

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

**LEPTİNİN SIÇAN DETRÜSÖR DÜZ KAS KASILMA  
İŞLEVİNE ETKİSİ**

**Meriç Demeli**

**Fizyoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2016**



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

**LEPTİNİN SIÇAN DETRÜSÖR DÜZ KAS KASILMA  
İŞLEVİNE ETKİSİ**

**Meriç Demeli**

**Fizyoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Sibel Bayrak**

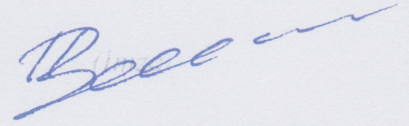
**ANKARA  
2016**

Anabilim Dalı :Fizyoloji  
Program :Fizyoloji  
Tez Başlığı :Leptinin Sıçan Detrüör Düz Kas Kasılma İşlevine Etkisi

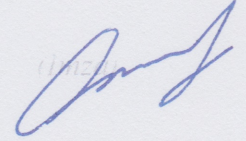
Öğrenci Adı-Soyadı :Meriç Demeli  
Savunma Sınavı Tarihi :14.01.2016

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/~~doktora~~ tezi olarak kabul edilmiştir.

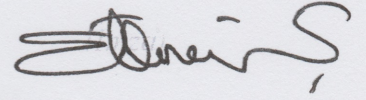
Jüri Başkanı: Prof. Dr. Z. Dicle Balkancı  
(Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi)



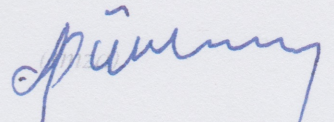
Tez danışmanı: Doç. Dr. Sibel Bayrak  
(Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi)



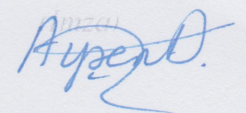
Üye: Prof. Dr. Ethem Gelir  
(Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi)



Üye: Doç. Dr. Şevin Güney  
(Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi)




Üye: Doç. Dr. Ayşen Erdem  
(Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi)



ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

  
Prof.Dr. Ersin FADILLIOĞLU  
Müdür

## TEŞEKKÜR

“Leptinin Sıçan Detrüsör Düz Kas Kasılma İşlevine Etkisi” isimli bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Ana Bilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmaların yürütülmesi ve değerlendirilmesi sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Sibel Bayrak’a, laboratuvar çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları destek ve ilgiden dolayı Uzm. Dr. Aslı Şan Dağlı Gül’e ve Dr. Serkan Karaismailoğlu’na, tezin değerlendirilmesi ve geliştirilmesinde yardımcı olan değerli jüri üyeleri Hocalarıma ve tez çalışmam süresince laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan, maddi ve manevi imkanlarını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Z. Dicle Balkancı’ya teşekkür ederim. Bu tezin hazırlanması sırasında bana her türlü desteği sağlayan aileme minnet ve şükranlarımı sunarım.

## ÖZET

**Demeli, M. Leptinin sıçan detrüsör düz kas kasılma işlevine etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2016.** Leptin, enerji metabolizmasının düzenlenmesiyle ilgili fonksiyonları olan başta adipoz doku, mide, plasenta, iskelet kası gibi organlardan sentezlenen ve salgılanan polipeptit yapıda bir hormondur. İnsan ve sıçan ürogenital sisteminde, böbrek, ovaryum, testis ve mesane gibi farklı dokularda leptin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Esas fonksiyonu besin alımı ve enerji metabolizmasını düzenlemesi olmakla birlikte vasküler düz kas, uterus, safra kesesi, kolon gibi dokularda düz kas kasılma işlevlerinde uyarıcı veya inhibe edici etkileri olduğu gösterilmiştir. Mesanenin idrarı toplama ve depolama fonksiyonu için kolinerjik ve adrenerjik mekanizmaların yanı sıra non-adrenerjik non-kolinerjik mekanizma görev alır. Bu çalışmada leptinin sıçan detrüsör düz kas kasılma işlevine etkisi olup olmadığını ve varsa bu etkiye katkıda bulunan yolları in vitro olarak incelemeyi amaçladık. Sıçanlardan elde edilen mesane şeritlerinin 120 mM KCl ve elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile kasılması sağlandı. EAS 3 dakikada bir 5 sn boyunca (100 V genlik - 0,15 ms süreli kare dalgalar) giderek artan frekanslarda (1-2-5-10-20-40-80 Hz) uygulandı. EAS ile oluşturulan kasılmalarda leptinin olası etkilerine aracılık eden yolları belirleyebilmek amacıyla  $10^{-4}$  M L-NAME,  $10^{-6}$  M atropin,  $10^{-7}$  M prazosin ve  $10^{-4}$  M PPADS varlığında leptinin etkisi incelendi. Sonuçlar her ilacın kendi kontrolünün maksimum kasılma değeri ile karşılaştırıldı. Leptin inkübasyonu sonrasında detrüsör kas spontan kasılma parametreleri ölçüldü. Leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu ile meydana gelen maksimum kasılma cevapları sırasıyla  $41,9 \pm 2,7$ ,  $36,1 \pm 5,9$  ve  $36,8 \pm 4,0$  g/100 mg doku olarak bulundu, leptin EAS aracılı kasılma cevabında değişiklik oluşturmadı. Atropin ve atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu ile meydana gelen maksimum cevaplar sırasıyla  $19,2 \pm 1,3$  ve  $15,8 \pm 3,5$  g/100 mg doku olarak ölçüldü ve leptin eklenmesiyle elde edilen kasılma cevapları ile aralarında fark bulunamadı. Leptin spontan kasılma genlik ve frekansı üzerinde etki göstermedi. Çalışmamızda, leptin, detrüsör düz kas şeritlerinin EAS aracılı kasılma cevaplarında direkt olarak veya olası etkisi ile ilgili olarak kullandığımız antagonistler varlığında değişiklik yaratacak etki göstermedi.

**Anahtar Kelimeler:** Leptin, Detrüör düz kası, Organ banyosu, Elektriksel alan stimülasyonu, Kasılma

**Destekleyen Kurumlar:** ÖYP Koordinatörlüğü, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (TAY-2015-7599)

## ABSTRACT

**Demeli, M. The effect of leptin on detrusor smooth muscle contractility in rat. Hacettepe University Institute of Health Sciences Physiology Program,**

**Master of Science Thesis, Ankara, 2016.** Leptin is a polypeptide hormone that is synthesized and secreted mainly by adipose tissue as well as stomach, placenta and skeletal muscle tissues and has a major role in energy homeostasis. Leptin receptors are expressed in different tissues such as kidney, ovary, testis and bladder in rat and human urogenital systems. Although its major function is associated with the regulation of energy metabolism, it was reported that leptin may affect smooth muscle function in various tissues (e.g. vascular, uterus, gall bladder, large intestine) producing vasorelaxation or vasoconstriction. In addition to cholinergic and adrenergic pathways, non-adrenergic non-cholinergic mechanisms control micturition and continence functions of urinary bladder. In this study, we aimed to investigate the possible effects of leptin on *in vitro* detrusor smooth muscle contractility and the contributions of different pathways that mediate detrusor contraction. The contractions of detrusor smooth muscle strips in response to 120 mM KCl and electrical field stimulation (EFS) were recorded. During EFS, square wave pulses of 100 V intensity and 0,15 msec duration were applied through 5 sec of time at every 3 minutes. To determine the contributions of pathways that control bladder contraction, the effects of leptin on the EFS-induced detrusor contractions were evaluated in the presence of  $10^{-4}$  M L-NAME,  $10^{-6}$  M atropine,  $10^{-7}$  M prazosin and  $10^{-4}$  M PPADS. Contraction responses to all drugs were calculated as the percentages of their corresponding controls. Amplitude and frequency of spontaneous contractions of detrusor strips were measured following leptin incubation. The maximum contraction responses obtained following leptin, L-NAME and leptin+L-NAME incubations were measured as  $41,9 \pm 2,7$ ,  $36,1 \pm 5,9$  and  $36,8 \pm 4,0$  (g/100 mg wet tissue weight), respectively. Leptin did not cause any significant difference in the EFS-induced contraction response. In another series of experiment, maximum EFS-induced contractions were  $19,2 \pm 1,3$  and  $15,8 \pm 3,5$  (g/100 mg wet tissue weight) in the presence of atropine and atropine+prazosin+PPADS, respectively. Both incubation protocols caused a decrease in the EFS-induced contractions ( $P < 0,05$ ), which was not different from the decrease induced by atropine+ leptin and atropine+prazosin+PPADS+ leptin. Leptin had no impact on the amplitude and the frequency of spontaneous contractions. In our study, leptin did not produce any effects on the EFS-induced contractions of detrusor strips directly or in the presence of different antagonists.

**Key Words:** Leptin, Detrusor smooth muscle, Organ bath, Electrical field stimulation, Contractility

**Supported by** Teaching Staff Training Program, Hacettepe University Research Foundation (TAY-2015-7599)

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mesanenin Anatomisi	2
2.2. Mesanenin Histolojisi	3
2.3. Detrüsör Düz Kasın Özellikleri	5
2.4. Mesanenin İnervasyonu	6
2.5. Mesanenin Kasılma ve Gevşeme Mekanizmaları	10
2.6. Mesanede Spontan Aktivite	20
2.7. Leptin Molekülü ve Sentezi	21
2.8. Leptin Reseptörleri ve Etki Mekanizması	23
2.9. Leptinin Fonksiyonları	26
2.10. Leptinin Düz Kas Kasılmasına Etkisi	26
2.11. Hipotez ve Amaç	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Cerrahi İşlemler ve İzole Organ Banyosu	29
3.2. Elektriksel Alan Stimülasyonu Aracılı Kasılmalar ve Leptin Uygulaması	31
3.3. Çözelti ve Test Maddeleri	32
3.4. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz	33
3.5. Etik Kurul İzni	34
4. BULGULAR	35
4.1. Elektriksel Alan Stimülasyonu Aracılı Kasılmalar ve Leptin Uygulaması	36
4.2. Spontan Kasılmalar	40

	Sayfa
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	48
EKLER	
Etik Kurul Onayı	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	Adenozin trifosfat
ACh	Asetilkolin
AgRP	Aguti ilişkili protein
BK <sub>Ca</sub>	Ca ile aktive olan büyük iletkenli K <sup>+</sup> kanalı
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum klorür
cmH <sub>2</sub> O	Santimetre su
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CICR	Kalsiyum indüklü kalsiyum salınımı
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
Cys	Sistein
DAG	Diaçilgliserol
EAS	Elektriksel alan stimülasyonu
gr	Gram
GABA	Gama amino bütirik asit
GI	Gastrointestinal kanal
HCl	Hidroklorik asit
IP3	İnositol trifosfat
JAK	<i>Janus</i> kinaz
K <sup>+</sup>	Potasyum
KCl	Potasyum klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Mono potasyum fosfat
LepR	Leptin reseptörü
L-NAME	N <sup>0</sup> -nitro -L-arjinin metil ester hidroklorid
L-NMMA	N <sup>G</sup> -monometil-L-arjinin
L-NNA	N <sup>0</sup> -nitro arjinin
M	Molar
M <sub>1-5</sub>	Muskarinik reseptörler
MAPK	Mitojen aktive edici protein kinaz
Max	Maksimum

mM	Milimolar
mm	Milimetre
mg	Miligram
MgSO <sub>4</sub>	Magnezyum sülfat
ml	Mililitre
MLCK	Miyozin hafif zincir kinaz
MLCP	Miyozin hafif zincir fosfataz
mM	Milimolar
mRNA	mesajcı-Ribonükleik asit
ms	milisaniye
Na <sup>+</sup>	Sodyum
NANC	Non-adrenerjik non-kolinerjik
nM	Nanomolar
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum bikarbonat
NaCl	Sodyum klorür
NO	Nitrikoksit
NOS	Nitrikoksit sentaz
O <sub>2</sub>	Oksijen
p	İstatistiksel anlamlılık değeri
PG	Prostaglandin
PI <sub>3</sub> K	Fosfotidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz
PIP <sub>2</sub>	Fosfotidilinositol 4,5- bisfosfat
PKA	Protein kinaz A
POMC	Proopiomelanokortin
PPADS	Piridoksal fosfat-6-azottrasodyum salt hidrat
ROK	Rho ilişkili kinaz
RT-PCR	Gerçek zamanlı-Polimeraz zincir reaksiyonu
SERCA	Sarkoplazmik/endoplazmik retikulum Ca <sup>+2</sup> -ATPaz
SH	Standart hata
SHP	Src-homoloji-2 domain protein
SK <sub>Ca</sub>	Ca ile aktive olan küçük iletkenli K <sup>+</sup> kanalı
sn	Saniye

STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
TRP	Geçici reseptör potansiyeli
TTX	Tetrodotoksin
5-HT <sub>1A</sub>	Serotonin reseptörü
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\mu\text{M}$	Mikromolar
$\mu\text{l}$	Mikrolitre

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1 Mesanenin anatomik yerleşimi	3
2.2 Mesanenin histolojik yapısı	4
2.3 Mesanenin inervasyonu	7
2.4 Mesane kasılma ve gevşemesine aracılık eden sinyal yolları	15
2.5 Leptin reseptör izoformları	24
2.6 Leptin reseptörü etki mekanizması	25
3.1 Abdominal kesi sonrasında mesanenin çıkarılması	29
3.2 Mesaneden hazırlanan detrüsör kas şeritleri	30
3.3 Organ banyosu ve MP36 düzeneği	31
3.4 Elektriksel alan stimülatörü	32
4.1 Detrüör kas şeritlerine uygulanan 120 mM KCl ve EAS ile oluşan kasılmalar	36
4.2 Detrüör kas şeritlerinde leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu ile elde edilen EAS frekans cevap eğrileri	37
4.3 Detrüör kas şeritlerinde kontrol ve antagonistler varlığında oluşturulan EAS kasılma cevapları	38
4.4 Detrüör kas şeritlerinde atropin ve atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu ile elde edilen EAS frekans cevap eğrileri	39
4.5 Detrüör kas şeritlerinde atropin+leptin ve atropin+prazosin +PPADS +leptin inkübasyonu ile elde edilen EAS frekans cevap eğrileri	40
4.6 Sıçan detrüsör kas şeritlerinde görülen spontan kasılmalara ait örnek kayıt	41

## TABLOLAR

	Sayfa
4.1. Deney protokolünde kullanılan hayvan sayıları, vücut ve mesane ağırlıkları	35
4.2. Sıçan detrüsör kas şeritlerinde leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu sonrasında EAS ile oluşturulan kasılma cevapları	37
4.3. Sıçan detrüsör kas şeritlerinde atropin ve atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu sonrasında EAS ile oluşturulan kasılma cevapları	39
4.4. Detrüsör kas şeritlerindeki spontan kasılmaların leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu sonrasında genlik (g/100 mg doku) ve frekans (Hz) değişimi	41

## 1. GİRİŞ

Leptin, çoğunlukla beyaz yağ dokuda ve daha az miktarda kahverengi yağ dokuda üretilen, polipeptid yapıda bir hormondur. Yunancada zayıf anlamına gelen “leptos” kelimesinden türetilen leptinin dolaşımdaki seviyeleri vücut yağ kitlesi ile orantılı olarak artar. Ayrıca, leptin sentezi ve dolaşımdaki seviyeleri beslenme durumundaki değişikliklere göre değişmektedir. Açlık durumunda dolaşımdaki leptin seviyesi azalırken, tokluk veya obezite durumlarında leptin seviyeleri artmaktadır. Vücut ağırlığının ve enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli etkileri olan leptin, hipotalamusun kontrolü altında besin alımını inhibe eder ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu aracılığı ile enerji harcanmasını artırır. Bununla birlikte, yüksek leptin seviyelerinin görüldüğü obez kişilerde leptin direncine bağlı olarak leptinin bu etkileri gözlenmez. Enerji homeostazisi ile ilgili etkilerinin yanı sıra leptin vasküler düz kas, solunum yolları, kolon, safra kesesi, uterus gibi farklı dokulardaki düz kaslarda kasıcı ve gevşetici etkiler oluşturmaktadır. Literatürde mesane düz kas kasılma cevabı ile ilgili etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda yüksek leptin seviyeleri ile aşırı aktif mesane belirtileri arasında ilişki olabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle leptinin detrusör kas kasılması üzerindeki etkilerinin belirlenmesi aşırı aktif mesane oluşumu ile ilgili olabilecek rolünün anlaşılması açısından fayda sağlayacaktır.

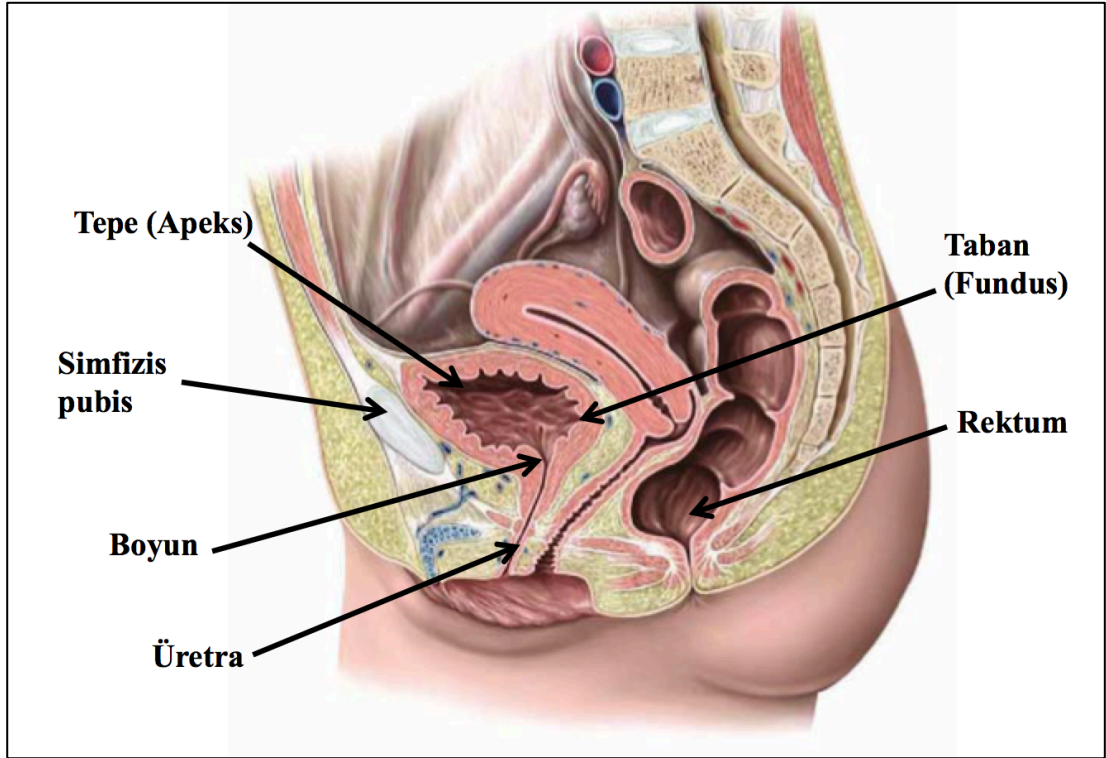
Belirtilen bilgiler doğrultusunda biz bu çalışmada leptinin detrusör kas kasılmasına etkisi olup olmadığını ve olası etkisine katkıda bulunan yolakların belirlenmesini amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mesanenin Anatomisi

İçer boş mesanenin bir tabanı (fundus), bir boynu, bir tepesi (apeks) ve ayrıca bir üst ve 2 inferolateral olmak üzere 3 yüzeyi vardır. Vücudumuzda bir nevi rezervuar olarak görev yapan mesanenin boyutu, şekli ve pozisyonu periton ile olan komşuluğuna ve içinin doluluk durumuna göre değişiklik gösterir (1) (Şekil 2.1). Kесе boşaldığında küçük pelviste yer alırken dolduğunda anterosüperior boşluğa doğru genişler (1,2). Mesane boynu, mesane ve rektumun varyasyonlarından bağımsız bir şekilde sabit pozisyonda uzanan internal üretral açıklıktır (1). Yarık benzeri üreterik açıklıklar posterolateral trigonal açıda yer alır. Boş mesanede yaklaşık 2,5 cm uzakta yer almaktadır. İnternal üretral açıklık, trigonal apekte yer alır ve mesanenin en küçük parçasını oluşturur (1).

Trigon, 2 üreter ve üretranın açıklıklarının uçlarında görülen üçgen yapıdır. Trigonu oluşturan düz kas 2 ayrı tabakadan meydana gelir, yüzeysel trigonal kas ve derin trigonal detrüsör kas olarak da adlandırılır. Derin trigonal detrüsör kas benzer kas hücrelerinden oluşur ve detrüsör kasın posteroinferior kısmını oluşturur. Yüzeysel trigonal kas morfolojik olarak trigondan farklı bileşenlere sahip olup detrüsörün aksine oldukça küçük boyuttaki kas demetlerinden meydana gelmiş ince bir tabakadan oluşmaktadır (1).



Şekil 2.1 Mesanenin anatomik yerleşimi. (3)

## 2.2. Mesanenin Histolojisi

Mesane içten dışa doğru ürotelyum, lamina propria, muskularis propria ve seroza olmak üzere dört tabakadan meydana gelir (Şekil 2.2).

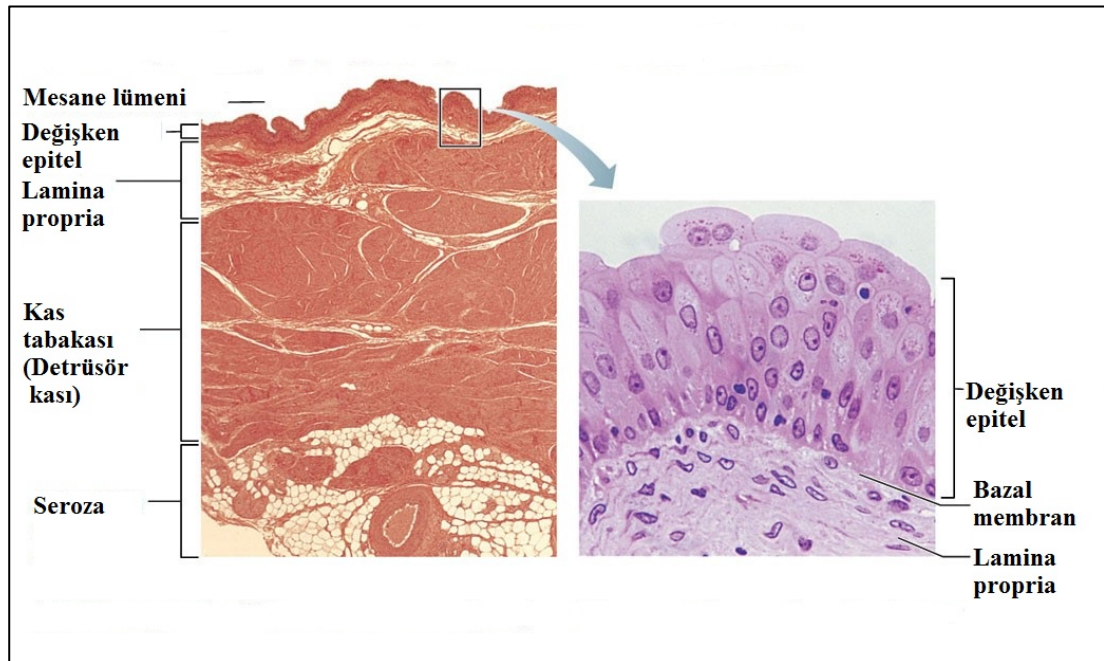
Ürotelyum, üriner epitel ya da değişken epitel olarak isimlendirilen özelleşmiş epitel hücrelerinden meydana gelmektedir. Gerilme durumunda hücreler sahip oldukları desmozomlar sayesinde pozisyonlarını değiştirmeden düzleşebilir. Dolayısıyla 4 ile 7 kat arasında değişen hücre tabakasından meydana gelen ürotelyum, mesane tamamen dolu olduğunda 2-3 katlı hücre tabakası kalınlığında gibi görünür (1).

Lamina propria, kapiller, lenfatik damarlar ve sinir uçlarından zengin bağ dokudan oluşur ve ürotelyumdan bazal membranla ayrılmıştır. Elastik lifler ve muskularis mukoza tabakası da denin ince düz kas lifleri içerir. Yüzeyde düzensiz

sıkı kollajen lifler yer alırken derinde kollajen ve elastik liflerden zengin daha gevşek bir bağ doku yer almaktadır (1).

Muskularis propria, mesane duvarının esas kısmını oluşturan düz kas tabakasıdır. Bu tabaka detrüsor kası olarak da adlandırılmaktadır. İçte longitudinal, ortada sirküler ve dışta longitudinal şekilde düzenlenmiş 3 tabakadan meydana gelmektedir (1). Mesanenin üreterler ile birleştiği kısımlarda ortadaki sirküler düzenlenmiş detrüsor kas lifleri üretranın iç açıklığındaki elastik dokuyla birleşerek burada internal sfinkter adı verilen yapıyı oluşturmaktadırlar (1,4). Hemen komşuluğunda ürogenital diyaframda ise sirküler olarak düzenlenmiş iskelet kas liflerinden oluşan eksternal sfinkter yer almaktadır (4,5).

Seroza en dıştaki tabakayı oluşturmakla beraber mesaneyi kısmen kaplamaktadır. Mezotel tarafından dıştan çevrelenmiş, genellikle muskularis propriaya ve bazende lamina propriaya uzanan vaskülarize adipoz dokudan ve elastik liften zengin düzensiz sıkı bağ dokudan meydana gelmektedir (1).



Şekil 2.2 Mesanenin histolojik yapısı. (6)

## 2.3. Detrüsör Düz Kasın Özellikleri

### 2.3.1. Mekanik Özellikleri

Detrüsör kas hücreleri iğ şeklinde tek nükleuslu hücreler olup bunlar bir araya gelerek kas demetlerini oluşturmaktadır (7). Düz kas özelliği taşıyan detrüsörün kasılması diğer kas tiplerinde olduğu gibi aktin ve miyozin arasındaki etkileşim sonucunda meydana gelmektedir. Aktin ve miyozin filamanları iskelet ve kalp kasında olduğu gibi sarkomer şeklinde düzenli bir dizilim göstermedikleri için düz kaslarda çizgilenme görülmez (8). Dolayısıyla sarkomerler arasında görülen Z çizgisi de bulunmaz. Düz kaslarda fonksiyonel olarak Z çizgilerine benzer yapıda yoğun cisimler bulunur (9). Desmin ve vimentin gibi proteinleri içeren ara filamanların aracılığı ile hücre iskeletine bağlanırlar. Yoğun cisimler  $\alpha$ -aktinin gibi yapısal proteinler ile aktin filamanlarına tutunarak (8-10) miyozin filamanları için bağlanma bölgesi oluştururlar (7). Bu yapısal proteinler çoğunlukla kasılma mekanizmasından elde edilen kuvvetin çevre hücrelere ve matrikse iletilmesinde, çeşitli sinyal alma ve oluşturma mekanizmalarında görev alırlar (11).

Düz kaslar otonom sinir sistemi tarafından uyarılmaktadır. Presinaptik aksonda nörotransmitterleri içeren veziküllerin bulunduğu akson sonlanmalarındaki genişlemiş bölgelere varikozite denir. Bu bölgeler düz kas membranına bir kaç nanometreden bir kaç mikrometreye varan uzaklıkta bulunurlar. İçerdikleri nörotransmitterler düz kası çevreleyen matrikse salınır ve düz kas membranı boyunca yaygın olarak bulunan reseptörlerine bağlanırlar (4,10). Düz kaslar, kasılma davranışına göre tek üniteli ve çok üniteli olmak üzere ikiye ayrılır. Tek üniteli düz kaslar, hücrelerin yarık bağlantılarla (*gap junction*) birleştiği kas demetlerinden meydana gelmektedir. Bu bağlantılar sayesinde elektriksel uyarı bir hücreden diğerine aktarılarak bir kasılma dalgası oluşturulur (9). Çok üniteli düz kaslarda ise hücreler arasında çok daha az miktarda elektriksel bağlantı vardır ve hücreler birbirinden bağımsız olarak uyarılabilir (10,12). Benzer şekilde insanlarda mesane düz kas hücreleri arasında elektrotonik bir bağlantı bulunmaz ve her bir sinir hücresi bir kas hücresinde sonlanır. Ancak tek üniteli düz kaslarda olduğu gibi kasın gerilmesiyle kasılma cevabı meydana gelir. Dolayısıyla insan mesane düz kası

yapısal olarak çok üniteli düz kaslara benzerken fonksiyonel olarak tek üniteli düz kaslara benzemektedir (7,12).

### 2.3.2. Dinlenim Zar Potansiyeli ve Uyarılma

#### Detrüsör düz kasında elektriksel aktivite

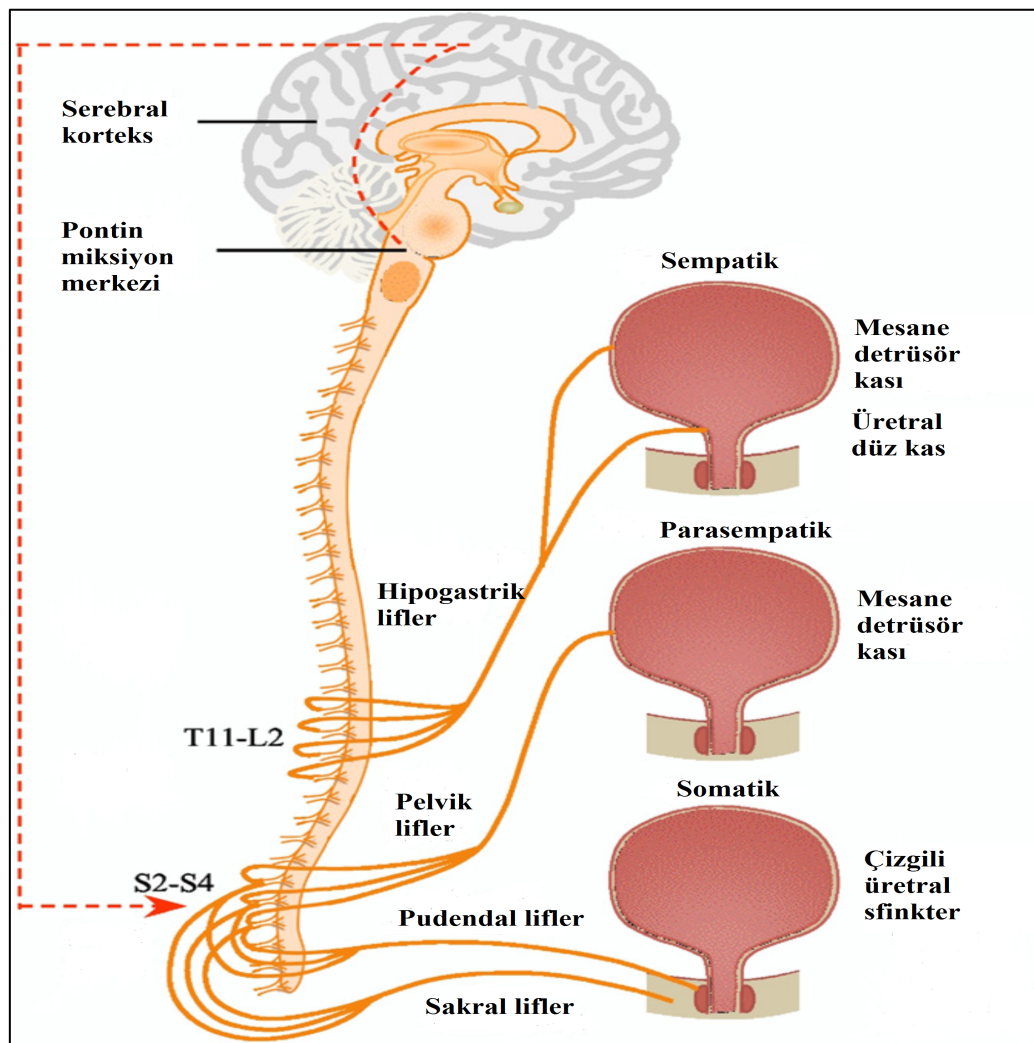
Dinlenim koşullarında bulunan bütün hücrelerin plazma zarları üzerinde, zarı geçebilen iyonlar hücre içini, dışına göre negatif yapacak bir potansiyel farkı oluştururlar. Bu potansiyele dinlenim membran potansiyeli denir (13). Elektriksel olarak uyarılabilen ve aksiyon potansiyeli oluşturabilme özelliğine sahip detrüsör düz kas hücrelerinin dinlenim membran potansiyeli -40 ile -55 mV civarındadır (14,15). Dinlenim membran potansiyelinin kontrolü, iyon kanallarından ve  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{+2}$  değiştiricilerinden  $\text{Ca}^{+2}$ 'un giriş ve çıkışının düzenlenmesinde, aksiyon potansiyellerinin başlatılabilmesinde ve spontan aktivitenin devam ettirilmesinde önemlidir (7). Aksiyon potansiyelinin depolarizasyon fazı başlıca L tipi  $\text{Ca}^{+2}$  kanalları aracılığı ile  $\text{Ca}^{+2}$  iyonlarının hücre içine girişle meydana gelirken repolarizasyon fazı  $\text{K}^+$  iyonlarının çeşitli  $\text{K}^+$  kanalları yoluyla hücre dışına çıkışıyla meydana gelmektedir (16). Meydana gelen aksiyon potansiyelleri patlama şeklinde üretilir ve kasılma ile sonuçlanır (7).

### 2.4. Mesanenin İnervasyonu

Mesanenin idrarı toplama ve depolama fonksiyonu sonucu ortaya çıkan kontinans ve miksiyon olaylarının meydana geldiği döngü, spinal kord ve beyin tarafından kontrol edilmektedir. İdrarın toplanması ve depolanması sırasında beyindeki kortikal ve suprapontin merkezler, detrüsör kasın ve sfinkterlerin kasılmasını ve miksiyon refleksini kontrol eden pontin miksiyon merkezini inhibe eder (4).

Mesanenin gerimiyle birlikte buradan kalkan afferent lifler mesanenin doluluğuyla ilgili bilgileri spinal kordun arka boynuzuna gönderir. Buradan üst merkezlere iletilen aktivite, pontin miksiyon merkezi üzerindeki inhibisyonu kaldırarak detrüsöre giden parasempatik (pelvik sinirler) efferent liflerin

aktifleşmesini ve sırasıyla internal ve eksternal sfinkterlere giden sempatik (hipogastrik sinirler) ve somatik (pudental sinirler) efferent liflerin inhibisyonunu sağlayarak miksiyonu başlatır (17). Detrüsör kasın kasılması ve internal ve eksternal sfinkterlerin gevşemesi ile miksiyon başlatılır ve idrar dışarı atılır (4). Mesane boşaldıktan sonra döngü tersine döner ve afferent bilginin iletimi sonrasında detrüsör kasın parasempatik inervasyonu inhibe edilerek, internal ve eksternal sfinkterlerin kasılmasını sağlayacak şekilde sempatik ve pudental sinirler aktive edilir. Bu şekilde idrarın depolanması sağlanmış olur ve istemsiz ürünasyon engellenir (17) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Mesanenin inervasyonu. (18)

Miksiyon refleksi başladığında “kendi kendini uyarıcı” özelliğe sahip mesanenin ilk kasılmaları gerim reseptörlerinden kalkan duyuşal impulsların daha da artmasına

ve mesanede daha güçlü kasılmalara neden olur. Ayrıca, istemli ürinaryonda istemli abdominal kasların kasılması mesane basıncını artırmaya yardımcı olarak mesanenin tamamen boşaltılmasına katkıda bulunurlar (4).

#### 2.4.1. Afferent İnervasyonu

Duyusal aksonlar mesane duvarının detrusör düz kasında, üretelyumun derin tabakalarında ve yine mesane duvarındaki kan damarlarında yaygın bir ağ oluşturmaktadırlar (19). Mesanede mekanoreseptörlerden kalkan gerim uyarıları ve inflamasyon gibi diğer uyarıları taşıyan afferent lifler sakral spinal kordun arka boynuzunda yer alan internöronlarla sinaps yaptıktan sonra üst merkezlere taşınır. Mesane ile ilgili bu afferent bilgiler miyelinli A-delta ve miyelinsiz C lifleri ile taşınır (17). A-delta lifleri başlıca detrusör düz kas tabakasında yerleşmiştir ve mesanenin dolumu sırasında gerim ile uyarılır ve doluluk hissini iletir. C liflerinin ise daha yaygın bir dağılımı vardır, detrusör düz kasta, lamina propriada üretelyuma yakın olarak ve direkt olarak üretelyal hücrelerin komşuluğunda yerleşim gösterir ve mesane hacim değişiklikleri ile ilgili bilgileri iletirler (18). Bu liflerin aksiyon potansiyeli iletim hızları ve moleküler özellikleri birbirinden farklılık göstermektedir (20).

Normal mesane doluşu sırasında aktifleşen ve 2,5-15 m/sn ileti hızına sahip A-delta lifleri (21-23), basıncın artışıyla mesane duvarındaki mekanoreseptörlerden aldıkları uyarıyı hipogastrik (lumbar viseral afferent), pelvik ve pudental (sakral viseral afferent) sinirler aracılığıyla spinal korda taşır (5,17,20). Pelvik afferentlerin aksine hipogastrik afferentler mesanenin boşalmasıyla aktive olurlar (20). A-delta liflerinin uyarılmasını sağlayan eşik basınç değeri mesanenin dolmaya başlama hissini oluşturduğu 5-15 cmH<sub>2</sub>O değerleri arasındadır (24).

Nosiseptif tipteki C lifleri ise farklı olarak belirgin plastisite gösterirler ve idrar potasyumu artışı, idrar pH'sı azalışı ve kimyasal iritasyon ile oluşan ağrı impulslarını iletir. Başlıca mukozanın kimyasal iritasyonu ve soğuğa cevap olarak aktive olan bu liflerin uyarılması için gerekli olan eşik değeri daha yüksektir (24).

İnflamasyon durumlarında veya nörolojik hasar sonrasında afferent bilgiyi medulla spinalise taşıyan en önemli yol haline gelirler (23,25).

Afferent sinir aktivitesi mesane kasılması süresince görülür ve boşaltım refleksi için gereklidir. Ayrıca ürotelyum, kimyasal ve mekanik uyaranlara cevap olarak salgıladığı moleküllerle afferent aktiviteyi düzenler. Salgıladıkları ATP, prostaglandinler (PG), sinir büyüme faktörü, asetilkolin (ACh) ve nitrik oksit (NO) ürotelyumun içinde veya yakınında bulunan afferent sinirleri uyarır veya inhibe eder (25).

#### **2.4.2. Merkezi Sinir Sistemi**

Pontin retiküler formasyondan gelen nöral projeksiyonlar idrarın depolanması ve boşaltılmasında önemli bir role sahiptir. Retiküler formasyonun medial bölgesi pontin miksiyon merkezi olarak bilinir (17). Bu merkezden kalkan uyarılar spinal kordun ön boynuzunda yer alan eksternal sfinkteri uyarıcı motonöronların yerleştiği Onuf nükleusuna (somatik motor nükleus) ve parasempatik motor nükleusa gelir. Pontin miksiyon merkezinden bir uyarı geldiğinde GABA ve glisin aracılı inhibitör ara nöronlarla Onuf nükleusunun inhibisyonu ve eksternal sfinkterin gevşemesi sağlanırken parasempatik motor nükleus direkt olarak aktive edilerek mesanenin kasılması ve üretral basınçta bir azalma sağlanır (26).

Retiküler formasyonun lateral bölgesi pontin kontinans merkezi olarak isimlendirilir ve Onuf nükleusunun internal sfinkter motonöronlarını tonik olarak uyarır (17). Mesanede bulunan gerim reseptörleri mesanenin doluluk durumunu pontin kontinans merkezine, periakvaduktal gri madde ve sağ anterior singulat girusa iletir. Parasempatik aktivite inhibe edilir ve aktif pontin kontinans merkezinden projekte olan lifler Onuf nükleusu aktive ederek eksternal üretral sfinkterin tonusunu artırır. Eş zamanlı olarak sempatik afferent aktivitenin artmasıyla salınan noradrenalin mesane duvarındaki  $\beta$ -adrenoseptörler üzerinden etki göstererek düz kasın gevşemesine neden olur. Bu durum mesanenin kompliyansını artırarak düşük basınçta mesanenin doluşunu sağlar (17,27).

### 2.4.3. Efferent İnervasyonu

Mesane duvarını inerve eden pregangliyonik parasempatik lifler sakral spinal kordun S2-S4 segmentinden çıkan pelvik sinirlerle taşınarak pelvik pleksusta ve mesane duvarındaki kolinerjik gangliyonlarda sinaps yaptıktan sonra detrüör düz kasını uyararak intravezikal basıncı artırır, internal sfinkteri inhibe eder ve pelvik duvar kaslarının gevşemesiyle miksiyon başlatılır (17,28).

Spinal kordun T12-L1 seviyelerinden çıkan pregangliyonik sempatik lifler hipogastrik sinirlerin içinde seyrederek pelvik pleksustaki adrenerjik gangliyonlarda sinaps yaparlar (17). Bu gangliyondan çıkan sinirlerin uyarılması mesanenin dolmasıyla sonuçlanacak şekilde detrüör kasın gevşemesine ve internal sfinkterin kasılmasına neden olarak idrarın depolanması sağlanır (5).

Pudental sinir (S2-S4), eksternal sfinkteri inerve eden efferent sinir liflerini ve ayrıca perineal deriden kalkan afferent sinir liflerini de taşımaktadır (17). Miksiyonun istemli kontrolünden sorumlu olan bu somatik sinir eksternal sfinkterin iskelet kas liflerinin tonik kasılmalarını sağlar. Miksiyon boyunca bu sinir inhibe edilir ve eksternal sfinkterin gevşemesine neden olarak idrarın boşaltılması gerçekleştirilir (5).

### 2.5. Mesanenin Kasılma ve Gevşeme Mekanizmaları

Mesanenin tonusunu mesane hacmi ve intravezikal basınç oluşturmaktadır (4). Depolama fazı boyunca mesanedeki idrar hacmi 200-300 ml'ye kadar çok düşük basınçta artabilir. Mesane düz kasının sahip olduğu yüksek kompliyans nedeniyle az miktarda basınç artışları meydana gelmektedir (29).

Depolama fazı boyunca mesanedeki gerim reseptörleri, pelvik sinirler aracılığıyla mesanenin doluluk durumuyla ilgili afferent sinyalleri gönderir. Yaklaşık 150 ml hacimde istemli boşaltım hissi gönderilirken, 400-500 ml'ye varan hacimlerde tam doluluk hissi gönderilir. Ayrıca, öğrenilmiş refleks yardımıyla beyinden gelen efferent impulslar sakral spinal korddaki presinaptik parasempatik

nöronları inhibe ederek, eksternal sfinkterin istemli kasılmaları ile birlikte fizyolojik sınırlarda idrarın depolanmasına katkıda bulunur (4).

Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun bazal seviyeden 50-100 nM'lık bir artışı kasılmayı başlatır ve yaklaşık 1  $\mu M$ 'da maksimumun yarısına ulaşılır.  $Ca^{+2}$  kaynağı L- ve T-tipi  $Ca^{+2}$  kanalları aracılığı ile ekstrasellüler olabileceği gibi (16,30)  $Ca^{+2}$  indüklü  $Ca^{+2}$  salınımıyla veya inositoltrifosfat ( $IP_3$ ) aktivasyonu ile (31) intrasellüler depolardan (32) olabilmektedir.

Diğer düz kaslarda olduğu gibi kasılma,  $Ca^{+2}$ -kalmmodulin kompleksinin aktivasyonu ve kasılma proteinlerinden miyozinin miyozin hafif zincir kinaz (MLCK) tarafından fosforilasyonu ile oluşmaktadır (7). Dört  $Ca^{+2}$  'un 1 kalmmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks MLCK'yı aktive eder. Bu enzim miyozinin 19. pozisyonundaki serin üzerinden fosforilasyonu katalizleyerek miyozin ATPaz'ın aktivasyonunu artırır (8). Buradaki ATPaz aktivitesinin iskelet kasındakinden daha yavaş olması ATP yıkımını azaltır, döngü hızını yavaşlatır. Diğer taraftan bu döngünün yavaş olması döngü boyunca tek bir ATP molekülünün kullanılmasını ve dolayısıyla kas kasılması için daha az enerji gerekmesine neden olur (10).

Hücre içi  $Ca^{+2}$  artışı kısa sürelidir ve hücre içi  $Ca^{+2}$ ,  $Na^+$  /  $Ca^{+2}$  değiştiricisi (33) veya ATP bağımlı Ca pompasıyla (34) hücreden dışarı atılır ya da SERCA (Sarkoplazmik retikulum  $Ca^{+2}$ -ATPaz) pompası yardımıyla intrasellüler depolara geri alınır. SERCA'nın aktivitesi fosfolamban gibi intrasellüler proteinlerle düzenlenmektedir (35).

Miyozin hafif zincir fosfataz (MLCP) ile miyozin hafif zincirin defosforilasyonu gevşemeye neden olur (7). Dolayısıyla detrüsör kasın kasılma ve gevşemesinin düzenlenmesinde MLCK ve MLCP enzimleri ve bu enzimlerin aktivasyonunu düzenleyen intrasellüler mesajcılar önemli rol oynamaktadır. Mitojen-aktive edici protein kinaz (MAPK) ve p21-aktive edici kinaz gibi enzimler MLCK'yı fosforile ederek aktivasyonunu azaltır (36,37). MLCP'nin aktivasyonunun

azaltılmasında ise detrusörde farklı formları bulunan rho-ilişkili kinaz (ROK) rol almaktadır (38).

### 2.5.1. İyon Kanalları

Detrusör miyosit membranındaki gerimle aktive olan kanalların iki işlevi vardır. İyon geçişine neden olarak depolarizasyon ve sonrasında kasılmaya neden olur. Detrusör miyositlerin fiziksel gerilimi, seçici olmayan katyon kanallarını açar, hücre depolarize olur ve  $Ca^{+2}$  kanallarından  $Ca^{+2}$  geçişini artırır (39). Ancak gerim aynı zamanda gerimle aktive olan  $K^{+}$  kanal aktivitesini de artırır (40). Net etki spontan aktivitenin artması yönünde olmaktadır. Diğer işlevi ise; gerimle meydana gelen mekanik sinyalleri transmembran reseptörlerine aktarmaktır. Bunun sonucunda  $PI_3K$  ve  $MAPK$  yollarını aktive ederek hücre proliferasyonunda rol alan heparin-bağlı epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-I ve platelet kaynaklı büyüme faktörü BB gibi çeşitli büyüme faktörlerinin düzenlenmesini sağlar (41).

Ekstrasellüler  $Ca^{+2}$ 'un hücre içine geçişini sağlayan  $Ca^{+2}$  kanalları membran bağımlı proteinlerdir. İnsan detrusör kasında  $Ca^{+2}$  geçişini sağlayan L- ve T- tipi  $Ca^{+2}$  kanalları yer almaktadır (30). L-tipi  $Ca^{+2}$  kanalları yavaş kapılı voltaj bağımlı kanallardır. Yüksek voltajlarda aktive olurlar. T- tipi  $Ca^{+2}$  kanalları ise daha düşük voltajlarda aktive ve inaktive olabilmektedirler (42).  $Ca^{+2}$ 'un içeri girişi sarkoplazmik retikulum sisternasındaki  $Ca^{+2}$  serbestleyici kanallar olan ryanodin reseptörleri aracılığı ile intraselüler depolardan daha fazla  $Ca^{+2}$ 'un salınmasını sağlayarak kasılmaları devam ettirir (7,10).

Hücre dışına iyon çıkışı özellikle  $Ca^{+2}$  ile aktive olan büyük iletkenli ( $BK_{Ca}$ ) ve küçük iletkenli ( $SK_{Ca}$ )  $K^{+}$  kanalları tarafından sağlanmaktadır. Bu kanallar dinlenme membran potansiyeli, aksiyon potansiyelinin repolarizasyonu (43,44) ve miyosit kasılabilirliğine aracılık eder (45). Voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarından  $Ca^{+2}$  girişi hem  $BK_{Ca}$ 'yı hem de  $SK_{Ca}$ 'yı aktive eder. Bununla birlikte  $SK_{Ca}$  kanal aktivitesi  $Ca^{+2}$  girişi ile düzenlenirken,  $BK_{Ca}$  kanal aktivitesi ryanodin reseptörleri tarafından intraselüler depolardan salınan  $Ca^{+2}$  ile düzenlenir (43,46).

İntraselüler ATP-duyarlı  $K^+$  kanalları da detrüör düz kasında tanımlanmıştır ve kanalın açılmasıyla meydana gelen hiperpolarizasyon, spontan aktivitenin azalmasına neden olur (47). Aşırı aktif mesane tedavisinde  $K^+$  kanal açıcı ajanlar tercih edilen bir seçenektir. Ancak dokuya özgü olmadıkları için vasküler düz kasta oluşturdukları etkilere bağlı olarak hipotansiyon gibi yan etkiler oluşabilmektedir (48).

### 2.5.2. Kolinergic Mekanizma

Muskarinik reseptörlerin beş alt tipinin ( $M_{1-5}$ ) tümü insan mesanesinde bulunduğu bilinmektedir (49). Bununla birlikte  $M_2$  alt tipinin  $M_3$ 'e göre insanlarda 3 kat sıçanlarda 9 kat daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir (50,51). Detrüör düz kasında eksprese edilen  $M_2$  ve  $M_3$  alt tiplerinden  $M_2$  çok daha fazla miktarda bulunmasına rağmen  $M_3$  alt tipinin kasılma aktivasyonundan asıl olarak sorumlu olduğu (52) bildirilmiştir.  $M_2$  reseptörünün ise kasılmaya az miktarda katkısı olduğu (53) ve  $\beta$  reseptör aracılı gevşemeyi inhibe edici etkilerinin (54) daha önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca denerve ya da hipertrofiye olmuş mesanede ve  $M_3$  desensitizasyonu gibi bazı patolojik mesanelerde  $M_2$  reseptörlerinin kasılmaya katkılarının daha ön plana çıktığı bildirilmiştir (55).

İzole insan detrüör kas şeritlerinin ACh ile kasıldığı, bu kasılmaların kolinesteraz inhibitörleriyle artırıldığı ve atropin ile engellendiği gösterilmiştir (56). Detrüör kas kasılmasında önemli rolü olan muskarinik reseptörler fonksiyonel olarak G proteine bağlanarak fakat farklı sinyal mekanizmalarıyla aktivitelerini gösterirler (57).  $M_3$  reseptörü  $G_{q/11}$  protein bağımlıdır. Fosfolipaz C enzimini aktive ederek fosfotidilinositol 4,5-difosfatın ( $PIP_2$ )  $IP_3$  ve diaçilgliserol (DAG)'e hidrolizini katalizler (12). Oluşan bu ikinci mesajıcılardan  $IP_3$ , endoplazmik retikuluma difüze olup kimyasal kapılı  $Ca^{+2}$  kanalı olan kendi reseptörüne bağlanarak intraselüler  $Ca^{+2}$  depolarındaki  $Ca^{+2}$ 'un salınımını sağlar (7,8). Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun artışı ryanodin reseptörlerinden  $Ca^{+2}$  indüklü  $Ca^{+2}$  salınımıyla (CICR) daha fazla  $Ca^{+2}$  çıkışı olur. Bir diğer oluşan ikinci mesajıcı DAG, protein kinaz C aktivasyonu ile tamamlayıcı bir rol oynar, MLCP'yi fosforilleyerek aktivitesini azaltır ve kontraktıl proteinlerin  $Ca^{+2}$  duyarlılığı artırır. Detrüör kasında

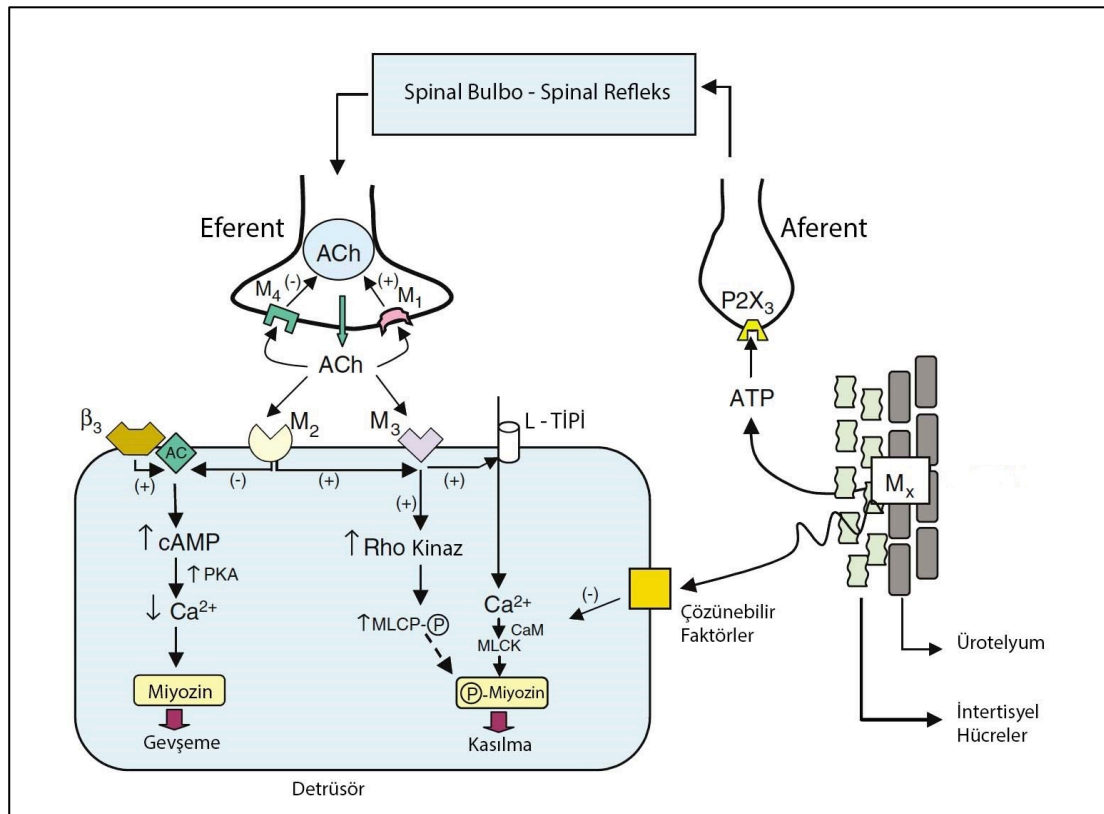
karbakol ve asetilkolin ile indüklenen kasılmalarda  $M_3$  yolağı üzerinden  $Ca^{+2}$  salınımının meydana geldiği gösterilmiştir (58-60). Ancak yapılan bazı çalışmalarda sadece yüksek konsantrasyonlarda muskarinik reseptör agonist varlığında  $IP_3$ 'ün kasılmaya katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Buna bağlı olarak nöral yolla salınan asetilkolin konsantrasyonunun her zaman yeterli seviyede  $IP_3$  üretimini uyaracak miktarda olmadığı düşünülmektedir (12). Benzer şekilde yapılan bir başka çalışmada  $M_3$  muskarinik reseptör aracılı kasılmada  $IP_3$  üretimi için yüksek konsantrasyonda agonist gerektiği gösterilmiş bununla birlikte  $M_2$  muskarinik reseptör aracılı kasılmada  $IP_3$ 'ün katkısı olmadığı bulunmuştur (61).

$M_3$  reseptörünün uyarılması sonrasında temel olarak uyarılan bu ikinci mesajcı sistemin dışında başka sinyal yolları da görev almaktadır. Bunlar arasında fosfolipaz D ve  $A_2$  gibi diğer fosfolipazlar, tirozin kinaz, MAPK ve Rho kinazların uyarılması sayılabilir (62). Her ne kadar  $M_3$  reseptör uyarılması başlıca fosfolipaz aktivasyonuna neden olsa da L-tipi  $Ca^{+2}$  kanallarının açılışı ve rho kinaz aktivasyonunun daha önemli role sahip olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.4) (62,63). Rho kinazın bu rolünü destekler şekilde Jezior ve arkadaşları detrusör düz kasında muskarinik reseptör aktivasyonundan hem seçici olmayan katyon kanallarının hem de Rho kinaz aktivasyonunun sorumlu olduğunu göstermiştir (56). Bir diğer çalışmada Wibberley ve arkadaşları Rho kinaz inhibitörlerinin (Y-27632) G protein bağımlı reseptör agonisti olan karbakolle indüklenmiş sıçan detrusör kası kasılmasını inhibe ettiğini ve bazal tonusu azalttığını göstermiştir (64).

Muskarinik  $M_2$  reseptörleri ise  $G_i$  protein bağımlıdır.  $Ca^{+2}$  ile aktifleşen  $K^+$  kanallarını, ATP duyarlı  $K^+$  kanallarını ve seçici olmayan iyon kanallarını inhibe eder (65,66). Adenilat siklazı inhibe ederek cAMP üretimini azaltır (67). Dolayısıyla cAMP artışına bağlı olarak meydana gelen protein kinaz-A (PKA) aktivasyonu ve hücre içi  $Ca^{+2}$  azalması sonucu oluşan gevşeme cevabı engellenmiş olur (52).

Detrusöre ek olarak ürotelyum ve lamina propriada muskarinik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir ve hatta buradaki yoğunluğunun detrusör kastan daha fazla olduğu bulunmuştur (68,69). İnsan ve çeşitli türlerde, ürotelyumdaki muskarinik

reseptörlerden  $M_2$  ve  $M_3$ 'ün daha fazla sayıda bulunduğu (63) ve insan ürotelyumunda yapılan çalışmalarda muskarinik reseptör çeşitlerinin ürotelyumun farklı hücre tabakalarında farklı yoğunlukta olduğu gösterilmiştir (70). Ürotelyum, üzerinde bulunan pek çok reseptör aracılığı ile çeşitli uyarılara karşı aracı moleküller salgılar ve sonrasında diğer ürotelyal hücreleri, afferent sinirleri ve düz kası etkileyerek mesane fonksiyonunu düzenler.



Şekil 2.4 Mesane kasılma ve gevşemesine aracılık eden sinyal yolları. (52)

### 2.5.3. Adrenerjik Mekanizma

Adrenal medulla ve sempatik sinir sonlanmalarından salgılanan ketakolaminler tüm vücutta hücre membranlarında yer alan aynı reseptör ailesine (adrenerjik reseptör ailesi) bağlanarak etki göstermektedirler. Adrenerjik reseptörler transmembran proteinleridir ve hücre dışı amino ve hücre içi karboksi uçlarından meydana gelmektedirler. 5 farklı alt tipi ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  ve  $\beta_3$ ) olan adrenerjik reseptörler, fizyolojik olayların düzenlenmesini farklı ikinci mesajcılar üzerinden kontrol etmektedirler.  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin uyarılması, ikinci mesajcı olarak

cAMP artışına neden olurken  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin uyarılması fosfolipaz C ve adenilat siklaz enzim aktivasyonlarının yanı sıra  $Ca^{+2}$  ve  $K^{+}$  kanallarını da etkileyebilmektedirler (71).

$\alpha$  ve  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin mesanedeki dağılımı fonksiyonel olarak önem göstermektedir. Mesane gövdesi yüksek oranda  $\beta$ -adrenerjik reseptör ve az oranda  $\alpha$ -adrenerjik reseptör içerirken, mesane tabanı ve üretra yüksek oranda  $\alpha$ -adrenerjik reseptör ve az oranda  $\beta$ -adrenerjik reseptör içermektedir (72).

Sempatik aktivasyon ile uyarılan  $\beta$ -adrenoseptörlerin detrüör düz kasındaki gevşetici etkisi miksiyon döngüsünün depolama fazında önem kazanmaktadır (73). Mesanede bulunan  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin üçünün mRNA seviyeleri sıçanda (74) neredeyse benzerken insan mesanesinde  $\beta$ -adrenerjik reseptör mRNA'larının %95'den fazlasının  $\beta_3$ -adrenerjik alt reseptör tipine ait olduğu gösterilmiştir (73).

İnsan detrüör kasında bulunan gevşemeden sorumlu  $\beta$ -adrenoseptör alt tiplerinden başlıca  $\beta_3$  ve daha az oranda  $\beta_2$  detrüör kasta eksprese edilmektedir (28,73,75). Bu reseptörler  $G_s$  protein bağımlıdır ve düz kas cAMP seviyesini artırarak PKA'nın aktivasyonunu sağlar. Bu aktivasyon detrüörün gevşemesine neden olmaktadır (Şekil 2.4) (28). cAMP üretiminin artması aynı zamanda sitoplazmik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunda bir azalmaya neden olarak yine gevşemede etkili olmaktadır.  $\beta$ -adrenerjik reseptör aracılı düz kas gevşemesinde anahtar rol oynayan cAMP'nin (73) yanı sıra çok daha önemli bir diğer mekanizma  $Ca^{+2}$  ile aktive olan  $K^{+}$  kanalının geçirgenliğinin artışıdır (76). Aşırı aktif mesane tedavisinde selektif  $\beta$  reseptör agonistlerinin kullanımı ile ilgili olarak son zamanlarda yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır (77-79).

Çeşitli tanımlama yöntemleriyle  $\alpha_1$ -adrenoseptörlerin  $\alpha_{1a}$ ,  $\alpha_{1b}$  ve  $\alpha_{1d}$  olmak üzere 3 alt tipi olduğu belirlenmiştir (80).  $\alpha_{1a}$  alt tipi genellikle prostat ve mesane boynunda düz kas tonusunu düzenlerken,  $\alpha_{1b}$  alt tipi küçük direnç damarlarının kasılmasıyla kan basıncının düzenlenmesine katkıda bulunur.  $\alpha_{1d}$  alt tipi de mesane fonksiyonlarında ve spinal kordun inervasyonunda yer alır (76). Pek çok türde  $\alpha_1$ -

adrenoseptörlerin uyarılması detrusör düz kasında zayıf kasılmalara neden olurken, kuvvetli kasılmalar daha çok trigonda, mesane boynu ve tabanında gözlenmiştir. Bu etkilerin fizyolojik önemi bilinmemekle birlikte mesane boynunun sempatik sistemden ziyade daha çok parasempatik kontrol altında olduğu yorumu yapılabilir (81).

$\alpha_1$ -adrenoseptörler etkilerini genellikle  $G_{q/11}$  proteinleri aracılığıyla gösterirler (82) ve reseptörlerin uyarılması ile fosfolipaz C aktivasyonu,  $IP_3$  ve DAG ikinci mesajcılarının üretimi, endoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  salınımı ve genlerin aktivasyonu ile düz kas kasılması oluşur (83).

#### **2.5.4. Nonadrenerjik Nonkolinerjik Mekanizma**

##### **Pürinerjik Reseptörler**

Pürinler tarafından meydana gelen ekstraselüler sinyal mekanizması ve pürinerjik reseptörlerin tanımlanmasından sonra yapılan çalışmalarda pürinerjik reseptörler P1 (ligandı adenosin) ve P2 (ligandı ATP ve ADP) olmak üzere 2 gruba, P2 reseptörü de P2X ve P2Y olmak üzere alt gruplara ayrılmıştır (84). Üretelyumda ve detrusörde P2 reseptörlerinin ekspresyonu gösterilmiştir (85,86). Pek çok memeli türünde ATP, parasempatik sinirlerden ACh ile birlikte salınarak pürinerjik reseptörleri aktive eder. ATP ayrıca mesane gerildiğinde üretelyumdan da salınır ve mesanenin doluluğuyla ilgili sinyal iletimi için P2X ve P2Y reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir (7,86,87).

P2X reseptörleri iyonotropik, ligand bağımlı spesifik olmayan katyon kanalları olup 7 tane P2X reseptörüne ait alt tip ( $P2X_{1-7}$ ) klonlanmış ve karakterize edilmiştir. Bunlardan  $P2X_1$ 'in detrusörde,  $P2X_3$ 'ün mesanenin afferent sinirlerinde eksprese edildiği belirlenmiştir (88,89).  $P2X_1$  reseptörü hücre içine  $Na^+$  ve  $Ca^{+2}$  geçişini sağlar, aksiyon potansiyeli üretimi için L-tipi  $Ca^{+2}$  kanalını aktive eder, böylelikle daha fazla  $Ca^{+2}$  akışı olur (89).  $Ca^{+2}$ 'un içeri girişi direkt olarak kontraktıl proteinleri etkiler ya da  $Ca^{+2}$  depolarından CICR aracılığıyla intraselüler  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun etkin bir biçimde artışını sağlar (7).

P2Y reseptörleri ise metabotropik G protein bağımlı olup P2Y reseptörünün 8 alt tipi (P2Y<sub>1,2,4,6,11-14</sub>) olduğu gösterilmiştir (84). Detrüsör düz kas hücrelerinde ve mesane kan damarlarında varlığı gösterilen P2Y<sub>1</sub> pürinoseptörlerin sıçan mesanesinde tonusu inhibe ettiği gösterilmiştir (90,91). P2Y reseptörleri cAMP bağımlı PKA aktivitesiyle düz kasın gevşemesinde rol oynamaktadır (92).

### **Nitrik oksit (NO)**

L-arjinininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile üretilen NO, alt üriner sistemde inhibitör NANC cevaptan sorumludur (12). Sinir hücrelerinde bulunan NOS enzimi mesanenin daha çok boyun kısmında yer almaktadır. NO miksiyon sırasında üretral gevşemede önemli inhibitör etkisi (17) olmakla birlikte mesanede sınırlı etkilere sahiptir (93). Normal koşullarda mesanenin dolumu sırasında meydana gelen gevşeme, fizyolojik sınırlar içerisinde, intravezikal basınçta minimal bir artışla büyük idrar hacminin sağlanmasına yardımcı olur. Bu durum sadece mesanenin fiziksel özelliklerinden kaynaklanmaz, parasempatik sinir aktivasyonunun inhibisyonu veya sempatik sinir aktivasyonunun artışıyla birlikte NO üretimi ile gerçekleşen gevşeme cevabının katkısı vardır (12).

### **Diğer Reseptörler**

Mesane kasılma ve gevşeme cevabının düzenlenmesinde NANC mekanizma içinde ATP ve NO dışında görev alan aracı moleküller farklı reseptörler aracılığıyla etkilerini göstermektedirler.

Örneğin, 5-hidroksitriptamin olarak bilinen serotonin hem nörotransmitter hem de lokal hormon olarak görev yapmaktadır (94). Beyin sapından spinal kordun arka boynuzuna gelen serotonerjik projeksiyonlar alt üriner sistemin fonksiyonlarında etkiler gösterirler. Mesanede yer alan serotonerjik aktivite sempatik sistemi uyarıp, parasempatik sistemi inhibe ederek idrarın depolanmasını sağlar (95). 5-HT, mesaneden kalkan duyuusal bilgileri 5-HT<sub>1</sub> ve 5-HT<sub>3</sub> reseptörleri aracılığıyla engeller (96). Dolayısıyla mesanenin dolduğu bilgisini gönderemeyen mesanede nosiseptif süreç başlar ve serotonin bu sürecin artmasına neden olur (97).

Bir başka nörotransmitter olan dopaminin etkilerine aracılık eden dopamin reseptörlerinden D<sub>1</sub> ve D<sub>5</sub> mesane düz kas kasılma üzerindeki uyarıcı etki gösterirken D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> ve D<sub>4</sub> reseptörleri kasılmanın inhibe edilmesinde görev almaktadırlar (94). Hou ve arkadaşları, spinal kord hasarından sonra dopaminin miksiyon refleksini iyileştirici etkisi olduğunu göstermişlerdir (98).

Prostaglandinler, siklooksijenaz yoluyla kullanılarak araşidonik asitten sentezlenirler ve mesane düz kasının tonusu dahil olmak üzere pek çok biyolojik cevabın düzenlenmesinde görev alırlar (99). Prostanoid reseptörlerin EP1, EP3, TP ve FP gibi farklı alt tipleri detrusör düz kas kasılmasında çeşitli etkiler göstermektedir (99-101). *In vitro* sıçan detrusör düz kas kasılmalarından sorumlu ana prostanoid reseptörler EP1 ve EP3 olduğu bulunmuştur (102). *In vivo* sıçan deneylerinde EP1 prostanoid reseptörünün inhibisyonuyla mesane kapasitesinde bir artış olduğu gösterilmiştir (103). Aşırı aktif mesane hastalarında PGE2 ve PGF2 $\alpha$  seviyelerinin kontrole göre arttığı bulunmuştur (104).

Endotelial hücrelerden salınan ve majör vazokonstriktif peptidlerden biri olan endotelin-1 (ET-1) mesanede düz kasta, endotelial hücrelerde ve fibroblastlarda sentezlenmektedir. ET-1'in izole mesane düz kas şeritlerine uygulanmasıyla uzamış kasılma cevapları elde edildiği gösterilmiştir (105). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada intravenöz ET-1 uygulamasının ortalama miksiyon hacminde bir azalışa neden olduğu gösterilmiştir (106).

TRP reseptörleri (*Transient Receptor Potential*- Geçici reseptör potansiyeli) seçici olmayan iyon kanalları olmakla birlikte sıcaklık, basınç-gerim, osmolarite, pH gibi birçok duyuşal sinyallerin önemli düzenleyicileridir (107). TRP kanallarının fonksiyon bozukluğu sonucunda içinde aşırı aktif mesaneninde bulunduğu çeşitli hastalıklar meydana gelmektedir. TRP reseptörlerinin bir alt üyesi olan TRPV (Vaniloid) reseptörler mesane ürotelyumunda, subürotelyal afferent sinirlerde ve miyofibroblast pleksuslarda yer almaktadır (17). TRPV1 reseptörlerinin mesanede visseral ağrının gelişiminde önemli rol oynadıklarına inanılmaktadır (108). TRPV4

*knock out* farelerde ürinasyon kasılma frekanslarında artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca TRPV4 reseptörleri yangı durumunda aktive olmaktadırlar (109).

## 2.6. Mesanede Spontan Aktivite

Mesanede gerek izole doku şeritlerinde gerekse organın tümünde ölçülebilen spontan kasılmalar üretebilmektedir. Spontan kasılmalar spinal kord hasar sonucu meydana gelen nöropati veya obstrüktif hastalıklarda daha da artmaktadır. Normal ve anormal durumlarda meydana gelen spontan kasılmaların nedeni olarak motor sinirlerden sürekli transmitter salınımı, detrüsör kasının intrinsik miyojenik aktivitesi ve detrüsör kas ile mukozayı oluşturan ürotelyum ve subürotelyum arasındaki etkileşimler gibi farklı mekanizmalar öne sürülmüştür (110).

Öne sürülen hipotezlerden biri olan nörojenik hipoteze göre merkezi sinir sistemi aracılı sakral parasempatik inhibisyonun azalmasına bağılı olarak miksiyon refleksinin kazancı ve detrüsör kasının motor aktivitesi artar (7,111).

Miyojenik hipoteze göre ise düz kas hücrelerinin uyarılabilirliğindeki ve (112) düz kas hücreleri ve interstisyel hücreler arasındaki hücrelerarası bağlantılardaki değişiklikler (113) daha büyük kasılmalara neden olabilir. Aşırı aktif mesane hücrelerinde T- tipi  $Ca^{+2}$  kanallarının miktarının artışı (114) ve bu kanalların blokajı sonucunda spontan aktivitenin azalmış olması (115) spontan aktivitenin oluşumuna katkılarını işaret eden göstergelerdir.

Kushida ve arkadaşlarına göre detrüsör ve mukoza tabakaları birbirinden bağımsız bir şekilde spontan kasılmalar üretebilmektedir (110) Ürotelyum kaynaklı hipoteze göre ürotelyum ve subürotelyum gerildiğinde ATP ve ACh gibi transmitterler salgılayarak veya içerdiği interstisyel hücreler arasındaki bağlantılar yoluyla spontan kasılmalar üretebilmektedir (110). Mukozadaki spontan elektriksel aktiviteden sorumlu önemli bir hücre grubu olan ve düz kastaki miyozinden farklı bir formda olan kontraktıl proteinler içeren interstisyel hücrelerde oluşan bu aktivite (110) spontan kasılmaların üretildiği detrüsöre iletilir (26). Bunlara ek olarak

muskularis mukozanın hem hücre içi kalsiyum artışına neden olan yollar üzerinden hem de üretilyumdan serbestlenen kontraktıl agonistler aracılığı ile spontan kasılmalara katkıda bulunduğu belirtilmektedir (110,116). Ayrıca kasılma ile ilgili olabilecek bir başka kaynak geçici spontan kalsiyum artışları oluşturabilen subüretelyal venülleri çevreleyen perisitlerdir (117).

TTX, motor sinirlerdeki  $\text{Na}^+$  kanallarını bloke eder. TTX'e karşı direnç gösteren spontan kasılmalar ekstraselüler  $\text{Ca}^{+2}$ 'un girişini sınırlayan L-tipi  $\text{Ca}^{+2}$  kanal blokerleri veya ekstraselüler  $\text{Ca}^{+2}$ 'un azalmasına neden olan ajanlar tarafından ortadan kaldırılabilir (118).

## 2.7. Leptin Molekülü ve Sentezi

1950'li yılların sonlarında farelerde 6. kromozomun uzun kolunda yer alan *lep* veya *ob* olarak adlandırılan gendeki mutasyon sonucunda obez farelerin, 1965 yılında ise 4. kromozomda yer alan *db* genindeki mutasyon sonucunda diyabetik obez farelerin oluştuğu gösterilmiştir. Coleman ve arkadaşları tarafından *ob/ob* ve *db/db* fareler ile yapılan parabiyoz çalışmaları sonucunda *db/db* farenin kan yoluyla geçebilen bir "tokluk" faktörü ürettiği ve bu faktörün *ob/ob* farelerde obeziteyi iyileştirici etkisi olduğu bulunmuştur (119). Yıllar süren klonlama çalışmaları sonucunda 1994 yılında Friedman ve arkadaşları tarafından 16 kDa ağırlığında ve 167 aminoasitten oluşan polipeptid yapıdaki leptin hormonu "tokluk" faktörü olarak tanımlanmıştır (120).

Leptinin ürünü olduğu *ob* geni yaklaşık 20 kb uzunluğunda 2 intronla ayrılmış 3 ekzondan oluşmaktadır (121). 167 aminoasitten oluşan leptinin 21 aminoasitlik sinyal kısmı ayrıldıktan sonra 146 aminoasitten oluşan olgun leptin fonksiyonel bir protein olarak salınır. Sitokin ailesinden olan leptin 4 $\alpha$  antiparalel (A,B,C ve D) sarmal yapıda düzenlenmiş olup kristal yapısı CD loop'undaki sistein (Cys) 96 ve C-ucundaki Cys 146 aminoasitleri arasındaki disülfid bağlarıyla sağlamlaştırılarak leptin molekülünün 3 boyutlu yapısı oluşturulur (122). Leptin

molekölünün reseptörüne bağlanmasında 3 boyutlu yapısının önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (123).

Leptin çoğunlukla beyaz yağ dokuda ve daha az miktarda olmak üzere kahverengi yağ dokuda üretilir (124). Yağ dokunun yanı sıra mide, plasenta, böbrek, iskelet kası ve uterus gibi doku ve organlarda da üretilmektedir (125-130). Dolaşımdaki leptin seviyeleri adipoz dokuların boyutuyla ilgili bilgi verir ve enerji depolarının durumunu beyine iletir (131,132). Leptin konsantrasyonu vücut yağ yüzdesi ile orantılı bir şekilde artış göstermektedir (133). Leptin ekspresyonu ve dolaşımdaki seviyeleri beslenme durumundaki değişikliklere göre değişir (131). Açlık durumunda dolaşımdaki leptin seviyesi azalırken, tokluk veya obezite durumlarında leptin seviyeleri artmaktadır (132).

Leptin sentezi ve dolaşımdaki leptin miktarı, gün içindeki seviyelerine göre gece en yüksek seviyelere ulaşacak şekilde sirkadyen ritim göstermektedir (5,131). Leptin ekspresyonu ve salınımı inflamatuvar sitokinler, glikokortikoidler ve insülin gibi pek çok faktör tarafından düzenlenmektedir (134). Leptin ekspresyonu beyaz yağ dokuda preadipositlerin adipositlere farklılaşmasıyla indüklenir ve dolaşımdaki insülin konsantrasyonuna bağlı olarak açlık-tokluk ve diyabet gibi durumların değişikliğiyle düzenlenir. Açlık veya streptozotosinle indüklenen diyabet gibi durumlarda leptin mRNA seviyeleri azalır ve bu azalış besin alımı veya insülin takviyesiyle yeniden normale döner (135). İnsülin, PI<sub>3</sub>K ve MAPK sinyal yollarıyla trofoblastik hücrelerde leptin ekspresyonunu indükler (136).

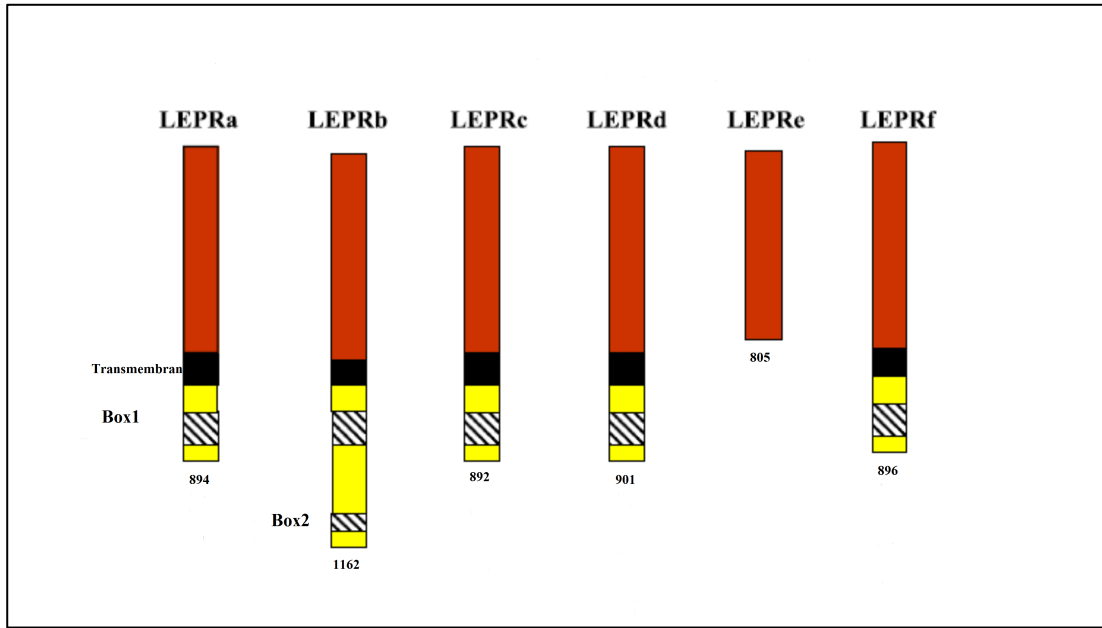
Leptin seviyeleri cinsiyet farklılığı gösterir. Östrojen leptin sentezini artırırken, testosteron leptin sentezini inhibe etmektedir. Aynı zamanda deri altı yağ dokusunda leptin ekspresyonu fazladır. Dolayısıyla leptin sentezi kadınlarda erkeklerden daha fazladır (137,138).

Yüksek leptin seviyelerinin görüldüğü obez kişilerde leptin direncine bağlı olarak leptinin besin alımını inhibe edici ve enerji harcanmasındaki artışı sağlayıcı etkisi görülmez (139). Leptin direnci, beyine leptin alımının ya da santral sistemin

leptine olan cevabının azalmasıyla oluşmaktadır (140). Hücresel seviyede leptin direnci leptinle uyarılan pSTAT-3 ekspresyonunun gerçekleşmemesi (141) ile belirlenebilirken fizyolojik olarak diyetle oluşturulan obez farelerde leptinin besin alımı azalması ve kilo kaybına yol açan etkileri görülmez (142). Ayrıca, yapılan *in vivo* ve *in vitro* farmakolojik çalışmalarda obezite ve leptin direnci ile hipotalamik endoplazmik retikulum stresi arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir (143).

## 2.8. Leptin Reseptörleri ve Etki Mekanizması

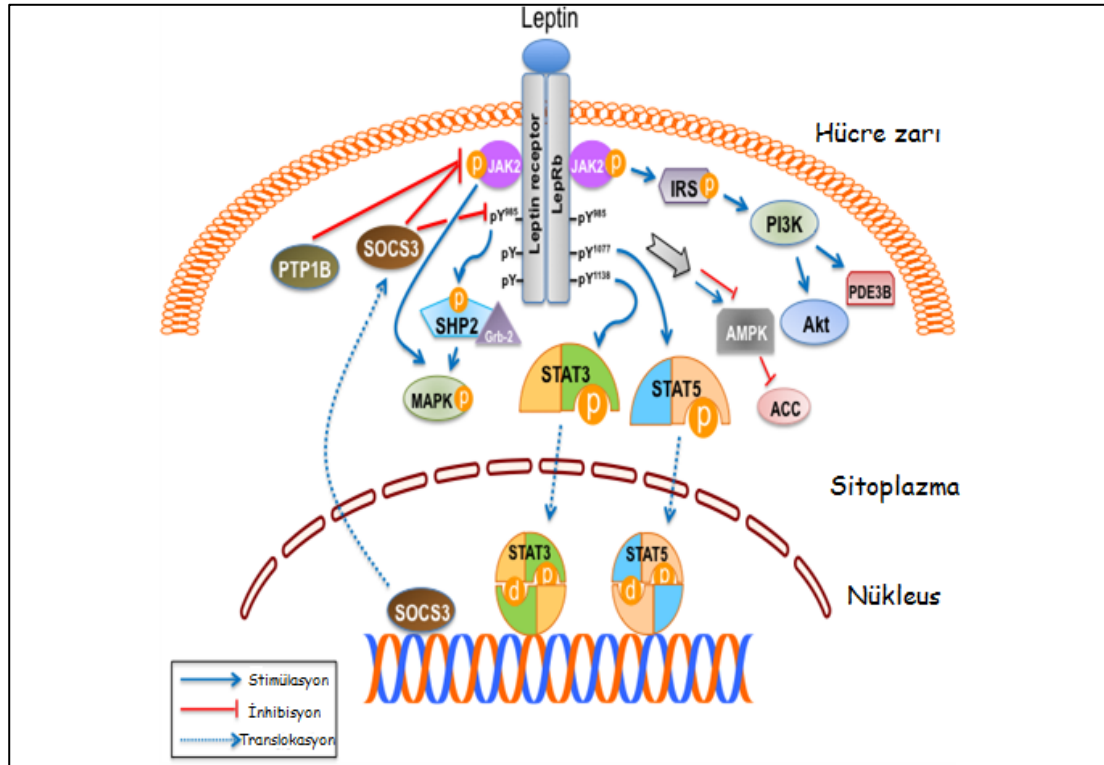
Leptin reseptörleri, yüksek afiniteli leptin bağlanma bölgelerini tanımlamak amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda *db* gen ürünü olarak 1995 yılında Tartaglia ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir (144). İnsanda 1p kromozomunda, farede 4. ve sıçanda 5. kromozomda yer alan bu reseptörler (145) Sınıf-1 sitokin reseptör ailesinin bir üyesi olup şimdiye kadar 6 farklı izoformu tanımlanmıştır (Şekil 2.5). Leptin reseptörleri ObRa-f ve ya LepRa-f şeklinde gösterilmektedir (146,147). LepRa, LepRc, LepRd ve LepRf kısa izoformlarken LepRb fonksiyonel uzun izoformdur En küçük izoform olan LepRe reseptörden ziyade çözünebilir bir bağlayıcı protein olarak görev yapmaktadır. Bu reseptör alt tipinin intraselüler veya transmembran domainleri bulunmamakla birlikte bazı türlerin dolaşımında mevcut olduğu gösterilmiştir (147). Tüm izoformlar ligand bağımlı ekstrasellüler domainleri bulunur. LepRa, LepRb, LepRc, LepRd ve LepRf izoformları transmembran domainlere ve intraselüler farklı karboksi uçlarına sahiptir. Ancak sadece uzun form olarak bilinen LepRb izoformu JAK-STAT (Janus Kinaz-Sinyal Dönüştürücü Transkripsiyon Aktivatörü) sinyal yolağının aktivasyonu için gerekli intraselüler motifleri (box1-box2) içerir (137). Kısa form LepRa'nın sinyal kapasitesi için sadece box-1 motifi yeterli olmaktadır ve LepRa sinyal mekanizması mitojenik aktiviteden sorumlu MAPK yolağı üzerinden olmaktadır (148).



Şekil 2.5 Leptin reseptör izoformları. (137)

Leptin reseptörlerinin dokulardaki varlığı oldukça yaygındır. LepRa hemen hemen her dokuda eksprese edilirken, LepRb sadece yoğun olarak hipotalamusta ve az miktarlarda diğer dokularda eksprese edilir (147). Yapılan RT-PCR ve immunoblotlama teknikleriyle normal mesane dokusunda LepRa'nın major izoform olduğu ve kanserli dokularda ekspresyonunun önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (149).

Her leptin reseptörü 1 leptin molekülü bağlayabilir (147). Bununla birlikte, iki leptin reseptörünün bir leptin molekülüne bağlandığı reseptör dimerizasyonu oluşumu sonrasında hücre içi sinyal iletimi başlatılabilir. Dimerizasyonun gerçekleşebilmesi için leptin reseptörünün ekstrasellüler parçası yeterli olmaktadır (150). Çoğu sitokin reseptörleri dimerizasyon için ligand bağlanmasına ihtiyaç duyarken ligand bağlanmamış leptin reseptörleri hücre membranında dimer olarak bulunmaktadır (151).



Şekil 2.6 Leptin reseptörü etki mekanizması. (152)

Leptin, LepRa reseptörüne bağlandığında MAPK yolağını aktifleştirirken, LepRb reseptörüne bağlandığında hem JAK2 hem de reseptör üzerinde bulunan tirozin halkalarını fosforilleyerek aktivasyonunu sağlar (Şekil 2.6). Ayrıca, JAK2'nin fosforillenmesi insülin reseptör sinyal proteinlerini de fosforilleyerek PI<sub>3</sub>K sinyal yolağını aktive eder (153). LepRb üzerinde bulunan 3 tirozin halkasının (Y985, Y1077 ve Y1138) herbirinin fosforilasyonu farklı bir leptin fonksiyonuna ait özel sinyal mekanizmasını devreye sokar. Y985 SHP-2 (src-homoloji-2 domain protein) ve MAPK sinyal yollarını aktive ederek leptin sinyalinin negatif geri bildirim kontrolünü düzenler. Y1077, STAT5 sinyalinin aktivasyonunu sağlayarak leptinin üreme üzerine etkilerini düzenler. Son olarak Y1138 ise STAT3 üzerinden leptinin enerji homeostazisindeki ana etkisini ve nöroendokrin fonksiyonlarını düzenler. Leptinin yine bu yolak üzerinde az da olsa üremeye ilgili etkisi vardır (154).

## 2.9. Leptinin Fonksiyonları

Leptin vücut ağırlığının ve enerji dengesinin düzenlenmesinde sinyal molekülü olarak görev alır (120). Enerji homeostazisindeki düzenleyici rolünün etki mekanizması ve etki ettiği bölgelere yönelik yapılan çalışmalarda, genellikle santral sinir sisteminde etkilerini LepRb reseptörü aracılığı ile gösterdiği bulunmuştur (155). Leptin enerji düzenlenmesi ile ilgili olarak hipotalamusun kontrolü altında besin alımını inhibe eder. Santral leptin, reseptörleri aracılığı ile adipoz dokudaki enerji harcanmasını sağlayan sempatik sistemin aktivasyonunu artırır (139). Çoğu çalışmada leptinin hipotalamustaki etki bölgesinin arkuat nukleus olduğu gösterilmiştir. Leptin burada oroksijenik Aguti ilişkili protein (AgRP) ve nöropeptit Y içeren nöronları inhibe ederken anoreksijenik proopiomelanokortin (POMC) içeren nöronları uyarmaktadır (156).

Leptinin besin alımı ve enerji düzenlenmesindeki temel görevlerinin dışında çeşitli fonksiyonları da mevcuttur. Örneğin, suprafizyolojik düzeylerde leptinin MAPK sinyal yolağı aktivasyonunda bir azalışa neden olarak özellikle kanser hücrelerinin çoğalmasını engellediği gösterilmiştir (157). Bir başka çalışmada, leptin, fetal dönemde yutkunma ve idrar çıkışını artırdığından beslenme davranışının gelişimine katkı sağladığı bulunmuştur (158). Ayrıca yine fetal dönemde leptinin sürfaktan proteinlerinin sentezini artırdığı ve akciğer gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (159).

## 2.10. Leptinin Düz Kas Kasılmasına Etkisi

Leptin hormonuna ismini veren ve hem kendisinin hem de reseptörlerinin tanımlanmasına aracılık eden enerji metabolizması ile ilgili çok bilinen etkilerinin yanı sıra yapılan çalışmalarda düz kaslar üzerinde önemli etkileri olduğu gösterilmiştir.

Genel olarak adipoz dokudan salınan ve hücre sinyal düzenleyicileri olarak tanımlanan adipokinlerin bazıları (adiponektin, omentin, visfatin vb.) vazorelaksan

etki gösterirlerken bazıları (anjiotensin-II, nesfatin-I, resistin vb.) vazokonstrüktör etki gösterir. Leptin, ghrelin, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  ve apelin gibi adipokinler ise hem vazorelaksan hem de konstrüktör etki gösterirler (160). Farklı hedef dokularda leptinin düz kas üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır.

Leptin *in vitro* aort düz kasında sarkoplazmik retikulumdan hücre içine  $Ca^{+2}$  salınımını azaltarak Anjiotensin-II ile oluşturulan vazokonstrüksiyonu baskılamıştır (161). Ayrıca, farklı damarlarda endotel bağımlı ve endotelden bağımsız olarak gevşemeye yol açtığı gösterilmiştir (162,163).

Obezitede görülen yüksek leptin seviyelerinin astım ve artmış solunum yolu cevabı ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (164). Vücut ağırlığının yüksek ya da düşük olduğu bireylerde, sırasıyla obezite ile ilişkili leptin direnci ve vücut yağ kütlesi azlığına bağlı olarak oluşan düşük leptin seviyeleri sonucunda bronkokonstrüksiyon görülmektedir. Leptinin solunum yolu düz kas hücrelerindeki gevşetici etkisini indirekt olarak parasempatik sistemin inhibisyonuyla oluşturduğu gösterilmiştir (165).

Gastrointestinal (GI) kanalda leptin, besin alımının düzenlenmesi, büyüme ve inflamasyon gibi fonksiyonlarının yanı sıra enterik sinir sistemi aracılığıyla GI motilitede görev almaktadır Gastrointestinal kanalda mekanoreseptörler üzerinde hem eksitator hem de inhibitör etkilere sahip olan leptin gastrik boşalmanın süresini ve besinlerin geçişini etkilemektedir (166). Leptinin kolon düz kas tonusunun azalmasına yol açan etkilerine nitrejik nöronların aracılık ettiği gösterilmiştir (167).

Leptin safra kesesinde emilim ve sekresyonla ilişkili olan protein sentezini kontrol eden genlerin ekspresyonunu düzenler ve leptinden yoksun obez ve leptin dirençli obez ya da obez olmayan diyabetik farelerde safra kesesinin safra hacminde artış ve kasılabilirliğinde azalış görülmektedir (168). Leptin eksikliği olan farelerde asetilkolin ve kolesistokinin gibi eksitator uyarılara karşı safra kesesi düz kas cevabı azalmakla birlikte leptin tedavisiyle bu durumun iyileştiği görülmektedir (169).

Gebelik süresince serum leptin konsantrasyonlarının artışı üreme biyolojisinde leptinin önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (170). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada gebelik süresince leptin seviyelerinin arttığı daha sonra azaldığı ve gebeliğin son günü tekrar bazal seviyesine döndüğü gösterilmiştir (171). Leptinin spontan ve agonist indüklü miyometriyum kasılmalarında artan dozlarda inhibitör etkilerinin olduğu gösterilmiştir (129,172).

Leptin üriner sistem fonksiyonu ile ilgili olarak diürez ve natriürez uyarıcı etkisi olduğu ancak bu etkilerin direkt olarak detrüsör kas kasılmasını etkilemeden santral etkileri aracılığı ile oluştuğu gösterilmiştir (158). İskemi/reperfüzyon hasarı sonrasında lokal leptin uygulaması mesane dokusunu korumaya yardımcı olmaktadır (173). Ayrıca aşırı aktif mesane sendromlu hastalarda serum leptin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (174,175). Bununla birlikte, leptinin insan detrüsör düz kasında aşırı aktif mesane semptomlarına neden olabilecek kolinerjik etkilere veya antikolinerjik gevşetici etkilere sahip olup olmadığı tartışılmaktadır (176).

## **2.11. Hipotez ve Amaç**

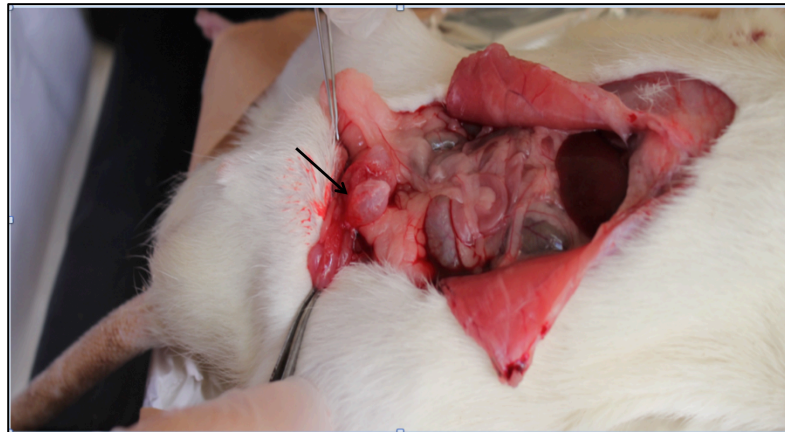
Leptinin mesane düz kası dışındaki düz kas dokularındaki inhibitör etkilerini göz önünde bulundurarak “Leptin sıçan detrüsör düz kas kasılmasını inhibe eder” şeklinde hipotezimizi oluşturduk. Bu çalışmada amaçlarımız leptinin detrüsör düz kas kasılmasındaki düzenleyici rolünü in vitro olarak araştırmak ve kas kasılmasındaki olası inhibitör etkisinde kolinerjik, pürinerjik ve nitreerjik yolların katkısını araştırmaktır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 13 adet 300-400 gram ağırlıkta Sprague-Dawley erişkin erkek sıçan kullanıldı. Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetistirme Ünitesinde sıcaklık ve nemi sabit ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü olan ortamda barındırılan hayvanlar deney günü Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarına getirildi. Hayvanlara barınma süreleri boyunca su ve standart yeme erişimleri ile ilgili herhangi bir kısıtlanma uygulanmadı. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı sonrasında başlayan deneyler Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak gerçekleştirildi.

#### 3.1. Cerrahi İşlemler ve İzole Organ Banyosu

Ketamin anestezisi (Ketamidol, 90 mg/kg i.m.) uygulanan hayvanlarda abdominal kesi sonrasında cilt ve cilt altı dokular geçilerek mesaneye ulaşıldı. Mesanenin etrafındaki yağ ve bağ dokusu temizlendikten sonra üreter girişlerinin proksimalinde kalan gövde kısmı çıkarılıp tartıldı (Şekil 3.1). Bu işlemlerin hemen ardından doku canlılığını kaybetmemesi için oksijenlenmiş soğuk Krebs-Henseleit tampon çözeltisine alındı.



Şekil 3.1 Abdominal kesi sonrasında mesanenin çıkarılması.

Çıkarılan mesane dokusundan 2 mm eninde 10 mm uzunluğunda 4 adet longitudinal düz kas şeritleri hazırlandı (Şekil 3.2). Daha sonra bu şeritler, 15 ml

hacimli cam organ banyosuna bir ucu izometrik kuvvet transduserine (May FDT05) bağlı ve dikey olacak şekilde asıldı. İzometrik kuvvet transduseri ile kas cevapları kaydedildi, kayıt ve analizler için bilgisayarlı veri toplama ve analiz sistemi (Biopac MP36) kullanıldı (Şekil 3.3). Krebs-Henseleit tampon çözeltisinde 37 °C'de, % 5 CO<sub>2</sub> ve % 95 O<sub>2</sub> ile gazlandırılan şeritlerin 1 saat süre ile yaklaşık 1 gram gerim altında, her 15 dakikada bir yıkanarak dengeye ulaşması sağlandı.



Şekil 3.2 Mesaneden hazırlanan detrüör kas şeritleri.

Denge döneminin ardından şeritler 120 mM KCl solüsyonu ile kasıldı. Kasılma sonrasında şeritler 3 kez yıkandıktan sonra tekrar 1 saat boyunca yıkama ve gerim ayarlaması ile dengeye gelmesi sağlandı. Elektriksel alan stimülasyonu (EAS) uygulanan detrüör şeritlerinin bir tanesi zaman kontrol veya çözücü uygulaması için ayrıldı. Banyolara tüm ilaçlar ve zaman kontrol için Krebs-Henseleit çözeltisi 150'şer µl olacak şekilde eklendi. Tüm protokollerin sonunda doku canlılığı 120 mM KCl çözeltisine cevap ile değerlendirildikten sonra şeritler tartıldı.



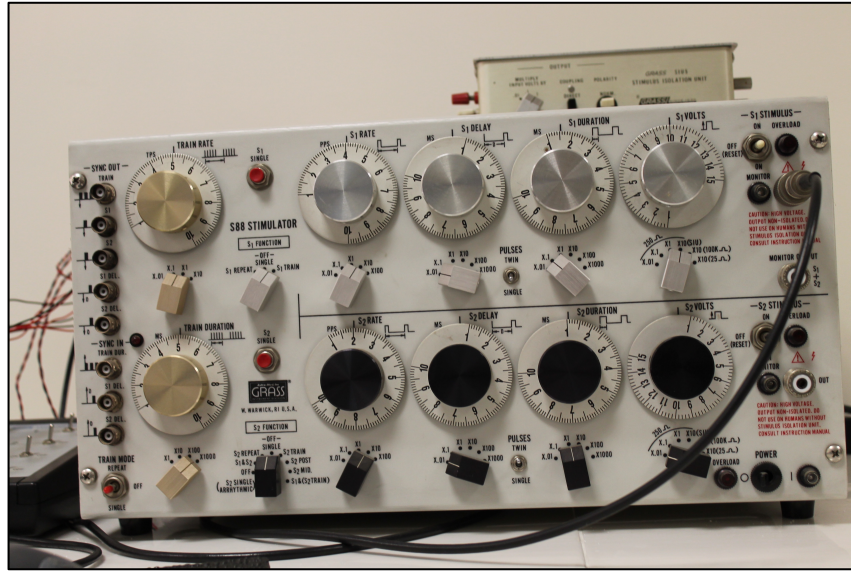
Şekil 3.3 Organ banyosu ve MP36 düzeneği

### 3.2. Elektriksel Alan Stimülasyonu Aracılı Kasılmalar ve Leptin Uygulaması

EAS için tüm banyolara her 3 dakikada bir 100 V genliğinde 0,15 ms süreli (duration) kare dalgalar 5 sn (train duration) boyunca 1-2-5-10-20-40-80 Hz'lik farklı frekanslarda uygulandı (Şekil 3.4).

Tekrar 1 saatlik yıkama ve dengelenme döneminin ardından, 10 dakika  $10^{-7}$  M Leptin, 20 dakika  $10^{-4}$  M L-NAME ve  $10^{-7}$  M Leptin +  $10^{-4}$  M L-NAME inkübasyonu sonrasında EAS tekrarlandı. Leptinin çözücüsü Tris HCl 20 mM konsantrasyonda leptin ile benzer sürede inkübasyon yapılarak uygulandı.

Kontrol EAS cevabı sonrasında 1 saatlik yıkama ve dengelenme döneminin ardından  $10^{-6}$  M Atropin,  $10^{-6}$  M Atropin +  $10^{-7}$  M Prazosin +  $10^{-4}$  M PPADS inkübasyonu sonrasında EAS tekrarlandı. Sonrasında bir saatlik yıkama ve dengelenme döneminin ardından,  $10^{-6}$  M Atropin +  $10^{-7}$  M Leptin,  $10^{-6}$  M Atropin +  $10^{-4}$  M PPADS +  $10^{-7}$  M Prazosin +  $10^{-7}$  M Leptin inkübasyonları sonrasında EAS tekrarlandı. Mesane şeritleri için inkübasyon süreleri Atropin ve Prazosin için 20 dakika, PPADS için 40 dakika ve Leptin için 10 dakika olacak şekilde uygulandı.



Şekil 3.4 Elektriksel alan stimülatörü.

### 3.3. Çözelti ve Test Maddeleri

#### 3.3.1. Krebs-Henseleit Tampon Çözeltisi

Dokunun canlılığını sağlamak amacıyla kullanılan hücre dışı sıvıya yakın fizyolojik çözüldür. Çözeltinin pH'sı 7,4 olacak şekilde 118,4 mM NaCl, 4,7 mM KCl, 1,2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,2 mM  $\text{MgSO}_4$ , 25,0 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 2,5 mM  $\text{CaCl}_2$  ve 12,2 mM glukoz ile hazırlanmıştır.

#### 3.3.2. 120 mM KCl Çözeltisi

Dokunun canlılığını test etmek ve kasılabilirliğini belirlemek amacıyla hazırlanan çözüldür. İçeriği Krebs-Henseleit tampon çözültisine benzer pH'sı 7,4 olacak şekilde 3,1 mM NaCl, 120 mM KCl, 1,2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,2 mM  $\text{MgSO}_4$ , 25,0 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 2,5 mM  $\text{CaCl}_2$  ve 12,2 mM glukoz ile hazırlanmıştır.

#### 3.3.3 Leptin

Bu çalışmada *Escherichia coli*'den ekspres edilen rekombinant Leptin rat (Sigma-L5037) kullanılmıştır. Liyofilize haldeki leptinden 1 mg/ml olacak şekilde 20 mM steril Tris HCl, pH 8.0 ile stok solüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyon ependorflara ayrılarak çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

### 3.3.4 L-NAME

Açık adı N<sup>o</sup> -Nitro -L-Arginine Methyl Ester Hydrochloride olan L-NAME (Sigma-N5751) NOS inhibitörüdür. Moleküler formülü C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>•HCl olup moleküler ağırlığı 269,7'dir. Her deney öncesi distile su ile çözüldükten sonra kullanıldı.

### 3.3.5 Atropin

*Atropa belladonna* bitkisinden izole edilen atropin (Sigma A0132), merkezi ve periferel muskarinik asetilkolin reseptörlerinin kompetitif nonselektif antagonistidir. Moleküler formülü C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub> olup moleküler ağırlığı 289,4'dür. Her deney öncesi distile su ile çözüldükten sonra kullanıldı.

### 3.3.6 Prazosin Hidroklorid

Çok güçlü ve selektif α<sub>1</sub>-adrenerjik antagonist olan Prazosin Hidroklorid'in (Sigma-P7791) moleküler formülü C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>•HCl ve moleküler ağırlığı 419,9'dur. Her deney öncesi distile su ile çözüldükten sonra kullanıldı. Işığa duyarlı olduğu için koyu renkli şişelerde saklandı.

### 3.3.7 Piridoksal fosfat-6-azo(benzen-2,4-disülfonik asit) tetrasodyum salt hidrat (PPADS)

PPADS (Sigma-P178) hem pre- hem de postjunctional etki gösteren ve selektif P2X purinoreseptör antagonistidir. Moleküler formülü C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>Na<sub>4</sub>O<sub>12</sub>PS<sub>2</sub> · xH<sub>2</sub>O ve moleküler ağırlığı 599,31'dir. Her deney öncesi distile su ile çözüldükten sonra kullanıldı. Işığa duyarlı olduğu için koyu renkli şişelerde saklandı.

## 3.4. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz

Tüm deney kayıtları Biopac MP36 yazılımının 3.6.7 versiyonu kullanılarak analiz edildi. Verilerin istatistiksel analizinde Mac OS için SPSS 23.0 istatistik paket programı kullanıldı. Kasılmaların analizi için uyarandan önceki 2 dakikalık kayıttan “mean” parametresi ve uyarı anındaki kayıttan “max” parametresi kullanıldı.

İstatistiksel analiz öncesinde tüm veriler normal dağılım açısından test edildi. Tüm şeritlerden kaydedilen spontan kasılmalar ve uyarana bağlı kasılma cevapları birim doku ağırlığına düşen kasılma büyüklüğü (g/100 mg doku) olarak hesaplandı. Uygulanan test maddelerinin EAS aracılı oluşan kasılmalar üzerine etkisi her grupta kontrol şeritlerdeki maksimum cevabın yüzdesi şeklinde hesaplandı.

İlaç etkilerinin karşılaştırılması için, EAS aracılı oluşturdukları frekans cevap eğrileri tekrarlı ölçümler için varyans analizi (ANOVA for repeated measures) ve sonrasında Post-hoc Tukey testi kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında farklılık çıkması durumunda frekans düzeyinde analiz yapmak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı, değerlendirme sırasında Bonferroni düzeltmesi uygulanarak anlamlılık düzeyi 0,0071 olarak kabul edildi.

Spontan kasılmalar üzerine test maddelerinin etkisi bağımlı gruplar için Student's t-testi ile değerlendirildi.

Tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata (ort  $\pm$  SH) olarak ifade edildi.  $P < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlarda hayvan sayısı ve şerit sayısı sırasıyla N ve n olarak belirtildi.

### **3.5. Etik Kurul İzni**

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26 Mayıs 2015 tarih ve 20015/49-10 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra deneylere başlanmıştır.

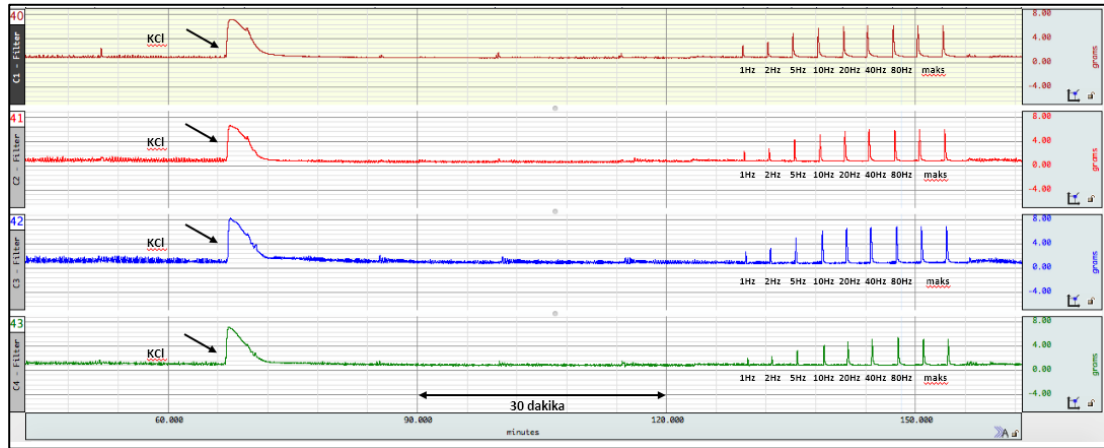
#### 4. BULGULAR

Çalışmada kullanılan hayvanların (N=13) vücut ağırlıkları ve mesane ağırlıkları Tablo 4.1 'de gösterilmektedir.

Tablo 4.1.Deney protokolünde kullanılan hayvan sayıları, vücut ve mesane ağırlıkları

Hayvan Sayısı (N)	Vücut Ağırlığı (g)	Mesane Ağırlığı (mg)
1	414,2	78,4
2	480,6	95,6
3	458,0	71,8
4	399,0	57,9
5	390,0	63,3
6	419,8	62,3
7	403,9	83,7
8	388,3	76,5
9	375,5	66,7
10	398,1	56,1
11	438,2	78,1
12	382,2	76,8
13	393,7	63,8
Ortalama $\pm$ SH	410,9 $\pm$ 8,6	71,6 $\pm$ 3,1

Düz kas şeritlerinin (n=42) 120 mM KCl uyarısı ile elde edilen kasılma cevapları ortalaması  $39 \pm 2,5$  g/100 mg doku olarak ölçüldü.



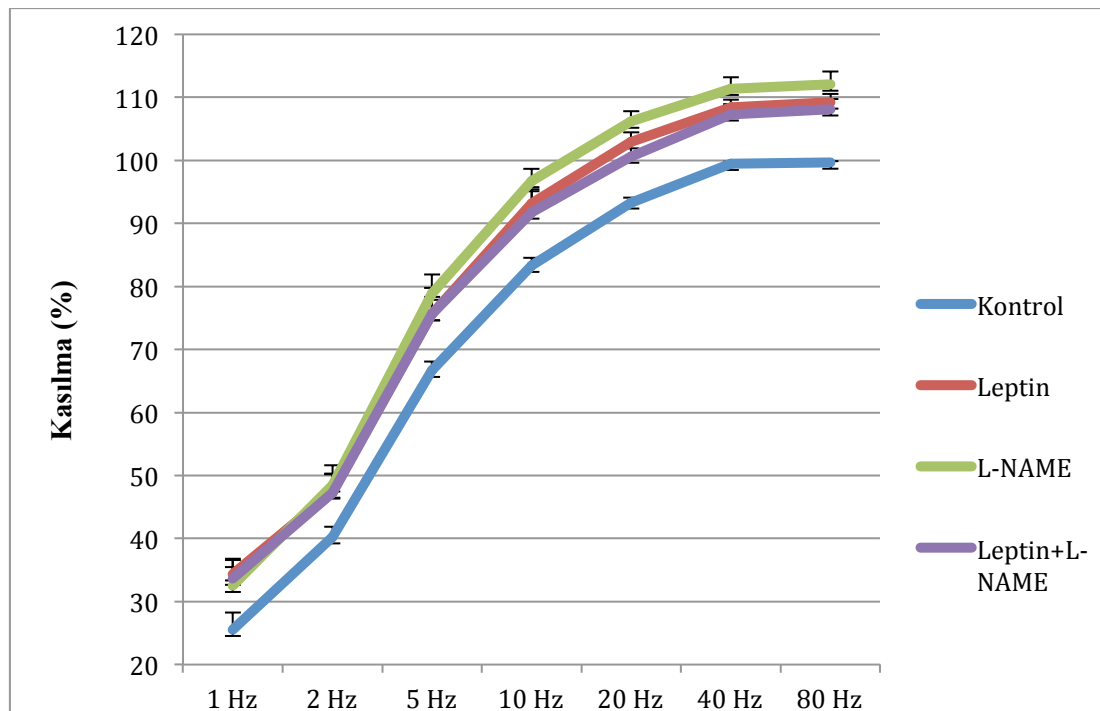
Şekil 4.1 Detrüsör kas şeritlerine uygulanan 120 mM KCl ve EAS ile oluşan kasılmalar

#### 4.1. Elektriksel Alan Stimülasyonu Aracılı Kasılmalar ve Leptin Uygulaması

Detrüsör düz kas şeritlerinde elde edilen kontrol kasılma cevapları (Şekil 4.1) sonrasında uygulanan leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonları frekans artışına bağlı olarak EAS kasılma cevaplarına neden oldu. Test maddelerinin oluşturduğu maksimum cevaplar sırasıyla  $41,9 \pm 2,7$  ,  $36,1 \pm 5,9$  ve  $36,8 \pm 4,0$  g/100 mg doku olarak ölçüldü (Tablo 4.2). Leptin uygulaması sonrasında elde edilen kasılma cevabı kendi kontrol kasılma cevabına göre yaklaşık olarak % 10 oranında artışa neden oldu ancak benzer oranda değişikliğe yol açan çözücü kontrolüne göre düzeltme yapıldığında bu etki ortadan kalktı. L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonları sonrasında oluşan kasılma cevaplarındaki artışlar kontrol kasılma cevaplarından farklı değildi. Uygulanan test maddelerinin oluşturdukları EAS aracılı kasılma cevapları birbirleriyle karşılaştırıldığında fark bulunamadı (Şekil 4.2).

Tablo 4.2. Sıçan detrüsör kas şeritlerinde leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu sonrasında EAS ile oluşturulan kasılma cevapları (n=7) (g/100 mg doku) (ort ± SH). Leptin  $10^{-7}$  M, L-NAME  $10^{-4}$  M

Frekans	Kontrol	Leptin	L-NAME	Leptin+L-NAME
1 Hz	8,6 ± 1,3	13,4 ± 1,4	12,0 ± 3,6	11,7 ± 1,5
2 Hz	13,4 ± 1,2	18,4 ± 1,7	16,9 ± 4,0	16,6 ± 2,4
5 Hz	22,2 ± 1,7	29,0 ± 1,8	26,6 ± 5,5	26,4 ± 3,6
10 Hz	27,6 ± 1,9	35,7 ± 1,9	31,9 ± 6,0	31,9 ± 4,0
20 Hz	30,9 ± 2,0	39,5 ± 2,3	34,5 ± 6,0	34,8 ± 4,2
40 Hz	32,9 ± 2,0	41,6 ± 2,6	36,0 ± 6,0	36,8 ± 4,0
80 Hz	33,0 ± 1,9	41,9 ± 2,7	36,1 ± 5,9	36,1 ± 4,0

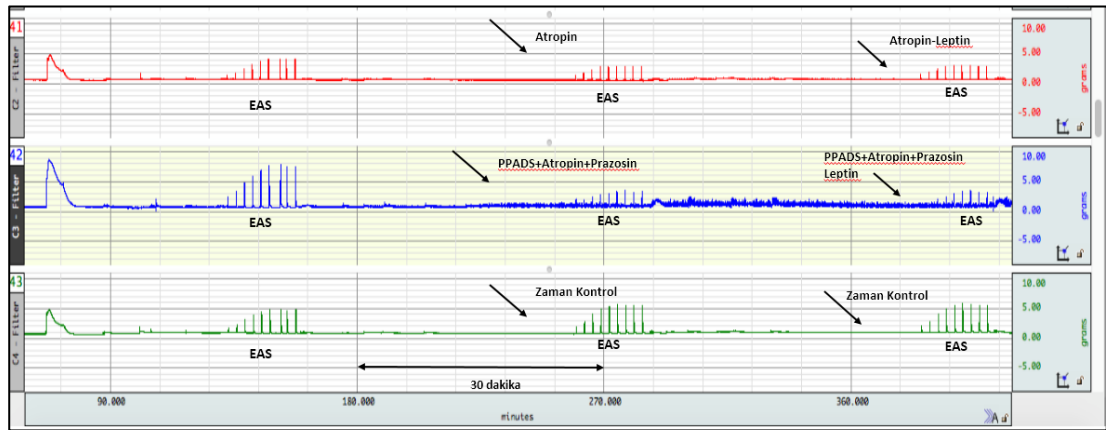


Şekil 4.2 Detrüsör kas şeritlerinde leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu ile elde edilen EAS frekans cevap eğrileri. Değerler kontrol şeritlerindeki maksimum kasılma cevabının yüzdesi şeklinde ifade edildi. Leptin ( $10^{-7}$  M), L-NAME ( $10^{-4}$  M)

(n =7)

Detrüsör düz kas şeritlerinde elde edilen kontrol kasılma cevapları sonrasında uygulanan atropin ve atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu frekans artışına bağlı olarak artan kasılma cevabına neden oldu (Şekil 4.3). Test maddelerinin maksimum cevap oluşturduğu 80 Hz frekansındaki oluşturduğu kasılma değerleri sırasıyla  $19,2 \pm 1,3$  ve  $15,8 \pm 3,5$  g/100 mg doku olarak ölçüldü (Tablo 4.3). Atropin uygulaması sonrasında oluşan kasılma cevabını inhibe edici etki 10 Hz ve üzeri frekanslarda belirgindi. Atropin ile oluşturulan maksimum kasılma cevabı kendi kontrol kasılma cevabına göre % 22,6 oranında azalmaya neden oldu ve oluşan cevap 40 ve 80 Hz frekanslarında kontrol kasılma cevabından anlamlı olarak farklıydı. Atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu sonrasında elde edilen kasılma cevabı ise kendi kontrol kasılma cevabına göre % 52,1'lük bir azalışa neden oldu ve bu cevap 20 Hz ve üzeri frekanslarda kontrol kasılma cevabından anlamlı olarak farklıydı (Şekil 4.4).

Atropin uygulaması ve atropin-prazosin-PPADS uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı değildi.

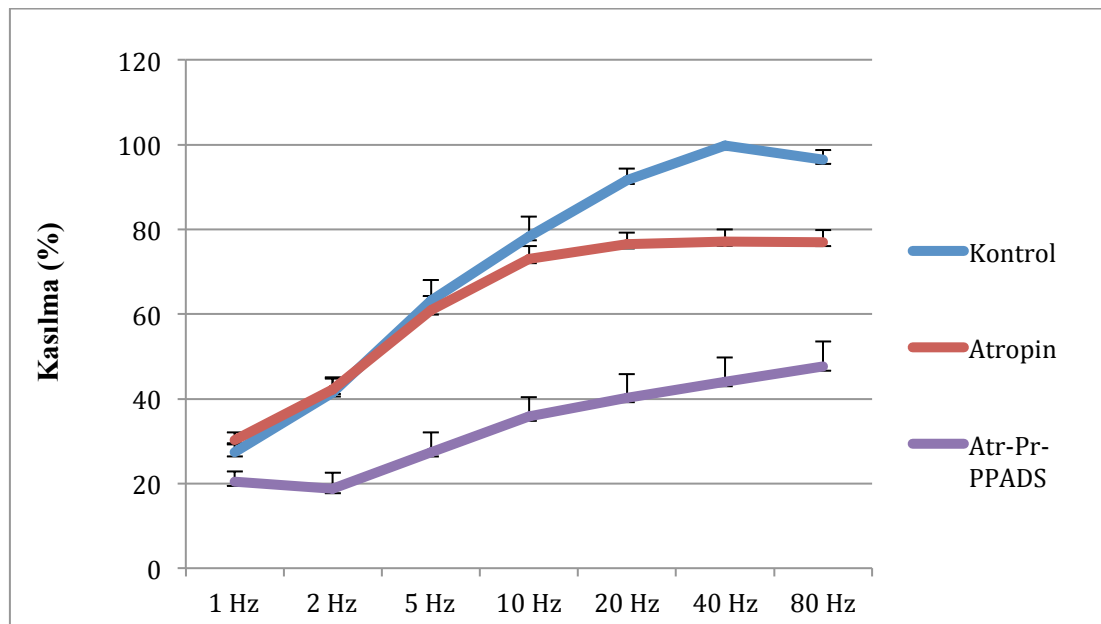


Şekil 4.3 Detrüsör kas şeritlerinde kontrol ve antagonistler varlığında oluşturulan EAS kasılma cevapları.

Tablo 4.3. Sıçan detrüsr kas şeritlerinde atropin ( $10^{-6}$  M) ve atropin ( $10^{-6}$  M)+prazosin ( $10^{-7}$  M)+PPADS ( $10^{-4}$  M) inkübasyonu sonrasında EAS ile oluşturulan kasılma cevapları. (n=5) (g/100 mg doku) (ort  $\pm$  SH)

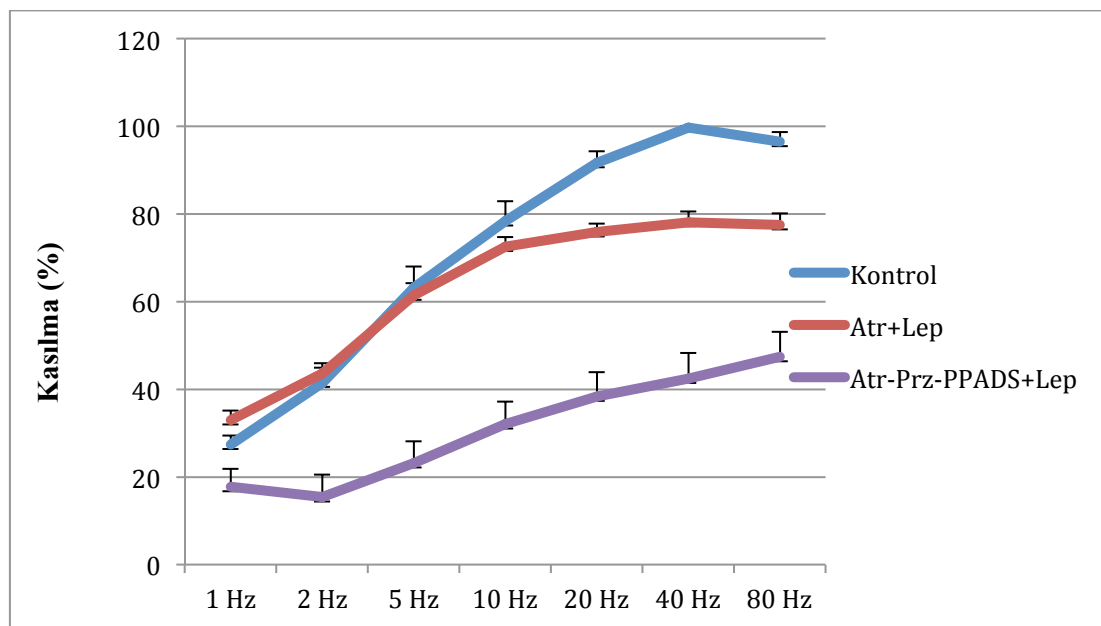
Frekans	Kontrol	Atropin	Atropin+Prazosin+PPADS
1 Hz	6,7 $\pm$ 0,7	7,5 $\pm$ 0,6	6,8 $\pm$ 1,5
2 Hz	9,5 $\pm$ 0,7	10,5 $\pm$ 0,8	6,1 $\pm$ 1,5
5 Hz	14,6 $\pm$ 1,0	15,1 $\pm$ 1,1	8,7 $\pm$ 1,8
10 Hz	18,3 $\pm$ 0,8	18,2 $\pm$ 1,2	11,6 $\pm$ 2,3
20 Hz	21,9 $\pm$ 1,1	19,1 $\pm$ 1,2	13,2 $\pm$ 2,9*
40 Hz	24,9 $\pm$ 1,6	19,2 $\pm$ 1,2*	14,5 $\pm$ 3,1*
80 Hz	21,9 $\pm$ 2,1	19,2 $\pm$ 1,3*	15,8 $\pm$ 3,5*

(\*)  $p < 0,05$  / 7 (Bonferoni düzeltmesi) kontrol şeritlerine göre



Şekil 4.4 Detrüsr kas şeritlerinde atropin ve atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu ile elde edilen EAS frekans cevap eğrileri. Değerler kontrol şeritlerindeki maksimum kasılma cevabının yüzdesi şeklinde ifade edildi. (n=5) (Atropin  $10^{-6}$  M (Atr), Prazosin  $10^{-7}$  M (Pr), PPADS  $10^{-4}$  M

EAS aracılı oluşturulan kolinerjik ve pürinerjik cevapta leptinin etkisini araştırmak amacıyla uygulanan atropin+leptin ve atropin+prazosin+PPADS+leptin inkübasyonları sonrasında frekans artışına bağlı olarak artan kasılma cevapları elde edildi, oluşan maksimum cevaplar sırasıyla  $19,6 \pm 1,5$  ve  $15,9 \pm 3,8$  g/100 mg doku olarak ölçüldü. Atropin+leptin ve atropin+prazosin+PPADS+leptin uygulamaları sonrasında elde edilen kasılma cevaplarındaki azalmalar sadece atropin ve atropin+prazosin+PPADS inkübasyonu sonrasında oluşan cevaplardaki azalmalardan farklı değildi (Şekil 4.5).



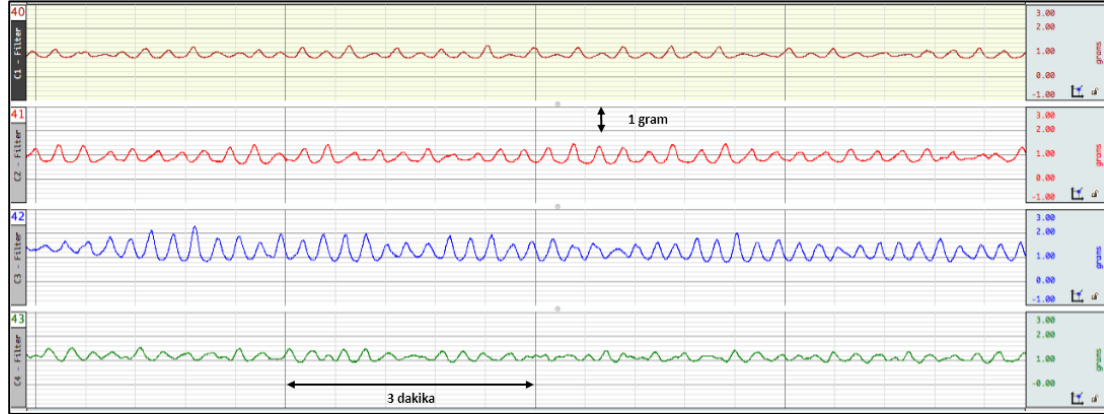
Şekil 4.5 Detrüsör kas şeritlerinde atropin+leptin ve atropin+prazosin +PPADS+leptin inkübasyonu ile elde edilen EAS frekans cevap eğrileri. Değerler kontrol şeritlerindeki maksimum kasılma cevabının yüzdesi şeklinde ifade edildi.

(n=5) Atropin  $10^{-6}$  M (Atr) , Prazosin  $10^{-7}$  M (Pr) , PPADS  $10^{-4}$  M

#### 4.2. Spontan Kasılmalar

Şekildeki kayıt örneğinde 1 gr gerim altında dengeye getirilen detrüsör düz kas şeritlerine ait spontan kasılmalar görülmektedir (Şekil 4.6). Leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME test maddelerinin inkübasyonu sonrasında kas şeritlerinin spontan kasılmaların genlik ve frekans değerleri Tablo 4.4'de gösterilmektedir. Leptin

inkübasyonu sonrasında öncesine göre karşılaştırıldığında spontan kasılma genlik ve frekansında fark bulunamadı.



Şekil 4.6 Sıçan detrüsör kas şeritlerinde görülen spontan kasılmalara ait örnek kayıt.

Tablo 4.4 Detrüör kas şeritlerindeki spontan kasılmaların Leptin, L-NAME ve leptin+L-NAME inkübasyonu sonrasında genlik (g/100 mg doku) ve frekans (Hz) değişimi. Leptin  $10^{-7}$  M, L-NAME  $10^{-4}$  M

İlaçlar	n	Genlik		Frekans	
		Önce	Sonra	Önce	Sonra
Leptin	7	1,65±0,22	1,77±0,20	0,53 ± 0,06	0,47 ± 0,06
L-NAME	7	0,90±0,20	0,91±0,25	0,48 ± 0,04	0,40 ± 0,04
Leptin + L-NAME	7	2,54±0,42	2,38±0,39	0,45 ± 0,03	0,47 ± 0,05

## 5. TARTIŞMA

Leptin, özellikle adipoz dokuda üretilen ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bir hormondur. Leptinin yaygın olarak bilinen ana fonksiyonu besin alımı ve enerji homeostazisinin düzenlenmesindeki görevidir. Bu görevlerinin yanı sıra farklı dokularda düz kas kasılma işlevlerinde etkileri olduğu gösterilmiştir.

Düz kaslar üzerinde yapılan çalışmalarda, leptinin farklı sinyal yollarını kullanarak uyarıcı veya inhibe edici etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Literatürde çeşitli hedef dokulardaki çalışmalarda; leptinin insan miyometriyum kasılmalarında (129) ve solunum yolu düz kas hücrelerinde (165) gevşetici etkisi olduğu, vasküler düz kaslarda vazokonstriksiyonu inhibe edici etkisi olduğu (161), gastrointestinal kanalda peristaltik hareketi düzenlediği (166), kolon düz kas tonusunu azalttığı (167) ve safra kesesi düz kasında ise kasılma cevabında artışa neden olduğu (169) gösterilmiştir. Alt üriner sistem ile ilgili olarak literatürde mesanede leptin reseptörlerinin varlığını gösteren çalışmalar vardır (149,177) ancak leptinin detrusör kas kasılması üzerinde etkileri olduğunu gösteren çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte aşırı aktif mesane sendromlu hastalarda serum leptin seviyelerinin arttığı ve bu yüksek seviyelerin vücut kütle indeksiyle korelasyon gösterdiği bulunmuştur (174). Bir başka çalışmada ise antimuskarinik tedaviye dirençli aşırı aktif mesane sendromlu hastalarda serum leptin seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (175). Aşırı aktif mesaneden elde edilen detrusör şeritlerinde spontan aktivitenin ve kolinerjik uyarılara duyarlılığın arttığı bilinmektedir (178). Bununla birlikte Wuntakal ve arkadaşları leptinin aşırı aktif mesane semptomları oluşturabilecek kolinerjik etkilere neden olmak yerine hastalığın tedavisinde kullanılabilecek antikolinerjik etkilere sahip olabileceğini ileri sürmüşlerdir (176).

Buradan yola çıkarak bu çalışmada, leptinin mesane düz kas kasılma işlevindeki etkisini ve olası etkisine farklı yolların katkısını araştırmayı amaçladık. Bu amaç doğrultusunda, erişkin sıçandan alınan mesane şeritlerinde, leptinin *in vitro* EAS kasılma cevaplarına etkisini ve muskarinik (atropin), adrenerjik (prazosin), pürinerjik (PPADS) ve nitreerjik (L-NAME) antagonistler varlığında kasılma

cevaplarını etkileyip etkilemediğini inceledik.

Leptin varlığında EAS uygulanan çalışmalar üzerine yapılan literatür araştırmasında detrüör düz kas kasılma işlevi ile ilgili çalışmalara rastlanamamıştır. Bizim çalışmamızda  $10^{-7}$  M dozda kullanılan leptin EAS kasılma cevabında etki göstermedi. Leptinin çözücüsünün çalışmamıza benzer şekilde kullanıldığı bir başka çalışmada, leptin miyometriyum kas kasılmasını inhibe etmiş ancak çözücü ile oluşan benzer yöndeki etkiye göre düzeltme yapıldığı belirtilmiştir (172). Çalışmamızla aynı dozda kullanılan leptinin kolon düz kasında tonusu ve transmural sinir uyarısı sonucunda elde edilen gevşeme cevabını azalttığı ancak kasılma cevabına etki göstermediği bulunmuştur (167). Bununla birlikte, doku cevabı farklılığını işaret edecek şekilde,  $10^{-7}$  M leptin, elektriksel sinir uyarımıyla oluşan jejunum düz kas kasılma ve gevşemesinde ve kolon düz kas gevşemesinde anlamlı bir azalışa yol açarken kolon kas kasılmasında anlamlı bir etki göstermemiştir (179). Aortta yapılan bir başka çalışmada ise leptin, daha düşük dozlarda, fenilefrinle kasılan şeritlerde doz bağımlı olarak gevşemeye neden olmuştur (163). Bununla birlikte, akut leptin infüzyonunun sempatik sinir sistemi aktivasyonuna yol açtığı (162) ve leptinin kan basıncını düzenleyici etkisinin direkt olarak oluşturduğu endotelial mekanizmalara bağlı vazodilatör etki ve beraberinde yol açtığı sempatik sinir sistemi aktivasyonu arasındaki dengeye bağlı olduğu belirtilmektedir.

Detrüör düz kas şeritlerindeki motor sinir sonlanmaları, EAS ile frekans artışına bağlı olarak kasılma cevapları oluşturmaktadır. Bu nörojenik kasılmaya katkısı olan iki molekülden biri ACh diğeri ise ATP'dir (180). Muskarinik reseptörlere bağlanan ACh kolinerjik cevabı oluştururken, P2X reseptörüne bağlanan ATP ise pürinerjik cevabı oluşturmaktadır. Çalışmamızda, muskarinik reseptör antagonisti atropin EAS cevaplarında yaklaşık olarak %22 oranında azalmaya yol açtı. *In vitro* sıçan mesane çalışmalarında atropin uygulanan şeritlerin EAS cevaplarında %33'lük (181) ve %50'lik (182) azalma olduğu görülmüştür. Mesaneden farklı olarak, bağırsak düz kasında yapılan çalışmalarında atropin ince bağırsakta EAS kasılması %56, kalın bağırsakta ise %10'luk azalmaya neden olmuştur (183). Ayrıca, son zamanlarda yapılan çalışmalarda ürotelyum ve lamina

propria'nın mesane kasılma işlevinde etki gösterdiği (184,185) ve ürotelyumdan elde edilen EAS kasılma cevabının genliğine atropinin bir etki göstermediği bulunmuştur (185).

Ren ve arkadaşları,  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptör antagonisti olan prazosinin sıçan detrüör şeritlerinde EAS ile indüklenen sinirsel kasılmalara etkisi olmadığını göstermişlerdir (186). Bununla birlikte çalışmamızda,  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptör aracılı detrüör kasında oluşabilecek az miktardaki kasılmayı göz önünde bulundurarak EAS kasılma cevabındaki kolinerjik ve pürinerjik komponentleri bloke etmek için kullandığımız antagonistleri prazosin varlığında çalıştık. Mesane kasılmalarına pürinerjik bileşenlerin katkılarını bakıldığında atropin ve prazosin varlığında PPADS,  $\alpha,\beta$ -metilen ATP kullanılarak elde edilen EAS cevaplarında pürinerjik komponentin yaklaşık olarak % 30 olduğu gösterilmiştir (11). Çalışmamızda atropin ve atropin+prazosin+PPADS uygulamaları sonrasında elde edilen kasılma cevaplarının kontrol kasılmalarına göre sırasıyla %22 ve %52 oranlarında azalma yapmasına bağlı olarak pürinerjik komponentin benzer oranda katkı yaptığı söylenebilir. Bununla birlikte, yapılan bazı çalışmalarda suramin, PPADS,  $\alpha,\beta$ -metilen ATP gibi pürinerjik antagonistler varlığında oluşturulan EAS kasılmalarının genliğinde değişiklik olmadığı gözlenmiştir (182,185,187). Pürinerjik bileşenlerin katkısının daha çok aşırı aktif mesane ve intertisyel sistit gibi mesane patolojilerinde ortaya çıktığı belirtilmektedir (188,189). Bildiğimiz kadarıyla literatürde leptinin detrüör kas kasılmasındaki pürinerjik komponent üzerindeki etkisini gösteren ve sonuçlarımızla karşılaştırabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda da leptinin varlığında pürinerjik komponentin katkısı değişmedi.

Çalışmamızda, detrüör düz kas şeritlerinde oluşturduğumuz EAS cevabında kolinerjik ve pürinerjik komponentlere leptinin etkisi olup olmadığını araştırmak için kompetitif non-selektif muskarinik reseptör antagonisti olan atropin ve selektif pürinerjik reseptör antagonisti olan PPADS kullanıldı. Atropin uygulanmış detrüör kas şeritlerinde meydana gelen kasılma cevabındaki azalmanın, atropin+leptin uygulamasıyla meydana gelen azalmadan farklı olmadığı bulundu. Literatürde leptinin düz kasta kasıcı ve gevşetici etkileri ile kolinerjik uyarım arasındaki ilişki ile

ilgili çelişkili çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızla uyumlu olacak şekilde sıçan kolon düz kasında *in vitro* leptin varlığında oluşturulan ACh indüklü kasılmaların ACh'in tek başına oluşturduğu kasılmadan farklı olmadığı gösterilmiş ancak aynı çalışmada leptinle oluşan gevşemedeki azalmanın atropin varlığında baskılandığı bulunmuştur (167). Solunum yolu düz kas hücrelerinde M<sub>3</sub> reseptörü bulunmayan mutant farelerde yapılan bir başka çalışmada leptinin kas hücrelerindeki gevşetici etkisini indirekt olarak parasempatik sistemin inhibisyonu ile gerçekleştirdiği gösterilmiştir (165). Ayrıca insan solunum yolu düz kasında yapılan bir başka çalışmada leptin kasılmaya neden olmamış ve karbakolle oluşturulan kasılmadaki isoproterenolle oluşan gevşemeyi baskılamamıştır (190). Leptin eksikliği olan farelerde asetilkolin ve kolesistokinin gibi eksitator uyarılara karşı safra kesesi düz kas cevabı azalmakla birlikte leptin tedavisiyle bu durumun iyileştiği görülmektedir (169).

Çalışmamızda leptinin detrusör düz kastaki etkilerinde nitrik oksit rolü olup olmadığını araştırmak için nitrik oksit sentaz blokörü L-NAME kullandık. İnsan detrusör kas şeritlerinde L-NAME uygulamasının özellikle yüksek frekanslarda belirgin olmak üzere EAS kasılma cevabında artışa yol açtığı gösterilmiştir (191). Benzer şekilde çalışmamızda L-NAME uygulaması EAS cevabında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte artışa yol açtı ve bu artış sadece leptin ya da leptin+L-NAME ile oluşturulan kasılma cevaplarında oluşan artıştan farklı değildi. Florian ve arkadaşları, *in vitro* sıçan kolon düz kas çalışmalarında leptin+L-NAME tarafından meydana gelen gevşeme cevabındaki azalışın L-NAME'in tek başına oluşturduğu cevaptan farklı olmadığını ancak leptinin tek başına oluşturduğu cevaptan farklı olduğunu göstermiş ve leptinin nitrejik yolak üzerinden etkisi olabileceğini ileri sürmüşlerdir (167). Yapılan bir başka çalışmada L-NNA (N<sub>o</sub>-nitro arjinin) uygulaması elektriksel sinir uyarısı ile oluşan kolon ve jejunum gevşeme cevabını azaltırken kasılma cevabına etki etmemiştir. L-NNA ve leptin uygulaması ile birlikte benzer yönde cevaplar elde edilmiş olmasına rağmen, leptin ve NO ilişkisini işaret edecek şekilde, sadece L-NNA uygulamasından farklı olmadığı bulunmuştur (179). Literatürde bunların dışında leptin ve nitrik oksit ilişkisi ile ilgili destekler veya karşıt nitelikte çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Leptin aortta

endotelden NO serbestlenmesini artırarak endotel bağımlı gevşemeye (162,192) veya endotel ve nitrik oksitten bağımsız olarak gevşemeye yol açmıştır (193). Mezenterik arterde ise leptin, NO'dan bağımsız olarak endotel bağımlı hiperpolarizan faktör aracılığı ile gevşemeye yol açmıştır (162). İnsan koroner arterinde bir başka NOS blokörü olan N<sup>G</sup>-monometil-L-arjinin (L-NMMA)'in, leptin ile indüklenen gevşeme cevabına etki göstermediği dolayısıyla leptinin NO'dan bağımsız olarak gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (194). Bir başka çalışmada tavşan klitoral korpus kavernosum şeritlerinde leptin, ACh ile indüklenen NO salınımına bağlı olarak gevşeme cevabını artırmış, L-NAME ise leptinin bu gevşeme cevabındaki etkisini tersine çevirmiştir (195).

İnsan ve sıçan miyometriyumu kullanılan bir çalışmada leptin çalışmamızda kullanılan dozda spontan kasılmalar ve agonistle indüklenen kasılmalar üzerinde etki göstermezken daha yüksek dozda ikisini de inhibe edici etki göstermiştir (172). İnsan miyometriyumunda yapılan bir başka çalışmada ise leptinin agonistle indüklenen kasılmalar üzerinde artan dozlarda inhibitor etkileri gösterilmiştir (129). Bizim çalışmamızda ise leptin detrüsör kas şeritlerinde spontan kasılma genliği ve frekansı üzerinde belirgin etki göstermedi.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmada, leptin, detrüsör düz kas şeritlerinin EAS aracılı kasılma cevaplarında direkt olarak veya olası etkisi ile ilgili olarak kullandığımız antagonistler varlığında değişiklik yaratacak etki göstermedi.

Detrüsör kasta EAS aracılı kasılma cevabının daha yüksek dozda leptin kullanılarak araştırılması ve detrüsör kasın kolinerjik agonist aracılı kasılma cevabında leptin doz-cevap uygulamasının etkisinin değerlendirilmesi leptinin detrüsör kas fonksiyonuna etkilerinin açığa kavuşturulması açısından faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- 1.Standring, S., Borley, N.R., Collins, P., Crossman, A.R., Gatzoulis, M.A., Healy, J.C. ve diğ erleri. (2008). Gray's Anatomy. S. Standring (Ed.). (14 bs.). Spain: Elsevier
- 2.Sancak, B.,Cumhur, M. (2012). Fonksiyonel Anatomi-Baş Boyun ve İç Organlar: ODTÜ Yayıncılık.
- 3.Netter, F.H. (2011). Atlas of Human Anatomy (5 bs.). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- 4.Boron, W.F.,Boulpaep, E.L. (2003). Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach (2 bs.). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- 5.Sembulingam, K.,Sembulingam, P. (2012). Medikal Fizyoloji (6 bs.): Jaypee Brothers Medical Publishers.
- 6.Antranik. (2015) <http://antranik.org/the-urinary-system-ureter-and-urinary-bladder/-07.11.2015>.
- 7.Fry, C.H., Meng, E.,Young, J.S. (2010) The physiological function of lower urinary tract smooth muscle. *Auton Neurosci*, 154 (1-2), 3-13.
- 8.Barrett, K., Brooks, H., Boitano, S.,Barman, S. (2010). Ganong's Review of Medical Physiology (23 bs.): McGraw Hill.
- 9.Berne, R.M., Levy, M.N., Koeppen, B.M., Stanton, B.A., Cloutier, M., Genuth, S.M. ve diğ erleri. (2008). Kas. (T. F. B. Derneđ i, Çev.). B. M. Koeppen & B. A. Stanton (Ed.). Berne & Levy Fizyoloji (5 bs., s. 246-262). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri
- 10.Hall, J.E. (2011). Textbook of Medical Physiology (12 bs.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- 11.Karaismailoglu, S. (2009). Hiperkolesteroleminin Sıç an Mesanesinin Kasılma İşlevine Etkisi.Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- 12.Karl-Erik Andersson, A.A. (2004) Urinary Bladder Contraction and Relaxation: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev*, 84, 985-986.
- 13.Widmaier, E.P., Raff, H.,Strang, K.T. (2014). Neuronal Signaling and the Structure of the Nervous System. E. P. Widmaier, H. Raff & K. T. Strang (Ed.). Vander's Human Physiology The Mechanisms of Body Function (13 bs., s. 145-159). New York: Mc Graw Hill
- 14.Visser, A.J.,van Mastrigt, R. (2001) Intracellular electrical activity in human urinary bladder smooth muscle: the effect of high sucrose medium. *Urol Int*, 66 (4), 205-211.
- 15.Petkov, G.V. (2012) Role of potassium ion channels in detrusor smooth muscle function and dysfunction. *Nat Rev Urol*, 9 (1), 30-40.
- 16.Montgomery, B.S.,Fry, C.H. (1992) The action potential and net membrane currents in isolated human detrusor smooth muscle cells. *J Urol*, 147 (1), 176-184.
- 17.Fitzgerald, M.P.,Mueller, E. (2004) Physiology of the lower urinary tract. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 47 (1), 18-27.
- 18.Kanai, A.,Andersson, K.E. (2010) Bladder afferent signaling: recent findings. *J Urol*, 183 (4), 1288-1295.
- 19.Andersson, K.E.,Michel, M.C. (2011) Urinary Tract. 202.

20. Keast, J.R., Smith-Anttila, C.J., Osborne, P.B. (2015) Developing a functional urinary bladder: a neuronal context. *Front Cell Dev Biol*, 3, 53.
21. MacIver, M.B., Tanelian, D.L. (1993) Structural and Function Specilazition of A and C Fiber Free Nerve Ending Innervating Rabbit Corneal Epithelium. *The Journal of Neuroscience*, 13 (10), 4511-4524.
22. Simone, D.A., Kajander, K.C. (1997) Responses of cutaneous A-fiber nociceptors to noxious cold. *J Neurophysiol*, 77 (4), 2049-2060.
23. de Groat, W.C., Griffiths, D., Yoshimura, N. (2015) Neural control of the lower urinary tract. *Compr Physiol*, 5 (1), 327-396.
24. Andersson, K.E. (2002) Bladder activation: afferent mechanism. *Urology*, 59 (Supplement 5A), 43-50.
25. Yoshida, M., Masunaga, K., Nagata, T., Yono, M., Homma, Y. (2010) The forefront for novel therapeutic agents based on the pathophysiology of lower urinary tract dysfunction: pathophysiology and pharmacotherapy of overactive bladder. *J Pharmacol Sci*, 112 (2), 128-134.
26. Fry, C.H., Young, J.S. (2010) The physiology and pharmacology of the lower urinary tract. *Surgery (Oxford)*, 28 (7), 317-322.
27. Sadananda, P., Drake, M.J., Paton, J.F., Pickering, A.E. (2013) A functional analysis of the influence of beta3-adrenoceptors on the rat micturition cycle. *J Pharmacol Exp Ther*, 347 (2), 506-515.
28. Fry, C. (2008) Physiology of the lower urinary tract. *Surgery (Oxford)*, 26 (4), 145-149.
29. Schafer, J.A. (2004). Functional Anatomy of The Kidney and Micturition. L. R. Johnson (Ed.). Essential Medical Physiology (Third Edition bs., s. 333-341). San Diego, California, USA: Elsevier Academic Press
30. Sui, G.P., Wu, C., Fry, C.H. (2003) A description of Ca<sup>2+</sup> channels in human detrusor smooth muscle. *BJU International*, 92 (4), 476-482.
31. Wuest, M., Hiller, N., Braeter, M., Hakenberg, O.W., Wirth, M.P., Ravens, U. (2007) Contribution of Ca<sup>2+</sup> influx to carbachol-induced detrusor contraction is different in human urinary bladder compared to pig and mouse. *Eur J Pharmacol*, 565 (1-3), 180-189.
32. Fry, C.H., Gallegos, C.R., Montgomery, B.S. (1994) The actions of extracellular H<sup>+</sup> on the electrophysiological properties of isolated human detrusor smooth muscle cells. *J Physiol*, 480 ( Pt 1) (1), 71-80.
33. Wu, C., Fry, C.H. (2001) Na<sup>(+)</sup>/Ca<sup>(2+)</sup> exchange and its role in intracellular Ca<sup>(2+)</sup> regulation in guinea pig detrusor smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 280 (5), C1090-1096.
34. Liu, L., Ishida, Y., Okunade, G., Shull, G.E., Paul, R.J. (2006) Role of plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase in contraction-relaxation processes of the bladder: evidence from PMCA gene-ablated mice. *Am J Physiol Cell Physiol*, 290 (4), C1239-1247.
35. Nobe, K., Sutliff, R.L., Kranias, E.G., Paul, R.J. (2001) Phospholamban regulation of bladder contractility: evidence from gene-altered mouse models. *J Physiol*, 535 (Pt 3), 867-878.
36. Sanders, L.C., Matsumura, F., Bokoch, G.M., de Lanerolle, P. (1999) Inhibition of myosin light chain kinase by p21-activated kinase. *Science*, 283 (5410), 2083-2085.

- 37.Wang, B., Yan, Y., Zhou, J., Zhou, Q., Gui, S.,Wang, Y. (2013) A novel all-trans retinoid acid derivatives inhibits the migration of breast cancer cell lines MDA-MB-231 via myosin light chain kinase involving p38-MAPK pathway. *Biomed Pharmacother*, 67 (5), 357-362.
- 38.Kimura, K., Ito, M., Amano, M., Chihara, K., Fukata, Y., Nakafuku, M. ve diğerleri. (1996) Regulation of Myosin Phosphatase by Rho and Rho-Associated Kinase (Rho-Kinase). *Science*, 273 (5272), 245-248.
- 39.Wellner, M.-C.,Isenberg, G. (1994) Stretch effects on whole-cell currents of guinea-pig urinary bladder myocytes. *J. Physiol.*, 480 (3), 439-448.
- 40.Baker, S.A., Hennig, G.W., Han, J., Britton, F.C., Smith, T.K.,Koh, S.D. (2008) Methionine and its derivatives increase bladder excitability by inhibiting stretch-dependent K(+) channels. *Br J Pharmacol*, 153 (6), 1259-1271.
- 41.Adam, R.M., Eaton, S.H., Estrada, C., Nimgaonkar, A., Shih, S.C., Smith, L.E.H. ve diğerleri. (2004) Mechanical stretch is a highly selective regulator of gene expression in human bladder smooth muscle cells. *Physiological Genomics*, 20 (1), 36-44.
- 42.Badawi, J.K., Li, H., Langbein, S., Kamp, S., Guzman, S.,Bross, S. (2006) Inhibitory effects of various L-type and T-type calcium antagonists on electrically generated, potassium-induced and carbachol-induced contractions of porcine detrusor muscle. *J Comp Physiol B*, 176 (5), 429-439.
- 43.Herrera, G.M., J., H.T.,Nelson, M.T. (2001) Voltage dependence of the coupling of Ca<sup>2+</sup> sparks to BKCa channels in urinary bladder smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 280, 481-490.
- 44.Hashitani, H.,Brading, A.F. (2003) Ionic basis for the regulation of spontaneous excitation in detrusor smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder. *Br J Pharmacol*, 140 (1), 159-169.
- 45.Herrera, G.M., J., H.T.,Nelson, M.T. (2000) Regulation of urinary bladder smooth muscle contractions bu ryanodine receptors and BK and SK channels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 279, 60-68.
- 46.Herrera, G.M.,Nelson, M.T. (2002) Differential regulation of SK and BK channels by Ca<sup>2+</sup>signals from Ca<sup>2+</sup>channels and ryanodine receptors in guinea-pig urinary bladder myocytes. *The Journal of Physiology*, 541 (2), 483-492.
- 47.Bonev, A.D.,Nelson, M.T. (1993) ATP-sensitive potassium channels in smooth muscle cells from guinea pig urinary bladder. *Am J Physiol*, 264 (5 Pt 1), C1190-1200.
- 48.Yunoki, T., Zhu, H.L., Iwasa, K., Tomoda, T., Aishima, M., Shibata, A. ve diğerleri. (2008) Comparative studies of ZD0947, a novel ATP-sensitive K(+) channel opener, on guinea pig detrusor and aortic smooth muscles. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 376 (5), 309-319.
- 49.Sigala, S., Mirabella, G., Peroni, A., Pezzotti, G., Simeone, C., Spano, P. ve diğerleri. (2002) Differential gene expression of cholinergic muscarinic receptor subtypes in male and female normal human urinary bladder. *Urology*, 60 (4), 719-725.

50. Wang, P., Luthin, G.R., Ruggieri, M.R. (1995) Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins. *J Pharmacol Exp Ther*, 273 (2), 959-966.
51. Yamanishi, T., Chapple, C.R., Yasuda, K., Chess-Williams, R. (2000) The role of M2-muscarinic receptors in mediating contraction of the pig urinary bladder in vitro. *Br J Pharmacol*, 131, 1482-1488.
52. Hegde, S.S. (2006) Muscarinic receptors in the bladder: from basic research to therapeutics. *Br J Pharmacol*, 147 Suppl 2, S80-87.
53. Pak, K.J., Ostrom, R.S., Matsui, M., Ehlert, F.J. (2010) Impaired M3 and enhanced M2 muscarinic receptor contractile function in a streptozotocin model of mouse diabetic urinary bladder. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 381 (5), 441-454.
54. Giglio, D., Delbro, D.S., Tobin, G. (2005) Postjunctional modulation by muscarinic M2 receptors of responses to electrical field stimulation of rat detrusor muscle preparations. *Auton Autacoid Pharmacol*, 25 (3), 113-120.
55. Braverman, A.S., Doumanian, L.R., Ruggieri, M.R., Sr. (2006) M2 and M3 muscarinic receptor activation of urinary bladder contractile signal transduction. II. Denervated rat bladder. *J Pharmacol Exp Ther*, 316 (2), 875-880.
56. Jezior, J.R., Brady, J.D., Rosenstein, D.I., McCammon, K.A., Miner, A.S., Ratz, P.H. (2001) Dependency of detrusor contractions on calcium sensitization and calcium entry through LOE-908-sensitive channels. *British Journal of Pharmacology*, 134 (1), 78-87.
57. Giglio, D., Tobin, G. (2009) Muscarinic receptor subtypes in the lower urinary tract. *Pharmacology*, 83 (5), 259-269.
58. An, J.Y., Yun, H.S., Lee, Y.P., Yang, S.J., Shim, J.O., Jeong, J.H. ve diğerleri. (2002) The intracellular pathway of the acetylcholine-induced contraction in cat detrusor muscle cells. *Br J Pharmacol*, 137 (7), 1001-1010.
59. Andersson, K.E., Holmquist, F., Fovaeus, M., Hedlund, H., Sundler, R. (1991) Muscarinic receptor stimulation of phosphoinositide hydrolysis in the human isolated urinary bladder. *J Urol*, 146 (4), 1156-1159.
60. Harriss, D.R., Marsh, K.A., Birmingham, A.T., Hill, S.J. (1995) Expression of muscarinic M3-receptors coupled to inositol phospholipid hydrolysis in human detrusor cultured smooth muscle cells. *J Urol*, 154 (3), 1241-1245.
61. Hashitani, H., Bramich, N.J., Hirst, G.D. (2000) Mechanisms of excitatory neuromuscular transmission in the guinea-pig urinary bladder. *J Physiol*, 524 Pt 2 (2), 565-579.
62. Frazier, E.P., Peters, S.L., Braverman, A.S., Ruggieri, M.R., Sr., Michel, M.C. (2008) Signal transduction underlying the control of urinary bladder smooth muscle tone by muscarinic receptors and beta-adrenoceptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 377 (4-6), 449-462.
63. Michel, M.C. (2015) Therapeutic modulation of urinary bladder function: multiple targets at multiple levels. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 55, 269-287.

64. Wibberley, A., Chen, Z., Hu, E., Hieble, J.P., Westfall, T.D. (2003) Expression and functional role of Rho-kinase in rat urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol*, 138 (5), 757-766.
65. Nakamura, T., Kimura, J., Yamaguchi, O. (2002) Muscarinic M2 receptors inhibit Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in rat bladder smooth muscle. *Int J Urol*, 9 (12), 689-696.
66. Werner, M.E., Knorn, A.M., Meredith, A.L., Aldrich, R.W., Nelson, M.T. (2007) Frequency encoding of cholinergic- and purinergic-mediated signaling to mouse urinary bladder smooth muscle: modulation by BK channels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292 (1), R616-624.
67. Ehlert, F.J. (2003) Contractile role of M2 and M3 muscarinic receptors in gastrointestinal, airway and urinary bladder smooth muscle. *Life Sci*, 74 (2-3), 355-366.
68. Hawthorn, M.H., Chapple, C.R., Cock, M., Chess-Williams, R. (2000) Urothelium-derived inhibitory factor(s) influences on detrusor muscle contractility in vitro. *Br J Pharmacol*, 129, 416-419.
69. Chess-Williams, R. (2002) Muscarinic receptors of the urinary bladder: detrusor, urothelial and prejunctional. *Auton Autacoid Pharmacol*, 22 (3), 133-145.
70. Bschiepfer, T., Schukowski, K., Weidner, W., Grando, S.A., Schwantes, U., Kummer, W. ve diğeri. (2007) Expression and distribution of cholinergic receptors in the human urothelium. *Life Sci*, 80 (24-25), 2303-2307.
71. Cakır, N. (2005) Adrenerjik Reseptörler. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 1 (3), 93-96.
72. Longhurst, P.A., Uvelius, B. (2001) Pharmacological techniques for the in vitro study of the urinary bladder. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 45 (2), 91-108.
73. Yamaguchi, O., Chapple, C.R. (2007) Beta3-adrenoceptors in urinary bladder. *Neurol Urodyn*, 26 (6), 752-756.
74. Barendrecht, M.M., Frazier, E.P., Vrydag, W., Alewijnse, A.E., Peters, S.L., Michel, M.C. (2009) The effect of bladder outlet obstruction on alpha1- and beta-adrenoceptor expression and function. *Neurol Urodyn*, 28 (4), 349-355.
75. Michel, M.C., Sand, C. (2009) Effect of pre-contraction on beta-adrenoceptor-mediated relaxation of rat urinary bladder. *World J Urol*, 27 (6), 711-715.
76. Michel, M.C., Vrydag, W. (2006) Alpha1-, alpha2- and beta-adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. *Br J Pharmacol*, 147 Suppl 2, S88-119.
77. Leon, L.A., Hoffman, B.E., Gardner, S.D., Laping, N.J., Evans, C., Lashinger, E.S. ve diğeri. (2008) Effects of the beta 3-adrenergic receptor agonist disodium 5-[(2R)-2-[[[(2R)-2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]amino]propyl]-1,3-benzodioxole -2,2-dicarboxylate (CL-316243) on bladder micturition reflex in spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 326 (1), 178-185.

78. Bortolini, M.A., Bilhar, A.P., Castro, R.A. (2014) Neural control of lower urinary tract and targets for pharmacological therapy. *Int Urogynecol J*, 25 (11), 1453-1462.
79. Andersson, K.E., Martin, N., Nitti, V. (2013) Selective beta(3)-adrenoceptor agonists for the treatment of overactive bladder. *J Urol*, 190 (4), 1173-1180.
80. Schwinn, D.A., Michelotti, G.A. (2000) —a1-Adrenergic receptors in the lower urinary tract and vascular bed: potential role for the —a1d subtype in filling symptoms and effects of ageing on vascular expression. *BJU Int*, 85 (2), 6-11.
81. Deplanne, V., Palea, S., Angel, I. (1998) The adrenergic, cholinergic and NANC nerve-mediated contractions of the female rabbit bladder neck and proximal, medial and distal urethra. *Br J Pharmacol*, 123 (8), 1517-1524.
82. Hein, P., Michel, M.C. (2007) Signal transduction and regulation: are all alpha1-adrenergic receptor subtypes created equal? *Biochem Pharmacol*, 73 (8), 1097-1106.
83. Schwinn, D.A. (2001) The role of —a1-adrenergic receptor subtypes in lower urinary tract symptoms. *BJU Int*, 88 (2), 27-34.
84. Abbracchio, M.P., Burnstock, G., Boeynaems, J.M., Barnard, E.A., Boyer, J.L., Kennedy, C. ve diğeri. (2006) International Union of Pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Rev*, 58 (3), 281-341.
85. Mansfield, K.J., Hughes, J.R. (2014) P2Y receptor modulation of ATP release in the urothelium. *Biomed Res Int*, 2014, 830374.
86. Burnstock, G. (2007) Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol Rev*, 87 (2), 659-797.
87. Ralevic, V., Burnstock, G. (1998) Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev*, 50 (3), 413-492.
88. Cockayne, D.A., Hamilton, S.G., Zhu, Q.M., Dunn, P.M., Zhong, Y., Novakovic, S. ve diğeri. (2000) Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice. *Nature*, 407 (6807), 1011-1015.
89. Wu, C., Bayliss, M., Newgreen, D., Mundy, A.R., Fry, C.H. (1999) A comparison of the mode of action of ATP and carbachol on isolated human detrusor smooth muscle. *J Urol*, 162 (5), 1840-1847.
90. King, B.F., Knowles, I.D., Burnstock, G., Ramage, A.G. (2004) Investigation of the effects of P2 purinoceptor ligands on the micturition reflex in female urethane-anaesthetized rats. *Br J Pharmacol*, 142 (3), 519-530.
91. Obara, K., Lepor, H., Walden, P.D. (1998) Localization of P2Y1 purinoceptor transcripts in the rat penis and urinary bladder. *J Urol*, 160 (2), 587-591.
92. McMurray, G., Dass, N., Brading, A.F. (1998) Purinoceptor subtypes mediating contraction and relaxation of marmoset urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol*, 123 (8), 1579-1586.
93. Haab, F. (2000) Discussion: nitric oxide and bladder overactivity. *Urology*, 55 (5A Suppl), 58-59.

- 94.Şengül, E. (2014). *Achillea millefolium* (civanperçemi) ekstraktlarının ve bazı biyolojik aktif bileşiklerin in vitro ortamda rat mesanesi düz kasları üzerine etkilerinin araştırılması.Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- 95.Khaled, S.M.,Elhilali, M. (2003) Role of 5-HT receptors in treatment of overactive bladder. *Drugs Today (Barc)*, 39 (8), 599-607.
- 96.Burgard, E.C., Fraser, M.O.,Thor, K.B. (2003) Serotonergic modulation of bladder afferent pathways. *Urology*, 62 (4), 10-15.
- 97.Hall, J.D., DeWitte, C., Ness, T.J.,Robbins, M.T. (2015) Serotonin enhances urinary bladder nociceptive processing via a 5-HT3 receptor mechanism. *Neurosci Lett*, 604, 97-102.
- 98.Hou, S., Carson, D.M., Wu, D., Klaw, M.C., Houle, J.D.,Tom, V.J. (2015) Dopamine is produced in the rat spinal cord and regulates micturition reflex after spinal cord injury. *Exp Neurol*.
- 99.Coleman, R.A., Smith, W.L.,Narumiya, S. (1994) International Union of Pharmacology Classification of Prostanoid Receptors - Properties, Distribution, and Structure of the Receptors and Their Subtypes. *Pharmacological Reviews*, 46 (2), 205-229.
- 100.Palea, S., Toson, G., Pietra, C., Trist, D.G., Artibani, W., Romano, O. ve diğerleri. (1998) Pharmacological characterization of thromboxane and prostanoid receptors in human isolated urinary bladder. *Br J Pharmacol*, 124 (5), 865-872.
- 101.Schroder, A., Newgreen, D.,Andersson, K.E. (2004) Detrusor responses to prostaglandin E2 and bladder outlet obstruction in wild-type and Ep1 receptor knockout mice. *J Urol*, 172 (3), 1166-1170.
- 102.Root, J.A., Davey, D.A.,Af Forselles, K.J. (2015) Prostanoid receptors mediating contraction in rat, macaque and human bladder smooth muscle in vitro. *Eur J Pharmacol*, 769, 274-279.
- 103.Lee, T., Hedlund, P., Newgreen, D.,Andersson, K.E. (2007) Urodynamic effects of a novel EP(1) receptor antagonist in normal rats and rats with bladder outlet obstruction. *J Urol*, 177 (4), 1562-1567.
- 104.Kim, J.C., Park, E.Y., Seo, S.I., Park, Y.H.,Hwang, T.K. (2006) Nerve growth factor and prostaglandins in the urine of female patients with overactive bladder. *J Urol*, 175 (5), 1773-1776; discussion 1776.
- 105.Osano, A., Yokoyama, Y., Hayashi, H., Itoh, K., Okura, T., Deguchi, Y. ve diğerleri. (2014) Bladder endothelin-1 receptor binding of bosentan and ambrisentan. *J Pharmacol Sci*, 124 (1), 86-91.
- 106.Westfall, T.D., McCafferty, G.P., Pullen, M., Ventre, J., Eybye, M., Jugus, M.J. ve diğerleri. (2003) Effect of endothelin on bladder contraction: potential role in bladder hyperactivity. *Pharmacology*, 69 (1), 7-11.
- 107.Kaneko, Y.,Szallasi, A. (2014) Transient receptor potential (TRP) channels: a clinical perspective. *British Journal of Pharmacology*, 171 (10), 2474-2507.
- 108.Wang, Z.Y., Wang, P., Merriam, F.V.,Bjorling, D.E. (2008) Lack of TRPV1 inhibits cystitis-induced increased mechanical sensitivity in mice. *Pain*, 139 (1), 158-167.

- 109.Gevaert, T., Vriens, J., Segal, A., Everaerts, W., Roskams, T., Talavera, K. ve diğerleri. (2007) Deletion of the transient receptor potential cation channel TRPV4 impairs murine bladder voiding. *J Clin Invest*, 117 (11), 3453-3462.
- 110.Kushida, N.,Fry, C.H. (2015) On the origin of spontaneous activity in the bladder. *BJU Int*.
- 111.de Groat, W.C. (1997) A neurologic basis for the overactive bladder. *Urology*, 50 (6A Suppl), 36-52; discussion 53-36.
- 112.Brading, A.F. (1997) A myogenic basis for the overactive bladder. *Urology*, 50 (6a), 57-67.
- 113.Hashitani, H. (2006) Interaction between interstitial cells and smooth muscles in the lower urinary tract and penis. *Journal of Physiology-London*, 576 (3), 707-714.
- 114.Sui, G.P., Coppen, S.R., Dupont, E., Rothery, S., Gillespie, J., Newgreen, D. ve diğerleri. (2003) Impedance measurements and connexin expression in human detrusor muscle from stable and unstable bladders. *BJU Int*, 92 (3), 297-305.
- 115.Chow, K.Y., Wu, C., Sui, G.P.,Fry, C.H. (2003) Role of the T-type Ca<sup>2+</sup> current on the contractile performance of guinea pig detrusor smooth muscle. *Neurourol Urodyn*, 22 (1), 77-82.
- 116.Heppner, T.J., Layne, J.J., Pearson, J.M., Sarkissian, H.,Nelson, M.T. (2011) Unique properties of muscularis mucosae smooth muscle in guinea pig urinary bladder. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 301 (2), R351-362.
- 117.Hashitani, H., Mitsui, R., Shimizu, Y., Higashi, R.,Nakamura, K. (2012) Functional and morphological properties of pericytes in suburothelial venules of the mouse bladder. *Br J Pharmacol*, 167 (8), 1723-1736.
- 118.Guarneri, L., Ibba, M., Angelico, P.,Testa, R. (1991) Effects of oxybutynin, terodiline, and nifedipine on the cystometrogram in conscious rats with infravesical outflow obstruction. *Pharmacol Res*, 24 (3), 263-272.
- 119.Coleman, D.L. (2010) A historical perspective on leptin. *Nat Med*, 16 (10), 1097-1099.
- 120.Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L.,Friedman, J.M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372 (6505), 425-432.
- 121.Isse, N., Ogawa, Y., Tamura, N., Masuzaki, H., Mori, K., Okazaki, T. ve diğerleri. (1995) Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem*, 270 (46), 27728-27733.
- 122.Zabeau, L., Peelman, F.,Tavernier, J. (2015) Leptin: From structural insights to the design of antagonists. *Life Sci*, 140, 49-56.
- 123.Haniu, M., Arakawa, T., Bures, E.J., Young, Y., Hui, J.O., Rohde, M.F. ve diğerleri. (1998) Human ieptin receptor. Determination of disulfide structure and N-glycosylation sites of the extracellular domain. *J Biol Chem*, 273, 28691-28699.
- 124.Auwerx, J.,Staels, B. (1998) Leptin. *The Lancet*, 351 (9104), 737-742.

- 125.Serradeil-Le Gal, C., Raufaste, D., Brossard, G., Pouzet, B., Marty, E., Maffrand, J.-P. ve diğerleri. (1997) Characterization and localization of leptin receptors in the rat kidney. *FEBS Letters*, 404 (2-3), 185-191.
- 126.Perez-Perez, A., Guadix, P., Maymo, J., Duenas, J.L., Varone, C., Fernandez-Sanchez, M. ve diğerleri. (2015) Insulin and Leptin Signaling in Placenta from Gestational Diabetic Subjects. *Horm Metab Res*.
- 127.Bado, A., Lévassieur, S., Attoub, S., Kermorgant, S., Laigneau, J.P., Bortoluzzi, M.N. ve diğerleri. (1998) The stomach is a source of leptin. *Nature*, 394 (6695), 790-793.
- 128.Wang, J., Liu, R., Hawkins, M., Barzilai, N., Rossetti, L. (1998) A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature*, 393 (6686), 684-688.
- 129.Moynihan, A.T., Hehir, M.P., Glavey, S.V., Smith, T.J., Morrison, J.J. (2006) Inhibitory effect of leptin on human uterine contractility in vitro. *Am J Obstet Gynecol*, 195 (2), 504-509.
- 130.Wada, N., Hirako, S., Takenoya, F., Kageyama, H., Okabe, M., Shioda, S. (2014) Leptin and its receptors. *J Chem Neuroanat*, 61-62, 191-199.
- 131.Saladin, R., De Vos, P., Guerre-Millo, M., Leturque, A., Girard, J., Staels, B. ve diğerleri. (1995) Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature*, 377 (6549), 527-529.
- 132.Ahima, R.S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos-Flier, E. ve diğerleri. (1996) Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*, 382 (6588), 250-252.
- 133.Considine, R.V., Sinha, M.K., Heiman, M.L., Kriauciunas, A., Stephens, T.W., Nyce, M.R. ve diğerleri. (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*, 334 (5), 292-295.
- 134.Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollack, A., Moser, A., Friedman, J. ve diğerleri. (1996) Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J Clin Invest*, 97 (9), 2152-2157.
- 135.MacDougald, O.A., Hwang, C.S., Fan, H., Lane, M.D. (1995) Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92 (20), 9034-9037.
- 136.Perez-Perez, A., Maymo, J., Gambino, Y., Guadix, P., Duenas, J.L., Varone, C. ve diğerleri. (2013) Insulin enhances leptin expression in human trophoblastic cells. *Biol Reprod*, 89 (1), 20.
- 137.Ahima, R.S., Osei, S.Y. (2004) Leptin signaling. *Physiol Behav*, 81 (2), 223-241.
- 138.Moon, H.S., Dalamaga, M., Kim, S.Y., Polyzos, S.A., Hamnvik, O.P., Magkos, F. ve diğerleri. (2013) Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. *Endocr Rev*, 34 (3), 377-412.
- 139.Kalashikam, R.R., Inagadapa, P.J., Thomas, A.E., Jeyapal, S., Giridharan, N.V., Raghunath, M. (2014) Leptin gene promoter DNA methylation in WNIN obese mutant rats. *Lipids Health Dis*, 13, 25.
- 140.Balland, E., Cowley, M.A. (2015) New insights in leptin resistance mechanisms in mice. *Front Neuroendocrinol*.

141. Baumann, H., Morella, K.K., White, D.W., Dembski, M., Bailon, P.S., Kim, H.K. ve diğerleri. (1996) The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93 (16), 8374-8378.
142. Halaas, J.L., Gajiwala, K.S., Maffei, M., Cohen, S.L., Chait, B.T., Rabinowitz, D. ve diğerleri. (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, 269 (5223), 543-546.
143. Ramirez, S., Claret, M. (2015) Hypothalamic ER stress: A bridge between leptin resistance and obesity. *FEBS Lett*, 589 (14), 1678-1687.
144. Tartaglia, L.A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R. ve diğerleri. (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 83 (7), 1263-1271.
145. Chung, W.K., Power-Kehoe, L., Chua, M., Leibel, R.L. (1996) Mapping of the OB receptor to 1p in a region of nonconserved gene order from mouse and rat to human. *Genome Res*, 6 (5), 431-438.
146. Nakashima, K., Narazaki, M., Taga, T. (1997) Leptin receptor (OB-R) oligomerizes with itself but not with its closely related cytokine signal transducer gp130. *FEBS Letters*, 403 (1), 79-82.
147. Castracane, V.D., Henson, M.C. (2006). Leptin. S. Melmed (Ed.). Leptin (s. 24-44). USA: Springer
148. Bjorbaek, C., Uotani, S., da Silva, B., Flier, J.S. (1997) Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem*, 272 (51), 32686-32695.
149. Yuan, S.S., Chung, Y.F., Chen, H.W., Tsai, K.B., Chang, H.L., Huang, C.H. ve diğerleri. (2004) Aberrant expression and possible involvement of the leptin receptor in bladder cancer. *Urology*, 63 (2), 408-413.
150. Devos, R., Guisez, Y., Van der Heyden, J., White, D.W., Kalai, M., Fountoulakis, M. ve diğerleri. (1997) Ligand-independent dimerization of the extracellular domain of the leptin receptor and determination of the stoichiometry of leptin binding. *J Biol Chem*, 272 (29), 18304-18310.
151. Couturier, C., Jockers, R. (2003) Activation of the leptin receptor by a ligand-induced conformational change of constitutive receptor dimers. *J Biol Chem*, 278 (29), 26604-26611.
152. Park, H.K., Ahima, R.S. (2014) Leptin signaling. *F1000Prime Rep*, 6, 73.
153. Smith, C.C., Mocanu, M.M., Davidson, S.M., Wynne, A.M., Simpkin, J.C., Yellon, D.M. (2006) Leptin, the obesity-associated hormone, exhibits direct cardioprotective effects. *Br J Pharmacol*, 149 (1), 5-13.
154. Myers, M.G., Cowley, M.A., Munzberg, H. (2008) Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol*, 70 (537-556), 537-556.
155. Guo, K., McMinn, J.E., Ludwig, T., Yu, Y.H., Yang, G., Chen, L. ve diğerleri. (2007) Disruption of peripheral leptin signaling in mice results in hyperleptinemia without associated metabolic abnormalities. *Endocrinology*, 148 (8), 3987-3997.
156. Allison, M.B., Myers, M.G., Jr. (2014) 20 years of leptin: connecting leptin signaling to biological function. *J Endocrinol*, 223 (1), T25-35.

157. Weichhaus, M., Broom, J., Wahle, K., Bermano, G. (2014) Leptin inhibits proliferation of breast cancer cells at supraphysiological concentrations by inhibiting mitogen-activated protein kinase signaling. *Oncol Lett*, 8 (1), 374-378.
158. Roberts, T.J., Nijland, M.J., Caston-Balderrama, A., Ross, M.G. (2001) Central leptin stimulates ingestive behavior and urine flow in the near term ovine fetus. *Horm Metab Res*, 33 (3), 144-150.
159. De Blasio, M.J., Boije, M., Kempster, S.L., Smith, G., Charnock-Jones, D.S., Denyer, A. ve diğerleri. (2015) Leptin matures aspects of lung structure and function in the ovine fetus. *Endocrinology*, en20151729.
160. AlSaif, S., Mumtaz, S., Wray, S. (2015) A short review of adipokines, smooth muscle and uterine contractility. *Life Sci*, 125, 2-8.
161. Fortunato, A., Rodriguez, A., Gomez-Ambrosi, J., Muniz, P., Salvador, J., Diez, J. ve diğerleri. (2002) Leptin inhibits angiotensin II-induced intracellular calcium increase and vasoconstriction in the rat aorta. *Endocrinology*, 143 (9), 3555-3560.
162. Lembo, G., Vecchione, C., Fratta, L., Marino, G., Trimarco, V., d'Amati, G. ve diğerleri. (2000) Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms. *Diabetes*, 49 (2), 293-297.
163. Sahin, A.S., Bariskaner, H. (2007) The mechanisms of vasorelaxant effect of leptin on isolated rabbit aorta. *Fundam Clin Pharmacol*, 21 (6), 595-600.
164. Shore, S.A., Fredberg, J.J. (2005) Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol*, 115 (5), 925-927.
165. Arteaga-Solis, E., Zee, T., Emala, C.W., Vinson, C., Wess, J., Karsenty, G. (2013) Inhibition of leptin regulation of parasympathetic signaling as a cause of extreme body weight-associated asthma. *Cell Metab*, 17 (1), 35-48.
166. Yarandi, S.S., Hebbar, G., Sauer, C.G., Cole, C.R., Ziegler, T.R. (2011) Diverse roles of leptin in the gastrointestinal tract: modulation of motility, absorption, growth, and inflammation. *Nutrition*, 27 (3), 269-275.
167. Florian, V., Caroline, F., Francis, C., Camille, S., Fabielle, A. (2013) Leptin modulates enteric neurotransmission in the rat proximal colon: an in vitro study. *Regul Pept*, 185, 73-78.
168. Swartz-Basile, D.A., Lu, D., Basile, D.P., Graewin, S.J., Al-Azzawi, H., Kiely, J.M. ve diğerleri. (2007) Leptin regulates gallbladder genes related to absorption and secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 293 (1), G84-90.
169. Goldblatt, M.I., Swartz-Basile, D.A., Svatek, C.L., Nakeeb, A., Pitt, H.A. (2002) Decreased gallbladder response in leptin-deficient obese mice. *J Gastrointest Surg*, 6 (3), 438-442; discussion 443-434.
170. Zhao, J., Townsend, K.L., Schulz, L.C., Kunz, T.H., Li, C., Widmaier, E.P. (2004) Leptin receptor expression increases in placenta, but not hypothalamus, during gestation in *Mus musculus* and *Myotis lucifugus*. *Placenta*, 25 (8-9), 712-722.
171. Chien, E.K., Hara, M., Rouard, M., Yano, H., Phillippe, M., Polonsky, K.S. ve diğerleri. (1997) Increase in serum leptin and uterine leptin receptor messenger RNA levels during pregnancy in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 237 (2), 476-480.

172. Mumtaz, S., AlSaif, S., Wray, S., Noble, K. (2015) Inhibitory effect of visfatin and leptin on human and rat myometrial contractility. *Life Sci*, 125, 57-62.
173. Hamarat, M., Yenilmez, A., Erkasap, N., Isikli, B., Aral, E., Koken, T. ve diğ erleri. (2010) Protective effects of leptin on ischemia/reperfusion injury in rat bladder. *Chin J Physiol*, 53 (3), 145-150.
174. Schieszer, J. (2001). OAB symptoms linked to elevated serum leptin [Poster]. Poster Presentation at American Urological Association Annual Meeting.
175. Liu, H.T., Jiang, Y.H., Kuo, H.C. (2013) Increased serum adipokines implicate chronic inflammation in the pathogenesis of overactive bladder syndrome refractory to antimuscarinic therapy. *PLoS One*, 8 (10), e76706.
176. Wuntakal, R., Sharma, S., Kaler, M., Hollingworth, T. (2012) Leptin - a novel pharmacological agent for treatment of women with overactive bladder symptoms? *Med Hypotheses*, 79 (6), 856-857.
177. Dal Farra, C., Zsurger, N., Vincent, J.P., Cupo, A. (2000) Binding of a pure 125I-monoiodoleptin analog to mouse tissues: a developmental study. *Peptides*, 21 (4), 577-587.
178. Henderson, E., Drake, M. (2010) Overactive bladder. *Maturitas*, 66 (3), 257-262.
179. Voinot, F., Fischer, C., Schmidt, C., Ehret-Sabatier, L., Angel, F. (2014) Controlled ingestion of kaolinite (5%) modulates enteric nitrergic innervation in rats. *Fundam Clin Pharmacol*, 28 (4), 405-413.
180. Yoshida, M., Homma, Y., Inadome, A., Yono, M., Seshita, H., Miyamoto, Y. ve diğ erleri. (2001) Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles. *Exp Gerontol*, 36 (1), 99-109.
181. Lluel, P., Barras, M., Palea, S. (2002) Cholinergic and purinergic contribution to the micturition reflex in conscious rats with long-term bladder outlet obstruction. *Neurourol Urodyn*, 21 (2), 142-153.
182. Zvarova, K., Herrera, G.M., May, V., Vizzard, M.A. (2014) Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide (CARTp): distribution and function in rat urinary bladder. *J Mol Neurosci*, 54 (3), 351-359.
183. Krueger, D., Michel, K., Zeller, F., Demir, I.E., Ceyhan, G.O., Slotta-Huspenina, J. ve diğ erleri. (2015) Neural influences on human intestinal epithelium in vitro. *J Physiol*.
184. Sadananda, P., Chess-Williams, R., Burcher, E. (2008) Contractile properties of the pig bladder mucosa in response to neurokinin A: a role for myofibroblasts? *Br J Pharmacol*, 153 (7), 1465-1473.
185. Moro, C., Chess-Williams, R. (2012) Non-adrenergic, non-cholinergic, non-purinergic contractions of the urothelium/lamina propria of the pig bladder. *Auton Autacoid Pharmacol*, 32 (3 Pt 4), 53-59.
186. Ren, L.M., Zhuo, Y.J., Hao, Z.S., He, H.M., Lu, H.G., Zhao, D. (2013) Berberine improves neurogenic contractile response of bladder detrusor muscle in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 150 (3), 1128-1136.

187. Nicholas, S., Keightley, L., Brookes, S., Costa, M., Gibbins, I., Zagorodnyuk, V. (2015) Conscious voiding during bladder obstruction in guinea pigs correlates with contractile activity of isolated bladders. *Auton Neurosci*, 193, 74-83.
188. Andersson, K.E., Wein, A.J. (2004) Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. *Pharmacol Rev*, 56 (4), 581-631.
189. Kullmann, F.A., Daugherty, S.L., de Groat, W.C., Birder, L.A. (2014) Bladder smooth muscle strip contractility as a method to evaluate lower urinary tract pharmacology. *J Vis Exp* (90), e51807.
190. Nair, P., Radford, K., Fanat, A., Janssen, L.J., Peters-Golden, M., Cox, P.G. (2008) The effects of leptin on airway smooth muscle responses. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 39 (4), 475-481.
191. Kosan, M., Tul, M., Ozturk, B., Hafez, G., Inal, G., Cetinkaya, M. (2008) Alteration in contractile responses in human detrusor smooth muscle from obstructed bladders with overactivity. *Urol Int*, 80 (2), 193-200.
192. Benkhoff, S., Loot, A.E., Pierson, I., Sturza, A., Kohlstedt, K., Fleming, I. ve diğeri. (2012) Leptin potentiates endothelium-dependent relaxation by inducing endothelial expression of neuronal NO synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32 (7), 1605-1612.
193. Ozer, C., Gulen, S., Dilekoz, E., Babul, A., Ercan, Z.S. (2006) The effect of systemic leptin administration on aorta smooth muscle responses in diabetic rats. *Mol Cell Biochem*, 282 (1-2), 187-191.
194. Matsuda, K., Teragawa, H., Fukuda, Y., Nakagawa, K., Higashi, Y., Chayama, K. (2003) Leptin causes nitric-oxide independent coronary artery vasodilation in humans. *Hypertens Res*, 26 (2), 147-152.
195. Lee, S.Y., Chung, W.H., Lee, M.Y., Kim, S.C., Kim, H.W., Myung, S.C. (2011) Leptin enhances nitric oxide-dependent relaxation of the clitoral corpus cavernosum. *Korean J Urol*, 52 (2), 136-141.



Sayı: 52338575 - 21

### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 26.05.2015 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2015/05
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2015/49
KARAR NUMARASI	: 2015/49-10
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI	Doç.Dr. Sibel BAYRAK Doç.Dr. Sibel BAYRAK ve Dr. Serkan KARAIŞMAİLOĞLU
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: Arş.Gör. Meriç DEMELİ : 16 adet sıçan

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Sibel BAYRAK'ın araştırma yürütücüsü olduğu 2015/49 kayıt numaralı "*Leptinin Sıçan Detrüör Düz Kas Kasılma İşlevine Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir. Tez çalışacak kişinin deneye başlayıncaya kadar deney hayvanı kullanım sertifikası alması önerilmektedir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı