

Glukagon Benzeri Peptid -1 Reseptör Agonisti Liraglutidin Sıçan Detrüör Kas Kasılma Yanıtı Üzerine Etkisi

Ali Deniz ÇÖLGEÇEN¹  , Hale SAYAN ÖZAÇMAK² 

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencisi, Zonguldak, Türkiye

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

Bu makaleye yapılacak atf: Çölgeçen AD ve Sayan Özacmak H. Glukagon benzeri peptid -1 reseptör agonisti liraglutidin sıçan detrüör kas kasılma yanıtı üzerine etkisi. Turk J Diab Obes 2024;1: 71-78.

ÖZ

Amaç: Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), bağırsak L hücrelerinde proglukagondan sentezlenen bir inkretin hormondur. Diyabetes mellitus tedavisinde yaygın olarak kullanılan GLP-1 analoglarının antidiyabetik etkilerinin yanı sıra nöroplastisiteyi sağlayarak nöroprotektif, prokognitif ve diyabete bağlı komplikasyonların önlenmesinde etkili olduğu bildirilmektedir. Üriner disfonksiyonlar diyabet ve obezitede sıklıkla gözlenmektedir. Kan şekerini düşürücü etkisinden bağımsız olarak GLP-1 reseptör agonistlerinin direkt mesane düz kasının üzerindeki etkilerinin belirlenmesi bu hasta gruplarında aşırı aktif mesane gelişiminin önlenmesinde yararlı etkiler ortaya çıkarabilir. Bu çalışmanın amacı gastrointestinal düz kas fonksiyonları üzerine düzenleyici etkileri bildirilen GLP-1 reseptör agonistinin mesane düz kas kasılma ve gevşeme yanıtları üzerine olan etkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 300-325 g ağırlığında erkek yetişkin Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır (n=7). Detrüör kas şeritlerinin kasılma ve gevşeme yanıtlarını incelemek için organ banyosu sistemi kullanılmıştır. Mukozası sağlam kas şeritleri izole organ banyosuna asılarak izometrik kasılma yanıtı karbakol (3×10^{-6} M) ile oluşturulmuştur. Karbakolle kasılmış düz kas şeritlerine GLP-1 reseptör agonisti olarak liraglutid kümülatif (10^{-8} - 10^{-2} M) olarak uygulanarak düz kas kasılma yanıtlarındaki değişim belirlenmiştir. Gevşeme yanıtları incelemek için izoproterenol (10^{-8} - 10^{-2} M) kullanılmıştır. Karbakolle kasılmış düz kas şeritlerine kümülatif olarak liraglutid uygulanarak gevşeme yanıtları kaydedilmiştir. Ayrıca GLP-1'in etki mekanizmasını tespit edebilmek için organ banyosuna nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) inhibitörü N ω -Nitro-L-arginine (L-NNA) (10 mM) eklenerek gevşeme yanıtları üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis testleri kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: GLP-1 reseptör agonisti liraglutid 3×10^{-6} M dozunda karbakolle oluşan kasılma yanıtında istatistiksel olarak anlamlı bir değişime neden olmamıştır (p=0,768). Önceden 3×10^{-6} M karbakol ile kasılmış düz kas şeritlerine kümülatif olarak uygulana liraglutid (10^{-4} ve 10^{-2} M dozlarında) izoproterenol ile benzer gevşeme yanıtına neden olmuştur. İzole organ banyosu ortamına LNNA eklenmesi, liraglutid bağımlı gevşeme yanıtında istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden olmuştur (p=0,019, p=0,033).

Sonuç: Çalışmanın sonuçları GLP-1'in büyük olasılıkla mesane düz kas duvarında GLP-1 reseptörü aracılığıyla gevşemeye neden olabildiğini göstermektedir. In vitro koşullarda ve sağlıklı detrüör kas dokusundan elde edilen veriler, liraglutid ile oluşan gevşeme yanıtının mekanizmaları arasında nitrik oksitin rol oynadığını düşündürmektedir. Bu sonuçların aşırı aktif mesane modellerinde ve in vivo koşullarda daha ileri çalışmalarda desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: GLP-1, Mesane, Kasılma yanıtı, Nitrik oksit

ORCID: Ali Deniz Çölgeçen / 0000-0002-0712-5872, Hale Sayan Özacmak / 0000 0002 3564 0468

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

Ali Deniz ÇÖLGEÇEN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencisi, Zonguldak, Türkiye
Tel: 0 (532) 645 43 70 • E-posta: colgecenalideniz@gmail.com

DOI: 10.25048/tudod.1414682

Geliş tarihi / Received : 04.01.2024

Revizyon tarihi / Revision : 25.04.2024

Kabul tarihi / Accepted : 25.04.2024



Bu eser "Creative Commons Atıf-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

Effect of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist Liraglutide on Rat Detrusor Muscle Contraction Response

ABSTRACT

Aim: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is an incretin hormone synthesized from proglucagon in intestinal L cells. GLP-1 analogs, which are widely used in the treatment of diabetes mellitus, are reported to be effective in neuroprotective, procognitive and prevention of diabetes-related complications by providing neuroplasticity as well as antidiabetic effects. Urinary dysfunctions are frequently observed in diabetes and obesity. Determination of the effects of GLP-1 receptor agonists directly on bladder smooth muscle, independent of their blood glucose lowering effect, may reveal beneficial effects in preventing the development of overactive bladder in these patient groups. The aim of this study was to investigate the effect of GLP-1 receptor agonist, which has been reported to have regulatory effects on gastrointestinal smooth muscle functions, on bladder smooth muscle contraction and relaxation responses.

Material and Methods: Male adult Wistar Albino rats weighing 300-325 g were used in the study (n=7). An organ bath system was used to examine the contraction and relaxation responses of detrusor muscle strips. Muscle strips with intact mucosa were suspended in an isolated organ bath and isometric contraction response was induced with carbachol (3×10^{-6} M). Liraglutide as GLP-1 receptor agonist was applied cumulatively (10^{-8} - 10^{-2} M) to carbachol-contracted smooth muscle strips and the change in smooth muscle contraction responses was determined. Isoproterenol (10^{-8} - 10^{-2} M) was used to examine relaxation responses. Relaxation responses were recorded by cumulatively applying liraglutide to strips of smooth muscle previously contracted with carbachol. In addition, in order to determine the mechanism of action of GLP-1, neuronal nitric oxide synthase (nNOS) inhibitor N ω -Nitro-L-arginine (L-NNA) (10 mM) was added to the organ bath and its effect on relaxation responses was evaluated. Statistical evaluation of the results was performed using Mann-Whitney U and Kruskal Wallis tests.

Results: The GLP-1 receptor agonist liraglutide did not cause a statistically significant change in the contractile response to carbachol at a dose of 3×10^{-6} M (p=0.768). Liraglutide (at doses of 10^{-4} and 10^{-2} M) applied cumulatively to smooth muscle strips previously contracted with 3×10^{-6} M carbachol caused a similar relaxation response as isoproterenol. Addition of L-NNA to the isolated organ bath medium caused a statistically significant decrease in the liraglutide-dependent relaxation response (p=0.019, p=0.033).

Conclusion: The results of the study show that GLP-1 can cause relaxation of the bladder smooth muscle wall, most likely through the GLP-1 receptor. Data obtained in vitro and from healthy detrusor muscle tissue suggest that nitric oxide plays a role in the mechanisms of the relaxation response induced by liraglutide. These results need to be supported in further studies in overactive bladder models and in vivo conditions.

Keywords: GLP-1, Bladder, Contractile response, Nitric oxide

GİRİŞ

Glukagon Benzeri Peptid-1 (GLP-1) özellikle distal ince bağırsakta bulunan L hücreleri tarafından sentezlenir ve salgılanır. L hücreleri, proglukagon geninin bir transkripsiyon ürünü olarak GLP-1'i sentezlerler (1). GLP-1'in çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu ve esas olarak glikoz bağımlı olarak insülin sekresyonunu artıran bir inkretin olduğu bilinmektedir (2). GLP1'in inkretin özelliklerinin terapötik değeri, tip 2 diyabet hastaları için yeni bir tedavi seçeneği olarak keşfedilmesiyle araştırmalarda önemi artmıştır. Liraglutid, GLP1 reseptör agonisti olup klinik pratikte glikemik kontrolü iyileştirmek diyabet ve obezite tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (3). GLP-1 çok kısa biyolojik yarılanma ömrüne sahiptir. Diğer birçok fizyolojik etkilerinin yanı sıra gastrointestinal motor aktivitesinde belirgin bir inhibisyona neden olmaktadır (1). GLP-1'in sıçan ince bağırsak motilitesi üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır (1). Benzer etki sağlıklı gönüllülerde ve irritabl bağırsak sendromu olan hastalarda da bildirilmektedir. Hem

endojen hem de eksojen GLP-1, gastrik hacmin artırılması, gastrik boşalmanın geciktirilmesi, antro-duodenal kontraktilitenin baskılanması ve ince bağırsak motilitesinin inhibe edilmesini içeren gastrointestinal motor fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli roller oynamaktadır. GLP-1'in gastrointestinal hareketliliği düzenlediği mekanizma henüz tam olarak anlaşılmamıştır. GLP-1'in gastrointestinal motilite üzerindeki etkisi, vagal afferent ve merkezi mekanizmaların yanı sıra, nitrik oksit (NO) salınımı yoluyla gastrointestinal duvardaki enterik nöronlar üzerindeki doğrudan etkileri içerebildiği bildirilmektedir (1,4). Uzun dönem liraglutid uygulanan sıçanların mide kas tabakası kalınlığının azaldığı ve mide boşalmasının gecikmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (5).

Gastrointestinal motilite üzerinde GLP-1 uygulanmasına verilen yanıt, insanlarda büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak hayvan çalışmaları, GLP-1 agonistlerinin, vagal sinir yoluyla aracılık edilen göç eden motor kompleksleri üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu ve üst gastrointestinal sis-

temdeki miyoelektrik aktiviteyi bozduğu gösterilmiştir (6). Yapılan başka bir çalışmada liraglutidin kalın bağırsak geçiş süresini azalttığı bildirilmektedir (7).

Aşırı aktif mesane sendromu, acil idrar kaçırmanın eşlik ettiği veya etmediği, çok sık idrara sıkışma, idrar sıklığı ve noktüri gibi bir dizi karmaşık semptomlarla tanımlanan tıbbi bir durumdur. Aşırı aktif mesanenin yüksek küresel prevalansı, özellikle spesifik alt tipleri için etkili tedavilerin bulunması zor olduğu hastaların yaşam kalitesi üzerindeki zararlı etkilerinden dolayı bir halk sağlığı problemine neden olmaktadır. Diyabetle ortaya çıkan mesane disfonksiyonu, idrar kaçırma riskinin artmasıyla birlikte diyabetin yaygın ve rahatsız edici bir komplikasyonudur (8,9). Diyabetik mesane disfonksiyonunda otonom diyabetik nöropati başta olmak üzere özellikle tip I diyabette poliüri ve hipergliseminin de patofizyolojisinde önemli rol oynadığını bildirilmektedir (9). Bu hastalar, genel olarak aktivitesi azalmış mesane veya aşırı aktif mesane semptomları olarak kategorize edilebilecek çok çeşitli semptomlar gösterirler. Aktivitesi azalmış mesane belirtileri arasında idrar yapma zorluğu, mesane doluluk hissinin azalması, idrar yapma isteğinin azalması, mesane kontraktilesinin azalması, mesane kapasitesinin artması ve idrar yapma sonrası rezidüel hacmin artması yer alır. Aşırı aktif mesanenin semptomları arasında inkontinansla birlikte veya inkontinans olmadan sıkışma hissi, idrar sıklığında artış, noktüri ve kontraktilitede artış yer alır (10). Ayrıca metabolik sendromda aşırı aktif mesane gözlenmekte ve aşırı aktif mesanenin bir alt tipini oluşturmaktadır. Bu tip aşırı aktif mesane tedavisinde spesifik olmayan antimuskarinik, β_3 agonisti ve botulinum toksini enjeksiyonları gibi farmakoterapiler ile tedavi etkinliği artırılmaya çalışılmaktadır (11).

GLP-1, pankreas adacıklarından glikoza bağımlı insülin salgılanmasını reseptörü aracılığı ile sağlar ancak GLP-1'in ekstrapankreatik fonksiyonları son zamanlarda giderek artmaktadır. GLP-1 reseptör agonistlerinin kullanıldığı çeşitli klinik çalışmalarda hem de deneysel çalışmalarda diyabetle ilişkili komplikasyonlara karşı koruyucu olduğu bildirilmektedir (12,13). Ancak liraglutid tedavisinin detrüsör kas kasılma ve gevşeme yanıtları üzerindeki etkilerine ilişkin çalışma bulunmamaktadır. Orta serebral arter oklüzyonu yapılan sıçanlarda beyin iskemisine bağlı mesane hiperaktivitesinin azaltılmasında GLP-1 analoglarının yararlı etkiler gösterdiği bir çalışma bulunmaktadır (14). Diyabetli hastaların büyük çoğunluğunda miksiyon disfonksiyonu görülebilmese rağmen, gelişim süreci ve komplikasyonları ile etkili önleme veya tedavi seçenekleri hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Mesanenin gevşemesinde etkili olabilecek yeni tedavi ajanlarının geliştirilmesi aşırı aktif mesanesi olan hastaları için farklı tedavi alternatiflerinin sunması

açısından önemlidir. GLP-1 gastrointestinal sistem düz kaslarının gevşemesine yol açtığı için mesane düz kaslarının gevşemesinde kullanılabilir bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte, GLP-1'in detrüsör düz kas üzerindeki etkileri ve bununla ilgili temel mekanizmalar daha önce araştırılmamıştır.

Literatürde daha önce yapılan çalışmalarda liraglutidin mide boşalmasını geciktirdiği, ince bağırsak hareketliliğini azalttığı, dolayısıyla geçiş süresinin uzamasına yol açtığı bildirilmektedir. Mesane düz kas kasılma ve gevşeme yanıtı üzerinde liraglutidin etkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada, GLP-1 agonisti liraglutidin mesane düz kas kasılma ve gevşeme yanıtı üzerine etkisi ve bu yanıtlardaki mekanizmalarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışma erkek 7 adet yetişkin (300-325g) Wistar albino cinsi sıçanlar (*Rattus norvegicus*) kullanılmıştır. Sıçanlar Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları üretim merkezinden temin edilmiştir. Etik kurul onamı (Etik kurul protokol numarası:2022-15-02/06) alındıktan sonra sıçanlar ketamin (90mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) uygulaması ile oluşturulan anestezi sonrasında idrar kesesi çıkarılarak ürotelyumu (detrüsör ve mukoza) sağlam olan kas şeritleri (2 x 15 mm uzunluğunda) elde edilmiştir. Düz kas şeritleri daha sonra izole organ banyosuna 1 g gerim ile asılarak düz kas kasılma ve gevşeme yanıtları incelenmiştir.

Organ Banyosunda İzometrik Gerim Çalışması

Mesane düz kas şeritleri 37 °C'de ve oksijenlendirilen (%95 O₂ ve %5 CO₂) Krebs solüsyonu (mmol cinsinden 1L: NaCl, 118.5; KCl, 4.8; KH₂PO₄, 1.2; MgSO₄.7H₂O, 1.2; CaCl₂, 1.9; NaHCO₃, 25; glukoz, 10.1) içinde 20 mL'lik bir organ banyosuna yerleştirildi. Dokulardaki dinlenme gerilimi 1 gramda tutuldu. İzole organ banyosunda her şeridin izometrik kuvvetini ölçmek için transdüser ile bağlantısı sağlandı (MP-30, COMMAT, COMMAT İletişim., Ankara, Türkiye). Bu veri toplama sistemi aracılığıyla düz kasta meydana gelen spontan kasılma yanıtları bilgisayar tarafından sürekli olarak görüntülendi ve kaydedildi. Bir saatlik dengeleme süresinin sonunda kas şeritlerine muskarinik agonist karbakol submaksimal dozda (3X10⁻⁶ M) uygulanarak kas şeritlerinde kasılma yanıtı elde edildi. Dokular her uygulamadan sonra Krebs solüsyonu ile yıkandıktan ve dokuların izometrik gücü dengelendikten sonra aynı doku tekrar 3X10⁻⁶ M karbakolle kasılarak bu defa organ banyosuna kümülatif olarak 10⁻⁸-10⁻² M dozlarında liraglutid uygulanarak kontraktil aktivitedeki değişiklikler gözlemlendi ve kaydedildi. Doku her bir farmakolojik ajan uygulamasından sonra organ banyosunun suyu değiştirilerek yıkanmıştır. Yeniden dengelendikten sonra, şeritlerin gevşeme yanıtı değerlendirilmiştir.

Gevşeme yanıtlarını değerlendirmek için düz kas şeritleri önce 3×10^{-6} M dozunda karbakolle kasılmış ve daha sonra izoproterenol, liraglutid ve LNNA eklenmiştir. Düz kas şeritleri submaksimal dozdaki 3×10^{-6} M karbakolle kasıldıktan sonra kümülatif izoproterenol (10^{-9} - 10^{-2} M) uygulanarak gevşeme yanıtı kaydedilmiştir (15). Liraglutidinin gevşeme yanıtı üzerindeki etkisini değerlendirmek için 10^{-8} - 10^{-2} M değişen konsantrasyonlarda 3×10^{-6} M karbakol ile önceden kasılmış kas şeritlerine uygulanmıştır. GLP-1'in gevşeme yanıtı üzerindeki etki mekanizmalarını ortaya çıkarabilmek amacıyla önceden karbakolle kasılmış kas şeritlerinin bulunduğu ortama nöronal NO sentaz (nNOS) inhibitörü Nω-Nitro-L-arginine (L-NNA) 10mM (16) dozunda eklenerek liraglutid (10^{-8} - 10^{-2} M) ile ortaya çıkan gevşeme yanıtlarının değişimi incelenmiştir. Deneyin sonunda, şeritlerin ağırlıkları ölçülerek kasılma ve gevşeme yanıtları gram doku başına orantılanarak gram cinsinden ifade edilmiştir (15).

Tablo 1. Gevşeme yanıtının gruplar arası karşılaştırılması. Önceden 3×10^{-6} M karbakolle kasılan düz kas şeritlerine izoproterenol, liraglutid ve liraglutid+LNNA uygulaması sonrası elde edilen gevşeme yanıtları. Değerler medyan (IQR) olarak verilmiştir.

Gevşeme Yanıtlarının Gruplar Arası Karşılaştırılması				
Doz	İzoproterenol	Liraglutid	Liraglutid+LNNA	p
-6	1,18(0,68-2,4)	0 (0-0)*	0 (0-0,98)*	0,009
-5	1,77(1,17-3,97)	0 (0-2,03)	0 (0-1,98)*	0,033
-4	2,54 (1,45-4,03)	1,36 (0-2,65)	0,38 (0-1,98)*	0,019
-3	2,92 (1,45-4,41)	1,7 (0-2,72)	0,8 (0-2,43)	0,055
-2	3,23 (1,45-4,41)	2,95 (1,11-2,74)	1,03 (0-2,43)*	0,033

*İzoproterenol uygulamasına göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

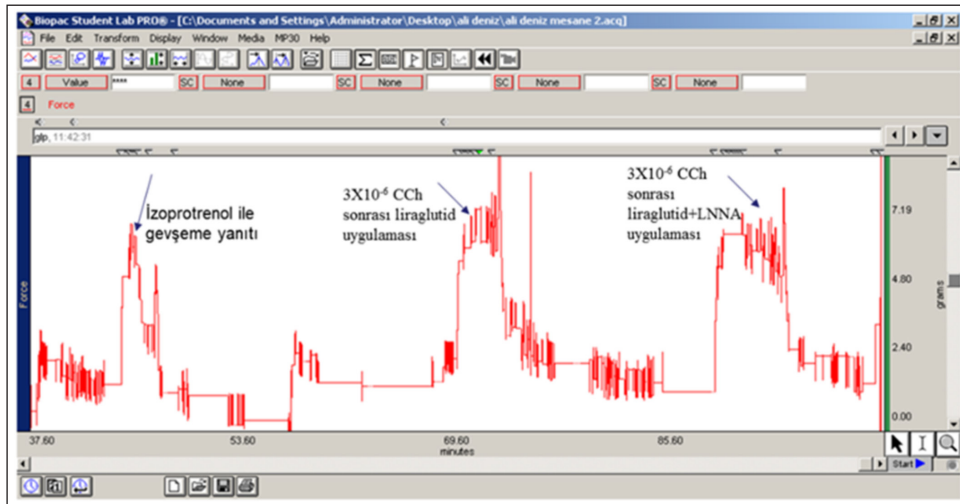
İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler medyan ve çeyrek açıklık (IQR) olarak ifade edildi. İkili karşılaştırmalar non parametrik Mann Whitney U testi ile yapıldı. Üç grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Dunn testi ile yapıldı. $p < 0,05$ değeri biyoistatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

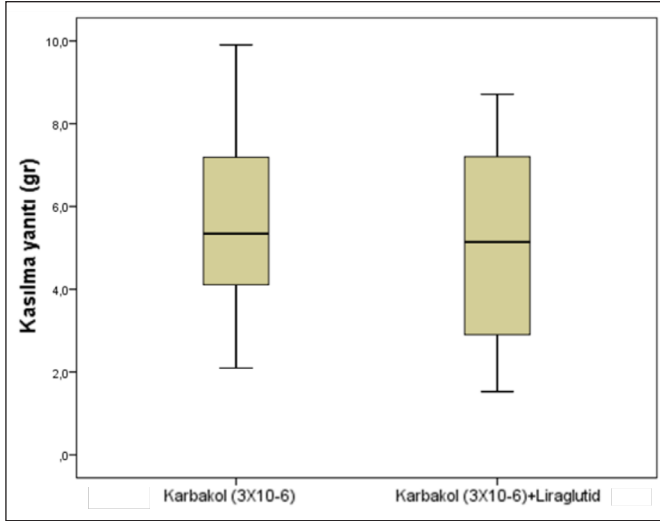
BULGULAR

Detrüsör düz kasının reseptör aracılı kasılma yanıtlarını değerlendirmek için karbakolün 3×10^{-6} M dozu kullanılmıştır (Şekil 1). Bu dozdaki karbakol ile önceden kasılan düz kas şeritlerine liraglutidin kümülatif dozda uygulaması sonrasında sadece karbakol ile oluşan kasılma yanıtı karşılaştırıldığında, liraglutid kasılma yanıtında bir azalmaya neden olmuş ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,768$) (Şekil 2). Karbakol ile oluşan kasılma yanıtının medyan değeri 5,34 g (IQR değerleri 3,60-7,86 g) olarak bulunmuştur. Karbakol+Liraglutid uygulaması sonrasında kasılma yanıtının medyan değeri 5,14 g (IQR değerleri 2,55-5,14 g) olarak benzer saptanmıştır ($p=0,768$)

Tablo 1'de karbakolle kasılmış düz kas şeritlerin gevşeme yanıtlarına ait medyan ve IQR değerleri verilmektedir. Düz kas şeritlerinin 3×10^{-6} M karbakol ile kasılması sonrasında 10^{-6} , ve 10^{-5} M izoproterenol ile oluşan gevşeme medyan değeri sırasıyla 1,18 g ve 1,77 g bulunmuş ve bu değerler liraglutid ve liraglutid +LNNA uygulaması ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,009$). İzopro-



Şekil 1: İzole organ banyosunda detrüsör düz kas şeritlerinde izoproterenol (10^{-8} - 10^{-2}), liraglutid (10^{-8} - 10^{-2} M) ve liraglutid (10^{-8} - 10^{-2} M) + LNNA (10mM) uygulaması sonrası ortaya çıkan kasılma ve gevşeme yanıtları.



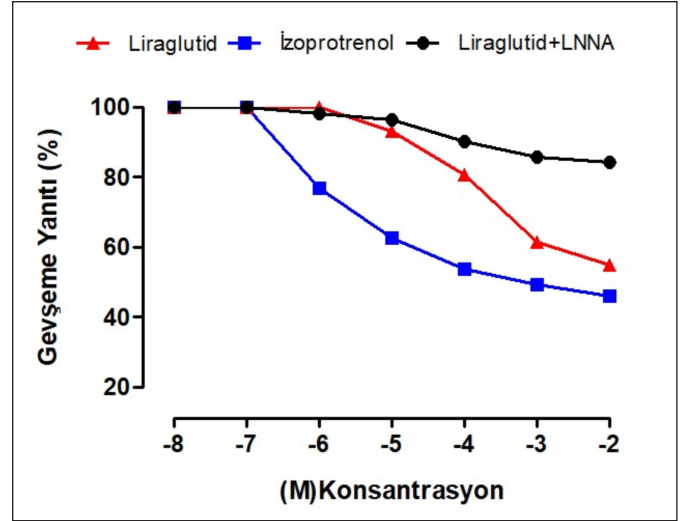
Şekil 2: Karbakol (3×10^{-6}) ve karbakol+ liraglutid ile oluşan detrüör kas kasılma yanıtları. Değerler medyan olarak verilmiştir (n=7).

renolün 10^{-4} M dozunda uygulaması sonrasında elde edilen gevşeme yanıtının medyan değeri 2,54 g tespit edilmiştir. İzoprotrenolün 10^{-4} M dozunda elde edilen gevşeme yanıtı (medyan değeri 2,54) ile Liraglutid+LNNA (medyan değeri 0,38 g) uygulaması ile oluşan gevşeme yanıtının istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu ($p=0,019$) gözlenmiştir. Sadece önceden kasılmış düz kas şeritlerine liraglutid uygulaması (medyan değeri 1,36) izoprotrenolün 10^{-4} M uygulamasına (medyan değeri 2,54) benzer gevşeme yanıtına neden olmuştur ($p=0,053$). İzoprotrenolün 10^{-2} M dozunda gevşeme yanıtına ait medyan değeri 3,23 g olarak hesaplanmıştır. Liraglutid+LNNA uygulaması gevşeme yanıtında (medyan değeri 1,03 g) izoprotrenolün 10^{-2} M dozunda ortaya çıkan gevşeme yanıtına (medyan değeri 3,23) göre istatistiksel anlamlı azalmaya neden olmuştur ($p=0,033$).

Şekil 3'de karbakolle önceden kasılmış düz kas şeritlerinin izoprotrenol, liraglutid ve liraglutid+LNNA ile oluşan gevşeme yanıtları yüzde değişimi gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Aşırı aktif mesane "idrar kaçırma, genellikle gündüz sıklığında artış ve noktüri ile birlikte olan veya olmayan idrara sıkışma" ile karakterize bir depolama semptom sendromu olarak tanımlanmıştır (17). Çoğu hastada aşırı aktif mesane gelişiminin altında yatan patolojiyi belirlemedeki zorluk nedeniyle, sıklıkla "idiyopatik" olarak nitelendirilmektedir. Aşırı aktif mesane, çoklu potansiyel patofizyolojik mekanizmalardan kaynaklanan karmaşık, çok faktörlü bir sendrom olarak görülmelidir. Literatürde aşırı aktif mesane etiopatolojisine ilişkin çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Miyoje-



Şekil 3: Karbakol (3×10^{-6}) ile önceden kasılmış detrüör kas şeritlerinde kümülatif olarak uygulanan izoprotrenol, liraglutid ve liraglutid+LNNA ile elde edilen gevşeme yanıtlarının yüzde değişimi (n = 7).

nik hipoteze göre; detrüörden kaynaklanan idrara sıkışma, ürotelyojenik hipoteze göre; mesane ürotelyumu/subürotelyumundan kaynaklanan idrara sıkışma, üretrojenik hipoteze göre; üretradan kaynaklanan idrara sıkışma ve supraspinal hipoteze göre de; beyin ve beyin sapından kaynaklanan idrara sıkışma olduğu bildirilmektedir (11).

Aşırı aktif mesane tedavileri arasında konservatif yaşam tarzı değişiklikleri, ilaçlar, intravezikal tedaviler, nöromodülasyon ve son olarak cerrahi işlemler yer alır. İlaçlar arasında antikolinergikler ve β_3 reseptör agonistleri yer alır ve bunların her ikisi de detrüör aşırı aktivitesini azaltarak yaşam kalitesini artırır. Bu tedavilerde uyumun düşük olması sıklıkla gözlenmektedir. Uyumun düşük olmasının nedenleri arasında etkinlik eksikliği ve ağız kuruluğu, kabızlık, göz kuruluğu ve idrar retansiyonu gibi yan etkiler yer almaktadır (18). Bu nedenle, aşırı aktif mesane yönetimi için güvenli, uygun fiyatlı ve etkili oral ajanlara ihtiyaç vardır.

Diyabete bağlı ürolojik komplikasyonlar yaygın olarak gözlenmektedir. Hastalarda nöronal ve düz kas fonksiyon bozukluğu ile ürotelyumu içeren bozukluklara bağlı belirti ve semptomları görülür. Hastaların %50-%80'inde, aşırı aktif mesane semptomlarından, az aktif mesane semptomlarına kadar değişen alt idrar yolu fonksiyon bozuklukları görülmektedir (19). Diyabetik hastalarda yapılan ürodinamik çalışmalar, özellikle diyabetin erken dönemlerinde %55 oranında detrüör aşırı aktivitesi saptanmıştır (20). Diyabetik mesanelerdeki aşırı aktivitenin ardındaki patofizyoloji çok faktörlüdür. Bu faktörler arasında mikrovasküler hasardan kaynaklanan otonomik nöropati, detrüör kontraktilesinin düzenlenmesindeki eksiklikler ve duyuşal liflerin uya-

rilabilirliğindeki değişikliklere bağlı mesane ürotelyumundaki bozukluklar yer almaktadır (21). Diyabetik kişilerde hipergliseminin süresi ve kan şekeri seviyesinin, mesane fonksiyon bozukluğunun kötüleşmesi için risk faktörleri olduğu, iyileştirilmiş glikoz kontrolü ile mesane fonksiyon bozukluğunun ilerlemesini önlediği gösterilmiştir (22). Diyabetin geç evresinde ise oksidatif stres ürünlerinin birikmesi mesane dokusunun ve mesane fonksiyonlarının bozulmasına yol açtığı da bildirilmektedir (12,13,23).

Fizyolojik olarak mesanenin idrarı depolama ve boşaltma fonksiyonu otonom sinirler tarafından kontrol edilmektedir. Üriner depolama periyodu sırasında sempatik sinir sistemi baskındır ve sempatik sinir uçlarından salınan norepinefrin, $\beta 3$ adrenoseptörleri uyararak detrusör düz kasını gevşetir. Buna karşılık, işeme periyodu sırasında, parasempatik sinir sistemi baskın hale gelir ve parasempatik sinir uçlarından salınan asetilkolin ve ATP detrusör kası kasmak için sırasıyla muskarinik M3 reseptörlerini ve purinerjik P2X reseptörlerini uyarır (24). GLP-1'e ait reseptörlerinin vücutta beyin, böbrek, mide ve kalp dokularında bulunduğu gösterilmiştir. Karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusunda GLP-1 reseptörleri bulunamamıştır. Vagal sinirlerde reseptörlerin gösterilmiş olmasına karşın mesanede GLP-1'e ait reseptörler ile ilgili bilgi bulunmamaktadır (25). Çalışmamızda liraglutid, mesane detrusor kasında izoprotrenol ile benzer şekilde gevşeme yanıtı oluşturmuştur. Bu sonuç mesanede GLP-1 reseptörlerinin olabileceğini düşündürmektedir. GLP-1 reseptör agonistleri ile ince bağırsak (1,4), kalın bağırsak (3) motilitesinin azaldığı, mide boşalmasını geciktirdiği (5) gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde liraglutidin mesane düz kasında gevşeme yanıtı oluşturabildiği gözlenmiştir. Ayrıca nNOS inhibitörü olan LNNA'nın bulunduğu koşullarda gevşeme yanıtının azaldığı görülmüştür. Bu bulgu mesanede GLP-1'in gevşemeyi sağlayıcı etki mekanizmasında NO'nin etkili olduğunu düşündürmektedir. Çeşitli çalışmalarda GLP-1 reseptörleri uyarıldığında NO miktarının arttığı gösterilmiştir (26,27,28). Bu çalışmalarda özellikle kalpte endotelial NOS (eNOS) uyarımı ile NO yapımının arttığı gösterilmiştir. Sonuçlarımız bu çalışmalarla karşılaştırıldığında liraglutidin mesane düz kas gevşemesi üzerindeki etkisinin nNOS üzerinden olduğunu söyleyebiliriz.

Glukagon benzeri peptid-1, yemek yedikten sonra gastrointestinal sistemde yer alan L hücreleri tarafından üretilip salınan bir inkretin hormondur. Glukagon benzeri peptid-1'in uzun etkili bir analogu olarak, liraglutid doğal olarak aynı fizyolojik etkilere sahiptir. Liraglutid, GLP-1'in moleküler modifikasyonu yoluyla elde edilir ve uzun yarılanma ömrüne sahiptir. Liraglutid klinikte güçlü bir hipoglisemik ajan olarak kullanılır. Ayrıca pratikte vücut kitle indeksini azalttığı gösterilmiştir. Metabolik hastalıklarda ve diyabet

komplikasyonlarını azaltmada etkili olduğu da bildirilmektedir (24,29). Hem klinik öncesi (30) hem de klinik çalışmalar, GLP-1'in bağırsak düz kasını gevşettiğini ve hastalarda deri altı uygulamadan sonra irritabl bağırsak sendromu ile ilişkili ağrıyı hafiflettiğini göstermiştir (1,4). Bununla birlikte, GLP-1'in motilite üzerindeki etki mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte vagal aferent aracılı merkezi mekanizmaları içerdiği bildirilmektedir. Sıçanlarda, periferik olarak uygulanan GLP-1'in vagal afferentler aracılığı ile beyne giden sinyallerde artışa neden olmakta (24) ve bu etki bir GLP-1R antagonisti olan eksendin tarafından bloke edilmiştir (31). Efferent tarafta, GLP-1 etki mekanizmasının adrenerjik olmayan, kolinerjik olmayan vagal yolları içerdiği bildirilmektedir (32,33,34). Li ve arkadaşları orta serebral arter oklüzyonu ile oluşturulan inme modelinde GLP-1 analoglarının pelvik parasempatik sinir aktivitesini düzenleyerek serebral iskemiye bağlı mesane hiperaktivitesini azaltmada etkili olduğunu göstermişlerdir (14). Diğer bir çalışmada dipeptidilpeptidaz-4 inhibitörünün GLP-1 reseptöründen bağımsız bir sinyal mekanizması yoluyla ve kan şekeri seviyelerini düşürmeden mesane iskemisi sonrasında mesane hemodinamisini ve fonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (35). Çalışmamızda liraglutidin sağlıklı sıçan mesane düz kasında β adrenoseptörler ile oluşan gevşeme yanıtına benzer gevşetici bir etki gösterdiği görülmüştür. Bu etkisiyle GLP-1 agonistlerinin mesane düz kaslarının gevşemesinde kullanılabilir bir tedavi seçeneği olabileceğini önermekteyiz. Üriner disfonksiyonların diyabet ve obezite sıklıkla gözlenmesi kan şekerini düşürücü etkinliğinden bağımsız olarak GLP-1 reseptör agonistlerinin direkt mesane düz kasının üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılması, aşırı aktif mesane gelişiminin önlenmesinde bu hasta gruplarında yararlı etkiler ortaya çıkarabilir. Tedavi seçenekleri kısıtlı olduğu için mesanenin gevşemesinde rol alan diğer mekanizmaları araştırarak aşırı aktif mesane hastaları için farklı tedavi alternatiflerinin geliştirilmesi önemlidir.

Mesane düz kasın gevşemesinde NO yolağının rol oynadığı bilinmektedir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, GLP-1'in mide boşalmasını, açlık sırasında göç eden miyoelektrik komplekleri ve gıda alımından sonra gastrointestinal geçişi geciktirdiği bildirilmektedir (1). Ayrıca GLP-1'in kolon motilitesi üzerinde de inhibitör etkili olduğu, bu etkinin NO ve ATP salınımı yoluyla gerçekleştiği ve düz kas hücrelerinde L-tipi voltaja bağlı kalsiyum kanallarını inhibe ettiği gösterilmiştir (3). Ancak GLP-1 reseptör agonistlerinin mesane düz kas kontraktıl ve gevşeme yanıtı üzerindeki etkileri araştırılmamıştır. Çalışmamızda liraglutid uygulamasının sağlıklı detrusor kas şeritlerindeki gevşeme yanıtının izopretrenol ile benzer olduğu gösterilmiştir. Ayrıca liraglutid ile birlikte nNOS inhibitörü LNNA uygulandığında düz kas şeritlerinde gevşeme yanıtının istatistiksel olarak

anlamli azaldığı gözlenmiştir. Bunun nedeni intestinal düz kaslardaki gibi NO yolağı olabilir. Aynı zamanda bu sonuçlar GLP-1'in büyük olasılıkla mesane düz kas duvarındaki GLP-1 reseptörü aracılığıyla detrüör kas kasılmasını inhibe edebileceğini de düşündürmektedir.

Diyabetik hastalarda mesane disfonksiyonu prevalansı göz önüne alındığında, bu hastalarda mesane fonksiyon bozukluklarını azaltmaya yönelik terapötik stratejiler araştırılmaktadır. GLP-1 analoglarının oksidatif strese ve hücre ölümüne karşı önceden belirlenmiş koruyucu etkilerine dayanarak, diyabete bağıli mesane hiperaktivitesinin tedavisi için umut verici terapötik strateji olabileceğine inanıyoruz. Konu ile ilgili *in vivo* ve diğör hastalık modellerinde daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasına gereksinim vardır. Aşırı aktif mesane tedavisinde GLP-1 analoglarının potansiyel kullanımı klinik çalışmalarda araştırılmayı beklemektedir. *In vitro* koşullarda ve sağılıklı detrüör kas dokusunda gerçekleştirilen kasılma yanıt değışimleri daha ileri çalışmalarda aşırı aktif mesanede ve *in vivo* koşullarda etkisinin değerlendirilmesi planlanmaktadır.

Teşekkür

Yok.

Yazar Katkı Beyanı

ADÇ: Çalışmanın planlanması ve deneysel çalışmaların yürütülmesi, HSÖ: Makale yazımı ve deneysel çalışmaların planlanması

Çıkar çatışması

Yazarların bu çalışmada çıkar çatışma beyanı bulunmamaktadır. Bu çalışma TÜBİTAK 2209-A Lisans Öğrenci projeleri kapsamında 1919B012109907 nolu proje ile desteklenmiştir. Çalışma 25-26 Kasım 2023 tarihli ULUBAT'ın öğrenci kongresi olarak düzenlediği 2. Ulu Kongre'de poster olarak sunulmuştur.

Finansal Destek

TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Etik Kurul Onayı

Çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (etik onay numarası: 2022-15-02/06).

Hakemlik süreci

Yayın kök hakemlik sürecinde değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Hellström PM, Smithson A, Stowell G, Greene S, Kenny E, Damico C, Leone-Bay A, Baughman R, Grant M, Richardson P. Receptor-mediated inhibition of small bowel migrating complex by GLP-1 analog ROSE-010 delivered via pulmonary and systemic routes in the conscious rat. *Regul Pept* 2012; 179(1-3):71-6.
- Weir GC, Mojsov S, Hendrick GK, Habener JF. Glucagon like peptide I (7-37) actions on endocrine pancreas. *Diabetes* 1989; 38(3):338-42.
- Yan L, Tang Q, Quan X, Ren H, Chen W, Xia H, Luo H. Effects of exendin-4 on colonic motility in rats and its underlying mechanism. *Neurogastroenterol Motil* 2019; 31(2):e13482.
- Hellström PM, Näslund E, Edholm T, Schmidt PT, Kristensen J, Theodorsson E, Holst JJ, Efendic S. GLP-1 suppresses gastrointestinal motility and inhibits the migrating motor complex in healthy subjects and patients with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20(6):649-59.
- Gusmão-Nascimento JW, Nunes Cruz DM, Almeida Gama L, Luz Alves WD, Machado MPR, Corá LA, Américo MF. Liraglutide modulates morpho-functional and inflammatory gastrointestinal responses in rats. *Eur J Clin Invest*. 2024; 54(2):e14112.
- Bozkurt A, Näslund E, Holst JJ, et al. GLP-1 and GLP-2 act in concert to inhibit fasted, but not fed, small bowel motility in the rat. *Regul Pept* 2002; 107: 129-135.
- Wegeberg AL, Hansen CS, Farmer AD, Karmisholt JS, Drewes AM, Jakobsen PE, Brock B, Brock C. Liraglutide accelerates colonic transit in people with type 1 diabetes and polyneuropathy: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *United European Gastroenterol J* 2020;8(6):695-704.
- Phillyppov IB, Sotkis GV, Danshyna AO, Yelyashov SI, Sharopov BR, Shuba YM. Impairment of urinary bladder mechanical properties in rat model of type 2 diabetes. *Neurourol Urodyn* 2022; 41(8):1670-1678.
- Vladimirova IA, Phillyppov IB, Sotkis GV, Kulieva EM, Shuba YY, Gulak KL, Skryma R, Prevarskaya N, Shuba YM. Impairment of cholinergic bladder contractility in rat model of type I diabetes complicated by cystitis: Contribution of neurotransmitter-degrading ectoenzymes. *Eur J Pharmacol* 2019; 860:172529.
- Klee NS, Moreland RS, Kendig DM. Detrusor contractility to parasympathetic mediators is differentially altered in the compensated and decompensated states of diabetic bladder dysfunction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2019; 317(2):F388-F398.
- Peyronnet B, Mironska E, Chapple C, Cardozo L, Oelke M, Dmochowski R, Cornu JN. A Comprehensive Review of Overactive Bladder Pathophysiology: On the Way to Tailored Treatment. *European Urology* 2019; 75(6); 988-1000.
- Sourris KC, Ding Y, Maxwell SS, Al-Sharea A, Kantharidis P, Mohan M, Rosado CJ, Penfold SA, Haase C, Xu Y, Forbes JM, Crawford S, Ramm G, Harcourt BE, Jandeleit-Dahm K, Advani A, Murphy AJ, Timmermann DB, Karihaloo A, Knudsen LB, El-Osta A, Drucker DJ, Cooper ME, Coughlan MT. Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modifies the extent of diabetic kidney disease through dampening the receptor for advanced glycation end products-induced inflammation. *KidneyInt* 2023; S0085-2538(23)00756-1.
- Eissa RG, Eissa NG, Eissa RA, Diab NH, Abdelshafi NA, Shaheen MA, Elsabahy M, Hammad SK. Oral proniosomal amitriptyline and liraglutide for management of diabetic neuropathy: Exceptional control over hyperglycemia and neuropathic pain. *Int J Pharm* 2023;647:123549.

14. Li PC, Liu LF, Jou MJ, Wang HK. The GLP-1 receptor agonists exendin-4 and liraglutide alleviate oxidative stress and cognitive and micturition deficits induced by middle cerebral artery occlusion in diabetic mice. *BMC Neurosci* 2016; 17(1):37.
15. Turan İ, Erdem S, Ergenç M, Sayan Özaçmak H. The Effects of 1,1-Dimethylbiguanide Hydrochloride (Metformin) on Detrusor Muscle Contractile Response in Ovariectomized Female Rats. *Turk J Diab Obes* 2022;6(2):97-103.
16. Lim I, Chess-Williams R. Mirabegron attenuates porcine ureteral contractility via α 1-adrenoceptor antagonism. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2022; 395(7):839-847.
17. Hashim H, Abrams P. Overactive bladder: an update. *Curr Opin Urol* 2007;17(4):231-6.
18. Neu S, Matta R, Locke JA, Troke N, Tadrous M, Saskin R, Rebullar K, Nam R, Herschorn S. The Use of Metformin in Overactive Bladder: A Retrospective Nested Case-control, Population-based Analysis. *Urology* 2023; S0090-4295(23)00871-3.
19. Daneshgari F, Liu G, Birder L, Hanna-Mitchell AT, Chacko S. Diabetic bladder dysfunction: current translational knowledge. *J Urol* 2009;182(6 Suppl):S18-26.
20. Kaplan SA, Te AE, Blaivas JG. Urodynamic findings in patients with diabetic cystopathy. *J Urol*. 1995 Feb;153(2):342-4.
21. Chiu AF, Huang MH, Wang CC, Kuo HC. Higher glycosylated hemoglobin levels increase the risk of overactive bladder syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Urol* 2012;19(11):995-1001.
22. Deli G, Bosnyak E, Pusch G, Komoly S, Feher G. Diabetic neuropathies: diagnosis and management. *Neuroendocrinology* 2013; 98(4):267-80.
23. Evcim AS, Micili SC, Karaman M, Erbil G, Guneli E, Gidener S, Gumustekin M. The Role of Rac1 on Carbachol-induced Contractile Activity in Detrusor Smooth Muscle from Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2015; 116(6):476-84.
24. Chess-Williams R. Muscarinic receptors of the urinary bladder: detrusor, urothelial and prejunctional. *Auton Autacoid Pharmacol*. 2002;22(3):133-45.
25. Müller T D, Finan B, Bloom S R, D'Alessio D, Drucker D J, Flatt P R, Fritsche A, Gribble F, Grill H J, Habener J F, Holst J J, Langhans W, Meier J J, Nauck M A, Perez-Tilve D, Pocai A, Reimann F, Sandoval D A, Schwartz T W, Tschöp M H. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Mol Metab* 2019;30: 72-130.
26. Cessario J, Pierre-Louis V, Wahl J, Li Z. Empagliflozin, alone or in combination with liraglutide, limits cell death in vitro: role of oxidative stress and nitric oxide. *Pharmacol Rep* 2021;73(3):858-867.
27. Turan İ, Sağlam C, Erdem S, Sayan Özaçmak H. Ovariectomized Sıçanlarda Liraglutid'in Kalp Fonksiyonları Üzerine Etkisi. *Turk J Diab Obes*. 2022;6:1-9.
28. Ferhatbegović L, Mršić D, Macić-Džanković A. The benefits of GLP1 receptors in cardiovascular diseases. *Front Clin Diabetes Healthcare*. 2023; 4: 1-8
29. Liu Y, Zhu D, Dong G, Zeng Y, Jiang P, Xiao Y. Liverparaoxonase 3 expression and the effect of liraglutide treatment in a rat model of diabetes. *Adv Clin Exp Med* 2021;30(2):157-163.
30. Tolessa T, Gutniak M, Holst JJ, Efendic S, Hellström PM. Glucagon-like peptide-1 retards gastric emptying and small bowel transit in therat: effect mediated through central or enteric nervous mechanisms. *Dig Dis Sci* 1998;43(10):2284-90.
31. Bucinskaite V, Tolessa T, Pedersen J, Rydqvist B, Zerihun L, Holst JJ, Hellström PM. Receptor-mediated activation of gastric vagal afferents by glucagon-like peptide-1 in the rat. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21(9):978-e78.
32. Imeryüz N, Yeğen BC, Bozkurt A, Coşkun T, Villanueva-Peñacarrillo ML, Ulusoy NB. Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol*. 1997;273(4):G920-7.
33. Näslund E, Bogefors J, Skogar S, Grybäck P, Jacobsson H, Holst JJ, Hellström PM. GLP-1 slows solid gastric emptying and inhibits insulin, glucagon, and PYY release in humans. *Am J Physiol*. 1999;277(3):R910-6.
34. Hellström PM, Hein J, Bytzer P, Björnsson E, Kristensen J, Schambye H. Clinicaltrial: theglucagon-like peptide-1 analogue ROSE-010 for management of acutepain in patients with irritable bowel syndrome: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29(2):198-206.
35. Hotta Y, Takahashi S, Tokoro M, Naiki-Ito A, Maeda K, Kawata R, Kataoka T, Ohta Y, Hamakawa T, Takahashi S, Yasui T, Kimura K. Anagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, improved bladder function and hemodynamics in rats with bilateral internal iliac artery ligation. *NeuroUrol Urodyn* 2020; 39(7):1922-1929.