



## Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Hemorajik Sistitte Mesane Kontraktilitesi ve Histopatolojisi Üzerine Rutin'in Etkileri

Volkan GELEN<sup>1</sup>✉, Emin ŞENGÜL<sup>2</sup>, Serkan YILDIRIM<sup>3</sup>, Fikret ÇELEBİ<sup>2</sup>, Ali ÇINAR<sup>2</sup>

1. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
25.12.2017	04.05.2018	25.12.2018

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**  
**Gelen V, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A:** Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Hemorajik Sistitte Mesane Kontraktilitesi ve Histopatolojisi Üzerine Rutin'in Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13 (3): 337-346, 2018. DOI:10.17094/ataunivbd.370609

**Öz:** Bu çalışmada, ratlarda Cyclophosphamide (CP) ile indüklenen hemorajik sistitte izole mesane düz kas kontraksiyonları ve mesane histopatolojisi üzerine Rutin'in etkileri araştırıldı. Çalışmada 24 adet erişkin dişi Sprague Dawley rat kullanıldı ve ratların ağırlıkları ortalama 200-250 gramdı. Dört deney grubu oluşturuldu ve her bir grupta 6 rat vardı. Kontrol ve CP grubuna 7 gün intraperitoneal (ip) serum fizyolojik uygulandı. Ayrıca, CP grubuna serum fizyolojik uygulamasının 5. günü tek doz CP (150 mg/kg, ip) enjekte edildi. Rutin uygulanan gruplara serum fizyolojikte çözdürülmüş Rutin (50 mg/kg, ip) 7 gün enjekte edildi. Rutin+CP grubuna, Rutin uygulamasının 5. günü tek doz CP uygulandı. Deneysel uygulamanın 8. günü ratlar anestezi eşliğinde dekapite edilerek mesaneleri izole edildi. İzole mesane düz kas şeritlerinde Asetilkolin (ACh) ( $10^{-4}$  M) ve Potasyum Klorür (KCl) (60 mM) ile indüklenen kontraksiyon değerleri elde edildi. Ayrıca mesaneler hematoksilen eozin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. CP grubundaki ratlarda ACh ve KCl ile indüklenen *in vitro* kontraksiyonların arttığı fakat istatistiksel önem arz etmediği ( $P>0.05$ ) ve Rutin uygulamasının artan kontraksiyon cevaplarını azalttığı belirlendi. Histopatolojik incelemede mesane lümeninde epitel döküntü, mukoza epitelinde deskuamasyon, koagulasyon nekrozu ve şiddetli düzeyde eritrosit görülürken, Rutin'in bu değişiklikleri azalttığı görüldü. Sonuç olarak; CP ile indüklenen hemorajik sistitte mesane kontraktilitesi ve histopatolojisi üzerine Rutin uygulamasının protektif etkili olduğu belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Histopatoloji, Rutin, Siklofosfamid, Sistit, Rat.

## Effects of Rutin on Bladder Contractility and Histopathology in Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis in Rats

**Abstract:** In this study, the effects of Rutin on the isolated urinary bladder smooth muscle contractions and bladder histopathology in Cyclophosphamide (CP)-induced hemorrhagic cystitis in rats were investigated. In study, twenty-four adult female Sprague Dawley rats were used and the average weight of the rats was 200-250 g. Four experimental groups were formed and each group had 6 rats. The control and CP groups were administered intraperitoneally (ip) physiologic saline solution for 7 days. Also, CP group was injected the single dose of CP (150 mg/kg, ip) on the fifth day of saline administration. The Rutin application groups, Rutin (50 mg/kg, ip) dissolved in physiological saline were injected for 7 days. The Rutin+CP group was administered a single dose of CP on the fifth day of Rutin administration. On the 8th day of the experimental procedure, the rats were decapitated in the presence of anesthesia and their bladders were isolated. The contraction values induced by Acetylcholine (ACh) ( $10^{-4}$  M) and Potassium Chloride (KCl) (60 mM) in isolated bladder smooth muscle strips were obtained. Besides, urinary bladders were performed the histopathologic evaluation by staining with hematoxylin eosin. It was determined that the increased *in vitro* contractions induced by ACh and KCl in the CP group rats but not statistically significant ( $P>0.05$ ) and Rutin administration was reduced the increased contraction responses. Histopathological examination was seen that Rutin reduced these changes while epithelial rash in the bladder lumen, desquamation in the mucosal epithelium, coagulation necrosis and severe erythrocyte. In conclusion, in CP-induced hemorrhagic cystitis was determined to be a protective effect of Rutin application on bladder contractility and histopathology.

**Keywords:** Cyclophosphamide, Cystitis, Histopathology, Rat, Rutin.

✉ Volkan GELEN

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.  
e-posta: gelen\_volkan@hotmail.com

## GİRİŞ

**K**emoterapotik ajanlar temel olarak malignitelerin tedavisinde kullanılırlar (1). Antikanser bir ajan olan Cyclophosphamide (CP) meme ve akciğer kanseri, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit ve multiple sklerozis gibi malignite ve hastalıkların tedavisinde sıklıkla başvurulan bir kemoterapotiktir (2). CP'nin hepatotoksosite (3), nefrotoksosite (4), kardiyotoksosite (5), akciğer toksisitesi (6) ve gonadal toksite (7) gibi yan etkileri bu ajanın kullanımını sınırlamaktadır. CP'nin metaboliti olan akrolein bileşiği, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine ve lipid peroksidasyonunun artmasına sebep olmaktadır (8). Akrolein bileşiği doku ve hücrelerde toksik etkilere sebep olurken, CP'nin antineoplastik etkileri fosforamid mustartı ile oluşmaktadır (9). CP'nin farklı organ toksisitelerinin yanı sıra, hemorajik sistit, mesane fibrozisi ve nekrozu gibi ürolojik yan etkileri de bulunmaktadır (10,11). CP'nin indüklediği hemorajik sistitin oluşum mekanizmasının tam olarak bilinmemesine karşın, akrolein bileşiğinin oksidatif stresi indükleyerek sistit oluşumuna neden olduğuna inanılmaktadır (12). CP ile indüklenen hemorajik sistit, mesane kapasitesinde azalma, mesane düz kasının kontraksiyonlarında artma ve küçük volümlerde sık ürinyasyon ile karakterizedir (13,14). Ayrıca mesanede ciddi ödem oluşumu ve mukozal hematumlu hemorajiler belirlenen değişikliklerden bazılarıdır (15). Son yıllarda antikanser ajanların organizmadaki yan etkileri üzerine bitkilerin yapısında bulunan biyolojik aktif bileşiklerin etkileri ile alakalı yoğun bir şekilde çalışmalar yapılmaktadır. Bitkilerin yapısında bulunan flavonoidler (16), antikanserojen ajanların yan etkilerinin önlenmesinde veya azaltılmasında ve farklı sebeplerle oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli rol oynarlar (17). Meyve sularının ve sebzelerin yapısında bolca bulunan Rutin bir flavonoid bileşik olup, antiinflamatuvar (18),

antitümör (19), antimitojenik (20), bağışıklık sistemini düzenleyici (21) ve kalp kasını koruyucu (22) etkileri vardır. Rutin bileşiğinin antikanserojen ajanların yan etkilerini önleyici veya azaltıcı etkileri bilinmektedir. Rutin uygulamasının, CP ile indüklenen reproduktif toksisiteyi (23), oksidatif stresi ve inflamasyonu (24) azalttığı rapor edilmiştir. Literatür taramalarımız sonucunda, ratlarda CP ile indüklenen hemorajik sistitte Rutin'in etkileri ile alakalı bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu doğrultuda yapmış olduğumuz çalışmada, CP ile indüklenen hemorajik sistitte, mesane düz kas kontraktilesi ve mesane histopatolojisi üzerine güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkili bir bileşik olan Rutin'in etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Karar No: 2013/131).

### Kullanılan Deneyle Hayvanları

Çalışmada Sprague Dawley cinsi ağırlıkları ortalama 200-250 gr olan 24 adet erişkin gebe olmayan dişi rat kullanıldı. Ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve deney gününe kadar bu merkezde barındırıldı. Bütün hayvanlar standart laboratuvar şartlarına tabi tutulup su ve yem ad libitum verildi.

### Deneysel Uygulamalar

Her bir grup 6 adet rat olmak üzere Kontrol, CP, Rutin+CP ve Rutin olmak üzere dört ana deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubuna 7 gün boyunca intraperitoneal (ip) serum fizyolojik enjekte edildi. CP grubuna 7 gün ip serum fizyolojik uygulandı ve uygulamanın 5. günü tek doz CP (150 mg/kg, ip) enjekte edildi. Rutin+CP grubundaki ratlara 7 gün serum fizyolojikte çözdürülmüş Rutin (50mg/kg, ip)

uygulandı ve Rutin uygulamasının 5. günü tek doz CP (150 mg/kg, ip) verildi. Rutin grubunun ratlarına ise 7 gün serum fizyolojikte çözdürülmüş Rutin (50mg/kg, ip) uygulaması yapıldı. Deneysel uygulamaların 8. Günü (CP enjeksiyonundan 72 saat sonra) ratlar ketamin hidroklorür (Ketalar: 75mg/kg) ve ksilazin (Rompun: 15 mg/kg) anestezisi eşliğinde servikal dislokation yöntemi ile ötenazi edildiler.

#### **İzole Mesane Kesitlerinin Hazırlanması ve *In Vitro* Kasılımların Değerlendirilmesi**

Dekapite edilen ratların mesaneleri izole edilerek içerisinde +4 °C sıcaklığında Krebs solüsyonu (mM: NaCl,113; KCl 4.7; NaHCO<sub>3</sub>, 19.8; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; MgCl<sub>2</sub>, 2.5; CaCl<sub>2</sub>, 1.7; glukoz, 11.1; pH, 7.4) bulunan petri kutusuna alınarak seroza ve bağ dokusu temizlendi. Daha sonra mukoza tabakası hafifçe kazınarak kas dokusundan ayrıldı ve mesanelerden iki adet 2x10 mm ebatlarında düz kas şeritleri hazırlandı. Elde edilen kas şeritleri içerisinde sıcaklığı 37°C ve pH'sı 7.4 olan Krebs solüsyonu bulunan, %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı ile sürekli gazlandırılan, 20 ml'lik organ banyosuna asıldı. Kesitlere 1 g gerim uygulandı ve 1 saatlik inkübasyon periyoduna maruz bırakıldı. Bu süre içerisinde her 15 dk'da bir banyonun Krebs solüsyonu yenisi ile değiştirildi (25). İnkübasyon periyodu sonunda ACh ve KCl'nin önceki çalışmalarımızda belirlemiş olduğumuz submaksimal dozları olan sırasıyla 10<sup>-4</sup> M ve 60 mM dozları banyoya uygulanarak izometrik kasılımlar kaydedildi. Elde edilen kasılım değerleri gruplar arasında karşılaştırılarak değerlendirildi.

#### **Histopatolojik Muayane**

Histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan rat mesanelerine ait doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Rutin doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alındı.

Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilen-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Leica DM 1000, Germany). Kesitler histopatolojik bulgulara göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

#### **İstatistiksel Analiz**

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 20 istatistik programında yapıldı. İzole organ deneylerinden elde edilen veriler One Way ANOVA'da Tukey testi ile değerlendirildi. Değerler, ortalama±SD olarak verildi. Histopatolojik bulguların değerlendirilmesinde de Kruskal-Wallis testi kullanıldı. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

#### **BULGULAR**

Deney gruplarındaki ratların mesane dokuları makroskobik olarak incelendiğinde, kontrol grubundaki ratların mesane dokularının fizyolojik görünümüne sahip olduğu ve herhangi bir değişiklik olmadığı belirlendi. CP grubunun mesane dokuları makroskobik olarak incelendiğinde, mesane dokusunda ödemeleşme olduğu, kızarıklık meydana geldiği ve mesane duvar kalınlığının arttığı gözlemlendi. Ayrıca CP grubundaki ratların mesane dokusu ebatlarının diğer gruplardan daha büyük olduğu görüldü. Rutin uygulamasının bu değişiklikleri önemli ölçüde azalttığı görüldü.

#### **ACh ve KCl ile İndüklenen Mesane Kontraksiyonları**

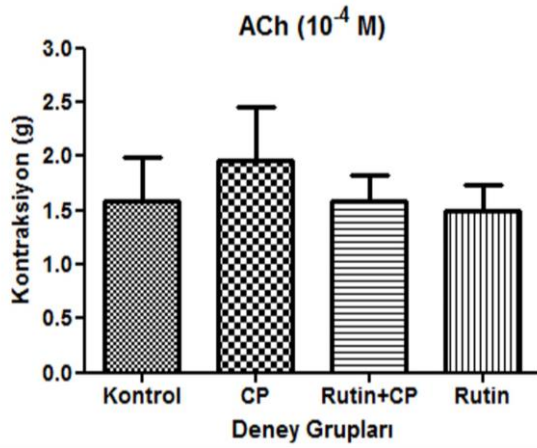
Hemorajik sistitli ratların mesane düz kas şeritlerinin spontan kasılımlarının arttığı gözlemlendi. ACh ve KCl ile indüklenen kontraksiyon cevaplarının CP grubunda arttığı fakat istatistiksel önem arz etmediği belirlendi (Tablo 1, Şekil 1 ve 2, P>0.05). Rutin uygulaması yapılan gruplarda ACh ve KCl ile indüklenen kontraksiyonların CP grubuna göre azaldığı ancak diğer gruplardan farklı olmadığı tespit edildi (Tablo 1, Şekil 1 ve 2, P>0.05).

**Tablo 1.** Deney gruplarının *in vitro* mesane düz kaslarında ACh ( $10^{-4}$  M) ve KCl (60 mM) ile indüklenen kontraksiyon cevaplarının değerleri (n=6).

**Table 1.** The values of contraction responses induced by ACh ( $10^{-4}$  M) and KCl (60 mM) at *in vitro* urinary bladder smooth muscle of experimental groups (n=6).

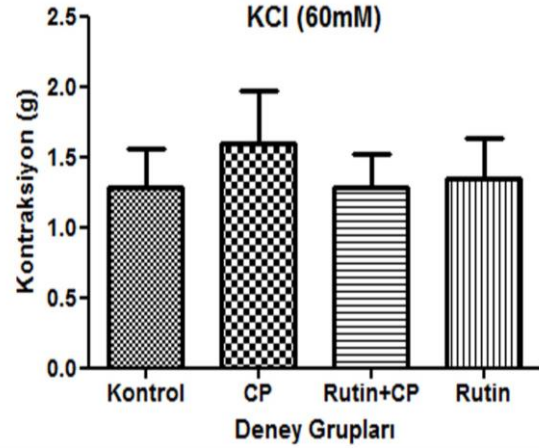
	Deney Grupları				P Değeri (n=6)
	Kontrol $\bar{X}\pm SD$	CP $\bar{X}\pm SD$	Rutin+CP $\bar{X}\pm SD$	Rutin $\bar{X}\pm SD$	
ACh	1.59±0.39	1.96±0.49	1.5±0.24	1.58±0.25	P>0.05
KCl	1.27±0.27	1.6±0.38	1.35±0.25	1.27±0.24	P>0.05

CP: Cyclophosphamide, ACh: Asetilkolin, KCl: Potasyum klorür, SD: Standart deviation



**Şekil 1.** Deney gruplarının *in vitro* mesane düz kaslarında ACh ( $10^{-4}$  M) ile indüklenen kontraksiyon cevapları. (n=6)

**Figure 1.** The contraction responses induced by ACh ( $10^{-4}$  M) in *in vitro* urinary bladder smooth muscle of experimental groups. (n=6)



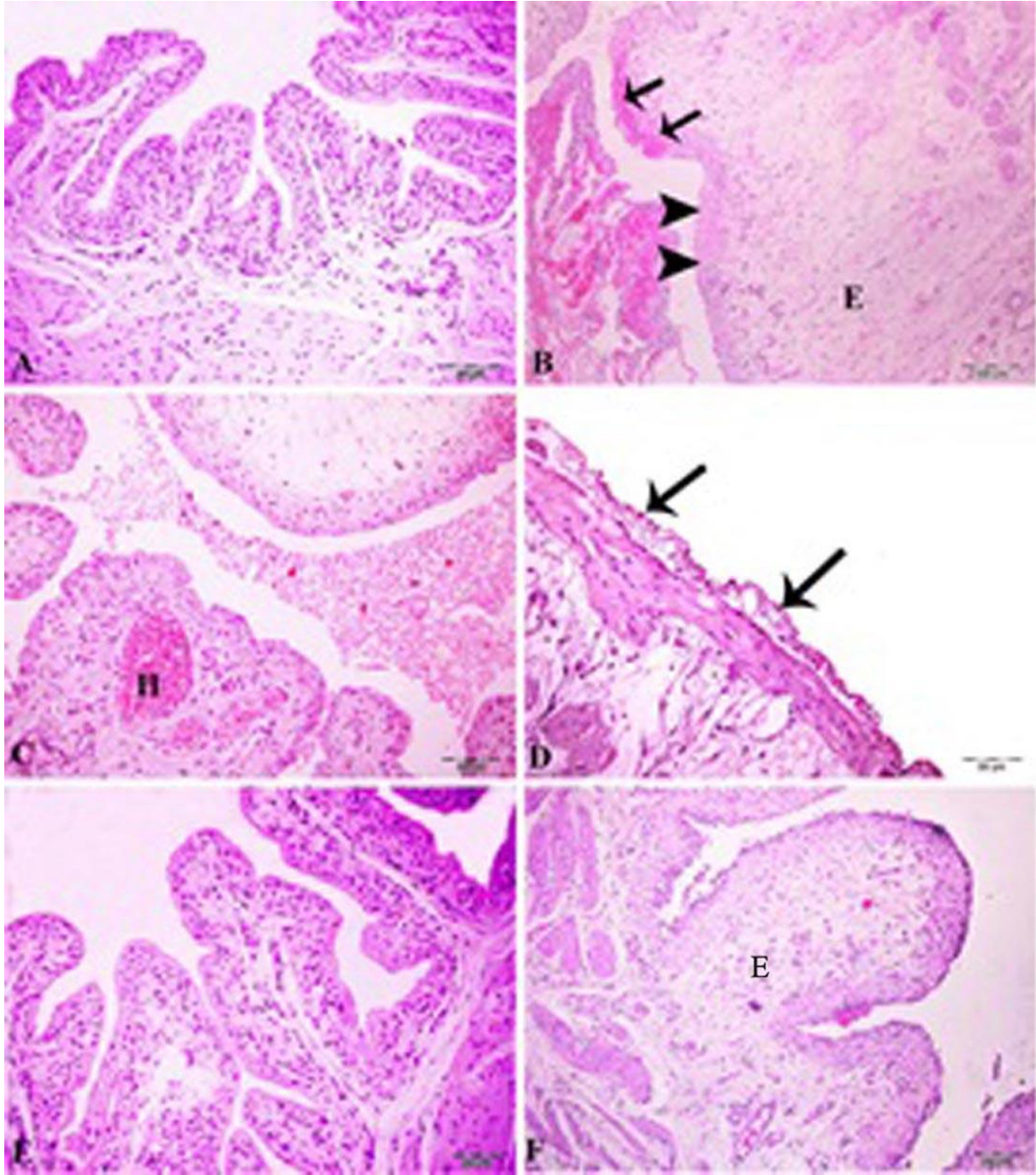
**Şekil 2.** Deney gruplarının *in vitro* mesane düz kaslarında KCl (60 mM) ile indüklenen kontraksiyon cevapları. (n=6)

**Figure 2.** The contraction responses induced by KCl (60 mM) in *in vitro* urinary bladder smooth muscle of experimental groups. (n=6)

### Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunun mesane dokuları incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 3-A). CP grubunun mesane dokuları incelendiğinde, mesane lümeninde döküntü, mukoza epitelinde şiddetli düzeyde eritrosit görüldü (Şekil 3-B). Yalancı çok katlı mukoza epitelinin kübik epitele dönüştüğü ve mukozanın epitel hücrelerinde deskuamasyon ve koagülasyon nekrozu belirlendi (Şekil 3-C). Propria mukozada şiddetli ödeme, damarlarda şiddetli hiperemi ve kanamalara rastlandı

(Şekil 3-B). Musküler tabakada ödem ve damarlarda hiperemi, serozada ödematöz kalınlaşma ve damarlarda şiddetli hiperemi tespit edildi (Şekil 3-D). Rutin+CP grubunun mesane dokuları incelendiğinde, mukoza epitelinde hafif deskuamasyon ve tek katlı epitele dönüştüğü görüldü. Lamina propria orta düzeyde ödem, ve damarlarda hiperemi görüldü (Şekil 3-F). Rutin grubunda ise mukoza, lamina propria, lamina mükülaris ve serozanın normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 3-E). Histopatolojik bulgular Tablo 2’de özetlendi.



**Şekil 3.** Mesane dokusu, Kontrol grup-A, normal histolojik görünümü; CP grup-B, lamina epitelialiste nekroz (ok başları), şiddetli kanama (oklar), lümende yoğun miktarda eritrosit ve döküntü epiteller, şiddetli ödem (E) Bar: 100 µm; CP grup-C, damarlarda şiddetli hiperemi (H) ve hemoraji, lamina eptelyalis kübik epitele dönüşmüş; CP grup-D, Serozada ödem (oklar), damarlarda hiperemi; Rutin grup-E, normal histolojik yapı; CP+Rutin grup-F, lamina propriada orta düzeyde ödem, damarlarda hiperemi, H&E, Bar: 50 µm.

**Figure 3.** Urinary bladder tissue, Control group-A, normal histological appearance; CP group-B, in the lamina epithelialis necrosis (arrowheads), severe bleeding (arrows), mass erythrocyte and erythema epithelium in lumen, severe edema (E) Bar: 100 µm; CP group-C, Severe hyperemia (H) in veins and hemorrhage, laminae eptelyalis transformed into cubic epithelium; CP group-D; edema (arrows)in serosa, hyperemia in vessels; Rutin group-E, normal histological structure; CP+Rutin group-F, middle edema in lamina propria, hyperemia in vessels, H&E, Bar: 50 µm.

**Tablo 2.** Histopatolojik bulguların değerlendirilmesi.  
**Table 2.** Evaluation of histopathological findings.

		Kontrol	CP	Rutin+CP	Rutin
Mukozada	Deskuamasyon	-	+++	++	-
	Erezyon	-	+++	++	-
	Koagulasyon nekrozu	-	++	-	-
	Damarlarda hiperemi	-	+++	++	-
Lamina Propria	Kanama	-	+++	+	-
	Ödem	-	+++	++	-
Lamina Muskularis	Damarlarda hiperemi	-	+++	+	-
	Ödem	-	+++	-	-
	Damarlarda hiperemi	-	+++	+	-
	Ödem	-	++	-	-
	Damarlarda hiperemi	-	+++	+	-

CP: Cyclophosphamid

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

CP gibi antikanserojenlerin tedavi etkinliği, bu ilaçların mevcut yan etkilerinden dolayı sınırlanmaktadır (26). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda antikanser ajanların yan etkilerinin azaltılması veya önlenmesi amacıyla bitkilerin yapısında bulunan farklı bileşikler sıklıkla kullanılmaktadır (27,28). Bu amaçla kullanılan flavonoid bileşiklerden birisi Rutin'dir (23,24). Bu çalışmada CP ile indüklenen hemorajik sistitte *in vitro* mesane düz kas kontraktilesi ve mesane histopatolojisi üzerine Rutin'in etkileri belirlendi.

Organizmada çeşitli yan etkilere sahip olduğu bilinen (3-8) CP'nin yan etkilerinden birisi de hemorajik sistittir (11). CP ile indüklenen hemorajik sistitte mesane dokusunda etkilenen mekanizmalar arasında mesane kontraktilesi de bulunmaktadır. CP'nin toksik bileşiği olan akroleinin farklı dozlarının doza bağımlı olarak *in vitro* mesane düz kasında kontraksiyonları indüklediği belirlenmiştir (13). Mesane düz kas kontraktilesi üzerine CP'nin *in vivo* etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada CP uygulamasından 60 saat sonra karbakol ile uyarılan izole detrusor cevaplarının EC50 değerlerinin yaklaşık

%60 oranında azaldığı tespit edilmiştir (14). Sivri farelerin (*Suncus murinus*) mesanelerinde CP'nin akut etkilerinin araştırıldığı bir diğer araştırmada ise, karbakol ile indüklenen kontraktıl cevaplar değerlendirilmiş ve karbakol cevaplarının CP uygulaması ile azaldığı belirlenmiştir (29). Mevcut araştırmamızda literatür bilgilerin aksine hem ACh hem de KCl ile indüklenen *in vitro* mesane düz kas kontraksiyon cevaplarının CP grubunda kontrol ve diğer gruplardan daha fazla olduğu, ancak kontraksiyon cevaplarındaki bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Elde ettiğimiz bulgular ile literatür farklılığının, diğer araştırmalarda mesane mukozasının bütünlüğü korunurken bizim çalışmamızda mukoza bütünlüğünün bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Anderson MC ve ark. (30) CP ile indüklenen sistitli mesane dokularında bir muskarinik reseptör agonisti olan Metkolin ile indüklenen kontraksiyonların mukozasız mesanelerde daha güçlü olduğunu tespit etmişlerdir. Mesane mukozasından salınan nitrik oksit (NO) mesanede hem fizyolojik hem patolojik durumlarda önemli rol oynar (31-33). Özellikle inflamasyon esnasında mukozadan salınımı artan NO'nin, mesane kontraksiyonlarını etkilediği ve kontraksiyon

cevaplarını azaltıcı etkili olduğu bildirilmektedir (30). Hem Giglio D ve ark. (14) hem de Mok MH ve ark.'nın (29) yapmış oldukları çalışmalarda CP ile sistit oluşturulmuş deney hayvanlarının mesane dokularında mukoza tabakasının bütünlüğünü bozmadan kontraktıl cevapları değerlendirilmiştir. İnflamasyonlu mesanelerden NO salınımı arttığından ve NO'nun kontraktıl cevapları azalttığından, CP grubunda kontraksiyon cevaplarının kontrol grubundan düşük olması bu durumun bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu mekanizmalardan dolayı bizim çalışmamızda mesane mukozasının ortadan kaldırılması ile NO salınımının azaldığı, buna bağlı olarak ACh ve KCl ile indüklenen kontraksiyonların daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

Deney gruplarındaki ratların mesane dokularının makroskobik incelemesi yapıldığında, CP grubunun mesane dokularında ödemleşme olduğu, hemorajiler meydana geldiği ve mesane duvar kalınlığının arttığı gözlemlendi. Ayrıca CP grubundaki ratların mesane dokularının ebatları diğer gruplardakinden daha büyüktü. Rutin uygulamasının ise bu değişiklikleri önemli ölçüde azalttığı görüldü. Elde ettiğimiz makroskobik bulgular, Giglio D ve ark.'nın (14) bulguları ile uyumluydu. Hemorajik sistitte mesane dokularının mikroskobik incelemeleri sonucunda ürotelyumda hasar, transmural ödem, hemoraji, mukozada ülserasyon ve epitelial nekroz gibi bulgular şekillenmekte ve bu değişikliklerin genellikle, CP'nin tek doz kullanımından 24 saat sonra ortaya çıktığı ifade edilmektedir (34). Bunların yanı sıra hemorajik sistitin patogenezinde iNOS oluşumu ve bunun sitokin oluşumunu indüklediği rapor edilmiştir (35). İnflamasyonlu mesane dokusunda artan NO seviyeleri, dokuda hasara neden olmaktadır (36,37). CP'nin neden olduğu mesane inflamasyonunda mast hücre sayısında artış olduğu ve CP ile indüklenen sistitin patogenezinde önemli bir rol oynayan NO'nun salınımında artış meydana geldiği belirlenmiştir (38). Artan NO salınımı ile plazma proteinlerinin hücreler arasına sızması sonucu dokuda ödem şekillenmesi görülmektedir ki

bu durum genellikle CP uygulamasından 45 veya 60 saat sonra oluşmaktadır (39). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda çeşitli antioksidanların kullanımı ile CP'nin neden olduğu hemorajik sistitin önlenmesine dair bilgiler mevcuttur (40). Güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkili oldukları bilinen flavonoid bileşikleri meyve ve sebzelerde oldukça fazla bulunurlar ve bu bileşikler ksantin oksidaz (41) ve protein kinase C (42) gibi çeşitli enzimlerin aktivitesini inhibe ederek süperoksit oluşumunu önlerler. Flavonoidlerin siklooksijenaz, lipooksijenaz, mikrozomal monooksijenazı inhibe ettiği gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar ile Rutin'in, CP uygulaması sonucunda karaciğerde (24) ve doxorubicin ile testislerde (43) oluşan doku hasarları ve oluşan histopatolojik değişiklikler üzerine önemli düzeyde koruyucu ve düzeltici etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamızda CP uygulamasını mesane lümeninde döküntü, mukoza epitelinde şiddetli düzeyde eritrosit varlığı, mukoza epitelinde deskuamasyon, koagülasyon nekrozunun oluşması ve Rutin uygulamasının bu değişiklikleri azaltması literatür ile uyumludur.

Sonuç olarak, birçok bitkinin yapısında bulunan, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkili bir flavonoid olan Rutin'in, ratlarda CP ile indüklenen hemorajik sistitte mesane kontraktilesi ve histopatolojisi üzerine protektif etkili olduğu belirlendi.

#### KAYNAKLAR

1. Rashid S., Ali N., Nafees S., Hasan SK., Sultana S., 2014. Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Food Chem Toxicol*, 66, 185-193.
2. Mahmoud AM., Hussein OE., Ramadan SA., 2013. Amelioration of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by the brown seaweed *Turbenaria ornata*. *Int J Clin Pharmacol Toxicol*, 11, 9-17.
3. Cuce G., Çetinkaya S., Koc T., Esen HH., Limandal C., Balcı T., Klakan S., Aköz M., 2015. Chemoprotective effect of vitamin E in

- cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. *Chem Biol Interact*, 232, 7-11.
4. Said E., Elkashef WF., Abdelaziz RR., 2015. Tranilast ameliorates cyclophosphamide-induced lung injury and nephrotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol*, 944, 347-358.
  5. Conklin DJ., Haberzettl P., Jagatheesan G., Baba S., Merchant ML., Prough R. A., Williams JD., Sumanth DP., Bhatnagar A., 2015. Glutathione S-transferase P protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2852, 136-148.
  6. Şengül E., Gelen V., Gedikli S., Özkanlar S., Gür C., Çelebi F., Çınar A., 2017. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-Induced lung toxicity in rats. *Biomed Pharmacother*, 92, 303-307.
  7. Zanchi MM., Manfredini V., dos Santos Brum D., Vargas LM., Spiazzi CC., Soares MB., Izaguirry AP., Santos FW., 2015. Green tea infusion improves cyclophosphamide-induced damage on male mice reproductive system. *Toxicol Rep*, 2, 252-260.
  8. Liu F., Li XL., Lin T., He DW., Wei GH., Liu JH., Li LS., 2012. The cyclophosphamide metabolite, acrolein, induces cytoskeleton changes and oxidative stress in sertoli cells. *Mol Biol Rep*, 39, 493-500.
  9. Kim SH., Lee IC., Lim JH., Moon C., Bae CS., Kim SH., Shin DH., Park SC., Kim HC., Kim JC., 2012. Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats, *Food Chem Toxicol*, 50, 109-115.
  10. Levine LA., Richie JP., 1989. Urological complications of cyclophosphamide. *J Urol*, 141, 1063-1069.
  11. Kim SH., Lee IC., Ko JW., Moon C., Kim SH., Shin IS., Seo YW., Kim HC., Kim JC., 2015. Diallyl disulfide prevents cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats through the inhibition of oxidative damage, MAPKs, and NF- $\kappa$ B pathways. *Biomol Ther*, 23, 180-188.
  12. Kiuchi H., Takao T., Yamamoto K., Nakayama J., Miyagawa Y., Tsujimura A., Nonomura N., Okuyama A., 2009. Sesquiterpene lactone parthenolide ameliorates bladder inflammation and bladder overactivity in cyclophosphamide induced rat cystitis model by inhibiting nuclear factor-kappa B phosphorylation. *J Urol*, 18, 2339-2348.
  13. Ahluwalia A., Maggi CA., Santicioli P., Lecci A., Giuliani S., 1994. Characterization of the capsaicin-sensitive component of cyclophosphamide-induced inflammation in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol*, 111, 1017-1022.
  14. Giglio D., Ryberg AT., To K., Delbro DS., Tobin G., 2005. Altered muscarinic receptor subtype expression and functional responses in cyclophosphamide induced cystitis in rats. *Auton Neurosci*, 122, 9-20.
  15. Jamshidzadeh A., Niknahad H., Azarpira N., Mohammadi-Bardbori A., Delnavaz M., 2015. Effect of lycopene on cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. *Iran J Med Sci*, 341, 46-52.
  16. Hollman PC., Katan MB., 1997. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed Pharmacother*, 51, 305-310.
  17. Deng W., Fang X., Wu J., 1997. Flavonoids function as antioxidants: by scavenging reactive oxygen species or by chelating iron?. *Radiat Phys Chem*, 50, 271-276.
  18. Aleksandrov PN., Speranskaia TV., Bobkov lu G., Zagorevskii VA., Zykov DA., 1986. Effect of rutin and esculamine on models of aseptic inflammation. *Farmakol Toksikol*, 49, 84-86.
  19. Deschner EE., Ruperto J., Wong G., Newmark HL., 1991. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. *Carcinogenesis*, 12, 1193-1196.
  20. Bear WL., Teel RW., 2000. Effects of citrus flavonoids on the mutagenicity of heterocyclic amines and on cytochrome P450 1A2 activity. *Anticancer Res*, 20, 3609-3614.



21. Chen S., Gong J., Liu F., Mohammed U., 2000. Naturally occurring polyphenolic antioxidants modulate IgE-mediated mast cell activation. *Immunology*, 100, 471-480.
22. Pozin VM., Skuratovskaia SG., Pocheptsova GA., 1996. Changes in the vascular Wall and ischemic damages to the myocardium in reversible episodes of heart muscle ischemia. *Fiziologic Zhur*, 42, 10-16.
23. Abarikwu SO., Otuechere CA., Ekor M., Monwuba K., Osobu D., 2012. Rutin ameliorates cyclophosphamide-induced reproductive toxicity in male rats. *Toxicol Int*, 19, 207-214.
24. Nafees S., Rashid S., Ali N., Hasan SK., Sultana S. 2015. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NFκB/MAPK pathway. *Chem Biol Interact*, 231, 98-107.
25. Şengül E., Çelebi F., Gelen V., Çınar A., 2017. The Effects of *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) aqueous extract on smooth muscle contractions in isolated rat urinary bladder. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 12, 130-136.
26. Tripathi DN., Jena V., 2008. Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicology*, 248, 96-103.
27. Gelen V., Şengül E., Gedikli S., Atila G., Uslu H., Makav M., 2017. The protective effect of rutin and quercetin on 5-FU-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pac J Trop Biomed*, 7, 647-653.
28. Tong J., Mo QG., Ma BX., Ge LL., Zhou G., Wang YW., 2017. The protective effects of *Cichorium glandulosum* seed and cynarin against cyclophosphamide and its metabolite acrolein-induced hepatotoxicity in vivo and in vitro. *Food Funct*, 8, 209-219.
29. Mok MH., Knight GE., Andrews PL., Hoyle CH., Burnstock G., 2000. The effects of cyclophosphamide on neurotransmission in the urinary bladder of *Suncus murinus*, the house musk shrew. *J Auton Nerv Syst*, 80, 130-136.
30. Andersson MC., Tobin G., Giglio D., 2008. Cholinergic nitric oxide release from the urinary bladder mucosa in cyclophosphamide-induced cystitis of the anaesthetized rat. *Br J Pharmacol*, 153, 1438-1444.
31. Vizzard MA., Erdman SL., de Groat WC., 1993. Localization of NADPH diaphorase in bladder afferent and postganglionic efferent neurons of the rat. *J Auton Nerv Syst*, 44, 85-90.
32. Masuda H., Ogawa T., Kihara K., Chancellor MB., de Groat WC., Yoshimura N., 2007. Effects of anaesthesia on the nitrenergic pathway during the micturition reflex in rats. *BJU Int*, 100, 175-180.
33. Andersson KE., Arner A., 2004. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, 84, 935-986.
34. Gray KJ., Engelmann UH., Johnson EH., Fishman IJ., 1986. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. *J Urol*, 133, 497-500.
35. Ribeiro RA., Feritas HC., Campos MC., Santos CC., Figueiredo FC., Brito GA., Cunha FQ., 2002. Tumor necrosis factor-α and interleukin-1β mediate the production of nitric oxide involved in the pathogenesis of ifosfamide induced hemorrhagic cystitis in mice. *J Urol*, 167, 2229-2234.
36. Szabo C., 1996. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 6, 79-88.
37. Cuzzocrea S., Reiter RJ., 2001. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*, 426, 1-10.
38. Korkmaz A., Oter S., Deveci S., Ozgurtas T., Topal T., Sadir S., Bilgic H., 2003. Involvement of nitric oxide and hyperbaric oxygen in the pathogenesis of cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis in rats. *J Urol*, 170, 2498-2502.
39. Souza-Fiho MV., Lima MV., Pompeu MM., Ballejo G., Cunha FQ., Ribeiro Rde A., 1997. Involvement of nitric oxide in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Am J Pathol*, 150, 247-256.

- 
40. Vieira MM., Macedo FY., Filho JN., Costa AC., Cunha AN., Silveira ER., Brito GA., Ribeiro RA., 2004. Ternatin, a flavonoid, prevents cyclophosphamide and ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. *Phytother Res*, 18, 135-141.
  41. Hanasaki Y., Ogawa S., Fukui S., 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med*, 16, 845-850.
  42. Ursini F., Maiorino M., Morazzoni P., Roveri A., Pifferi G., 1994. A novel antioxidant flavonoid (IdB 1031) affecting molecular mechanisms of cellular activation. *Free Radic Biol Med*, 16, 547-553.
  43. Hozayen WG., 2012. Effect of hesperidin and rutin on doxorubicin induced testicular toxicity in male rats. *Int J Food Nutr Sci*, 1, 31-42.