

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

**BETA-3 ADRENERJİK RESEPTÖR AGONİSTİ MİRABEGRON'UN
İNSAN ÜRETER KONTRAKTİLİTESİ ÜZERİNE
IN VITRO ETKİLERİ**

Dr. Meylis Artykov

**UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır**

**ANKARA
2021**

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

**BETA-3 ADRENERJİK RESEPTÖR AGONİSTİ MİRABEGRON'UN
İNSAN ÜRETER KONTRAKTİLİTESİ ÜZERİNE
IN VITRO ETKİLERİ**

Dr. Meylis Artykov

**UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANLARI
Prof. Dr. Fazıl Tuncay Akı
Prof. Dr. Mehmet Yıldırım Sara**

**ANKARA
2021**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi yaptığım süre boyunca bilgi, beceri, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Fazıl Tuncay Akı'ya,

Çalışmanın kurgulanmasında ve yürütülmesinde büyük emekleri olan Prof. Dr. Mehmet Yıldırım Sara'ya ve Prof. Dr. Alper Bektaş İskit'e,

Çalışmaya değerli katkıları olan Prof. Dr. Erim Erdem ve Doç. Dr. Ahmet Güdeloğlu'na,

Çalışmanın yürütülmesinde kritik görevler üstlenen, titiz ve özverili çalışması için Dr. Esin Özçelebi'ye,

Projemize sağlanan maddi destek için Hacettepe Üniversitesi BAP Birimi'ne,

Ürolojik cerrahi konusundaki bilgi ve becerilerini, temel ürolojik prensipleri ve cerrahi disiplini bana aktaran tüm saygıdeğer hocalarıma,

İhtisas sürem boyunca çok şey paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, iş hayatında birlikte çalıştığımız servis, poliklinik ve ameliyathane hemşireleri, teknisyen ve personellerine,

Beni var eden aileme,

Sevgili eşim Merve'ye,

Teşekkür ederim.

ÖZET

Artykov, M., Beta-3 Adrenerjik Reseptör Selektif Agonisti Mirabegron'un İnsan Üreter Kontraktilitesi Üzerine In Vitro Etkileri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2021. Son yıllarda insan mesane ve üreter dokusuyla yürütülen çalışmalarda dokular üzerinde bulunan β 3-AR'un varlığı ve dağılımı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda β 3-AR'un hedef alan ilaçların klinik şartlarda araştırılması önerilmiş ve üreter hastalıklarında potansiyel kullanımları tartışılmıştır. Bizim çalışmamızda aşırı aktif mesane hastalığı tedavisinde FDA onayı alan ve yaygın klinik kullanıma sahip mirabegron isimli ilacın insan üreteri üzerindeki etkilerin incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın yürütüldüğü zaman dilimi içerisinde Üroloji kliniğinde donör nefrektomi ameliyatı geçiren hastaların greft böbrek üreterlerinde elde edilen üreter dokuları uygun koşullarda Farmakoloji Anabilim dalı laboratuvarlarına transfer edilerek organ banyosu deneyleri gerçekleştirilmiştir. Fonksiyonel deneylerin odak noktası insan üreter dokularının mirabegron'a yanıtı idi. Bulgularımız mirabegron'un üreter aktivitesini *in vitro* ortamda baskıladığını göstermektedir. Mirabegron spontan aktivite gösteren izole üreter doku şeritlerinde doz bağımlı olarak kasılma frekansını düşürüyor. Mirabegron spontan aktivite gösteren izole üreter doku şeritlerinde doz bağımlı olarak kasılma gücünü azaltıyor. Mirabegron 10mM KCL ortamında aktivite elde edilen izole üreter doku şeritlerinde kasılma frekansını düşürüyor. Mirabegron 10mM KCL ortamında aktivite elde edilen izole üreter doku şeritlerinde kasılma gücünü azaltıyor.

Anahtar kelimeler: Adrenerjik beta-3 Reseptör Agonistleri, Üreter, In Vitro Deney, Üreterolitiazis, Aşırı Aktif Mesane

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (TTU-2020-18836).

ABSTRACT

Artykov, M., In Vitro Effects of Beta-3 Adrenergic Receptor Selective Agonist Mirabegron on Human Ureter, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Urology, Thesis in Urology, Ankara, 2021. In recent years, studies conducted with human bladder and ureter tissue have shown the presence and distribution of β_3 -AR in these tissues. In these studies, further investigation of drugs targeting β_3 -AR in clinical settings and their potential use in ureteral diseases was proposed. Aim of our study was to investigate the effects of Mirabegron on the human ureter. During the period of the study, the ureteral tissues obtained from the graft kidney ureters of the patients who underwent donor nephrectomy in the Urology clinic were transferred to the laboratory of the Pharmacology Department under appropriate conditions and organ bath experiments were carried out. Our findings show that Mirabegron suppresses ureteral activity *in vitro*. Mirabegron decreases the contraction frequency in a dose-dependent manner in isolated ureteral tissue strips showing spontaneous activity. Mirabegron decreases the force of contraction in a dose-dependent manner in isolated ureteral tissue strips showing spontaneous activity. Mirabegron reduces the contraction frequency in isolated ureteral tissue strips with activity in 10mM KCL medium. Mirabegron reduces the force of contraction in isolated ureteral tissue strips with activity in 10mM KCL medium.

Keywords: Adrenergic beta-3 Receptor Agonists, Ureter, In Vitro Testing, Ureterolithiasis, Overactive Urinary Bladder

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Unit (TTU-2020-18836)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Üreter yapısı.....	2
2.2. Üreter fonksiyonu	3
2.2.1. İdrarın taşınması	3
2.2.2. Elektriksel aktivite.....	4
2.2.3. Pacemaker aktivitesi	5
2.2.4. Kasılma aktivitesi	6
2.2.5. İkincil haberciler.....	6
2.2.6. Sinir sistemin üreter fonksiyonuna etkisi	8
2.2.6.1. Parasempatik sistem	8
2.2.6.2. Sempatik sistem	9
2.2.6.3. Adrenerjik etkili farmakolojik ajanlar.....	9
2.3. Tıkaçıcı hadiselerin üreter üzerine etkileri	12
2.3.1. Üreter taşının üreter fonksiyonu üzerine etkisi.....	12

2.4. Mirabegron hakkında genel bilgiler	13
2.5. Mirabegron'un mesane dışı potansiyel kullanım alanları.....	14
2.6. Çalışmanın hipotezi ve amacı.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Çalışma planı	16
3.2. Doku kaynağı.....	17
3.2.1. Cerrahi teknik.....	17
3.2.1.1. Laparoskopik Donör Nefrektomi.....	18
3.2.1.2. Robot Yardımlı Laparoskopik Donör Nefrektomi	18
3.2.2. Doku eldesi.....	19
3.2.3. Doku transferi	19
3.2.4. Doku hazırlanması.....	20
3.3. Fonksiyonel deneyler.....	20
3.4. İstatistiksel analiz.....	21
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇLAR.....	35
7. KAYNAKLAR.....	36

KISALTMALAR

AAM	Aşırı aktif mesane
AC	Adenilil siklaz
ATP	Adenin nükleotidi
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
CCB	Kalsiyum kanal blokörü
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
COX	Siklooksijenaz
DG	Diaçilgliserol
DM	Diyabetes Mellitus
EAS	Elektriksel alan stimülasyonu
ESWL	External shock wave lithotripsy
FDA	U.S. Food and Drug Administration
GTP	Guanin nükleotidi
IHC	İmmünohistokimya
IP3	İnozitol trifosfat
KCL	Potasyum klorür
LDN	Laparoskopik donör nefrektomi
MET	Medical expulsion therapy (Medikal ekspulsiyon tedavisi)
MRB	Mirabegron
NO	Nitröz oksit
PDE	Fosodiesteraz
PG	Prostaglandin
PKA	Protein kinaz A
RT-PCR	Reverse transcriptase polymerase chain reaction
RYLDN	Robot yardımcı laparoskopik donör nefrektomi
UPJ	Uretero-pelvic junction (Üretero-pelvik bileşke)
UVJ	Uretero-vesical junction (Üretero-vezikal bileşke)

α-AR	Alfa adrenerjik reseptör
α-bloker	Alfa blokör
β-AR	Beta adrenerjik reseptör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa	
Şekil 2.1.	İnsan üreterinin histolojik kesiti.	3
Şekil 2.2.	cAMP'nin β -AR aracılı düz kas hücresinde gevşemesindeki rolünü anlatan şematik gösterim.	7
Şekil 3.1.	Çalışma protokolü.	17
Şekil 3.2.	Üreterin iliak damar seviyesinde kliplenmesi (A) ve kesilmesi (B).	18
Şekil 3.3.	Üreterden doku eldesi.	19
Şekil 3.4.	Organ banyosu deney düzeneği.	20
Şekil 4.1.	Kümülatif mirabegron konsantrasyonunun izole üreter şeritlerine ait spontan aktivite frekansı üzerine etkisini gösteren örnek bir trase.	23
Şekil 4.2.	(A) Kümülatif MRB konsantrasyonunun spontan aktivite frekansı üzerine etkisi. (B) Spontan aktivite frekansının kümülatif MRB konsantrasyonuna bağlı yüzde olarak değişimi.	25
Şekil 4.3.	Kümülatif MRB konsantrasyonunun spontan aktivite amplitüdü üzerine etkisi.	26
Şekil 4.4.	Mirabegron inkübasyonu sonrası izole üreter şeritlerinde elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen kasılma yanıtı.	27
Şekil 4.5.	(A) Kümülatif MRB konsantrasyonunun 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite frekansı üzerine etkisi. (B) 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite frekansının kümülatif MRB konsantrasyonuna bağlı yüzde olarak değişimi.	28
Şekil 4.6.	Kümülatif MRB konsantrasyonunun 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite amplitüdü üzerine etkisi.	29

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
Tablo 4.1.	Hastaların demografik özellikleri.	24

1. GİRİŞ

Böbrek taşı, Amerika, Asya ve Avrupa'da sıklıkla karşılaşılan ve kendini tekrar eder niteliğe sahip klinik durumdur. Özellikle ülkemizde belirli bir zaman dilimi içerisinde böbrek taşı oluşturmuş veya böbrek taşı düşürmüş kişi sayısı oldukça fazladır; günümüzdeki risk faktörleri (beslenme alışkanlıkları, çoklu ilaç kullanımı, eşlik eden hastalıklar vb.) nedeniyle bir yıl içerisinde ilk kez böbrek taşı teşhisi koyulan kişi sayısı giderek artmaktadır (1-3).

Böbrek taşları üreter tıkanmasına neden olabilir. Daralma sonucu, üreter lümeninde basınç artışı ve basınç artışına bağlı üreter çapının artışı ile ağrıyı algılayan dokular uyarılır; kişide 'renal kolik' adı verilen ağrı atakları meydana gelir. Böbrek taşları oluşturdukları yakınmalar (ağrı, bulantı, kusma vb.) ve komplikasyonlar (kronik böbrek yetmezliği, son dönem böbrek yetmezliği, hipertansiyon vb.) nedeniyle medikal veya cerrahi tedavi ihtiyacı doğurmaktadır; tedavilerin uygulanabilmesi adına bütçe ayrılması gerekmektedir (1). Uygun üreter taşlı hasta grubunda, medikal ekspulsiyon tedavisinde (MET) üreterde düz kas gevşemesi ile taşın geçişinin kolaylaştırılması ve kolik ağrının azaltılması amacıyla çeşitli ilaç grupları kullanılmaktadır. Güncel pratikte α -blokör grubu ilaçlar dışında, kalsiyum kanal blokörleri (CCB) ve PDE5-inhibitörleri de MET'te yerini almıştır (4-6).

Son yıllarda insan mesane ve üreter dokusuyla yürütülen çalışmalarda dokular üzerinde bulunan β 3-AR'ün varlığı ve dağılımı ispatlanmış ve fonksiyonları ortaya konulmuştur (7-9). Bu çalışmalarda β 3-AR'ün hedef alan ilaçların klinik şartlarda araştırılması önerilmiş ve üreter hastalıklarında potansiyel kullanımları tartışılmıştır. Bu çalışmamızda ise, yakın tarihte aşırı aktif mesane hastalığı tedavisinde FDA onayı alan ve yaygın klinik kullanıma sahip Mirabegron (selektif β 3-AR agonisti; MRB) isimli ilacın insan üreteri üzerindeki etkilerin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Üreter yapısı

Üreterler; retroperitoneal yerleşimli, kas yapısında tüp şeklinde organlar olup, çift taraflı böbreklerden idrar torbasında doğru idrar taşınması görevini üstlenirler. Üreterler, renal pelvisin devamı olarak üretero-pelvik bileşke (UPJ) seviyesinden itibaren dar bir kanal şeklinde iliak damar çaprazı seviyesine kadar uzanırlar. İliak damarlar seviyesinden mesane girimine dek üreterler kemik pelvisin lateral duvarı üzerinde seyrederek. Üreterler retroperitoneal alanda, çeşitlilik gösterebildikleri gibi, genelde lomber omurların transvers proçeslerin hemen ucunda seyrederek. Üreter seyri boyunca radyolojik olarak 3 farklı yerde daralmaktadır. Bunlar UPJ, iliak çapraz ve mesane girimindedir. Üreter boyunca seyreden taşlar genellikle bu noktalarda takılmaktadır. Erişkinlerde üreter çapı 1,5 mm ile 6 mm arasında, uzunluğu ise 22 cm ile 30 cm arasında değişebilmektedir.

Günlük pratikte üreterler sıklıkla birtakım radyolojik işaretler temel alınarak 3 kısma bölünebilmektedir:

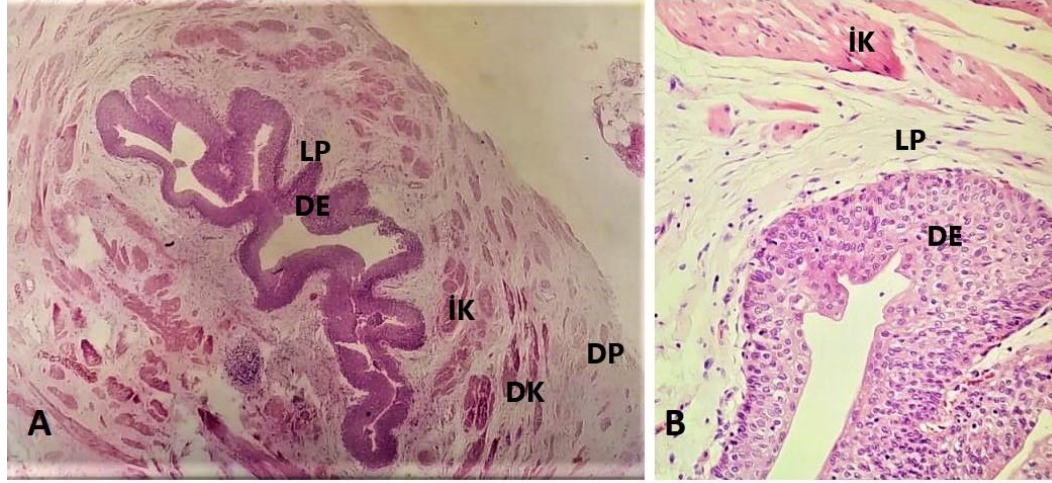
- Proksimal veya üst üreter (UPJ'den sakroiliak eklem seviyesine kadar)
- Orta üreter (Sakroiliak eklem üzerinde kalan kısım)
- Distal veya alt üreter

Ancak, uluslararası anatomik terminolojiye göre üreter kısımları aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır:

- Abdominal üreter (UPJ'den iliak damarlara kadar)
- Pelvik üreter (İliak damarlardan mesaneye kadar)
- İntramural üreter

Üreterin arteriyel beslenmesi proksimalden distale doğru ana olarak: renal arter, ovarian veya testiküler arter, aort, ana iliak arter ve internal iliak arterden köken almaktadır. Üreterin otonom innervasyonu proksimalden distale doğru ana olarak: sempatik trunkus, aortik pleksus, superior hipogastrik pleksus, hipogastrik sinir ve inferior hipogastrik pleksus aracılığı ile sağlanmaktadır (10).

Üreterin histolojik yapısına bakıldığında en dıştan içe doğru seroza tabakası, sirküler düz kas tabakası, longitudinal düz kas tabakası, lamina propria ve değişici epitel görülebilir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. İnsan üreterinin histolojik kesiti. (DE) Değişici epitel, Ürotelyum; (LP) Lamina propria; (İK) İç kas tabakası; (DK) Dış kas tabakası; (DP) Damar pleksusu (Dr. Kemal Kösemehmetoğlu katkıları ile).

2.2. Üreter fonksiyonu

Üreterin fonksiyonu idrarı böbrekten mesaneye taşımaktır. Normal şartlarda, üreter peristaltizmin kaynağı toplayıcı sistem proksimal kısmında yerleşmiş olan ‘pacemaker’ alanların elektrik aktivitesidir (11). Elektriksel aktivite başladıktan sonra distale doğru ilerleyerek, peristaltizm mekanizmasını tetikler ve üreter kasılması ile idrar organ boyunca ileriye doğru atılır. İdrarın randımanlı atılması için üreter duvarının tamamen koapte olabiliyor olmalıdır (12).

2.2.1. İdrarın taşınması

Normal idrar akış miktarlarında, renal pelvis dolmasına bağlı pelvis basıncında bir artış meydana gelir ve idrar, başlangıçta çökmüş durumda olan proksimal üretere doğru itilir. Kasılma dalgası üreterin en proksimal kısmından kaynaklanır ve idrarı distal yönde hareket ettirir. Daha önce üretere girmiş olan idrar bir bolus haline getirilir. Bu bolusun

verimli bir şekilde ilerletilmesi için kasılma dalgası üreter duvarlarını tamamen koapte edebilmelidir (12, 13).

İstirahatte üreter basıncı yaklaşık 0-5 cm H₂O'dur. 20-80 cm H₂O basınçları arasında değişen ve üst üste binen üreter kasılmalar dakikada 2-6 kez meydana gelir (14, 15). Herhangi bir tübüler yapıda olduğu gibi üreter, birim zaman aralığında sınırlı miktarda sıvı taşıyabilir. Normal koşullarda, birim zamanda taşınan idrar miktarı üreterin maksimum taşıma kapasitesinden daha azdır. Yüksek sıvı akışların mevcudiyetinde, perfüzyon çalışmalarında (16) olduğu gibi, üreter duvarları koapte olamaz ve bir dizi bolus yerine sürekli bir sıvı sütunu halinde sıvıları taşınır. Birim zamanda üretere haddinden fazla sıvı girdiği veya birim zamanda üreterden minimal sıvı çıktığı durumlarda suboptimal sıvı taşınmasından söz edilebilir.

Üreterin, artan idrar akış hızlarına verdiği ilk tepki peristaltik frekansında artış olmaktadır. Maksimum frekans değerlerine ulaşıldığında ise, efektif idrar transportun sürdürülmesi adına bolus hacimlerinde artışlar izlenmektedir (17, 18).

2.2.2. Elektriksel aktivite

Üreter düz kasında elektriksel aktivitenin iyonik temeli tam olarak açıklanamamış olmakla beraber çoğu özelliği diğer uyarılabilir doku özellikleri ile benzerlik gösterir. K⁺ iyonlarının membran boyunca dağılımı ve membranın K⁺ geçirgenliği, istirahat halinde üreter kas hücresinde transmembran elektriksel potansiyelini belirleyen başlıca etkenlerdir (19). İstirahat halinde üreter hücre transmembran potansiyeli dış uyarana (elektriksel, mekanik veya kimyasal) maruz kalmadığı veya hâlihazırda uyarılmış komşu hücre kaynaklı elektrik aktivite (aksiyon potansiyeli) iletiminde rol almadığı sürece dengededir. Uyarın ile tetiklenen depolarizasyon halinde hücre içi, istirahat göre, daha az negatif hale gelmektedir. Yeterli bir membran alanında transmembran potansiyeli kritik seviyelere yaklaştıracak denli hızlı depolarizasyon sağlandığında eşik potansiyeli aşılarak aksiyon potansiyeli başlatılmış olur.

Aksiyon potansiyeli peristaltik hareket iletiminde temel hadisedir. Bu potansiyelin birbirine komşu istirahat halindeki hücreleri uyarabilme özelliği karmaşık olaylar zincirini

tetikleyerek, nihayetinde üreter kasılmasına sebep olmaktadır. Hücre uyarıldığında, K^+ öncelikli geçirgenliği olan membran Ca^{+2} 'a daha geçirgen bir hale gelmektedir. Ca^{+2} iyonları membran boyunca başlıca L-tipi Ca^{+2} kanalları aracılığı ile içeri geçerek aksiyon potansiyelin yükselişini tetiklerler (20-24). L-tipi Ca^{+2} kanalları Nifedipin (CCB) ve Kadmiyum (Cd^{+2}) ile inhibe olurken, Baryum (Ba^{+2}) ile uyarılır. Aksiyon potansiyel tepesine ulaştıktan ve bir müddet o platoda seyrettikten sonra transmembran potansiyel repolarize olarak istirahat haline geçmektedir (25). Bu plato o esnada Ca^{+2} ve Na^+ iyonların içeriye süregelen girişi ile ilişkili görünmektedir. Repolarizasyon aşamasında membran tekrar K^+ öncelikli geçirgen haline geri dönmektedir.

2.2.3. Pacemaker aktivitesi

Voltaaj bağımlı açılan ve yavaş kapanan L-tipi Ca^{+2} kanalları üst üriner sistem 'pacemaker' aktivitesinden sorumludur (26). Voltaaj ve Ca^{+2} bağımlı K^+ kanalları bu etkiye zıt olarak çalışmaktadır. Prostaglandin (PG) ve uyarıcı takininlerin duyu sinirlerinden salınımı ile üst üriner sistemde otoritmisite sürdürülmesine yardımcı oldukları öne sürülmüştür. Bu etkilerini Ca^{+2} aracılı yaptıkları düşünülmüştür (27). Tetrodoksine ve diğer otonom sistem blokörlerin peristaltizm üzerinde minimal etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Bu bulgular otonom nörotransmitterlerin piyeloureteral hareketliliğin sürdürülmesinde minimal rolü olduğu düşüncesinin önünü açmıştır (28, 29). Üreter peristaltizmin birincil 'pacemaker' i toplayıcı sistemin proksimal kısmında yerleşiyor olmasına karşın, üreterin diğer bölgeleri de latent 'pacemaker' olarak görev alabilmektedirler. Normal koşullarda gizli 'pacemaker' bölgeleri birincil bölgelerden gelen uyarı hâkimiyeti altına girmektedirler. Bu baskı ortadan kalktığında bu gizli bölgeler kendi başlarına uyarı verme özelliğini kazanabilmektedir. Shiratori vd. bu gizli bölgeleri göstermek için köpek üreterini *in vivo* transekte etmişlerdir. Üreter kesilmeden önce, peristaltik aktivite primer uyarıcıdan köken aldığı gözlemlenmişti. Üreter UPJ seviyesinden transekte edildiğinde, önceki peristaltizme nazaran daha düşük frekanslı, UVJ yönünden gelen antiperistaltik dalgalar izlenmişti. Üreterin UVJ seviyesinde transeksiyonu ise normoperistaltik hareketleri etkilememiştir (30). Latent uyarıcı hücreler üreter boyunca dağılmış durumdadır (31, 32).

2.2.4. Kasılma aktivitesi

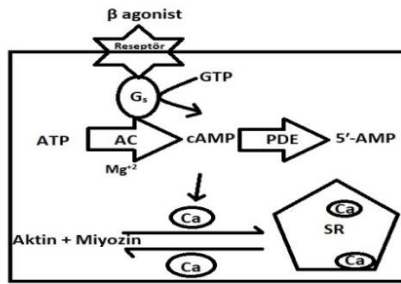
Kasılma hadisesi aktin ve miyozin bölgesinde serbest sarkoplazmik Ca^{+2} yoğunluğuna bağlıdır. Kontraktıl protein bölgesinde Ca^{+2} konsantrasyonlarında anlamlı yükselişe neden olan tüm olaylar kasılma gelişimini desteklerken, gevşeme için tam tersi geçerli olmaktadır. Mastrangelo vd. sıçan üreteri ürotelyumun NO üretip (33), üreterin kasılma yanıtını inhibe ettiği göstermişlerdir. Bu çalışmada ürotelyumun izole sıçan üreterinde spontan kasılmaları engellediği gösterilmiştir. Ek olarak ürotelyumun uzaklaştırılması nörokinin A, vazopressin, karbakol bradikinin ve anjiyotensin II'nin uyarıcı etkisini arttırmıştır (34). Sağlam üreter segmentlerinde siklooksijenaz (COX) inhibitörlerin, nörokinin A, vazopressin, karbakol, bradikinin ve anjiyotensin II'nin uyarıcı etkilerini güçlendirdiği gösterilmiştir. COX inhibitörlerinin, ürotelyumsuz üreterlerde yukarıda sayılan ajanlara verilen yanıtlar üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Bu veriler bize, ürotelyumun üreteral kontraktıl olaylar üzerindeki inhibitör etkilerinin, prostasiklin gibi bir ürotelyal COX ürününün üzerinden sağladığını düşündürmektedir.

2.2.5. İkincil haberciler

Agonist veya ilk haberci, zara bağlı spesifik bir reseptör ile etkileşime girer. Agonist-reseptör kompleksi daha sonra hücre içindeki ikinci haberci miktarının değişmesine yol açan bir enzimi aktive veya inaktive eder. Bu ikinci haberciler arasında cAMP, siklik guanozin monofosfat (cGMP), Ca^{+2} , inozitol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DG) sayılabilir. İkincil haberciler, sıklıkla protein fosforilasyonunu içeren bir süreç yoluyla ilk haberciye verilen fonksiyonel yanıtı aracılık ederler. Örneğin, cAMP'nin çeşitli düz kaslarda β -AR agonistlerin gevşetici etkilerine aracılık ettiğine inanılmaktadır (35-37). Bu kavrama göre, izoproterenol gibi bir β -AR agonist, ilk haberci olarak görev yapar ve hücre zarının dış yüzeyinde bir reseptöre bağlanır. β -adrenerjik agonist-reseptör kompleksi, reseptörle yakın morfolojik ilişki içinde hücre zarının iç yüzeyindeki adenilil siklaz (AC) enzimini aktive eder. Mg^{+2} ve bir guanin nükleotidi (GTP) varlığında, AC hücre içinde ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü katalize eder (Şekil 2.2.).

Uyarıcı bir GTP düzenleyici protein olan G proteini (G_s), agonist-reseptör kompleksi ile AC enziminin aktif birimi arasında fonksiyonel bir iletişim görevi görür.

cAMP, β -AR agonist tarafından ortaya çıkarılan yanıtın ikincil habercisi olarak görev yapar. Bir protein kinaz enzimin aktivasyonu ve proteinlerin fosforilasyonu yoluyla cAMP'deki artışın, Ca^{+2} 'un hücre içi depolama bölgelerine (ör. sarkoplazmik retikulum) alınmasına yol açtığı ve bunun sonucunda kasılma proteinlerinin bölgesinde serbest sarkoplazmik Ca^{+2} 'un azalmasına yol açtığı belirtilmiştir (36). Kasılma proteinlerinin bulunduğu bölgede sarkoplazmik serbest Ca^{+2} 'daki azalma düz kasın gevşemesine yol açar. β -AR ile uyarılan düz kas gevşemesi ayrıca, Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanallarının açılmasından da kaynaklanıyor olabilir (38, 39).



Şekil 2.2. cAMP'nin β -AR aracılı düz kas hücresinde gevşemesindeki rolünü anlatan şematik gösterim. (PDE) Fosfodiesteraz; (SR) Sarkoplazmik retikulum.

cAMP seviyeleri hücre içinde iki şekilde arttırılabilir. Birincisi, AC enziminin aktivasyonunu da içeren sentezi arttırmaktır; diğeri ise yıkımı azaltmaktır. cAMP'nin bozulması, bir enzim olan fosfodiesterazın (PDE) aktivasyonunu içerir. Bu nedenle, β -AR agonist olan izoproterenol gibi AC aktivitesini arttıran veya PDE aktivitesini azaltan ajanlar (teofilin, papaverin) hücre içi cAMP seviyelerini arttırır ve düz kas gevşemesine neden olur. cAMP'nin düz kas gevşemesindeki rolüne ilişkin çalışmalar bu ilişkiyi desteklemektedir. Sağlam hücreye daha kolay diffüze olan ve cAMP'ye kıyasla PDE tarafından parçalanma olasılığı daha düşük olan dibütiril cAMP'nin, üreter dokuları dâhil çeşitli düz kasları gevşettiği gösterilmiştir (40, 41). Diğeri çalışmalarında, AC katalitik alt birimini aktive eden forskolinin üreteri gevşettiği gösterilmiştir (42, 43).

Bir başka siklik nükleotid olan cGMP de düz kas gevşemesine neden olur. cGMP, guanilil siklaz enzimi tarafından GTP'den sentezlenir ve bir PDE tarafından 5'-GMP'ye indirgenir. Hem cAMP hem de cGMP'yi bozabilen PDE aktivitesi, köpek üreterinde gösterilmiştir. Çeşitli PDE inhibitörleri cAMP veya cGMP gibi siklik nükleotidlerin yıkımını önleyebilir (44, 45). Sinir uçlarından salınan NO, düz kas hücresindeki guanilil siklaz enzimini aktive eder ve sonuçta GTP'nin cGMP'ye dönüşümü aracılığı ile düz kas gevşemesi gerçekleşir. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) bağımlı ancak Ca^{+2} 'dan bağımsız bir indüklenebilir NOS izoformu (iNOS) üreter düz kasında tanımlanmıştır (46). iNOS, kısa sayılabilecek zaman aralığı içinde büyük miktarlarda NO üretir. NO yolağının insan üreter gevşemesinde rolü olduğuna dair kanıtlar vardır (47, 48). Ayrıca NO'nun domuz UVJ'sinin adrenerjik ve kolinerjik olmayan gevşemesinde rol oynadığı gösterilmiştir (49).

2.2.6. Sinir sistemin üreter fonksiyonuna etkisi

Üreter, ayrı nöromusküler kavşakları olmayan sinsityal bir düz kas türüdür (50). Üreter peristaltizmi transplantasyon veya denervasyondan sonra bile devam edebilmektedir (51, 52). İzole edilmiş *in vitro* üreter segmentlerinde spontan aktivite meydana gelebildiği gösterilmiştir (53). Bu bilgiler ışığında üreteral peristaltizm innervasyon olmadan da meydana gelebileceği açıktır. Bununla birlikte, literatüre bakıldığında, sinir sisteminin üreteral peristaltizmde en azından modüle edici bir rol oynadığını görülmektedir. Morita vd. otonom sinir sisteminin üreterin peristaltik frekansının yanı sıra üreterde taşınan idrar bolus hacmini de etkilediğini gösteren kanıtlar sunmuşlardır (54).

2.2.6.1. Parasempatik sistem

Üreteral peristaltizm kontrolünde parasempatik sinir sisteminin rolü tam olarak tanımlanamamış olmasına rağmen, insan dâhil birçok türün üreterinde muskarinik kolinerjik reseptörler gösterilmiştir (55-57). Asetil kolin, metakolin (Mekolil), karbamilkolin (karbakol) ve betanekol (Ürekolin) olmak üzere kolinerjik agonistlerin genel olarak üreteral ve renal pelvik fonksiyon üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip oldukları

gözlemlenmiştir. Bu ajanlar üst üriner sistemde kasılmaların sıklığını ve kuvvetini arttırlar (58-63).

2.2.6.2. Sempatik sistem

Üreter, uyarıcı α -AR ve inhibitör β -AR reseptörleri içerir (60, 64, 65). Bu reseptörlerin varlığı reseptör bağlama teknikleri ile gösterilmiştir (56, 57). İnsan üreterinde, renal pelviste ve kalikslerde α 1D ve α 1A adrenoseptör alt tipleri, α 1B adrenoseptör alt tipinden daha yaygındır (66-68). α 1A adrenoseptör alt tipi, fare, hamster ve insan üreterinin kasılmasına katkıda bulunan birincil α -AR reseptör alt tipidir (69-72). α 1A adrenoseptörlerin, üreteral peristaltik aktivitenin güçlenmesinden ziyade, başlangıçtaki üreteral tonusun korunmasında daha fazla rol aldığı bilinmektedir (73, 74).

Ortamda bir α -AR inhibitörü olan fentolamin varlığında, nörepinefrin üreter kasılmalarının gücünü azalttığı bilinmektedir (65). Benzer bir etki *in vivo* üreterde de gösterilmiştir (64). Bu bulgular nörepinefrinin esas etkisini, α -AR reseptörler bloke edildiğinde, inhibitör β -AR reseptörler aracılığı ile göstermesi ile açıklanabilir. Bir β -AR antagonist olan propranolol, nörepinefrin tarafından indüklenen kasılma kuvvetindeki artışı güçlendirir. Ayrıca, bir β -AR agonisti olan izoproterenol, kasılmayı baskılar (65). Bu veriler üreterdeki uyarıcı α -AR ve inhibitör β -AR reseptörler için kanıt niteliğinde olup, *in vivo* koşullarda üreterler üzerinden elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir (60, 64).

2.2.6.3. Adrenerjik etkili farmakolojik ajanlar

Literatürde, nörepinefrin ve fenilefrin gibi birincil olarak α -AR'leri aktive eden ajanların, üreteral ve renal pelvik aktiviteyi stimule konusunda genel bir fikir birliği mevcuttur (58, 60, 64, 75, 76). İzoproterenol ve orsiprenalin gibi öncelikle β -AR'leri aktive eden ajanlar ise, üreteral ve renal pelvik aktiviteyi inhibe etme eğilimindedir (53, 58, 60, 64, 75-78).

α -AR antagonisti doksazosinin, *in vitro* domuz üreterinin spontan kontraktilitesini hafifçe azalttığı ve epinefrin ve fenilefrinin aracılı kasılma etkilerini inhibe ettiği gösterilmiştir (79). Benzer bir şekilde tamsulosinin insan üreter kontraktilitesini *in vitro*

ve *in vivo* baskıladığı gösterilmiştir (80, 81). İnsan ve sıçan izole üreterleri ile yapılan başka bir çalışmada, seçici bir $\alpha 1A$ -AR antagonisti olan silodosin EAS ile indüklenmiş kasılmaları inhibe etmede, seçici bir $\alpha 1A/D$ -AR antagonisti olan tamsulosin veya non-selektif α -AR antagonisti prazosin'den daha etkili bulunmuştur (82).

$\beta 3$ -AR, 7 transmembran G-protein-bağlı reseptör ailesine ait, hücre dışı N-terminal kuyruğu ve hücre içi C-terminal kuyruğa sahip bir reseptördür. İnsanda 408 amino asitten oluşan bu reseptör sıçanlarda 400 amino asitten oluşmaktadır. $\beta 3$ -AR ayrıca agonist ile indüklenen desensitizasyona karşı C-terminal kuyruğu fosforilasyon alanları eksikliği nedeni ile dirençlidir (83). MRB, $\beta 3$ -AR için yüksek, $\beta 1$ -AR ve $\beta 2$ -AR için çok düşük intrinsik aktivite göstermektedir (84). $\beta 3$ -AR'lerin uyarılması mesane detrusör kaslarında direk gevşemeye sebep olmakla beraber bunu sağlayan altta yatan hücrel mekanizma net değildir. Olasılıkla, gevşeme mekanizması BK Ca^{+} kanallarının aktivasyonu ve G_s aracılı AC uyarımı sonucu hücrel siklik AMP (cAMP) düzeylerin artmasına bağlı gerçekleşmektedir (85). Son yıllarda yapılan sıçan mesane β -AR deneylerinde, ortama $\beta 2$ -AR ve $\beta 3$ -AR agonistlere ek olarak PKA ve AC inhibitörleri eklenmesine rağmen, yüksek Potasyum Klörür (KCL) solüsyonu ile indüklenmiş tonusun $\beta 2$ -AR ve $\beta 3$ -AR agonistler ile azaltıldığı kaydedildi. Bu bulgular farklı düz kas dokularında özellikle $\beta 3$ -AR'lerin cAMP aracılı gevşemesi dışında çeşitli K^{+} kanalları üzerinden etki gösterebildiğine işaret etmektedir (38, 39, 86).

$\beta 3$ -AR'leri bir zamanlar farmasötik şirketleri için cazip bir hedefti. Buna sebep olarak $\beta 3$ -AR'lerin sıçan yağ dokusunda yüksek oranlarda ekspresyonu gösteriliyordu. Sıçanlarda $\beta 3$ -AR'lerin uyarılması ile obezite ve Tip2 DM hayvan modellerinde adipöz dokuda azalma ve metabolik göstergelerde iyileşme elde edilebiliyordu. Ne var ki bu yöntemle geliştirilen $\beta 3$ -AR agonisti ilaçlar klinik araştırmalarda başarısız olmuşlardır. Bu ajanların insan reseptörlerine karşı düşük etkinlik profiline sahip olmaları bu başarısızlığın sebebi olarak kabul edilmiş (83).

Üreteral gevşemede yer alan β -AR alt tipleri türe özgüdür. Sıçanlarda $\beta 1$ -AR, tavşanlarda $\beta 2$ -AR ve köpeklerde başlıca $\beta 3$ -AR'lerdir. Domuz ve insanda ise $\beta 2$ -AR ve

β 3-AR'lerdir (8, 87-89). Tüm β -AR alt tipinin insan üreterinde ekspresyonu gösterilmiştir (7). Göreceli spesifik bir β 3-AR agonisti olan TRK-380, *in vitro* insan üreter segmentlerini gevşettiği gösterilmiş ve β 3-AR agonisti MRB'nin de aynı şeyi yapabileceği önerilmiştir (7). *In vitro* köpek üreter segmentleri ile yapılmış bir çalışmada, sentetik β 2/ β 3-AR agonisti olan KUL-7211, α -AR antagonisti tamsulosin ve prazosin, CCB olan verapamil ve PDE inhibitörü olan papaverin ile kıyaslandığında daha kuvvetli bir gevşetici olduğu gösterilmiştir (90). Sonraki çalışmalarda KUL-7211'in *in vivo* domuz üreterinde de güçlü bir gevşetici olduğu gösterilmiştir (91).

Literatürde sıçan, köpek, tavşan ve domuz deney gibi memeli hayvanların üreterleri ile yapılan çeşitli deney modellerinde β -AR aracılığı yanıtları inceleyen çalışmalar, β -AR alt tip agonistlerin gevşetici ve frekans baskılayıcı özelliklerini göstermişlerdir (73, 87, 92, 93). Daha önce hayvan üreterlerinde β -AR aracılı yanıtları incelemiş ekip ile çalışmış Park vd. insan üreteri ile *in vitro* koşullarda yaptıkları çalışma, β 1-AR'nin β 2-AR'nin ve β 3-AR'nin insan üreteri düz tabakasında dağılımını göstermiştir. Bu çalışma spesifik olarak β 3-AR mRNA'sının (haberci ribonükleik asit) insan üreteri düz kasında dağılımını RT-PCR ile gösteren ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Araştırmacılar tüm alt tiplerin varlığını kanıtlamakla beraber, üreter gevşemesinde başlıca rolü β 2-AR agonistlerin oynadığını belirtmişlerdir. Bu bulgular daha sonra Matsumoto vd. tarafından tartışılmıştır. Park ve arkadaşlarının β 3-AR agonisti olarak kullandıkları gevşetici ajanın ilerleyen yıllarda β 2-AR'e β 3-AR'e göre daha yüksek affinite ile bağlandığı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle sağlıklı β 3-AR agonist yanıtının elde edilememiş olabileceği vurgulanmıştır (8). Matsumoto vd. yaptıkları benzer çalışmada insan üreterinde β -AR alt tiplerin dağılımını ve fonksiyonlarını daha ayrıntılı olarak incelemişlerdir. PCR ile İmmünohistokimya (IHC) ile yapılan incelemede β -AR alt tiplerin hem düz kas hem ürotelyum tabakasında varlığını göstermiştir. Bu çalışma ile düz kas tabakasına ile karşılaştırıldığında, ürotelyumdaki tüm alt tip β -AR'lerin boyanmasının daha yoğun olduğu gösterilmiştir. Başka çalışmalarda fonksiyonel deneylerle, Park vd. ile tutarlı olarak, β 2-AR ve β 3-AR agonistlerin gevşeme sağladığı gösterilmiştir (7).

2.3. Tıkayıcı hadiselerin üreter üzerine etkileri

Obstrüksiyonun üreter fonksiyonu üzerindeki etkisi, obstrüksiyonun derecesine, süresine, idrar akış hızına ve enfeksiyonun varlığına bağlıdır. Peristaltik kasılma dalgalarının genliğinde ve frekansında değişiklikler üreteral istirahat basınç ve boyut değişikliklerine yanıt olarak ortaya çıkarlar (94, 95). Zaman ilerledikçe üreter idrarla dolar ve peristaltik kasılma dalgaları küçülür. Üreter duvarını koapte edemez hale gelir. İdrarın taşınma dinamiği bu noktadan sonra daha çok böbrek tarafından üretilen hidrostatik kuvvetlere bağımlı hale gelir. Obstrüksiyon varlığında enfeksiyon gelişimi, tıkalı üreterde kasılmaların tamamen yok olmasına sebep olur. Bu mekanizma ile enfektif süreçler idrar taşınmasının bozulmasına katkıda bulunur (96). Tıkanmadan birkaç saat sonra, intraluminal bazal basınç zirveye ulaşır ve ardından normal bazal basınçtan az üstünde bir seviyeye iner. Tıkanma sebat ettikçe, üreter uzunluk ve çapında kademeli bir artış gerçekleşir. Bu hadiseler, üreter basıncının nispeten düşük ve sabit bir seviyede kalmasına rağmen gerçekleşir (97). Klinik ve deneysel bakış açısı ile kas hipertrofisi ve kasılmadaki artışa rağmen genişlemiş üreterin idrar iletimi için gerekli basınçlarını oluşturamadığı görülmüştür (96).

2.3.1. Üreter taşının üreter fonksiyonu üzerine etkisi

Üreter taşının kendiliğinden düşmesinde etkili faktörler: Taşın şekli ve boyutu, üreter doğal olarak dar olan bölgeler, üreter peristaltizmi, taşa göre proksimalde idrarın hidrostatik basıncı, taş bölgesinde inflamasyon, ödem ve üreteral spazm olarak sayılabilir (98-100). Taşların üreterden geçişini engelleyen veya katkıda faktörleri anlamak için Crowley vd. köpeklerde önce intralüminal balon kateter ile akut üreteral obstrüksiyon modeli oluşturdular. Daha sonra akut obstrüksiyon bölge proksimal ve distalindeki peristaltik dalgaları ve basınçları ölçtüler. Peristaltik hız yanı sıra bazal, maksimum ve delta basınçları tıkanıklık bölgesinin proksimalinde yüksek olarak kaydedildi. Buna karşın, tıkanmanın distalinde bazal, maksimum ve delta basınçları düşerken peristaltik hız değişmeden kalmış (101). Sıçan üreterine yapay taşın yerleştirildiği bir başka deneysel çalışmada, üreter kasılmaların genliğinde artma, frekansta azalma ve bazal basınçta düşüş kaydedilmiş. Ayrıca, bu değişikliklerin spontan taş düşürülmesinden bir müddet sonrasında

kadar ettiği kaydedilmiş (102). Taşın neden olduğu motilite artışının visseral ağrıya katkıda bulunduğu öne sürülmüştür.

Taş pasajına yardımcı olan başlıca faktörler olarak, taş proksimalinde hidrostatik basınç artışı ve taş bölgesinde üreter gevşemesi olarak sayılabilir. α -AR antagonisti olan fentolaminin ve β -AR agonistlerin (orsiprenalin ve izoproterenol) yapay üreter taşı seviyesinde üreter lümenini genişlettiği ve üreteral duvar gerilimini azalttığı gösterilmiştir. Bu etkileri ile yukarıda bahsedilen ajanlar taşın yanından sıvı akışını kolaylaştırdıkları gösterilmiştir (103, 104). Bu veriler, üreter üzerinde spazmolitik etkileri olan ilaçların renal koliği giderebileceğini düşündürmektedir. Farmakolojik veriler, bir yapay kalkül ile tıkanma bölgesindeki üreteral gevşemenin taş geçişine yardımcı olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Çalışmalarda nifedipin ve deflazakort kombinasyonunun 1 cm veya daha küçük distal üreter taşlarının spontan geçişini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (105, 106). Takip eden çalışmalarda, aynı araştırmacı grubu nifedipin veya tamsulosinin (selektif α 1A/1D-AR antagonisti) deflazakort ile kombine edildiğinde, alt üreter taşlarının spontan geçiş hızını arttırdığını göstermişlerdir (107). Tamsulosinin ek olarak tek başına da üreter alt uç taşların düşürülmesine yardımcı olduğu gösterilmiştir (108).

2.4. Mirabegron hakkında genel bilgiler

MRB, aşırı aktif mesane (AAM) tedavisinde klinik kullanıma giren ilk β 3-AR agonistidir. MRB 2013 yılından beri Avrupa, Kanada, ABD ve Japonya başta olmak üzere birçok ülkede klinik pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır. MRB klinik kullanıma girdiğinde, kendi sınıfında ilk ve oral farmakolojik aşırı aktif mesane tedavi ajanları sınıfında 30 yılı aşkın sürede ilk yeni ajan olma özelliğini taşımaktaydı. 2021 yılı itibarı ile MRB pediatrik 3-18 yaş grubunda da AAM tedavisinde kullanılmak üzere ABD’de onay almış durumdadır (109). 2020 yılı sonunda β 3-AR agonist sınıfında FDA onayı alıp klinik kullanıma giren Vibegron, MRB’ye alternatif olabilecek potansiyelde bir ilaç olarak değerlendirilmektedir. Vibegron’un henüz yaygın klinik kullanımı söz konusu olmamakla beraber ilerleyen yıllarda bu durumun değişmesi öngörülmüyor (110). Erişkin üriner inkontinans konusunda yayınlanan son Avrupa Üroloji Derneği yönergelerine göre MRB,

sıkışma tipi üriner inkontinans hastalığında plasebo ile kıyaslandığında daha başarılı ve an az antimuskarinik ilaçlar kadar etkin, yüksek kanıt düzeyi ile desteklenen bir ajandır (111). İnsan vücudunda β 3-AR'ler damarlar, kalp ventriküllerinde, beyin, çizgili kaslarda, gastrointestinal sistemde, kahverengi ve beyaz adipöz dokuda bulunmaktadır. Diğer dokular ile kıyaslandığında, adipöz dokularda ve üriner sistemde β 3-AR'ler daha yoğun olarak yerleşmektedir (7, 112). MRB'nin olası yan etkileri olarak: hipertansiyon, taşikardi, idrar yolu enfeksiyonu, kabızlık, baş ağrısı, baş dönmesi ve sırt ağrısı sayılabilir (113).

2.5. Mirbageron'un mesane dışı potansiyel kullanım alanları

Jung vd. literatür derlemelerinde, piyeloüreterik dinamikleri üzerine etkili olan farmakolojik ajanları tartışmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında, endoürolojik işlemler esnasında toplayıcı sistemde basıncın düşük tutulması gerekliliği üzerine eğilmişlerdir. Yazarlar işlem esnasında yıkama sıvılarında eklenen farmakolojik ajanlarla endoürolojik prosedürlerin potansiyel olarak daha güvenli hale getirilebilir olduğunu vurgulamışlardır (114). Benzer konuda, yukarıda bahsedilen çalışmadaki fikir yürütmeye paralel olarak Canda vd. literatür derlemelerinde insan üreteri farmakoloji ve fizyolojisini irdelenmişlerdir. Yazarlar sonuç olarak mevcut olan α -AR antagonist, β -AR agonist, PDE inhibitörü, NO donörleri, CCB vb. üreter gevşetici ajanların üreter tıkanmalarının tedavisinde faydalı olabileceğini tartışmışlardır. Bu ajanların klinik olarak üreter taşı semptomların medikal tedavisinde, üreter taşı düşürmeye yardımcı olarak, üreteri endoskopik işleme hazırlık aşamasında ve ESWL ile kombine olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır. Araştırmacılar ayrıca insan üreterin kasılma yanıtlarını ortaya koyacak deneysel çalışmaların gerekliliğini belirtip bunları teşvik etmişlerdir (115).

Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda β 2-AR ve β 3-AR agonistlerin *in vitro* ortamda üreter gevşemesi sağladıkları gösterilmiştir. β 2-AR agonistlerin *in vivo* koşullarda taşikardi, sinirlilik vb. yan etkileri nedeni ile onları üreteral patolojilerin medikal tedavisinde elverişsiz kılmaktadır. Bu durum klinik çalışmaların β 3-AR agonistlere odaklanmalarına sebep olmaktadır (116). MRB'nin klinik pratiğe gittikçe yerleşmesi sonucu, yan etki profili bilinen bu ilacın MET gibi olası yeni endikasyonlarla kullanımı

için yapılan araştırmalar hız kazanmıştır (117-122). MET'in hedefi üreter taşı dūřüren hastaların ağrı atakların (kolik) sıklığını azaltmak ve üreter dilatasyonunu sağlayıp tıkanmasını önlemektir. Bir diğer amacı ESWL gibi işlemlerden sonra küçük tař fragmanlarını dūřürmeye yardımcı olmaktır. Bu yönü ile etkili bir MET rejimi, hospitalizasyon dâhil tařa bağlı hadiselerin hafif atlatılması açasından önemlidir (117).

Bugüne kadar yayınlanan ve MRB'nin MET vb. klinik endikasyonlarla kullanılabilirliği araştıran çalışmalar genellikle *in vivo* klinik çalışmalar olmuştur. Bu alanda *in vitro* ortamda insan üreterleri ile yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamız bu yönü ile özgün olup literatürdeki eksikliği gidermeye yönelik tasarlanmıştır.

2.6. Çalışmanın hipotezi ve amacı

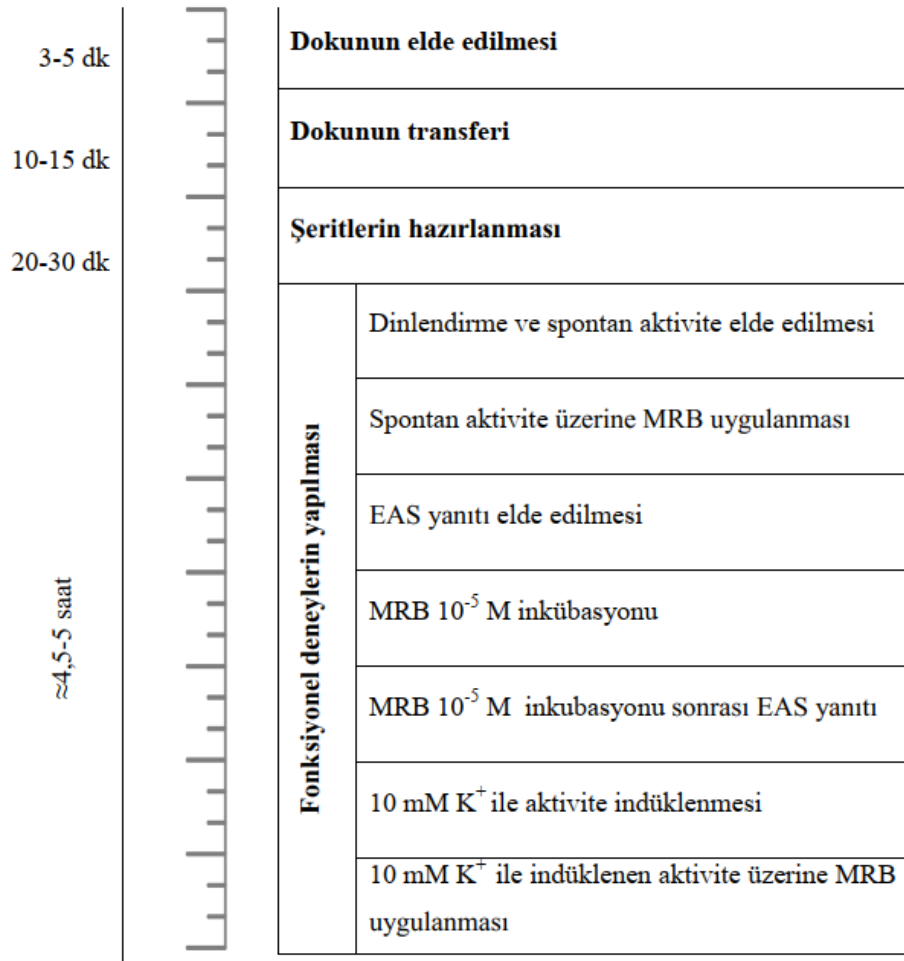
Araştırmamızın özgün yönü sağlıklı insana ait üreter dokusu fizyolojik aktivitesi üzerinde MRB'nin *in vitro* etkinliğini gösterecek olan ilk bilimsel çalışma olacak olmasıdır. Bilgimiz dâhilinde bu konuda daha önce yapılan bir araştırma bulunmamaktadır. Günümüzde MRB'in AAM hastalığın tedavisi dışında bir endikasyonla rutin bir kullanımı bulunmamaktadır. Bulgularımızın MRB'in farklı endikasyonlarını araştıracak klinik çalışmalar için zemin oluşturacağını dūřünmekteyiz. Araştırma hipotezimiz MRB'in *in vitro* ortamda sağlıklı insan üreter düz kası üzerinde gevşetici etki göstereceği yönündedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, ilgili enstitü ve Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan gerekli izinler (GO 20/117; 27.1.2020) alındıktan sonra, Hacettepe Üniversitesi Üroloji ABD ve Farmakoloji ABD'de yürütülmüştür. Çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2020-18836 proje numarasıyla desteklenmiştir.

3.1. Çalışma planı

Çalışmamız prospektif *in vitro* doku organ banyosu deneyi olarak planlanmıştır. Aralık 2020-Haziran 2021 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji kliniğinde Laparoskopik (LDN) ve Robot Yardımlı Laparoskopik Donör Nefrektomi (RYLDN) ameliyatı geçiren böbrek vericilerin greft böbreğe ait üreter dokuları kullanılmıştır. Tüm katılımcılar ameliyat öncesi bilgilendirilmiş ve aydınlatılmış onam formunu imzalamışlardır. Deney için toplanan üreter dokuları, deney için toplanmadıkları olağan ameliyat seyri esnasında, ameliyat yöntemi sonucu böbrek alıcısı hastada üreteroneosistostomi esnasında eksize edilip tıbbi atık kapsamında imha edilmektedir. Çalışma, doku eldesi basamağının hastaların olağan klinik seyrini ve cerrahi klinik işleyişini değiştirmeyecek biçimde tasarlanmıştır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Çalışma protokolü. Doku elde edilmesi: Renal arter kesilmesi ile distal üreterin greft böbrekten ayrılıp deney tüpüne konulması arasında geçen süre; Dokunun transferi: Dokunun deney tüpüne konulması ile laboratuvarında Petri kabına konulması arasında geçen süre; Şeritlerin hazırlanması: İzole üreter şeritlerin hazırlanması ve organ banyosuna asılması arasında geçen süre.

3.2.Doku kaynağı

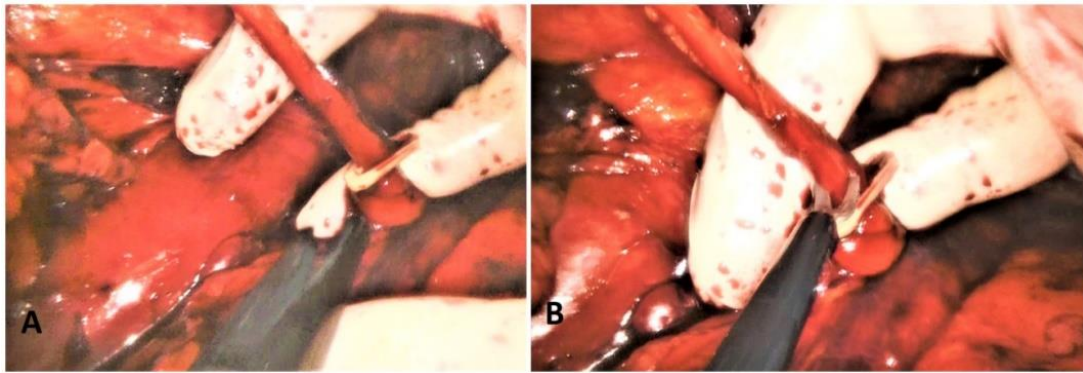
3.2.1. Cerrahi teknik

LDN'ler ve RYLDN'ler trans-peritoneal olarak ortalama 13 mm Hg karın içi basınç altında gerçekleştirildi. Hastalara 'flank' pozisyonu verildi ve cerrahi masa fleksiyona getirildi. Tüm bası noktaları yastıklarla ve yumuşak materyallerle bası yaralanmalarına karşı korundu. Peritonun visseral ve parietal yapraklarının arasının CO_2

gazı ile şişirilmesi için ‘Veress’ iğne tekniği kullanıldı. Laparoskopik portlar pararektal çizgide lineer çizgide olacak şekilde yerleştirildi.

3.2.1.1. Laparoskopik Donör Nefrektomi

Kolon 'Toldt' çizgisi seviyesinde mediale doğru serbestlendi. Üreter ve gonadal damarlar belirlenip serbestleştirildi. Üreter iliak damar seviyesine kadar serbestlendi. Böbrek, lateral bağlantıları bırakılarak çevre dokulardan serbestleştirildi. Renal hilus serbestleştirildi. Renal arter ve ven ortaya konuldu. Bu aşamada Pfannenstiel insizyonu greft çıkarılması için hazırlandı. Üreter distaline Hem-o-lock klip konularak üzerinde kesildi (Şekil 3.2.). Renal arter ve ven endoskopik stapler yardımı ile dikilerek kesildi. Ardından greft organ vücut dışına alındı.



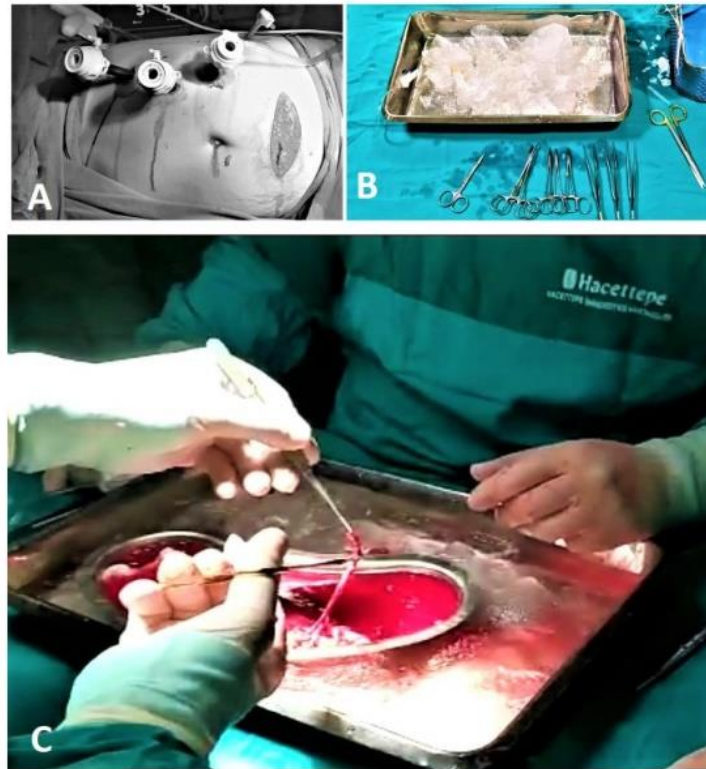
Şekil 3.2. Üreterin iliak damar seviyesinde kliplenmesi (A) ve kesilmesi (B).

3.2.1.2. Robot Yardımlı Laparoskopik Donör Nefrektomi

RYLDN ameliyatı standart LDN ile aynı adımları takip edilerek gerçekleştirildi. LDN'den farkı: cerrahın robotik konsolda, asistanın da hasta başında bulunması idi. Karın şişirildikten ve laparoskopik portlar yerleştirildikten sonra da Vinci Xi® (Intuitive Surgical, Inc.) robotik cerrahi sistemin ana ünitesi ‘dock’ edildi. Pfannenstiel insizyon hazırlanması aşamasında robotik sistem ‘undock’ edildi. Sonraki basamaklar LDN ile aynı olarak gerçekleştirildi.

3.2.2. Doku eldesi

Greft böbrek, çıkarıldıktan hemen sonra ameliyat odasında bulunan ve önceden hazırlanan arka masada hemen soğutulurken standart organ perfüzyon solüsyonu ile perfüzyonu sağlandı. Doku eldesi, mekanik hasar verilmesinden sakınılarak, uygun olan greft organlarda bu aşamada gerçekleştirildi. Greft organ üreterinden yaklaşık 1,5-2 cm lik bir segment eksize edildi. Toplanan dokular üreter orta kısım distal kısmından, sakroiliak eklem seviyesine tekabül eden seviyeden ve aynı zamanda üreterin eksternal iliak arteri çaprazladığı noktadan elde edildi (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Üreterden doku eldesi. (A) Laparoskopik portların yerleşimi ve Pfannenstiel kesisi. (B) Greft organ için hazırlanmış arka masa. (C) Üreter distalinden dokunun ayrılması.

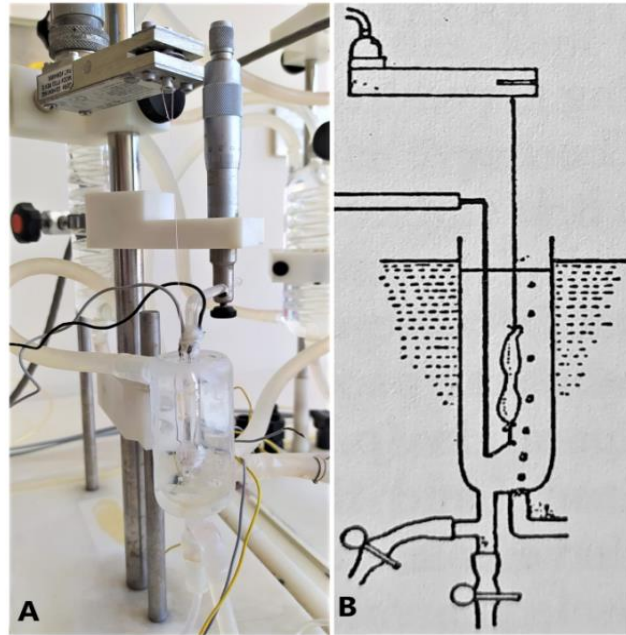
3.2.3. Doku transferi

Dokular, çalışma ile aynı gün taze olarak hazırlanan ve önceden %95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı ile gazlandırılmış Krebs solüsyonuna (NaCl 118,1 mM; KCl 4,7 mM; CaCl₂

2,5 mM; $MgSO_4$ 1,2 mM; $NaHCO_3$ 25 mM; KH_2PO_4 1,2 mM ve glukoz 11,1 mM) konularak, kapalı bir kap içerisinde ameliyathaneden laboratuvara transferi sağlandı.

3.2.4. Doku hazırlanması

Üreter örnekleri laboratuvar ortamında en kısa sürede 'Petri' kabına aktarıldı. Dokular oda sıcaklığında ve sürekli gazlandırılan Krebs solüsyonu ortamında hazırlandı. Çevre bağ dokuları uzaklaştırıldıktan sonra, üreter örneği transekte edildi ve longitudinal kesi ile detübularize edildi. Bu hazırlık sonucu yaklaşık 5×10 mm iki doku şeridi elde edildi. Doku şeritleri sıcaklığı $37^\circ C$ 'de sabit tutulan, %95 O_2 ve %5 CO_2 karışımı ile gazlandırılan 20 mL hacimli organ banyosuna asıldı (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Organ banyosu deney düzeneği. (A) Doku şeridi, amplifikatör ve kaydediciye bağlı mekano-elektrik transducer'in ucuna asılmış durumda. (B) Deney düzeneğinin şematik gösterimi (123) .

3.3. Fonksiyonel deneyler

Doku şeritlerin bir ucu transducer'e bağlı, diğer ucu tutucu cam çubuğun kancasına takılı ve yan taraflarında elektriksel alan uyarımı için platin levhalar yerleştirilmiş olarak deneyler gerçekleştirildi. Organ banyosunda elde edilen doku yanıtları transducer'a bağlı

bilgisayar temelli veri toplama sistemi ile kaydedildi. Bu amaçla *MP 150* donanım (BIOPAC Systems, Inc.) ve *AcqKnowledge*[®] 4.2 (BIOPAC Systems, Inc.) yazılımı kullanıldı. Dokulara 1 gram bazal gerim uygulandı. Her 15 dakikada bir 20 mililitrelik organ banyosu içerisindeki Krebs solüsyonu boşaltılıp tekrar dolduruldu. Bu döngü dört defa tekrarlandı; bu yöntem ile doku şeritleri bir saat boyunca dinlendirildi. Bahsedilen bir saatlik süreç içinde üreteral peristaltizm yaklaşık 45. – 60. dakikada gözlemlendi. Spontan kasılma yanıtı alındıktan sonra MRB (Cayman Chemical; MI, USA) artan konsantrasyonlarda (10^{-9} - $10^{-4.5}$ M) eklenerek doku yanıtı kaydedildi. Daha sonra 3 saniye boyunca, 150 V şiddetinde, 0,2 ms uyarı süresi ile iki frekansta (10 Hz, 100 Hz) kare dalgalarla elektriksel alan stimülasyonu (EAS) uygulandı ve bazal EAS yanıtları kaydedildi (Grass S44 Stimulator; Grass Instruments, USA). İki EAS uygulaması sonrasında doku 5 dk boyunca dinlendirildi. Sonraki adımda, dokular MRB (10^{-5} M) inkubasyon solüsyonunda bekletildikten sonra aynı EAS protokolü uygulanarak, MRB'nin EAS yanıtı üzerindeki etkisi incelendi. EAS ile tetiklenmiş kasılmalar miyojenik kökenli kasılmalar olarak kabul edildi. Sonraki aşamada organ banyosuna 10mM K⁺ solüsyonu eklenerek fazik kasılmalar tetiklendi. Bu fazik kasılma eldesi sonrası banyoya kümülatif olarak artan dozlarda MRB eklendi ve doku yanıtları kayıt altına alındı. Deney protokolü aşamaları arasında dokunun dinlenmesine izin verildi.

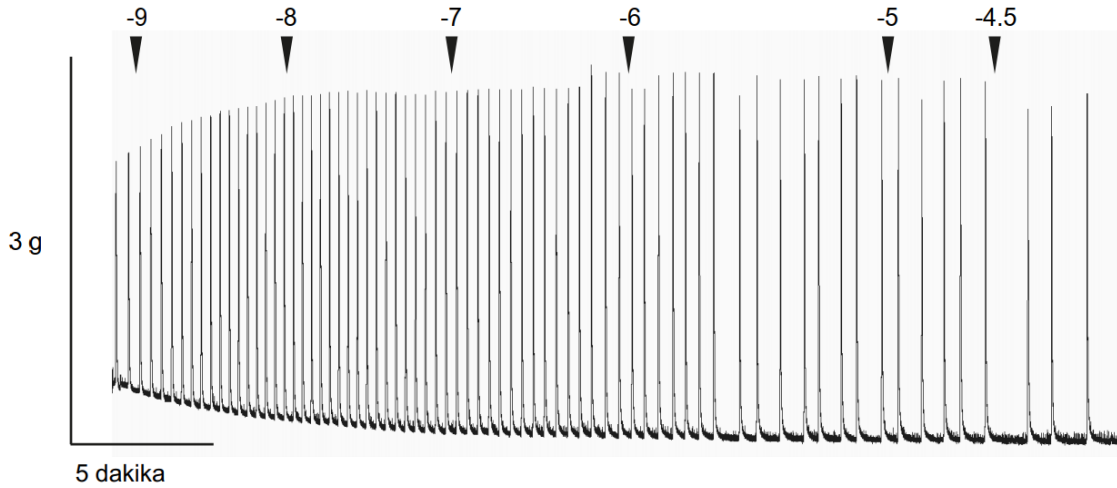
3.4.İstatistiksel analiz

Hastaların nicel verileri aritmetik ortalama \pm standart sapma veya ortanca ve çeyrekler arası genişlik, *in vitro* deney ortamında elde edilen veriler ise aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi. İzole üreter şeritlerine ait kasılmaların kümülatif MRB konsantrasyonları ile amplitüd ve frekans değerlerindeki değişimi yüzde olarak verildi. Değerler bazal kasılmalara ait amplitüdlere ve frekanslara karşılaştırıldı. Frekanslar hertz, amplitüdlere ise gram cinsinden ifade edildi. İzole üreter dokusundan elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen kasılmalar gram cinsinden ifade edildi. Verilerin analizi SPSS 24.0 (IBM Corp., Chicago, USA) ve GraphPad Prism 6 (GraphPad, La Jolla, CA, USA) yazılımları ile yapıldı. MRB'nin frekans ve amplitüd üzerine etkileri 'repeated measures one way ANOVA' testi ile gruplar arası anlamlılık 'post-hoc Dunnett'

çoklu karşılaştırılması ile değerlendirildi. Elektriksel alan stimülasyonu üzerine etkileri ise 'two way ANOVA' ile gruplar arası anlamlılık ise 'post-hoc Sidak' karşılaştırma ile değerlendirildi. $p<0,05$ değeri istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın yürütüldüğü zaman diliminde 16 adet donör nefrektomi cerrahisinden elde edilen dokular teze dâhil edildi. 16 üreter dokusundan toplam 24 adet doku şeridi hazırlanarak organ banyosunda çalışıldı. MRB'nin etkisi spontan aktiviteye sahip veya spontan aktivitesi potasyum solüsyonu ile indüklenebilen dokularda incelendi (Şekil 4.1.). Spontan aktiviteye sahip veya spontan aktivitesi indüklenebilen toplam doku şeridi sayısı 15 olup bu dokular analize dâhil edildi.



Şekil 4.1. Kümülatif mirabegron konsantrasyonunun izole üreter şeritlerine ait spontan aktivite frekansı üzerine etkisini gösteren örnek bir trase. Her bir molar konsantrasyon logaritmik değer olarak ifade edildi.

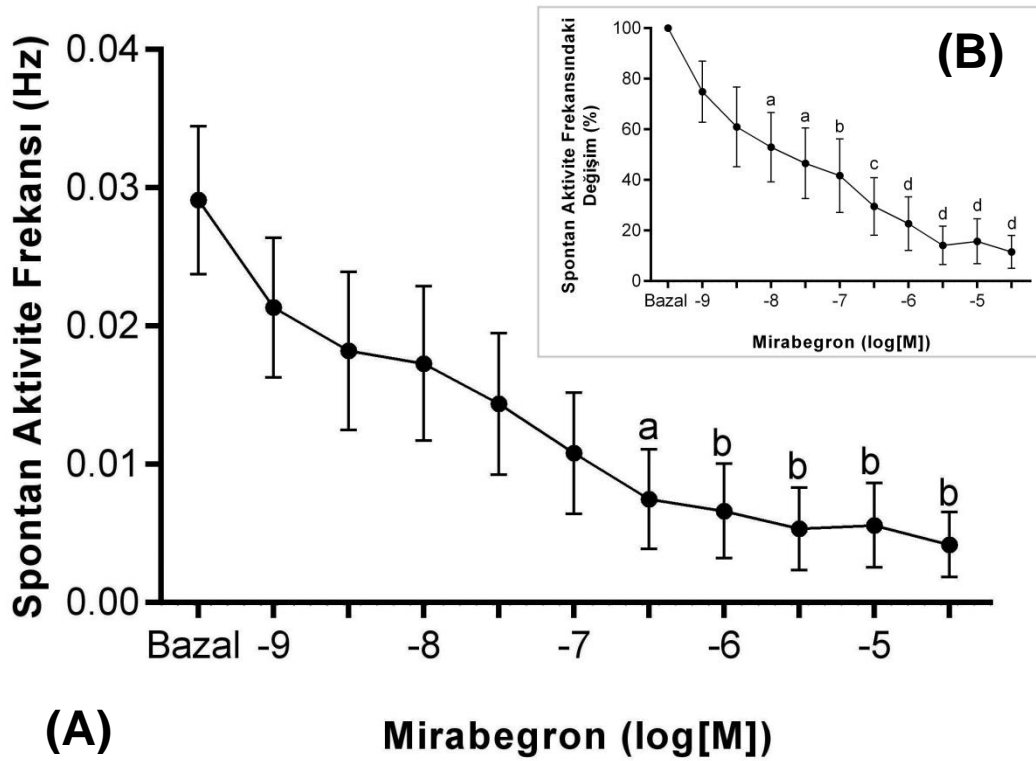
Dokuları çalışmaya dâhil edilen hastalarda sistemik bir hastalık öyküsü yoktu. Hastaların hiçbiri aynı taraflı girişim (Double-J stent, Üreterorenoskopi vb.) öyküsüne sahip değildi. Hastaların hiçbirinde ürolitiazis öyküsü mevcut değildi. Bir hastada hipotiroidi nedeni ile L-Tiroksin kullanımı dışında hastalarda devamlı ilaç kullanım öyküsü mevcut değildi. Hastaların özellikleri aşağıdaki tabloda özetlendi (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri[†].

Parametreler		Değerler	Yüzde (%)
Yaş, yıl		46,6 ± 9,7	-
VKİ, kg/m ²		29,07 (3,24)	-
Cinsiyet, n	Kadın	6	60
	Erkek	4	40
Cerrahi taraf, n	Sol	8	80
	Sağ	2	20
Tütün kullanımı öyküsü, n	Var	5	50
	Yok	5	50
Cerrahi yöntem, n	LDN	8	80
	RYLDN	2	20
Doku transfer süresi, dakika		13,3 ± 3,1	-
Şeritlerin ağırlığı, g		0,037 (0.025)	-

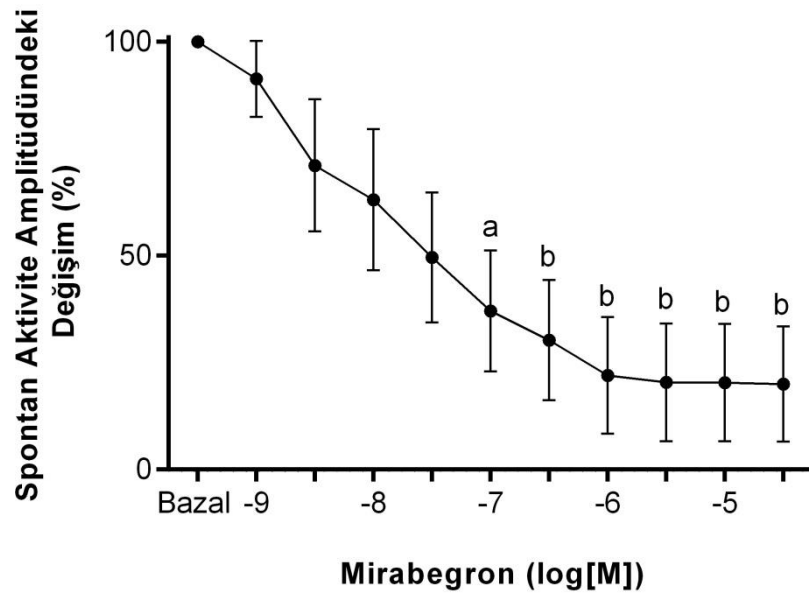
VKİ, Vücut kitle endeksi; LDN, Laparoskopik donör nefrektomi; RYLDN, Robot yardımlı laparoskopik donör nefrektomi; Nicel değerler aritmetik ortalama ± standart sapma veya ortanca (çeyrekler arası genişlik) olarak verildi. [†]Analize dâhil edilen izole doku şeritleri için.

MRB'nin spontan üreter kasılma frekansını, bazal kasılma frekansı ile karşılaştırıldığında doz bağımlı olarak azalttığı saptandı. 10^{-9} - 10^{-7} M konsantrasyonlarında kasılma frekansında düşüş istatistiksel anlamlı olarak bulunmadı. Frekanstaki düşüş $10^{-6,5}$ - $10^{-4,5}$ M konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Spontan kasılma frekansında yüzde olarak değişime bakıldığında, 10^{-9} ve $10^{-8,5}$ M konsantrasyonlarında düşüş istatistiksel anlamlı olarak bulunmadı. Spontan frekanstaki yüzdesel değişim 10^{-8} - $10^{-4,5}$ M MRB konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.2.).



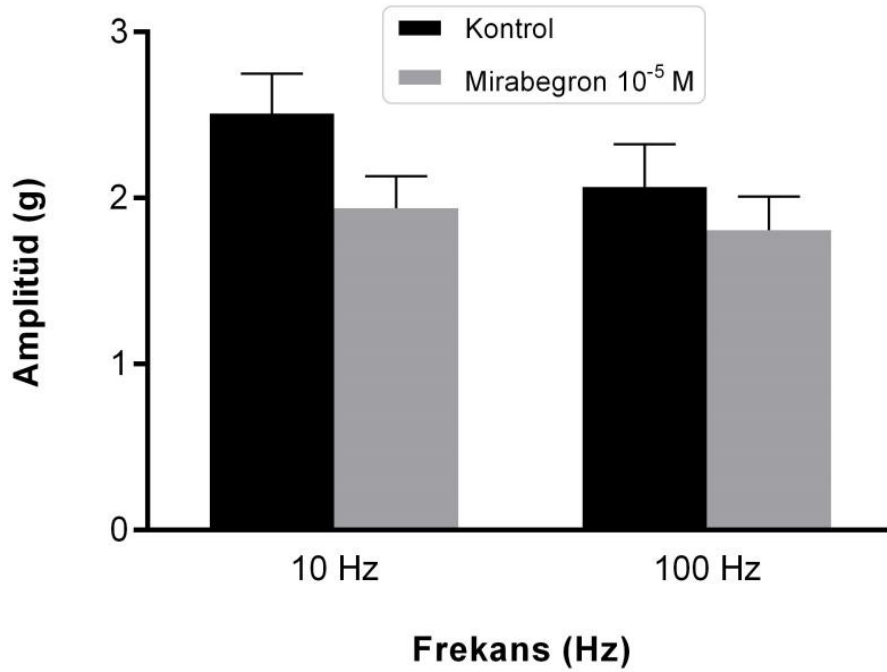
Şekil 4.2. (A) Kümülatif MRB konsantrasyonunun spontan aktivite frekansı üzerine etkisi. (B) Spontan aktivite frekansının kümülatif MRB konsantrasyonuna bağlı yüzde olarak değişimi. Değerler bazal kasılma ile oranlandı. Her iki grafikte tüm veriler aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi. Gruplar ‘repeated measures one way ANOVA’ testi ile; gruplar arası anlamlılık ‘post-hoc Dunnet’ çoklu karşılaştırılması ile değerlendirildi (n=15). a $p < 0,05$, b $p < 0,005$, c $p < 0,0005$, d $p < 0,0001$.

MRB’nin spontan üreter kasılma gücünü, bazal kasılma gücü ile karşılaştırıldığında, doz bağımlı olarak azalttığı görüldü. 10^{-9} - $10^{-7,5}$ M konsantrasyonlarında kasılma gücünde istatistiksel anlamlı bir değişim saptanmadı. 10^{-7} - $10^{-4,5}$ M konsantrasyonlarında amplitüdlerdeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.3.).



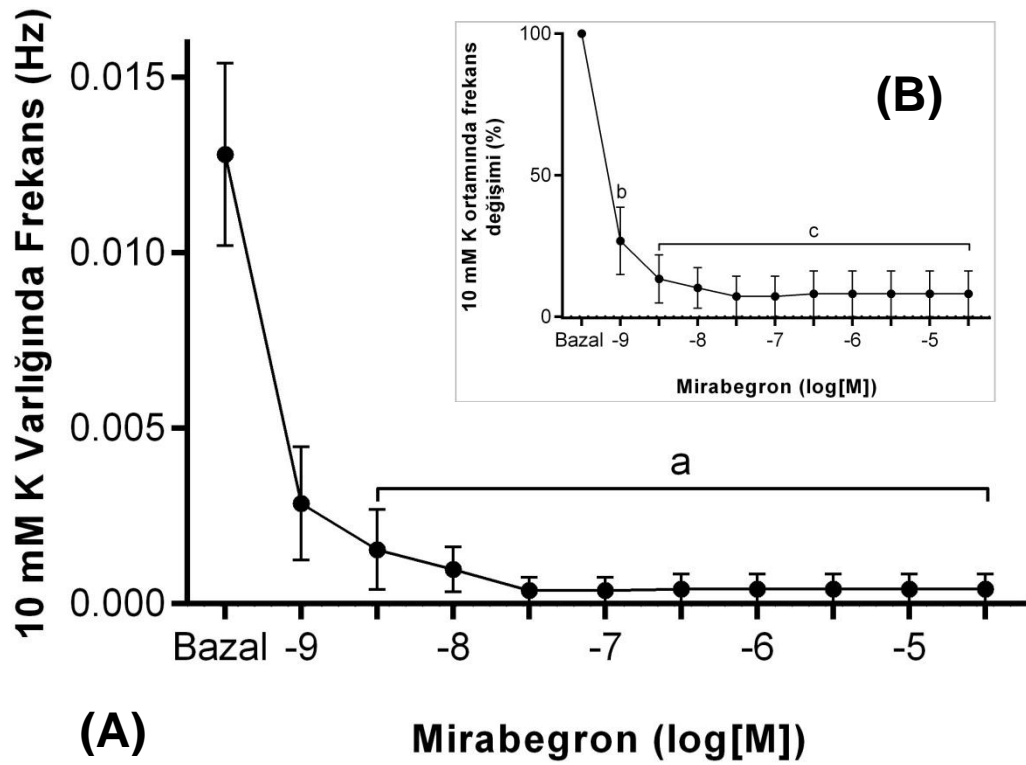
Şekil 4.3. Kümülatif MRB konsantrasyonunun spontan aktivite amplitüdü üzerine etkisi. Spontan aktivite amplitüdünün kümülatif MRB konsantrasyonuna bağlı değişimi yüzde olarak ifade edildi. Değerler bazal kasılma ile oranlandı. Veriler aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi. Gruplar 'repeated measures one way ANOVA' testi ile; gruplar arası anlamlılık 'post-hoc Dunnet' çoklu karşılaştırılması ile değerlendirildi (n=12). a $p < 0,05$, b $p < 0,005$.

10^{-5} M MRB inkübasyonundan sonra 10 Hz frekansında elde edilen EAS yanıtı ile inkübasyon öncesi 10 Hz frekansında EAS yanıtı arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Benzer biçimde inkübasyon sonrası 100 Hz frekansında elde edilen EAS yanıtında, inkübasyon öncesi EAS yanıtı ile karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlı bir değişim saptanmadı (Şekil 4.4.).



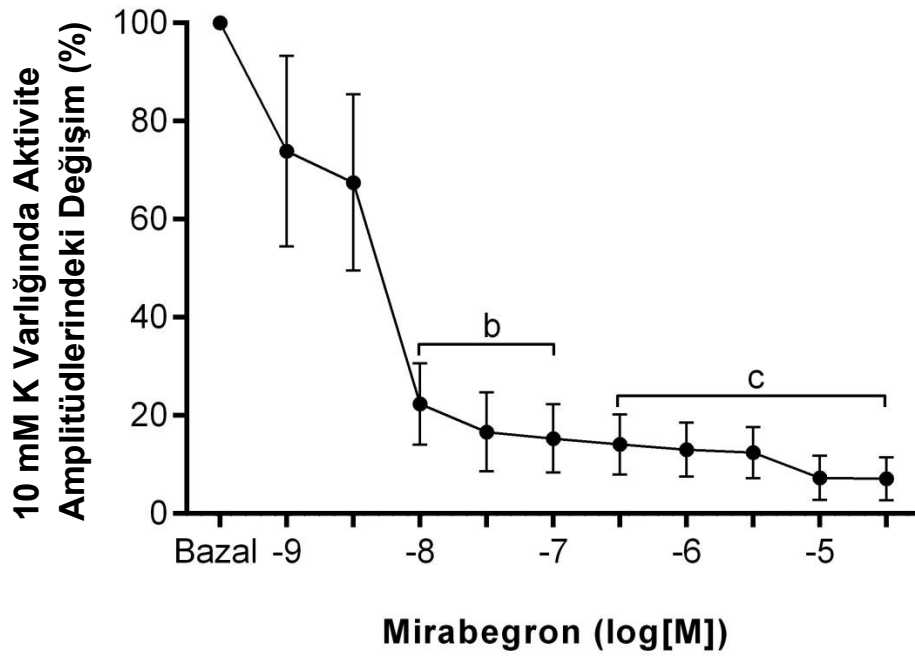
Şekil 4.4. Mirabegron inkübasyonu sonrası izole üreter şeritlerinde elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen kasılma yanıtı. Kontrol ve mirabegron grupları arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Veriler aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi. Gruplar ‘two way ANOVA’ testi ile; gruplar arası anlamlılık ‘post-hoc Sidak’ çoklu karşılaştırılması ile değerlendirildi (n=10).

Organ banyosuna 10mM KCL ortamında elde edilen kasılma frekansı üzerinde kümülatif MRB’in frekans düşürücü etki gösterdiği saptandı. Frekanstaki düşüş $10^{-8.5}$ - $10^{-4.5}$ M konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 10mM KCL ortamında kasılma frekansın yüzde olarak değişimine bakıldığında, 10^{-9} - $10^{-4.5}$ M MRB konsantrasyonlarında frekanstaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. (A) Kümülatif MRB konsantrasyonunun 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite frekansı üzerine etkisi. (B) 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite frekansının kümülatif MRB konsantrasyonuna bağlı yüzde olarak değişimi. Değerler bazal kasılma ile oranlandı. Her iki grafikte tüm veriler aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi. Gruplar 'repeated measures one way ANOVA' testi ile; gruplar arası anlamlılık 'post-hoc Dunnet' çoklu karşılaştırılması ile değerlendirildi (n=6). a $p < 0,05$, b $p < 0,005$, c $p < 0,0005$.

10mM KCL ortamında elde edilen kasılma aktivitesinin gücü üzerinde kümülatif MRB'nin amplitüd azaltıcı etkisi saptandı. 10^{-9} ve $10^{-8,5}$ M konsantrasyonlarında kasılma gücünde istatistiksel anlamlı bir değişim saptanmadı. 10^{-8} - $10^{-4,5}$ M konsantrasyonlarında amplitüdülerin yüksekliğindeki azalma, bazal değerler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlı olarak bulundu (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Kümülatif MRB konsantrasyonunun 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite amplitüdü üzerine etkisi. 10 mM KCL ortamında tetiklenen peristaltik aktivite amplitüdünün kümülatif MRB konsantrasyonuna bağlı değişimi yüzde olarak ifade edildi. Değerler bazal kasılma ile oranlandı. Veriler aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası şeklinde ifade edildi. Gruplar ‘repeated measures one way ANOVA’ testi ile; gruplar arası anlamlılık ‘post-hoc Dunnet’ çoklu karşılaştırılması ile değerlendirildi (n=6). b $p < 0,005$, c $p < 0,0005$.

5. TARTIŞMA

Üreter ile organ banyosu deney planlama aşamasında doku kaynağı seçimi önemli bir tercih meselesi olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsan kaynaklı dokular ile yapılan çalışmalar teknik zorluklar ve bazen etik endişeler nedeni ile daha nadir tercih edilebilmektedir. Temin kolaylığı nedeni ile hem *in vivo* hem de *in vitro* koşullarda yapılan farmakolojik deneylerde genellikle deney hayvan dokuları daha sık tercih edilmektedir (75, 124, 125). Hayvan deneylerin en büyük dezavantajı elde edilen verilerin insan dokuları ile uyumsuz olabilmeleridir. Bu yönü ile insan kaynaklı dokular oldukça değerli olmaktadır. Yukarıda bahsedilen sebepler göz önünde bulundurularak çalışmamız *in vitro* insan üreter çalışması olarak tasarlandı.

Daha önce gerçekleştirilmiş benzer insan üreteri ile *in vitro* çalışmalarda doku kaynağı olarak böbrek tümörü nedeni ile radikal nefrektomi örneklerinden taze olarak alınan dokular, mesane tümörü nedeni ile radikal sistektomi esnasında distal üreterlerden elde edilen dokular vb. doku kaynakları kullanılmıştır (7, 8, 126). Bu çalışmalarda üreterin kabaca korunmuş ve hastalıklı olmamasına özen göstermeye çalışılmıştır. Malin vd. çalışmalarında doku kaynağı olarak donör nefrektomi üreterlerini tercih etmişlerdir (127). Canlı renal donör adayları organ bağıışı öncesinde ayrıntılı bir üriner sistem ve genel sağlık kontrolünden geçmektedir (128). Bu grupta dâhili hastalık ve devamlı ilaç kullanımı nadir izlenmektedir. Bu hastaların üreterlerinin sağlıklı ve fizyolojik çalışmalara elverişli olması beklenmektedir. Bu dokuların organ banyosunda verdikleri yanıtın normal fizyolojik düzeye yakın olacağı varsayılmaktadır. Bu yönü ile greft böbrek üreteri ideal doku kaynağı olarak kabul edilmektedir. Yaşın üreter doku yanıtı üzerinde etkili olduğu ve yaşla beraber özellikle β -AR aracılı yanıtın azaldığı kobay deneyleri ile gösterilmiştir (41). Çalışmadaki hastaların yaş ortalaması $46,6 \pm 9,7$ yıl olarak saptandı. Çalışmamızda nispeten genç hastalara ait dokulardan elde ettiğimiz izole doku şeritlerin yanıtlarının fizyolojik düzeylerde olduğunu düşünmekteyiz. Bilimsel literatürde DM'nin üreter üzerindeki etkileri kesin olarak gösteren bir çalışma olmamakla birlikte Watanabe vd. streptozosin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda üreterin fonksiyonel özelliklerin

olumsuz yönde etkilendiği ortaya koymuşlardır (129). Hastalarımızda DM ve benzeri sistemik bir hastalık öyküsü mevcut değildi.

Literatürdeki daha önceki çalışmalarda üreter tam tıkanmalarında bir süre sonra motilitenin asgari düzeye inmesi ile kolik ağrı atakların azaldığı gösterilmiştir (130, 131). Klinik pratikte üreter taşları çoğunlukla devamlı hareket halinde olup parsiyel tıkanmalara sebep olurlar. Literatürde, parsiyel obstrükte üreterde peristaltik aktivite artışının, taşın lokal tahriş edici etkisinin ve lümen içi basınç artışının ağrının oluşumuna ve şiddet derecesine katkıda buldukları saptanmıştır. Peristaltizm azaltıcı ajanların ağrı kesici özellikleri bu etkileri ile açıklanmaktadır. Laird vd. sıçan üreterlerine artifisiyel taş yerleştirdikleri hayvan modeli deneyi ile parsiyel üreter tıkanmalarında üreter amplitüd ve frekans değişimlerini incelemişlerdir (102). Bu deneyde artifisiyel kalkül ile oluşturulan parsiyel tıkanmanın ilk 8 gününde farklı zaman dilimlerinde peristaltizmde anlamlı amplitüd ve frekans artışları kaydedilmiş. Bu sıçanlarda şiddetli ağrı krizlerin geliştiği gözlenmiş. Aynı çalışmada üreterde tam tıkanma modeli oluşturulan sıçanların, taşlı sıçanlar ile karşılaştırıldığında, ağrı krizine girmedikleri saptanmış. Ağrı atakların karakterindeki bu fark parsiyel obstrükte üreterlerin peristaltizminde görülen frenkans ve amplitüd değişikliği yanı sıra lümen içi basınç değişikliği ile de açıklanmış. Sowter vd. makalelerinde, artmış üreteral peristaltizm frekansına ve amplitüdlere ikincil gelişen renal kolik ve intrapelvik basınç artışını engellemek için MRB'nin etkili bir oral farmakolojik ajan olabileceğini öne sürmüşlerdir (132). Çalışmamızda saptanan MRB'nin üreterin peristaltizmindeki frekans ve amplitüdlərini düşürücü etkisi, bu ilacın üreter taşı koliklerin tedavisinde etkili bir tedavi ajanı olabileceğini göstermektedir. Bugüne kadar yayınlanmış klinik çalışmalara bakıldığında, bulgularımızla uyumlu sonuçları raporlayan çalışmaları görmek mümkündür. Bu konuda Bayar vd. tarafından yapılan güncel randomize kontrollü prospektif bir klinik çalışmada üreter taşı olan hastalarda silodosin ve MRB'nin MET ajanı olarak etkinliği araştırılmıştır (118). Bu çalışmada MRB'nin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, taş düşürme oranları üzerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Diğer yandan bu çalışmada, MRB'nin distal yerleşimli ve ≥ 6 mm üreter

taşlarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hastalarda analjezik gereksinimini azalttığı gösterilmiştir. Bulgularımız bu yönü ile mevcut literatür bilgisi ile örtüşmektedir.

Çalışmamızda MRB inkübasyonun izole doku şeridinin EAS ile tetiklenmiş kasılma yanıtını etkilemediği görüldü. Bu bulgu MRB'nin gevşetici etkisini non-adrenerjik ve non-kolinerjik yollar dışı bir mekanizma ile gerçekleştirdiğini göstermektedir. Matsumoto vd. çalışmalarında insan üreter dokusunda EAS ile tetiklenen kasılmaların izoproterenol (non-selektif β -AR agonisti) ve prokaterol (orta etkili β 2-AR agonisti) ile inhibe edilebildiğine göstermişlerdir (7). Bu çalışmada EAS yanıtını inhibe etmede prokaterol (β 2-AR agonisti) ve izoproterenol (β 1-AR, β 2-AR ve β 3-AR agonisti) arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgulardan prokaterol ve izoproterenol'ün insan üreterinde EAS yanıtlarını başlıca β 2-AR üzerinden inhibe ettiği sonucu çıkmaktadır. Selektif β 3-AR agonistinin EAS yanıtlarının üzerinde etkisiz kalıp β 2-AR agonistlerin etkili olması, β 2-AR'lerin ve β 3-AR'lerin etkinlik düzeylerin üreter kas tabakasında β 2-AR lehine farklılık gösteriyor olma ihtimalinden kaynaklanmaktadır. Ürotelyumu uzaklaştırılmış insan üreteri *in vitro* deneylerde, β 2-AR ve β 3-AR agonistlerin EAS yanıtını inhibitör etkilerin karşılaştıran deney modellerin tasarlanması bu mekanizmayı aydınlatmaya yardımcı olabilir. Shen vd. kronik obstrükte insan üreterleri sağlıklı üreter ile karşılaştırıp, mukoza ve kas tabakasında β 1-AR, β 2-AR ve β 3-AR ekspresyonların dilate üreterlerde RT-PCR, Western blot ve IHC yardımı ile değiştiğini göstermişlerdir (9). Ne Bu çalışmada sağlıklı üreterin mukoza ve kas tabakasında β -AR alt tiplerinin ekspresyon oranlarını birbiri ile karşılaştıran veriler sunulmamıştır. Her ne kadar β -AR alt tip predominant ekspresyon ile predominant etkinliği her zaman direk ilişkili değilse de, sağlıklı insan üreterinde reseptör ekspresyonların alt tip oranların karşılaştırmalı verisi bizden sonraki araştırmacılara yol gösterici nitelikte olacağını düşünüyoruz (133, 134). Çalışmada, kronik obstrükte üreterlerde ürotelyal β 1-AR'lerin ekspresyon azalmasının yanı sıra kas tabakasında β 1-AR ve β 3-AR'lerin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiş. Bir diğer bulgu ise, dilate üreter dokularında kas tabakasında β 2-AR ekspresyonunun değişmediği. Bu bulgular üreterin beta adrenerjik miyojenik modülasyonun baskın olarak β 2-AR ile olabileceğine işaret

etmektedir. Bu verileri ışığında yazarlar, β 1-AR ve β 3-AR selektif agonistlerin üreteral obstrüksiyonun erken safhalarında etkili bir tedavi ajanı olabileceğini karşın uzun vadede özellikle β 2-AR agonistlerin gevşetici etkisi ile kronik obstrükte toplayıcı sistem basıncını düşük tutmaya yarayabileceğini tartışmışlardır (9). Bu soruları yanıtlamak için kronik obstrükte üreterlerde β 2-AR agonist karşılaştırılmalı MRB etkisini gösteren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda 10 mM KCL ile tetiklenen aktivitede MRB'nin kümülatif olarak kasılma amplitüdlerini ve frekansı düşürdüğü saptandı. Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında, β 3-AR'lerin uyarılması ile mesane detrüsör kaslarında gevşemeye sebep olan mekanizma cAMP düzeylerin artmasına ek olarak olasılıkla BK Ca^{+} kanallarının aktivasyonuna bağlı gerçekleşmektedir (39, 85). BK Ca^{+} kanallarının, hayvan mesane dokularında istirahat potansiyelini korumaya ve membran potansiyelinin repolarizasyonuna katkı sağladığı rapor edilmiştir (135, 136) Kobay mesane deneylerinde β -AR'lerin uyarılması sonucu BK Ca^{+} kanallarının aktive olduğu gösterilmiştir. Bu mekanizmanın Ca^{+} hücre içine hareketi ile tetiklendiği belirtilmiştir (137). Herrera vd. kobay mesane dokusu ile yaptıkları araştırmada BK Ca^{+} kanallarının detrüsör kasılma amplitüd ve süresinin azaltılabileceği belirtilmiştir (138). İnsan üreterinde spontan aktivitenin yanı sıra 10 mM KCL ile tetiklenen aktivite üzerine MRB, inhibitör etkisini hücre içi mekanizmaların yanı sıra membran iyon kanalları aracılığı ile de gösterdiğine işaret etmektedir.

Deneylerimizde üreter dokusu doğal tüp yapısı dışında, izole şerit halinde incelendi. MRB'nin olası toplayıcı sistem basınç dinamiklerine etkisini araştırmak için intakt tübüler üreter yapıları ile *in vitro* ve *in vivo* ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Daha önce analogik çalışmalar domuz üreteri ile gerçekleştirilmiş olup, benzer bir deney modelin oluşturulması varsayımımızı test etmek açısından faydalı olacaktır (91, 139). Endoskopik üst toplayıcı üriner sistem girişimlerin düşük toplayıcı sistem basıncı altında yapılmasının rasyonel bir zemini bulunmaktadır. Değişici epitel hücreli karsinomların artmış basınca bağlı gelişen piyeloventöz lenfatik migrasyon ile yayılımı riski; üriner sistemin patojenlerin aynı mekanizma ile yayılması sonucu bakteriyemi ve sepsisin

gelişmesi bu endişelerin başında gelmektedir (140-142). Her ne kadar son yıllarda bu konuda birçok klinik çalışmalar yapılmış olsa da, yıkama solüsyonlarına katılan topikal üreter gevşeticilerin gerekliliği ve güvenilirliği konusunda henüz bir fikir birliği sağlanamamıştır (143). Matsumoto ve arkadaşlarının gösterdiği gibi insan ürotelyumunda çok sayıda β 3-AR'lerin bulunması, MRB'nin insanlarda endoskopik üreter girişimleri esnasında intrapelvik basıncı azaltıcı bir potansiyel lokal ajan olarak da değerlendirilmesine olanak tanımaktadır (7). Bu konuda Bayar vd. yaptıkları bir klinik çalışmada endoskopik üreter girişiminden bir hafta öncesi başlanan non-steroid ilaçlara ek olarak 50 mg p.o. dozlarda MRB kullanımının cerrahi başarısını arttırdığını raporlamışlardır (121). MRB'nin bu amaçla kullanımını irdelenecek, daha geniş hasta sayılı randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızdan elde edilen bulguların klinik senaryolara uyarlanması durumlarında çalışmamızın doğal kısıtlılıkları göz önünde bulundurulmalıdır. Deney sayılarının görece azlığı, anatomik sınıflamaya göre abdominal üreter dokusu ile elde ettiğimiz bulgularımızın doku reseptör dağılımının IHC ile desteklenmemiş olması gibi durumlar çalışmamızın kısıtlılıkları arasında sayılabilir. Bulgularımız anatomik sınıflamaya göre pelvik ve intramural üreterin fizyolojik aktivite profilini yansıtmayabilir. Bir diğer kısıtlılık olarak kümülatif MRB etkilerinin non-selektif beta antagonist olan propranolol ortamında ayrıca gösterilmemiş olması olarak sayılabilir. Son olarak, çalışmamız literatürde MRB'nin spontan üreter kasılması üzerine *in vitro* baskılayıcı etkisini gösteren ilk çalışma olması bakımından değerlidir. Çalışmamızın bu özelliği onun güçlü yönleri arasında sayılabilir.

6. SONUÇLAR

- ✓ Bulgularımız MRB'nin üreter aktivitesini *in vitro* ortamda baskıladığını göstermektedir.
- ✓ MRB spontan aktivite gösteren izole üreter doku şeritlerinde doz bağımlı olarak kasılma frekansını düşürüyor.
- ✓ MRB spontan aktivite gösteren izole üreter doku şeritlerinde doz bağımlı olarak kasılma gücünü azaltıyor.
- ✓ MRB 10mM KCL ortamında aktivite elde edilen izole üreter doku şeritlerinde kasılma frekansını düşürüyor.
- ✓ MRB 10mM KCL ortamında aktivite elde edilen izole üreter doku şeritlerinde kasılma gücünü azaltıyor.

7. KAYNAKLAR

1. Canvasser NE, Alken P, Lipkin M, Nakada SY, Sodha HS, Tepeler A, et al. The economics of stone disease. *World journal of urology*. 2017;35(9):1321-9.
2. Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Speizer FE, Stampfer MJ. Body size and risk of kidney stones. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1998;9(9):1645-52.
3. Taylor EN, Stampfer MJ, Curhan GC. Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. *Jama*. 2005;293(4):455-62.
4. Seitz C, Liatsikos E, Porpiglia F, Tiselius H-G, Zwergel U. Medical therapy to facilitate the passage of stones: what is the evidence? *European urology*. 2009;56(3):455-71.
5. Campschroer T, Zhu X, Vernooij RW, Lock MT. Alpha-blockers as medical expulsive therapy for ureteral stones. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018(4).
6. Bai Y, Yang Y, Wang X, Tang Y, Han P, Wang J. Tadalafil facilitates the distal ureteral stone expulsion: a meta-analysis. *Journal of endourology*. 2017;31(6):557-63.
7. Matsumoto R, Otsuka A, Suzuki T, Shinbo H, Mizuno T, Kurita Y, et al. Expression and functional role of β 3-adrenoceptors in the human ureter. *International Journal of Urology*. 2013;20(10):1007-14.
8. PARK Y-C, TOMIYAMA Y, HAYAKAWA K, AKAHANE M, AJISAWA Y, MIYATAKE R, et al. Existence of a β 3-adrenoceptor and its functional role in the human ureter. *The Journal of urology*. 2000;164(4):1364-70.
9. Shen H, Chen Z, Mokhtar A-d, Bi X, Wu G, Gong S, et al. Expression of β -adrenergic receptor subtypes in human normal and dilated ureter. *International urology and nephrology*. 2017;49(10):1771-8.
10. Fröber R. Surgical Atlas Surgical anatomy of the ureter. *BJU international (Papier)*. 2007;100(4):949-65.
11. Weiss RM, Tamarkin FJ, Wheeler MA. Pacemaker activity in the upper urinary tract. *Journal of Smooth Muscle Research*. 2006;42(4):103-15.

12. Woodburne RT, Lapidus J. The ureteral lumen during peristalsis. *The American journal of anatomy*. 1972;133(3):255-8.
13. Griffiths DJ, Notschaele C. The mechanics of urine transport in the upper urinary tract: 1. The dynamics of the isolated bolus. *Neurourology and Urodynamics*. 1983;2(2):155-66.
14. Kiil F. Function of the ureter and renal pelvis. *Annals of Surgery*. 1958;148(2):280-91.
15. Ross JA, Edmond P, Kirkland IS. *Behaviour of the human ureter in health and disease*: Churchill Livingstone; 1972.
16. Whitaker R. Methods of Assessing Obstruction in Dilated Ureters. *British journal of urology*. 1973;45(1):15-22.
17. MORALES P, CROWDER C, FISHMAN A, MAXWELL M. The Response of the Ureter and Pelvis to Changing Urine Flows. *The Journal of urology*. 1952;67(4):484-91.
18. Constantinou C, Granato Jr J, Govan D. Dynamics of the Upper Urinary Tract: Accommodations in the Rate and Stroke Volume of Ureteral Peristalsis as a Response to Transient Alteration in Urine Flow Rate. *Urologia internationalis*. 1974;29(4):249-64.
19. Hendrickx H, Vereecken R, Casteels R. The influence of potassium on the electrical and mechanical activity of the guinea pig ureter. *Urological research*. 1975;3(4):155-8.
20. Kobayashi M. Effects of Na and Ca on the generation and conduction of excitation in the ureter. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1965;208(4):715-9.
21. Kuriyama H, Tomita T. The action potential in the smooth muscle of the guinea pig taenia coli and ureter studied by the double sucrose-gap method. *The Journal of general physiology*. 1970;55(2):147-62.
22. Lang R. Identification of the major membrane currents in freshly dispersed single smooth muscle cells of guinea-pig ureter. *The Journal of Physiology*. 1989;412(1):375-95.

23. Lang R. The whole-cell Ca²⁺ channel current in single smooth muscle cells of the guinea-pig ureter. *The Journal of physiology*. 1990;423(1):453-73.
24. Smith R, Borisova L, Wray S, Burdyga T. Characterisation of the ionic currents in freshly isolated rat ureter smooth muscle cells: evidence for species-dependent currents. *Pflügers Archiv*. 2002;445(3):444-53.
25. Kuriyama H, Osa T, Toida N. Membrane properties of the smooth muscle of guinea-pig ureter. *The Journal of physiology*. 1967;191(2):225-38.
26. Santicioli P, Maggi C. Pharmacological modulation of electromechanical coupling in the proximal and distal regions of the guinea-pig renal pelvis. *Journal of autonomic pharmacology*. 1997;17(1):43-52.
27. Lang RJ, Davidson ME, Exintaris B. Pyeloureteral motility and ureteral peristalsis: essential role of sensory nerves and endogenous prostaglandins. *Experimental Physiology*. 2002;87(2):129-46.
28. Lang RJ, Takano H, Davidson ME, Suzuki H, Klemm MF. Characterization of the spontaneous electrical and contractile activity of smooth muscle cells in the rat upper urinary tract. *The Journal of urology*. 2001;166(1):329-34.
29. Lang RJ, Hashitani H, Keller S, Takano H, Mulholland EL, Fukuta H, et al. Modulators of internal Ca²⁺ stores and the spontaneous electrical and contractile activity of the guinea-pig renal pelvis. *British journal of pharmacology*. 2002;135(6):1363-74.
30. Shiratori T, Kinoshita H. Electromyographic Studies on Urinary Tract III. Influence of Pinching and Cutting the Ureters of Dogs on Their EMGs. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 1961;73(2):159-69.
31. Imaizumi Y, Muraki K, Watanabe M. Ionic currents in single smooth muscle cells from the ureter of the guinea-pig. *The Journal of Physiology*. 1989;411(1):131-59.
32. Meini S, Santicioli P, Maggi CA. Propagation of impulses in the guinea-pig ureter and its blockade by calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 1995;351(1):79-86.
33. Mastrangelo D, Baertschi A, Roatti A, Amherdt M, Iselin C. Nitric oxide production within rat urothelial cells. *The Journal of urology*. 2003;170(4 Part 1):1409-14.

34. Mastrangelo D, Iselin C. Urothelium dependent inhibition of rat ureter contractile activity. *The Journal of urology*. 2007;178(2):702-9.
35. Triner L, Nahas G, Vulliemoz Y, Overweg N, Verosky M, Habib D, et al. Cyclic AMP and smooth muscle function. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1971;185(1):458-76.
36. Andersson R, Nilsson K. Cyclic AMP and Calcium in Relaxation in Intestinal Smooth Muscle. *Nature: New biology*. 1972;238(82):119-20.
37. Vesin M, Harbon S. The Effects of Epinephrine, Prostaglandins, and Their Antagonists on Adenosine Cyclic 3', 5'-monophosphate Concentrations and Motility of the Rat Uterus. *Molecular pharmacology*. 1974;10(3):457-73.
38. Uchida H, Shishido K, Nomiya M, Yamaguchi O. Involvement of cyclic AMP-dependent and-independent mechanisms in the relaxation of rat detrusor muscle via β -adrenoceptors. *European journal of pharmacology*. 2005;518(2-3):195-202.
39. Ferro A. β -Adrenoceptors and potassium channels. Springer; 2006.
40. Takagi K, Takayanagi I, Tomiyama A. Actions of Dibutyryl Cyclic Adenosine Monophosphate, Papaverine and Isoprenaline on the Intestinal Smooth Muscle. *Japanese journal of pharmacology*. 1971;21(4):477-83.
41. Wheeler M, Cho Y, Hong K, Weiss R. Age-dependent alterations in beta-adrenergic receptor function in guinea pig ureter. *Progress in clinical and biological research*. 1990;327:711-5.
42. Wheeler M, Housman A, Cho Y, Weiss R. Age Dependence of Adenylate Cyclase in Guinea Pig Ureter Homogenate. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1986;239(1):99-103.
43. Hernández M, Barahona MV, Recio P, Rivera L, Benedito S, Martínez AC, et al. Heterogeneity of Neuronal and Smooth Muscle Receptors Involved in the VIP-And PACAP-induced Relaxations of the Pig Intravesical Ureter. *British journal of pharmacology*. 2004;141(1):123-31.
44. Weiss R, Hardman J, Wells J. Resistance of a Separated Form of Canine Ureteral Phosphodiesterase Activity to Inhibition by Xanthines and Papaverine. *Biochemical pharmacology*. 1981;30(16):2371-4.

45. Stief C, Taher A, Truss M, Becker A, Schulz-Knappe P, Meyer M, et al. Phosphodiesterase Isoenzymes in Human Ureteral Smooth Muscle: Identification, Characterization, and Functional Effects of Various Phosphodiesterase Inhibitors in Vitro. *Urologia internationalis*. 1995;55(4):183-9.
46. Smith S, Wheeler M, Nishimoto T, Weiss R. The differential expression of nitric oxide synthase in the guinea pig urinary tract. *J Urol*. 1993;149:248A.
47. Stief C, Uckert S, Truss M, Becker A, Machtens S, Jonas U. A Possible Role for Nitric Oxide in the Regulation of Human Ureteral Smooth Muscle Tone in Vitro. *Urological research*. 1996;24(6):333-7.
48. Iselin C, Alm P, Schaad N, Larsson B, Graber P, Andersson K. Localization of Nitric Oxide Synthase and Haemoxygenase, and Functional Effects of Nitric Oxide and Carbon Monoxide in the Pig and Human Intravesical Ureter. *Neurourology and urodynamics*. 1997;16(3):209-27.
49. Hernández M, Prieto D, Orensanz L, Barahona M, García-Sacristán A, Simonsen U. Nitric Oxide Is Involved in the Non-Adrenergic, Non-Cholinergic Inhibitory Neurotransmission of the Pig Intravesical Ureter. *Neuroscience letters*. 1995;186(1):33-6.
50. Burnstock G. Structure of smooth muscle and its innervation. *Smooth muscle*. 1970:1-69.
51. O'Connor VJ, Dawson-Edwards P. Role of Ureter in Renal Transplantation: I. Studies of Denervated Ureter with Particular Reference to Ureteroureteral Anastomosis. *The Journal of urology*. 1959;82(5):566-72.
52. Wharton LR. The innervation of the ureter, with respect to denervation. *The Journal of Urology*. 1932;28(6):639-73.
53. Finberg J, Peart W. Function of smooth muscle of the rat renal pelvis—response of the isolated pelvis muscle to angiotensin and some other substances. *British journal of pharmacology*. 1970;39(2):373.
54. Morita T, Wada I, Saeki H, Tsuchida S, Weiss R. Ureteral Urine Transport: Changes in Bolus Volume, Peristaltic Frequency, Intraluminal Pressure and Volume of Flow Resulting From Autonomic Drugs. *The Journal of urology*. 1987;137(1):132-5.

55. Sakamoto K, Suri D, Rajasekaran M. Characterization of muscarinic receptor subtypes in human ureter. *Journal of endourology*. 2006;20(11):939-42.
56. Latifpour J, Morita T, O'Hollaren B, Kondo S, Weiss R. Characterization of Autonomic Receptors in Neonatal Urinary Tract Smooth Muscle. *Developmental pharmacology and therapeutics*. 1989;13(1):1-10.
57. Latifpour J, Kondo S, O'Hollaren B, Morita T, Weiss R. Autonomic Receptors in Urinary Tract: Sex and Age Differences. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1990;253(2):661-7.
58. Vereecken R, Derluyn J, Verduyn H. The Viscoelastic Behaviour of the Ureter During Elongation. *Urological research*. 1973;1(1):15-21.
59. Longrigg N. Autonomic innervation of the renal calyx. *British journal of urology*. 1974;46(4):357-70.
60. Rose J, Gillenwater J. The Effect of Adrenergic and Cholinergic Agents and Their Blockers Upon Ureteral Activity. *Investigative urology*. 1974;11(6):439-51.
61. Morita T, Wheeler M, Weiss R. Effects of Noradrenaline, Isoproterenol and Acetylcholine on Ureteral Resistance. *The Journal of urology*. 1986;135(6):1296-8.
62. Maggi C, Giuliani S. Non-adrenergic Non-Cholinergic Excitatory Innervation of the Guinea-Pig Isolated Renal Pelvis: Involvement of Capsaicin-Sensitive Primary Afferent Neurons. *The Journal of urology*. 1992;147(5):1394-8.
63. Prieto D, Simonsen U, Martín J, Hernández M, Rivera L, Lema L, et al. Histochemical and functional evidence for a cholinergic innervation of the equine ureter. *Journal of the autonomic nervous system*. 1994;47(3):159-70.
64. McLeod D, Reynolds D, Swan K. Adrenergic Mechanisms in the Canine Ureter. *The American journal of physiology*. 1973;224(5):1054-8.
65. Weiss R, Bassett A, Hoffman B. Adrenergic Innervation of the Ureter. *Investigative urology*. 1978;16(2):123-7.
66. Sigala S, Dellabella M, Milanese G, Fornari S, Faccoli S, Palazzolo F, et al. Evidence for the Presence of alpha1 Adrenoceptor Subtypes in the Human Ureter. *Neurourology and urodynamics*. 2005;24(2):142-8.

67. Itoh Y, Kojima Y, Yasui T, Tozawa K, Sasaki S, Kohri K. Examination of Alpha 1 Adrenoceptor Subtypes in the Human Ureter. *International journal of urology: official journal of the Japanese Urological Association*. 2007;14(8):749-53.
68. Karabacak OR, Yilmazer D, Ozturk U, Sener NC, Saltas H, Karabacak Y, et al. The Presence and Distribution of Alpha Adrenergic Receptors in Human Renal Pelvis and Calyces. *Urolithiasis*. 2013;41(5):385-8.
69. Tomiyama Y, Kobayashi K, Tadachi M, Kobayashi S, Inada Y, Kobayashi M, et al. Expressions and Mechanical Functions of alpha1-adrenoceptor Subtypes in Hamster Ureter. *European journal of pharmacology*. 2007;573(1-3):201-5.
70. Sasaki S, Itoh Y, Kojima Y, Kubota Y, Hayase M, Kobayashi M, et al. Expression level and role in ureteral contraction of alpha1-adrenoceptor subtypes in human ureter. *The Journal of Urology*. 2008;179(4S):559-.
71. Sasaki S, Tomiyama Y, Kobayashi S, Kojima Y, Kubota Y, Kohri K. Characterization of α 1-adrenoceptor Subtypes Mediating Contraction in Human Isolated Ureters. *Urology*. 2011;77(3):762. e13-. e7. 62E17.
72. Kobayashi S, Tomiyama Y, Maruyama K, Hoyano Y, Yamazaki Y, Kusama H. Effects of Four Different alpha (1)-adrenoceptor Antagonists on Alpha-Adrenoceptor Agonist-Induced Contractions in Isolated Mouse and Hamster Ureters. *Journal of smooth muscle research= Nihon Heikatsukin Gakkai kikanishi*. 2009;45(4):187-95.
73. Tomiyama Y, Murakami M, Akiyama K, Kojima M, Akahane M, Park YC, et al. Modification of ureteral motility and promotion of urine flow around an intraureteral obstruction by CL-316243, phenylephrine, and furosemide in dogs. *Neurourology and Urodynamics: Official Journal of the International Continence Society*. 2002;21(3):251-7.
74. Morita T, Wada I, Suzuki T, Tsuchida S. Characterization of Alpha-Adrenoceptor Subtypes Involved in Regulation of Ureteral Fluid Transport. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 1987;152(2):111-8.
75. DANUSER H, WEISS R, ABEL D, WALTER B, SCHOLTYSIK G, METTLER D, et al. Systemic and topical drug administration in the pig ureter: effect of phosphodiesterase inhibitors α 1, β and β 2-adrenergic receptor agonists and

- antagonists on the frequency and amplitude of ureteral contractions. *The Journal of urology*. 2001;166(2):714-20.
76. Rivera L, Hernández M, Benedito S, Prieto D, García-Sacristán A. Mediation of Contraction and Relaxation by Alpha-And Beta-Adrenoceptors in the Ureterovesical Junction of the Sheep. *Research in veterinary science*. 1992;52(1):57-61.
 77. Ancill R, Jackson D, Redfern P. The pharmacology of the rat ureter in vivo. *British journal of pharmacology*. 1972;44(4):628.
 78. Hannappel J, Golenhofen K. The Effect of Catecholamines on Ureteral Peristalsis in Different Species (Dog, Guinea-Pigs and Rat). *Pflugers Archiv: European journal of physiology*. 1974;350(1):55-68.
 79. Nakada SY, Coyle TLC, Ankem MK, Moon TD, Jerde TJ. Doxazosin Relaxes Ureteral Smooth Muscle and Inhibits Epinephrine-Induced Ureteral Contractility in Vitro. *Urology*. 2007;70(4):817-21.
 80. Rajpathy J, Aswathaman K, Sinha M, Subramani S, Gopalakrishnan G, Kekre NS. An in Vitro Study on Human Ureteric Smooth Muscle With the alpha1-adrenoceptor Subtype Blocker, Tamsulosin. *BJU international*. 2008;102(11):1743-5.
 81. Davenport K, Timoney AG, Keeley Jr FX. Effect of Smooth Muscle Relaxant Drugs on Proximal Human Ureteric Activity in Vivo: A Pilot Study. *Urological research*. 2007;35(4):207-13.
 82. Villa L, Buono R, Fossati N, Rigatti P, Montorsi F, Benigni F, et al. Effects by silodosin on the partially obstructed rat ureter in vivo and on human and rat isolated ureters. *British Journal of Pharmacology*. 2013;169(1):230.
 83. Dehvari N, da Silva Junior ED, Bengtsson T, Hutchinson DS. Mirabegron: potential off target effects and uses beyond the bladder. *British journal of pharmacology*. 2018;175(21):4072-82.
 84. Chapple CR, Cardozo L, Nitti VW, Siddiqui E, Michel MC. Mirabegron in overactive bladder: a review of efficacy, safety, and tolerability. *Neurourology and urodynamics*. 2014;33(1):17-30.
 85. Frazier EP, Peters SL, Braverman AS, Ruggieri MR, Michel MC. Signal transduction underlying the control of urinary bladder smooth muscle tone by muscarinic receptors

- and β -adrenoceptors. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2008;377(4):449-62.
86. Frazier EP, Mathy M-J, Peters SL, Michel MC. Does cyclic AMP mediate rat urinary bladder relaxation by isoproterenol? *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005;313(1):260-7.
87. Tomiyama Y, Hayakawa K, Shinagawa K, Akahane M, Ajisawa Y, Park Y-C, et al. β -Adrenoceptor subtypes in the ureteral smooth muscle of rats, rabbits and dogs. *European journal of pharmacology*. 1998;352(2-3):269-78.
88. Tomiyama Y, Murakami M, Hayakawa K, Akiyama K, Yamazaki Y, Kojima M, et al. Pharmacological profile of KUL-7211, a selective beta-adrenoceptor agonist, in isolated ureteral smooth muscle. *Journal of pharmacological sciences*. 2003;92(4):411-9.
89. Wanajo I, Tomiyama Y, Yamazaki Y, Kojima M, Shibata N. Pharmacological characterization of beta-adrenoceptor subtypes mediating relaxation in porcine isolated ureteral smooth muscle. *The Journal of urology*. 2004;172(3):1155-9.
90. Wanajo I, Tomiyama Y, Tadachi M, Kobayashi M, Yamazaki Y, Kojima M, et al. The Potency of KUL-7211, a Selective Ureteral Relaxant, in Isolated Canine Ureter: Comparison With Various Spasmolytics. *Urological research*. 2005;33(6):409-14.
91. Wanajo I, Tomiyama Y, Yamazaki Y, Kojima M. Ureteral selectivity of intravenous β -adrenoceptor agonists in pig model of acute ureteral obstruction: comparison of KUL-7211, a selective β_2/β_3 agonist, with isoproterenol, terbutaline, and CL-316243. *Urology*. 2011;77(5):1266. e1-. e6.
92. Murakami M, Tomiyama Y, Hayakawa K, Akahane M, Ajisawa Y, Park Y-C, et al. Effects of β -adrenergic stimulation on the acutely obstructed ureter in dogs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2000;292(1):67-75.
93. MIYATAKE R, TOMIYAMA Y, MURAKAMI M, PARK Y-C, KURITA T. Effects of isoproterenol and butylscopolamine on the friction between an artificial stone and the intraureteral wall in anesthetized rabbits. *The Journal of urology*. 2001;166(3):1083-7.

94. Rose J, Gillenwater J. Effects of Obstruction on Ureteral Function. *Urology*. 1978;12(2):139-45.
95. Hammad FT, Lammers WJ, Stephen B, Lubbad L. Propagation of the electrical impulse in reversible unilateral ureteral obstruction as determined at high electrophysiological resolution. *The Journal of urology*. 2011;185(2):744-50.
96. Rose J, Gillenwater J. Pathophysiology of Ureteral Obstruction. *The American journal of physiology*. 1973;225(4):830-7.
97. Biancani P, Zabinski M, Weiss R. Bidimensional Deformation of Acutely Obstructed in Vitro Rabbit Ureter. *The American journal of physiology*. 1973;225(3):671-4.
98. Ueno A, Kawamura T, Ogawa A, Takayasu H. Relation of Spontaneous Passage of Ureteral Calculi to Size. *Urology*. 1977;10(6):544-6.
99. Sivula A, Lehtonen T. Spontaneous Passage of Artificial Concretions Applied in the Rabbit Ureter. *Scandinavian journal of urology and nephrology*. 1967;1(3):259-63.
100. Holmlund D, Hassler O. A method of studying the ureteral reaction to artificial concretions. *Acta chirurgica Scandinavica*. 1965;130(4):335-43.
101. Crowley A, Byrne J, Vaughan Jr E, Marion D. The Effect of Acute Obstruction on Ureteral Function. *The Journal of urology*. 1990;143(3):596-9.
102. Laird J, Roza C, Cervero F. Effects of Artificial Calculosis on Rat Ureter Motility: Peripheral Contribution to the Pain of Ureteric Colic. *The American journal of physiology*. 1997;272(5 Pt 2):R1409-R16.
103. Peters H, Eckstein W. Possible Pharmacological Means of Treating Renal Colic. *Urological research*. 1975;3(2):55-9.
104. Miyatake R, Tomiyama Y, Murakami M, Park Y, Kurita T. Effects of Isoproterenol and Butylscopolamine on the Friction Between an Artificial Stone and the Intraureteral Wall in Anesthetized Rabbits. *The Journal of urology*. 2001;166(3):1083-7.
105. Borghi L, Meschi T, Amato F, Novarini A, Giannini A, Quarantelli C, et al. Nifedipine and Methylprednisolone in Facilitating Ureteral Stone Passage: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *The Journal of urology*. 1994;152(4):1095-8.

106. Porpiglia F, Destefanis P, Fiori C, Fontana D. Effectiveness of Nifedipine and Deflazacort in the Management of Distal Ureter Stones. *Urology*. 2000;56(4):579-82.
107. Porpiglia F, Ghignone G, Fiori C, Fontana D, Scarpa RM. Nifedipine Versus Tamsulosin for the Management of Lower Ureteral Stones. *The Journal of urology*. 2004;172(2):568-71.
108. Porpiglia F, Vaccino D, Billia M, Renard J, Cracco C, Ghignone G, et al. Corticosteroids and Tamsulosin in the Medical Expulsive Therapy for Symptomatic Distal Ureter Stones: Single Drug or Association? *European urology*. 2006;50(2):339-44.
109. Keam SJ. Mirabegron: Pediatric First Approval. *Pediatric Drugs*. 2021:1-5.
110. Rechberger T, Wróbel A. Evaluating vibegron for the treatment of overactive bladder. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2021;22(1):9-17.
111. Ljungberg B, Albiges L, Bensalah K, Bex A, Giles R, Hora M. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam 2020. *Eur Urol*. 2020;67(5):913-24.
112. Coelho A, Antunes-Lopes T, Gillespie J, Cruz F. Beta-3 adrenergic receptor is expressed in acetylcholine-containing nerve fibers of the human urinary bladder: an immunohistochemical study. *Neurourology and urodynamics*. 2017;36(8):1972-80.
113. Chapple CR, Kaplan SA, Mitcheson D, Klecka J, Cummings J, Drogendijk T, et al. Randomized double-blind, active-controlled phase 3 study to assess 12-month safety and efficacy of mirabegron, a β 3-adrenoceptor agonist, in overactive bladder. *European urology*. 2013;63(2):296-305.
114. Jung HU, Frimodt-Møller PC, Osther PJ, Mortensen J. Pharmacological effect on pyeloureteric dynamics with a clinical perspective: a review of the literature. *Urological research*. 2006;34(6):341-50.
115. Canda AE, Turna B, Cinar GM, Nazlı O. Physiology and pharmacology of the human ureter: basis for current and future treatments. *Urologia internationalis*. 2007;78(4):289-98.

116. Urkmez A, Tokuc E, Topaktas R, Sahin A, Yuksel OH. Mirabegron: A Novel and Promising Medical Expulsive Treatment for Ureteral Stones? *J Coll Physicians Surg Pak*. 2019;29(01):73-4.
117. Lim I, Sellers DJ, Chess-Williams R. Current and emerging pharmacological targets for medical expulsive therapy. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2021.
118. Bayar G, Yavuz A, Cakmak S, Ofluoglu Y, Kilinc MF, Kucuk E, et al. Efficacy of silodosin or mirabegron in medical expulsive therapy for ureteral stones: a prospective, randomized-controlled study. *International urology and nephrology*. 2019:1-6.
119. Solakhan M, Bayrak O, Bulut E. Efficacy of mirabegron in medical expulsive therapy. *Urolithiasis*. 2019;47(3):303-7.
120. Yavuz A, Kilinc MF, Aydin M, Ofluoglu Y, Bayar G. Does tamsulosin or mirabegron improve ureteral stent-related symptoms? A prospective placebo-controlled study. *LUTS: Lower Urinary Tract Symptoms*. 2021;13(1):17-21.
121. Bayar G, Kilinc MF, Yavuz A, Aydın M. Adjunction of tamsulosin or mirabegron before semi-rigid ureterolithotripsy improves outcomes: prospective, randomized single-blind study. *International urology and nephrology*. 2019;51(6):931-6.
122. Tae BS, Cho S, Jeon BJ, Choi H, Park JY, Cho SY, et al. Does mirabegron relieve ureteric stent-related discomfort? A prospective, randomized, multicentre study. *BJU international*. 2018;122(5):866-72.
123. *Pharmacological Experiments on Isolated Preparations*. 2 ed: E. & S. Livingstone; 1968. 163 p.
124. McLEOD DG, Reynolds DG, Swan KG. Adrenergic mechanisms in the canine ureter. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1973;224(5):1054-8.
125. MORITA T, SUZUKI T, KONDO S, TSUCHIDA S. Effects of noradrenaline and acetylcholine on ureteral peristalsis. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 1983;141(4):489-90.
126. Zwergel U, Zwergel T, Neisius D, Ziegler M. Effects of prostaglandin synthetase inhibitors on the upper urinary tract. *Urological research*. 1990;18(6):429-33.

127. MALIN Jr JM, DEANE RF, Boyarsky S. CHARACTERISATION OF ADRENERGIC RECEPTORS IN HUMAN URETER 1. *British journal of urology*. 1970;42(2):171-4.
128. Knechtle SJ, Marson LP, Morris PJ. *Kidney Transplantation: Principles and Practice*. 8 ed: Elsevier; 2019. p. 115-27.
129. Watanabe T, Miyagawa I. Characteristics of ureteral bolus in diabetic rats. *Urological research*. 2002;30(3):185-9.
130. Giamberardino MA, Valente R, de Bigontina P, Vecchiet L. Artificial ureteral calculosis in rats: behavioural characterization of visceral pain episodes and their relationship with referred lumbar muscle hyperalgesia. *Pain*. 1995;61(3):459-69.
131. Giamberardino MA, Vecchiet L, Albe-Fessard D. Comparison of the effects of ureteral calculosis and occlusion on muscular sensitivity to painful stimulation in rats. *Pain*. 1990;43(2):227-34.
132. Sowter SJ, Tolley DA. The management of ureteric colic. *Current opinion in urology*. 2006;16(2):71-6.
133. Yamaguchi O, Chapple CR. β 3-Adrenoceptors in urinary bladder. *Wiley Online Library*; 2007.
134. Nomiya M, Yamaguchi O. A quantitative analysis of mRNA expression of α 1 and β -adrenoceptor subtypes and their functional roles in human normal and obstructed bladders. *The Journal of urology*. 2003;170(2):649-53.
135. Heppner T, Bonev A, Nelson M. Ca²⁺-activated K⁺ channels regulate action potential repolarization in urinary bladder smooth muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1997;273(1):C110-C7.
136. Karicheti V, Christ GJ. Physiological Roles for K⁺ positive Channels and Gap Junctions in Urogenital Smooth Muscle Implications for Improved Understanding of Urogenital Function, Disease and Therapy. *Current drug targets*. 2001;2(1):1-20.
137. Petkov GV, Nelson MT. Differential regulation of Ca²⁺-activated K⁺ channels by β -adrenoceptors in guinea pig urinary bladder smooth muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2005;288(6):C1255-C63.

138. Herrera GM, Heppner TJ, Nelson MT. Regulation of urinary bladder smooth muscle contractions by ryanodine receptors and BK and SK channels. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2000;279(1):R60-R8.
139. Lildal SK, Andreassen KH, Christiansen FE, Jung H, Pedersen MR, Osther PJS. Pharmacological relaxation of the ureter when using ureteral access sheaths during ureterorenoscopy: a randomized feasibility study in a porcine model. *Advances in urology*. 2016;2016.
140. Lim DJ, Shattuck MC, Cook WA. Pyelovenous lymphatic migration of transitional cell carcinoma following flexible ureterorenoscopy. *The Journal of urology*. 1993;149(1):109-11.
141. Schwalb DM, Eshghi M, David Ian M, Franco I. Morphological and physiological changes in the urinary tract associated with ureteral dilation and ureteropyeloscopy: an experimental study. *The Journal of urology*. 1993;149(6):1576-85.
142. Sonda LP, Fischer CP, Gross MD, Skinner RW. Pyelovenous backflow: implications for coagulum pyelolithotomy and nephroscopy. *The Journal of urology*. 1985;133(5):894-6.
143. Jung H, Nørby B, Frimodt-Møller PC, Osther PJ. Endoluminal isoproterenol irrigation decreases renal pelvic pressure during flexible ureterorenoscopy: a clinical randomized, controlled study. *European urology*. 2008;54(6):1404-13.