

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİPERKOLESTEROLEMİNİN SIÇAN MESANESİNİN
KASILMA İŞLEVİNE ETKİSİ**

Araş. Gör. Serkan KARAİSMAİLOĞLU

**Fizyoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ayşen ERDEM**

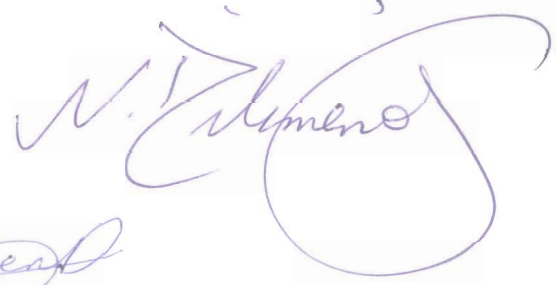
ANKARA

2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

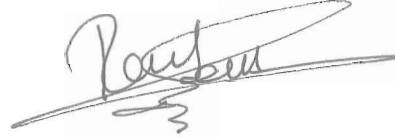
Jüri Başkanı: Prof. Dr. Neslihan H. Dikmenoğlu
Hacettepe Üniversitesi



Danışman: Doç. Dr. Ayşen Erdem
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Remzi Erdem
Başkent Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Dicle Balkancı
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Meltem Tuncer
Hacettepe Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan S. Orez

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yazar, bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder.

Sayın Doç. Dr. Ayşen Erdem, tez danışmanım olarak çalışmaya yol gösterici katkılarda bulunmuştur.

Sayın Doç. Dr. Dicle Balkancı, çalışmanın her anında çok değerli katkılarda bulunmuş olup çalışmanın gerçekleşmesi için her türlü desteği sağlamıştır.

Sayın Yrd. Doç. Dr. Bilge Pehlivanoglu ve Öğr. Gör. Dr. Sibel Bayrak deneylerin her aşamasında yer almış ve istatistiksel analizlerin yapılmasına katkıda bulunmuşlardır.

Sayın Prof. Dr. Neslihan H. Dikmenoğlu bölümümüzün tüm olanaklarından yararlanmamda her zaman destek olmuştur.

Sayın Prof. Dr. Rıfki Finci aort dokularının histopatolojik incelemeleri ile katkıda bulunmuştur.

Tez çalışmalarım boyunca ailem ve bölüm arkadaşlarım anlayış ve sabırla destek olmuşlardır.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenen bir proje kapsamında gerçekleşmiştir. (Proje numarası: 08 D07 101 017)

ÖZET

Karaismailoğlu S. Hiperkolesteroleminin sıçan mesanesinin kasılma işlevine etkisi Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2009. Mesanenin idrarı depolamak ve depoladığı idrarı uygun zamanda dışarıya atmak şeklinde iki işlevi vardır. İki işlevde de kolinerjik, adrenerjik ve nonadrenerjik nonkolinerjik (NANC) mekanizmalar rol oynar. Bu mekanizmalarda rol alan sinyal ileti yolları hücre zarında kolesterolden zengin zar bölgeleri olan lipit raft ve kaveolalarla ilişkilidir. Bu bölgelerin kolesterol miktarındaki artış veya azalışın, çalışması innervasyona dayalı ve temel olarak G proteini ile kenetli reseptörler aracılı olan mesaneyi etkilemesi beklenir. Bu çalışmada, kolesterol düzeyindeki değişikliğin sinyal iletimini, dolayısıyla hücre işlevlerini etkileyebileceği düşünülerek, hiperkolesteroleminin *in vitro* sıçan mesane şeritlerinde izometrik kasılma işlevine etkisi ve kolinerjik-pürinerjik komponentlerin kasılmaya katkısını değiştirip değiştirmediğinin araştırılması amaçlandı. Dört hafta süreyle standart sıçan yemiyle beslenen kontrol grubu (NK) veya % 4'lük kolesterol diyetle beslenen kolesterol grubu (HK) Sprague-Dawley sıçanlarda kan kolesterol düzeyi, *in vitro* mesane şeritlerinde 80mM KCl ve elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile oluşturulan izometrik kasılmalar incelendi. EAS, 3 dakikada bir 5 sn boyunca; 100 V, 0,15 ms ve giderek artan frekanslarda (1-2-5-10-20-40-80 Hz) uygulandı. EAS ile oluşan kasılmalarda 10^{-6} M atropin, 10^{-7} M prazosin ve 10^{-4} M PPADS veya 10^{-5} M α - β meATP'in etkisi incelendi. Sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. HK grubunda plazma kolesterol düzeyinin arttığı görüldü (NK:95,8 \pm 3,7 HK:132,7 \pm 9,5 mg/dL, $P<0,05$). KCl ile oluşturulan kasılmalar, HK grubunda (29,1 \pm 1,7 g/100 mg doku) NK grubuna (21,2 \pm 1,6 g/100 mg doku) göre daha yüksek bulundu ($P<0,05$). EAS'ye bağlı maksimum cevap, NK grubunda 25,1 \pm 2,4, HK grubunda ise 32,9 \pm 3,4 g/100 mg doku olmakla beraber frekans-kasılma eğrileri açısından iki grup arasında fark yoktu. EAS ile uyarılan kasılmalar, atropin+prazosin, PPADS ve α - β meATP varlığında NK grubunda sırasıyla %38,1 \pm 3,0, %27,4 \pm 2,0 ve %32,8 \pm 6,2; HK grubunda %36,9 \pm 3,4, %31,7 \pm 3,6 ve %33,5 \pm 2,6 oranında baskılandı. Ancak kolinerjik ve pürinerjik komponentlerin kasılmadaki katkısı iki grup arasında farklı değildi. Sonuç olarak hiperkolesterolemi sıçan mesanesinde izometrik kasılma işlevini etkilemektedir. Ancak bu etkinin mekanizması ve uzun dönemdeki değişiklikler daha ileri çalışmalarla araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Detrüsör, kaveola, kolinerjik, pürinerjik, EAS, α - β meATP, PPADS

Destekleyen Kurumlar: H. Ü. Bilimsel Araştırmalar Birimi (08 D07 101 017)

ABSTRACT

Karaismailoğlu S. The effect of hypercholesterolemia on the contractile functions of rat urinary bladder. Hacettepe University Institute of Health Sciences Physiology Program, Master of Science Thesis, Ankara, 2009. The urinary bladder has two major functions; storing the urine and emptying it when needed. The cholinergic, adrenergic, and non-adrenergic non-cholinergic (NANC) mechanisms play role in both of these functions. The signal transduction pathways involved in these mechanisms are associated with the lipid raft and caveolae which are cholesterol rich fragments in the cytoplasmic membrane. Since the urinary bladder functions in an innervation-dependent manner and G protein-coupled receptors take part in this process, it is likely to propose that the urinary bladder is affected by the increase or decrease in the cholesterol content of these regions. Therefore, hypothesizing that alterations in cholesterol levels affect the cellular functioning via leading to changes in signal transduction, in the present study it is aimed to investigate the effect of hypercholesterolemia on the contractile responses in rat isolated urinary bladder strips *in vitro* and whether hypercholesterolemia alters the contribution of the cholinergic-purinergeric components of the contractile response. Plasma cholesterol levels, and the contractility of isolated urinary bladder strips in response to 80 mM KCl and to electrical field stimulation (EFS) *in vitro* were examined in Sprague-Dawley rats fed either with standard rat chaw (control group; NK) or with 4% cholesterol diet (cholesterol group; HK) for four weeks. EFS was applied for 5 sec trains at every 3 minutes, with 100 V amplitude, 0,15 msec duration and progressively increasing frequencies as 1-2-5-10-20-40-80 Hz. The effects of atropine (10^{-6} M), prazosin (10^{-7} M), PPADS (10^{-4} M) or α - β meATP (10^{-5} M) on the EFS-induced contractions were investigated. The results were evaluated in comparison with the control group. The plasma cholesterol level was found to be elevated in the HK group (NK: 95,8 \pm 3,7, HK: 132,7 \pm 9,5 mg/dL, $P < 0,05$). KCl-induced contractions in the NK and HK groups were 21,2 \pm 1,6 and 29,1 \pm 1,7 g/100 mg tissue, respectively. The difference between the groups was statistically significant. Although the EFS-induced maximal contractile responses in the groups NK and HK, were 25,1 \pm 2,4 and 32,9 \pm 3,4 g/100 mg tissue, respectively, frequency-contraction curves were not significantly different from each other. The contractile responses were inhibited in the presence of atropin+prazosin, PPADS and α - β meATP by 38,1 \pm 3,0%, 27,4 \pm 2,0% and 32,8 \pm 6,2%, respectively, in the NK group, the concomitant ratios in the HK group were as follows; 36,9 \pm 3,4%, 31,7 \pm 3,6% and 33,5 \pm 2,6. However, contribution of the cholinergic-purinergeric mechanisms to the contractile responses was not different among the groups. In conclusion, hypercholesterolemia affects the contractility in the rat urinary bladder but the mechanisms underlying and long-term changes due remains to be established by further studies.

Key words: Detrusor, caveolae, cholinergic, purinergeric, EFS, α - β meATP, PPADS

Supported by H.Ü.B.A.B (08 D07 101 017)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mesanenin Anatomisi ve Histolojisi	2
2.2. Mesanenin Kasılma Sistemi	4
2.3. Uyarılma - Kasılma	7
2.4. Membranın Uyarılması	9
2.5. Mesanenin İnnervasyonu	15
2.6. Mesane Dolum ve İşeme Mekanizmaları	20
2.7. Mesanenin Nöral ve Hormonal Kontrol Mekanizması	21
2.8. Kolesterol	31
2.9. Hipotez ve Amaç	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Cerrahi İşlemler	37
3.2. Mesane Şeritleri ve Organ Banyosu	37
3.3. Kasılma Protokolleri	39
3.4. Kolesterol Tayini	40
3.5. Histopatolojik İnceleme	40
3.6. Çözelti ve Test Maddeleri	40
3.7. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz	42
3.8. Etik Kurul İzni	43

4. BULGULAR	44
4.1. Genel Metabolik Bulgular	44
4.2. Serum Lipit Profili	44
4.3. Histopatolojik İnceleme	45
4.4. Spontan Kasılmalar	46
4.5. KCl ile Uyarılan Kasılmalar	47
4.6. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Oluşturulan Kasılmalar	48
4.7. Nonadrenerjik, Nonkolinerjik ve Nonpürinerjik Cevap	54
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	5-hidroksitriptamin, Serotonin
A-P	Atropin-Prazosin
AC	Adenil siklaz
ACh	Asetilkolin
ANG	Anjiyotensin
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
BK _{Ca}	Kalsiyumun aktifleştirdiği K ⁺ kanalları
Ca ⁺²	Kalsiyum
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CaM kinaz II	Kalsiyum/Kalmodulin bağımlı protein kinaz II
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
Cav	Kaveolin
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CIC	Kalsiyum ile indüklenen kalsiyum salınımını
CO ₂	Karbondioksit
COX	Siklooksijenaz
dL	Desilitre
EAS	Elektriksel alan stimülasyonu
ET	Endotelin
FC	Serbest kolesterol
GABA	Gama aminobütirik asit
GJ	<i>Gap Junction</i> , yarı bağlantı bölgeleri
GTP	Guanozin trifosfat
H	Histamin
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HK	Kolesterol
Hz	Hertz
GPI	Glikozilfosfatidilinozitol
IP ₃	İnositol trifosfat
K ⁺	Potasyum

K_{ATP}	ATP'ye bağımlı K^+ kanalları
KCl	Potasyum klorür
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
Kir	İçe düzenleyici K^+ kanalları
K_v	Voltaj kapılı K^+ kanalları
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LTD	Lökotrien D
M	Molar
MAP	Mitojen aktive edici protein
Mg^{+2}	Magnezyum
mg	Miligram
$MgSO_4$	Magnezyum sülfat
MLCK	Miyozin hafif zincir kinaz
MLCP	Miyozin hafif zincir fosfataz
mM	milimolar
mN	Milnewton
ms	Milisaneye
MSS	Merkezi sinir sistemi
mV	Milivolt
Na^+	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
$NaHCO_3$	Sodyum bi karbonat
NANC	NonAdrenerjik NonKolinergik
Nk	Nörokinin
NK	Kontrol
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
O_2	Oksijen
Pi	Serbest fosfat
P2	Pürinerjik reseptör
PAK	p21-aktive edici kinaz
PG	Prostaglandin

PKA	Protein kinaz A
PKG	cGMP-bağımlı kinaz
PKC	Protein kinaz C
PLC	Fosfolipaz C
PMC	Pontin işeme merkezi
PPADS	Piridoksal Fosfat-6-azo (benzen-2,4-disulfonik asit) tetrasodyum salt hidrat
RTX	Resiniferatoksin
SERCA	Sarkoplazmik Retikulum kalsiyum ATPaz
SP	P maddesi
SPH	Sfingolipit
SR	Sarkoplazmik Retikulum
TTX	Tetrodotoksin
TxA	Tromboksan A
UDIF	Ürotelyum kökenli inhibitör faktör
V	Volt
VIP	Vazoaktif intestinal polipeptid
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
VPAC	Vazoaktif intestinal polipeptid reseptörü
VR1	Vanilloid reseptör tip-1
μm	Mikrometre
μL	mikrolitre
α - β meATP	α,β -Metilenadenozin 5'-trifosfat lityum tuzu

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Mesanenin anatomik yapısı ve komşulukları	2
2.2. Mesanenin şematik çizimi	3
2.3. ATP bağımlı K ⁺ kanalları (K _{ATP})	11
2.4. Ca ⁺² ile aktiveleşen K ⁺ kanalları (BK _{Ca})	12
2.5. Beyinde işeme kontrolünü sağlayan transmitter sistemler	17
2.6. Mesanenin parasempatik innervasyonu	18
2.7. Mesanenin sempatik innervasyonu	19
2.8. Mesanenin somatik innervasyonu	20
2.9. Mesanedeki reseptörlerin dağılımı	21
2.10. Detrüsör düz kasında ikincil mesajcı sistem	22
2.11. M ₃ reseptörü ile gerçekleşen detrüsör kasılmasının sinyal yolları	23
2.12. Ürotelyal mekanoafferent iletimi ve olası mediatör-transmitter etkileri	24
2.13. Düz kas sarkolemmasında kaveola bandı ve diğer yapısal moleküllerin dağılımı	34
3.1. Hazırlanmış detrüsör şeritleri ve cam elektrot	38
3.2. Deney düzeneği ve kayıt sistemi	38
4.1. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait serum lipit değerleri	45
4.2. Kolesterol grubundaki sıçanlardan birine ait arkus aortanın ışık mikroskopik görüntüsü	46
4.3. Kolesterol grubundaki 3 numaralı sıçanın detrüsör şeritlerinde spontan kasılmalara ait örnek kayıt	46
4.4. Kolesterol grubundaki 5 numaralı sıçanın detrüsör şeritlerinin 80 mM KCl ve elektriksel alan stimülasyonu ile oluşan kasılmaları	47
4.5. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrüsör şeritlerinin 80 mM KCl ile oluşturulan izometrik kasılma cevabı	48
4.6. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrüsör şeritlerinin EAS ile oluşturulan kontrol frekans-cevap eğrileri	49
4.7. Kontrol grubundaki 2 numaralı sıçanın detrüsör şeritlerinde kontrol EAS, atropin (10 ⁻⁶ M) –prazosin (10 ⁻⁷ M) varlığında PPADS (10 ⁻⁴ M) veya	49

- α - β meATP (10^{-5} M) uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan kasılma cevapları
- 4.8. Kontrol (NK) grubundaki sıçan detrüör şeritlerinin kontrol, 50
atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya
 α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan frekans-cevap eğrileri
- 4.9. Kolesterol (HK) grubundaki sıçan detrüör şeritlerinin kontrol, 51
atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya
 α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan frekans-cevap eğrileri
- 4.10. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole 53
detrüör şeritlerinin EAS ile oluşturulan kasılmalara kolinerjik
komponentin katkısı
- 4.11. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole 53
detrüör şeritlerinde atropin (10^{-6} M) –prazosin (10^{-7} M) ve PPADS
(10^{-4} M) varlığında EAS ile oluşturulan kasılmalara pürinerjik
komponentin katkısı
- 4.12. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole 54
detrüör şeritlerinde atropin (10^{-6} M) –prazosin (10^{-7} M) ve α - β meATP
(10^{-5} M) varlığında EAS ile oluşturulan kasılmalara pürinerjik
komponentin katkısı

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Dolaşımdaki şilomikron ve lipoprotein çeşitleri	32
4.1. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarında sıçanların genel metabolik bulguları	44
4.2. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait serum lipit değerleri	45
4.3. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait spontan kasılmaların genliği ve frekansı	47
4.4. Kontrol (NK) grubundaki sıçan detrusör şeritlerinin kontrol, atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan kasılmalar	51
4.5. Kolesterol (HK) grubundaki sıçan detrusör şeritlerinin kontrol, atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan kasılmalar	52

1. GİRİŞ

Kolesterol, başta steroid hormonlar olmak üzere pek çok gerekli maddenin sentezinde öncül molekül olarak yer alır. Kolesterol vücutta serbest ve ester formda olmak üzere iki şekilde bulunur. Hücredeki serbest kolesterolün çoğu plazma zarında olup heterojen bir dağılım gösterir. Kolesterolde zengin, özelleşmiş zar bölgeleri olan lipit raft ve kaveolalarda sinyal proteinlerinin yoğun olarak bulunması nedeniyle, zar kolesterol düzeyindeki değişiklikler sinyal ileti mekanizmalarını ve hücre işlevlerini etkileyebilir. Kolesterol-kaveola ilişkisi ve doku işlevlerine ilişkin araştırmalar daha çok kalp ve damar sisteminde yoğunlaşmaktadır. Mesane duvarındaki detrusör düz kas zarında da lipit raft ve kaveolalar bulunmaktadır. Bu bölgelerin çeşitli sinyal ileti mekanizmaları için platform oluşturması nedeniyle, mesane kasılma cevabının kolesterol değişikliğinden etkilenmesi beklenir.

Mesane işlev bozukluğu, özellikle 40 yaş üstü populasyonda sıklıkla görülmektedir. İlerleyen yaşla beraber hiperkolesterolemi görülme sıklığının arttığı da bilinmektedir. Ancak kolesterol artışının mesane işlevlerine etkisi yeterince incelenmemiştir.

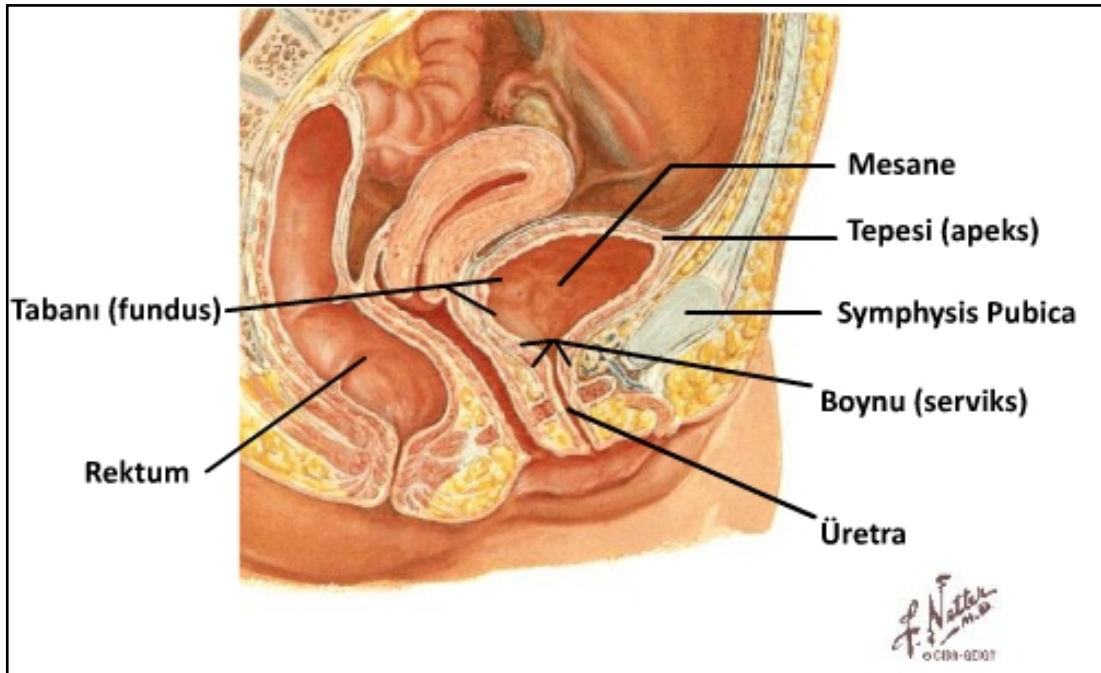
Kan kolesterol düzeyindeki değişiklikler, hücre zarında yer alan kolesterol düzeyini, raft/kaveola bölgelerini ve bu bölgelerle yakın ilişkili sinyal ileti mekanizmalarını dolayısıyla düz kasın işlevlerini etkileyebileceği için hipotezimizi “hiperkolesterolemi, mesane kasılma işlevini etkiler” olarak kurduk. Bu çalışmada hiperkolesterolemi oluşturduğumuz sıçanlarda mesanenin kasılma işlevini, kolinerjik ve pürinerjik sistemin kasılmadaki katkısının değişip değişmediğini *in vitro* olarak incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesanenin Anatomisi ve Histolojisi

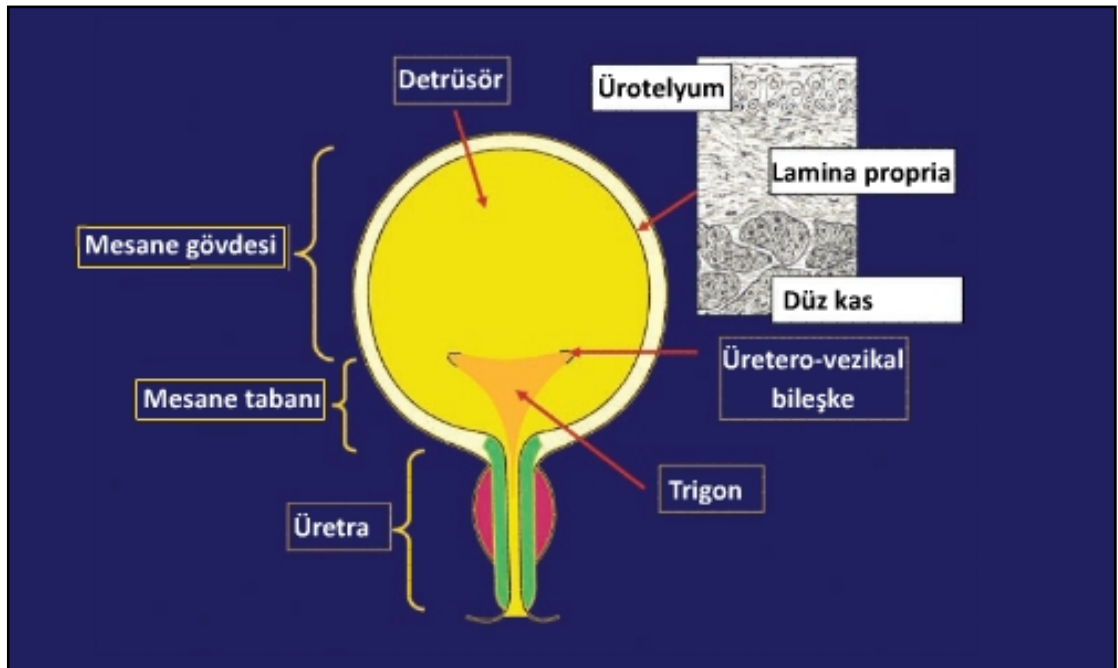
Mesane, pelviste pubis kemiklerin hemen arka tarafında yer alan ve idrarı biriktirerek depo vazifesi gören bir organdır. Şekil ve komşulukları, içinde bulunan idrar miktarına göre değişir. Boş mesanenin şekli piramide benzer. Bir tepesi (apeks), bir tabanı, bir üst, iki de infero-lateral yüzü vardır. Ayrıca bir de boynu bulunur (Şekil 2.1).

Mesanenin apeksi *symphysis pubica*'nın üst kenarının arkasında ön tarafa yakın olarak bulunur. Mesanenin tabanı (*fundus vesicae*) veya arka yüzü üçgen biçimindedir ve arka tarafa bakar. Üst dış köşeler üreterlerle birleşir, alt köşeden ise üretra başlar. Mesanenin üst yüzü tamamen peritonla kaplıdır ve sigmoid kolonla komşudur. Mesanenin infero-lateral yüzleri ise önde retropubik aralıktaki yağ dokusu ve pubis kemikleri ile komşudur. Mesane dolduğu zaman ovoid bir şekil alır ve üst yüz karın boşluğuna doğru yükselir (1). Mesane kapasitesi türler arasında geniş bir değişkenlik göstermektedir. Örneğin mesane kapasitesi insanda yaklaşık 500 ml iken sıçanda yaklaşık 1 ml, farede ise 0,15 ml'dir (2).



Şekil 2.1. Mesanenin anatomik yapısı ve komşulukları (F. Netter'in İnsan Anatomi Atlası'ndan modifiye edilerek kullanılmıştır)

Genel anlamda mesaneyi fizyolojik ve farmakolojik özelliklerine göre iki farklı kısımda inceleyebiliriz. Üreterlerin yukarısında kalan geniş bölgeye mesane gövdesi ya da kubbe adı verilir. Bu bölgede detrüsör düz kaslar yer almaktadır. Daha küçük olan diğer bölge ise üreterlerden üretraya kadar olan kısmı oluşturur. Bu bölgeye de mesane tabanı ya da boynu adı verilir (Şekil 2.2) (2, 3). Temel işlevi idrarı biriktirmek olan mesane, detrüsör ve trigon olmak üzere iki farklı yapıdan oluşur. Detrüsörün birbirlerini serbestçe çaprazlayan düz kas demetleri, mesane boynunda dairesel özellik alarak fonksiyonel bir sfinkter özelliği kazanır. Trigon, üreterlerin giriş deliklerinden mesane boynuna uzanır. Derin trigon detrüsör düz kasının, yüzeysel trigon ise üreter kaslarının uzantısıdır (4). Mesanede uzunlamasına kas liflerine rastlanmıştır. Örneğin sıçan mesanesinin ventral bölgesinin bir kısmında kas lifleri kraniyelden kaudale uzunlamasına, dorsal bölgesindeki kas lifleri ise dairesel bir dağılım göstermektedir (5).



Şekil 2.2. Mesanenin şematik çizimi (2)

Mesanenin dış tabakası elastin lif ve kollajen demetlerden meydana gelen seröz bir tabaka ile örtülüdür. Lümen ise ürotelyum denen koruyucu epitel hücrelerin oluşturduğu müköz bir tabakadan meydana gelir (Şekil 2.2). Ürotelyum aynı

zamanda elastin lif ve kollajen demetlerin rastgele düzenlenerek meydana getirdiği lamina propria adlı tabaka tarafından da desteklenmektedir (6).

Böbrek kaliksleri, pelvis, üreter ve mesane birkaç hücreli tabakadan oluşan değişik epitel ile döşelidir. Bu tabakalar bazal kolumnar hücreler, intermedial kubik hücreler ve yüzeysel skuamöz hücrelerdir. Bu epitel spiral ve uzunlamasına düz kas lifleri ile sarılmıştır. Mesanede detrüör kası olarak adlandırılan bölge düz kas lifleriyle sarılmış değişik epitel ile döşenmiştir. Detrüör kas lifleri rastgele düzenlenmiştir. Mesane boynuna çok yakın yerler dışında bu lifler tabaka oluşturmazlar. Bu lifler mesane boynunda içte uzunlamasına, ortada dairesel ve dışta uzunlamasına olmak üzere 3 tabakadan oluşurlar (7). Mesane boynundaki kas lifleri internal sfinkteri oluştururlar. Bu gerçek bir sfinkter olmayıp kas liflerinin kesişmesiyle oluşan mesane duvarındaki kalınlaşmadır. İnternal sfinkter istemli kontrol altında değildir. Uygun uyarılarla idrar çıkışı tetiklenene kadar mesanenin boşalmasını engelleyici doğal tonusu vardır. Üretra eksternal sfinkter denem çizgili kasları içeren ürogenital diyafram boyunca ilerler. Bu kaslar istemli olarak kontrol edilir. Alt üriner sistemdeki düz kas hücreleri spontan aksiyon potansiyelleri oluştururlar, gerildikleri zaman kasılırlar ve otonomik kontrol altındadırlar (7).

2.2. Mesanenin Kasılma Sistemi

2.2.1. Detrüör Düz Kas Hücreleri:

İnsan detrüörü kollajenden zengin bağ dokusu tarafından çevrili çeşitli kas demetlerinden oluşur. Bu demetler boyut bakımından çeşitlilik gösterirler. İnsanda bu demetler geniştir ve birkaç milimetre çapında olup daha küçük alt demetlerden oluşurlar. Bu demetler buldukları tabakada belirgin bir şekilde düzenlenmemiş olup tüm yönlere doğru dağılım gösterirler. Mesanedeki düz kas hücrelerinin dağılımı ve etkileşimi önemlidir. Çünkü bu durum mesane duvarının nasıl davranacağını belirler. Hücrelerin aktivitesi ile mesane şekli ve intraluminal basınç belirlenir (2). Detrüör düz kası diğer organlarda bulunan düz kaslar ile aynı özellikleri gösterir. Bunlar merkezinde bir tane çekirdek olan iğcik şeklinde uzun hücrelerdir. Bu hücreler tümüyle gevşediğinde birkaç yüz mikron uzunluğunda olup en geniş yerlerinde çapları 5–6 µm'dir. Sitoplazma normal miyofilamentler ile

paketlenmiştir. Membran düzenli olarak yoğun bandlar içerir ve bunların arasında membran vezikülü olan kaveolalar bulunur. Sitoplazmada ise dağınık yerleşimli yoğun cisimcikler, mitokondri ve sarkoplazmik retikulum bulunur (8).

Andersson ve Anders (2)'in belirttiğine göre daha önceki çalışmalarda Emil Bozler düz kasları kasılma davranışına göre tek üniteli ve çok üniteli olmak üzere ikiye ayırmıştır. Bozler'in sınıflandırmasına göre tek üniteli düz kaslar demet ya da tabaka şeklinde düzenlenmişlerdir. Hücre zarları yakın temas noktasına ve yarık bağlantı (*gap junction*; GJ) bölgelerine sahiptir. GJ bölgelerini konneksin alt üniteleri tarafından oluşturulan düşük dirençli yollar meydana getirir. Böylece iyonlar bir hücreden diğerine geçebilir ve oluşan elektriksel uyarı da tüm doku boyunca hızlıca yayılabilir. Tek üniteli kaslarda azınlıkta bulunan bazı liflerde kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşturan uyarı doğurucu (*pacemaker*) hücreler bulunur. Karakteristik olarak tek üniteli düz kaslar gerildikleri zaman sıklıkla kasılarak cevap verir. Çok üniteli düz kaslar ise otonom sinir sistemi tarafından oldukça zengin bir innervasyona sahiptir ve genellikle sinirsel uyarılar ile kontrol edilir. Nadiren spontan aktivite gösterirler. Detrüsör kas birçok yönden tek üniteli düz kas hücresi şeklinde davranırken, yoğun innervasyon ve fonksiyonel olarak sinirsel koordinasyon gerektiren çok üniteli düz kas özelliklerine de sahiptir. Düz kaslar alternatif olarak, membran özelliklerine ve kasılma davranışlarına göre, fazik ve tonik olarak da ikiye ayrılabilir. Mesane tüm bu özelliklere göre nispeten fazik düz kas olarak geçer (2).

2.2.2. Kasılma Birimlerinin Yapısı ve Hücre İskeleti:

Kasılma Proteinleri ve Filamentler:

Düz kasın kasılması diğer kas tiplerine benzer şekilde, kasılma proteinleri olan aktin ve miyozin arasındaki etkileşim sonucu olur. Düz kaslar düzenli sarkomer yapısından yoksundurlar (2).

Düz kastaki aktin konsantrasyonu çizgili kastakine benzer. Vasküler dokular için bu aralık 20 – 50 mg/g düz kastır (9). Bu değer sıçan ve fare mesaneleri için yaklaşık 40 mg/g düz kas olarak geçer (10). Aktinin düz kas için dört izoformu bulunmaktadır. Bunlar α -, β - ve iki adet γ - aktindir. Bulunma yüzdeleri insan için % 33;25;42 (11), sıçan için % 41;19;40 (12) olarak gösterilmiştir.

Miyozin molekülü 6 adet polipeptid zincirinden oluşmuştur. Düz kastaki miyozin konsantrasyonu çizgili kasa göre yaklaşık 3-5 kat kadar daha azdır (10 – 16 mg/g düz kas). Mesane dokusunda bu değer daha yüksek olarak bulunur. Sıçan için yaklaşık 17 mg/g, fare için de 26 mg/g düz kastır (2).

Hücre İskeleti ve Ara Filamentler:

Sitoplazmik iskelet düz kaslarda hücre için yapısal destek sağlamaktadır. Burada kasılma bölgelerine ilaveten hücresel iskeletin yapısını oluşturan ara filamentler, kasılma özelliği olmayan β - ve γ -aktin, filamin ve kalponin bulunmaktadır (13). Hücre zarında sitoplazmik iskeletler, hücre çevresiyle temas kurabilen bölgeler oluştururlar. Yoğun bandlar düz kas hücre adezyon bölgeleridir ve α -aktinin, aktin, filamin, kalponin, vinculin, tensin ve integrin gibi birçok yapısal proteinle ilişkilidir. Bu çok karmaşık ve dinamik yapılar kasılma mekanizmasından elde edilen kuvvetin çevre hücrelere ve matrikse iletilmesinde mekanik olarak rol oynarlar. Ayrıca çeşitli sinyal alma ve oluşturma mekanizmalarında da görev alırlar (14).

Ara filamentler çoğunlukla desmin ve vimentin proteinlerinden oluşmaktadır. İnsan ve sıçan mesanesinde baskın olarak desmin ara filamentleri bulunur (11, 12). Sıçan mesanesinde desminin aktine oranı yaklaşık 0,16'dır (11). Desmin ara filamentleri düz kas hücreindeki aktif kuvvetin iletilmesinden sorumludur. Bunu da muhtemelen kasılma elemanlarını hücre zarına bağlayarak ya da aktif kasılma sırasında yoğun cisimcikleri birleştirerek yapmaktadır.

2.2.3. Aktin-Miyozin İlişkisi:

Kuvvet oluşumu ve kasın kısılması sırasında miyozin çapraz köprüleri aktin ile ilişkiye geçer ve MgATP'nin hidrolizi ile MgADP ve Pi oluşur. Enerji salıverilmesi birçok enzimatik basamak sonucu oluşur (2).

2.2.4. Enerji ve Hücre Metabolizması:

ATP mesane kasındaki kasılma ve gevşeme sırasında gerçekleşen zardaki pompa aktivasyonu, Ca^{+2} 'nin taşınması, fosforilasyon basamakları, çapraz köprü döngüsü gibi birçok farklı olayda olması gerekli bir maddedir. Hücrenin ATP

konsantrasyonu mitokondriyal solunum, glikoliz ve yüksek enerjili fosfokreatin maddesinin dönüştürülmesi ile belirlenir. ATP ve fosfokreatin konsantrasyonu genel olarak düz kasta iskelet kasına göre daha düşüktür (15).

2.2.5. Detrüsör Kasın Mekanik Özellikleri:

Mesane duvarının normal dolun ve boşalma sırasında boyunun uzamasında oldukça fazla değişiklikler meydana gelmektedir. İzole mesane şeritlerinde uzunluk ve mesane duvarının gerimi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan *in vitro* çalışmalar bulunmaktadır (16). Mesanenin pasif viskoelastik özelliği çoğunlukla mesane duvarındaki ekstrasellüler matriks özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Mesanedeki temel ekstrasellüler komponentler elastik lifler ve kollajen fibrillerdir. Bunlar da seröz tabakada, kas demetleri arasında ve de az miktarda kas demetleri içindeki düz kas hücreleri arasında bulunurlar (5). Mesane kasının aktif kuvveti duvarının gerimine bağlıdır. Kas uzunluğu ve aktif kuvvet arasındaki ilişki nispeten belirgindir (17). Filamentlerin örtüşmesi ve çapraz köprülerin etkileşimi kasın uzunluğuna bağlıdır. Ayrıca kas gerimi kısa uzunluklarda uyarılma-kasılma bağlantısını daha az etkilemektedir (18).

Maksimal aktif kuvvet oluşturabilmek için şeritler optimal uzunlukta ayarlanmalıdır. Optimal uzunluktaki detrüsör kas insanda 1 mm^2 'de yaklaşık 200 mN kuvvet oluştururken (17) bu değer sıçanda 1 mm^2 'de yaklaşık 80 mN'dur (16).

2.3. Uyarılma - Kasılma

2.3.1. Kasılma Proteinlerinin Düzenlenmesi:

Düz kasın kasılması hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasıyla oluşur. Temel olarak Ca^{+2} 'un sitoplazmaya girmesi hücre zarından Ca^{+2} kanallarını kullanarak ya da sarkoplazmik retikulum (SR)'dan salıverilerek gerçekleşir. Ca^{+2} 'un SR'den salıverilmesi detrüsör kasın aktivasyonu için en önemli basamaktır. Ca^{+2} 'un bu salıverilmesi inositol trifosfat (IP_3) reseptörleri ve Ca^{+2} ile indüklenen Ca^{+2} salıverilmesini (CIC) gerçekleştiren ryanodin reseptörleri ile sağlanır. Tavşan mesanesinin gerimi sonucu düz kas hücrelerinde ryanodin reseptörleri ile Ca^{+2}

salıverilmesi aktive olmuştur. Bu da gerim duyarlı Ca^{+2} salıverilmesi olduğunu göstermiştir (19).

SR Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) aktivitesi fosfolamban adlı protein tarafından inhibe edilmektedir ve bu proteinin yokluğu mesane kasılmasında değişikliğe neden olmaktadır (20). Bu durum da fosfolamban proteininin mesane kasılmasını düzenleyen faktörlerden biri olduğunu gösterir. Ca^{+2} salıverilmesini aktifleştirmesine ilaveten SR'nin K^{+} kanal aktivitesini düzenleyerek gevşemeyi uyarıcı etkisi de bulunmaktadır (21).

Ca^{+2} 'un kasılma proteinlerini aktifleştirmesi fosforilasyon ile gerçekleşir. Ca^{+2} kalmoduline bağlanır. Oluşan Ca^{+2} / kalmodulin kompleksi miyozin hafif zincir kinaz (MLCK)'ı fosforile eder. Düzenleyici olan bu hafif zincirin defosforilasyonu da miyozin hafif zincir fosfataz (MLCP) ile sağlanmaktadır. Düz kasta Ca^{+2} salıverilmesi ile aktifleşen MLCK ve MLCP temel enzimlerdir. Andersson ve Anders (2)'in belirttiğine göre Kitazawa ve Somlyo Ca^{+2} konsantrasyonu ve miyozin hafif zincir fosforilasyonu arasındaki ilişkinin kasta çok fazla çeşitlilik gösterdiğini ve kasın geçirgen olduğu agonistlerden direkt olarak etkilendiğini göstermişlerdir. MLCP'nin artması ya da azalması Ca^{+2} konsantrasyonundan bağımsız bir durumdur. Ama MLCP aktivitesindeki artış Ca^{+2} 'a duyarlılığı azaltırken, herhangi bir azalma da Ca^{+2} 'a duyarlılığını artırmaktadır. MLCK'nın fosforilasyonu Ca^{+2} / kalmodulin affinitesinin azalmasına ve Ca^{+2} duyarlılığının azalmasına neden olur (22). Ca^{+2} / kalmoduline bağımlı protein kinaz II (CaM kinaz II) MLCK'yı fosforile etmektedir ve bu mekanizma düz kası aktive eden farklı agonistlerle de gerçekleştirilmektedir. Bu durum Ca^{+2} / kalmodulin'in MLCK'nın hızlı aktivasyonunu gerçekleştirmek ve sonrasında yüksek Ca^{+2} / kalmodulin konsantrasyonunda yavaşça inaktivasyonunu sağlamak üzere iki rolü olduğunu ortaya koymaktadır. MLCK ayrıca mitojen aktive edici protein (MAP) kinaz ve p21-aktive edici kinaz (PAK) tarafından da fosforile edilebilmektedir (23). MAP kinazın fosforilasyonu MLCK'yı aktifleştirirken, PAK'ın fosforilasyonu enzimi inhibe etmektedir. MAP kinazın izole düz kas şeritleri üzerine olan etkisi tartışmalıdır.

cGMP ve cGMP-bağımlı kinaz (PKG) Ca^{+2} 'un uyardığı kasılmayı ve Ca^{+2} 'a duyarlılığı inhibe eder ve böylece gevşemeye neden olur (24). Kaldesmon, kalmodulini ve aktini bağlayıcı bir proteindir ve düz kasın kasılma biriminde bulunur

(25). İnce filamentleri bağlayarak tropomiyozin, miyozin ve Ca^{+2} / kalmodulin ile etkileşime sokar (26). Kalponin ilk olarak Takahashi ve diğ. (27) tarafından tanımlanmıştır. Bu protein aktin filamentler ile bağlantılıdır ve düz kasta sitoplazmik iskelette ve kasılma bölgelerinde lokalize olmuştur. Kalponin düz kasta farklı izoformlar içerir. Bunlar kasılma proteinleri, düzenleyici proteinler ve sitoplazmik iskelet proteinleri ile ilişkidir ve aktin-miyozin etkileşimini tropomiyozinden bağımsız olarak inhibe eder (2).

2.4. Membranın Uyarılması

2.4.1. Dinlenim Zar Potansiyeli ve Aksiyon Potansiyel:

Detrüsör kasın elektrofizyolojik özellikleri türler arasında farklılık göstermektedir. Dinlenim membran potansiyeli ortalama olarak tavşanda -37 mV, sıçanda -47 mV, insanda ise -47 ve -55 mV arasında yer almaktadır (2, 28). Yavaş dalga depolarizasyonu ile meydana gelen spontan aksiyon potansiyelleri çeşitli araştırmalarda kobay ve tavşan detrüsör dokularında gösterilmiştir. Benzer aksiyon potansiyelleri insan detrüsör hücrelerinde de gösterilmiştir (2). Spontan aksiyon potansiyelinin frekansı voltaja duyarlıdır. Ateşleme hızı depolarizasyon ile artarken hiperpolarizasyon ile düşmektedir. Aksiyon potansiyelinin depolarizasyon fazı Ca^{+2} 'un hücre içine girişi ile meydana gelir. Repolarizasyon ise Ca^{+2} girişinin inaktivasyonu ve kısmen Ca^{+2} -bağımlı olan dışa doğru K^{+} akımının aktifleşmesi ile gerçekleşmektedir (29).

2.4.2. Ca^{+2} Kanalları:

Detrüsör kasında artan hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun kasılmanın başlaması için gerekli olduğu bilinmektedir. Fakat dışarıdan giren Ca^{+2} 'un mu, yoksa hücre içi depolardan salıverilen Ca^{+2} 'un mu etkili olduğu halen tartışmalıdır. Düz kas için Ca^{+2} kanallarının birçok tipi bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları, reseptör aracılı Ca^{+2} kanalları ve ikincil haberci aracılı Ca^{+2} kanalları örnek verilebilir (30). Ama detrüsör için bilinenler voltaja duyarlı kanallardır (2).

Kobay mesanesi ile çalışan Ganitkevich ve Isenberg (31) depolarizasyon sonunda hücre içine L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığıyla Ca^{+2} girişi olduğunu

göstermişlerdir. Bu da hücre içi depolardan Ca^{+2} salıverilmesini uyarmaktadır. Böylece fazik ve geçici hücre içi Ca^{+2} konsantrasyon artışı olmaktadır. Hücre içine Ca^{+2} girişi -40 mV civarında aktive olup 10 mV civarında en üst noktaya ulaşmaktadır (32). Bununla beraber insan ve domuz detrüsör hücrelerinde karbakol ile gerçekleştirilen muskarinik reseptör stimülasyonunun L-tipi Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} akımını baskıladığı gösterilmiştir (33, 34). Bu durum iki bağımsız mekanizma ile gerçekleşmektedir. İlki Ca^{+2} aracılı olarak Ca^{+2} kanallarının inaktivasyonudur. Bunu sağlayan IP_3 'e duyarlı hücre içi depolardan salıverilen Ca^{+2} 'dur. Diğeri de yine hücre içi Ca^{+2} ile oluşan GTP'ye bağımlı protein aracılığıyla olur (34). Kajioka ve diğ. (33) ise bu baskılanmanın IP_3 uyarımı ile salıverilen Ca^{+2} ile ilgisi olmadığını söylemektedir. Bunun yerine G proteini aracılı mekanizmalar önerilmektedir. Sonuçta detrüsör kasın fizyolojik düzenlemesinde L-tipi Ca^{+2} kanallarının muskarinik reseptör aracılı inhibisyon mekanizması halen bilinmemektedir.

Detrüör kasında yüksek K^+ konsantrasyonu veya uzamış agonist uygulaması ile oluşturulan kasılma cevabı sürdürülememekte ve giderek azalmaktadır. Nakayama ve Brading (35) bu durumun, membranın Ca^{+2} 'a geçirgenliğindeki geçici artış ve Ca^{+2} kanallarının kalıcı depolarizasyon da bile kapanması ile olabileceğini ileri sürmektedir. Bu kanalların Ca^{+2} ile oluşturulan inaktivasyon ile kapanmasının, detrüsör kasılma cevabının fazik yapısını ve tonusunu sürdürmemesini açıkladığı düşünülmektedir.

Deney hayvanı detrüsör dokusu ile yapılan birçok çalışmada temel transmitterler olan asetilkolin (ACh) ve ATP ile hücre dışı Ca^{+2} 'un dihidropiridine duyarlı Ca^{+2} kanalları aracılığıyla içeri girip, hücre içi Ca^{+2} 'un mobilasyonunu sağlayarak detrüsörü aktifleştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca muskarinik reseptör uyarımının, kasılma mekanizmasının Ca^{+2} 'a olan duyarlılığını artırdığı öne sürülmektedir (36).

2.4.3. K^+ Kanalları:

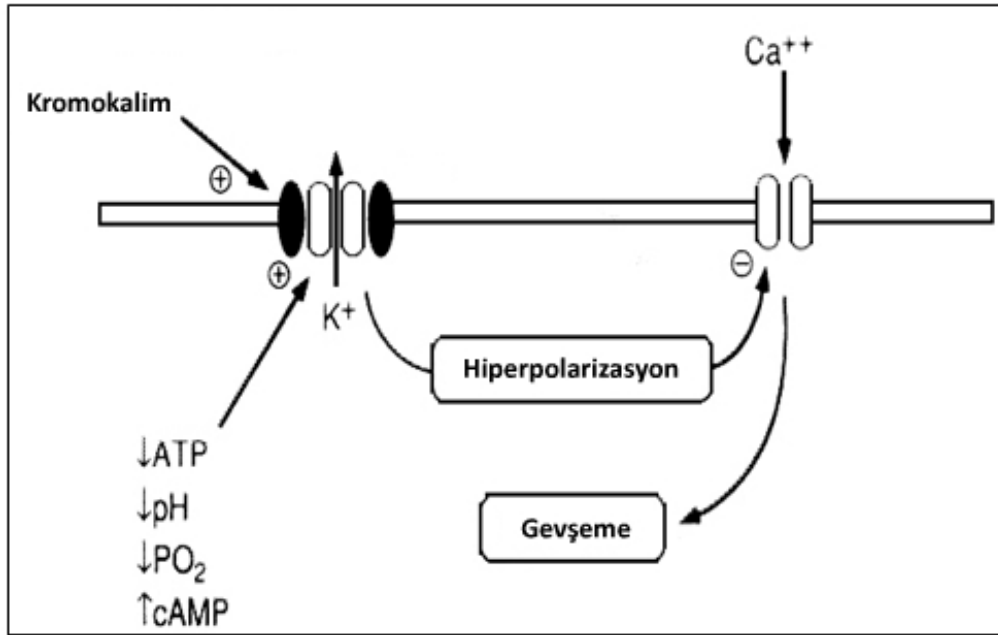
Hem uyarılabilir hem de uyarılamayan hücrelerin dinlenim durumunda sitoplazmalarındaki K^+ konsantrasyonu hücre dışına göre 25 kat daha fazladır. Bundan dolayı K^+ kanallarının açılması dışa doğru bir pozitif iyon akımı oluşturmaktadır. Bu akım sayesinde hücrenin durumuna göre ya repolarizasyon ya da

hiperpolarizasyon oluşmaktadır. Bu nedenle K^+ kanalları depolarizasyonu meydana getiren içe doğru Na^+ , Ca^{+2} girişi ve dışa doğru Cl^- çıkışına karşı fizyolojik antagonist gibi davranmaktadır.

32 adet K^+ kanalını tanımlanmıştır ve bunların birçoğunun düz kasta da eksprese olduğu bilinmektedir. Spesifik olarak ATP'ye bağımlı K^+ kanalları (K_{ATP}), kalsiyum ile aktifleşen K^+ kanalları (BK_{Ca}), voltaj kapılı K^+ kanalları (K_V) ve içe düzenleyici K^+ kanalları (K_{ir}) önemlidir (37).

ATP'ye Bağımlı K^+ Kanalları (K_{ATP}):

Daha önce de bahsedildiği gibi spontan aksiyon potansiyellerinin frekansı voltaja duyarlıdır. Bu yüzden detrüsör kas hücresi membranının hiperpolarizasyonu aksiyon potansiyelinin ateşlemesini ve sonuçta kasılmayı azaltır. K^+ kanal açıcıları (örneğin, kromokalim, pinasidil, nikorandil) K^+ kanallarını açıp dışarı K^+ akışına neden olarak hiperpolarizasyon oluştururlar (Şekil 2.3)(2, 38).



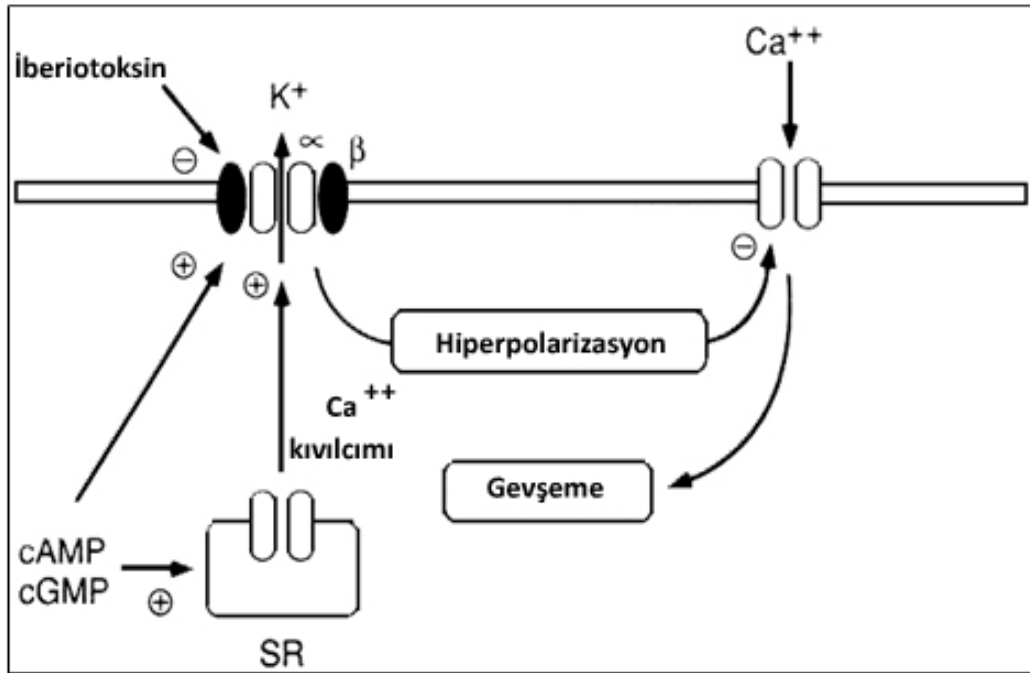
Şekil 2.3. ATP bağımlı K^+ kanalları (K_{ATP}) (38)

İnsan ve çeşitli deney hayvanı türlerinden izole edilen detrüsör kasları ile yapılan çalışmalarda K_{ATP} kanal açıcılarının sadece spontan kasılmaları azaltmadığı,

ayrıca elektriksel stimülasyonu, karbakol ve dışarıdan eklenen düşük dozdaki K^+ ile elde edilen kasılmaları da azalttığı görülmüştür (2).

Ca^{+2} ile Aktifleşen K^+ Kanalları (BK_{Ca}):

BK_{Ca} kanalları membran potansiyelinin kontrolünde ve detrüör kasın kasılmasında önemli rol oynamaktadır (37). Bu kanalların iberiotoxin ile blokajı sonucu aksiyon potansiyelinin ve fazik kasılmaların amplitüdünde ve süresinde uzama oluşmaktadır (Şekil 2.4) (38-40). BK_{Ca} kanal aktivitesi mesane düz kasında başlıca iki faktöre bağlıdır. Bunlar voltaj ve Ca^{+2} konsantrasyonudur. Ca^{+2} konsantrasyonunun yükselmesi ve depolarizasyonun artması sonucu bu kanallar açılmaktadır. BK_{Ca} kanalları genellikle Ca^{+2} 'un kıvılcım formundaki salıverilmesi sonucu aktive olurlar (39). Sıçan serebral arterindeki düz kaslarda meydana gelen her Ca^{+2} kıvılcımını yakınındaki BK_{Ca} kanallarını aktifleştirerek geçici K^+ akımı oluşturur (Şekil 2.4) (38, 41).



Şekil 2.4. Ca^{+2} ile aktifleşen K^+ kanalları (BK_{Ca}) (38)

BK_{Ca} kanalları, poru oluşturan α -alt ünitelerinden ve düz kasa spesifik olan β_1 -alt ünitelerinden meydana gelmektedir. Petkov ve diğ. (42) β_1 -alt ünitelerinden yoksun farelerde yaptıkları çalışmada β_1 -alt ünitelerin, detrüörün kasılmasını kontrol

etmedeki fonksiyonel rolünü göstermişlerdir. Bulgularına göre β_1 -alt üniteleri normal detrusör düz kasında yüksek biçimde eksprese olmaktadır. β_1 -alt ünitelerinden yoksun BK_{Ca} kanallarında aktivite düşmekte ve voltaj/ Ca⁺² duyarlılığı değişmektedir.

BK_{Ca} akımının ölçümleri ve hücre içi Ca⁺² konsantrasyonuna bakarak BK_{Ca} akımının SR'deki ryanodin reseptörlerinden salıverilen Ca⁺² tarafından aktifleştirildiği söylenebilir (39).

K_v Kanalları :

Detrusör hücrelerden yapılan *patch-clamp* kayıtları depolarizasyonla beraber detrusör düz kasının membran dinlenim potansiyeli değerine yakın bir voltajda Ca⁺², dan bağımsız bir K⁺ akımı göstermişlerdir. Bu akım K_v kanal blokörü olan 3,4-diaminopiridin tarafından inhibe edilebilmektedir (2).

2.4.4. Gerimle Aktifleşen Kanallar:

Detrusör kas hücresinde hücre membranının mekanik gerimi nonspesifik kation kanallarını aktifleştirmektedir (43). Bu kanallar Na⁺, K⁺, ve Ca⁺², a karşı benzer geçirgenlik gösterirler. Bu kanallar gadolinyum iyonu (Gd⁺³) ve *grammostola spatulata* zehri tarafından bloklanabilmektedir (44). Eğer dinlenim halindeki hücreler sahip oldukları uzunluğun %20'sinden fazla gerilirlerse bu kanallar vasıtasıyla hücre içine Ca⁺² akımı meydana gelir ve hücre içi Ca⁺² konsantrasyonu anlamlı derecede yükselir. Meydana gelen toplam akım depolarizasyon için yeterli hale gelerek L tipi Ca⁺² kanallarını açarak hücre içine Ca⁺² akımını uyarır (32). Bu yüzden bu kanallar mesane duvarında uzunluk belirleyici bir unsur gibi davranma potansiyeline sahiptirler.

Ji ve diğ. (19) tavşan ve fare detrusörlerinden izole ettikleri hücrelerde, hücre uzunluğunun artması ryanodin reseptörlerinin açılmasını ve SR'den kıvılcım veya artan dalga şeklinde Ca⁺² salıverilmesini gerçekleştirmiştir. Bu salıverilme IP₃ reseptör aracılı Ca⁺² salıverilmesi tarafından etkilenmemiştir ve ryanodin tarafından tamamen bloklanabilmiştir. İlginç biçimde bu salıverilme Ca⁺² ile aktive olan Cl⁻ akımını uyarır. Bu da hücrelerdeki spontan akımın oluşmasında düzenleyici rol oynamaktadır.

2.4.5. Ligand-Bağımlı Kanallar:

Ligand kapılı iyon kanalları birçok hücrede bulunmaktadır ve birçok transmitter/modülatör tarafından kullanılmaktadır. Detrüör kasında ACh ve ATP bu kanallarla daha çok ilgilidir. P2X reseptörlerinin aktivasyonu katyonlar için seçici olmayan bir kanal açar. Bu da genellikle Na^+ ve Ca^{+2} tarafından oluşturulan içe doğru bir akımla depolarizasyon meydana getirir (45).

2.4.6. Miyojenik Aktivite:

Miyojenik aktivite düz kasın herhangi bir dış uyaran olmadan kasılma aktivitesi oluşturabilme yeteneğini ifade etmektedir. Bu da detrüör düz kasın önemli bir karakteristik özelliğidir. Her ne kadar insan mesanesinde GJ bölgelerini göstermek zor olsa da, detrüör düz kas hücrelerinin elektriksel olarak beraber hareket ettiği düşünülmektedir. Hücreler arası iletişimin nasıl olduğu henüz bilinmemektedir (2).

Bir GJ kanalı 12 adet konneksin alt ünitesi proteininden meydana gelir ve kendisini oluşturan konneksin alt ünitesinin molekül ağırlığına göre adlandırılır. Molekül ağırlıkları 26-56 kD arasında olan bir düzineden fazla konneksin alt ünitesi bulunmaktadır. Bu konneksin alt ünitelerine göre homotipik, heterotipik ve de heteromerik olmak üzere üç çeşit GJ bulunmaktadır (46). Mesane de dahil olmak üzere birçok düz kasta homotipik konneksin kanalları bulunmaktadır (47).

GJ kanalları K^+ , Ca^{+2} gibi birçok iyon ve IP_3 , cAMP, cGMP gibi birçok ikincil mesajcı moleküle serbestçe geçirgen olup düz kasın hücre tonusunu düzenlemekte önemli rol oynamaktadır (46). Nöronal aktivite (innervasyon, ateşleme oranları vs.), hücre içi sinyal iletim mekanizmaları (reseptör ve reseptör olmayan moleküllerin aktifleşmesi ile hücre içi ikincil mesajcı moleküllerinin ve iyon seviyelerinin değişimi) ve GJ kanalları ile sinyal iletimi arasında özel dinamik bir etkileşim bulunmaktadır (37).

Çeşitli araştırmalar insan detrüör hücreleri arasında GJ birlikteliği olduğunu göstermiştir. Özellikle trigonal düz kasta yer alan GJ'ler kanıt olarak gösterilebilir. GJ'lerin varlığı, otonom sinir sistemi ve miyojenik hücre içi sinyal iletimi "sinsiyal doku triadı" olarak öne sürülmektedir ve genel olarak düz kas tonusunun lokal modülasyonundan sorumludur (37).

Detrüsör düz kas hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarda spontan bir ritmik aktivite sergilemektedir. İzole detrüsör dokusunun spontan mekanik aktivitesinin frekansı türler arasında çeşitlilik göstermektedir (48). *In vitro* çalışmalarda gösterilen spontan elektriksel aktivite kasılmaları tetrodotoksin (TTX)'e karşı dirençlidir ve de hegzametonyum, atropin, α -adrenoreseptör blokörleri, β - adrenoreseptör blokörleri ya da suramin tarafından bloke edilememektedir. Bu durum bu kasılmaların miyojenik kökenli olduğunu göstermektedir. Kasılmalar L tipi Ca^{+2} kanal blokörleri ve K^{+} kanal açıcıları tarafından etkili bir biçimde inhibe edilebilmektedir (49).

Hücre dışı Mg^{+2} 'un artması spontan kasılma aktivitesini düşürmektedir ve aksiyon potansiyeli ile alakalı içeri olan Ca^{+2} akımını azaltmaktadır. Spontan kasılma aktivitesi spontan aksiyon potansiyelinin oluşumu ya da hücre içi kalsiyumu düzenleyen hücre içi organellerinin değişimi ile ilişkilidir (50).

2.4.7. İnterstisiyal Hücreler:

Andersson ve Anders (2)'in belirttiğine göre Smet ve diğerleri içcik şeklindeki hücrelerin kobay ve insan mesanesinde bulunduğunu göstermişlerdir. Bu hücreler özellikle dıştaki fibromusküler kılıfta olmak üzere kas demetleri boyunca fazla miktarda bulunmaktadır. Aynı zamanda bu hücreler hem afferent hem de efferent sinirlerle yakın temastadırlar. Bu nedenle mesanenin gerim reseptörü gibi davrandığı düşünülmektedir.

2.5. Mesanenin İnnervasyonu

Alt üriner sistemin nöroanatomi periferik innervasyon ve bunu kontrol eden merkezi sinir sistemini kapsar. Periferik innervasyon parasempatik, sempatik ve somatik bileşenlerin eşgüdümü ile sağlanır.

2.5.1. Merkezi Sinir Sistemi (MSS):

Merkezi Sinir Sisteminin Kontrolü:

Fetüs veya yeni doğanda işeme temel olarak spinal refleksi ile gerçekleşir. Yetişkin bir bireyde işeme refleksi beyinde *relay* merkezlerden geçen

spinobulbospinal yolak ile düzenlenir. İşeme alt üriner sistemden gelen afferent sinyallere cevaben meydana gelmektedir. Bu sinyallerde asıl belirleyici olan uyarının mesane duvarının gerimi olduğu düşünülmektedir (51). Mesane dolumu sırasında meydana gelen afferent uyarılar pelvik sinirler aracılığıyla MSS'ye ulaşır. Gelen afferent uyarılar pontin tegmentum ile ilişkide olan periakvaduktal gri maddeye gönderilir. Pontin tegmentum'un işemeyi düzenleyen iki bölgesi tanımlanmıştır. Birincisi dorsomedial tarafta Barrington nükleusu ya da pontin işeme merkezi (PMC) ile aynı tarafta bulunan M-bölgesi. Diğeri ise lateral olarak lokalize olan L-bölgesidir. Bu bölgenin mesane çıkışındaki çizgili kasların aktivitesini düzenlemekte ve mesane kasılmalarını baskılamakta olan bir pontin idrar depolama merkezi gibi davrandığı düşünülmektedir (52).

Transmitter Sistem:

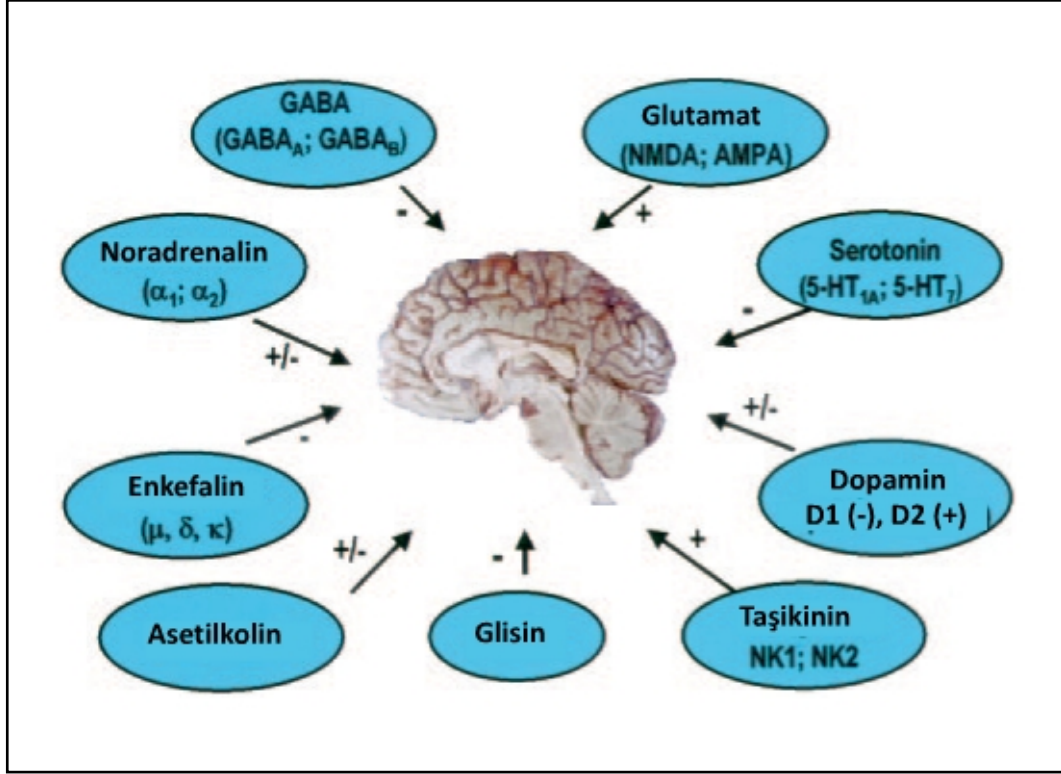
Alt üriner sistemin depolama ve boşaltma fonksiyonlarını düzenleyen birçok MSS nörotransmitteri bulunmaktadır. Bunlara glutamik asit, glisin, enkefalin, serotonin (5-HT), noradrenalin, dopamin ve gama amino bütirik asit (GABA)'i örnek verebiliriz (Şekil 2.5) (53).

Glutamik Asit: Glutamat memeli MSS için majör eksitatör transmitterdir. İşeme refleksinin lumbosakral seviyedeki afferent dalında ve PMC'yi spinal parasempatik nükleusta bulunan pregangliyonik mesane nöronlarına bağlayan yolakta bulunmaktadır (54).

Glisin: PMC'den çıkan sinir liflerinin ulaştığı sakral dorsal gri komissuradaki nöronlarda yer almaktadır. Buradaki ara nöronlar işeme sırasında sfinkterdeki çizgili kasın motor nöronlarında inhibisyon oluşturur (55).

Enkefalin: Enkefalinerjik mekanizma hem beyinde hem de medulla spinaliste işemenin depolama ve boşaltma fazlarının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. PMC'de, sakral parasempatik bölgelerde ve medulla spinaliste Onufrowicz çekirdeğindeki sinir terminallerinde bol miktarda bulunmaktadır.

Andersson ve Anders (53)'in belirttiğine göre De Groat ve diğerleri bu terminallerin işeme refleksi üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.



Şekil 2.5. Beyinde işeme kontrolünü sağlayan transmitter sistemler (53)

Serotonin: Medulla spinaliste serotoninin içeren terminallerin ana kaynağı rafe çekirdeğidir. Lumbosakral otonomik kısımda ve sfinkterdeki motor nükleuslara yoğun bir serotonerjik input ulaşmaktadır. Mesaneye gelen inen bulbospinal yollar için inhibitör rol oynar (53).

Noradrenalin: Andersson ve Anders. (53)'in belirttiğine göre De Groat ve diğerleri lokus seruleusdan orijin alan noradrenerjik nöronların lumbosakral seviyedeki otonom ve somatik çekirdeklere ulaştığını ve mesane dolumunda rol oynadığını söylemişlerdir.

Asetilkolin: Serebral kortekste yer alan kolinerjik yolaklar işeme refleksinde önemli rol oynamaktadır.

Dopamin: Merkezi dopaminerjik yollar işeme üzerinde hem kolaylaştırıcı hem de inhibe edici etkiler göstermektedir.

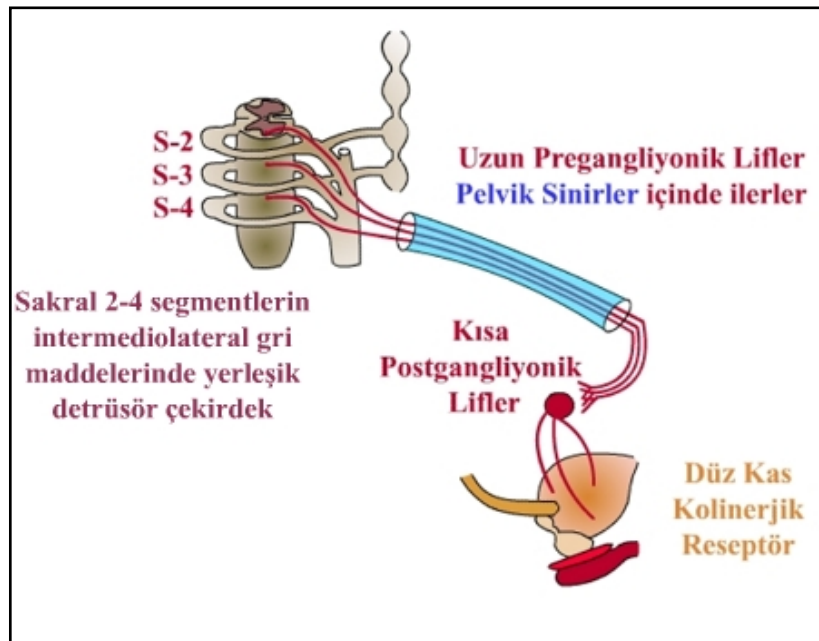
GABA: GABA, memeli MSS'sinde hem spinal hem de supraspinal sinapslarda inhibitör etki gösterir. Andersson ve Anders (53)'in belirttiğine göre De Groat ve diğerleri bazı türlerde supraspinal işeme merkezi yolağının tonik GABAerjik inhibitör kontrolün etkisi altında olduğunu göstermişlerdir.

2.5.2. Periferik İnnervasyon:

Otonom Sinir Sistemi:

Parasempatik İnnervasyon:

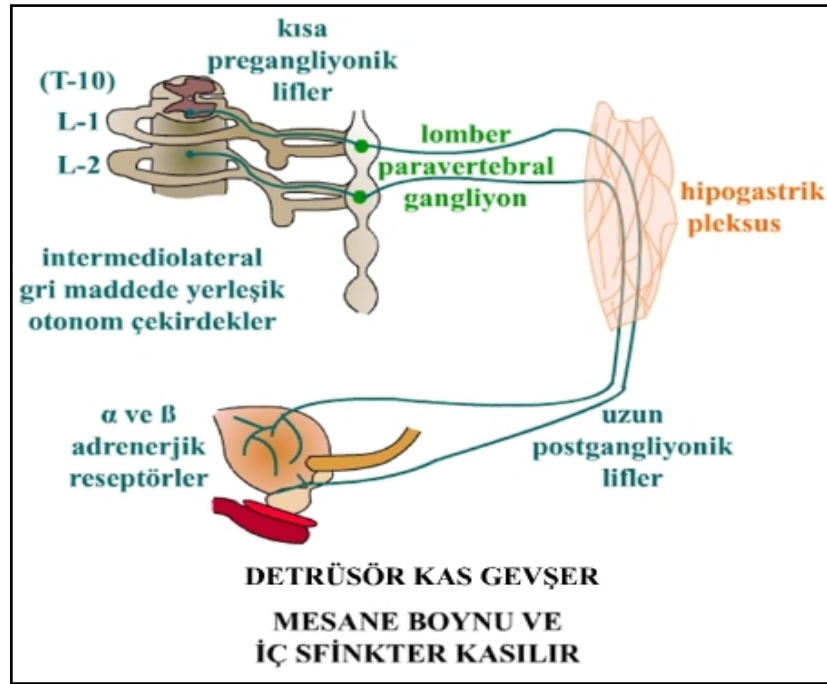
Sakral 2-4 segmentlerinin, intermediolateral gri maddesinde yerleşik detrusör çekirdeğinden başlar. Pregangliyonik lifler pelvik sinirler içinde uzanır ve detrusör kas liflerinin hemen yakınında ya da içinde yer alan ganglionlarda sinaps yapar. Kısa postgangliyonik lifler düz kas kolinerjik reseptörlerine ulaşır ve detrusörü kasar (Şekil 2.6) (4).



Şekil 2.6. Mesanenin parasempatik innervasyonu

Sempatik İnnervasyon:

Sempatik lifler ise torakal 10 ile lomber 2 segmentleri arasında, intermediolateral gri maddede yerleşik otonom çekirdekten başlar. Kısa pregangliyonik lifler lomber paravertebral ganglionlarda sonlanır. Uzun postgangliyonik lifler hipogastrik pleksus içinde uzanarak mesane ve üretradaki α ve β adrenerjik reseptörlere ulaşır. Sonuç olarak detrüsörü gevşetir, mesane boynu ve iç sfinkteri kasarak idrarın depolanmasını sağlar (Şekil 2.7) (4).



Şekil 2.7: Mesanenin sempatik innervasyonu

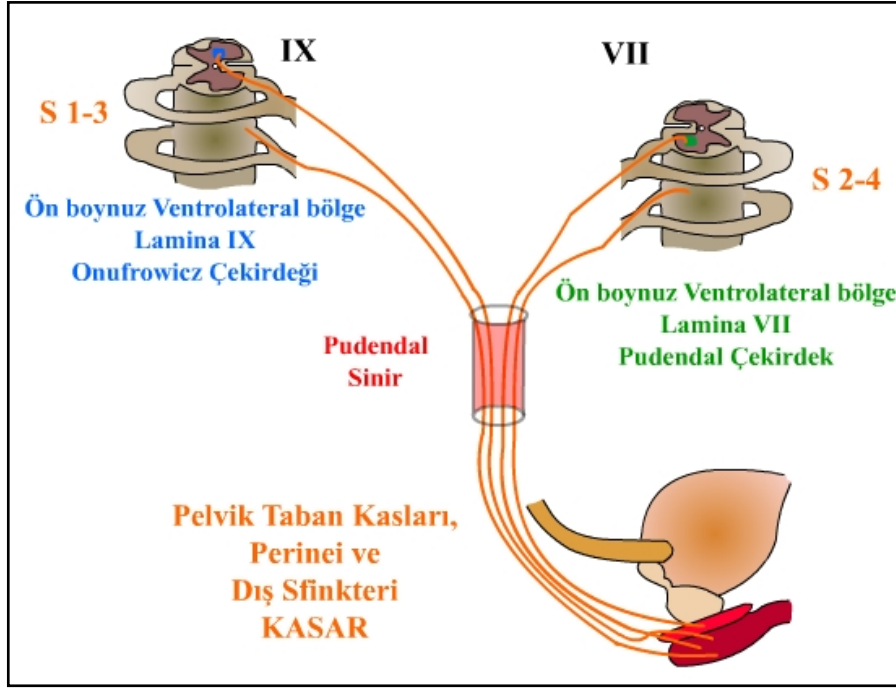
Somatik Sinir Sistemi:

Mesanenin somatik innervasyonu sakral 1-3 ön boynuz ventrolateral bölge lamina IX'da yerleşik Onufrowicz çekirdeği ve sakral 2-4 lamina VII'de yerleşik pudental çekirdekten başlar. Somatik efferent lifler pudental sinir içinde uzanarak pelvik taban kasları, perine ve dış sfinkteri kasar (Şekil 2.8) (4).

Duyu İnnervasyonu:

Mesane ve proksimal üretradan gelen afferent yollar, başlıca pelvik visseral sinirler, az miktarda da sempatik lifler içeren hipogastrik sinirler tarafından MSS'ye

taşınır. Distal üretra ve perinenden kalkan afferent uyarılar ise pudental sinirler yoluyla iletilir. Pelvik sinirler içinde seyreden afferent lifler gerilmeye duyarlı olan ince miyelinli A-delta ($A\delta$) lifleri ve miyelinsiz C liflerinden oluşur (4).



Şekil 2.8. Mesanenin somatik innervasyonu

2.6. Mesane Dolum ve İşeme Mekanizmaları

Normal işeme, duyuşsal bilgi mesanenin dolduğunu ilettiğinde, fiziksel ve sosyal olarak uygun bir zamanda istemli olarak gerçekleşir. İşeme depolama evresi ve boşaltma evresi olmak üzere iki evrede incelenebilir (4).

Depolama evresi boyunca giderek artan sempatik uyarı ve baskılanan parasempatik uyarı yolu ile mesane içi basınç düşük tutulur. Üretral sfinkter elektromiyografi aktivitesi giderek artar (4).

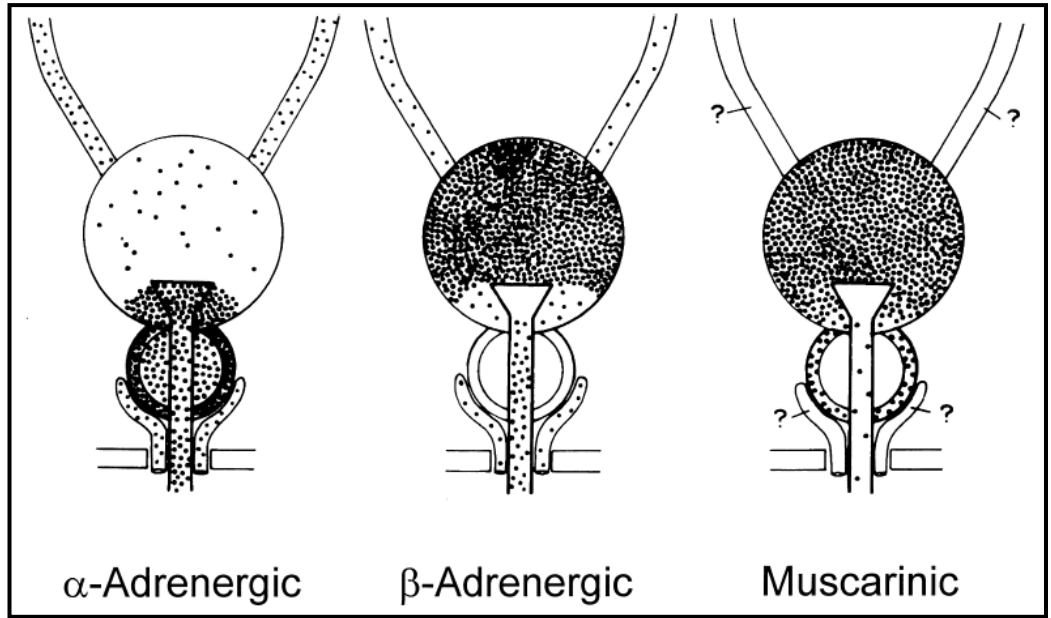
Normal mesane kapasitesi 400-750 ml arasında değişkenlik gösterebilir. İlk doluluk hissi 100-200 ml, doluluk hissi 300-400 ml, acilen boşaltma gereksinimi ve ağrı olarak tanımlanabilen *urgency* ise 400-500 ml’de hissedilir (4, 5).

Depolama evresinde düşük mesane içi basınçlarda hipogastrik-pudental (sempatik) sinirler, yüksek mesane içi basınçlarda ($>15\text{cmH}_2\text{O}$) pelvik-pudental sinirler aracılığı ile detrüsörün refleks inhibisyonu sağlanır (4).

Boşaltma evresinde mesaneden gelen uyarılar ve dorsolateral pons ve mamiller cisimlerde giderek artan aktivite işeme eşiğini düşürür (4, 7). Sfinkter mekanizmasının sakral işeme merkezine refleks inhibisyonu ortadan kalkar, sempatik aktivite inhiye olur, parasempatik yollar aktive olur ve sonuçta detrüör kasılır.

2.7. Mesanenin Nöral ve Hormonal Kontrol Mekanizması

Mesanenin gövdesi ve tabanı arasında fonksiyonel olarak önemli farklar bulunmaktadır. Bunun nedeni otonomik reseptörlerin bu bölgelerde farklı dağılımlar gösteriyor olmasıdır (Şekil 2.9) (6).



Şekil 2.9. Mesanedeki reseptörlerin dağılımı (6)

2.7.1. Kolinergik Sistem:

Muskarinik Reseptörler:

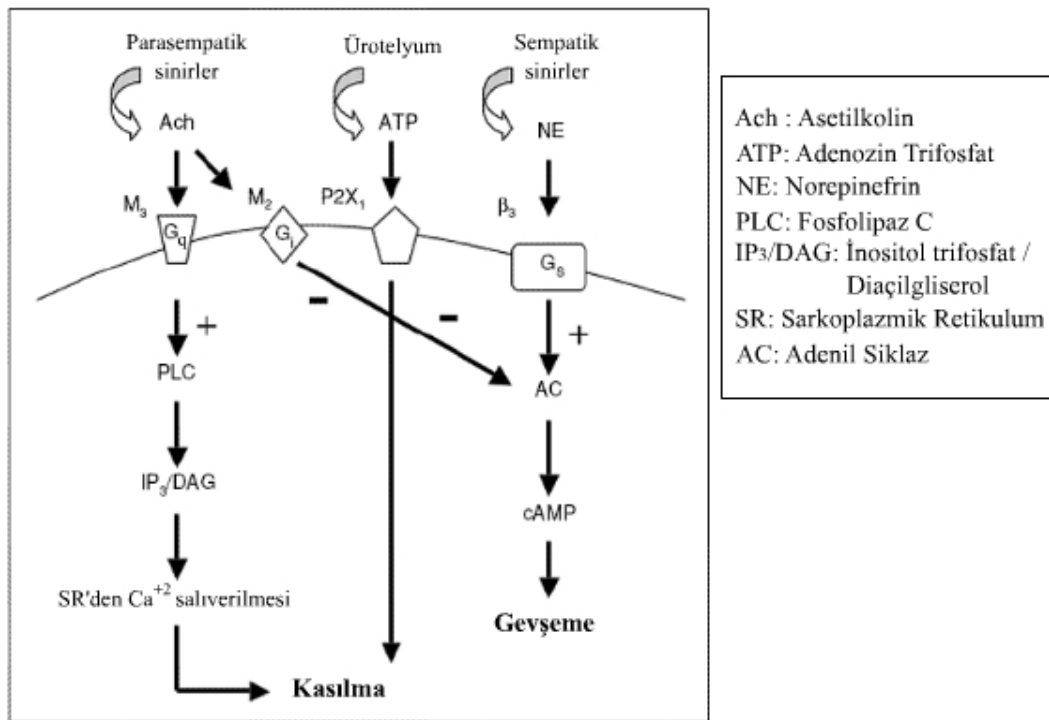
ACh depolarizasyonla birlikte aksiyon potansiyelinin frekansını artırarak kasılma meydana getirir. Bu kasılmalar kolinesteraz inhibitörleri ile artırılırken, atropin ile ortadan kaldırılmaktadır. Bu da kasılmaların muskarinik reseptörlerin uyarılması sonucu olduğunu göstermektedir (2).

Muskarinik reseptörler G proteinleri ile ilişkilidir. Fakat sinyal iletim sistemleri çeşitlilik gösterir. M_1 , M_3 ve M_5 reseptör alt tipleri $G_{q/11}$ ile ilişkilidir. Bu

yolak fosfolipaz C (PLC)' yi aktifleştirerek inositol fosfat devirini artırır. Böylece hücre içi kalsiyumun mobilizasyonu sağlanmış olur. M_2 ve M_4 reseptörler ise $G_{i/o}$ ile ilişkilidir. Bu da adenil siklaz (AC) aktivitesinin inhibisyonuna neden olmaktadır (2).

Detrüsör Kas Üzerindeki Muskarinik Reseptörler:

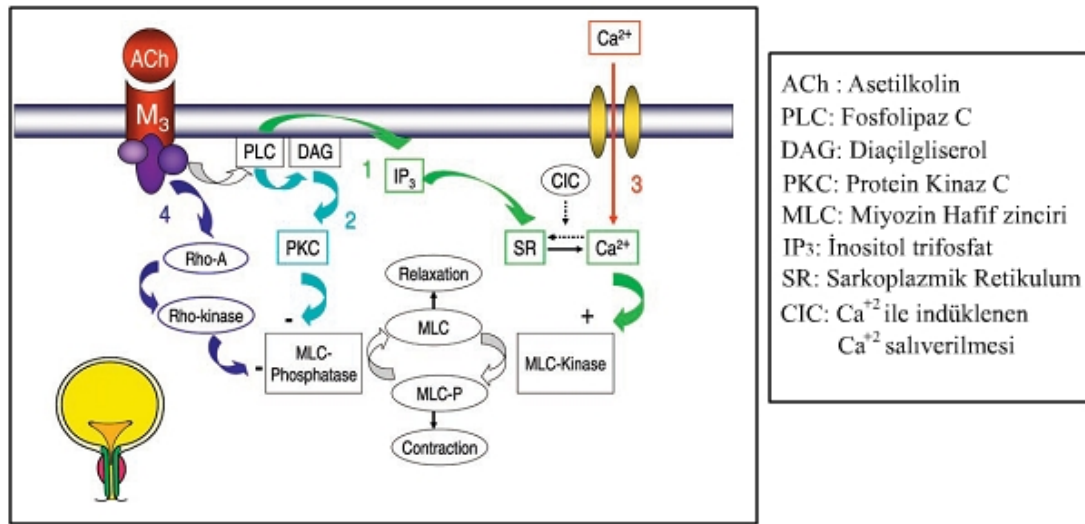
Kolinerjik muskarinik reseptörler tüm mesane boyunca bulunurlar. Mesane gövdesinde yer alan reseptör yoğunluğu mesane tabanına göre daha fazladır. Diğer düz kaslarda olduğu gibi mesanede de muskarinik reseptörlerin heterojen bir dağılımı söz konusudur. M_2 reseptörlerin M_3 reseptörlere oranı 3/1'dir (56). Her ne kadar M_2 reseptörü detrüsör düz kasında sayıca fazla olsa da normal işeme mekanizmasında detrüsör kasılmasını düzenlemede baskın olan M_3 reseptörleridir (57). Mesanede muskarinik reseptörler detrüsör kasa ilaveten ürotelyum ve parasempatik/semptatik sinir sonlanmalarında da bulunmaktadır (Şekil 2.10) (58, 59).



Şekil 2.10. Detrüsör düz kasında ikincil mesajcı sistem (59)

M_3 reseptör stimülasyonu fosfoinositid hidrolizini aktive eder ve L-tipi Ca^{+2} kanalları boyunca hücre dışı Ca^{+2} 'un hücreye akışı ile beraber hücre içi Ca^{+2}

salıverilmesini artırır (60). Artan hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu ve çapraz köprülerin kalsiyuma karşı sensitizasyonu muskarinik reseptör stimülasyonunu takiben detrüsr kasın kasılmasını direkt olarak uyaran mekanizmalardır. Jezior ve diğ. (61)'leri. detrüsr kasın muskarinik reseptör aktivasyonunun seçici olmayan katyon kanalları ve Rho-kinaz aktivasyonu sonucu olduğunu öne sürmüşlerdir. Wibberly ve diğ. (62) ise sıçan detrüsr kasılmasında Rho-kinazın düzenleyici aktivitesini göstermişlerdir (Şekil 2.11).

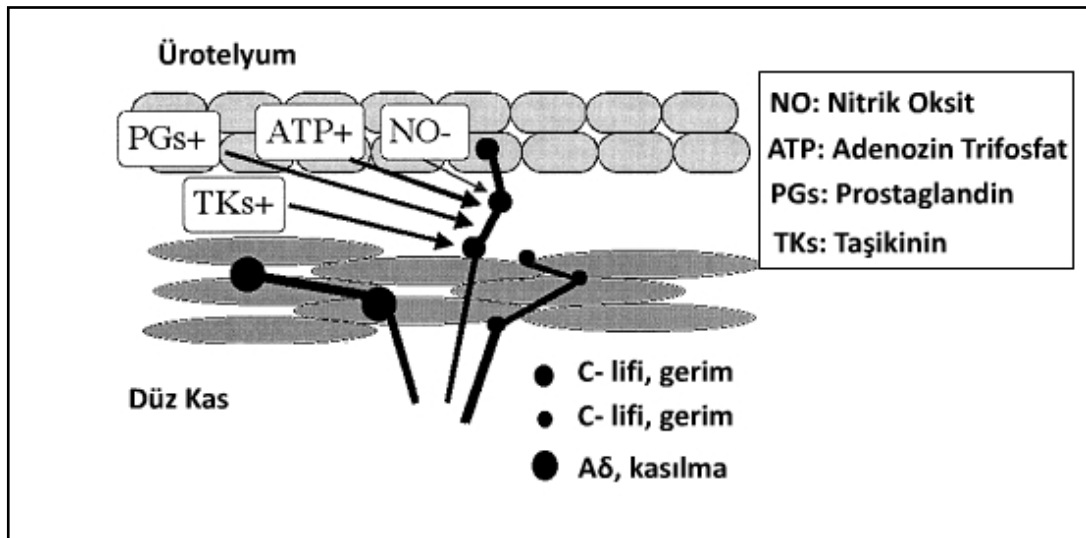


Şekil 2.11. M₃ reseptörü ile gerçekleşen detrüsr kasılmasının sinyal yolları (2)

M₂ reseptörlerinin sinyalizasyon mekanizması M₃ reseptörlerine göre daha az açıklığa kavuşmuştur. M₂ reseptörlerinin sempatik sinir sisteminin düz kası gevşetici etkisine karşı olduğu düşünülmektedir. Bunu da AC'yi inhibe ederek gerçekleştirir (63). Sıçan mesanesinde M₂ reseptörlerinin pürin kaynaklı gevşemeleri düzenlediği gösterilmiştir. M₂ reseptör stimülasyonu spesifik olmayan katyon kanallarının aktifleştirilmesi (64) ve protein kinaz C (PKC)'nin aktivasyonunu sağlayan K_{ATP} kanallarının inhibisyonu ile gerçekleştirilir (65). Nakamura ve diğ. (66)'nin M₂ reseptörleri ve BK_{Ca} kanalları arasındaki fonksiyonel ilişkiyi araştıran çalışmasına göre M₂ reseptör aracılı yolağın sıçan mesane düz kasında M₃ stimülasyonu sonucu başlayan kasılmayı artırıcı yönde etkisi bulunmaktadır.

Ürotelyumdaki Muskarinik Reseptörler:

Mesane de ürotelyumun sadece basit bir bariyer olmadığı hakkında giderek artan kanıtlar bulunmaktadır. Son çalışmalarda ürotelyal hücrelerin basınç gibi mekanik uyarılara karşı duyarlı olduğu, cevap verebildiği ve de bu mekanik uyarıyı sinir sistemine iletebildiği gösterilmiştir (67). Ürotelyum nitrik oksit (NO), ATP, ACh ve diğer mediyatörleri üreterek afferent sinirlerin aktivitesini kontrol etmektedir. Bu yüzden işeme refleksinin başlangıcını oluşturmaktadır (Şekil 2.12) (68). Ürotelyum üzerinde yer alan muskarinik reseptörler bu bölgenin parasempatik innervasyon altında olduğunu düşündürmektedir. Ürotelyal muskarinik reseptör yoğunluğu detrusör kastaki yoğunluktan daha fazladır. Muskarinik stimülasyon sonucu ürotelyal hücrelerden ürotelyum kökenli inhibitör faktör (UDIF) salgılanmakta olduğu varsayılmaktadır. Salgılanan UDIF'in insan ve domuz mesanesinde detrusör kasılmaları inhibe ettiği düşünülmektedir (69).



Şekil 2.12. Ürotelyal mekanoafferent iletimi ve olası mediatör-transmitter etkileri (68)

Parasempatik/Sempatik Sonlanmalardaki Muskarinik Reseptörler:

Parasempatik sonlanmadaki ACh salıverilmesi ve sempatik sonlanmadaki noradrenalin salıverilmesinde muskarinik reseptörler *prejunctional* olarak bulunurlar. M₁ reseptörler ACh salıverilmesini artırırken, M₂ ve M₄ reseptörler transmitter salıverilmesini inhibe etmektedir (70).

2.7.2. Adrenerjik Sistem:

Mesanede α - ve β - adrenerjik reseptörlerin dağılımı fonksiyonel açıdan çok önemlidir. Mesane gövdesi yüksek oranda β - adrenerjik reseptör ve az oranda α - adrenerjik reseptör içerirken, tam tersine mesane tabanı ve üretra yüksek oranda α - adrenerjik reseptör ve az sayıda da β - adrenerjik reseptör içermektedir (6).

β -Adrenoseptörler (β -ARs) ve Gevşeme:

Mesanede adrenerjik sinirlerden salıverilen norepinefrin ile meydana gelen β -ARs stimülasyonu AC'yi aktive eder. Bunun sonucunda cAMP artışı olur. Artan cAMP de protein kinaz A (PKA)'yı aktive eder ve detrüör kasında gevşeme gerçekleşir (53). İnsan detrüör kasında β_3 -AR agonisti ile beraber β_1 , β_2 ve β_3 mRNA'ları da eksprese olmaktadır. β_3 -AR mesanede detrüörün gevşemesinde önemli bir yere sahiptir. Çünkü sempatik sinir sistemi detrüörün refleks aktivitesini inhibe ederek mesane dolumu sırasında idrar depolanmasına katkıda bulunmaktadır (71). Fakat insan mesanesinde β -AR aracılı mesane gevşemesinin nedeni halen bulunamamıştır. Çünkü β -AR blokajının normal insan mesanesinin fonksiyonunda herhangi bir etkisi olmamıştır. Ayrıca norepinefrin sentezi için gerekli olan dopamin β -hidroksilaz yoksunluğu bulunan insanlarda mesane normal işlev görmektedir (2).

α -Adrenoseptör (α -ARs) ve Kasılma:

İnsan mesanesinde α_1 -ARs (α_{1a} ve α_{1d}) varlığı gösterilmiştir ve α_{1d} -ARs'lerin diğer α -ARs'ler arasında baskın ve daha fonksiyonel olduğu düşünülmektedir (72). İzole insan detrüör kasında α -ARs stimülasyonu sonucu zayıf kasılmaların meydana geldiği rapor edilmiştir (71).

2.7.3. NonAdrenerjik NonKolinergik (NANC) Sistem:

Uzun zamandır birçok memeli türünde muskarinik antagonist olan atropine dirençli nöronal mesane kasılmaları olduğu bilinmektedir. NANC aracılı kasılma cevabının toplam kasılma içindeki oranı türlere ve uygulanan stimülasyonun frekansına bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir (2). Atropin, sıçan ve kobaylardan elde edilen şeritlerde (20 Hz frekansta) cevabı yaklaşık %25 oranında azaltmıştır. Bu oran tavşanda % 40, domuzda ise % 75'tir (73).

NANC mekanizmasının insan mesanesinde kasılma aktivasyonundaki rolü tartışmalıdır. Cowan ve Daniel (74)'e göre ACh, insan mesanesinden hazırlanan şeritlerde elektriksel uyarım ile oluşturulan kasılmanın yaklaşık % 50' sinden sorumludur. Sjögren ve diğ. (75) ise mesane cerrahisine uğrayacak kişilerden alınan normal morfolojiye sahip mesane şeritlerinde uyguladıkları elektriksel uyarılarda atropinin % 95'den daha fazla inhibisyona neden olduğunu göstermişlerdir. Sibley (48) tavşan, domuz ve insanda elektriksel alan stimülasyonu kullanarak atropinin etkisini incelediği çalışmasında atropinin insanda sinir aracılı kasılmaların tümünü ortadan kaldırdığını gözlemlemiştir. Bu nedenle insan detrüsöründeki sinir aracılı kasılmanın yalnızca kolinerjik olduğunu düşünmüştür. NANC nörotransmitterlerin katkısının insan ve domuz mesanesinde daha az etkili olduğu gözükmektedir. Tagliani ve diğ. (76) insan detrüsör kasının kronaksisi çok kısa olduğu için atropine dirençli bu kasılmaların direkt olarak düz kasın uyarılması ile gerçekleşmiş olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Pürinerjik Sistem ve ATP:

Pürinerjik sistem mesanenin hem duyuşsal hem de motor fonksiyonunda önemli rol oynamaktadır. ATP ise hem nöronal hem de nöronal olmayan kaynaklardan (ürotelyum) salıverilen uyarıcı bir transmitterdir (2). ATP mesanede mekanik gerim ve elektriksel alan stimülasyonu sonucu salıverilmektedir. Nöronal kaynaklardan salıverilen ATP'nin katkısı (%16) nöronal olmayan kaynaklardan salıverilen ATP'ye (%84) göre daha azdır (77). Nöronal kaynaklı ATP hem adrenerjik hem de kolinerjik sinirlerde sinaptik veziküllerde ko-transmitter olarak bulunmakta ve özellikle kolinerjik uyarıda hızlı yanıtta sorumlu tutulmaktadır (2).

ATP iki pürinerjik reseptör ailesi üzerinde etkilidir. Bunlar iyon kanalı ailesinden P2X ve G-proteini ile kenetli reseptörler ailesinden olan P2Y'dir. P2X'in yedi, P2Y'nin ise sekiz alt tipi tanımlanmıştır. Detrüörün ATP'ye cevabı ligand kapılı katyon kanalı olan P2X reseptörü üzerinden gerçekleşir. Bu reseptör hücre dışı Ca^{+2} 'un hücre içine girmesini sağlar. Üridin trifosfat ve adenozin 5'-O-(2-tiyodifosfat) ise etkilerini G-protein ile kenetli reseptörleri (P2Y₂ ya da P2Y₄) üzerinden gösterirler. Bunlar da fosfolipaz C/IP₃ sinyal yolağı ile düz kasta kasılmayı uyarılmaktadır (78). Tavşan mesanesinde ATP'ye cevap bifazik gerçekleşir. Fakat α,β -

metilenATP ile desensitizasyon sonrası bu cevaplar monofazik hale dönüşmektedir. Bu da etkiden iki farklı reseptörün sorumlu olabileceğini göstermektedir (79).

Farklı P2X reseptörleri için spesifik antikolar kullanılarak yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda sıçan ve fare detrüsör düz kas membranlarındaki baskın alt tipin P2X₁ reseptörü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu reseptörün mesanenin atropine dirençli kasılmalarının esas sorumlusu olduğu düşünülmektedir. İnsanda yapılan çalışmalarda da P2X₁ reseptörünün baskın olduğu gösterilmiştir. Geri kalan alt tiplerin baskınlık sırası ise P2X₁>> P2X₄> P2X₇>> P2X₅> P2X₂>> P2X₃= P2X₆=0 şeklindedir (80). İnsan mesanesinde subürotelyal sinirler üzerinde ve ürotelyumda P2X₂ ve P2X₃ reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (81).

Ferguson ve diğ. (82) tavşan mesane duvarında uygulanan hidrostatik basınç değişikliklerinin ATP salıverilmesini artırdığını göstermiştir. Bu bulgular subürotelyal duysal sinirlerde P2X₃ reseptörlerinin tespit edilmesiyle birlikte ATP'nin mesanedeki duysal rolünü ortaya koymuştur. ATP'nin subürotelyal duysal sinirler üzerindeki P2X₃ reseptörleri ile olan etkileşimi afferent sinyalleri düzenlemektedir. Bu afferent sinyaller duyu / ağrıyı algılamada ve detrüsör kasılması ile sonuçlanan efferent yolağı tetiklemede rol oynamaktadır. Bu nedenle ürotelyumun mesanede mekanosensör bir rolü olduğu söylenebilir (2).

Tüm bu kanıtlar sonucunda NANC komponentin detrüsör kasılmasından sorumlu transmitterinin ATP olduğu ve etkisini P2X reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği söylenebilir.

Nitrik Oksit:

NO alt üriner sistemdeki NANC sistemin inhibitör cevabından sorumludur (2). İnsanda alt üriner yollarda NO sentaz (NOS) tarafından sentez edildiği gösterilmiştir (83). NO'nun üretilmesi ve salıverilmesi ürotelyumda meydana gelmektedir. Buradaki görevi muhtemelen afferent sinirlerin düzenlenmesinde rol oynamaktır (84). NO'nun mesanenin dolum fazında mesane gevşemesi için önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (85).

Protein kinaz G, NO sinyalizasyonunda önemli rol oynamaktadır ve detrüsör kasta kasılabilir elementlerin Ca⁺²'a desensitizasyonunu sağlayarak gevşemeye yol açmaktadır (86). Mesane dolumu sırasındaki gevşeme; parasempatik aktivitenin

inhibisyonu, sempatik aktivitenin stimülasyonu ve NO üretilmesi ile gerçekleşen mesane içi basıncın minimal artışlarıyla olur (59). Bu da NO'nun detrusör düz kas gevşemesinde direkt rol oynamadığını göstermektedir (2).

Histamin ve Serotonin:

Histamin mesane düz kasında bulunan H₁ reseptörü ile mesanenin kasılmasını sağlar (71). 5-hidroksitriptamin (serotonin) ise insanda detrusör düz kas hücrelerinde bulunan 5-HT₂ reseptörü ile etkileşir (87). Düz kas hücrelerinde 5-HT₂'ye cevap direkt etki veya mesanenin otonomik innervasyonundaki indirekt etkisi ile oluşur (71).

Vanilloid ve Reseptörleri:

Kırmızı acı biberden elde edilen kapsaisin maddesi ve kaktüsten (*Euphorbia resinifera*) elde edilen resiniferatoksin (RTX) maddesi vanilloid maddelerdir (88). Vanilloid reseptör tip-1 (VR1) geçici reseptör potansiyelli iyon kanalları ailesine ait olan, Ca⁺² ve diğer iyonlara karşı yüksek geçirgenliği bulunan, seçici olmayan bir iyon kanalıdır (89). Fizyolojik anlamlılığı henüz kesin olmamasına rağmen VR1 reseptörü insan mesanesinde miyelinsiz duyuşal liflerin membranlarında fazla miktarda bulunmakta iken (90) ürotelyal hücre membranlarında daha az bulunmaktadır (91).

VR1 reseptörü 43⁰C'nin üstündeki sıcaklıklarda ve 6'dan düşük pH değerlerinde aktifleşmektedir (92, 93). Fakat VR1 reseptör aktivasyonu için gerekli olan sıcaklık eşik değerinin inflamasyon durumunda proton konsantrasyonu artırılarak 43⁰C' den fizyolojik vücut sıcaklığına düşürüldüğü gösterilmiştir. Bu yüzden VR1 reseptörünün kronik inflamasyonda ağrıyı algılamada rolü olabileceği düşünülmektedir (94).

Intravesikal vanilloidler mikturasyon oluşurken mesane kapasitesini artırır ve böylece inkontinansa eğilimi azaltır (95). Kapsaisin ve RTX duyuşal ağrı afferent nöronlarının periferal terminallerindeki spesifik vanilloid reseptörlerine bağlanırlar. Bunun sonucunda da eksitasyon, desensitizasyon ve nörotoksisite oluşur. Kapsaisin ya da RTX bağlandıktan sonra, VR1 açılır ve nörona Ca⁺² ve Na⁺ girişi

gerçekleşir. Yüksek hücre içi Ca^{+2} seviyesi voltaj duyarlı Ca^{+2} iletimini keser. Bu da metabolik yolağı sonlandırır ve nöropeptid salıverilmesine engel olur (88).

Prostanoidler ve Lökotrienler:

Prostanoidler (prostaglandinler ve tromboksan) siklooksijenaz (COX) enzimi tarafından hem detrüör kasta hem de mesanenin mukozasında lokal olarak sentez edilmektedirler (2). Bu enzimin iki izoformu bulunmaktadır. Birincisi yapısal olan COX-1 diğeri ise uyarılabilir COX-2'dir. Mesanede yapısal form olan COX-1 fizyolojik biyosentezden sorumlu iken, COX-2 inflamasyon sırasında aktive olmaktadır (96). Detrüör kasın gerilmesi gibi çeşitli fizyolojik uyarılar bunların sentezini başlatmaktadır. Buna ek olarak vezikal mukozanın yaralanması, sinir stimülasyonu, ATP gibi ajanlar ve inflamasyon mediyatörleri de sentezi etkiler (97). Prostanoidlerin aktivasyonu membran üzerindeki spesifik reseptörler aracılı olarak gerçekleşir (2).

Khan ve diğ. (97)'nin belirttiğine göre Leslie ve diğ. tavşan üzerinde yaptığı bir çalışmada mesane gövdesinde üretilen prostaglandin (PG)'lerin mesane tabanına göre üretilenlerden anlamlı derecede fazla olduğunu göstermiştir. İnsan mesanesinden yapılan biyopsilerde PG'lerin ve tromboksan A_2 (TxA_2)'nin miktarları belirlenmiştir. Buna göre sıralama $PGI_2 > PGE_2 > PGF_{2\alpha} > TxA_2$ şeklindedir (98). Lökotrien D_4 (LTD_4) insan detrüör düz kasında kasılmaları uyarmaktadır (99).

Nöropeptidler:

Birçok fonksiyonel role sahip nöropeptidlerin insanda alt üriner yollarda sentezlendiğı, depolandığı ve salıverildiğı gösterilmiştir (2). Bunlara vazoaaktif intestinal polipeptid, endotelin (ET), taşikin ve anjiyotensin (ANG) örnek gösterilebilir.

Vazoaaktif İntestinal Polipeptid (VIP):

VIP insan mesanesi de dahil olmak üzere birçok düz kas çeşidinde $VPAC_1$ ve $VPAC_2$ adlı iki tip reseptöre bağlanmaktadır. Her iki reseptörün alt birimleri de stimülatör G proteini (G_s) ile ilişkilidir. VIP'in izole detrüör kası üzerine olan etkisi

türden türe farklılık gösterir. Örneğin insandan elde edilen izole detrusör kas üzerinde spontan kasılma aktivitesini inhibe etmektedir. Fakat muskarinik reseptör stimülasyonu ya da elektriksel stimülasyon sonucu oluşan kasılma üzerine etkisi azdır (100). Tavşandan elde edilen şeritlerde spontan kasılma aktivitesini inhibe etmekte ve gevşeme oluşturmakta iken, sıçan ve kobaydan elde edilen izole detrusör şeritlerde herhangi bir etki göstermemektedir (2).

Endotelin :

İnsan ve hayvan mesanesinde ET'nin varlığı gösterilmiştir. Garcia-Pascual ve diğ. (101) tavşan mesanesinin dış boyuna tabakasında, damarlarında ve submukoza tabakasında ¹²⁵I-ET-1'in bağlanabileceği bölgeler bulmuşlardır. Bağlanabileceği bölgelerin en yüksek yoğunlukta bulunduğu yerler dış kas tabakası ve damarlardır. ET-1 insan ve hayvan detrusör kasında kasılmayı uyarmaktadır. Maggi ve diğ. (102) ET-1 ve ET-3'ün insan detrusör şeritlerinde yavaşça gelişen konsantrasyona bağımlı kasılmalar oluşturduğunu göstermişlerdir. ET-3'ün etkisi ET-1'e göre daha hafiftir. ET detrusör kası üzerindeki kasılma etkisini L-tipi Ca⁺² kanalları ve fosfolipaz C'nin ortak etkisi sonucu göstermektedir (2). Fonksiyonel rolü henüz bilinmemektedir. Kasılmanın yavaş gelişmesi mesanenin boşaltımına doğrudan etki göstermesini engellemektedir. Donoso ve diğ. (103) ET-1'in sıçan mesanesinde transmural sinir stimülasyonu ve ATP uygulaması sonucu elde edilen kasılmaları potansiyelize ettiğini göstermiştir. Buradan yola çıkarak da detrusör nörotransmisyonu üzerinde modülatör etkisi olduğu düşünülmektedir.

Taşikininler:

Taşikininler P maddesi (*substance P*; SP), nörokinin A (NkA) ve nörokinin B (NkB)'yi kapsamakta olup sıçan ve insan dahil diğer memelilerin mesanesinde primer afferent sinirlerde yer alırlar. Kapsaisine duyarlıdırlar (2). Genel olarak afferent fonksiyonlarda rol aldığı kabul edilse de, bu peptidlerin periferik salıverilmesi nörojenik inflamasyonu uyararak detrusör fonksiyonu üzerine önemli etki göstermektedir (104). Taşikininler etkisini Nk1, Nk2 ve Nk3 reseptörleri üzerinden göstermektedir. Bu reseptörler için SP, NkA ve NkB verilen sıraya göre en yüksek affiniteye sahiptir (2).

Anjiyotensinler:

Otokrin/parakrin etkili doku renin-anjiyotensin sistemi mesanede tanımlanmıştır (105). İnsanda izole detrusör düz kasında Anjiyotensin II (ANG II) oluşumu gösterilmiştir (106). ANG II'nin birçok türde mesaneyi kasıcı etkisi vardır (107). Sıçan mesanesinde ANG II'nin AT₁ reseptör-aracılı kasılmaları gösterilmiştir (108). ANG II'nin kasıcı etkisi hücre dışı kalsiyuma karşı oldukça duyarlıdır (106). ANG II'nin detrusör üzerindeki fonksiyonel önemi henüz bilinmemektedir. Ekzojen ANG II'nin kasıcı etkisinin ortaya geç çıkması ve atropine dirençli elektriksel uyarı sonucu elde edilen kasılmaların AT₁ reseptör antagonisti saralasin tarafından tümüyle ortadan kaldırılamaması nedeniyle ANG II'nin bir nöromodülatör olarak davranabileceği düşünülmektedir (107).

2.8. Kolesterol

Kolesterol ilk olarak 1789 yılında safra taşından izole edilmiştir. Hücreler arasında yarı geçirgen bir bariyer oluşturması ve membranın akışkanlığını düzenlemesi açısından önemli bir fonksiyona sahiptir. Kolesterol metabolitlerinin (steroidler ve safra asitleri) sinyal iletimi ve diğer yağlarda çözünbilme gibi önemli biyolojik rolleri bulunmaktadır. Kolesterol hücre zarında heterojen bir dağılım göstermektedir (109).

2.8.1. Membran Kolesterolünün Fonksiyonu:

Kolesterol diğer membran lipitleri ve spesifik proteinlerle etkileşime geçerek hücresel işleyişi etkilemektedir. Dört halkalı yapısıyla önemli biyolojik özelliklere sahiptir. Kohezyon ve paketlemeyle komşu lipitlerin düzenini sağlar. Kolesterol membranda lateral ve transbilayer dağılım göstermektedir (109).

2.8.2. Hücresel Kolesterolün Kaynağı:

Hücresel kolesterolün *de novo* sentezlenen ve diyet ile alınan kolesterol olmak üzere iki kaynağı bulunmaktadır. Vücudumuzdaki tüm kolesterol için *de novo* kolesterol sentezinin katkısının diyet ile alınan kolesterol katkısına oranı yaklaşık 70:30'dur (109).

Kolesterolün *De Novo* Sentezi:

Bütün çekirdekli hücrelerde Asetil KoA'dan mevalonata kadar olan yolakta kolesterol sentezi gerçekleştirilir.

Diyetle Alınan Kolesterol:

Gıdalar içerisinde vücuda alınan kolesterol bağırsaklardan emildikten sonra karaciğere ulaşır. Buradan da tüm vücuda yayılır. Hücreler arası uzun mesafelerdeki transfer kan ve lenf dolaşımı ile sağlanır. Kolesterol enterosit ve hepatositlerde paketlenir ve kolesterol esterleri ile farklı boyutlarda ve kompozisyonda lipoproteinler içinde dolaşıma katılır. Özetle, diyetle alınan kolesterol ince bağırsaktan absorbe edilir ve burada trigliseritlerle birlikte şilomikronlara paketlenir. Dolaşım sırasında bazı trigliseritler hidroliz olur ve apolipoprotein E gibi yeni proteinler eklenerek hepatosit tarafından toplanan şilomikron artıklarını meydana getirir (Tablo 2.1). Hepatositler lipitleri çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) şeklinde dolaşıma salarlar. Daha sonra bunlar dolaşımda düşük dansiteli lipoproteinlere (LDL) dönüşürler. LDL kolesterolü periferik hücrelere ulaştıran temel lipoproteindir. Karaciğer dışındaki dokularda kolesterol doygunluğuna ulaşıldığında hepatik sentez sonucu yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) oluşur. HDL lipitleri karaciğere geri taşır. Karaciğer de lipitleri safraya gönderir. Kolesterolün bir kısmı burada safra asitlerine metabolize olur. Buradan da ince bağırsağa iletilir. En son olarak kolesterol ve safra tuzları ya enterohepatik dolaşım ile geri emilir ya da feçes içerisinde vücut dışına atılır (109).

Tablo 2.1. Dolaşımdaki şilomikron ve lipoprotein çeşitleri (109)

	Çap (nm)	Yoğunluk (g ml⁻¹)	Kolesterol %	Fosfolipit %	Trigliserit %	Protein %
Şilomikron	50-200	<1.006	4	9	85	2
VLDL	30-70	0.95-1.006	20	20	50	10
LDL	20-25	1.006-1.063	45	20	10	25

2.8.3. Hücre Kolesterolünün Düzenlenmesi:

Kan kolesterolünün 2/3'ü LDL partikülleri tarafından taşınır. Bu kolesterol steroid sentezleyen hücreler ve tüm hücrelerin zar yapısı için gerekli olan kolesterolün kaynağıdır. Plazmadaki kolesterolün 1/3'ünün taşıyıcısı olan HDL

molekölü ise kolesterolü zardan uzaklaştırarak safra ile atılmak üzere karaciğere nakleden taşıyıcıdır. HDL yetersizliği veya kolesterolü zardan HDL'ye nakleden ATP-bağlayıcı kaset transporter A1 taşıyıcılarının yokluğunda zarda ve hücrede kolesterol artar. Diğer taraftan LDL ile taşınan kolesterol veya LDL reseptör artışı da zar kolesterol artışının bir başka nedeni olabilir (110).

Sonuç olarak, zar kolesterolü plazma kolesterolündeki artış ve azalışa karşı çok duyarlı olduğundan klinikte hücrede kolesterol birikiminin engellenmesi amacı ile kan kolesterolünün düşürülmesi tedavide esas yaklaşım olarak benimsenmiştir. Ancak hücre içi kolesterol regülasyonunu sadece kan kolesterolüne bağlamak doğru bir yaklaşım değildir.

2.8.4. Kolesterol- Kaveola- Hücre İşlevleri:

Fielding ve Fielding (111)'in belirttiğine göre yaklaşık 40 yıl önce van Deen ve diğerleri hücre zarının biyolojik özelliklerinin serbest kolesterol (FC)'e bağlı olduğunu göstermişlerdir. FC hücredeki transportun hem oranını hem de özgüllüğünü belirlemektedir. Hücre zarlarının biyolojik özellikleri başlıca zarın kolesterol içeriğine bağlıdır. Hücredeki serbest kolesterolün çoğu plazma zarında bulunur ve heterojen bir dağılım gösterir (112) ve diğer bölgelerden farklı olarak lokal bir şekilde FC ve sfingolipit (SPH)'ten zengin bölgeler oluşturmaktadır (113).

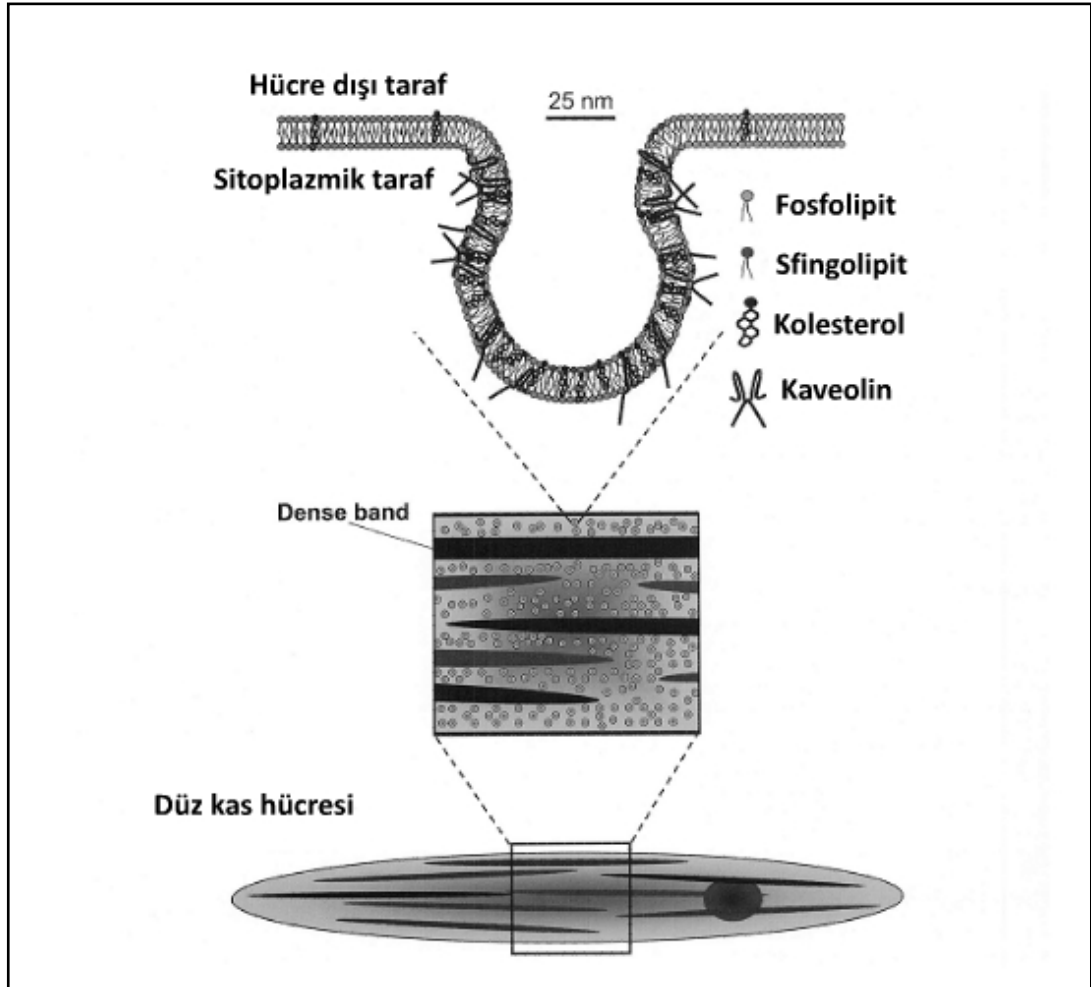
Son 10 yılda yapılan çalışmalarla, canlı hücrelerin çoğunda FC/SPH'den zengin en azından iki farklı mikrobölge bulunduğunu göstermişlerdir . Lipit raftlar ve kaveola olarak adlandırılan bu bölgeler yapıları, stabilite ve protein içerikleri açısından farklılık göstermektedirler (114, 115).

Lipit Raftlar:

Lipit raftlar glikozilfosfatidilinozitol (GPI)-bağlı proteinlerce zengin düzlemsel bölgelerdir ve kaveolanın yapısal proteini olan kaveolin (Cav)'den yoksundurlar. Çok kısa ömürlüdürler (111). Bilhassa lipit tabakasının dış katmanında yer almaktadırlar (116). Kaveolalar ise GPI-bağlı proteinlerden yoksun Cav'lerden zengin invajinasyonlardır. Lipit raftlar ve kaveolalar birbirlerine dönüşemezler (115).

Kaveola:

Kaveolaların morfolojik tanımlanması 1953 yılında elektron mikroskobu kullanılmasının yaygınlaşması ile gerçekleşmiştir. Plazma membranında 50-100 nanometre boyundaki veziküler invajinasyonlar şeklinde oluşurlar ve küçük mağaraları andıran şekillere sahiptirler (117). Cristofaro ve diğ.(118)'nin belirttiğine göre Daniel ve diğ. mesane düz kasında kaveolanın morfolojik gösterimini yaklaşık 25 yıl önce yapmıştır. Kaveola balon şeklinde bir morfolojiye sahiptir. İçinde çok miktarda kolesterol ve SPH bulundurur ve Cav proteinleri tarafından stabilize edilmiş durumdadır (119). Kaveolalar birçok hüresel önemli olayda rol oynar. Bunlar arasında lipit transportunun düzenlenmesi, kolesterol homeostazı, endositoz, epitel ve endotel hücrelerinde transitoz örnek olarak verilebilir (120). Ayrıca kaveola integrin-aracılı hücre hareketi ve adezyonda da önemli rol oynamaktadır (111).



Şekil 2.13. Düz kas sarkolemmasında kaveola bandı ve diğer yapısal moleküllerin dağılımı (121).

Kaveolaların reseptör, kinaz ve fosfolipit gibi birçok sinyal molekülünü bulundurduğu ve onları düzenlediği düşünülmektedir (122).

Cav'ler kaveolalar için yapısal proteinlerdir ve işaretleyici olarak hizmet ederler. Fonksiyonları arasında veziküler trafiği düzenleme, lipit homeostazı ve sinyal iletimi bulunur (117). İnsanda ve deney hayvanlarında Cav-1, Cav-2 ve Cav-3 olmak üzere üç adet Cav eksprese edilmiştir (123). Cav'ler direkt olarak kolesterolü bağlamaktadır. Ayrıca normal kolesterol içeriğine sahip biyolojik membranlardaki kaveola formasyonu için oldukça gereklidir (124). Çizgili kaslarda Cav-1 ve çok az miktarlarda Cav-2, Cav-3 eksprese olurken, düz kasta her üçü de eksprese olmaktadır (121).

Cav-1 G proteini-aracılı sinyal iletimi, Ca^{+2} -aracılı sinyal iletimi, tirozin kinaz sinyal iletimi ve lipit sinyal iletimi gibi birçok major sinyal iletimini modüle etmektedir. Cav-1'in bu modülasyonu ikincil mesajcılara direkt bağlanarak ve onların aktivitesini düzenleyerek yaptığı düşünülmektedir (125).

Kaveolanın yapısal proteini olan Cav'den yoksun fare modellerinde yapılan çalışmalar kaveola ve Cav'lerin özellikle ateroskleroz, kalp hipertrofisi, kardiyomyopati, pulmoner hipertansiyon, neointimal hiperplazi gibi kardiyovasküler sistemle ilgili, ayrıca kanser, diabet, mesane disfonksiyonu ve musküler distrofi olmak üzere çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde etkin bir rolü olduğunu göstermektedir (126). Farelerde Cav-1 ekspresyonunun yokluğu, mesane düz kasının fonksiyonunu yitirmesine neden olur (124, 125). Cav-1 *knock-out* farelerde; *in vivo* sistometrik incelemede mesane kasılmalarının bozulduğu görülmüş, mesane şeritlerinde elektriksel uyarı veya karbokole yanıt olarak oluşan kasılma azalmış, ACh salıverilmesi azalmış, NE ve ATP salıverilmesi değişmemiştir. Sonuçta, Cav-1 yokluğunda mesane kasılmalarının azalması, mesanede M_3 muskarinik kolinerjik aktivitenin bozulması ile ilişkili bulunmuştur (125).

Kolesterol değişikliğinin kasılma ağırlıklı işlev gören organlarda endotel-damar düz kası örneğinden farklı olarak organ işlevine direkt etkisi olabilir. Örneğin kalp kası hücrelerinde yapılan çalışmalarda kaveolaların beta-adrenerjik reseptör-adenilat siklaz-cAMP sinyal ileti yolağının aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynadığı da bildirilmiştir (127).

Zar kolesterolü azaltılarak yapılan çalışmalarda alt üriner sistem düz kas hücrelerinde trombosit kökenli büyüme faktörü ve *transforming growth factor* β_1 'in büyüme üzerine etkilerinde raft ve kaveolaların düzenleyici rolü olduğu gösterilmiştir (128).

Düz kastan yapılı bir organ olan mesane duvarındaki detrusör düz kas zarında da lipit raft/kaveolaların bulunduğu ve bu kolesterolden zengin bölgelerin G proteini ve Rho kinaz-aracılı, reseptör tirozin kinaz aracılı, GTPaz-aracılı sinyaller için platform oluşturduğu dikkate alınır, G proteini ile kenetli reseptörler aracılığıyla etki eden kolinerjik ve adrenerjik ligandlar da dahil birçok agonistlerce oluşturulan mesane cevabının hücre zarındaki kolesterol değişikliğinden etkilenmesi beklenir (121).

2.9. Hipotez ve Amaç

Kan kolesterol düzeyindeki değişiklikler, hücre zarında yer alan kolesterol düzeyini, raft/kaveola bölgelerini ve bu bölgelerle yakın ilişkili sinyal ileti mekanizmalarını, dolayısıyla düz kasın işlevlerini etkileyebileceği için hipotezimizi “hiperkolesterolemi, mesane kasılma işlevini etkiler” olarak kurduk. Bu çalışmada hiperkolesterolemi oluşturduğumuz sıçanlarda mesanenin kasılma işlevini, kolinerjik ve pürinerjik sistemin kasılmadaki katkısının değişip değişmediğini *in vitro* olarak incelemeyi amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 160-210 gram ağırlıkta, 4-7 haftalık, yetişkin erkek, Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar tartıldıktan sonra iki gruba ayrıldı ve Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Biriminde sıcaklığı ve bağıl nemi sabit, havalandırma kontrollü hazırlık odalarında; 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda 4 hafta süreyle beslendi. Tüm hayvanlara *ad libitum* su, kontrol grubuna (NK) standart yem; kolesterol grubuna (HK) kolesterolden zengin yem verildi. Kolesterolden zengin yem standart sıçan yemine % 4 kolesterol (Sigma Chemicals) ve % 0,2 deoksikolat (Merck) eklenerek hazırlandı.

Deney hayvanları dördüncü haftanın sonunda metabolik kafese kondu; 24 saatlik yem, su tüketimi, idrar miktarı ve ağırlık farkları saptandı. Daha sonra Fizyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarına getirilen sıçanlar 16 saatlik açlığı takiben deneye alındı. Deneysel çalışmalar Helsinki Deklarasyonu'na ve Amerikan Ulusal Sağlık Örgütü (USA NIH) tarafından bildirilen Laboratuvar Hayvanlarının Kullanımına ve Bakımına İlişkin Rehber'e uygun olarak gerçekleştirildi.

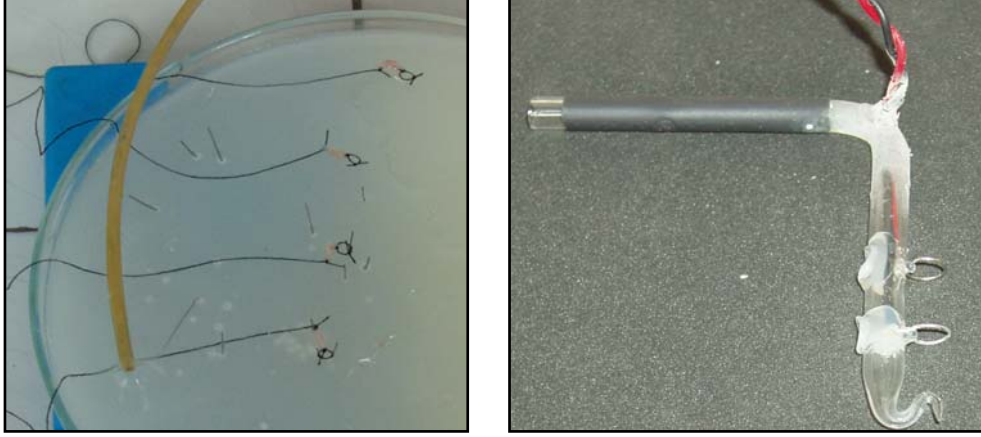
3.1. Cerrahi İşlemler

Eter anestezisi uygulanan hayvanlarda abdominal kesi ile mesaneye ulaşıldı. Mesanenin etrafındaki yağ ve bağ dokusu temizlendikten sonra üreter girişlerinin proksimalinde kalan gövde kısmı çıkartılıp tartıldı ve hemen oksijenlenmiş soğuk Krebs Henseleit tampon çözeltisine alındı. Mesane çıkarıldıktan sonra lipit profili için kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındı. Histopatolojik değerlendirme için 1-1,5 cm'lik arkus aorta dokusu çıkarıldı.

3.2. Mesane Şeritleri ve İzole Organ Banyosu

Mesane gövdesinden 2x10 mm boyutlarında longitudinal düz kas şeritleri hazırlandı. Hazırlanan şeritler cam organ banyosunda bir ucu izometrik kuvvet transdüserine (Biopac FDT05) bağlı olacak ve iki platin halka elektrodun arasında kalacak şekilde vertikal olarak asıldı (Şekil 3.1). 37⁰C'da, % 95 O₂ ve % 5 CO₂ karışımı ile gazlandırılan 15 ml Krebs Henseleit tampon çözeltisinde bir saat süre ile 0,5 g gerim altında, 15 dakikada bir yıkanarak dengelenmeye bırakıldı. Kas şeritlerinin izometrik gerim değişiklikleri kuvvet-yer değiştirme transdüseri (Biopac

FDT05) aracılığı ile bilgisayar-aramalı bir veri toplama ve analiz sistemi (Biopac MP30)'ne aktarılarak kaydedildi ve değerlendirildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Hazırlanmış detrusör şeritleri ve cam elektrot

Dinlenme ve dengelenme dönemini takiben detrusör şeritlerinde kasılma protokolleri uygulandı. Tüm şeritlerde KCl ve elektriksel alan stimülasyonuna bağlı kasılmaların kaydedildiği ilk iki protokolden sonra üçüncü ve dördüncü protokollerde bir şerit zaman-kontrol olarak ayrıldı. Test maddeleri veya çözücü banyoya 150'şer μL hacimde eklendi. Deneyin sonunda mesane şeritleri tartıldı.



Şekil 3.2. Deney düzeneği ve kayıt sistemi

3.3. Kasılma Protokolleri

Dengelenme dönemi sonunda kasılma protokollerinden önce şeritlerin spontan kasılmaları frekans ve genlik yönünden incelendi.

3.3.1. 80 mM KCl ile Kasılma:

Dengelenme dönemini takiben şeritler 80 mM KCl ile kasıldı. Elde edilen maksimum kasılmadan sonra gerimleri dinlenme düzeyine ulaşana kadar üç kez yıkandı ve bunu takiben yaklaşık 50 dk'lık dinlenme ve dengelenme dönemi boyunca her 15 dakikada bir yıkanmaya devam edildi.

3.3.2. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Kontrol Kasılma:

Düz kas şeritlerinin sinirsel yolla kasılmasını sağlamak amacıyla elektriksel alan stimülasyonu (EAS) uygulandı. İki kanallı Grass S88 stimülatör (Grass Instruments Co., USA) kullanıldı. Şeritler 3 dakika ara ile 100 V genliğinde ve 0,15 ms süreli (*duration*) kare dalgalar ile 5 sn boyunca (*train duration*) giderek artan frekanslarda (1-2-5-10-20-40-80 Hz) uyarıldı.

Maksimal kasılma cevabının görüldüğü frekans belirlenip bu frekansta üçer dakika arayla iki kere daha maksimal uyarı gerçekleştirildi. Daha sonra şeritler yıkandı ve bazal çizgiye dönmeleri sağlandı.

3.3.3. Atropin ve Prazosin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Kasılma:

İzole organ banyolarına 10^{-6} M atropin ve 10^{-7} M prazosin eklenerek. 20 dk'lık inkübasyon döneminden sonra EAS uygulaması gerçekleştirildi. Daha sonra şeritler yıkandı ve bazal çizgiye dönmeleri sağlandı.

3.3.4. Pürinerjik Antagonist Varlığında veya Pürinerjik Agonist ile Desensitizasyondan Sonra Elektriksel Alan Stimülasyonu:

Dördüncü protokolde şeritlere atropin ve prazosin varlığında pürinerjik antagonist veya agonist ile desensitizasyon ve EAS uygulandı.

Atropin - Prazosin ve Piridoksal Fosfat-6-azo(benzen-2,4-disulfonik asit) tetrasodyum salt hidrat (PPADS) Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Kasılma:

İzole organ banyolarına 10^{-6} M atropin ve 10^{-7} M prazosin varlığında 10^{-4} M PPADS eklendi. 40 dk'lık inkübasyon döneminden sonra EAS parametreleri uygulandı.

Atropin - Prazosin ve α,β -Metilenadenozin 5'-trifosfat lityum tuzu ($\alpha\beta$ meATP) Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Kasılma:

İzole organ banyolarına 10^{-6} M atropin ve 10^{-7} M prazosin varlığında 10^{-5} M $\alpha\beta$ meATP eklendi. On dakika aralıklarla, desensitizasyon gerçekleşene ($\alpha\beta$ meATP uygulaması ile şeritlerde kasılma gözlenmeyene) kadar 10^{-5} M $\alpha\beta$ meATP eklendi. Desensitizasyon gerçekleştikten 10 dk sonra EAS parametreleri uygulandı.

3.4. Kolesterol Tayini

Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Laboratuvarına gönderilen kan örneklerinde tanı amaçlı kitler kullanılarak Roche/Hitachi modüler sistem otoanalizörlerle serum lipit profili (toplam kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, VLDL) belirlendi.

3.5. Histopatolojik İnceleme

Çıkarıldıktan hemen sonra % 10 formaldehit çözeltilisinde tespit edilen aorta dokuları, hemotoksilen-eozin ile boyanıp ışık mikroskopunda aterosklerotik değişiklikler yönünden değerlendirildi.

3.6. Çözelti ve Test Maddeleri

3.6.1. Krebs Henseleit Çözeltisi:

Fizyolojik çözelti olarak kullanıldı. İçeriğini 118,4 mM NaCl; 4,7mM KCl; 1,2 mM KH_2PO_4 ; 1,2 mM MgSO_4 ; 25,0 mM NaHCO_3 ; 2,5 mM CaCl_2 ; 12,2 mM glukoz oluşturdu. pH 7,35–7,40 arasında ayarlandı.

3.6.2. Yüksek Potasyumlu Krebs Henseleit Çözeltisi:

Nonspesifik depolarizan etken olarak 80 mM KCl kullanıldı. Uygulanan Krebs Henseleit çözeltisinin osmolaritesini sabit tutmak amacı ile NaCl miktarı, eklenen KCl ile aynı molar konsantrasyonda azaltıldı. 43,1 mM NaCl; 4,7mM KCl; 80 mM KH₂PO₄; 1,2 mM MgSO₄; 25,0 mM NaHCO₃; 2,5 mM CaCl₂; 12,2 mM, pH 7,35–7,40.

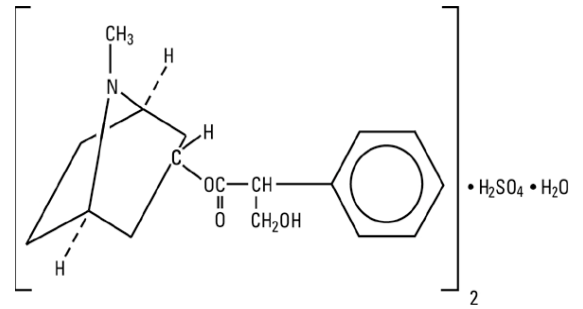
3.6.3. Kullanılan Test Maddeleri:

Atropin Sülfat:

Merkezi ve periferik muskarinik ACh reseptörlerinin nonselektif kompetitif antagonistidir.

Kapalı formülü: (C₁₇H₂₃NO₃)₂·H₂SO₄·H₂O

Molekül Ağırlığı: 694,84



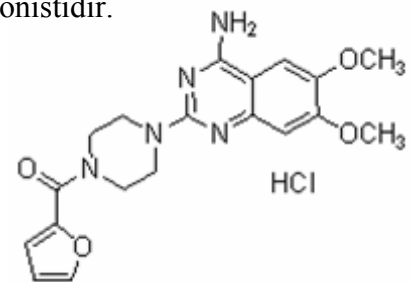
Kimyasal Formülü

Prazosin Hidroklorid:

Periferik α -1 adreseptörlerin kompetitif antagonistidir.

Kapalı formülü: C₁₉H₂₁N₅O₄·HCl

Molekül Ağırlığı: 419,86



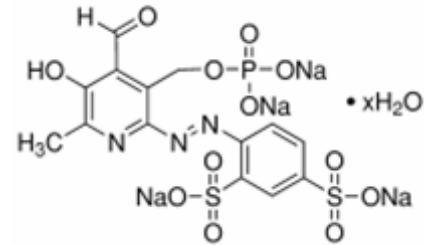
Kimyasal Formülü

Piridoksal Fosfat-6-azo (benzen-2,4-disulfonik asit) tetrasodyum salt hidrat (PPADS):

Hem *pre-* hem de *postjunctional* etki gösteren nonselektif P2 purinoreseptör antagonistedir.

Kapalı formülü: $C_{14}H_{10}N_3Na_4O_{12}PS_2 \cdot xH_2O$

Molekül Ağırlığı: 599,31



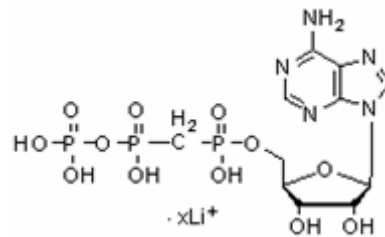
Kimyasal Formülü

α,β -Metilenadenozin 5'-trifosfat lityum tuzu ($\alpha\text{-}\beta$ meATP):

Selektif P2X reseptör agonisti

Kapalı formülü: $C_{11}H_{18}N_5O_{12}P_3 \cdot xLi^+$

Molekül Ağırlığı: 505,21



Kimyasal Formülü

Tüm tüm test maddeleri *Sigma Chemical Company*'den sağlandı. Stok çözeltiler için tüm test maddeleri distile su ile çözüldü. Deney günü kullanılacak olan test maddelerinin son konsantrasyonları Krebs Henseleit çözeltisi ile hazırlandı. Deney protokollerinde test maddelerinin banyo çözeltisindeki son konsantrasyonları belirtildi.

3.7. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz

Tüm deney kayıtları Biopac MP30 yazılımının 3.6.7 versiyonu kullanılarak analiz edildi. Kasılmaların frekans ve genlik yönünden analizi için “frekans” ve “*peak to peak* (p-p)” parametreleri kullanıldı.

NK ve HK grupları karşılaştırılırken spontan kasılmalar ve uyarana bağlı kasılma cevapları birim doku ağırlığına düşen kasılma büyüklüğü (g/100 mg doku) olarak hesaplandı. Uygulanan test maddelerinin EAS'ye bağlı kasılmalar üzerine

etkisi her grupta kontrol şartlarındaki maksimum cevabın yüzdesi şeklinde hesaplandı. Sonuçlarda hayvan sayısı ve şart sayısı sırasıyla N ve n olarak belirtildi.

Verilerin istatistiksel analizinde Windows için SPSS 15.0 istatistik paket programı kullanıldı. Tüm veriler ortalama \pm standart hata (ort \pm SH) olarak ifade edildi. $P < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analiz öncesinde tüm veriler normal dağılım açısından test edildi.

Genel metabolik özellikler, vücut ağırlığı, mesane ağırlığı, serum lipit profili ve spontan kasılmalar, KCl ile uyarılan kasılmalar açısından gruplar arası fark bağımsız gruplar için *Student's t*-testi ile karşılaştırıldı.

NK ve HK gruplarında EAS'ye bağlı frekans cevap eğrileri tekrarlı ölçümler için varyans analizi (*ANOVA for repeated measures*) ile karşılaştırıldı. Farklılıklar *Post-hoc Tukey* testi ile değerlendirildi.

Test maddelerinin etkisi NK ve HK grupları arasında ve her grubun kendi içinde her frekans için bağımsız gruplar için *Student's t*-testi ile değerlendirildi.

3.8. Etik Kurul İzni

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 9 Haziran 2008 tarih ve 2008/50-4 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra deneylere başlandı.

4-BULGULAR

4.1. Genel Metabolik Bulgular

Sıçanların dört haftalık beslenme süresince vücut ağırlığında görülen artış ve dört haftanın sonunda metabolik kafeste ölçülen 24 saatlik ağırlık farkı, yem tüketimi, su tüketimi ve idrar miktarı Tablo 4.1’de görülmektedir. Tüm değerler için gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark yoktu.

Tablo 4.1. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarında sıçanların genel metabolik bulguları (ort \pm SH).

	NK	HK
Ağırlık Artışı (g/4 hafta)	101,7 \pm 19,5	141,7 \pm 13,3
Ağırlık Farkı (g/24 saat)	1,9 \pm 2,6	-3,7 \pm 2,6
Yem Tüketimi (g/24 saat)	20,3 \pm 2,5	19,7 \pm 2,5
Su Tüketimi (mL/24 saat)	43,3 \pm 2,1	32,5 \pm 3,1
İdrar Miktarı (mL/24 saat)	16,5 \pm 1,3	12,7 \pm 0,8

Mesane ağırlığı vücut ağırlığına göre düzeltildi. NK ve HK gruplarında sırasıyla 31,4 \pm 2,4 ve 26,2 \pm 1,5 mg/100g vücut ağırlığı olarak hesaplandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

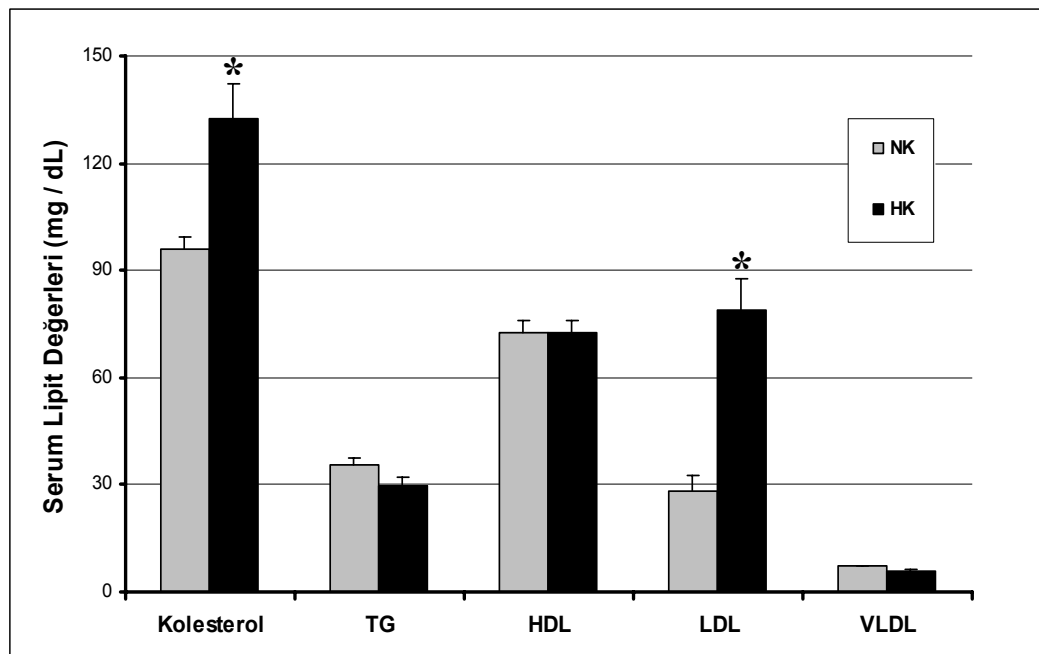
4.2. Serum Lipit Profili

Sıçanların serum lipit değerleri Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de görülmektedir. HK grubunda ölçülen toplam kolesterol ve LDL düzeyi NK grubuna göre anlamlı biçimde yüksekti. Trigliserid, HDL ve VLDL değerleri arasında fark yoktu.

Tablo 4.2. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait serum lipit değerleri (mg/dL, ort ± SH).

	NK	HK
Toplam Kolesterol	95,8 ± 3,7	132,7 ± 9,5 *
Trigliserid	35,7 ± 2,0	29,5 ± 2,9
HDL	72,8 ± 3,1	72,8 ± 3,1
LDL	28,2 ± 4,3	78,7 ± 9,2 *
VLDL	7,1 ± 0,4	5,9 ± 0,6

* $P < 0,05$ NK grubuna göre

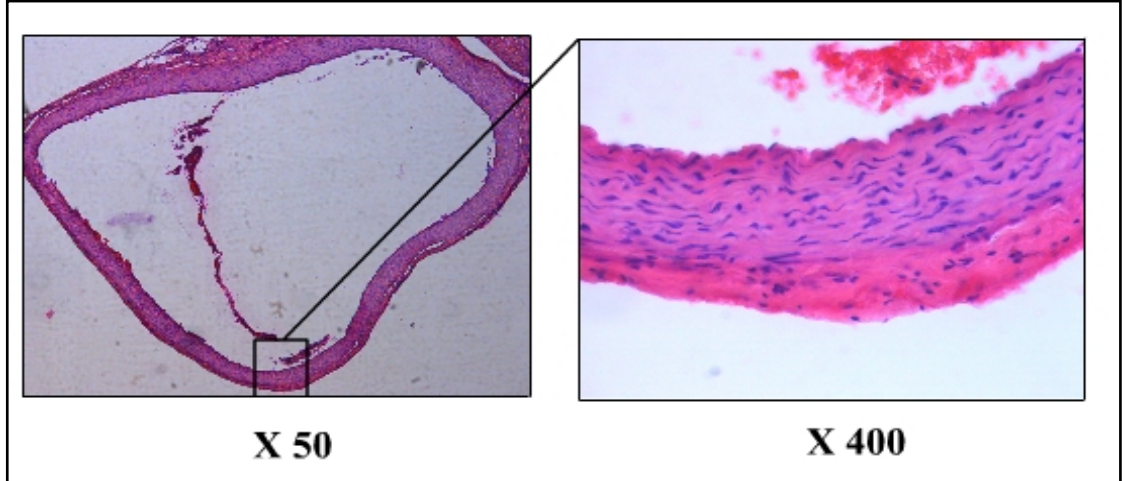


Şekil 4.1. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait serum lipit değerleri. TG, trigliserid; HDL, yüksek dansiteli lipoprotein; LDL, düşük dansiteli lipoprotein; VLDL, çok düşük dansiteli lipoprotein.

* $P < 0,05$ NK grubuna göre

4.3. Histopatolojik İnceleme:

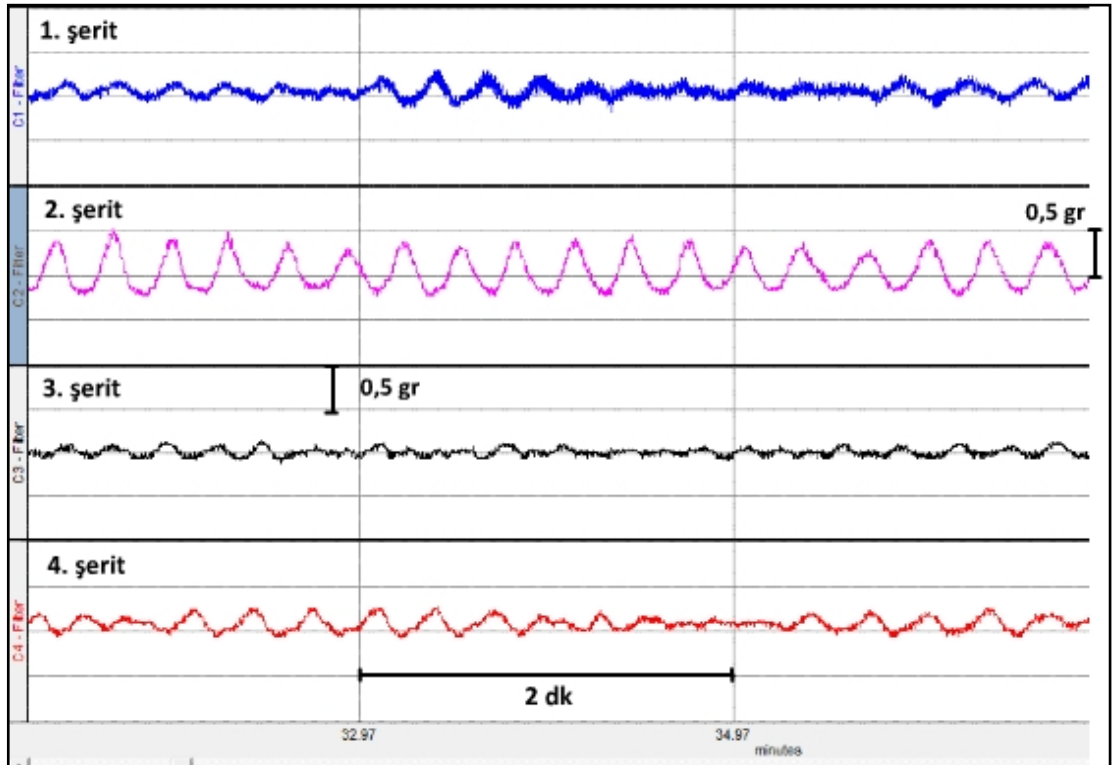
Sıçanların aortalarında makroskopik olarak herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Hematoksilen-eozin ile boyanan aorta preparatlarının mikroskopik incelenmesinde ateroskleroza ilişkin bir değişiklik saptanmadı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kolesterol grubundaki sıçanlardan birine ait arkus aortanın ışık mikroskopik görüntüsü. Hematoksilen-eozin, x 50 ve x 400'lük büyütme

4.4. Spontan Kasılmalar

Şekil 4.3'deki kayıt örneğinde öngerim altında dengeye getirilen düz kas şeritlerinin spontan kasılmaları görülmektedir.



Şekil 4.3. Kolesterol grubundaki 3 numaralı sıçanın detrusör şeritlerinde spontan kasılmalara ait örnek kayıt.

HK grubunda spontan kasılmaların genliği daha yüksek olmakla birlikte genlik ve frekans yönünden iki grup arasında fark yoktu (Tablo 4.3).

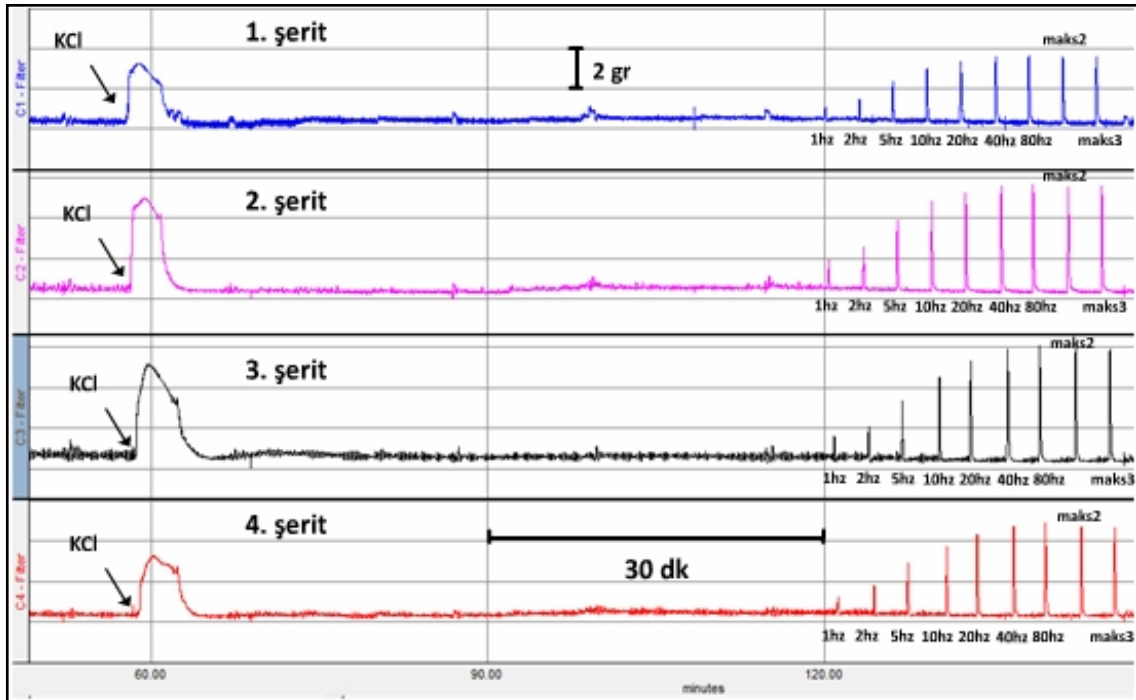
Tablo 4.3: Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait spontan kasılmaların genliği ve frekansı (ort \pm SH).

	Genlik (g/100 mg doku)	Frekans (Hz)
NK	1,4 \pm 0,2	0,06
HK	2,0 \pm 0,4	0,06

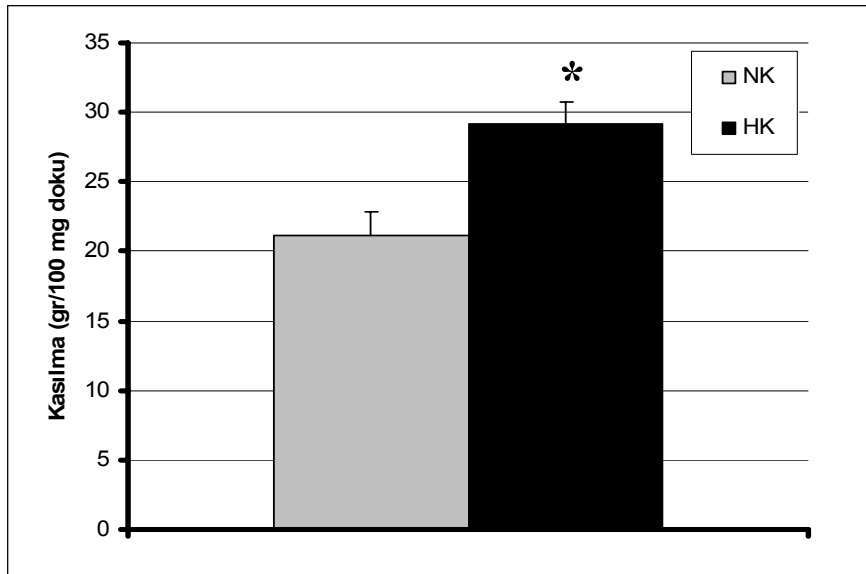
Her iki grupta da n/N=24/6

4.5. KCl ile Uyarılan Kasılmalar

KCl (80 mM) ile kasılan detrusör şeritlerine ait kayıt örneği Şekil 4.4.'de görülmektedir.



Şekil 4.4. Kolesterol grubundaki 5 numaralı sıçanın detrusör şeritlerinin 80 mM KCl ve elektriksel alan stimülasyonu ile oluşan kasılmaları.



Şekil 4.5. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrüör şeritlerinin 80 mM KCl ile oluşturulan izometrik kasılma cevabı. Her iki grupta da n/N=24/6

* $P < 0,05$ NK grubuna göre

İzole detrüör şeritlerinde 80 mM KCl ile oluşturulan kasılma cevabı NK grubunda $21,2 \pm 1,6$ g/100 mg doku; HK grubunda $29,1 \pm 1,7$ g/100 mg doku idi (Şekil 4.5). HK grubunda meydana gelen kasılma NK grubuna göre yüksekti ($P < 0,05$).

4.6. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Oluşturulan Kasılmalar

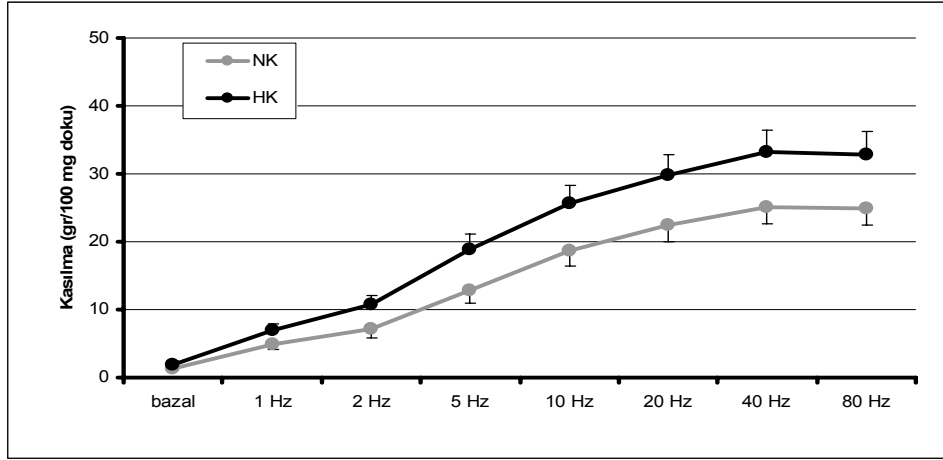
4.6.1. Kontrol Frekans-Cevap Eğrisi ve Maksimal Kasılma:

EAS izole sıçan mesanesi detrüör kasında her iki grupta da frekansa bağlı olarak kasılmalara yol açtı. EAS'nin oluşturduğu kasılma cevaplarında maksimum kasılmalar 40Hz de gerçekleşti.

40 Hz'lik uyarıyla oluşan üç maksimal cevabın ortalaması NK grubunda $25,1 \pm 2,4$ g/100 mg doku; HK grubunda $32,9 \pm 3,4$ g/100 mg dokudur. Gruplar arasında fark yoktu.

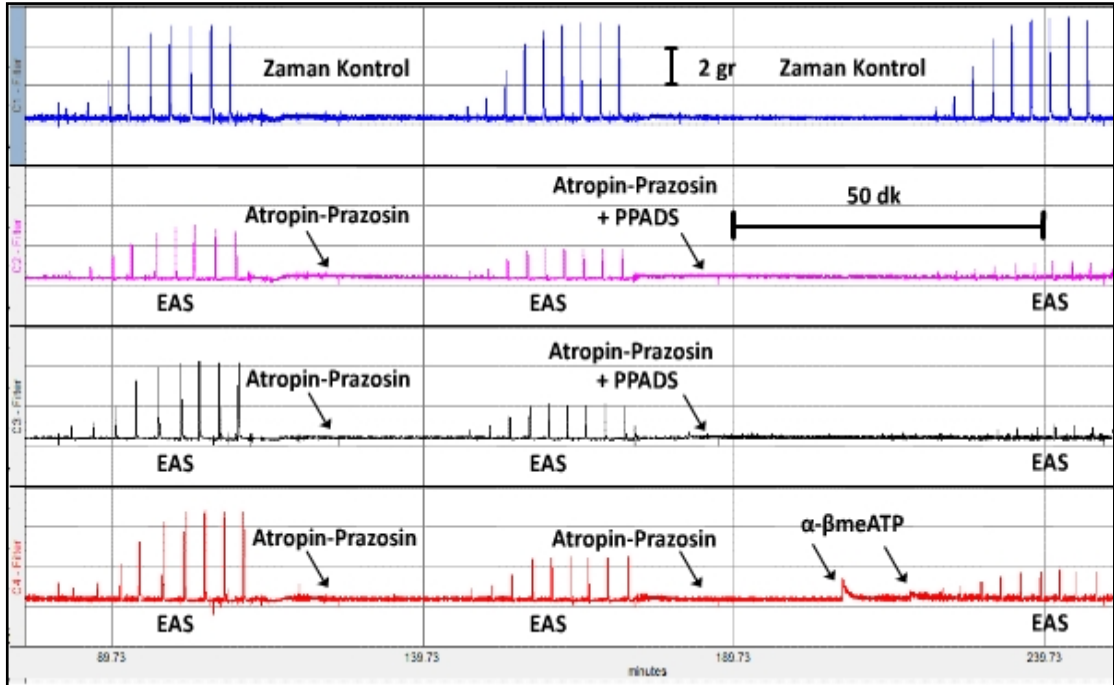
Detrüör şeritlerinin EAS ile oluşturulan kasılma cevaplarını gösteren bir kayıt örneği Şekil 4.4 de görülmektedir. 100 mg mesane dokusu başına gram

cinsinden kasılma cevabını gösteren frekans-cevap eğrileri Şekil 4.6'daki gibidir. Tüm frekanslar için iki grup arasında fark bulunamadı.



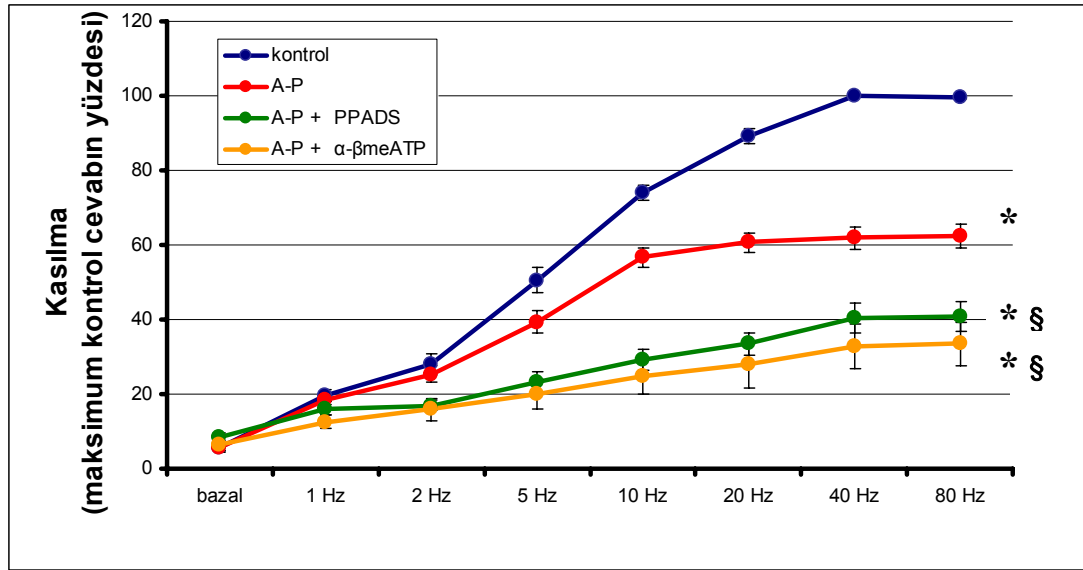
Şekil 4.6. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrusör şeritlerinin EAS ile oluşturulan kontrol frekans-cevap eğrileri. Her iki grupta da n/N=24/6

4.6.2. Kolinerjik ve Pürinerjik Cevapların İncelenmesi:



Şekil 4.7. Kontrol grubundaki 2 numaralı sıçanın detrusör şeritlerinde kontrol EAS, atropin (10^{-6} M) –prazosin (10^{-7} M) varlığında PPADS (10^{-4} M) veya α - β meATP (10^{-5} M) uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan kasılma cevapları.

Örnek kayıt Şekil 4.7’de görülmektedir. Zaman-kontrol olarak ayrılan şeritlerin frekans-cevap eğrileri arasında, ikinci, üçüncü ve dördüncü protokoller için fark yoktu. α - β meATP (10^{-5} M) ile iki uygulamadan sonra desensitizasyon tamamlandı.



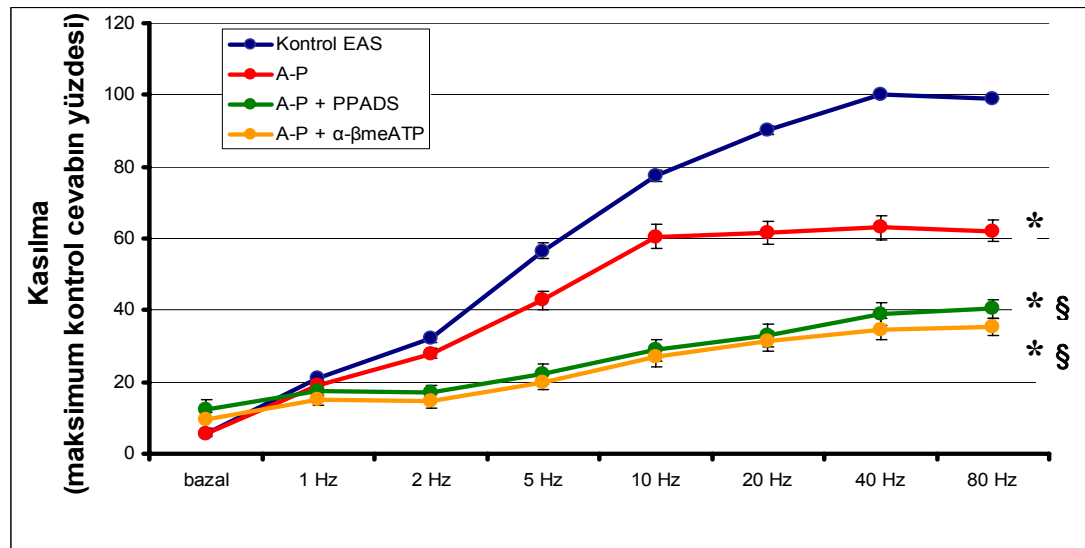
Şekil 4.8. Kontrol (NK) grubundaki sıçan detrusör şeritlerinin kontrol, atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan frekans-cevap eğrileri. Değerler kontrol şeritlerdeki maksimum cevabın yüzdesi şeklinde ifade edildi. Atropin (10^{-6} M), Prazosin (10^{-7} M), PPADS (10^{-4} M), α - β meATP (10^{-5} M); n/N sırasıyla 24/6, 18/6, 12/6, 6/6 (*) $P < 0,05$ kontrol şeridine göre , (§) $P < 0,05$ Atropin-Prazosin şeridine göre

NK grubunda atropin (10^{-6} M), prazosin (10^{-7} M), PPADS (10^{-4} M) ve α - β meATP (10^{-5} M) varlığında EAS’ye bağlı kasılmalar baskılandı ($P < 0,05$) (Şekil 4.8 ve Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Kontrol (NK) grubundaki sıçan detrusör şeritlerinin kontrol, atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan kasılmalar (Değerler kontrol şeritlerdeki maksimum cevabın yüzdesi şeklinde ifade edildi, ort \pm SH)

	Kontrol	A-P	PPADS	α - β meATP
Bazal	5,6 \pm 0,7	5,6 \pm 0,7	8,5 \pm 1,1	6,5 \pm 1,9
1 Hz	19,5 \pm 1,6	18,4 \pm 1,3	16,1 \pm 1,8	12,5 \pm 1,9 §
2 Hz	28,0 \pm 2,8	25,4 \pm 2,1	17,0 \pm 1,5 §	15,9 \pm 3,0 §
5 Hz	50,5 \pm 3,4	39,3 \pm 2,7 *	23,1 \pm 2,7 §	20,0 \pm 4,1 §
10 Hz	74,0 \pm 2,1	56,7 \pm 2,7 *	29,2 \pm 2,7 §	24,9 \pm 4,9 §
20 Hz	89,0 \pm 2,0	60,7 \pm 2,8 *	33,5 \pm 3,0 §	27,9 \pm 6,2 §
40 Hz	100,0 \pm 0,0	61,8 \pm 3,0 *	40,5 \pm 4,0 §	32,8 \pm 6,0 §
80 Hz	99,4 \pm 0,2	62,4 \pm 3,3 *	40,9 \pm 4,0 §	33,5 \pm 5,8 §

(*) $P < 0,05$ kontrol şeridine göre , (§) $P < 0,05$ Atropin-Prazosin şeridine göre



Şekil 4.9. Kolesterol (HK) grubundaki sıçan detrusör şeritlerinin kontrol, atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan frekans-cevap eğrileri. Değerler kontrol şeritlerdeki maksimum cevabın yüzdesi şeklinde ifade edildi. Atropin (10^{-6} M), Prazosin (10^{-7} M), PPADS (10^{-4} M), α - β meATP (10^{-5} M); n/N sırasıyla 24/6, 18/6, 12/6, 6/6
(*) $P < 0,05$ kontrol şeridine göre , (§) $P < 0,05$ Atropin-Prazosin şeridine göre

HK grubunda atropin (10^{-6} M), prazosin (10^{-7} M), PPADS (10^{-4} M) ve α - β meATP (10^{-5} M) varlığında EAS'ye bağlı kasılmalar baskılandı (Şekil 4.9 ve Tablo 4.5).

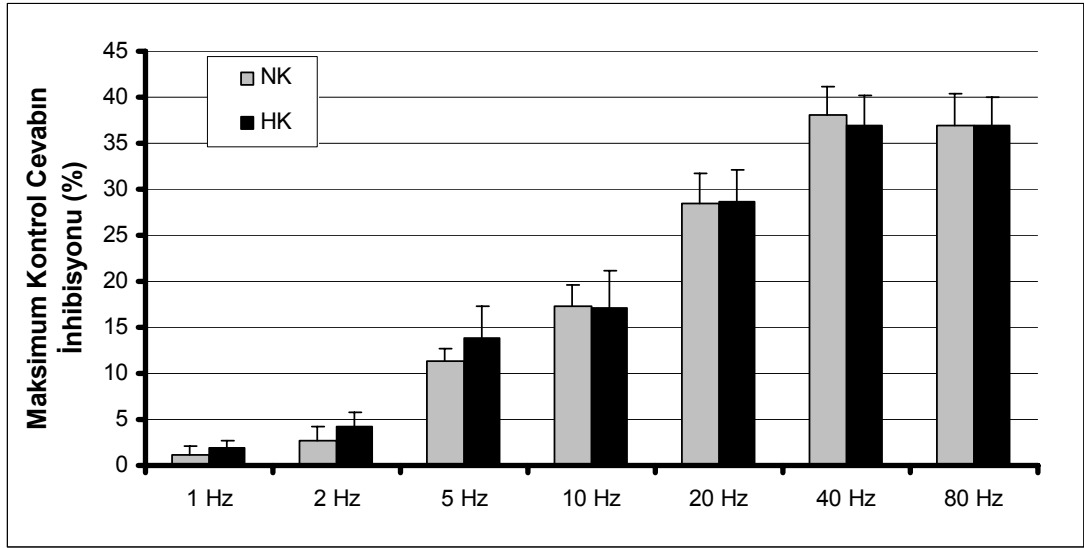
Tablo 4.5. Kolesterol (HK) grubundaki sıçan detrusör şeritlerinin kontrol, atropin-prazosin (A-P), atropin-prazosin varlığında PPADS veya α - β meATP uygulaması sonrası EAS ile oluşturulan kasılmalar (Değerler kontrol şeritlerdeki maksimum cevabın yüzdesi şeklinde ifade edildi, ort \pm SH)

	EAS	A-P	PPADS	α-βmeATP
Bazal	5,7 \pm 0,6	5,6 \pm 0,7	12,5 \pm 2,7	9,4 \pm 2,2
1 Hz	21,1 \pm 0,7	19,2 \pm 1,1	17,6 \pm 2,1	15,0 \pm 1,3 §
2 Hz	32,1 \pm 1,1	27,9 \pm 1,4 *	16,9 \pm 2,0 §	14,7 \pm 2,0 §
5 Hz	56,6 \pm 2,2	42,8 \pm 2,6 *	22,2 \pm 2,8 §	19,9 \pm 2,0 §
10 Hz	77,6 \pm 1,5	60,5 \pm 3,5 *	28,9 \pm 3,1 §	27,0 \pm 2,9 §
20 Hz	90,1 \pm 1,1	61,4 \pm 3,2 *	33,0 \pm 3,2 §	31,4 \pm 2,7 §
40 Hz	100,0 \pm 0,0	63,1 \pm 3,4 *	39,0 \pm 3,1 §	34,7 \pm 2,9 §
80 Hz	99,1 \pm 0,4	62,2 \pm 3,1 *	40,4 \pm 2,7 §	35,4 \pm 2,5 §

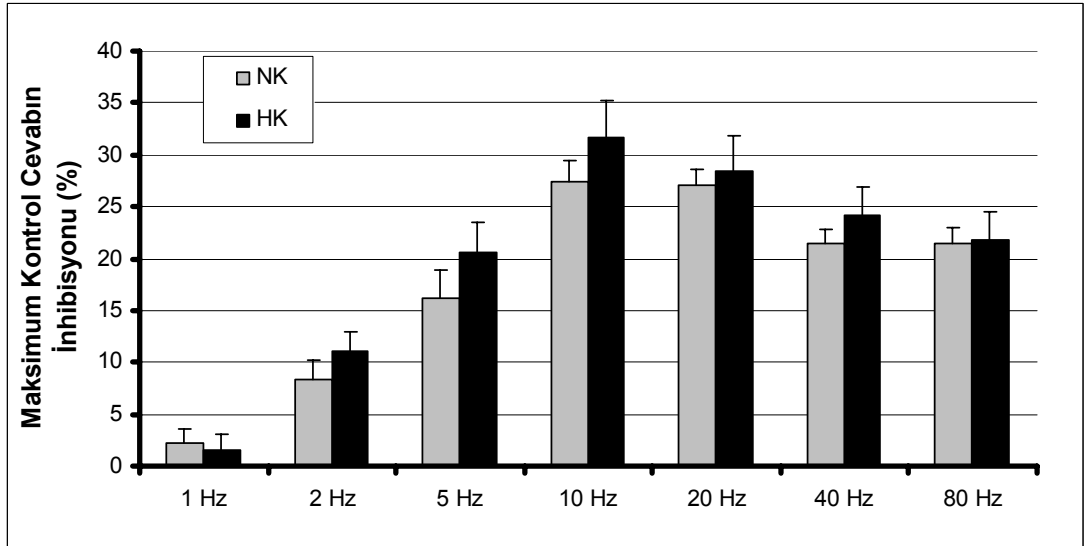
(*) $P < 0,05$ kontrol şeridine göre

(§) $P < 0,05$ Atropin-Prazosin şeridine göre

NK ve HK gruplarında EAS'ye bağlı kasılma cevabında kolinerjik komponentin katkısının frekansla ilişkili olarak arttığı ve en fazla katkının 40 Hz'de olduğu görüldü. NK grubunda % 38,1 \pm 3,0; HK grubunda ise % 36,9 \pm 3,4 olarak bulundu (Şekil 4.10). Ancak iki grubun arasında kolinerjik komponentin katkısı yönünden fark yoktu.

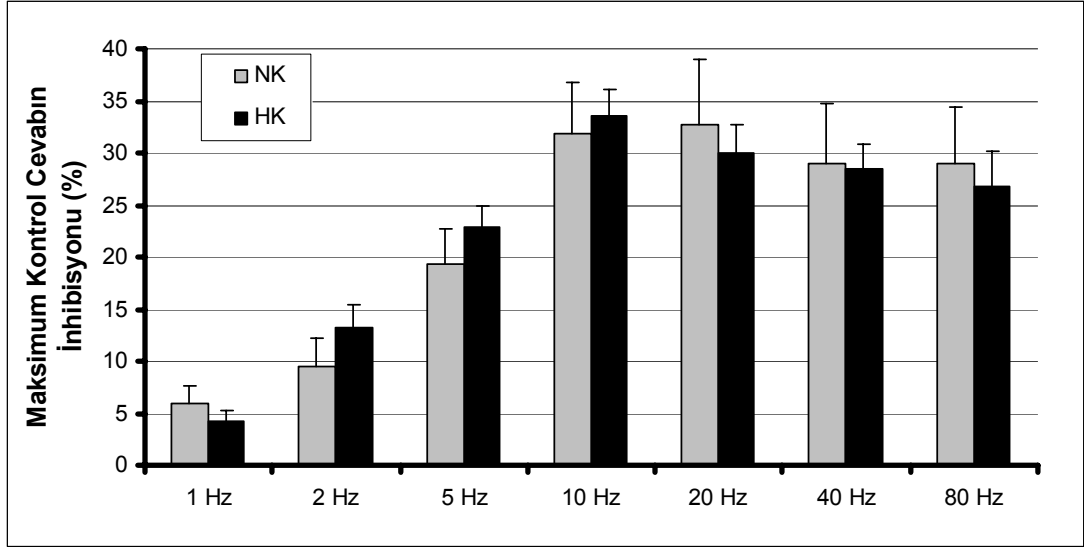


Şekil 4.10. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrusör şeritlerinin EAS ile oluşturulan kasılmalara kolinerjik komponentin katkısı. Değerler maksimum kontrol kasılmalarının atropin (10^{-6} M) ve prazosin (10^{-7} M) varlığında gerçekleşen yüzde inhibisyonunu belirtmektedir.



Şekil 4.11. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrusör şeritlerinde atropin (10^{-6} M) –prazosin (10^{-7} M) ve PPADS (10^{-4} M) varlığında EAS ile oluşturulan kasılmalara pürinerjik komponentin katkısı. Değerler maksimum kontrol kasılmalarının yüzde inhibisyonunu belirtmektedir.

Her iki grupta da PPADS varlığında pürinerjik komponentin payı 10 Hz'de en yüksekti. NK grubunda % $27,4 \pm 2,0$; HK grubunda ise % $31,7 \pm 3,6$ (Şekil 4.11). İki grup arasında fark yoktu.



Şekil 4.12. Kontrol (NK) ve kolesterol (HK) gruplarındaki sıçanlara ait izole detrusör şeritlerinde atropin (10^{-6} M) –prazosin (10^{-7} M) ve α - β meATP (10^{-5} M) varlığında EAS ile oluşturulan kasılmalara pürinerjik komponentin katkısı. Değerler maksimum kontrol kasılmalarının yüzde inhibisyonunu belirtmektedir.

Her iki grupta da α - β meATP varlığında pürinerjik komponentin payı 10 Hz ve 20 Hz'de en yüksekti. NK grubunda % $32,8 \pm 6,2$; HK grubunda ise % $33,5 \pm 2,6$ (Şekil 4.12). İki grup arasında fark bulunamadı.

4.7. Nonadrenerjik, Nonkolinerjik ve Nonpürinerjik Cevap:

Atropin (10^{-6} M), prazosin (10^{-7} M) ve PPADS (10^{-4} M) ile inhibisyon veya α - β meATP (10^{-5} M) ile desensitizasyonundan sonra EAS ile bir miktar kasılma olduğu belirlendi. NK ve HK grupları arasında fark yoktu.

5-TARTIŞMA

Mesanein iki ana işlevi vardır. Bunlardan birisi uygun zemin ve zaman bulununcaya kadar idrarı depolamak (rezervuar işlevi), diğeri uygun koşullarda bu idrarı dış ortama atmaktır (işeme). İki işlevde de kolinerjik, adrenerjik ve NANC mekanizmalar rol oynamaktadır. Bu mekanizmalarda rol alan sinyal ileti yolları hücre zarının kolesterolden zengin bölgeleriyle ilişkilidir (84, 129, 130). Sıçan mesane şeritlerinde *in vitro* olarak gerçekleştirilen bu araştırmada, kan kolesterol düzeyleri artırılarak mesane düz kasının zar kolesterol içeriğinin değiştirilmesi ve bu değişikliğin sinyal iletimini, dolayısıyla da hücre işlevlerini etkileyebileceği düşünülerek hiperkolesteroleminin sıçan izole mesane şeritlerinde kasılma işlevine etkisi incelendi. Bu amaçla mesane kasılmasında temel rolü olan kolinerjik ve pürinerjik komponentlerin kasılmaya olan katkılarının kolesterol değişikliğinden etkilenip etkilenmediği, EAS ve çeşitli agonist-antagonistler kullanılarak araştırıldı. Sonuçta yüksek potasyuma bağlı kasılmaların arttığı, sinirsel uyarıya cevabın ve bu cevaptaki kolinerjik, pürinerjik komponentin katkısının değişmediği görüldü.

Deney hayvanlarında öncelikle kan kolesterol artırılması yoluna gidildi ve elde edilen bulgular kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak incelendi. Kolesterolü artırmak amacı ile 4 hafta süre ile kolesterolden zengin diyetle beslenen sıçanlarda (HK grubu), kolesterol artışına dirençli tür olmalarına karşın kolesterol artışı oluşturulabildiği, kan total kolesterolü ve LDL'deki artmış değerlerle doğrulandı. Dokudaki kolesterol değişikliğine ilişkin bir inceleme yapılmadı. Sıçanların beslenme, su içme, idrar yapma gibi metabolik işlevlerinde istatistiksel öneme sahip değişiklikler gözlenmedi.

Kan kolesterol artışının mesanein kanlanması değiştirilmeden kasılmaya etkisi incelenirken dikkat edilmesi gereken önemli bir husus damarlarda ateroskleroz oluşumuna müsaade etmemektir. Çünkü azalmış kan akımı detrusör kastaki intrinsik sinirlere zarar verebilir ve denervasyon süpersensitivitesini uyarabilir. Denervasyon süpersensitivitesi detrusör kasın kasılmasında ve buradaki iletimde bozukluklara yol açabilir (131). Ayrıca internal iliyak arterdeki kan akımının engellendiği deneysel modellerde geçici bir mesane hiperaktivitesi olduğu gösterilmiştir (132). Yüksek kolesterol içeren diyetler ve endotelial aşındırma ile oluşturulan sıçan modellerinde

kan akımının bozulması nedeniyle *overactive* mesane oluşmasına neden olduğu gösterilmiştir (133). Bu nedenlerle araştırmamızda ateroskleroza dirençli bir tür olan Sprague-Dawley sıçan soyu kullanıldı. Hematoksilen-eozin ile boyanan aorta preparatlarının mikroskopik incelenmesinde ateroskleroza ilişkin bir değişiklik saptanmadı. Böylece bu çalışmanın bulgularının yorumlanmasında aterosklerozun neden olabileceği değiştirici parametrelerden dolayı meydana gelecek hatalı değerlendirmelerden kaçınıldı.

Kolesterol değişikliğinin mesane işlevlerine etkisine dair çok az çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri tavşanda kronik iskeminin mesanenin yapısal ve işlevsel özellikleri üzerine etkisinin incelendiği araştırmadır. Kolesterol diyeti ile hiperkolesterolemi oluşturulan tavşanlardan izole edilen mesane şeritlerinde karbakol ve EAS'ye verilen kasılma cevabının kontrole göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (133). Ayrıca aynı araştırmacıların başka bir çalışmasında hiperkolesterolemik tavşan grubunda histomorfometrik incelemede kronik iskemi grubu kadar olmasa da mesanede fibrozis, detrüör düz kas oranında azalma (atrofi) ve kompliyansa azalma rapor edilmiştir (134). Mesane detrüör kasının yapısal ve fonksiyonel değişikliklerinin hiperkolesterolemik sıçanlarda incelendiği başka bir çalışmada KCl ve karbokole verilen yanıtlarda bir fark görülmemiştir (131). Balkancı ve diğ. (129) ise hiperkolesterolemik sıçan mesane şeritlerinde *in vitro* karbakole cevabın değişmediğini ancak L-tipi Ca^{+2} kanallarının kasılmaya katkısının arttığını bildirmiştir.

EAS ile izole detrüör şeritlerdeki motor sinir sonlanmaları frekans-bağımlı kasılma cevapları oluşturmaktadır. Bu kasılmaya katkısı olan iki temel komponent bulunmaktadır (135). Major komponent ACh ile uyarılan muskarinik reseptörlerin oluşturduğu kolinerjik cevaptır. ATP-aracılı gerçekleşen ikinci komponent ise pürinerjik komponenttir. Buna ek olarak her zaman bir miktar NANC komponentin de neden olduğu kasılma söz konusudur. Bu kasılmalar muskarinik ve P2X reseptörlerinden kaynaklanmamaktadır (136). Kolinerjik ve pürinerjik komponentlerin kasılmaya olan katkılarının değişim gösterdiği benign prostat obstrüksiyonu, detrüör instabilitesi, interstisiyel sistit ve diyabet gibi birçok patolojik çalışma bulunmaktadır (75, 137, 138).

In vitro çalışmalarda mesane kasında spontan elektriksel aktiviteye bağlı kasılmaların tetrodotoksin (TTX)'e dirençli oldukları gösterilmiştir. Ayrıca bu kasılmalar atropin, heksamethonyum, α - β adrenoseptör blokörleri ve suramin tarafından da ortadan kaldırılamamıştır. Bu bulgular spontan kasılmaların miyojenik kökenli olduklarını göstermektedir (49, 71, 139). Spontan kasılmalar L-tipi Ca^{+2} kanal blokörleri ve K^{+} kanal açıcıları tarafından etkili biçimde inhibe edilmektedir (49, 139).

Bu çalışmada elde edilen spontan kasılmaların genliği HK grubunda kontrole göre biraz daha fazla olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Son ve diğ. (131)'nin hiperkolesterolemik sıçanlarda yaptığı çalışmada spontan kasılmalar HK grubunda kontrole göre daha yüksek bulunmuştur. Muhtemelen 4 haftalık kolesterol diyetinin süresini uzatılması ve deney hayvanı sayısının artırılması bu çalışmada gözlenen farkın istatistiksel olarak önem kazanmasını sağlayabilir.

Yüksek potasyum ile stimülasyon sonucu sarkolemmada depolarizasyon gerçekleşir ve bu durum da voltaj-bağımlı L-tipi Ca^{+2} kanallarını aktifleştirir. Böylece hücre içine Ca^{+2} girişi olur ve kasılma gerçekleşir. Yani muskarinik ve pürinerjik reseptör aktivitesinden bağımsız bir şekilde kasılma gerçekleşir (140). Son ve diğ. (131)'nin hiperkolesterolemik sıçanlarda yaptığı çalışmada KCl'ye verilen kasılma cevapları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Jennings ve diğ. (141) safra kesesi düz kasında yaptığı çalışmada kolesterolün L-tipi Ca^{+2} kanallarındaki Ca^{+2} akımını inhibe ederek safra taşlarının oluşumuna neden olduğunu göstermişlerdir. Suzuki ve diğ. (142)'nin yaptığı çalışmada ise yüksek yağ ve yüksek şekerle beslenen maymunlarda glukoz artışına karşı bir direnç oluşmasına rağmen kolesterol ve LDL seviyesinde artış görülmüştür. Bu hayvanların basiller arterlerinde KCl ile gerçekleştirilen kasılmalar yüksek yağ ve yüksek şeker diyetiyle beslenen grupta kontrole göre yüksektir. Elde edilen bulgular Henry ve Yokohoma'nın (143) tavşan aortunda elde ettiği bilgilerle tutarlılık göstermektedir.

Bu çalışmada KCl ile elde edilen kasılmalar HK grubunda NK grubuna göre daha yüksekti. Sonuç olarak kolinerjik ve pürinerjik komponentlerden bağımsız bir şekilde gerçekleşen bu kasılmada hiperkolesteroleminin kasılmayı artırıcı bir etkisi olduğunu söyleyebiliriz. Muhtemelen bu etkisini L-tipi Ca^{+2} kanallarını ve K^{+}

kanallarını etkileyerek yapmaktadır. Daha önceki çalışmalarda kolesterolün farklı dokularda farklı etkiler göstermesi net bir yorum yapılmasını engellemektedir.

EAS parametrelerinin seçimi çok önemlidir. Çünkü buradaki amaç detrüör içine gömülü halde bulunan intramural sinirleri uyarmak ve bu uyarı aracılığıyla detrüör kasın kasılmasını sağlamaktır. Fakat detrüör kasın direkt olarak da uyarılabilme ihtimali bulunmaktadır. Bu nedenle literatür incelemesi ve yapılan ön çalışmalarla detrüör kasını direkt olarak uymayacak uygun EAS parametreleri belirlendi (6, 137, 144). Ayrıca uygulanacak frekansın geniş bir aralıkta olması gerekmektedir. Çünkü önceki çalışmalarda, birçok türde düşük frekanslar ile oluşturulan stimülasyonlar ATP salıverilmesi ile kasılmalara neden olurken yüksek frekanslar ile oluşturulan stimülasyonlar ise genellikle ACh salıverilmesi ile kasılmalar meydana getirmektedir (6). Yani EAS ile oluşturulan nöromusküler iletimde kolinerjik komponent frekans artmasıyla artış gösterirken, pürinerjik komponent azalış göstermektedir (137). Bu çalışmada her iki grupta EAS'ye verilen yanıtlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Atropin muskarinik kolinerjik reseptörlerin kompetitif inhibitörüdür. Sıçan mesane düz kasının parasempatik etki ile kasılması başlıca muskarinik reseptörler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Dolayısıyla atropin kullanılması kolinerjik cevabı ortadan kaldıracaktır. Kolinerjik cevabın katkısı türlere göre değişmektedir. Daha önceden yapılan çalışmalarda atropin mesanede EAS sonucu oluşan kasılma cevabını kontrol cevabına göre tavşanda %58, domuzda ise % 22 oranında inhibe etmiştir. İnsan mesanesinde ise sinir aracılı uyarı hemen hemen tümüyle ortadan kaldırılmıştır (48). Sıçanda ise aynı doz atropin yaklaşık %33 oranında inhibisyon yapmıştır (144).

Mesanede α - ve β - adrenoseptörlerin dağılımı fonksiyonel açıdan çok önemlidir. β - adrenoseptörler gevşemeden sorumludur. α -adrenoseptörler ise mesane tabanı ve üretrada yüksek oranda bulunmakta ve bu bölgelerin sempatik etki ile kasılmasından sorumludur (6). Prazosin nonselektif kompetitif α_1 -adrenoseptör antagonistidir. Sıçan mesane düz kasının sempatik etki ile kasılmasının başlıca α_1 -adrenoseptörler tarafından sağlandığı düşünülmektedir (145). Bu nedenle EAS sonucu oluşabilecek α -adrenoseptör kökenli kasılmaları ortadan kaldırmak için prazosin kullanılmıştır.

Bu çalışmada, atropin-prazosin uygulanan mesane detrusör şeritlerinde, her iki grupta da kontrol frekans-cevap eğrilerine göre anlamlı bir inhibisyon oluştu. EAS ile oluşan kasılmalarda en fazla inhibisyon NK grubunda % $38,1 \pm 3,0$; HK grubunda ise % $36,9 \pm 3,4$ olacak şekilde 40 Hz'de meydana geldi. Meydana gelen inhibisyon kolinerjik komponentin katkısını göstermektedir. Kolinerjik komponentin tüm kasılmadaki katkısı her iki grup içinde yaklaşık olarak % 40'dır. Yani kolinerjik komponentin katkısı açısından HK grubu ile kontrol grubu arasında bir fark yoktu.

Liu ve diğ. (137)'nin Sprague-Dawley sıçan soylarını kullanarak gerçekleştirdiği diyabetli sıçanlarda mesane cevabını karşılaştıran çalışmasında kontrol grubundaki kasılma cevabına kolinerjik komponentin katkısı yaklaşık % 40 olarak hesaplanmıştır. Banks ve diğ. (146)'nin yaptığı obstrüktif mesaneli sıçanların incelendiği bir diğer çalışmada kontrol grubunda kolinerjik komponentin katkısı %50 olarak bulunmuştur. Bu bulgular bizim kontrol grubunda bulduğumuz kolinerjik komponentin katkısıyla uyuşmaktadır. Balkancı ve diğ. (129)'nin yaptığı hiperkolesteroleminin sıçan mesanesi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada atropin ile tamamen ortadan kaldırılabilen karbakol ile oluşturulmuş kolinerjik kasılmalarda HK ve kontrol grupları arasında bir fark çıkmamıştır. Bu bulgu bizim bulduğumuz sonuçlarla uyuşmaktadır. Son ve diğ. (131)'nin hiperkolesterolemik sıçanlarda ateroskleroz oluşturarak gerçekleştirdiği çalışmada da hem HK hem de kontrol gruplarının karbakole verdikleri kasılma cevapları arasında fark yoktur. Ancak bu çalışmada tek bir frekansta (50 Hz) gerçekleştirilen EAS sonucu ortaya çıkan kasılmalarda kolinerjik komponentin katkısının HK grubunda kontrole göre anlamlı olarak düşük olduğu gösterilmiştir.

Atropin ve prazosin uygulaması sonucu halen mesanede EAS ile kasılmalar meydana gelmiştir. Khattab ve diğ. (147)'nin belirttiğine göre sinir stimülasyonu sonucu atropin varlığında meydana gelen atropin-dirençli non-kolinerjik cevap ilk kez 1969 yılında Burnstock tarafından gösterilmiştir. Atropine dirençli bu kasılmanın daha çok pürinerjik komponent tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.

Atropin ve prazosin uygulaması sonucu geriye kalan cevabın tümünün pürinerjik kökenli olup olmadığını görmek için PPADS ve α - β meATP kullandık.

PPADS nonselektif P2-pürinoseptör antagonistidir. İlk başlarda PPADS'nin selektif P2X reseptör antagonisti olduğu düşünülmekteydi (148). Önceki

çalışmalarda 100 μ M PPADS ile P2Y reseptör aracılı gevşemeler üzerinde önemli bir antagonizma gösterilmiştir (149). Fakat farmakolojik yaklaşımlı izole organ banyosu çalışmalarında PPADS P2X reseptörleri için iyi bir seçicilik göstermektedir (150).

P2X-pürinoseptör aracılı kasılmaların PPADS tarafından kuvvetli bir şekilde inhibe edildiğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak tavşan vas deferensinde (151), sıçan mezenterik arterinde (152), tavşan damarlarında (153), kobay vas deferensinde (154) yapılan çalışmalar verilebilir.

Bu çalışmada PPADS uygulaması sonucu her iki grupta da atropin-prazosin uygulamasına göre anlamlı bir inhibisyon meydana geldi. Meydana gelen inhibisyon miktarları pürinerjik komponentin katkısını göstermektedir. Her iki grupta da PPADS varlığında pürinerjik komponentin payı 10 Hz'de en yüksekti. PPADS uygulamasında pürinerjik komponentin katkısı açısından HK grubu ile kontrol grubu arasında bir fark yoktu.

Pürinerjik komponent α - β meATP tarafından da inhibe edilmektedir. α - β meATP selektif P2X reseptör agonisti, stabil ATP analogudur ve ATPaz'a dirençlidir. P2X'ler üzerine ATP'den daha fazla etki gösterir. P2X reseptörlerine seçici olarak bağlanır. P2X reseptörleri α - β meATP'nin tekrar uygulamaları karşısında desensitize olmaktadır (155). Bu desensitizasyon sonucunda da pürinerjik kökenli kasılmalarda inhibisyon olmaktadır.

Bu çalışmada tekrarlayan iki uygulama sonucunda desensitizasyona ulaşıldı. α - β meATP uygulaması sonucu her iki grupta da atropin-prazosin uygulamasına göre anlamlı bir inhibisyon meydana geldi. Meydana gelen inhibisyon miktarları pürinerjik komponentin katkısını göstermektedir. Her iki grupta da α - β meATP varlığında pürinerjik komponentin payı 10 Hz ve 20 Hz'de en yüksekti. α - β meATP uygulamasında pürinerjik komponentin katkısı açısından HK grubu ile kontrol grubu arasında bir fark yoktu.

Lai ve diğ. (156) Sprague-Dawley sıçan soylarını kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada 10 μ M α - β meATP ile kasılma cevabını kontrole göre %31,4 azaltmıştır. Yani pürinerjik katkıyı yaklaşık % 30 olarak bulmuşlardır. Bu sonuç bizim bulgularımızla uyuşmaktadır. Pürinerjik reseptörler (P2X) hem insan hem de sıçanda bulunmaktadır. P2X₁ reseptörlerin alt tipleri mesanenin normal

kasılması için oldukça önemlidir ve patolojik durumlarda çeşitlilik göstermektedir. P2X₃ alt tipinin mesanenin duyuşal kısmı ile ilgili olduğu düşünölmektedir. Hiperlipidemik sıçanlarda alt üriner sistem semptomları ile ilgili olan araştırmada hiperlipidemik sıçanlarda yüksek bir detrüşör hipertrofisi ve P2X₁ reseptörlerinin up-regölasyonu görölmüştür. Buna ilaveten hiperlipidemik sıçanlarda P2X₃ reseptörlerin ürotelyum ve mesane sinir uçlarında kontrole göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. P2X₁ ve P2X₃ reseptörlerindeki bu artış muhtemelen *overactive* mesanenin nedeni olarak gösterilebilir. Yine aynı çalışmada mesane duvarında fibrozise rastlanmadığından ateroskleroz oluşmadığı kabul edilmiştir (157). Son ve diğ. (131) hiperkolesterolemik sıçanlarda α - β meATP kullanarak yaptıkları çalışmada elektriksel uyarı ile pürinerjik komponentin kasılmaya katkısındaki oranının arttığı gösterilmiştir. Bizim bulgularımıza göre de hem PPADS hem de α - β meATP için bu katkıda kontrole göre anlamlı olmamakla birlikte bir artış söz konusudur. Muhtemelen kolesterol diyet süresinin uzatılması bu farkın istatistiksel anlam kazanmasını sağlayabilir.

Pürinerjik komponentin kasılmadaki payının artmasının *overactive* mesane için önemli bir bulgu olduğuna inanılmaktadır (131). Normal koşullar altında muskarinik kasılmalar detrüşör kasılmasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Pürinerjik komponent hem insanda (48) hem de sıçanda (158) kasılmanın daha az bir kısmını oluşturmaktadır. Birçok çalışma pürinerjik kasılmanın katkısının mesanede patolojik koşullarla ilgisi olduğunu öne sürmektedir. Yoshida ve diğ. (135) yaş ve pürinerjik nörotransmisyon arasında pozitif bir korelasyon göstermiştir. Bu çalışmasında karbakol, KCl ve elektriksel uyarana verilen cevaplar arasında bir fark çıkmamıştır. Chancellor ve diğ. (159) ATP'nin betanekol'den daha hızlı bir şekilde mesane basıncını yükselttiğini göstermiştir. Bunun da mesane kasılmasının oluşumunda rolü olduğunu düşünölmektedir. ATP'nin mesanede sinir stimölasyonu ile oluşturduğu kasılma astilkolin ile meydana gelen kasılmaya göre daha hızlı olmaktadır. ATP'nin foksiyonel rolünün mesanede intravesikal basıncı hızlı bir şekilde artırmak olduğu düşünölmektedir. Bu da işeme sürecinin başlaması için gerekli bir olaydır (160). Bu nedenlerle pürinerjik kasılmaların artması frekans ve *urgency* gibi nedenlerden dolayı detrüşör hiperaktivitesi ve alt üriner sistemin semptomlarının nedeni olabilir (131).

Bu çalışmada atropin ve prazosin uygulaması ile kolinerjik ve adrenerjik cevaplar ortadan kaldırıldı. Bundan sonra uygulanan PPADS veya α - β meATP uygulaması ile de pürinerjik cevaplar ortadan kaldırıldı. Buna rağmen halen geriye bir miktar cevap kaldı. Daha önceki çalışmalarda da her zaman bir miktar NANC komponentin neden olduğu kasılmalar gösterilmiştir. Bu kasılmalar muskarinik ve P2X reseptörlerinden kaynaklanmamaktadır (141, 142).

Bizim bulgularımıza göre geriye kalan kasılma cevaplarında gruplar arasında bir fark çıkmadı. Geriye kalan NANC cevap için bazı olasılıklar bulunmaktadır. Birinci ihtimal ATP'nin P2X dışındaki diğer P2 reseptörlerini etkiliyor olabilemesidir (155). Fare ve insan mesanesinde birçok P2X reseptörü bulunmakla birlikte nöral uyarıda pürinerjik etkiyi oluşturan baskın türün P2X₁ reseptörleri olduğu düşünülmektedir (161). Bazı çalışmalarda sıçan mesanesinde P2X reseptörlerinden başka diğer P2 reseptör tiplerinin mesane kasılmasını sağladığı gösterilmiştir (155, 162). İkinci ihtimal ise 5-HT gibi diğer transmitterlerdir. Bunların mesaneyi ve izole şeritleri kastıklarını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (163). 5-HT₂ reseptörü sıçan detrüsör kasında serotonin tarafından oluşturulan kasılmalardan genel anlamda sorumlu iken, 5-HT₁ kısmen sorumludur (164). Bunlara ilaveten detrüsör kasındaki sinirlerde sentezlenen, depo edilen ve salıverilen birçok peptid bulunmaktadır (137). İmmünohistokimyasal çalışmalar mesane düz kasında sinirlerde nöropeptid Y, VIP, galanin, *substance P*, atriyal natriüretik peptid, bradikinin, ET-1 ve kalsitonin geni ile ilişkili peptid varlığı gösterilmiştir (165). Bu moleküller nörotransmitter ya da nöromodülatör olarak rol oynuyor olabilirler. Bu nöropeptidlerden bazılarının (VIP, ET, taşikinin ve ANG) mesane kasılmasında gerekli olduğu gösterilmiştir (2). İnsan ileumunda *in vitro* çalışmada atropin-dirençli EAS cevapları meydana gelmiştir ve bu cevaplar nörokinin-2 reseptörünün antagonisti tarafından inhibe edilmişlerdir (166). Sıçan mesanesinde detrüsör kasta taşikinin-aracılı, kapsaisine duyarlı EAS ile oluşturulmuş NANC kasılmalar gözlenmiştir (167). Tüm bunlar mesanede kolinerjik ve pürinerjik kökenli kasılmaların dışında başka komponentlerin oluşturduğu kasılmalar olduğunu göstermektedir.

6-SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızdan elde edilen bulgular ışığında, hiperkolesterolemi oluşturulan deney hayvanlarında kan kolesterolündeki değişikliğinin mesanenin kasılma işlevlerine etkisinde KCl ile meydana gelen uyarılarda fark meydana geldiği, kolinerjik ve pürinerjik komponentlerin katkılarının ise değişmediği gösterildi. Sonuç olarak hiperkolesteroleminin sıçan mesanesinde kasılma işlevini etkilediği ancak mekanizmasının ve uzun süredeki değişikliklerin daha ileri çalışmalarla araştırılması gerektiği yadsınamaz.

Bu çalışmanın sonuçlarının insanda yapılacak çalışmalara kaynak oluşturabileceği, mesane işlevlerini etkileyen faktörlere yaptığı katkı daha etkili tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde rol oynayabileceği, klinikte mesane işlev bozukluğu olan hastalarda kolesterol düzeyinin takibi konusuna dikkat çekebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) Snell, RS. (1998).Tıp Fakültesi Öğrencileri için Klinik Anatomi. (5.bs.). Nobel Tıp Kitabevleri.
- 2) Andersson, KE. ve Anders, A. (2004). Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 84: 935-986.
- 3) Gosling, J. (1979). The structure of the bladder and urethra in relation to function. *Urologic Clinics of North America*, 6: 31 – 38.
- 4) Sivrioğlu, K. (2005). Mesane Anatomisi ve İşeme Fizyolojisi. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg*, 51 (Özel Ek A): A16-A18.
- 5) Gabella, G. ve Uvelius, B. (1990). Urinary bladder of rat: fine structure of normal and hypertrophic musculature. *Cell and Tissue Research*, 262: 67-79.
- 6) Longhurst, PA. ve Uvelius, B. (2001). Pharmacological techniques for the in vitro study of the urinary bladder. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 45: 91 – 108.
- 7) Bern, RM., Levy, MN., Koeppen, BM. ve Stanton, BA. (2008). Fizyoloji. (5.bs.). Güneş Tıp Kitabevleri.
- 8) Dixon, J. ve Gosling, JA. (1990). Ultrastructure of smooth muscle cells in the urinary system. In: *Ultrastructure of Smooth Muscle*, edited by Motta PM. London: Kluwer Academic, p. 153–169.
- 9) Cohen, DM. ve Murphy, RA. (1979). Cellular thin filament protein contents and force generation in porcine arteries and veins. *Circulation Research*, 45: 661–665.
- 10) Sjuve, R., Arner, A., Li, Z., Mies, B., Paulin, D., Schmittner, M. ve diğerleri. (1998). Mechanical alterations in smooth muscle from mice lacking desmin. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 19: 415–429.
- 11) Malmqvist, U., Arner, A. ve Uvelius B. (1991). Cytoskeletal and contractile proteins in detrusor smooth muscle from bladders with outlet obstruction a comparative study in rat and man. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 25: 261–267.
- 12) Malmqvist, U., Arner, A. ve Uvelius, B. (1991). Contractile and cytoskeletal proteins in smooth muscle during hypertrophy and its reversal. *The American Journal of Physiology Cell Physiology*, 260: C1085–C1093.
- 13) Mabuchi, K., Li, B., Ip, W. ve Tao, T. (1997). Association of calponin with desmin intermediate filaments. *The Journal of Biological Chemistry*, 272: 22662–22666.
- 14) Ingber, DE. (2002). Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circulation Research*, 91: 877–887.

- 15) Paul, R.J. (1980). Chemical energetics of vascular smooth muscle. In: *Vascular Smooth Muscle*, edited by Bohr DF, Somlyo AP, and Sparks HV. Bethesda, MD: Am Physiol Soc, p. 201–235
- 16) Uvelius, B. (2001). Length-tension relations of in vitro urinary bladder smooth muscle strips. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 45: 87–90.
- 17) Malmqvist, U., Arner, A. ve Uvelius, B. (1991). Mechanics and Ca²⁺-sensitivity of human detrusor muscle bundles studied in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica*, 143: 373–380.
- 18) Arner, A. ve Hellstrand, P. (1983). Activation of contraction and ATPase activity in intact and chemically skinned smooth muscle of rat portal vein. Dependence on Ca²⁺ and muscle length. *Circulation Research*, 53: 695–702.
- 19) Ji, G., Barsotti, R.J., Feldman, M.E. ve Kotlikoff, M.I. (2002). Stretch-induced calcium release in smooth muscle. *The Journal of General Physiology*, 119: 533–544.
- 20) Nobe, K., Sutliff, R.L., Kranias, E.G. ve Paul, R.J. (2001). Phospholamban regulation of bladder contractility: evidence from gene-altered mouse models. *The Journal of Physiology*, 535: 867–878.
- 21) Yoshikawa, A., van Bremen, C. ve Isenberg, G. (1996). Buffering of plasmalemmal Ca²⁺ current by sarcoplasmic reticulum of guinea pig urinary bladder myocytes. *The American Journal of Physiology Cell Physiology*, 271: C833–C841.
- 22) Stull, J.T., Hsu, L.C., Tansey, M.G. ve Kamm, K.E. (1990). Myosin light chain kinase phosphorylation in tracheal smooth muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 265: 16683–16690.
- 23) Goeckeler, Z.M., Masaracchia, R.A., Zeng, Q., Chew, T.L., Gallagher, P. ve Wysolmerski, R.B. (2000). Phosphorylation of myosin light chain kinase by p21-activated kinase PAK2. *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 18366–18374.
- 24) Pfitzer, G., Merkel, L., Rüegg, J.C. ve Hofmann, F. (1986). Cyclic GMP dependent protein kinase relaxes skinned fibers from guinea pig taenia coli but not from chicken gizzard. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 407: 87–91.
- 25) Furst, D.O., Cross, R.A., De Mey, J. ve Small, J.V. (1986). Caldesmon is an elongated, flexible molecule localized in the actomyosin domains of smooth muscle. *The EMBO Journal*, 5: 251–257.
- 26) Sobue, K. ve Sellers, J.R. (1991). Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. *The Journal of Biological Chemistry*, 266: 12115–12118.
- 27) Takahashi, K. ve Nadal-Ginard, B. (1991). Molecular cloning and sequence analysis of smooth muscle calponin. *The Journal of Biological Chemistry*, Jul 15; 266(20):13284–13288.

- 28) Callahan, SM. ve Creed, KE. (1986). Non-cholinergic neurotransmission and the effects of peptides on the urinary bladder of guinea-pigs and rabbits. *The Journal of Physiology*, 374: 103–115.
- 29) Mostwin, JL. (1986). The action potential of guinea pig bladder smooth muscle. *The Journal of Urology*, 135: 1299–1303.
- 30) Berridge, MJ., Bootman, MD. ve Roderick, HL. (2003). Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Jul;4 (7): 517-529.
- 31) Ganitkevich, VY. ve Isenberg, G. (1992). Contribution of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release to the $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transients in myocytes from guinea-pig urinary bladder. *The Journal of Physiology*, 458: 119–137.
- 32) Fry, CH., Wu, C. ve Sui, GP. (1998). Electrophysiological properties of the bladder. *International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction*, 9: 291–298.
- 33) Kajioka, S., Nakayama, S., McMurray, G., Abe, K. ve Brading, AF. (2002). $\text{Ca}^{(2+)}$ channel properties in smooth muscle cells of the urinary bladder from pig and human. *European Journal of Pharmacology*, 443: 19–29.
- 34) Yoshino, M. ve Yabu, H. (1995). Muscarinic suppression of Ca^{2+} current in smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder. *Experimental Physiology* 80: 575–587.
- 35) Nakayama, S. ve Brading, AF. (1993). Inactivation of the voltage-dependent Ca^{2+} channel current in smooth muscle cells isolated from the guinea-pig detrusor. *The Journal of Physiology*, 471: 107–127.
- 36) Kishii, K., Hisayama, T. ve Takayanagi, I. (1992). Comparison of contractile mechanisms by carbachol and ATP in detrusor strips of rabbit urinary bladder. *Japanese Journal of Pharmacology*, 58: 219–229.
- 37) Karicheti, V. ve Christ, GJ. (2001). Physiological roles for K^+ channels and gap junctions in urogenital smooth muscle: implications for improved understanding of urogenital function, disease and therapy. *Current Drug Targets* 2: 1–20.
- 38) Faraci, FM. ve Sobey, CG. (1998). Role of potassium channels in regulation of cerebral vascular tone. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, Oct;18(10):1047-63.
- 39) Herrera, GM., Heppner, TJ. ve Nelson, MT. (2001). Voltage dependence of the coupling of Ca^{2+} sparks to BK(Ca) channels in urinary bladder smooth muscle. *The American Journal of Physiology Cell Physiology*, 280: C481–C490.
- 40) Herrera, GM., Heppner, TJ. ve Nelson, MT. (2000). Regulation of urinary bladder smooth muscle contractions by ryanodine receptors and BK and SK channels. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 279: R60–R68

- 41) Perez, GJ., Bonev, AD., Patlak, JB. ve Nelson, MT. (1999). Functional coupling of ryanodine receptors to K_{Ca} channels in smooth muscle cells from rat cerebral arteries. *The Journal of General Physiology* 113: 229–237.
- 42) Petkov, GV., Bonev, AD., Heppner, TJ., Brenner, R., Aldrich, RW. ve Nelson, MT. (2001). Beta1-subunit of the Ca^{2+} -activated K^+ channel regulates contractile activity of mouse urinary bladder smooth muscle. *The Journal of Physiology*, 537: 443–452.
- 43) Wellner, MC. ve Isenberg, G. (1993). Properties of stretch-activated channels in myocytes from the guinea-pig urinary bladder. *The Journal of Physiology*, 466: 213–227.
- 44) Caldwell, RA., Clemo, HF. ve Baumgarten, CM. (1998). Using gadolinium to identify stretch-activated channels: technical considerations. *The American Journal of Physiology Cell Physiology*, 275: C619–C621.
- 45) Inoue, R. ve Brading, AF. (1991). Human, pig and guinea-pig bladder smooth muscle cells generate similar inward currents in response to purinoceptor activation. *British Journal of Pharmacology*, 103: 1840–1841.
- 46) Brink, PR. ve Barr, L. (2000). A Functional view of Smooth Muscle (Barr L. and Christ G.J.; Eds). pp. 397-423. *Jai Press Inc.*; Stamford, Connecticut.
- 47) Christ, GJ. ve Brink, PR. (1999). Analysis of the presence and physiological relevance of subconducting states of Connexin43-derived gap junction channels in cultured human corporal vascular smooth muscle cells. *Circulation Research*, 84, 797- 803.
- 48) Sibley, GN. (1984). A comparison of spontaneous and nerve-mediated activity in bladder muscle from man, pig and rabbit. *The Journal of Physiology*, 354: 431–443.
- 49) Imai, T., Okamoto, T., Yamamoto, Y., Tanaka, H., Koike, K., Shigenobu, K. ve diğeri. (2001). Effects of different types of K channel modulators on the spontaneous myogenic contraction of guinea-pig urinary bladder smooth muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 173: 323- 333.
- 50) Montgomery, BS. ve Fry, CH. (1992). The action potential and net membrane currents in isolated human detrusor smooth muscle cells. *The Journal of Urology*, 147: 176–184.
- 51) De Groat, WC. ve Yoshimura, N. (2001). Pharmacology of the lower urinary tract. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41:691–721.
- 52) Blok, BF. ve Holstege, G. (1999). Two pontine micturition centers in the cat are not interconnected directly: implications for the central organization of micturition. *The Journal of Comparative Neurology* 403:209–218.
- 53) Andersson, KE. ve Wein, AJ. (2004). Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. *Pharmacological Reviews*, 56(4):581-631.
- 54) Kakizaki, H., Yoshiyama, M., Roppolo, JR., Booth, AM. ve De Groat, WC. (1998). Role of spinal glutamatergic transmission in the ascending limb of the

- micturition reflex pathway in the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 285:22–27.
- 55) Sie, JA., Blok, BF., De Weerd, H. ve Holstege, G. (2001). Ultrastructural evidence for direct projections from the pontine micturition center to glycine-immunoreactive neurons in the sacral dorsal gray commissure in the cat. *The Journal of Comparative Neurology*, 429:631–637.
- 56) Wang, P., Luthin, GR. ve Ruggieri, MR. (1995). Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 273: 959–966.
- 57) Chess-Williams, R., Chapple, CR., Yamanishi, T. ve diğerleri. (2001). The minor population of M3-receptors mediate contraction of human detrusor muscle in vitro. *Journal of Autonomic Pharmacology*, 21(5-6): 243-248.
- 58) Chess-Williams, R. (2002). Muscarinic receptors of the urinary bladder: detrusor, urothelial and prejunctional. *Autonomic & Autacoid Pharmacology*, 22(3): 133- 45.
- 59) Canda, AE., Cross, RL. ve Chapple, CR. (2006). Pharmacology of the Lower Urinary Tract and Management of Overactive Bladder. *J Turkish-German Gynecol Assoc*, 7(2): 146-157.
- 60) Andersson, KE., Holmquist, F., Fovaeus, M. ve diğerleri. (1991). Muscarinic receptor stimulation of phosphoinositide hydrolysis in the human isolated urinary bladder. *The Journal of Urology*, 146:1156-9.
- 61) Jezior, JR., Brady, JD., Rosentein, DI. ve diğerleri. (2001). Dependency of detrusor contraction on calcium sensitization and calcium entry through LOE-908-sensitive channels. *British Journal of Pharmacology*, 134:78-87.
- 62) Wibberley, A., Chen, Z., Hu, E., Hieble, JP. ve Westfall, TD. (2003). Expression and functional role of Rho-kinase in rat urinary bladder smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, 138: 757–766.
- 63) Hegde, SS., Chopin, A., Bonhaus, D., Briaud, S., Loeb, M., Moy, TM. ve diğerleri. (1997). Functional role of M2 and M3 muscarinic receptors in the urinary bladder of rats in vitro and in vivo. *British Journal of Pharmacology*, 120: 1409–1418.
- 64) Kotlikoff, MI., Dhulipala, P. ve Wang, YX. (1999). M2 signaling in smooth muscle cells. *Life Sciences*, 64: 437–442.
- 65) Bonev, AD. Ve Nelson, MT. (1993). Muscarinic inhibition of ATP-sensitive K_v channels by protein kinase C in urinary bladder smooth muscle. *The American Journal of Physiology Cell Physiology*, 265: C1723–C1728.
- 66) Nakamura, T., Kimura, J. ve Yamaguchi, O. (2002). Muscarinic M2 receptors inhibit Ca²⁺-activated K_v channels in rat bladder smooth muscle. *International Journal of Urology*, 9: 689–696.
- 67) Apodaca, G. (2004). The uroepithelium: not just a passive barrier. *Traffic* 5:117–128.

- 68) Andersson, KE. (2002). Bladder activation: afferent mechanisms. *Urology* 59 (Suppl 1):43–50.
- 69) Hawthorn, MH., Chapple, CR., Cock, M. ve Chess-Williams, R. (2000). Urothelium-derived inhibitory factor(s) influences on detrusor muscle contractility in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 129(3):416-9.
- 70) Chapple, CR., Yamanishi, T. ve Chess-Williams, R. (2002). Muscarinic receptor subtypes and management of the overactive bladder. *Urology*, 60 (5 Suppl 1):82-9.
- 71) Andersson, KE. (1993). Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacological Reviews*, 45:253-308.
- 72) Malloy, BJ., Price, DT., Price, RR. ve diğerleri. (1998). Alpha1-adrenergic receptor subtypes in human detrusor. *The Journal of Urology*, 160:937-43.
- 73) Brading, AF. ve Inoue, R. (1991). Ion channels and excitatory transmission in the smooth muscle of the urinary bladder. *Zeitschrift Kardiologie*, 80 Suppl 7: 47–53.
- 74) Cowan, WD. ve Daniel, EE. (1983). Human female bladder and its noncholinergic contractile function. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 61: 1236–1246.
- 75) Sjögren, C., Andersson, KE., Husted, S., Mattiasson, A. ve Moller-Madsen, B. (1982). Atropine resistance of transmurally stimulated isolated human bladder muscle. *The Journal of Urology*, 128: 1368–1371.
- 76) Tagliani, M., Candura, SM., Di Nucci, A., Franceschetti, GP., D'Agostino, G., Ricotti, P. ve diğerleri. (1997). A re-appraisal of the nature of the atropine-resistant contraction to electrical field stimulation in the human isolated detrusor muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 356: 750–755.
- 77) Kumar, V., Chapple, CR. ve Chess-Williams, R. (2004). Characteristics of adenosine triphosphatase release from porcine and human normal bladder. *The Journal of Urology*, 172(2):744-747.
- 78) Burnstock, G. ve Williams, M. (2000). P2 purinergic receptors: modulation of cell function and therapeutic potential. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 295: 862–869.
- 79) Cheng, HI. ve Brading, AF. (1991). The mechanism of action of putative non-adrenergic, non-cholinergic transmitters on the urinary bladder. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 33: 178–179.
- 80) O'Reilly, BA., Kosaka, AH., Chang, TK., Ford, AP., Popert, R. ve McMahon, SB. (2001). A quantitative analysis of purinoceptor expression in the bladders of patients with symptomatic outlet obstruction. *BJU International*, 87: 617–622.

- 81) Elneil, S., Skepper, JN., Kidd, EJ. ve diğerleri. (2001). Distribution of P2X(1) and P2X(3) receptors in the rat and human urinary bladder. *Pharmacology*, 63(2): 120-128.
- 82) Ferguson, DR., Kennedy, I. ve Burton, TJ. (1997). ATP is released from rabbit urinary bladder epithelial cells by hydrostatic pressure changes a possible sensory mechanism? *The Journal of Physiology*, Dec 1;505 (Pt 2): 503-511.
- 83) Ehren, I., Iversen, H., Jansson, O. ve diğerleri. (1994). Localization of nitric oxide synthase activity in the human lower urinary tract and its correlation with neuroeffector responses. *Urology*, 44:683-7.
- 84) Andersson, KE. ve Hedund, P. (2002). Pharmacologic perspective on the physiology of the lower urinary tract. *Urology*, 60(Suppl 5A):13-21.
- 85) James, MJ., Birmingham, AT. ve Hill, SJ. (1993). Partial mediation by nitric oxide of the relaxation of human isolated detrusor strips in response to electrical field stimulation. *British Journal of Clinical of Pharmacology*, 35:366-72.
- 86) Hofmann, F., Ammendola, A. ve Schlossmann, J. (2000). Rising behind NO: cGMP-dependent protein kinases. *Journal of Cell Science*, 113:1671-6.
- 87) Klarskov, P. ve Hørby-Petersen, J. (1986). Influence of serotonin on lower urinary tract smooth muscle in vitro. *British Journal of Urology*, 58:507-13.
- 88) Szallasi, A. ve Blumberg, PM. (1999). Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacological Reviews*, 51:159-211.
- 89) Hayes, P., Meadows, J., Gunthorpe, MJ. ve diğerleri. (2000). Cloning and functional expression of a human orthologue of rat vanilloid receptor-1. *Pain*, 88 (2):205-215.
- 90) Yiangou, Y., Facer, P., Ford, A. ve diğerleri. (2001). Capsaicin receptor VR1 and ATP-gated ion channel P2X3 in human urinary bladder. *BJU International*, 87(9):774-9.
- 91) Birder, LA., Kanai, AJ., de Groat, WC. ve diğerleri. (2001). Vanilloid receptor expression suggests a sensory role for urinary bladder epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:13396-13401.
- 92) Caterina, MJ., Schumacher, MA., Tominaga, M. ve diğerleri. (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389:816-24.
- 93) Caterina, MJ., Lefler, A., Malmberg, AB. ve diğerleri. (2000). Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*, 288:306-13.
- 94) Tominaga, M., Caterina, MJ., Malmberg, AB. ve diğerleri. (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron*, 21(3):531-43.

- 95) Giannantoni, A., Di Stasi, SM., Stephen, RL. ve diğerleri. (2002). Intravesical capsaicin versus resiniferatoxin in patients with detrusor hyperreflexia: a prospective randomized study. *The Journal of Urology*, 167(4):1710-4.
- 96) Tramontana, M., Catalioto, RM., Lecci, A. ve Maggi, CA. (2000). Role of prostanoids in the contraction induced by a tachykinin NK2 receptor agonist in the hamster urinary bladder. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 361: 452–459.
- 97) Khan, MA., Thompson, CS., Mumtaz, FH., Jeremy, JY., Morgan, RJ. ve Mikhailidis, DP. (1998). Role of prostaglandins in the urinary bladder: an update. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 59: 415-422.
- 98) Jeremy, JY., Tsang, V., Mikhailidis, DP., Rogers, H., Morgan, RJ. ve Dandona, P. (1987). Eicosanoid synthesis by human urinary bladder mucosa: pathological implications. *British Journal of Urology*, 59: 36–39.
- 99) Bouchelouche, K., Andersen, L., Nordling, J. ve diğerleri. (2003). The cysteinyl-leukotriene D4 induces cytosolic Ca²⁺ elevation and contraction of the human detrusor muscle. *The Journal of Urology*, 170:638-44.
- 100) Kinder, RB., Restorick, JM. ve Mundy, AR. (1985). Vasoactive intestinal polypeptide in the hyper-reflexic neuropathic bladder. *British Journal of Urology*, 57: 289–291.
- 101) Garcia-Pascual, A., Larsson, B. ve Andersson, KE. (1990). Contractile effects of endothelin-1 and localization of endothelin binding sites in rabbit lower urinary tract smooth muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 140: 545–555.
- 102) Maggi, CA., Giuliani, S., Patacchini, R., Barbanti, G., Turini, D. ve Meli, A. (1990). Contractile responses of the human urinary bladder, renal pelvis and renal artery to endothelins and sarafotoxin S6b. *General Pharmacology*, 21: 247–249.
- 103) Donoso, MV., Salas, C., Sepulveda, G., Lewin, J., Fournier, A. ve Huidobro-Toro, JP. (1994). Involvement of ETA receptors in the facilitation by endothelin-1 of non-adrenergic non-cholinergic transmission in the rat urinary bladder. *British Journal of Pharmacology*, 111: 473–482.
- 104) Lecci, A. ve Maggi, CA. (2001). Tachykinins as modulators of the micturition reflex in the central and peripheral nervous system. *Regulatory Peptides*, 101: 1–18.
- 105) Weaver-Osterholtz, D., Reams, G., Wu, Z., Knaus, J., Campbell, F. ve Bauer, JH. (1996). The urinary bladder angiotensin system: response to infusions of angiotensin I and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *American Journal of Kidney Diseases*, 28: 603–609.
- 106) Andersson, KE., Hedlund, H. ve Stahl, M. (1992). Contractions induced by angiotensin I, angiotensin II and bradykinin in isolated smooth muscle from the human detrusor. *Acta Physiologica Scandinavica*, 145: 253–259.

- 107) Anderson, GF., Barraco, RA., Normile, HJ. ve Rosen, TN. (1984). Evidence for angiotensin II receptors in the urinary bladder of the rabbit. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 62: 390–395.
- 108) Tanabe, N., Ueno, A. ve Tsujimoto, G. (1993). Angiotensin II receptors in the rat urinary bladder smooth muscle: type 1 subtype receptors mediate contractile responses. *The Journal of Urology*, 150: 1056–1059.
- 109) Ikonen, E.(2008) Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Feb;9(2):125-138.
- 110) Oram, JF. ve Heinecke, JW. (2005). ATP binding cassette transporter A1: A cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease. *Physiological Reviews*, Oct;85(4):1343-1372.
- 111) Fielding, CJ. ve Fielding, PE. (2004). Membrane cholesterol and the regulation of signal transduction. *Biochemical Society Transactions*, Feb;32(Pt 1):65-69.
- 112) Insel, PA., Head, BP., Patel, HH. ve diğerleri. (2005). Compartmentation of G-protein-coupled receptors and their signalling components in lipid rafts and caveolae. *Biochemical Society Transactions*, Nov;33(Pt 5):1131-1134.
- 113) Anderson, RG. (1993). Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Dec 1;90(23):10909-10913.
- 114) Schnitzer, JE., McIntosh, DP., Dvorak, AM., Liu, J. ve Oh, P. (1995). Separation of caveolae from associated microdomains of GPI-anchored proteins. *Science*, Sep 8;269(5229):1435-1439.
- 115) Abrami, L., Fivaz, M., Kobayashi, T., Kinoshita, T., Patron, RG. ve van der Goot, FG. (2001). Cross-talk between caveolae and glycosylphosphatidyl inositol-rich domains. *The Journal of Biological Chemistry*, Aug 17; 276(33): 30729-30736.
- 116) Pike, LJ. (2004). Lipid rafts: heterogeneity on the high seas. *The Biochemical Journal*, Mar 1;378 (Pt 2): 281-292.
- 117) Williams, TM. ve Lisanti, MP. (2004). The Caveolin genes: from cell biology to medicine. *Annals of Medicine*, 36 (8): 584-595.
- 118) Cristofaro, V., Peters, CA., Yalla, SV. ve Sullivan, MP. (2007). Smooth muscle caveolae differentially regulate specific agonist induced bladder contractions. *Neurourology and Urodynamics*, 26 (1):71-80.
- 119) Thorn, H., Stenkula, KG., Karlsson, M., Ortegren, U., Nystrom, FH., Gustavsson, J. ve diğerleri. (2003). Cell surface orifices of caveolae and localization of caveolin to the necks of caveolae in adipocytes. *Molecular Biology of the Cell*, Oct;14(10): 3967-3976.
- 120) Cohen, AW., Hnasko, R., Schubert, W. ve Lisanti, MP. (2004). Role of caveolae and caveolins in health and disease. *Physiological Reviews*, Oct;84(4):1341-1379.

- 121) Bergdahl, A. ve Sward, K. (2004). Caveolae-associated signalling in smooth muscle. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, May;82(5): 289-299.
- 122) Shaul, PW. ve Anderson, RG. (1998). Role of plasmalemmal caveolae in signal transduction. *The American Journal of Physiology*, Nov;275(5 Pt 1): L 843-851.
- 123) Razani, B., Engelman, JA., Wang, XB., Schubert, W., Zhang, XL., Marks, CB ve diğerleri. (2001). Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities. *The Journal of Biological Chemistry*, Oct 12;276(41): 38121-38138.
- 124) Woodman, SE., Cheung, MW., Tarr, M., North, AC., Schubert, W., Lagaud, G. ve diğerleri. (2004). Urogenital alterations in aged male caveolin-1 knockout mice. *The Journal of Urology*, Feb;171(2 Pt 1): 950-957.
- 125) Lai, HH., Bone, TB., Yang, G., Smith, CP., Kiss, S., Thompson, TC. ve diğerleri. (2004). Loss of caveolin-1 expression is associated with disruption of muscarinic cholinergic activities in the urinary bladder. *Neurochemistry International*, Dec;45(8):1185-1193.
- 126) Williams, TM. ve Lisanti, MP. (2004). The Caveolin proteins. *Genome Biology*, 5(3): 214.
- 127) Rybin, VO., Xu, X., Lisanti, MP. ve Steinberg, SF. (2000). Differential targeting of beta -adrenergic receptor subtypes and adenylyl cyclase to cardiomyocyte caveolae. A mechanism to functionally regulate the cAMP signaling pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, Dec 29; 275(52): 41447-41457.
- 128) Stehr, M., Estrada, CR., Khoury, J., Danciu, TE., Sullivan, MP., Peters, CA. ve diğerleri. (2004). Caveolae are negative regulators of transforming growth factor-beta1 signaling in ureteral smooth muscle cells. *The Journal of Urology*, Dec;172 (6 Pt 1): 2451-2455.
- 129) Balkancı, D., Öner, G., Erdem, A., Pehlivanoğlu, B., Bayrak, S. ve Karabulut, İ. (2007). Hücre Kolesterol Değişikliğinin Mesane İşlevlerine Etkisi. *TÜBİTAK SBAG-HD-167 (106S244)* Ankara.
- 130) Hedge, SS. (2006) Muscarinic receptors in the bladder: from basic research to therapeutics. *British Journal of Pharmacology*, 147 Suppl 2: S80-87.
- 131) Son, H., Lee, SL., Park, WH., Park, K., Park, S., Kang, MS. ve diğerleri. (2007). New unstable bladder model in hypercholesterolemia rats. *Urology*, Jan; 69(1):186-190.
- 132) Lin, AT., Chen, MT., Yang, CH. ve Chang, LS. (1995). Blood flow of the urinary bladder: effects of outlet obstruction and correlation with bioenergetic metabolism. *Neurourology and Urodynamics*, 14(3):285-292.
- 133) Azadzoi, KM., Shinde, VM., Tarcan, T., Kozlowski, R. ve Siroky, MB. (1999). Overactivity and structural changes in the chronically ischemic bladder. *The Journal of Urology*, 162(5):1768-1778.

- 134) Azadzoï, KM., Shinde, VM., Tarcan, T., Kozłowski, R. ve Siroky, MB. (2003). Increased leukotriene and prostoglandin release, and overactivity in the chronically ischemic bladder. *The Journal of Urology*, 169(5): 1885-1891.
- 135) Yoshida, M., Homma, Y., Inadome, A., Yono, M., Seshita, H., Miyamoto, Y. ve diğeri. (2001). Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles. *Experimental Gerontology*, Jan;36(1): 99-109.
- 136) Iravani, MM. ve Zar, MA. (1994). Neuropeptide Y in rat detrusor and its effect on nerve-mediated and acetylcholine-evoked contractions. *British Journal of Pharmacology*, Sep; 113(1): 95-102.
- 137) Liu, G. ve Daneshgari, F. (2005). Alterations in neurogenically mediated contractile responses of urinary bladder in rats with diabetes. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, Jun;288(6): F1220-1226.
- 138) Palea, S., Artibani, W., Ostardo, E., Trist, DG. ve Pietra, C. (1993). Evidence for purinergic neurotransmission in human urinary bladder affected by interstitial cystitis. *The Journal of Urology*, Dec;150(6): 2007-2012.
- 139) Imai, T., Tanaka, Y., Okamoto, T., Yamamoto, Y., Horinouchi, T., Tanaka, H. ve diğeri. (2002) Evidence that action potential generation is not the exclusive determinant to trigger spontaneous myogenic contraction of guinea-pig urinary bladder smooth muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 176(1):57-63.
- 140) Karaki, H., Urakawa, N. ve Kutsky, P. (1984). Potassium-induced contraction in smooth muscle. *Nippon Heikatsukin Gakkai Zasshi*, Dec;20(6): 427-444.
- 141) Jennings, LJ., Xu, QW., Firth, TA., Nelson, MT. ve Mawe, GM. (1999). Cholesterol inhibits spontaneous action potentials and calcium currents in guinea pig gallbladder smooth muscle. *The American Journal of Physiology*, Nov; 277 (5 Pt 1): G 1017-1026.
- 142) Suzuki, M., Yamamoto, D., Suzuki, T., Fujii, M., Suzuki, N., Fujishiro, M. ve diğeri. (2006). High fat and high fructose diet induced intracranial atherosclerosis and enhanced vasoconstrictor responses in non-human primate. *Life Sciences*, Dec 23;80(3): 200-204.
- 143) Henry, PD. ve Yokoyama, M. (1980). Supersensitivity of atherosclerotic rabbit aorta to ergonovine. Mediation by a serotonergic mechanism. *The Journal of Clinical Investigation*, Aug;66(2): 306-313.
- 144) Lluel, P., Barras, M. ve Palea, S. (2002). Cholinergic and purinergic contribution to the micturition reflex in conscious rats with long-term bladder outlet obstruction. *Neurourology and Urodynamics*, 21(2): 142-153.
- 145) Suzuki, Y., Moriyama, N., Kanada, A., Okaya, Y., Kawabe, K. ve Aisaka, K. (1999). The role of alpha 1L-adrenoceptor in rat urinary bladder: comparison between young adult and aged rats. *Life Sciences*, 65(24): 2553-2559.

- 146) Banks, FC., Knight, GE., Calvert, RC., Morgan, RJ. ve Burnstock, G. (2006). Alterations in purinergic and cholinergic components of contractile responses of isolated detrusor contraction in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *BJU International*, Feb;97(2): 372-378.
- 147) Khattab, MM., Al-Hrasen, MN. ve El-Hadiyah, TM. (2007). Contractile activity of ATP and diadenosine tetraphosphate on urinary bladder in the rat: role of A1- and P2X-purinoceptors and nitric oxide. *Autonomic&Autacoid Pharmacology*, Jan; 27(1): 55-62.
- 148) Ziganshin, AU., Hoyle, CH., Bo, X., Lambrecht, G., Mutschler, E., Bäumert, HG. ve diğerleri. (1993). PPADS selectively antagonizes P2X-purinoceptor-mediated responses in the rabbit urinary bladder. *British Journal of Pharmacology*, Dec;110(4): 1491-1495.
- 149) Windscheif, U., Pfaff, O., Ziganshin, AU., Hoyle, CH., Bäumert, HG., Mutschler, E. ve diğerleri. (1995). Inhibitory action of PPADS on relaxant responses to adenine nucleotides or electrical field stimulation in guinea-pig taenia coli and rat duodenum. *British Journal of Pharmacology*, Aug;115(8): 1509-1517.
- 150) Ziganshin, AU., Rychkov, AV., Ziganshina, LE. ve Burnstock, G. (2002). Temperature dependency of P2 receptor-mediated responses. *European Journal of Pharmacology*, Dec 5;456 (1-3):107-114.
- 151) Lambrecht, G., Friebe, T., Grimm, U., Windscheif, U., Bungardt, E., Hildebrandt, C. ve diğerleri. (1992). PPADS, a novel functionally selective antagonist of P2 purinoceptor-mediated responses. *European Journal of Pharmacology*, Jul 7; 217 (2-3): 217-219.
- 152) Windscheif, U., Ralevic, V., Bäumert, HG., Mutschler, E., Lambrecht, G. ve Burnstock, G. (1994). Vasoconstrictor and vasodilator responses to various agonists in the rat perfused mesenteric arterial bed: selective inhibition by PPADS of contractions mediated via P2x-purinoceptors. *British Journal of Pharmacology*, Nov;113(3): 1015-1021.
- 153) Ziganshin, AU., Hoyle, CH., Lambrecht, G., Mutschler, E., Bümert, HG. ve Burnstock, G. (1994). Selective antagonism by PPADS at P2X-purinoceptors in rabbit isolated blood vessels. *British Journal of Pharmacology*, Mar; 111(3): 923-929.
- 154) McLaren, GJ., Lambrecht, G., Mutschler, E., Bäumert, HG., Sneddon, P. ve Kennedy, C. (1994). Investigation of the actions of PPADS, a novel P2x-purinoceptor antagonist, in the guinea-pig isolated vas deferens. *British Journal of Pharmacology*, Mar; 111(3): 913-917.
- 155) Hashimoto, M. ve Kokubun, S. (1995). Contribution of P2-purinoceptors to neurogenic contraction of rat urinary bladder smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, Jun;115(4): 636-640.
- 156) Lai, HH., Smith, CP., Munoz, A., Bone, TB., Szigeti, GP. ve Somogyi, GT. (2008). Activation of cholinergic receptors blocks non-adrenergic non-

- cholinergic contractions in the rat urinary bladder. *Brain Research Bulletin*, Dec 16;77(6): 420-426.
- 157) Rahman, NU., Phonsombat, S., Bochinski, D., Carrion, RE., Nunes, L. ve Lue, TF. (2007). An animal model to study lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: the hyperlipidaemic rat. *BJU Int.* Sep;100(3): 658-663.
- 158) Yokoyama, O., Komatsu, K., Ishiura, Y., Nakamura, Y., Morikawa, K. Ve Namiki, M. (1998). Change in bladder contractility associated with bladder overactivity in rats with cerebral infarction. *The Journal of Urology*, Feb;159(2): 577-580.
- 159) Chancellor, MB., Kaplan, SA. ve Blaivas, JG. (1992). The cholinergic and purinergic components of detrusor contractility in a whole rabbit bladder model. *The Journal of Urology*, Sep;148(3): 906-909.
- 160) Theobald, RJ Jr. (1995). Purinergic and cholinergic components of bladder contractility and flow. *Life Sciences*, 56(6):445-454.
- 161) Vial, C. ve Evans, RJ. (2000). P2X receptor expression in mouse urinary bladder and the requirement of P2X(1) receptors for functional P2X receptor responses in the mouse urinary bladder smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, Dec;131(7): 1489-1495.
- 162) Suzuki, H. ve Kokubun, S. (1994). Subtypes of purinoceptors in rat and dog urinary bladder smooth muscles. *British Journal of Pharmacology*, May; 112(1): 117-122.
- 163) Corsi, M., Pietra, C., Toson, G., Trist, D., Tuccitto, G. ve Artibani, W. (1991). Pharmacological analysis of 5-hydroxytryptamine effects on electrically stimulated human isolated urinary bladder. *British Journal of Pharmacology*, Nov; 104(3): 719-725.
- 164) Kim, HJ., Lee, G., Kim, DH., Lee, SJ., Yoon, DK. ve Cho, JH. (2002). Acute effects of serotonin on rat bladder contractility. *Urologia Internationalis*, 68(1): 44-48.
- 165) Hoyle, CH. (1994). Non-adrenergic, non-cholinergic control of the urinary bladder. *World Journal of Urology*, 12: 233-244.
- 166) Maggi, CA., Giuliani, S., Patacchini, R., Santicioli, P., Theodorsson, E., Barbanti, G. ve diğerleri. (1992). Tachykinin antagonists inhibit nerve-mediated contractions in the circular muscle of the human ileum. *Gastroenterology*, Jan;102(1): 88-96.
- 167) Meini, S. ve Maggi, CA. (1994). Evidence for a capsaicin-sensitive, tachykinin-mediated, component in the NANC contraction of the rat urinary bladder to nerve stimulation. *British Journal of Pharmacology*, 112: 1123-1131.