T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ DİYABETES MELLİTUS MODELİNDE MESANE DOKUSUNDA KASILMA YANITLARINA KRONİK HİDROJEN SÜLFÜR TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
DR. AYNUR ARSLAN SABANCI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CANAN ULUOĞLU
PROF. DR. SEVİL ÖZGER İLHAN

ANKARA
AĞUSTOS 2025

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ DİYABETES MELLİTUS MODELİNDE MESANE DOKUSUNDA KASILMA YANITLARINA KRONİK HİDROJEN SÜLFÜR TEDAVİSİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
DR. AYNUR ARSLAN SABANCI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CANAN ULUOĞLU
PROF. DR. SEVİL ÖZGER İLHAN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2023-8916 proje numarası ile desteklenmistir.

ANKARA
AĞUSTOS 2025

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: ……/……/2025

BAŞKAN

Prof. Dr. Zühal AKTUNA
Yüksek İhtisas Üniversitesi

ÜYE

Prof. Dr. Canan ULUOĞLU
Gazi Üniversitesi

ÜYE

Prof. Dr. Sevil ÖZGER İLHAN
Gazi Üniversitesi

ÜYE

Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN
Gazi Üniversitesi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana çok emeği geçen, yol gösteren, bu tezin gerçekleşmesini sağlayan, asistanı olmaktan gurur duyduğum değerli hocalarım Prof. Dr. Canan ULUOĞLU ve Prof. Dr. Sevil ÖZGER İLHAN; bu çalışmanın gerçekleşmesinde desteklerini, hem laboratuvar imkanları hem de ilgileri ve teşviklerini esirgemeyen sayın hocam Doç.Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN; her birinden çok kıymetli bilgiler öğrendiğim ve bizi iyi bir farmakoloji uzmanı olarak yetişelim diye emek harcayan anabilim dalımızın tüm Öğretim Üyelerine; benden bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen ve tez sürecimde büyük yardımları olan Prof.Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM; çalışmamın istatistiksel analiz aşamasında sağladığı kıymetli destek ve yönlendirmeler için Doç. Dr. Hakan TÜZÜN ve Dr. Rabia AYGÜR; bütün uzmanlık sürecim ve çalışmalarım sırasında desteğini ve bilgisini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Cihan GÜVEL; daima yanımda olan ve desteklerini sakınmayan, bütün uzmanlık, tez süreci ve zorluklarını birlikte atlattığımız, Dr. Celil İlker AŞKIN, Dr.Ayşe Kübra KİBAR GÜZİN, Dr.Tilbenur AKYEL ve Uzm Dr. Melis TURKER; bölümde dört yıl boyunca bana arkadaşlık eden tüm asistan arkadaşlarım; beni bugün olduğum yere getiren ve her zaman arkamda olduğunu bildiğim, üzerimde en çok emeğe sahip olan sevgili babam Yaşar ARSLAN; varlığı ile yolumu aydınlatan canım ablam Uzm. Dr. Aliye ARSLAN TANYELİ; her konuda desteğini ve sevgisini eksik etmeyen, sevgili eşim Murat SABANCI ve gülüşü ile her anımı güzelleştiren canım kızım Lina SABANCI'ya teşekkür ederim.

TTU-2023-8916 proje numaralı bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde sağladığı finansal destek için Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Cumhuriyetimizin kurucusu Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e, bilimi rehber edinen düşünce yapısını miras bıraktığı; eğitim, araştırma ve düşünce özgürlüğünü bu topraklara kazandırdığı için sonsuz şükranlarımı sunarım.

Dr. Aynur ARSLAN SABANCI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **ii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
GRAFİKLER DİZİNİ ..... **x**
RESİMLER DİZİNİ ..... **xi**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xii**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Diyabetes Mellitus **4**
2.2. Diyabetes Mellitus Gelişimi Risk Faktörleri **6**
2.3. Diyabetes Mellitus Tipleri **8**
2.4. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları **10**
2.4.1. Diyabetes Mellitus'un Akut Komplikasyonları 10
2.4.2. Diyabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları 11
2.5. Diyabetik Hastalarda Görülen Üriner Sistem Problemleri **12**
2.5.1. Diyabetik Sistopati (Nörojen Mesane) 12
2.5.2. Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE) 13
2.5.3. İnkontinans (İdrar Kaçırma) 13
2.5.4. Kronik Böbrek Yetmezliği (Diyabetik Nefropati ile İlişkili) 13
2.5.5. Diyabetes Mellitus Tanılı Hastalarda Görülen Üriner Sistem Kanserleri 14
2.6. Mesane Fizyolojisi **15**
2.6.1. Mesanenin Nöronal İnnervasyonu 15
2.6.2. Mesanedeki Reseptör Tipleri 16
2.6.2.1. Muskarinik Reseptörler (Kolinerjik Reseptörler) *16*
2.6.2.2. Adrenerjik Reseptörler *17*
2.6.2.3. Purinerjik Reseptörler (P2X ve P2Y) *18*

2.6.2.4. Vaniloid Reseptörler (TRPV1) *18*
2.6.2.5. Östrojen Reseptörleri (ERα, ERβ) *18*
2.6.3. Mesanede Sinyal İletimi ve Hücresel İletişimle İlişkili Moleküller 19
2.6.3.1. PACAP38 (Pitüiter Adenilat Siklaz Aktivatör Polipeptidi) *19*
2.6.3.2. Piezo1 Proteini *19*
2.6.3.3. TRPA1 (Transient Receptör Potansiyeli Ankyrin-1) Proteini *20*
2.6.3.4. Cx43 (Konneksin-43) Proteini *20*
2.7. Hidrojen Sülfür 21
2.7.1. Hidrojen Sülfürün Etkileri 22
2.7.2. Üriner Sistemde Hidrojen Sülfürün Etkileri 22
2.7.3. İnflamasyon İlişkili Hidrojen Sülfürün Etkileri 24
2.8. Diyabetik Hayvan Modelleri 24
2.8.1. Kimyasal Modeller 25
2.8.2. Genetik Modeller 25
2.8.3. Diyetle İnduklenen Modeller 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM 27
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması 27
3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması 28
3.3. Deney Grupları 28
3.4. Mesane Dokusunun Hazırlanması 33
3.5. Deney Protokolü 34
3.5.1. Artan Frekanslarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi 35
3.5.2. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α,β-Metilen ATP'nin Etkisinin Değerlendirilmesi 35
3.5.3. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Atropin'in Etkisinin Değerlendirilmesi 35

3.5.4. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in Birlikte Etkisinin Değerlendirilmesi 36
3.5.5. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Zamana Bağlı Değişiminin Değerlendirilmesi 36
3.5.6. Karbakol Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi 36
3.5.7. Real time PCR Yöntemi 36
3.5.7.1. Mesane Dokusundan Total RNA Eldesi 36
3.5.7.2. Tamamlayıcı DNA (cDNA) Sentezi 38
3.5.7.3. Kantitatif Real-Time PCR Analizi 38
3.5.7.4. CFX Duet Real-Time PCR System (Bio-Rad) Deney Programı 40
3.6. Deneylerde Kullanılan Madde ve Solüsyonlar 41
3.7. İstatistiksel Analiz 42
4. BULGULAR 44
4.1. Hayvanların Ölçüm Sonuçları 44
4.1.1. Hayvanların Kilo ve Kan Şekeri Ölçüm Sonuçları 44
4.1.2. Hayvanların Mesane Ağırlığı Ölçüm Sonuçları 46
4.2. İzole Organ Banyosunda Elde Edilen Yanıtlar 47
4.2.1. Mesanede Elde Edilen KCL ve Artan Frekanslarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları 47
4.2.1.1. Dokuda 80 mM KCl Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi 47
4.2.1.2. Artan Frekanslarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi 48
4.2.2. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α, β-Metilen ATP'nin Etkisi 50
4.2.3. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Atropin'in Etkisi 52
4.2.4. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in Birlikte Etkisi 54

4.2.5. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Zamana Bağlı Değişiminin Değerlendirilmesi 56
4.2.6. Karbakol Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi 57
4.3. Real Time PCR Analizi Sonuçları 59
5. TARTIŞMA 61
6. SONUÇLAR 79
7. KAYNAKLAR 81
8. ÖZET 91
9. SUMMARY 93
10. EKLER 95
EK-1. Etik Kurul Onayı 95
11. ÖZGEÇMİŞ 97

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Mesanenin nöronal innervasyonu 16
Tablo 2. Mesanedeki reseptör tipleri 19
Tablo 3. Deney grupları 29
Tablo 4. cDNA sentezi sırasında kullanılan malzemeler ve miktarları 38
Tablo 5. Gen spesifik qPCR primer dizileri. qPCR: kantitatif real time polimeraz reaksiyonu 39
Tablo 6. β-actin, M_2 muskarinik reseptör, M_3 muskarinik reseptör, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43 genlerinin Real-time PCR tepkime karışımı .. 39
Tablo 7. PCR amplifikasyon programı 41
Tablo 8. Deney gruplarına ait hayvan ağırlığı ölçüm sonuçları 45
Tablo 9. Deney gruplarına ait kan şekeri ölçüm sonuçları 45
Tablo 10. Mesanede elde edilen KCl ve artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtları 47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kontrol grubuna ait günlere göre deney akışı 30
Şekil 2. NaHS grubuna ait günlere göre deney akışı 31
Şekil 3. Diyabet grubuna ait günlere göre deney akışı 32
Şekil 4. Diyabet + NaHS grubuna ait günlere göre deney akışı 33
Şekil 5. Kontrol grubuna ait artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtlarını gösteren trase 49
Şekil 6. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisini gösteren trase 51
Şekil 7. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisini gösteren trase 53
Şekil 8. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisini gösteren trase 55
Şekil 9. Kontrol grubuna ait Karbakol aracılı kasılma yanıtlarını gösteren trase 58

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Gruplara göre mesane ağırlık ortalaması. 46
Grafik 2. 80 mM KCl aracılı kasılma yanıtlarının değerlendirilmesi. 48
Grafik 3. Artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtları..... 50
Grafik 4. EAU (16 Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisi..... 52
Grafik 5. EAU (16 Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisi..... 54
Grafik 6. EAU (16 Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP+Atropin'in etkisi. 56
Grafik 7. EAU (16 Hz) aracılı zaman bağlı yanıtlar. 57
Grafik 8. Karbakol aracılı kasılma yanıtları. 59
Grafik 9. Mesane dokularında M_2 muskarinik reseptör, M_3 muskarinik reseptör, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43 genlerin mRNA düzeyleri üzerindeki etkileri. 60

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Deney hayvanlarının hazırlık süreci ve mesane dokusunun çıkarılması 34

SİMGELER VE KISALTMALAR

µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
3-MST	3-Merkaptopirüvat sülfürtransferaz
ADA	Amerikan Diyabet Derneği
AGEs	İleri Glikasyon Son Ürünleri
ATP	Adenozin trifosfat
BK_{Ca}	Kalsiyum aktive büyük iletken potasyum kanalları
Ca^{+2}	Kalsiyum
CBS	Sistatyonin-β sentaz
Cl^{-}	Klor
cm	Santimetre
CRP	C-Reaktif Protein
CSE	Sistatyonin-γ liyaz
Cx43	Konneksin 43
dk	Dakika
DKA	Diyabetik Ketoasidoz
dl	Desilitre
DM	Diyabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
EAU	Elektriksel alan uyarısı
FTO	Yağ Kütlesi ve Obezite ile İlişkili Gen
g	Gram

GDM	Gestasyonel Diyabet Mellitus
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
H_2S	Hidrojen Sülfür
HbA1c	Hemoglobin A1c
HHD	Hiperozmolar hiperglisemik durum
HLA	İnsan lökosit antijeni
Hz	Hertz
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IL-6	İnterlökin-6
i.p.	İntraperitoneal
i.v.	İntravenöz
K^+	Potasyum
KAH	Koroner arter hastalığı
K_{ATP}	ATP bağımlı potasyum kanalları
KCl	Potasyum Klorür
KK-Ay	Kuo Kondo–Agouti Yellow diyabet fare modeli
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Miligram
MI	Miyokard infarktüsü
ml	Mililitre
mM	Milimolar
ms	Milisaniye

Na^+	Sodyum
NaHS	Sodyum hidrojen sülfür
nm	Nanometre
NO	Nitrik oksit
NOD	Nonobez diyabetik
OGTT	Oral glukoz tolerans testi
PACAP38	Pitüiter Adenilat Siklaz Aktivatör Polipeptidi
PAH	Periferik arter hastalığı
PCOS	Polikistik Over Sendromu
PPARG	Peroksizom Proliferatör-aktive Reseptör Gama
ROS	Reaktif oksijen türleri
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SGLT-2	Sodyum glukoz kotransporter 2
STZ	Streptozotosin
SVO	Serebrovasküler olay
T1DM	Tip 1 Diyabetes Mellitus
T2DM	Tip 2 Diyabetes Mellitus
TCF7L2	Transkripsiyon Faktörü 7 Benzeri 2
TRPA1	Transient reseptör potansiyeli ankyrin-1
V	Volt
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZDF	Zucker diyabetik fatty

1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM), insülin sekresyonunun yetersizliği veya insülin etkisine direnç gelişmesi sonucunda ortaya çıkan, kronik hiperglisemiyle seyreden sistemik bir hastalıktır. Dünya genelinde prevalansı hızla artmakta olan bu hastalık, başta kardiyovasküler sistem, renal sistem ve sinir sistemi olmak üzere birçok organ ve doku sistemini etkileyen komplikasyonlarla seyreder. Diyabetes mellitus'un önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biri olan diyabetik sistopati, mesane depolama ve boşaltma fonksiyonlarında bozulmalara yol açan, multidisipliner bir klinik tablodur (1).

Diyabetik sistopatide gözlenen başlıca değişiklikler arasında detrusor kasının kontraktilitesinde azalma, mesane kapasitesinde artış, işeme isteğinde azalma, rezidüel idrarda artış ve detrusor aşırı aktivitesi yer almaktadır. Bu durumlar hastalarda sıkışma (urge) inkontinans, gece işemesi, zayıf akım gibi alt üriner sistem semptomlarına neden olmakta ve yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir (2). Diyabetin bu etkileri; otonomik nöropati, artmış oksidatif stres, proinflamatuvar sitokin artışı, mitokondriyal disfonksiyon ve mesane düz kas hücrelerinde apoptoz gibi çeşitli mekanizmalarla ilişkili bulunmuştur (3).

Deneysel diyabetik hayvan modeli oluşturmak için genetik modeller, kalorijenik ya da kimyasal modeller (alloksan, streptozotosin/STZ) kullanılmaktadır. Diyabetik mesane disfonksiyonu araştırmalarında ise yaygın olarak streptozosin (STZ) ile oluşturulan tip 1 diyabet modeli kullanılmaktadır. STZ, pankreatik β-hücrelerde DNA alkilizasyonu yoluyla hücre ölümüne yol açarak kalıcı hiperglisemiye neden olur. (4). Bu model, Diyabetes mellitus'un

oluşturduğu sistemik komplikasyonları taklit edebilmesi açısından araştırmalarda sıklıkla tercih edilmektedir.

Son yıllarda organizmada endojen olarak sentezlenen gazotransmitterlerin, özellikle hidrojen sülfür (H_2S)'ün fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerdeki rolü dikkat çekicidir. H_2S; Cystathionine β-synthase (CBS), Cystathionine γ-lyase (CSE) ve 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST) enzimleri aracılığıyla sentezlenmekte ve vasküler tonus düzenlemesi, antioksidan savunma, antiinflamatuvar yanıtlar ve düz kas relaksasyonu gibi birçok sistemde görev almaktadır (5). Nörolojik ve kardiyovasküler sistemlerdeki koruyucu etkileri iyi tanımlanmış olan H_2S'nin, düz kas dokusu üzerindeki etkileri de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (6). Günümüzde hidrojen sülfürün konsantrasyon bağımlı olarak çift etkisi olsa da ilk olarak antiinflamatuvar olduğu kabul edilmiştir. H_2S vücutta düz kaslar, vasküler homeostaz, anjiojenez, hücre proliferasonu, metabolik fonksiyonlar, inflamasyon, apoptoz, oksidatif stres, endokrin fonksiyonlar, immün sistem fonksiyonları üzerinde etki gösterdiği bilinmektedir (7). H_2S bu etkileri nitrik oksit (NO) gibi kendisine benzeyen diğer gazotransmitterler ile etkileşime girerek de göstermektedir. Kronik inflamasyon modellerinde ekzojen H_2S verilmesinin NO miktarını azalttığı, benzer şekilde aynı koşullarda ekzojen NO verilmesinin H_2S miktarını azalttığı gösterilmiştir. (8).

Bununla birlikte, H_2S'nin diyabetik mesane dokusunda düz kas kontraktilitesi üzerindeki etkilerine dair bilgi birikimi sınırlıdır. Çalışmalar H_2S'nin ATP duyarlı potasyum kanalları ve nitrik oksit yolları üzerinden mesane düz kasını gevşetici etkiler gösterebileceğini öne sürmektedir (9). Diyabetik sistopatide kronik

H_2S uygulamasının mesane fonksiyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek, bu alanda önemli bir katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmadan elde edilecek bulgular, fizyolojik bir gaz olan H_2S'nin mesane fonksiyonları üzerindeki etkilerinin ve H_2S'nin mesane düz kas düzeyinde olası nöromodülatör rolünun anlaşılmasına katkı sağlayabilir. Aynı zamanda diyabetik sistopatinin tedavisinde yeni farmakolojik yaklaşımlar geliştirilmesine, nörojenik mesane gibi diğer patolojilere yönelik tedavi stratejilerine de ışık tutabileceği düşünülmektedir.

Diyabetes mellitus'un üriner sistem dokularında kronik hiperglisemi ve inflamasyona bağlı, nöropati, kalsifikasyon, fibrozis gibi komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Bu patofizyolojik değişikliklerin sonucu olarak üriner sistem fizyolojik görevini yerine getiremeyip mesane disfonksiyonuna yol açmaktadır. Bu çalışmada Diyabetes mellitus'un, mesane fonksiyonunda bozulmaya neden olup olmadığı, mesanedeki bazı genlerin mRNA düzeylerine etkili olup olmadığı ve kronik hidrojen sülfür tedavisinin Diyabetes mellitus'e karşı koruyucu ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı STZ ile diyabetes mellitus oluşturulan sıçanlarda oluşabilecek mesane disfonksiyonunu önleyebileceği/düzeltebileceği hipotezini test etmek amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus, insülin sekresyonunun yetersizliği, insülinin etkisindeki bozukluk veya her iki mekanizmanın bir arada bulunması sonucu gelişen ve kronik hiperglisemi ile karakterize olan metabolik bir bozukluktur. Kronik hiperglisemi karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozulmalara yol açarak, uzun dönemde mikrovasküler (retinopati, nefropati, nöropati gibi) ve makrovasküler (koroner arter hastalığı, inme, periferik arter hastalığı gibi) komplikasyonların gelişmesine neden olur (10).

Diyabetes mellitus, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde prevalansı hızla artan küresel bir sağlık problemidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, 2022 yılı itibarıyla dünya genelinde 537 milyon erişkin bireyin diyabetes mellitus tanısı aldığı bilinmektedir; bu sayının 2045 yılında 783 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (11). Ayrıca, yaklaşık 240 milyon kişi diyabet hastası olduğunun farkında değildir. Hem artan yaşam süresi, hem de obezite başta olmak üzere yaşam tarzına bağlı risk faktörlerinin yaygınlaşması diyabetes mellitus'un prevalansında dramatik bir artışa neden olmaktadır (12).

Tip 1 diyabetes mellitus (T1DM), sıklıkla çocukluk veya ergenlik döneminde başlayan, otoimmün mekanizmalarla pankreas beta hücrelerinin tahrip edilmesi sonucu gelişen, insüline bağımlı diyabet formudur. Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) ise insülin direnci ve beta hücre disfonksiyonunun bir arada bulunduğu, genellikle erişkin yaşta başlayan ve toplumda en sık görülen diyabet

formudur. Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması II (TURDEP-II) verilerine göre, Türkiye'de erişkin bireylerde T2DM prevalansı %13,7 olarak bildirilmiştir; bu oran kadınlarda %15,2, erkeklerde ise %12,3'tür (13).

Diyabetes mellitus tanısı Amerikan Diyabet Derneği'nin (ADA) yayımladığı bilgilere göre (14),

- Su haricindeki sekiz saat açlık sonrası yapılan plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 100-125 mg/dl çıkması prediyabet, 126 mg/dl ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.
- Oral glukoz tolerans testinin (OGTT) 2. saatinde yapılan plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 140-199 mg/dl çıkması prediyabet, 200 mg/dl ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.
- Diyabetes mellitus semptomları bulunan bir hastada herhangi bir zamanda yapılan plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 200 mg/dl ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.
- Son 2-3 aylık ortalama kan şekeri düzeyi hakkında bilgi veren HbA1c ölçümünün %5.7-6.4 çıkması prediyabet, %6.5 ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.

Diyabetes mellitus yalnızca bireysel bir sağlık sorunu değil, aynı zamanda toplumsal düzeyde ciddi ekonomik yük getiren sistemik bir hastalıktır. Doğrudan sağlık harcamaları ile birlikte diyabetin neden olduğu komplikasyonlar, iş gücü kaybı ve yaşam kalitesindeki azalma toplum sağlığını ve ekonomik verimliliği olumsuz yönde etkilemektedir (15).

Bu nedenle diyabetin tanınması, doğru sınıflandırılması, bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi ve uzun dönem komplikasyonlarının önlenmesi amacıyla düzenli izlem protokollerinin uygulanmasının, günümüz tıbbında kritik öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

2.2. Diyabetes Mellitus Gelişimi Risk Faktörleri

Diyabetes mellitusun gelişimi multifaktöryel bir süreçtir ve genetik, çevresel, davranışsal faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkar. Erken müdahale ve risk gruplarının tanımlanması, diyabetin önlenmesi ve komplikasyonların azaltılması açısından önemlidir.

Tip 1 diyabet, otoimmün bir süreçtir ve HLA sınıf II genleriyle (özellikle HLA-DR3, HLA-DR4) güçlü bir ilişki gösterir. Aynı ailede birden fazla bireyde Tip1 DM gelişme riski artmaktadır. Monozigot ikizlerde konkordans (aynı hastalık diğer bireylerde de görülme) oranı %30-50'dir (16).

Tip 2 diyabetin kalıtımsal yönü daha belirgindir. Aile öyküsü, riski 2–6 kat artırır. TCF7L2, FTO, PPARG gibi genlerdeki polimorfizmler tip 2 diyabet gelişimiyle ilişkilidir (17).

Obezite, özellikle visseral yağlanma, insülin direncinin başlıca nedenidir. Adipokinler (örn. leptin, adiponektin) ve inflamatuvar sitokinler (örn. TNF-α, IL-6), insülin sinyal yolaklarını bozar (18). Fiziksel aktivitenin az olması, glukoz kullanımını azaltarak diyabet riskini artırır.

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) 2021 verilerine göre, vücut kitle indeksi (VKİ) ≥30 kg/m² olan bireylerde tip 2 diyabet gelişme riski 10 kata kadar çıkmaktadır (19).

İleri yaş, tip 2 DM için bağımsız bir risk faktörüdür. Yaşla birlikte beta hücre rezervi azalır ve insülin duyarlılığı düşer. Kadınlarda gebelik sonrası diyabet riski artarken, erkeklerde ise abdominal obeziteye bağlı T2DM sık görülür (20).

Gestasyonel diyabet (GDM) geçirmiş olmak, ileriki yaşamda tip 2 DM gelişme riskini 7 kat artırmaktadır (21). Ayrıca, 4 kg'dan fazla ağırlıkta doğum yapmış kadınlarda da tip 2 diyabet riski artmıştır.

Yüksek kalorili, doymuş yağ ve rafine karbonhidrat açısından zengin diyetler, insülin direncine yol açarak diyabetes mellitus riskini artırır. Liften zengin, düşük glisemik indeksli diyetler diyabet gelişimini azaltabilir (22).

İnsülin direnci sendromunun bir parçası olan hipertansiyon, dislipidemi ve abdominal obezite, tip 2 diyabetin gelişiminde önemli rol oynar. Metabolik sendrom varlığında diyabetes mellitus gelişme riski 5 kat artar (23).

Afrika, Latin Amerika ve Orta Doğu kökenli bireylerde tip 2 diyabet riski daha yüksektir. Bu fark, genetik yatkınlık ve sosyoekonomik farklılıklarla ilişkilidir (24).

Polikistik over sendromu (PCOS), steroid ve tiazid kullanımı, uyku bozuklukları ve stres, sigara ve alkol kullanımı insülin direncini etkileyerek diyabetes mellitus gelişimini kolaylaştırır (25). 34.907 hastayı kapsayan bir meta analize göre, glukokortikoid kullanımına bağlı hiperglisemi oranı %32,3, yeni diyabet insidansı ise %18,6'dır; bu durum glukokortikoidlerin önemli bir diyabetes

mellitus risk faktörü olduğunu göstermektedir (26). Bir çalışmada tiazid kullanımına bağlı hipokalemi ile glukoz artışı arasında güçlü bir korelasyon olduğu bulunmuştur. Hipokalemiye bağlı β-hücre disfonksiyonu, hepatik glukoneogenez artışı ve FFA (serbest yağ asitleri) seviyesinin yükselmesi gibi çoklu patofizyolojik yollar tanımlanmıştır (27).

Cushing sendromu, akromegali, feokromositoma gibi durumlarda artmış karşı-regülatör hormonlar nedeniyle hiperglisemi görülebilir (28).

2.3. Diyabetes Mellitus Tipleri

Diyabetes mellitus; pankreasın, kan şekerini düzenleyen bir hormon olan insülini yeterli üretemediği ya da üretilen insülinin kullanımında bozukluk sonucu oluşan kandaki şeker düzeyinin yükselmesiyle gelişen kronik bir hastalıktır.

Diyabetes mellitus, etiyolojik ve klinik çeşitliliği nedeniyle farklı alt başlıklarda sınıflandırılmaktadır. Amerikan Diyabet Derneği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kabul edilen sınıflamaya göre diyabetes mellitus, başlıca dört ana gruba ayrılır.

Tip 1 DM, genellikle çocukluk veya ergenlik çağında başlayan, pankreas beta hücrelerinin otoimmün yıkımı ile insülin eksikliğine yol açan diyabet formudur. Otoimmüniteye karşı pozitif otoantikorlar (ICA, GAD65, IA-2, ZnT8) sıklıkla saptanır (29). Klinik olarak hızlı başlangıçlıdır; poliüri, polidipsi, kilo kaybı ile karakterizedir. Tip 1 DM'de ketoasidoz gelişme riski yüksek olup hastalar mutlak insülin gereksinimi duyar. Küresel insidansı artmakta olan Tip 1 DM, tüm

diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu oluşturur. İskandinav ülkelerinde daha yaygındır (30).

Tip 2 DM, genellikle erişkin yaşta başlayan, insülin direnci ve beta hücre disfonksiyonunun birlikte bulunduğu en yaygın diyabet tipidir. Progresif beta hücre yıkımı ve artan insülin ihtiyacı ile karakterizedir (31). Klinik olarak başlangıçta asemptomatik olabilir. Obezite sıklıkla eşlik eder; makrovasküler komplikasyon riski yüksektir. Oral antidiyabetik ilaçlar ve gerekirse insülin kullanılır. Tip 2 DM, dünya genelindeki diyabet vakalarının %90-95'ini oluşturur. Türkiye'de TURDEP-II çalışmasına göre, erişkinlerde prevalansı %13,7'dir (13).

Gestasyonel DM, gebelik sırasında ilk kez tespit edilen glukoz intoleransı durumudur. Gebelikle ilişkili hormonal değişimlere bağlı olarak gelişir. 24–28. gebelik haftaları arasında 75 g OGTT ile tanı konur. ADA kriterlerine göre: Açlık ≥92 mg/dL, 1. saat ≥180 mg/dL, 2. saat ≥153 mg/dL değerlerinden en az birinin bulunması ile tanı konur. Anne için gestasyonel hipertansiyon ve sezaryen riski artmaktadır. Bebekte makrozomi, neonatal hipoglisemi görülme riski artmaktadır. Retrospektif kohort yapılan bir çalışmada, GDM'li kadınların 15 yıl içinde % 25,8 oranında T2DM geliştiği; bu riskin GDM'siz kadınlara göre 9,6 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (32).

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY), otozomal dominant geçişli, genellikle genç erişkin yaşta ortaya çıkan, beta hücre fonksiyon bozukluğu ile karakterize bir diyabet tipidir. MODY-2 (GCK gen mutasyonu) ve MODY-3 (HNF1A mutasyonu) en sık alt tiplerdir (33).

2.4. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

2.4.1. Diyabetes Mellitus'un Akut Komplikasyonları

DM hastalarında ortaya çıkabilen akut komplikasyonlar, kan şekeri düzeyindeki ani dalgalanmalarla ilişkili, acil müdahale gerektiren durumlardır.

Hipoglisemi kan şekeri düzeyinin genellikle <70 mg/dL olmasıdır. Şiddetli hipoglisemide bilinç kaybı olabilir. İnsülin veya oral antidiyabetik dozunun fazla gelmesi, yetersiz beslenme veya öğün atlama, aşırı egzersiz, alkol tüketimi nedenleri ile görülebilir. Klinik olarak terleme, çarpıntı, titreme, konfüzyon, bilinç bulanıklığı, nöbet, koma (ileri evrede) görülebilir (34).

Diyabetik ketoasidoz ise insülin eksikliği sonucu yağların yıkılmasıyla oluşan ketonların kanı asidik hale getirmesi sonucu görülür. Daha çok Tip 1 diyabet hastalarında görülür. Tanı kriterlerine bakıldığında kan şekeri >250 mg/dL, ketonemi/ketonüri, metabolik asidoz pH <7.3, HCO_3 <18 mmol/L görülmektedir. Klinik olarak bulantı, kusma, keton kokulu (aseton) nefes, Kussmaul solunumu (derin ve yoğun soluk alıp verme), konfüzyon, bilinç kaybı şikayetleri olabilmektedir (35).

Hiperglisemik Hiperozmolar Durum, ağır hiperglisemi ve dehidratasyonla seyreden, ketozisin olmadığı ancak osmolalite artışının ön planda olduğu durumdur. Daha çok Tip 2 diyabet hastalarında görülür. Yaşlılarda, enfeksiyonlar sonrası daha sık olur. Tanı kriterlerinde kan şekeri >600 mg/dL , Serum osmolalitesi >320 mOsm/kg , pH >7.3, HCO_3 >18 mmol/L (ketozis genellikle yok)

yer almaktadır. Klinik olarak şiddetli susuzluk ve dehidratasyon, letarji, konfüzyon, koma, hipotansiyon, taşikardi görülmektedir (36).

Laktik asidoz, laktat birikimine bağlı olarak gelişen bir metabolik asidozdur. Özellikle metformin kullananlarda, renal yetmezlik veya sepsis durumlarında görülebilir. Laktat >5 mmol/L , pH <7.35 laboratuar bulguları görülmektedir (37).

2.4.2. Diyabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları

Kronik hiperglisemi, çeşitli hücresel ve moleküler mekanizmalar aracılığıyla doku hasarına neden olur. Bu mekanizmalar arasında ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), oksidatif stres, protein kinaz C aktivasyonu ve poliol yolunun aktivasyonu yer alır (38). Sonuçta ortaya çıkan mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar, diyabetin uzun dönem sonuçlarıdır.

Retina damarlarının hasar görmesi sonucu oluşur ve görme kaybına yol açabilir. Maküler ödem ve görme kaybına yol açabilir. Tip 1 DM'de tanıdan 5 yıl sonra, Tip 2 DM'de tanı anında yıllık göz muayenesi önerilir (10).

Diyabetik nefropati glomerüler bazal membran kalınlaşması, mezanjial genişleme ve glomerüloskleroz ile karakterizedir. İlk belirti mikroalbüminüridir (30–300 mg/g). Hastalık ilerledikçe makroalbüminüri (>300 mg/gün) ve eGFR düşüşü ile kronik böbrek yetmezliğine gidebilir (39, 10).

Diyabetik nöropati olarak en sık görülen formu distal simetrik polinöropatidir. Ayrıca otonom nöropati (ör: ortostatik hipotansiyon, gastroparezi) de görülebilir. Klinik olarak uyuşma, yanma, karıncalanma, distal ekstremitelerde duyu kaybı görülmektedir (40).

Koroner Arter Hastalığı (KAH) ateroskleroz, endotelyal disfonksiyon ve inflamasyon yolaklarının etkili olduğu bilinmektedir (10). Serebrovasküler hastalık olarak inme riski diyabetik bireylerde 2–4 kat artmıştır. Korunmak için kan basıncının <130/80 mmHg hedeflenmesi ve antiplatelet tedavi (sekonder koruma için) önerilmektedir (41). Periferik Arter Hastalığı (PAH) olarak ise alt ekstremitede iskemik ağrı (klaudikasyo), yara iyileşmesinde gecikme, diyabetik ayak ülseri ve amputasyon riski görülebilir (42). Diyabetik ayak, nöropati, iskemi ve enfeksiyonun birlikte görülmesiyle gelişir. (43).

2.5. Diyabetik Hastalarda Görülen Üriner Sistem Problemleri

DM, hem mikro- hem makrovasküler komplikasyonlara neden olan sistemik bir hastalıktır. Diyabet, üriner sistem fonksiyonlarını da çok yönlü etkileyerek hem alt hem de üst üriner sistem problemlerine zemin hazırlar. Bu problemler genellikle glisemik kontrol bozukluğu, diyabet süresi, otonom sinir sistemi tutulumu ve immün yanıtın bozulmasıyla ilişkilidir (44). Genel olarak, diyabet tanılı hastaların %50'sinden fazlası bir tür mesane işlev bozukluğu yaşarken, %80'i alt idrar yolu sorunlarından etkilenir (34).

2.5.1. Diyabetik Sistopati (Nörojenik Mesane)

Diyabetin otonom sinir sistemi üzerindeki etkileri sonucu ortaya çıkan mesane disfonksiyonudur. Diğer adı diyabetik nörojenik mesanedir.

Diyabetik sistopatinin kompanze evresinde, mesane detrusor kası fonksiyonlarını sürdürmekle birlikte, afferent ve efferent sinirlerdeki erken

nöropatik değişikliklere bağlı olarak mesane duvarında hipertrofi ve dolum fazında artmış komplians gözlenir. Dekompanze evrede ise ilerleyen nöropati sonucunda detrüsör kas kontraktilitesi belirgin şekilde azalır, post-miksiyonel rezidüel idrar artar ve mesane tam boşaltılamaz hale gelir (45).

2.5.2. Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE)

Diyabetik bireylerde, hem alt hem üst üriner sistem enfeksiyonları daha sık ve ağır seyreder.

Bağışıklık fonksiyonunun bozulması, glikozüri (bakteri üremesi için zemin), mesane boşaltımının yetersizliği, periferik nöropati gibi durumlar zemin hazırlar.

Klinik olarak basit sistit, piyeloneftit, emfizematöz piyelonefrit/sistit görülebilmektedir (46).

2.5.3. İnkontinans (İdrar Kaçırma)

Diyabetik kadınlarda özellikle yaygındır. Stres inkontinans (pelvik taban zayıflığı), urgency inkontinans (detrüsor aşırı aktivitesi) , mikst inkontinans olarak karşımıza çıkabilmektedir (47).

2.5.4. Kronik Böbrek Yetmezliği (Diyabetik Nefropati ile İlişkili)

Diyabet, gelişmiş ülkelerde son dönem böbrek hastalığının en sık nedenidir. Bu durum, üriner sistemin üst bölümlerinde kronik hasar oluşturarak idrar üretim

ve atılımında bozulmalara yol açar (48). Ayrıca SGLT2 inhibitörü kullanan hastalarda, glikozüri ilaç advers etkisi olarak ortaya çıkar. Bu durum idrar osmolalitesini artırarak idrar yolu enfeksiyonlarına zemin hazırlayabilir (49).

2.5.5. Diyabetes Mellitus Tanılı Hastalarda Görülen Üriner Sistem Kanserleri

DM, yalnızca metabolik bir hastalık değil; aynı zamanda kanser gelişimi açısından da potansiyel risk faktörüdür. Diyabetin neden olduğu hiperinsülinemi, kronik inflamasyon ve oksidatif stres, hücre proliferasyonunu uyararak ve apopitozu baskılayarak tümör gelişimini destekleyebilir. Bu bağlamda, üriner sistem kanserleri de diyabet tanılı bireylerde artmış insidans gösterebilir (50). Mesane kanseri, diyabet tanılı bireylerde en sık görülen üriner sistem kanserlerinden biridir. Özellikle tip 2 diyabet hastalarında, metformin dışındaki oral antidiyabetik ajanların kullanımı ve insülin tedavisi, mesane kanseri riskini artırabilir. Diyabete bağlı hiperinsülinemi, IGF-1 (insulin-like growth factor) düzeylerini artırarak hücresel proliferasyonu destekler. Bazı çalışmalarda, diyabet tanılı bireylerde mesane kanseri riskinin %30'a kadar arttığı bildirilmiştir (51). DM, renal hücreli karsinom (RCC) gelişimi ile ilişkilidir. Hiperglisemiye bağlı oksidatif stres ve kronik düşük dereceli inflamasyon, böbrek hücrelerinde DNA hasarına neden olabilir. DM tanılı bireylerde RCC gelişme riski %20-50 arasında artmıştır (52). Üreter ve renal pelvis kanserleri nadirdir, ancak bazı araştırmalar diyabetin bu bölgelerdeki ürotelyal kanserlerin gelişiminde rol oynayabileceğini öne sürmüştür. Ancak, kanıtlar mesane ve böbrek kanserlerine kıyasla daha sınırlıdır (53).

2.6. Mesane Fizyolojisi

Mesane; mukozal tabaka (ürotelyum), submukoza, detrusor düz kas tabakası ve serozadan oluşur. Detrusor kası, miksiyonun aktif fazında kasılırken; depolama evresinde gevşemelidir. Bu doku, kolinerjik ve adrenerjik sinyallere duyarlıdır (54).

2.6.1. Mesanenin Nöronal İnnervasyonu

Mesanenin nöronal innervasyonu, parasempatik, sempatik ve somatik sinir sistemlerinin koordineli etkileşimiyle dolum ve boşaltım işlevlerini düzenlemesi Tablo 1'de özetlenmiştir.

Afferent (duyusal) innervasyon meesane duvarındaki doluluğu, gerilmeyi, inflamasyonu veya ağrıyı algılayarak bu bilgiyi merkezi sinir sistemine (MSS) taşır. P2X3 pürinerjik reseptörleri (ATP'ye duyarlı) mesane gerilmesiyle aktive olur. Aşırı aktif mesane gibi durumlarda C-liflerinin aşırı duyarlılığı önemli rol oynar (55).

Efferent (motor) innervasyon ise işeme veya idrar tutma eylemini sağlayacak şekilde detrusor kası ve sfinkter kasları üzerinde etki yapar. Parasempatik sistem (S2–S4, pelvik sinir) miksiyon (boşaltım) fazında aktiftir, detrusor kasında kasılma sağlar. Kolinerjik uyarı ile M3 muskarinik reseptörleri aracılığıyla etki eder. Aşırı aktif mesanede M3 reseptör antagonistleri bu yolu inhibe eder.

Sempatik sistem (T11–L2, hipogastrik sinir) depolama fazında aktiftir, detrusor kasında β3-adrenerjik reseptörler üzerinden gevşeme yaparken iç üretral

sfinkterde α1-adrenerjik reseptörlerle kasılma yapar. Alfa blokerler sfinkter tonusunu azaltarak çıkış direncini düşürür.

Somatik sistem (S2–S4), pudendal sinir nikotinik reseptörler aracılığıyla dış üretral sfinkterin istemli kasılmasını sağlar (56).

Tablo 1. Mesanenin nöronal innervasyonu

Sinir Sistemi	İnnervasyon	Görev	Reseptörler
Parasempatik	Pelvik sinir (S2-S4)	Mesane kasının kasılması (miksiyon)	Muskarinik M3(Ach)
Sempatik	Hipogastrik sinir (T11-L2)	Detrusor gevşemesi, İç sfinkter tonusu	β3-Adrenoseptör (NA), α1-Adrenoseptör (NA)
Somatik	Pudendal sinir (S2-S4)	Dış sfinkterin istemli kontrolü	Nikotinik (Ach-NM) reseptörleri

2.6.2. Mesanedeki Reseptör Tipleri

Mesane fonksiyonları, detrusor kası, ürotelyum ve sinir uçlarında yer alan çeşitli reseptörlerin koordineli çalışması ile yürütülür; bu reseptörler Tablo 2'de özetlenmiştir.

2.6.2.1. Muskarinik Reseptörler (Kolinerjik Reseptörler)

Mesane düz kas hücrelerinde muskarinik reseptörler, parasempatik sinir aktivitesiyle kasılmayı düzenler. Mesanede başlıca M_2 ve M_3 alt tipleri bulunur. İnsan ve rodent mesanesinde M_2 reseptörünün protein seviyeleri M_3'e oranla daha yüksektir; ancak direkt kasılma fonksiyonunun baskın aracısı M_3 reseptörüdür (57).

Diyabet ile birlikte özellikle M3 reseptör ekspresyonu azalır ve hipokontraktil mesane gelişmesine katkıda bulunur (58). Literatürde STZ ile oluşturulan diyabetik rat modellerinde mesane dokusunda M_2 ve M_3 muskarinik reseptörlerinin mRNA düzeyleri önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (59). Bu moleküler düzenlemeler, mesane hiperaktivitesi ve disfonksiyonunda reseptör alt tipleri arası dengeyi şekillendiren adaptif bir yanıt olarak değerlendirilebilir. Dolayısıyla, bu genlerin mRNA düzeyi analizi, diyabetik mesane patofizyolojisinin anlaşılması ve terapötik hedeflerin tanımlanması açısından önemli olduğunu düşündürmektedir.

2.6.2.2. Adrenerjik Reseptörler

Sempatik sinir sistemi, depolama fazında mesane tonusunu ayarlamak için β-adrenerjik ve α-adrenerjik reseptörleri kullanır.

β3-Adrenerjik reseptör detrusor düz kasında baskın olan alt tiptir , mesane gevşemesinde etkilidir. Mirabegron gibi β3 agonistleri aşırı aktif mesane tedavisinde kullanılır (60). Diyabetes mellitus, β3 reseptör düzeyinde duyarlılık azalmasına ve sinyal yolaklarında disfonksiyona neden olabilir (61). Bu durum, mesane gevşeme yetisinin bozulmasına ve depolama fazında idrar kaçırma (urge inkontinans) gibi semptomlara neden olabilir.

α1-Adrenerjik reseptör mesane boynu ve iç sfinkterde yer alır, kasılmayı artırarak idrarın tutulmasını sağlar. Alfa-blokerler (örneğin tamsulosin), mesane çıkım direncini azaltarak Benign Prostat Hiperplazisi'nde kullanılır (62).

2.6.2.3. Purinerjik Reseptörler (P2X ve P2Y)

P2X (İyonotropik) reseptörleri afferent sinir uçlarında bulunur. ATP aracılığıyla aktive edilir ve mesane doluluğunu algılayan mekanosensörlerdir**.** Özellikle irritatif sendromlarda aşırı duyarlı hale gelir (63). Diyabetik hayvan modellerinde P2X3 reseptörlerinin afferent sinir uçlarında aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (64). Bu durum artan ATP duyarlılığına, aşırı aktif mesane veya irritatif işeme semptomlarına neden olur.

P2Y (Metabotropik) reseptörleri ürotelyal hücrelerde bulunur, ATP/UTP'ye yanıt verir. Hücre içi sinyal yolları ile afferent sinir hassasiyetini düzenler (65).

2.6.2.4. Vaniloid Reseptörler (TRPV1)

Duyusal afferentlerde, özellikle C-liflerinde bulunur. Nositif duyuların (ağrı, irritasyon) algılanmasında görev alır. TRPV1 antagonistleri, potansiyel analjezik hedeflerdir (66). Diyabete bağlı C-lifi disfonksiyonu ve TRPV1 reseptör desensitizasyonu görülür (67). Mesane doluluğuna duyarlılık azalır, hasta mesaneyi geç hisseder, aşırı distansiyon ve hipotonik mesane gelişebilir (67).

2.6.2.5. Östrojen Reseptörleri (ERα, ERβ)

Mesane ve üretra epiteli, bağ dokusu ve düz kasta bulunur. Postmenopozal dönemde mesane duyarlılığı ve sfinkter tonusu üzerinde etkilidir. Östrojen tedavisinin mesane irritabilitesi ve inkontinans üzerinde olumlu etkileri olabilir (68).

Tablo 2. Mesanedeki reseptör tipleri

Reseptör	Yeri	Agonist/Antagonist	İşlevi	Klinik Kullanımı
M3	Detrusor kas	Antagonist (Solifenasin)	Kasılma	Aşırı aktif mesane
β3	Detrusor kas	Agonist (Mirabegron)	Gevşeme	Aşırı aktif mesane
α1	İç sfinkter	Antagonist (Tamsulosin)	Kasılma	BPH ilişkili obstrüksiyon
P2X	Afferent sinir ucu	Antagonist	Doluluk hissi	Ağrılı mesane, interstisyel sistit
TRPV1	C-lifi sinir uçları	Antagonist	Ağrı, yanma	Nöropatik mesane ağrısı
ERα/β	Epitel, bağ doku	Östrojen	Ürojenital bütünlük	Postmenopozal irritatif semptomlar

2.6.3. Mesanede Sinyal İletimi ve Hücresel İletişimle İlişkili Moleküller

2.6.3.1. PACAP38 (Pitüiter Adenilat Siklaz Aktivatör Polipeptidi)

Pitüiter adenilat siklaz aktivatör polipeptidi-38 (PACAP-38), 38 amino asitten oluşan, nöroprotektif, antiinflamatuvar, antioksidan, antiapopitotik etkileri bilinen bir nöropeptiddir (69). Üriner sistem ve mesane bağlamında PACAP-38, hem efferent hem de afferent sinir yollarında etkili olup, mesane içi kasılmalarda, spontan fazik aktivitelerde modülatör rol oynar. Özellikle inflamatuvar ve mekanik stres durumlarında peptidin ekspresyon ve fonksiyonel etkilerindeki değişimler mesane işlev bozukluklarıyla ilişkilendirilmektedir (70).

2.6.3.2. Piezo1 Proteini

Piezo1, membran-gerilimine duyarlı büyük bir non-selektif iyon kanalıdır. Mesanede Piezo1, duvar gerilimi, dolma basıncı veya idrar akışından kaynaklanan mekanik uyarıları algılayarak ATP salınımı ve Ca^{2+} influx'u tetikler, böylece mekanotransdüksiyonun temel elemanlarından biri olarak yer alır (71). Diyabet

modellerinde Piezo1 aktivasyonu, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt tetikleyerek vasküler patolojilere yol açtığı; Piezo1'in genetik veya farmakolojik inhibisyonuyla bu etkilerin hafifletildiği bildirilmiştir (72).

2.6.3.3. TRPA1 (Transient Receptör Potansiyeli Ankyrin-1) Proteini

TRPA1, nörojenez ve inflamasyonda önemli bir rol oynayan non-selektif iyon kanalıdır (73). Mesane dokusunda TRPA1'in hem afferent sinir uçlarında hem de ürotelyal hücrelerde lokalize olduğu ve özellikle inflamasyon ve diyabet modellerinde ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (74).

2.6.3.4. Cx43 (Konneksin-43) Proteini

Konneksin-43 (Cx43), gap junction (aralık bağlantı) protein ailesininden olup, özellikle kalp, beyin, mesane, uterus gibi dokularda hücreler arasında doğrudan iletişimi sağlamakla görevlidir. Mesane disfonksiyonları, interstisyel sistit, aşırı aktif mesane sendromu ve diyabetik sistopati gibi çeşitli patolojik durumlarda, konneksin ekspresyonlarının anormal şekilde artış veya azalış gösterdiği rapor edilmiştir (75).

Bu çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçan modelinde, mesane dokusunda seçilmiş genlerin (M_2 ve M_3 muskarinik reseptörleri, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43) mRNA düzeyleri real time PCR kullanılarak karşılaştırılmıştır. Literatürdeki güncel veriler ışığında, bu genlerdeki düzenlenmenin mesane disfonksiyonunun moleküler temsiline katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Özellikle M_2 ve M_3 reseptör dengesinin detrusor kasın kontraktilite yanıtına etkileri;

PACAP38'in inflamasyon veya nöroplastisite ile ilişkisi; Piezo1 ve TRPA1 gibi mekanosensitivite ve afferent yol düzenleyicilerinin ekspresyon değişimleri; Cx43 aracılığıyla hücreler arası bağlantıların diyabetik modeldeki rolü gibi parametreler değerlendirilmiştir.

2.7. Hidrojen Sülfür

Hidrojen sülfür (H_2S), nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) ile birlikte vücutta endojen olarak üretilen üç gazotransmitterden biridir. H_2S vücutta L-sistein, L-homosistein gibi aminoasitler kullanılarak, çeşitli dokularda sistatyonin-β-sentaz (CBS), sistatyonin-γ-liyaz (CSE) ve 3-merkaptopirüvat sülfürtransferaz (3-MST) enzimleri ile sentezlenmektedir (76). H_2S vucudumuzda pek çok fizyolojik ve patolojik olayda rol almaktadır. H_2S etkisini temel olarak proteinlerin sistein içeren kısımlarını translasyon sonrası modifiye ederek, çeşitli ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) ile etkileşime girerek ve hem proteinlerin merkezine bağlanarak göstermektedir. Bu etkilerini ortaya çıkartırken NO ve benzeri diğer moleküllerle etkileşimde bulunarak görev yaptığı öne sürülmektedir (77).

H_2S üretiminde görevli enzimlerden CBS'nin varlığı santral sinir sistemi, solunum ve dolaşım sistemine ait dokularda, iskelet kasında, gastrointestinal sistemde, akciğerde, yağ dokusunda ve genitoüriner sistemde gösterilmiştir (77). Üretimde görev alan diğer temel enzim olan CSE ise kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, böbrek, karaciğer, uterus ve genitoüriner sistemde bulunmaktadır (77). H_2S görevi sonlandıktan sonra tiyol S-metiltransferaz enzimi ile yıkılmaktadır (76).

2.7.1. Hidrojen Sülfürün Etkileri

H_2S vücutta düz kaslar, inflamasyon, apoptoz, oksidatif stres, vasküler homeostaz, anjiojenez, hücre proliferasonu, metabolik fonksiyonlar, endokrin fonksiyonlar, immün sistem fonksiyonları üzerinde etki göstermektedir. Ayrıca H_2S'nin glutatyon seviyesini arttırarak sitoprotektif etkisi bulunmaktadır. Bazı patolojik durumlarda vücutta miktarı artan ROS'ları ortamdan uzaklaştırarak oksidatif stresi azalttığı kanıtlanmıştır (78).

H_2S, pankreas β-hücrelerini glukotoksisiteye karşı koruyabilmekte, insülin sinyalizasyonunu destekleyebilmekte ve endotel fonksiyonlarını iyileştirerek diyabetin neden olduğu organ hasarlarını azaltabilmektedir (79). Mesane düz kasında kasılma gevşeme dengesinin sağlanması, sempatik ve parasempatik sinir sistemleri, çeşitli reseptörler (muskarinik, pürinerjik, adrenerjik) ve iyon kanallarının koordinasyonu ile gerçekleşmektedir. Son çalışmalar, H_2S'nin bu sistemler ile etkileşime geçerek mesane kas tonusunu modüle edebileceğini ve olası terapötik hedef oluşturabileceğini öne sürmektedir (80). Bu bağlamda, deneysel diyabet modellerinde H_2S'nin mesane fonksiyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması, hem temel fizyolojiye katkı sunmakta hem de diyabete bağlı mesane disfonksiyonları (örneğin diyabetik sistopati) için potansiyel yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır.

2.7.2. Üriner Sistemde Hidrojen Sülfürün Etkileri

H_2S'nin etkileri sadece kardiyovasküler ya da sinir sistemiyle sınırlı kalmayıp, üriner sistemde de belirli fizyolojik işlevleri modüle edebileceği

bilinmektedir. Üriner sistem, başta böbrekler, üreterler, mesane ve üretra olmak üzere çeşitli düz kas yapılarına sahip kompleks bir sistemdir. Bu sistemin düzgün işleyişi için kasılma-gevşeme dengesi, nörolojik kontrol ve lokal mediyatörlerin regülasyonu önemlidir. H_2S'nin bu yapılar üzerindeki potansiyel etkileri, özellikle düz kas kasılabilirliği, inflamasyon, oksidatif stres, nöral iletim ve hücresel homeostaz gibi alanlarda önemli sonuçlar doğurabilecek niteliktedir (80).

Mesane özelinde yapılan bazı deneysel çalışmalarda, H_2S'nin muskarinik reseptörler ve pürinerjik yolaklarla etkileşime girerek mesane düz kas tonusunu azaltabileceği, böylece aşırı aktif mesane gibi klinik tabloların patofizyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (81). Ayrıca, STZ (streptozotosin) ile oluşturulan deneysel diyabet modellerinde mesane disfonksiyonları gözlemlenmekte olup, bu modellerde H_2S donörlerinin (örneğin NaHS) mesane kasılmalarını azalttığı, oksidatif hasarı hafiflettiği ve nöroinflamatuvar yanıtları bastırdığı gösterilmiştir (82).

Böbrek düzeyinde ise H_2S'nin glomerüler filtrasyon hızını ve renal perfüzyonu artırıcı etkileri olduğu; aynı zamanda pro-fibrotik sinyal yolaklarını baskılayarak kronik böbrek hastalıklarının ilerlemesini yavaşlatabileceği öne sürülmektedir (83). Bununla birlikte H_2S'nin renal tübül hücrelerinde oksidatif stresi azaltarak akut böbrek hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği deneysel olarak kanıtlanmıştır (84).

Bu tez çalışmasında, H_2S'nin üriner sistem fizyolojisi üzerindeki etkileri; özellikle diyabetik modelde mesane düz kas yanıtları, reseptör düzeyindeki etkileşimler ve olası terapötik etkiler bağlamında değerlendirilmiştir. Elde edilen

veriler, H_2S'nin mesane disfonksiyonu gibi klinik sorunlara yönelik yeni tedavi hedefi olabileceğine dair önemli ipuçları sağlamayı amaçlamaktadır.

2.7.3. İnflamasyon İlişkili Hidrojen Sülfürün Etkileri

İnflamasyon üzerinde yapılan çalışmalarda endotoksik şok ve sepsiste H_2S seviyesi normalden yüksek olduğu ve hipotansiyona aracılık edebilme ihtimali gösterilmiştir. Sepsis tanılı hastalarda yapılan çalışmada, özellikle sepsisin ilk 24–48 saati içinde plazma H_2S seviyeleri belirgin şekilde yüksek bulunmuştur ve bu durum pro-inflamatuvar belirteçlerle (IL-6, prokalsitonin, CRP) pozitif korelasyon göstermiştir (85, 86). H_2S'in konsantrasyon bağımlı olarak çift etkisi olsa da başlıca antiinflamatuvar olduğu kabul edilmiş ve bu özelliğinden faydalanmak için H_2S salınımlı diklofenak ve mesalamin gibi kombinasyonlar geliştirilmiştir; kombine preparatların antiinflamatuvar etkilerinin standart versiyonlara göre daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır (87, 88).

2.8. Diyabetik Hayvan Modelleri

Diyabetik hayvan modelleri genel olarak kimyasal, genetik ve diyetle oluşturulan modeller olarak üç ana grupta sınıflandırılabilir. Her modelin kendine özgü avantajları ve sınırlılıkları vardır. Örneğin, STZ ile oluşturulan diyabet modellerinde β-hücre hasarı hızlı ve kontrollüdür; bu nedenle akut diyabet araştırmaları için uygundur. Ancak otoimmüniteyi yansıtmaz. Buna karşılık, NOD farelerinde insülin üretimi zamanla azaldığı için otoimmün süreçlerin incelenmesi mümkündür (89).

2.8.1. Kimyasal Modeller

Hayvanlarda kimyasal olarak diyabet oluşturmak için başlıca alloksan ya da STZ kullanılmaktadır (90). Günümüzde alloksanın çok tercih edilmediği ve deneysel diyabet çalışmalarında en sık STZ kullanıldığı görülmektedir (91). STZ, glukoz transporter 2 aracılığı ile pankreas β hücrelerine girip DNA fragmantasyonu yaparak hücrelerde tahribat oluşturmaktadır. β hücre tahribatından kaynaklı görülen insülin yetmezliği hiperglisemi ve diyabete neden olmaktadır. STZ ile diyabet oluşturmak için en sık tercih edilen protokol 45-65 mg/kg dozda, tek doz, intraperitonal (i.p.) ilaç uygulamasıdır (92). STZ ile indüklenen tip 1 diyabetes mellitus modelinde, tip 2 diyabetes mellitus modelinde görülene benzer şekilde periferik nöronlarda inflamasyon ve nöropati olduğu, sinir iletim hızı ölçümü, pati ısı tepkisinin gecikmesi ve sinir gövdelerindeki myelinli liflerin morfolojik olarak incelenmesiyle gösterilmiştir (93). Diyabetin mesane üzerindeki etkisini incelemek amacıyla STZ modeli kullanan çalışmalar literatürde mevcuttur (94).

2.8.2. Genetik Modeller

DM çalışmalarında özel olarak üretilen ve genetik olan diyabetes mellitus hayvanlar kullanılmaktadır. Bu hayvanlardan: Zucker Diyabetik Fatty (ZDF) sıçanlar, Goto-Kakizaki sıçanlar, ob/ob ve db/db modifiye fareler, insülin reseptör nakavtlı fareler tip 2 DM model çalışmalarında, biobreeding (BB) sıçanlar, LEW 1AR1/-IDDM sıçanlar, nonobez diyabetik (NOD) fareler, AKITA fareler ise tip 1 DM model çalışmalarında kullanılmaktadır (95).

2.8.3. Diyetle İnduklenen Modeller

Tip 2 DM oluşturmak amacıyla genetik modifiye olmayan ve sağlıklı sıçan ya da farelere yüksek kalorili yağlı diyet uygulanarak insülin direnci, obezite ve metabolik sendrom oluşturulan modeller kullanılmaktadır (96).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik onayı, "Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu"nun 21.06.2023 tarihli ve G.Ü.ET-23.059 kod numaralı kararıyla alınmıştır. Bu çalışmamızda daha önce 07.11.2022 tarihinde etik kurul onayı alınan, G.Ü.ET-22.107 kod numarası ile kabul edilen "Sıçanlarda streptozosin ile oluşturulmuş diyabetes mellitus modelinde, vaz deferens kasılma yanıtlarına kronik hidrojen sülfür tedavisinin etkisi" başlıklı çalışmanın deney hayvanları ortak olarak kullanılmıştır.

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Sunulan çalışmada erişkin, ağırlıkları 300-350 g arasında değişen 32 adet erkek Wistar albino türünde sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma öncesi power analizi yapılarak, etik kurul görüşü doğrultusunda güvenilir sonuç elde edilebilecek minimum hayvan sayısı kullanılmıştır. Akredite bir laboratuvar olan "Technical Universal Verification" firmasından temin edilen hayvanlar, deneyler başlamadan önce GÜDAM (Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi)'da bir hafta süreyle karantinaya alınmış ve ortama alışmaları sağlanmıştır. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsü sağlanacak şekilde barındırılmıştır. Sıçanların su içmeleri serbest bırakılıp, serbest bir şekilde standart laboratuvar hayvan yemi ile beslenmiştir (ad libitum) ve oda ısısı 20 ± 2 °C'ye ayarlanmıştır. Altlarında talaş olacak şekilde kafeslerde barındırılan hayvanların kafesleri her gün temizlenerek kuru altlık olacak şekilde talaşları yenilenmiştir. Deney, 8 hafta boyunca her gün yapılacak enjeksiyonların ardından izole organ

çalışmaları için her gün günde 1 hayvan sakrifiye edilecek şekilde toplamda 3 aylık bir süreç olarak planlanmıştır.

3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabet oluşturulacak gruplar 1 gece önceden aç bırakılarak, kan şekeri ve kilo kontrolünün ardından tek doz 60 mg/kg olacak şekilde 0.1 M'lık sitrat buffer tamponunda çözünmüş STZ intraperitoneal olarak uygulanmıştır. STZ, uygulama anından hemen önce hazırlanıp, hayvanlara uygulanmıştır. Kontrol gruplarına ise sadece sitrat buffer intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra hayvanların kuyruklarından alınan kan örnekleriyle, kan şekeri ölçülmüştür. STZ verilen hayvanlardan ölçüm sonucu kan şekeri 250 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubunda sıçanların da 7 gün sonra kan şekeri kontrol edilerek 200 mg/dl'nin altında olanlar diyabet olmadıkları teyit edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm gruplarda 8 haftalık enjeksiyon süresince haftalık kan şekeri ölçümü ve kilo takibi yapılmıştır. Yapılan son ölçüm gününde sıçanlar sabah 9.00'da sakrifiye edilmiştir.

3.3. Deney Grupları

Sunulan çalışmada yer alan 32 adet sıçan rastgele bir şekilde toplamda 4 gruba ayrılmıştır. Deney grupları Tablo 3'de özetlenmiştir.

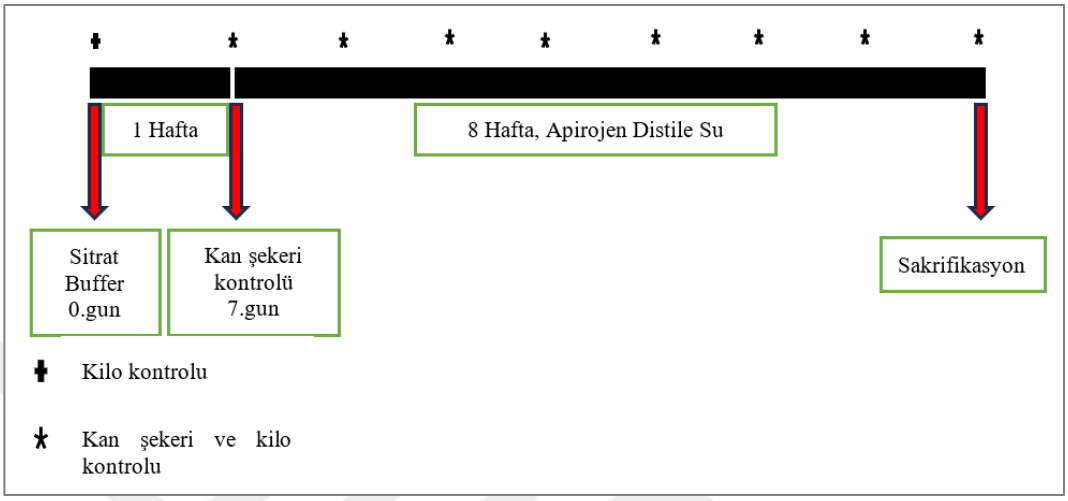
Tablo 3. Deney grupları

Grup	Tanım	Uygulama	Hayvan Sayısı
1. Kontrol	Sağlıklı, tedavisiz grup	Sham (sitrat tamponu) + apirojen distile su (8 hafta)	6
2. NaHS	Sadece H_2S uygulanan sağlıklı grup	Sham (sitrat tamponu) + NaHS enjeksiyonu (8 hafta)	6
3. Diyabet	Diyabet modeli oluşturulmuş, tedavisiz	STZ (streptozotosin) + apirojen distile su enjeksiyonu (8 hafta)	10
4. Diyabet + NaHS	Diyabet modeli + H_2S tedavisi	STZ + NaHS enjeksiyonu (8 hafta)	10

1.Grup; Kontrol Grubu

Bu gruptaki altı adet sıçana STZ'nin çözücüsü olan sitrat buffer tek doz intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra ağırlık ve kan şekeri kontrolü yapılarak çalışmaya dahil edilmiştir. Ardından hayvanlara 8 hafta boyunca tedavi grubunda uygulanan NaHS'nin çözücüsü olan steril distile su her gün intraperitoneal olarak (0,1 cc) enjekte edilmiştir. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda son ölçüm yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edilerek izole organ banyosu deneyleri ve real time PCR çalışmasına doku elde edilmiştir.

Deney akışı Şekil 1'de gösterilmiştir.

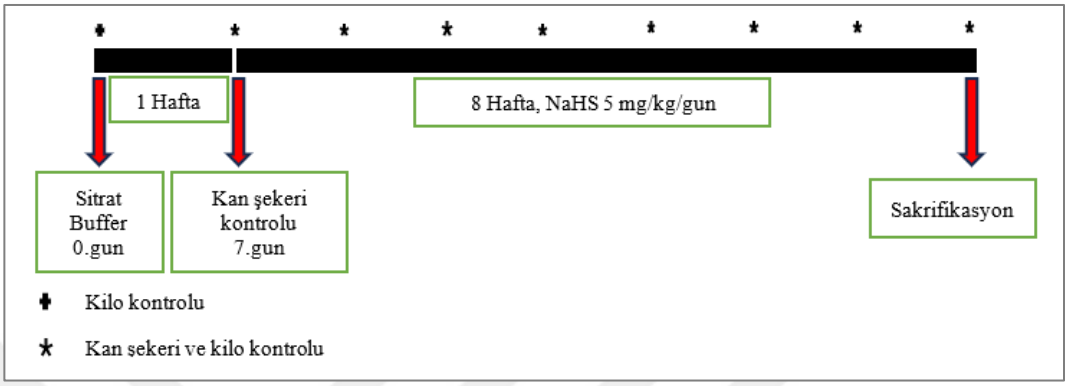


Şekil 1. Kontrol grubuna ait günlere göre deney akışı

2.Grup; NaHS Grubu

Diyabet oluşturulmamış, sağlıklı sıçanlarda NaHS'in etkilerini değerlendirebilmek için, bu grupta yer alan altı adet sıçana önce STZ'nin çözücüsü olan sitrat buffer tek doz intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra ağırlık ve kan şekeri kontrolü yapılarak sıçanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Ardından hayvanlara 8 hafta boyunca, tedavi grubunda 5 mg/kg olacak şekilde uygulanan NaHS, her gün intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda son ölçüm yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edilerek izole organ banyosu deneyleri ve real time PCR çalışmasına doku elde edilmiştir.

Deney akışı Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. NaHS grubuna ait günlere göre deney akışı

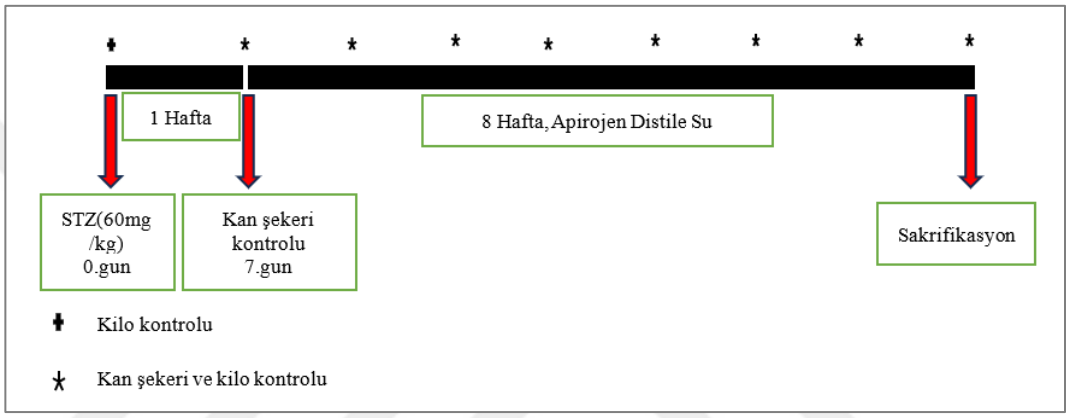
3.Grup; Diyabet Grubu

Bu gruptaki on adet sıçana Tip 1 diyabetes mellitus modeli oluşturmak amacıyla 60 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal STZ, kilo kontrolü sonrası uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra hayvanlara kilo ve kan şekeri kontrolü yapılarak, kan şekeri düzeyi 250 mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Ardından hayvanlara 8 hafta boyunca tedavi grubunda uygulanan NaHS'nin çözücüsü olan steril distile su i.p. olarak (0,1 cc) her gün enjekte edilmiştir. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda son ölçüm yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edilerek izole organ banyosu deneyleri ve real time PCR çalışmasına doku elde edilmiştir.

3.grup 8.hayvan tedavinin yedinci haftasında exitus olmuştur.

3.grup 10.hayvana ilk STZ dozundan sonra kan şekeri 250 mg/dl'nin altında (201 mg/dl) olduğu için dirençli kabul edilip ilave tek doz STZ 60 mg/kg yapılmıştır, sakrifiye edildikten sonra dokuda real time PCR çalışılmıştır.

Deney akışı Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Diyabet grubuna ait günlere göre deney akışı

4.Grup; Diyabet + NaHS Grubu

Bu gruptaki on adet sıçana Tip 1 diyabetes mellitus modeli oluşturmak amacıyla 60 mg/kg olacak şekilde i.p. STZ, kilo kontrolü sonrası uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra hayvanlara kilo ve kan şekeri kontrolü yapılarak, kan şekeri düzeyi 250 mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Diyabetin mesane dokusu üzerinde yarattığı etkiye kronik hidrojen sülfür tedavisinin etkisini incelemek amacıyla bu gruptaki hayvanlara 8 hafta boyunca her gün 5 mg/kg olacak şekilde i.p. enjeksiyon olarak NaHS tedavisi uygulanmıştır. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın

sonunda son ölçüm yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edilerek izole organ banyosu deneyleri ve real time PCR çalışmasına doku elde edilmiştir.

4.grup 6.hayvan tedavinin yedinci haftasında exitus olmuştur.

Deney akışı Şekil 4'de gösterilmiştir.



Şekil 4. Diyabet + NaHS grubuna ait günlere göre deney akışı

3.4. Mesane Dokusunun Hazırlanması

1 hafta karantina, 1 hafta STZ/çözücü enjeksiyonu sonrası hastalık oluşması ve kan şekeri kontrolünün beklenmesi ve 8 haftalık tedavi olmak üzere toplam 10 haftalık sürenin ardından son ölçüm yapıldıktan sonra hayvanlar ketamin/ksilazin (45 mg/kg / 5 mg/kg, i.v.) ile anesteziye edildikten sonra intrakardiyak kan alımı yapılarak sakrifikasyonları sağlanmıştır. Karın, alt bölgenin orta hattından açılarak genitoüriner sisteme ulaşılmıştır.

Dokular önceden 37°C'ye ısıtılmış %5 CO_2, %95 O_2 karışımı ile havalandırılmış Krebs solüsyonuna alınmıştır. Etrafındaki yağ ve bağ dokusu temizlenen mesane, şeritler hazırlanmadan önce tartılmıştır. Mesaneler

çevrelerindeki yağ ve bağ dokudan temizlendikten sonra mesane gövdesi (detrüsor) ayrılmış, ardından 4 x 8-10 mm boyutlarında stripler hazırlanmıştır. Dokular Krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına diğer ucu izometrik kuvvet transdüserine (MAY, FDT35, COMMAT Ltd. Ankara, Türkiye) bağlı olacak şekilde organ banyosuna yerleştirilmiştir. İzometrik düz kas kasılma yanıtları transdüserler aracılığı ile (BIOPAC, MP35 System Inc, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kayıt edilmiştir.



Resim 1. Deney hayvanlarının hazırlık süreci ve mesane dokusunun çıkarılması

3.5. Deney Protokolü

Deneyin başlangıcında dokulara 1 g ön gerim uygulanıp, ardından 15 dakika ara ile yıkanarak toplam 1 saat dengelenmeye bırakılmıştır. Dinlenme süresi boyunca gerim değişikliği olursa tekrar 1 g'a ayarlanmıştır. Dinlenme periyodunun ardından Elektriksel Alan Uyarısı (EAU) için dokular iki platin elektrod arasında vertikal olarak yer alacak ve elektrodlara değmeyecek şekilde konumlandırılmıştır. EAU için STPT 03 Stimülatör (MAY STPT 03 Stimülatör Research Stimulator, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Deney protokolleri başlamadan

önce mesane şeritleri 80 mM KCl ile kasılmıştır. EAU, Atropin, α,β-Metilen ATP ve Karbakol aracılı yanıtlar alınmış ve değerlendirilmiştir.

3.5.1. Artan Frekanslarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarına 80 mM KCl ile kasılma yanıtı elde edilmiş ve takibinde 4 yıkama (15 dakikada bir) yapılmış, dinlenme periyodunun ardından artan frekanstaki değişimin değerlendirilmesi amacı ile EAU aracılı kasılma yanıtları 2 dakika aralıklar ile 10 saniye süre ile 60 V, 1 ms parametrelerinde 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz'lerde yanıtlar elde edilmiştir. EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine maddelerin etkisini değerlendirmek için sabit EAU olarak kullanılacak frekans submaximal yanıtı oluşturan 16 Hz frekans kullanılmıştır.

3.5.2. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α,β-Metilen ATP'nin Etkisinin Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında, 16 Hz sabit frekanstaki EAU yanıtları üzerine, α, β-Metilen ATP (10^{-5} M) konsantrasyonda uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir.

3.5.3. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Atropin'in Etkisinin Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında, 16 Hz sabit frekanstaki EAU yanıtları üzerine, Atropin (10^{-6} M) konsantrasyonda uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir.

3.5.4. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in Birlikte Etkisinin Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında, 16 Hz sabit frekanstaki EAU yanıtları üzerine, α, β-Metilen ATP (10^{-5} M) ve Atropin (10^{-6} M) konsantrasyonda birlikte uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir.

3.5.5. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Zamana Bağlı Değişiminin Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarına hiç ilaç uygulanmamış dokularda sabit frekanslardaki zamana bağlı değişimin değerlendirilmesi amacı ile submaximal yanıt olarak sabit 16 Hz frekansında 2 dakika aralıklar ile EAU uygulanmıştır (10 saniye süre ile 60 V, 1 ms parametrelerinde).

3.5.6. Karbakol Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında Karbakol kümülatif (Cch 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} M) konsantrasyonda uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir.

3.5.7. Real time PCR Yöntemi

3.5.7.1. Mesane Dokusundan Total RNA Eldesi

Deney sonunda steril bir şekilde çıkartılan mesane dokuları, steril petri kabında, steril serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra total RNA izolasyonuna

uygun (50mg-100mg) büyüklüklerde steril bistüri ile küçük parçalara ayrılmıştır. DNaz ve RNaz free 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınan doku örnekleri hızlı bir sekilde sıvı azot içinde dondurularak, analiz gününe kadar -80ºC' de saklanmıştır. Mesane dokularından RNA izolasyonu guanidin isothiocyanate/phenol-kloform metodunun modifikasyonu sonucu oluşan Trizol solüsyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için;

1.5 ml'lik ependorf tüpler içinde bulunan 50-100 mg arasındaki dokuların üzerine 1000 µl Trizol eklenerek homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir. Ardından, örnekler oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. 200 µl kloroform eklendikten sonra 15 saniye boyunca vortekslenerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örnekler 11.000 rpm'de 5 dakika 4 °C mikrosantrifüjde santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda altta kırmızı faz (fenol kloroform fazı), arafaz ve üstte renksiz sıvı faz olmak üzere üç faza ayrılmıştır. Üst faz yeni bir steril 1.5 ml'lik ependorf tüpüne aktarıldıktan sonra başlangıçta kullanılan Trizol miktarının yarısı kadar izopropanol eklenerek vortekslenmiştir. Örnekler 1.5 saat -20 °C' de bekletilmiş, ardından 11.500 rpm'de 10 dakika 4 °C mikrosantrifüjde santrifüj edilmiştir. Üstte kalan süpernatan atıldıktan sonra ependorf tüp üzerine 1000 ul %75'lik alkol eklenerek, 10.000 rpm'de 10 dakika 4 °C'de mikrosantrifüjde santrifüj edilmiştir. Pelete dokunmadan üstte kalan süpernatanın atılmasının ardından pelet kurumaya bırakılmış, kuruyan örnekler 30-50 ul DEPC'li su ile sulandırılmıştır. Elde edilen RNA'lar spektrofotometre'de 260/280 nanometre (nm)'de ölçülerek mikrolitredeki mikrogram değerleri belirlenmiştir.

3.5.7.2. Tamamlayıcı DNA (cDNA) Sentezi

RNA örneklerinden High Fidelity Transcriptor cDNA sentez kiti (Roche) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Primer olarak hekzamerlerin kullanıldığı cDNA sentez yönteminde kullanılan bileşenler ve miktarları Tablo 4'de verilmiştir. Otomatik ısı döngüsü cihazında örnekler sırasıyla 25 °C'de 10 dakika, 50 °C'de 60 dakika ve 85 °C'de 5 dakika boyunca işlemiştir. cDNA örnekleri gerçek zamanlı PCR için hazırlanmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

Tablo 4. cDNA sentezi sırasında kullanılan malzemeler ve miktarları

	Son konsantrasyon
Reaksiyon Tamponu (X5) $MgCl_2$	8mM
dNTP	1mM
Random hekzamer primeri	60µM
RNaz inhibitörü	20 U/µg
DTT	5mM
Ters Transkriptaz	10 U/µg
Steril Ultra Saf Su	RNA sabitlemesine göre değişir
Total RNA	1µg

3.5.7.3. Kantitatif Real-Time PCR Analizi

Gerçek zamanlı PCR, CFX Duet Real-Time PCR System (Bio-Rad) cihazı kullanılarak gen ekspresyon seviyelerini tespit etmek için kullanılmıştır. Toplam 10 µl reaksiyon hacmi içerisinde, cDNA, bölgeye özgü primerler ve SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad) kullanılarak amplifikasyon

gerçekleştirilmiştir (Tablo 6). Beta actin (β-actin) genine özgü primeri hedef gen ifade seviyelerini normalleştirmek amacıyla elde edilen cDNA örneklerini analiz etmek için kullanılmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Gen spesifik qPCR primer dizileri. qPCR: kantitatif real time polimeraz reaksiyonu

Gen	Forward primer (5'- 3')	Reverse primer (5'- 3')
M2 Muskarinik reseptör	5'-AGCCCGCAAAATCGTGAA-3'	5'-GACATTGTATGGCGCCCAC-3'
M3 Muskarinik reseptör	5'-ACCAACTCCTCGGCAGACAA-3'	5'-GCGACATCCTCTTCCGCTT-3'
PACAP-38	5'-CAAGACTTCTATGACTGGGA-3'	5'-CTTCGTTAAGGATTTCGTGG-3'
Piezo1	5'-GGACTCTCGCTGGTCTACCT-3'	5'-GGGCACAATATGCAGGCAGA-3'
TRPA1	5'-CTCCCCGAGTGCATGAAAGT-3'	5'-TGCATATACGCGGGGATGTC-3'
Cx43	5'-GAAAGAGAGGTGCCCAGACATG-3'	5'-AGCACTGACAGCCACACCTTC-3'
β-actin	5'-ATGGTGGGAATGGGTCAGAAG-3'	5'-CACGCAGCTCATTGTTGTAGAAGG-3'

Tablo 6. β-actin, M_2 muskarinik reseptör, M_3 muskarinik reseptör, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43 genlerinin Real-time PCR tepkime karışımı

	Son konsantrasyon	Hacim
Nükleaz free dH_2O	-	6 µl
Primer F	10 pmol/µl	1 µl
Primer R	10 pmol/µl	1 µl
SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (2x)	1X	10 µl
cDNA	-	2 µl

3.5.7.4. CFX Duet Real-Time PCR System (Bio-Rad) Deney Programı

Önceden elde edilen cDNA'lar, kantitatif gerçek zamanlı PCR karışımlarının hazırlanması ve dağıtılmasını takiben 96 kuyucuklu mikroplakalara eklenmiştir. Şeffaf bir kapatıcı uygulandıktan sonra mikroplakalar CFX Duet Real-Time PCR System (Bio-Rad) cihazına yerleştirilmiştir. PCR reaksiyonunu gerçekleştirmek için Tablo 7'de listelenen amplifikasyon protokolü kullanılmıştır. Tüm genler için aynı program uygulanmıştır. Reaksiyon sonucunda hedef genlerin mRNA ifade düzeylerini gösteren kesişme noktası (Cp) değerleri tespit edilmiştir.

Tablo 7. PCR amplifikasyon programı

Program. Ayrılma (Denatürasyon)		
Program Verisi		**Değer**
Döngüler		1
Analiz Modu		-
Sıcaklık Hedefleri		**Kısım 1**
Hedef Sıcaklık (ºC)		95
İnkübasyon Zamanı (s:dk:sn)		5 dk
Sıcaklık Geçiş Hızı (ºC/sn)		20.0
Program 2. Primer Bağlanması ve Uzama (Hibridizasyon ve Polimerizasyon)		
Program verisi		**Değer**
Döngüler		40
Analiz Modu		Çoğalma
Sıcaklık Hedefleri	**Kısım 1**	**Kısım 2**
Hedef Sıcaklık (ºC)	95	60
İnkübasyon Zamanı (s:dk:sn)	30 sn	30 sec
Sıcaklık Geçiş Hızı (ºC/sn)	20.0	20.0
Program 3. Soğutma		
Program Verisi		**Değer**
Döngüler		1
Analiz Modu		-
Sıcaklık Hedefleri		**Kısım 1**
Hedef Sıcaklık (ºC)		40
İnkübasyon Zamanı (s:dk:sn)		30sn
Sıcaklık Geçiş Hızı (ºC/sn)		20.0

3.6. Deneylerde Kullanılan Madde ve Solüsyonlar

Streptozotosin (Sigma, ABD), hazır halde temin edilen sitrat buffer (Sigma, ABD) solüsyonu içerisinde enjeksiyon uygulamasından hemen önce çözdürülerek hazırlanmıştır.

NaHS (Sigma, ABD) enjeksiyon uygulamasından önce distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır.

Banyo solüsyonu olarak kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisi (mM): NaCl 118; KCl 4.7; NaHCO3 25; NaH2PO4-2H2O 0.9; CaCl2-2H2O 1.26; MgCl-6H2O 0.5; Glukoz monohidrat 11.

80 mM KCl'lik Krebs-Henseleit çözeltisi (mM): NaCl 42.7; KCl 80.0 mM; NaHCO3 25; NaH2PO4-2H2O 0.9; CaCl2-2H2O 1.26; MgCl-6H2O 0.5; Glukoz monohidrat 11.

α,β-Metilenadenozin 5-trifosfat lityum (Sigma, ABD) kullanım öncesi distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır.

Karbakol (Sigma, ABD) kullanım öncesi distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır.

Atropin sülfat (Sigma, ABD) kullanım öncesi distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır.

Real time PCR yönteminde cDNA sentezi sırasında kullanılan malzemeler Tablo 4'de ve genlere ait Real-time PCR tepkime karışımının malzemeleri Tablo 6'da belirtilmiştir.

3.7. İstatistiksel Analiz

Veriler hesaplanırken artan frekansta EAU ve Karbakol aracılı kasılma yanıtları için KCL kasılma yanıtlarına oranlanarak yüzdeleri esas alınmıştır; sabit frekansta EAU kasılma yanıtları üzerine Atropin ve ATP'nin etkisi için madde verilmeden önceki kasılma yanıtı ile oranlanarak yüzdeleri esas alınmıştır. Üç veya daha fazla bağımsız grubun karşılaştırılması için Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Anlamlı bulunan sonuçlarda, çiftler arası karşılaştırma için post-hoc Mann Whitney

U testi yapılmıştır ve çoklu karşılaştırmalarda tip 1 hata oranını azaltmak amacıyla Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. Bağımlı iki grup karşılaştırmalarında Wilcoxon testi kullanılmıştır. Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS (IBM Corp. Version 29.0.2.0. NY, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

cDNA ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar "REST (2009 V2.0.13)" istatistik programı ile karşılaştırılmıştır. Sürekli verileri karşılaştırmak için Student's t testi kullanılmıştır. Diyabet+NaHS grubu, kontrol ve diyabet grubu ile karşılaştırılmıştır. P değerleri $*p<0.05$, $**p<0.01$ ve $***p<0.001$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hayvanların Ölçüm Sonuçları

4.1.1. Hayvanların Kilo ve Kan Şekeri Ölçüm Sonuçları

Kontrol grubunda bulunan hayvanların ortalama kilo değeri birinci hafta için 309,83 gram olarak ölçülürken, son hafta 389,50 gram olarak ölçülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı saptanmıştır ($p<0.05$). NaHS grubuna ait hayvanların ortalama kilo değeri birinci hafta 300,67 gram olarak ölçülürken, son hafta 367 gram olarak ölçülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı saptanmıştır ($p<0.05$). Kontrol ve NaHS grubuna ait deney hayvanlarının kan şekerinde ise 8 haftalık deney süresi boyunca anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.

Diyabet grubuna ait hayvanların deneyin başlangıcında kan şekeri plazma değeri ortalaması 136,83 mg/dl ölçülmüştür, deneyin 1. haftasında kan şekeri plazma değeri ortalamaları ise 541,89 mg/dl ölçülmüştür ve diyabet modeli oluştuğu teyit edilmiştir, istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir; deneyin son haftasında ise kan şekeri plazma değeri ortalamaları 407,25 mg/dl ölçülmüştür ($p<0.05$). Bu gruptaki hayvanların ağırlık ortalamaları deneyin 1. Haftasında 294,38 gram iken, deneyin son haftasında ise 313,75 gram olarak ölçülmüş ve anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Diyabet + NaHS tedavi grubuna ait hayvanların deneyin başlangıcında kan şekeri plazma değeri ortalaması 149,50 mg/dl ölçülmüştür, deneyin 1.haftasında kan şekeri plazma değeri ortalamaları 579,89 mg/dl ölçülmüştür, istatistiksel olarak

anlamlı bir artış görülmektedir; deneyin son haftasında ise 537,44 mg/dl olarak ölçülmüştür ($p<0.05$). Bu gruptaki hayvanların ağırlık ortalamaları deneyin 1. Haftasında 276,67 gram iken, deneyin son haftasına geldiklerinde 242,67 gram olarak ölçülmüş ve anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0.05$). Deney gruplarına ait kilo ve kan şekeri ölçümlerinin sonuçları Tablo 8 ve Tablo 9'da özetlenmiştir.

Tablo 8. Deney gruplarına ait hayvan ağırlığı ölçüm sonuçları

HAYVAN AĞIRLIĞI (Gr)	Başlangıç	1.hafta	8.hafta
Kontrol Grubu	295,56 ± 12,48	309,83 ± 13,14	389,5 ± 19,97*
NaHS Grubu	286,66 ± 4,19	300,67 ± 10,13	367 ± 16,76**
Diyabet Grubu	316 ± 11,34	294,38 ± 15,61	313,75 ± 29,53
Diyabet+NaHS Grubu	304,77 ± 9,01	276,67 ± 10,63	242,67 ± 16,44***

*** Kontrol grubu 1.hafta ağırlık ortalamasına göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). ** NaHS grubu 1.hafta ağırlık ortalamasına göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). *** Diyabet+NaHS grubu 1.hafta ağırlık ortalamasına göre anlamlı bir azalma göstermektedir ($p<0.05$).**

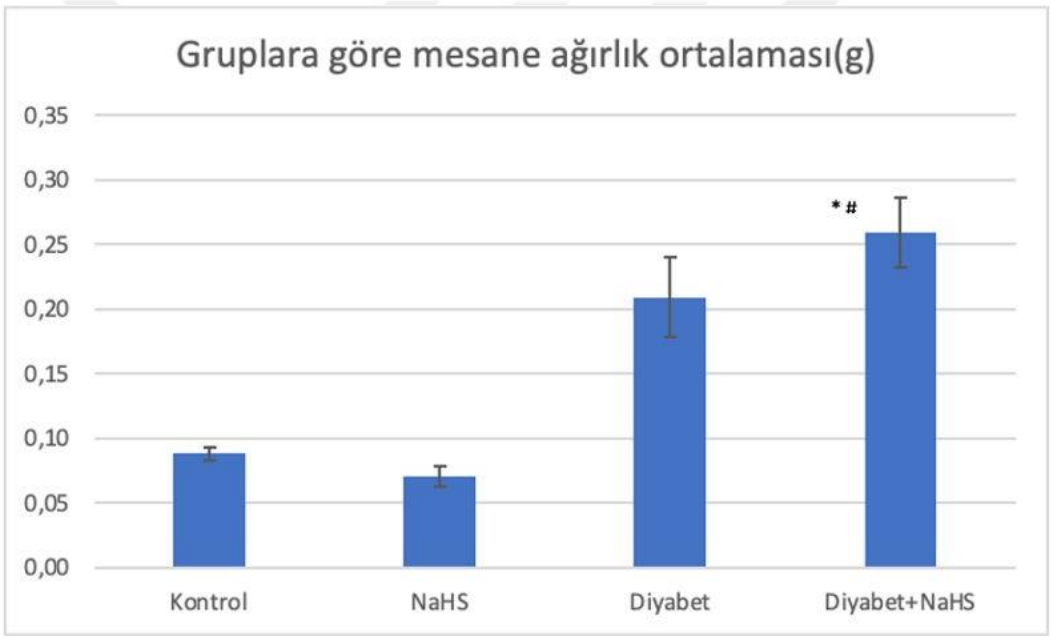
Tablo 9. Deney gruplarına ait kan şekeri ölçüm sonuçları

KAN ŞEKERİ (mg/dl)	Başlangıç	1.hafta	8.hafta
Kontrol Grubu	129,83 ± 2,54	135,17 ± 2,95	111,33 ± 7,27
NaHS Grubu	140,33 ± 2,98	141,5 ± 4,54	137,83 ± 6,6
Diyabet Grubu	136,83 ± 4,71	541,89 ± 38,72$^{\#}$	407,25 ± 66,63$^{\#}$
Diyabet+NaHS Grubu	149,50 ± 4,12	579,89 ± 14,12$^{\#\#}$	537,44 ± 31,65$^{\#\#}$

$^{\#}$ Diyabet grubu başlangıç kan şekeri plazma değeri ortalamasına göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). $^{\#\#}$ Diyabet+NaHS grubu başlangıç kan şekeri plazma değeri ortalamasına göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$).

4.1.2. Hayvanların Mesane Ağırlığı Ölçüm Sonuçları

Diyabet+NaHS grubunda bulunan hayvanların mesane ağırlığı kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmaktadır ($p<0.05$). Diyabet grubunda bulunan hayvanların mesane ağırlığı ise kontrol grubuna göre artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Grafik 1).



Grafik 1. Gruplara göre mesane ağırlık ortalaması. * Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). # NaHS grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). (Kontrol için n=4, NaHS için n=4, Diyabet için n=6, Diyabet+NaHS için n=6).

4.2. İzole Organ Banyosunda Elde Edilen Yanıtlar

4.2.1. Mesanede Elde Edilen KCL ve Artan Frekanslarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

EAU aracılı kasılma yanıtları alınmadan önce 80 mM KCl ile kasılma yanıtları elde edilmiştir. Mesane dokusunda elde edilen KCl ve EAU'da farklı Hz'lere ait kasılma yanıtları (gram olarak) Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10. Mesanede elde edilen KCl ve artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtları

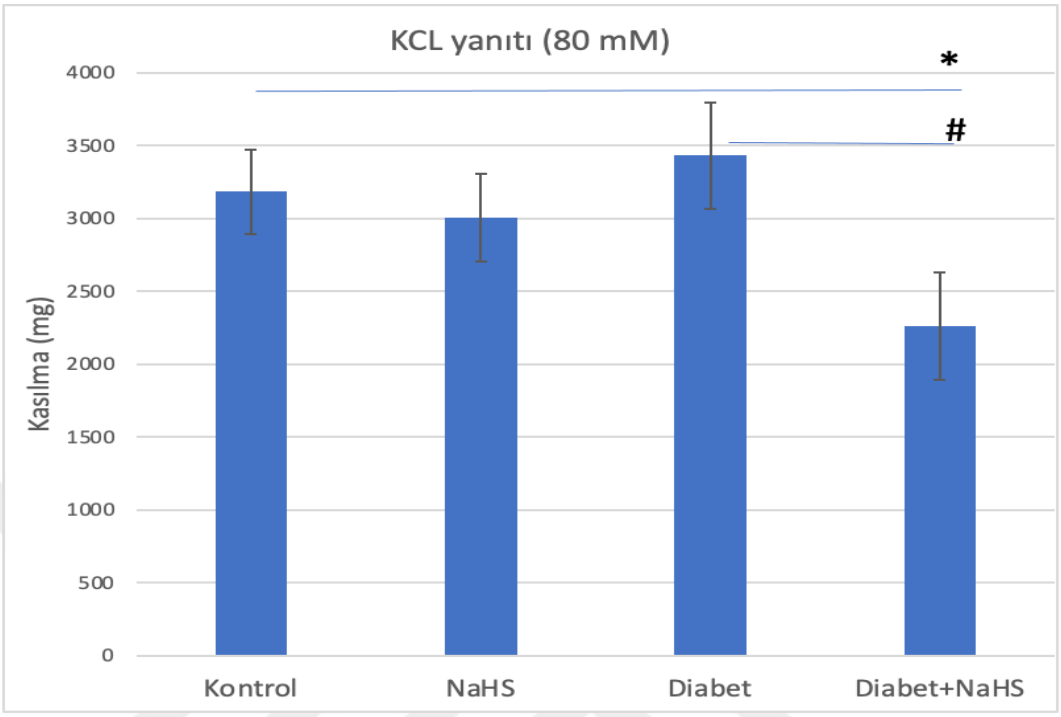
Grup	KCl (g)	1 Hz (g)	2 Hz (g)	4 Hz (g)	8 Hz (g)	16 Hz (g)	32 Hz (g)
Kontrol	3182±291	807±154	1200±205	2004±277	3287±388	4341±470	5124±504
NaHS	3008±302	503±51	770±69	1483±125	2649±256	3683±378	4365±456
Diyabet	3432±±364	1254±220	1890±329	3449±530	5858±832	7923±1011	9368±1108
Diyabet+NaHS	2261±370*#	752±105	1122±175	2218±356	3901±626	5628±723	6989±738

* # Diyabet+NaHS grubunda kontrol ve diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azalma görülmektedir ($p<0.05$).

4.2.1.1. Dokuda 80 mM KCl Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Dokular üzerinde 80 mM KCL ile kasılma yanıtları elde edilmiştir.

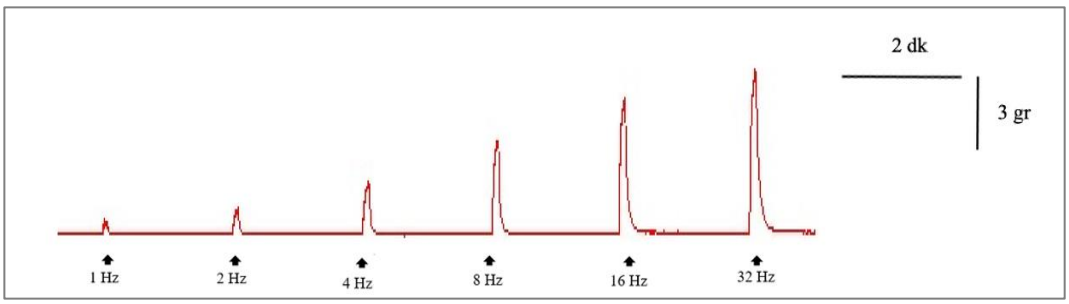
80 mM KCl ile kasılma yanıtları gruplar arası değerlendirildiğinde Diyabet+NaHS grubunda kontrol ve diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azalma görülmektedir ($p<0.05$, Grafik 2).



Grafik 2. 80 mM KCl aracılı kasılma yanıtlarının değerlendirilmesi. * Kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma göstermektedir ($p<0.05$). # Diyabet grubuna göre anlamlı bir azalma göstermektedir ($p<0.05$). (Kontrol için n=8, NaHS için n=8, Diyabet için n=12, Diyabet+NaHS için n=12).

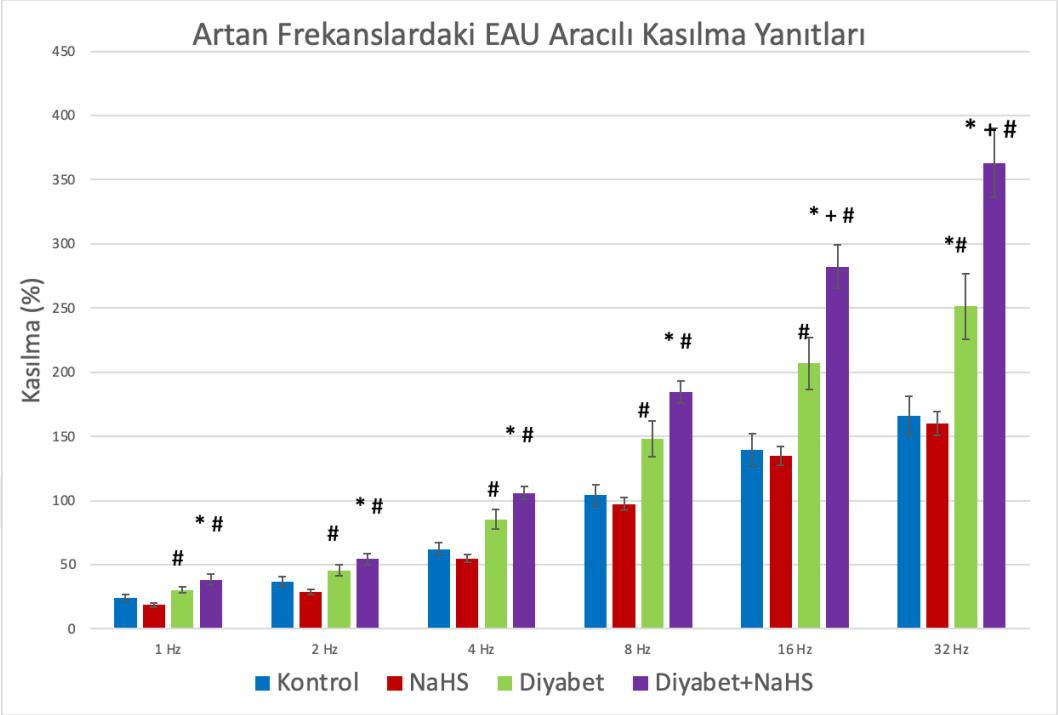
4.2.1.2. Artan Frekanslarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında 2 dakika aralıklar ile 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında EAU aracılı kasılma yanıtları alınmıştır. Kontrol grubuna ait artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtını gösteren örnek trase örneği Şekil 5'da sunulmuştur.



Şekil 5. Kontrol grubuna ait artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtlarını gösteren trase

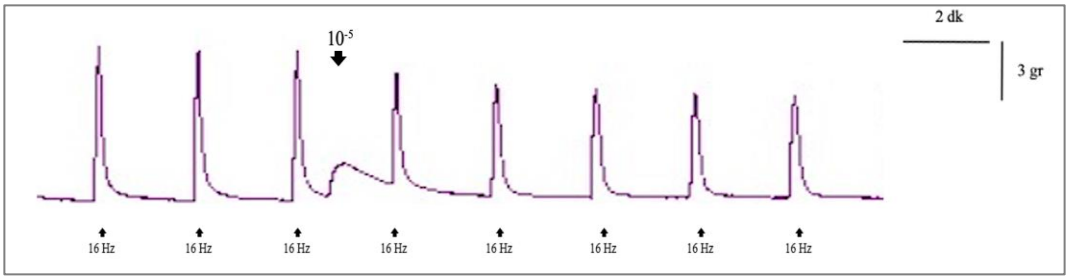
NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır. Diyabet grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında 32 Hz frekansında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış bulunmuştur ($p<0.05$). Diyabet+NaHS tedavi grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları 16 ve 32 Hz frekanslarında Diyabet grubuna göre anlamlı bir şekilde artış görülmektedir ($p<0.05$). Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında NaHS grubuna göre 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz'te anlamlı bir şekilde artış görülmektedir ($p<0.05$). Diyabet+NaHS tedavi grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz'te kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış görülmektedir. ($p<0.05$, Grafik 3).



Grafik 3. Artan frekanslarda EAU aracılı kasılma yanıtları. * Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir (p<0.05). + Diyabet grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir (p<0.05). # NaHS grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir (p<0.05). (Kontrol için n=8, NaHS için n=8, Diyabet için n=12, Diyabet+NaHS için n=12).

4.2.2. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α, β-Metilen ATP'nin Etkisi

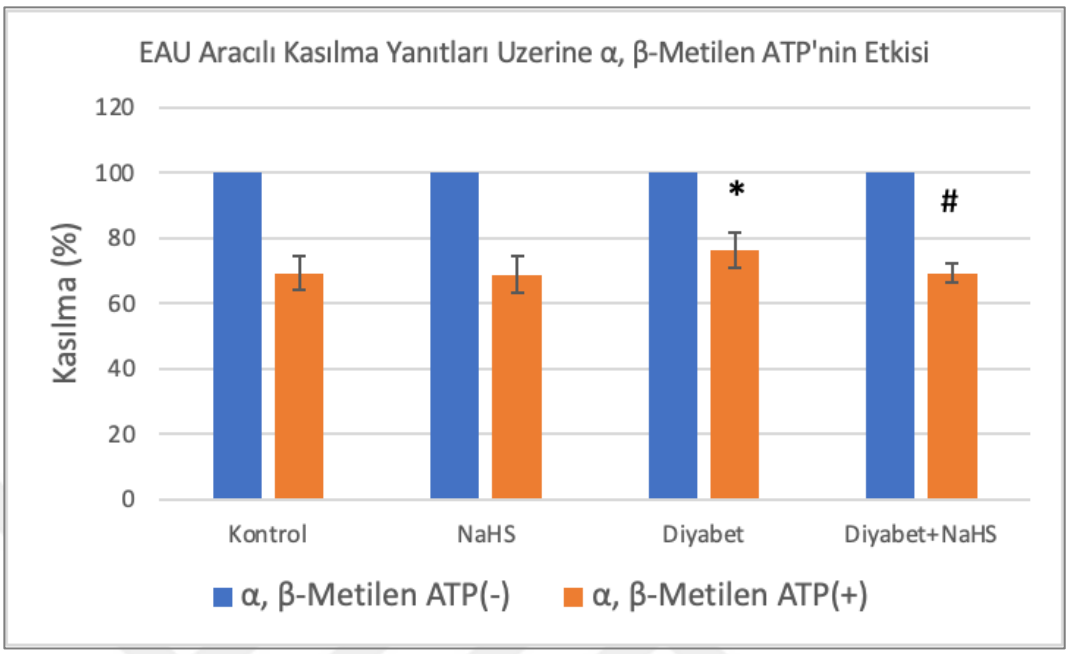
Tüm deney gruplarında, 16 Hz sabit frekanstaki EAU yanıtları üzerine, α, β-Metilen ATP (10^{-5} M) konsantrasyonda uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisini gösteren örnek trase örneği Şekil 6'da sunulmuştur.



Şekil 6. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisini gösteren trase

NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisinde kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Diyabet grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisinde kontrole kıyasla artış görülürken istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisinde kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisinde Diyabet grubuna kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 4).

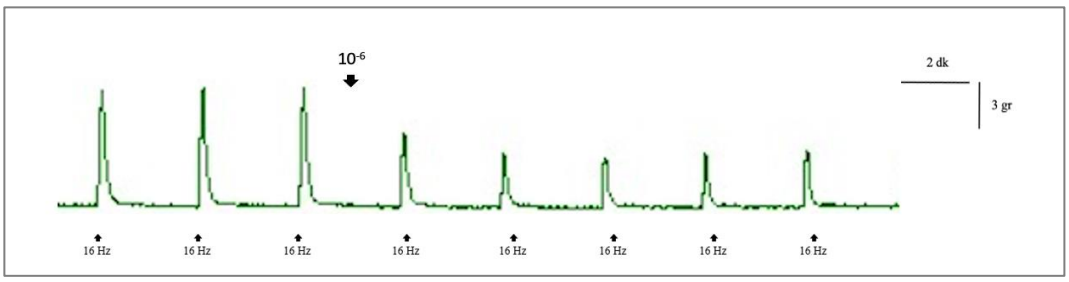
Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisi maddenin uygulama öncesi ile karşılaştırıldığında kontrol ve NaHS grubunda anlamlı bir fark bulunmamakta; ancak diyabet ve diyabet+NaHS grubunda anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0.05$, Grafik 4).



Grafik 4. EAU (16 Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP'nin etkisi. α, β-Metilen ATP(-) maddenin uygulama öncesi uyarıyı, α, β-Metilen ATP(+) maddenin uygulama sonrası uyarıyı göstermektedir. Diyabet grubunda (* $p<0.05$) ve Diyabet+NaHS grubunda (# $p<0.05$) α, β-Metilen ATP uygulama öncesine göre anlamlı bir azalma göstermektedir. (Kontrol için n=4, NaHS için n=4, Diyabet için n=6, Diyabet+NaHS için n=6).

4.2.3. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Atropin'in Etkisi

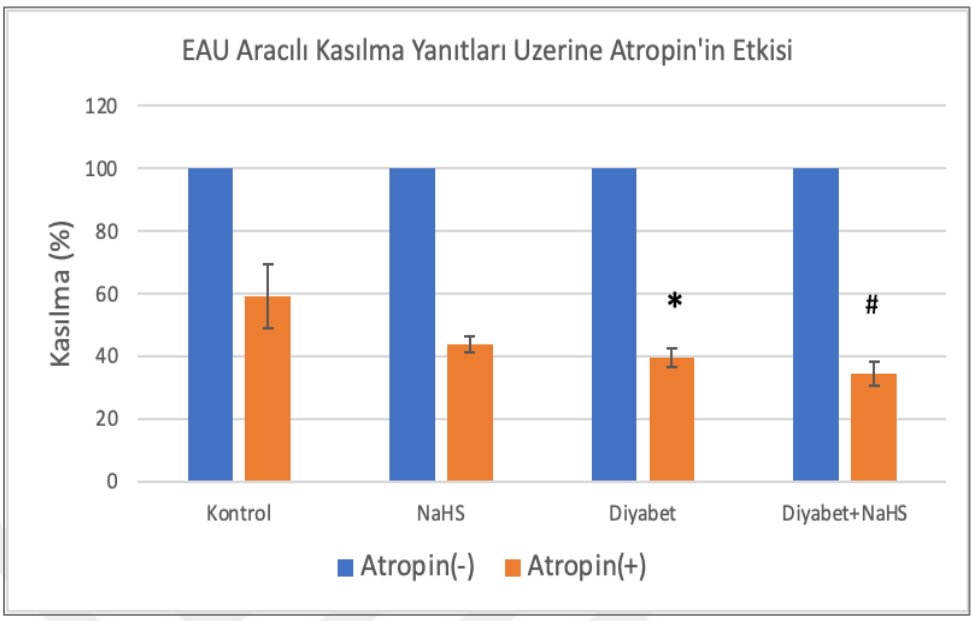
Tüm deney gruplarında, 16 Hz sabit frekanstaki EAU yanıtları üzerine, Atropin (10^{-6} M) konsantrasyonda uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisini gösteren örnek trase örneği Şekil 7'da sunulmuştur.



Şekil 7. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisini gösteren trase

NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisinde kontrole kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Diyabet grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisinde kontrole kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisinde kontrole kıyasla azalma görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisinde Diyabet grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Dört grup arasında kıyaslama yapıldığında Atropin aracılı kasılma yanıtları istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir ($p < 0.05$, Grafik 5).

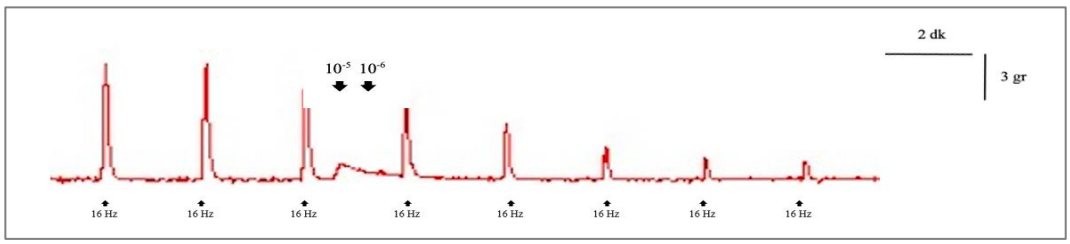
Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisi maddenin uygulama öncesi ile karşılaştırıldığında kontrol ve NaHS grubunda anlamlı bir fark bulunmamakta; ancak diyabet ve diyabet+NaHS grubunda anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0.05$, Grafik 5).



Grafik 5. EAU (16 Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisi. Atropin(-) maddenin uygulama öncesi uyarıyı, Atropin(+) maddenin uygulama sonrası uyarıyı göstermektedir. Diyabet grubunda (* $p<0.05$) ve Diyabet+NaHS grubunda (# $p<0.05$) Atropin uygulama öncesine göre anlamlı bir azalma göstermektedir. (Kontrol için n=4, NaHS için n=4, Diyabet için n=6, Diyabet+NaHS için n=6).

4.2.4. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in Birlikte Etkisi

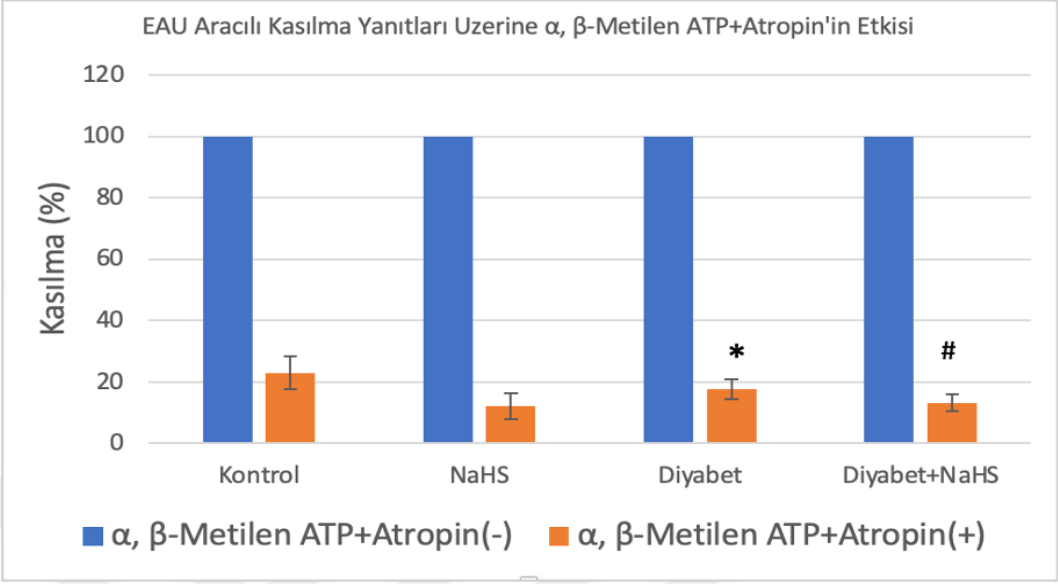
Tüm deney gruplarında, 16 Hz sabit frekanstaki EAU yanıtları üzerine, α, β-Metilen ATP (10^{-5} M) ve Atropin (10^{-6} M) konsantrasyonda birlikte uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisini gösteren örnek trase örneği Şekil 8'da sunulmuştur.



Şekil 8. Kontrol grubuna ait sabit frekansta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisini gösteren trase

NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisinde kontrole kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Diyabet grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisinde kontrole kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisinde kontrole kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP ve Atropin'in etkisinde Diyabet grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 6).

Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP+Atropin'in etkisi maddenin uygulama öncesi ile karşılaştırıldığında kontrol ve NaHS grubunda anlamlı bir fark bulunmamakta; ancak diyabet ve diyabet+NaHS grubunda anlamlı bir azalma görülmektedir ($p<0.05$, Grafik 6).

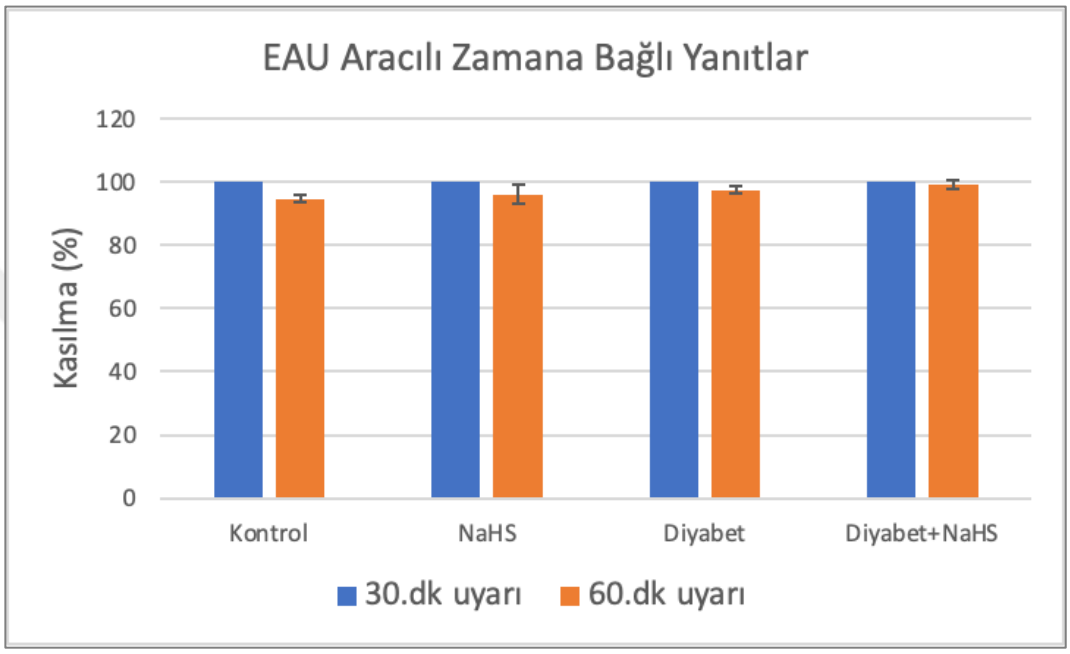


Grafik 6. EAU (16 Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerine α, β-Metilen ATP+Atropin'in etkisi. α, β-Metilen ATP+Atropin(-) maddelerin uygulama öncesi uyarıyı, α, β-Metilen ATP+Atropin(+) maddelerin uygulama sonrası uyarıyı göstermektedir. Diyabet grubunda (* $p<0.05$) ve Diyabet+NaHS grubunda (# $p<0.05$) α, β-Metilen ATP+Atropin uygulama öncesine göre anlamlı bir azalma göstermektedir. (Kontrol için n=4, NaHS için n=4, Diyabet için n=6, Diyabet+NaHS için n=6).

4.2.5. Sabit Frekansta EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Zamana Bağlı Değişiminin Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında hiç ilaç uygulanmamış dokularda sabit frekanstaki zamana bağlı değişimin değerlendirilmesi amacı ile submaximal yanıt olarak sabit 16 Hz frekansında 2 dakika aralıklar ile EAU uygulanmıştır (10 saniye süre ile 60 V, 1 ms parametrelerinde). Uyarı verilmeye başladıktan sonraki 30.dakikada stabilleşen EAU aracılı kasılma ile 60.dakikada stabilleşen EAU aracılı kasılma yanıtı karşılaştırılmıştır. Tüm gruplar arasında değerlendirilme yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Gruplar kendi içinde

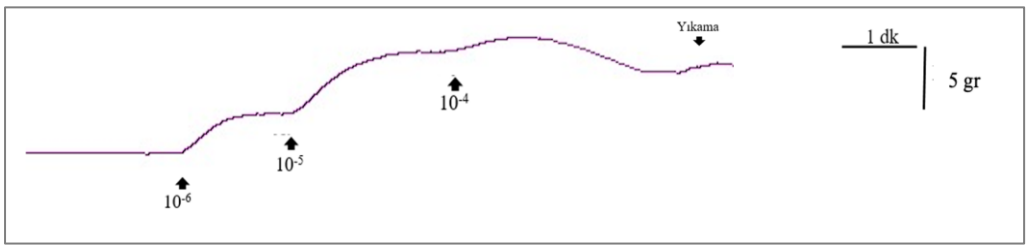
değerlendirildiğinde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 7).



Grafik 7. EAU (16 Hz) aracılı zaman bağlı yanıtlar. (Kontrol için n=4, NaHS için n=4, Diyabet için n=6, Diyabet+NaHS için n=6).

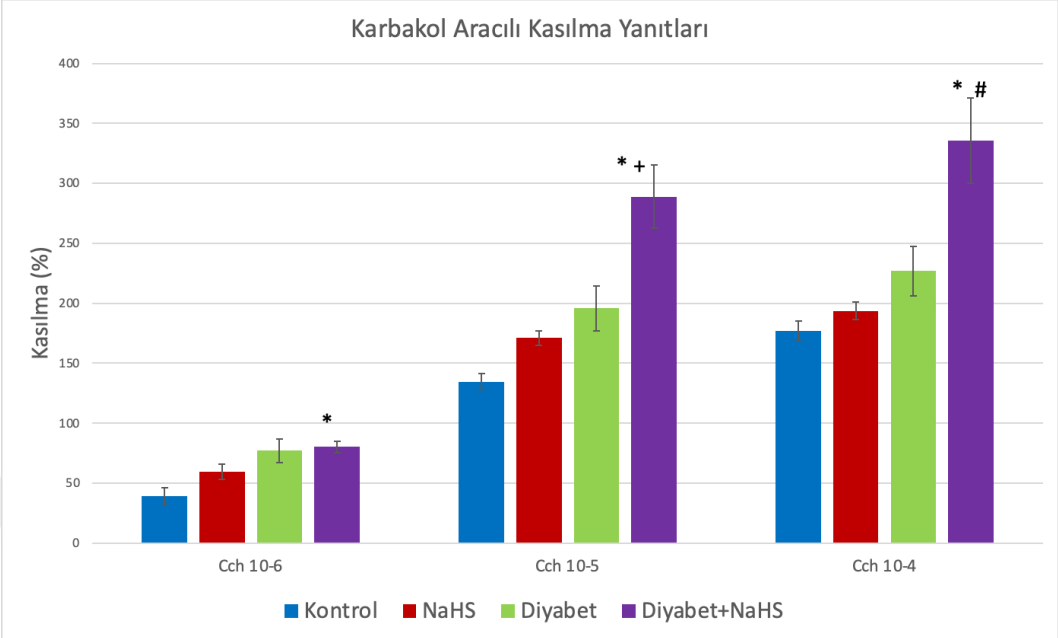
4.2.6. Karbakol Aracılı Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında Karbakol kümülatif (Cch 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} M) konsantrasyonda uygulanarak etkisi değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait Karbakol aracılı kasılma yanıtını gösteren örnek trase Şekil 9'de sunulmuştur.



Şekil 9. Kontrol grubuna ait Karbakol aracılı kasılma yanıtlarını gösteren trase

NaHS grubunda elde edilen Karbakol aracılı kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet grubunda elde edilen Karbakol aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Diyabet+NaHS grubunda elde edilen Karbakol (10^{-5}M) konsantrasyonunda kasılma yanıtlarında diyabet grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış görülmektedir ($p < 0.05$). Diyabet+NaHS grubunda elde edilen Karbakol (10^{-4}M) konsantrasyonunda kasılma yanıtlarında NaHS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış görülmektedir ($p < 0.05$). Diyabet+NaHS grubunda elde edilen Karbakol (10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}M) konsantrasyonlarında kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 8).



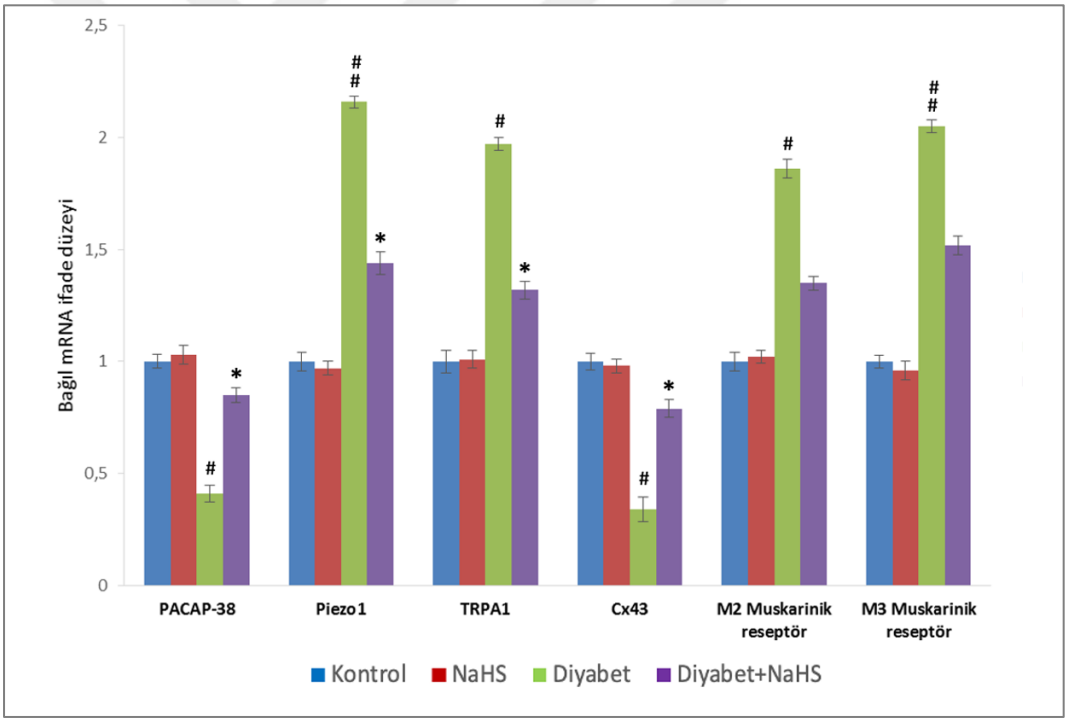
Grafik 8. Karbakol aracılı kasılma yanıtları. * Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). + Diyabet grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). # NaHS grubuna göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). (Kontrol için n=8, NaHS için n=8, Diyabet için n=12, Diyabet+NaHS için n=12).

4.3. Real Time PCR Analizi Sonuçları

NaHS'in diyabetik mesane dokularında M_2 muskarinik reseptör, M_3 muskarinik reseptör, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43 Genlerinin mRNA Seviyelerine Etkisi

M_2 muskarinik reseptör, M_3 muskarinik reseptör, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43 genlerinin mRNA seviyeleri qPCR ile değerlendirilmiştir. PACAP-38 ve Cx43 genlerinin mRNA seviyeleri diyabetik grupta kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı görülürken ($p<0.05$), diyabet + NaHS grubunda ise diyabete kıyasla anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Piezo1 ve TRPA1 genlerinin mRNA seviyeleri diyabet grubunda kontrol ve NaHS'e

kıyasla sırasıyla anlamlı düzeyde arttığı görülürken ($p<0.01$; $p<0.05$), diyabet+NaHS'te ise diyabet grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür ($p<0.05$). Yine M_2 muskarinik reseptör ve M_3 muskarinik reseptör genlerinin mRNA seviyeleri diyabet grubunda kontrol ve NaHS'e kıyasla sırasıyla anlamlı düzeyde arttığı görülürken ($p<0.05$; $p<0.01$), diyabet+NaHS grubunda ise diyabete kıyasla azaldığı ancak bu azalışın anlamlı düzeyde olmadığı görülmüştür ($p>0.05$) (Grafik 9).



Grafik 9. Mesane dokularında M_2 muskarinik reseptör, M_3 muskarinik reseptör, PACAP38, Piezo1, TRPA1 ve Cx43 genlerin mRNA düzeyleri. Veriler ortalama ± Standart Sapma olarak ifade edilmiştir. Gösterilen sonuçlar üç bağımsız deneyi temsil etmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $^{\#}p<0.05$; $^{\#\#}p<0.01$; $^{\#\#\#}p<0.001$; Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında $^{*}p<0.05$, $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$.

5. TARTIŞMA

Hidrojen sülfürün çeşitli patolojik durumlar varlığında mesane gibi alt üriner sistem yapılarına ait fonksiyonel bozukluklar üzerinde düzeltici etkileri ile kronik inflamasyon durumlarında gösterdiği antiinflamatuvar özellikleri literatürde bildirilmektedir (80). Bu bilgilerden hareketle sunulan çalışmada, diyabetes mellitusun mesane fonksiyonları üzerinde bozulmaya neden olup olmadığı ve kronik hidrojen sülfür tedavisinin mesane disfonksiyonunu önleyip önleyemeyeceği ya da düzeltebileceği hipotezi test edilmiştir. Bu çalışmada, streptozotosin ile oluşturulmuş Tip 1 diyabetik sıçan modelinde, kronik NaHS (hidrojen sülfür donörü) uygulamasının mesane düz kas fonksiyonları ve bazı gen ekspresyonları üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulan hayvan modellerinde, uygulanan dozla ilişkili olarak vücut ağırlığında anlamlı azalmaların meydana geldiği literatürde bildirilmektedir (97). Bu çalışmada da Diyabet + NaHS grubunda, deneyin son haftasında başlangıç ağırlıklarına göre anlamlı kilo kaybı gözlemlenmiş ve bu bulgu literatürle uyumlu bulunmuştur. Bununla birlikte, diyabet grubundaki hayvanlarda, deneyin ilerleyen haftalarında ilk haftaya kıyasla anlamlı olmamakla birlikte vücut ağırlığında az miktarda artış saptanmıştır. Farelerde gerçekleştirilen bir çalışmada, STZ enjeksiyonunu takiben ilk ölçümde hem vücut ağırlığında hem de 24 saatlik gıda alımında azalma olduğu; ancak takip eden 14.gunden sonraki ölçümlerde bu parametrelerde artış gözlendiği rapor edilmiştir. Bu durumun, STZ sonrası başlangıçtaki akut kilo kaybı döneminin atlatılmasının ardından, diyabete bağlı gelişen kompanze dönem ile ilişkili

olabileceği öne sürülmüştür (98). Ayrıca STZ'nin, sıçanlarda GLUT-2 aracılığıyla pankreatik β hücre hasarı yaparak insülin sekresyonunu bozarak diyabet gelişimine neden olduğu ve böylece hayvanlarda hiperglisemiye yol açtığı çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur (99). Bu çalışmada da diyabetes mellitus oluşturulan iki grupta, ilk haftadan itibaren plazma glukoz düzeylerinin normal sınırların üzerine çıktığı ve deney boyunca diyabetik seviyelerde seyrettiği görülmüştür. Deneyin son haftasında ise diyabetik gruplarda, kan şekeri düzeylerinde küçük çaplı bir azalma eğilimi gözlenmiştir. Bu bulgu, literatürde yer alan ve STZ ile oluşturulan diyabet modellerinde kompanzasyona sekonder altıncı haftadan sonra glisemik seviyelerde düşüş gözlenebileceğini belirten çalışmalarda da gösterilmektedir (100). Buna karşın, bazı çalışmalarda STZ sonrası yapılan değerlendirmelerde, başlangıçtaki glukoz değerlerinde yüksek seviyeler gözlenmiş, ancak takip kontrollerinde glukoz düzeylerinde dalgalanmalar görülebilmiştir (101).

Diyabetik sistopatinin erken dönemlerinden itibaren mesane düz kaslarında hipertrofi, kollajen birikimi ve dolayısıyla mesane ağırlığında artış meydana gelebilmektedir (102). Bu çalışmada da diyabetik ve diyabetik+NaHS gruplarında mesane ağırlığının kontrol grubuna kıyasla artmış olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu, diyabetin mesane düz kası üzerine yapısal etkilerini yansıtmaktadır. Literatürde de benzer şekilde, STZ ile oluşturulan diyabetik sıçan modellerinde, mesane duvarında kas kitlesinin arttığı, submukozal alanda kollajen birikiminin yoğunlaştığı ve buna bağlı olarak mesane ağırlığının anlamlı şekilde yükseldiği rapor edilmiştir, mesanede görülen ağırlık artışının STZ doz (35-65 mg/kg) farklılıklarında benzer sonuçlar çıktığı vurgulanmıştır (102). Bu artışın başlıca nedenleri arasında,

diyabetin neden olduğu hiperglisemiye sekonder gelişen oksidatif stres, mesane çıkım direncinde artış, artmış intravezikal basınç, detrusor hipertrofisi ve mesane boşaltımındaki yetersizlikler yer almaktadır. Diyabetik hayvan modellerinde artmış mesane kapasitesi ile birlikte mesane kas kitlesinde artış sıklıkla bildirilmiştir (103). Ayrıca bazı çalışmalarda diyabet süresi uzadıkça mesane hipertrofisinin ve ağırlık artışının daha belirgin hâle geldiği gösterilmiştir (104). Literatürde yer alan bir çalışmada alloksan uygulanarak Tip 1 DM modellerinde mesane hipertrofisinin varlığını doğrulamaktadır ancak benzer düzeylerde kan şekeri yükselmesine rağmen STZ enjeksiyonundan daha az hipertrofiye neden olduğu bildirilmiştir (105). Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, diyabetes mellitus, mesanede innnervasyon bozukluğu ve detrüsor kasında gelişen kompansatuar hipertrofi nedeniyle hem hiperaktif mesaneyi hem de detrüsor kas kalınlaşmasını tetikler; bu iki durum patofizyolojik olarak birbiriyle yakından ilişkilidir ve diyabetik sistopatinin evreleri olarak değerlendirilir.

Dokularda 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarında, diyabet grubunda kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Ancak Diyabet+NaHS grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma tespit edilmiştir. Bu bulgu, yalnızca diyabetik gruplarda kasılma yanıtlarının artmış olması nedeniyle, diyabetin mesane düz kaslarının KCl uyarısına karşı duyarlılığını artırmış olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, diyabet varlığında KCl aracılı kasılma yanıtlarının artabileceği ya da azalabileceği yönünde farklı sonuçlar bildirilmiştir. Literatürde diyabetin mesane üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada sekizinci haftada gruplara kümülatif KCL (5-100 mM) uygulanmış ve

her bir doz için KCL yanıtının diyabetik grupta arttığı bildirilmiştir (106). Literatürde yer alan bir başka çalışmada diyabet varlığında KCL aracılı kasılma yanıtları azalabileceği bildirilmektedir; ancak bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak 16 ve 27 haftalık diyabetik sıçan mesanelerinin kasılma yanıtlarına bakılmıştır ve bu dönem nöropatiye bağlı olarak detrusor kasının kasılabilirliğini kaybettiği dekompanze dönem olarak değerlendirilmiştir (107). Literaturde alloksan ile diyabet modeli oluşturulan tavşan mesanesinde 16. haftada bakılan KCL yanıtlarında ise anlamlı değişiklik olmadığı bildirilmiştir (108). Bu çalışmalara benzer olarak STZ ile indüklenen diyabet modellerinde mitokondriyal disfonksiyon ve ROS artışına bağlı KCl'nin voltaj bağımlı kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarını aktive ederek hücre içine Ca^{2+} girişini artırdığı ve bunun da düz kas kasılmasını kuvvetlendirdiği üzerinde durulmuştur (109). Literatürde yer alan bir çalışma, H_2S'nin STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda düz kaslarda gevşeme etkisini artırdığını ve bu etkisinin diyabet varlığında daha belirgin hale geldiğini bildirmiştir (110). Bu mekanizmalar göz önünde bulundurulduğunda, elde ettiğimiz bulgular literatürde bildirilen patofizyolojik süreçlerle uyum göstermektedir.

Sunulan çalışmada presinaptik uyarı ile oluşan kasılma şeklindeki fizyolojik fonksiyonu simule edebilmek için 1-32 Hz frekans aralığında EAU ile mesane dokusunda kasılma yanıtları analiz edilmiştir. Uygulanan frekans aralığı, parasempatik sinir uçlarından asetilkolin ve ATP gibi nörotransmitterlerin salıverilmesini taklit ederek mesanenin fizyolojik kasılma kapasitesini değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Farklı deney gruplarında EAU'ya verilen

yanıtlar incelenerek, diyabetin mesane fonksiyonu üzerindeki etkileri ve bu etkilerin kronik NaHS tedavisi ile nasıl değiştiği değerlendirilmiştir.

NaHS grubunda kontrol grubuna kıyasla EAU aracılı kasılma yanıtlarında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Bu bulgu, kronik H_2S uygulamasının sağlıklı fizyolojik koşullarda mesane kontraktilitesine belirgin bir etkisi olmadığını düşündürmektedir.

Diyabet grubunda artan frekansta EAU ile elde edilen kasılma yanıtları, özellikle yüksek frekans olan 32 Hz'de kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir. Bu bulgu, diyabetin yalnızca mesane hipokontraktilitesine neden olmadığını, aynı zamanda bazı durumlarda hiperreaktivite benzeri bir yanıt profili oluşturabileceğini göstermektedir. Literaturde diyabetik mesanede, intravezikal basıncın artması, reseptör duyarlılığında artış olması, kolinerjik ve pürinerjik reseptör ekspresyonunun artması sonucu benzer sonuçlar ortaya çıktığı bildirilmiştir (111, 112). Bunun sonucunda, çalışmamız diyabetin mesane fonksiyonu üzerindeki etkilerinin tek yönlü olmadığını ve elektriksel alan uyarım frekansına bağlı değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Önemli bir bulgu olarak, Diyabet+NaHS grubunda kasılma yanıtlarının 16 ve 32 Hz'de diyabet grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Literatürde, NaHS'nin düz kaslar üzerindeki etkisi genellikle gevşetici yönde olup; birçok çalışmada NaHS'nin izole mesane veya diğer düz kas dokularında gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (113). Buna karşın, H_2S'nin olası nöromodülatör etkisi, presinaptik düzeyde asetilkolin/ATP salınımını artırarak veya postsinaptik muskarinik/pürinerjik reseptör duyarlılığını yeniden düzenleyerek Ca^{+2} düzeylerini

arttırmış ve mesane kontraktilitesini güçlendirebileceği bildirilmiştir; bu çalışmada yavaş salınımlı H_2S donöru olan GYY4137 kümülatif uygulanmıştır (114). Literatıurde yer alan bir çalışmada H_2S'in, ATP duyarlı K kanallarını aktive ederek düz kas relaksasyonu yapabileceği ancak Ca^{2+} duyarlı K^+ (BKCa) kanallarını, T tipi kalsiyum kanallarını ve M tipi kalsiyum kanallarını inhibe ederek kasılma artışına yol açabileceği bildirilmiştir (115). Sıçan aortu üzerinde yapılan bir çalışmada H_2S ve NO'nun reaksiyona girerek vasorelaksan aktivitesi olmayan bir molekül (nitrozotiyol) oluşturduğu ve böylece NO'yu etkisiz hale getirerek kasılma artışına yol açtığı öne sürülmüştür (116). Bu bilgilerden yola çıkarak özellikle yüksek frekanslı uyarılarda mesane cevabının artması açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızın en önemli bulgularından biri, Diyabet+NaHS grubunun, kontrol grubuna kıyasla 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarının tamamında anlamlı düzeyde artmış EAU yanıtları göstermesidir. Bu bulgu, H_2S'nin mesane düz kasında denervasyon sonrası gelişen reseptör duyarlılığının artışına katkıda bulunabileceğini düşündürüren literatür çalışmasıyla uyumludur (117). Bu durum aynı zamanda endojen H_2S sisteminin mesane dokusunda fonksiyonel olarak etkili olduğunu ve dışarıdan verilen H_2S'nin fizyolojik düzeyleri aşarak aşırı duyarlılık yaratabileceğini de akla getirmektedir. Sunulan çalışmada, NaHS uygulaması kronik ve in vivo enjeksiyon şeklinde yapıldığından, gözlenen etkilerin farklı olması doğaldır. Nitekim, H_2S'nin etki mekanizması uygulama süresine, doza ve dokunun patofizyolojik durumuna göre değişkenlik gösterebilmektedir.

H_2S'nin mesane fonksiyonu üzerindeki etkileriyle ilgili olarak literatürde yeterli sayıda in vivo kronik uygulama çalışması bulunmamaktadır. Hidrojen sülfür, organizmalarda mitokondriyal enzimatik yollarla hızla metabolize edildiğinden yarılanma ömrü çok kısadır, plazma ve doku içi yarılanma ömrü genellikle birkaç saniye ile birkaç dakika arasında değişir. Beyin dokusunda yapılan çalışmalarda H_2S'in yarılanma ömrü 15–30 saniye civarında ölçülmüştür, kan dolaşımında ise <1 dakika olduğu bildirilmiştir (118). Literaturde yer alan bir çalışmada, ekzojen H_2S'nin tam kandan hızla kaybolduğu, ancak plazmaya uygulandığında daha yavaş kaybolduğu bildirilmiştir (119). Hidrojen sülfürün organizmadaki kısa yarı ömrüne rağmen, kronik uygulamalarda sürekli ve tekrarlayan dozlarla etkin konsantrasyonun devamlılığı sağlanmakta; bu durum, hücresel düzeyde sinyal transdüksiyon yollarının aktivasyonu ile proteinlerin sülfhidrasyon yoluyla post-translasyonel modifikasyonuna ve buna bağlı uzun süreli fonksiyonel değişikliklere olanak vermektedir. Dolayısıyla, H_2S ortamdan hızla temizlense bile, etkisi hücresel düzeyde uzun süre devam edebilmektedir. Bu bilgiler ışığında H_2S'in tek bir sabit yarılanma ömrü değerinin olmaması; yarılanma süresinin hangi dokuda ve hangi canlı sisteminde yer aldığına göre değişmesi gibi özellikler sonucunda daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Kronik H_2S uygulamasının, fizyolojik H_2S düzeyini artırarak parasempatik sinir sonlanmalarında asetilkolin veya ATP salıverilmesini modüle edebileceği ve böylece EAU'ya verilen yanıtı güçlendirebileceği öne sürülebilir. Bizim çalışmamız, kronik H_2S uygulamasının fizyolojik sinir kas iletişimini etkileyebileceğine dair yeni kanıtlar ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca, mesanede

kolinerjik ve pürinerjik innervasyonun segmental olarak farklılık gösterdiği ve özellikle trigon ve mesane gövdesi gibi anatomik bölgelerde reseptör ekspresyon yoğunluklarının değiştiği bildirilmiştir; mesane gövdesinde muskarinik reseptörler yoğun bulunurken trigonda purinerjik reseptörler dominant olduğu üzerinde durulmuştur (54). Bu farklılık, H_2S'nin sinir sonlanmaları üzerindeki etkilerinin anatomik bölgelere göre değişkenlik gösterebilmesine zemin hazırlayabilir. Sonuç olarak, çalışmamız kronik H_2S uygulamasının diyabetik mesanede sinirsel uyarıya verilen yanıtları artırabileceğini ortaya koymakta ve H_2S'nin mesanede olası nöromodülatör rolüne işaret etmektedir.

Bu çalışmada sabit 16 Hz elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerine α,β-Metilen ATP (10^{-5} M) etkisi değerlendirilmiş, diyabetin ve NaHS tedavisinin etkileri araştırılmıştır. Diyabet grubunda kontrol grubuna kıyasla α,β-Metilen ATP ile indüklenen kasılma yanıtlarında artış gözlenmiş, ancak bu artış istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Bu bulgu, diyabetin mesane düz kaslarında purinerjik yanıtları modüle edebileceğini işaret etmektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada pürinerjik sistemin kardiyovasküler sistem, böbrekler, sinir sistemi ve iskelet kası gibi diyabetin etkilediği çeşitli organlarda nasıl değiştiği incelenmiş; diyabet tedavisinde pürinerjik reseptör çeşitliliği ve dokuya özgü bileşenleri hedefleyen terapötik yaklaşımlar vurgulanmıştır, özellikle $P2Y_1$ ve $P2Y_6$ üzerinden pankreas beta hücreleri hedeflenebileceği bildirilmiştir (120). Literatürde yer alan bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan sıçan mesanesinde öncesinde EAU verilmeksizin uygulanan α,β-Metilen ATP yanıtlarında kontrol grubuna göre 8.

haftada istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır; ancak 16. haftada anlamlı azalma tespit edilmiştir (94).

Literaturde, Zucker (ZDF) sıçanları üzerinde yapılan bir çalışmada ise mesanede α,β-Metilen ATP'ye bağlı kasılma yanıtlarının 16. haftada benzer sonuçlar elde edilirken 27. haftada anlamlı artabileceği bildirilmektedir. (107). Çalışmamızda da diyabet grubunda purinerjik yanıtta gözlenen minimal artış anlamlı olmasa da bu bilgiyle uyumludur.

Literatürde bir başka çalışmada diyabetik KK-Ay farelerinde mesane üzerinde α, β-Metilen ATP yanıtları değerlendirilmiş ve 12 ve 18. haftada artmış yanıtlar bildirilirken 25. haftada azalmış yanıt tespit edilmiştir (121).

NaHS tedavisinin, hem kontrol hem de diyabetik gruptaki purinerjik kasılmalar üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmaması, H_2S donörlerinin purinerjik yanıtlar üzerinde sınırlı etkisini düşündürmektedir. Ancak diyabet+NaHS grubunda kasılma yanıtlarında diyabet grubuna kıyasla azalma eğilimi gözlenmiş olması, H_2S'in diyabette mesane fonksiyonlarını iyileştirici potansiyel etkisine işaret edebilir. H_2S'nin diyabetik mesane disfonksiyonunda oksidatif stresi azaltıcı ve nöromodülatör etkileri olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (82). Bu sonuçlar, diyabetik mesane disfonksiyonunda purinerjik yanıtların değerlendirilmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Bulgularımıza göre, kontrol ve NaHS uygulanan gruplarda α, β-Metilen ATP uygulama sonrası kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Buna karşın, diyabet grubunda ve diyabet + NaHS grubunda bu maddenin uygulanmasını takiben EAU aracılı kasılmaların anlamlı ölçüde azalması,

streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinin mesanedeki purinerjik sinyalizasyonu belirgin biçimde bozduğunu, ancak NaHS tedavisinin bu purinerjik disfonksiyon üzerinde anlamlı etki oluşturmadığını göstermektedir. Literaturde diyabetik rat mesanesinde P2X1 ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı değişmediği gösterilmiştir; buna karşın fonksiyonel yanıtların bozulması, reseptör alt tiplerinde (örneğin P2X3 veya P2X2/3) değişikliklerinin rol oynadığı bildirilmiştir (122). NaHS tedavisinin bu bozulmayı geri döndürmekte kısmi etkisi olması, hem patolojik sürecin derinliği hem de tedavi rejiminin yetersizliği ile ilişkili olabileceğini düşündürür. Literatüre göre P2X reseptör alt tipleri analizi ve farklı doz ve tedavi sürelerinde NaHS veya alternatif H_2S-donörleri ile doz-cevap çalışmaları yapılmasına ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda, sabit 16 Hz elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerine atropin uygulamasının etkileri araştırılmıştır. Atropin uygulaması sonrası dört grup arasında kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, ikili karşılaştırmalarda anlamlılık bulunamamıştır. Bulgular grup içi değerlendirildiğinde, kontrol ve NaHS uygulanan gruplarda Atropin uygulaması sonrası yanıtlarında anlamlı bir değişiklik ortaya çıkmamış; ancak diyabet ve diyabet + NaHS gruplarında Atropin yanıtlarında anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır. Diyabetik gruplarda atropine duyarlılığının artmış olması, kolinerjik sinir iletimi veya muskarinik reseptör fonksiyonunda diyabete bağlı patolojik değişikliklerin geliştiğine işaret eden bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Bu doğrultuda, literatürde 65mg/kg STZ ile diyabet oluşturulan sıçan mesane kası üzerinde Atropin (10^{-6} M) konsantrasyon sonucu benzer ölçüde azalma

bulunmuştur (123). Literaturde bir başka çalışmada sıçanlar üzerinde 50 mg/kg STZ uygulanarak oluşturulan diyabet modelinde, mesanede 32 Hz frekanstaki kasılma yanıtında Atropin'in etkisinde anlamlı azalma bildirilmiştir (124). Diyabet + NaHS grubunda Atropin sonrası kasılma yanıtında yine anlamlı azalma görülmesi, NaHS'nin kolinerjik sistemin yeniden düzenlenmesinde tek başına yeterli olmadığını göstermektedir.

Atropin, mesane düz kasında M_2 ve özellikle M_3 muskarinik reseptörlerini bloke ederek kasılmaları inhibe eder (54).

Güncel literatürde Atropin'in diyabetik mesanede etkilerinin farklı şekillerde raporlandığı görülmektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların mesanesinde yapılan değerlendirmede; kontrol grubuna kıyasla 8. haftada 2 Hz frekansta Atropin yanıtında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, 4–32 Hz aralığında anlamlı farklılık bulunmamış ancak azalma yönünde bir eğilim gözlenmiştir; ancak aynı çalışmanın 16. haftalık değerlendirmesinde ise tüm frekanslarda istatistiksel anlamlılık gösteren bir değişiklik bildirilmemiştir (94). Literatürde STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçan mesanesinde 0.5-32 Hz artan frekanslardaki kasılma yanıtları üzerine Atropin'in etkisi değerlendirilmiş ve diyabetik grupta kontrole kıyasla tüm frekanslarda azalma olduğu görülmüştür (125). Bu farklı sonuçlar, kullanılan modeller arasındaki farklılıklardan ya da doz farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda, sabit 16 Hz elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerine α,β-Metilen ATP ve Atropin kombinasyonunun etkileri araştırılmıştır. Bulgulara göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık

bulunamamıştır, ancak grup içi değerlendirildiğinde kontrol ve NaHS gruplarında uygulama öncesi sonrası fark anlamlı bulunmamasına rağmen, diyabet ve diyabet + NaHS gruplarında kasılma yanıtlarında anlamlı azalma gözlemlenmiştir. Diyabet grubunda bu madde kombinasyonuna karşı daha anlamlı bir azalma gözlenmesi, purinerjik ve kolinerjik iletim yollarının diyabetik ortamda eşzamanlı olarak bozulduğuna işaret etmektedir. Literaturde alloksan ile diyabet modeli oluşturulan tavşan mesanesinde kolinerjik yanıt azalırken pürinerjik yanıtın kompanzatuar olarak arttığı gözlendiği bildirilmiştir (126). Diyabet + NaHS grubunda α,β-Metilen ATP + Atropin sonrası yanıtın hâlâ anlamlı azalması, NaHS tedavisinin purinerjik ya da kolinerjik disfonksiyonu tam düzeyde geri döndüremediğini gösterir. Bu durum, H_2S-donörlerinin diyabet kaynaklı nöromüsküler bozulmaları kısmi düzeyde modulasyona sahip olsa da tek başına yeterli olmadığını işaret etmektedir.

Atropin, muskarinik reseptör antagonisti, α,β-Metilen ATP ise purinerjik P2X reseptörler agonisti bir ajanlardır. Atropin ve α,β-Metilen ATP varlığında, insan, kobay, sıçan gibi birçok türlerden alınan mesane preparatlarında, postgangliyonik parasempatik sinir stimulasyonuyla oluşturulan kontraktil yanıtlar ortadan kaldırılmaktadır ve pürinerjik yanıtlar ortaya çıkmaktadır (127). Diyabetik mesanede bu yanıtların azalmasına rağmen anlamlı farklılık elde edilememesi, hem diyabetik nöropati hem de kas içi adaptif değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı zamanda uzun süreli diyabette P2X reseptörlerinin fonksiyonel ifadesinin de değişebileceği, bunun da α,β-Metilen ATP yanıtlarını etkileyebileceği bildirilmektedir (128).

NaHS tedavisinin de benzer şekilde anlamlı bir değişiklik oluşturmaması, literatürde H_2S'nin daha çok potasyum kanalları ve nitrik oksit yolu üzerinden etkili olduğu bilgisiyle uyumlu olduğunu düşündürmektedir (9).

Sonuç olarak, diyabetik mesane disfonksiyonunun yalnızca kolinerjik ve purinerjik iletim yollarındaki değişikliklerle açıklanamayacak kadar kompleks ve çok yönlü mekanizmalar içerdiği görülmektedir. Bu nedenle, tek başına ya da kombinasyon halinde uygulanan reseptör blokajlarının fonksiyonel yanıtlar üzerinde beklenen düzeyde bir iyileşme sağlamamış olması, altta yatan nöromüsküler, vasküler, inflamatuvar ve elektrofizyolojik süreçlerin diyabet tarafından eşzamanlı olarak etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik mesane patofizyolojisinin daha kapsamlı biçimde aydınlatılabilmesi için, farklı diyabet sürelerinin karşılaştırıldığı, aşamalı yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin izlendiği, farklı farmakolojik protokollerin uygulandığı ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Bu tür çalışmalar, diyabete bağlı alt üriner sistem bozukluklarının hedefe yönelik tedavilerinin geliştirilmesine de önemli katkılar sağlayacaktır.

Organ banyosu deneylerinde, zamana bağlı olarak dokunun yanıt verme kapasitesinde meydana gelebilecek spontan değişimleri kontrol etmek amacıyla zaman kontrol gruplarının dahil edilmesi önem taşımaktadır. Bu gruplar, herhangi bir farmakolojik ajan uygulanmaksızın sabit 16 Hz frekansına maruz bırakılarak değerlendirilmiştir. Böylece ortaya çıkabilecek doku yorgunluğu, desensitizasyon veya kasılma gücünde zamanla görülebilecek azalma gibi etkilerin ayırt edilmesine olanak tanıyacağı düşünülmektedir. Çalışmamızda kullanılan zaman kontrol

gruplarında elde edilen yanıtların sabit kalması, uygulanan farmakolojik ajanların etkilerinin zaman faktöründen bağımsız olduğunu desteklemiştir.

Bu çalışmada, kümülatif uygulama yapılarak Karbakol aracılı kasılma yanıtları değerlendirilmiş ve NaHS'nin etkisi araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, literatürde bildirilen bazı sonuçlarla benzerlikler gösterirken bazı farklılıklar da ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda, diyabet grubunda Karbakol aracılı kasılma yanıtları kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmasa da artış olduğunu gösterilmiştir. Literaturde STZ ile diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada mesane fonksiyonunu 3 günden 24 haftaya kadar takip edilmiş; öncelikle 3-8 hafta arasında karbakole karşı artmiş yanıt bulunmuş ve overaktif mesanenin kompanze dönemi olarak değerlendirilmiştir. 8. haftada mesane fonksiyonunda kritik bir kırılma yaşandığını ve denervasyon hipersensitivitesi olabileceği bildirilmiştir. 8-24 haftadan itibaren ise kontraktilitede azalma ile birlikte boşaltım fonksiyonlarında düşüş yaşanarak dekompansasyon dönemi olduğunu gösterilmiştir (129).

Diyabetik mesanede sıklıkla kasılmanın azalması ve nöropati nedeniyle nöronal fonksiyon kaybı olduğu bildirilmektedir (130). Ancak yine de Karbakol gibi doğrudan reseptör agonistlerine yanıt alınıyorsa, bu reseptörlerin mesane düz kaslarında hala mevcut ve aktif olduğu düşünülebilir. Bu durum, bazı çalışmalarda rapor edilen diyabete bağlı kolinerjik yanıt değişimlerinin diyabet süresi, doz ve hayvan türüne bağlı olabileceği düşünülmektedir.

NaHS grubunda Karbakol yanıtları kontrol grubuna benzer bulunmuş, bu durum NaHS'nin tek başına uygulandığında sağlıklı mesanede kolinerjik yanıt üzerinde belirgin bir değişikliğe yol açmadığını göstermektedir. Ancak diyabet+NaHS grubunda özellikle 10^{-5} M ve 10^{-4} M Karbakol konsantrasyonlarında hem diyabet grubuna hem de NaHS grubuna kıyasla anlamlı artış görülmesi dikkat çekicidir. Ayrıca, diyabet+NaHS grubunda 10^{-6}, 10^{-5} ve 10^{-4} M Karbakol konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla da anlamlı artış saptanmıştır. Bu artışın, mesane düz kaslarındaki kolinerjik sistemin yeniden düzenlenmesine özellikle de denervasyon sonrası reseptör düzeyinde aşırı duyarlılık gelişmiş olmasına işaret edebileceği literatür bilgisiyle uyumludur (129, 131). Literaturde diyabetli modellerde ise NaHS, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle uzun süreli komplikasyonları düzelttiği gibi düz kasların farmakodinamik yanıtlarını da dengelemeye yardımcı olabileceği bildirilmiştir (132). Literaturde H_2S'nin STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda böbrek dokusunda TGF-β1 ve NF-κB'yi azaltarak fibrozisi iyileştirebileceğini ve otofajiyi düzenleyebileceğini gösterilmiştir (133). H_2S'nin düz kas gevşetici etkisi yanında, bazı koşullarda kasılma yanıtlarını da modüle edebileceği bilinmektedir. Bu bağlamda, diyabetin mesane düz kasında yol açtığı muhtemel yapısal ve fonksiyonel değişiklikler (örneğin, kas kitlesinde artış, kollajen birikimi, fibrozis) H_2S'nin kolinerjik yanıtlar üzerindeki etkisini farklılaştırmış olabilir.

Çalışmamızda, streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik sıçan mesane dokusunda, RT-PCR yöntemi ile muskarinik reseptörler (M_2, M_3), PACAP-38,

Piezo1, TRPA1 ve Cx43 genlerinin mRNA düzeyleri değerlendirilmiş ve NaHS uygulamasının bu gen ekspresyonları üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

PACAP-38 (Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide-38) mesane sinirlerinde bulunabilen bir nöropeptiddir. Cx43 (Connexin 43) ise mesane düz kas hücreleri arasında yer alan gap junction proteinidir. Hücreler arası elektriksel ve kimyasal iletişimi sağlarlar, böylece bu proteinler mesanenin koordineli kasılması için önemlidir. Diyabet grubunda PACAP-38 ve Cx43 genlerinin mRNA seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gözlenmiş, bu durum diyabetin mesane nöromodülasyon ve hücreler arası iletişimde bozulmalara yol açtığını göstermektedir. Literaturde PACAP-38, mesanede nöropeptid olarak detrusor kas fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı ve ekspresyonundaki azalmanın diyabetik sistopati patofizyolojisinin bir parçası olduğu bildirilmektedir (134). Cx43 mesane kas hücreleri arasında elektriksel iletişimde önemli bir rolü vardır. Diyabetik model üzerinde yapılan çalışmalarda mesanede Cx43 azalması bildirilen bir durumdur ve kontraktil işlev kaybıyla doğrudan ilişkilendirilmiştir (135).

Çalışmamızda NaHS tedavisinin diyabetik mesanede PACAP-38 ve Cx43 mRNA seviyelerini anlamlı düzeyde artırarak nöromodülatör ve hücresel iletişim yollarında iyileştirici bir etki gösterdiği düşünülmektedir. H_2S'nin antioksidan, antiinflamatuar ve iyon kanallarını modüle edici özellikleriyle birlikte bu iyileşmeyi sağladığı düşünülmektedir.

Piezo1, mesane ve diğer organlarda bulunan mekanosensitif iyon kanalıdır. Mesane doldukça gerilmeyi algılar ve afferent sinirler aracılığıyla beyne doluluk

hissini iletir. TRPA1 (Transient Receptor Potential Ankyrin 1), mesane afferent sinir uçlarında ve uretelyumda bulunan bir başka mekanosensitif iyon kanalıdır. Mesane duvarındaki gerilme ve inflamatuvar medyatörlere yanıt verir. Piezo1 ve TRPA1 gen ekspresyonlarında diyabet grubunda kontrol ve NaHS grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlenmiş, diyabet+NaHS grubunda ise bu artış belirgin şekilde azalmıştır. Literaturde diyabetik model oluşturulan çalışmalarda Piezo1 ve TRPA1 ekspresyonlarındaki artışın mesanede aşırı dolum ve mesane hiperaktivitesi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (136, 137). Literaturde Zucker sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetin TRPA1 gen ekspresyonlarında artışa yol açtığı ve bu durumun hidrojen sülfür ile gerilediği, gen ekspresyonunu azaltarak mesane afferent duyarlılığını düzenlediği bildirilmiştir (138).

Literaturde muskarinik reseptörler açısından, diyabet grubunda M_2 ve M_3 mRNA düzeylerinde anlamlı bir artış gözlendiği belirtilmektedir (138). Bu bulgu, çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu biçimde, diyabete bağlı olarak kolinerjik sistemde bir aktivasyon veya duyarlılık artışı meydana geldiğini düşündürmektedir. Mesanede tüm muskarinik $M_{1–5}$ reseptör alt tipleri yer almaktadır; ancak özellikle M_2 ve M_3 reseptörlerini kodlayan mRNA baskınlığı söz konusu olduğu gösterilmiştir (140, 141). NaHS tedavisinin bu reseptörler üzerinde bir miktar azalma sağladığı gözlenmiş ancak bu değişim anlamlı olmamıştır. Bu bulgu, NaHS'nin muskarinik reseptörler üzerinden etkisinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, diyabetin mesane üzerindeki etkilerine yönelik gen ekspresyon değişiklikleri dikkat çekicidir. Kronik NaHS tedavisinin ise bu

durumlara ait belirteçleri arttırabileceği ya da azaltabileceği söz konusudur. Ancak bu etkilerin kanıtlanması ve kronik H_2S tedavisinin etkisini kesin olarak değerlendirmek için histopatolojik görüntüleme yöntemleri ya da literatürde yer alan yavaş salımlı H_2S donörleri kullanılarak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Real Time PCR ve izole organ banyosunda elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde diyabetin mesane fonksiyonu üzerindeki olumsuz etkisini hem yapısal bozukluklar hem de reseptör duyarlılığını etkileyerek yaptığını ve H_2S'nin bu bozuklukları azaltıcı yönde bir etkisi olduğu öne sürülebilir.

6. SONUÇLAR

1. Diyabetik mesanede elektriksel alan uyarısına karşı artmış bir kasılma yanıtı geliştiğini ve presinaptik nörotransmisyonda artmış bir hiperreaktivitenin varlığını düşündürmektedir. Diyabetik sıçanlara uygulanan NaHS tedavisi ile birlikte hidrojen sülfürün diyabetik mesanede elektriksel uyarıya karşı gelişen yanıtı daha da kuvvetlendirdiğini ve olasılıkla nöromüsküler iletim ya da düz kas kontraktilitesini artırıcı yönde reseptör duyarlılığında artış olabileceğini ortaya koymaktadır.
2. Diyabet grubunda ve diyabet + NaHS grubunda α,β-Metilen ATP, Atropin ve bu iki maddenin birlikte uygulanması sonrasında sabit frekansta EAU yanıtlarında anlamlı azalma gözlenmiştir. Bu bulgu, diyabetin mesane nöromüsküler iletimi üzerinde çift yönlü bir bozulma oluşturduğunu, hem kolinerjik hem de purinerjik sistemin etkilendiğini göstermektedir. Özellikle α,β-Metilen ATP + Atropin kombinasyonuna karşı gözlenen yanıtın belirgin azalması, bu sistemler arası sinerjistik etkileşimin diyabet koşullarında zayıfladığını ortaya koymaktadır.
3. Diyabet + NaHS grubunda, diyabet grubuna benzer şekilde gözlenen yanıtlar, NaHS tedavisinin bu nöromüsküler bozulmayı sınırlı ölçüde modüle edebildiğini göstermektedir. H_2S'nin bilinen antiinflamatuar ve antioksidatif etkilerine rağmen, bu çalışmada kullanılan doz ve süre ile kolinerjik ve purinerjik disfonksiyonun düzeltilmesinde yeterli düzeyde etki gösterememiştir.

4. Karbakole karşı yanıtta belirgin bir artış eğilimi olduğu görülmektedir. Bu durum, diyabetik mesane dokusunda postsinaptik nörotransmisyonda artmış bir hiperreaktivitenin varlığına ve muskarinik reseptör duyarlılığında artışa işaret etmektedir. Diyabetik gruba NaHS uygulanmasıyla birlikte H_2S'nin diyabetik mesane patofizyolojisinde kolinerjik yanıtları artırıcı yönde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, H_2S'nin mesane düz kasında asetilkolin aracılı kasılmalar üzerinde doğrudan ya da dolaylı mekanizmalarla (örneğin, muskarinik reseptör ekspresyonu, kalsiyum sinyalizasyonu veya iyon kanal aktivitesi üzerinden) etkili olabileceği ileri sürülebilir.
5. Real Time PCR yöntemi ile kolinerjik yanıtla ilişkili olan M_2 ve M_3 muskarinik reseptör genlerinin mRNA düzeyleri diyabet grubunda artmıştır; bu durum, diyabetik mesanede kolinerjik hiperreaktivitenin moleküler düzeyde muskarinik reseptör ekspresyonu ile desteklendiğini göstermektedir. Diyabet+NaHS grubunda anlamlı olmasa da azalma eğiliminde olması, H_2S'nin muskarinik reseptör düzeylerini kısmen regüle edebileceğini ancak bu etkinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna journal of medicine*, *10*(04), 174-188.
2. Kaplan, S. A., Te, A. E., Blaivas, J. G., & McGuire, E. J. (1995). Urodynamic findings in patients with diabetic cystopathy. *The Journal of urology*, *153*(2), 342-344.
3. Daneshgari, F., Liu, G., Birder, L., Hanna-Mitchell, A. T., & Chacko, S. (2009). Diabetic bladder dysfunction: current translational knowledge. *The Journal of urology*, *182*(6), S18-S26.
4. Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, *50*(6), 537-546.
5. Wang, R. (2012). Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiological reviews*, *92*(2), 791-896.
6. d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Fusco, F., Mirone, V., Cirino, G., & Sorrentino, R. (2017). The role of the hydrogen sulfide pathway in male and female urogenital system in health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, *27*(10), 654-668.
7. Cirino, G., Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2023). Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiological reviews*, *103*(1), 31-276.
8. Anuar, F., Whiteman, M., Siau, J. L., Kwong, S. E., Bhatia, M., & Moore, P. K. (2006). Nitric oxide-releasing flurbiprofen reduces formation of proinflammatory hydrogen sulfide in lipopolysaccharide-treated rat. *British journal of pharmacology*, *147*(8), 966-974.
9. Fernandes, V. S., & Hernández, M. (2016). The role of nitric oxide and hydrogen sulfide in urinary tract function. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, *119*, 34-41.
10. American Diabetes Association. (2014). Standards of medical care in diabetes—2014. *Diabetes care*, *37*(Supplement_1), S14-S80.
11. Magliano, D. J., Boyko, E. J., & Atlas, I. D. (2021). What is diabetes?. In *IDF DIABETES ATLAS [Internet]. 10th edition*. International Diabetes Federation.
12. World Health Organization. (2022). *Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030. Executive summary*. World Health Organization.
13. Satman, I., Omer, B., Tutuncu, Y., Kalaca, S., Gedik, S., Dinccag, N., ... & Tuomilehto, J. (2013). Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European journal of epidemiology*, *28*(2), 169-180.
14. American Diabetes Association Professional Practice Committee (2025). 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2025. *Diabetes care*, *48*(1 Suppl 1), S27–S49. https://doi.org/10.2337/dc25-S002

15. Bommer, C., Sagalova, V., Heesemann, E., Manne-Goehler, J., Atun, R., Bärnighausen, T., ... & Vollmer, S. (2018). Global economic burden of diabetes in adults: projections from 2015 to 2030. *Diabetes care*, *41*(5), 963-970.
16. Atkinson, M. A., & Eisenbarth, G. S. (2001). Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *The Lancet*, *358*(9277), 221-229.
17. Prasad, R. B., & Groop, L. (2015). Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. *Genes*, *6*(1), 87-123.
18. Kahn, S. E., Hull, R. L., & Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, *444*(7121), 840-846.
19. Dixon, J. B., Zimmet, P., Alberti, K. G., Rubino, F., & International Diabetes Federation Taskforce on Epidemiology and Prevention. (2011). Bariatric surgery: an IDF statement for obese type 2 diabetes. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, *7*(4), 433-447.
20. Cowie Catherine, C., Rust Keith, F., Byrd-Holt Danita, D., Eberhardt Mark, S., Flegal Katherine, M., & Engelgau Michael, M. (2006). Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in adults in the US population. *Diabet Care*, *29*(6), 1263-8.
21. Bellamy, L., Casas, J. P., Hingorani, A. D., & Williams, D. (2009). Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The lancet*, *373*(9677), 1773-1779.
22. Sami, W., Ansari, T., Butt, N. S., & Ab Hamid, M. R. (2017). Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: A review. *International journal of health sciences*, *11*(2), 65.
23. Grundy, S. M. (2008). Metabolic syndrome pandemic. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *28*(4), 629-636.
24. Narayan, K. V., Zhang, P., Kanaya, A. M., Williams, D. E., Engelgau, M. M., Imperatore, G., & Ramachandran, A. (2006). Diabetes: the pandemic and potential solutions. *Disease control priorities in developing countries. 2nd edition*.
25. Knutson, K. L. (2010). Sleep duration and cardiometabolic risk: a review of the epidemiologic evidence. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, *24*(5), 731-743.
26. Jain, A. B., & Lai, V. (2024). Medication-induced hyperglycemia and diabetes mellitus: a review of current literature and practical management strategies. *Diabetes Therapy*, *15*(9), 2001-2025.
27. Zillich, A. J., Garg, J., Basu, S., Bakris, G. L., & Carter, B. L. (2006). Thiazide diuretics, potassium, and the development of diabetes: a quantitative review. *Hypertension*, *48*(2), 219-224.
28. A Adlan, M., NR Bondugulapati, L., & DKE Premawardhana, L. (2010). Glucose intolerance and diabetes mellitus in endocrine disorders-two case reports and a review. *Current Diabetes Reviews*, *6*(5), 266-273.
29. Notkins, A. L., & Lernmark, Å. (2001). Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *The Journal of clinical investigation*, *108*(9), 1247-1252.,

30. Maahs, D. M., West, N. A., Lawrence, J. M., & Mayer-Davis, E. J. (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, *39*(3), 481-497.
31. Nolan, C. J., Damm, P., & Prentki, M. (2011). Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *The Lancet*, *378*(9786), 169-181.
32. Lee, A. J., Hiscock, R. J., Wein, P., Walker, S. P., & Permezel, M. (2007). Gestational diabetes mellitus: clinical predictors and long-term risk of developing type 2 diabetes: a retrospective cohort study using survival analysis. *Diabetes care*, *30*(4), 878-883.
33. Anık, A., Çatlı, G., Abacı, A., & Böber, E. (2015). Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update. *Journal of pediatric endocrinology and metabolism*, *28*(3-4), 251-263.
34. American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. (2005). Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. *Diabetes care*, *28*(5), 1245-1249.
35. Maletkovic, J., & Drexler, A. (2013). Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, *42*(4), 677-695.
36. Pasquel, F. J., & Umpierrez, G. E. (2014). Hyperosmolar hyperglycemic state: a historic review of the clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Diabetes care*, *37*(11), 3124-3131.
37. Stades, A. M. E., Heikens, J. T., Erkelens, D. W., Holleman, F., & Hoekstra, J. B. L. (2004). Metformin and lactic acidosis: cause or coincidence? A review of case reports. *Journal of internal medicine*, *255*(2), 179-187.
38. Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, *414*(6865), 813-820.
39. Mottl, A. K., & Nicholas, S. B. (2024). KDOQI commentary on the KDIGO 2022 update to the clinical practice guideline for diabetes management in CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, *83*(3), 277-287.
40. Solomon, S. D., Chew, E., Duh, E. J., Sobrin, L., Sun, J. K., VanderBeek, B. L., ... & Gardner, T. W. (2017). Diabetic retinopathy: a position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*, *40*(3), 412.
41. Emerging Risk Factors Collaboration. (2011). Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *New England Journal of Medicine*, *364*(9), 829-841.
42. Elsayed, N. A., Aleppo, G., Bannuru, R. R., Bruemmer, D., Collins, B. S., Ekhlaspour, L., ... & American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2024). 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*, *47*.
43. Kumbhar, S., & Bhatia, M. (2024). Advancements and best practices in diabetic foot Care: A comprehensive review of global progress. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *217*, 111845.
44. Qasrawi, H., Tabouni, M., Almansour, S. W., Ghannam, M., Abdalhaq, A., Abushamma, F., ... & Zyoud, S. E. H. (2022). An evaluation of lower urinary

tract symptoms in diabetic patients: a cross-sectional study. *BMC urology*, *22*(1), 178.
45. Leslie, S. W., Tadi, P., & Tayyeb, M. (2020). Neurogenic bladder and neurogenic lower urinary tract dysfunction..
46. Fünfstück, R., Nicolle, L. E., Hanefeld, M., & Naber, K. G. (2012). Urinary tract infection in patients with diabetes mellitus. *Clinical nephrology*, *77*(1), 40.
47. Danforth, K. N., Townsend, M. K., Curhan, G. C., Resnick, N. M., & Grodstein, F. (2009). Type 2 diabetes mellitus and risk of stress, urge and mixed urinary incontinence. *The Journal of urology*, *181*(1), 193-197.
48. Tuttle, K. R., Bakris, G. L., Bilous, R. W., Chiang, J. L., De Boer, I. H., Goldstein-Fuchs, J., ... & Molitch, M. E. (2014). Diabetic kidney disease: a report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes care*, *37*(10), 2864-2883.
49. Liu, H., Sridhar, V. S., Boulet, J., Dharia, A., Khan, A., Lawler, P. R., & Cherney, D. Z. (2022). Cardiorenal protection with SGLT2 inhibitors in patients with diabetes mellitus: from biomarkers to clinical outcomes in heart failure and diabetic kidney disease. *Metabolism*, *126*, 154918.
50. Giovannucci, E., Harlan, D. M., Archer, M. C., Bergenstal, R. M., Gapstur, S. M., Habel, L. A., ... & Yee, D. (2010). Diabetes and cancer: a consensus report. *CA: a cancer journal for clinicians*, *60*(4), 207-221.
51. Zhu, Z., Zhang, X., Shen, Z., Zhong, S., Wang, X., Lu, Y., & Xu, C. (2013). Diabetes mellitus and risk of bladder cancer: a meta-analysis of cohort studies. *PloS one*, *8*(2), e56662.
52. Wang, Y., Cao, Y., & Zhu, C. (2024). Meta-analysis of the relationship between type 2 diabetes mellitus and renal cancer risk. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, *24*(7), 832-839.
53. Lin, M. Y., Li, W. M., Huang, C. N., Lee, H. L., Niu, S. W., Chen, L. T., ... & Hwang, S. J. (2018). Dialysis increases the risk of bladder recurrence in patients with upper tract urothelial cancer: A population-based study. *Annals of Surgical Oncology*, *25*(4), 1086-1093.
54. Andersson, K. E., & Arner, A. (2004). Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiological reviews*, *84*(3), 935-986.
55. Yoshimura, N., & Chancellor, M. B. (2003). Neurophysiology of lower urinary tract function and dysfunction. *Reviews in urology*, *5*(Suppl 8), S3.
56. Giglio, D., & Tobin, G. (2009). Muscarinic receptor subtypes in the lower urinary tract. *Pharmacology*, *83*(5), 259-269.
57. Uchiyama, T., & Chess-Williams, R. (2004). Muscarinic receptor subtypes of the bladder and gastrointestinal tract. *Journal of smooth muscle research*, *40*(6), 237-247.
58. Yoshida, M., Homma, Y., Inadome, A., Yono, M., Seshita, H., Miyamoto, Y., ... & Ueda, S. (2001). Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles. *Experimental gerontology*, *36*(1), 99-109.

59. Liang, C. C., Shaw, S. W. S., Huang, Y. H., Lin, Y. H., & Lee, T. H. (2018). Improvement in bladder dysfunction after bladder transplantation of amniotic fluid stem cells in diabetic rats. *Scientific reports*, *8*(1), 2105.
60. Michel, M. C. (2011). β-Adrenergic receptor subtypes in the urinary tract. *Urinary tract*, 307-318.
61. Kudlacz, E. M. (1988). *The effects of diabetes and diuresis on in vivo and in vitro function of the rat urinary bladder*. The Ohio State University.
62. Michel, M. C., & Vrydag, W. (2006). α1-, α2-and β-adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. *British journal of pharmacology*, *147*(S2), S88-S119.
63. Cockayne, D. A., Hamilton, S. G., Zhu, Q. M., Dunn, P. M., Zhong, Y., Novakovic, S., ... & Ford, A. P. (2000). Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice. *Nature*, *407*(6807), 1011-1015.
64. Li, G. Y., Ren, S., Huang, B. C., Feng, J. J., Wang, Q. Q., Peng, Q. J., ... & He, R. (2025). Role and mechanism of Roux-en-Y gastric bypass in the treatment of diabetic urinary bladder hyperactivity by reducing TRPV1 and P2X3. *World Journal of Diabetes*, *16*(4), 96176.
65. Sadananda, P., Shang, F., Liu, L., Mansfield, K. J., & Burcher, E. (2009). Release of ATP from rat urinary bladder mucosa: role of acid, vanilloids and stretch. *British journal of pharmacology*, *158*(7), 1655-1662.
66. Andersson, K. E. (2019). Agents in early development for treatment of bladder dysfunction–promise of drugs acting at TRP channels?. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, *28*(9), 749-755.
67. Sharopov, B. R., Gulak, K. L., Philyppov, I. B., Sotkis, A. V., & Shuba, Y. M. (2018). TRPV1 alterations in urinary bladder dysfunction in a rat model of STZ-induced diabetes. *Life sciences*, *193*, 207-213.
68. Robinson, D., & Cardozo, L. D. (2003). The role of estrogens in female lower urinary tract dysfunction. *Urology*, *62*(4), 45-51.
69. Pham, D., Polgar, B., Toth, T., Jungling, A., Kovacs, N., Balas, I., ... & Tamas, A. (2022). Examination of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in Parkinson's disease focusing on correlations with motor symptoms. *Geroscience*, *44*(2), 785-803.
70. Horvath, G., Opper, B., & Reglodi, D. (2019). The neuropeptide pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) is protective in inflammation and oxidative stress-induced damage in the kidney. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(19), 4944.
71. Miyamoto, T., Mochizuki, T., Nakagomi, H., Kira, S., Watanabe, M., Takayama, Y., ... & Tominaga, M. (2014). Functional role for Piezo1 in stretch-evoked Ca2+ influx and ATP release in urothelial cell cultures. *Journal of Biological Chemistry*, *289*(23), 16565-16575.
72. Zhang, X., Leng, S., Liu, X., Hu, X., Liu, Y., Li, X., ... & Peng, J. (2024). Ion channel Piezo1 activation aggravates the endothelial dysfunction under a high glucose environment. *Cardiovascular Diabetology*, *23*(1), 150.

73. Huang, H., Tay, S. H., Ng, W., Ng, S. Y., & Soong, T. W. (2021). Targeting novel human transient receptor potential ankyrin 1 splice variation with splice-switching antisense oligonucleotides. *Pain*, *162*(7), 2097-2109.
74. Li, J., Zhang, H., Du, Q., Gu, J., Wu, J., Liu, Q., ... & Xie, R. (2023). Research progress on TRPA1 in diseases. *The Journal of membrane biology*, *256*(4), 301-316.
75. Neuhaus, J., Pfeiffer, F., Wolburg, H., Horn, L. C., & Dorschner, W. (2005). Alterations in connexin expression in the bladder of patients with urge symptoms. *BJU international*, *96*(4), 670–676. https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2005.05703.x.
76. Bełtowski, J. (2019). Synthesis, metabolism, and signaling mechanisms of hydrogen sulfide: an overview. *Vascular effects of hydrogen sulfide: methods and protocols*, 1-8.
77. Wang, R. (2014). Gasotransmitters: growing pains and joys. *Trends in biochemical sciences*, *39*(5), 227-232.
78. Stein, A., & Bailey, S. M. (2013). Redox biology of hydrogen sulfide: implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Redox biology*, *1*(1), 32-39.
79. Szabó, C. (2007). Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature reviews Drug discovery*, *6*(11), 917-935.
80. Munteanu C, Turnea MA, Rotariu M. Hydrogen Sulfide: An Emerging Regulator of Oxidative Stress and Cellular Homeostasis-A Comprehensive One-Year Review. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(9):1737. Published 2023 Sep 7. doi:10.3390/antiox12091737.
81. Aronsson, P. (2013). Purinergic Effects in the Rat Urinary Bladder.
82. Zhou, X., Feng, Y., Zhan, Z., & Chen, J. (2014). Hydrogen sulfide alleviates diabetic nephropathy in a streptozotocin-induced diabetic rat model. *Journal of Biological Chemistry*, *289*(42), 28827-28834.
83. Ahmad, A., Olah, G., Szczesny, B., Wood, M. E., Whiteman, M., & Szabo, C. (2016). AP39, a mitochondrially targeted hydrogen sulfide donor, exerts protective effects in renal epithelial cells subjected to oxidative stress in vitro and in acute renal injury in vivo. *Shock*, *45*(1), 88-97.
84. Sun, H. J., Wu, Z. Y., Cao, L., Zhu, M. Y., Liu, T. T., Guo, L., ... & Bian, J. S. (2019). Hydrogen sulfide: recent progression and perspectives for the treatment of diabetic nephropathy. *Molecules*, *24*(15), 2857.
85. Gaddam, R. R., Chambers, S., Murdoch, D., Shaw, G., & Bhatia, M. (2017). Circulating levels of hydrogen sulfide and substance P in patients with sepsis. *Journal of Infection*, *75*(4), 293-300.
86. Magli, E., Perissutti, E., Santagada, V., Caliendo, G., Corvino, A., Esposito, G., ... & Frecentese, F. (2021). H2S donors and their use in medicinal chemistry. *Biomolecules*, *11*(12), 1899.
87. Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2017). International union of basic and clinical pharmacology. CII: pharmacological modulation of H2S levels: H2S donors and H2S biosynthesis inhibitors. *Pharmacological reviews*, *69*(4), 497-564.

88. Bhatia, M., & Gaddam, R. R. (2021). Hydrogen sulfide in inflammation: A novel mediator and therapeutic target. *Antioxidants & redox signaling*, *34*(17), 1368-1377.
89. American Diabetes Association. (2023). Standards of care in diabetes—2023 abridged for primary care providers. *Clinical Diabetes*, *41*(1), 4-31.
90. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, *51*(2), 216-226.
91. Kaur, M., Bedi, O., Sachdeva, S., Reddy, B. K., & Kumar, P. (2014). Rodent animal models: from mild to advanced stages of diabetic nephropathy. *Inflammopharmacology*, *22*(5), 279-293.
92. Ghasemi, A., & Jeddi, S. (2023). Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. *EXCLI journal*, *22*, 274.
93. Like, A. A., & Rossini, A. A. (1976). Streptozotocin-induced pancreatic insulitis: new model of diabetes mellitus. *Science*, *193*(4251), 415-417.
94. Moss, H. E., Lincoln, J., & Burnstock, G. (1987). A study of bladder dysfunction during streptozotocin-induced diabetes in the rat using an in vitro whole bladder preparation. *The Journal of urology*, *138*(5), 1279-1284.
95. Anderson, M. S., & Bluestone, J. A. (2005). The NOD mouse: a model of immune dysregulation. *Annu. Rev. Immunol.*, *23*(1), 447-485.
96. Srinivasan, K., & Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian journal of medical research*, *125*(3), 451-472
97. Howarth, F. C., Qureshi, A., Shahin, A., & Lukic, M. L. (2005). Effects of single high-dose and multiple low-dose streptozotocin on contraction and intracellular Ca2+ in ventricular myocytes from diabetes resistant and susceptible rats. *Molecular and cellular biochemistry*, *269*(1), 103-108.
98. Pauzi, N. A. S., Muhammad, A. A., Fakurazi, S., Arulselvan, P., & Ahmad, Z. (2013). Preliminary study of the optimization of protocol for development of type 2 diabetic model in rats. *Ind J Sci Technol*, *6*(7), 4960-4965.
99. Karimova, M. V., Vasiliev, A. V., & Vorotelyak, E. A. (2022). Type 2 diabetes mellitus: pathogenic features and experimental models in rodents. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, *14*(3), 57-68.
100. Xiang, E., Han, B., Zhang, Q., Rao, W., Wang, Z., Chang, C., ... & Wu, D. (2020). Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells prevent the progression of early diabetic nephropathy through inhibiting inflammation and fibrosis. *Stem cell research & therapy*, *11*(1), 336
101. Qinna, N. A., & Badwan, A. A. (2015). Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug design, development and therapy*, 2515-2525.
102. Arioglu Inan, E., Ellenbroek, J. H., & Michel, M. C. (2018). A systematic review of urinary bladder hypertrophy in experimental diabetes: Part I. Streptozotocin-induced rat models. *Neurourology and Urodynamics*, *37*(4), 1212-1219.
103. Koo, H. P., Santarosa, R. P., Buttyan, R., Shabsigh, R., Olsson, C. A., & Kaplan, S. A. (1993). Early molecular changes associated with streptozotocin-induced diabetic bladder hypertrophy in the rat. *Urological research*, *21*(6), 375-381.

104. Klee, N. S., Moreland, R. S., & Kendig, D. M. (2019). Detrusor contractility to parasympathetic mediators is differentially altered in the compensated and decompensated states of diabetic bladder dysfunction. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *317*(2), F388-F398.
105. Ellenbroek, J. H., Arioglu Inan, E., & Michel, M. C. (2018). A systematic review of urinary bladder hypertrophy in experimental diabetes: Part 2. Comparison of animal models and functional consequences. *Neurourology and urodynamics*, *37*(8), 2346-2360.
106. Atalık, K. E., Okudan, N., Gokbel, H., Kalkan, S., & Cuce, G. (2010). Diabetes mellitus-and cooling-induced bladder contraction: an in vitro study. *Journal of Smooth Muscle Research*, *46*(4), 175-183.
107. Kendig, D. M., Ets, H. K., & Moreland, R. S. (2016). Effect of type II diabetes on male rat bladder contractility. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *310*(9), F909-F922.
108. Su, X., Changolkar, A., Chacko, S., & Moreland, R. S. (2004). Diabetes decreases rabbit bladder smooth muscle contraction while increasing levels of myosin light chain phosphorylation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *287*(4), F690-F699.
109. Waring, J. V., & Wendt, I. R. (2000). Effects of streptozotocin-induced diabetes mellitus on intracellular calcium and contraction of longitudinal smooth muscle from rat urinary bladder. *The Journal of urology*, *163*(1), 323-330.
110. Ahmad, F. U. D., Sattar, M. A., Rathore, H. A., Abdullah, M. H., Tan, S., Abdullah, N. A., & Johns, E. J. (2012). Exogenous hydrogen sulfide (H2S) reduces blood pressure and prevents the progression of diabetic nephropathy in spontaneously hypertensive rats. *Renal failure*, *34*(2), 203-210.
111. Fitzgerald, R., DeSantiago, B., Lee, D. Y., Yang, G., Kim, J. Y., Foster, D. B., ... & An, S. S. (2014). H2S relaxes isolated human airway smooth muscle cells via the sarcolemmal KATP channel. *Biochemical and biophysical research communications*, *446*(1), 393-398.
112. Powell, C. R., & Gehring, V. (2023). Mechanisms of action for diabetic bladder dysfunction—state of the art. *Current Bladder Dysfunction Reports*, *18*(2), 173-182.
113. Hosoki, R., Matsuki, N., & Kimura, H. (1997). The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochemical and biophysical research communications*, *237*(3), 527-531.
114. Fernandes, V. S., Xin, W., & Petkov, G. V. (2015). Novel mechanism of hydrogen sulfide-induced guinea pig urinary bladder smooth muscle contraction: role of BK channels and cholinergic neurotransmission. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *309*(2), C107-C116.
115. Li, L., Rose, P., & Moore, P. K. (2011). Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annual review of pharmacology and toxicology*, *51*(1), 169-187.
116. Ali, M. Y., Ping, C. Y., Mok, Y. Y., Ling, L., Whiteman, M., Bhatia, M., & Moore, P. K. (2006). Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide?. *British journal of pharmacology*, *149*(6), 625-634.

117. Koroleva, K., Mustafina, A., Yakovlev, A., Hermann, A., Giniatullin, R., & Sitdikova, G. (2017). Receptor mechanisms mediating the pro-nociceptive action of hydrogen sulfide in rat trigeminal neurons and meningeal afferents. *Frontiers in cellular neuroscience*, *11*, 226.
118. Olson, K. R. (2011). The therapeutic potential of hydrogen sulfide: separating hype from hope. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *301*(2), R297-R312.
119. Whitfield, N. L., Kreimier, E. L., Verdial, F. C., Skovgaard, N., & Olson, K. R. (2008). Reappraisal of H2S/sulfide concentration in vertebrate blood and its potential significance in ischemic preconditioning and vascular signaling. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *294*(6), R1930-R1937.
120. Burnstock, G., & Novak, I. (2013). Purinergic signalling and diabetes. *Purinergic Signalling*, *9*(3), 307-324.
121. Zhang, J., Zhang, Y., Yang, X., Wang, J., Xu, Y., Wang, R., ... & Cao, H. (2020). Diabetic bladder dysfunction in T2D KK-Ay mice and its changes in the level of relevant gene expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *131*, 110706.
122. Ruggieri Sr, M. R. (2006). Mechanisms of disease: role of purinergic signaling in the pathophysiology of bladder dysfunction. *Nature clinical practice Urology*, *3*(4), 206-215.
123. Han, J. S., Kim, S. J., Nam, Y., Lee, H. Y., Kim, G. M., Kim, D. M., & Sohn, U. D. (2018). The inhibitory mechanism on acetylcholine-induced contraction of bladder smooth muscle in the streptozotocin-induced diabetic rat. *Biomolecules & Therapeutics*, *27*(1), 101.
124. Ren, L. M., Zhuo, Y. J., Hao, Z. S., He, H. M., Lu, H. G., & Zhao, D. (2013). Berberine improves neurogenic contractile response of bladder detrusor muscle in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, *150*(3), 1128-1136.
125. Liu, G., & Daneshgari, F. (2005). Alterations in neurogenically mediated contractile responses of urinary bladder in rats with diabetes. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *288*(6), F1220-F1226.
126. Mumtaz, F. H., Lau, D. H. W., Siddiqui, E. J., Morgan, R. J., Thompson, C. S., & Mikhailidis, D. P. (2006). Changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in the diabetic rabbit bladder. *in vivo*, *20*(1), 1-4.
127. Brading, A. F., & Williams, J. H. (1990). Contractile responses of smooth muscle strips from rat and guinea-pig urinary bladder to transmural stimulation: effects of atropine and alpha, beta-methylene ATP. *British journal of pharmacology*, *99*(3), 493.
128. Daneshgari, F., Liu, G., & Imrey, P. B. (2006). Time dependent changes in diabetic cystopathy in rats include compensated and decompensated bladder function. *The Journal of urology*, *176*(1), 380-386.
129. Izumi, K., Kamijo, T. C., Oshiro, T., Kimura, R., Ashikari, A., Kurobe, M., ... & Miyazato, M. (2025). Time-dependent bladder activity changes in streptozotocin-induced female diabetic rats. *Physiological Reports*, *13*(4), e70220.

130. Zhang, Y., Zhang, J., Liu, J., Liang, L., Zhou, N., Liang, S., ... & Cao, H. (2025). Imbalance of bladder neurohomeostasis by Myosin 5a aggravates diabetic cystopathy. *Molecular Medicine*, *31*(1), 91.
131. Cao N, Lv R, Gotoh D, Alexandre EC, Yoshimura N, Gu B. Time-dependent progress of lower urinary tract dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats with or without low-dose insulin treatment. Int J Med Sci. 2024;21(6):1144.
132. Elbassuoni, E. A., Aziz, N. M., & Habeeb, W. N. (2020). The role of activation of KATP channels on hydrogen sulfide induced renoprotective effect on diabetic nephropathy. *Journal of Cellular Physiology*, *235*(6), 5223-5228.
133. Li, L., Xiao, T., Li, F., Li, Y., Zeng, O., Liu, M., ... & Yang, J. (2017). Hydrogen sulfide reduced renal tissue fibrosis by regulating autophagy in diabetic rats. *Molecular medicine reports*, *16*(2), 1715-1722.
134. Girard, B. M., Tooke, K., & Vizzard, M. A. (2017). PACAP/receptor system in urinary bladder dysfunction and pelvic pain following urinary bladder inflammation or stress. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *11*, 90.
135. Suadicani, S. O., Urban-Maldonado, M., Tar, M. T., Melman, A., & Spray, D. C. (2009). Effects of ageing and streptozotocin-induced diabetes on connexin43 and P2 purinoceptor expression in the rat corpora cavernosa and urinary bladder. *BJU international*, *103*(12), 1686-1693.
136. Philyppov, I. B., Paduraru, O. N., Gulak, K. L., Skryma, R., Prevarskaya, N., & Shuba, Y. M. (2016). TRPA1-dependent regulation of bladder detrusor smooth muscle contractility in normal and type I diabetic rats. *Journal of Smooth Muscle Research*, *52*, 1-17.
137. Zhao, M., Chen, Z., Liu, L., Ding, N., Wen, J., Liu, J., ... & Zhang, X. (2022). Functional expression of transient receptor potential and Piezo1 channels in cultured interstitial cells of human-bladder lamina propria. *Frontiers in Physiology*, *12*, 762847.
138. Blaha, I., López-Oliva, M. E., Martínez, M. P., Recio, P., Agis-Torres, Á., Martínez, A. C., ... & Hernández, M. (2019). Bladder dysfunction in an obese Zucker rat: the role of TRPA1 channels, oxidative stress, and hydrogen sulfide. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2019*(1), 5641645.
139. Cheng, J. T., Yu, B. C., & Tong, Y. C. (2007). Changes of M3-muscarinic receptor protein and mRNA expressions in the bladder urothelium and muscle layer of streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuroscience letters*, *423*(1), 1-5.
140. Sigala, S., Mirabella, G., Peroni, A., Pezzotti, G., Simeone, C., Spano, P., & Cunico, S. C. (2002). Differential gene expression of cholinergic muscarinic receptor subtypes in male and female normal human urinary bladder. *Urology*, *60*(4), 719-725.
141. Tong, Y. C., & Cheng, J. T. (2002). Alteration of M3 subtype muscarinic receptors in the diabetic rat urinary bladder. *Pharmacology*, *64*(3), 148-151.

8. ÖZET

Sıçanlarda Streptozosin ile Oluşturulmuş Diyabetes Mellitus Modelinde Mesane Dokusunda Kasılma Yanıtlarına Kronik Hidrojen Sülfür Tedavisinin Etkisinin Araştırılması

Diyabetes mellitus (DM), periferik ve otonom sinir sisteminde oluşturduğu nöropatik değişiklikler aracılığıyla alt üriner sistem fonksiyonlarını bozan kronik bir metabolik hastalıktır. Endojen bir gazotransmitter olan hidrojen sülfürün (H_2S), sinir sistemi ve düz kas dokusu üzerinde antiinflamatuvar, antioksidan ve nöroprotektif etkiler gösterdiği bilinmektedir.

Bu deneysel çalışmada, sıçanlarda streptozosin (STZ, 60 mg/kg, i.p.) ile oluşturulan diyabetes mellitus modelinde mesane düz kası kasılma yanıtlarında meydana gelen değişiklikler araştırılmış ve bu yanıtlar üzerine kronik H_2S uygulamasının (NaHS, 5 mg/kg/gün, 8 hafta) etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında hayvanlar rastgele dört gruba ayrılmıştır: Kontrol, NaHS, Diyabet ve Diyabet+NaHS. Sekiz haftalık tedavi sürecin sonunda mesane izole organ banyosu sistemine yerleştirilmiştir. Mesane düz kas kasılma yanıtları; KCl (80 mM), EAU (1, 2, 4, 8, 16, 32 Hz), sabit 16 Hz frekansta Atropin, sabit 16 Hz frekansta α,β-Metilen-ATP, sabit 16 Hz frekansta Atropin+α,β-Metilen-ATP birlikte ve Karbakol uygulanarak değerlendirilmiştir.Ayrıca, moleküler düzeyde RT-PCR yöntemi ile muskarinik M_2 ve M_3 reseptör alt tipleri, nöropeptid PACAP38, mekanosensitif Piezo1 ve TRPA1 iyon kanalları ile hücreler arası bağlantıyı sağlayan Cx43 (Konneksin 43) proteinine ait gen ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.

Elde edilen veriler, diyabet grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarının anlamlı şekilde arttığını, bu değişiklik NaHS tedavisiyle bir miktar daha arttığını göstermiştir. Diyabet grubunda Atropin uygulaması sonrasında EAU ile elde edilen kasılma yanıtlarında anlamlı bir azalma izlenmiş; bu durum kasılma yanıtlarının diyabet modellerinde büyük oranda kolinerjik yolların etkilendiğine işaret etmektedir. Karbakol yanıtlarında diyabet+NaHS grubunda anlamlı artış gözlenmiş, bu durum reseptör duyarlılığınında artış olmasını düşündürmektedir. α,β-Metilen-ATP ile elde edilen pürinerjik yanıtlar diyabet grubunda minimal artmış; ancak bu artış NaHS uygulamasıyla anlamlı şekilde düzelmemiştir. Moleküler düzeyde, diyabet grubunda Piezo1ve TRPA1 genlerinin mRNA düzeylerinde anlamlı artış saptanmış; NaHS tedavisinin bu artışları baskıladığı izlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma, streptozosin ile oluşturulan diyabet modelinde mesane düz kas fonksiyonlarının bozulduğunu ve bu bozulmanın presinaptik sinirsel ileti ve reseptör düzeyinde duyarlılık artışı gibi mekanizmalarla ilişkili olduğunu göstermektedir. Hidrojen sülfür tedavisinin, söz konusu bozukluklar üzerinde düz kasta kontraktilitede artış yapabileceği; bu etkinin kolinerjik sistem modülasyonu ve yapısal proteinlerin ekspresyonuna yönelik düzenlemeler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mesane, hidrojen sülfür, diyabetes mellitus

9. SUMMARY

Investigation of the Effects of Chronic Hydrogen Sulfide Treatment on Bladder Contraction Responses in a Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus Model in Rats

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder that impairs lower urinary tract function through neuropathic changes in both the peripheral and autonomic nervous systems. Hydrogen sulfide (H_2S), an endogenously produced gasotransmitter, has been shown to exert anti-inflammatory, antioxidant, and neuroprotective effects on the nervous system and smooth muscle tissue.

In this experimental study, changes in bladder smooth muscle contraction responses were investigated in a diabetes mellitus model induced in rats using streptozotocin (STZ, 60 mg/kg, i.p.), and the effects of chronic H_2S treatment (NaHS, 5 mg/kg/day, for 8 weeks) on these responses were evaluated. Animals were randomly divided into four groups: Control, NaHS, Diabetes, and Diabetes+NaHS. At the end of the 8-week treatment period, the bladders were placed in an isolated organ bath system. Bladder smooth muscle contraction responses were evaluated using KCl (80 mM), electrical field stimulation (EFS; 1, 2, 4, 8, 16, 32 Hz), Carbachol, and applications at a constant 16 Hz frequency of Atropine, α,β-Methylene-ATP, the combination of Atropine+α,β-Methylene-ATP.

At the molecular level, gene expression levels of muscarinic M_2 and M_3 receptor subtypes, the neuropeptide PACAP38, mechanosensitive ion channels Piezo1 and

TRPA1, and the gap junction protein Cx43 (Connexin 43) were determined by RT-PCR.

The data revealed a significant increase in EFS-induced contractions in the diabetic group, with a further increase observed following NaHS treatment. Atropine application in the diabetic group significantly reduced EFS-induced contractions, suggesting a prominent involvement of cholinergic pathways. Carbachol responses were significantly increased in the Diabetes+NaHS group, indicating enhanced receptor sensitivity. Purinergic responses induced by α,β-Methylene-ATP were only mildly increased in the diabetic group and were not significantly altered by NaHS treatment. On the molecular level, mRNA expression of Piezo1 and TRPA1 was significantly upregulated in the diabetic group, and this upregulation was suppressed by NaHS treatment.

In conclusion, this study demonstrates that bladder smooth muscle function is impaired in the STZ-induced diabetes model, associated with increased presynaptic neural transmission and receptor sensitivity. Hydrogen sulfide treatment may enhance detrusor contractility through modulation of cholinergic pathways and regulation of structural protein expression.

Keywords: Bladder, hydrogen sulfide, diabetes mellitus

10. EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 21.06.2023-E.684400

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

Sayı : E-66332047-604.01.02-684400 21.06.2023
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Sevil ÖZGER İLHAN
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Sevil ÖZGER İLHAN, Canan ULUOĞLU, Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Atiye Seda YAR SAĞLAM, Aynur ARSLAN SABANCI, Celil İlker AŞKIN ve Melis TÜRKER'den oluşan, G.Ü.ET-23.059 kod numaralı ve ***"Sıçanlarda Streptozosin ile Oluşturulmuş Diyabetes Mellitus Modelinde, Mesane Dokusunda Kasılma Yanıtlarına Kronik Hidrojen Sülfür Tedavisinin Etkisi"*** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-23.059 and entitled ***"The Effect of Chronic Hydrogen Sulfide Treatment on Bladder Contractile Responses in Streptozocin-Induced Diabetes Mellitus Model in Rats"*** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Commitee regulations.

With my best regards.

NOT : Daha önce onay alan G.Ü.ET-22.107 kod numaralı çalışmada kullanılan 32 adet Sıçan Wistar Rat'ın mesane dokuları kullanılacaktır.

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu :BS4FNNVRK2 Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys
Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA Bilgi için :Nursel Güner
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76 Genel Evrak Sorumlusu
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/ Telefon No:202 20 57
Kep Adresi: gaziuniversitesi@hs01.kep.tr
Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrak Tarih ve Sayısı: 21.06.2023 E.684400

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 16/06/2023	TOPLANTI SAYISI : 06
ADI-SOYADI	**İMZA**
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)	
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.İlker ŞEN	
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.İpek SÜNTAR	
Prof.Dr.Serkan YAVUZ	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER	
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN	
Doç.Dr.Elvan ANADOL	
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ	
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN	
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ	
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN	
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

11. ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı : Aynur

Soyadı : ARSLAN SABANCI

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitimi:

1. **Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,** Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Farmakoloji Uzmanlık Eğitimi (2020-2025)
2. **Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi** Acil Servis (2015-2018)
3. **Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi** (2004-2015)

Yabancı Dil:

- **İngilizce**

Sertifikalar:

- 19th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 2023 of the British Pharmacological Society, Glasgow, İskoçya (Temmuz 2023), Katılım Sertifikası
- AnkaTheraHub / 5. Bilimsel Toplantı- Klinik Araştırmaları Geliştirme Etkinliği, Ankara, Katılım Sertifikası (Şubat 2025)
- 28. Ulusal ve 3. Uluslararası Farmakoloji Kongresi, Antalya, Katılım Sertifikası (Kasım 2025)
- Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (Mayıs 2022)

Uluslararası Bilimsel Toplantıda Sunulan Posterler:

- Sıçanlarda streptozosin ile oluşturulmuş diyabetes mellitus modelinde mesane dokusunda kasılma yanıtlarına kronik hidrojen sülfür tedavisinin

etkisi, 28. Ulusal ve 3. Uluslararası Farmakoloji Kongresi, Antalya, Kasım 2025, Poster sunumu

Yayımlanan Kitap Bölümleri:

- Rational Use Of Medicines In Disasters, In Public Health in Disasters, Turkiye Klinikleri, Web of Science BKCI, Dr. Aynur Arslan Sabancı, Prof. Dr. Sevil Özger İlhan, 2025

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

- Arslan Sabancı A, Güvel MC, Derinöz Güleryüz O, Uluoğlu C, Özger İlhan S. Comparative Analysis of Pediatric Acute Poisoning Cases: Before and During the COVID-19 Pandemic. Disaster Medicine and Public Health Preparedness. 2025;19:e235. doi:10.1017/dmp.2025.10157

Projeler:

- Sıçanlarda streptozosin ile oluşturulmuş diyabetes mellitus modelinde mesane dokusunda kasılma yanıtlarına kronik hidrojen sülfür tedavisinin etkisi, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Destekli Proje TTU-2023-8916 (Tez Projesi)
- Hidrojen sülfürün sıçan izole kolon düz kasında elektriksel alan uyarısı (EAU) aracılı yanıtlar üzerindeki etkisinin ve etki mekanizmasının araştırılması, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Destekli Proje (Tez Projesi, yardımcı araştırmacı)

Kongre ve Sempozyum Katılım Faaliyetleri:

- 02 Temmuz 2023- 07 Temmuz 2023, 19th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 2023 of the British Pharmacological Society, Glasgow, İskoçya

- 28 Şubat 2025, AnkaTheraHub / 5. Bilimsel Toplantı- Klinik Araştırmaları Geliştirme Etkinliği, Ankara
- 20- 23 Kasım 2025, 28. Ulusal ve 3. Uluslararası Farmakoloji Kongresi, Antalya