



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

ÜRETRA DARLIKLARINDA MİKORNA'LARIN ROLÜ

**UZMANLIK TEZİ
DR. SALİH BÜTÜN**

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ ERSİN ZÜMRÜTBAŞ**

DENİZLİ – 2023



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

ÜRETRA DARLIKLARINDA MİKRORNA'LARIN ROLÜ

**UZMANLIK TEZİ
DR. SALİH BÜTÜN**

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ ERSİN ZÜMRÜTBAŞ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 21.09.2022 tarih ve 2022TIPF025 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2023

Prof. Dr. Ali Ersin ZÜMRÜTBAŞ danışmanlığında **Dr. Salih BÜTÜN** tarafından yapılan “Üretra Darlıklarında MikroRNA’ların Rolü” başlıklı tez çalışması **22/03/2023** tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Pamukkale Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı’nda **TIPTA UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Tahir TURAN

ÜYE

Prof. Dr. Ali Ersin ZÜMRÜTBAŞ

ÜYE

Doç. Dr. Yusuf ÖZLÜLERDEN

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

22/03/2023

Prof. Dr. Osman İsmail Özdel
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince; bilgi, birikim ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, hem tez hazırlama hem de Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda geçen beş yıllık eğitim hayatım boyunca bana yol gösteren ve yetişmemde büyük emeği olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Ali Ersin Zümrütbaş'a, tez hazırlama ve yazım süresince ilgisi ve yardımlarından dolayı desteğiyle bana rehberlik eden, deneyimlerini hoşgörü ve anlayış çerçevesi içerisinde daima bana aktaran Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan Ozan ÇETİN'e, eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini hoşgörüyle bana aktaran, sabır ve sevgiyle yaklaşımlarını hiç eksik etmeyen Üroloji Anabilim Dalı başkanı hocam Prof. Dr. Tahir TURAN'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Ömer Levent TUNCAY'a , Prof. Dr. Zafer AYBEK'e, Doç. Dr. Sinan ÇELEN'e , Doç. Dr. Yusuf ÖZLÜLERDEN'e, Dr. Öğr. Üyesi Mesut Berkan DURAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Kürşat KÜÇÜKER'e , tezim için gerekli numunelere uygun saklama koşullarını sağladığı için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hülya Aybek'e, genetik analiz süreçlerindeki katkıları için Tıbbi Genetik'ten Dr. (phd.) Samet Türel'e ve birlikte zevkle çalıştığım asistan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim. Son olarak, hayatım boyunca her türlü fedakarlıktan kaçınmayan, varlıklarıyla hayatıma anlam katan, sevgi ve destekleri ile bugünlere gelmemde en büyük katkıları olan aileme ve değerli eşim Dr. Öznur EREN BÜTÜN'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	İX
TABLolar DİZİNİ	XI
ÖZET.....	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 ÜRETRA EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİ	2
2.2 ÜRETRA HİSTOLOJİSİ.....	4
2.3 ÜRETRA FİZYOLOJİSİ.....	6
2.4 ÜRETRA KLİNİK ANATOMİSİ	6
2.4.1 Posterior Üretra.....	7
2.4.2 Anterior Üretra.....	8
2.4.3 Üretra Vaskuler Yapıları.....	10
2.4.4 Üretra İnnervasyonu ve Lenfatik Drenajı	12
2.5 ÜRETRA DARLIĞI.....	12
2.5.1 Etiyoloji ve Epidemiyoloji.....	12
2.5.2 Patofizyoloji.....	13
2.5.3 Üretra Darlığı Tanısı.....	15
2.5.4 Üretra Darlığı Tedavisi	18
2.6 MİKORNA	20
2.6.1 Genomda miRNA Geni	21
2.6.2 miRNA Biyogenezi	21
2.6.3 miRNA Fonksiyonları	22
2.6.4 miRNA Gen Düzenlenmesi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1 ÇALIŞMA DİZAYNI VE HASTA SEÇİMİ	25
3.2 YÖNTEM	26
3.2.1 Ekspresyon Analizi Yapılacak miRNA Seçimi.....	26

3.2.2 miRNA İzolasyonu	27
3.2.3 miRNA-cDNA Sentezi	29
3.2.4 Real-Time qPCR.....	31
3.2.5 Relatif Ekspresyon Hesaplanması	33
3.2.6 İstatiksel Analiz	33
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇLAR	53
7. KAYNAKLAR	55

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

DHT	: Dihidrotestosteron
LH	: Lüteinleştirici Hormon
Fr	: French
BXO	: Balanitis Xerotica Obliterans
EPA	: Eksizyon ve Primer Anastomoz
AÜSS	: Alt Üriner Sistem Semptomları
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
LS	: Liken Skleröz
ECM	: Ekstrasellüler Matris
SIU	: Societe International d'Urologie
ncRNA	: Protein Kodlamayan RNA
miRNA	: mikroRNA
mRNA	: Mesajcı RNA
lncRNA	: Uzun kodlanmayan RNA
UTR	: Untranslated region/translasyona uğramayan bölge
ORF	: Open reading freame/proteine kodlanan diziler
Pri-miRNA	: Uzun miRNA (Uzun birincil transkript)
DGCR-8	: Digeorge Syndrome Critical Region/DiGeorge Kritik Sendrom Bölgesi
pre-miRNA	: Kısa prekürsör miRNA
TRBP	: TAR RNA binding protein/transaktivasyondan sorumlu RNA bağlayıcı protein
RISC	: RNA ile indüklenen susturma kompleksi
AGO	: Argonat
RUG	: Retrograd Üretrografi
VCUG	: Voiding sistoüretrografi
DVIU	: Direk görüşlü internal üretrotomi
DM	: Diyabetes Mellitus
IPF	: İdiyopatik Pulmoner Fibrozis

TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta/Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TGFB2	: TGF Beta Reseptör 2
Id	: Farklılaşma inhibitörü (inhibitör of differentiation) /DNA bağlanma inhibitörü (DNA binding inhibitör)
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
ERK	: Ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz
IH	: İsorhamnetin
EMT	: Epitelyal-Mezenkimal Değişim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. 6. ve 7. hafta genital tüberkül, ürogenital membran, ürogenital katlantı ve labioskrotal şişkinlikler	2
Şekil 2. Fetal hayat 9-11. haftalar arasında erkek uretrasında, üretral oluk glansa doğru kanalize olur. Üretranın proksimalden tübülerize olduğunu ve meatusun 11. haftada daha distale ilerlemiş olduğunu görmekteyiz.....	3
Şekil 3. Gebeliğin yaklaşık 11. ve 16. Haftaları, distal üretra gelişimi “Ektodermin içe gömülme teorisi”.....	4
Şekil 4. Üretra kısımları ve epitelleri	5
Şekil 5. Penil üretra histolojik görünüm enine kesit	6
Şekil 6. Üretra sagittal görünüm. Siyah kalın çizgi üretranın anterior ve posterior olarak bölündüğü kısmı göstermektedir	7
Şekil 7. Bulbospongiyos kas, üretra, bulboüretral bez.....	9
Şekil 8. Anterior üretranın farklı segmentlerdeki üretra ve komşuluğundaki anatomik yapılarının kesitleri (A) Bulbar üretrayı, özellikle ventralde yoğunlaşan, üretraya önemli derecede beslenme ve doku desteği veren spongiyoz cisim çevrelemekte (B) Penil üretrayı, bulbar üretraya göre daha homojen çevreleyen ve daha ince bir spongiyoz cisim çevrelemekte, bu kısımda dorsalde birbirine yakınlaşmış kavernoöz cisimleri görmekteyiz. (C) Koronal sınırdaki penil üretrayı saran spongiyoz cisim, glans penisin süngerimsi dokusu ile birleşmektedir. (D) Fossa navicularis düzeyinde kavernoöz cisimler kaybolmakta, üretra tamamen glans penisin süngerimsi dokusu ile çevrelenmektedir	9
Şekil 9. Üretranın iki taraflı, antegrad ve retrograd yolla beslenmesi.....	10

Şekil 10. Üretra ve penisin arteryal dolaşımı	11
Şekil 11. Yalancı çok katlı epitelin skuamöz metaplazisi ile başlayan sürecin, spongiyofibrozis ve lümende daralma ile sonuçlanması.....	14
Şekil 12. Darlık paterni ile uyumlu üroflovetri eğrisi	16
Şekil 13. A: Normal üretrografi B: Bulbar üretra darlığı.....	17
Şekil 14. Kliniğimizde uyguladığımız tekniklerden, bulbar üretra darlığında bukkal mukozal greft ile üretroplasti	20
Şekil 15. miRNA biyogenezi	22
Şekil 16. miRNA'ların katlı değişim değeri grafikleri yukarıda verilmiştir. Katlı değişim değerleri miR-155-5p ve miR-26b üretra darlığı bulunan grupta yüksek bulundu ve miR-29a, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p ise kontrol grubunda yüksek bulundu ancak tüm bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P > 0.05$).	36
Şekil 17. Yukarıda katlı değişim grafiği verilen miR-9-5p'nin katlı değişim değeri travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı olan grupta, istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) kontrol grubundan daha düşük bulundu.....	37
Şekil 18. miR 9-5p'nin akciğer fibrozisindeki düşünülen antifibrotik etki mekanizması	43
Şekil 19. miR-9-5p'nin TGF- β sinyal iletim yollarında ilişkili olabileceği genler KEGG PATHWAY veri tabanındaki tablo üzerinde sarı renkle işaretlenerek gösterilmiştir.	47

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. miRNA İzolasyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri	28
Tablo 2. miRNA-cDNA Sentezi İçin Kullanılan Materyal Bilgileri.....	29
Tablo 3. miRNA-cDNA Sentezi İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri	30
Tablo 4. miRNA-cDNA Sentezi Reaksiyonu Koşulları.....	30
Tablo 5. Real-Time qPCR İçin Kullanılan Materyal Bilgileri	31
Tablo 6. Real-Time qPCR İçin Kullanılan Primer Bilgileri.....	31
Tablo 7. Real-Time qPCR İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri.....	32
Tablo 8. Real-Time qPCR Reaksiyonu Koşulları	32
Tablo 9: Üretra darlığı bulunan grup ile kontrol grubunun karşılaştırılması .	35
Tablo 10: Üretra darlığı uzunluğuna göre alt grupların karşılaştırılması.....	38
Tablo 11: İdiyopatik üretra darlığı ve nedeni bilinen darlık alt grup karşılaştırılması	39
Tablo 12. Diyabetes mellitus ile üretra darlığı ilişkisinde alt grupların karşılaştırılması	40

ÖZET

Üretra darlıklarında mikrorna'ların rolü

Dr. Salih Bütün

Üretra darlığı, hasta sağlığını ve yaşam kalitesini olumsuz etkileyen, üretranın yeterli genişleyebilme özelliğini kaybetmesi olarak tanımlanabilir. Genellikle spongiyofibrozis ve sonrasında gelişen epitel hasarı ile oluştuğu kabul görse de, bu süreçlerin detayları kesin olarak bilinmemektedir. Bu çalışmamızda üretra darlığının patofizyolojisinin aydınlatılmasına katkıda bulunmayı amaçladık. Patofizyoloji ortaya konulabilirse, yeni tedavi yöntemleri de geliştirilebilir. Üretra darlığı tedavisi cerrahi yöntemlerle yapılmaktadır. Hasta özelliklerine göre noninvaziv ve daha invaziv yöntemler tercih edilebilir. Bazı durumlarda noninvaziv tedavi yöntemlerinde ısrar edilmesi faydadan çok zarar verebilmekte ve kesin tedavi olan üretroplasti başarısını olumsuz etkileyebilmektedir. Hasta bazlı düşünüldüğünde erken nüks öngörülebilir ve etioloji aydınlatılabilirse noninvaziv yöntemlerle ısrar edilmeden, kesin tedavi olan üretroplastinin erken uygulanması gündeme gelebilir. Özellikle yakın dönemde çeşitli hastalıkların tanısında ve prognoz tayininde mikroRNA'lar (miRNA) ile ilgili literatürde çeşitli çalışmalar yapıldığı görülmektedir. Bu amaçlar doğrultusunda miRNA'ların üretra darlıklarındaki rollerini araştırmayı planladık.

Pamukkale Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı'nda Mart 2022 ve Kasım 2022 tarihleri arasında, bukkal mukozal greft ile üretroplasti ve anastomotik üretroplasti yapılan toplam 45 hasta çalışmaya dahil edildi. Hasta grubu olarak, travmatik nedene bağlı gelişmeyen üretra darlığı bulunan, bukkal mukozal greft ile üretroplasti yapılan 30 hastanın, üretroplasti sırasında dar ve spogiyofibrozisli üretra dokusundan örnek alındı. Kontrol grubu olarak, travmatik nedene bağlı gelişen üretral stenozu bulunan, anastomotik üretroplasti yapılan 15 hastanın, üretroplasti sırasında spatülize edilecek olan sağlıklı üretra dokusundan örnek alındı. Her iki grupta alınan üretra dokuları cerrahi tedavi başarısını olumsuz etkilemeyecek düzeyde idi. Toplanan üretra dokularından literatür taraması sonucu belirlenen miR-146a-5p, miR-155-5p, miR-142-3p, miR-26b, miR-129-5p, miR-9-5p, miR-29a moleküllerinin total RNA

izolasyonu yapılarak katlı değişim değerleri gruplar arası değerlendirildi. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov- Smirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test kullanıldı. Analizlerde SPSS 28.0 programı kullanıldı. Tüm analizlerde $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Travmatik nedene bağlı gelişmeyen üretra darlığı bulunan 30 hastalık grup ve 15 hastalık kontrol grubu arasında miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$). Üretra darlığı olan grupta miR-9-5p katlı değişim değeri kontrol grubundan istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) daha düşük bulundu.

Yaptığımız literatür taramasına göre, bu çalışma travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı bulunan üretra dokusu ve kontrol grubu üretra dokusu arasında miRNA katlı değişim değerlerini karşılaştırılan ilk çalışmadır. Sonuç olarak, çalışmamızda miR-9-5p'nin üretra darlığının patofizyolojisine ışık tutabileceğini saptadık. miR-9-5p'nin koruyucu etkileri olabileceğini ancak hastaların klinik bulgularının, üretral fibrozisteki patofizyolojik sürecin tamamlanmasından daha önce ortaya çıktığını gösterdik.

Anahtar kelimeler: üretra darlığı, miRNA, fibrozis, spongiyofibrozis, üretroplasti

SUMMARY

Role of microRNAs in urethral stricture

Dr. Salih Bütün

Urethral stricture can be defined as the loss of adequate expandability of the urethra, which adversely affects patient health and quality of life. Although it is generally accepted that it occurs with spongiolobrosis and following epithelial damage, the details of these processes are not known precisely. In this study, we aimed to contribute to the explanation of the pathophysiology of urethral stricture. If the pathophysiology can be revealed, new treatment methods can be developed. The treatment of urethral stricture is performed by surgical methods. Non-invasive and invasive methods can be preferred according to patient characteristics. In some situations, insisting on non-invasive treatment methods may do more harm than good and may negatively affect the success of urethroplasty, which is the definitive treatment. Considering on a patient basis, if early recurrence can be predicted and the etiology can be clarified, early administration of urethroplasty, which is a definitive treatment, may come to the fore without insisting on non-invasive methods. Especially recently, it is seen that various studies have been carried out in the literature on microRNAs (miRNA) in the diagnosis and prognosis of various diseases. For these purposes, we projected to research the role of miRNAs in urethral strictures.

Pamukkale University Department of Urology in March 2022 between November 2022, a total of 45 patients who underwent urethroplasty with buccal mucosal graft and anastomotic urethroplasty were included in the study. As the patient group, specimens were taken from the narrow and spongiolobrosis urethral tissue of 30 patients who had urethral stricture that did not develop due to traumatic causes and who underwent urethroplasty with buccal mucosal grafts. As a control group, specimens were taken from healthy urethral tissue spatulized during urethroplasty from 15 patients who had urethral stenosis due to traumatic causes and underwent anastomotic urethroplasty. The urethral tissues taken in both groups were at a level that did not negatively affect the success of surgical treatment. The miRNAs to be investigated

from the collected urethral tissues were determined by literature review. miRNAs to be researched were determined as miR-146a-5p, miR-155-5p, miR-142-3p, miR-26b, miR-129-5p, miR-9-5p, miR-29a. Total RNA was isolated from the urethra tissues collected from the individuals participating in the study by means of a commercial kit. The expression levels of the determined miRNA molecules in the obtained RNA samples were investigated by real-time PCR method. $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method was used to evaluate miRNA expressions. The fold change values of the miRNAs found by the analyzes were compared statistically between the groups. Mean, standard deviation, median lowest, highest, frequency and ratio values were used in the descriptive statistics of the data. The distribution of variables was measured with the Kolmogorov-Smirnov test. Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test was used in the analysis of quantitative independent data. SPSS 28.0 program was used in the analysis. $P < 0.05$ was considered statistically significant in all analyses.

The fold change values of miRNAs were compared between the group of 30 patients with non-traumatic urethral stricture and the control group of 15 patients. In the results, fold change values of miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p did not differ significantly ($P > 0.05$). The fold change value of miR-9-5p in the group with urethral stricture was found to be statistically significantly ($P < 0.05$) lower than the control group.

According to our literature review, this is the first study to compare miRNA fold change values between urethral tissue with non-traumatic urethral stricture and control group urethral tissue. In conclusion, we found in our study that miR-9-5p may explain the pathophysiology of urethral stricture. We have demonstrated that miR-9-5p may have protective effects, but the clinical findings of patients appear before the completion of the pathophysiological process in urethral fibrosis.

Keywords: Urethral stricture, miRNA, fibrosis, spongiofibrosis, urethroplasty

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Genel olarak üretra darlığı, üretranın yeterli düzeyde genişleyebilme özelliğini kaybetmesi ve üretral lümen kalibrasyonunda azalmayla sonuçlanan farklı derecelerde spongiyofibrozis ve epitel hasarını içeren bir süreci kapsamaktadır [1, 2]. Üretra darlıkları genellikle yaşlı erkeklerde daha yaygın görülmektedir. İlişkili populasyonun yaklaşık %0.6'sı risk altındadır [3]. Meta analizlere göre etiyolojinin yaygın sebepleri arasında idiyopatik (%33), iyatrojenik (%33), travma sonrası (%19) ve inflamatuvar süreç (%15) yer almaktadır [4]. Üretra darlığı yaşam kalitesini ve hasta sağlığını olumsuz etkilemektedir, tedavi edilmemesi durumunda mesane disfonksiyonu, böbrek yetmezliği, mesane kanseri ve Fournier gangreni gibi ürolojik ciddi sorunlara yol açabilir [5].

Üretra darlığı tedavisi cerrahi yöntemlerle yapılmaktadır. Öncelikle, belirli kriterler varlığında daha noninvaziv yöntemler olan endoskopik tedaviler denenebilir. Bu tedavi sonrasında, nüks ve tedavi başarısızlığı gelişebilir. Ancak tekrarlayan endoskopik tedavilerde ısrar edildiğinde, faydadan çok zarar getirip kesin tedavi olan üretroplastiyi komplike hale getirebilmekte ve üretroplastinin başarı oranını azaltabilmektedir [6].

Bazı kanserler gibi sebebi tam aydınlatılamamış süreçlerin ve hastalıkların tanı ve yönetiminde genetik faktörlerin rol aldığı yeni çalışmalarla da gösterilmiştir. mikroRNA'lar (miRNA) gen düzenlenmesinde posttranskripsiyonel etki göstermektedir. miRNA'ların gen düzenlenmesindeki rolleri nedeniyle organ fibrozisinde, fibrotik süreçleri farklı yollarla etkileyebilmektedir. Son yıllarda çeşitli hastalıkların tanısında, prognoz tayininde ve patolojik süreçleri aydınlatılabilmek için miRNA'lar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. miRNA'ların potansiyel bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir [7-9].

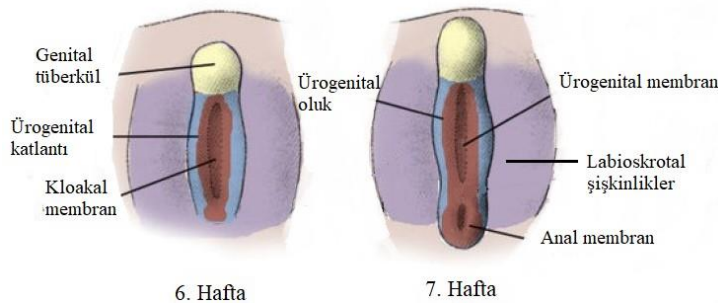
Bu çalışmamızda miRNA'ların gen düzenlenmesindeki rollerinden dolayı, üretra darlıklarının oluşumundaki patofizyolojik süreçlerle ilgili yardımcı bilgiler verebileceği düşünüldü. Ayrıca üretra darlığının hangi hastalarda daha çok ortaya çıkabileceğine dair fikir edinebilmeyi amaçladık. Üretra darlığı ile ilgili patofizyolojik süreçler daha detaylı ortaya konulabilirse, yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi

mümkün olacaktır. Buna ilaveten, hangi hasta grubunda daha invaziv, hangi hasta grubunda daha noninvaziv tedavi yöntemlerinin tercih edilebileceğine dair bir fikir edinilebilecektir. Hangi hasta gruplarında, özellikle noninvaziv tedavilerde ısrar edilmemesi gerektiği de belirlenebilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

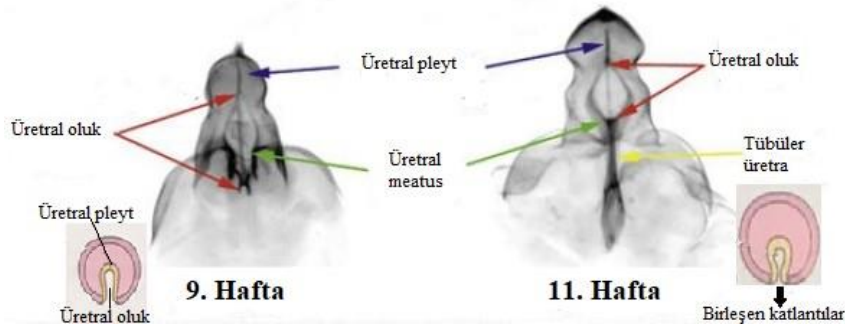
2.1 ÜRETRA EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİ

Gebeliğin 4. Haftasında embriyo kıvrılır. Kuyruk kısmının katlanması sonucu endoderm ile döşeli bir boşluk görünümünde olan kloaka meydana gelir. Ürogenital sistemi oluşturacak kloakal membran, kloakanın endodermi ile anal çukurun ektoderminden meydana gelmektedir. Gebeliğin 7. haftasına kadar kloaka, mezenşimden gelişen ürektal septumla, önde ürogenital sinüs ile arkada rektum ve anal kanalın kranial parçası olarak bölünür. Yedinci haftada, ürektal septum kloakal membranla birleşir. Kloakal membran ve ürektal septumun birleşme yeri daha sonra perinenin tendinöz merkezi olan perineal cismi oluşturur. Bulbospongioz, iskiokavernoz, transvers süperfisyel perineal kas ön kısımdan gelişir. Kloakal membranın, kranial ucundan mezenşim hücrelerinin göç etmesi ile birlikte genital tüberkül oluşur. Kloakal membranın laterallerinden ürogenital katlantılar ve labioskrotal şişkinlikler oluşur. Ürogenital membran, ürogenital oluğun tabanında yer alır (Şekil 1) [10].



Şekil 1. 6. ve 7. hafta genital tüberkül, ürogenital membran, ürogenital katlantı ve labioskrotal şişkinlikler [11]

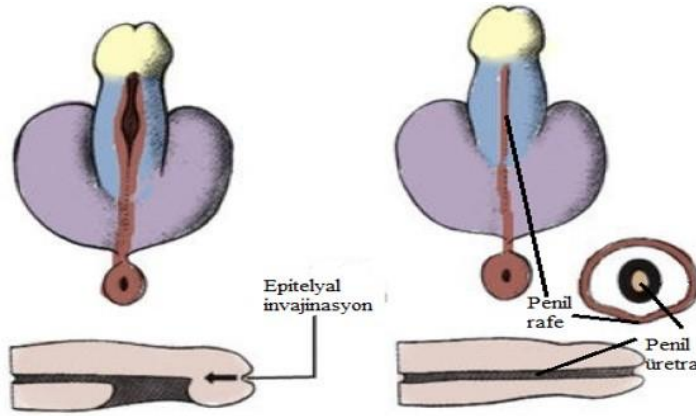
Bu aşamaya kadar gelişim her iki cinsten de benzerdir. Gebeliğin 9. Haftasında erkekte gonadların farklılaşması ile Leydig hücreleri testiste görülür. Hipofiz bezinden salgılanan LH'ya yanıt olarak testosteron salgısı başlar. Testosteron ürogenital sinüs ve genital tüberküle daha güçlü androjen olan dihidrotestosterona dönüşür, normal gelişim için bu dönüşüm gereklidir. DHT Wolffian kanalı, genital tüberküle ve ürogenital sinüsü erkek yönünde farklılaştırır. Maskülenizasyonun ilk belirtisi olarak anüs ile genital yapılar arasında mesafe artar. Fallus uzaması, sonrasında üretral pleyt oluşumu süreci takip eder. Genital tüberkül üç germ tabakasını da barındırmaktadır. Ektodermden fallus ve sünnet derisi, mezodermden korporal cisimler ve erektil doku, endodermden vestibüler plak, üretral pleyt gelişimi görülür. Üretral pleyt, pelvik üretradan glans penisin hemen distaline kadar kenarlarından üretral katlantılar ile birlikte uzanır. Üretral pleyt, penil şaft içinde geniş bir üretral oluk oluşturmak üzere proksimalden distale kanalize olur (Şekil 2) [10, 12].



Şekil 2. Fetal hayat 9-11. haftalar arasında erkek üretrasında, üretral oluk glansa doğru kanalize olur. Üretranın proksimalden tübülerize olduğunu ve meatusun 11. haftada daha distale ilerlemiş olduğunu görmekteyiz [10, 11]

Erkeklerde glans penisteki üretranın distal kısmı, ektodermal hücre kordonundan köken alır. Hücreler penis ucundan içeriye doğru, spongiyöz üretra ile birleşene kadar büyürler “Ektodermin içe gömülme teorisi” (Şekil 3) [13]. Farklı daha güncel bir teori, üretranın tamamen endoderm kaynaklı olduğunu düşündürmektedir. Bu teoriye göre üretranın distal kısmı, üretral pleytin distale doğru büyüyerek direk

kanalizasyonu ile oluşur. “Ektodermin içe gömülme teorisi” yerini son zamanlarda bu teoriye bırakmıştır [14].



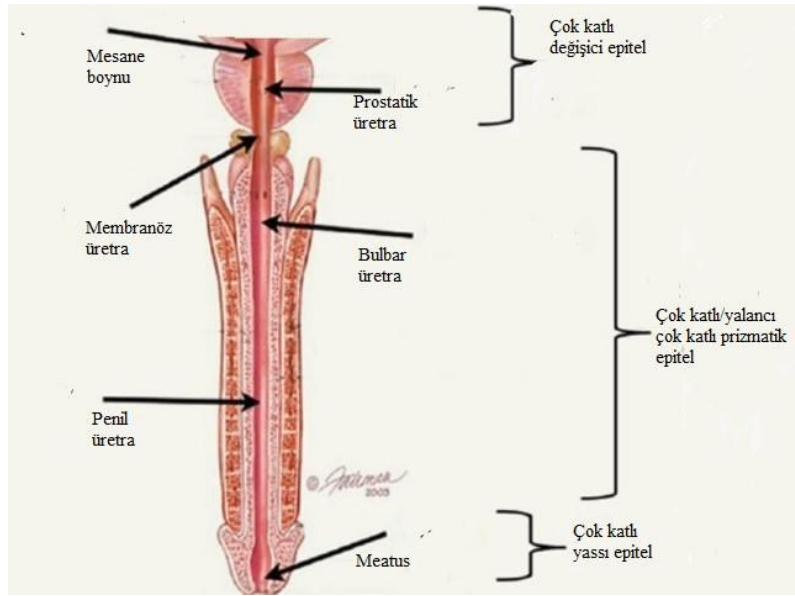
Şekil 3. Gebeliğin yaklaşık 11. ve 16. Haftaları, distal üretra gelişimi “Ektodermin içe gömülme teorisi” [11]

Penil üretra, üretral katlantıların kompleks ve multifaktöriyel süreç ile füzyonu sonucu oluşur. Üretral oluğun epitel kenarları orta hatta penil rafeyi oluşturmak için birleşir. Yaklaşık gebeliğin 11 ve 16. haftalarında gerçekleşen bu süreçte aksaklık olması durumunda hipospadias gibi gelişim bozuklukları ortaya çıkması beklenir [10, 15].

2.2 ÜRETRA HİSTOLOJİSİ

Histolojik yapısı erkek ve kadınlarda farklı olup erkeklerde temelde 4 kısımdan oluşmaktadır. Ortalama erkek üretrası 20 cm uzunluğundadır. Preprostatik üretra mesane boynundan prostat girimine yaklaşık 0,5-1,5 cm uzanır. Duvarı çok katlı değişici epitel ile döşenir. Prostatik üretra mesane boynundan başlayıp prostat boyunca yaklaşık 3-4 cm uzanır. Hilal şeklinde seyrederek, duvarı çok katlı değişici epitelle döşenir. Prostatın kanalları bu bölüme açılır. Membranöz üretra prostatın apeksinden bulbus penise kadar kısa bir segment olarak uzanır. Duvarı yalancı çok katlı prizmatik veya çok katlı prizmatik epitelle döşelidir. İstemli olan eksternal sfinkter, derin perinenin iskelet kasları ile sarılarak burada oluşur. Anterior üretra penis boyunca

yaklaşık 15 cm uzanır. Penis tabanından geçerken yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir, distalde penisten çok katlı yassı epitel olarak çıkar (Şekil 4) [16-18].

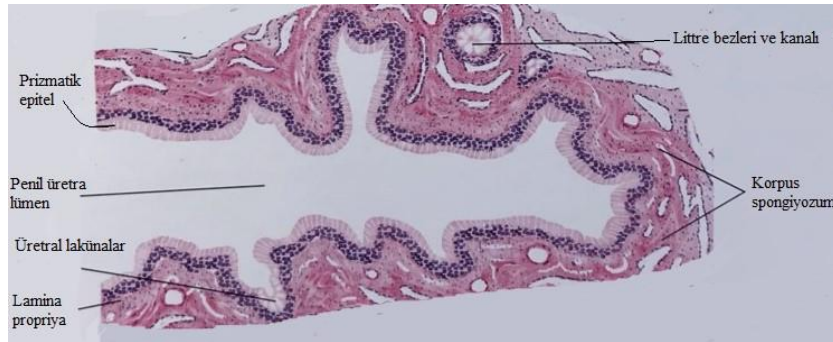


Şekil 4. Üretra kısımları ve epitelleri [15]

Penil üretra, her iki korpus kavernozumun ventral komşuluğundaki endotel hücreleri ile döşeli korpus spongiyozumun içinde yer alır. Korpus kavernozum ve korpus spongiyozumu birçok kavernöz boşluk oluşturur. Kavernoza boşluklar arasında elastik liflerden zengin ince bağ dokusu ve düz kas lifleri bulunur [16, 17].

Aşağıda penil üretranın spongiyoz cisim ile çevrelediği bir kesit gösterilmektedir. Üretra bu bölümde çok katlı prizmatik epitel ile döşenmiştir. Altta ince tabaka lamina propriya, damardan zengin ve beslenmesi oldukça iyidir. Bağ dokularının içinde mukus salgılayan üretra bezleri (Littre) mevcuttur. Düzensiz girinti

çıkıntılar olan üretral lakünaları (morganini) penil üretranın lümeninde gözlenir. Littre bezleri bu üretral lakünelara açılır (Şekil 5) [16, 17].



Şekil 5. Penil üretra histolojik görünüm enine kesit [17]

2.3 ÜRETRA FİZYOLOJİSİ

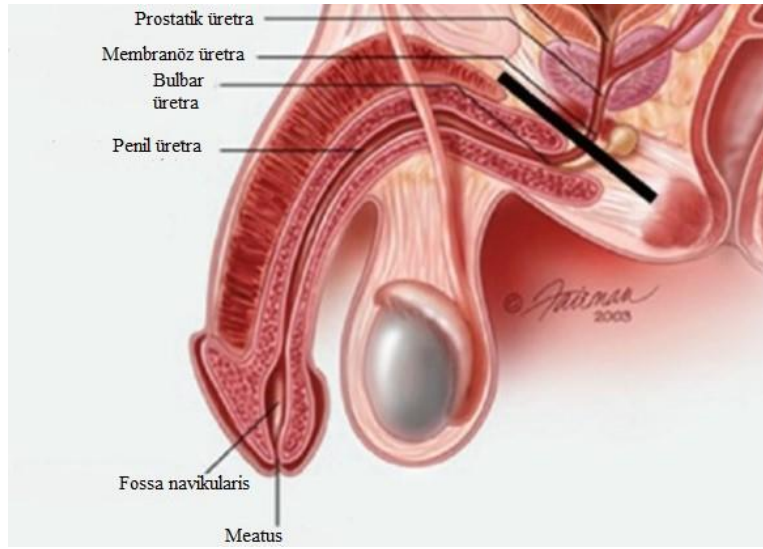
Üretranın görevi, idrar ve meni geçişine izin vererek dışarı atılmasını sağlamaktır. Üretra yüzeyini kaplayan epitel dokusu idrar, ejakulat ve vücut dışı maruziyet durumlarına karşı üretrayı korur [18].

Üretra düz ve çizgili kaslardan oluşmuştur. Üretral duvardaki düz kas lifleri, detrusorden daha ince ve belirgin katlarla dizilidir. Longitudinal düz kaslar daha baskın olup, daha ince iç katman tabakası bulundurur, üretranın sabitlenmesinde sorumlu olduğu düşünülmektedir. Daha ince halde bulunan sirküler kasların lümeni kapatmada veya mesane boynunun işeme sırasında gevşemesinde yardımcı olduğu düşünülmektedir. Üretranın lamina propriya tabakasında, birkaç hücrenin oluşturduğu dağınık küçük lifler bulunur. Çizgili kas erkekte mesane boynu ve prostatın ön yüzünden membranöz üretra boyunca uzanır. Üretral basınçta, üretral düz ve çizgili kasların, lamina propriyanın göreceli rolleri olduğu gözükmemektedir [11, 19].

2.4 ÜRETRA KLİNİK ANATOMİSİ

Erkek üretrasının büyük kısmı damardan zengin korpus spongiosum ve glans penis içerisinde bulunur. Temelde posterior ve anterior üretra olarak sınıflandırılır. Posterior üretra mesane boynunun distalinden başlar, perineal membrana kadar devam eder. Anterior üretra, perineal membrandan sonra başlayıp eksternal üretral meatusa kadar devam eder [11]. Posterior üretra, prostatik üretra ve membranöz üretra olarak

ayrılır. Anterior üretra, bulbar üretra, penil üretra, fossa navikularis, glandular üretra ve üretral meatus olarak ayrılır (Şekil 6) [15].



Şekil 6. Üretra sagittal görünüm. Siyah kalın çizgi üretranın anterior ve posterior olarak bölündüğü kısmını göstermektedir [15]

Normal üretra lümeninin en az 30 Fr olması beklenmektedir. Fossa navikulariste diğer üretra kısımlarından lümeni bir miktar daha dar (yaklaşık 22-24 Fr) olarak görülmesi normaldir [15].

2.4.1 Posterior Üretra

2.4.1.1 Prostatik Üretra

Mesane boynu, prostatın transizyonel zonunun içine doğru huni şeklini alıp ilerleyerek prostatik üretranın başlangıcını oluşturur. Pre-prostatik üretra sirküler düz kas hücreleri ile istemsiz internal üretral sfinkteri oluşturur. Prostatın distaline posterolateral alana ejakulatuvar kanallar ve prostatın kanalları açılır. Prostatın periferel zon salgıları burada bulunan prostatik sinüse açılır. Her iki ejakulatuvar kanal prostatik utrikulun her iki yanına açılır. Müllerien bir kalıntı olan utrikul, verrü montanumun apeksinde bulunur. Verrü montanum, prostatik üretra boyunca posteriorunda bulunan mukozal katlantılar olan krista iliakanın prostatik üretranın distalinde lümenine doğru genişlemesi ile oluşur. Verrü montanum endoskopik işlemlerde önemli bir anatomik belirteçdir [11, 15].

2.4.1.2 Membranöz Üretra

Üretra prostatın bitiminden sonra ürogenital diyaframın içinden geçerek yaklaşık 2 cm uzunluk boyunca seyrederek. Bu kısım membranöz üretrayı oluşturur. İnce bir düz kas tabakası membranöz üretra boyunca mevcuttur. Dışında ise inferior pubis ramus birleşme yerinden köken alan sirküler çizgili kas lifleri istemli dış sfinkteri oluşturur. Anatomik çalışmalar bu çizgili kas liflerinin posterior da birleşmediğini, atnalı şekilde üretra anteriorunda daha yoğun olacak şekilde uzandığını göstermektedir [11, 15].

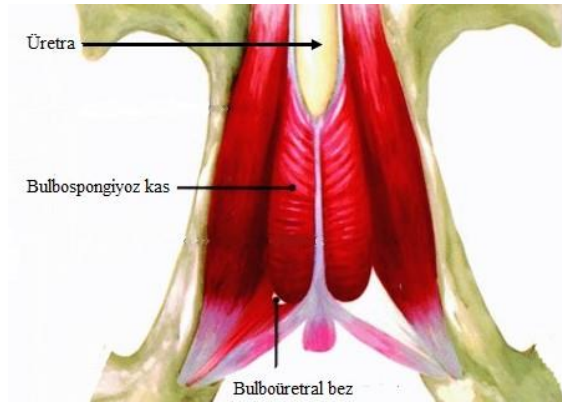
Pubik kemiğe yakınlığı ile pelvik travmalarda genelde en riskli üretra kısmı, membranöz üretradır. Ancak otopsiler değerlendirildiğinde yaralanmalarda 10 erkeğin 7'sinde yaralanmanın membranöz üretranın hemen distalinde olduğu görülmüştür [20].

2.4.2 Anterior Üretra

2.4.2.1 Bulbar Üretra

Bulbar üretra proksimalde ürogenital diyafram, distalde penoskrotal bileşkede suspansuvar ligament arası kadar yaklaşık 3-4 cm uzunluğundadır. Özellikle ventralinde yoğun bulunan spongioz cisimle çevrilidir. Spongiozumun etrafını bulbospongioz kas çevreler. Bulbospongioz kas işeme sonrası üretrada kalan son idrarı atmada ve ejakulasyonun daha güçlü olmasında role sahiptir. Bulbar üretra rekonstrüksiyon cerrahisi geçiren hastalarda bu kas genellikle kesilir. Dolayısıyla, bu ameliyatları geçiren hastalarda işeme sonrası idrar damlaması ve ejakulasyonun gücünün azalması izlenebilir. Ancak kas koruyucu tekniklerin kullanılması durumunda sonuçlarda farklılık görülmemiştir [21]. Bulbar üretra önde sadece yumuşak doku ve cilt, arkada ise pubik kemik ile çevrelenmektedir. Ata biner tarzda düşmelere ve pelvik fraktürlere karşı yaralanma açısından yüksek risk oluşturur. Daha düşük enerjili travmalar o anda sorun oluşturmasa da ilerleyen süreçte, belki de yıllar

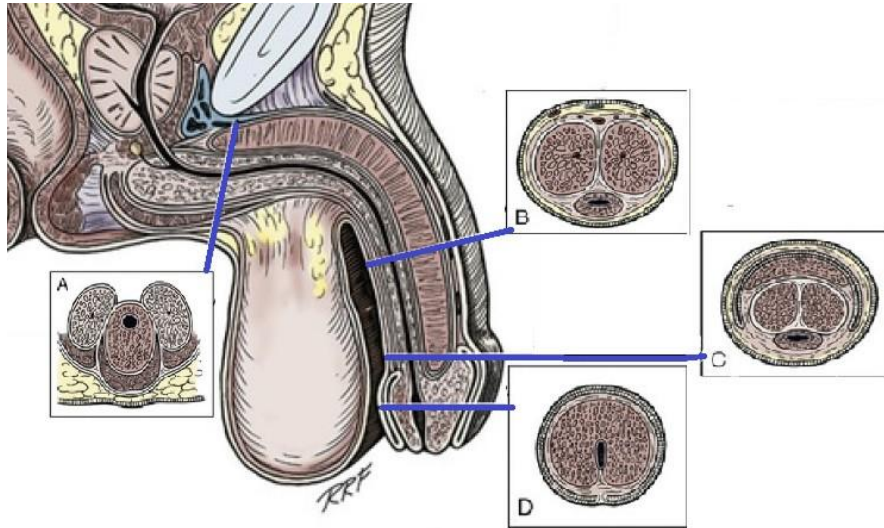
sonra darlık oluşturabilir. Mukus salgılayan bulboüretal bezler (Cowper's) ürogenital diyaframda bulunur (Şekil 7) [1, 15].



Şekil 7. Bulbospongiosuz kas, üretra, bulboüretal bez [22]

2.4.2.2 Penil Üretra, Fossa Navicularis ve Meatus

Distal kısım olan penil üretra, suspansuvar ligamandan, glans penis içinde fossa navicularise ve ardından meatusa kadar uzanıp sonlanmaktadır [1, 11]. Penil üretra korpus spongiosum ile sarılıdır. Dorsalinde her iki korpus kavernozum bulunur. Korpus kavernozumlar glans penise girmez. Bu kısımda fossa navicularis tamamiyle spongiosuz cisim ile çevrilidir (Şekil 8) [15].



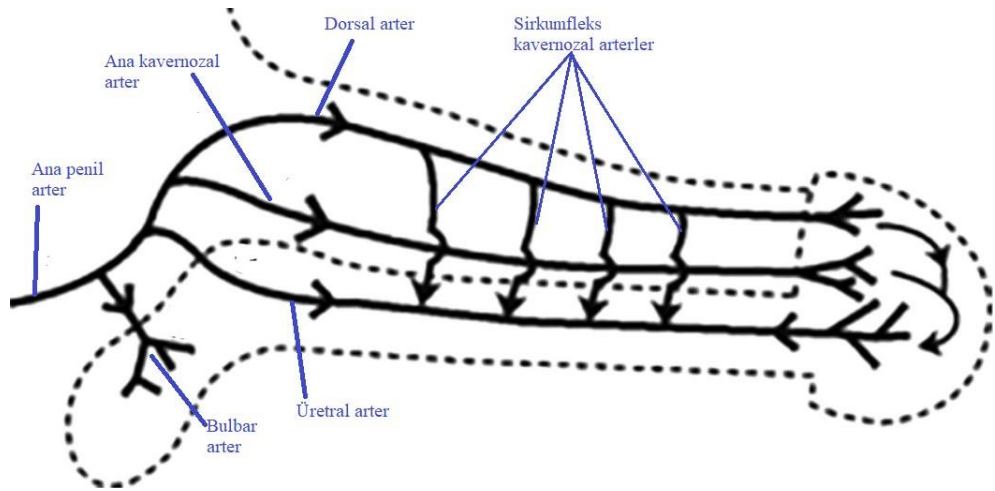
Şekil 8. Anterior üretranın farklı segmentlerdeki üretra ve komşuluğundaki anatomik yapılarının kesitleri (A) Bulbar üretrayı, özellikle ventralde yoğunlaşan, üretraya önemli derecede beslenme ve doku desteği veren spongiosuz cisim

çevrelemekte (B) Penil üretrayı, bulbar üreteraya göre daha homojen çevreleyen ve daha ince bir spongiyoz cisim çevrelemekte, bu kısımda dorsalde birbirine yakınlaşmış kavernoza cisimleri görmekteyiz. (C) Koronal sınırdaki penil üretrayı saran spongiyoz cisim, glans penisin süngerimsi dokusu ile birleşmektedir. (D) Fossa navikularis düzeyinde kavernoza cisimler kaybolmakta, üretra tamamen glans penisin süngerimsi dokusu ile çevrelenmektedir [11]

2.4.3 Üretra Vasküler Yapıları

2.4.3.1 Arteriyel Kan Dolaşımı

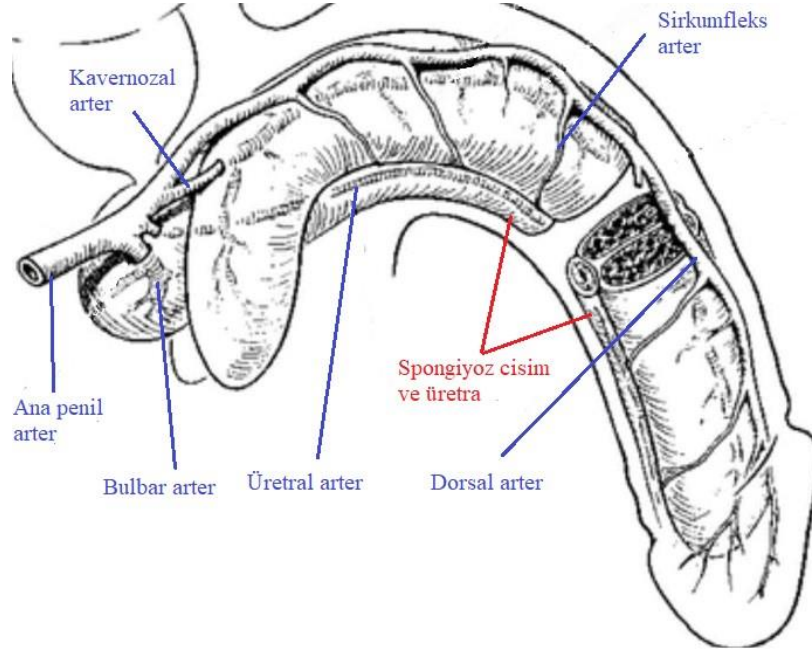
Üretra ve ilişkili olduğu korpus spongiyozum ikili arteriyel beslenmeye sahiptir. Üretranın yapılan cerrahilerde mobilize edilmesi, bölünmesi sonrasında tekrar dikilmesini ve iskemisiz iyileşmesinin sağlayan durum temel olarak bu ikili arteriyel beslenmeye sahip olmasıdır. Üretranın ve spongiyozum beslenmesi antegrad ve retrograd yolla sağlanır (Şekil 9) [1].



Şekil 9. Üretranın iki taraflı, antegrad ve retrograd yolla beslenmesi [1]

Common penil arter, internal iliak arterin terminal dallarından biri olup bulbar ve üretral arter olarak dal verir. Sonrasında korpus spongiyozumun derin arteri olan ana kavernoza arter olarak dal verir. Devamında penisin dorsalinde dorsal arter olarak distale kadar seyir eder. Dorsal arter spongiyozumun beslenmesinde katkı sağlayan kavernoza cisimlerin lateralleri boyunca sirkumfleks kavernoza arter dalları verir [1].

Üretra ve spongiyozumun beslenmesini temel olarak bulbar ve dorsal arter sağlar. Bulbar arter antegrad yolla üretra ve spongiyozumu besler, dorsal arter glans penise kan akımını sağlar. Glans penis spongiyomunun geri kalanıyla ilişkili olduğu için, dorsal arter retrograd yolla üretranın ve spongiyozumun beslenmesini distalden sağlamış olur (Şekil 10). Ayrıca corpus kavernozumların ventrali ve spongiyoz cisim arasında kan alış verişine izin veren damar bileşenleri bulunur [11, 15].



Şekil 10. Üretra ve penisin arteryal dolaşımı [1]

Travmatik nedene bağlı oluşan üretral hasarın olduğu üretra darlık tedavisinde uygulanan eksizyon ve primer anastomoz (EPA) cerrahisinin başarısı için sağlıklı bir dorsal arterden sağlanacak retrograd beslenmenin sağlanması, iskemik nekroz gelişmemesi açısından önemlidir. İskemik nekroz ile nüks eden darlıkların tedavisi zordur. Çok uzun ve çok dar üretra kalibrasyonunu içeren darlıkların oluşması ve bazen proksimalden üretranın tamamen kapanması ile sonuçlanabilir [1].

2.4.3.2 Venöz Kan Dolaşımı

Üretra ve spongiyozumun venöz drenajı glans penis distalindeki pleksustan sağlanır. Pleksus spongiyozumun içinden uzanan periüretral ven, korpus kavernozumların laterallerinden sirkumfleks venler, derin dorsal vene açılır. Bu venler ile pubik kemiğin proksimalindeki Santorini pleksusuna venöz drenaj sağlanır [15].

2.4.4 Üretra İnnervasyonu ve Lenfatik Drenajı

Üretranın innervasyonu esas olarak S2-4 seviyesindeki nervus pudentusun dalı olan penisin dorsal siniri ile sağlanır [23].

Pudental sinirin diğer bir dalı olan perineal sinir bazı erkeklerde periüretal dokuları inerve edebilir [24].

Bulbomembranöz ve prostatik üretranın lenfatik drenajı obturatuvar ve eksternal iliak lenf nodlarına, penil üretranınki süperfisyal inguinal lenf nodlarına dökülür [1].

2.5 ÜRETRA DARLIĞI

Üretra darlığı, erkekte anterior üretranın altındaki korpus spongiyozumda skar dokusu oluşması (spongiyofibrozis) ve üretranın fibrozis ile iyileşmesi sonucunda lümende daralma ve idrar akımında bozulma ile sonuçlanan bir süreci kapsamaktadır. Posterior üretra, genel üretra darlıkları sınıflamasına girmezler. Travma sonrası pelvik fraktür ya da radikal prostatektomi ve pelvik radyasyon sonucunda fibrozis ile tam daralmaya varan bir süreçtir. Tanımlamada üretra darlığı yerine, üretral kontraktür veya stenoz kullanılması daha doğru olacaktır [25, 26].

2.5.1 Etiyoloji ve Epidemiyoloji

Üretra darlıkları genellikle yaşlı erkeklerde daha yaygın görülmektedir. Risk altındaki toplumda 100.000 hastada, 229 ile 627 (%0,6) hasta ilişkili bulmuştur. Üretra darlığı için risk faktörleri arasında ileri yaş, düşük sosyoekonomik düzey, Afroamerikan ırk, cinsel yolla bulaşan hastalık, liken skleröz ve prostat kanseri tedavisi öyküsü bulunmaktadır. Üretra darlığı şikayeti olan hastaların, alt üriner sistem şikayetleri mevcut olup idrar yolu enfeksiyonlarına karşı riski (%41) artmıştır. İdrar kaçırma şikayeti oranı (%11) daha fazla gösterilmiştir. Üretra darlığı sıklığı ve getirdiği ekonomik yük gelişmekte olan ülkelerde daha fazla gösterilmiştir [1, 3].

Meta analizlere göre etiyolojinin yaygın sebepleri arasında idiyopatik(%33), iyatrojenik(%33), travma sonrası (%19) ve inflamatuvar süreç (%15) oranında görülmüştür. Anterior üretra darlıkları %52 bulbar üretra düzeyinde daha sık görülmüştür [4].

Günümüzde idiyopatik üretra darlıklarının oranı artmaktadır. Farklı fikirler olsa da bu darlıkların nedeni net olarak belirlenememektedir. Bazı araştırmacılar farkına varılmayan veya çocuklukta gerçekleşen perineal travma sonrası geliştiğini düşünmüştür [27].

İyatrojenik üretra darlığı sonda uygulaması ve üretradan girilerek yapılan endoskopik cerrahi işlemler sonrasında gelişen darlıkları kapsamaktadır. Endoskopik işlemler sonrası gelişen darlıklar, genellikle daha kısa segmenti darlatmakta ve bulbomembranoz üretra düzeyinde daha sıklıkla görülmektedir. Bu işlemler içinde transüretral prostat rezeksiyonu sonrasında darlıklar daha sıklıkla gelişmiştir. Prostat kanseri nedeniyle pelvik radyoterapi uygulaması sonrası spongiyofibrozis gelişebildiği görülmüştür [15].

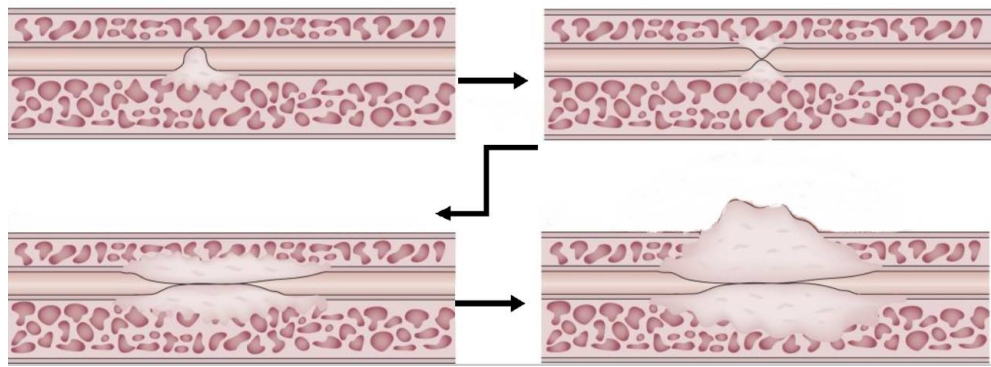
Travma sonrası gelişen anterior üretra darlıklarında daha çok bulbar üretranın proksimal kesimi ata biner tarzda künt travmalardan etkilenir. Darlık gelişimi kısa zaman sonra veya aylar, yıllar sonra oluşabilir [4].

İnflamatuvar darlıkların en sık nedeni günümüzde liken sklerozdür. Liken skleroz (LS) veya eski isme göre balanitis xerotice obliterans (BXO), sıklıkla genital bölgeyi etkileyen kronik inflamatuvar deri hastalığıdır. Palminteri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada üretra darlığı olan İtalyan hastaların %13.4'ünde, panüretral darlıkların ise %48.6'sında darlığın liken skleroze sekonder, olduğu gösterilmiştir. Enfeksiyöz sebeplere bağlı darlıklarda antibiyotik tedavisindeki gelişmeler ile, sıklığındaki oran ile ilgili tartışmalara neden olmaktadır. Enfeksiyöz darlıkların en sık gonokokal üretrite bağlı geliştiği gösterilmiştir [15].

2.5.2 Patofizyoloji

Genel olarak üretra darlığı, yeterli genişleme özelliğini kaybeden ve lümen kalibrasyonunda azalmayla sonuçlanan farklı derecelerde spongiyofibrozis ve epitel hasarını içeren bir süreci kapsamaktadır. Sürecin başlangıç kısmının , üretral epitelin skuamöz metaplazisi, patolojik değişim olarak gösterilmiştir. Skuamöz metaplazi artıp, doku hasarı arttıkça üriner ekstrasvasyon gelişir. Sonrasında spongiyofibrozis ve üretral lümende daralma gerçekleşir (Şekil 11). Üretra epiteli, bağ dokusu tabakası ile çevrilmiştir. Bu bağ dokusu, bol miktarda fibroblast ve kollajen içeren ekstrasellüler

matris (ECM) bulundurur. Normal üretra dokusunda kollajenin immunhistokimyasal incelemesinde baskın olan kollajenlerin tip I, III ve IV olduğu raporlanmıştır[26, 28]. Tip IV kollajen yalnızca sinozoidal ve vasküler boşlukların bazal membranında bulunur. Tip I ve III kollajen spongiyoz cisim boyunca dağılım göstermektedir. Daralan üretranın spongiyoz dokusunda tip III / tip I oranında tip III kollajen lehine değişme olduğu gösterilmiştir. Nitrik oksit metabolizmasındaki bazı önemli değişiklikler sonucunda spongiyofibrozis ile daralmış üretrada, düz kas dejenere olurken, kollajen sentezinin arttığı ve kollajen tiplerinin birbirine oranının değiştiği bulunmuştur [1, 29].



Şekil 11. Yalancı çok katlı epitelin skuamöz metaplazisi ile başlayan sürecin, spongiyofibrozis ve lümende daralma ile sonuçlanması [26]

İyatrojenik üretra darlıklarında temel olarak iskemi ve inflamasyon sonucu spongiyofibrozis geliştiği düşünülmektedir. Gonokokal üretrite bağlı gelişen darlıklarda temel mekanizme litre bezlerinde oluşan apse formasyonudur. Apsenin spongiyozuma ulaşması üzerine inflamasyon sonrasında spongiyofibrozis gelişir. Liken sklerözde epitelde kalınlaşma, epidermal incelme, dermiste kollajen birikmesi ve plazmositik infiltrasyon ile patofizyolojisi net olmayan bir süreç ile darlık gelişimine neden olmaktadır [15].

2.5.3 Üretra Darlığı Tanısı

2.5.3.1 Hasta Öyküsü ve Fiziksel İnceleme

Öykü almanın amacı, hastaya ne derecede rahatsızlık verdiği, olası etiyoloji ve risk faktörlerini belirleme, ilişkili sorunlar, cerrahi tedaviyi etkileyebilecek faktörleri değerlendirebilmektir. Üretra darlığı olan hastaların genelde başvuru şikayetleri azalmış idrar akım hızı, idrara başlayabilmek ve sürdürebilmek için ıkınma gereksinimi, mesaneyi tam boşaltamama hissiyatı, sık idrara çıkma, idrar retansiyonu gibi bazı alt üriner sistem semptomlarını (AÜSS) içerir. Ayrıca hastaların şikayetlerine bazen idrar kaçırma, ani işeme isteği, idrar yolu enfeksiyonu (İYE), prostatit, epididimoorşit, genitoüriner ağrı, hematüri, ejakulasyonda zorlanma gibi şikayetler de eşlik edebilir [1]. Üretra darlığı cerrahisine yönelik hasta kaynaklı değerlendirme formu (USS-PROM), üretra cerrahisi öncesi ve sonrası değerlendirmede hasta ile ilgili değerli bilgiler verir. Türkçe validasyonu da yapılmıştır [30].

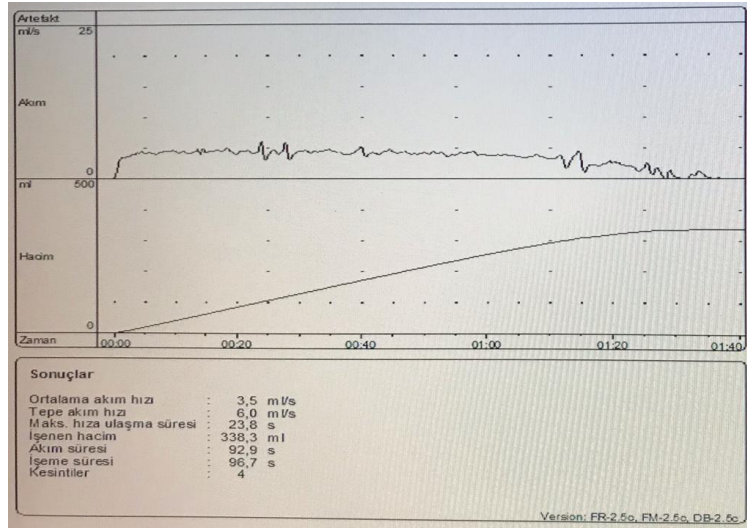
Hasta öyküsü sorgulanırken etiyoloji ve risk faktörlerine yönelik genitoüriner travma öyküsü, geçirilmiş cerrahiler, kateterizasyon öyküsü, üretra darlığına yönelik yapılmış girişimler, pelvik radyoterapi öyküsü, geçirilmiş üretrit ve idrar yolu enfeksiyonu sorgulanmalıdır. Komorbit hastalıkları ve kullandığı ilaçlar sorgulanmalıdır. Mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturan diğer patolojiler ve nöromusküler mesane disfonksiyonu ayırıcı tanıda düşünülmelidir [15].

Hastanın fiziksel muayenesinde, diğer AÜSS yapabilecek benign prostat hipertrofisi, ürogenital fistül gibi durumları ekarte etmeye özen gösterilmelidir [31]. İdrar retansiyonu şüphesinde suprapubik dolgunluk açısından palpasyon yapılması önerilir [32]. Penis derisi, eksternal meatusun yeri, meatusta darlık ve renk değişikliği olup olamaması üretra darlığı nedenlerinden olan liken skleröz açısından değerlendirilmeli, malignite şüphesi durumunda önce malignite ekartasyonu yapılmalıdır [33].

2.5.3.2 Üroflovetri ve Ultrasonografi

Üroflovetride işeme eğrisi paterni değerlendirilmesi ile üretra darlığından şüphelenilebilir. Üretra darlığında genelde akım hızının bir seviyeye kadar hızlı ulaşım bir düzeyde sabit kalarak daha düz bir akım paterni göstermektedir (Şekil 12) [34].

Maksimum akış hızının (Q_{maks}) yapılan çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde genel olarak 10-15 ml/sn'nin altında olması üretra darlığı cerrahi öncesi tanı ve sonrası nükslerde değerlendirmek için kullanılabilir [35]. İşeme sonrası suprapubik ultrasonografi veya daha invaziv yol olarak kateter ile artık idrar boşaltılarak, kalan artık idrar miktarı üroflovetri ile birlikte değerlendirildiğinde tanıda yardımcı olur [36]. Üretra ultrasonu başka bir ifade ile yüksek çözünürlüklü sonoüretrografi (SUG) özellikle anterior üretra darlıklarında retrograd üretrografi (RUG) ile karşılaştırılabilir düzeyde darlık uzunluğu ve lokalizasyonu saptama oranının yanında, spongiyofibrozis gösterebilmesi nedeniyle son dönemde öne çıkmaktadır. Değerlendiren kişiye bağımlı olması ve özel eğitim gerektiğinden yaygın olarak kullanılamaması önemli kısıtlamalarıdır [37].

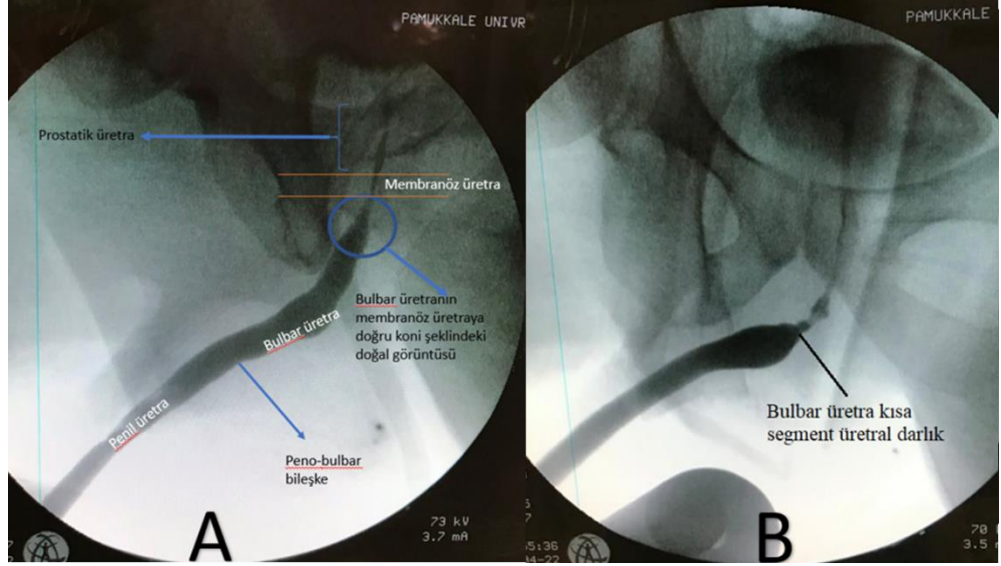


Şekil 12. Darlık paterni ile uyumlu üroflovetri eğrisi

2.5.3.3 Üretrografi

Retrograd Üretrografi (RUG) floroskopi altında yapılır ve üretral darlığın yeri, uzunluğunu, sayısını ve ilişkili durumları belirlemek için öncelikli kullanılan tanısal yöntemdir. İşeme sistoüretrografisi (VCUG) ile birlikte değerlendirildiğinde özellikle mesaneye opak madde geçişine izin vermeyen neredeyse tamamen dar üretra darlığı ve pelvik travma sonrası oluşan posterior üretral stenoz varlığında mesane boynu, prostatik üretra, mesane değerlendirilebilmesine olanak sağlar. Travma sonrası veya akut idrar retansiyonu sonrası takılmış olan suprapubik sistostomiden RUG ile eş zamanlı yapılacak olan antegrad üretrografi ameliyat planı açısından değerli bilgiler

verecektir. RUG özellikle bulbar üretra darlığında, oblik yaklaşık 45 derece açı ile uygulandığında üretrogram görüntüsünün süperpoze olmasının önüne geçerek daha anlamlı görüntü oluşmasını sağlar (Şekil 13) [38].



Şekil 13. A: Normal üretrografi B: Bulbar üretra darlığı

2.5.4.4 Üretrosistoskopi

Obstrüktif işeme semptomları olan hastalarda üretra darlığı tanısı ve ekartasyonunu gözle görerek kesinleştirilmesini sağlar. İnce kalibrasyonlu üretrosistoskopların kullanılması ile darlık bölgesinin arkasına geçişi sağlanarak proksimaldeki anatomik yapıların değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır. İşlem sırasında prostat, mesane boynu ve mesane de değerlendirilerek ek patolojilerin varlığının da dışlanması önerilir [39, 40].

2.5.4.5 Manyetik Rezonans Üretrografi (MRU)

MRU, pelvik fraktür sonucu gelişen yaralanmalarda, posterior üretral stenozlarda, anterior üretra darlığı tanısında kullanılmaya başlanmış olup ayrıca spogiyofibrozis, üretral malignite ve üretral fistül tanınmasında yardımcı olmaktadır. RUG ile karşılaştırıldığında benzer ve güvenilir tanısal sonuçlar göstermektedir. Maliyetli, zaman alıcı olması ve özellikle eğitim gerektirmesinden dolayı, ulaşılabilirliğinin az olması önemli bir sınırlayıcı faktör durumundadır [41, 42].

2.5.4 Üretra Darlığı Tedavisi

Üretra darlığına yaklaşımda standardizasyon açısından, Avrupa Üroloji Derneği'nin (EAU) 2021 üretra darlığı kılavuzu ve Amerikan Üroloji Derneği'nin (AUA) 2016 erkek üretra darlığı kılavuzu yardımcı olabilir.

Üretra darlığının, 10F genişlikten daha az kalibrasyona daralması durumunda semptom vermesi beklenmektedir. Asemptomatik darlıklar genellikle başka bir nedenle yapılan endoskopik işlemler sırasında tanı alır. 16F kalibrasyondan büyük asemptomatik darlığı olan hastalar izleme alındığında, 23 ay takip sonunda sadece %12 hastada düşük dereceli üretra darlığı geliştiği görülmüştür. Hastaların hiçbirine cerrahi girişim ihtiyacı olmamıştır. Bu hasta grubu endoskopik inceleme ile takip adaydır [43].

2.5.4.1 Endoskopik Tedavi Yöntemleri

Direk görüşlü internal üretrotomi (Direct vision internal urethrotomy/DVIU) 2 cm ve daha az uzunluktaki bulbar üretra darlıklarında yaklaşık %60 başarı oranı ile ilk tedavi seçeneğidir. Primer, tek segment, kısa darlıklarda üretral dilatasyon ve DVIU uygulanabilir. En yüksek başarı (%68) 1 cm ve daha az uzunluktaki bulbar üretra darlıklarında sağlanabilir. İlk nüks 3 ay içerisinde geliştiğinde tekrar yapılacak dilatasyon ve internal üretrotomi, sonrasında nüks açısından yüksek risk oluşturmaktadır. İlk nüks 6 ay sonrasında geliştiğinde tekrar dilatasyon ve internal üretrotomi başarı şansı yaklaşık %40 düzeyine ulaşabilir. İkinci nüks durumunda üçüncü bir üretral dilatasyon ve internal üretrotomi önerilmez. Tekrarlayan bu işlemler spongiyofibrozisi artıracığından dolayı, kesin tedavi olan üretroplastiyi geciktirmekte, komplike hale getirebilmekte, üretroplasti sonrası nüks ve başarısızlık için risk oluşturmaktadır [6, 44-46].

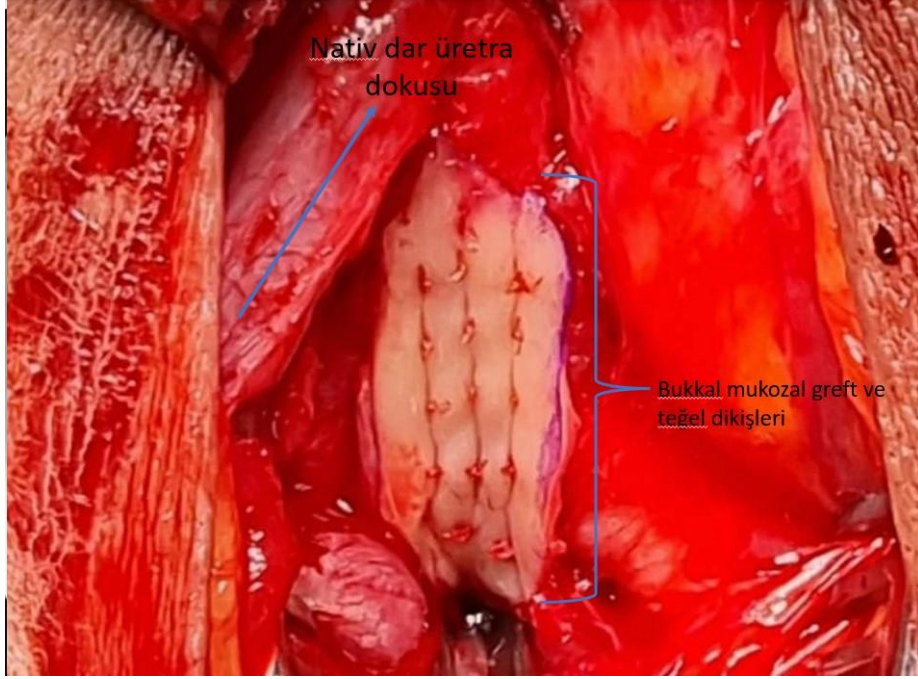
Üretral stentler üretra darlığı tedavisinde büyük oranda terk edilmiştir. Stentin zaman içerisinde korpus spogiyozum harabiyeti yapması ve devamında gömülmesi sonucunda çıkarılması gerekmekte ve çıkarılması oldukça komplike olabilmektedir [46].

Intralezyoner enjeksiyonlarla ilgili çeşitli moleküller denenmiştir. DVUI ile intralezyoner mitomisin C enjeksiyonunun birlikte uygulanmasının tek başına DVUI

uygulanmasına göre nüksü azaltmaya yardımcı olabileceği düşünülmüştür, ancak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Komorbiditesi fazla ve yaşlı hasta grubu gibi üretroplastinin uygulanamadığı durumlarda temiz aralıklı kateter uygulanabilir. Steroidli, kendinden kayganlaştırıcı kateterlerin kullanımında, steroidli olmayan kateter kullanımına göre kendi kendine dilatasyon sıklıklarının daha az olduğu gösterilmiştir [47, 48].

2.5.4.2 Üretroplasti

Açık prosedür olan üretroplasti günümüzde hasta volümü yüksek ve deneyimli merkezlerde uygulandığında %95'e ulaşabilen yüksek başarı oranı ile kesin tedavi olarak kabul görmektedir. Endikasyonların belirlenip, uygun teknik kararı sonrasında, özellikle pelvik travma sonrasında gelişen üretral stenozda, üretranın etkilenen bölgesi ve fibrotik çevresi çıkarılıp uç uca anastomoz ederek (anastomotik üretroplasti/EPA) veya daralan üretra kısmının uzunlamasına açılarak uygun greft veya flep ile üretra lümenini genişleterek (substitisyon üretroplastisi) uygulanabilir. Birden fazla açık prosedür bulunmaktadır. Açık tedavi tekniği kararında darlığın yeri, uzunluğu, sebebi, geçirilmiş cerrahileri, üretral pleytin niteliği, flep veya greft olarak kullanılacak dokunun uygunluğu, cerrahın hangi tekniklerde deneyimli olduğu gibi faktörler önem arz etmektedir [15, 49]. Üretroplasti teknikleri, kliniğimizde de yüz güldüren sonuçları ile uygulanmaktadır (Şekil 14) [50].



Şekil 14. Kliniğimizde uyguladığımız tekniklerden, bulbar üretra darlığında bukkal mukozal greft ile üretroplasti

2.6 MİKRORNA

Santral Dogma'ya göre gen ifadesi DNA/mRNA/protein şeklinde gerçekleşmektedir. Tam genom dizileme çalışmalarında, tüm RNA moleküllerinin %2'den daha azı gibi küçük bir kısmı protein kodlama ilgili genomun oluşturduğu, büyük bir kısmını ise protein kodlamayan RNA (ncRNA) olarak isimlendirilen düzenleyici fonksiyonları olan elemanların oluşturduğu görülmüştür [51]. Uzunluklarına göre 200 nükleotid sayısına göre 2 alt gruba ayrılırlar. MikroRNA (miRNA) bu alt grupta kısa ncRNA grubunda bulunur [52].

miRNA ilk olarak 1993 yılında Lee ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Kısa kodlayıcı olmayan yaklaşık 22 nükleotitten oluşan RNAlardır, transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenler [53]. Şu anda insanda keşfedilmiş 2000'den fazla miRNA bulunmaktadır. miRNA'lar birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Klinik tanı ve tedavi çalışmalarında kullanılmakta ve araştırılmaktadır [54]. miRNA'ların klasik bilinen etkisi mRNA'ların bölgelerine bağlanarak translasyonunu bloke ederek ya da tamamen parçalayarak gen ekspresyonunu düzenler [55]. Bazı miRNA'ların farklı

yollarla gen ekspresyonuna pozitif etkileri olabileceğini de gösteren çalışmalar mevcuttur [56].

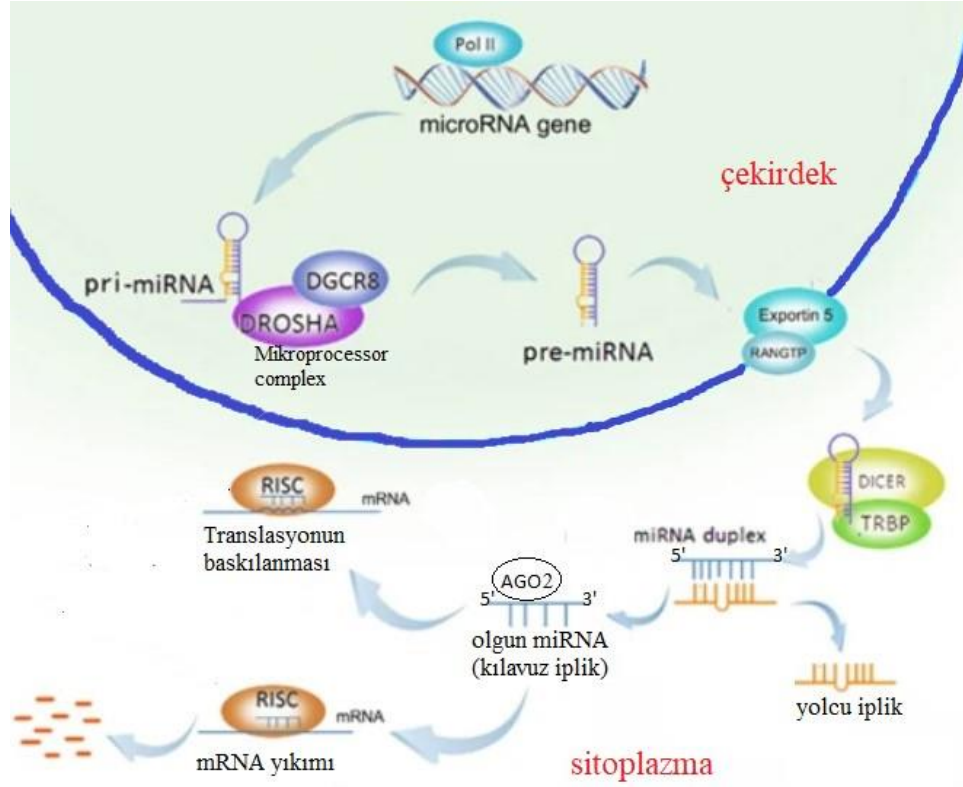
2.6.1 Genomda miRNA Geni

miRNA genleri, Y kromozomu hariç tüm kromozomlarda bulunur. Hem protein kodlayan hem kodlamayan protein bölgelerinde yerleşiktirler. miRNA'lar intragenik olarak intronik, ekzonik ve karışık (intronik-ekzonik) olarak ve intergenik olarak yerleşebilirler [56].

2.6.2 miRNA Biyogenezi

Memelilerde protein kodlayan genlerin %60'ından fazlası miRNA'ların kontrolü altındadır [57]. miRNA, RNA polimeraz II tarafından en az bir saç tokası (firkete) yapısı içeren pri-miRNA (uzun birincil transkript) olarak sentezlenir. Çekirdekte RNAaz III enzim ailesinin çift sarmallı endoribonükleazı olan Drosha ve çift iplikli RNA bağlayıcı protein olan DGCR-8 (Di George Sendrome Critical Region) ile stemloop ikincil yapısına sahip, yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda olan pre-miRNA (kısa prekürsör miRNA)'ya dönüştürülürler. Bu işlem Drosha ve DGCR-8'in oluşturduğu mikro işlemci kompleks (Mikroprocessor complex) tarafından gerçekleştirilir. Pre-miRNA'lar daha sonra nükleer taşıma resptörü olan XPO5 (Eksportin 5) ve nükleer protein olan GTP bağlayıcı Ras ile ilişki protein olan RAN ile sitoplazmaya aktarılırlar [58].

Sitoplazmada, çift sarmallı RNAaz enzimi olan Dicer ve kofaktörü olan TRBP (TAR RNA binding protein/transaktivasyondan sorumlu RNA bağlayıcı protein) ile saç tokası şeklindeki yapısı kesime uğrayarak yaklaşık 22 nükleotidten oluşan miRNA dupleksi oluştururlar. Oluşan miRNA dupleksi kılavuz iplik ve yolcu iplikten oluşur. Daha sonra dupleks miRNA, RISC (RNA ile indüklenen susturma kompleksi) oluşturmak için AGO2 (Argonat) proteinine yüklenir. AGO2 etkisiyle miRNA dupleksinin 5' ucu (daha az kararlı olan olgun miRNA kısmı (kılavuz iplik)) RISC kompleksine katılır, dupleksin diğer kısmı yolcu iplik elimine olur (Şekil 15) [59].



Şekil 15. miRNA biyogenezi [60]

2.6.3 miRNA Fonksiyonları

miRNA transkripsiyon sonrası hedef gen ekspresyonu düzenlemesi yaparak fonksiyon gösterir. Bir miRNA aynı anda, aynı hücrel sinyal yolu içinde yer alan farklı genleri hedefleyebilir. miRNA biyogenezinde anlatılan mekanizmalarla RISC ile kompleks oluşturan miRNA, baz eşleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır. mRNA'nın stabilitesini, translasyonunu, yıkımını dokuya özgün bir ekspresyon düzeyi göstererek düzenler. Yeni çalışmalarla artan kanıtlar, uzun kodlanmayan RNA'lar (lncRNA) ve miRNA'ların kistik fibrozis, endometrial fibrozis, kardiyak fibrozis, iskelet kası fibrozisi gibi birçok hastalıkta ve süreçte fibrozis mekanizmalarının düzenlenmesinde rol alabileceği gösterilmiştir. miRNA'ların son dönemde mRNA'lara klasik bilinen etkisinin haricinde, lncRNA ve dairesel RNA'lar (ceRNA) ile etkileşime girerek de fonksiyon gösterebileceğini belirten çalışmalar mevcuttur. miRNA'ların birden farklı genler ile de etkileşime girebilmesinin de etkisiyle hücre büyümesi, doku farklılaşması, embriyonik gelişim, apoptoz, progresyon,

inflamasyon, yaşlanma, karsinogenez, metabolizmanın düzenlenmesi gibi birçok önemli süreçleri etkilediği gösterilmiştir [7, 9, 61, 62].

Epigenetik DNA dizilerindeki (genotip) değişikliklerden kaynaklanmayan gen ifadesindeki tüm kalıtsal değişiklikler (fenotip) olarak tanımlanabilir. miRNA genleri DNA metilasyonu, DNA metiltransferaz enzimleri (DNMT) ve histon deasetilaz gibi epigenetik değiştiricilerin düzenleyicisi olarak kabul edilir [63].

2.6.4 miRNA Gen Düzenlenmesi

miRNA'lar işlevlerini genellikle mRNA'nın 3' UTR (untranslated region/translasyona uğramayan bölge) bölgesine bağlanarak, son bulgularda da 5' UTR, ORF(open reading frame/proteine kodlanan diziler) ya da promotör bölgelere bağlanarak oluşturduğu gösterilmiştir [64]. miRNA'ların "çekirdek dizisi" olarak ifade edilebilen yaklaşık 6 nükleotidli ana kısmı hedef mRNA'ya tam eşleşme sağlayacak şekilde bağlanırlar. Klasik bilinen bilgi miRNA'ların dağılımının sitoplazmada olduğudur. miRNA'nın, miRISC kompleksi oluşturarak tam eşleşme sonucunda mRNA'ya posttranskripsiyonel etki göstererek gen düzenlemesi yaptığı biliniyor. Ancak son çalışmalarda çekirdekte de olgun miRNA olabildiği gösterilmiştir, oluşum ve transport mekanizmalarının aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır [65]. Her bir mRNA'nın birden fazla miRNA tarafından hedef alınabildiği ve her bir miRNA'nın birden fazla mRNA'nın ekspresyonunun düzenlemesinde rol alabildiği düşünülmektedir [66].

miRNA'ların gen düzenlenmesindeki kilit rolü fizyolojik süreçlerin yanı sıra patolojik süreçler için miRNA'ları önemli hale getirmektedir. miRNA ekspresyonundaki bozulmalar sonucu hedef mRNA'yı etkileyerek yaşlanma gibi fizyolojik süreçleri ve kanser, immün sistem ve inflamatuvar hastalıklar, organ fibrozisi, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar gibi patolojik süreçleri etkilemektedir. miRNA'lar erken tanı ve prognostik süreçlerde yardımcı olarak kullanılabilir, çünkü dokuya özgündür ve ekspresyonu sıklıkla çeşitli hastalıklarda değiştirilir [7, 9, 56].

Biyobelirteç, normal biyolojik süreçler ve patolojik süreçlerin objektif göstergesi olarak tanımlanabilir. Tarih boyunca yapılan araştırmalar ve teknolojik

gelişmelerde keşfedilen biyobelirteçler gittikçe daha kesin ve güvenilir hale gelmektedir. miRNA'lar 2008 yılından bu yana hastalıkların incelemesinde kullanılmakta ve araştırılmaktadır. Günümüzde hala potansiyel biyobelirteç olarak düşünülmektedir. miRNA'ların kesin bir biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır [8].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 ÇALIŞMA DİZAYNI VE HASTA SEÇİMİ

Bu çalışmada travmaya bağlı olmayan üretra darlığı bulunan hastaların üretra dokularında, üretra darlığı ve miRNA ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma öncesi 15.03.2022 tarih ve 05 sayılı Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu onayı alındı. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” ile yapılacaklar hakkında bilgi verildi ve gönüllü olduklarına ilişkin imzaları alındı.

Hasta ve kontrol grubuna alınan kişilerin yaş, darlık etiyojisi, eşlik eden hastalık, olası risk faktörleri, önceden yapılan üretra darlığına yönelik girişim sayısı ve şekli sorgulanarak kaydedildi. Her iki grupta kadın ve 18 yaş altı hasta grubu dışlandı.

Travmaya bağlı olmayan üretra darlığı bulunup, önceden cerrahi tedavi yapılmış sonrasında nüks gelişen erkek hastalara tedavi için substitusyon üretroplastisi (bukkal mukozal greft ile üretroplasti) teknikleri ile ameliyat planlandı. Hasta grubu için, bu gruba dahil olan 30 hastadan ameliyat sırasında dar ve fibrotik olan üretra dokularından, cerrahi tedavi başarısını etkilemeyecek şekilde 3 ile 5 mm arası üretra dokusu örneği alındı. Travmaya bağlı oluşan üretral stenoz bulunan hastalara tedavi için anastomotik üretroplasti (EPA) planlandı. Kontrol grubu için, bu gruba dahil olan 15 hastadan operasyon sırasında üretra bütünlüğünü ve rekonstrüksiyonunu etkilemeyecek şekilde, normal cerrahi planda da spatilüze edildikten sonra fazlalıkların alındığı sağlıklı üretra dokusundan, 3 ile 5 mm arası üretra dokusu örneği alındı. Kontrol grubu da cerrahi ihtiyacı olan hastalardan seçildiği için, “hasta kontrol grubu” olarak da ifade edilebilir.

Hastalardan alınan doku örnekleri alınır alınmaz içinde RNA later solüsyonu bulunan tüplere konularak, -80 °C derin dondurucuda total RNA izolasyonu yapılacak tarihe kadar muhafaza edildi. Doku örnekleri hasta ve kontrol grubu olarak ve her numune ayrıca kodlanıp ayrıştırılarak not edildi. Hasta grubu içerisinde dokular, hasta özelliklerine göre yaş, darlık yeri ve uzunluğu, darlık nedeni, üretral darlığa yönelik geçirilmiş cerrahi sayısı, komorbidite ve liken skleroz varlığı durumlarını içerecek

şekilde her numune ayrı ayrı belirtilerek kodlandı. Kontrol grubu içerisindeki dokular yaş, komorbidite durumunu içerek şekilde her numune ayrı ayrı belirtilerek kodlandı.

Araştırmaya katılacak bireylerden toplanan üretra dokularından ticari kit aracılığıyla total RNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen RNA örneklerinde miRNA'ların ekspresyon düzeyleri gerçek-zamanlı PCR yöntemiyle araştırıldı.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Ekspresyon Analizi Yapılacak miRNA Seçimi

Literatürde üretra darlığı ile ilgili yapılmış benzer yeterli çalışma bulunmamaktadır. Üretra darlığı ile ilişkili olabilecek miRNA'ların belirlenmesi literatür taranması ile yapıldı. Üretra darlığında, patofizyolojideki süreçler detaylı bilinmemekte birlikte, bir dizi reaksiyonla inflamatuvar süreçler ile oluşan spongiyofibrozisin süreçte sorumlu olduğu gösterilmiştir [29]. Fibrotik süreçler organa özgü bir dizi tetikleyici reaksiyon ile başlamasına rağmen genel süreç ve ilişkili sinyal yolları organlar arasında büyük oranda benzerlik göstermektedir [2]. miRNA'lar transkripsiyon sonrası etki göstererek gen düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Sebebi ve prognozu yeteri kadar aydınlatılmayan patolojik süreçler ve hastalıklarda, miRNA'lar ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. miRNA'lar organ fibrozisinde, fibrotik süreçleri farklı yollarla etkileyebilmektedir [7-9]. Üretra darlığı ile ilişkisi çalışılmış miRNA'lar ve diğer organlardaki inflamatuvar süreçler ile fibrozis ilişkisinin değerlendirildiği çalışmalarda miRNA'lar, literatür taranarak incelendi.

Üretra darlığı nedenlerinden biri liken sklerözdür. Üretrasında liken skleröz olan üretra darlığı bulunan hastalarda, liken skleröz olmadan üretra darlığı olan hastalara göre miR-146a-5p, miR-155-5p, miR-142-3p'nin miRNA ekspresyonlarında kat değişimi oranı sırası ile 2.46, 2.03, 1.85 bulunmuştur [67]. Hepatik fibrozisin incelendiği çalışmada miR-146a-5p'nin fibrotik süreçlerdeki rolü gösterilmiştir [68]. miR-155-5p'nin, renal fibrozis ve akciğer fibrozisinde düzeylerinde farklılıklar olduğu belirtilmiştir [69]. Kronik inflamatuvar cilt hastalığı olarak tanımlanabilen psoriasisde miR-142-5p'nin inflamatuvar süreçlerde etkisinin olabileceği ifade edilmiştir [70]. Pelvik fraktürle travmatik yolla gelişen üretra darlığı olan hastaların skarlı dokusu ile normal üretral mukozası arasında miRNA'ların çalışıldığı bir çalışmada, fibroziste rol

alan Transforming Growth Faktör Beta (TGF-Beta) ile de ilişkili olduğu düşünülen skarlı ve fibrotik dokuda miR-129-5p ve miR-9-5p ekspresyonlarında katlı değişimi sırası ile 3.75, 2.08 bulunmuştur [71]. miR-129-5p'nin sistemik sklerozda [72] ve renal fibroziste [73] düzenleyici rollerine değinilmiştir. İdiyopatik pulmoner fibroziste miR-9-5p'nin antifibrotik etkileri olabileceği gösterilmiştir [74]. Ürolojide yara iyileşmesinin incelendiği bir derlemede üretral iyileşmenin, dermal iyileşmeye benzer fazlarda gerçekleştiği ancak daha uzun sürdüğü belirtilmiştir [75]. İçlerinde kronik inflamatuvar cilt hastalığı olan psoriazisin de bulunduğu, immun aracılı inflamatuvar bozuklukların incelendiği çalışmada miR-26b düzeyi kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur [76]. Ratlarda miyokardiyal fibrozis incelendiğinde, fibrosizde rol alan bazı genler, miR-26b ile ilişkili bulunmuştur [77, 78]. Okuler fibrozis baskılanmasında miR-26b'nin etkileri olabileceği gösterilmiştir [79]. Yara iyileşmesinin ürolojideki süreçlerinin incelendiği derlemede, miR-29a'nın yara iyileşmesinin yeniden şekillenme fazında kollojen birikimi ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir [75]. Bir bağ dokusu hastalığı olan cilt ve iç organ tutulumları ile karakterize sistemik sklerozda miR-29a'nın, inflamasyonda düzenleyici olabileceği gösterilmiştir [80]. Literatürde üretra darlığı ile miR-26b ve miR-29a'nın ilişkisini değerlendiren çalışmaya rastlanılmadı. miR-26b ve miR-29a'nın diğer doku ve organlara etkisi nedeniyle, üretra darlığı ile bu miRNA'ların ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Literatür taraması sonucunda bu çalışmada araştırılacak miRNA'lar olarak, miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p, miR-9-5p belirlendi ve değerlendirildi. Araştırmaya katılan bireylerden toplanan üretra dokularından ticari kit aracılığıyla total RNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen RNA örneklerinde, belirlenen miRNA moleküllerinin ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı PCR yöntemiyle araştırıldı. miRNA ekspresyonlarının değerlendirilmesinde $2\Delta Ct$ yöntemi, kantitasyonda kontrol miRNA olarak U6 kullanıldı.

3.2.2 miRNA İzolasyonu

miRNA izolasyonu için Tablo 1'de markası, adı ve katalog numarası verilen materyaller kullanılmıştır.

Tablo 1. miRNA İzolasyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri

Kullanılan Kitin Markası	Kitin Adı	Katalog No
GeneAll	RiboEx	301-001
GeneAll	Hybrid-R miRNA	325-150

miRNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Örneklerin homojenize edilmesi; 200 µL örnek üzerine 500 µL RiboEx eklendi ve pipetaj yapılarak karışması sağlandı.
2. Karışım 5 dk. oda ısısında inkübe edildi.
3. Karışım 11.000rpm, 10 dk., 4°C koşullarında santrifüj yapıldı ve süpernatant başka bir tüpe aktarıldı.
4. Karışım üzerine 100 µl kloroform eklenerek karıştırıldı. 2 dk. oda ısısında inkübe edildi.
5. 11.000rpm, 1 dk., 4°C koşullarında santrifüj yapıldı ve süpernatant başka bir tüpe aktarıldı.
6. Süpernatant üzerine %50 etanol eklenerek pipetaj yapıldı.
7. Elde edilen karışım TypeB kolona 700 µL hacimde aktarıldı.
8. 11.000rpm, 1 dk., oda sıcaklığı koşullarında santrifüj edildi.
9. Altta kalan sıvının üzerine 1:1 oranda %100 etanol eklenerek pipetaj yapıldı.
10. Daha sonra karışım 650 µL hacimde TypeW kolona aktarıldı.
11. 11.000rpm, 1 dk., oda sıcaklığı koşullarında santrifüj edildi.
12. Geriye kalan örnek olması durumunda 9-10. işlemler tekrarlandı.
13. Collection tüp yenisi ile değiştirildi ve üzerine 500 µL RBW Buffer eklendi.
14. 11.000rpm, 1 dk., oda sıcaklığı koşullarında santrifüj edildi.
15. Collection tüp yenisi ile değiştirildi ve üzerine 500µL RNW Buffer eklendi.
16. 11.000rpm, 1 dk., oda sıcaklığı koşullarında santrifüj edildi.
17. 15-16. işlemler tekrarlandı.
18. Collection tüp yenisi ile değiştirildi ve üzerine bir şey eklenmeden 11.000rpm, 2 dk., oda sıcaklığı koşullarında santrifüj edildi. Kolon temiz bir tüpe alındı.
19. Kolon üzerine 50 µL RNase-free su eklendi ve 2dk. oda sıcaklığında bekletildi.
20. 11.000rpm, 2 dk., oda sıcaklığı koşullarında santrifüj edildi. Elde edilen miRNA örnekleri -80°C sıcaklıkta donduruldu.

3.2.3 miRNA-cDNA Sentezi

miRNA izolasyonu sonrasında miRNA-cDNA sentezi aşamasına geçilmiştir. Araştırılacak her bir miRNA için spesifik “stem-loop primer” dizayn edilerek cDNA sentezinde bu primerler kullanılmıştır. Stem-loop primerler miRNA’dan cDNA sentezi yaparken miRNA dizisi ile spesifik bağlandığı için oldukça güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir. miRNA-cDNA sentezi için kullanılan kitin markası, adı ve katalog numarası ve primer bilgileri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. miRNA-cDNA Sentezi İçin Kullanılan Materyal Bilgileri

Kitin Markası	Kitin Adı	Katalog No
A.B.T. TM	A.B.T. TM cDNA Synthesis Kit with Rnase inh. (High Capacity)	C03-01-05

miRNA-cDNA sentezi için kullanılan mastermix bilgileri Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. miRNA-cDNA Sentezi İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri

MasterMix Bileşenleri	Hacim
10X Reaksiyon tamponu	1 µl
Stem-loop primer (miRNA spesifik)	1 µl
20X dNTP mix	0.5 µl
Reverse transkriptaz	0.5 µl
RNase Inhibitor	0.25 µl
RNase free Water	5.75 µl
miRNA örneği	1 µl
TOPLAM	10 µl

miRNA-cDNA sentezi için mastermix hazırlandıktan sonra reverse transkripsiyon reaksiyonuna geçilmiştir. miRNA-cDNA sentezi için kullanılan reverse transkripsiyon reaksiyonunun koşulları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. miRNA-cDNA Sentezi Reaksiyonu Koşulları

	Adım 1	Adım 2	Adım 3	Adım 4
Sıcaklık (°C)	25	37	85	4
Süre	10 dk.	120 dk.	5 dk.	-

Elde edilen miRNA-cDNA örnekleri Real-Time PCR aşamasına kadar -80°C sıcaklıkta donduruldu.

3.2.4 Real-Time qPCR

miRNA-cDNA elde edildikten sonra Real-Time qPCR aşamasına geçilmiştir. Real-Time qPCR için kullanılan kitin markası, adı ve katalog numarası ve primer bilgileri Tablo 5 ve 6’da belirtilmiştir.

Tablo 5. Real-Time qPCR İçin Kullanılan Materyal Bilgileri

Kitin Markası	Kitin Adı	Katalog No
A.B.T. TM	A.B.T. TM 2X miRqGreen MasterMix	Q04-01-01

Tablo 6. Real-Time qPCR İçin Kullanılan Primer Bilgileri

miRNA Adı	Primer Dizisi	Sentezleyen Firma
>miR-9-5p-F	TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA	BioOligo
>miR-26b-5p-F	TTCAAGTAATTCAGGATAGGT	BioOligo
>miR-146a-5p-F	TGAGAACTGAATTCCATGGGTT	BioOligo
>miR-155-5p-F	TTAATGCTAATCGTGATAGGGGTT	BioOligo
>miR-142-3p-F	TGTAGTGTTTCCTACTTTATGGA	BioOligo
>miR-129-5p-F	CTTTTTGCGGTCTGGGCTTGC	BioOligo
>miR-29a-F	ACTGATTTCTTTTGGTGTTTCAG	BioOligo
>u6-F	GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT	BioOligo
>UniversalReverse	CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT	BioOligo

Real-Time qPCR için kullanılan mastermix bilgileri Tablo 7’de belirtilmiştir.

Tablo 7. Real-Time qPCR İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri

MasterMix Bileşenleri	Hacim
A.B.T. TM 2X miRqGreen MasterMix	10 µl
miRNA Specific Forward Primer	1 µl
miRNA Universal Reverse Primer	1 µl
miRNA-cDNA Template	2 µl
RNase-Free Distilled Water	Up to 20 µl
TOPLAM	20 µl

Mastermix hazırlandıktan sonra Real-Time qPCR reaksiyonuna geçilmiştir. Real-Time qPCR için kullanılan reaksiyon koşulları Tablo 8’de belirtilmiştir. Real-Time qPCR reaksiyonu Applied BiosystemsTM 7500 Fast Real-Time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 8. Real-Time qPCR Reaksiyonu Koşulları

PCR Step	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Initial Denaturation	95	300 sn.	1
Denature	95	10 - 30 sn.	40
Anneal	60	10 - 60 sn.	
Melting Curve	65 - 95	2 - 5 sn./step	1

3.2.5 Relatif Ekspresyon Hesaplanması

Relatif miRNA ekspresyon değerleri u6 referans olarak kullanılarak “ $\Delta\Delta Ct$ ” yöntemiyle hesaplanmıştır. $\Delta\Delta Ct$ hesaplaması aşağı açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Hem hedef grupta hem de referans grupta her bir örneğin hem hedef miRNA hem de referans miRNA için Real-Time PCR sonucunda Ct değerleri elde edilmiştir. Örnekler üç teknik tekrarlı çalışıldığından dolayı her bir örneğin üç sonucunun ortalaması alınmıştır. Hesaplamalara bu ortalama değer üzerinden devam edilmiştir.
2. Hedef grupta hedef miRNA Ct değerinden referans miRNA Ct değeri çıkarılarak hedef grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
3. Referans grupta hedef miRNA Ct değerinden referans miRNA Ct değeri çıkarılarak referans grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
4. Hedef grup ΔCt değerlerinden referans grup “ ΔCt ortalama değeri” çıkarılarak $\Delta\Delta Ct$ değerleri elde edilmiştir.
5. $\Delta\Delta Ct$ değerleri “ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ” şeklinde işleme alınarak katlı değişim (fold change) hesaplanması yapılmıştır.
6. Hedef grubun relatif ekspresyon değeri hesaplanırken, referans gruba göre katlı değişim değeri hesaplandığından referans grubun ekspresyon değeri 1’dir. Katlı değişim değeri 1’in üzerinde çıkması durumunda hedef grubu miRNA ekspresyonunun referans grubun miRNA ekspresyonuna göre relatif olarak artış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. Katlı değişim değeri 1’in altında çıkması durumunda ise hedef grubu miRNA ekspresyonunun referans grubun miRNA ekspresyonuna göre relatif olarak azalış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

3.2.6 İstatiksel Analiz

Daha önce yapılmış prospektif benzer bir çalışma literatürde yapılmadığı için Cohen etki büyüklüğü 0.8 (büyük etki düzeyinde), $\alpha=0.05$ yanılma düzeyinde 0.80 güç ile saptamak için travmaya bağlı olmayan üretra darlığı grubunda 39 hasta, kontrol grubunda 19 hasta olmak üzere toplam 58 hastanın çalışmaya alınması planlandı. Maliyet kısıtlıkları nedeniyle, travmaya bağlı olmayan üretra darlığı grubunda 30

hasta, kontrol grubunda 15 hasta çalışmaya dahil edilebildi. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama (Ort), standart sapma (SS), medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov- Smirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test kullanıldı. Analizlerde SPSS 28.0 programı kullanıldı. Tüm analizlerde $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

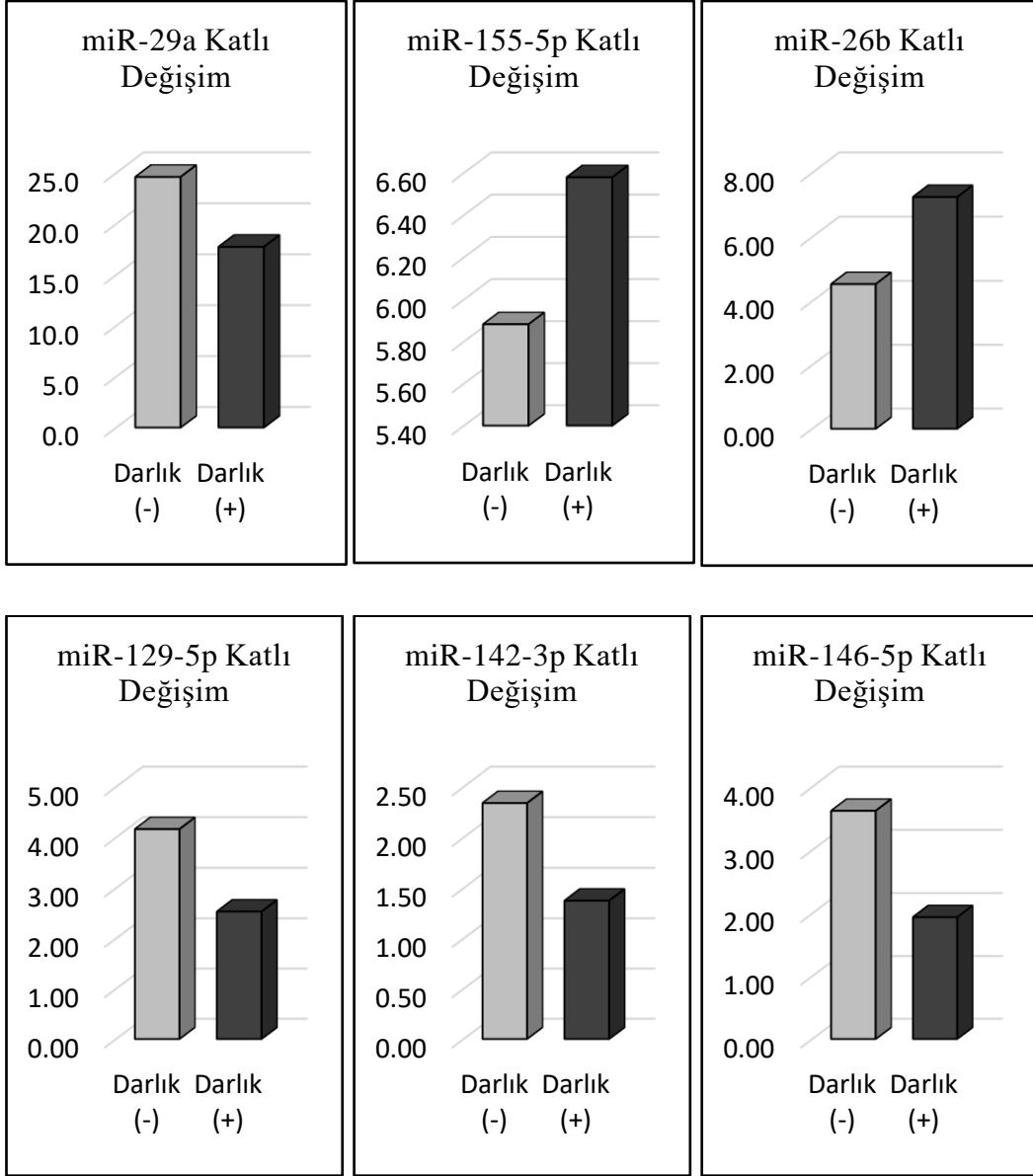
Üretra darlığı olan hasta grubu (darlık (+)) ile normal üretra dokusu bulunan kontrol grubunun (darlık (-)) miRNA katlı değişim (fold change) değerleri karşılaştırıldı.

Üretra darlığı bulunan 30 hastalık grup ve 15 hastalık kontrol grubu arasında miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$). Üretra darlığı olan grupta miR-9-5p katlı değişim değeri kontrol grubundan istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) daha düşük bulundu (Tablo 9). Bulguların grafikleri Şekil 16 ve 17’de gösterilmiştir.

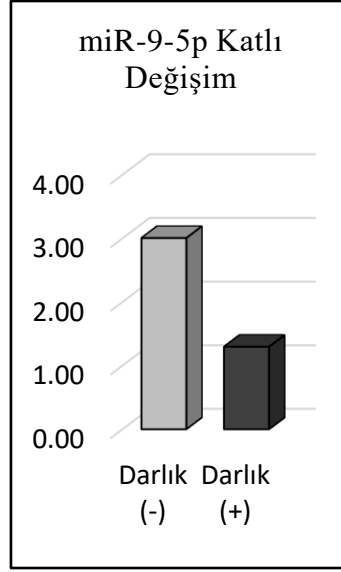
Tablo 9: Üretra darlığı bulunan grup ile kontrol grubunun karşılaştırılması

	Darlık (-)		Darlık (+)		P
	Ort.±ss	Medyan	Ort.±ss	Medyan	
miR-29a katlı değişim	24.60 ± 30.20	6.25	17.74 ± 23.59	6.75	0.810 ^m
miR-155-5p katlı değişim	5.88 ± 6.39	5.28	6.58 ± 8.01	4.43	0.962 ^m
miR-26b katlı değişim	4.53 ± 4.94	2.11	7.24 ± 6.36	6.25	0.092 ^m
miR-129-5p katlı değişim	4.16 ± 5.50	1.46	2.53 ± 2.89	1.50	0.904 ^m
miR-142-3p katlı değişim	2.34 ± 4.14	1.05	1.38 ± 1.17	1.09	0.923 ^m
miR-146-5p katlı değişim	3.62 ± 5.07	1.36	1.94 ± 1.62	1.52	0.981 ^m
miR-9-5p katlı değişim	3.00 ± 4.58	1.46	1.30 ± 4.12	0.16	0.005 ^m

^m Mann-whitney u test



Şekil 16. miRNA'ların katlı değişim değeri grafikleri yukarıda verilmiştir. Katlı değişim değerleri miR-155-5p ve miR-26b üretra darlığı bulunan grupta yüksek bulundu ve miR-29a, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p ise kontrol grubunda yüksek bulundu ancak tüm bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P > 0.05$).



Şekil 17. Yukarıda katlı değişim grafiği verilen miR-9-5p'nin katlı değişim değeri travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı olan grupta, istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) kontrol grubundan daha düşük bulundu.

Belirlenen miRNA'larda üretra darlığı bulunan hastaların ayrıca ikili alt gruplara ayrılması ve kontrol grubu ile birlikte karşılaştırılması planlandı. Üretra darlığı nedeninin bilinip bilinmemesine göre, darlık uzunluğuna göre ve eşlik eden diyabetes mellitüs (DM) varlığı durumuna göre hasta grubu 3 farklı alt gruba ayrıldı. Bu gruplar kontrol grubu ile birlikte istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışmamızda panüretal darlığı bulunan (panüretra (+)) 10 hastanın ortalama darlık uzunluğu 13,9 (10-16) santimetre idi. Üretra darlığı bulunup daha kısa segment darlığı bulunan (panüretra (-)) 20 hastanın ortalama darlık uzunluğu 4,25 (1-8) santimetre idi. Panüretal darlığı bulunan 4 (%40) hastanın klinik incelemesi Liken Skleröz ile uyumlu idi. Darlık uzunluğuna göre yaptığımız alt gruplamada (panüretra (+)) 10 (%33,3) hastalık grup, (panüretra (-)) 20 (%66,7) hastalık grup ve 15 hastalık kontrol grubu istatistiksel analizlerde karşılaştırıldı. miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p gruplar arası katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$). miR-9-5p kontrol grubu katlı değişim değeri istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) yüksek bulunmuştur. Panüretra (+) ve panüretra (-) gruplarda anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10: Üretra darlığı uzunluğuna göre alt grupların karşılaştırılması

		1-Panüretra (-)	2-Panüretra (+)	3-Kontrol	P	P	P	P
						1,2	1,3	2,3
miR-29a katlı değişim	Ort.±ss	16.3 ± 21.1	20.7 ± 29.0	24.6 ± 30.2	0.812 ^k	0.538	0.665	0.868
	Medyan	5.12	7.27	6.25				
miR-155-5p katlı değişim	Ort.±ss	7.03 ± 9.31	5.68 ± 4.72	5.88 ± 6.39	0.913 ^k	0.481	0.920	0.956
	Medyan	3.72	4.60	5.28				
miR-26b katlı değişim	Ort.±ss	7.60 ± 7.25	6.52 ± 4.32	4.53 ± 4.94	0.242 ^k	0.930	0.110	0.222
	Medyan	6.25	6.26	2.11				
miR-129-5p katlı değişim	Ort.±ss	2.81 ± 3.45	1.97 ± 1.06	4.16 ± 5.50	0.884 ^k	0.567	1.000	0.782
	Medyan	1.26	1.71	1.46				
miR-142-3p katlı değişim	Ort.±ss	1.30 ± 1.29	1.53 ± 0.91	2.34 ± 4.14	0.882 ^k	0.253	0.594	0.506
	Medyan	0.83	1.39	1.05				
miR-146-5p katlı değişim	Ort.±ss	1.77 ± 1.65	2.28 ± 1.58	3.62 ± 5.07	0.508 ^k	0.291	0.868	0.739
	Medyan	1.16	2.37	1.36				
miR-9-5p katlı değişim	Ort.±ss	1.48 ± 4.81	0.93 ± 2.36	3.00 ± 4.58	0.020^k	0.826	0.011	0.027
	Medyan	0.17	0.12	1.46				

^k Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

Üretra darlığı bulunan hasta grubu darlık nedenine göre alt gruplara ayrıldı. Nedeni bilinen üretra darlığı bulunan hastaların öyküsünde, çalışmamızdaki üretra darlığı bulunan toplam hasta sayısı baz alınarak oranlandığında 13 (%43,3) hasta iyatrojenik nedenler, 6 (%20) hastanın öyküsünde inflamatuvar nedenler olduğu görüldü. Nedeni bilinmeyen (idiyopatik) darlıklar da 11 (%36,7) hastayı oluşturmaktaydı. Nedeni bilinmeyen üretra darlığı olan 11 hastalık grup, nedeni bilinen üretra darlığı bulunan 19 hastalık grup ve 15 hastalık kontrol grubu istatistiksel analizlerle karşılaştırıldı. miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p katlı değişim değeri anlamlı ($P > 0.05$) farklılık göstermemiştir. miR-9-5p, kontrol grubu katlı değişim değeri istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) yüksek bulunmuştur. İdiyopatik üretra darlığı ve nedeni bilinen darlık gruplarında anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0,05$) (Tablo 11).

Tablo 11: İdiyopatik üretra darlığı ve nedeni bilinen darlık alt grup karşılaştırılması

		1-İdiyopatik Darlık	2-Nedeni Bilinen Darlık	3-Kontrol	P	P 1,2	P 1,3	P 2,3
miR-29a katlı değişim	Ort.±ss	10.8 ± 15.8	21.7 ± 26.7	24.6 ± 30.2	0.510 ^k	0.237	0.421	0.849
	Medyan	1.02	8.25	6.25				
miR-155-5p katlı değişim	Ort.±ss	7.04 ± 10.24	6.31 ± 6.70	5.88 ± 6.39	0.934 ^k	0.747	0.815	0.822
	Medyan	4.30	4.56	5.28				
miR-26b katlı değişim	Ort.±ss	6.89 ± 4.05	7.45 ± 7.48	4.53 ± 4.94	0.213 ^k	0.591	0.113	0.171
	Medyan	6.29	5.81	2.11				
miR-129-5p katlı değişim	Ort.±ss	4.30 ± 3.94	1.51 ± 1.34	4.16 ± 5.50	0.220 ^k	0.037	0.484	0.768
	Medyan	2.99	1.15	1.46				
miR-142-3p katlı değişim	Ort.±ss	1.48 ± 1.21	1.32 ± 1.17	2.34 ± 4.14	0.850 ^k	0.561	0.815	0.768
	Medyan	1.14	0.99	1.05				
miR-146-5p katlı değişim	Ort.±ss	1.78 ± 1.66	2.03 ± 1.63	3.62 ± 5.07	0.928 ^k	0.621	0.938	0.931
	Medyan	1.01	1.57	1.36				
miR-9-5p katlı değişim	Ort.±ss	0.48 ± 0.65	1.77 ± 5.15	3.00 ± 4.58	0.020^k	0.983	0.014	0.018
	Medyan	0.17	0.16	1.46				

^k Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

Üretra darlığı bulunan (darlık(+)), eşlik eden hastalığı olmayan (eşlik eden hastalık (-)) 19 hastalık grup ve üretra darlığı bulunan (darlık(+)), diyabetes mellitusu bulunan (DM(+)) 6 hastalık grup ile kontrol grubundaki eşlik eden hastalığı bulunmayan (eşlik eden hastalık (-)) 12 hastalık grup karşılaştırıldı. miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p, miR-9-5p katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Diyabetes mellitus ile üretra darlığı ilişkisinde alt grupların karşılaştırılması

		Darlık(+) ve Eşlik Eden Hastalık (-)	Darlık(+) ve DM (+)	Kontrol ve Eşlik Eden Hastalık (-)	p
miR-29a katlı değişim	Ort.±ss	15.7 ± 22.0	16.1 ± 20.4	22.6 ± 31.0	0.859 ^k
	Medyan	2.54	8.74	5.52	
miR-155-5p katlı değişim	Ort.±ss	7.03 ± 8.58	8.97 ± 8.60	5.91 ± 6.76	0.723 ^k
	Medyan	4.64	6.04	5.04	
miR-26b katlı değişim	Ort.±ss	7.40 ± 6.30	9.73 ± 8.03	4.97 ± 5.31	0.293 ^k
	Medyan	6.55	8.21	2.99	
miR-129-5p katlı değişim	Ort.±ss	2.98 ± 3.40	2.62 ± 1.47	3.05 ± 4.45	0.534 ^k
	Medyan	1.49	2.49	0.95	
miR-142-3p katlı değişim	Ort.±ss	1.40 ± 1.28	0.82 ± 0.44	2.45 ± 4.65	0.894 ^k
	Medyan	0.99	0.88	0.74	
miR-146-5p katlı değişim	Ort.±ss	2.11 ± 1.71	1.93 ± 1.81	3.08 ± 5.34	0.635 ^k
	Medyan	1.57	1.39	0.85	
miR-9-5p katlı değişim	Ort.±ss	1.53 ± 4.94	0.33 ± 0.40	3.18 ± 5.13	0.115 ^k
	Medyan	0.16	0.15	1.03	

^kKruskal-wallis (Mann-whitney u test)

5. TARTIŞMA

Üretra darlıkları hasta sağlığını, yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Üretra darlığı tedavi edilmemesi durumunda ürolojik ciddi sorunlara yol açabilir [3, 5]. Üretra darlığının patofizyolojisindeki mekanizma detaylı olarak bilinmemektedir. Sürecin başlangıç kısmının bir dizi reaksiyonla oluştuğu düşünülen spongiyofibrozis ve devamında oluşan üretral lümende daralma olarak kabul görmektedir [29]. Patofizyolojinin aydınlatılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Üretra darlığının kesin tedavisi, cerrahi tedavidir. Endoskopik yöntemler bazı özellikli durumlarda denenebilir. Ancak tekrarlayan endoskopik tedavi alternatifleri faydadan çok zarar getirip kesin tedavi olan üretroplastinin cerrahisini ve başarısını zora sokabilmektedir [6]. Hasta bazlı düşünüldüğünde erken nüks öngörülebilirse endoskopik yöntemlerde ısrar edilmeden, kesin tedavi olan üretroplastinin ilk seçenek uygulanması düşünülebilir.

Fibrozis, kronik hastalıklar ile organ hasarı gibi süreçlerin patogenezinde rol alan bir süreçtir. Fibrotik süreçler, profibrotik fibroblastlar tarafından, kollajen gibi ECM proteinlerinin fazla miktarda hücreler arası alanda birikmesi olarak tanımlanabilir. Normal şartlarda ECM bileşenlerinin oluşması ve yıkımı bir denge içerisinde çalışır. Bu sürecin fibrotik tarafa doğru kayması, organa özgü bir dizi tetikleyici ile oluşmasına rağmen, fibrotik süreç ve ilişkili sinyal yolları farklı organlarda yüksek oranda benzerlik göstermektedir[2]. Üretra darlığındaki fibrotik süreç, üretraya özgü bir dizi durum ile tetiklenip ve sürecin devamı veya bir kısım sinyal yolları diğer organ ve doku fibrozisindeki süreçlerle benzerlik gösterebilir.

miRNA'ların transkripsiyon sonrası gen düzenlenmesindeki etkisinin klasik bilinen etkisine ilave olarak, yeni çalışmalarla birlikte farklı yollarla doğrudan veya dolaylı olarak etki gösterebileceği düşünülmüştür. Bilinen klasik etkisi mRNA'ların ilgili bölgelerine bağlanarak translasyonunu bloke ederek veya tamamen yıkarak protein sentezini inhibe etmesi olarak bilinmektedir [9, 55, 56]. miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen düzenlenmesindeki rolleri nedeniyle organ fibrozisinde,

fibrotik süreçleri çeşitli etkileri ile etkileyebilmektedir [9]. miRNA'ların üretra darlığında ve spogiyofibroziste patofizyolojide pozitif veya negatif etkileri olabilir.

Bu çalışma yaptığımız literatür taramasına göre, travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı bulunan üretra dokusu ve kontrol grubu üretra dokusu arasında miRNA katlı değişim değerlerini karşılaştırılan ilk çalışmadır.

Literatür taraması ile bu çalışmada araştırılacak miRNA'lar olarak, miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p, miR-9-5p belirlenip değerlendirildi. Vaka ve kontrol grupları arasında miRNA'ların katlı değişim değeri (fold change) istatistiksel olarak karşılaştırıldı, anlamlı çıkan ve anlamlı çıkmayan sonuçlar bu bölümde tartışılacaktır.

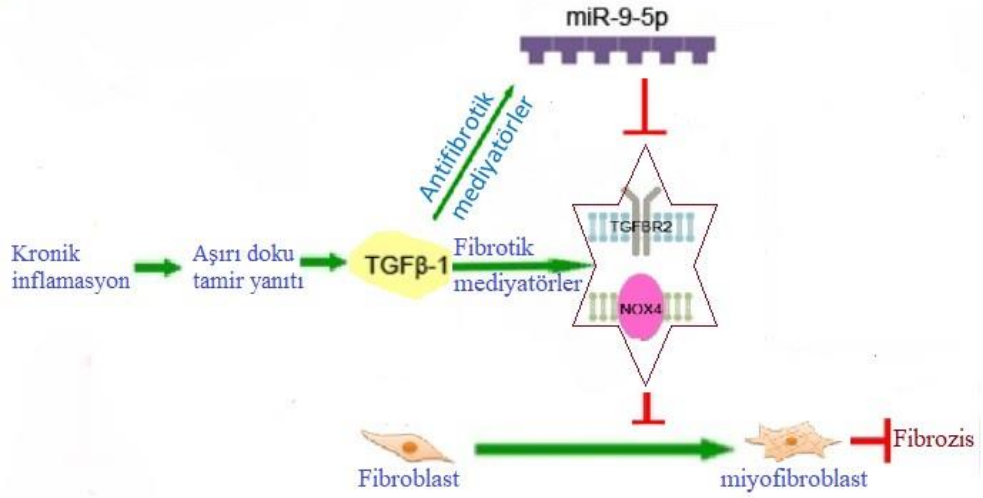
Yapılan analizler sonucunda katlı değişim değerinin, travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı olan grupta, anlamlı olarak ($P < 0.05$) kontrol grubundan daha düşük olduğu bulunan miR-9-5p öncelikle tartışılacaktır (bkz. Şekil 18).

Pelvik fraktüre bağlı travmatik yolla gelişen üretral stenozu olan hastaların fibrotik ve skarlı dokusu ile normal üretral mukozası arasında mikroRNA'ların çalışıldığı bir çalışmada, fibroziste rol alan Transforming Growth Faktör Beta (TGF-Beta) ile de ilişkili olan miR-9-5p ekspresyonlarında katlı değişimi fibrotik ve skarlı üretra dokusunda upregüle görülmüş, katlı değişim değeri yüksek (2.08) bulunmuştur. miR-9-5p'nin önceki çalışmalarda gösterilen fibrozis karşıtı etkileri özetlenmiştir ancak bu upregülasyonun fibrozusun indüklediği bir yanıt olabileceğine de değinilmiş, yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir [71].

miR-9-5p'nin fibrotik süreçlerdeki etki mekanizması idiyopatik pulmoner fibrozisin (IPF) incelendiği çalışmada gösterilmiştir. İPF, akciğerde kalıcı hasara neden olan ilerleyici bir hastalık olarak bilinmektedir. Patoloji kesin olarak bilinmese de, akciğerdeki derinlerde oluşan küçük yaralanmalara, anormal fibroblast yanıtı ile hücre dışı matris bileşenlerinin aşırı üretimi sonucu, skarlaşma ile sert ve cansız doku oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Hayvan çalışmalarında selüloz ve bleomisin ile indüklenen akciğer fibrozisinde, miR 9-5p'nin TGF- β ile ilişkili sinyal

yolaklarının negatif regülasyonunda rol alarak, anti-fibrinojenik etkisi olabileceği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir [74].

İPF’de, miR-9-5p yukarı doğru regüle (upregüle) bulunmuştur. TGF-βeta aracılı oluşan fibrotik süreçlerin, artan miR-9-5p ile inhibe edilebileceği gösterilmiştir. Bu etkiyi proinfilamatuvar etkileri olan TGF-βeta reseptör tip 2 (TGFB2) ve NADPH oksidaz (NOX4) inhibisyonu yaparak, fibroblasttan myofibroblast dönüşümünü ve sonuçta fibrozis oluşumunu azaltarak gösterdiği keşfedilmiştir (Şekil 18). miR-9-5p’nin, organ fibrozisinde teşhis ve prognoz için ilerleyen ve zaman içinde potansiyel bir biyobelirteç olabileceği düşünülmüştür [74]



Şekil 18. miR 9-5p’nin akciğer fibrozisindeki düşünülen antifibrotik etki mekanizması [74]

EMT (Epitelyal-Mezenkimal Değişim) epitel hücrelerinin kademeli olarak özelliğini ve işlevselliğini kaybederek mezekim benzeri hücelere dönüştüğü süreçtir [81]. Patolojik EMT pulmoner, renal, hepatik ve oküler fibrozis gibi durumlarda fibrozis oluşumuna katkıda bulunabilmektedir. Alvoeler ve böbrek epitel hücrelerinde TGF- β1 ile indüklenen EMT’nin böbrek ve akciğer fibrozisi ile ilişkili olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir [79]. Pulmoner fibrozis genellikle idiyopatikdir, bu grup kötü prognoz ifade eden idiyopatik pulmoner fibrozis (İPF) olarak isimlendirilir. TGF-

β /Smad sinyal yolunun, pulmoner fibroziste EMT oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. NEAT1, bir uzun kodlanmayan (lncRNA) RNA'dır [82]. Çeşitli organların fibrotik süreçleri ve yaşlanma süreci incelendiğinde lncRNA'lar ile miRNA'lar etkileşimde bulunarak bu süreçlerde rol olabileceği ifade edilmiştir [9]. NEAT1'in, miR-9-5p ve TGF- β 1 sinyal yolağını düzenleyerek, EMT üzerine etkisi olabileceği gösterilmiştir. Pulmoner fibroziste NEAT1, miR-9-5p'nin hedefi olarak gösterilmiştir. TGF- β 1 ile indüklenen pulmoner fibrozis dokularında miR-9-5p düzeyleri düşük bulunmuştur. miR-9-5p ekspresyonundaki artış durumunda kollajen 1 ve kollajen III'ü (fibröz markırları) baskılamıştır. NEAT1 düşük düzeylerdeyken miR-9-5p yüksek düzeyde görülmüştür [82]. Bizim çalışmamızda fibrotik ve dar üretra dokularında miR-9-5p katlı değişim değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak ($P<0.05$) düşük bulundu. Dar ve fibrotik üretra dokularında miR-9-5p düzeylerinin, fibrozis nedeniyle aktive olmuş TGF- β sinyal iletim yolu ile ilişkili olarak düşük düzeyde kalmış olduğunu düşünüyoruz.

Cilt fibrozisi ile ilgili bir çalışmada miR-9-5p'nin yine TGF- beta sinyal yolları üzerinden bleomisin kaynaklı cilt fibrozisini, fibroblasttan miyofibroblasta dönüşümü engelleyerek azalttığı gösterilmiştir[83].

Farelerde tek taraflı üretral darlık modeli ile oluşturulan renal fibroziste, miR-9-5p etkileri incelenmiştir. Tek taraflı üretral darlık oluşturan grupta miR-9-5p seviyelerinde ılımlı bir artış gözlenmiştir. miR-9-5p'nin renal fibroziste de pulmoner fibrozis ve cilt fibrozisindeki gibi koruyucu rolleri olabileceği ifade edilmiştir. Böbrek proksimal tübül hücreleri ile ilgili yapılan analizlerde, miR-9-5p'nin muhtemel etkisinin TGF- β 1 sinyal yollarının inhibisyonu ile fibrozise karşı koruyucu etki olduğu gösterilmiştir [84].

Farklı organlarda miR-9-5p'nin fibrozis üzerine etkilerinin incelendiğini görmekteyiz. Çalışmamız miR-9-5p'yi travmatik nedene bağlı gelişmeyen üretra darlıklarını kontrol grubu ile karşılaştıran ve istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) bulguların bulunduğu ilk çalışmadır. Önceki çalışmalar incelendiğinde ortak kanı miR-9-5p'nin fibrotik süreçlerde, fibrozise karşı koruyucu mekanizmaları olduğunu göstermektedir. Her bir mRNA'nın birden fazla miRNA tarafından hedef alınabildiği

ifade edilmekte ve her bir miRNA birden fazla mRNA hedefine bağlanabilmekte böylece gen düzenlemesinde rol alabilmektedir [66]. Fibrotik süreçlerin organa özgü bir dizi reaksiyonla tetiklendiği ve fibrozisteki ilişkili sinyal yollarının organlar arası benzerlik gösteriyor olabileceği ifade edilmiştir [2]. Literatürdeki farklı organlardaki fibrotik süreçlerin incelendiği sonuçlarda miR-9-5p'nin fibrozisin farklı aşamalarında farklı ekspresyon düzeylerinde (düşük/yüksek) bulunduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmadaki sonuçları önceki çalışmalar ile birlikte değerlendirdiğimizde miR-9-5'nin antifibrotik etkileri olabileceğini düşünmekteyiz. Travmatik nedene bağlı gelişmeyen üretra darlığı bulunan hastalarda miR-9-5'nin ekspresyonunun düşük bulunması, bu hastaların üretra örneklerinde fibrozisin henüz tamamlanmamış olduğunu, dolayısıyla TGF- β sinyal iletim yolunun aktif olarak çalıştığını gösterdiğini düşünüyoruz.

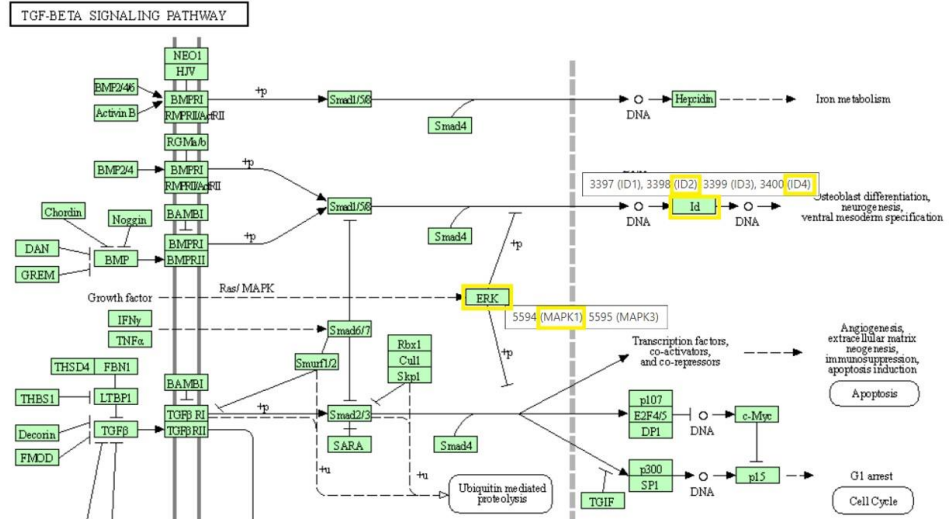
Panüretal darlıklar, penil ve bulbar üretrayı tutan uzun segment darlıklardır. Hastalık yönetimi ile ilgili literatür, bulbar darlıklara göre daha azdır. Bu hastalar genellikle yüksek hasta hacimli merkeze başvurduklarında, endoskopik tedavilerin denenmiş olduğunu görmekteyiz. Günümüzde çok merkezli derleme makalelerde, tek aşamalı bukkal mukozal greft ile üretroplasti oldukça başarılı sonuçlar göstermektedir [85]. Kliniğimizde de, başarılı sonuçları ile bu teknik uygulanmaktadır [50]. Çalışmamızda panüretal darlık bulunan hasta grubu, vaka grubunun bir alt grubu olarak değerlendirmeye alındı. Buradaki amaç panüretal darlık yönetiminde literatüre katkı sağlayabilmektir.

Panüretal darlık yönetimi incelendiğinde, 10 cm ve üzeri penis ve bulbar üretrayı içine alan darlıkların panüretal darlık olarak tanımlanabildiğini görmekteyiz [85]. Bizim çalışmamızda darlık segmenti ≥ 10 cm olan üretra darlıkları, panüretal darlık olarak gruplandırıldı. Panüretal (+), panüretal (-) grupları ve kontrol grubu miR-9-5p katlı değişim değeri birlikte değerlendirildi. Kontrol grubu katlı değişim değeri istatistiksel anlamlı ($P < 0.05$) olarak yüksek bulundu. Panüretal (+) ve panüretal (-) alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (bkz. Tablo 10). Yaptığımız çalışmada panüretal darlığı bulunan ve daha kısa segment darlığı bulunan

hastalar arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($P>0.05$), daha fazla hasta sayısı ile yapılacak olan çalışmalara ihtiyaç vardır.

Meta analizlerde anterior üretra darlığı nedenleri arasında idiyopatik sebepler (%33) de gösterilmiştir [4]. Bizim çalışmamızda da 11 hastanın (%36,7) darlığı idiyopatik nedenlere bağlı idi. İdiyopatik üretra darlığı olan 11 hastalık grup, nedeni bilinen üretra darlığı bulunan 19 hastalık grup ve 15 hastalık kontrol grubu istatistiksel analizlerle karşılaştırıldı. miR-9-5p, kontrol grubu katlı değişim değeri istatistiksel anlamlı olarak ($P < 0.05$) yüksek bulundu. İdiyopatik üretra darlığı ve nedeni bilinen darlık gruplarında anlamlı farklılık gözlenmedi ($P>0.05$) (bkz. Tablo 11). Yaptığımız çalışmada idiyopatik üretra darlıkları ve nedeni bilinen üretra darlıkları hastalar arasında anlamlı farklılık bulunamadı ancak daha geniş hasta sayısı ile yapılacak çalışmalara gereksinim vardır.

Çalışmamızda travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı olan grupta, katlı değişim değerinin anlamlı olarak ($P < 0.05$) kontrol grubundan daha düşük olduğu bulunan miR-9-5p'nin hedef moleküllerini saptayabilmek için DIANA, miRPath veri tabanlarında biyoinformatik analiz yapıldı. miR-9-5p'nin hangi biyolojik süreç ve sinyal iletim yollarını etkilediğini belirlemek için KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes/ Kyoto Genler ve Genom Ansiklopedisi) ve GO (Gene Ontology/Gen Ontolojisi) analizleri Fischer's exact testi metoduyla gerçekleştirildi. Bu analizler ve literatür taraması sonucunda miR-9-5p'nin muhtemelen etkilediği sinyal iletim yolağının, TGF- β sinyal iletim yolağı olduğu bulundu. Bu sinyal iletim yolağında miR-9-5p'nin ilişkili olabileceği genlerin yapılan analizler sonucunda MAPK1, Id2 ve Id4 olduğu tespit edildi (Şekil 19).



Şekil 19. miR-9-5p'nin TGF- β sinyal iletim yollarında ilişkili olabileceği genler KEGG PATHWAY veri tabanındaki tablo üzerinde sarı renkle işaretlenerek gösterilmiştir.

Mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) , çeşitli hücrel aktivitelere ilişkili sinyalizasyonlara aracılık eden serin ve treonin kinazlardır. Memeli MAPK , ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) alt tiplerini, p38 alt tiplerini ve jnk alt tiplerini içerir. MAPK ailesi enflamatuvar süreçler ve hücre proliferasyonu, farklılaşması, göçü ve ölümünü dahil olan çeşitli hücrel aktivitelere düzenler [86].

Flavonoidler tüm vasküler bitkilerde bulunan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Çiçeklerde ve meyvelerde sarı, turuncu ve kırmızı gibi sonbahar renk tonlarından sorumlu tutulmaktadır. Çalışmalarda diyetle kullanımının vücutta yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir [87]. Flavonoidlerin bir alt grubu flavonoldür. Ülkemizde yalancı iğde, çıçırığın ve yer iğdesi olarak bilinen *Hippophae rhamnoides L.* bitkisinden izole edilen flavanol olan isorhamnetin'in (IH) karaciğer fibrozisine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada IH'nin farelerde karaciğer fibrozisine koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Antifibrotik etki mekanizmasını, TGF- β aracılı Smad3 ve p38, MAPK sinyal yollarının inhibisyonu ile ECM oluşumunu inhibe ederek gösterdiği ifade edilmiştir [88].

Id (inhibitor of differentiation/ farklılaşma inhibitörü) proteinleri farklı bir ifade ile DNA bağlanma inhibitörü (DNA binding inhibitor) transkripsiyonda rol alan düzenleyicilerdir. id1, id2, id3 ve id4 olmak üzere 4 alt tipi bulunur [89]. Id proteinleri HLH (helix-loop-helix) yapısında transkripsiyon faktörlerindedir. Id2 genel olarak bağışıklık hücrelerinde rol oynamaktadır. Id4 genel olarak nöral proliferasyonda rol oynamaktadır [90].

Çalışmamızda yapılan analizler sonucu belirlenen miR-9-5p ile ilişkili bu genlerle ilgili fonksiyon çalışması yapılmadı, algoritmalara göre sonuca varıldı. Bu genler ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Üretral iyileşmenin dermal iyileşmeye benzer olduğu bilinmektedir. Ürolojide yara iyileşmesinin incelendiği derlemede, üretra darlığının karmaşık bir yapıya sahip olduğu ve endoskopik tedavisinin zor olduğu ifade edilmiştir. Yara iyileşmesini desteklemek için rejeneratif tıp, büyüme faktörleri, kök hücreler, miRNA'lar gibi alanlarda çalışmaların yapıldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada, yara yeri iyileşmesinin yeniden şekillenme fazında kollojen birikimini düzenlemede miR-29a'nın rolüne değinilmiştir [75]. miR-29a, çeşitli organların fibrozis ile ilişkilendirilmiştir. miR-29a'nın, inflamasyonda görevli TNF-alfa'nın seviyelerinin düzenlediğine dair kanıtlar mevcuttur. Sistemik skleroz, inflamasyon ve fibrozis ile ilişkili ciltte kalınlaşma gösteren ve iç organları da etkileyen otoimmün bir hastalıktır. Sistemik sklerozda miR-29a düzeyleri önemli ölçüde düşük bulunmuştur [80]. Literatürde üretra darlığı ile miR-29a ilişkisini değerlendiren bir çalışma bulunamadı. Çalışmamızda bu bilgiler ışığında miR-29a ve üretra darlığı ilişkisi değerlendirildi. Üretra darlığı bulunan grupta sistemik sklerozdaki fibroblastlardakine benzer olarak miR-29a katlı değişim değerleri düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$).

Üretra darlığının sebeplerinden kabul edilen liken skleröz (LS) ile üretra darlığı ilişkisi incelendiğinde, çalışmadaki diğer miRNA'lardan farklı olarak miR-155-5p, hem LS ilişkili üretra darlığı olan grupta hem de LS bulunmadan üretra darlığı olan grupta upregüle bulunmuştur. LS ile ilişkili üretra darlığında miR-155-5p katlı değişim değerleri, LS bulunmadan üretra darlığı olan gruptan yüksek (2.03) bulunmuştur. Sonuçlar çalışmadaki en düzensiz miRNA olan miR-155-p'yi LS ilişkili üretra

darlığında potansiyel rolünü göstermiştir [67]. miR-155-5p, bağışıklık ve inflamasyonun da içinde bulunduğu fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. miR-155-5p'nin fibrotik akciğer dokularında upregule olduğu gösterilmiştir. Ratlarda tek taraflı renal fibrozis oluşturulmuş, fibrotik böbrekte miR-155-5p değerleri yüksek bulunmuştur [69]. Çalışmamızda da literatürle paralel olarak üretra darlığı bulunan grupta miR-155-5p katlı değişim değerleri yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$).

Üretral iyileşme, dermal iyileşmeye bezir olarak dört fazda ancak daha uzun sürede gerçekleşmektedir [75]. İmmun aracılı inflamatuvar bozukluklarda miRNA'ların rolü araştırılmıştır. Kronik inflamatuvar bir cilt hastalığı olarak tanımlanabilen psoriyazisin de incelendiği çalışmada, miR-26b kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca miR-26b farklı inflamatuvar hastalıklarda da, inflamatuvar faktörleri hedeflemektedir [76]. Ratlarda aortik bantlama ilişkili kardiyak fibrozis modeli oluşturularak miR-26b seviyeleri incelenmiştir. Aortik bantlama modelinden sonra ve TGF- β dan arındırıldığında (revers remodeling/tersine yeniden şekillenme modeli) miR-26b seviyeleri yüksek bulunmuştur. Sonuçlar miR-26b'yi kardiyak yeniden şekillenmede, CGTF baskılanmasından sorumlu göstermiştir [77, 78]. Patolojik EMT (Epitelyal-Mezenkimal transition), pulmoner, renal, hepatik ve oküler fibrozis gibi durumlarda fibrozis oluşturulmasında önemi önceki çalışmalarda ifade edilmiştir. Epitelyal lens hücrelerinin, profilerasyon ve fibrozisinde miR-26 ailesinin rolünün önemi vurgulanmıştır. Sonuçlarda miR-26b'nin, EMT'yi ve epitelyal lens hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebileceğini sonuçta fibrozisi baskılayabileceği bulunmuştur [79]. Literatürde üretra darlığı ile miR-26b ilişkisini değerlendiren bir çalışma bulunamadı. Çalışmamızda bu bilgiler ışığında miR-26b ve üretra darlığı ilişkisi değerlendirildi. Üretra darlığı bulunan grupta miR-26b katlı değişim değerleri yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$).

Renal fibroziste miR-129-5p'nin tübüler epitelyal hücrelerin EMT'sinin düzenlenmesinde rol aldığı göstermiştir. Fibroziste miR-129-5p'nin potansiyel bir prognostik biyobelirteç ve tedavi edici ajan olabileceği fikrini vermiştir [73]. Kollajen negatif düzenleyicisi olabilen miR-129-5p, sistemik sklerozda fibroblastlarda

downregule olarak bulunmuştur [72]. Pelvik fraktüra bağlı travmatik yolla gelişen üretra darlığı olan hastaların skarlı dokusu ile normal üretral mukozası arasında mikroRNA'ların çalışıldığı bir çalışmada, fibroziste rol alan Transforming Growth Faktör Beta (TGF-Beta) ile de ilişkili olduğu düşünülen miR-129-5p ekspresyonlarında katlı değişimi yüksek (3.75) bulunmuştur. Çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde miR-129-5p fibrozisi yönlendiriyor olabilir veya bu durum fibrozisten kaynaklı bir geri besleme yanıtı da olabilir şeklinde yorumlanıp, yeni çalışmaların gerektiği ileri sürülmüştür [71]. Çalışmamızda üretra darlığı bulunan grupta miR-146-5p katlı değişim değeri daha düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($P>0.05$).

Üretra darlığı ve liken skleröz (LS) ilişkisinde, miRNA'ların rolü incelenmiştir. LS bulunup üretra darlığı bulunan grupta, LS görülmeden üretra darlığı bulunan hasta grubuna göre miR-142-3p'nin katlı değişim değeri daha yüksek (1.85) bulunmuştur [67]. miR-142-3p, proinflatuar bir sitokin olan TNF- α ile ilişkilendirilmiştir. Kronik inflamatuvar cilt hastalığı olan psöriyaziste ciltte yüksek oranda miR-142-3p upregüle görülmüş, miR-142-3p inhibisyonunun, antiinflamatuvar etki oluşturabileceği belirtilmiştir [70]. Mesane çıkım obstrüksiyonu oluşturulan farelerde profibrotik miRNA olarak tanımlanan miR-142-3p'nin upregüle olduğu bulunmuştur. Hipertrofi ve fibroziste önemine değinilen miR-142-3p'nin, adaptif kardiyak hipertrofi için baskılanması kritiktir [91]. Çalışmamızda üretra darlığı bulunan grupta miR-142-3p katlı değişim değeri daha düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($P>0.05$).

Üretra darlığı ile liken skleröz (LS) ilişkisi incelendiğinde, LS bulunup üretra darlığı bulunan grupta, LS görülmeden üretra darlığı bulunan hasta grubuna göre miR-146-5p'nin katlı değişim değeri daha yüksek (2.46) bulunmuştur. Ancak miR-146-5p'nin üretra darlığındaki hücre proliferasyonu ve inflamasyonuna etkileri net gösterilememiştir. Yeni değerlendirilmelere ihtiyaç varlığı belirtilmiştir[67]. Hepatik fibrozisin incelendiğinde miR-146-5p'nin çeşitli sinyal iletim yolları üzerinden karaciğer fibrozisinde antifibrotik etkileri olabileceği gösterilmiştir [68]. Çalışmamızda üretra darlığı bulunan grupta miR-146-5p katlı değişim değeri daha düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($P>0.05$).

Üretra darlığı ile ilgili incelenen vaka, kontrol grupları ve alt grupların incelemelerinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmayan ($P>0.05$) miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p molekülleri genel olarak incelendiğinde daha geniş çaplı, yeni analizlerin literatüre katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Üretra darlığı nedeniyle üretroplasti yapılan hastaların incelendiği çalışmada, yaşlı popülasyonda en sık eşlik eden hastalık olarak hipertansiyondan sonra diyabetes mellitus (DM) eşlik ettiği görülmüştür [92]. DM ile ilişkili fibrotik süreçleri içeren, farklı organlardaki patolojilerde, miRNA'ların ilişkili olabileceği gösterilmiştir [93]. Çalışmamızda DM açısından alt grup değerlendirilmesi yapıldığında miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p, miR-9-5p moleküllerinin katlı değişim değerlerinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunamadı ($P>0.05$) (bkz. Tablo 12). Üretra darlığı ve DM'nin fibrotik sürece etkisi birlikte düşünüldüğünde daha geniş çaplı çalışmalar anlamlı bilgiler verebilir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları arasında, maliyet nedeniyle daha geniş çaplı hasta grubu ile çalışılmaması nedeniyle bulgulardaki standart sapma değerlerinin yüksek olması, daha fazla miRNA değerlendirmeye alınamaması, fonksiyon çalışmalarının yapılamaması, hastalardan alınan doku örneklerinden patolojik değerlendirme yapılamaması, miRNA'lar ile ilgili ek laboratuvar incelemesi yapılamaması gösterilebilir. Hastalarla ve üretra darlığı ile ilgili not edilen diğer tanımlayıcı ve yardımcı verilerle ilgili, istatistiksel yöntemle değerlendirilebilecek sayıda veri olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı.

Özet olarak bu çalışma yaptığımız literatür taramasına göre, travmatik nedene bağlı olmayan üretra darlığı bulunan üretra dokusu ve kontrol grubu üretra dokusu arasında miRNA'ların katlı değişim değerlerini karşılaştırılan ilk çalışmadır. Çalışmamızda miR-9-5p'nin üretra darlığının patofizyolojisine ışık tutabileceğini, bunun yanında hastalardaki klinik bulguların dokudaki patofizyolojik süreçlerin tamamlanmasından çok daha önce ortaya çıktığını bulduk. Yapılan analizler ve literatür taraması ile miR-9-5p'nin antifibrotik etkisini, TGF- β sinyal iletim

yolaklarındaki bazı genleri hedef olarak gösterebileceği düşünöldü. Dar ve fibrotik üretra dokularında miR-9-5p düzeylerinin, fibrozis nedeniyle aktive olmuş TGF- β sinyal iletim yolu ile ilişkili olarak düşük düzeyde kalmış olduğunu, üretra darlığı bulunan grupta miR-9-5p'nin gen ekspresyonu düşük olduğu veya yeterli düzeye yükselmediği için fonksiyonlarını yerine getiremediğini düşünöyoruz. Bu sebeple üretra darlığı ile ilişkili olabilecek proteinlerin sentezlenmesinden sorumlu mRNA'ların gen düzenlemesi yeteri kadar yapılamayacaktır. Bu durum üretra darlığı oluşumuna katkı sağlamaktadır. Çalışmamızın, üretra darlığı patofizyolojisinin aydınlatılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz, böylece gelecekte yapılacak çalışmalar ile birlikte yeni tedavi yöntemleri de geliştirilebilir. Risk tespiti yapılabildiğinde, hangi hastalarda noninvaziv tedavi yöntemlerinde ısrar edilmemesi gerektiği belirlenebilir. Noninvaziv yöntemlerde tedavi sonrası üretra darlığı, erken ve geç nüks eden hastalarda miR-9-5p'nin biyobelirteç olarak kullanılmasıyla ilgili bu grupların da içinde olduğu araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Gelecekte erken nüks öngörülebilirse noninvaziv yöntemlerle ısrar edilmeden, kesin tedavi olan üretroplastinin erken uygulanması gündeme gelebilir. Ayrıca yine gelecekte miR-9-5p'nin hedef molekülleri olarak düşündüğümüz, TGF- β sinyal iletim yolağındaki MAPK1, Id2 ve Id4'ü hedef alabilecek medikal tedaviler, cerrahi tedaviden önce gündeme gelebilir. Daha geniş çaplı, yeni bilimsel çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Travmatik nedene bağlı gelişmeyen üretra darlığı bulunan grupta miR-9-5p katlı değişim değeri, kontrol grubundan istatistiksel anlamlı olarak ($P<0.05$) daha düşük bulundu.

Panüretal darlığı bulunan grup, daha kısa segment üretra darlığı olan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldı. miR-9-5p kontrol grubu katlı değişim değeri istatistiksel anlamlı olarak ($P<0.05$) yüksek bulundu. Panüretra darlığı bulunan grup ve daha kısa segment üretra darlığı olan grup gruplarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P>0.05$).

Nedeni bilinmeyen (idiyopatik) üretra darlığı olan grup, nedeni bilinen üretra darlığı bulunan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldı. miR-9-5p kontrol grubu katlı değişim değeri istatistiksel anlamlı olarak ($P<0.05$) yüksek bulundu. İdiyopatik üretra darlığı ve nedeni bilinen darlık gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P>0.05$).

Travmatik nedene bağlı gelişmeyen üretra darlığı bulunan hasta grubu ile kontrol grubu arasında miR-29a, miR-155-5p, miR-26b , miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p katlı değişim değeri arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$).

Panüretal darlığı bulunan grup, daha kısa segment üretra darlığı olan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldı. miR-29a, miR-155-5p , miR-26b , miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p gruplar arası katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermedi ($P>0.05$).

Nedeni bilinmeyen (idiyopatik) üretra darlığı olan grup, nedeni bilinen üretra darlığı bulunan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldı. miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermedi ($P>0.05$).

Üretra darlığı bulunup eşlik eden hastalığı olmayan grup, üretra darlığı bulunup diyabetes mellitus bulunan grup ve kontrol grubundaki eşlik eden hastalığı bulunmayan grup karşılaştırıldı. miR-29a, miR-155-5p, miR-26b, miR-129-5p, miR-142-3p, miR-146-5p, miR-9-5p katlı değişim değeri anlamlı farklılık göstermedi ($P>0.05$).

miR-9-5p'nin üretra darlığının patofizyolojisine ışık tutabileceğini saptadık. miR-9-5p'nin koruyucu etkileri olabileceğini ancak hastaların klinik bulgularının, üretral fibrozisteki patofizyolojik sürecinin tamamlanmasından daha önce ortaya çıktığını gösterdik.

7. KAYNAKLAR

1. Brandes, S.B. and A.F. Morey, *Advanced Male Urethral and Genital Reconstructive Surgery*.
2. Mutsaers, H.A. and P. Olinga, *Editorial: Organ Fibrosis: Triggers, Pathways, and Cellular Plasticity*. Front Med (Lausanne), 2016. **3**: p. 55.
3. Santucci, R.A., G.F. Joyce, and M. Wise, *Male urethral stricture disease*. J Urol, 2007. **177**(5): p. 1667-74.
4. Fenton, A.S., et al., *Anterior urethral strictures: etiology and characteristics*. Urology, 2005. **65**(6): p. 1055-8.
5. Zaid, U.B., G. Lavien, and A.C. Peterson, *Management of the Recurrent Male Urethral Stricture*. Curr Urol Rep, 2016. **17**(4): p. 33.
6. Bayne, D.B., et al., *Guidelines of guidelines: a review of urethral stricture evaluation, management, and follow-up*. Transl Androl Urol, 2017. **6**(2): p. 288-294.
7. Kavitha, N., et al., *MicroRNAs: biogenesis, roles for carcinogenesis and as potential biomarkers for cancer diagnosis and prognosis*. Asian Pac J Cancer Prev, 2014. **15**(18): p. 7489-97.
8. Condrat, C.E., et al., *miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis*. Cells, 2020. **9**(2).
9. Ghafouri-Fard, S., et al., *Role of miRNA and lncRNAs in organ fibrosis and aging*. Biomed Pharmacother, 2021. **143**: p. 112132.
10. Moore Keith, L. and T. Persaud, *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Editör: Dalçık H, Yıldırım M. Nobel tıp Kitabevi, 2009: p. 243-56.
11. Partin, A.W., et al., *Campbell Walsh Wein Urology, E-Book*. 2020: Elsevier Health Sciences.
12. Pişkin, M.M. and K. Yılmaz, *Erkek Eksternal Ürogenital Sistem (Penis ve Üretra) Embriyoloji ve Gelişim Mekanizmaları*.
13. Glenister, T.W., *The origin and fate of the urethral plate in man*. J Anat, 1954. **88**(3): p. 413-25.
14. Kurzrock, E.A., L.S. Baskin, and G.R. Cunha, *Ontogeny of the male urethra: theory of endodermal differentiation*. Differentiation, 1999. **64**(2): p. 115-22.
15. Martins, F.E., S.B. Kulkarni, and T.S. Köhler, *Textbook of male genitourethral reconstruction*. 2020: Springer.
16. Eşrefoğlu, M., *Özel Histoloji 2. Baskı*. 2016.
17. Eroschenko, V.P. and R. Demir, *Di Fiore'nini histoloji atlası: fonksiyonel ilişkileriyle*. 2013: Palme Yayıncılık.
18. Stoddard, N. and S.W. Leslie, *Histology, male urethra*. 2019.
19. Thind, P., *The significance of smooth and striated muscles in the sphincter function of the urethra in healthy women*. NeuroUrol Urodyn, 1995. **14**(6): p. 585-618.

20. Mouraviev, V.B. and R.A. Santucci, *Cadaveric anatomy of pelvic fracture urethral distraction injury: most injuries are distal to the external urinary sphincter*. J Urol, 2005. **173**(3): p. 869-72.
21. Fredrick, A., et al., *Functional Effects of Bulbospongiosus Muscle Sparing on Ejaculatory Function and Post-Void Dribbling after Bulbar Urethroplasty*. J Urol, 2017. **197**(3 Pt 1): p. 738-743.
22. Hsu, G.L., et al., *Anatomy of the human penis: the relationship of the architecture between skeletal and smooth muscles*. J Androl, 2004. **25**(3): p. 426-31.
23. Yucel, S. and L. Baskin, *Neuroanatomy of the male urethra and perineum*. BJU international, 2003. **92**(6): p. 624-630.
24. Velazquez, E., et al., *Penis and distal urethra*. Histology for Pathologists. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: p. 955-980.
25. Tritschler, S., et al., *Urethral stricture: etiology, investigation and treatments*. Dtsch Arztebl Int, 2013. **110**(13): p. 220-6.
26. Hampson, L.A., J.W. McAninch, and B.N. Breyer, *Male urethral strictures and their management*. Nat Rev Urol, 2014. **11**(1): p. 43-50.
27. Viers, B.R., et al., *Characteristics of Idiopathic Urethral Strictures: A Link to Remote Perineal Trauma?* Urology, 2017. **110**: p. 228-233.
28. Baskin, L.S., et al., *Biochemical characterization and quantitation of the collagenous components of urethral stricture tissue*. J Urol, 1993. **150**(2 Pt 2): p. 642-7.
29. Cavalcanti, A.G., et al., *The distribution of neuronal and inducible nitric oxide synthase in urethral stricture formation*. J Urol, 2004. **171**(5): p. 1943-7.
30. Önel, F.F., et al., *Turkish validation of the urethral stricture surgery specific patient-reported outcome measure (USS-PROM) with supplemental assessment of erectile function and morbidity due to oral graft harvesting*. Neurourol Urodyn, 2017. **36**(8): p. 2089-2095.
31. Anderson, K.M., T.T. Higuchi, and B.J. Flynn, *Management of the devastated posterior urethra and bladder neck: refractory incontinence and stenosis*. Transl Androl Urol, 2015. **4**(1): p. 60-5.
32. Gelman, J. and E.S. Wisenbaugh, *Posterior Urethral Strictures*. Adv Urol, 2015. **2015**: p. 628107.
33. Carlson, B.C., et al., *Protein markers of malignant potential in penile and vulvar lichen sclerosus*. J Urol, 2013. **190**(2): p. 399-406.
34. Schäfer, W., et al., *Good urodynamic practices: uroflowmetry, filling cystometry, and pressure-flow studies*. Neurourol Urodyn, 2002. **21**(3): p. 261-74.
35. Tam, C.A., et al., *Critical analysis of the use of uroflowmetry for urethral stricture disease surveillance*. Urology, 2016. **91**: p. 197-202.
36. Erickson, B.A. and G.M. Ghareeb, *Definition of successful treatment and optimal follow-up after urethral reconstruction for urethral stricture disease*. Urologic Clinics, 2017. **44**(1): p. 1-9.
37. Bryk, D.J., et al., *Outpatient Ultrasound Urethrogram for Assessment of Anterior Urethral Stricture: Early Experience*. Urology, 2016. **93**: p. 203-7.
38. Angermeier, K.W., et al., *SIU/ICUD consultation on urethral strictures: evaluation and follow-up*. Urology, 2014. **83**(3): p. S8-S17.

39. Shahrour, W., et al., *The Benefits of Using a Small Caliber Ureteroscope in Evaluation and Management of Urethral Stricture*. *Adv Urol*, 2018. **2018**: p. 9137892.
40. Gelman, J. and J. Furr, *Urethral Stricture Disease: Evaluation of the Male Urethra*. *J Endourol*, 2020. **34**(S1): p. S2-s6.
41. Rastogi, R., et al., *Can magnetic resonance urethrography (MRU) be a single-stop shop for male urethral stricture evaluation?* *European Journal of Radiology*, 2016. **74**: p. e193-e198.
42. Theisen, K.M., B.T. Kadow, and P.J. Rusilko, *Three-dimensional imaging of urethral stricture disease and urethral pathology for operative planning*. *Current urology reports*, 2016. **17**(8): p. 1-7.
43. Purohit, R.S., et al., *Natural History of Low-stage Urethral Strictures*. *Urology*, 2017. **108**: p. 180-183.
44. Heyns, C.F., et al., *Treatment of male urethral strictures: is repeated dilation or internal urethrotomy useful?* *J Urol*, 1998. **160**(2): p. 356-8.
45. Breyer, B.N., et al., *Multivariate analysis of risk factors for long-term urethroplasty outcome*. *J Urol*, 2010. **183**(2): p. 613-7.
46. Tritschler, S. and V. Beck, *[Management of urethral stricture]*. *Urologe A*, 2021. **60**(11): p. 1473-1479.
47. Pang, K.H., et al., *A Systematic Review and Meta-analysis of Adjuncts to Minimally Invasive Treatment of Urethral Stricture in Men*. *Eur Urol*, 2021. **80**(4): p. 467-479.
48. Regmi, S., et al., *Efficacy of Use of Triamcinolone Ointment for Clean Intermittent Self Catheterization following Internal Urethrotomy*. *JNMA J Nepal Med Assoc*, 2018. **56**(212): p. 745-748.
49. Barbagli, G., et al., *Long-term followup and deterioration rate of anterior substitution urethroplasty*. *J Urol*, 2014. **192**(3): p. 808-13.
50. Zumrutbas, A.E., et al., *The outcomes of Kulkarni's one-stage oral mucosa graft urethroplasty in patients with panurethral stricture: a single centre experience*. *World J Urol*, 2020. **38**(1): p. 175-181.
51. Gan, L., et al., *Focusing on long noncoding RNA dysregulation in gastric cancer*. *Tumour Biol*, 2015. **36**(1): p. 129-41.
52. Ren, H. and Q. Wang, *Non-Coding RNA and Diabetic Kidney Disease*. *DNA Cell Biol*, 2021. **40**(4): p. 553-567.
53. Lee, R.C., R.L. Feinbaum, and V. Ambros, *The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14*. *Cell*, 1993. **75**(5): p. 843-54.
54. Hammond, S.M., *An overview of microRNAs*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015. **87**: p. 3-14.
55. Taft, R.J., et al., *Non-coding RNAs: regulators of disease*. *J Pathol*, 2010. **220**(2): p. 126-39.
56. Igaz, P., *Circulating microRNAs in disease diagnostics and their potential biological relevance*. Vol. 106. 2015: Springer.
57. Friedman, R.C., et al., *Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs*. *Genome Res*, 2009. **19**(1): p. 92-105.
58. Saliminejad, K., et al., *An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods*. *J Cell Physiol*, 2019. **234**(5): p. 5451-5465.

59. Ha, M. and V.N. Kim, *Regulation of microRNA biogenesis*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014. **15**(8): p. 509-24.
60. Peng, Y. and C.M. Croce, *The role of MicroRNAs in human cancer*. Signal Transduct Target Ther, 2016. **1**: p. 15004.
61. Lu, T.X. and M.E. Rothenberg, *MicroRNA*. J Allergy Clin Immunol, 2018. **141**(4): p. 1202-1207.
62. Rupaimoole, R., et al., *MicroRNA therapeutics: principles, expectations, and challenges*. Chin J Cancer, 2011. **30**(6): p. 368-70.
63. Ghaffari, S.H. and D. Bashash, *Reciprocal interconnection of miRNome-Epigenome in cancer pathogenesis and its therapeutic potential*, in *Epigenetics Territory and Cancer*. 2015, Springer. p. 101-135.
64. Curtis, H.J., C.R. Sibley, and M.J. Wood, *Mirtrons, an emerging class of atypical miRNA*. Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA, 2012. **3**(5): p. 617-632.
65. Pu, M., et al., *Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression*. Cell Mol Life Sci, 2019. **76**(3): p. 441-451.
66. Pillai, R.S., *MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA?* Rna, 2005. **11**(12): p. 1753-1761.
67. Kohli, H., et al., *Differential expression of miRNAs involved in biological processes responsible for inflammation and immune response in lichen sclerosus urethral stricture disease*. PLoS One, 2021. **16**(12): p. e0261505.
68. Zou, Y., et al., *MicroRNA-146a-5p attenuates liver fibrosis by suppressing profibrogenic effects of TGFβ1 and lipopolysaccharide*. Cell Signal, 2017. **39**: p. 1-8.
69. Zhang, W., et al., *miR-155-5p Implicates in the Pathogenesis of Renal Fibrosis via Targeting SOCS1 and SOCS6*. Oxid Med Cell Longev, 2020. **2020**: p. 6263921.
70. Zhang, D., et al., *Repression of miR-142-3p alleviates psoriasis-like inflammation by repressing proliferation and promoting apoptosis of keratinocytes via targeting Sema3A*. Mol Cell Probes, 2020. **52**: p. 101573.
71. Zhang, K., et al., *microRNA expression profiles of scar and normal tissue from patients with posterior urethral stricture caused by pelvic fracture urethral distraction defects*. Int J Mol Med, 2018. **41**(5): p. 2733-2743.
72. Nakashima, T., et al., *Impaired IL-17 signaling pathway contributes to the increased collagen expression in scleroderma fibroblasts*. J Immunol, 2012. **188**(8): p. 3573-83.
73. Li, Y., et al., *MicroRNA profiling identifies miR-129-5p as a regulator of EMT in tubular epithelial cells*. Int J Clin Exp Med, 2015. **8**(11): p. 20610-6.
74. Fierro-Fernández, M., et al., *miR-9-5p suppresses pro-fibrogenic transformation of fibroblasts and prevents organ fibrosis by targeting NOX4 and TGFBR2*. EMBO Rep, 2015. **16**(10): p. 1358-77.
75. Ninan, N., S. Thomas, and Y. Grohens, *Wound healing in urology*. Adv Drug Deliv Rev, 2015. **82-83**: p. 93-105.
76. Martínez-Hernández, R., et al., *Utility of circulating serum miRNA profiles to evaluate the potential risk and severity of immune-mediated inflammatory disorders*. J Autoimmun, 2020. **111**: p. 102472.

77. Cho, J.S., et al., *The relationship between miRNA-26b and connective tissue growth factor in rat models of aortic banding and debanding*. Korean J Intern Med, 2021. **36**(3): p. 596-607.
78. Jin, Z.Q., *MicroRNA targets and biomarker validation for diabetes-associated cardiac fibrosis*. Pharmacol Res, 2021. **174**: p. 105941.
79. Chen, X., et al., *MicroRNA-26a and -26b inhibit lens fibrosis and cataract by negatively regulating Jagged-1/Notch signaling pathway*. Cell Death Differ, 2017. **24**(8): p. 1431-1442.
80. O'Reilly, S., *miRNA-29a in systemic sclerosis: A valid target*. Autoimmunity, 2015. **48**(8): p. 511-2.
81. Stone, R.C., et al., *Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis*. Cell Tissue Res, 2016. **365**(3): p. 495-506.
82. Zhang, Y., et al., *LncRNA NEAT1 regulates pulmonary fibrosis through miR-9-5p and TGF- β signaling pathway*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020. **24**(16): p. 8483-8492.
83. Miguel, V., et al., *Protective role for miR-9-5p in the fibrogenic transformation of human dermal fibroblasts*. Fibrogenesis Tissue Repair, 2016. **9**: p. 7.
84. Fierro-Fernández, M., et al., *MiR-9-5p protects from kidney fibrosis by metabolic reprogramming*. Faseb j, 2020. **34**(1): p. 410-431.
85. Kulkarni, S., et al., *Management of Panurethral Stricture*. Urol Clin North Am, 2017. **44**(1): p. 67-75.
86. Kim, E.K. and E.J. Choi, *Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases*. Biochim Biophys Acta, 2010. **1802**(4): p. 396-405.
87. Nandave, M., S. Ojha, and D. Arya, *Protective role of flavonoids in cardiovascular diseases*. 2005.
88. Liu, N., et al., *Isorhamnetin Inhibits Liver Fibrosis by Reducing Autophagy and Inhibiting Extracellular Matrix Formation via the TGF- β 1/Smad3 and TGF- β 1/p38 MAPK Pathways*. Mediators Inflamm, 2019. **2019**: p. 6175091.
89. Yin, L., et al., *Over-Expression of Inhibitor of Differentiation 2 Attenuates Post-Infarct Cardiac Fibrosis Through Inhibition of TGF- β 1/Smad3/HIF-1 α /IL-11 Signaling Pathway*. Front Pharmacol, 2019. **10**: p. 1349.
90. Wu, H. and Q. Shao, *The role of inhibitor of binding or differentiation 2 in the development and differentiation of immune cells*. Immunobiology, 2019. **224**(1): p. 142-146.
91. Gheinani, A.H., et al., *Concordant miRNA and mRNA expression profiles in humans and mice with bladder outlet obstruction*. Am J Clin Exp Urol, 2018. **6**(6): p. 219-233.
92. Blaschko, S.D., et al., *Trends, utilization, and immediate perioperative complications of urethroplasty in the United States: data from the national inpatient sample 2000-2010*. Urology, 2015. **85**(5): p. 1190-1194.
93. Wonnacott, A., et al., *MicroRNAs and their delivery in diabetic fibrosis*. Adv Drug Deliv Rev, 2022. **182**: p. 114045.

