

# Deneyisel İnterstisyel Sistit Modellerinde Kimyasal Ajanların Tedavi Edici Rolü

Feriha Ercan, Şule Çetinel

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD., Haydarpaşa, İstanbul-Turkey

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Feriha Ercan

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD., Haydarpaşa, 34668, İstanbul-Turkey

Telefon / Phone: +90-216-348-0558 Faks / Fax: +90-216-348-0558 Elektronik posta adresi / E-mail address: eferiha@hotmail.com; fercan@marmara.edu.tr

Kabul tarihi / Date of acceptance: 24 Mayıs 2011 / May 24, 2011

## ÖZET:

Deneyisel interstisyel sistit modellerinde kimyasal ajanların tedavi edici rolü

Deneyisel interstisyel sistit (İS) protamin sülfat (PS) gibi kimyasal maddelerin intravezikal verilmesiyle, lipopolisakkarid gibi kimyasal maddelerin sistemik olarak uygulanmasıyla ya da soğuk, akut ve kronik stres gibi sistemik çevresel uyaranlarla oluşturulabilmektedir. Bu İS modellerinde kullanılan bir çok antioksidan ve antienflamatuvar ajanın yanı sıra afferent sinir lifleri denervasyonunun mast hücreleri salgılarını inhibe ettiği, mesane duvarında meydana gelen mast hücre degranülasyonunu ve ürotelyum hücreleri arasındaki bağlantıların açılmasını engellediği, P maddesi gibi nörotransmitterleri taşıyan afferent sinirlerin aktivasyonunu ve reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Yapılan deneyel çalışmalarda iyileştirici etkisi gösterilen kimyasal ajanların İS tedavilerine ışık tutması açısından önemlidir.

**Anahtar sözcükler:** Deneyisel, interstisyel sistit, mast hücreleri, enflamasyon, mesane, kimyasal ajanlar

## ABSTRACT:

A therapeutic role of chemical agents in experimental interstitial cystitis models

Experimental interstitial cystitis (IC) models can be set as intravesical installations of chemical substances such as protamin sulfate, systemic application of chemical substances such as lipopolysaccharides, or environmental stress stimulation like cold, acute/chronic stress models. In the studies regarding IC besides denervation of afferent nerve fibers, several antioxidant agents demonstrated a prominent regeneration as inactivation of mast cells, reconstitution of leaky tight junctions in urothelium. Those agents also prevent formation of reactive oxygen radicals, besides inactivation of afferent nerve fibers containing neurotransmitter like substance P. The chemical agents used in those experimental studies are promising for the future treatment models in IC.

**Key words:** Experimental, interstitial cystitis, mast cell, inflammation, urinary bladder, chemical agents

## GİRİŞ

Steril bir mesane hastalığı olan interstisyel sistit (İS) kadınlarda daha çok görülen ve idrara sık çıkma, suprapubik/pelvik ağrı gibi klinik semptomları olan steril bir mesane hastalığıdır. İS'e sebep olan teoriler arasında enfeksiyon, oto-immunite, idrarda toksik maddelerin varlığı ve psikiyatrik sebepler belirtilmiştir (1). Psikolojik ve fiziksel stresin ve menopoz öncesi dönemin (%40-50) semptomları çoğunlukla ağırlaştırdığı bildirilmiştir (2). İS'li bazı kadınlarda endometriozis ve kronik pelvik ağrı, yaklaşık %50'den fazlasında iltihabi barsak hastalığı, yaklaşık %30'unda da fibromiyalji ve romatoid artrit bulunduğu bildirilmiştir (3). Ülseratif tip olmayan İS'li hastaların biyopsilerinde değişik oranlarda steril mesane enflamasyonu vardır (4). İS'li hastaların

biyopsilerinde mukoza hasarı (5) ve aktive olmuş mast hücrelerinin sayısında artış (6) gösterilmiştir (7). İS'li hastalarda mast hücrelerinin sinir sonlanmalarının komşuluğunda (8) yerleştiği, bazılarının P maddesi (substance P=SP) pozitif olduğu (9) ve nörokinin (NK) reseptör ekspresyonunun yüksek olduğu (10) gösterilmiştir.

## Deneyisel İnterstisyel Sistit Modelleri

### Intravesikal instilasyonla oluşturulan mesane hasarı modelleri

Intravesikal mesane hasarı modellerinin kullanılmasını düşündüren sebeplerden biri İS'li hastaların idrarlarında toksik bazı maddelerin olabileceği düşüncesidir. Bu amaçla

yapılan çalışmalardan biri İS'li hastaların idrarlarını 20 cm H<sub>2</sub>O basıncıyla sağlıklı tavşanların mesanelerine verilmesi şeklindedir. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar tavşan mesanelerinde histopatolojik bulgular elde etmişler ancak sistitli hastalardaki gibi fonksiyonel benzerlikleri olmadığını gözlemişlerdir (11). Ancak bir başka çalışmada aynı protokol uygulanmış fakat mesane kapasitesinin %10 ve %20 si doldurulmuş ama üre permeabilitesinin ve mesane histopatolojisinin değişmediği gözlenmiştir (12). Mesanenin %90 ila %120 kapasiteyle doldurulduğu durumda ise boyar maddelerin ürotelyuma penetre olduğu gözlenmiştir (13). Bu çalışmalardan anlaşıldığı üzere mesane basıncının artmasına bağlı olarak ürotelyum permeabilitesindeki artış mesane yapısında bozukluklara sebep olmaktadır.

Toksinlerin mesaneye intravezikal olarak verilmesiyle oluşan değişiklikler incelenmiştir. Örneğin değişik konsantrasyonlardaki aseton, sıçanlarda (14), tavşanlarda (15) ve maymunlarda (16) sistit gelişimine sebep olmuştur. Yeni Zelanda tavşanına asidik fosfat tampon (pH=4,5) instilasyonu da sistit gelişimine sebep olmuştur (17). Bu tavşanlarda aşırı nötrofil birikimi ve ödem görülmüştür. %2.5'lik hardal yağıyla instilasyon ve mesaneyi germe (6.5-19.5 cm H<sub>2</sub>O) plazma ekstravazasyonunu arttırmıştır (18). Bu bulgulara göre kemosenitif afferent liflerin visseral ağrıda rol oynayabileceği belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada sıçanlara petrol yağı, hardal yağı ya da kroton yağı instile edildiğinde 72 saat içinde plazma ekstravazasyonunun çözüldüğü ancak lökosit sayısındaki artışın devam ettiği gösterilmiştir (19). Ürotelyum yüzeyini örten glikozaminoglikan (GAG) tabakasının hasarlanmasına sebep olan protamin sülfat (PS) instilasyonunun birçok çalışmada mesane histolojisini ve fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir (20,21). PS, GAG tabakasını ve permeabilite bariyerini bozarak ürotelyumun geçirgenliğinin artmasına ve idrardaki zararlı maddelere maruz kalmasına sebep olur. Bu maddeler ağrı uyarısını taşıyan C liflerinin aktivasyonunu stimüle ederek duysal semptomlara sebep olur, ki bu durum İS'li hastalarda da görülmektedir (22). PS instilasyonu ile oluşturulan mesane hasarında ürotelyumun yer yer döküldüğü, GAG tabakasının düzensizleştiği ve hücreler arası alanın genişlediği ve rutenyum kırmızısı ile yapılan boyamalarda rutenyum kırmızısının hücreler arası alana girdiği, mast hücre aktivasyonunun olduğu, oksidatif stres belirteci olan malondialdehidin yükseldiği ve endojen bir antioksidan olan glutatyon seviyesinin ise yükseldiği gösterilmiştir (Şekil 1) (23-25). PS

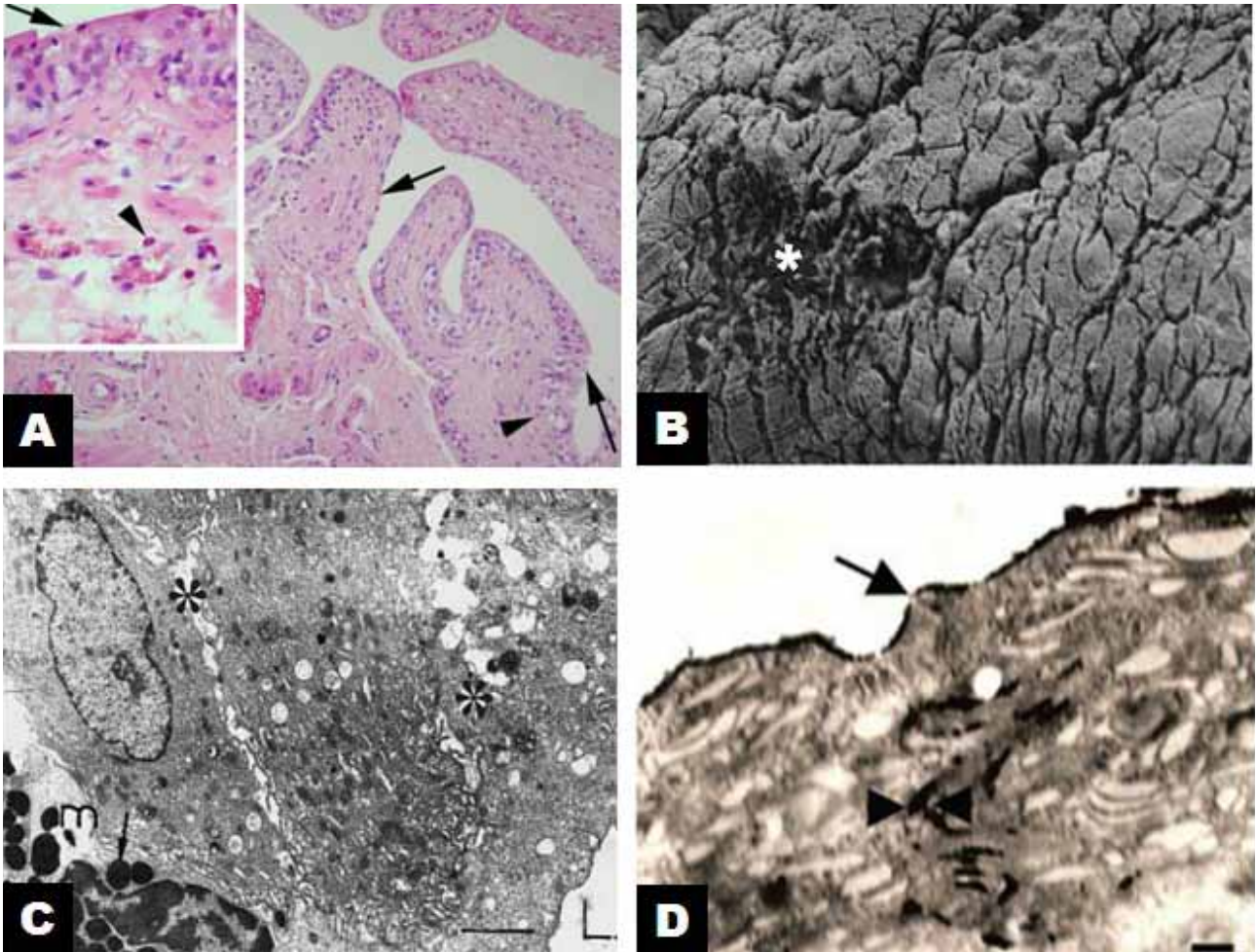
instilasyonundan sonra hasarlanan mesane epitelinin rejenerasyonun ve bariyer fonksiyonunun olduğu gösterilmiştir (26). PS instilasyonu ile GAG tabakasının hasarlanması sonucu idrardaki GAG seviyesinin artışına sebep olduğu ve bu artışın da hem GAG tabakasının hasarlanmasından hem de aynı zamanda hasarlanan ürotelyumun onarımı için artan GAG sentezinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (27).

### Sistemik stimülasyonla mesane hasarı modelleri

Intravesikal uygulanmış ajanların etkileri, sistitli hastaların idrarında toksinlerin olmayışı ve toksik ajanlarla histopatolojik ve fonksiyonel değişikliklerin oluşturulma çalışmalarıyla doğal olarak gelişen İS hastalığı arasında paralellik kurmayı güçleştirmektedir. Bundan dolayı diğer yollarla mesane hasarı modelleri oluşturulmuştur. Bunlardan bir tanesi P maddesi veya lipopolisakkarid enjeksiyonuyla deneysel sistit oluşturulmasıdır (28). Bu durumda plazma ekstravazasyonunun yükseldiği, ancak mast hücre defektli farelerde bu durumun görülmediği, böylece mast hücrelerinin enflamatuar reaksiyonlarda rol aldığını düşündürmektedir. Eğreltiotundaki toksinlerin hemorajik sistit yaptığı ve idrarın mesaneye ulaşımı engellendiğinde toksinlerin ürotelyumun bazal tarafında lezyonlara sebep olduğu gösterilmiştir (29).

### Çevresel stimülasyonla mesane hasarı modelleri

Intravesikal ve sistemik yollarla oluşturulan mesane hasarına benzer şekilde psikolojik ve fiziksel stresle de benzer hasarın olduğu farklı stres modelleri ile gösterilmiştir. Stres faktörlerinin İS semptomlarını kötüleştirdiği belirtilmiştir (30). Mast hücre aktivasyonu sonucu da mast hücrelerinden enflamasyonu başlatan çok sayıda proenflamatuar medyatörün salınarak enflamasyonu tetiklediği bildirilmiştir (31). Akut immobilizasyon stresi uygulanmış sıçanlarda mast hücre aktivasyonu olduğu belirtilmiştir. Immobilizasyon stresinin sıçan mesane mast hücrelerini aktive ettiği gösterilmiştir (32). Yine aynı stres modelinde artan mast hücre aktivasyonunun nörotensin (NT) reseptör antagonisti uygulamasıyla engellendiği gösterilmiştir (33). Akut soğuk hareketsizlik stresinin (34) ve kronik soğuk stresinin (35) ürotelyumda hasara, mast hücre artışına ve aktivasyonuna ve aynı zamanda sinir lifleri hacmi artışına (36) kronik sudan



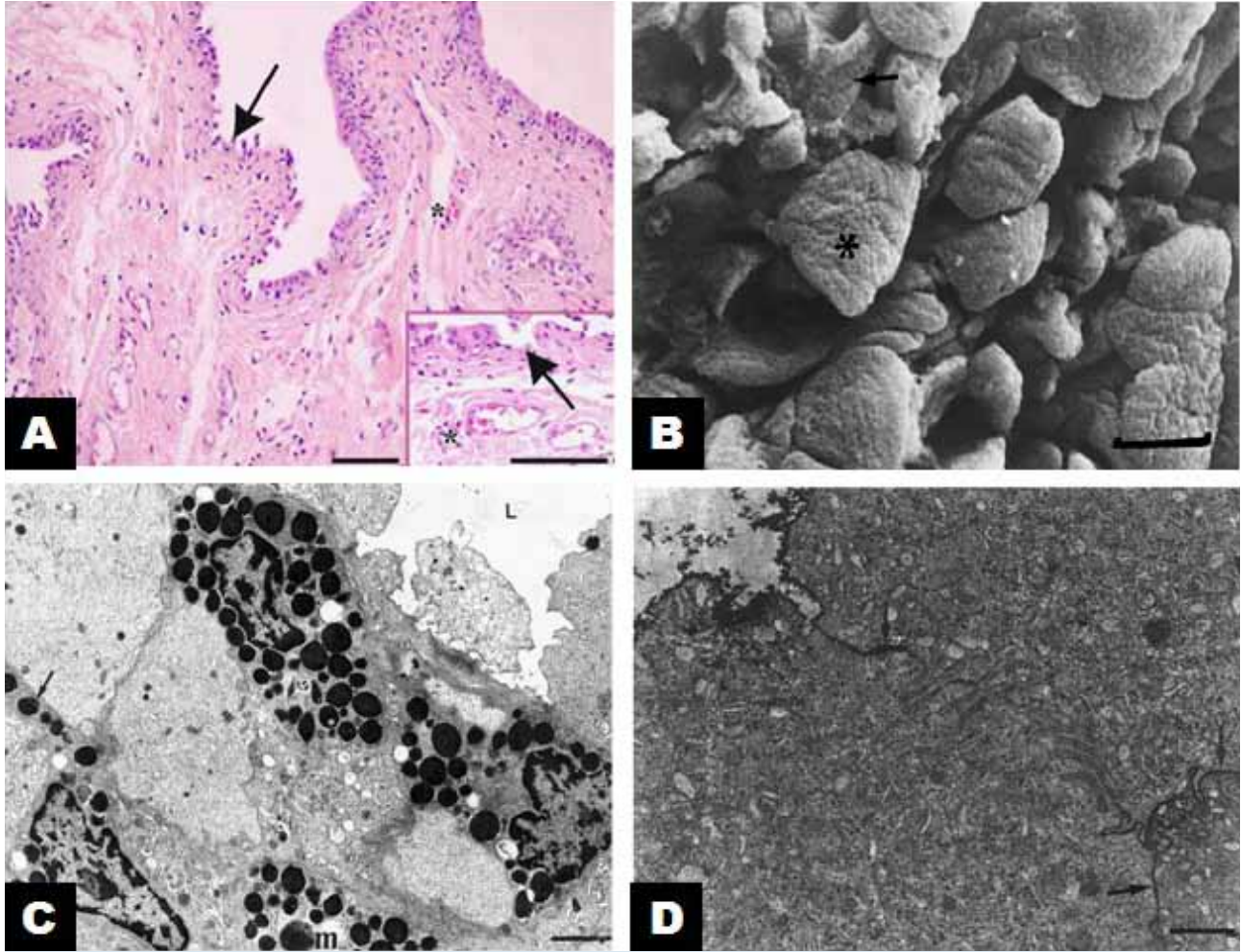
**Şekil 1: Sıçanlarda PS instilasyonu ile hasar oluşturulmuş mesane mukozası:** Işık mikroskopik incelemede (A) ürotelyumda dökülme (ok), lamina propriada enflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı) (41); taramalı elektron mikroskopik incelemede (B), lüminal yüzeyde ürotelyumun döküldüğü bölgeler (\*) ve ürotelyum hücreleri arasındaki bağlantılarda açılmalar (23); geçirimli elektron mikroskopu düzeyinde (C) hücrelerarası alanlarda genişlemeler (\*) ve ürotelyum hücreleri arasına göç etmiş mast hücresi (23); rutenyum kırmızısı ile boyalı kesitlerin geçirimli elektron mikroskopik (D) incelemesinde yüzeydeki GAG tabakasında düzensizlikler (ok) ve sıkı bağlantıların genişlemesi (ok başı) sonucu rutenyum kırmızısının hücreler arası alana sızdığı (25) görülmektedir.

kaçınma stresinin de aynı şekilde ürotelyum hasarına ve mast hücre aktivasyonuna sebep olduğu (37) (Şekil 2) gösterilmiştir. Akut soğuk immobilizasyon stresi ve P maddesi birlikte veya P maddesi tek başına uygulandığında mast hücre artışına sebep olduğu ve kapsaisin ile periferik sinir lifleri inhibisyonu (38) ve NK reseptör antagonisti uygulandığında bu artışın engellendiği bildirilmiştir (39). Deneysel çalışmalarda mesanede sinir lifleri ile mast hücre ilişkisi ortaya konulmuş İS gibi enflamatuvar hastalıkların stres şartlarında sinir liflerinin aktivasyonu üzerinden mast hücrelerini aktive ettiği ve böylece mesane semptomlarının da kötüleştiği düşünülmektedir.

### Kimyasal ajanların mesane hasarı modellerindeki koruyucu rolü

Çok sayıda kimyasal ajanın farklı mesane hasarı modellerinde koruyucu rolü olduğu gösterilmiştir. Bu ajanlar arasında periferik sinir denervasyonuna sebep olanlar, mast hücre sekresyonunu engelleyen inhibitörler, sentetik glikozaminoglikanlar, hormonlar ve antioksidanlar bulunmaktadır.

Mesane hasarı modelleri içinde en çok çalışılan modellerden biri olan PS ile hasar modellerinde de çok sayıda kimyasal ajanın iyileştirici etkilerine bakılmıştır. Bu ajanlar

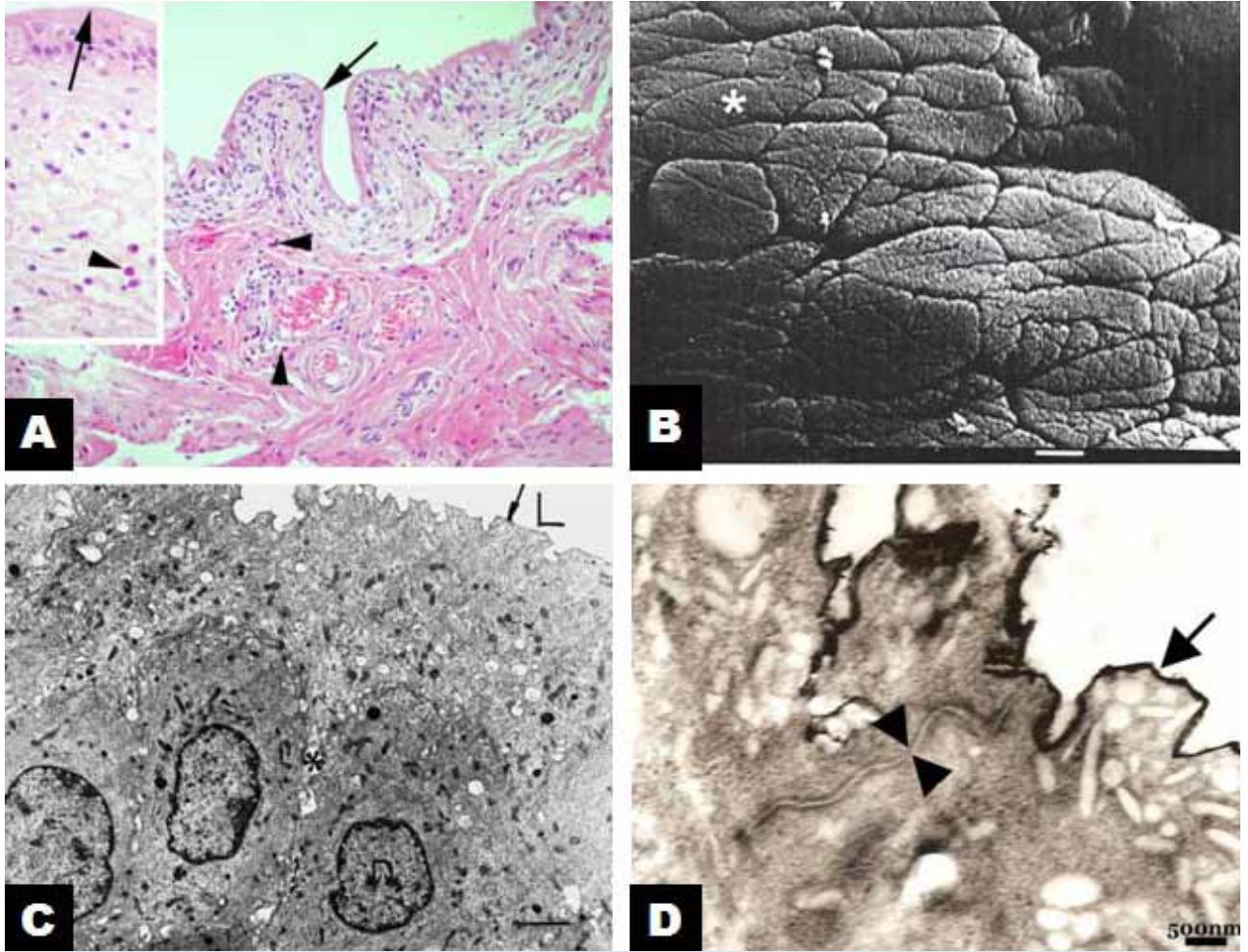


**Şekil 2: Sıçanlarda deneysel stres ile hasar oluşturulmuş mesane mukozası:** ışık mikroskopik incelemede (A) ürotelyumda dökülme (ok), lamina propriada enflamatuvar hücre infiltrasyonu (\*) (48); taramalı elektron mikroskopik incelemede (B), lüminal yüzeyde ürotelyumun döküldüğü (\*) bölgeler ve lamina proprianın ortaya çıktığı alanlar (ok) (31); geçirimli elektron mikroskopik incelemede (C) ürotelyum hücreleri arasına göç etmiş çok sayıda mast hücresi (m) (38); rutenyum kırmızısı ile boyalı kesitlerin geçirimli elektron mikroskopik incelemesinde (D) yüzeydeki GAG tabakasında düzensizlikler ve sıkı bağlantıların genişlemesi sonucu rutenyum kırmızısının hücreler arası alana sızdığı (ok) (31) görülmektedir.

arasında defibrotidin (23), antioksidan özelliklerinden dolayı melatoninin (24), antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı sulu sarımsak ekstresinin (40), taurinin (41) ve 2-merkaptotetan sülfonat (MESNA)'ın (42) ve bir lökotrien reseptör antagonisti olan montelukastın (25) ürotelyum yapısını koruduğu, mast hücre degranülasyonunu engellediği ve oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (Şekil 3). PS ile mesane hasarından sonra dimetilsülfoksit instilasyonunun mesane enflamasyonunu geriletmediği ve idrardaki hiyaluronik asit seviyesini düşürdüğü belirtilmiştir (43). PS hasarından sonra intravesikal nanokristalin gümüş (1%) uygulamasının idrar histamin seviyesine, mesane tümör nekroz faktör- alfa düzeyine ve mast hücre aktivasyonuna

herhangi bir toksik etki yapmadan engellediği gösterilmiştir (44). PS ve lipopolisakkarid ile mesane hasarı sonrası kitosan ve 5-asetil salisilik asit uygulamasının mesane enflamasyonunu geriletmediği gösterilmiştir (45). Yine PS instilasyonu sonrası oral uygulanan L-arjininin ürotelyum hasarını ve değişen kas kontraktilesini engellediği gösterilmiştir (46).

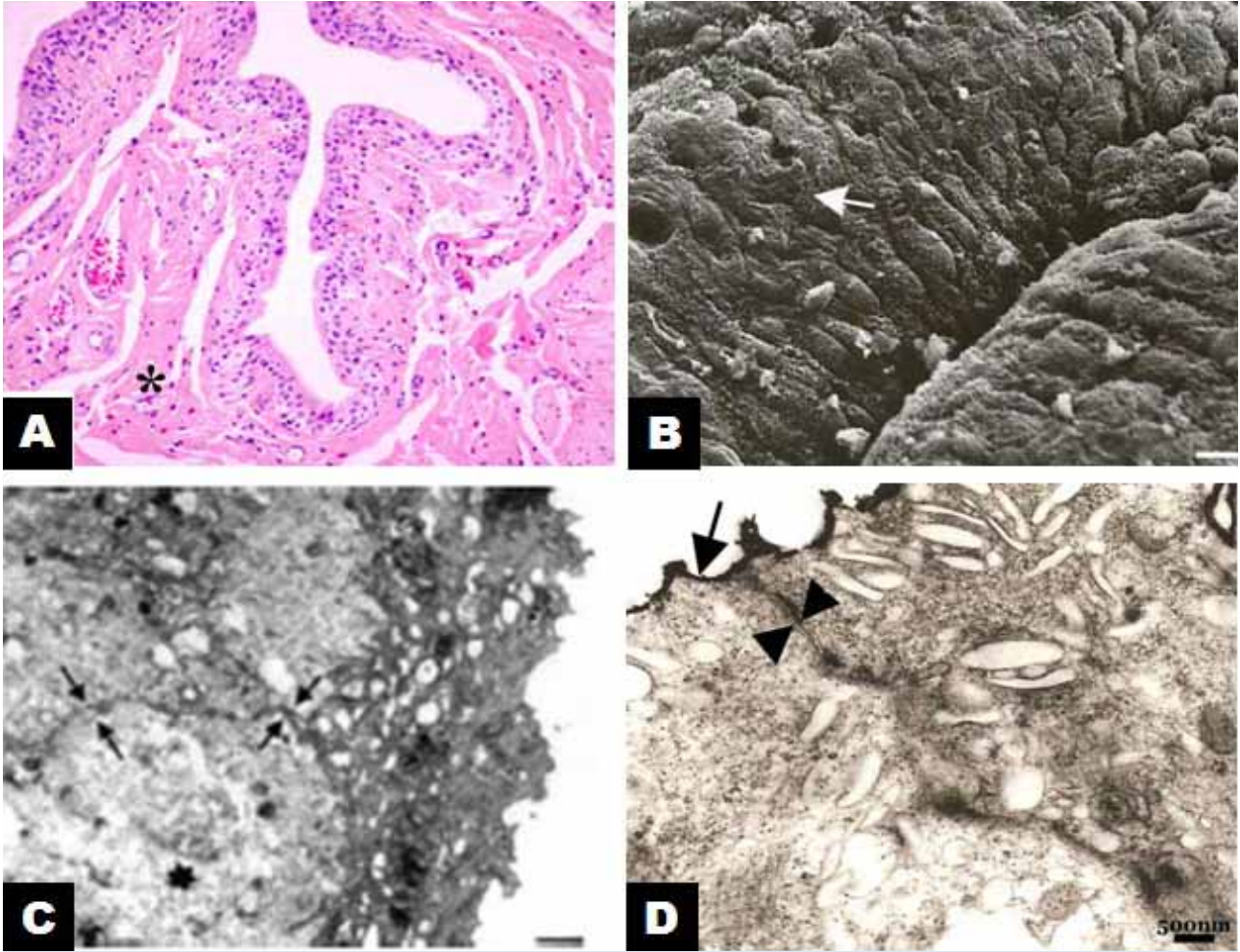
Soğuk ve hareketsizlik stresiyle oluşturulan mesane hasarı modellerinde hem sistemik hem de periferik olarak uygulanan kapsaisin mesanede meydana gelen morfolojik hasarı ve mast hücre degranülasyonunu engellediği gösterilmiştir (38). Bir başka çalışmada yine soğuk ve hareketsizlik stresinden önce kapsaisin uygulamasının mesane sinir



**Şekil 3: Sıçanlarda PS instilasyonu ile hasar oluşturulmuş mesane mukozasının kimyasal ajanlarla korunması:** Işık mikroskopik incelemede (A) ürotelyumun düzenli yapısı (ok), lamina propriada enflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma (ok başı) (42); taramalı elektron mikroskopik incelemede (B), düzenli ürotelyum yapısı (\*) (41); geçirimli elektron mikroskopik incelemede (C) ürotelyumun düzenli yapısı (ok) ve hücreler arası alanda hafif açılmalar (\*) (23), rutenyum kırmızısı ile boyalı kesitlerin geçirimli elektron mikroskopik incelenmesinde (D) düzenli GAG tabakası (ok) ve geçirimsiz sıkı bağlantılar (ok başı) (25) görülmektedir.

lifleri hacminde düşüşe sebep olduğu gösterilmiştir (36). Aynı model ile oluşturulan mesane hasarında P maddesi reseptör (NK 1R) antagonisti olan CP9994 sistemik ya da periferik uygulanması sonucu mesane ürotelyum hasarını ve mast hücre degranülasyonunu engellediği gösterilmiştir. P maddesi intraserebroventriküler uygulandığında mesane hasarı ve mast hücre degranülasyonu yaptığı gösterilmiştir. Buradan da P maddesi antagonistinin sinir lifleri inhibisyonunu gerçekleştirerek mesane hasarını engellediği belirtilmiştir (39). Bir başka stres modeli olan sudan kaçınma stresi ile oluşturulan mesane hasarı modelinde, melatonin (37), sulu sarımsak ekstresinin (47), taurinin (48) ve bir lökotrien reseptör antagonisti olan montelukastın (gösteril-

memiş veri) ürotelyum yapısını koruduğu, mast hücre degranülasyonunu engellediği ve oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (Şekil 4). Theoharides ve arkadaşları (49) yaptıkları çalışmalarda immobilizasyon stresiyle meydana getirilen mesane hasarında mast hücre aktivasyonunu dolayısıyla proenflamatuvar mediyatörlerin salınımını engelleyen birçok kimyasal ajanın mesane enflamasyonu ve mast hücre aktivasyonunu engelleyerek İS hastalarında kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Yeni tedavi yöntemlerinde mesane duysal sinir stimülasyonunu düzenleyen, nörojenik mast hücre aktivasyonunu inhibe eden ya da ürotelyum sitoproteksiyonunu sağlayan ve anti enflamatuvar aktivitesi olan ilaçların kombinasyonlarına odaklanılmıştır (50). Bunlar ara-



**Şekil 4: Sıçanlarda deneysel stres ile hasar oluşturulmuş mesane mukozasının kimyasal ajanlarla korunması:** Işık mikroskopik incelemede (A) ürotelyumun düzenli yapısı, lamina propriada enflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma (\*) (47); taramalı elektron mikroskopik incelemede (B), düzenli ürotelyum yapısı (ok) (48); geçirimli elektron mikroskopik incelemede (C) ürotelyumun düzenli yapısı ve hücreler arası alanda hafif açılmalar (ok) (25), rutenyum kırmızısı ile boyalı kesitlerin geçirimli elektron mikroskopik incelenmesinde (D) düzenli GAG tabakası (ok) ve geçirimsiz sıkı bağlantılar (ok başı) (yayınlanmamış veri) görülmektedir.

sında intravesikal sodyum hiyaluronatın (51), nörotensin antagonisti SR48692'nin (33), kortikotropin saliverici hormon reseptörü 2 antagonistinin (52), immobilizasyon stre-siyle meydana gelen mesane hasarında mast hücre aktivasyonunu önleyerek koruyucu etki yaptıklarını göstermişlerdir.

## SONUÇ

Sonuç olarak gerek intravesikal kimyasal ajanlar, gerek sistemik kimyasal ajanlar, gerekse de fizyolojik ya da psikolojik stres uyaranları uygulayarak oluşturulan mesane hasarı modellerinde temel olarak mesane ürotelyumunda GAG

tabakasının ve sıkı bağlantıların, nöroimmunoendokrin yol ile mast hücre aktivasyonunun önemli olduğu gösterilmiştir. Mast hücre aktivasyonuyla birçok proenflamatuvar medyatör mesane duvarının hasarlanmasına sebep olmaktadır. Dolayısıyla GAG tabakasını destekleyecek sentetik GAG'lar, periferik sinir liflerinin denervasyonu ya da nörotransmitter salınımını ve mast hücre aktivasyonunu engellemek mesane duvarında meydana gelecek hasarı engelleyebilmektedir. Halen en etkili tedavi edici ajanın/ajanların hangisi olabileceği yönündeki çalışmalar devam etmektedir. Deneysel çalışmalardan elde edilen veriler interstisyel sistit tedavilerinde yeni terapötik ajanların kullanılmasına imkan vermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Gillenwater JY, Wein AJ. Summary of the national institute of arthritis, diabetes, digestive and kidney diseases workshop on interstitial cystitis, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, August 28–29, 1987, J Urol 1988; 140:203–206.
2. Curhan GC, Speizer FE, Hunter DJ, Curhan SG, Stampfer MJ. Epidemiology of interstitial cystitis: a population based study. J Urol. 1999; 161(2): 549-552.
3. Koziol JA, Clark DC, Gittes RF, Tan EM. The natural history of interstitial cystitis: a survey of 374 patients. J Urol. 1993; 149 (3): 465-469.
4. Johansson S, Fall M. Clinical features and spectrum of light microscopic changes in interstitial cystitis. J Urol. 1990; 143 (6): 1118-1124.
5. Parsons CL, Lilly JD, Stein P. Epithelial dysfunction in nonbacterial cystitis (interstitial cystitis). J Urol. 1991; 145 (4): 732-735.
6. Theoharides TC, Sant GR, El-Mansoury M, Letourneau RJ, Ucci JAA, Mearns JEM. Activation of bladder mast cells in interstitial cystitis: a light and electron microscopic study. J Urol. 1995; 153 (3 Pt 1): 629-636.
7. van de Merwe JP, Nordling J, Bouchelouche P, Cervigni M, Daha LK, Elneil S, Fall M, Hohlbrugger G, Irwin P, Mortensen S, van Ophoven A, Osborne JL, Peeker R, Richter B, Riedl C, Sairanen J, Tinzl M, Wyndaele JJ. Diagnostic criteria, classification, and nomenclature for painful bladder syndrome/interstitial cystitis: an ESSIC Proposal. Eur Urol. 2008; 53 (1): 60-67.
8. Christmas TJ, Rode J, Chapple CR, Milroy EJ, Turner-Warwick RT. Nerve fibre proliferation in interstitial cystitis. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1990; 416 (5): 447-451.
9. Pang X, Marchand J, Sant GR, Kream RM, Theoharides TC. Increased number of substance P positive nerve fibers in interstitial cystitis. Br J Urol. 1995; 75(6): 744-750.
10. Marchand JE, Sant GR, Kream RM. Increased expression of substance P receptor-encoding mRNA in bladder biopsies from patients with interstitial cystitis. Br J Urol. 1998; 81 (2): 224-228.
11. Ruggieri MR, Hanno PM, Whitmore KE, Balagani RK. Effect of Repeated instillation of interstitial cystitis urine on the rabbit urinary bladder. Urology 1993; 42: 646-652.
12. Kohn IJ, Filer-Maerten S, Whitmore K E, Hanno PM, Ruggieri MR. Lack of effect following repeated in vivo exposure of the rabbit urinary bladder to urine from interstitial cystitis patients at low infusion volumes. NeuroUrol Urodyn. 1998; 17: 147-152.
13. Monson F C, Wein A J, McKenna B A: Indigocarmine as a quantitative indicator of urothelial integrity. J Urol. 1991; 145: 842-845.
14. Shimizu I, Kawashima K, Hosoki K: Urodynamics in acetone-induced cystitis of anesthetized rats. NeuroUrol Urodyn. 1999; 18: 115-127.
15. Kato K, Kitada S, Longhurst PA, Wein AJ, Levin RM. Time-course of alterations of bladder function following acetone- induced cystitis. J Urol. 1990; 144: 1272-1276
16. Ghoniem GM, Shaaban AM, Clarke M. Irritable bladder syndrome in an animal model: a continuous monitoring study. NeuroUrol Urodyn. 1995; 14: 657-665.
17. Elgebaly SA, Allam ME, Walzak MP Jr, D, Gillies C, Yamase H. Urinary neutrophil chemotactic factors in interstitial cystitis patients and a rabbit model of bladder inflammation. J Urol. 1992; 47: 1382-1387.
18. Koltzenburg M, McMahon S B. Plasma extravasation in the rat urinary bladder following mechanical, electrical and chemical stimuli - evidence for a new population of chemosensitive primary sensory afferents. Neurosci Lett. 1986; 72: 352-356.
19. McMahon SB, Abel C. A model for the study of visceral pain states - chronic inflammation of the chronic decerebrate rat urinary-bladder by irritant chemicals. Pain 1987; 28: 109-127.
20. Niku SD, Stein PC, Scherz HC, Parsons CL. A new method for cytodestruction of bladder epithelium using protamine sulfate and urea. J Urol. 1994; 152: 1025-1028.
21. Lavelle J, Meyers S, Ramage R, Doty D, Bastacky S, Apodaca G, Zeidel M. Protamine sulfate-induced cystitis: a model of selective cytodestruction of the urothelium. Urology 2001; 57(suppl): 113.
22. Parsons CL. The role of the urinary epithelium in the pathogenesis of interstitial cystitis/prostatitis/urethritis. Urology 2007; 69 (4 Suppl.): 9-16.
23. Aydin H, Ercan F, Çetinel Ş, ŞanT. Morphological examination of the effects of defibrotide on experimentally induced bladder injury and its relation to interstitial cystitis. Urol Res. 2001; 29: 263-271.
24. Çetinel Ş, Ercan F, Ersoy Y, Şehirli Ö, Şirvanci S, Şener G, ŞanT. The ameliorating effect of melatonin on protamine sulfate induced bladder injury and its relation to interstitial cystitis. J Urol. 2003; 169: 1564-1568.
25. Çetinel S, Canilloğlu YE, Cikler E, Sener G, Ercan F. Leukotriene D4 receptor antagonist montelukast alleviates protamine sulphate-induced changes in rat urinary bladder. BJU Int. 2010; 107 (8): 1320-1325.
26. Lavelle J, Meyers S, Ramage R, Bastacky S, Doty D, Apodaca G, Zeidel ML. Bladder permeability barrier: recovery from selective injury of surface epithelial cells. Am J Physiol Renal Physiol. 2002; 283: F242-F253.
27. Soler R, Bruschini H, Martins JR, Dreyfuss JL, Camara NO, Alves MT, Leite KR, Truzzi JC, Nader HB, Srougi M, Ortiz V. Urinary glycosaminoglycans as biomarker for urothelial injury: Is it possible to discriminate damage from recovery? Urology, , 2008, 72 (4): 938-942.
28. Bjorling DE, Jerde TJ, Zine MJ, Busser BW, Saban MR, Saban R. Mast cells mediate the severity of experimental cystitis in mice. J Urol. 1999; 162: 231-236.
29. Yoshida M, Saito T. Non-urotoxic induction of hemorrhagic cystitis by braxin C, a bracken toxin, in guinea pigs. J Toxicol Sci. 1994; 19: 55-59.
30. Theoharides TC, Sant GR: The role of the mast cell in interstitial cystitis. Urol Clin N Am 1994; 21: 41-53.
31. Ercan F, Çetinel Ş. Role of mast cells in inflammation: Review of studies on human and experimental animal models. Marmara Med J. 2008; 21(2):179-186.
32. Spanos C, Pang XZ, Ligris K, Letourneau R, Alferes L, Alexacos N, Sant GR, Theoharides TC. Stress-induced bladder mast cell activation: implications for interstitial cystitis. J Urol; 1997; 157: 669- 672.

33. Alexacos N, Pang X, Boucher W, Cochrane DE, Sant GR, Theoharides TC. Neurotensin mediates rat bladder mast cell degranulation triggered by acute psychological stress. *Urology* 1999; 53(5):1035-1040.
34. Ercan F, Şan T, Çavdar S. The effects of coldrestraint stress on urinary bladder wall: comparing with interstitial cystitis morphology. *Urol Res.* 1999; 27(6): 454-462.
35. Demir A, Onol FF, Ercan F, Tarcan T. Effect of cold induced stress on rat bladder tissue contractility and histomorphology. *NeuroUrol Urodyn.* 2007; 26(2): 296-301.
36. Ercan F, Çetinel Ş, Erin N, Aydin H, Hürdağ C, Parker T, Parker K, Mayhew T. The volume of nevre fibers in the stress-induced urinary bladder of adult rats following capsaicin treatment. *Urol Int* 2003; 71(4): 393-398.
37. Cetinel S, Ercan F, Cikler E, Contuk G, Sener G. Protective effect of melatonin on water avoidance stress induced degeneration of the bladder. *J Urol.* 2005; 173(1): 267-270.
38. Ercan F, Erin N, Oktay Ş. Role of afferent neurons in stress induced degenerative changes of the urinary bladder. *J Urol.* 2001; 165(1): 235-239.
39. Ercan F, Akici A, Ersoy Y, Hurdag C, Erin N. Inhibition of substance P activity prevents stres induced bladder damage. *Regul Pept.* 2006; 133 (1-3): 82-89.
40. Zeybek A, Çikler E, Saglam B, Ercan F, Çetinel Ş, Şener G. Aqueous garlic extract inhibits protamine sulfate-induced bladder damage. *Urol Int.* 2006; 76 (2): 173-179.
41. Zeybek Z, Saglam B, Cikler E, Cetinel S, Ercan F, Sener G. Protective effects of taurine on protamine sulfate induced bladder damage. *World J Urol.* 2006; 24(4): 438-444.
42. Sağlam B, Çikler E, Zeybek A, Çetinel Ş, Ercan F, Şener G. Protective effects of 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) on protamine sulfate induced bladder damage. *Marmara Med J.* 2005; 18 (1): 6-12.
43. Soler R, Bruschini H, Truzzi JC, Martins JR, Camara NO, Alves MT, Leite KR, Nader HB, Srougi M, Ortiz V. Urinary glycosaminoglycans excretion and the effect of dimethyl sulfoxide in an experimental model of non-bacterial cystitis. *Int Braz J Urol.* 2008; 34(4): 503-511.
44. Boucher W, Stern JM, Kotsinyan V, Kempuraj D, Papaliodis D, Cohen MS, Theoharides TC. Intravesical nanocrystalline silver decreases experimental bladder inflammation. *J Urol.* 2008; 179 (4): 1598-1602.
45. Jordan JL, Henderson S, Elson CM, Zhou J, Kydonieus A, Downie J, Lee TD. Use of a sulfated chitosan derivative to reduce bladder inflammation in the rat. *Urology.* 2007; 70(5): 1014-1018.
46. Özgür A, Önel FF, Ercan F, Tarcan T: Prophylactic role of oral L-Arginine on histological and contractile changes in a rat chronic bladder injury model. *Urologia Int* 2008; 347-352.
47. Saglam B, Cikler E, Zeybek A, Cetinel S, Sener G, Ercan F. An aqueous garlic extract alleviates water avoidance stress-induced degeneration of the urinary bladder. *BJU Int.* 2006; 98(6): 1250-1254.
48. Zeybek A, Saglam B, Cikler E, Cetinel S, Ercan F, Sener G. Taurine ameliorates stress-induced degeneration of the urinary bladder. *Acta Histochem.* 2007; 109 (3): 208-214.
49. Theoharides TC, Cochrane DE. Critical role of mast cells in inflammatory diseases and the effect of acute stress. *J Neuroimmunol.* 2004; 146 (1-2): 1-12.
50. Theoharides TC, Sant GR. New agents for the medical treatment of interstitial cystitis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001; 10(3): 521-546.
51. Boucher WS, Letourneau R, Huang M, Kempuraj D, Green M, Sant GR, Theoharides TC. Intravesical sodium hyaluronate inhibits the rat urinary mast cell mediator increase triggered by acute immobilization stress. *Urol.* 2002; 167 (1): 380-384.
52. Boucher W, Kempuraj D, Michaelian M, Theoharides TC. Corticotropin-releasing hormone-receptor 2 is required for acute stress-induced bladder vascular permeability and release of vascular endothelial growth factor. *BJU Int.* 2010; 106(9): 1394-1399.