rothfusz NE, Parekh PK, Moore C, Gereau IV RW, Taylor AB. Temporomandibular joint pain: A critical role for Trpv4 in the trigeminal ganglion. *Pain*, 2013, 154: 1295-1304.
135. Ceppa E, Cattaruzza F, Lyo V, Amadesi S, Pelayo J-C, Poole DP, Vaksman N, Liedtke W, Cohen DM, Grady EF. Transient receptor potential ion channels V4 and A1 contribute to pancreatitis pain in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 299: 556-571.
136. Merrill L, Girard BM, May V, Vizzard MA. Transcriptional and translational plasticity in rodent urinary bladder TRP channels with urinary bladder inflammation, bladder dysfunction, or postnatal maturation. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2012, 48: 744-756.
137. D'Aldebert E, Cenac N, Rousset P, Martin L, Rolland C, Chapman K, Selves J, Alric L, Vinel JP, Vergnolle N. Transient receptor potential vanilloid 4 activated inflammatory signals by intestinal epithelial cells and colitis in mice. *Gastroenterology*, 2011, 140: 275-285.
138. Berger Y, Blaivas J, DeLaRocha E, Salinas J. Urodynamic findings in Parkinson's disease. *The Journal of Urology*, 1987, 138: 836-838.
139. de Groat WC. Neurophysiology of micturition and its modification in animal models of human disease. *The autonomic nervous system. Nervous Control of the Urogenital System.*, 1993, 3: 227-290.

140. Yoshimura N, Mizuta E, Kuno S, Sasa M, Yoshida O. The dopamine D1 receptor agonist SKF 38393 suppresses detrusor hyperreflexia in the monkey with parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP). *Neuropharmacology*, 1993, 32: 315-321.
141. Berthouze M, Ayoub M, Russo O, Rivail L, Sicsic S, Fischmeister R, Berque-Bestel I, Jockers R, Lezoualc'h F. Constitutive dimerization of human serotonin 5-HT-receptors in living cells. *FEBS Letters*, 2005, 579: 2973-2980.
142. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system. *Physiological Reviews*, 2008, 88: 1183-1241.
143. Nuutinen S, Panula P. Histamine in neurotransmission and brain diseases. *Histamine in Inflammation*, Springer, 2010: 95-107.
144. Hill S, Ganellin C, Timmerman H, Schwartz J, Shankley N, Young J, Schunack W, Levi R, Haas H. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors. *Pharmacological Reviews*, 1997, 49: 253-278.
145. Parsons ME, Ganellin CR. Histamine and its receptors. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 147: S127-S135.
146. Stark H, Arrang J-M, Ligneau X, Garbarg M, Ganellin CR, Schwartz J-C, Schunack W. 6 The Histamine H₃ Receptor and its Ligands. *Progress in Medicinal Chemistry*, 2001, 38: 279-308.
147. Leurs R, Bakker RA, Timmerman H, de Esch IJ. The histamine H₃ receptor: from gene cloning to H₃ receptor drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005, 4: 107-120.
148. Jablonowski JA, Carruthers NI, Thurmond RL. The histamine H₄ receptor and potential therapeutic uses for H₄ ligands. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2004, 4: 993-1000.

149. Everaerts W, Gevaert T, Nilius B, De Ridder D. On the origin of bladder sensing: Tr (i) ps in urology. *Neurourology and Urodynamics*, 2008, 27: 264-273.
150. Zhong Y, Banning A, Cockayne D, Ford A, Burnstock G, McMahon S. Bladder and cutaneous sensory neurons of the rat express different functional P2X receptors. *Neuroscience*, 2003, 120: 667-675.
151. Howson W, Taylor EM, Parsons ME, Novelli R, Wilczynska MA, Harris DT. Synthesis and biological evaluation of ATP analogues acting at putative purinergic PX-receptors (on the guinea pig bladder). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1988, 23: 433-439.
152. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. Standardisation Subcommittee of the International Continence Society. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn*, 2002, 21: 167-178.
153. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*, 2003, 61: 37-49.
154. Wilson L, Brown JS, Shin GP, Luc K-O, Subak LL. Annual direct cost of urinary incontinence. *Obstetrics and Gynecology*, 2001, 98: 398-406.
155. Morrison J, Steers W, Brading A, Blok B, Fry C, De Groat W, Kakizaki H, Levin R, Thor K. Neurophysiology and neuropharmacology. *Incontinence*, 2002, 2: 85-161.

156. Wein AJ, P I (Editor) WSC, p.,. . Principles of pharmacological therapy: Practical drug treatment of voiding dysfunction in the female. Raz S, WB Saunders . *In Female Urology*, 1996: 283.
157. Wood AJ, Ouslander JG. Management of overactive bladder. *New England Journal of Medicine*, 2004, 350: 786-799.
158. Restorick JM, Mundy A. The Density of Cholinergic and Alpha and B Adrenergic Receptors in the Normal and Hyper-reflexic Human Detrusor. *British journal of Urology*, 1989, 63: 32-35.
159. Hampel C, Artibani W, Espuna Pons M, Haab F, Jackson S, Romero J, Gavart S, Papanicolaou S. Understanding the burden of stress urinary incontinence in Europe: a qualitative review of the literature. *European Urology*, 2004, 46: 15-27.
160. Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, Reilly K, Kopp Z, Herschorn S, Coyne K, Kelleher C, Hampel C, Artibani W. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. *European Urology*, 2006, 50: 1306-1315.
161. Lindholm P, Lose G. Terbutaline (Bricanyl®) in the treatment of female urge incontinence. *Urologia Internationalis*, 1986, 41: 158-160.
162. Rohner Jr TJ, Hannigan JD, Sanford EJ. Altered in vitro adrenergic responses of dog detrusor muscle after chronic bladder outlet obstruction. *Urology*, 1978, 11: 357-361.
163. Tsujii T, Azuma H, Yamaguchi T, Oshima H. A possible role of decreased relaxation mediated by β -adrenoceptors in bladder outlet obstruction by benign prostatic hyperplasia. *British Journal of Pharmacology*, 1992, 107: 803-807.
164. Smith D, Chapple C. In vitro response of human bladder smooth muscle in unstable obstructed male bladders: a study of pathophysiological causes. *Neurol Urodynamics*, 1994, 13: 5.

165. Hampel C, Dolber PC, Smith MP, Savic SL, THÜROFF JW, Thor KB, Schwinn DA. Modulation of bladder α 1-adrenergic receptor subtype expression by bladder outlet obstruction. *The Journal of Urology*, 2002, 167: 1513-1521.
166. Elbadawi A, Yalla S, Resnick N. Structural basis of geriatric voiding dysfunction. IV. Bladder outlet obstruction. *The Journal of Urology*, 1993, 150: 1681-1695.
167. Noël S, Claeys S, Hamaide A. Acquired urinary incontinence in the bitch: update and perspectives from human medicine. Part 2: the urethral component, pathophysiology and medical treatment. *The Veterinary Journal*, 2010, 186: 18-24.
168. Coit VA, Gibson IF, Evans NP, Dowell FJ. Neutering affects urinary bladder function by different mechanisms in male and female dogs. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 584: 153-158.
169. Yoshida H, Takagi S. Antioxidative effects of sesamol and tocopherols at various concentrations in oils during microwave heating. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79: 220-226.
170. Miraldi E, Ferri S, Mostaghimi V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 75: 77-87.
171. Aljancic I, Vajs V, Menkovic N, Karadzic I, Juranic N, Milosavljevic S, Macura S. Flavones and Sesquiterpene Lactones from *Achillea a. trita* subsp. *multifida*: Antimicrobial Activity. *Journal of Natural Products*, 1999, 62: 909-911.
172. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. *Herbal Medicine. Expanded Commission E Monographs*. Baskı. Integrative Medicine Communications, 2000.
173. Martínez M. *Las Plantas Medicinales De México*. Ediciones Botas, 1991.

174. Konyalioglu S, Karamenderes C. The protective effects of *Achillea L.* species native in Turkey against H-induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 102: 221-227.
175. Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2009, 17: 3229-3256.
176. Lehane AM, Saliba KJ. Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite. *BMC Research Notes*, 2008, 1: 26.
177. Saxena S, Pant N, Jain D, Bhakuni R. Antimalarial agents from plant sources. *Current Science*, 2003, 85: 1314-1329.
178. Murnigsih T, Matsuura H, Takahashi K, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y, Katakura K, Suzuki M, Kobayashi S, Yoshihara T. Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *The Journal of Veterinary Medical Science/the Japanese Society of Veterinary Science*, 2005, 67: 829-831.
179. Baretta IP, Felizardo RA, Bimbato VF, Santos MGJd, Kassuya CAL, Gasparotto Junior A, da Silva CR, de Oliveira SM, Ferreira J, Andreatini R. Anxiolytic-like effects of acute and chronic treatment with *Achillea millefolium L.* extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 140: 46-54.
180. Innocenti G, Vegeto E, Dall'Acqua S, Ciana P, Giorgetti M, Agradi E, Sozzi A, Fico G, Tomè F. In vitro estrogenic activity of *Achillea millefolium L.* *Phytomedicine*, 2007, 14: 147-152.
181. Dall'Acqua S, Bolego C, Cignarella A, Gaion RM, Innocenti G. Vasoprotective activity of standardized *Achillea millefolium* extract. *Phytomedicine*, 2011, 18: 1031-1036.

182. Benedek B, Geisz N, Jäger W, Thalhammer T, Kopp B. Choleric effects of yarrow (*Achillea millefolium* sl) in the isolated perfused rat liver. *Phytomedicine*, 2006, 13: 702-706.
183. Babaei M, Abarghoei ME, Akhavan MM, Ansari R, Vafaei AA, Taherian AA, Mousavi S, Toussy J. Antimotility effect of hydroalcoholic extract of yarrow (*Achillea millefolium*) on the guinea-pig ileum. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 2007, 10: 3673-3677.
184. Benetis R, Radušienė J, Jakštas V, Janulis V, Malinauskas F. Development of an RP-HPLC Method for the Analysis of Phenolic Compounds in *Achillea millefolium* L. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2008, 31: 596-610.
185. Packer L, Sies H. *Flavonoids and Other Polyphenols: Methods in Enzymology*. Academic Press, 2001.
186. Hodek P, Trefil P, Stiborová M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 2002, 139: 1-21.
187. Fang J, Zhou Q, Liu L-Z, Xia C, Hu X, Shi X, Jiang B-H. Apigenin inhibits tumor angiogenesis through decreasing HIF-1 α and VEGF expression. *Carcinogenesis*, 2006, 28: 858-864.
188. Shukla S, MacLennan GT, Flask CA, Fu P, Mishra A, Resnick MI, Gupta S. Blockade of β -catenin signaling by plant flavonoid apigenin suppresses prostate carcinogenesis in TRAMP mice. *Cancer Research*, 2007, 67: 6925-6935.
189. Lee W-J, Chen W-K, Wang C-J, Lin W-L, Tseng T-H. Apigenin inhibits HGF-promoted invasive growth and metastasis involving blocking PI3K/Akt pathway and β 4 integrin function in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2008, 226: 178-191

190. Osada M, Imaoka S, Funae Y. Apigenin suppresses the expression of VEGF, an important factor for angiogenesis, in endothelial cells via degradation of HIF-1 α protein. *FEBS Letters*, 2004, 575: 59-63.
191. Nicholas C, Batra S, Vargo MA, Voss OH, Gavrilin MA, Wewers MD, Guttridge DC, Grotewold E, Doseff AI. Apigenin blocks lipopolysaccharide-induced lethality in vivo and proinflammatory cytokines expression by inactivating NF- κ B through the suppression of p65 phosphorylation. *The Journal of Immunology*, 2007, 179: 7121-7127.
192. Henkels KM, Frondorf K, Gonzalez-Mejia M, Doseff AL, Gomez-Cambronero J. IL-8-induced neutrophil chemotaxis is mediated by Janus kinase 3 (JAK3). *FEBS Letters*, 2011, 585: 159-166.
193. Shanmugam K, Holmquist L, Steele M, Stuchbury G, Berbaum K, Schulz O, Benavente García O, Castillo J, Burnell J, Garcia Rivas V. Plant-derived polyphenols attenuate lipopolysaccharide-induced nitric oxide and tumour necrosis factor production in murine microglia and macrophages. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2008, 52: 427-438.
194. Piantelli M, Rossi C, Iezzi M, La Sorda R, Iacobelli S, Alberti S, Natali PG. Flavonoids inhibit melanoma lung metastasis by impairing tumor cells endothelium interactions. *Journal of Cellular Physiology*, 2006, 207: 23-29.
195. Birt D, Mitchell D, Gold B, Pour P, Pinch H. Inhibition of ultraviolet light induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by Apigenin, a plant flavonoid. *Anticancer Research*, 1996, 17: 85-91.
196. Lindenmeyer F, Li H, Menashi S, Soria C, Lu H. Apigenin acts on the tumor cell invasion process and regulates protease production. *Nutrition and Cancer*, 2001, 39: 139-147.

197. Chen D, Landis-Piwowar KR, Chen MS, Dou QP. Inhibition of proteasome activity by the dietary flavonoid Apigenin is associated with growth inhibition in cultured breast cancer cells and xenografts. *Breast Cancer Res*, 2007, 9: 80.
198. Jeyabal PVS, Syed MB, Venkataraman M, Sambandham JK, Sakthisekaran D. Apigenin inhibits oxidative stress-induced macromolecular damage in N-nitrosodiethylamine (NDEA)-induced hepatocellular carcinogenesis in Wistar albino rats. *Molecular Carcinogenesis*, 2005, 44: 11-20.
199. Slater AF. Chloroquine: Mechanism of drug action and resistance in plasmodium falciparum. *Pharmacology and Therapeutics*, 1993, 57: 203-235.
200. Gladman DD, Urowitz MB, Senecal JL, Fortin PJ, Petty RE, Esdaile JM, Carrette S, Edworthy SM, Smith CD, Thorne JC. Aspects of use of antimalarials in systemic lupus erythematosus. *Journal Rheumatology*, 1998, 25: 983-985.
201. Chiang G, Sassaroli M, Louie M, Chen H, Stecher VJ, Sperber K. Inhibition of HIV-1 replication by hydroxychloroquine: mechanism of action and comparison with zidovudine. *Clinical Therapeutics*, 1996, 18: 1080-1092.
202. Sperber K, Chiang G, Chen H, Ross W, Chusid E, Gonchar M, Chow R, Liriano O. Comparison of hydroxychloroquine with zidovudine in asymptomatic patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Clinical Therapeutics*, 1997, 19: 913-923.
203. Jeong JY, Choi JW, Jeon KI, Jue DM. Chloroquine decreases cell-surface expression of tumour necrosis factor receptors in human histiocytic U-937 cells. *Immunology*, 2002, 105: 83-91.
204. Misinzo G, Delputte PL, Nauwynck HJ. Inhibition of endosome-lysosome system acidification enhances porcine circovirus 2 infection of porcine epithelial cells. *Journal of Virology*, 2008, 82: 1128-1135.

205. Jing F, Liu M, Yang N, Liu Y, Li X, Li J. Relaxant effect of chloroquine in rat ileum: possible involvement of nitric oxide and BKCa. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013, 65: 847-854.
206. Famaey JP, Fontaine J, Reuse J. Inhibiting effects of morphine, chloroquine, nonsteroidal and steroidal anti-inflammatory drugs on electrically-induced contractions of guinea-pig ileum and the reversing effect of prostaglandins. *Agents and Actions*, 1975, 5: 354-358.
207. Olatunde IA. Quantitation of the degree of antagonism of chloroquine to histamine, acetylcholine and serotonin (PA₂ values). *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1970, 185: 66-70.
208. Shimoi K, Okada H, Furugori M, Goda T, Takase S, Suzuki M, Hara Y, Yamamoto H, Kinae N. Intestinal absorption of Luteolin and Luteolin 7-O- β -glucoside in rats and humans. *FEBS Lett*, 1998, 438: 220-224.
209. Lopez-Lazaro M. Distribution and biological activities of the flavonoid Luteolin. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2009, 9: 31-59.
210. Ashokkumar P, Sudhandiran G. Protective role of Luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2008, 62: 590-597.
211. Park CM, Jin K-S, Cho CW, Lee Y-W, Huh G-H, Cha Y-S, Song YS. Luteolin inhibits inflammatory responses by downregulating the JNK, NF- κ B, and AP-1 pathways in TNF- α activated HepG2 cells. *Food Science and Biotechnology*, 2012, 21: 279-283.
212. Wang T-T, Wang S-K, Huang G-L, Sun G-J. Luteolin Induced-growth Inhibition and Apoptosis of Human Esophageal Squamous Carcinoma Cell Line Eca109 Cells in vitro. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2012, 13: 5455-5461.

213. Chen Q, Liu S, Chen J, Zhang Q, Lin S, Chen Z, Jiang J. Luteolin induces mitochondria-dependent apoptosis in human lung adenocarcinoma cell. *Natural Product Communications*, 2012, 7: 29-32.
214. Garcia-Closas R, Agudo A, Gonzalez CA, Riboli E. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain. 1998.
215. Garcia-Closas R, Gonzalez CA, Agudo A, Riboli E. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes and Control*, 1999, 10: 71-75.
216. Marniemi J, Alanen E, Impivaara O, Seppänen R, Hakala P, Rajala T, Rönnemaa T. Dietary and serum vitamins and minerals as predictors of myocardial infarction and stroke in elderly subjects. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2005, 15: 188-197.
217. Lemanska K, van der Woude H, Szymusiak H, Boersma MG, Gliszczynska-Swiglo A, Rietjens IM, Tyrakowska B. The effect of catechol O-methylation on radical scavenging characteristics of quercetin and Luteolin-A mechanistic insight. *Free Radical Research*, 2004, 38: 639-647.
218. Jang S, Kelley KW, Johnson RW. Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105: 7534-7539.
219. Hu C, Kitts DD. Luteolin and Luteolin-7-O-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264. 7 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2004, 265: 107-113.
220. Törmäkangas L, Vuorela P, Saario E, Leinonen M, Saikku P, Vuorela H. In vivo treatment of acute Chlamydia pneumoniae infection with the flavonoids quercetin

- and Luteolin and an alkyl gallate, octyl gallate, in a mouse model. *Biochemical Pharmacology*, 2005, 70: 1222-1230.
221. Yi L, Li Z, Yuan K, Qu X, Chen J, Wang G, Zhang H, Luo H, Zhu L, Jiang P. Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells. *Journal of virology*, 2004, 78: 11334-11339.
222. Sartori M, Pretto J, Cruz AB, Bresciani L, Yunes R, Sortino M, Zacchino S, Cechinel Filho V. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*)(Asteraceae). *Die Pharmazie-International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, 58: 567-569.
223. Tasdemir D, Kaiser M, Brun R, Yardley V, Schmidt TJ, Tosun F, Rüedi P. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: in vitro, in vivo, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2006, 50: 1352-1364.
224. Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 25: 1197-1202.
225. Qi L, Pan H, Li D, Fang F, Chen D, Sun H. Luteolin improves contractile function and attenuates apoptosis following ischemia–reperfusion in adult rat cardiomyocytes. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 668: 201-207.
226. Prince P, Kamalakkannan N. Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2006, 20: 96-102.
227. Prince P, Kannan N. Protective effect of Rutin on lipids, lipoproteins, lipid metabolizing enzymes and glycoproteins in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2006, 58: 1373-1383.

228. Park HK, Kim SJ, Kwon DY, Park JH, Kim YC. Protective effect of quercetin against paraquat-induced lung injury in rats. *Life Sciences*, 2010, 87: 181-186.
229. Nithianantham K, Shyamala M, Chen Y, Latha LY, Jothy SL, Sasidharan S. Hepatoprotective potential of Clitoria ternatea leaf extract against paracetamol induced damage in mice. *Molecules*, 2011, 16: 10134-10145.
230. Hertog MG, Feskens EJ, Kromhout D, Hertog M, Hollman P, Hertog M, Katan M. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, 1993, 342: 1007-1011.
231. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 2000, 52: 673-751.
232. Nadaroglu H, Demir N, Demir Y. Antioxidant and radical scavenging activities of capsules of caper (*Capparis spinosa*). *Asian Journal of Chemistry*, 2009, 21: 5123-5134.
233. Niazmand S, Saberi Z. 2010. The chronotropic and inotropic effects of aqueous-ethanolic extract of *Achillea millefolium* on rat's isolated heart. *Pharmacologyonline*, 3: 791-798.
234. Nwaigwe CI, Adegunloye BJ, Sofola OA. Effect of chloroquine on the contractility of the smooth muscles of the rat uterus, trachea and urinary bladder. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 1997, 8: 279-286.
235. Jiang H, Xia Q, Wang X, Song J, Bruce I. Luteolin induces vasorelaxation in rat thoracic aorta via calcium and potassium channels. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2005, 60: 444-447.
236. Rotondo A, Serio R, Mulè F. Gastric relaxation induced by apigenin and quercetin: analysis of the mechanism of action. *Life Sciences*, 2009, 85: 85-90.

237. Capasso R, Borrelli F, Capasso F, Mascolo N, Izzo AA. Inhibitory effect of the antidepressant St. John's Wort (*hypericum perforatum*) on rat bladder contractility in vitro. *Urology*, 2004, 64: 168-172.
238. Soares PMG, de Freitas Pires A, de Souza EP, Assreuy AMS, Criddle DN. Relaxant effects of the essential oil of *Mentha pulegium* L. in rat isolated trachea and urinary bladder. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2012, 64: 1777-1784.
239. Çelebi F, Dogan A. Bazı Yerel Anestezik İlaçların (Lidokain, Bupivakain, Prilokain) Ratlarda Mesane Kasları Üzerine In Vitro Etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2000, 6: 47-53.
240. Çelebi F, Şengul E, Gelen V. The effects of aqueous extraction *Rosmarinus officinalis* L. on rat bladder contractions in vitro. *The FASEB Journal*, 2013.
241. Moradi M, Rafieian-Koupaei M, Imani-Rastabi R, Nasiri J, Shahrani M, Rabiei Z, Alibabaei Z. Antispasmodic effects of yarrow (*Achillea millefolium* l.) extract in the isolated ileum of rat. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2013, 10: 499-503.
242. Duarte J, Vizcaíno FP, Utrilla P, Jiménez J, Tamargo J, Zarzuelo A. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships. *General Pharmacology: The Vascular System*, 1993, 24: 857-862.
243. Amira S, Rotondo A, Mulè F. Relaxant effects of flavonoids on the mouse isolated stomach: Structure-activity relationships. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 599: 126-130.
244. Capasso A, Pinto A, Mascolo N, Capasso F. Reduction of agonist-induced contractions of guinea-pig isolated ileum by flavonoids. *Phytotherapy Research*, 1991, 5: 85-87.

245. Je HD, Kim H-D, La H-O. The inhibitory effect of apigenin on the agonist-induced regulation of vascular contractility via calcium desensitization-related pathways. *Biomolecules and Therapeutics*, 2014, 22: 100.
246. Gharzouli K, Holzer P. Inhibition of guinea pig intestinal peristalsis by the flavonoids quercetin, naringenin, apigenin and genistein. *Pharmacology*, 2003, 70: 5-14.
247. Mistry D, Garland C. Nitric oxide (NO)-induced activation of large conductance Ca^{2+} dependent K^{+} channels (BKCa) in smooth muscle cells isolated from the rat mesenteric artery. *British Journal of Pharmacology*, 1998, 124: 1131-1140.
248. Russo A, Fraser R, Adachi K, Horowitz M, Boeckxstaens G. Evidence that nitric oxide mechanisms regulate small intestinal motility in humans. *Gut*, 1999, 44: 72-76.
249. Wittmeyer V, Merrot T, Mazet B. Tonic inhibition of human small intestinal motility by nitric oxide in children but not in adults. *Neurogastroenterology and Motility*, 2010, 22: 1078-1282.
250. Aziba PI, Okpako DT. Effects of chloroquine on smooth muscle contracted with noradrenaline or high-potassium solutions in the rat thoracic aorta. *Journal Smooth Muscle Research*, 2003; 39: 31-37.
251. Van Den Broucke C, Lemli J. Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharmaceutisch Weekblad*, 1983, 5: 9-14.
252. Fler H, Verspohl E. Antispasmodic activity of an extract from *Plantago lanceolata* L. and some isolated compounds. *Phytomedicine*, 2007, 14: 409-415.
253. Revuelta M, Cantabrana B, Hidalgo A. Depolarization-dependent effect of flavonoids in rat uterine smooth muscle contraction elicited by CaCl_2 . *General Pharmacology: The Vascular System*, 1997, 29: 847-857.

254. Herrera MD, Zarzuelo A, Jiménez J, Marhuenda E, Duarte J. Effects of flavonoids on rat aortic smooth muscle contractility: structure-activity relationships. *General Pharmacology: The Vascular System*, 1996, 27: 273-277.
255. Capasso R, Borrelli F, Aviello G, Capasso F, Izzo AA. Inhibitory effect of the herbal antidepressant St. John's wort (*Hypericum perforatum*) on rat gastric motility. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2008, 376: 407-414.
256. Cimanga R, Mukenyi P, Kambu O, Tona G, Apers S, Totte J, Pieters L, Vlietinck A. The spasmolytic activity of extracts and some isolated compounds from the leaves of *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 127: 215-220.
257. Celebi F, Gelen V, Cinar D, Sengul E. The effect of rutin on overactive contractility of bladder smooth muscle in the model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *The FASEB Journal*, 2014, 28: 690.15.

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı : Emin ŞENGÜL Doğum tarihi : 25.07.1985 Doğum yeri : Tercan / ERZİNCAN Medeni hali : Evli Uyruğu : T.C. Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel : 0442 236 55 46- 0505 401 52 97 Faks : 0442 236 00 00 E-mail : emin.sengul@atauni.edu.tr</p>
Eğitim
<p>Lise : Tercan Çok Programlı Lisesi (2002) Lisans : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2004-2008) Doktora : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı (2010-...)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce : Orta derecede (ÜDS 56.25)</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-55

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.06.2013

ERZURUM

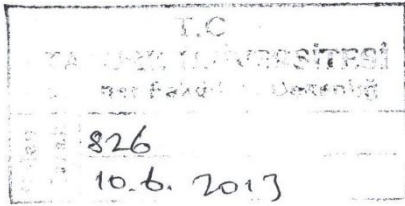
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 24.05.2013 tarih ve 36643897-475 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan “**Achillea Millefolium (Civanperçemi) Ekstraktlarının ve Bazı Biyolojik Aktif Bileşiklerinin İn Vitro Ortamda Rat Mesanesi Düz Kasları Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 31.05.2013 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 39 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.




Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan Vekili

Toplantı Tarihi : 31.05.2013

Toplantı Sayısı : 1

KARAR NO : 39- Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan “**Achillea Millefolium (Civanperçemi) Ekstraktlarının ve Bazı Biyolojik Aktif Bileşiklerinin İn Vitro Ortamda Rat Mesanesi Düz Kasları Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 24.05.2013 tarih ve 36643897-475 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM

Telefon : 0-442-236 08 80

Fax : 0-442-236 08 81

e-mail: hadyek@atauni.edu.tr