



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2018; 32 (2): 93 - 98
http://www.fusabil.org

Seval YILMAZ^a
Emre KAYA^b

Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0001-5472-3560

^b ORCID: 0000-0002-7445-3091

Ratlarda Siklofosamid ile Oluşturulmuş Hemorajik Sistitte Propolis ve Enginarın Koruyucu Etkileri^{*}

Çalışmada, siklofosamid (CP) ile oluşturulmuş mesane toksisitesinde propolis ve enginarın etkileri incelenmiştir. Ratlar 6 gruba ayrılmıştır. Gruplar; kontrol grubu, propolis uygulanan grup (200 mg/kg/gün gavaj, 7 gün), enginar uygulanan grup (1 g/kg/gün gavaj, 12 gün), CP uygulanan grup (150 mg/kg i.p. tek doz), CP+propolis uygulanan grup ve CP+enginar uygulanan grup şeklinde oluşturulmuştur. Propolis uygulamasına CP uygulamasından 2 gün önce başlanmış ve 7 gün süre ile devam edilmiştir. Enginar uygulamasına CP uygulamasından 7 gün önce başlanmış ve 12 gün süre ile devam edilmiştir. Mesane dokusunda malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri, katalaz (KAT), glutatyon-S-transferaz (GST) aktivite tayini yapılmıştır. Kontrol grubuna göre CP uygulanan grupta MDA (P= 0.013) ve GSH (P<0.001) düzeylerinde artış, KAT ve GST aktivitelerinde düşüş saptanmıştır (P<0.001). CP+propolis ve CP+enginar uygulanan gruplarda MDA, GSH düzeyleri ve KAT, GST aktivitelerinin normal düzeylere ulaştığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, CP'e bağlı oluşan hemorajik sistitte toksisitesinin patogenezinde oksidatif stresin rol oynayabileceği, propolis ve enginarın CP tedavisinden kaynaklanan toksisiteyi iyileştirmede etkili bir madde olabileceği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Siklofosamid, mesane, malondialdehid, propolis, enginar

Protective Effects of Propolis and Artichoke in Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis in Rats

In the study, the effects of propolis and artichoke on bladder toxicity induced by cyclophosphamide (CP) were investigated. The rats were divided into 6 groups. The groups were generated as control group, propolis-treated group (200 mg/kg/day gavage, 7 days), artichoke-treated group (1 g/kg/day gavage, 12 days), CP-treated group (150 mg/kg i.p. single dose), CP+propolis treated group and CP+artichoke-treated group. Propolis treatment was started for 2 days before the CP treatment and continued for 7 days. Artichoke treatment was started for 7 days before CP treatment and continued for 12 days. Malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) levels, catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) activities were determined in the bladder tissue. In the CP treated group, MDA (P= 0.013) and GSH (P<0.001) levels were increased while CAT and GST activities were decreased when compared with the control group (P<0.001). In the CP+propolis and CP+artichoke treated groups were showed that MDA, GSH levels and CAT, GST activities reached normal levels. In conclusion, oxidative stress may play a role in the pathogenesis of CP-induced hemorrhagic cystitis toxicity, and propolis and artichoke can be considered as effective agents for improving the toxicity caused by CP treatment.

Key Words: Cyclophosphamide, bladder, malondialdehyde, propolis, artichoke

Giriş

Siklofosamid (CP) ((2-[bis(2-chloroethyl) amino] tetrahydro-2H-1,3,2 oxazaphosphorine 2-oxide)); nitrojen mustard grubundan alkilleyici, antineoplastik, kemoterapötik bir ajandır. CP, solid tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmasının yanında lenfoma, miyeloma, kronik lenfositik lösemi ve Waldenstrom makroglobulinemisi gibi β-hücre malignitelerinde de kullanılmaktadır. Ayrıca CP trombositopenik purpura, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis, nefritik sendrom ve Wegener granülomatosisi gibi nonneoplastik hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. CP'in karsinojenik ve teratojenik etkisine ek olarak kalp, mesane ve hematopoietik sistem üzerinde de toksik etkisi bilinmektedir. Yüksek doz CP kullanımı mesanede akut inflamasyona, böbrek hasarına ve karaciğer hasarına neden olmaktadır (1, 2).

CP'in ürotoksik etkileri 4-hidroksi metabolitleri ve özellikle böbrekten salınan akrolein aracılığı ile meydana gelmektedir. CP karaciğerde hidroksillenerek bir metaboliti olan akroleine dönüşmektedir ve akroleinin böbrekten atılmasıyla yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Akroleinin ürotelyumla direk temasıyla ürotelyal hasar başlamaktadır. CP'in ürolojik yan etkileri irritatif işeme yakınmalarından, hayatı tehdit eden sistite kadar değişkenlik göstermektedir. Hemorajik sistit CP'in en önemli potansiyel toksisitesi ve doz sınırlayan yan etkidir (3).

^{*} 7. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, Samsun/Türkiye.

Geliş Tarihi : 11.12.2017
Kabul Tarihi : 03.04.2018

Yazışma Adresi Correspondence

Seval YILMAZ
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

sevalyilmaz@firat.edu.tr

CP uygulamasının, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türleri (ROT)'nin üretilmesiyle oksidatif strese neden olduğunu bildirmiştir (4). CP, oksidatif stresin indüksiyonundan sorumlu olan fosforamid mustard ve akrolein olmak üzere iki metabolit üretmek için sitokrom P-450 karışık fonksiyonel oksidaz sistemi ile metabolik bir aktivasyona girmektedir (5). Akrolein üroepitelyumu geçerek ve bazı ROT'ni uyarak etkisini gösterir. ROT'nin aşırı üretilmesi oksidatif strese neden olmaktadır (6). Aşırı serbest radikal üretimi nedeniyle, CP uygulamasının böbrekte malondialdehid (MDA) düzeyleri arttırdığı, redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz aktivitelerini azalttığı bildirilmiştir (7).

Propolis, bal arısı (*Apis mellifera L.*) tarafından değişik bitki kaynaklarından toplanan, kovani dış etkenlerden, mikroorganizmalardan ve diğer zararlılardan koruyan yapışkan, reçinemi bir maddedir. Propolis, doğal bir üründür, halk ilaçlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Flavonoidler ve fenolik asit ve bunların esterleri gibi 150'den fazla polifenol bileşiği içermektedir (8). Çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalar (8, 9), propolisin serbest radikal temizleme, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal, antiviral, antiinflamatuvar, lokal anestetik ve immünomodülatör etkiler gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Propolisin bu özellikleri zengin, flavonoid, fenolik asit ve terpenoid içeriklerine dayanmaktadır (10). Takino ve Mochida (11), propolisin biyolojik aktivitesinin esas olarak flavonoid içeriğinin varlığına bağlı olduğunu bildirmiştir.

Enginar Akdeniz'in en ünlü sebzelerinden biri olarak kabul edilir. Enginar mineraller, polifenolik bileşik, inülin ve lif bakımından zengin olup lipid içeriği düşüktür. Enginar hidrokisinnamatlar ve flavonoid glikositlerin içeriğinden dolayı antioksidan özelliklere sahiptir. Enginar, içeriğindeki kafeolkinik asit deriveleri (sinarin ve klorogenik asit) ve flavonoidler (luteolin, apigenin) sayesinde karaciğer koruyucu, kolesterol düşürücü, antimikrobiyal özellikleri bildirilmiştir (12). Bunun yanı sıra irritabl bağırsak sendromu ve dispepsi gibi şikâyetler için de halk tıbbında kullanılmaktadır. Enginarın hepatoprotektif ve antikanserojenik bitki olarak rolünü değerlendirmek için çeşitli çalışmalar devam etmektedir. Acı lezzetinden ve etken maddelerin suda çözünürlüğünden dolayı tıbbi olarak, kurutulmuş yaprakların sulu ekstraktları ve çayları kullanılmaktadır (13).

Bu çalışmada, propolis ve enginar uygulamalarının ratlarda CP'e bağlı oksidatif stres ve mesane toksisitesine karşı herhangi bir koruyucu etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada 3 aylık toplam 42 adet Wistar-Albino ırkı erkek ratlar kullanılmıştır. Araştırmaya başlamadan önce Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan araştırma için etik kurul onayı (2014/14) alınmış ve deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden temin edilmiştir. Deneysel

uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık ve 24 ± 3 °C) uygun olarak yürütülmüştür. Deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari rat yemi (pellet yem) ve musluk suyu *ad libitum* sağlanmıştır.

Hayvanlar 6 gruba ayrılmış olup kontrol grubuna tedavi verilmemiştir. Diğer gruplara sırasıyla; propolis, enginar, CP, CP+propolis, CP+enginar uygulanmıştır. CP serum fizyolojik (%0.9'luk NaCl)'te, propolis %70'lik etanolde çözülmüştür. CP 150 mg/kg tek doz i.p. olarak, propolis 200 mg/kg/gün dozunda gavaj yoluyla, enginar ise 1 g/kg/gün dozunda gavaj yoluyla uygulanmıştır (14, 15). Propolis uygulamasına oral olarak CP uygulamasından 2 gün önce başlanmış ve 7 gün süre ile devam edilmiştir. Enginar uygulamasına oral olarak CP tedavisinden 7 gün önce başlanmış ve 12 gün süre ile devam edilmiştir.

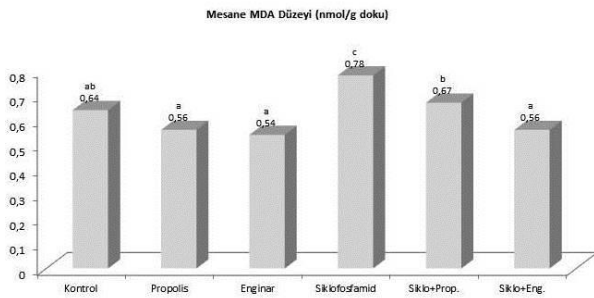
Uygulamaların sonunda ratlar sakrifiye edilerek mesane doku örnekleri alınmıştır. Analizler öncesinde mesane dokuları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra distile su ile 1:10 oranda sulandırılmış ve Potter-elvehjem homojenizatörde homojenize edilmiştir. Homojenat, soğutmalı santrifüjde (NÜVE NF 800R), MDA, GSH, KAT ve GST analizleri için 3.500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiş ve süpernatantlar alınmıştır.

MDA tayini Placer ve ark. (16) tarafından modifiye edilen yöntemle göre yapılmıştır. Bu yöntem lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır. GSH seviyesi, Ellman ve ark. (17) tarafından bildirilen metotla yapılmıştır. Bu yöntem, 5,5'dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) eklendiğinde sülfidril (-SH) gruplarının oldukça stabil sarı renk oluşturması temeline dayanan, spektrofotometrik bir yöntemdir. KAT aktivitesini ölçmek için Aebi (18) metodu kullanılmıştır. KAT, hidrojen peroksit (H_2O_2)'in yıkımını katalize eder. H_2O_2 'in KAT tarafından yıkım hızı, H_2O_2 'in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. GST aktivitesi, GSH ve 1-2 dikloro,4 nitrobenzenin (CDNB) konjugasyonu sonucu oluşan ürünün (1-(S-glutatyonil)-2,4 dinitrobenzen) 340 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanan Habig ve ark. (19)'nin metoduna göre gerçekleştirilmiştir.

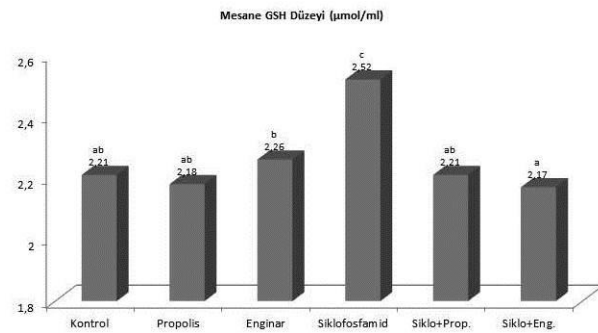
Yapılan tüm istatistiksel analizlerde farklı gruplar arasında istatistiksel anlamlılık SPSS 22 yazılım paketi kullanılarak yapılmıştır. Ölçülen tüm parametrelere ait ham değerlerin normal dağılım gösterip göstermediklerini belirlemek için Shapiro-Wilk normallik testi uygulanmış ve testin sonucunda tüm parametrelerdeki değerlerin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Bu testin sonucuna istinaden gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ikili karşılaştırmalar için de *post hoc* Tukey testi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler ortalama ve standart hata olarak ifade edilmiştir.

Bulgular

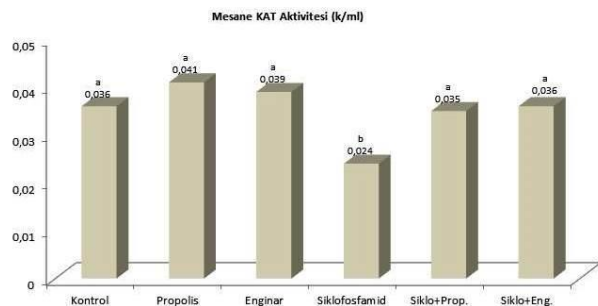
Şekil 1 ve 2 mesane dokusunun kontrol ve deney gruplarında MDA ve GSH düzeylerini, Şekil 3 ve 4 KAT ve GST gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini göstermektedir. Mesane dokusunda CP uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA ($P=0.013$), GSH ($P<0.001$) düzeylerinde artış, KAT, GST aktivitelerinde düşüş saptanmıştır ($P<0.001$). Tek başına propolis ve enginar uygulanan gruplar CP+propolis, CP+enginar uygulanan gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. CP+propolis ve CP+enginar uygulanan gruplarda MDA, GSH düzeyleri ile KAT, GST aktiviteleri kontrol grubu düzeylerine ulaştığı gözlenmiştir ($P<0.05$).



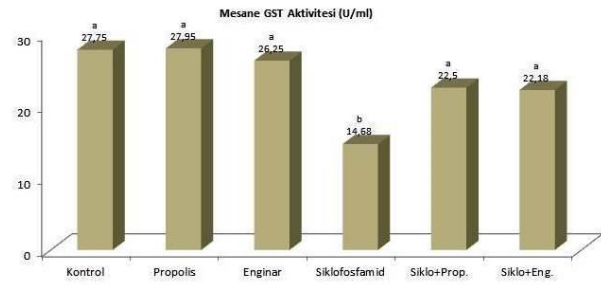
Şekil 1. CP uygulanan ratlarda propolis ve enginarın mesane MDA düzeyleri üzerine etkileri



Şekil 2. CP uygulanan ratlarda propolis ve enginarın mesane GSH düzeyleri üzerine etkileri



Şekil 3. CP uygulanan ratlarda propolis ve enginarın mesane KAT aktiviteleri üzerine etkileri



Şekil 4. CP uygulanan ratlarda propolis ve enginarın mesane GST aktiviteleri üzerine etkileri

Tartışma

Hemorajik sistit, CP tedavisinin ciddi bir komplikasyonudur. CP'in laboratuvar hayvanlarında ve ilaç tedavisinin bir parçası olarak alan hastalarda ciddi hemorajik sistiti indüklediği gösterilmiştir (20). Özellikle yüksek doz CP'e bağlı olarak hemorajik sistit ortaya çıkmaktadır. CP'in doza bağlı zararlı yan etkilerini en aza indirmek için öncelikle CP ile indüklenen hemorajik sistitin mekanizmasının aydınlatılması önemlidir. CP'in hemorajik sistit yapıcı etkisi renal akrolein salınımına bağlanmıştır (21). CP karaciğerdeki mikrozomal sitokrom P-450 sistemi tarafından hidroksilasyonla aktif formları olan 4-hidroksisiklofosamid ve aldofosfamide dönüştürülür. Hem normal hem de tümör dokularda sonradan enzimatik olmayan bir yolla sitotoksik moleküller fosfamid mustard ve akroleine dönüştürülürler. Fosforamid mustard aktif antitümör ajan iken akrolein boşaltma sırasında mesane için toksiktir ve hemorajik sistit yaratma riski taşır (22). Akrolein süperoksit radikali (O_2^-) oluşumuna sebep olmaktadır. Ortamdaki artmış O_2^- ya H_2O_2 üzerinden hidroksil radikali (OH^\cdot) ya da direk peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturarak, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonuna sebep olabilecek oksidatif strese yol açmaktadır (23). Beckman ve ark. (24) O_2^- ve nitrik oksit (NO^\cdot) radikalinin $ONOO^-$ oluşturmak üzere birleşebildiğini ve peroksinitroz asit ($ONOOH$)'in, biyolojik olarak aktif OH^\cdot 'nin kaynağı olduğunu göstermişlerdir. Akrolein üriner sisteme geçtiğinde mukozal hiperemisi, ülserasyon, hemoraji ve nekroz oluşturabilir. Mesane epitelini temas süresi ile de ilişkili olarak en fazla risk altında olan doku olmakla birlikte üriner sistem epitelinin tümünün hasar görme olasılığı vardır. CP tedavisinden sonra %68'lere varan hemorajik sistit oluşma oranı ve kontrol edilemeyen kanama nedeniyle %4 oranında mortalite rapor edilmiştir (25).

Oksidatif stres serbest oksijen radikali (SOR) miktarındaki artışla seyreden bir durumdur. Bu artış membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olur. SOR'leri ile lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan son ürün MDA'dır. Dolayısıyla bir dokuda MDA düzeyinin artması SOR'lerinin arttığını gösterir (26). CP'e bağlı ROT'nin fazla üretilmesi, membran lipidlerinin peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA hasarını içeren çeşitli mekanizmalar yoluyla oluşan önemli oksidatif stres, hücre hasarı ve nekroza yol açar (27). Birçok çalışma (27, 28), CP maruziyetinin hücre içi ROT

üretimini arttırdığını ve biyokimyasal ve fizyolojik bozuklukların oksidatif stres kaynaklı olabileceğini göstermektedir. CP'in oksidan öncülü özelliği olduğu, oksidatif strese neden olarak antioksidan enzimlerin işlevlerini azalttığı ve hayati organlarda lipid peroksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir (2, 7). Farklı araştırmalar, ROT'nin, CP kaynaklı hemorajik sistitte önemli bir rol oynadığını, CP uygulamasından sonra mesanede oksidatif stres sonucu MDA düzeyinin arttığını göstermiştir (15, 29-31). Sadir ve ark. (31) mesane dokusunda MDA düzeylerinin CP enjeksiyonundan sonra belirgin olarak arttığını ve antioksidanların bu artışı normal seviyeye ulaştırdığını bildirmişlerdir. Abd-Allah ve ark. (29) CP uygulamasının sıçan mesane dokusunda lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermişlerdir. Çalışmada CP, mesanede lipid peroksidasyonunda ve endojen antioksidan bileşik olan GSH'da bir artışa neden olmuştur. GSH'un okside glutatyon (GSSG)'a dönüşümünü katalizleyen, antioksidan enzim olan GSH-Px aktivitesindeki muhtemel azalma GSH'un okside GSSG'a dönüşümünü engellemiş olabilir. GSH, -SH grubunun ROT ile doğrudan etkileşimi ile nonenzimatik bir antioksidan görevi yapabilir veya bir kofaktör veya koenzim olarak ROT için enzimatik detoksifikasyon reaksiyonunda yer alabilir.

CP'nin yan etkilerinin ortadan kaldırılması, ilacın daha iyi tolere edilmesine ve CP tedavisine ihtiyaç duyan hastalar için daha etkili ve rahat bir tedaviye neden olabilir. Hücresele antioksidan sistemi ROT'nin neden olduğu doku hasarını en aza indirmeye yardımcı olur. Genellikle, antikanser ilaçlarının toksik yan etkilerini gidermek için, bazı antioksidan ajanlar faydalı olabilirler. α -tokoferol, β -karoten, taurin ve melatonin gibi antioksidan ve oksidatif stres inhibitörlerinin CP ile indüklenen oksidatif strese ve hemorajik sistite karşı koruma sağladıklarını gösterilmiştir (29-31).

In vivo ve in vitro çalışmalarda, propolisin serbest radikal temizlemede etkili antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri olduğunu göstermiştir (32). Santos ve Cruz (33) propolisin antioksidan özelliklerinin bazı antikanser ilaçların neden olduğu yan etkileri terapötik etkilere herhangi bir zarar vermeden azaltabileceğini göstermişlerdir Dahası, propolisin kemoterapi ile umut verici bir adjuvan olduğu gösterilmiştir (34). Hussein (35) propolisin CP ile uyarılan sistise karşı etkisini araştırdıkları çalışmada sıçanlarda histolojik ve immünohistokimyasal teknikler kullanılarak CP'nin hemorajik sistiti indükleyen dozda (75 mg/kg i.p.) belirgin tıkanıklık, ödemin yanı sıra üroepitelyada belirgin deskuamatif hasar belirlemişlerdir. CP ile tedavi edilen sıçanlara propolis uygulaması bu histopatolojik ve immünohistokimyasal değişiklikleri önemli ölçüde önlemiştir.

Propolis, 5-fluorourasil gibi kemoterapi ilaçlarıyla sinerji oluşturan biyolojik etkilere sahiptir (11). Akyol ve ark. (36) propolisten ekstre edilen kafeik asit fenil ester (KAFE)'in antiinflamatuvar, antiproliferatif, antioksidan, sitostatik, antiviral, antibakteriyel, antifungal ve antineoplastik özelliklere sahip olduğunu belirtmiştir. Uysal ve ark. (37) sıçanlarda CP ile indüklenen

hemorajik sistit üzerine KAFE'nin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Ratlarda hemorajik sistit indüksiyonu olarak 100 mg/kg dozunda CP'in ürotoksik dozunu kullanmışlardır. CP'in mesanede ciddi mikroskopik mukoza hasarına neden olduğunu, KAFE'in histolojik hasar üzerinde minimal koruyucu etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Hemorajik sistite neden olan CP enjeksiyonu oksidatif stres gösteren MDA düzeylerini artırırken, KAFE mesanedeki MDA düzeylerini düzelttiğini bildirmişlerdir. KAFE ile ön tedavi CP grubuna kıyasla KAT, SOD ve KAT aktiviteleri ve nitrik oksit (NO) düzeyinde anlamlı azalmaya neden olmuştur.

Bugüne kadar CP'nin indüklediği hemorajik sistiti engellemek amacıyla pek çok antioksidan denenmiş olup (31, 38), ratlarda CP'nin indüklediği hemorajik sistit modellerinde enginar tedavisi verilen çalışma bulunmamaktadır. Enginar yaprak ekstraktının onkojenik önemi olan sinyal yolları üzerindeki etkisi nedeniyle antitümöral aktivitesi deneysel hastalarla gösterilmiştir (39). Çalışmada oluşan mesane hasarı CP metabolitleri tarafından hücre membran hasarına bağlı olarak oluşmaktadır. CP ile birlikte uyguladığı propolis ve enginarın MDA düzeyini azaltması, antioksidan enzim aktivitelerini artırması mesane dokusunun oksidatif hasara karşı korunduğu anlamına gelmektedir. Çeşitli in vitro çalışmalar, enginarın antioksidan etkisinin sinarin, klorojenik asit ve flavonoidler gibi bileşenlerin metalik iyonu şelatlama ve radikal süpürme etkilerine bağlıdır (8). Enginarın antioksidan etkisi, inflamatuvar yolların gen ifadesine müdahale ve oksidatif stresi indirgemesi ile sonuçlanan antioksidan enzim sentezinin indüksiyonu ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle CP'in H_2O_2 toksisitesine karşı koruyucu etkisi muhtemelen enginarın antioksidatif rolü ile ilgilidir. Numan ve ark. (40) yaptıkları çalışmada, enginar ekstraktının dişi sıçanlarda 5-fluorouracil ile uyarılan kardiyak toksisiteye karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu ileri sürülmüştür. Kültürlenen sıçan hepatositlerini hidroperoksit kaynaklı oksidatif strese karşı koruduğu da bildirilmiştir (41). Enginar ayrıca, kültürlenmiş endotel hücrelerinde ve monositlerde düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe etmiş ve hücre içi ROT'nin üretimini azaltmıştır (42).

CP ile birlikte propolis ve enginar alan gruplarda MDA düzeyinde sadece CP grubuna göre belirgin düşüş saptanmıştır. Bu bulgular neticesinde ratlarda CP ile indüklenen hemorajik sistitte propolis ve enginarın dokudaki oksidatif hasarı önlemek amacıyla lipid peroksidasyonu azalttığı ve böylece ortamda aşırı miktarda bulunan O_2^- oluşumunu engelleyerek oksidatif stresi engellemeye çalıştığı düşünülebilir. Bilindiği üzere tek bir elektronun transfer yoluyla oksijene verilip redüklenmesi O_2^- oluşturmaktadır. Oksijenin 2 elektronla redüklenmesi ise H_2O_2 oluşturur. KAT enzimi H_2O_2 'yi H_2O 'ya dönüştürerek temizleyen antioksidan enzim sistemleridir. Çalışmada CP verilerek hemorajik sistit oluşturulan grupta KAT aktivitesi düşmüştür. KAT aktivitesindeki düşüş H_2O_2 'den OH^- oluşumuna sebep olacaktır. Fazla miktarda oluşan OH^- de oksidatif strese sebep olur. Mesane dokusundaki KAT ve GST aktivitesindeki düşüş, oksidatif stres artışına adaptif bir

cevap olabilir ve antioksidan fonksiyonlara müdahale edilmesine bağlanabilir. Propolis ve enginar tedavisi verilen grupta ise KAT ve GST enzim aktivitelerinde belirgin olarak artış saptanmıştır. Propolis ve enginarın güçlü bir antioksidan olduğu ve antioksidan aktivitenin azalması ve doku hasarı gibi oksidatif stresin neden olduğu değişiklikleri önlediği gösterilmiştir.

Sonuç olarak, verilerimiz doğrultusunda, kemoterapötik bir ilaç olan CP uygulanan ratların

mesanelerinde oksidatif strese neden olduğunu, propolis ve enginarın mesane dokusundaki hasarı SOR'lerini elimine etme yoluyla engellemeye çalıştığını söyleyebiliriz. Çalışmanın sonuçları, CP ile tetiklenen mesane hasarında propolis ve enginar için antioksidan rolünü göstermektedir. Bu nedenle de propolis ve enginar antikanser ilaçların yan etkilerinin azaltılmasında etkili bir aday olabilir ve enginarın klinik olarak kullanımı önerilebilir.

Kaynaklar

- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Antidepressant drugs. In: Humphrey P, Rang Maureen M, Dale James M, Ritter Rod J, Henderson FG. (Editors). Rang and Dale's Pharmacology. 7th Edition. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone, 2012: 564-583.
- Sakthivel KM, Guruvayoorappan C. Acacia ferruginea inhibits cyclophosphamide-induced immunosuppression and urotoxicity by modulating cytokines in mice. J Immunotoxicol 2015; 12: 154-163.
- Jeelani R, Khan SN, Shaeib F, et al. Cyclophosphamide and acrolein induced oxidative stress leading to deterioration of metaphase II mouse oocyte quality. Free Radic Biol Med 2017; 110: 11-18.
- McDermott EM, Powell RJ. Incidence of ovarian failure in systemic lupus erythematosus after treatment with pulse cyclophosphamide. Ann Rheum Dis 1996; 55: 224-229.
- Ludeman SM. The chemistry of the metabolites of cyclophosphamide. Curr Pharm Des 1999; 5: 627-644.
- Senthilkumar S, Devaki T, Manohar BM, Babu MS. Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity. Clin Chim Acta 2006; 364: 335-342.
- Gunes S, Ayhanci A, Sahinturk V, Altay DU, Uyar R. Carvacrol attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress in rat kidney. Can J Physiol Pharmacol 2017; 95: 844-849.
- Toreti VC, Sato HH, Pastore G, et al. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. Evid Based Complement Alternat Med 2013: 1-13.
- Bankova VS, de Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie 2000; 31: 3-15.
- Yılmaz S, Tatlı Seven P, Kaya E. Effects of propolis, royal jelly, bee pollen and ronozime supplementation in diets of japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) on yolk lipid peroxidation. Int J Vet Health Sci Res 2017; 5: 183-189.
- Takino Y, Mochida S. Propolis its chemical constituents and biological activities. Honeybee Sci 1982; 3: 145-152.
- Holtmann G, Adam B, Haag S, et al. Efficacy of artichoke leaf extract in the treatment of patients with functional dyspepsia: A six-week placebo-controlled, double-blind, multicentre trial. Aliment Pharmacol Ther 2003; 18: 1099-1105.
- Mehmetcik G, Ozdemirler G, Koc N, et al. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress. Exp Toxicol Pathol 2008; 60: 475-480.
- Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. Food Chem 2002; 78: 213-217.
- Abadie C, Chabot S, Augé C, et al. Effect of Brimapitide on acute and chronic cystitis model induced by cyclophosphamide in conscious rats. Eur Urol Sup 2017; 16: 1555.
- Placer ZA, Cushman L, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation in biological fluids. Anal Biochem 1966; 16: 359-364.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol 1961; 7: 88-95.
- Aebi H. Catalase. In vitro. Methods in Enzymol 1984; 105: 121-126.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J Biol Chem 1974; 249: 130-139.
- West NJ. Prevention and treatment of hemorrhagic cystitis. Pharmacotherapy: J Hum Pharmacol Drug Therapy 1997; 17: 696-706.
- Cox PJ. Cyclophosphamide cystitis- identification of acrolein as the causative agent. Biochem Pharmacol 1979; 28: 2045-2049.
- Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Baskı, Türkiye: Pelikan Yayınları, 2009.
- Malkoç E, Topal T. Ratlarda siklofosfamitle oluşturulmuş hemorajik sistit modeli. In: Yücel O, Başal Ö. (Editörler). Deneysel Hayvanı Rat. 1. Baskı, Derman Tıbbi Yayıncılık, Ankara; Bala 2016: 362-364.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 1620-1624.
- Gray KJ, Engelmann UH, Johnson EH, Fishman IJ. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. J Urol 1986; 136: 497-500.
- Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkiler. Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
- Premila A, Indirani K, Preethi K. Alterations in antioxidant enzyme activities and increased oxidative stress in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in the rat. J Cancer Therapy 2008; 6: 563-570.
- Tripathi DN, Jena GB. Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: A study in mice. Chem Biol Interact 2009; 180: 398-406.

29. Abd-Allah AR, Gado AM, Al-Majed AA, Al-Yahya AA, Al-Shabanah OA. Protective effect of taurine against cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32: 167-172.
30. Topal P, Oztas Y, Korkmaz A. Melatonin ameliorates bladder damage induced by cyclophosphamide in rats. *J Pineal Res* 2005; 38: 272-277.
31. Sadir S, Deveci S, Korkmaz A, Oter S. Alpha-tocopherol, beta-carotene and melatonin administration protects cyclophosphamide-induced oxidative damage to bladder tissue in rats. *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 521-526.
32. Pascual C, Gonzales R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 1994; 41: 9-13.
33. Santos HD, Cruz WS. The antioxidant vitamin nutritional therapy and the chemotherapy treatment in oncology. *Rev Bras Cancerologia* 2001; 47: 303-308.
34. Padmavathi R, Senthilnathan P, Chodon D, Sakthisekaran D. Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7, 12 dimethyl benz (a) anthracene-induced breast cancer in female Sprague Dawley rats. *Life Sci* 2006; 78: 2820-2825.
35. Hussein MKAE. Effect of bee propolis on experimentally induced cyclophosphamide hemorrhagic cystitis in adult male albino rats: A histological and immunohistochemical study. Abstract. Anatomy and Embryology Department, Faculty of Medicine, Fayoum University, Egypt, 2016.
36. Akyol S, Ginis Z, Armutcu F, et al. The potential usage of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against chemotherapy-induced and radiotherapy-induced toxicity. *Cell Biochem Funct* 2012; 30: 438-443.
37. Uysal E, Yılmaz HR, Ugan Y, et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2015; 29: 559-563.
38. Vieira MM, Macêdo FY, Filho JN, et al. Ternatin, a flavonoid, prevents cyclophosphamide and cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. *Phytother Res* 2004; 18: 135-141.
39. Pulito C, Mori F, Sacconi A, et al. *Cynara scolymus* affects malignant pleural mesothelioma by promoting apoptosis and restraining invasion. *Oncotarget* 2015; 6: 18134.
40. Numan IT, Hamad MN, Fadhil AA, Najim SM. The possible cardio-protective effects of ethanolic artichoke extract against 5-fluorouracil induced cardiac toxicity in rats. *Iraqi J Pharm Sci* 2017; 25: 1-5.
41. Gebhardt R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 144: 279-286.
42. Zapolska-Downar D, Zapolski-Downar A, Naruszewicz M, et al. Protective properties of artichoke (*Cynara scolymus*) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes. *Life Sci* 2002; 71: 2897-2908.