

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**AŞIRI AKTİF MESANEDE MikroRNA İLİŞKİSİ VE KLİNİK
KORELASYON**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Kürşat KÜÇÜKER**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zafer Aybek**

DENİZLİ – 2020

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**AŞIRI AKTİF MESANEDE MikroRNA İLİŞKİSİ VE KLİNİK
KORELASYON**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Kürşat KÜÇÜKER**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zafer Aybek**

DENİZLİ – 2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım, acı tatlı birçok anıları birlikte yaşadığımız, her konuda birbirimize destek olduğumuz değerli asistan arkadaşlarıma, klinik personeli arkadaşlarıma ve ameliyathane çalışanlarına, hocalarıma ve sevgili aileme

Sevgi ve saygılarımla sonsuz teşekkür ederim...

Dr. Kürşat KÜÇÜKER

ÖZET

AŞIRI AKTİF MESANEDE mikroRNA İLİŞKİSİ VE KLİNİK KORELASYON

Dr. Kürşat KÜÇÜKER

Aşırı aktif mesane idrara çıkma sıklığında artma, ani sıkışma hissi, idrar kaçırma gibi semptomlar ile yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir hastalıktır. Semptomları net olarak açıklayacak herhangi bir lokal patolojik ya da metabolik nedenin olmaması ve etiolojisinin net bir biçimde açıklanamaması sebebiyle tedavisi çeşitli ilaçlarla semptomları ortadan kaldırmaya yöneliktir. Epigenetik faktörlerin posttranskripsiyonel gen ekspresyonlarının regülasyonunda miRNA lar önemli görülmektedir.

Mesane kontraksiyonları esas olarak M3 reseptör alt grubu tarafından kontrol edilir. Guanin nükleotid değiştirici faktörler (GEF) ve Rho ilişkili kinaz (ROK/ROCK) proteinleri de işleme fizyolojisindeki kolinerjik yolda yer alan önemli proteinlerdendir. Mesane düz kasının gevşemesi ise $\beta 3$ alt tipinin esas rol aldığı adrenerjik reseptörler tarafından kontrol edilir. ADRB3 ise $\beta 3$ reseptörünü kodlayan genidir. Çalışmamızda adrenerjik reseptör geni olan ADRB3 ve kolinerjik reseptör yolağında görevli ARHGEF10 ve ROCK2 genlerinin regülasyonunu etkileyebilecek miRNA'ların aşırı aktif mesaneyle ilişkisini tespit etmeyi amaçladık. Saptanılan miRNA'ların klinik bulgular ve tedavi yanıtları arasında bir korelasyonu olup olmadığını araştırmayı hedefledik. Ayrıca miRNA ların tanıda daha etkin kullanılabilirliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Araştırmaya aşırı aktif mesane tanısı alan 60 hasta ve kontrol grubu olarak sağlıklı 60 kişi örneklem olarak alınmıştır. Tüm hastalara türkçe valide edilmiş AAM sorgu formu doldurulmuştur, 1 aylık tedavi sonrasında hastalar kontrol AAM sorgu formu ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada nörojen mesaneli, mesane çıkım tıkanıklığı ve taş, tümör gibi üriner sistem hastalıkları veya enfeksiyonu olan hastalar dışlama kriteri olarak uygulanmıştır. Tüm hasta ve kontrol grubundaki sağlıklı gönüllülerden alınan venöz tam kan örneklerinden RNA izolasyonu ilgili ticari kit protokolüne göre uygulanmıştır. RNA izolasyonundan sonra, RT-PCR yöntemi ile miRNA ekspresyon tayini gerçekleştirilmiştir. Literatürde daha önce aşırı aktif mesaneli hastalarda az sayıda miRNA çalışması bulunmaktadır. Bu nedenle ADRB3, ARHGEF10, ROCK2 gen bölgelerini hedef alan miRNA'lar olarak, targetscan, mirtarbase, microrna.org, dianatools ve mirDB veri tabanlarında tarandı. Yüksek skora sahip en az dört veri tabanında da bulunan, bu genlerle ilişkisi en yüksek düzeyde olabilecek 15 miRNA seçildi. ADRB3 gen bölgesi için hsa-let-7a-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7g-5p; ROCK2 gen bölgesi için hsa-miR-138-5p, hsa-miR-135b-5p, hsa-miR-300, hsa-miR-381-

3p, hsa-miR-200b-3p; ARHGEF10 gen bölgesi için hsa-miR-520d-3p, hsa-miR-520e, hsa-miR-520a-3p, hsa-miR-373-5p, hsa-miR-372-3p seçildiler.

Çalışmada hasta grubunda ortalama boy ve ağırlık 156,67cm ve 73,97 kg, kontrol grubunda 158,78 cm ve 72,02 kg idi. Hasta grubu ortalama 56,48 yaşta iken kontrol grubu 55,82 yaşındaydı. Hasta ve kontrol grubuyla boy, ağırlık, vücut kitle endeksi-body mass indeks (BMI) ve yaş ortalamasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0,05$). Yapılan genetik çalışmanın sonucunda hasta grubunda ADRB3 ile ilişkili olan hsa-let-7a-5p (6,8 (0,02-97,68)), hsa-let-7c-5p (23,1 (0,31-259,57)), hsa-let-7e-5p (7,42 (0,34-44,08)), hsa-let-7f-5p (40,93 (0,03-484,38)), hsa-let-7g-5p (17,75 (0,44-855,13)) genomları yüksek düzeyde anlamlılık içerecek şekilde yüksekti ($p=0,0001$). Aşırı aktif mesane tanısı olmayan sağlıklı grupta ARHGEF10, ROCK2 gen bölgelerini hedef alan miR-135b-5p (0,36 (0,04-79,58)), hsa-miR-300 (2,23 (0,14-11,63)), hsa-miR-372-3p (5,06 (0,1-49,77)), hsa-miR-373-5p (4,54 (0,02-61,18)), hsa-miR-381-3p (33,18 (5,16-446,39)), hsa-miR-520a-3p (0,7 (0,01-9,13)), miR-520d-3p (2,59 (0,03-72,86)), hsa-miR-520e (3,27 (0,14-19,53)) genomları yüksek düzeyde anlamlılık içerecek şekilde yüksekti ($p=0,0001$). Hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklılık içermeyen hsa-miR-138-5p ($p=0,557$) ve hsa-miR-200b-3p ($p=0,157$) iki genomda fark yoktu.

Hasta grubunda antikolinergik ajanlarla tedavi yöntemlerinin sonucunda, AAM skorunda %50 ve üzerinde düzelme görülen hastalarda iki miRNA da anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Hsa-let-7f-5p , semptom düzelmesi sağlayan hastalarda 147,86 (0,06-484,38) iken düzelme olmayan grupta 32 (0,03-426,91) olarak görülmüştür ($p=0,045$) ve miR-135b-5p semptom düzelmesi sağlayan hastalarda 0,06 (0,03-0,21) iken düzelme olmayan grupta 0,3 (0,01-14,32) olarak görülmüştür ($p=0,036$).

AAM hayat kalitesini ciddi seviyelerde azaltabilen bir hastalıktır. Hastalığın etiyopatogenezinin tam anlaşılammış olması nedeniyle günümüzde kullandığımız tedaviler yakınmaları azaltmaya yöneliktir. Özellikle antikolinergik ilaçların hastaların bir kısmında çok az veya hiç fayda sağlamadığı görülmektedir. Bazı hastalar ise yan etkileri nedeniyle tedavisini bırakmaktadır. Biz çalışmamızda adrenerjik reseptör geni ADRB3 ile ilişkili miRNA larda hasta grubunda anlamlı şekilde yükseklik belirledik. Artmış miRNA seviyeleri, hedef genin çeşitli yollarla inhibisyonu ile AAM semptomlarının ortaya çıkmasına yol açabilir. Yine çalışmamıza göre kolinerjik yolda görevli genler üzerinde etkili miRNA seviyelerinin kontrol grubuna göre az ölçülmesi, hedef gen üzerindeki inhibisyon etkinin azalması ve AAM semptomlarının görülmesinde etkili olabilir. Hedef gen ve miRNA lar arasındaki sinyal yollarının daha iyi anlaşılması spesifik tedavilerin bulunmasını sağlayabilir. Bunun için kapsamlı çalışmalara gerek vardır. AAM skorunda %50 ve üzeri azalma olan grupta, ADRB3 reseptör geni ile ilişkili hsa-let-7f-5p nin diğer gruba göre daha yüksek olması ve ROCK2 gen bölgesi ile ilişkili miR-135b-5p nin diğer gruba göre daha düşük olması hangi hastaların tedaviden daha fazla fayda göreceği konusunda da klinisyene ışık tutabilir. Bu durum hastaların gereksiz antikolinergik

kullanımı ile bunların yan etkilerine maruz kalmalarının önüne geçebilecek, kişiye özel daha özgül tedavi stratejilerinin ortaya çıkmasının, tedavi takibinde kullanılacak yeni biyobelirteçlerin keşfedilmesinin önünü açabilecektir. Ayrıca bu çalışmanın daha fazla hasta sayısı ile desteklenmesi ve diğer gen poliformizmleriyle karşılaştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aşırı aktif mesane, polimorfizm, mikroRNA

SUMMARY

THE ROLE OF microRNA IN OVER ACTIVE BLADDER: RELATIONSHIP AND CLINICAL CORRELATION

Dr. Kürşat KÜÇÜKER

Hypothesis / aims of study: Overactive bladder (OAB) is a disease that negatively affects the quality of life and occurs symptoms such as increased frequency of urination, urgency and urinary incontinence. The absence of any local pathological or metabolic cause to clearly explain the symptoms and treatment is aimed at eliminating symptoms with various drugs because of unclear etiology. At this stage, epigenetic factors of the mechanism of overactive bladder have been the subject of research. miRNAs are considered important in regulation of posttranscriptional gene expression of epigenetic factors. In our study, we aimed to determine the relationship between miRNAs, which may affect the regulation of ADRB3, the adrenergic pathway receptor gene, and ARHGEF10 and ROCK2 the cholinergic receptor pathway, genes, and and overactive bladder. We also investigated whether the detected miRNAs correlated with clinical findings and treatment responses. Additionally we aimed for the effective usability of miRNAs for diagnosis and treatment.

Study design, materials and methods: This study was approved by local ethics committee to single-center clinical study. The study included 60 patients with overactive bladder and 60 healthy individuals as a control group. Detailed medical history, physical examinations, necessary laboratory tests and drug use history of all patients were obtained. In this study, patients with neurogenic bladder, bladder outlet obstruction and urinary system diseases or infections such as stones and tumors were applied as exclusion criteria. In healthy volunteers, those with pelvic surgery, any urinary complaints, or drug use were not included in the study. Turkish validated OAB questionnaire form was filled in all patients in the OAB group before and after treatment at the first month. Peripheral venous blood samples were taken from all patient and control groups and RNA isolation was performed according to the relevant commercial kit protocol. After RNA isolation, miRNA expression determination was performed by RT-PCR method. Bladder contractions are mainly controlled by the M3 receptor subgroup. Guanine nucleotide exchange factor (GEF) and Rho associated kinase (ROK / ROCK) proteins are also important proteins in the cholinergic pathway in voiding physiology. The relaxation of the bladder smooth muscle is controlled by adrenergic receptors, in which the subtype of β_3 plays an important role and ADRB3 is the gene that encodes the β_3 receptor. MiRNAs targeting ADRB3, ARHGEF10, ROCK2 gene regions were scanned in targetscan, mirtarbase, microrna.org, dianatools and mirDB databases. Found in four databases and have the highest level of association with these genes that 15 miRNAs were selected. For ADRB3 gene; hsa-let-7a-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7g-5p, for ROCK2 gene; için hsa-miR-138-5p, hsa-miR-135b-5p, hsa-miR-300, hsa-miR-381-3p, hsa-miR-200b-3p and for ARHGEF10 gene hsa-miR-520d-3p, hsa-miR-520e, hsa-miR-520a-3p, hsa-miR-373-

5p, hsa-miR-372-3p were determined. The data were analyzed using SPSS 25 version with Mann Whitney U test and MCNemar test for binary categorical comparison.

Results: The patient group was on average 56.48 years old, while the control group was 55.82 years old. In the study, the average height and weight were 156.67 cm and 73.97 kg in the patient group, and 158.78 cm and 72.02 kg in the control group. As a result of the genetic study, the hsa-let-7a-5p (6,8 (0,02 - 97,68)), hsa-let-7c-5p (23,1 (0,31 - 259,57)), hsa-let-7e-5p (7,42 (0,34 - 44,08)), hsa-let-7f-5p (40,93 (0,03 - 484,38)), hsa-let-7g-5p (17,75 (0,44 - 855,13)) genomes associated with ADRB3 in the patient group were high with a high level of significance ($p = 0.0001$). miR-135b-5p (0,36 (0,04 - 79,58)), hsa-miR-300 (2,23 (0,14 - 11,63)), hsa-miR-372-3p (5,06 (0,1 - 49,77)), hsa-miR-373-5p (4,54 (0,02 - 61,18)), hsa-miR-381-3p (33,18 (5,16 - 446,39)), hsa-miR-520a-3p (0,7 (0,01 - 9,13)), miR-520d-3p (2,59 (0,03 - 72,86)), hsa-miR-520e (3,27 (0,14 - 19,53)) genomes targeting ARHGEF10 and ROCK2 gene regions were found statistically high in the control group ($p = 0.0001$). There was no significant difference in hsa-miR-138-5p ($p=0,557$) and hsa-miR-200b-3p ($p=0,157$) genomes in the patient and control groups. At the end of treatment with 1 month anticholinergic agents in the patient group, a significant difference was detected in both miRNAs (hsa-let-7f-5p and miR-135b-5p) in patients with a clinical improvement of 50% and above in the OAB score. hsa-let-7f-5p genome was 147.86 (0.06 - 484.38) in patients with symptom improvement, while it was 32 (0.03 - 426.91) in the group without improvement ($p = 0.045$). miR-135b-5p genome was found 0.06 (0.03 - 0.21) in patients providing symptom improvement, while it was 0.3 (0.01 - 14.32) in the group without improvement ($p = 0.036$).

Interpretation of results: The patient group was on average 56.48 years old, while the control group was 55.82 years old. In the study, the average height and weight were 156.67 cm and 73.97 kg in the patient group, and 158.78 cm and 72.02 kg in the control group. As a result of the genetic study, the hsa-let-7a-5p (6,8 (0,02 - 97,68)), hsa-let-7c-5p (23,1 (0,31 - 259,57)), hsa-let-7e-5p (7,42 (0,34 - 44,08)), hsa-let-7f-5p (40,93 (0,03 - 484,38)), hsa-let-7g-5p (17,75 (0,44 - 855,13)) genomes associated with ADRB3 in the patient group were high with a high level of significance ($p = 0.0001$). miR-135b-5p (0,36 (0,04 - 79,58)), hsa-miR-300 (2,23 (0,14 - 11,63)), hsa-miR-372-3p (5,06 (0,1 - 49,77)), hsa-miR-373-5p (4,54 (0,02 - 61,18)), hsa-miR-381-3p (33,18 (5,16 - 446,39)), hsa-miR-520a-3p (0,7 (0,01 - 9,13)), miR-520d-3p (2,59 (0,03 - 72,86)), hsa-miR-520e (3,27 (0,14 - 19,53)) genomes targeting ARHGEF10 and ROCK2 gene regions were found statistically high in the control group ($p = 0.0001$). There was no significant difference in hsa-miR-138-5p ($p=0,557$) and hsa-miR-200b-3p ($p=0,157$) genomes in the patient and control groups. At the end of treatment with 1 month anticholinergic agents in the patient group, a significant difference was detected in both miRNAs (hsa-let-7f-5p and miR-135b-5p) in patients with a clinical improvement of 50% and above in the OAB score. hsa-let-7f-5p genome was 147.86 (0.06 - 484.38) in patients with symptom improvement, while it was 32 (0.03 - 426.91) in the group without improvement ($p = 0.045$). miR-135b-5p genome was found 0.06 (0.03 - 0.21) in patients providing symptom improvement, while it was 0.3 (0.01 - 14.32) in the group without improvement ($p = 0.036$).

Concluding message: OAB is a disease that can significantly reduce the quality of life and the treatment we use today is aimed at reducing the complaints because of the etiopathogenesis of the disease is not fully understood. Today,

anticholinergic agents are the most preferred drugs in the medical treatment of OAB. In particular, it appears that anticholinergic drugs do not provide sufficient benefit in some patients. Some patients discontinue treatment due to their side effects. In our study, we determined a significant elevation in miRNAs associated with the adrenergic receptor gene ADRB3 in the patient group. Increased miRNA levels can lead to symptoms of OAB by inhibition of the target gene in several ways. Also, according to our study, miRNA levels effective on the genes in cholinergic pathway were found to be lower than the control group. This may be reducing the inhibition effect on the target gene and in the appearance of AAM symptoms. Better understanding of signaling pathways between the target gene and miRNAs can provide specific treatment strategies, and extensive studies are needed for this area. In the group with a decrease of 50% or more in the OAB score, the hRa-let-7f-5p associated with the ADRB3 receptor gene was higher than the other group and the miR-135b-5p associated with the ROCK2 gene region was lower than the other group. This can also assist the clinician in determining his treatment strategy that who will benefit more. Also, this may prevent patients from unnecessary anticholinergic use and exposure to their side effects, leading to the emergence of more specific treatment strategies and the discovery of new biomarkers that can be used for follow-up treatment. In addition, this study should be supported by more patients and compared with other gene polymorphisms.

Keywords: Biochemistry, Detrusor Overactivity, Overactive Bladder, Urgency/Frequency, Molecular Biology

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ONAY SAYFASI	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
ÖZET	xiv
SUMMARY	vii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
MESANE ANATOMİSİ	4
MESANE İNNERVASYONU	6
İŞEME FİZYOLOJİSİ	7
AŞIRI AKTİF MESANE TANIMI	8
Aşırı Aktif Mesane Prevalansı	9
Aşırı Aktif Mesane Etiyolojisi	9
Aşırı Aktif Mesane Patofizyolojisi	12
Aşırı Aktif Mesane Sendromu Risk Faktörleri.....	13
Sigara kullanımı	13
Yaş.....	13
Cinsiyet.....	14
Obezite.....	14
Beslenme	15
Konstipasyon	15
Nörolojik hastalıklar.....	16
Gebelik	16
Menopoz	16
Aşırı Aktif Mesane Tedavisi	16
MİKRORNA	17
Genomda miRNA Geni.....	18

MiRNA Biyogenezi	19
MiRNA Fonksiyonları	20
MiRNA Gen Düzenlenmesi	20
GEREÇ YÖNTEM	23
BULGULAR	28
TARTIŞMA.....	44
SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR.....	54
Ek Aşırı Aktif Mesane Değerlendirme Formu (AOB-V8).....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.	Mesaneinin innervasyonu (11)	6
Şekil 2.	Hsa-Let-7 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi.....	32
Şekil 3.	miRNA Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi	33
Şekil 4.	Hasta Grubunda miRNA Ekspresyonlarının Dağılım Grafiği	34
Şekil 5.	Kontrol Grubunda miRNA Ekspresyonlarının Dağılım Grafiği	34
Şekil 6.	let7a-5p eğrisi	36
Şekil 7.	let7c-5p eğrisi	36
Şekil 8.	let7e-5p eğrisi	37
Şekil 9.	let7f-5p eğrisi	37
Şekil 10.	let7g-5p eğrisi.....	38
Şekil 11.	mir135b-5p eğrisi	38
Şekil 12.	mir138-5p eğrisi	39
Şekil 13.	mir200b-3p eğrisi	39
Şekil 14.	mir300 eğrisi	40
Şekil 15.	mir372-3p eğrisi	40
Şekil 16.	mir373-5p eğrisi	41
Şekil 17.	mir381-3p eğrisi	41
Şekil 18.	mir520a-3p eğrisi.....	42
Şekil 19.	mir520d-3p eğrisi	42
Şekil 20.	mir520e eğrisi.....	43

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1.	Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri.....	28
Tablo 2.	Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrasına Göre AAM Skoru Değişimi.....	28
Tablo 3.	Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrasına Göre Islaklık Durumu..	29
Tablo 4.	AAM'li Hastalar ve Kontrol Grubunda MiRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$).....	30
Tablo 5.	Hasta Grubuna Uygulanan Tedaviye Göre AAM Skorundaki %50 ve Üzeri Azalma ile MiRNA Seviyelerindeki Değişim	31
Tablo 6.	MiRNA'ların ROC eğrilerine göre AUC ve p değerleri	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAM	: Aşırı aktif mesane
GERF	: Guanin nükleotid değiştirici faktör
miRNA	: mikroRNA
PVR	: Post Voiding Residü
NO	: Nitrik oksit
ACH	: Asetilkolin
ATP	: Adenozin trifosfat
GTP	: Guanozin trifosfat
GDP	: Guanozin difosfat
Ca	: Kalsiyum
MLCK	: Miyozin hafif zincir kinaz
MLC	: Miyozin hafif zinciri
MBS	: Miyozin bağlayıcı alt ünite
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
G	: Guanin
T	: Timin
C	: Sitozin
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
ncRNA	: Kodlanmayan RNA
mRNA	: Mesajcı RNA
UTR	: Untranslated region/translasyona uğramayan bölge
nt	: Nükleotid
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RT	: Revers (ters) transkripsiyon
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
cDNA	: Komplementer DNA
LNA	: Locked nükleik asit
AUC	: Area Under Curve/ Eğri altında kalan alan

BMI	: Body Mass Index -Vücut Kitle Endeksi
OAB	: Overactive bladder -Aşırı Aktif Mesane
RISC	: RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi
ORF	: Open reading frame-açık okuma çerçevesi
NGF	: Nerve growth factor
BDNF	: Brain Derived Neurotrophic Factor
GAG	: Glikozaminoglikan
MCP-1	: Monosit kemotraktan protein 1

GİRİŞ

Aşırı aktif mesane (AAM), ani sıkışma hissi, sık idrara çıkma , noktüri ile birlikte sıkışma inkontinansının olduğu ya da olmadığı ve bu semptomların herhangi biri ya da bir kaçının bir araya gelmesi ile klinik oluşturan, toplumda çok yaygın görülen ve yaşam kalitesini ciddi derecede olumsuz etkileyen bir durumdur (1). AAM prevalans çalışmaları, değişken metodolojik farkları sebebiyle sıklıkları oldukça geniş aralıklarda vermektedir. AAM, kadınlarda %11,9, erkeklerde %10 olmak üzere dünya genelinde %10,9 sıklığında bildirilmiştir (2). Ülkemizde Denizli’de yapılan çalışmada erkeklerde %20, kadınlarda %35,7 oranında AAM sıklığı bildirilmiştir (3).

Miksiyon, spinal ve bulbospinal yüksek kortikal merkezlerle afferent ve efferent bağlantıları olan, lumbosakral parasempatiklerle motor eksitator uyarılar ve depolama için sempatik yolların işlev gördüğü kompleks bir süreçtir. Bu nörolojik bileşenlerin herhangi birindeki bozukluk olması AAM semptomlarının görülmesine sebep olabilir. AAM denebilmesi için semptomları açıklayacak herhangi bir lokal patolojik ya da metabolik neden olmamalıdır. Etiyolojisi tam olarak ortaya konamamış olan AAM ‘nin patofizyolojik teorilerinden en üzerinde durulanı mesane detrusör kası üzerinde kortikal inhibisyonun azalması ve primitif işeme refleksine benzer kasılmaların ortaya çıkmasıdır.

Mesane kasılmaları esas olarak M3 reseptör alt grubunun daha etkin olduğu muskarinik parasempatik reseptörler tarafından kontrol edilmektedir. Kolinerjik yolakta, esas nörotransmitter olan asetilkolin salgılanmasından, aktin miyozinin gevşemesine kadar birçok protein görev almaktadır. RhoGEF ve ROCK proteinleri de kolinerjik yolakta yer alan önemli proteinlerdendir. Bunun yanında mesane düz kasının gevşemesi beta 3 alt tipinin esas rol aldığı adrenerjik reseptörler tarafından kontrol edilmektedir. Bu reseptörün hipofonksiyonu mesane detrusör kasının gevşemesinin bozulmasına ve azalmış alt üriner trakt fonksiyonuna sebep olmaktadır. Bazı çalışmalarda AAM’li hastalardaki azalmış alt üriner sistem fonksiyonu adrenerjik reseptör gen regülasyon bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda bu yolların etkisi doğrultusunda AAM tedavisinde kullanılan tedavinin temelini antikolinerjik ajanlar oluşturmaktadır. Bu ilaç grubunun da otonom sinir sistemi ile olan yoğun

ilişkisi yan etkilerinin fazla olmasına sebep olmaktadır. Tedavinin daha selektif ve daha az yan etki ile devam ettirilebilmesi için muskarinik reseptör gen regülasyonları araştırılabilir.

Nedeni tam olarak anlaşılamayan hastalıkların mekanizmasında epigenetik faktörlerin önemli rol oynadığı son yıllarda anlaşılmaya başlamıştır. Epigenetik faktörler posttranskripsiyonel aşamada genlerin ekspresyonlarının regülasyonunda görev alırlar. Özellikle son zamanlarda posttranskripsiyonel aşamada genlerin ekspresyonlarının regülasyonunda görev alan mikroRNA'lar (miRNA) çok dikkat çekmektedir. Birçok hastalık için ön tanıda belirleyici bir marker (belirteç) olarak kabul edilmektedirler. MiRNA'lar posttranskripsiyonel aşamada mRNA'lara bağlanarak mRNA'nın ya inhibe olmasını ya da degrade olmasını sağlayarak oluşan mRNA'nın proteine dönüşmesini engellemektedirler. MiRNA'lar 19-25 nukleotidden oluşan, protein kodlamayan (non-coding), yüksek derecede korunmuş regülatuar RNA'lardır ve posttranskripsiyonel aşamada gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rolleri vardır. MessnegerRNA'ların %30'dan fazlası miRNA 'lar tarafından regüle edilir. Bu ekspresyonlar immün fonksiyonlar, hücre ölümü, farklılaşması, gelişimi, proliferasyonu ve metabolizmasını da içeren geniş biyolojik olaylar dizisinde yer alır.

Yakın geçmişte spesifik dokularda tanımlanmış miRNAların periferik kanı da içeren farklı vücut sıvılarında da tespit edildiği olmuştur. İlginç olarak, kanda dolaşan bu miRNA 'lar hormon benzeri etkilere sahip olup salındıkları hücrelerden daha uzaklarda da cevaplara sebep olabilmektedir. Ekstrasellüler miRNA'lar hücre-hücre haberleşmesindeki mediatörlerden olabilir. Bu nedenle dolaşan miRNA'ların rollerinin anlaşılması, hastalık patogenezi ve klinik seyri açısından önemlidir ve bize bu konularda yeni bilgiler sağlayabilir.

Bu bilgiler doğrultusunda aşırı aktif mesane patogenezinde etkili olduğu düşünülen beta 3 adrenerjik ve muskarinik reseptörlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde rol aldığı düşünülen miRNA'ların düzeylerindeki değişikliklerin, hasta olmayan kişilerin düzeyleri ile karşılaştırılması klinik durumu değerlendirme ve moleküler hedefe yönelik tedavi geliştirilmesi açısından yararlı olabilecektir.

Çalışmamızda adrenerjik reseptör geni olan ADRB3 ve kolinerjik reseptör yolağında iş gören önemli proteinler olan RhoGEF ve ROCK2 proteinlerini kodlayan ARHGEF10 ve ROCK2 genlerinin regülasyonun etkileyebilecek miRNA'lar araştırılacaktır.

Patogenezin aydınlatılması ile AAM 'li hastalarda gereksiz ilaç kullanımı yan etkileri ve tedavi maliyetleri azaltılabilir, daha etkin ve selektif tedavi hedefleri ortaya konulabilir.

GENEL BİLGİLER

MESANE ANATOMİSİ

Mesane üreterler yoluyla gelen idrarın belli bir süre depolandığı, miksiyonun başlaması ile boşaltma için üretrayailetildiği, 300–500 ml hacimli içi boşluklu muskuler bir organdır (4)

Mesane'nin yeri, şekli, pozisyonu ve komşu organlarla ilişkisi, içindeki idrar miktarına ve yaşa bağlı olarak değişiklik gösterir. Erişkinde, boş kese pelvis minor içinde, pelvis döşemesinin üzerinde ve symphysis pubica'nın arkasında yer alır. Os pubis'ten spatium retropubicum ile ayrılmıştır. Mesane doldukça pelvis major'a doğru yükselir, tam dolu kese umbilicus seviyesine kadar yükselebilir. 6 yaş civarında pelvis major içine girer. Ancak puberte sonunda pelvis minor'a iner. Üçgen piramit şeklindeki kesenin önde ve biraz yukarıda bir tepesi (apex vesica), arka-altta bir tabanı (fundus vesica veya facies posterior), bir üst yüzü (facies superior), iki taraflı alt-yan yüzleri (faciei inferolaterales) vardır. Ayrıca bir de mesane boynu (cervix vesica) tarif edilir (5).

Mesane'nin 4 bölümü vardır:

1. Apex vesica: Mesanenin sivri üst bölümü olup doluluk oranına göre Symphysis pubica'nın hemen yukarısında karın ön duvarıyla komşuluk yapar. Apex'ten göbeğe kadar uzanan bağa ligamentum umbilicale medianum denir.

2. Fundus vesica: Mesanenin, arka-aşağıda kalan bölümü olup sağ-sol üreter buraya açılır. Uç yüzünde trigonum vesica bulunur.

3. Corpus vesica: Apeks ve fundus arasında kalan mesanenin en büyük bölümüdür.

4. Cerviks vesica: Mesane'nin en alt dar bölümü olup üretrayla uzanır (6).

Mesane tabanı, tepesi prostat, tabanı plika rektovezikalis ve yanlarda vaz deferenslerden oluşan bir üçgen şeklidir. Erkeklerde rektumla, kadınlarda ise vagina ön duvarı ve uterus ile komşudur. Rektumla mesane arasında oluşan periton kıvrımına plica rectovezicalis (denonviller fasyası), oluşan boşluğa ise excavatio

rectovesicalis denir. Mesane ile simfiz pubisle arasında retzius aralığı denen gevşek bağ dokusu ve santorini ven pleksusu bulunur.

Boş mesane, oblitere a. umblikalis seviyesinin altında pelvis içindeyken, dolu mesane peritonu iterek doğrudan karın ön duvarına arka yüzeyinden komşuluk yapar. Bu alandan, peritona zarar vermeksizin karın ön duvarı aracılığı ile mesaneye girilebilir.

Mesane erkeklerde, sağ ve sol puboprostatik bağlarla pubis alt kenarına, arkada rektovezikal bağlarla rektuma tutunmuştur. Ayrıca rektumdan prostatik üretraya m. rektoüretalis lifleri uzanır. Lig.umblicale madianum ise mesaneyi göbeğe bağlar.

Mesanenin ana arterleri; a. iliaca interna'nın dalları olan a. vesicalis superior ve a. vesicalis inferior'lardır. Ayrıca a. obturatoria ve a. glutea inferior'dan da ince dallar alır. Kadınlarda, bunlara ilaveten a. vaginalis ve a. uterina da mesanenin kanlanmasına ince dallar ile katılır. Venleri, mesane'nin çevresinde özellikle kese boynunda gelişmiş bir venöz ađ (plexus venosus vesicalis) oluşturur. Erkeklerde pleksus v. prostaticum, kadında plexus v. vaginalis ile bağlantılı olan bu pleksus, v. dorsalis penis'i (v. dorsalis clitoris) de alır. Sonuçta mesanenin arterleri ile yandaş olarak v.vesicalis superior ve v.vesicalis inferior ile v.iliaca interna'ya drene olurlar (5, 7).

Mesanenin üst kısmının lenf damarları nodi lenfatik iliaci externi'ye, alt kısmının lenf damarları ise nodi lenfatik iliaci interni'ye açılırlar. Cervix vesica çevresindeki bir kısım lenf damarları da nodi lenfatik sacrales ve nodi lenfatik iliaci communes'e drene olurlar (5).

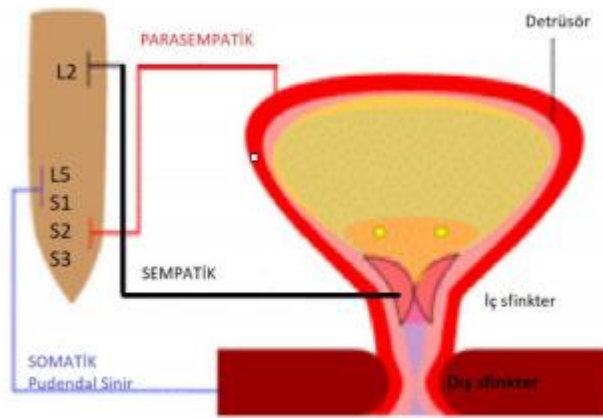
Parasempatik lifleri, n. splanchnici pelvini aracılığı ile sakral parasempatik servikal (S)2–4 merkezlerden gelir. Parasempatik lifler m. detrusor vesica'yı uyarır. M.sphincter vesica'yı ise inhibe ederler. Böylece idrar üretra'ya geçer. Bu nedenle miksiyonun refleks merkezi medulla spinalis'in S2–4 segmentlerinde bulunur. Sempatik lifler medulla spinalis'in T11–12 ve L1–2 segmentlerinden gelirler. Bu lifler m. detrusor vesica'yı inhibe eder. M.sphincter vesica'yı uyarır (5, 7).

Mesanenin histolojik yapısı içte mukoza, ortada kas, dışta adventisya olmak üzere üç tabakadan oluşur. Ortadaki kas tabakası mesanenin depolama ve gerektiğinde idrarı boşaltma fonksiyonunu yerine getirmesi için esas fonksiyonel tabaka olan

detrüsör kasını oluşturur. Detrüsörün birbirlerini çaprazlayan lifleri mesane boynunda dairesel bir özellik kazanarak fonksiyonel bir sfinkter yapısı meydana getirir. İnternal sfinkter olarak adlandırılan bu lifler kas ve bağ dokusundan oluşan gerçek bir anatomik sfinkter olmayıp mesane boynu ile proksimal üretranın birleşim yeridir. Submukozal uzanan bu kas lifleri pelvik tabanın uzantısı olan eksternal sfinktere katılır. Eksternal sfinkter (rabdofinkter) istemli - kontrol edilebilen çizgili kas liflerinden oluşur. Her iki sfinkterin sinirsel uyarılmasındaki (innervasyon) farklılıklar işeme fizyolojisinde önemlidir (8, 9).

MESANE İNNERVASYONU

Mesane, periferik innervasyon ve bunu kontrol eden merkezi sinir sistemi ile kontrol edilir. Parasempatik, sempatik ve somatik bileşenleri olan bir uyarılması vardır. Parasempatik efferent lifler sakral 2-4 spinal segmentlerden köken alır, pelvik sinir içinde mesaneye ulaşır ve kolinerjik reseptörler üzerinden mesanede kasılmayı sağlar. Sempatik lifler ise torakal 10 ile lomber 2 aralığındaki spinal segmentlerden çıkarak hipogastrik sinir içinde mesane ve üretradaki α reseptörler ile üretral kasları, mesane boynu ve iç sfinkteri kasarken, β adrenerejik reseptörler aracılığıyla detrüsör kasını gevşeterek idrarın depolanmasını sağlar. Somatik lifler sakral 1-3 ve 2-4 segmentlerinden ayrı ayrı köken alır, pudental sinir içinde pelvik taban kasları, perine kasları ve dış sfinktere ulaşarak bu kaslarda kasılmayı artırır. İdrarı tutabilme (kontinans) bu yolların dengesi ile sağlanır (8-10).



Şekil 1. Mesanenin innervasyonu (11)

İŞEME FİZYOLOJİSİ

İstemli olarak gerçekleşen işeme, depolama ve boşaltma evresi olarak iki evreden oluşur. Depolama evresinde mesane duvarından gelen gerilme ve basınç uyarılarının azlığı döneminde sempatik sistem uyarılmış ve parasempatik sistem baskılanmış durumdadır. Sempatik uyarı yoluyla mesanenin düz kasındaki β adrenerjik reseptörler ile mesane gevşetilir, mesane boynu ve üretradaki az sayıdaki α adrenerjik reseptör etkisiyle çıkış direnci artırılır. Parasempatik düğümlerdeki geçiş engellenerek mesane kasılması baskılanır. Mesane içi basınç düşük tutulur. Depolama fazında dış sfinkterin somatik efferent aktivitesi artmıştır. Mesane çıkımı kapalıdır, istemsiz mesane kasılmaları oluşmaz. Normal mesane kapasitesi 400 ile 750 ml arasında değişkenlik gösterirken ilk doluluk hissi 100-200 mL, doluluk hissi 300- 400 mL, ağrı ve acil boşaltma hissi olarak tanımlanabilen 'urgency' ise 400-500 mL'de meydana gelir. Mesane içi doluluk 300 mL'yi geçtiğinde sıkışma hissi ile birlikte dış sfinkteri gevşetip detrüör kasan refleks yollar aktive olur. Mesanenin dolumu sırasında basıncı periyodik olarak aniden yükselten detrüör kasılmaları gerçekleşir. Bu duruma işeme refleksi denir. Bu refleks özellikle posterior üretrada bulunan ve mesane basıncı yükseldiğinde posterior üretranın da dolması ile uyarılan gerilme reseptörlerinin aktive olması ile ortaya çıkar. Uyarılan reseptörler pelvik sinirler içerisinde bulunan sinir lifleri aracılığı ile omuriliğin sakral segmentine ulaşır. Aynı sinir içerisinde bulunan parasempatik liflerle de yanıt detrüörde kasılma olarak ortaya çıkar. Mesane çok dolu değilse bu kasılma kısa sürede ortadan kalkar ve detrüör spontan tonusa geri döner. Mesane doldukça kasılma sıklığı ve şiddeti artar. Bu şiddet işeme eyleminin istemli olarak meydana gelmesine kadar pudental sinir ve dış sfinkter aracılığı ile baskılanır. Bu baskılama olmadığında işeme eylemi gerçekleşir. Dış sfinkter ve pelvik taban kaslarının kortikal yolla gevşetilmesi ve kortikal merkezin işeme merkezleri üzerinden sempatik aktiviteyi kaldırmasıyla işeme başlar. Parasempatik liflerin aktivasyonu ile muskarinik reseptörler üzerinden detrüör kası kasılması başlar. Yeterli güç ve sürede detrüör kasılması ile iç ve dış sfinkterde yeterince gevşeme ile boşaltma gerçekleşir. Muskarinik reseptörler üzerinden üretral düz kaslar kasılarak üretrayı hem kısaltır hem de açarlar afferent impulsların azalması ve proksimal üretradaki gerilme ve sürtünme reseptörlerindeki deşarjların azalmasıyla

işeme merkezleri mesanedeki idrarın bittiğini kabul ederek yeniden depolama (dolma) fazına geçer (8, 9, 12, 13).

AŞIRI AKTİF MESANE TANIMI

Mesanenin fonksiyonu, idrarı düşük basınçta depolamak ve depolanan idrarı isteğe bağlı olarak kontrollü bir şekilde boşaltmaktır. Depolama ve boşaltma işlemi santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin mesane ile etkin uyumunu gerektirmektedir. Çizgili kaslardan oluşan dış sfinkter idrarın mesane de tutulmasını sağlar. Depolama sırasında sadece bu sfinkterin kasılıp kapanması değil, aynı zamanda detrüsrün gevşemesi ve gevşek halde kalması önemlidir. Mesane, mesane boynu, dış sfinkter ve bu kasları uyarıcı sinir sisteminin son derece uyumlu bir şekilde çalışması mesanenin idrarı depolamasında ve idrarı istenildiği zaman boşaltmasında önemlidir. Mesanede idrar depolanırken, sinir lifleri gerekli mesajları mesaneden beyine ve sonrasında da beyinden gelen, mesanenin gevşemesi ve dış sfinkterin kasılması emirlerini, mesaneye iletir. İşeme sırasında ise yine bu sinir lifleri beyinden gelen, sfinkterin gevşemesi ve uyumlu bir şekilde mesane kasının kasılması için, emirleri mesaneye iletmektedir.

Aşırı aktif mesane (AAM), Uluslararası Kontinans Derneğinin (International Continence Society-ICS) yaptığı tanıma göre sık idrara çıkma ve noktürinin eşlik ettiği, beraberinde idrar kaçırmanında olabildiği sıkışma hissi ile karakterli bir rahatsızlık olarak tanımlanmış ve kişide bu rahatsızlığa yol açabilecek bir enfeksiyon ya da patolojik herhangi bir faktörün olmaması olarak belirtilmiştir. Detrüsr aşırı aktivitesi ise mesanenin dolmuş fazında istemsiz detrüsr kontraksiyonlarının ürodinamik olarak belirlendiği durum olarak tanımlanmıştır. Detrüsr aşırı aktivitesi ilgili nörolojik bir hastalık olduğunda nörojenik detrüsr aşırı aktivitesi olarak tanımlanmış, eskiden kullanılan detrüsr hiperrefleksisi tanımı ise terk edilmiştir. Herhangi bir tanımlanmış sebebin bulunamaması ise idiopatik detrüsr aşırı aktivitesidir (14). Bu sendroma verilen diğer isim “sıkışma sendromu” olarak belirtilmiştir. AAM’nin temel belirtisi olarak kabul edilen “urgency” olarak belirtilen ani sıkışma hissi ICS’e göre “geciktirilmesi zor, ani ve zorlayıcı idrar yapma arzusu” olarak tanımlanmıştır. Nokturi, gece bir veya daha fazla kez idrar yapmak arzusu ile

uykudan uyanarak idrara çıkmayı tariflerken, sık idrar, günde 8 veya daha fazla idrara çıkmayı tanımlamaktadır. Sıkışma tipi idrar kaçırma ise sıkışma hissini takiben görülen idrar kaçırma ifade etmektedir (15).

Uluslararası Kontinans Derneği (ICS) tarafından yapılan AAM tanımı ile etkilenen hasta grubunda ürodinamik çalışmaların gerekliliğinin ortadan kalktığı ve tanının diğer faktörleri dışlama yöntemine dayandığı görülmektedir. AAM tanısı için ürodinamik çalışmaların her hasta grubunda gerekli görülmemesinin nedeni, ürodinami yapılan hastalarda izlenen yüksek yanlış pozitif ve yanlış negatif oranlarıdır. Herhangi bir şikâyeti olmayan normal bireylerde dahi ambulatuvar ürodinamide yüksek oranda detrusör aşırı aktivitesinin görülebilmelidir. Diğer taraftan AAM semptomları bulunan hastaların yaklaşık yarısında normal ürodinamik bulgular saptanabilmektedir(16).

Aşırı Aktif Mesane Prevalansı

Aşırı aktif mesane genellikle kadınlar arasında çok yaygındır. Coyne ve arkadaşlarının (ark.), 18-70 yaş arasında 10 000 (2 000 Afro-Amerikan, 2 000 Hispanik ve 6 000 beyaz ırk) kişi üzerinde yaptıkları çalışmada, AAM prevalansının erkeklerde %8-17 ve kadınlarda %20-30 arasında olduğu tespit edilmiştir (17). Yapılan toplum tabanlı, Ulusal Aşırı Aktif Mesane Değerlendirme çalışmasında AAM'nin prevalansının erkeklerde %16, kadınlarda %16.9 olduğu ve her iki cinsiyette de yaşla birlikte arttığı bulunmuştur (18). De Boer ve ark., AAM prevalansının yaşla birlikte arttığını, 66-75 yaş arası kadınlarda %54.5; 76-85 yaş arası kadınlarda %63.6 olduğunu bulmuşlardır (19). Rusya, Çek Cumhuriyeti ve Türkiye'yi kapsayan bir çalışmada, 3130 kişiye ulaşılmış ve AAM prevalansının erkeklerde %18, kadınlarda ise %28 olduğu saptanmıştır (20). Yine ülkemizde Denizli'de yapılan çalışmada erkeklerde %20, kadınlarda %35,7 oranında AAM sıklığı bildirilmiştir (3)

Aşırı Aktif Mesane Etiyolojisi

AAM'nin multifaktöryel etiyojolojiye sahip olduğu düşünülmektedir. Bunlar arasında nörolojik hastalıklar veya nörolojik yaralanmalar, mesane çıkım obstrüksiyonları, üretral yetmezlik, detrusör hiperaktivitesi ve yaşlı hastalardaki

azalmış kontraktilite ve idiopatik nedenler sayılabilir (21). Alt üriner sistemin nöronal regülasyonu karmaşıktır ve henüz tam olarak açıklanamamıştır. Serebral korteksten beyin sapı, spinal kord, sakral miksiyon merkezi ve mesaneyi innerve eden periferel sinirlere giden sağlam bir nöral yol, normal mesane dolum ve boşaltım fonksiyonları açısından oldukça önemlidir. Bu karmaşık ağın herhangi bir seviyesindeki bozukluk mesane fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemektedir (22). Nörolojik hastalıklar ve hasarlar iyi bilinen işeme disfonksiyonu ve aşırı aktif detrüör yapan nedenlerdir. Örnek olarak multiple skleroz, inme, diabet, Alzheimer, spinal stenoz, spinal kord hasarı ve myelodisplazi gibi hastalıkların neden olduğu işeme disfonksiyonları tanımlanabilir. Günümüzde suprapontin alanların, pontin miksiyon merkezi üzerindeki inhibitör etkisi bilinmektedir. Bu alanların Alzheimer veya İnme gibi nedenlerle hasarlanması sonucu inhibitör etkide azalma meydana gelir (23). Hayvan modellerinde; İnme ve Parkinsonda miksiyon aktivitesini regüle eden glutaminerjik ve dopaminerjik yollar bulunmuştur (24, 25). Suprasakral spinal kord hasarları miksiyonun istemli ve suprasakral modülasyonunu bozmaktadır (26).

Mesane çıkım obstrüksiyonları arasında; BPH, mesane boynu disfonksiyonu, posterior üretral valv, koordinasyonu bozulmuş sfinkter aktivitesi (spinal hasar, myelodisplazi ve Hinman sendromu) ve iyatrojenik olarak oluşan obstrüksiyonlar (inkontinans cerrahisi sonrası) sayılabilir. Bu patolojiler klinikte AAM semptomları oluşturabilirler (27). Mesane çıkım obstrüksiyonlarında; mesane ağırlığında artma, histolojik olarak miyosit hipertrofisi ve hiperplazisi, kollajen depozisyonunda artma, parasempatik sinir terminallerinde kayıp olmaktadır (28). Deneysel hayvan çalışmalarında mesane çıkım obstrüksiyonu olan olgularda genel olarak kolinerjik stimülasyonun azalmasına zıt olarak, kolinerjik stimülasyona artmış yanıt olarak tanımlanan “denervasyon süpersentivitesi” ile karşılaşmaktadır (29). Yine hayvan modellerinden elde edilen bir başka bulgu ise, mesane kası kontraksiyonu esnasında arteryel kan akımı ve doku oksijen seviyesinin düşük olmasıdır ve bu da denervasyon nedeni olarak iskemik hasarın olabileceğini düşündürmektedir (30, 31). Elektrofizyolojik çalışmalarda da hipertrofiye uğramış kas hücrelerinin, normal hücrelere göre elektriksel olarak daha az stabil oldukları saptanmıştır (32). Mesane çıkım obstrüksiyonunda işeme refleksinin hem sensorial hem de motor komponenti etkilenmektedir. Deneysel mesane çıkım obstrüksiyonu olan ratlarda mesane afferent

ve efferent uyarılarında artış ve buna bağlı sistometride mesane hiperaktivitesi görülür (33).

Detrüsör aşırı aktivitesine yol açabilen bazı patolojiler aşağdaki gibi özetlenebilir;

I.İdiopatik Detrüsör Aşırı Aktivitesi

II. Non-Nörojenik Detrüsör Aşırı Aktivitesi

A. Sistit

B. Mesane tümörü

C. Mesane taşı

D. Mesanede yabancı cisim

E. Yaşlanma

F. Mesane çıkım tıkanıklığı

1. Erkek- prostatik üretra veya mesane boynunda darlık

2. Kadın- pelvik organ prolapsusu, pelvik cerrahi sonrası, üretral divertikül, primer mesane boynu darlığı

III. Nörojenik Detrüsör Aşırı Aktivite

A. Diabetes mellitus

B. Suprasakral spinal lezyonlar

1. Spinal kord yaralanması

2. Spinal kord tümörü

3. Multipl sklerozis

4. Myelodisplazi

5. Transvers myelit

C. Supraspinal nörojenik lezyonlar

1. İnme

2. Parkinson hastalığı

3. Hidrosefali

4. Beyin tümörleri

5. Beyin travması

6. Multipl sklerozis

Aşırı Aktif Mesane Patofizyolojisi

Aşırı aktif mesanenin patofizyolojisi tam olarak açıklanamamıştır. AAM'nin oluşmasında mesane ve alt üriner sistemdeki diğer yapıların da rol aldığı düşünülmektedir. Bu konuda pek çok farklı görüş bulunmaktadır (21).

Aşırı aktif mesane sendromunda detrüör kasının uyarılabilirliği artmıştır. Normal bir mesanede hücreler arası bağlantıyı sağlayan yapıların sağladığı lokal bir uyarımla tüm mesane uyarılmamaktadır. Ancak detrüör aşırı aktivitesi bulunan hastaların mesane biyopsileri incelendiğinde normal bir mesaneden farklı olarak bu hücreler arası bağlantıların artmış olduğu tespit edilmiştir. Bu bağlantıların lokal bir uyarımla diğer kas liflerine de yayılarak tam bir detrüör kasılmasına neden olabileceği saptanmıştır (16).

Mesanenin santral veya periferik inervasyonundaki değişiklikler detrüör aşırı aktivitesine neden olabilmektedir. Pek çok nörojenik hastalıkta nörojenik detrüör aşırı aktivitesine yol açmaktadır. Bunların dışında son zamanlarda C-afferent miyelinsiz liflerin aşırı uyarılması en çok üzerinde durulan nörojenik teoridir (34). Mesanenin duyusunu taşıyan iki tip sinir lifi vardır. Bunlardan birisi miyelinli A delta sinir lifleri diğeri myelinsiz C lifleridir. A-delta lifleri mesanenin duvar gerimine bağlı olarak doluluk hissi ile ilgili duyuyu taşır. C lifleri ise işeme refleksini ve mesanede ortaya çıkan ısı artışı veya bakteriyel enfeksiyonla ortaya çıkan ağrı duyusunu taşımaktadır. Bu teoriye göre C-lifleri aktivasyonu arttığında işeme refleksinin uyarımının artmasına bağlı olarak detrüör aktivitesi de artar (35).

Aşırı aktif mesane oluşumundaki bir diğeri neden ise pelvik taban kaslarıdır. Pelvik taban kasları kontinansın sürdürülmesinde, abdominal ve pelvik organların desteklenmesinde, lumbopelvik bölgenin stabilitesinin sağlanmasında ve cinsel fonksiyonların sürdürülmesinde önemlidir (36). Pelvik taban kaslarının kuvvet kaybında, aktif olarak üretral kapanma mekanizması bozulmaktadır. Bu da pelvik tabanın anormal olarak aşağı hareketine, üretranın ve mesane boynunun hiper MOBİLİTESİNE neden olabilmektedir. Pelvik tabanın bu aşağı doğru hareketi de intaüretral kapanma basıncının arttırılamamasına bağlı olarak üriner sistem problemleri meydana gelebilmektedir. Yapılan bir çalışmada ise, stres, urge ve mikst

tip üriner inkontinansı olan kadınlarda sağlıklılar ile kıyaslandığında pelvik taban kas fonksiyon bozukluğu olduğu tespit edilmiştir (37). Toprak Çelenay ve ark. yaptığı bir çalışmada da AAM'li kadınlarda pelvik taban kas kuvvetinin azalması ile AAM semptomlarının ciddiyetinin arttığı bulunmuştur (38).

Aşırı Aktif Mesane Sendromu Risk Faktörleri

AAM sendromu için risk faktörlerinin başlıcaları; sigara, yaş, cinsiyet, obezite, beslenme, konstipasyon, nörolojik hastalıklar, gebelik ve menopozdur (18, 39-42).

Sigara kullanımı

Sigarada bulunan nikotinin, hayvan çalışmalarında mesanede geniş fazik kontraksiyonlara sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Nikotinin hayvan çalışmalarında gösterilen bu etkiyi insan mesanesi üzerine de gösterdiği düşünülmektedir (43). Sigara kullanımına bağlı gelişen öksürük, karın içi basınçta artışa yol açarak mesane ve pelvik taban kaslarında hasar oluşmasına sebebiyet verebilir. Ayrıca sigarada bulunan çeşitli zararlı maddelerin detrusör üzerine irrite edici etkiler göstererek üriner inkontinansa yol açabileceği bildirilmektedir (44). AAM tedavisinde mesane eğitim programlarının sigara bırakma programları ile desteklenmesi gerekliliği kanıt temelli çalışmalar ile gösterilmiştir. Sigara bırakılmasının şiddetli AAM semptomlarında gerilemeye yol açtığı gösterilmiştir ancak hafif ve orta dereceli AAM semptomları üzerindeki etkisi için yeterli bulgular mevcut değildir (45).

Yaş

Yaşlanma nedeniyle AAM görülme sıklığının arttığı belirtilmektedir. Ayrıca, yaşlanma ile sıklığı artan ateroskleroza bağlı pelvik iskemi, hiperlipidemi, serebrovasküler ya da diğer nörolojik hastalıklar gibi sistemik bazı hastalıkların rolü olabilmektedir (46). Bununla birlikte AAM belirtileri ve sıkışma tipi idrar kaçırma genç popülasyonda da önemli oranda görülmektedir (43). Çocukluk döneminde urgency sorunu olanlarda, yaşamının ileri döneminde de ortaya çıkabileceği tahmin edilmektedir (47).

Prevalans yaşla birlikte arttığından birçok kadın idrar kaçırmayı bir hastalık olarak değil, yaşlılığın doğal bir parçası olarak kabul eder. Yaşlanmayla birlikte

mesane kapasitesinde, idrar akım hızında ve idrar yapmayı erteleme yeteneğinde azalma olur (48). Çetin (2010), Edirne şehir merkezindeki 20 yaş üzeri popülasyonda urge inkontinans prevalansı ve etkileyen faktörlerin belirlenmesi amacıyla yaptığı çalışmada (n=1810; 901 kadın-909 erkek), kadın katılımcılar (n=901) arasında idrar kaçıran katılımcıların yaş ortalaması 51,58; idrar kaçırmayan kadın katılımcıların yaş ortalaması 39,80 olarak saptamıştır. 20-29 yaş arası kadınların %10,9'u idrar kaçıırken (en fazla urge inkontinans), 70 yaş ve üzeri kadınların %64,7'sinin idrar kaçırdığı (en fazla urge ve mikst inkontinans) ve idrar kaçırmaya sıklığının, ileri yaşa bağlı olarak artış gösterdiği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Üriner inkontinans tipi ile yaşın ilgisi araştırılmış, urge inkontinansın 54 yaştan sonra arttığının görüldüğü belirtilmiştir (49).

Cinsiyet

AAM semptomları her iki cinsiyette de yaşla beraber artış gösterir ancak kadın cinsiyette erkeklere oranla 3 kat daha fazla görülebilmektedir. Kadın cinsiyette olan bu baskın durum özellikle 60 yaş altında daha da ön plana çıkmaktadır. 60 yaş üzerindeki popülasyonda ise erkek cinsiyette AAM daha sık izlenmektedir (39). Cinsiyet açısından izlenen bu farklılığın kadınlarda pelvik taban kas gücündeki zayıflama, vajinal doğum sonrası travma, hormonal ve anatomik birtakım farklılıklardan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (15).

Obezite

Obezitenin üriner inkontinans için risk faktörü olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Vücut Kitle İndeksi (VKİ)'ndeki artma sonucu AAM semptomlarında artış bildirilmiştir. VKİ, AAM semptomlarının ortaya çıkmasında etkili olan bağımsız bir risk faktörüdür. Yapılan birçok çalışma VKİ yüksek olmasının AAM semptomlarında var olan şiddeti arttırdığını göstermiştir (41, 50-53).

Obezite, bireyde artmış yağ dokusu sonucunda mesanenin kan akımını azaltarak mesane inervasyonunu olumsuz yönde etkiler. Obez olarak tanımlanan hastalarda mesane üzerinde artan intraabdominal basınç ve fazla kiloların pelvik taban kas yapısına verdiği hasarın ortaya çıkan AAM semptomlarını ve üretral hipermobilityi artırmakta olduğu varsayılmaktadır (51).

Yapılan farklı çalışmalar sonucunda obez olarak tanımlanan hastaların izlemleri takibinde yeterli miktarda kilo vermesi durumunda AAM semptomları ve sıkışma tipinde inkontinans şikayetlerinde azalma saptandığı görülmüştür (54). Hastalarda %5 ve üzerinde kilo kaybı olması durumunda üriner inkontinans semptomlarında belirgin düzelmeye izlenmiştir ve kilo vermenin AAM'li ve idrar kaçırma problemi olan kadınlarda kabul görmüş tedavi seçeneği olduğu belirtilmiştir (55).

İngiltere'de yapılan prospektif bir çalışmada, obezitenin kadınlarda AAM'nin başlamasında risk faktörü olduğu bulunmuştur. 25-84 yaş arasındaki kadınlarda yapılan bir çalışmada obezitenin AAM riskini 3 kat artırdığı bulunmuştur (47).

Beslenme

Günlük beslenme alışkanlıklarının uygun olarak düzenlenmesi AAM semptomlarında gerileme sağlar. Diyetle alınan bazı gıdaların ve bileşenlerinin AAM'yi tetiklediği bildirilmiştir. Bu gıdaların diyetle kısıtlanması ya da bileşenlerinin diyetten çıkarılması suretiyle AAM patolojisine olan etkileri azaltılabilir (56). Özellikle kafein, mesane kas tabakası olan detrusörün basıncını artırarak AAM semptomlarının alevlenmesinde önemli etki sağlar. Ayrıca bazı tatlandırıcılar (özellikle aspartam), fazla baharat içeren gıdalar, domates ve turunçgillerin diyetle fazla miktarda bulunmasının AAM semptomlarını artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca alkolünde aşırı diüretik olarak semptomları alevlendirebileceği gösterilmiştir. Günlük önerilen sıvı miktarı en az 1,5 litre olarak bildirilmiştir. AAM hastalarında sıvı kısıtlaması önerilmemektedir. Sıvı alımı kısıtlandığı zaman idrar konsantrasyonunda artış olacaktır ve bu da mesaneyi daha da fazla irrite edecektir (56).

Konstipasyon

Kişide var olan uzun süreli kabızlık ve defekasyon esnasında fazla ıkınma, zorlanma durumları AAM semptomlarının oluşmasına ya da şiddetlenmesine sebebiyet verebilir. Uzun süreli kabızlık öyküsü olan yada defekasyon esnasında aşırı zorlanma tarifleyen hastalarda, pelvik taban kaslarının nörolojik inervasyonlarında ve fonksiyonlarında değişiklikler meydana geldiği bildirilmiştir (56). Kronik kabızlık ve defekasyonda zorlanma ile AAM semptomları arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur

(57, 58). Bu ilişkiye sebep olan şey kabızlıkla uyarılan pelvik tabandaki ilerleyici nöropatidir (56). Çalışmalarla gösterilmiştir ki AAM tedavi planlanmasında barsak regülasyonunun da mutlak yeri olmalıdır.

Nörolojik hastalıklar

Santral sinir sistemi ve periferik sinir sistemini etkileyen Multiple Skleroz, Parkinson, serebrovasküler hastalık gibi durumlarda mesane sinir ağının da hasar görmesine bağlı olarak AAM semptomları ortaya çıkabilmektedir (44).

Gebelik

İdrar sıklığı gebelik sırasında yaygın görülmektedir. Tayvan’da yapılan bir çalışmada urgency, gebelik öncesi %1, ilk trimesterde %16, ikinci trimesterde %25, üçüncü trimesterde ise %31 oranında bulunmuştur. İsveç’te prospektif bir çalışmada son gebeliklerinde haftalık sıklık görülme oranı, vajinal doğum yapan kadınlarda %2,6 ve sezaryen doğum yapanlarda %2,7 olarak bulunmuştur (47).

Kadınlarda; doğum sayısı, doğumun meydana geliş yöntemi, bebek doğum kilosu, baş çevresi gibi doğumla ilgili durumların AAM için risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Doğum esnasında, pelvik bölgedeki kas ve bağ dokunun gerilip zayıflaması AAM semptomları ve üriner inkontinansın ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (52).

Menopoz

Pubokoksigeus kası, kadın üretrası ve mesane trigonu östrojen reseptörü içerirler. Kadınlarda menopozda izlenen östrojen azlığı bu bölgeleri etkileyerek AAM semptomlarını tetikler (59).

Aşırı Aktif Mesane Tedavisi

AAM için güncel tedaviler davranışsal tedavi, farmakolojik tedavi, minimal invaziv prosedürler ve diğer cerrahi seçenekleri içerir. Her ne kadar oral antimuskarinikler farmakolojik tedavide başrolde olsa da ağız kuruluğu ve kabızlık gibi rahatsız edici antikolinergik yan etkilerin yüksek insidansı hastaların tedaviye devamlılığını engellemektedir. Bu yan etkilerin tolere edilememesi tedaviye uyumun

bozulmasında en önemli etkidir (60). Bununla birlikte bazı AAM hastaları antimuskariniklere karşı dirençlidir. Hangi hastalarda antimuskariniklerin başarısız olacağını önceden öngörebilsek hastaların gereksiz ilaç kullanımını ve potansiyel yan etkilere maruz kalmalarını engelleyebiliriz. Fakat hangi hastalarda antimuskarinik tedavinin başarısız olacağı sorusu hala cevaplanamamaktadır. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (61). Bu sebeplerden dolayı farmakolojik tedavi, yan etkileri daha az ve etkinliği yüksek ajanlara yönelmiştir. Adrenerjik β_3 reseptör agonistleri son yıllarda tek başına ya da antikolinergiklerle kombine edilerek tedaviye dahil edilmiştir (62-65). Tedavide antimuskariniklerle karşılaştırıldığındaki etkililik düzeyi hala tartışmalıdır (64).

AAM fizyopatolojisinin hala tam olarak aydınlatılamaması ve tedavi protokollerindeki soru işaretleri tanıda yeni yardımcı testlere ve yeni tedavi stratejilerine olan ihtiyacı artırmıştır.

MİKRORNA

MikroRNAlar, genomik DNA'da ilgili miRNA geninden binlerce baz uzunluğunda primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından sentezlenirler. Birbirini izleyen iki süreç ile matür miRNA oluşumu gerçekleşir. İlk aşamada, DNA'dan bilgi aktarımı ile oluşan binlerce baz uzunluğundaki pri-miRNA, yaklaşık 70 nükleotidlik prekürsör miRNA (pre-miRNA) haline getirilir. İkinci aşamada ise bu prekürsör, yaklaşık 21-25 nükleotidlik matur miRNA'ya çevrilirler (66).

Primer miRNAların transkripsiyonel regülasyonu hakkındaki bilgilerimiz henüz yetersizdir. Ancak, bazılarının hem protein kodlayan hem de kodlamayan genlerin intronları içerisinde lokalize oldukları ve böylece konakçı genlerin promotorları aracılığıyla transkripsiyonlarının düzenlendiği bilinmektedir. Ayrıca bazı miRNAlar polisistronik transkriptlerde demetler halinde bulunurlar ki bu da miRNAların gelişim sırasında koordineli bir şekilde regüle edildiklerini göstermektedir (67).

MikroRNA maturasyonu için gerçekleşen dizisel parçalanma aşamalarında “Drosha” ve “Dicer” olarak isimlendirilen iki RNaz-III enzimi rol oynamaktadır. Her ikisi de çift dal RNA (dsRNA) spesifik endonükleazlardır. Drosha çoğunlukla nükleusta lokalizedir ve iki tandem RNase-III domaini içerir: dsRNA bağlanma domaini ve fonksiyonu bilinmeyen amino-uç segmenti. Farklı yapı ve dizide olmalarına bakmaksızın Drosha pri-miRNAları yaklaşık 70bp lik parçalara bölmektedir. Bu oluşan parçalar stem-loop biçimindedirler. Drosha işlemlerinin etkinliğinde terminal ilmek boyutları, ana yapı ve Drosha parçalama bölgesi çevresindeki dizi önemli rol oynamaktadır. Terminal ilmekte kısalma, ana yapıdaki komplementerliğin bozulması ve Drosha kesim bölgesindeki dizilerin delesyonu veya mutasyonu kesim işlemi anlamlı derecede azaltmaktadır (68).

Nükleusta oluşan pre-miRNAlar nükleustan sitoplazmaya Exportin5 (Exp5) aracılığıyla taşınır. Exportin5 bir Ran-GTP temelli nucleo/sitoplazmik kargo transporter molekülüdür. Sitoplazmada bu firkete biçimindeki prekürsörler bir başka enzim olan “Dicer” tarafından 20-22 nükleotid uzunluğunda küçük, çift dal RNA dubleksi (miRNA: miRNA*) haline getirilirler ki bu dubleks yapıda hem matur miRNA dalı hem de onun komplementeri (miRNA*) birlikte bulunur. Olgun miRNA, RNA“yla indüklenen susturma kompleksine (RISC) katılır. MikroRNA“lar etkilerini hedefledikleri mRNA’nın 3’UTR bölgesindeki baz komplementerliğine göre iki mekanizmayla gösterirler. Yüksek oranda 3’UTR bölgesine komplementerlik varsa mRNA degrades edilir. Komplementerlik azsa mRNA’nın translasyonu baskılanır (69).

Genomda miRNA Geni

MiRNA genleri Y kromozomu dışındaki tüm kromozomlarda hem kodlanan hem de kodlanmayan transkripsiyon bölgelerinde yerleşiklerdir. Genomik yerleşimlerine göre miRNA’lar intergenik ve intragenik olarak sınıflandırılabilir. İntergenik miRNA’lar; intronik, ekzonik ve mixed (intronik-ekzonik) yerleşimli olabilirler. İntrogenik miRNA’lar buldukları genin aynı zinciri üzerinde yerleşirken bir kısmı da karşı zincirde yerleşir. Bir miRNA geninin genomik dağılımı ve kromozomal yerleşimi onun ekspresyonunu belirleyen bir faktör olması bakımından önemlidir. MiRNA genlerinin yaklaşık %60’ı transkripsiyon birimlerinin intronlarında

yerleşmiştir ve ekspresyonu ev sahibi genlerin ekspresyon profili ile bağlantılıdır. MiRNA'ların ekspresyonu dinamiktir (70).

MiRNA Biyogenezi

İntron, ekzon, 3'UTR, 5'UTR bölgeleri veya genler arası bölgelerde konumlanmış olan miRNA genleri öncelikle uzun birincil transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II tarafından sentezlenirler ve daha sonra, nükleusta RNaz endonükleaz Drosha işleviyle daha kısa prekürsör miRNA'ya(pre-miRNA) dönüştürülürler. Stemloop ikincil yapısına sahip olan ve 60-100 nt. uzunluğunda olan bu pre-miRNA'lar hayvanlarda, Exportin-5 ile nükleustan sitoplazmaya taşınırlar ve sitoplazmik ribonükleaz Dicer tarafından kesime uğrayarak çift zincirli olgun miRNA'ları meydana getirirler. Daha sonra çift zincir birbirinden ayrılır ve bir zincirden olgun miRNA oluşur. Hedef mRNA'ya komplementerlik göstererek gen regülasyonunu gerçekleştirme durumu birçok hayvan miRNA'sında, tam komplementerlikle oluşturulmamaktadır. Böylelikle, tek bir miRNA 3'UTR'da birden fazla hedef diziyi tanıma potansiyeline sahiptir ve hayvanlarda birçok farklı genin translasyonel inhibisyonu sağlanmış olur (71). Gerçekleştirilen biyoinformatik çalışmalar insan genlerinin %60 kadarının miRNA'lar tarafından regüle edilebileceğini göstermektedir (72).

Son on yılda, geçerli miRNA ekspresyon analizleri özellikle medikal diagnostik alanlarda önemini arttırmıştır ve spesifik miRNA ekspresyon patternleri diagnostikte klinik marker olarak kullanılmaya başlanmıştır. İnsana yönelik uygulamaların yanı sıra ekonomik önemi olan çiftlik hayvanları için geliştirilen ilaçların analizinde de miRNA'ların biyomarker olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir. Becker C. ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, anabolik steroidlerin etkisi altında miRNA ekspresyon profilindeki değişiklikler sığır karaciğerinde ilk kez incelenmiştir. Hatalı anabolizmanın izlenmesi için biyomarker olarak kullanılabilen bir gen ekspresyon patternini (mRNA ve miRNA) ortaya çıkarmak için çalışılmıştır (73).

MiRNA Fonksiyonları

MikroRNA'lar protein kodlamamasına rağmen, posttranskripsiyonel olarak hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, apoptozis ve metabolizmanın düzenlenmesi gibi pek çok olayda etkilidir (74). Bir miRNA, birden fazla hedef messenger RNA'nın (mRNA) ekspresyonunu düzenleyebildiği gibi, mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir (75).

MikroRNA'lar kendi nükleotit dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. RISC ile kompleks oluşturan miRNA, baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır. Daha sonra mRNA'nın degradasyonuna (post-transkripsiyonel gen susturma) veya yıkımına sebep olurlar (76). MikroRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (untranslated region-UTR) veya hedef mRNA'nın ORF (open reading frame-açık okuma çerçevesi) bölgesine bağlanır. Bu bağlanma şekli mikroRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlıdır. 3' UTR bölgesine bağlanma kusurlu, tam olmayan, eksik komplementerliği gösterir ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanırken, ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve Ago2 tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır (77).

MiRNA Gen Düzenlenmesi

Memelilerde transkripsiyonun ~%60'ından fazlası miRNA'ların kontrolü altındadır. Bu miRNA'ların ~%30-50'si protein kodlayan genlerin intronlarından kodlanırken geriye kalanlar ise intergenik bölgelerde yer almaktadırlar. MiRNA'lar tipik etkilerini gen ekspresyonu üzerine negatif, inhibitör aktivite ile gösterirler fakat bununla birlikte son yapılan çalışmalar gen ekspresyonunu pozitif yönde de etkilediğine dair sonuçlar da ortaya koymuştur (78).

Gen düzenlenmesi üzerine negatif etkileri: Çoğunlukla mRNA'nın 3' UTR'sine bağlanarak, daha azınlıkta 5' UTR, ORF (open reading frame- proteine çevrimi yapılan kodlanan diziler) ya da promotör bölgelerine bağlanarak oluşur. MiRNA'ların "çekirdek dizisi" olarak ifade edilen 2-8 nt uzunluğundaki ana dizileri hedef mRNA'ya tam komplementerlik göstererek bağlandıkları için büyük önem taşır.

Ayrıca, miRNA'ların her biri birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebilir ve mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir (70, 78).

Mükemmel eşleşme sonucu oluşan inhibisyonda mRNA, miRISC kompleksi ile parçalanır. Parsiyel eşleşme sonucu oluşan inhibisyon pretranslasyonel, kotranslasyonel ya da postinisiasyon mekanizmalarıyla oluşur. Pretranslasyonel süreç daha çok DNA metiltransferaz, histon deasetilaz gibi epigenetik düzenleyicilerle ilişkilidir. Örneğin miR-29 ailesi akciğer kanserinde DNA metiltransferazı hedef alarak tümör süpresörlerin baskılanmasına sebep olur. Kotranslasyonel susturma mRNA parçalanması ya da translasyon inhibisyonuna sebep olur. Postiniasional basamaklarda AGO proteini ribozomun büyük ünitesinin birleşmesini ve elongasyon faktörlerini etkileyerek protein sentezinin bozulmasına sebep olur.

Gen düzenlenmesi üzerine pozitif etkileri: Doğrudan ve dolaylı olarak görülür. Promoter bölgeye bağlanma ile doğrudan; AGO, FXR1 (Fragile X mental retardation protein 1) gibi proteinler üzerinden de dolaylı olarak transkripsiyonu tetikleyebilirler (70).

Gen düzenlenmesindeki kilit rolü miRNA'ları fizyolojik ve patolojik süreçlerin önemli bir noktası haline getirmiştir. Bozulmuş miRNA ekspresyonu hedef mRNA ekspresyonunu değiştirerek kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar gibi birçok patolojik süreçte önem kazanır. MiRNA profilleri, erken teşhis, sınıflandırma, prognostik ve prediktif biyolojik belirteçler olarak yararlıdır. Erken teşhis biyolojik belirteçleri olarak, bir hastalığın başlangıcını gösterirler ve sıklıkla hastalıkta rolü vardır. Sınıflandırma biyolojik belirteçleri olarak, miRNA'ların ekspresyon paternleri, sağlıklı hücrelerin doku orijinini tanımlar. Az sayıda miRNA'nın tespit edilmesinin, tümörlerin gelişimsel evresi hakkında daha fazla sayıda mRNA'nın tespit edilmesinden daha fazla bilgi sağladığı bulunmuştur. Prognostik biyolojik belirteçler olarak, miRNA'lar bir hastalığın gidişatının tahminini sağlar. Son olarak, öngörücü biyolojik belirteç olarak, hastaların tedaviden elde edebilecekleri faydanın değerlendirilmesi ve izlenmesine izin verir. MiRNA profillerine dayanarak radyoterapi ve kemoterapi tedavilerinde tedaviye cevabın değerlendirilmesinde fikir

verir. MiRNA'lardaki dizi ve ekspresyon değişimleri mRNA düzenlenmesinin bozulması ile ilişkili olduğundan bu tür bir ilişkinin tespit edilmesi düzensizliğin gen susturulması gibi gen tedavisi yaklaşımlarına ışık tutmasını sağlayabilir (78).

GEREÇ YÖNTEM

Aşırı aktif mesane tanısı almış hastalarda , AAM ve miRNA ilişkisinin araştırıldığı bu çalışma; Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 26/06/2018 tarih 13 sayılı onayını takiben, Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Üroloji polikliniğinde randomize seçilmiş 60 hasta ve ailesinde aşırı aktif mesane öyküsü bulunmayan sağlıklı 60 gönüllü olmak üzere 18-85 yaş arası 120 kişi üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” ile yapılacaklar hakkında bilgi verildi ve gönüllü olduklarına ilişkin imzaları alındı.

Hasta grubu günlük bir veya birden fazla sıkışma şikayetlerini içeren aşırı aktif mesane tanısı alan hastalardan seçilmiştir. Tüm hastalara 3 günlük işeme günlüğü uygulanmış sonuçları kaydedilmiştir. Nörojen mesaneli, mesane çıkım tıkanıklığı ve taş, tümör gibi üriner sistem hastalıkları veya enfeksiyonu olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. AAM semptomları ile birlikte AAM semptom skoru >8 olan ve İdiyopatik AAM tanısı konulan 18 yaş üstü 60 kadın hasta çalışmaya dahil edildi. Hasta grubuna, hastalık derecesini belirlemek için türkçe valide edilmiş AAM formu (EK-1) uygulandı. Doldurulan formlardan AAM semptom skorları hesaplandı.

Hastalar ayırıcı tanı için muayene edilerek, üriner ultrasonografi yapılarak kesin tanı sonrasında çalışmaya dahil edilmiştir. İdrar tetkiki, idrar kültürü, serum kreatinini, serum crp düzeyleri ölçülerek AAM ayırıcı tanısı doğrulanmıştır. Ayrıca tüm hastalara türkçe valide edilmiş AAM sorgu formu doldurulmuştur. Hasta gruba mevcut kılavuzlarda AAM tedavisi için A derecesinden önerilen standart medikal tedavilerden biri olan solifenasin 5 mg standart dozlarda verildi. İdrar örnekleri tedavi öncesi ve tedavi başlangıcından sonraki 1. ayda orta akım idrarı olarak alındı. Beraberinde alt üriner sistem fonksiyonlarını etkileyecek ilaç kullananlar çalışma dışı bırakılmıştır.

Kullanılan Cihazlar:

- Masa üstü santrifüj (NF 1215, Nüve, Türkiye)
- Masa üstü mikrosantrifüj (1-14K, Sigma, Almanya)
- -20 °C derin dondurucu (Vestel, Türkiye)
- -80 °C derin dondurucu (FR 490 Nüve, Türkiye)
- +4 °C buzdolabı (Vestel, Türkiye)
- Nükleik asit saflık tayin edici (Nano, Maestrogen, Tayvan)
- Bio-Rad CFX96 qPCR (Bio-Rad, ABD)

Kullanılan Sarf Malzemeleri

- EDTA'lı kan alma tüpleri (BD Diagnostics, ABD)
- Ayarlanabilir otomatik pipet seti (1-10 µL, 0,2-2 µL, 2-20 µL 20-200 µL, 100-1000 µL) (Thermo Scientific, ABD)
- 0,5-10 µL, 10-200 µL, 100-1000 µL'lik pipet uçları (ISOLAB, Almanya)
- 0,2 mL ve 1,5 mL'lik Eppendorf mikro tüpler (ISOLAB, Almanya)
- 96'lık PCR plate (Mingji, China)
- Plate kaplayıcı seal (Qiagen, ABD)
- İsoopropanol
- Etanol

Kullanılan Kitler

- miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit (Qiagen)
- miRCURY LNA RT Kit (Qiagen)
- Universal cDNA Synthesis Kit II (Qiagen)
- miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit (Qiagen)
- miRCURY (hsa-miR) primerleri

Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılardan 2 ml'lik EDTA'lı 2 tüpe, biri DNA izolasyonu diğeri RNA izolasyonu için kullanılmak üzere venöz tam kan alındı. Hasta ve kontrol gruplarından alınan venöz tam kanlardan bir tüpü DNA izolasyonu yapılana kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. RNA izolasyonu için alınan tüp $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 3000 g 'de 10 dk santrifüj edildikten sonra plazma kısmı 1,5 ml'lik steril ependorfa alındı. Ependorfa alınan plazma $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 16000 g 'de ikinci kez santrifüj edildi. Elde edilen plazmalar RNA izolasyonu yapılana kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

Ekspresyon Analizi Yapılacak MiRNA Seçimi:

Mesane kontraksiyonları muskarinik reseptör ailesinden , esas olarak M3 reseptör alt grubunun daha etkin olduğu muskarinik parasempatik (kolinerjik) reseptörler tarafından kontrol edilir. Kolinerjik yolda, esas nörotransmitter olan asetilkolinin salgılanmasından, aktin-miyozinin gevşemesine kadar birçok protein görev alır. Guanin nükleotid değiştirici faktörler (GEF) ve Rho ilişkili kinaz (ROK/ROCK) proteinleri de işleme fizyolojisindeki kolinerjik yolda yer alan önemli proteinlerdendir. Bu proteinlerin işlevsel bozuklukları düz kasta aşırı kasılmaya sebep olmaktadır (79). Mesane düz kasının gevşemesi $\beta 3$ alt tipinin esas rol aldığı adrenerjik reseptörler tarafından kontrol edilir (80) (81) (82) . Bu reseptörün hipofonksiyonu mesane detrüör kasının gevşemesinin bozulmasına ve idrar yollarında fonksiyon bozukluğuna sebep olur. Bu yolağın araştırılması için yapılan çalışmalarda $\beta 3$ reseptörünü kodlayan ADRB3 geninde rs4994 (T/C) polimorfizmi saptanmış ve bazı çalışmalarda AAM'li hastalarda idrar yollarındaki fonksiyon bozukluğu bu adrenerjik reseptör gen polimorfizmi ile ilişkilendirilmiştir (81) (83) (84, 85). AAM fizyopatolojisinde görevli bu önemli gen ve proteinlerin düzenlenmesinde etkili

miRNA lar araştırıldı. AAM hastalarında yapılan miRNA çalışmaları sınırlı sayıda olduğundan, ADRB3, ARHGEF10, ROCK2 gen bölgelerini hedef alan miRNA'lar targetscan, mirtarbase, microrna.org ve mirDB veri tabanlarında tarandı ve yüksek skora sahip en az dört veri tabanında da bulunan, bu genlerle ilişkisi en yüksek düzeyde olabilecek 15 miRNA seçildi. ADRB3 gen bölgesi için hsa-let-7a-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7g-5p; ROCK2 gen bölgesi için hsa-miR-138-5p, hsa-miR-135b-5p, hsa-miR-300, hsa-miR-381-3p, hsa-miR-200b-3p; ARHGEF10 gen bölgesi için hsa-miR-520d-3p, hsa-miR-520e, hsa-miR-520a-3p, hsa-miR-373-5p, hsa-miR-372-3p seçildiler.

Mirna Ekspresyon Analizi: miRNA'ların ekspresyon analizleri Bio-Rad CFX96 qPCR cihazında (Bio-Rad, ABD) gerçekleştirildi. Syber Green (miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit, Qiagen) ile işaretlenmiş cDNA dizisine analiz edilecek miRNA primerleri bağlanması sonucunda cihaz tarafından syber green boyasının floresan ışımaya miktarı saptanması ile gerçekleştirildi. RNA primerleri olarak miRCURY LNATM miRNA PCR Assays kullanıldı. Reaksiyon koşulları; 5 µL 2X miRCURY SYBR Green Master Mix, 0,5 µL ROX referans boyası, 1 µL primer mix, 3 µL cDNA (1/30 dilüsyonlu), 0,5 µL RNaz free water şeklinde gerçekleştirildi. PCR şartları; 95°C'de 10 dakika 1 döngü, (95°C'de 10 saniye / 60°C'de 10 saniye) 40 döngü şeklinde kuruldu ve en son 55°C-90°C arası 0,1°C hassasiyette melting curve analizi yapıldı. Normalizasyon için hsa-miR-30e-5p kullanıldı.

Tüm hasta ve kontrol grubundaki sağlıklı gönüllülerden biyokimya tüpüne alınan venöz tam kan örneklerinden RNA izolasyonu ilgili ticari kit protokolüne göre yapılmıştır. RNA izolasyonundan sonra, RT-PCR yöntemi ile miRNA ekspresyon tayini gerçekleştirilmiştir. Literatürde daha önce AAM'li hastalarda miRNA çalışması az olduğu için RT-PCR ile çalışılacak miRNA'lar, ADRB3, ARHGEF10, ROCK2 gen bölgelerini hedef alan miRNA'lar olarak, targetscan, mirtarbase, microrna.org, dianatools ve mirDB veri tabanlarında tarandı ve yüksek skora sahip, hedefleri belirtilen genler olabilecek, tüm sonuçlar içinden en az dört veri tabanında da bulunan, bu genlerle ilişkisi en yüksek düzeyde olabileceği kabul edilebilecek 15 miRNA seçildi. ADRB3 gen bölgesi için hsa-let-7a-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7g-5p; ROCK2 gen bölgesi için hsa-miR-138-5p, hsa-miR-135b-5p,

hsa-miR-300, hsa-miR-381-3p, hsa-miR-200b-3p; ARHGEF10 gen bölgesi için hsa-miR-520d-3p, hsa-miR-520e, hsa-miR-520a-3p, hsa-miR-373, hsa-miR-372 şeklindedir.

Analizlerin sonunda ekspresyonu tespit edilebilen her miRNA için birer Ct (cycle threshold/eşik siklus=oluşan her logaritmik eğride, miRNA ekspresyon miktarının eşik değeri geçtiği ilk siklus sayısı) değeri elde edildi. Tüm örneklerde her gen için ayrı ayrı Δct (Δct = ilgili genin Ct değeri- normalizatör genin Ct değeri) değeri hesaplandı. $2^{-\Delta ct}$ formülü kullanılarak göreceli miRNA ekspresyon değerleri hesaplandı. Hasta ve kontrol grubuna ait sonuçlar medyan $2^{-\Delta ct}$ değerleri oranlanarak kat değişimi şeklinde verildi(86) Medyan normolizasyon ve logaritmik dönüşümün ortalaması alınarak verilerin önceden işlenmesi en sık kullanılan miRNA normalleştirme yaklaşımıdır (87)+.

İstatistiksel Analiz: Gruplar arasında elde edilebilecek olan etki büyüklüğünün orta derece ($d=0.5$) olabileceği varsayılarak yapılan güç analizi sonucunda çalışmaya en az 102 kişi alındığında (her grup için en az 51 kişi) %95 güvenle %80 güç elde edileceği hesaplanmıştır. Çalışmaya her bir grupta 60 kişi olacak şekilde katılım sağlanmıştır. Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Parametrik test varsayımlarını sağlamadığı için çalışmada bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir. Ayrıca genetik yatkınlıkların gruplar arasındaki ilişkisini araştırmak amacıyla Multidimensional scaling model testi ile yatkınlık parabolü çıkarılmıştır. Değişkenlerin tanısal performans incelemesi için ROC analizi yöntemi kullanıldı. ROC analizi ile değişkenler için uygun kestirim noktaları, duyarlılık ve özgüllük değerleri kestirim sapmaları incelendi. Tüm analizlerde $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 60 AAM hastası hasta grubu olarak ve 60 sağlıklı gönüllü kontrol grubu olarak dahil edildi. Hasta grubunda yaş ortalaması 56,48 kontrol grubunda ise 55,82 olarak bulundu. Boy ortalaması hasta grubunda 156,67 cm, kontrol grubunda 158,78 cm olduğu görüldü. Hasta grubun ortalama kilo değeri 73,97 kg iken kontrol grubunun ki 72,07 kg idi. Vücut Kitle İndeksi - Body Mass İndex (BMI) ortalama değerleri hasta grupta 30,04 kontrol grubunda 28,58 olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol grubu incelendiğinde her iki grup arasında yaş, boy, kilo, BMI açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 1).

Tablo 1. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

	Hasta Grubu (n=60)		Kontrol Grubu (n=60)		p
	Ort. ± S.S.	Med (min- maks)	Ort. ± S.S.	Med (min- maks)	
Boy	156,67 ± 6,26	155,5 (139- 170)	158,78 ± 6,74	160 (140- 172)	0,079
Kilo	73,97 ± 16,4	73,5 (40- 125)	72,02 ± 13,01	70 (50- 112)	0,472
BMI	30,04 ± 6,17	30,28 (17,78- 45,91)	28,58 ± 5,05	28,11 (19,2- 43,75)	0,101
Yaş	56,48 ± 15,08	60 (23- 83)	55,82 ± 11,83	58,5 (27- 76)	0,567

AAM sorgulama formu, hastalığın şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan bir formdur. Hastalığın şiddetinin yanında tedavi başlanan hastalarda tedavi öncesi ve sonrasını karşılaştırmak için de kullanılmaktadır. 1 aylık tedavi öncesinde AAM skoru hasta grubunda 29,15 iken tedavi sonrasında 21,3'e düşmüştür.

Tablo 2. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrasına Göre AAM Skoru Değişimi

	tedavi öncesi		tedavi sonrası		p
	A.O ± S.S	Med (min - maks)	A.O ± S.S	Med (min - maks)	
AAM Skoru	29,15 ± 8,72	30 (8 - 40)	21,3 ± 9,39	21 (2 - 40)	0.0001*

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası idrar kaçırma varlığına göre değerlendirilmesinde tedavi öncesinde ıslaklık gözlemlenen 54 hastadan 36 hasta idrar kaçırmaya devam ettiğini, 18'i ise tedavi sonrası idrar kaçırma olmadığını bildirdi. Tedavi öncesinde idrar kaçırmaması olmayan ve ıslaklık tariflemeyen 6 hastada da tedavi sonrasında kuruluğun devam ettiği ve idrar kaçırma olmadığı gözlemlendi. Islaklık varlığı ile tedavi öncesi ile sonrasının karşılaştırıldığı bu çalışma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (p=0,0001).

Tablo 3. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrasına Göre Islaklık Durumu

	Islak	Kuru	P
Tedavi Öncesi	54	6	0,0001*
Tedavi Sonrası	36	24	

Hasta ve kontrol grubu miRNA ekspresyonları incelendiğinde hsa-let-7a-5p (6,8 (0,02 - 97,68)), hsa-let-7c-5p (23,1 (0,31 - 259,57)), hsa-let-7e-5p (7,42 (0,34 - 44,08)), hsa-let-7f-5p (40,93 (0,03 - 484,38)) ve hsa-let-7g-5p (17,75 (0,44 - 855,13)) hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p=0,0001). Kontrol grubunda hsa-miR-300 (2,23 (0,14 - 11,63)), hsa-miR-381-3p (33,18 (5,16 - 446,39)), hsa-miR-373-5p (4,54 (0,02 - 61,18)), hsa-miR-372-3p (5,06 (0,1 - 49,77)), hsa-miR-520a-3p (0,7 (0,01 - 9,13)), miR-520d-3p (2,59 (0,03 - 72,86)) , hsa-miR-135b-5p (0,36 (0,04 - 79,58)) ve hsa-miR-520e (3,27 (0,14 - 19,53)) median ile hasta grubuna göre istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (p=0,0001). Hsa-miR-138-5p ve hsa-miR-200b-3p ekspresyonlarında gruplararası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi (p>0,05).

Tablo 4. AAM'li Hastalar ve Kontrol Grubunda MiRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$)

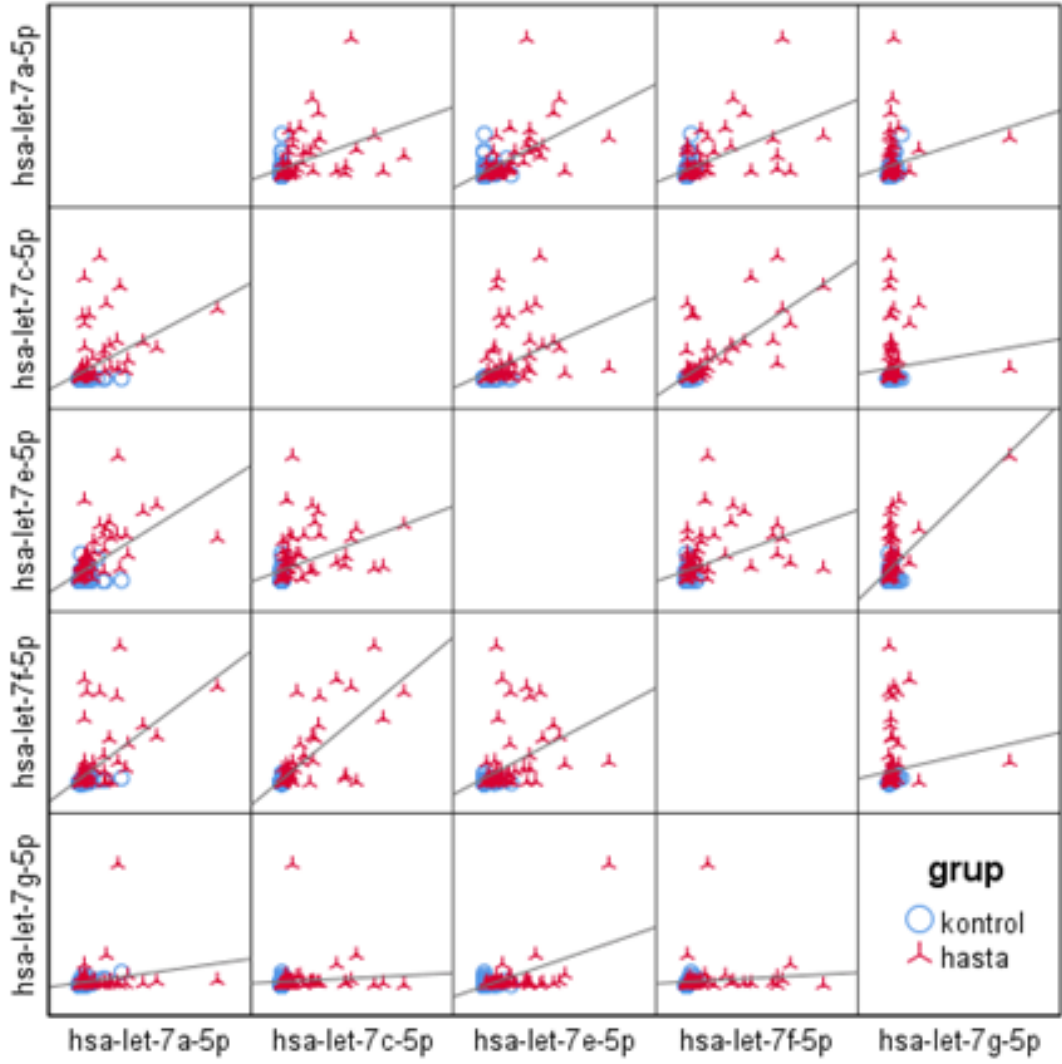
	Hasta Grubu (n=60)	Kontrol Grubu (n=60)	p
hsa-let-7a-5p	6,8 (0,02- 97,68) (n=58)	1,96 (0,11- 78,25) (n=60)	0,0001*
hsa-let-7c-5p	23,1 (0,31- 259,57) (n=55)	0,19 (0- 2,3) (n=57)	0,0001*
hsa-let-7e-5p	7,42 (0,34- 44,08) (n=54)	0,14 (0- 9,61) (n=58)	0,0001*
hsa-let-7f-5p	40,93 (0,03- 484,38) (n=54)	1,5 (0,13- 35,75) (n=58)	0,0001*
hsa-let-7g-5p	17,75 (0,44- 855,13) (n=55)	5,37 (0,12- 92,41) (n=56)	0,0001*
hsa-miR-135b-5p	0,24 (0,01- 14,32) (n=44)	0,36 (0,04- 79,58) (n=55)	0,049*
hsa-miR-138-5p	0,04 (0- 29,56) (n=17)	0,05 (0- 1,8) (n=11)	0,557
hsa-miR-200b-3p	0,04 (0- 0,97) (n=44)	0,07 (0- 1,24) (n=36)	0,157
hsa-miR-300	0,06 (0- 15,06) (n=22)	2,23 (0,14- 11,63) (n=45)	0,0001*
hsa-miR-381-3p	2,08 (0- 29,74) (n=54)	33,18 (5,16- 446,39) (n=58)	0,0001*
hsa-miR-373-5p	0,04 (0- 0,5) (n=51)	4,54 (0,02- 61,18) (n=58)	0,0001*
hsa-miR-372-3p	1,89 (0,02- 69,36) (n=57)	5,06 (0,1- 49,77) (n=59)	0,0001*
hsa-miR-520a-3p	0,13 (0- 5,42) (n=58)	0,7 (0,01- 9,13) (n=55)	0,0001*
miR-520d-3p	0,45 (0,02- 9,21) (n=58)	2,59 (0,03- 72,86) (n=58)	0,0001*
hsa-miR-520e	0,38 (0,01- 6,74) (n=58)	3,27 (0,14- 19,53) (n=57)	0,0001*

Tedavi sonrası AAM skorunda %50 ve üzeri azalma izlenen hastalardaki MiRNA seviyelerindeki değişim tabloda gösterilmiştir. (Tablo 5) Buna göre tedavi sonrası AAM skorunda %50 ve üstü bir azalmaya sahip olan hastalarla klinik olarak tedaviye yanıt vermeyen veya değişim oranı daha düşük olan hastalar arasındaki miRNA ekspresyonundaki değişiklikler , hsa-let-7f-5p (p=0,045) ve hsa-miR-135b-5p (p=0,036) için istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde farklı bulundu. Diğer miRNA ekspresyonlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (p>0,05).

Tablo 5. Hasta Grubuna Uygulanan Tedaviye Göre AAM Skorundaki %50 ve Üzeri Azalma ile MiRNA Seviyelerindeki Değişim

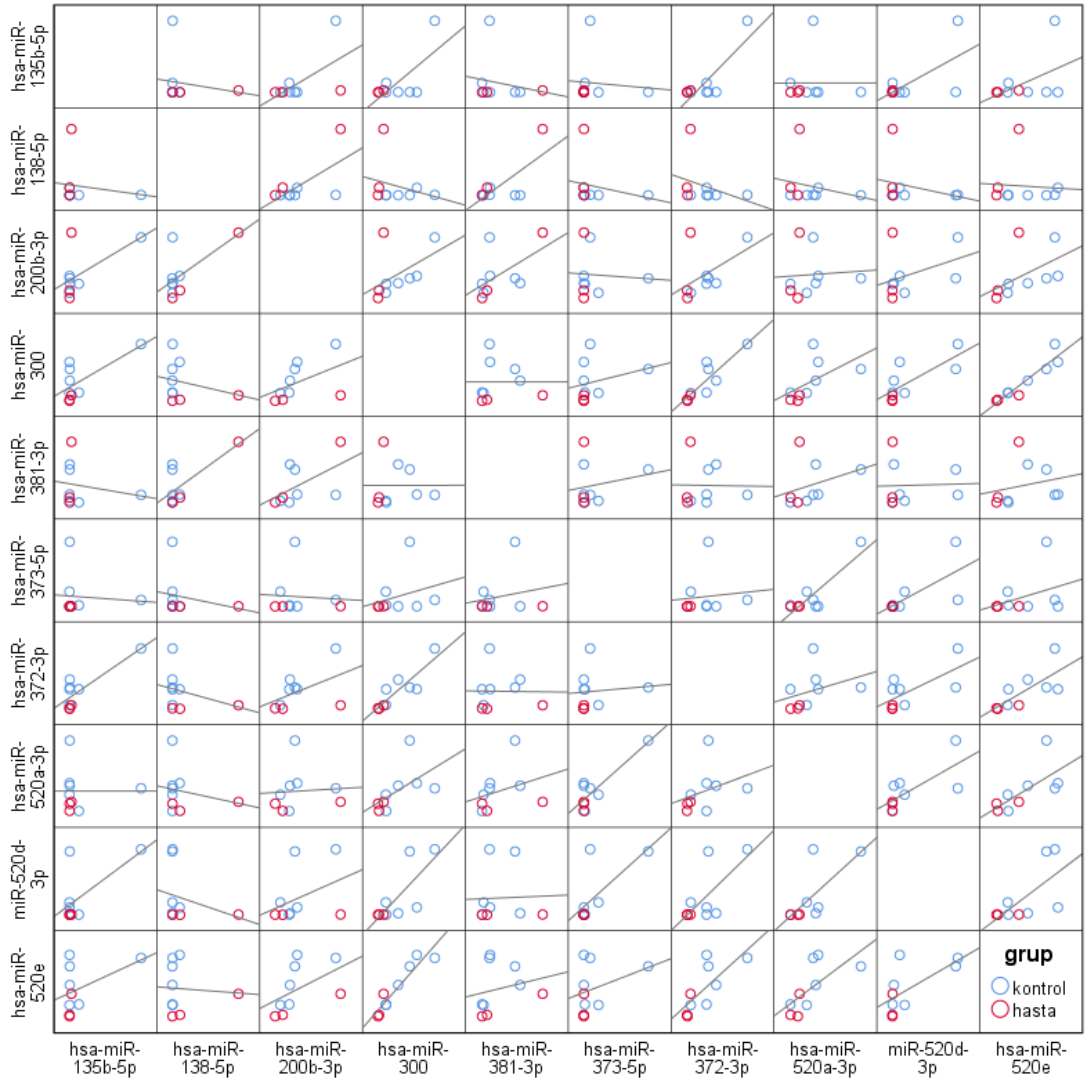
	Düzelme yok	Düzelme var	Gruplar arası p
hsa-let-7a-5p	5,94 (0,02 - 97,68)	9,92 (0,72 - 76,64)	0,469 (z=-0,724)
hsa-let-7c-5p	19,84 (0,31 - 259,57)	36,29 (0,4 - 196,72)	0,948 (z=-0,065)
hsa-let-7e-5p	7,99 (0,34 - 44,08)	6,53 (1,02 - 35,51)	0,914 (z=-0,107)
hsa-let-7f-5p	32 (0,03 - 426,91)	147,86 (0,06 - 484,38)	0,045* (z=-2,004)
hsa-let-7g-5p	17,39 (0,44 - 855,13)	21 (4,69 - 148,06)	1 (z=0)
hsa-miR-135b-5p	0,3 (0,01 - 14,32)	0,06 (0,03 - 0,21)	0,036* (z=-2,086)
hsa-miR-138-5p	0,03 (0 - 29,56)	0,04 (0,01 - 0,07)	1 (z=0)
hsa-miR-200b-3p	0,04 (0 - 0,97)	0,04 (0,01 - 0,12)	0,687 (z=-0,426)
hsa-miR-300	0,06 (0 - 15,06)	0,03 (0,03 - 0,03)	0,455 (z=-1,025)
hsa-miR-372-3p	1,39 (0,02 - 69,36)	1,92 (0,5 - 6,28)	0,531 (z=-0,627)
hsa-miR-373-5p	0,04 (0 - 0,5)	0,03 (0,01 - 0,08)	0,618 (z=-0,498)
hsa-miR-381-3p	2,73 (0,02 - 29,74)	1,57 (0 - 3,8)	0,123 (z=-1,543)
hsa-miR-520a-3p	0,11 (0 - 5,42)	0,16 (0,01 - 2,27)	0,539 (z=-0,615)
miR-520d-3p	0,46 (0,03 - 9,21)	0,14 (0,02 - 4,99)	0,913 (z=-0,109)
hsa-miR-520e	0,38 (0,01 - 6,74)	0,47 (0,08 - 2,2)	0,929 (z=-0,089)

Hsa-let-7 ekspresyonlarının değerlendirilmesi şekil 2’de incelenmiştir. Buna göre gruplararası kırılım eğrisi en yüksek olan ilişki hsa-let-7g-5p ile hsa-let-7e-5p arasındadır. Hsa-let-7g-5p genomunda ise gruplararası dağılım eğrisi düşük düzeyde seyretmiştir.



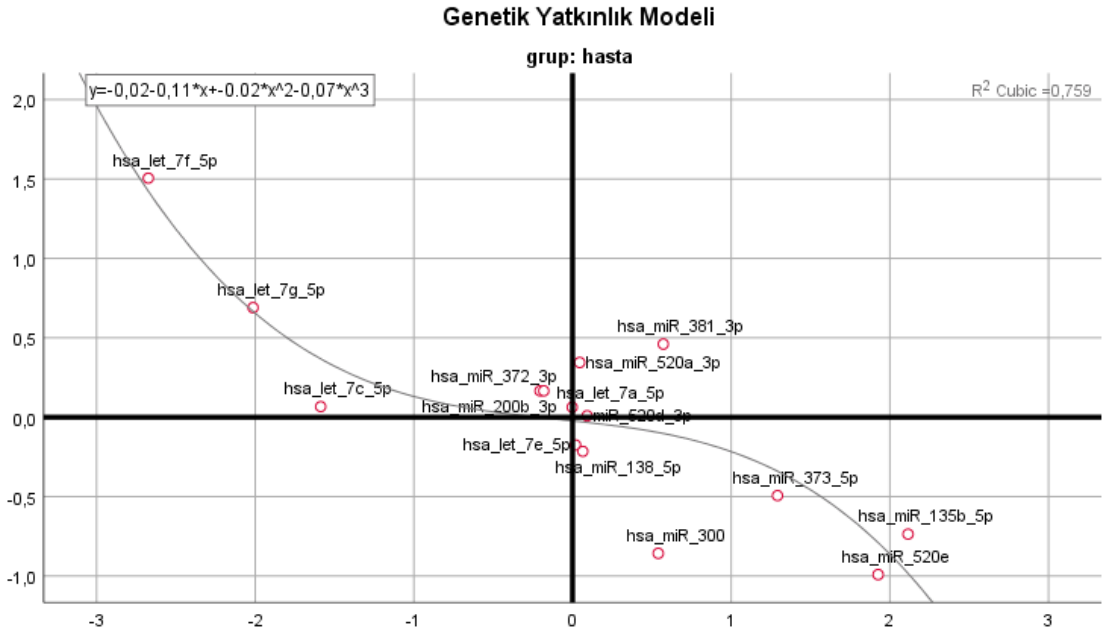
Şekil 2. Hsa-Let-7 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi

MiRNA ekspresyonlarının değerlendirilmesi şekil 3’de incelenmiştir. Buna göre gruplararası kırılım eğrisi en yüksek olan ilişki hsa-miR-300 ile hsa-miR-381-3p arasında ve miR-520d-3p ile hsa-miR-300 arasındadır. Hsa-miR-373-5p ile hsa-miR-381-3p genomlarında gruplararası dağılım eğrisi düşük düzeyde seyretmiştir.



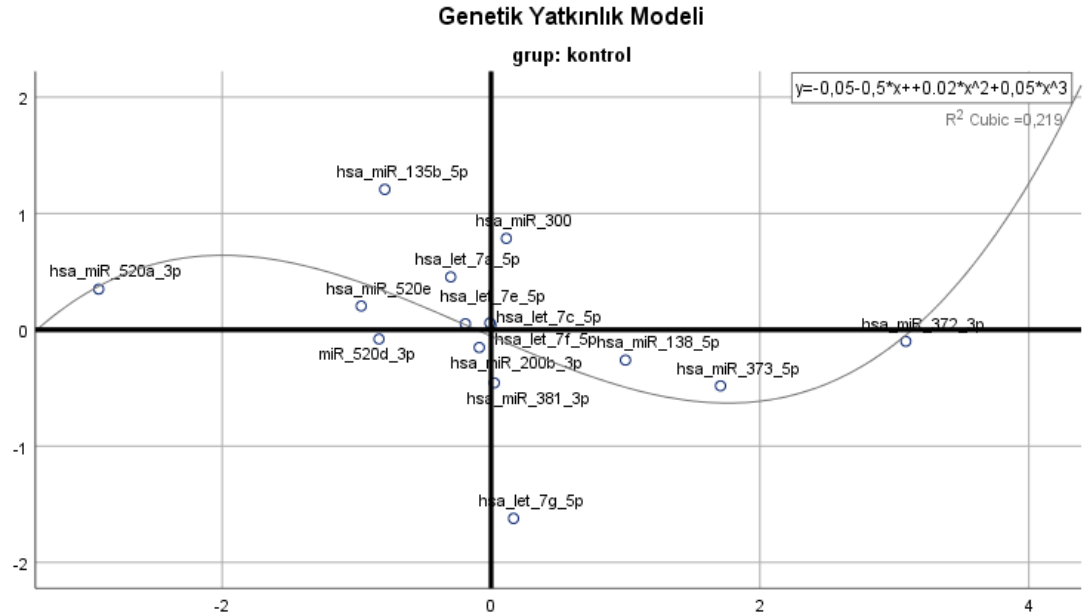
Şekil 3. miRNA Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi

Hasta grubunun genetik dağılım ve yatkınlık faktörlerinin incelenmesi şekil 4’ de verilmiştir. Buna göre hsa-let-7f-5p ve hsa-let-7g-5p kalıtsal farklılığı daha belirgin kılmaktadır.



Şekil 4. Hasta Grubunda miRNA Ekspresyonlarının Dağılım Grafiği

Kontrol grubunun genetik dağılım ve yatkinlık faktörlerinin incelenmesi şekil 5'te verilmiştir. Buna göre hsa-miR-381-3p, hsa-miR-373-5p ve hsa-let-7g-5p kalıtsal farklılığı daha belirgin kılmaktadır.



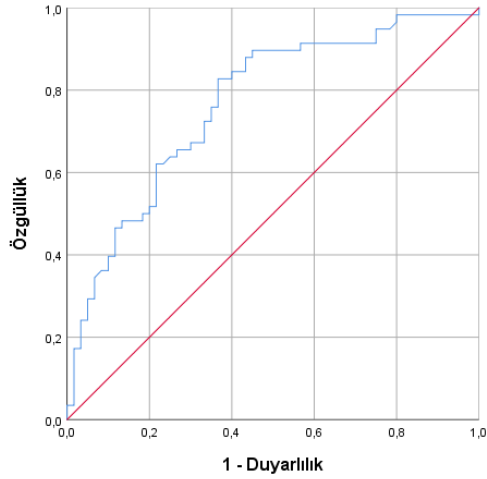
Şekil 5. Kontrol Grubunda miRNA Ekspresyonlarının Dağılım Grafiği

Gruplararası miRNA ekspresyonunun bulunduğu hastalarda hsa-miR-138-5p ve hsa-miR-200b-3p allelleri ile gruplararası korelasyon tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Hsa-miR-135b-5p ile gruplararası korelasyonda düşük seviyeli bir korelasyon bulundu. Diğer miRNA' lar ile gruplararası yüksek dereceli anlamlı bir korelasyon bulunmaktadır.

Tablo 6. MiRNA'ların ROC eğrilerine göre AUC ve p değerleri

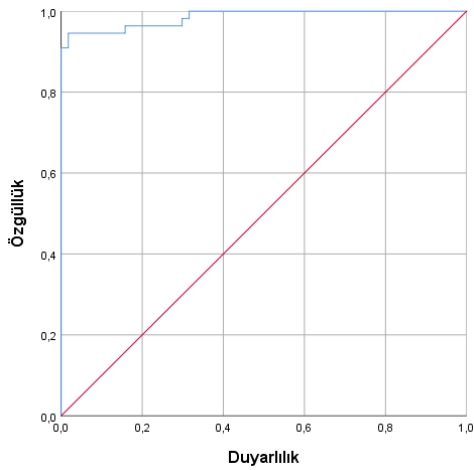
	AUC	STD.Hata	p	%95 G.A	
				alt	üst
hsa-let-7a-5p	0,767	0,044	0,0001*	0,681	0,852
hsa-let-7c-5p	0,985	0,009	0,0001*	0,968	1,000
hsa-let-7e-5p	0,939	0,021	0,0001*	0,899	0,980
hsa-let-7f-5p	0,876	0,035	0,0001*	0,808	0,944
hsa-let-7g-5p	0,714	0,049	0,0001*	0,618	0,811
hsa-miR-135b-5p	0,615	0,058	0,049*	0,503	0,728
hsa-miR-138-5p	0,433	0,117	0,557	0,203	0,663
hsa-miR-200b-3p	0,592	0,066	0,157	0,464	0,721
hsa-miR-300	0,912	0,048	0,0001*	0,818	1,000
hsa-miR-372-3p	0,709	0,048	0,0001*	0,615	0,803
hsa-miR-373-5p	0,880	0,032	0,0001*	0,818	0,942
hsa-miR-381-3p	0,954	0,017	0,0001*	0,921	0,987
hsa-miR-520a-3p	0,727	0,047	0,0001*	0,634	0,820
hsa-miR-520d-3p	0,789	0,042	0,0001*	0,706	0,872
hsa-miR-520e	0,861	0,034	0,0001*	0,794	0,928

Hsa-let7a-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,765 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,681 – 0,852; p=0,0001) ve kestirim değeri olan >2,713208655 de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 82,76 ve % 63,33 idi.



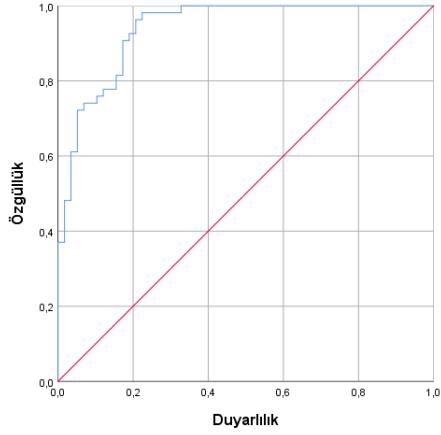
Şekil 6. let7a-5p eğrisi

Hsa- let7c-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,985 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,968 – 1,000; p=0,0001) ve kestirim değeri olan >2,070529848 de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla 94,55 ve 98,25 idi.



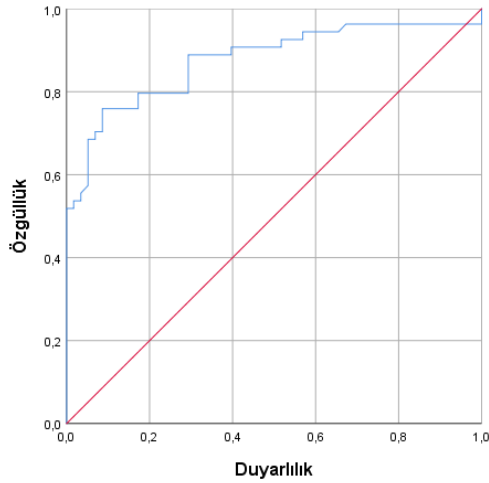
Şekil 7. let7c-5p eğrisi

Hsa- let7e-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,939 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,899 – 0,980; p=0,0001) ve kestirim değeri olan >0,835565418 de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla 98,15 ve 77,59 idi.



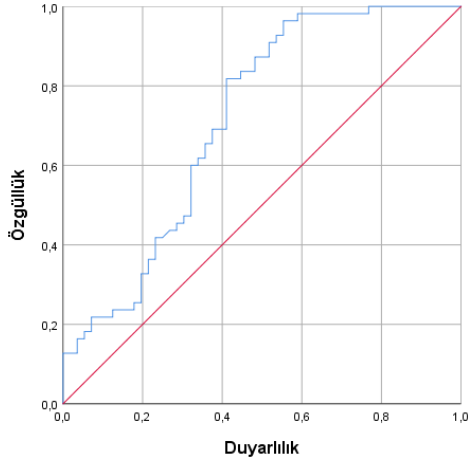
Şekil 8. let7e-5p eğrisi

Hsa- let7f-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,876 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,808 – 0,944; p=0,0001) ve kestirim değeri olan >11,71268557 de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 75,93 ve % 91,38 idi.



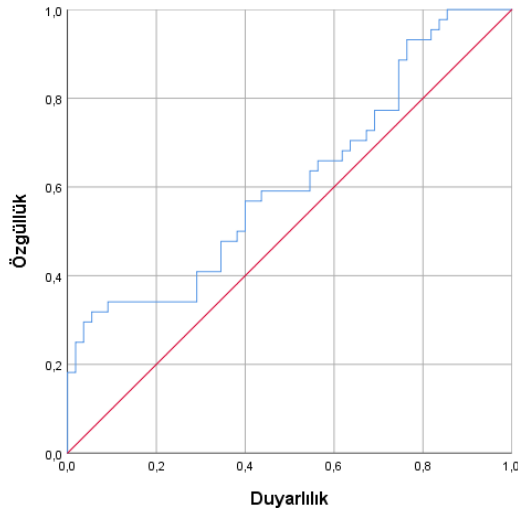
Şekil 9. let7f-5p eğrisi

Hsa- let7g-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,714 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,618 – 0,811; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $>2,0139111$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 96,36 ve % 44,64 idi.



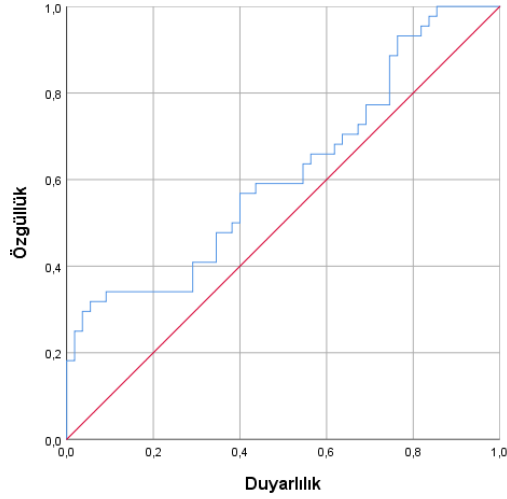
Şekil 10. let7g-5p eğrisi

Hsa- mir135b-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,615 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,503 – 0,728; p=0,049) ve kestirim değeri olan $\leq 0,062068281$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 31,82 ve % 94,55 idi.



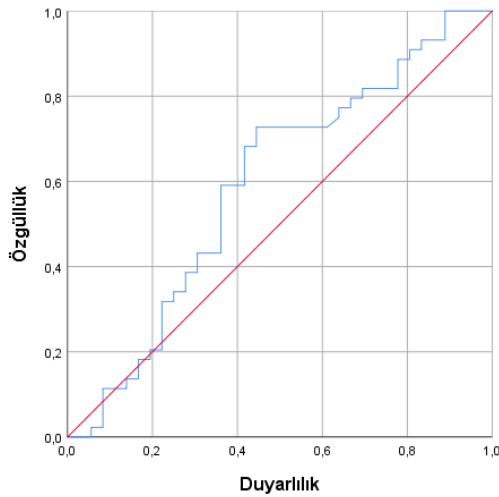
Şekil 11. mir135b-5p eğrisi

Hsa- mir138-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,433 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,203 – 0,663; p=0,557) ve kestirim değeri olan $>0,012090352$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 88,24 ve % 36,36 idi.



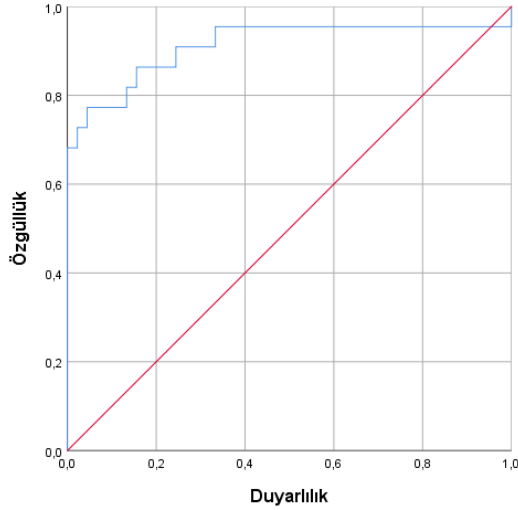
Şekil 12. mir138-5p eğrisi

Hsa- mir200b-3p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,592 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,464 – 0,721; p=0,464) ve kestirim değeri olan $\leq 0,06886907$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 72,73 ve % 55,56 idi.



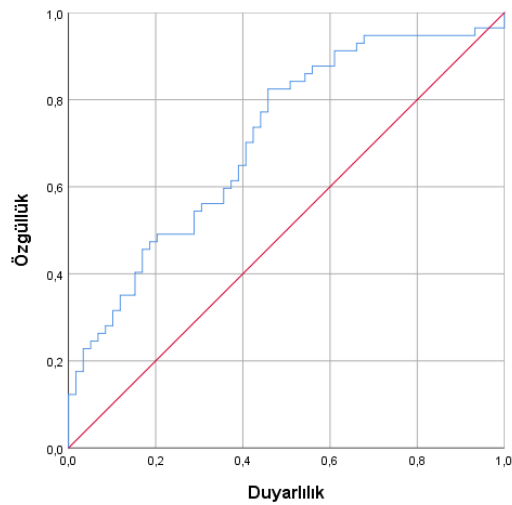
Şekil 13. mir200b-3p eğrisi

Hsa- mir300 için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,912 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,818 – 1,000; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 0,379495969$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 77,27 ve % 95,56 idi.



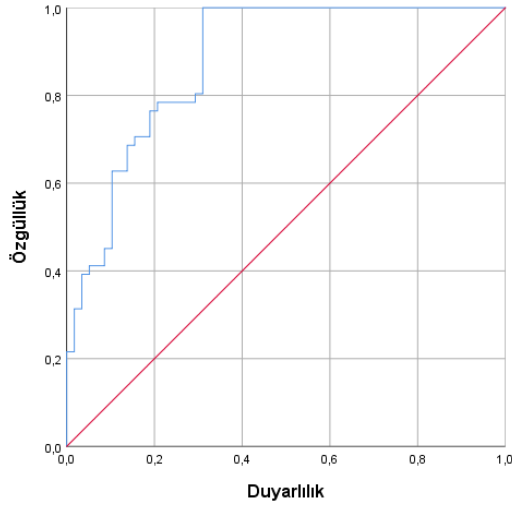
Şekil 14. mir300 eğrisi

Hsa- mir372-3p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,709 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,615 – 0,803; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 4,34693945$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 82,46 ve % 54,24 idi.



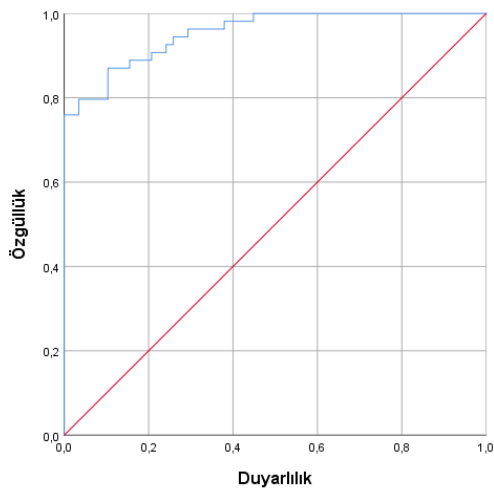
Şekil 15. mir372-3p eğrisi

Hsa- mir373-5p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,880 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,818 – 0,942; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 0,496667351$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 100,00 ve % 68,97 idi.



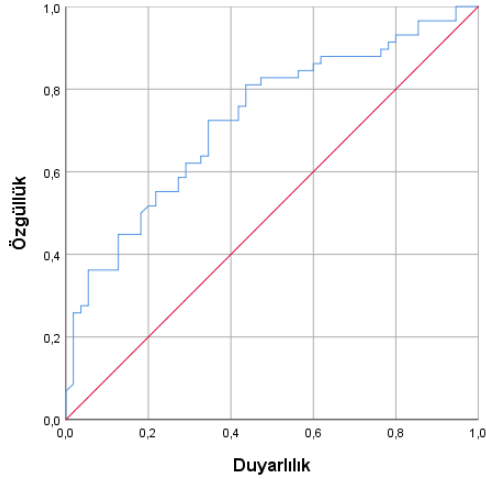
Şekil 16. mir373-5p eğrisi

Hsa- mir381-3p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,954 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,921 – 0,987; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 8,095362148$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 87,04 ve % 89,66 idi.



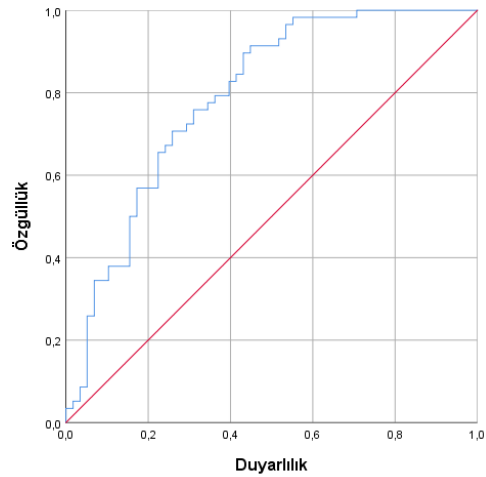
Şekil 17. mir381-3p eğrisi

Hsa- mir520a-3p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,727 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,634 – 0,820; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 0,454371664$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 72,41 ve % 65,45 idi.



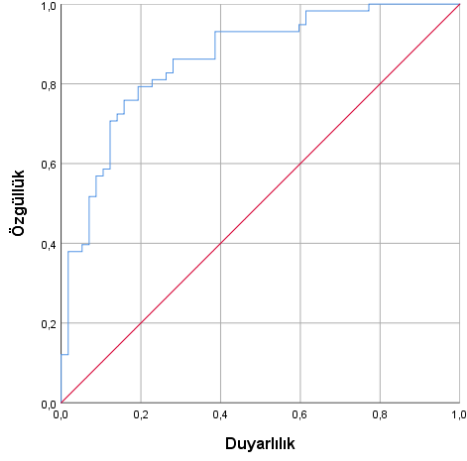
Şekil 18. mir520a-3p eğrisi

Hsa- mir520d-3p için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,789 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,706 – 0,872; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 2,056795838$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 89,66 ve % 56,90 idi.



Şekil 19. mir520d-3p eğrisi

Hsa- mir520e için AUC (Area Under Curve: ROC eğrisinin altında kalan alan)=0,861 (%95 Güven Aralığı (GA): 0,794– 0,928; p=0,0001) ve kestirim değeri olan $\leq 1,018949765$ de, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 75,86 ve % 84,21 idi.



Şekil 20. mir520e eğrisi

TARTIŞMA

AAM semptomlara dayalı, etyopatogenezi net olarak ortaya konulamamış bir hastalıktır. Semptoma dayalı olması nedeniyle tanısı subjektif ve zordur. Genellikle tanısı, aynı semptomlara neden olacak diğer hastalık, faktör ve ilaç kullanımlarının dışlanması ile doğrulanır. Tedavisinde günümüzde spesifik bir ajan bulunmamaktadır. Aynı zamanda AAM'de semptomları azaltmak için kullanılan ajanların yan etkilerinin fazla olması veya istenilen etkinin elde edilememesi nedeniyle, alternatif tedavi seçeneği sunmak amacıyla yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (88). İdrar biyokimyasal belirteçleri böylelikle ortaya atılmış ve birçok araştırmacı tarafından AAM tanısında, tanı testi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Nerve growth factor (NGF) ve Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) birçok çalışmada AAM olan hastalarda idrarda düzeylerinin belirgin artmış olduğu gösterilmiştir (89). AAM hastalarında idrar Glikozaminoglikan (GAG) düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (89). AAM hastalığının inflamatuvar bir süreç olduğu dolayısıyla inflamatuvar sitokinler üretebileceği hipotezi ile AAM'li hastalarda özellikle monosit kemotraktan protein 1'in (MCP-1) idrarda yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir (90, 91). Yine yapılan çalışmalar ile üriner ATP seviyelerinin artmış olduğu gösterilmiştir. Bu biyobelirteçlerin , AAM için spesifik olmayışı , unstabil olmaları , örneklerin analize kadar saklanması zorluğu ve maliyeti bazı dezavantajlarıdır (92). Bu yüzden klinik kullanımda AAM değerlendirmesinde rutin kullanıma girememişlerdir. Ayrıca bazı ajanların da tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde yeterli etkinliği ortaya konamamıştır.

Dolaşımdaki miRNA'lar kanda bol miktarda bulunmakla birlikte aynı zamanda oldukça kararlı bir yapı göstermektedirler. Yapılan çalışmalarda miRNA'ların başta kan olmak üzere çeşitli vücut sıvılarında bulunması, plazmada bulunan RNAaz'lara oldukça dirençli olması, kaynatma, yüksek/düşük pH, uzun süreli depolama, dondurup çözme gibi zor koşullara dayanıklılığı biyobelirteç olarak kullanılabilmesini düşündürmüştür. Ayrıca miRNA'ların formalin ile fikse edilmiş dokularda stabil kalması doku çalışmalarına da olanak vermiştir (93)

MiRNA'lar yaklaşık 20-22 nükleotid uzunluğunda, genlerin düzenlenmesinde post-transkripsiyonel aşamada görev alan, kodlanmayan RNA molekülleridir. miRNA'lar nükleusta sentezlendikten sonra sitoplazmaya aktarılarak, mRNA'ya bağlanıp, eşleşmenin düzeyine göre translasyonun baskılanması ya da mRNA'nın parçalanması yoluyla protein sentezini ve dolayısıyla gen ifadesini düzenleyen RNA molekülleridir(94). Çalışmamızdaki bulgular incelendiğinde hasta grupta adrenerjik yolakta görevli ADRB3 reseptör genini hedef alan miRNA düzeylerindeki yükseklik, hedef gen inhibisyonu sonucu AAM semptomlarını ortaya çıkarabileceğini düşündürmektedir. Yine hasta grupta , kolinerjik yolakta görevli ROCK2 ve ARGHEF10 genlerinin ekspresyonunu düzenleyen miRNA'ların seviyelerinde azalma kolinerjik yolak aktivasyonu ve AAM semptomlarının ortaya çıkması ile ilişkilendirilebilir. MiRNA'ların mesane ve prostat hastalıkları, kanser tanısı, tedavisi ve takibi ve prognoz tahmininde invaziv olmayan birer biyobelirteç olarak kullanılabilecekleri fikrini oluşturan ilk çalışmalar, 2008 yılında Lawrie vd. ile Mitchell vd. tarafından yapılan çalışmalardır(93, 95). Lawrie ve ark. yaptıkları çalışma ile diffuz büyük B hücreli lenfomada miR-21'in serumda yüksek düzeylerde bulunduğunu göstermişlerdir. Mitchell ve ark. ise PKa'da miR-141'in serumdaki seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, miRNA'ların oda ısısında 24 saat inkübasyon sonrası serumdaki seviyelerinin değişmediği, çoklu dondurma ve çözündürme reaksiyonlarına karşı dirençli oldukları ve bu özellikleri nedeniyle stabil bir biyobelirteç olabilecekleri belirtilmiştir (93, 95). AAM ve miRNA ilişkisi üzerine literatürde az çalışma olmakla birlikte , ülkemizde Fırat ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda ROCK2 , ARGHEF10 , ADRB3 gen bölgeleri için polimorfizm değerlendirmesi yapılmış , yine bu gen bölgeleri ile ilişkili 12 miRNA'nın ekspresyon seviyeleri ile AAM arasındaki ilişki araştırılmıştır (96).

MikroRNA 'lar (miR), gen regülasyonunda keşfedilen yüksek oranda çözündürme reaksiyonlarına karşı dirençli ve mikro düzeyde RNA sınıfıdır. Bu kodlanmayan RNA molekülleri, mRNA bozunmasını ve translasyonel baskıyı kolaylaştırmak için genlerin intronlarında, eksonlarında veya intrajenik bölgelerinde bulunabilir (97). Daha önceki çalışmalar, kimyasal olarak indüklenen mesane aşırı aktivitesinin nörotrofinlerin, nöronal gelişimde yer alan genlerin üst regülasyonunu ve nöral progenitör hücrelerin artan olgunlaşmasını içerdiğini göstermiştir (98, 99).

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada asetik asit maruziyetini takiben sıçan mesanesindeki enflamatuvar moleküllerin transkripsiyonel repertuarındaki değişikliklere miR ekspresyonundaki bozulmaların da eşlik ettiği gösterilmiştir (100).

Hsa-miR-98-5p ile yapılmış çalışmalarda miR-98 ailesinin kanserli hastalarda genel olarak ekspresyonunun azalması üzerinde durulmuştur. Wang ve ark. miR-98 ailesinin Dicer 1 enzimini kodlayan mRNA'nın 3'UTR bölgesini hedef alarak onun ekspresyonunu baskıladığı dolayısı ile miRNA sentezinde inhibitör etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (101). Matin ve ark. Prostat kanserli hastalarda hsa-miR-98-5p ekspresyonunun arttığını ve prostat kanserinin erken tanısında kullanılabilir yeni bir biyobelirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir (102).

Son yıllarda Dicer 1 ekspresyonu ile miRNA'ların mesane kasılmasının düzenlemesi üzerindeki rolünü izleyen çalışmalar artmıştır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada indüklenmiş düz kaslara özgü bir Dicer knock-out modeli ve mukoza içermeyen detrüör preparasyonlarından alınan örneklerde miR-145, miR-143, miR-22, miR-125b-5p ve miR-27a dahil olmak üzere miRNA seviyeleri ölçülmüş ve mesane aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (103). Başka bir çalışmada Dicer 1 ekspresyonunun baskılanması P₂X reseptörlerinin ekspresyonuna yol açması nedeniyle farelerde siklofosfamide bağlı mesane aşırı aktivitesini arttırmıştır(104).

Bizim çalışmamızda hasta grubunda miRNA ekspresyonları incelendiğinde, ADRB3 reseptör genini hedef alan hsa-let-7a-5p (6,8 (0,02 - 97,68)), hsa-let-7c-5p (23,1 (0,31 - 259,57)), hsa-let-7e-5p (7,42 (0,34 - 44,08)), hsa-let-7f-5p (40,93 (0,03 - 484,38)) ve hsa-let-7g-5p (17,75 (0,44 - 855,13)) aktivitesi sağlıklı kişilere göre anlamlı ölçüde yüksek olarak bulundu. Bulgular değerlendirildiğinde adrenerjik yolda görevli ADRB3 reseptör genini hedef alan miRNA düzeylerindeki yükseklik, hedef gen inhibisyonu sonucu AAM semptomlarını ortaya çıkarabileceği düşünüldü. Bu bağlamda AAM hastalarındaki ADRB3 reseptör aktivasyonundaki azalma, hasta grupta çalışılan miRNA seviyelerindeki anlamlı yükseklikle ilişkilendirilebilir. Kontrol grununda ise ROCK2 ve ARGHEF10 genini hedef alan hsa-135b-5p(0,36 (0,04 - 79,58)) hsa-miR-300 (2,23 (0,14 - 11,63)), hsa-miR-381-3p (33,18 (5,16 - 446,39)), hsa-miR-373-5p (4,54 (0,02 - 61,18)), hsa-miR-372-3p (5,06 (0,1 - 49,77)),

hsa-miR-520a-3p (0,7 (0,01 - 9,13)), miR-520d-3p (2,59 (0,03 - 72,86)) ve hsa-miR-520e (3,27 (0,14 - 19,53)) türlerinin aktivitesi hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. AAM hastalarında kolinerjik yolak üzerinde durulduğunda ise ROCK2 ve ARGHEF10 geninin ekspresyonunu düzenleyen miRNA'ların seviyelerinde azalma beklenir. Çalışmamızda beklendiği şekilde bu genlerde etkili miRNA seviyelerinin hasta grupta azalmış yani kontrol (sağlıklı) grupta yüksek bulunmuş olması hipotezi destekler şekildedir. Sonuçlar kolinerjik yolak aktivasyonu ve AAM semptomlarının ortaya çıkması ile ilişkilendirilebilir. Çalışmamızda kullandığımız miRNA ların, literatürde daha önce AAM li hastalarda çalışılmamış olması ve AAM li hastalarda miRNA seviyeleri üzerine az çalışma olması nedeni ile sonuçların bu hasta grubunda karşılaştırılmasını zorlaştırmıştır. Ancak yapılacak daha geniş hasta gruplu ve uzun takip süreli çalışmaların, AAM ile ilişkili bulduğumuz miRNA ların daha iyi anlaşılmasını sağlayacağını düşünüyoruz.

Let-7 miRNA ailesinin üyeleri, embriyogenez, nöronal gelişim ve glikoz metabolizması dahil olmak üzere çeşitli hücrel süreçler üzerinde fonksiyonel bir etkiye sahip oldukları için en çok çalışılan miRNA'lar arasındadır ([105-107](#)) mikroRNA düzeylerinde let-7 ailesi içinde değerlendiren genellikle nöroimmünolojik çalışmalar mevcuttur ([108](#)). Let-7 ailesindeki miRNA türleri kasların tutulumundan sorumlu olarak görülen çalışmalara göre başlanması durumunda odak bölgedeki kas seyrinin normalizasyonu sağlanılabilmektedir. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde hasta grubunda let-7 miRNA ailesinin yoğunluğu sağlıklı gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Hsa-let-7a-5p ,hsa-let-7c-5p , hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p ve hsa-let-7g-5p ile AAM ilişkisini araştıran çalışma olmamakla birlikte , Balasubramaniyan ve ark. yaptıkları bir çalışmada hsa-let-7a-5p nin ABCC2 / Abcc2 nin ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynadığını ve obstrüktif kolestazda anormal şekilde upregüle olduğu gösterilmiştir. ([109](#)). Li ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise hsa-let-7a-5p nin hyperoside ile birlikte sinerjistik etki göstererek , akciğer kanseri üzerinde anti kanser etki yaptığı ve akciğer kanseri tedavisi için yeni bir fikir olabileceği vurgulanmıştır

(110). Eijndhoven ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise hodking lenfoma tanılı hastalarda hsa-let-7a-5p nin de dahil olduğu birden fazla miRNA seviyesinin hastalık ile ilişkili olduğu sonucuna varılmış ve hodking lenfomalı hastaların kişiselleştirilmiş tedavi, takip ve nüks değerlendirilmesinde kullanılabileceği öngörülmüştür (111). Sandrim ve ark. gerçekleştirmiş olduğu çalışmada ise , TIMP-4 seviyelerinin sağlıklı gebeler ve preeklampsi hastalarındaki seviyeleri ile bunların klinik parametreler ve hsa-let-7a-5p seviyeleri arasındaki ilişki araştırılmış , hsa-let-7a-5p seviyeleri ile negatif ilişki bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (112). Ayoubian ve ark. yaptıkları bir çalışmada difüz büyük b hücreli lenfoma ve hsa-let-7c-5p nin dahil olduğu birden fazla miRNA ile ilişkisi araştırılmış , miRNA ların biyobelirteç olarak kullanılabileceği ve kişiselleştirilmiş hedefli tedavilerde hedef olarak görülebileceği öngörülmüştür (113). Zhu ve ark. hsa-let-7e-5p ile ilgili yapmış oldukları çalışmada iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde morfin aracılı kardioprotektif yöntemin etkinliği ile miRNA seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir , fakat anlamlı bir değişiklik bulamamışlardır (114). Bizim çalışmamızda let 7 ailesinden seçmiş olduğumuz miRNA seviyelerinin hasta grupta, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunması, hipotezimizi destekler şekilde olup, AAM semptomlarının oluşmasında etkili olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda ROCK2 gen bölgesi ile ilişkili olarak incelediğimiz miRNA lardan hsa-135b-5p , hsa-miR-300 , hsa-miR-381-3p ile AAM arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma olmamakla birlikte , hsa-135b-5p için Zhang ve ark. yapmış olduğu çalışmada , pankreatik kanser hastalarında artmış hsa-135b-5p seviyelerinin , NR3C2 yi hedef alarak , migrasyon , invazyon ve epitelyal-mezenkimal geçişi artırdığı bulunmuştur (115). Zhang ve ark. hsa-135b-5p üzerine yaptığı başka bir çalışmada doksurubisin dirençli meme kanseri hastalarında hsa-135b-5p nin azaldığı ve , hedefi olan AGR2 nin arttığı bulunmuş ve tedavi hedefi olarak ön plana çıkarılmıştır (116). Shao ve ark. yaptığı çalışmada hsa-135b-5p seviyelerinin gastrik kanserli hastalarda arttığı ve sisplatin direncinde etkili olduğunu göstermişlerdir (117). Yan ve ark. mir-300 ile ilgili yaptıkları çalışmada, SP1/MMP9 yolunu düzenleyerek , mesane kanseri hücrelerinin migrasyonunu önlediğini keşfetmişlerdir (118). Mir-381-3p için yapılan çalışmalarda , Pan ve ark. meme kanserli hastalarda mir-381-3p inhibisyonunun , FLVCR-1 azalmasının tümör kısıtlayıcı etkilerini tersine çevirdiğini bulmuşlardır

(118). Zhao ve ark. mir-381-3p nin ,renal kanserli hastalarda apoptotik ve nekroptotik sinyal yollarına karşı gelen onkogenik miRNA olarak görev yaptığını ve renal kanser için biyobelirteç ve terapötik hedef olabileceği üzerinde durmuşlardır (119).

ARGHEF10 gen bölgesi ile ilişkili hsa-mir-520d-3p, hsa-mir520e, hsa-mir-520a-3p, hsa-mir373-5p ve hsa-mir-372-3p ve AAM arasındaki ilişkiyi araştıran literatür çalışması bulunmamıştır. Hsa-mir-520d-3p için yapılan çalışmalarda , Ren ve ark. overyan ve gastrik kanser için tümör süpresör olarak görev yaptığını ve meme kanseri hastalarında azalmış seviyelerde ölçtüklerini belirtmişlerdir (110). Xiang ve ark. ise hepatoselüler kanser hastalarında azalmış hsa-mir-520d-3p seviyeleri ve bu miRNA nın tedavi hedefi olarak kullanılabileceği üzerinde durmuşlardır (120). Li ve ark. yaptığı çalışmada hsa-mir-520d-3p nin azalmış seviyelerini , gastrik kanserli hastalarda , artmış tümör invazyonu , lenf nodu metastazı , artmış klinik evre ve azalmış sağkalım ile ilişkilendirmişlerdir (121). Yi ve ark. artmış hsa-mir-520e seviyelerini meme kanseri ile ilişkilendirirken (122) Qin ve ark. yaptığı çalışmada , küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda araştırdıkları miRNA lar içinde en kayda değer azalmanın hsa-mir-520e de olduğunu belirtmişlerdir (123). Hsa-mir-520a-3p için yapılan çalışmalarda , Li ve ark. azalmış seviyelerinin meme kanseri ile ilişkili olduğunu ve tedavi hedefi olarak değerlendirilebileceğini belirtirken (124) Zhang ve ark. ise aynı miRNA nın kolorektal kanserler için tümör süpresör rolünden bahsetmiş ve tedavi hedefi olarak değerlendirilebileceğini belirtmiştir (125). Yine yapılan çalışmalarda , Liu ve ark. , küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde hsa-mir-520a-3p seviyesinin azaldığını (117) Su ve ark. yaptığı çalışmada yine aynı miRNA nın gastrik kanserli hastalarda seviyelerinin azaldığını belirtmişler ve hsa-mir-520a-3p nin tümör süpresör etkisi üzerinde durmuşlardır (126). Yeon ve ark. yaptığı çalışmaya göre , AQTGTGKT peptid aracılığı ile mir-373-5p seviyesini artırarak , küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalarında kullanılan anti kanser ilaçlara duyarlılığı artırdığını belirtmişlerdir (127). Hsa-mir-372-3p ile ilgili yapılan çalışmalarda , Peng ve ark. yaptığı çalışmada , kolorektal kanserlerde mir-372-3p seviyesinin arttığı ve miRNA seviyesinin tümör büyüklüğü ve tümör faklılaşması ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir (128). Wang ve ark. yaptığı çalışmada ise mir-372-3p seviyelerinin akciğer squamöz hücreli karsinomunda arttığı ve baskılanmasının tümör büyümesi ve

metastaz kapasitesini geciktirdiğini belirtmişlerdir (129). Fan ve ark. yaptığı çalışmada, meme karsinomu dokularında miR-372-3p ekspresyonunun normal meme dokularından daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Çalışmada , korelasyon analizi miR-372-3p ekspresyonunun postoperatif sağkalım ile negatif korelasyon gösterdiği, ancak meme karsinomlu hastaların tümör boyutu ve evresi ile pozitif korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (130). Syring ve ark. yaptığı çalışmada ise , mir-372-3p seviyesinin testis germ hücreli tümör hastalarında , sağlıklı ve malign olmayan testis hastalıklarına göre arttığı tespit edilmiştir (131).

AAM semptom skoru, AAM semptomlarının tedaviyle ilgili değişikliklerini göstermeye yarar. Basitliği ve güvenilirliği nedeniyle, günlük klinik uygulamada semptom ve etkinlik değerlendirmesi için mesane günlüğüne bir alternatif olabilir (132). Biz de çalışmamızda 1 aylık tedavi sonrasında hastaları tekrar AAM semptom skorlaması yaparak değerlendirdik ve değişimler ile miRNA seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırdık. AAM semptom skorunda %50 ve üzerinde düzelmeye gözlenen hastalar ile klinik olarak tedaviye yanıt vermeyen veya değişim oranı daha düşük olan hastalar arasındaki miRNA ekspresyonundaki değişiklikleri, hsa-let-7f-5p (p=0,045) ve hsa-miR-135b-5p (p=0,036) için istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde farklı bulduk. Hsa-let-7f-5p nin belirgin düzelmeye gözlenen hasta grubunda, diğer gruba göre anlamlı şekilde yüksek olması, hsa-mir-135b-5p nin de anlamlı düzelmeye olan grupta daha düşük bulunması, AAM tanısı olarak tedavi başlanması planlanan hastalarda antikolinergik tedavinin başarısını öngörmek için kullanılabilir. Bu durum sayesinde gereksiz ilaç kullanımı önleneyeği gibi, hastaların yan etkilere maruz kalmasının da önüne geçilebilir. Ancak bu miRNA lar ile daha geniş hasta gruplu çalışmaların, tedavi sonrası alınacak örneklerde aynı miRNA ların çalışılarak değerlendirilmesi bulduğumuz sonuçların karşılaştırılmasını sağlayabilir ve AAM için tedavi algoritmasının değişmesini sağlayabilir.

Duyarlılık eğrisi olarak da bilinen ROC eğrisi, genellikle tanı testlerinin değerlendirme yöntemi olarak kabul edilir. Aynı zamanda değişkenlerin sensitivite ve spesivitesini yansıtan bir göstergedir. AUC değeri testin tanı amaçlı kullanılabilme potansiyeli ile orantılıdır (133). Günümüzde AAM tanısında en fazla kullanılan yöntem olan AAM semptom skoru için AUC değeri, Fei-Chi ve ark. son yaptıkları

çalışmada 0,842, Arbillaga ve ark.'nın çalışmasında da 0,78 olarak bulunmuştur ([134](#), [135](#)). AAM tanısı için kullanılması yönünde araştırılan diğer biyobelirteçlerle ilgili kabul edilebilir AUC değerleri Lopes ve ark. çalışmasında BDNF için 0,78, Suh ve ark. çalışmasında NGF için 0,741, Ramos ve ark. çalışmasında ATP için 0,741 bulunmuştur ([136](#), [137](#)). Bizim çalışmamızda ise AUC değeri en yüksek 4 miRNA olan hsa-let-7c-5p , hsa-let-7e-5p , hsa-mir-300 ve hsa-mir-381-3p nin AUC değerleri sırası ile 0,985 , 0,939 , 0,912 ve 0,954 şeklindedir. Bu sonuçlara göre belirtilen miRNA ların, diğer biyobelirteçler ve AAM skoruna göre AUC değerleri daha yüksektir ve tanısal yeterliliği daha fazla olarak değerlendirilebilir.

Son yıllarda yapılan tüm genom/fonksiyonel analiz çalışmaları insan genomunun yaygın olarak binlerce düzenleyici non-protein-coding RNA'lar (protein kodlamayan RNA) transkribe ettiğini ortaya koymuştur. Bunlar içerisinde özellikle miRNA'lar son 20 yıldır biyomedikal disiplinlerde tanı ve tedavi stratejisi geliştirilmesinde oldukça geniş bir ilgi odağı haline gelmiştir. MikroRNA'lar kısa non-protein-coding RNA moleküllerinin bir sınıfıdır. Yüksek kapasiteli genomik ve biyoinformatik tekniklerin geleneksel moleküler biyoloji teknikleri ve deney hayvanı çalışmaları ile bütünleşmesi ile mikroRNA araştırmaları, günümüzde elde edilen ön bulguların laboratuvarından kliniğe ve halk sağlığına aktarılmasında önemli bir yer tutmaktadır. MikroRNA'lar küçük olmalarına rağmen çeşitli hücrel süreçlerle ilişkili olan post-transkripsiyonel gen ekspresyonunun önemli düzenleyicileridir. Bu nedenle mikroRNA'larda meydana gelen alterasyonlar tanımlanan bir dizi hastalığın patolojisi ile ilişkilendirilmiştir. Günümüze kadar, insanda 5000'den fazla miRNA keşfedilmiş ve bunların çoğu kanser, viral hastalıklar, immünite ile ilişkili hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok yaygın insan hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. miRNA'ların yeni nesil biyobelirteç ve terapötik olma yolunda önemli potansiyelleri vardır ([138](#)). Çalışmamız için toplam 15 farklı miRNA türü ile AAM ilişkisi taranmıştır. Bu tarama sonunda AAM genetik faktörlerden kaynaklanan bir olgu olarak görülebilir. Yapılan bazı çalışmalar bu düşüncemizi desteklemektedir ([139-141](#))

Verilerimizin hastalarda antikolinergik tedavi sonrası alınan örneklerde miRNA ölçümleri ile değerlendirilmesi ve daha büyük örneklerle desteklenmesi

yararlı olacaktır. Özellikle AAM semptom skoru azalması ile ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı değişim bulunan iki miRNA nın (hsa-let-7f-5p ve hsa-mir135b-5p) daha geniş hasta gruplarında, tedavi öncesi ve sonrası bakılan miRNA seviyeleri ile birlikte değerlendirilmesi ve klinikle ilişkilendirilmesi AAM açısından medikal tedavi öncesi planlamayı değiştirebilir. Bu sayede AAM fizyopatolojisindeki kolinerjik, adrenerjik yolak ve bu yolaklardan bağımsız olası moleküler sinyal mekanizmaları aydınlatılabilecek ve antikolinerjik tedaviye yanıt veremeyeceği öngörülebilecek olan hastaların gereksiz antikolinerjik kullanımı ile bunların yan etkilerine maruz kalmalarının önüne geçilebilecek, kişiye özel daha özgül tedavi stratejilerinin ortaya çıkmasının, tedavi takibinde kullanılacak yeni biyobelirteçlerin keşfedilmesinin önü açılacaktır. Bu konuyla ilgili gelecekteki doğrulama adımları asemptomatik sağlıklı toplumda referans aralık belirlemeye kadar gidebilecektir. Ayrıca çalışmamızda tanısal değeri yüksek bulunan miRNA larla ilgili yapılacak daha geniş hasta gruplu çalışmalar, AAM tanısının daha objektif olmasına yardımcı olabilecektir. MiRNA'ları ve hedef genlerin bağlantılarını belirlemek hastalığın ilerleyişi, detrusörün patolojik olarak yeniden şekillenmesinin önlenmesi veya tersine çevrilmesi için yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesini amaçlayan transkripsiyonel araştırmalar üzerinde yüksek etkiye sahip olacaktır.

SONUÇ

1- Çalışmamızda adrenerjik reseptör geni ADRB3 ile ilişkili miRNA larda (hsa-let-7a-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7g-5p) hasta grubunda anlamlı şekilde yükseklik belirledik.

2- Artmış hsa-let-7a-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7g-5p miRNA seviyeleri, hedef genin çeşitli yollarla inhibisyonu ile AAM semptomlarının ortaya çıkmasına yol açabilir.

3- Çalışmamıza göre kolinerjik yolda görevli genler üzerinde etkili miRNA (hsa-miR-135b-5p, hsa-miR-300, hsa-miR-381-3p, hsa-miR-520d-3p, hsa-miR-520e, hsa-miR-520a-3p, hsa-miR-373, hsa-miR-372) seviyelerinin kontrol grubuna göre az ölçülmesi, hedef gen üzerindeki inhibisyon etkinin azalmasında ve AAM semptomlarının görülmesinde etkili olabilir.

4- Hedef gen ve miRNA lar arasındaki sinyal yollarının daha iyi anlaşılması spesifik tedavilerin bulunmasını sağlayabilir.

5- AAM skorunda %50 ve üzeri azalma olan grupta, ADRB3 reseptör geni ile ilişkili hsa-let-7f-5p nin diğer gruba göre daha yüksek olması ve ROCK2 gen bölgesi ile ilişkili miR-135b-5p nin diğer gruba göre daha düşük olması hangi hastaların tedaviden daha fazla fayda göreceği konusunda da klinisyene ışık tutabilir.

6- Hsa-let-7f-5p ve miR-135b-5p miRNA'larının klinikte kullanımı hastaların gereksiz antikolinerjik kullanımı ile bunların yan etkilerine maruz kalmalarının önüne geçebilir, kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin ortaya çıkmasının, tedavi takibinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçlerin keşfedilmesinin önünü açabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Haylen BT, De Ridder D, Freeman RM, Swift SE, Berghmans B, Lee J, et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. 2010;29(1):4-20.
2. Irwin DE, Kopp ZS, Agatep B, Milsom I, Abrams PJB. Worldwide prevalence estimates of lower urinary tract symptoms, overactive bladder, urinary incontinence and bladder outlet obstruction. 2011;108(7):1132-8.
3. Zumrutbas AE, Bozkurt AI, Tas E, Acar CI, Alkis O, Coban K, et al. Prevalence of lower urinary tract symptoms, overactive bladder and urinary incontinence in western Turkey: Results of a population-based survey. 2014;21(10):1027-33.
4. Odar İV. Anatomi ders kitabı: Hacettepe Taş Kiapçılık; 1986.
5. Gökmen F. Sistemik anatomi. 2003.
6. Anatomisi Y., Nobel Tıp Kitabevleri. Altıncı Baskı. 2003:226-36.
7. Dere F. Anatomi: ders kitabı: Okullar Pazarı Kitabevi; 1990.
8. Shah AP, Mevcha A, Wilby D, Alatsianos A, Hardman JC, Jacques S, et al. Continence and micturition: an anatomical basis. 2014;27(8):1275-83.
9. Sivrioğlu K. Bladder anatomy and physiology of micturition. 2005;51(Suppl A):A16-A8.
10. Yoshimura N, Chancellor MBJRiu. Neurophysiology of lower urinary tract function and dysfunction. 2003;5(Suppl 8):S3.
11. Fırat E. Aşırı aktif mesaneli hastalarda adrb3, arhgef10, rock2 gen polimorfizmlerinin ve bu genlerle ilgili mikrorna'ların klinik bulgular ile ilişkisi. 2018.
12. Alkis O, Zumrutbas AE, Toktas C, Aybek H, Aybek ZJN, urodynamics. The use of biomarkers in the diagnosis and treatment of overactive bladder: Can we predict the patients who will be resistant to treatment? 2017;36(2):390-3.
13. Tekin A. İşeme fiziyojisi ve işemenin nöral kontrolü.30(Suppl: 6):545-9.
14. Diokno AC, Sampsellem CM, Herzog AR, Raghunathan T, Hines S, Messer KL, et al. Prevention of urinary incontinence by behavioral modification program:

- a randomized, controlled trial among older women in the community. 2004;171(3):1165-71.
15. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. 2002;21(2):167-78.
 16. Elbadawi A, Yalla SV, Resnick N. Structural basis of geriatric voiding dysfunction. III. Detrusor overactivity. 1993;150(5 Part 2):1668-80.
 17. Coyne KS, Sexton CC, Bell JA, Thompson CL, Dmochowski R, Bavendam T, et al. The prevalence of lower urinary tract symptoms (LUTS) and overactive bladder (OAB) by racial/ethnic group and age: results from OAB-POLL. 2013;32(3):230-7.
 18. Stewart W, Van Rooyen J, Cundiff G, Abrams P, Herzog A, Corey R, et al. Prevalence and burden of overactive bladder in the United States. 2003;20(6):327-36.
 19. De Boer TA, Slieker-ten Hove MC, Burger CW, Vierhout MEJ. The prevalence and risk factors of overactive bladder symptoms and its relation to pelvic organ prolapse symptoms in a general female population. 2011;22(5):569-75.
 20. Kogan MI, Zacheval R, Özyurt C, Schäfer T, Christensen NJC. Epidemiology and impact of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms: results of the EPIC survey in Russia, Czech Republic, and Turkey. 2014;30(10):2119-30.
 21. Mostwin J. Pathophysiology: the varieties of bladder overactivity. 2002;60(5):22-6.
 22. Nitti VJC-WU. Urinary incontinence: epidemiology, pathophysiology, evaluation, and management overview. 2007:2046-78.
 23. Fall M, Geirsson G, Lindström SJN, urodynamics. Toward a new classification of overactive bladders. 1995;14(6):635-46.
 24. Yoshimura N, Yoshida O, Sasa M, Takaori SJN, Urodynamics. Dopamine D-1 receptor-mediated inhibition of micturition reflex by central dopamine from the substantia nigra. 1992;11(5):535-45.

25. KONTANI H, INOUE T, SAKAI T. Effects of apomorphine on urinary bladder motility in anesthetized rats. 1990;52(1):59-67.
26. De Groat W, nervous control of the urogenital system. Neurophysiology of micturition and modification in animal model of human disease. 1993;3:227-90.
27. WARWICK RT, Whiteside C, Arnold E, Bates C, Worth P, Milroy E, et al. A urodynamic view of prostatic obstruction and the results of prostatectomy. 1973;45(6):631-45.
28. Dixon J, Gilpin C, Gilpin S, Gosling J, Brading A, Speakman MJBjou. Sequential morphological changes in the pig detrusor in response to chronic partial urethral obstruction. 1989;64(4):385-90.
29. Harrison S, Hunnam G, Farman P, Ferguson D, Doyle PJBjou. Bladder instability and denervation in patients with bladder outflow obstruction. 1987;60(6):519-22.
30. Greenland JE, Brading A. The effect of bladder outflow obstruction on detrusor blood flow changes during the voiding cycle in conscious pigs. 2001;165(1):245-8.
31. Saito M, Yokoi K, Ohmura M, Kondo A. Effects of partial outflow obstruction on bladder contractility and blood flow to the detrusor: comparison between mild and severe obstruction. 1997;59(4):226-30.
32. Seki N, Karim O, Mostwin J. Changes in electrical properties of guinea pig smooth muscle membrane by experimental bladder outflow obstruction. 1992;262(5):F885-F91.
33. Steers WD, De Groat W. Effect of bladder outlet obstruction on micturition reflex pathways in the rat. 1988;140(4):864-71.
34. de Groat WCJU. A neurologic basis for the overactive bladder. 1997;50(6):36-52.
35. AYDOĞDU Ö, BURGU B. Alt Üriner Sistem Gelişimi, Fizyolojisi ve Nöroanatomisi. 2010;3(2):43-8.
36. Raizada V, Mittal R. Pelvic floor anatomy and applied physiology. 2008;37(3):493-509.

37. Gunnarsson M, Mattiasson AJSjou, Supplementum n. Circumvaginal surface electromyography in women with urinary incontinence and in healthy volunteers. 1994;157:89-95.
38. ÇELENAY ŞT, KARAASLAN Y, OSKAY K, KÜÇÜKDURMAZ F. Aşırı Aktif Mesaneli Kadınlarda Pelvik Taban Kas Kuvveti ile Mesane Semptom Ciddiyeti ve Kaygı Düzeyi Arasındaki İlişkisi.1(2):1-7.
39. Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, Reilly K, Kopp Z, Herschorn S, et al. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. 2006;50(6):1306-15.
40. Coyne KS, Sexton CC, Thompson CL, Milsom I, Irwin D, Kopp ZS, et al. The prevalence of lower urinary tract symptoms (LUTS) in the USA, the UK and Sweden: results from the Epidemiology of LUTS (EpiLUTS) study. 2009;104(3):352-60.
41. Wang Y, Xu K, Hu H, Zhang X, Wang X, Na Y, et al. Prevalence, risk factors, and impact on health related quality of life of overactive bladder in China. 2011;30(8):1448-55.
42. Salcedo FL, Borrego RS. Assessment of female prevalence of overactive bladder (OAB) in Barcelona using a self-administered screening questionnaire: the Cuestionario de Autoevaluación del Control de la Vejiga (CACV). 2013;24(9):1559-66.
43. Wyman JF, Burgio K, Newman DJIjocp. Practical aspects of lifestyle modifications and behavioural interventions in the treatment of overactive bladder and urgency urinary incontinence. 2009;63(8):1177-91.
44. Haslam J, Laycock J. Therapeutic management of incontinence and pelvic pain: pelvic organ disorders: Springer Science & Business Media; 2007.
45. Patterson AJNt. Behaviour change to treat overactive bladder syndrome. 2011;107(46):16, 8-9.
46. TARCAN T. Aşırı aktif mesane sendromu. 2005;1(5):49-55.
47. Milsom I, Altman D, Cartwright R, Lapitan M, Nelson R, Sillén U, et al. Epidemiology of urinary incontinence (UI) and other lower urinary tract symptoms (LUTS), pelvic organ prolapse (POP) and anal incontinence (AI).

Incontinence: 5th International Consultation on Incontinence, Paris, February 2012: ICUD-EAU; 2013. p. 15-107.

48. Çetin C, Edirne, Türkiye. Edirne ili merkezinde 20 yaş üstü popülasyonda üriner inkontinans prevalansı ve üriner inkontinansı etkileyen faktörler [Prevalence of urinary incontinence and risk factors in adult population aged over 20 years in edirne city][Uzmanlık Tezi]. 2010.
49. Özdurak RH. Exercise induced endocannabinoid and immune system alterations: Middle East Technical University; 2009.
50. Lugo Salcedo F, Sánchez Borrego RJUj. Assessment of female prevalence of overactive bladder (OAB) in Barcelona using a self-administered screening questionnaire: the Cuestionario de Autoevaluación del Control de la Vejiga (CACV). 2013;24(9).
51. Zhang W, Song Y, He X, Huang H, Xu B, Song JJN, et al. Prevalence and risk factors of overactive bladder syndrome in Fuzhou Chinese women. 2006;25(7):717-21.
52. McBride A, Surgery R. Pathophysiology of stress urinary incontinence. 2004;10(1):1-7.
53. Kocak I, Okyay P, Dundar M, Erol H, Beser EJEu. Female urinary incontinence in the west of Turkey: prevalence, risk factors and impact on quality of life. 2005;48(4):634-41.
54. Subak LL, Whitcomb E, Shen H, Saxton J, Vittinghoff E, Brown JSJTJou. Weight loss: a novel and effective treatment for urinary incontinence. 2005;174(1):190-5.
55. Subak LL, Wing R, West DS, Franklin F, Vittinghoff E, Creasman JM, et al. Weight loss to treat urinary incontinence in overweight and obese women. 2009;360(5):481-90.
56. Fırdolaş F, Penbegül N, Dağgüllü M. Aşırı Aktif Mesane Tedavisinde Konservatif Yaklaşımlar. 2010;1:27-31.
57. Spence-Jones C, Kamm MA, Henry MM, Hudson CJBAlJoO, Gynaecology. Bowel dysfunction: a pathogenic factor in uterovaginal prolapse and urinary stress incontinence. 1994;101(2):147-52.

58. Møller LA, Lose G, Jørgensen TJO, Gynecology. Risk factors for lower urinary tract symptoms in women 40 to 60 years of age. 2000;96(3):446-51.
59. Hald PJI. Epidemiology and natural history of urinary incontinence (UI), Economics of incontinence. 2002.
60. Abrams P, Andersson KE, Buccafusco JJ, Chapple C, De Groat WC, Fryer AD, et al. Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. 2006;148(5):565-78.
61. Hsiao SM, Lin HH, Kuo H, urodynamics. Factors associated with a better therapeutic effect of solifenacin in patients with overactive bladder syndrome. 2014;33(3):331-4.
62. Kelleher C, Hakimi Z, Zur R, Siddiqui E, Maman K, Aballéa S, et al. Efficacy and tolerability of mirabegron compared with antimuscarinic monotherapy or combination therapies for overactive bladder: a systematic review and network meta-analysis. 2018;74(3):324-33.
63. Osman NI, Chapple C. Overactive bladder syndrome: Current pathophysiological concepts and therapeutic approaches. 2013;11(4):313-8.
64. Marcelissen T, Cornu J-N, Antunes-Lopes T, Geavlete B, Delongchamps NB, Rashid T, et al. Management of idiopathic overactive bladder syndrome: what is the optimal strategy after failure of conservative treatment? 2018;4(5):760-7.
65. Yoshida M, Kato D, Nishimura T, Van Schyndle J, Uno S, Kimura T. Anticholinergic burden in the Japanese elderly population: use of antimuscarinic medications for overactive bladder patients. 2018;25(10):855-62.
66. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. 2010;101(11):2309-15.
67. Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. 2010;4(3):230-41.
68. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros VJc. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. 1993;75(5):843-54.
69. Garzon R, Fabbri M, Cimmino A, Calin GA, Croce CM, Timm. MicroRNA expression and function in cancer. 2006;12(12):580-7.

70. Igaz P. Circulating micrnas in disease diagnostics and their potential biological relevance: Springer; 2015.
71. Ghosh Z, Chakrabarti J, Mallick BJB, communications br. miRNomics—the bioinformatics of microRNA genes. 2007;363(1):6-11.
72. Elton TS, Martin MM, Sansom SE, Belevych AE, Györke S, Terentyev D. miRNAs got rhythm. 2011;88(9-10):373-83.
73. Becker C, Riedmaier I, Reiter M, Tichopad A, Pfaffl MW, Meyer HHJA. Changes in the miRNA profile under the influence of anabolic steroids in bovine liver. 2011;136(6):1204-9.
74. Rupaimoole R, Han H-D, Lopez-Berestein G, Sood A. MicroRNA therapeutics: principles, expectations, and challenges. 2011;30(6):368.
75. Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde EJC. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. 2008;132(1):9-14.
76. Shenouda SK, Alahari SKJC, reviews m. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? 2009;28(3-4):369.
77. Sun W, Julie Li Y-S, Huang H-D, Shyy JY, Chien S. microRNA: a master regulator of cellular processes for bioengineering systems. 2010;12:1-27.
78. Kavitha N, Vijayarathna S, Jothy SL, Oon CE, Chen Y, Kanwar JR, et al. MicroRNAs: biogenesis, roles for carcinogenesis and as potential biomarkers for cancer diagnosis and prognosis. 2014;15(18):7489-97.
79. Yoshimura N, Chancellor MB. Neurophysiology of lower urinary tract function and dysfunction. Reviews in urology. 2003;5 Suppl 8(Suppl 8):S3-s10.
80. Demirci DA, Canda A. Aşırı Aktif Mesanenin Patofizyolojisi. 2010;1:23-6.
81. Ferreira CE, Fonseca AM, Silva ID, Girão MJ, Sartori MG, Castro R, et al. The relationship between the Trp 64 Arg polymorphism of the beta 3–adrenoceptor gene and idiopathic overactive bladder. 2011;205(1):82. e10-82. e14.
82. Gurocak S, Konac E, Ure I, Senol C, Onen IH, Sozen S, et al. The impact of gene polymorphisms on the success of anticholinergic treatment in children with overactive bladder. 2015;2015.

83. Honda K, Yamaguchi O, Nomiya M, Shishido K, Ishibashi K, Takahashi N, et al. Association between polymorphism of beta3-adrenoceptor gene and overactive bladder. 2014;33(4):400-2.
84. Vrydag W, Alewijnse AE, Michel M. Do gene polymorphisms alone or in combination affect the function of human β 3-adrenoceptors? 2009;156(1):127-34.
85. Teitsma CA, de la Rosette JJ, Michel MC, urodynamics. Are polymorphisms of the β 3-adrenoceptor gene associated with an altered bladder function? 2013;32(3):276-80.
86. Keçeoğlu Çr, Gelbal S, Doğan N. Roc Eğrisi Yöntemi İle Kesme Puaninin Belirlenmesi.
87. Kimmel A, OLiver B. Methods in Enzymology: DNA Microarrays-Part B: Databases and Statistics. Vol. 411. Elsevier Science & Technology Books; 2006.
88. Aybek Z, Büyükalpelli R, Sarıkaya Ş, Yılmaz A, Yıldız S, Aşçı R. İzole rat mesane kası üzerine düz kas gevşetici ajanların etkileri. 1993;19:16-20.
89. Ghoniem G, Faruqui N, Elmissiry M, Mahdy A, Abdelwahab H, Oommen M, et al. Differential profile analysis of urinary cytokines in patients with overactive bladder. 2011;22(8):953-61.
90. Moore KL, Dalley AF, Agur AM. Clinically oriented anatomy: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
91. Moore KL, Dalley A. Upper limb. 1992;3:539-47.
92. Antunes-Lopes T, Cruz FJ. Urinary Biomarkers in Overactive Bladder: Revisiting the Evidence in 2019. 2019.
93. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. 2008;105(30):10513-8.
94. Peng Y, Croce C, therapy t. The role of MicroRNAs in human cancer. 2016;1(1):1-9.
95. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. 2008;141(5):672-5.

96. Firat E, Aybek Z, Akgün Ş, Küçüker K, Akça H, Aybek H, et al. Exploring biomarkers in the overactive bladder: Alterations in miRNA levels of a panel of genes in patients with OAB. 2019;38(6):1571-8.
97. Gheinani AH, Burkhard FC, Monastyrskaya KJC, sciences ml. Deciphering microRNA code in pain and inflammation: lessons from bladder pain syndrome. 2013;70(20):3773-89.
98. Saban MR, Hellmich HL, Turner M, Nguyen N-B, Vadigepalli R, Dyer DW, et al. The inflammatory and normal transcriptome of mouse bladder detrusor and mucosa. 2006;6(1):1.
99. Saban MR, Nguyen N-B, Hammond TG, Saban RJTAjop. Gene expression profiling of mouse bladder inflammatory responses to LPS, substance P, and antigen-stimulation. 2002;160(6):2095-110.
100. Kashyap M, Kawamorita N, Tyagi V, Sugino Y, Chancellor M, Yoshimura N, et al. Down-regulation of nerve growth factor expression in the bladder by antisense oligonucleotides as new treatment for overactive bladder. 2013;190(2):757-64.
101. Wang Y, Bao W, Liu Y, Wang S, Xu S, Li X, et al. miR-98-5p contributes to cisplatin resistance in epithelial ovarian cancer by suppressing miR-152 biogenesis via targeting Dicer1. 2018;9(5):1-17.
102. Matin F, Jeet V, Moya L, Selth LA, Chambers S, Clements JA, et al. A plasma biomarker panel of four microRNAs for the diagnosis of prostate cancer. 2018;8(1):1-15.
103. Sadegh MK, Ekman M, Rippe C, Uvelius B, Swärd K, Albinsson SJPo. Deletion of Dicer in smooth muscle affects voiding pattern and reduces detrusor contractility and neuroeffector transmission. 2012;7(4).
104. Zhang S, Lv J-W, Yang P, Yu Q, Pang J, Wang Z, et al. Loss of dicer exacerbates cyclophosphamide-induced bladder overactivity by enhancing purinergic signaling. 2012;181(3):937-46.
105. Gurtan AM, Ravi A, Rahl PB, Bosson AD, JnBaptiste CK, Bhutkar A, et al. Let-7 represses Nr6a1 and a mid-gestation developmental program in adult fibroblasts. 2013;27(8):941-54.

106. Patterson M, Gaeta X, Loo K, Edwards M, Smale S, Cinkornpumin J, et al. let-7 miRNAs can act through notch to regulate human gliogenesis. 2014;3(5):758-73.
107. Zhu H, Shyh-Chang N, Segrè AV, Shinoda G, Shah SP, Einhorn WS, et al. The Lin28/let-7 axis regulates glucose metabolism. 2011;147(1):81-94.
108. Punga T, Bartoccioni E, Lewandowska M, Damato V, Evoli A, Punga A. Disease specific enrichment of circulating let-7 family microRNA in MuSK+ myasthenia gravis. 2016;292:21-6.
109. Balasubramaniyan N, Devereaux MW, Orlicky DJ, Sokol RJ, Suchy FJ. Up-regulation of miR-let7a-5p Leads to Decreased Expression of ABCC2 in Obstructive Cholestasis. 2019;3(12):1674-86.
110. Ren Z, Yang T, Ding J, Liu W, Meng X, Zhang P, et al. MiR-520d-3p antitumor activity in human breast cancer via post-transcriptional regulation of spindle and kinetochore associated 2 expression. 2018;10(4):1097.
111. van Eijndhoven MA, Zijlstra JM, Groenewegen NJ, Drees EE, van Niele S, Baglio SR, et al. Plasma vesicle miRNAs for therapy response monitoring in Hodgkin lymphoma patients. 2016;1(19).
112. Sandrim VC, Diniz S, Eleuterio NM, Gomes KB, Duse LMS, Cavalli R, et al. Higher levels of circulating TIMP-4 in preeclampsia is strongly associated with clinical parameters and microRNA. 2018;40(7):609-12.
113. Ayoubian H, Ludwig N, Fehlmann T, Menegatti J, Gröger L, Anastasiadou E, et al. Epstein-Barr virus infection of cell lines derived from diffuse large B-cell lymphomas alters microRNA loading of the Ago2 complex. 2019;93(3):e01297-18.
114. Babjuk M, Burger M, Compérat E, Palou J, Rouprêt M, van Rhijn B, et al. Reply to Harry Herr's Letter to the Editor re: Marko Babjuk, Andreas Böhle, Maximilian Burger, et al. EAU Guidelines on Non-muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2016. *Eur Urol* 2017; 71: 447-61. 2017;71(6):e173.
115. Zhang Z, Che X, Yang N, Bai Z, Wu Y, Zhao L, et al. miR-135b-5p Promotes migration, invasion and EMT of pancreatic cancer cells by targeting NR3C2. 2017;96:1341-8.

116. Zhang Y, Xia F, Zhang F, Cui Y, Wang Q, Liu H, et al. miR-135b-5p enhances doxorubicin-sensitivity of breast cancer cells through targeting anterior gradient 2. 2019;38(1):26.
117. Liu Y, Lin X, Zhou S, Zhang P, Shao G, Yang Z. Long noncoding RNA HOXA-AS2 promotes non-small cell lung cancer progression by regulating miR-520a-3p. 2019;39(5).
118. Yan H, Li J, Ying Y, Xie H, Chen H, Xu X, et al. MIR-300 in the imprinted DLK1-DIO3 domain suppresses the migration of bladder cancer by regulating the SP1/MMP9 pathway. 2018;17(24):2790-801.
119. Zhao C, Zhou Y, Ran Q, Yao Y, Zhang H, Ju J, et al. MicroRNA-381-3p Functions as a Dual Suppressor of Apoptosis and Necroptosis and Promotes Proliferation of Renal Cancer Cells. 2020;8:290.
120. Xiang Y, Huang Y, Sun H, Pan Y, Wu M, Zhang JJB, et al. Deregulation of miR-520d-3p promotes hepatocellular carcinoma development via lncRNA MIAT regulation and EPHA2 signaling activation. 2019;109:1630-9.
121. Li R, Yuan W, Mei W, Yang K, Chen ZJM, biochemistry c. MicroRNA 520d-3p inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion by downregulating EphA2 expression. 2014;396(1-2):295-305.
122. Yi M, Li M, Long X, Ye J, Cui J, Wei W, et al. miR-520e regulates cell proliferation, apoptosis and migration in breast cancer. 2016;12(5):3543-8.
123. Qin X, Chen R, Xiong R, Tan Z, Gao S, Lin C, et al. Comprehensive analysis of non-small-cell lung cancer microarray datasets identifies several prognostic biomarkers. 2019;15(27):3135-48.
124. Li J, Wei J, Mei Z, Yin Y, Li Y, Lu M, et al. Suppressing role of miR-520a-3p in breast cancer through CCND1 and CD44. 2017;9(1):146.
125. Zhang R, Liu R, Liu C, Niu Y, Zhang J, Guo B, et al. A novel role for MiR-520a-3p in regulating EGFR expression in colorectal cancer. 2017;42(4):1559-74.
126. Su H, Ren F, Jiang H, Chen Y, Fan X. Upregulation of microRNA-520a-3p inhibits the proliferation, migration and invasion via spindle and kinetochore associated 2 in gastric cancer. 2019;18(3):3323-30.

127. Yeon M, Byun J, Kim H, Kim M, Jung HS, Jeon D, et al. CAGE binds to Beclin1, regulates autophagic flux and CAGE-derived peptide confers sensitivity to anti-cancer drugs in non-small cell lung cancer cells. 2018;8:599.
128. Peng H, Pan X, Su Q, Zhu L, Ma GJ. *Erfm, sciences p.* MiR-372-3p promotes tumor progression by targeting LATS2 in colorectal cancer. 2019;23(19):8332-44.
129. Wang Q, Liu S, Zhao X, Wang Y, Tian D, Jiang WJ. *Cm.* MiR-372-3p promotes cell growth and metastasis by targeting FGF 9 in lung squamous cell carcinoma. 2017;6(6):1323-30.
130. Fan X, Huang X, Li Z, Ma XJA. MicroRNA-372-3p promotes the epithelial-mesenchymal transition in breast carcinoma by activating the Wnt pathway. 2018;50(27):14.
131. Syring I, Bartels J, Holdenrieder S, Kristiansen G, Müller SC, Ellinger JJ. Circulating serum miRNA (miR-367-3p, miR-371a-3p, miR-372-3p and miR-373-3p) as biomarkers in patients with testicular germ cell cancer. 2015;193(1):331-7.
132. Homma Y, Kakizaki H, Yamaguchi O, Yamanishi T, Nishizawa O, Yokoyama O, et al. Assessment of overactive bladder symptoms: comparison of 3-day bladder diary and the overactive bladder symptoms score. 2011;77(1):60-4.
133. Schisterman EF, Perkins NJ, Liu A, Bondell HJE. Optimal cut-point and its corresponding Youden Index to discriminate individuals using pooled blood samples. 2005:73-81.
134. Chuang F-C, Hsiao S-M, Kuo H. The Overactive Bladder Symptom Score, International Prostate Symptom Score–Storage Subscore, and Urgency Severity Score in Patients With Overactive Bladder and Hypersensitive Bladder: Which Scoring System is Best? 2018;22(2):99.
135. Arribillaga LC, Ledesma M, Montedoro A, Pisano F, Bengiό RG. OAB score: A clinical model that predicts the probability of presenting overactive detrusor in the urodynamic study. 2018;44(2):348-54.
136. Antunes-Lopes T, Carvalho-Barros S, Cruz C-D, Cruz F, Martins-Silva CJA. Biomarkers in overactive bladder: a new objective and noninvasive tool? 2011;2011.

137. Silva-Ramos M, Silva I, Oliveira O, Ferreira S, Reis MJ, Oliveira JC, et al. Urinary ATP may be a dynamic biomarker of detrusor overactivity in women with overactive bladder syndrome. 2013;8(5).
138. Karaarslan ZÖ, Serin MSJMÜSBD. Hastalıkların tanı ve tedavi stratejilerinde miRNA ve diğer non-protein-coding RNA'lar. 2016;9(3):159-72.
139. Cartwright R, Afshan I, Derpapas A, Vijaya G, Khullar VJ. Novel biomarkers for overactive bladder. 2011;8(3):139.
140. Altman D, Iliadou AN, Lundholm C, Milsom I, Pedersen NLJ. Somatic comorbidity in women with overactive bladder syndrome. 2016;196(2):473-7.
141. Azadzoï KM, Radisavljevic ZM, Golabek T, Yalla SV, Siroky MB. Oxidative modification of mitochondrial integrity and nerve fiber density in the ischemic overactive bladder. 2010;183(1):362-9.

Ek Aşırı Aktif Mesane Değerlendirme Formu (AOB-V8)

Aşağıdakiler sizi ne ölçüde rahatsız etmektedir?	Hiç	Çok az	Biraz	Epey	Çok	Çok fazla
Gündüz sık idrara çıkma	0	1	2	3	4	5
Rahatsız edici bir idrar sıkışması	0	1	2	3	4	5
Ani, beklenmedik bir idrar sıkışması	0	1	2	3	4	5
Kazara az miktarda idrar kaçıрма	0	1	2	3	4	5
Gece idrara gitme	0	1	2	3	4	5
Gece idrar yapma ihtiyacı ile uyanma	0	1	2	3	4	5
Kontrol edilemez bir idrar sıkışması	0	1	2	3	4	5
Aşırı idrar yapma isteği ile birlikte idrar kaçıрма	0	1	2	3	4	5
	TOPLAM PUAN:.....					
Eğer cinsiyetiniz ERKEK ise toplam puana 2 puan daha ekleyiniz	AAM Skoru:.....					