



Efek Simvastatin terhadap Urin dan Jaringan Buli-Buli pada Tikus Model Sistitis Interstisial Akut yang Diinduksi Protamin Sulfat

Abdi Dzul Ikram Hasanuddin^{1}, Rahmawati Minhajat², Mirna Muis²*

^{1,3}Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Gorontalo

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin

Email: ikramhasanuddin@ung.ac.id

Submitted: 29-06-2023

Revised: 16-07-2023

Accepted: 19-07-2023

How to cite: Hasanuddin, A. D. I., Minhajat, R., & Muis, M. (2023). Effect of Simvastatin to Urine and Bladder Macroscopic Tissue In Protamin Sulfate-Induced Acute Intersitital Cystitis Rat Model. *Alami Journal (Alauddin Islamic Medical) Journal*, 7(2), 48-57.
<https://doi.org/10.24252/alami.v7i2.39062>

DOI: [10.24252/alami.v7i2.39062](https://doi.org/10.24252/alami.v7i2.39062)

Copyright 2023 ©the Author(s)

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)



Abstract

The pathophysiology of interstitial cystitis (IC) is complicated and related to statin drug use without any established underlying mechanisms. This study used a rat model of acute IC caused by protamine sulfate to examine the effects of simvastatin on bladder and urine macro-tissue after simvastatin treatment. There were 12 adult female Wistar rats. Simvastatin 10 mg/kgBB + protamine sulfate group (S10P), Simvastatin 50 mg/kgBB + protamine sulfate group (S50P), and Placebo + Protamin Sulfate group (KP) were the three groups (each n=4) into which the subjects were grouped. Simvastatin or placebo CMC 0,5% was administered orally to all animals for 30 days, followed by an intravesical protamine sulfate (10 mg/ml) instillation procedure. All animals were gathered three days after intravesical therapy to collect urine samples and bladder tissue. Simvastatin group participants' levels of hematuria were significantly higher than those of the control group ($p = 0.03$). Only relative bladder weight was substantially higher in the S50P group than in the control group ($p=0.032$). Simvastatin group members did not substantially vary from the control group regarding bladder macroscopic oedema and haemorrhage. To conclude, simvastatin may influence the condition of tissue hypervascularization and hypertrophy, contributing to the chronicity of acute interstitial cystitis.

Keywords: Bladder Pain Syndrome, Cystitis, Hematuria, Hypertrophy, Protamin Sulfate, Statin

Abstrak

Sistitis interstisial memiliki patogenesis yang kompleks dan berhubungan dengan penggunaan obat statin dengan mekanisme yang belum diketahui secara pasti. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki efek simvastatin pada jaringan makroskopis urin dan kandung kemih setelah pengobatan simvastatin pada model tikus sistitis interstisial akut yang diinduksi protamin sulfat. Dua belas tikus Wistar betina dewasa dimasukkan. Mereka dibagi menjadi tiga kelompok (masing-masing n=4), yaitu kelompok plasebo+protamin sulfat (KP), kelompok simvastatin 10 mg/kgBB + protamin sulfat (S10P), dan kelompok simvastatin 50 mg/kgBB + protamin sulfat (S50P). Semua hewan diobati baik dengan plasebo CMC 0,5% atau simvastatin dengan gavage oral selama 30 hari diikuti dengan instilasi protamine sulfat (10 mg/ml) intravesika. Semua hewan diterminasi untuk diambil sampel urin dan jaringan kandung kemihnya tiga hari setelah induksi. Derajat hematuria pada kedua kelompok simvastatin secara signifikan lebih tinggi daripada kelompok kontrol ($p = 0,03$). Hanya berat kandung kemih relatif pada kelompok S50P yang secara signifikan lebih tinggi daripada kelompok kontrol ($p=0,032$). Derajat edema dan hemoragik makroskopis buli-buli pada kedua kelompok simvastatin tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Sebagai kesimpulan, simvastatin dapat berkontribusi pada kronisitas sistitis interstisial akut melalui modulasi hipervaskularisasi jaringan dan keadaan hipertrofi.

Kata kunci: Sindroma Nyeri Buli, Sistitis, Hematuria, Hipertrofi, Protamine Sulfat, Statin

Pendahuluan

Statin termasuk obat yang umum digunakan oleh masyarakat, terutama untuk menurunkan kolesterol. Selain itu, obat ini juga digunakan dalam praktik klinis sebagai pencegahan primer dan sekunder beragam penyakit kardiovaskular.¹ Penggunaan obat ini meningkat seiring peningkatan usia serta memiliki risiko tinggi penyakit jantung *aterosklerotik*.^{1,2} Meskipun demikian, penggunaan obat yang penting ini masih terkendala oleh efek samping yang ditimbulkan sehingga berdampak pada rendahnya angka kepatuhan konsumsi obat ini.³ Efek samping yang dapat terjadi dari obat ini berkisar antara 10-15%, bahkan dalam penelitian lainnya dapat mencapai hingga 30%.^{3,4} Efek samping statin yang tersering adalah *statin-associated muscle symptoms* (SAMSs). Selain itu, efek samping serius lainnya yang sudah ditemukan hingga kini yaitu Diabetes Mellitus Tipe 2 onset baru, hepatotoksik, renal toksik, dan efek neurologis-neurokognitif.^{5,6} Di lain sisi, mekanisme pasti terjadinya efek samping ini belum diketahui.

Pada sistem urogenital, efek samping penggunaan statin diantaranya dikaitkan dengan *Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis* (BPS/IC). Statin dapat meningkatkan risiko terjadinya BPS/IC hingga 1,58 kali lipat, tanpa dipengaruhi oleh faktor lainnya. Statin diduga menginduksi disfungsi uroepitelium vesika urinaria, yang merupakan salah satu penyebab utama BPS/IC.⁷

Disfungsi urotelium pada BPS/IC dikaitkan dengan adanya kerusakan mikrostruktur berupa *tight junction*. Kerusakan ini akan berlanjut menjadi deskuamasi lapisan urotelial buli-buli.⁸ Penipisan urotelium inilah yang kemudian mengakibatkan keluarnya air, urine, potasium, dan zat toksik lainnya di dalam urin untuk masuk ke jaringan suburothelial dan dinding buli-buli di bawahnya, sehingga memicu gejala lower urinary tract symptoms (LUTS) yang khas pada pasien BPS/IC.⁹ Disfungsi sawar urotelial ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Kegagalan sitodiferensiasi lapisan basal dan intermediet urotelium dalam menanggapi kerusakan sel payung di atasnya ditemukan pada tikus model sistitis interstisial dan biopsi klinis.^{10,11} Inflamasi kronis pada jaringan suburotelium, baik oleh makrofag, limfosit, eosinofil, dan sel mast ditemukan pada berbagai model tikus sistitis interstisial dan diduga berperan dalam menurunkan kemampuan proliferasi urotelial.^{9,12,13} Peningkatan apoptosis sel dan penurunan kemampuan proliferasi urotelium juga terlihat pada pasien dengan sistitis interstisial.¹⁴

Penelitian *in vivo* dengan melibatkan hewan coba sering dilakukan untuk mengetahui patomekanisme dari BPS/IC yang kompleks dan belum diketahui secara pasti. Tikus merupakan hewan yang sering dipakai untuk melakukan pemodelan penyakit ini dan dapat memberikan gambaran klinis dan patologis yang mirip dengan yang terjadi pada manusia, seperti denudasi urotelial, disrupsi barrier kronik, sistitis hemoragik, maupun respon imun spesifik.^{15,17} Pemodelan tikus BPS/IC yang dipakai pada studi ini menggunakan pendekatan patofisiologi disfungsi urotelium yang diinduksi zat-zat toksik melalui instilasi intravesika. Dibanding zat toksik penginduksi lainnya, protamin sulfat dapat memberikan gambaran sistitis interstisial yang mirip pada manusia berupa eksfoliasi sel superfisial, proliferasi sel intermediet, dan sistitis hemoragik akut.¹⁸ Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek dari simvastatin terhadap urin berupa derajat leukosituria dan hematuria setelah pemberian simvastatin pada tikus model BPS/IC. Selain itu, perubahan makroskopik yang terjadi pada jaringan vesika urinaria, berupa berat buli-buli relatif, derajat edema jaringan, dan derajat hemoragik jaringan juga dinilai pada

studi ini.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan *posttest only control group* di Laboratorium Biofarmasi Universitas Hasanuddin. Di akhir penelitian, semua kelompok akan diukur kadar darah dan leukosit pada spesimen urin. Selain itu, akan diukur perubahan makroskopiknya berupa berat buli-buli relatif, derajat edema jaringan, dan derajat hemoragik jaringan. Semua prosedur telah mengikuti aturan pada Deklarasi Helsinki mengenai penelitian pada hewan coba dan telah disetujui oleh Komite Etik Kedokteran Universitas Hasanuddin (No. 375/UN4.6.4.5.31/PP 36/2020).

Populasi pada studi ini adalah tikus galur wistar dewasa. Kriteria inklusi yang ditetapkan yaitu jenis kelamin betina, usia 8-10 minggu, dan berat badan 150-200 gram. Kriteria eksklusi yang ditetapkan yaitu hewan yang mengalami stress, sakit, maupun luka selama penelitian berlangsung, hewan yang obesitas, dan hewan yang mengalami infeksi saluran kemih. Terdapat total 12 sampel penelitian yang dibagi rata dalam 3 kelompok dengan metode pengacakan sederhana. Setelah masing-masing tikus ditandai dengan kode tertentu, dilakukan pencabutan dengan lotere untuk membagi mereka ke dalam salah satu dari kelompok KP, S10P, atau S50P. Kelompok KP diberikan 2 ml metilselulosa 0,1% yang merupakan pelarut dari suspensi simvastatin sebagai kelompok kontrol yang mendapatkan plasebo. Kelompok S10P diberikan simvastatin 10 mg/KgBB secara oral, sedangkan kelompok S50P diberikan simvastatin 50 mg/KgBB secara oral.

Pemberian Simvastatin dan Pemodelan BPS/IC

Obat simvastatin yang dipakai adalah yang sudah beredar luas di pasaran, yaitu simvastatin tablet generik yang diproduksi oleh Kimia Farma. Semua tikus percobaan mendapatkan pakan standar AD2, minum air ledeng *ad libitum*, kondisi kandang minimal stress dan siklus hidup/terang 12 jam/12 jam. Dosis statin dipilih berdasarkan hasil penelitian sebelumnya mengenai efek obat statin terhadap tikus. Dosis statin untuk kardioprotektif yakni 10 mg/KgBB.¹⁹ Dosis statin untuk menurunkan kolesterol yakni 50 mg/KgBB.²⁰ Semua kelompok, baik yang mendapatkan simvastatin maupun plasebo menerima perlakuan selama 30 hari dengan pertimbangan pada rentang waktu tersebut sudah cukup untuk menimbulkan efek terapeutik dan efek samping simvastatin yang akan diamati. Proses patomekanisme utama yang diduga berperan pada studi ini, yaitu *cytostatic effect*, terjadi setelah dua minggu pemberian simvastatin secara *in vitro*.²¹

Setelah semua tikus mendapatkan perlakuan, dilakukan pemodelan BPS/IC pada masing-masing tikus dengan instilasi protamin sulfat intravesika. Setelah anestesi yang adekuat dengan injeksi ketamin 10% intraperitoneal, dilakukan identifikasi ostium uretra eksterna pada posisi dorsal rekumben. Lubrikan kemudian diaplikasikan pada ostium uretra eksterna dan dilanjutkan dengan insersi selang instilasi sedalam 10 mm setelah memosisikan uretra dalam keadaan lurus. Setelah dipastikan selang instilasi berada di dalam buli-buli, dilakukan insersi protamin sulfat 10 mg/ml sebanyak 0,6 ml secara bolus selama 30-45 detik. Badan tikus kemudian dibolak-balikkan untuk membuat homogen larutan instilasi ke seluruh lumen buli-buli selama 15 menit sembari mempertahankan selang instilasi berada dalam buli-buli.^{22,23} Tikus

kemudian dibiarkan hidup selama tiga hari untuk kemudian dilakukan pengambilan spesimen urin dan jaringan.

Penilaian Perubahan Makroskopik Jaringan (Berat Buli-Buli Relatif, Derajat Edema dan Derajat Hemoragik)

Sebelum dilakukan pemeriksaan sediaan histologi, hewan coba diterminasi terlebih dahulu dengan cara dislokasi servikal. Setelah itu diambil organ buli-bulunya dengan tehnik aseptik, kemudian ditimbang dengan neraca analitik. Data berat buli-buli kemudian dibagi dengan berat badan total di akhir perlakuan, guna memperoleh data berat buli-buli relatif. Selain itu dilakukan pengukuran derajat edema buli-buli dengan cara pengamatan secara makroskopik yang dikategorikan menjadi empat, yaitu normal, positif 1 (antara normal dan positif 2), positif 2 (cairan memenuhi lapisan mukosa), dan positif 3 (cairan memenuhi seluruh lapisan vesika urinaria internal dan eksternal). Derajat hemoragik vesika urinaria juga diukur dengan pengamatan secara makroskopik yang dikategorikan menjadi lima, yaitu normal, positif 1 (telangiectasis atau dilatasi pembuluh darah vesika urinaria), positif 2 (hematoma pada lapisan mukosa), dan positif 3 (terdapat klot intravesika).

Pemeriksaan Spesimen Urin

Pemeriksaan spesimen urin dimaksudkan untuk mengukur derajat leukosituria dan hematuria. Spesimen urin diambil 3 hari pasca instilasi. Penekanan pada daerah suprapubis dengan perlahan dilakukan hingga akhirnya spesimen urin keluar dari ostium ureter eksternum. Spesimen urin kemudian ditampung dalam wadah tabung eppendorf 1,5 ml yang steril. Setelah spesimen urin diperoleh, dilakukan pengamatan secara makroskopis pada spesimen urin dengan menggunakan mata telanjang. Bila tidak memenuhi kriteria objektif 2-4, maka dilakukan pemeriksaan dipstik urin untuk mengetahui apakah terdapat hematuria atau tidak. Pemeriksaan dipstik urin dilakukan menggunakan *Urine Analyzer Verify U120* di *Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin*. Derajat leukosituria dikategorikan menjadi lima yaitu negative, trace, positif 1, positif 2, dan positif 3. Derajat hematuria dikategorikan menjadi lima yaitu negative, trace, positif 1, positif 2, dan positif 3.

Analisis data secara statistik menggunakan aplikasi *statistical package for social sciences (SPSS)* versi 17.0 dengan interval kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan power 80% ($\beta=0,20$). Data numerik pada studi ini yaitu berat buli-buli relatif dinyatakan dalam *Mean \pm Standard Deviation*. Data skala ordinal pada studi ini yakni derajat leukosituria, derajat hematuria, derajat hemoragik makroskopik, dan derajat edema makroskopik dinyatakan dalam frekuensi dan persentase di tiap kategori. Perbedaan nilai tengah variabel berat buli-buli relatif antara kelompok perlakuan dianalisis dengan uji *One Way Anova*. Uji *post hoc* Tukey HSD atau *Games Howell* dilakukan mengikuti hasil uji homogenitas. Perbedaan derajat leukosituria, derajat hematuria, derajat edema dan hemoragik vesika urinaria antara kelompok perlakuan dianalisis dengan uji *KruskalWallis*. Nilai $p \leq 0,05$ dianggap signifikan.

Hasil Penelitian

Jumlah tikus yang terlibat hingga akhir penelitian sejumlah 12. Tidak ada tikus yang dikeluarkan dan tidak ada efek samping bermakna yang teramati selama penelitian. Hasil penilaian derajat hematuria dan leukosituria pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

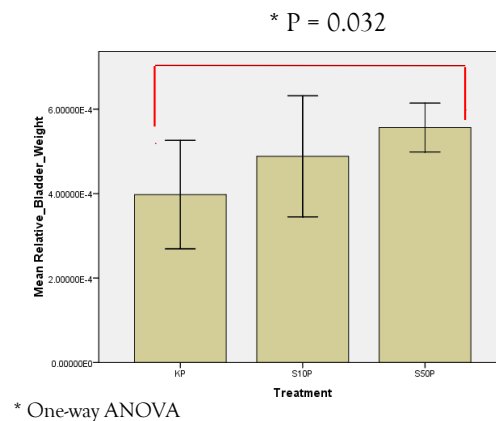
Terdapat perbedaan yang bermakna pada proporsi derajat hematuria antara kelompok perlakuan. Pada kelompok S50P dan S10P terdapat sampel yang berada pada derajat hematuria 1 dan 2 (masing-masing 50% dan 100%), sedangkan pada kelompok KP atau kontrol seluruhnya (100%) berada pada kategori normal ($p=0,024$). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada proporsi derajat leukosituria antara kelompok perlakuan ($p=0,368$).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan urinalisis

Kelompok	Derajat Hematuria (n=12)			Derajat Leukosituria (n=12)	
	0 (%)	I (%)	II (%)	0 (%)	I (%)
KP (n=4)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	4 (100)	0 (0)
S10P (n=4)	0 (0)	3 (75)	1 (25)	3 (75)	1 (25)
S50P (n=4)	2 (50)	2 (50)	0 (0)	4 (100)	0 (0)
	$p = 0.024^*$			$p = 0.368^*$	

*Kruskal Wallis test

Hasil pengukuran berat relatif buli-buli pada seluruh kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Terdapat perbedaan yang bermakna pada berat relatif buli-buli antara kelompok S50P dan KP ($5,56 \times 10^{-4} \pm 0,36 \times 10^{-4}$ vs. $3,98 \times 10^{-4} \pm 0,81 \times 10^{-4}$, $p=0,032$). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada berat relatif buli-buli antara kelompok S01P dan KP dan antara kelompok S10P dan S50P (keduanya memiliki nilai $p > 0,05$).



Gambar 1. Perbedaan berat relatif buli-buli antara kelompok perlakuan

Hasil penilaian derajat edema dan hemoragik makroskopik pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada proporsi derajat edema jaringan antara kelompok perlakuan ($p>0,05$). Selain itu tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada proporsi derajat hemoragik jaringan antara kelompok perlakuan ($p>0,05$). Gambar representatif hasil pemeriksaan makroskopik dari jaringan vesika urinaria pada penelitian ini bisa dilihat pada gambar 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan makroskopis jaringan vesika urinaria

Kelompok	Derajat Edema (n=12)			Derajat Hemoragik (n=12)		
	I (%)	II (%)	III (%)	0 (%)	I (%)	II (%)
KP (n=4)	2 (50)	2 (50)	0 (0)	2 (50)	1 (25)	1 (25)
S10P (n=4)	0 (0)	2 (50)	2 (50)	2 (50)	1 (25)	1 (25)
S50P (n=4)	0 (0)	3 (75)	1 (25)	1 (25)	3 (75)	0 (0)
	p=0,093*			p=0,983*		

*Kruskal Wallis test



Gambar 2. Fotografi hasil pemeriksaan makroskopik yang representatif pada masing-masing kelompok perlakuan

Pembahasan

Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis (BPS/IC) merupakan salah satu resiko yang dapat terjadi pada penggunaan statin jangka panjang. Meskipun demikian, mekanisme pastinya belum diketahui sehingga membutuhkan penelitian lebih lanjut seperti yang dilakukan pada studi ini.⁷ Secara sederhana, penelitian ini memulai dari pengamatan pada pemeriksaan urinalisis semi kuantitatif dan derajat kerusakan jaringan makroskopis.

Hematuria dan leukosituria pada umumnya diperiksa untuk mengetahui proses patologi yang terjadi di saluran kemih, baik infeksi, trauma, peradangan, maupun batu saluran kemih.²⁴ Kedua parameter ini juga merupakan tanda penting pada pasien dengan sistitis interstisial, baik secara *in vivo* maupun pada pasien.²⁵ Derajat hematuria pada penelitian ini ditemukan berbeda bermakna antara kelompok perlakuan, dimana kelompok yang mendapat simvastatin memiliki derajat hematuria yang lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Shin *et al.* yang melaporkan bahwa terdapat 2,9% pasien yang mengalami hematuria dalam 3 tahun *follow up* pasien yang menggunakan statin. Bila dibandingkan dengan atorvastatin, rosuvastatin berkaitan dengan peningkatan resiko hematuria sebanyak 1,08 kali lipat.²⁶ Mekanisme yang diduga berperan adalah statin dapat menginduksi menurunnya kemampuan reabsorpsi sel tubulus proksimal. Namun hal ini hanya dapat menjelaskan mekanisme timbulnya proteinuria pada pasien yang menggunakan rosuvastatin, tetapi tidak pada mekanisme timbulnya hematuria yang muncul bersamaan pada pasien tersebut.²⁷ Proses infeksi yang juga dapat menimbulkan hematuria dan leukosituria mungkin tidak terlibat dalam mekanisme yang terjadi pada penelitian ini. Hal ini karena statin justru dapat mencegah terjadinya infeksi saluran kemih berulang.²⁸ Mekanisme lain yang dapat diduga adalah proses *senescence* urotelial yang dapat diinduksi oleh statin itu sendiri. Sel yang mengalami *senescence* dapat berada pada tahap *senescence associated secretory phenotype* (SASP) yang mampu mengeluarkan

faktor proangiogenik seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), angiogenin, dan *epidermal growth factor* (EGF).²⁹ Hematuria pada hari ke-3 pasca instilasi protamine sulfat intravesika dapat menunjukkan kronisitas sistitis interstisial. Protamin sulfat dapat menginduksi sistitis hemoragik hanya dalam bentuk akut, yaitu sekitar satu hari setelah induksi. Hematuria yang murni hanya diinduksi oleh protamin sulfat dapat membaik dalam 2-3 hari setelahnya. Hal inilah yang mungkin menunjukkan keterlibatan simvastatin dalam menyebabkan hematuria mikroskopis kronik sebagai mekanisme yang mendasari terjadinya sistitis interstisial.

Berat relatif buli-buli pada studi ini juga berbeda signifikan antara kelompok perlakuan. Hal ini terutama teramati antara kelompok yang mendapatkan simvastatin dosis tinggi dan kelompok kontrol. Temuan ini mungkin mengindikasikan terjadinya proses hipertrofi yang lebih dominan pada kelompok simvastatin. Sel yang mengalami *senescence* dapat menjadi membesar secara morfologi.³⁰ Simvastatin dapat menginduksi sel mengalami *senescence* tahap lanjut dan mengeluarkan faktor profibrotik yang menginduksi kronisitas sistitis interstisial. Dalam sebuah studi didapatkan sel alveolar tipe II yang mengalami proses *senescence* dapat mensekresikan faktor-faktor profibrotik yang berkontribusi terhadap peningkatan massa jaringan melalui penebalan komponen matriks ekstraseluler oleh jaringan fibrosis. Hal inilah yang memicu terjadinya asma bronkial.³¹

Penelitian ini memiliki keterbatasan dengan tidak dilakukannya pemeriksaan biomarker molekuler yang memiliki sifat lebih sensitif dan spesifik. Selain itu jumlah sampel yang relatif sedikit menjadikan nilai validitas eksternal dari hasil studi ini tergolong rendah. Desain penelitian pra eksperimental dalam studi ini juga menjadikan kesimpulan yang didapatkan belum utuh dan butuh diperkuat dengan desain yang lebih sempurna. Tidak dilakukannya pemeriksaan mikroskopik dan mikrobiologi urin pada studi ini berpotensi menjadikan infeksi saluran kemih menjadi bias penyebab luaran dalam studi ini.

Kesimpulan dan Saran

Simvastatin dapat berkontribusi pada kronisitas sistitis interstisial akut melalui modulasi hipervaskularisasi jaringan dan keadaan hipertrofi. Hal ini diharapkan dapat menjadi acuan bagi penelitian selanjutnya yang menginvestigasi mekanisme efek samping simvastatin.

Daftar Pustaka

1. Armitage J, Baigent C, Barnes E, Betteridge DJ, Blackwell L, Blazing M, et al. Efficacy and safety of statin therapy in older people: a meta-analysis of individual participant data from 28 randomised controlled trials. *The Lancet*. 2019 Feb 2;393(10170):407–15.
2. Harrison TN, Scott RD, Cheetham TC, Chang SC, Hsu JWY, Wei R, et al. Trends in Statin Use 2009-2015 in a Large Integrated Health System: Pre- and Post-2013 ACC/AHA Guideline on Treatment of Blood Cholesterol. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 2018 Aug;32(4):397–404.
3. Ward NC, Watts GF, Eckel RH. Statin Toxicity. *Circ Res*. 2019 Jan 18;124(2):328–50.
4. Bytyçi I, Penson PE, Mikhailidis DP, Wong ND, Hernandez AV, Sahebkar A, et al. Prevalence of statin intolerance: a meta-analysis. *European Heart Journal*, 2022 Sep

- 7;43(34):3213–23.
5. Turner RM, Pirmohamed M. Statin-Related Myotoxicity: A Comprehensive Review of Pharmacokinetic, Pharmacogenomic and Muscle Components. *Journal of Clinical Medicine*, 2019 Dec 20;9(1):22.
 6. Liu A, Wu Q, Guo J, Ares I, Rodríguez JL, Martínez-Larrañaga MR, et al. Statins: Adverse reactions, oxidative stress and metabolic interactions. *Pharmacology & Therapeutics*, 2019 Mar 1;195:54–84.
 7. Huang CY, Chung SD, Kao LT, Lin HC, Wang LH. Statin Use Is Associated with Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis: A Population-Based Case-Control Study. *Urologia Internationalis*, 2015;95(2):227–32.
 8. Eaton AF, Clayton DR, Ruiz WG, Griffiths SE, Rubio ME, Apodaca G. Expansion and contraction of the umbrella cell apical junctional ring in response to bladder filling and voiding. *Molecular Biology of Cell*, 2019 Jul 22;30(16):2037–52.
 9. Jhang JF, Jiang YH, Kuo HC. Current Understanding of the Pathophysiology and Novel Treatments of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *Biomedicines*, 2022 Oct;10(10):2380.
 10. Wan Q, Xiong G, Liu G, Shupe TD, Wei G, Zhang D, et al. Urothelium with barrier function differentiated from human urine-derived stem cells for potential use in urinary tract reconstruction. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018 Nov 8;9:304.
 11. Malik ST, Birch BR, Voegeli D, Fader M, Foria V, Cooper AJ, et al. Distribution of mast cell subtypes in interstitial cystitis: implications for novel diagnostic and therapeutic strategies. *Journal of Clinical Pathology*, 2018 Sep;71(9):840–4.
 12. Chen YT, Yang CC, Sung PH, Lin KC, Chiang JY, Huang CR, et al. Long-term effect of extracorporeal shock wave therapy on attenuating radiation-induced chronic cystitis in rat. *American Journal of Translational Research*, 2020;12(3):999–1015.
 13. Yusuf MNS, Hasanuddin ADI, Yusuf ZK, Tuna T, Ibrahim N, Posumah MT, et al. Effect of Simvastatin on Eosinophilic Inflammation of Bladder Tissue in Interstitial Cystitis Rat Model. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2022 Nov 4;76–81.
 14. Di Capua-Sacoto C, Sanchez-Llopis A, Oconnor JE, Martinez-Romero A, Ruiz-Cerdá JL. Apoptotic effect as biomarker of disease, severity and follow-up in interstitial cystitis. *Actas Urologicas Espanolas (Engl Ed)*, 2018 May;42(4):262–6.
 15. Shen JD, Chen SJ, Chen HY, Chiu KY, Chen YH, Chen WC. Review of Animal Models to Study Urinary Bladder Function. *Biology*. 2021 Dec;10(12):1316.
 16. Birder LA. Pathophysiology of interstitial cystitis. *International Journal of Urology*, 2019 Jun;26(S1):12–5.
 17. Birder L, Andersson KE. Animal Modelling of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *Int Neurourology Journal*, 2018 Jan;22(Suppl 1):S3-9.

18. Grundy SM, Vega GL, Wong ND. Is There a Role for Coronary Calcium in Patients with Diabetes. *The American Journal of Cardiology*, 2023 Mar 1;190:98–101.
19. Crespo MJ, Quidgley J. Simvastatin, atorvastatin, and pravastatin equally improve the hemodynamic status of diabetic rats. *World Journal of Diabetes*, 2015 Aug 25;6(10):1168– 78.
20. Wassmann S, Laufs U, Bäumer AT, Müller K, Ahlbory K, Linz W, et al. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension*, 2001 Jun;37(6):1450–7.
21. Peric D, Barragan I, Giraud-Triboult K, Egesipe AL, Meyniel-Schicklin L, Cousin C, et al. Cytostatic Effect of Repeated Exposure to Simvastatin: A Mechanism for Chronic Myotoxicity Revealed by the Use of Mesodermal Progenitors Derived from Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells*, 2015 Oct 1;33(10):2936–48.
22. Van Hattum JW, Scutigliani EM, Helderma R, Zweije R, Rodermond HM, Oei AL, et al. A scalable hyperthermic intravesical chemotherapy (HIVEC) setup for rat models of bladder cancer. *Scientific Reports*, 2022 Apr 29;12(1):7017.
23. Sahiner IF, Soylu H, Ates E, Acar N, Ustunel I, Danisman A. Impact of intravesical hyaluronic acid treatment on bladder inflammation in interstitial cystitis rat model. *International braz j urol*, 2018 Oct;44(5):1014–22.
24. Sequeira-Antunes B, Ferreira HA. Urinary Biomarkers and Point-of-Care Urinalysis Devices for Early Diagnosis and Management of Disease: A Review. *Biomedicines*, 2023 Apr;11(4):1051.
25. Pires MV, de Lima CJ, Carvalho HC, Moreira LH, Fernandes AB. Effectiveness of intravesical ozone in interstitial cystitis by the O’Leary–Sant symptom index. *International Urogynecology Journal*, 2023 Jul 1;34(7):1437–46.
26. Shin JI, Fine DM, Sang Y, Surapaneni A, Dunning SC, Inker LA, et al. Association of Rosuvastatin Use with Risk of Hematuria and Proteinuria. *Journal of The American Society of Nephrology*, 2022 Sep;33(9):1767–77.
27. Newman CB, Preiss D, Tobert JA, Jacobson TA, Page RL, Goldstein LB, et al. Statin Safety and Associated Adverse Events: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2019 Feb;39(2):38–81.
28. Jitpratoom P, Boonyasiri A. Determinants of urinary tract infection in hospitalized patients with acute ischemic stroke. *BMC Neurology*, 2023 Jun 30;23(1):251.
29. Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, d’Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2021 Feb;22(2):75–95.
30. Blagosklonny MV. Cellular senescence: when growth stimulation meets cell cycle arrest. *Aging (Albany NY)*. 2023 Feb 19;15(4):905–13.

31. Rana T, Jiang C, Liu G, Miyata T, Antony V, Thannickal VJ, et al. PAI-1 Regulation of TGF- β 1-induced Alveolar Type II Cell Senescence, SASP Secretion, and SASP-mediated Activation of Alveolar Macrophages. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2020 Mar;62(3):319–30.