

# Pęcherz nadreaktywny – nowe spojrzenie na etiopatogenezę idiopatycznej postaci tego schorzenia

Overactive bladder – a new insight into the pathogenesis of its idiopathic form

Nowakowski Łukasz<sup>1</sup>, Kulik-Rechberger Beata<sup>2</sup>,  
Wróbel Andrzej<sup>1</sup>, Rechberger Tomasz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> II Katedra i Klinika Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Polska

<sup>2</sup> Zakład Propedeutyki Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Polska

## Streszczenie

Zaburzenie mikcji pod postacią zespołu pęcherza nadreaktywnego (ang. overactive bladder, OAB) występuje u dzieci i u dorosłych. Przyczyny nadaktywności mięśnia wypieracza pęcherza moczowego nie są dostatecznie znane. Wiadomo, że znaczącą rolę w skurczu wypieracza odgrywają połączenia szczelinowe między komórkami, których głównym białkiem są koneksyny. Wykazano, że wzrost poziomu koneksyny 43 prowadzi do nadaktywności włókien mięśniowych, a jednym z ważniejszych czynników regulujących jej poziom jest kontrola transkrypcji.

Badania również dowodzą, że OAB może być spowodowane mutacją genu kodującego receptor  $\beta$ 3-AR oraz wzajemnym oddziaływaniem receptorów muskarynowych M2 i M3.

W przypadku nadaktywności wypieracza spowodowanej przeszkodą podpęcherzową do tonicznego skurczu mięśnia prowadzą zmiany ekspresji łańcuchów lekkich i ciężkich miozyny. Dogłębne poznanie tych i nowych mechanizmów może w przyszłości przyczynić się do poprawy diagnostyki i terapii OAB.

Słowa kluczowe: **pęcherz nadreaktywny (OAB) / nadaktywność wypieracza / uwarunkowania genetyczne /**

## Abstract

In the last few years cytokines have been shown to be the most important local cell signaling molecules, strongly involved in the pathogenesis of the overactive bladder symptoms. Proper bladder function is dependent on gap junction activity. The main gap junction proteins which can be found in bladder smooth muscle are Connexin 43 (Cx 43) and Connexin 45 (Cx45). Experimental studies focused on the influence of Basic Fibroblast Growth Factor on Connexin expression in bladder smooth muscle cells have shown an increased expression of Cx43, contrary to Cx45. Elevated level of Connexin 43 leads to overactivity of muscle fibers. It was also proved that expression of these proteins in tissues is modulated by cytokines.

## Adres do korespondencji:

Tomasz Rechberger  
II Katedra i Klinika Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin, Polska  
Tel./fax.: +48 81 7244688;  
e-mail: rechbergt@yahoo.com

Otrzymano: 10.05.2012  
Zaakceptowano do druku: 10.10.2012

Nowakowski Ł, et al. Pęcherz nadreaktywny – nowe spojrzenie na etiopatogenezę idiopatycznej postaci tego schorzenia.

*Regulation of the Cx43 promoter depends on an activating factor 1 (AP-1), cyclic monophosphate (cAMP) and retinoid concentration as well. AP-1 is induced by extracellular-signal-regulated kinases (ERK 1/2) through the activation of basic fibroblast growth factor (bFGF).*

*Recent studies revealed that cytokine-induced modulation of gap junction plays an important role in the pathogenesis of OAB, whereas activation of sympathetic fibers via  $\beta$  adrenoreceptors ( $\beta$ -AR) causes relaxation of the bladder. The  $\beta$ -3 adrenoreceptors are divided into  $\beta$ -1,  $\beta$ -2,  $\beta$ -3 subtypes.  $\beta$ -3 adrenoreceptors have been found in fat and smooth muscle tissue. Density of  $\beta$ -3 AR is very high in urinary bladder detrusor. Activation of  $\beta$ -3 AR leads to the relaxation of smooth muscle fibers during the filling phase and is cAMP-dependent. Missense mutation of this receptor subtype in the human bladder, leading to the substitution of Tryptophan (Trp) by Arginine (Arg), occurs in about one-third of the world's population. Studies have shown that about 50% of women with Trp 64 Arg polymorphism have OAB symptoms. Higher concentration of  $\beta$ 3-AR with Trp 64 Arg polymorphism in bladders of women with diagnosed OAB is probably associated with a lower level of cAMP and weaker relaxation of the bladder smooth muscle.*

*The role of the muscarinic receptors (M1-M5) in the pathogenesis of OAB has been widely described. Unfortunately, due to lack of selective muscarinic ligands, the function of each subtype of the receptor has not been fully elucidated yet. A mouse model lacking one or more muscarinic receptors types has been constructed recently. Animals were used to assess the real influence of various muscarinic receptors on bladder function. Studies have confirmed the importance of these receptors in the function of the urinary tract, offering a new insight in their mutual interactions and pathogenesis of OAB.*

*Better understanding of these and new mechanisms may improve the process of diagnosis and treatment of the disease in the near future.*

Key words: **overactive bladder (OAB) / detrusor overactivity (DO) / genetics /**

Pęcherz nadreaktywny (ang. *overactive bladder* - OAB) jest obecnie definiowany jako zespół objawów obejmujących przede wszystkim uczucie parcia, mogące współistnieć z nagłym nietrzymaniem moczu, nadmierną częstością mikcji oraz nokturią. Kiedy objawom towarzyszą epizody nietrzymania moczu jest to postać *OAB wet*, kiedy nietrzymanie moczu nie występuje - *OAB dry*. Nadaktywność wypieracza (ang. *detrusor overactivity* - DO) to pojęcie określające bezwiedne skurcze mięśnia wypieracza pęcherza moczowego (spontaniczne lub prowokowane) stwierdzone podczas cystometrii [1]. Ograniczona dostępność badania urodynamicznego, jego koszty oraz trudności diagnostyczne przy rozpoznawaniu OAB na podstawie cystometrii, skłoniły *International Continence Society* (ICS) do podjęcia decyzji o możliwości stawiania diagnozy jedynie na podstawie objawów i wdrożenia terapii już na tym etapie postępowania diagnostyczno-terapeutycznego [2,3,4]. Jest to o tyle istotne, że według ostatnich badań epidemiologicznych, zespół pęcherza nadreaktywnego występuje u ponad 16% populacji, z czego około 70% osób przyznaje, że OAB wpłynęło zdecydowanie negatywnie na jakość ich życia [5,6]. Ważny jest również fakt, że OAB generuje wysokie koszty obejmujące zarówno wydatki bezpośrednie związane z leczeniem samego zespołu, jak również koszty pośrednie wynikające z konsekwencji choroby [7]. Zważywszy na rozpowszechnienie tego schorzenia i jego uciążliwość nieustannie prowadzi się badania mające na celu ustalenie jego przyczyn. Ich znajomość może dać podstawy do opracowania nowych metod diagnostycznych i skuteczniejszych metod terapeutycznych.

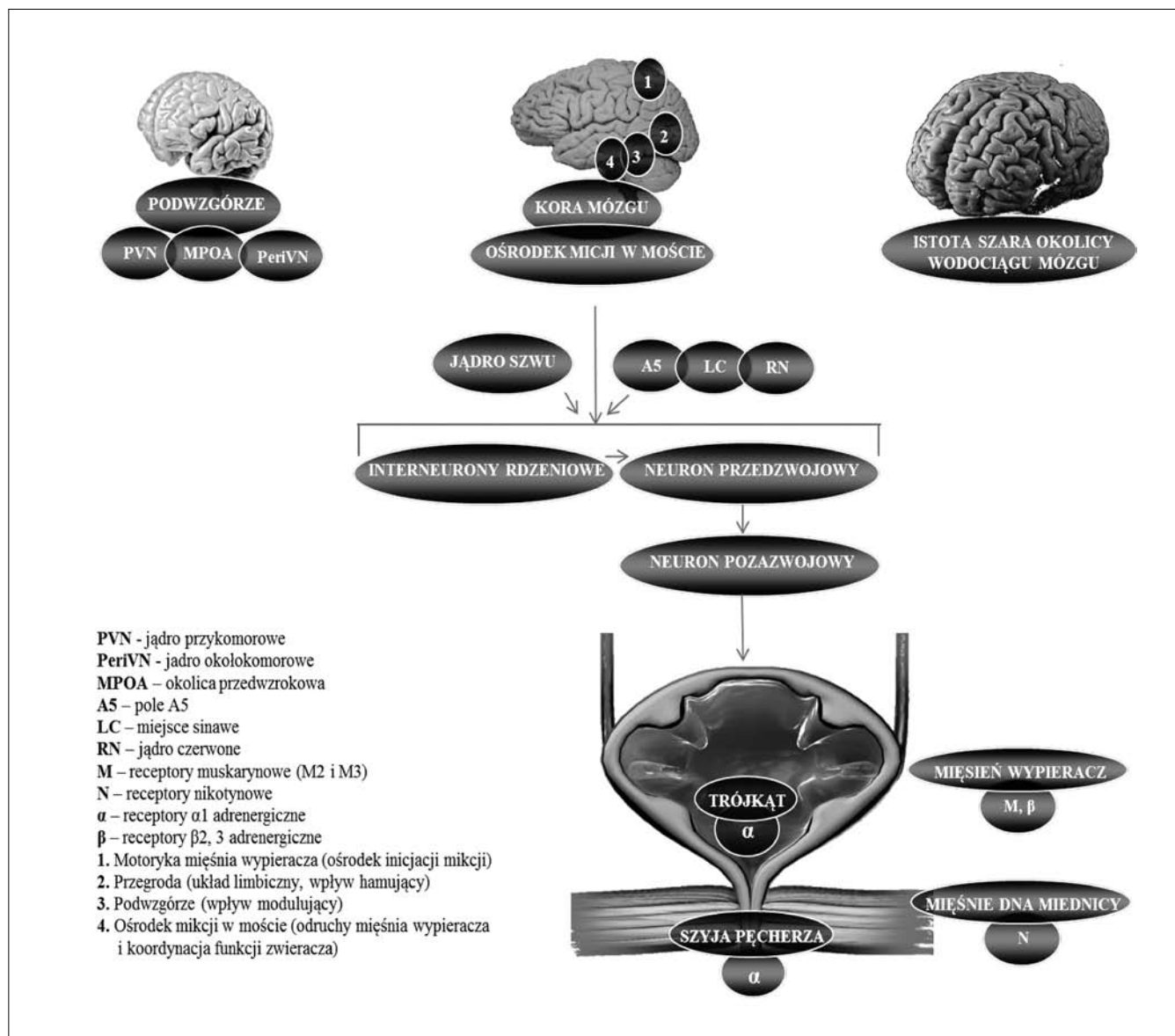
### **Etiopatogeneza zespołu pęcherza nadreaktywnego**

Wśród potencjalnych przyczyn OAB wymienia się czynniki infekcyjne, psychosomatyczne, mechaniczne i neurologiczne. W wielu przypadkach przyczyna OAB pozostaje nieznana i tę postać nazywamy idiopatyczną (nadreaktywność idiopatyczna). Badania wskazują, że w patomechanizmie zespołu pęcherza nad-

reaktywnego pewną rolę mogą odgrywać genetycznie uwarunkowane zmiany receptorowe w obrębie pęcherza moczowego [8].

Proces mikcji odbywa się na zasadzie odruchu opuszkowo-rdzeniowego. Do odruchu dochodzi w wyniku pobudzenia włókien aferentnych (czuciowych) i eferentnych (ruchowych). Jest on zintegrowany i koordynowany przez ośrodki rdzeniowe i ponadrdzeniowe – Ryc. 1 [9]. Impulsacja przywspółczulna z odcinka lędźwiowo – krzyżowego rdzenia kręgowego, prowadzona przez włókna motoryczne, powoduje skurcz mięśnia gładkiego pęcherza moczowego (wypieracza) [10]. Aktywacja włókien współczulnych, poprzez pobudzenie receptorów  $\beta$ -adrenergicznych ( $\beta$ -ARs) relaksuje wypieracz i pozwala na gromadzenie moczu w pęcherzu [11]. Wyróżnia się trzy typy receptorów  $\beta$ -adrenergicznych:  $\beta$ -1 ( $\beta$ 1-AR),  $\beta$ -2 ( $\beta$ 2-AR),  $\beta$ -3 ( $\beta$ 3-AR). Spośród wymienionych, ludzki wypieracz pęcherza wykazuje obecność mRNA dla  $\beta$ 3-AR [12]. Działanie  $\beta$ 3-AR wiąże się z aktywacją cykazy adenylowej, co w konsekwencji prowadzi do podwyższenia poziomu cyklicznego adenozyonomonofosforanu (cAMP) w komórce. Mediator ten, poprzez aktywację kinazy białkowej, hamuje połączenie aktyna-miozyna oraz zmniejsza stężenie jonów wapniowych w komórkach, co powoduje zmniejszenie napięcia mięśniowego [13]. Badania sugerują, że OAB może być spowodowane mutacją genu kodującego receptor  $\beta$ 3-AR [14,15]. Wykazano, że u osób z mutacją niesynonimiczną (ang. *missense*) kodonu 64 genu  $\beta$ 3-AR, prowadzącą do zamiany tryptofanu na argininę (polimorfizm Trp 64 Arg), częściej też dochodzi do wystąpienia otyłości brzusznej, insulinooporności czy podwyższonego BMI. W komórkach mięśni gładkich, w których doszło do ekspresji zmutowanego genu receptora, maksymalna kumulacja cAMP w odpowiedzi na działanie agonistów  $\beta$ 3-adrenergicznych była zmniejszona [16]. Fakt ten potwierdza, że cAMP odgrywa istotną rolę w relaksacji mięśnia gładkiego pęcherza moczowego i gromadzeniu moczu. W jednym z badań Honda i wsp. stwierdzili obecność polimorfizmu Trp 64 Arg genu  $\beta$ 3-AR u 47% kobiet z OAB [14]. Należy jednak zaznaczyć, że

Nowakowski Ł, et al. Pęcherz nadreaktywny – nowe spojrzenie na etiopatogenezę idiopatycznej postaci tego schorzenia.



Rycina 1. Ośrodkowa i obwodowa kontrola odruchu fikcyjnego.

polimorfizm ten występował również u 23% kobiet bez objawów OAB, co może sugerować, że istnieją skuteczne mechanizmy kompensacyjne zapobiegające wystąpieniu zespołu. Nie można wykluczyć, że protekcyjne działanie mają estrogeny, których skuteczność maleje wraz z procesem starzenia. Podobne wyniki jak wyżej wspomniani autorzy, uzyskali Ferreira i wsp., badający 218 kobiet z OAB [15]. W ich materiale, polimorfizm Trp 64 Arg występował u 51% pacjentek z rozpoznaniem zespołem nadreaktywności pęcherza. Pomimo, że wspomniana mutacja jest również charakterystyczna dla otyłości, autorzy wykluczyli wpływ otyłości *per se* na wyniki badań. Nie znaleźli bowiem różnicy w częstości występowania zespołu pęcherza nadreaktywnego u kobiet z BMI powyżej i poniżej 25 kg/m<sup>2</sup>.

Poza receptorami  $\beta$ 3-AR, istotną rolę w funkcjonowaniu pęcherza moczowego odgrywają receptory muskarynowe. Zależność pomiędzy działaniem tych receptorów a objawami OAB

była szeroko badana, zarówno pod względem patogenezy jak i leczenia [17,18,19,20]. Szczególnie interesujące wydają się badania eksperymentalne na zwierzętach z wyłączonymi genami kodującymi poszczególne receptory muskarynowe (ang. *knock-out gene*). Matsui i wsp. analizowali funkcjonowanie pęcherza moczowego u myszy pozbawionych genów kodujących receptory M<sub>2</sub> i/lub M<sub>3</sub> [21]. Wykazali oni, że około 95% zwierząt pozbawionych receptorów M<sub>3</sub> nie odpowiadało skurczami pęcherza moczowego na działanie karbacholu (modelowa substancja służąca do indukowania skurczów wypieracza pęcherza moczowego). Jednocześnie okres gromadzenia moczu, pojemność pęcherza moczowego i ilość oddanego moczu podczas mikcji były u nich większe, w porównaniu z grupą kontrolną. Pozostałe 5% zwierząt pozbawionych receptorów M<sub>3</sub> reagowało skurczem pęcherza na działanie karbacholu. Skurcz pęcherza pod wpływem karbacholu nie zanotowano natomiast u żadnego zwierzęcia

z wyłączonymi genami dla receptorów  $M_2$  i  $M_3$ . Obserwacje te wskazują, że w generowaniu niekontrolowanych skurczów mięśnia wypieracza pęcherza biorą udział oba typy receptorów. W innym badaniu, obejmującym myszy z wyłączonym receptorem  $M_2$ , w celu wywołania skurczu pęcherza moczowego stosowano oksytremorynę. Jednocześnie podawano 4-DAMP (4-difenylacetoxymetylopiperidyno-metobromid) w celu zahamowania działania receptorów  $M_3$ . Okazało się, że myszy te wykazywały dużo mniejszą kurczliwość mięśnia wypieracza w porównaniu z grupą kontrolną, którą stanowiły zwierzęta posiadające receptory  $M_2$  i  $M_3$ . To ciekawe spostrzeżenie sugeruje wzajemną modulację działania receptorów  $M_2$  i  $M_3$  [22].

Gromadzenie moczu jak również akt mikcji zależne są od kontroli ośrodkowego układu nerwowego. Komórki urotelium, miofibroblastów (ang. *human suburothelial myofibroblasts* - hsMF) oraz mięśni gładkich pęcherza moczowego (ang. *human bladder smooth muscle cells* - hBSMC) pozostają w silnej zależności, a komunikacja pomiędzy nimi zachodzi poprzez połączenia szczelinowe (ang. *gap junction*). Uważa się, że połączenia te pełnią podstawową rolę w skurczu pęcherza moczowego jak również w przekazywaniu impulsów włóknami aferentnymi [23,24]. Głównymi białkami budującymi połączenia szczelinowe w pęcherzu moczowym są koneksyna 43 (Cx43) oraz koneksyna 45 (Cx45). Badania sugerują, że podwyższony poziom Cx43 u zwierząt doświadczalnych z nadreaktywnością wypieracza wywołaną obecnością przegrody podpęcherzowej, wynika z nasilonej transmisji wewnątrzkomórkowej impulsów elektrycznych i chemicznych, poprzez połączenia szczelinowe [25]. Po usunięciu przegrody podpęcherzowej cystometrogramy zwierząt wykazują cechy nadwrażliwości wypieracza pęcherza, przy czym nadwrażliwość ta może być hamowana poprzez podanie blokera połączeń szczelinowych [26].

W wielu zaburzeniach czynności pęcherza moczowego, takich jak infekcje układu moczowego czy zaburzenia mikcji, wykazano podwyższone stężenie podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (ang. *basic fibroblast growth factor* - bFGF) w moczu [27,28]. Czynnikiem ten produkowany jest w zwiększonej ilości przez urotelium zwierząt z przeskodą podpęcherzową. U zwierząt tych stwierdzono wzrost ekspresji Cx43 w komórkach mięśni gładkich pęcherza, wywołany aktywacją kinaz regulowanych sygnałem zewnątrzkomórkowym (ERK1/2). Wykazano, że wzrost poziomu Cx43 prowadzi zarówno do nadaktywności włókien mięśniowych wypieracza w badaniach *in vitro*, jak również do wzrostu częstości mikcji w badaniach behawioralnych, a jednym z najważniejszych czynników regulujących poziom Cx43 jest kontrola transkrypcji [29]. Do czynników regulujących czynność promotora Cx43 należą: czynnik aktywujący 1 (AP-1), cykliczny adenozymonofosforan (cAMP) i retinoidy. AP-1 jest aktywowany przez pERK1/2 za pośrednictwem bFGF. Negoro i wsp. analizowali wpływ bFGF na ekspresję Cx43 oraz Cx45 u zwierząt z nadaktywnością wypieracza związaną z przeskodą w odpływie moczu [30]. Autorzy stwierdzili podwyższone stężenie koneksyny 43 i podwyższony poziom mRNA dla koneksyny 45, co wskazuje na intensywniejsze promowanie syntezy Cx43 pod wpływem bFGF. Poza wyżej wspomnianą zależnością udało im się wykazać wpływ szlaku sygnałowego ERK-AP-1 na regulację transkrypcji Cx43 mRNA, stymulowanej przez bFGF. Zastosowanie inhibitora ERK jakim jest PD98059 spowodowało zmniejszenie poziomu koneksyny 43 stymulowanej podsta-

wowym czynnikiem wzrostu fibroblastów. Autorzy sugerują, iż odkrycie to może być potencjalnym punktem docelowym dla nowych działań leczniczych, które polegałyby na modelowaniu działania ścieżki ERK-AP-1.

Regulacja poziomu koneksyny 43 i 45 jest również podporządkowana działaniu czynników zapalnych jakimi są cytokiny. Udowodniono, że cytokiny mają duże znaczenie dla funkcjonowania pęcherza moczowego w różnych stanach patologicznych [31,32,33]. Neuhaus i wsp. wykazali zmniejszoną ekspresję Cx43 w ludzkich komórkach mięśni gładkich pęcherza pod wpływem działania transformującego czynnika wzrostu- $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1) [34]. W innym z badań analizowano ilość powstających połączeń komórkowych, jak również poziom ekspresji Cx43 i Cx45 pod wpływem cytokin, na zwierzęcym modelu pęcherza nadreaktywnego z przeskodą w odpływie moczu. Stosowano cytokiny zwiększające ilość Cx43 (IL-6, IL10, TNF $\alpha$ ) oraz cytokiny zmniejszające ilość Cx43 (IL-4, TGF $\beta$ 1). Wyniki badań wskazują, że o ile zastosowane cytokiny miały istotny wpływ na ekspresję koneksyny 43 to nie wpływały znacząco na ekspresję koneksyny 45. Jednocześnie zwrócono uwagę na istotnie wyższą indukcję ekspresji badanych koneksyn przez IL-6, co może być potencjalną przyczyną powstawania OAB w przebiegu procesu zapalnego [35].

Szukając przyczyn OAB badano ekspresję genów miozyny w pęcherzu moczowym zwierząt z nadaktywnością mięśnia wypieracza. Miozyna mięśni gładkich (ang. *smooth muscle myosin* - SMM) jest jednym z mikrofilamentów i głównym składnikiem aparatu kurczliwego. Składa się ona z 2 par łańcuchów lekkich (ang. *myosin light chain* - MLC) - MLC<sub>17</sub> i MLC<sub>20</sub>, oraz jednej pary łańcuchów ciężkich (ang. *myosin heavy chain* - MHC) [36]. Te ostatnie mogą występować w czterech izoformach, w zależności od miejsca składania łańcucha pre-mRNA: izoformy SM1 i SM2 oraz izoformy SM-A i SM-B. Częstsze występowanie izoformy SM-B zostało stwierdzone w mięśniach gładkich charakteryzujących się skurczem fazy, o szybszym czasie skurczu i większej aktywności ATP-azy. Przykładem tkanek, w których skład wchodzi ten rodzaj miozyny jest pęcherz moczowy oraz niektóre tętnice średniej wielkości. Izoforma SM-A miozyny wchodzi w skład mięśni gładkich wolniej kurczących się, o typie tonicznym, z mniejszą aktywnością ATP-azy. Przykładem może być mięśniówka gładka aorty [37,38]. Łańcuchy lekkie miozyny mięśnia gładkiego, podobnie jak łańcuchy ciężkie, mogą również występować w 2 izoformach w zależności od miejsca składania pre-mRNA. W przypadku MLC<sub>17</sub> są to izoformy MLC<sub>17a</sub> i MLC<sub>17b</sub>. Izoforma MLC<sub>17a</sub> w większej ilości znajduje się w mięśniach o skurczu fazy, MLC<sub>17b</sub> – w mięśniach o skurczu tonicznym [39,40]. Zhang i wsp. analizowali wpływ częściowej przegrody w odpływie moczu z pęcherza moczowego, prowadzącej do nadaktywności wypieracza, na ekspresję różnych izoform miozyny w mięśniu gładkim pęcherza [41]. Autorzy wykazali, że przegroda podpęcherzowa prowadzi do zmiany ekspresji form łańcuchów lekkich i ciężkich miozyny w wypieraczach. U zwierząt z częściową przeskodą w odpływie moczu stwierdzono nadekspresję miozyny MLC<sub>17b</sub> oraz SM-A, a więc izoform z tonicznym fenotypem. Wspomniani autorzy analizowali również wpływ blebistatyny (inhibitor miozyny) na kurczliwość mięśni gładkich pęcherza moczowego u zwierząt z częściową przeskodą podpęcherzową. Okazało się, że blebistatyna powodowała zmniejszenie kurczliwości pęcherza, co pozwala



Nowakowski Ł, et al. Pęcherz nadreaktywny – nowe spojrzenie na etiopatogenezę idiopatycznej postaci tego schorzenia.

przypuszczać, że w przyszłości może ona być nową substancją służącą kontrolowaniu kurczliwości mięśnia wypieracza u chorych z jego nadaktywnością.

Reasumując, należy jeszcze raz przypomnieć, że obecnie wystarczającym warunkiem do wstępnego rozpoznania zespołu pęcherza nadreaktywnego i wdrożenia leczenia jest występowanie parć naglących. Obiektywnie, OAB rozpoznawane jest na podstawie badania urodynamicznego [42].

Niestety badanie cystometryczne nie jest ogólnodostępne, jest krepujące, a dla dzieci może być wręcz traumatyczne. Co więcej, u niektórych pacjentów z zespołem pęcherza nadreaktywnego badanie cystometryczne nie wykazuje nadaktywności wypieracza. Dlatego, dąży się do znalezienia obiektywnych wskaźników OAB, a także do poznania jego uwarunkowań genetycznych. Analiza genetyczna może być pomocna w określaniu osób z ryzykiem wystąpienia tego zaburzenia w przyszłości, a wczesne wprowadzenie odpowiedniego leczenia może zapobiec zaawansowanym zmianom w pęcherzu moczowym.

## Piśmiennictwo

- Abrams P, Cardozo L, Fall M, [et al.]. The standardization of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn.* 2002, 21, 167–178.
- Artibani W. Diagnosis and significance of idiopathic overactive bladder. *Urology.* 1997, 50, Suppl 6, 25–32.
- Abrams P, Wein A. The overactive bladder: from basic science to clinical management consensus conference. Proceedings. London, England, June 29, 1997. *Urology.* 1997, 50, Suppl 6, 1–3.
- Abrams P, Wein A. The overactive bladder and incontinence: definitions and a plea for discussion. *Neurourol Urodyn.* 1999, 18, 413–416.
- Stewart W, Van Rooyen J, Cundiff G, [et al.]. Prevalence and burden of overactive bladder in the United States. *World J Urol.* 2003, 20, 327–336.
- Milsom I, Abrams P, Cardozo L, [et al.]. How widespread are the symptoms of an overactive bladder and how are they managed? A population-based prevalence study. *BJU Intl.* 2001, 87, 760–766.
- Wagner T, Hu T, Bentkover J, [et al.]. Health-related consequences of overactive bladder. *Am J Manag Care.* 2002, 8, 598–607.
- Andersson K. The overactive bladder: pharmacologic basis of drug treatment. *Urology.* 1997, 50, 74–84.
- De Groat W, Booth A, Yoshimura N. Neurophysiology of micturition and its modification in animal model of human disease. In: Nervous control of the urogenital system. Ed. Maggi C. New York: Harwood Academic Publishers. 1993, 227–290.
- De Groat W. A neurologic basis for the overactive bladder. *Urology.* 1997, 50, 36–52.
- Andersson K. Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacol Rev.* 1993, 45, 253–308.
- Nomiya M, Yamaguchi O. A quantitative analysis of mRNA expression of alpha 1 and beta-adrenoceptor subtypes and their functional roles in human normal and obstructed bladders. *J Urol.* 2003, 170, 649–653.
- Gilman A. G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem.* 1987, 56, 615–649.
- Honda K, Nomiya M, Shishido K, [et al.]. Mutation of beta3-adrenoceptor gene: a genetic marker for overactive bladder. *Neurourol Urodyn.* 2006, 25, 652.
- Ferreira C, Fonseca A, Silva I, [et al.]. The relationship between the Trp 64 Arg polymorphism of the beta 3-adrenoceptor gene and idiopathic overactive bladder. *Am J Obstet Gynecol.* 2011, 205, 10–14.
- Corella D, Guillen M, Portoles O, [et al.]. Gender specific association of the Trp64Arg mutation in the beta3-adrenoceptor gene with obesity-related phenotypes in a Mediterranean population: interaction with a common lipoprotein lipase gene variations. *J Intern Med.* 2001, 250, 348–360.
- Andersson K, Yoshida M. Antimuscarinics and the overactive detrusor – which is the main mechanism of action? *Eur Urol.* 2003, 43, 1–5.
- Cardozo L, Lisek M, Millard R, [et al.]. Randomized, double-blind placebo controlled trial of the once daily antimuscarinic agent solifenacin succinate in patients with overactive bladder. *J Urol.* 2004, 172, 1919–1924.
- Caulfield M, Birdsall N. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev.* 1998, 50, 279–290.
- Wróbel A, Adamiak A, Skorupski P, [et al.]. Rho kinase – a new target for pharmacological treatment of an overactive bladder. *Ginekol Pol.* 2008, 79, 364–369.
- Matsui M, Motomura D, Fujikawa T, [et al.]. Mice lacking M2 and M3 muscarinic acetylcholine receptors are devoid of cholinergic smooth muscle contractions but still viable. *J Neurosci.* 2002, 22, 10627–10632.
- Ehler F, Griffin T, Abe D, [et al.]. The M2 muscarinic receptor mediates contraction through indirect mechanisms in mouse urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005, 313, 368–378.
- Sui G, Rothery S, Dupont E, [et al.]. Gap junctions and connexin expression in human suburothelial interstitial cells. *BJU Int.* 2002, 90, 118–129.
- Kanai A, Roppolo J, Ikeda Y, [et al.]. Origin of spontaneous activity in neonatal and adult rat bladders and its enhancement by stretch and muscarinic agonists. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007, 292, 1065–1072.
- Christ G, Day N, Day M [et al.]. Increased connexin43- mediated intercellular communication in a rat model of bladder overactivity in vivo. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003, 284, 1241–1248.
- Miyazato M, Sugaya K, Nishijima S, [et al.]. A gap junction blocker inhibits isolated whole bladder activity in normal rats and rats with partial bladder outlet obstruction. *Biomed Res.* 2006, 27, 203–209.
- Bagli D, Van Savage J, Khoury A, [et al.]. Basic fibroblast growth factor in the urine of children with voiding pathology. *J Urol.* 1997, 158, 1123–1127.
- O'Brien T, Smith K, Cranston D, [et al.]. Urinary basic fibroblast growth factor in patients with bladder cancer and benign prostatic hypertrophy. *Br J Urol.* 1995, 76, 311–314.
- Oyama M, Oyama Y, Takamatsu T. Regulation of connexin expression. *Biochim Biophys Acta.* 2005, 1719, 6–23.
- Negoro H, Kanematsu A, Imamura M, [et al.]. Regulation of connexin 43 by basic fibroblast growth factor in the bladder: transcriptional and behavioral implications. *J Urol.* 2011, 185, 2398–2404.
- Erickson D, Xie S, Bhavanandan V, [et al.]. A comparison of multiple urine markers for interstitial cystitis. *J Urol.* 2002, 167, 2461–2469.
- Bouchelouche K, Alvarez S, Horn T, [et al.]. Human detrusor smooth muscle cells release interleukin-6, interleukin-8, and RANTES in response to proinflammatory cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha. *Urology.* 2006, 67, 214–219.
- Ahiwari D, Kesarwani P, Manchanda P, [et al.]. Anti and proinflammatory cytokine gene polymorphism and genetic predisposition: association with smoking, tumor stage and grade, and bacillus Calmette-Guerin immunotherapy in bladder cancer. *Cancer Genet Cytogenet.* 2008, 184, 1–8.
- Neuhaus J, Heinrich M, Schwalenberg T, [et al.]. TGF-beta1 inhibits Cx43 expression and formation of functional syncytia in cultured smooth muscle cells from human detrusor. *Eur Urol.* 2009, 55, 491–497.
- Heinrich M, Oberbach A, Schlichting N, [et al.]. Cytokine effects on gap junction communication and connexin expression in human bladder smooth muscle cells and suburothelial myofibroblasts. *PLoS ONE.* 2011, 6, 20792.
- Adelstein R, Eisenberg E. Regulation and kinetics of the actin-myosin- ATP interaction. *Annu Rev Biochem.* 1980, 49, 921–956.
- Hypolite J, DiSanto M, Zheng Y, [et al.]. Regional variation in myosin isoforms and phosphorylation at the resting tone in urinary bladder smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001, 280, C254–C264.
- Kelley C, Takahashi M, Yu JH, [et al.]. An insert of seven amino acids confers functional differences between smooth muscle myosins from the intestines and vasculature. *J Biol Chem.* 1993, 268, 12848–854.
- DiSanto M, Wang Z, Menon C, [et al.]. Expression of myosin isoforms in smooth muscle cells in the corpus cavernosum penis. *Am J Physiol.* 1998, 275, C976–C987.
- Malmqvist U, Amer A. Correlation between isoform composition of the 17 kDa myosin light chain and maximal shortening velocity in smooth muscle. *Pflugers Arch.* 1991, 418, 523–530.
- Zhang X, Seftel A, DiSanto M. Blebbistatin a myosin II inhibitor, as a novel strategy to regulate detrusor contractility in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *PLoS One.* 2011, 6, 25958.
- Nowara A, Witek A, Wilk K. Diagnostic and treatment of overactive bladder. *Ginekol Pol.* 2007, 78, 549–553.