

AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

17 β ÖSTRADIOL UYGULANMIŞ OVERİOKTOMİZE
SIÇANLARDA İNCE BAĞIRSAK KASILIMLARI ÜZERİNE
NİTRİK OKSİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Uz. Hemşire Sevcan SEVİMLİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL

Bu tez Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
08.VF.03 Proje numarası ile desteklenmiştir

Tez No: 2010-001

2010-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

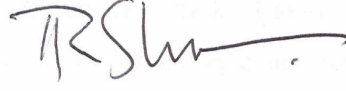
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Fakültesi Fizyoloji Doktora Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

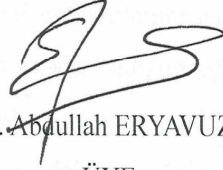
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunması Tarihi: 01/02/2010



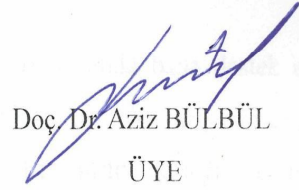
Prof. Dr. Recep ASLAN

ÜYE



Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

ÜYE



Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL

ÜYE



Doç. Dr. Korhan ALTUNTAŞ

ÜYE



Yrd. Doç. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU

ÜYE

Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Sevcan SEVİMLİ' nin " *17β Östradiol Uygulanmış Overiektomize Sığırcılarda İnce Bağırsak Kasılımları Üzerine Nitrik Oksitinin Etkisinin Belirlenmesi* " başlıklı tezi 17.02/2010 günü saat.09:30 da Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Zehra BOZKURT

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tez Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 08. VF. 03 proje numarası ile desteklenmiş olup Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu' nun AKÜHEK-44-08 referans no ve 203 sayılı izni ile yapılmıştır.

Doktora eğitimim ve tezimin hazırlanması süresince danışmanlığımı yapan, bilgi ve deneyimleriyle gelişimime büyük katkısı olan değerli hocam Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL'e; yine doktora eğitimim boyuncaengin bilgi ve birikimlerinden yararlandığım ve bana her konuda yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Recep ASLAN ve Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ' a yardımlarından dolayı sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Bugüne kadar aldığım eğitim sürecinin her aşamasında bana destek olan, özelliklede oğlum dünyaya geldikten sonraki dönemde bizim için vazgeçilmez olan sevgili aileme; doktora eğitimim boyunca bana her türlü desteği veren ve her an yanımda olan değerli eşime ve varlığıyla bana destek olan küçük oğlum Yusuf Kerem' e sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL ONAY	II
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKLER	IV
KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
GRAFİKLER DİZİNİ	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Mide Bağırsak Sistemi	1
1.2. İnce Bağırsak Motilitesi	1
1.2.1. Sarkaç Hareketleri (Pendüler Hareketler)	2
1.2.2. Karıştırıcı Hareketler (Segmenter Kasılmalar)	2
1.2.3. İlerletici Hareketler (Peristaltik Hareketler)	3
1.3. İnce Bağırsak Düz Kaslarının Elektrofizyolojisi	5
1.3.1. Yavaş Dalgalar-Temel Elektriksel Ritim	5
1.3.2. Dikensi Potansiyeller	6
1.4. İnce Barsağın Sinirsel Uyarımı	8
1.4.1. İntrinsik Sistem (İntramural Ağ)	8
1.4.2. Ekstrinsik Sistem (Otonom Kontrol)	10
1.5. Kimyasal Bir Aracı Olarak Nitrik Oksit	11
1.5.1. Nitrik Oksitin Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkileri	13
1.5.2. Nitrik Oksitin Düz Kaslarda Oluşturduğu Gevşemenin Mekanizması	15
1.6. İkincil Haberci Olarak cGMP-bağımlı Protein Kinaz	17
1.7. 17β Östradiolün Bağırsak Motilitesi ve Nitrik Oksit Üzerine Etkileri	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1. Gereç	22
2.1.1. Hayvan Materyali	22
2.1.2. Araştırmada Kullanılan Aletler	23

2.1.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
2.2. Yöntem	24
2.2.1. Duedonum, Jejenum ve İleumda İzometrik Kasılımların Belirlenmesi	24
2.3. İstatistiksel Analiz	25
3. BULGULAR	26
3.1. Duedonem, jejenum ve ileumda spontan kasılımlar	26
3.2. Duedonumda Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP uygulamalarının etkileri	26
3.3. Jejenumda Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP uygulamalarının etkileri	29
3.4. İleumda Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP uygulamalarının etkileri	31
4. TARTIŞMA	34
5. SONUÇ	40
KAYNAKLAR DİZİNİ	41

KISALTMALAR DİZİNİ

ANF	Atrial natriüretik faktör
ATP	Adenozin trifosfa
cGC	Çözünebilir guanilil siklaz
cGMP	Siklik guanizin monofosfat
cNOS	Yapısal nitrik oksit sentaz
EFS	Elektriksel alan uyarımı
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
FAD	Flavin adenin dinükleotit
GTP	Guanizin trifosfat
IBS	İnflamatuvar bağırsak sendromu
IJP	İnhibitör kavşak potansiyeli
iNOS	Uyarılabilir nitrik oksit sentaz
L-NAME	N-nitro-L-Arjinin metil ester
L-NMMA	N-monometil-L-Arjinin
L-NNA	N-nitro-L-Arjinin
MML	İlerleyici miyoelektrik kompleks
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NANK	Adrenerjik ve kolinerjik olmayan
NH₂OH	Hidroksilamin
NO	Nitrik oksit
NO₂	Nitrit
NO₃	Nitrat
nNOS	Nöronal NOS
O₂	Süperoksit
PMN	Flavin adenin mononükleotit
PKG	cGMP-bağımlı protein kinaz
PKG-I	cGMP-bağımlı protein kinaz I
PKG-II	cGMP-bağımlı protein kinaz II
SNP	Sodyum nitroprussid

SOD

Süperoksid Dismütaz

VIP

Vazoaktif intestinal peptit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. İnce Bağırsakta Görülen Segmentasyon Hareketleri	3
Şekil 1.2. İnce Bağırsakta Besinin Oral Taraftan Kaudale İlerletilmesi	4
Şekil 1.3. Sindirim Sisteminde Görülen Yavaş Dalgalar	6
Şekil 1.4. Sindirim Sisteminde Görülen Dikensi Potansiyeller	7
Şekil 1.5. Bağırsakların İntrensik Sistemle Kontrolü	9
Şekil 1.6. Mide Bağırsak Düz Kas Hücrelerinde Nitrik Oksitin Gevşetici Etkisi	16

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1: Araştırmada kullanılan deneysel gruplar	22
Çizelge 2.2: Yöntem içerisinde dokulara uygulanan deney protokolü	24
Çizelge 3.1: Gruplarda duodenum, jejenum ve ileumda spontan kasılımlar	26
Çizelge 3.2: Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamalarının duodenum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon	27
Çizelge 3.3: Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamalarının jejenum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon	29
Çizelge 3.4: Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamasının ileum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon	31

GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 3.1: Deodenumda Arginin 10^{-5} ve EFS + Arginin 10^{-5} uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon	27
Grafik 3.2: Deodenumda SNP 10^{-3} ve EFS + SNP 10^{-3} uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon	28
Grafik 3.3: Deodenumda 8-Br-cGMP 10^{-6} ve EFS + 8-Br-cGMP 10^{-6} uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon	28
Grafik 3.4: Jejunumda Arginin 10^{-5} ve EFS + Arginin 10^{-5} uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon	29
Grafik 3.5: Jejunumda SNP 10^{-3} ve EFS + SNP 10^{-3} uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon	30
Grafik 3.6: Jejunumda 8-Br-cGMP 10^{-6} ve EFS + 8-Br-cGMP 10^{-6} uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon	31
Grafik 3.7: İleumda Arginin (10^{-5}) ve EFS + Arginin (10^{-5}) uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon	32
Grafik 3.8: İleumda SNP (10^{-3}) ve EFS + SNP (10^{-3}) uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon	32
Grafik 3.9: İleumda 8-Br-cGMP (10^{-6}) ve EFS + 8-Br-cGMP (10^{-6}) uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon	33

ÖZET

Bu çalışmada ovaryumları çıkarılmış sıçanlarda 17β östradiolün ince bağırsak kasılımları üzerine etkisi ile bu etkinin ortaya çıkmasında nitrik oksit rolü incelenmiştir. Bu amaçla çalışmada 3-6 aylık ve ortalama 270 ± 20 gr ağırlığında, 24 Sprague Dawley dişi sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar her grupta 6 sıçan bulunacak şekilde, kontrol (Ov) ve 3 deneme gurubuna (östrojen) ayrılmıştır. Çalışmada kontrol grubuna günlük olarak kas içi susam yağı enjeksiyonları yapılmış (0,2 ml), birinci deneme grubundaki sıçanlara günlük $25 \mu\text{g}$ 17β östradiol, ikinci deneme gurubundaki sıçanlara günlük $50 \mu\text{g}$ 17β östradiol ve üçüncü deneme gurubundaki sıçanlara günlük $100 \mu\text{g}$ 17β östradiol kas içi uygulanmıştır. Üç uygulamadan sonra hayvanlara genel anestezi altında ötenazi yapılmıştır.

Ötenaziyi takiben çıkarılan ince bağırsak, duodenum, jejunum ve ileum olarak ayrılmış ve izometrik düz kas hareketleri “force transducer” ve “acquisition system” yardımı ile bilgisayarda görüntülenerek kaydedilmiştir. Endojen nitrik oksit etkinliğinin belirlenmesi amacıyla L-Arginin, eksojen nitrik oksit yolunun değerlendirilmesi amacıyla SNP ve cGMP' nin etkinliğini belirlenmesi amacıyla 8-Br-cGMP uygulaması yapılmıştır.

Östrojenin duodenum ve ileumda spontan kasılımların şiddetini azaltırken jejunumda etkili olmadığı; L-Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP uygulamalarının ise ince bağırsakta spontan kasılımların şiddetini azalttığı belirlenmiştir. Aynı zamanda östrojenin doza bağımlı olarak L-Arginin ve 8-Br-cGMP' nin bu gevşetici etkisini azalttığı, SNP' nin gevşetici etkisini ise artırdığı görülmüştür. Sonuç olarak 17β östradiolün duodenum ve ileumda spontan kasılımların şiddetini doza bağımlı olarak azaltırken ince bağırsak motilitesi üzerine olan bu etkisinde nitrik oksit ve ikincil habercilerden cGMP' nin aracılık etmediği belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: 17β -östrodiol, ince bağırsak, cGMP, nitrik oksit, sıçan.

SUMMARY

In this study, it was investigated the effects of different doses of 17β -estradiol on small intestinal contractility in 3-6 months old, 24 Sprague Dawley ovariectomized rats, weighting 270 ± 20 gr. Animals were apportioned into one control (Ov) and three experimental groups (estrogen) ($n=6$ each). The control group received 0,2 sesame oil once daily for three days, whereas rats in the first, second and third experimental groups were treated with intra muscular 25, 50 and 100 μg 17β -estradiol, respectively.

The rats were killed under general anesthesia, 18 hours after the termination of last treatment. Then, small intestine of the animals were cut into duodenum, jejunum and ileum. Organ bath was used to evaluate isometric smooth muscle contractility. In order to determine endogenous and exogenous nitric oxide activity and to evaluate the efficiency of cyclic guanosine monophosphate (cGMP), L-Arginine, sodium nitro prusside (SNP) and 8-Br-cGMP were used, respectively.

It was determined that estrogen decreased the tension of spontaneous contractility of duodenum and ileum but not in jejunum. However, L-arginine, SNP and 8-Br-cGMP were decreased the tension of spontaneous contractility of small intestine. On the other hand, it was observed that estrogen decreased the relaxing activity of L-Arginine and 8-Br-cGMP, dose dependently but increased the activity of SNP.

In conclusion, it was determined that 17β -estradiol decreased the tension of spontaneous contractility in duodenum and ileum, dose dependently and nitric oxide and cGMP did not mediate this activity.

Key Words: 17β -estrodinol, small intestine, cGMP, Nitric oxide, Rat.

1. GİRİŞ

1.1. Mide Bağırsak Sistemi

Mide bağırsak sistemi vücuda sürekli olarak su, elektrolit ve besin sağlamakla görevlidir. Bu işlevin devamı için besinlerin mide bağırsak sistemi içerisinde hareketinin sağlanması, sindirim enzimlerinin salınması ve besinlerin sindirilmesi, sindirilen besinlerin, suyun ve elektrolitlerin emilmesi, emilen besinlerin kan yoluyla vücuda dağıtılması gerekmektedir (1,2,3,4).

Mide bağırsak sisteminde dört ana olay gözlemlenir;

- 1) Sindirim; büyük organik moleküllerin küçük moleküllere dönüştürülmesi,
- 2) Salgılama; ekzokrin bezlerden salgılanan sıvıların belli noktalarda sisteme girmesi,
- 3) Emilim; sindirilmiş besinler ve maddelerin ince bağırsak duvarını geçip kana karışması,
- 4) Motilite ve eliminasyon; besinlerin yapısına ve miktarına bağlı olarak sistem içerisinde hareketi ve sindirilemeyen atıkların sistemin sonuna doğru iletilmesidir (3,5-7).

Organizmaya gerekli olmayan yada zararlı maddelerin alınmaması, eğer alınmışsa dışarı atılmaları da sindirim sisteminin görevidir. Bu açıdan iç ortamın değişmez tutulmasında organizmayı koruyucu bir etkinliğe sahiptir. Bu yönüyle iç ve dış ortam arasında güvenilir bir sınır oluşturur (3,8).

1.2. İnce Bağırsak Motilitesi

Sindirim sistemi oldukça kaslı bir yapıya sahiptir. Bağırsaklardaki sindirim olaylarının fiziksel etmenlerini oluşturan bağırsak hareketleri bağırsak yapısında bulunan longitudinal (uzunlamasına) ve sirküler (dairesel) düz kaslar ile oluşturulmaktadır (1,9). Bu hareketler ile kimus bağırsak lümenindeki salgularla iyice karıştırılarak maksimal enzimsel etkinlik sağlanmış olur. Sindirilmiş ürünlerin emilim için bağırsak mukozasıyla özellikle de epitel hücrelerin fırça kenarları ile teması gerçekleştirilir. Atık ve sindirilemeyen maddeler anüs yoluyla dışarı atılır. Bu hareketler aynı zamanda bağırsak çeperinde bulunan kan ve lenf akımına da yardımcı olmaktadır (3,5,6,8).

İnce bağırsakta başlıca; pendüler, segmenter, villus, peristaltik ve antiperistaltik hareketler görülmekle beraber bunların işlevsel yönden en önemlileri pendüler, segmenter ve peristaltik hareketlerdir (1,3,9).

1.2.1. Sarkaç Hareketleri (Pendüler Hareketler)

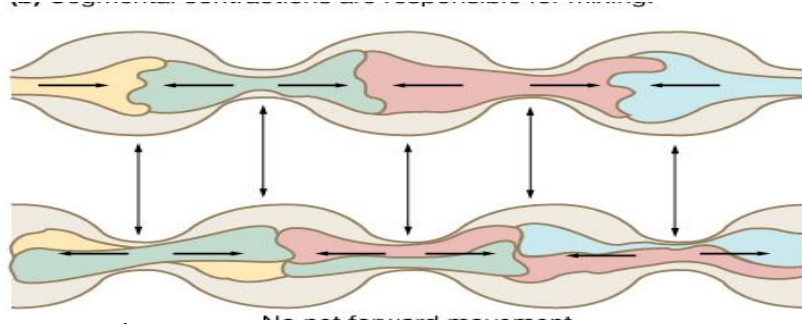
Sarkaç hareketleri, bağırsak halkalarının sallanması, uzayıp kısılması biçiminde olup temelde karıştırıcı hareketlere benzemektedir. bağırsak duvarındaki sirküler kasların kasılımı sırasında longitudinal kaslarda kısılabilmektedir. Bu kısılma bağırsak duvarının her yanında aynı güçte oluşmamakta ve böylece bağırsakta sallanmalar gözlenmektedir (1,3). Dakikada 10 ile 12 arasında oluşan sarkaç hareketleri çok kuvvetli oluştuklarında ilerletici hareketlerin kaynağı olabilmektedirler (3).

1.2.2. Karıştırıcı Hareketler (Segmenter Kasılmalar)

Karıştırıcı hareketler tamamen intrinsik sinirlerle başlatılan ikinci bir reflekstir. Bu hareketler, segment üzerinde farklı bölgelerde ve aralıklı olarak oluşan sirküler kas kasılmaları tarafından meydana getirilir. Bu kasılmalar, içeriğin tek bir yöne itilmesinden ziyade, ileri geri karıştırma işlemlerini yaparlar (8).

İnce barsağın bir bölümü, kimusun etkisiyle genişlediği zaman bağırsak çeperinin gerilmesi yerel ve yoğun boğumlanma hareketleri oluşturur. Her kasılmanın boyu 1 santimetre kadardır. Böylece her kasılım seti ince bağırsakta boğumlanmaya neden olur. İnce barsağın böyle boğumlara ayrılması ince barsağa bir sosis zinciri görünümü vermektedir (5) (Şekil 1.1).

Bu hareketlerin güç ve dakika sayısı besin alma durumuna ve ince barsağın bölümüne göre değişir (3) ve bağırsak çeperindeki yavaş dalgaların sıklığı ile belirlenir (5,8). Bu dalgaların sıklığı duodenumda dakikada 12 olduğundan boğumlanma hareketlerinin maksimum sıklığıda dakikada 12 kadardır. Halbuki ileumda maksimum kasılım sıklığı dakikada 8 veya 9 kadardır (5). Besin alımından sonra güçlü olan boğumlanma hareketlerinin dakikadaki sayısı, ince barsağın sonuna gidildikçe azalır. Motorik etkinlik gücünün ince bağırsak boyunca azalması, bağırsak hareketlerinin emilim ve içeriği ileriye gönderme sorumluluğunun ince barsağın başlangıcında en fazla olmasına bağlanabilir (3).



Şekil 1.1. İnce Bağırsakta Görülen Segmentasyon Hareketleri (3)

Bu hareketlerin başlıca amacı, besin maddelerini yoğurmak, sindirim salgılarıyla karıştırmak ve sindirilebilenlerin emilimi için bağırsak mukozası ile temas ettirebilmektir (1,3,6,9). Karıştırıcı hareketler ancak birkaç saniye sürmekle birlikte, anal yöne doğru yol aldıkları için besinlerin ince bağırsakta aşağıya doğru itilmesine yardımcı olurlar (5).

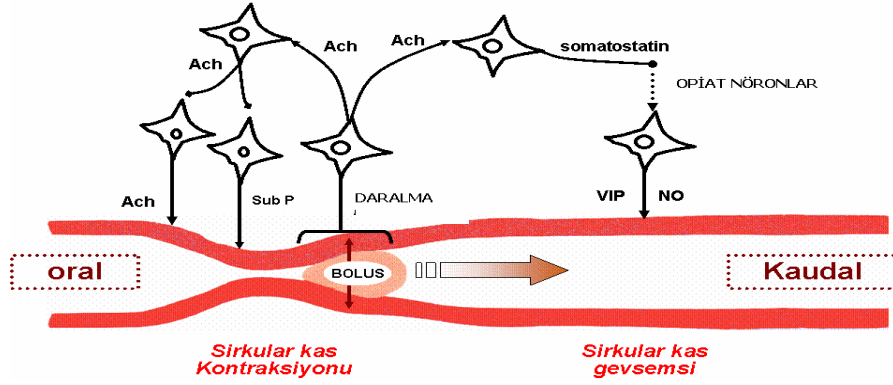
Nervus vagusun uyarılması bu hareketleri artırmakta (parasempatik uyarım), nervus splanchnicus' un uyarılması ise azaltabilmektedir (sempatik uyarım). Bu hareketler ile bağırsak duvarında kan ve lenf akımının arttığı da gözlenmektedir (3).

1.2.3. İlerletici Hareketler (Peristaltik hareketler)

Bu hareketler bağırsak boyunca görülen, anal yönde ilerleyen ve hem longitudinal hem de sirküler kasların beraber ve ritmik olarak kasılmasıyla oluşan solcanvari hareketlerdir. Sindirilmek üzere mide bağırsak sistemine alınan besinler bu sistem boyunca iletilmek zorundadır ve ilerletici hareketler bağırsak içeriğinin anal yöne doğru iletilmesi için önemlidir. (3,8,9).

İçeriğin sindirim kanalında ilerlemesi temel fiziksel yasalarla ayarlanır. Lümen içerisinde oluşturulan basınç farkları sayesinde maddeler oral taraftan anal yöne doğru ilerlemektedir. Halka şeklinde bir kas kasılması kimusun oral tarafında oluşur ve anüse doğru ilerler (Şekil 1.2). Bu hareket sırasında kimus ileri doğru itilir. Halka ilerledikçe ön tarafta bulunan kas tabakası gevşer ve kimusun kolayca ilerlemesine yardım eder. Böylece başlayan bir kasılma dalgasının besini, basınç farkını değerlendirerek kaudaldeki gevşemiş alana itmesi sağlanır ki bu olay “bağırsak yasası” olarak adlandırılır. Bu bölgesel olaya miyenterik refleks de denir (3,8).

İlerletici hareket temel olarak mukozal reseptörleri, düz kasları ve intrinsik sinir ağlarını kapsayan yerel bir reflektir. İlerletici hareket barsağın herhangi bir bölgesinde bağırsak duvarının gerilmesiyle başlayabilir. Bağırsak duvarı normalde miyenterik ağdan alınan sürekli uyarılarla tam olmayan bir tetanik kasılma halindedir. Bu sayede bağırsak, lümen içerisinde bir basınç artışı olmadan genişleyebilmekte ve besin kitlesinin ne önünde ne de arkasında pasif boşluk oluşmasına izin vermemektedir. Bağırsak duvarındaki bu gerilim bağırsak hareketlerinin başlatılması için etkili uyarımlar oluşmasını sağlar ve maddelerin rastgele bağırsak içerisinde birikmesini engeller (3).



Şekil 1.2. İnce Bağırsakta Besinin Oral Taraftan Kaudale İlerletilmesi (5)

İlerletici dalganın bir yerden geçişinden sonra barsağın bu bölümü 10 ile 25 saniye aralığında kasılı kalabilir. Bu süre içerisinde besin kitlesi sürekli yol alır. Köpeklerde 15 santimetre uzunluğundaki bir ince bağırsak bölümünde 6 ile 12 dalga oluşabilmekte, dalga hızı dakikada 1,5 santimetre kadar olmakta ve besin çok yavaş ilerlemektedir (3).

Peristaltik dalgaların fonksiyonu sadece kimusun ileosekal kapakçığa doğru itilmesi değil, aynı zamanda kimusun bağırsak mukozasında yayılmasını sağlamaktır. Kimus mideden ince barsağa gittikçe, barsağın proksimal bölümü gerilerek peristaltik dalgaları derhal başlatır. Bu dalgalarda kimusun bağırsak mukozasında yayılmasını sağlayarak, daha fazla kimusun bağırsak lümenine geçmesini kolaylaştırır. İleosekal kapakçığa geldikten sonra kimusun geçişi bazen burada saatlerce engellenir. Ancak canlı yeni bir gıda aldığı zaman yeni gastroileal refleksi ileum peristaltizminin şiddetlenmesi sonucunda kimus ileosekal kapakçıktan sekuma geçer (5,9).

1.3. İnce Bağırsak Düz Kaslarının Elektrofizyolojisi

Barsağın motor fonksiyonları çeşitli düz kas lifleriyle yürütülür. Mide bağırsak sistemi düz kas lifleri, her biri 200 ile 500 mikron boyunda ve 2 ile 10 mikron çapında olan yüzlerce paralel lifin oluşturduğu demetlerden ibarettir. Longitudinal kas tabakasında bu demetler, bağırsak kanalı boyunca aşağı doğru longitudinal olarak uzanırlar. Kas lifi demetleri arasında bulunan çok sayıda sıkı bağlantılar, iyonların hücreden hücreye geçişinde düşük direnç bölgelerini oluşturan elektriksel bağlantı yerleridir. Bu nedenle elektriksel sinyaller bir liften ötekine kolayca iletilir. Mide bağırsak sistemi aksiyon potansiyelinin tek tek lifler değil, kas lifi demetleri arasında iletisi yeterli elektriksel akımı sağlayarak bir aksiyon potansiyeli doğurabilir. Bu potansiyelin doğması için en az 200 ile 300 kas lifinin paralel olarak çalışması gerekir (5,10).

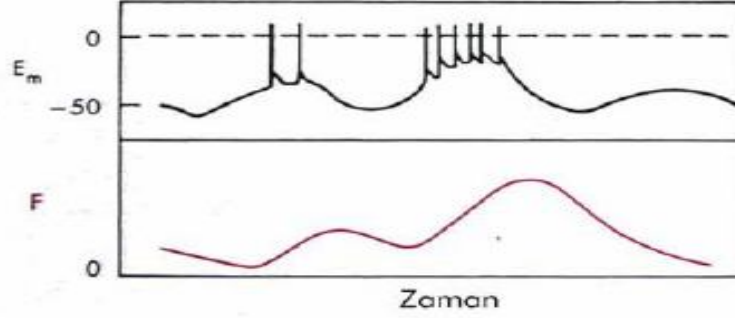
Düz kas lifi demetleri gevşek bağ dokusu ile birbirinden ayrılmaktadır. Fakat demetler birçok noktada birbiriyle kaynaştığı için, her kas tabakası düz kas liflerinden bir ağ yapar. Böylece her kas tabakası bir sinsisyum gibi çalışır. Yani kas kitlesinin herhangi bir yerinde, bir elektriksel uyarı doğduğu zaman, genel olarak kas içinde her yönde yayılmaktadır. Bununla beraber, elektriksel uyarıların varabildiği uzaklık kasın uyarılabilirliğine bağlıdır. Bazen bu mesafe ancak birkaç milimetre olduğu halde, bazen uyarılar santimetrelerce, hatta bağırsak kanalının tüm uzunluğunca yayılır. Aynı zamanda, longitudinal kaslar ile sirküler kaslar arasında da bazı bağlantılar bulunmaktadır. Bu sayede bir tabakada meydana gelen bir uyarı öteki tabakada da uyarı oluşturabilmektedir (5).

Mide bağırsak sistemi düz kaslarında sürekli bir elektriksel etkinlik vardır. Düz kas hücrelerinin membranlarında yavaş dalga depolarizasyonları (temel elektriksel ritim) ve dikensi potansiyeller olmak üzere iki temel elektriksel etkinlik oluşur (5,6).

1.3.1. Yavaş Dalgalar - Temel Elektriksel Ritim

Sindirim sistemindeki kasılmaların çoğu ritmik olarak ortaya çıkar. Bu olay düz kas membran potansiyelinde gelişen yavaş dalgaların sıklığı ile belirlenir ve düzenli olarak ortaya çıkar. Yavaş dalgalar, membran dinlenme potansiyellerinin dalga akımlarıdır. Bu hücreler elektriksel olarak bağlandıklarından bu dalgalanan

elektriksel potansiyeller bitişik kas bölümlerine yayılır ve yavaş dalgaları oluşturur. Bu tam olmayan düz kasların depolarizasyonları sindirim sistemi boyunca uzun mesafelere yayılırlar. Bu kısmi depolarizasyon 5 ile 15 mV'luk membran potansiyeline eşittir (2,10) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Sindirim Sisteminde Görülen Yavaş Dalgalar (2)

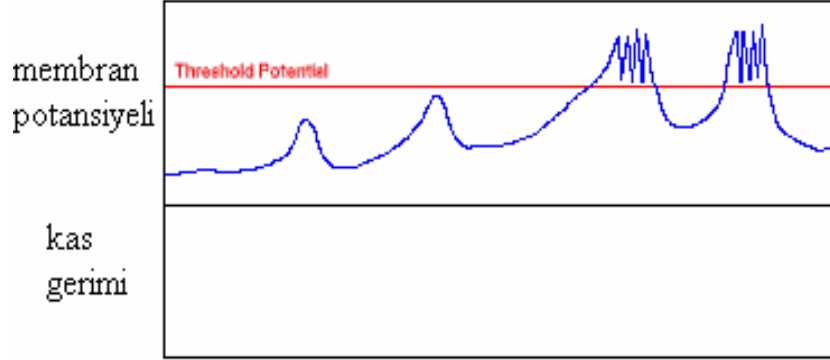
Yavaş dalgaların sıklığı sindirim sisteminde bulunduğu bölgeye göre farklılık gösterir. Bu sıklık ince bağırsakta dakikada 10 ile 20, kalın bağırsak ve midede ise 3 ile 8 arasındadır. Yavaş dalga oluşumu düz kasların intrinsik mekanizması ile meydana gelir ve sinir uyarımına bağlı değildir (5,6). Yavaş dalgalar aksiyon potansiyeli olmayıp, kendi başlarına kasılma oluşturmazlar. Bunun yerine dikensi potansiyellerin oluşumunu eşzamanlı ve eşgüdümlü olarak düzenlerler. Yavaş dalgaların nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte Na^+ - K^+ pompasındaki etkinliğin yavaş dalgalanmalarından kaynaklandığı sanılmaktadır (5).

1.3.2. Dikensi Potansiyeller

Dikensi potansiyeller kasılma oluşturan gerçek aksiyon potansiyelleridir. Gastrointestinal düz kasların membran dinlenme potansiyelleri yaklaşık -50 ile -60 milivolt (mV) arasındadır. Membran dinlenme potansiyeli -40 mV olduğu zaman otomatik olarak dikensi potansiyeller oluşur (5).

Büyük bir parça mide içeriği ince barsağa geçiş yaptığında kimus bağırsakları genişleterek bağırsak duvarlarını gerer. Bu gerilme bağırsak duvarında bulunan sinirleri uyararak kimyasal aracı salınımı sonucu genişlemeye neden olur. Düz kasın bu bölgesi daha depolarize hale gelir. Yavaş dalgalar bu uyarılmış düz kas bölgesinden geçerken dikensi potansiyel oluşumuna ve kasılma neden olur (6) (Şekil 1.4).

Bağırsak kaslarında dikensi potansiyeller birkaç milimetreden uzağa gidemezler. Bunun yerine kas hücreleri elektriksel olarak gap junction denilen aralıklı birleşme yerleri ile bağlantılı olduğundan yavaş dalga potansiyelleri bağırsak boyunca yayılacaktır. Bağırsak kanalının farklı bölümlerinde dikensi potansiyeller yavaş dalgaların tepesinde oluşur. Bu sebepten dolayı temel elektriksel ritmi, dikensi potansiyeller değil yavaş dalgalar belirler (2,6,9).



Şekil 1.4. Sindirim Sisteminde Görülen Dikensi Potansiyeller (2)

Sinir liflerinde aksiyon potansiyellerini oluşturan mekanizma Na iyonlarının hızlı bir şekilde Na^+ kanallarını kullanarak liflerin içerisine girmesi ile tetiklenir. Mide bağırsak sisteminin düz kaslarında ise aksiyon potansiyelini oluşturan kanallar daha farklıdır. Çok miktarda Ca iyonunun az miktarda Na iyonu ile birlikte girişini sağladıklarından bu kanallara kalsiyum-sodyum kanalları adı verilmektedir. Kalsiyum-sodyum kanalları Na^+ kanallarına göre çok daha yavaş açılır ve daha yavaş kapanırlar. Bu durumda mide bağırsak sistem kasında oluşan aksiyon potansiyellerinin daha uzun sürmesine sebep olur. Mide bağırsak sistemi kaslarında dikensi potansiyeller sinir liflerinde 10 ile 20 milisaniye kadar süren aksiyon potansiyellerinin 10 ile 40 katı kadar sürer (5).

Kas hücresine giren Ca iyonları da kasların kasılmasını sağlar. Kalsiyum iyonları düz kas liflerinde miyozin iplikçiklerini etkinleştirerek bu iplikçiklerle aktin iplikçikleri arasındaki çekme gücünü harekete geçirip kas kasılmasına yol açar. Yavaş dalgalar Ca iyonlarının kas lifine girmesini sağlayamaz, sadece Na iyonlarının içeri girmesine neden olur. Bu nedenle yavaş dalgalar tek başına kasta kasılma yapmaz. Ancak yavaş dalgaların tepesinde sivri potansiyellerin oluşumu sırasında çok miktarda Ca iyonu lif içine geçerek kasılmaya neden olur (5,10).

Mide bağırsak sisteminde hücre membranını depolarize ederek daha kolay uyarılabilir yapan bazı faktörler bulunur. Bunlar kas bölgesinin gerilmesi, asetilkolin salınımı, parasempatik sinirlerle uyarılma ve mide bağırsak sisteminin yerel hormonlarıyla uyarılma olarak sıralanabilir. Çeşitli yerel uyarılar neticesinde kimyasal araçlar salgılanırlar ve kasların duyarlılığını artırarak dinlenme membran potansiyelini daha pozitif hale getirirler (6). Düz kas membranlarında epinefrin ve norepinefrin etkisi ile sempatik sinirlerin uyarılması ise kas liflerinin daha uyarılabilir hale getirilmesini engellemektedir (5,6).

1.4. İnce Bağırsağın Sinirsel Uyarımı

Mide bağırsak sistemi kendi kendini kontrol eden organlardan kuruludur. Besin yutulduktan sonra dışkılama işlemine kadar gelişen olaylar istemsiz olarak oluşur. Bunun meydana gelebilmesi için motor, salgı, sindirim ve emilim olaylarının eşgüdüm içinde çalışması şarttır (6).

Özellikle mide bağırsak kanalı ve çevresi olmak üzere, bazı organlarda merkezi ve çevresel sinir sisteminin yanında bunlardan bağımsız olarak iş gören bir sistem daha mevcuttur. Otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik bölümleri ile intramural sinir sisteminin miyenterik ve submukozal ağlarından oluşan bu sistem enterik sinir sistemi adını almaktadır (4,8,11,12).

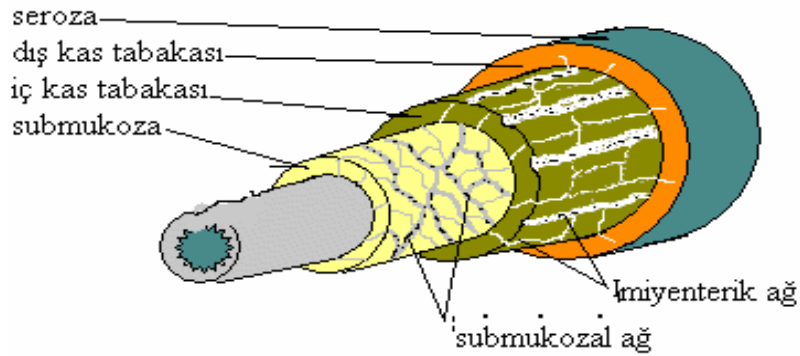
Sindirim sistemi kanalı, yemek borusundan başlayıp, anüse kadar devam eden kendi intrinsik sinir sistemine sahiptir ki buna intramural sinir sistemi denir. Bu sistem, sindirim sisteminde hareket ve salgı başta olmak üzere fonksiyonların çoğunu düzenler. Öte yandan beyinden sindirim sistemi kanalına gelen hem parasempatik hem de sempatik sinyaller intramural sinir sistemin etkinleşmesinde görev almaktadır (3,5). Buna göre bağırsaklarda intrinsik (içi) ve ekstrinsik (dışı) olarak iki sinirsel sistemden söz edilir (3).

1.4.1. İntrensik Sistem (İntramural Ağ)

İntrensik sistem bütünüyle mide bağırsak sisteminin duvarı içerisinde yerleşmiş olup sindirim sistemi segmentleri içindeki bölgesel kontrolden sorumludur (5,12,13). İntrensik sistem iki ana kısımdan oluşur.

Miyenterik ağ (Auerbach's Pleksusu) kas tabakasının longitudinal ve sirküler kasları arasında yer alan uzunlamasına ağdır ve sindirim sistemi boyunca mevcuttur (Şekil 1.5). Daha çok longitudinal kas katmanlarıyla ilgilenir (3-5,8) (Şekil 1.5). Nitekim longitudinal ve sirküler kas katmanları birbirinden ayrılacak olursa, longitudinal katmanın düzenli biçimde kasılmalarını sürdürdüğü, sirküler tabakanın ise kasılım yapmadığı görülür. Miyenterik ağ bu özelliğiyle pendüler ve peristaltik hareketlerden sorumludur (3). Myenterik ağın uyarılmasıyla barsağın motor etkinliğinde artış görülür (3-5).

Submukozal ağ (Meissner's Pleksusu), adından da anlaşılacağı gibi submukoza tabakası içerisine gömülüdür (3,5,6,14) (Şekil 1.5). Submukozal ağ sirküler kasların kasılımı ile ilgilenir. Bu bakımdan ritmik segmentasyon hareketlerinden sorumludur (3). Mide bağırsak sisteminin iç duvarının kontrolünden, yerel emilim, salgılama ve kasılmalardan sorumludur. En önemli görevi bağırsak lümeni içerisindeki ortamı hissederek sindirim sisteminin kan akımını ve epitel hücre fonksiyonlarını kontrol etmektir (3,5,6,14).



Şekil 1.5. Bağırsakların İntrinsik Sistemle Kontrolü (4)

İntrinsik sistemin uyarılması ile vazoaaktif intestinal peptidler (VIP) ve nitrik oksit (NO) salınımı artar (1,3). Bu araçlar ise pilorik ve ileosekal kapak kasılmalarında inhibisyon, bağırsak duvarının geriliminde, ritmik kasılmaların hızında ve gücünde artışa neden olurlar (6,14).

Sinir ağlarını oluşturan üç çeşit nöron mevcuttur;

Sensori Nöronlar, mukoza ve kaslardaki sensöri reseptörlerden gelen bilgileri alırlar. Mukozada mekanik, termal, ozmotik ve kimyasal uyarılara cevap veren en az dört çeşit sensöri reseptör bulunmaktadır. Kaslar arasındaki mekanoreseptörler

gerilim, basınç ve esnemeye karşı duyarlıdır. Termoreseptörler ısı değişikliklerini algılamak için ozmoreseptörler lümendeki sıvıların ozmotik yapısındaki değişiklikleri algılar. Kemoreseptörler ise asit, glukoz ve aminoasitlere karşı duyarlıdır ve lümendeki sıvıların kimyasal yapılarındaki değişiklikleri algılar (13,14).

Motor Nöronlar mide bağırsak sisteminde motiliteyi, salgılamayı ve muhtemelen emilimi kontrol eder. Motor nöronlar bu fonksiyonları yerine getirirken düz kaslar, salgı hücreleri ve mide bağırsak sistemi endokrin hücreleri gibi çok sayıda efektör hücreye doğrudan etki eder.

İnternöronlar bilgiyi sensori nöronlardan alarak enterik nöronlara iletmek ile görevli nöronlardır (5,13).

1.4.2. Ekstrinsik Sistem (Otonom Kontrol)

Normal sindirim için intrinsik ve merkezi sinir sistemi birbirlerine bağlı olarak çalışmak zorundadır. Bu bağlantılar sayesinde mide bağırsak sistemi sensori uyarıları doğrudan merkezi sinir sistemine iletebileceği gibi, merkezi sinir sistemi de doğrudan mide bağırsak sistemi fonksiyonları etkileyebilir (5,14). Nitekim sempatik etkinlik peristaltığın azalmasına; parasempatik etkinlik ise peristaltığın artmasına neden olur (3).

Ekstrinsik sinirsel kontrol, besinin sindirim yoluna istemli olarak alınmasını ve dışkıının atılmasını sağlar. Bu yüzden de istemli kas etkinliği ile istemsiz bağırsak motilitesini bir araya getirir. Ekstrinsik sinirsel kontrol yemek borusu ve anüste tek başına etkinken, mide ile rektum arasında spontan kasılmaları oluşturan intrinsik sinir sistemi üzerinde arttırıcı ve baskılayıcı yollarla etkinlik gösterir (7).

Bağırsakların parasempatik donanımı, kranial ve sakral bölümlere ayrılmaktadır. Sindirim kanalının ağız ve farenksi inerve eden az sayıda sinir lifi dışında, hemen tümünün kranial parasempatikleri vagus sinirleri (nervus vagus) içinde seyrederek. Bu lifler yemek borusu, mide, pankreas ve kalın barsağın sigmoid, rektum ve anal bölümlerinde zengin bir innervasyon sağlar (fakat ince bağırsağın innervasyonu daha zayıftır). Sakral parasempatikler ise, medulla spinalisin iki, üç ve dördüncü sakral segmentlerinden başlayarak, pelvis sinirleri (nervus pelvikus) içinde kalın barsağın distal bölümünü inerve eder (5).

Parasempatik postgangliyoner nöronlar başlıca, myenterik ve submukoza ağlarında bulunur (5,11,12). Bu nedenle parasempatik sinirlerin uyarılması tüm intramural sinir sisteminde etkinliği artırır. Böylece sindirim sistemi etkinliğinin çoğu artarken, intramural nöronlardan bazıları inhibitör olduğu için, belirli bazı fonksiyonları baskıladığı görülür (5). Parasempatik sinirler uyarıldığında bağırsak gerilimi ve bağırsak hareketleri artarken sindirim kanalı sfinkterlerinde ise baskılayıcı etkinlik hakim olur (1,3,9).

Sempatik sinir lifleri; medulla spinaliste T-8 ile L-2 arasındaki segmentlerden kaynaklanmaktadır. Pregangliyoner lifler medulla spinalisi terk ettikten sonra sempatik zincirden geçerek, çölyak gangliyon ve mezenterik gangliyonlar gibi merkezi sinir sisteminin dışındaki bazı gangliyonlarda sonlanırlar. Postgangliyoner nöron hücrelerinin bulunduğu bu ganliyonlardan başlayan postgangliyoner lifler kan damarlarıyla birlikte bağırsakların tüm bölümlerine gidip intramural sinir sistemindeki nöronlarda sonlanırlar (5). Genellikle sempatik uyarı bağırsak hareketlerini kısıtlar, bağırsak kan damarlarını daraltır, bağırsak gerimini gevşetir ve ağrılara neden olur. Bu sinirlerin kesilmesi ya da iş görememesi halinde ise kanın karında toplanması sonucu kan basıncı düşer ve beyin kansız kalır (1,3).

Fizyolojik deneylerde kolinerjik ve adrenerjik sinirlerin yanı sıra, sindirim sistemi düz kaslarında gevşemede rol aldığı düşünülen adrenerjik ve kolinerjik olmayan (NANK) sinirlerin varlığı da ortaya çıkarılmıştır. Bu sinirlerin elektiriksel olarak veya nöral refleks yolları aracılığıyla uyarılması kavşak sonrası düz kas membranlarında hiperpolarizasyona (inhibitör kavşak potansiyeli-IJP) ve gevşemeye yol açmaktadır. Vazoaktif intestinal peptid (VIP) ve adenosin trifosfattan (ATP) sonra nitrik oksitinde NANK sinir sisteminin kimyasal aracı maddesi olduğu belirlenmiştir (15).

1.5. Kimyasal Bir Aracı Olarak Nitrik Oksit

Nitrik oksit son yıllarda tanımlanan ve birçok biyolojik olayda önemli rolü olan bir serbest radikaldir (17-19). 1980 yılında asetilkolinin damarlarda oluşturduğu gevşemenin şekillenebilmesi için damar endotelinden aracı bir maddenin salınması gerektiği belirterek bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı

verilmiştir. Devam eden çalışmalarda EDRF'nin L-arjininden sentezlenen, serbest bir radikal olan NO olduğu belirlenmiştir (20-22).

Memeli hücrelerinin biyolojik olarak etkin salgı ürünleri içinde en düşük molekül ağırlığında (23-25) olup hücre zarından kolaylıkla geçebilen, yağda çözünen, hem içeren proteinlerin demir kısmıyla ve oksijenle hızlı tepkime veren bir moleküldür. Tüm bu özellikleri NO'ye ideal bir haberci molekül özelliği kazandırmaktadır (26-29). Nitrik oksitin yarılanma ömrü çok kısa (3-5 sn) ve kimyasal etkinliği ise çok yüksektir. Solüsyonlarda hızla okside olarak nitrit (NO_2) ve nitrat (NO_3) dönüşümlerine hızla inaktive olur (21,29,30). İnsan vücudunda NO hemoglobine bağlandığında etkinliğini kaybeder. Bu bağlanma, oksijene göre 3000 kat daha hızlı olmaktadır. Bu kadar hızlı gerçekleşen etkisizleştirme nitrik oksitin etkinliğini daha çok yerel kılmaktadır (30).

Diğer serbest oksijen radikalleri her yoğunlukta zararlı iken, NO düşük yoğunluklarda kan basıncı, sindirim sisteminin düzenlenmesi, konak savunmasından özgül olmayan bağışıklığa kadar birçok önemli fizyolojik olayların düzenlenmesinde rol oynar. Ancak, uygunsuz yerde ve aşırı miktarda üretildiğinde, birçok patolojik durumun ortaya çıkmasına neden olur (28).

Nitrik oksit oluşumunda yer alan enzim grubunun ismi nitrik oksit sentazdır (NOS). NOS enzimi aracılığıyla L-argininden NO ve diğer bir son ürün olan L-sitrülin sentez edilir (20,21,24). Nitrik oksit sentazın düzenleme ve etkinlik yönünden yapısal (cNOS) ve uyarılabilir (iNOS) olarak ifade edilen iki tipi bulunmakla birlikte bunlara bağımlı üç izoformu vardır (31,32). Bunlar düşük miktarda üretilerek vasküler tonüsü ayarlayan bir yapısal endotelial izoform (eNOS), yine düşük miktarda üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir yapısal nöronal izoform (nNOS)'dur. Sitokinler tarafından uyarım ile yüksek miktarda üretilerek bağışıklık/yanğı olaylarında rol alan iNOS ise uyarılabilir formdur. Nöronal NOS ve endotelial NOS enzimi aracılığı ile NO üretimi için Ca^{++} /kalmudilin gerekli iken iNOS için Ca^{++} /kalmudiline gereksinim yoktur (19,22,30,31). Nitrik oksit sentazın bütün izoformları substrat olarak L-arjinin kullanır. Ko-substrat olarak moleküler oksijen ve ko-faktör olarak indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotit (FAD),

flavin adenin mononükleotit (PMN) ve tetrahidrobiopterinin varlığına gereksinim duyar (21,22,30,31).

Süperoksit (O_2^-) gibi oksidan ya da serbest radikaller NO' nun yarı ömrünü kısalttığı için etkinliğini azaltmaktadırlar. Tersine süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler süperoksit radikalini ortamdan uzaklaştırarak NO' nun yarı ömrünü dolayısı ile etkinliklerini artırır (22,30,33). Hemoglobin ile methemoglobin oluşturarak ve metilen mavisi ile de çözülebilir guanilil siklaz (cGC) etkinliği ve bunun sonucunda da siklik guanizin monofosfat (cGMP) seviyesi azaltılarak nitrik oksit etkinliği engellenmektedir (22,34,35).

Bazı L-arjinin analogları L-arjinin ile rekabet ederek NOS etkinliğini engellemektedirler. Bunlar N-monometil-L-Arjinin (L-NMMA), N-nitro-L-Arjinin metil ester (L-NAME) ve N-nitro-L-Arjinin (L-NNA)'dır. Sodyum Nitroprusside (SNP) gibi donörler ise eksojen olarak nitrik oksit düzeyini arttırırlar (19,32,36).

1.5.1. Nitrik Oksitin Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkileri

Adrenarjik ve kolinerjik olmayan sinirlerden salınan kimyasal araçlar ile ortaya çıkan baskılayıcı etki mide bağırsak sisteminde uzun zamandan beri bilinmektedir (16). İmmünohistokimyasal incelemelerde beyin dışındaki nöronlarda da nNOS varlığı belirlenirken bunlardan NO sentezlendiği kanıtlanmıştır. Otonom sinir sistemi ile ilişkili olarak ince bağırsakta myenterik pleksusun nöron ve sinir liflerinde nNOS' un yoğun bir şekilde bulunduğu saptanmıştır (12).

Nitrik oksit, mide bağırsak sisteminde bir takım hücreler üzerine etki ederek salgılama, gerilim ve motilite, kan akımı, elektrolit ve su emilimi, mukozal koruma ve yangı gibi olaylara karışır. Nitrik oksit, midede kan akımını artırırken vagal uyarı veya histaminle tetiklenen asit salgılanmasını azaltmaktadır. Ayrıca mide kaslarının gerginliğini ve kas hareketliliğini baskılayarak duodonal mukus salgılanmasını arttırarak mide asidine karşı mukozal koruma sağlamaktadır (19).

Nitrik oksit hayvanlarda, mide içi basınca karşı mideyi genişleterek yeni duruma uyumunu sağlamaktadır. Ayrıca mide bağırsak sisteminin özellikle sfinkterlerinde gevşemeye yol açarak bu organların fizyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesine katkıda bulunurlar (32).

L-arginin/NO yolu bağırsakta elektrolit ve su emilimi, salgılama olaylarıyla da ilgilidir. Nitrik oksit hem absorptif hem de sekretuar olduğu bildirilmiştir. Fizyolojik şartlarda NO bağımlı absorptif bir gerilim bulunurken fare, sıçan, kobay ve maymun inflamatuvar bağırsak hastalık (IBS) modelleri ile insan Crohn hastalığında ve ülseratif kolitiste yüksek miktarda salgılanan NO, bağırsaklarda net salgılama yapmaktadır (19).

Fazla miktarlarda salınan NO parakrin ve otokrin fonksiyonların bozulmasına, bölgesel kan akımında dağılım bozukluğuna, bağırsak motilitesinde azalmaya ve permeabilitesin de artışa yol açar (29).

Bağırsaktaki nöromusküler bozuklukların patofizyolojisinde, nöronlarda sentezlenen NO miktarının ve düz kas hücrelerinin endojen NO' ya hassasiyetlerinin değişmesinin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda nöronlardan salınan NO' nun bağırsak motilitesini düzenlediği gösterilirken nöronlarda NOS etkinliği engellendiğinde midede oluşan histolojik değişiklikler, insanlarda pilor stenozu patolojisi ile benzerlik göstermektedir (37).

Sıçan ince barsağında (38) ve diğer memelilerin mide bağırsak sistemlerinin myenterik ve submukoza ağlarında NOS immunoreaktif olan ve NADPH-diaphorase ile boyama gösteren sinir liflerinin varlığı histolojik olarak tespit edilmiştir (39,40). Sığırdaki yemek borusundan anüse kadar NOS immunoreaktivitesi ve NADPH-diaphorase etkinliğinin nitrejik nöronlarda lokalize olduğu gösterilmiştir (41).

Nitrik oksit sentazın katalize ettiği L-arginin-N^G-oksidasyonu süresince şekillenen ürünler arasında yalnızca hidroksilamin (NH₂OH) sıçan duodenumunda nitrejik sinir uyarımının neden olduğu gevşemeye benzer bir etkiye neden olmaktadır ve bu molekülün direkt olarak yada bir NO salınımı tarafından gerçek bir kimyasal aracı etkisi olabileceği düşünülmektedir (42).

Nöronal NOS etkinliği için kalmudilinle beraber Ca⁺² gereklidir (43). Köpek ileokolonik kavşağında; bir N-tipi Ca⁺² kanal inhibitörü olan ω-conotoxin GVIA (44) ya da Ca⁺² aracılığı olmaksızın doku maruziyeti nitrejik sinir uyarımına inhibitör yanıtı azaltmış, halbuki L-tipi Ca⁺² kanal inhibitörü nifedipene ve verapamil etkisiz kalmıştır (45). Tavşan mide bağırsak kanalında vagus uyarımının NO salınımına

neden olduğu mikrodializ yöntemiyle NO metaboliti olan nitrit ve nitrat düzeyi ölçülerek gösterilmiştir (12).

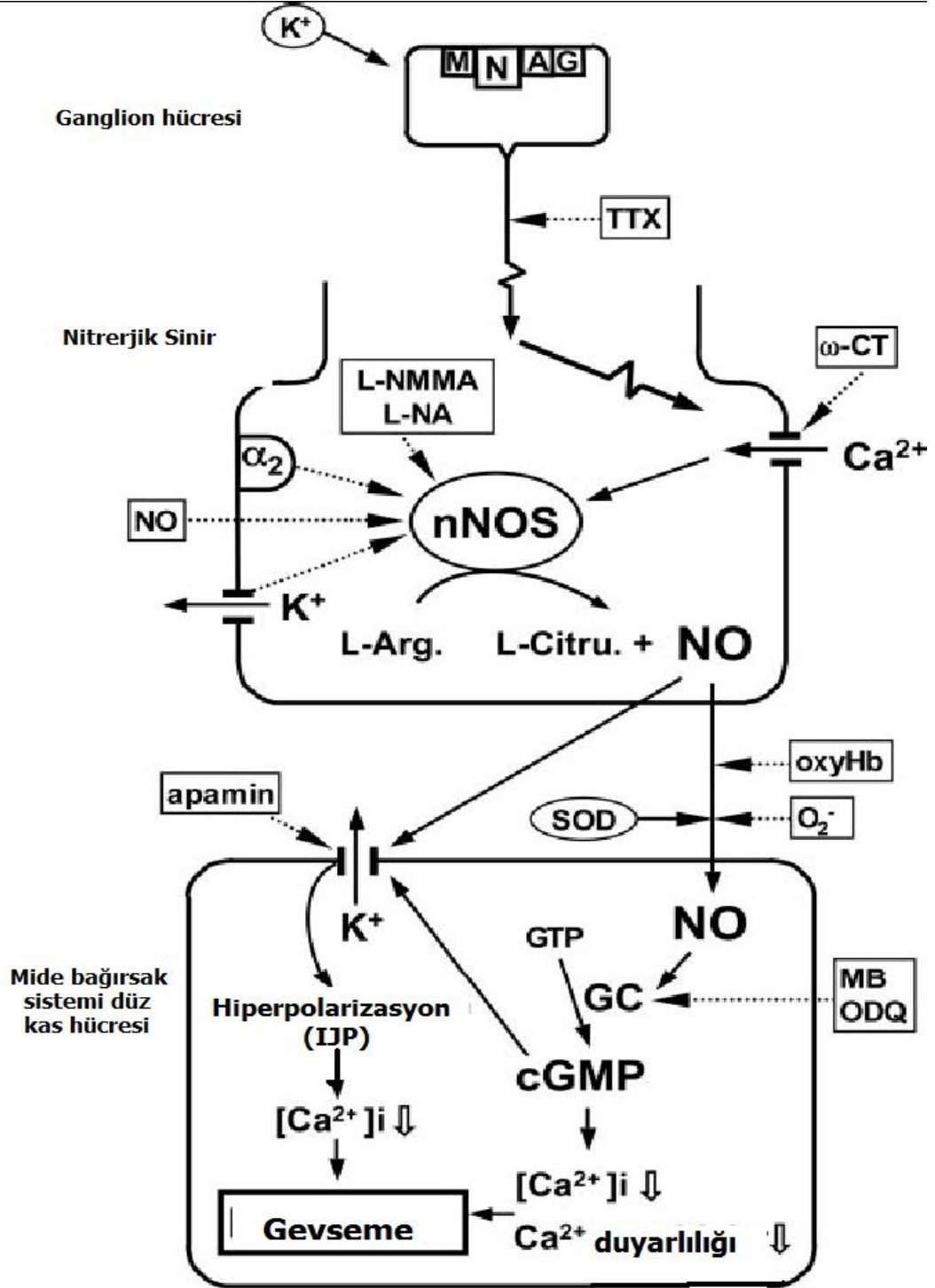
1.5.2. Nitrik Oksitin Düz Kaslarda Oluşturduğu Gevşemenin Mekanizması

Kimyasal bir aracı olarak NO hızlı bir şekilde hücreye girer ve sitozolde bulunan cGC etkinleştirir ve düz kas hücrelerinde hücre içi ikincil bir haberci olan cGMP yapımını uyarır (16,22,30). Siklik GMP iki mekanizma ile düz kasta gevşemeye aracılık etmektedir. İlk olarak NO, hücre içi Ca^{++} düzeyini azaltır ve K^+ kanallarının geçirgenliğini artırır. Böylece plazma membranını hiperpolarize hale getirir (46). İkinci olarak cGMP, hafif miyozin zincirlerinin defosforilasyonuna sebep olan ve NO/cGMP sinyalinde merkezi bir rol oynadığı bildirilen cGMP'ye bağımlı protein kinazı (PKG) etkinleştirerek miyozin/aktin etkileşimini engeller (47) (Şekil 1.6).

Ayrıca NO, sadece direkt olarak cGMP veya endirekt olarak hiperpolarizasyon yoluyla değil aynı zamanda mekanizması bilinmeyen ve cGMP bağımlı olmayan üçüncü bir yolla da mide bağırsak sisteminde kas gevşemesine neden olur (16).

Nitrik oksitin hedef hücrede membran yüzeyindeki bir reseptör aracılığı ile etki yapması söz konusu değildir. Lipofilik olduğu için hücre membranını kolayca aşar ve sitoplazmadaki guanilat siklazın aktif noktasındaki demir iyonuna bağlanmak suretiyle enzimi aktive eder (12).

Nörojenik NO' nun aracılık ettiği IJP'nin cGMP'nin üretimini arttırılmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (48) . Yaban farelerinden alınan mide fundus kas şeritlerinde EFS ile oluşturulan kasılımlarda NO ilki hızlı olan daha sonra yavaş gelişen bifazik bir gevşemeye neden olurken, PKG yetmezlikli farelerden alınan kas şeritlerinde ise yalnızca yavaş bir gevşeme oluşturmaktadır (49). Bir NO donörü 3-morpholino-sydnoninime ve 8-br-cGMP'ye yanıtlar knockout farelerden alınan şeritlerde önemli derecede zayıflamıştır. Nitrik oksitin bağırsaklarda neden olduğu gevşeme bir cGC inhibitörü olan metilen blue uygulaması ile engellenememiştir (16).



M,N,A,G: Gangliyonik hücre membranında M₁ muskarinik, nikotinic, purinerjik ve GABAerjik reseptörler; TTX: Tetrodotoksin; ω -CT: ω -conotoxin GVIA; L-NMMA: N^G-nitro-L-arginine; α_2 : α_2 adreseptör; oxyHB: oksihemoglobin; SOD: süperoksit dismütaz; O₂⁻: süperoksit anyonu; GTP:guanizin trifosfat; MB: metilen blue; ODQ: 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3a] quinoxalin-1-one; cGMP: siklik guanizin monofosfat.

Şekil 1.6. Mide Bağırsak Düz Kas Hücrelerinde Nitrik Oksitin Gevşetici Etkisi (16)

Aynı zamanda cGMP'den bağımsız olan ve NO' nun neden olduğu apamin duyarlı gevşeme de araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (50,51). Apamin-duyarlı ve duyarsız IJP'nin NOS inhibitörü L-NAME tarafından ortadan kaldırılması, nNOS kaynaklı NO' nun Ca^{+2} 'a bağımlı K^+ kanallarını açarak hiperpolarizasyonuna neden olduğunu ortaya koymuştur (52,53). Ayrıca yüksek frekanslarda transmural alan uyarımı, gevşeme ve hiperpolarizasyonun hızlı ve yavaş fazlarının oluşumunu sağlamıştır . Aynı zamanda NOS antagonisti L-NNA, yavaş fazı deprese etmiş ve kısmen hızlı fazı da azaltmıştır. Bu bulgular NO'nun neden olduğu hiperpolarizasyonun gevşemede gerekli olduğunu düşündürmektedir (54,55).

NO' nun neden olduğu gevşeme ve hiperpolarizasyonda gerekli olan olası mekanizmalar şunlardır;

- 1) Membran potansiyeli değişmeksizin cGMP bağımlı olarak hücre serbest Ca^{++} 'un azalması,
- 2) Gevşeme ve hiperpolarizasyon üretmek için apamin-duyarlı K^+ kanallarının ve diğer iyon kanal tiplerinin cGMP-bağımlı olarak açılması,
- 3) Kas kontraktilesinde gerekli olan iyon kanallarında NO' nun etkileri gibi cGMP-bağımsız mekanizmalar ya direkt olarak ya da membran hiperpolarizasyonu yoluyla etki etmesi (16).

Bazı kemirgenlerde cGMP-bağımsız mekanizmalar için kanıtlar bulunmasına rağmen, insanları da içeren pek çok memelinin mide bağırsak sisteminde nitretrjik inhibitör yanıtta sorumlu anahtar madde cGMP olarak bilinir (16).

1.6. İkincil Haberci Olarak cGMP-bağımlı Protein Kinaz

Birincil haberci olan hormonlar ve kimyasal araçlar hücre zarında bulunan reseptörlere bağlanınca hücre zarında ve sitoplazmada bulunan cGC enzimi etkin hale gelir ve guanizin trifosfattan (GTP) siklik GMP oluşumu sağlar. cGMP'de ikinci haberci olarak proteinlere fosfat bağlanmasını sağlayan PKG'yi etkinleştirir. Proteinlere fosfat gruplarının bağlanması yeni özel proteinlerin oluşumunu artırır. Bu da hücrenin işlevinde çeşitli değişikliklere neden olur (56).

cGMP ve cGMP-PKG; siklik nükleotid yoğunluklarını ve sonuçta hücre fonksiyonları için yaşamsal substratların fosforilasyonunu arttıran birçok sinyal yollarının önemli araçlarıdır (57).

Nitrik oksit, bazı hormonlar, ilaçlar ve toksinler gibi etkenler, hücre içi cGMP yoğunluğunu artırarak düz kas gevşemesi, sinirsel uyarım, görsel transduksiyon, platelet agregasyonu, kemik büyümesi, elektrolit ve sıvı dengesini içeren pek çok fizyolojik fonksiyonları düzenlerler. Dokulara bağlı olarak cGMP yoğunluğundaki artış; siklik nükleotid fosfodiesterazları, cGMP-düzenleyici iyon kanalları ve PKG gibi bazı farklı reseptör etkinliklerine yol açar (58,59). cGMP'nin majör etkileri PKG'nin etkinliğine atfedilmesine rağmen onun fizyolojik rolü hala tartışmalıdır (59). PKG'nin etkinleşmesi ATP'de bulunan γ -fosfatın hedef proteinde bulunan serin veya treonin amino asidine katalitik transferine yol açar. PKG tarafından hedef proteinlerin fosforilasyonu hücre içi Ca^{++} yoğunluğunu azaltarak düz kas gevşemesine neden olur (58).

Memelilerde bulunan iki farklı PKG'den ilki olan PKG I izoformu; ince bağırsağın fibroblast benzeri hücrelerinde, villilerin düz kas hücrelerinde, lamina muskularis mukozasında, sirküler ve longitudinal kaslarda immunohistokimyasal olarak saptanmıştır. İlave olarak, myenterik ve submukozal ağ nöronlarında koyulaşma görülmüştür. NOS ve PKG I' in iki kat koyulaşması bu iki enzimin ortak yerleştiğini göstermiştir. Düz kas preparatlarının ve izole sinir uçlarının Western Blot analizlerinde bu yapıların genellikle PKG I β izoenzimini içerdikleri hâlbuki aynı dokularda PKG I α ekspresyonunun ise yaklaşık üç kat daha az olduğu ortaya konmuştur. PKG II izoformu ise tamamen mukozal epitelyal hücrelerde sınırlanmıştır. Bu sonuçlar, PKG I' in ince bağırsağın farklı kas yapılarında ekspresyon olduğu ve mide bağırsak sistemi düz kaslarında NO'nin neden olduğu gevşemeye katıldığını; PKG II' nin ise daha çok salgılamaya eşlik ettiğini göstermiştir. Yine NOS pozitif enterik nöronlarda PKG I' in varlığı olası nöronal bir etki alanını ortaya koymuştur (60).

1.7. 17 β Östradiolün Bağırsak Motilitesi ve Nitrik Oksit Üzerine Etkileri

İnsanlarda ve hayvanlarda bağırsak motilitesi kızgınlık döngüsü, gebelik ve menapoza bağlı olarak değişmektedir (61,62). Aynı şekilde östrojen, progesteron ve sindirim sistemi yerel hormonlarının plazma seviyelerindeki değişiklikler mide bağırsak düz kaslarının elektromekaniksel davranışlarını etkilemektedir. (63-66).

17 β östradiol kolinerjik bir ajan olan carbachol'e yanıtta ileumun kasılım gücünü önemli derecede azaltmıştır. Bu sonuç östradiolün mide bağırsak sistem motilitesini azalttığını akla getirmektedir (67). Östradiol ve kolesistokininin plazma yoğunluklarında doza bağımlı gerçekleşen artışa rağmen östradiol tedavisinden sonra mide boşalımı ve mide bağırsak geçişi inhibe edilmiştir (68).

Gebelik boyunca alt özefagial sfinkter basıncı düşüktür, gastroözefagial reflü vardır ve ororektal geçiş yavaştır (65,66,69). Dişilerde gebelik sürecince gastrik boşalımda gecikmeye yol açacak şekilde mide bağırsak sistem motilitesinde azalma ve kolon geçiş süresinde artma söz konusudur (64,69,70). Yine son dönem gebelikte ince bağırsak geçişi baskılanırken gastrik boşalım hızı değişmez kalmaktadır (71).

Besinlerin kolonu geçiş süreleri ise gebelik boyunca artar. Son dönem gebelikteki sıçanların kolon kas kasılımları, gebe olmayan dişi sıçanlarla kıyaslandığında önemli derecede azalmaktadır (64). Gebelik süresince kabızlık görülme sıklığı artar ve mide bağırsak sistem motilitesi azalır. Gebelik boyunca ince bağırsak geçişi yavaşladığı ve doğum sonrası dönemde hızla foliküler faz seviyelerine geri dönüldüğü için gebelikte oluşan bu değişikliklerin cinsiyet hormonlarıyla ilişkili olduğu görüşü giderek güçlenmektedir (62,69).

Laboratuar hayvanlarında yapılan çalışmalarda sindirim sistemi motilitesinin baskılanmasından sorumlu olan hormon progesteron olarak gösterilse de (69), overiektomili ratlara progesteron verilerek gastrik boşalımın arttığının gösterildiği son çalışmalarda bu doğrulanmamıştır. Tek başına progesteron verilmesi gastrik boşalım hızını arttırırken progesteron ile birlikte ve ya tek başına verilen östradiol gastrik boşalımın yavaşlamasına yol açmaktadır (62,63,71,72) Testosteronun ise gastrik boşalım ve mide bağırsak geçişini etkilemediği bildirilmiştir (72). Androjenler ince bağırsak endotelyal fonksiyonlarında baskılayıcı bir rol oynarlar (73). Bu bulgular cinsiyet hormonlarının mide bağırsak sistem motilitesine etki ettiğini düşündürmektedir (62,64,70).

Mide bağırsak sistem motilitesinin cinsiyet hormonları tarafından düzenlenmesinin kesin ve tam mekanizması bilinmemektedir (64). Adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinirlerde bulunan nNOS tarafından salınan NO, mide bağırsak sistemi motilite ve geçiş süresinin kontrolünde önemli bir faktördür (70). Nitrik oksit baskılayıcı bir kimyasal aracıdır ve kimyasal aracı fonksiyonları NO salınımına bağlı

olan NANK sinirler mide bağırsak sisteminde sıvı salgılanması, motilite ve düz kas geriliminin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Elektriksel alan uygulamasından sonra mide bağırsak sisteminin uyarılmasıyla NANK sinirlerden NO salınır ve mide bağırsak sistemi düz kaslarının gevşemesine aracılık eder (16).

İnsan, köpek, sıçan, kobay, hamster ve fare gibi çeşitli memelilerin duodenum, jejunum ve ileumunda kolinerjik ajanlar ya da EFS ile oluşan IJP'de ve NANK sinir sisteminin oluşturduğu gevşemede NO çok önemli bir rol oynar (16). Sıçan ve kobayda bağırsak motilitesinin düzenlenmesinde endojen nitrik oksit etkinliği söz konusudur (74). NADPH-diaphorase ve nNOS içeren nöronların varlığı insan ince bağırsağında histolojik olarak tespit edilmiştir (75,76).

Kobay, sıçan, tavşan ve kedi ileumunda nitreerjik sistemin anatomik yapısı heterojen bir dağılım gösterir (75). Köpek, kedi ve domuzda ileokolonik kavşak lümen içeriğinin kolona geçişinin düzenlenmesine katkı sağlayan kuvvetli bir nitreerjik uyarıma sahiptir (16).

Endotel hücreleri östrojen reseptörü içerdiklerinden östrojen için doğal bir hedef oluştururlar. Bu steroid hormonun endotel hücre kültüründe, NOS geninin transkripsiyonunu ve etkinliğini artırdığı gösterilmiştir. Progesteronların östrojenlerin üzerine olan negatif etkilerinin kısa süreli kullanımlarda endotel fonksiyonlarını etkilemediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle östrojen ve progesteronların birlikte kullanımı sonucu gözlemlenen NO artışı sadece östrojenlere ait bir sonuç olarak kabul edilebilir. Kısa süreli hormon tedavisinin endotel fonksiyonu geri kazanmada NO üzerinden etkili olabileceği düşünülmektedir (77).

Birçok canlıda özellikle memelilerde biyolojik sinyal ileten bileşikler arasında tek gaz molekül olan nitrik oksit bağırsak dokusunun proliferasyonu ve mukus üretiminde de rolü bulunmaktadır (23).

Sonuçta mide bağırsak sistemi ve nöral dokuları içeren çeşitli dokularda östradiol tarafından NOS artırılır. Nitrik oksit östrojen sentezini engellerken, östrojen nitrik oksit sentezini uyarır. Nitrik oksit üretiminin NOS inhibitörlerince engellenmesiyle östradiol düzeyi artar, böylece kalıcı bir proöstrüs ve östrüs ortaya çıkar. (64).

Yapılan araştırmalarda östrojen hormonunun mide bağırsak sistemi motilitesi üzerine farklı anatomik yapılarda farklı etkiler ortaya koyduğu bildirilmektedir

(64,67,68,78). Yapılan taramalarda duodenum, jejunum ve ileumdan oluşan ince barsağın tüm anatomik unsurlarının değerlendirildiği araştırmaya raslanılmamıştır. Bu araştırma ile farklı dozlarda kullanılan 17 β östradiolün ince bağırsak motilitesi üzerine etkisi değerlendirilirken olası etkiler üzerine nitrik oksidin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmada Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Deney Hayvanları Ünitesi'nden elde edilen 3-6 aylık ve ortalama 270 ± 20 gr ağırlığında, 24 Sprague Dawley dişi sıçan kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce sıçanlara genel anestezi (21,1 mg/kg ketamin ve 4,2 mg/kg ksilazin) altında ovariektomi uygulandı. Anesteziyi takiben sıçanların abdomen bölgesi tıraş edilerek enzisyonla batına girildi. Fallop tüpleri ve ovaryumlar 2,0 ipek iplik ile bilateral tüpler bağlanarak ovaryumlar çıkarıldı. Enzisyon bölgesi kapatıldıktan sonra operasyon sonrası beş gün boyunca sıçanlara 60 000 IU Penisilin G (Pfizer) kas içi uygulandı.

Deneye ovariektomiden 2 hafta sonra başlandı. Deney süresince sıçanlar, oda ısısı 20-22 °C olan ve havalandırılmalı bir odada barındırıldı. Tüm sıçanlara su ve ticari sıçan yemi *ad libitum* olarak temin edildi. Deney başlamadan önce sıçanların genel muayenesi yapılmış, her grupta 6 sıçan bulunacak şekilde, kontrol ve 3 deneme gurubuna (östrojen) ayrıldı.

Araştırmada kontrol ve östrojen gruplarındaki sıçanlara uygulanan deneysel prosedür Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1: Araştırmada kullanılan deneysel gruplar

Grup	Uygulama	Ötenazi zamanı
Kontrol	0,2 ml susam yağı (3 gün)	Son uygulamadan 18 saat sonra
25 µg 17β östradiol	25 µg 17β östradiol (3 gün)	Son uygulamadan 18 saat sonra
50 µg 17β östradiol	50 µg 17β östradiol (3 gün)	Son uygulamadan 18 saat sonra
100 µg 17β östradiol	100 µg 17β östradiol (3 gün)	Son uygulamadan 18 saat sonra

Özetle kontrol grubuna günlük olarak kas içi susam yağı enjeksiyonları (0,2 ml) (3 gün) yapıldı. Birinci deneme grubundaki sıçanlara (25 µg 17β östradiol) günlük 25 µg 17β östradiol (3gün) kas içi uygulandı. İkinci deneme gurubundaki sıçanlara (50 µg 17β östradiol) günlük 50 µg 17β östradiol (3 gün) kas içi uygulandı. Üçüncü deneme gurubundaki sıçanlara (100 µg 17β östradiol) ise günlük 100 µg 17β östradiol kas içi (3gün) uygulandı. Son uygulamadan 18 saat sonra hayvanlar % 2,5'luk sodyum pentotal solüsyonundan 25 mg/kg periton içi uygulanarak anestezi edildi ve etik kurallara uygun olarak (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Etik Kurulu 20.01.2004 tarih, 2004/4 sayılı yazı) boyun eklemlerinden disloke edilerek öldürüldü.

Hemen sonra karın bölgeleri makasla kesilerek açıldı. İnce bağırsak deodenum, jejenum ve ileum kısımları zarar verilmeden bağlantılarından ve çevre dokulardan temizlenerek çıkarıldı. İzole edilen her doku Krebs çözeltisi (NaCl 118; KCl 4,7; CaCl₂ 2,5; MgSO₄ 1, KH₂PO₄ 1, NaHCO₃ 25 ve glikoz 11 mM) içerisine alındı. Dokuların etrafındaki mezenter ve yağ dokudan dikkatli bir şekilde temizlendi. Daha sonra deodenum, jejenum ve ileum kısımlarının tam orta noktasından 5 mm x 2 mm boyutlarında şerit şeklinde doku parçası elde edildi. Hazırlanan bu preparatlar, 37°C sıcaklıkta ve %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımı ile sürekli havalandırılan 20 ml Krebs çözeltisi içerisinde olacak şekilde izole organ banyosunun I ve II numaralı olmak üzere her iki kadehindeki platin halka elektrotun alt ucuna bağlanarak dokunun halka elektrotlar arasında kalması sağlandı. Dokunun diğer ucu üst uçlarından force transducer'a bağlanıp tespit edildi ve izometrik düz kas hareketleri "force transducer" ve "acquisition system" yardımı ile bilgisayarda görüntülenerek kaydedildi.

2.1.2. Araştırmada Kullanılan Aletler

Araştırmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında bulunan İzole Organ Banyosu ile kaydedici sistem olarak Force Displacement Transducer 10-A ve Acquisition System MP30 Model Biopac WSW marka (Biopac Student Lab PRO Software and MP30 Hardware) ve uyarım için ISO 150-C (May İsolation Power Supply) EFS (Electric Field Stimulation) cihazları kullanıldı.

2.1.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sodyum Klorid (Riedel), Potasyum Klorid (Riedel), Kalsiyum Klorid Dihidrat (Fluko), Potasyum Fosfat (Fluko), Magnezyum Sülfat (Sigma), Glikoz (Sigma), Sodyum Bikarbonat (Sigma), L-Arginin (Sigma), Sodyum Nitroprusid (SNP-Sigma), 8-Bromo cGMP (Sigma), 17- β östradiol (Sigma).

2.2. Yöntem

2.2.1. Deodenum, Jejenum ve İleumda İzometrik Kasılımların Belirlenmesi

Başlangıçta izole organ banyosunun I ve II nolu kadehlerine tespit edilen iki ayrı doku parçalarına 2 gramlık bir gerim uygulandı. Ortama alışmaları için en az 1 saat süreyle ve her 15 dakikada bir değiştirmek koşulu ile krebs çözeltisi içerisinde bekletildi. Öncelikle normal spontan kasılımların belirlenmesi için 1 saatlik kasılım periyodu kaydedildi. Takiben EFS ile her iki doku için submaksimal kasılımın sağlandığı voltaj, frekans ve uyarı derinliği değerleri tespit edildi. Bunun için dokuya çeşitli düzeylerde elektrik akımı (10, 20, 30, 40 volt) farklı sürelerde (0,25, 0,5, 1 msn) ve sıklıkta (frekans) (2, 4, 8, 16, 32, 64 Hz) uygulandı (79).

Araştırma yöntemi içerisinde dokulara uygulanan deney protokolü Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2: Yöntem içerisinde dokulara uygulanan deney protokolü

Uygulama	Uygulama Protokolü
İnkübasyon	1 saat inkübasyona bırakıldı
Uygulama I	Elektiriksel Uyarım (EFS)
Uygulama II	L-Arginin (10^{-5} M) + EFS
	SNP (10^{-3} M) + EFS
Uygulama III	8-Br cGMP (10^{-6} M) + EFS

Endojen NO etkinliğinin belirlenmesi amacıyla L-Arginin 1 mM, eksojen NO yolunun değerlendirilmesi amacıyla SNP 0.1 mM dozlarında uygulandı. cGMP-PK yolunun etkinliğinin belirlenmesi amacıyla 8-Br-cGMP 0,01 mM dozlarında uygulandı (80,81) (Çizelge 2.2).

2.3. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatistiksel analizler için 'SPSS 13.0 istatistik paket programı' kullanıldı. İstatistiksel yöntem olarak, her bir doku için ayrı olacak şekilde elde edilen amplitüt değerler arasında yapılan karşılaştırmalarda “Varyans analiz” ve “Duncan” testi uygulandı ve $p < 0,05$ fark düzeyi çalışmada önemli kabul edildi (82).

3. BULGULAR

3.1. Duodenum, jejenum ve ileumda spontan kasılımlar

Gruplarda duodenum, jejenum ve ileum da görülen spontan kasılımların şiddeti Çizelge 3.1' de gösterildi. Buna göre duodenumda spontan kasılımların şiddeti bakımından kontrol, 25 µg 17β östradiol ile 50 µg 17β östradiol grupları arasında fark belirlenemezken 100 µg 17β östradiol grubunda kasılımın şiddetinin kontrol ve 25 µg 17β östradiol gruplarına göre azaldığı ($p<0,01$) görüldü.

Jejenumda spontan kasılımlarının şiddeti bakımından gruplar arasında fark belirlenemezken ileumda spontan kasılımların şiddeti bakımından kontrol ve 25 µg 17β östradiol gruplar arasında fark belirlenemezken 50 µg 17β östradiol ve 100 µg 17β östradiol gruplarında kasılımların şiddetinin bu gruplara göre azaldığı ($p<0,001$) görüldü.

Çizelge 3.1: Gruplarda duodenum, jejenum ve ileumda spontan kasılımların şiddeti (amplitüt).

	Kontrol (OV)	25 µg 17β östradiol	50 µg 17β östradiol	100 µg 17β östradiol	P
Duodenumda kasılım şiddeti (g)	0,66 ± 0,04 ^a	0,64 ± 0,02 ^a	0,58 ± 0,03 ^{ab}	0,49 ± 0,01 ^b	0,006**
Jejenumda kasılım şiddeti (g)	0,58 ± 0,02	0,57 ± 0,04	0,55 ± 0,04	0,50 ± 0,02	0,476
İleumda kasılım şiddeti (g)	1,05 ± 0,06 ^a	1,09 ± 0,06 ^a	0,87 ± 0,06 ^b	0,78 ± 0,04 ^b	0,000***

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistik olarak fark bulunmuştur. (**): $p<0.01$ (***) : $p<0.001$

3.2. Duodenumda Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP Uygulamalarının Etkileri

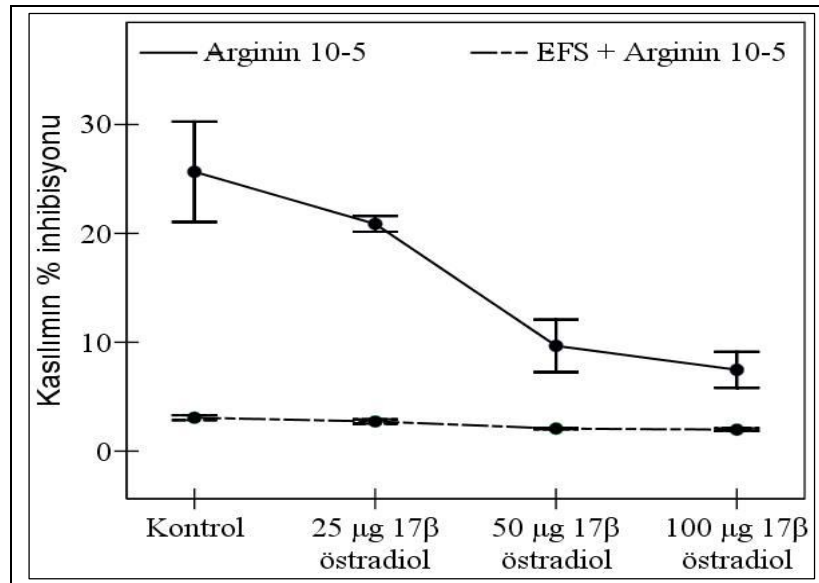
Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamalarının duodenum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon Çizelge 3.2' de gösterildi.

Çizelge 3.2: Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamalarının deodenum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon.

	Kontrol (OV)	25 µg 17β östradiol	50 µg 17β östradiol	100 µg 17β östradiol	P
Arg (10^{-5})	25,81±4,11 ^a	20,86±1,72 ^a	9,66±2,41 ^b	7,46±1,65 ^b	0,000***
SNP (10^{-3})	36,66±2,16 ^b	37,77±4,14 ^b	67,59±3,78 ^a	74,12±2,31 ^a	0,000***
8-Br-cGMP (10^{-6})	15,81±2,55 ^a	9,41±2,98 ^b	3,53±1,44 ^b	1,61±0,39 ^c	0,000***
EFS + Arg (10^{-5})	3,07±0,22 ^a	2,72±0,20 ^a	2,07±0,06 ^b	1,97±0,12 ^b	0,000***
EFS + SNP (10^{-3})	12,89 ± 0,27	13,62 ± 1,01	16,46±2,47	13,09±1,50	0,117
EFS + 8-Br-cGMP (10^{-6})	13,21±1,84 ^a	1,72 ± 0,20 ^b	1,07±0,06 ^b	0,97±0,12 ^b	0,000***

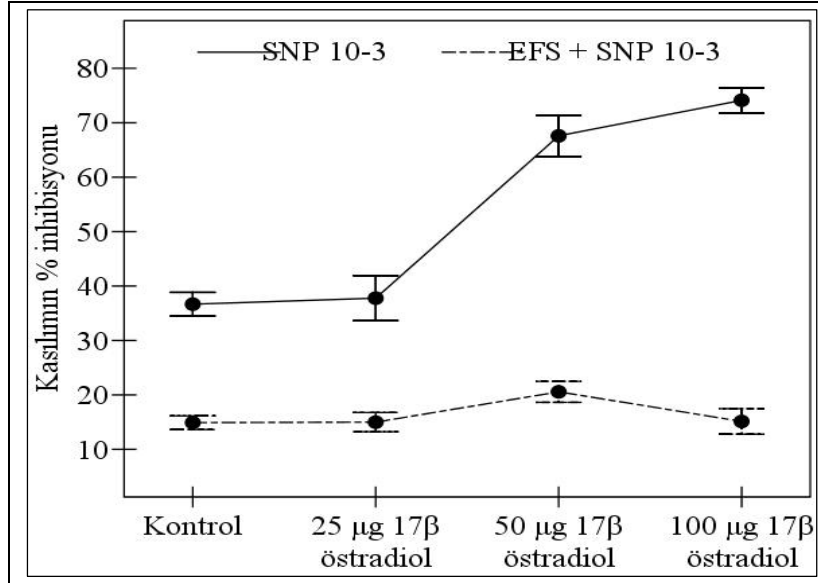
Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistik olarak fark bulunmuştur. (***) : $p < 0.001$

Arginin (10^{-5}) M uygulamasının spontan ve EFS ile uyarılmış kasılımlarda 50 µg 17β östradiol ve 100 µg 17β östradiol gruplarında kasılımın % inhibisyonunu kontrol ve 25 µg 17β östradiol gruplarına göre azalttığı ($p < 0,001$) belirlendi (Grafik 3.1).



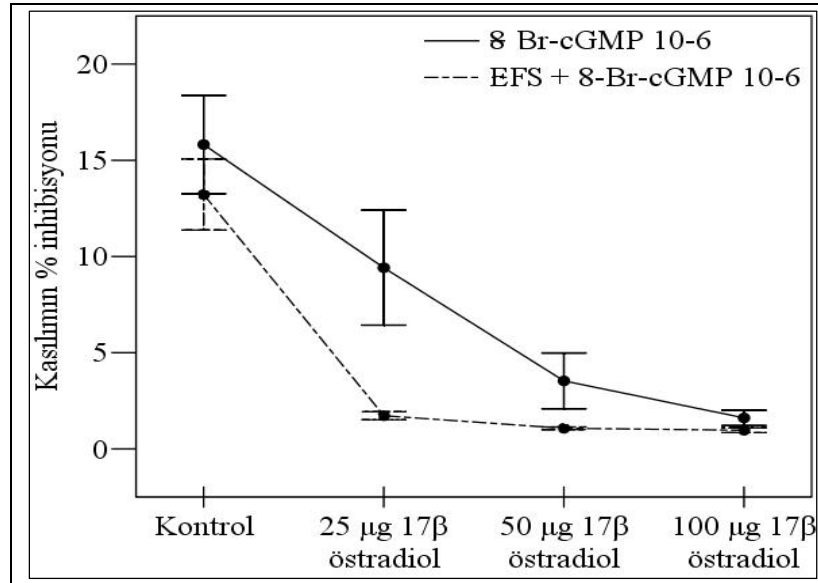
Grafik 3.1 Deodenumda Arginin 10^{-5} ve EFS + Arginin 10^{-5} uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon.

SNP (10^{-3}) M uygulamasının spontan kasılımlarda kontrol ve 25 µg 17β östradiol gruplarında fark oluşturmazken 50 µg 17β östradiol ve 100 µg 17β östradiol gruplarında kasılımın % inhibisyonunu arttırdığı ($p < 0,001$) görüldü. Buna karşın EFS ile uyarılmış kasılımlarda SNP (10^{-3}) M uygulamasının gruplar arasında fark oluşturmadığı belirlendi (Grafik 3.2).



Grafik 3.2 Deodenumda $SNP 10^{-3}$ ve $EFS + SNP 10^{-3}$ uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon.

cGMP analogu olan 8-Br-cGMP (10^{-6}) M uygulamasının ise spontan kasılımlar üzerine gruplarda 17β östradiolün artan dozuna bağımlı olarak kasılımın % inhibisyonunu azalttığı ($p < 0,001$) belirlendi. EFS ile uyarılmanın ise kasılımlar üzerine tüm östradiol gruplarında etkili olmadığı görüldü (Grafik 3.3).



Grafik 3.3 Deodenumda $8-Br-cGMP 10^{-6}$ ve $EFS + 8-Br-cGMP 10^{-6}$ uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon.

3.3. Jejenumda Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP Uygulamalarının Etkileri

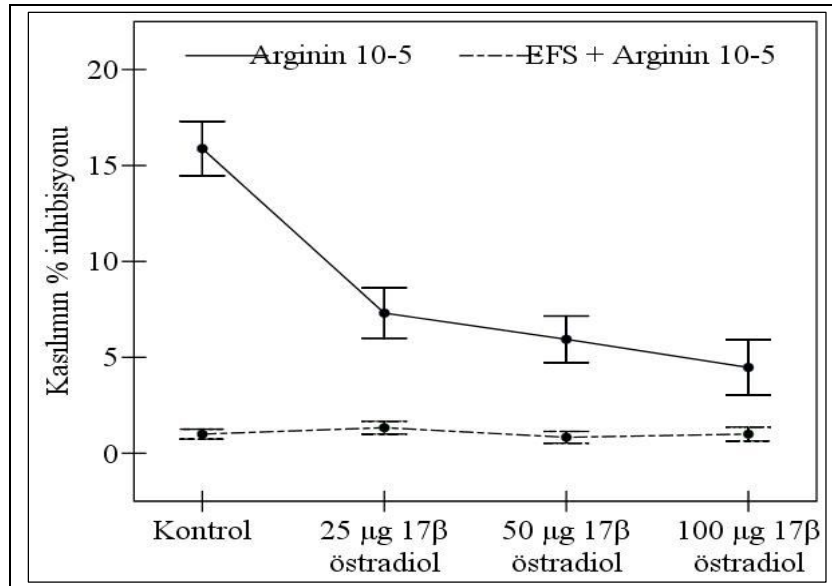
Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamalarının jejenum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon Çizelge 3.3' de gösterildi.

Çizelge 3.3: Gruplarda Arg (10^{-5}) M, SNP (10^{-3}) M, 8-Br cGMP (10^{-6}) M, EFS + Arg (10^{-5}) M, EFS + SNP (10^{-3}) M ve EFS + 8-Br cGMP (10^{-6}) uygulamalarının jejenum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon.

	Kontrol (OV)	25 µg 17β östradiol	50 µg 17β östradiol	100 µg 17β östradiol	P
Arg (10^{-5})	15,88 ± 1,41 ^a	7,30 ± 1,31 ^b	5,94 ± 1,21 ^b	4,47 ± 1,45 ^b	0,000***
SNP (10^{-3})	23,86 ± 3,24 ^a	32,97 ± 2,23 ^{ab}	32,98 ± 1,88 ^{ab}	38,60 ± 5,39 ^b	0,050*
8-Br-cGMP (10^{-6})	15,06 ± 2,13 ^a	7,95 ± 2,38 ^b	6,90 ± 1,93 ^b	3,82 ± 1,02 ^b	0,004**
EFS + Arg (10^{-5})	1,03 ± 0,25	1,33 ± 0,33	0,83 ± 0,30	1,01 ± 0,36	0,731
EFS + SNP (10^{-3})	14,90 ± 1,26	14,99 ± 1,76	20,56 ± 1,92	15,12 ± 2,34	0,351
EFS + 8-Br- cGMP (10^{-6})	7,33 ± 0,95 ^a	1,40 ± 0,36 ^b	0,70 ± 0,22 ^b	0,80 ± 0,20 ^b	0,000***

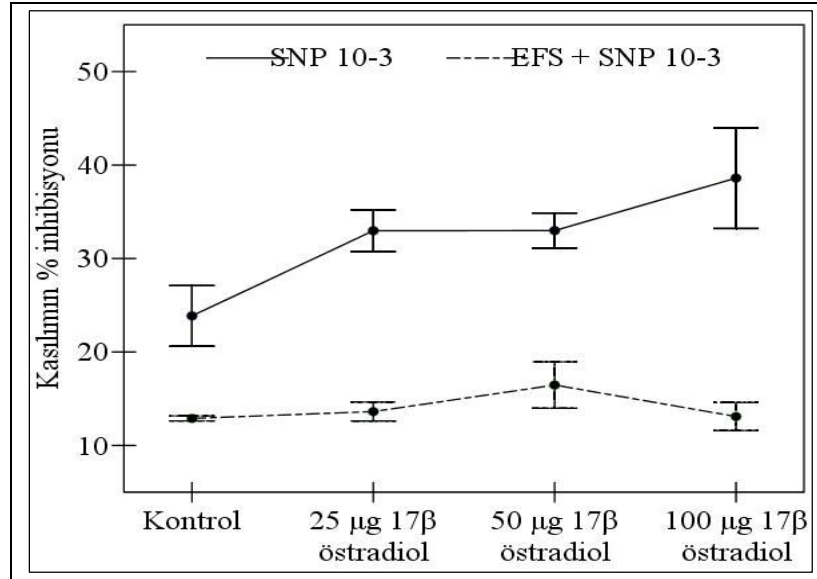
Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistik olarak fark bulunmuştur. (*): $p < 0,05$; (**): $p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$

Arginin (10^{-5}) M uygulamasının 25 µg 17β östradiol, 50 µg 17β östradiol ve 100 µg 17β östradiol gruplarında kontrol grupuna göre kasılımın % inhibisyonunun azaldığı ($p < 0,001$) belirlenirken EFS ile uyarılmış kasılımlarda gruplar arasında fark görülmedi (Grafik 3.4)



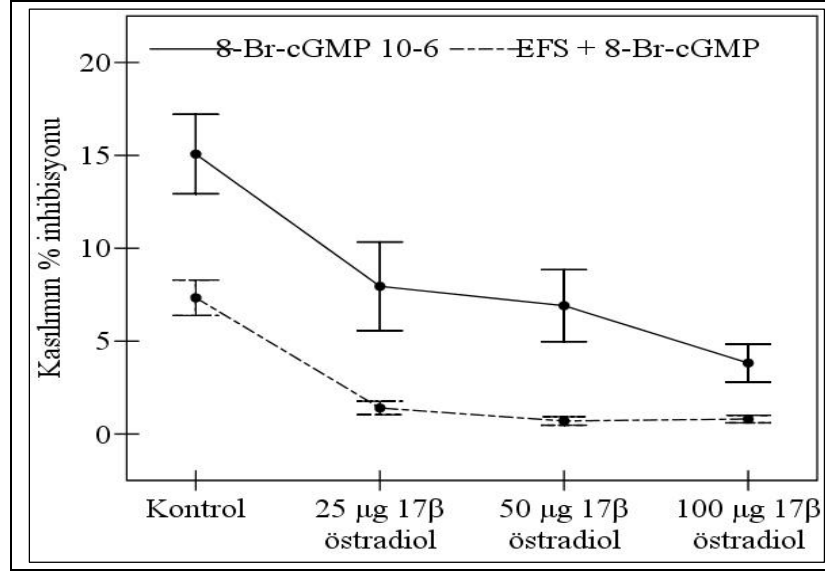
Grafik 3.4. Jejenumda Arginin 10^{-5} ve EFS + Arginin 10^{-5} uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon.

SNP (10^{-3}) M uygulamasının spontan kasılımlarda kontrol, 25 μg 17β östradiol ve 50 μg 17β östradiol grupları arasında fark oluşturmazken 100 μg 17β östradiol grubunda kontrol grubuna göre kasılımın % inhibisyonunun arttığı ($p<0,05$) görüldü. Buna karşın EFS ile uyarılmış kasılımlarda SNP uygulamasının gruplar arasında fark oluşturmadığı görüldü (Grafik 3.5).



Grafik 3.5. Jejenumda SNP 10^{-3} ve EFS + SNP 10^{-3} uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon.

cGMP analogu olan 8-Br-cGMP (10^{-6}) M uygulamasının ise spontan ($p<0,01$) ve EFS ile uyarılmış kasılımlarda ($p<0,001$) 25 μg 17β östradiol, 50 μg 17β östradiol ve 100 μg 17β östradiol gruplarında kasılımın % inhibisyonunu kontrol grubuna göre azalttığı belirlendi (Grafik 3.6).



Grafik 3.6 Jejenumda 8-Br-cGMP 10⁻⁶ ve EFS + 8-Br-cGMP 10⁻⁶ uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyon.

3.4. İleumda Arginin, SNP ve 8-Br-cGMP Uygulamalarının Etkileri

Gruplarda Arg (10⁻⁵) M, SNP (10⁻³) M, 8-Br cGMP (10⁻⁶) M, EFS + Arg (10⁻⁵) M, EFS + SNP (10⁻³) M ve EFS + 8-Br cGMP (10⁻⁶) uygulamasının ileum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon Çizelge 3.4 gösterildi.

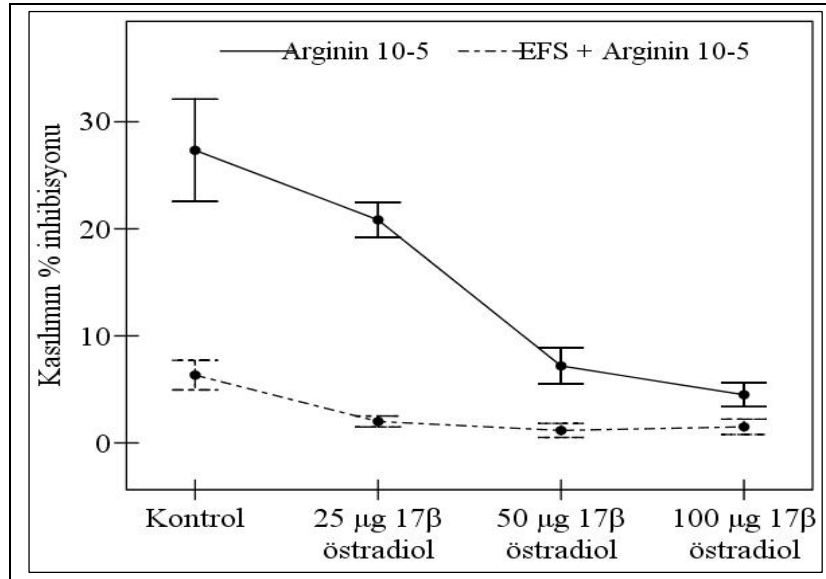
Çizelge 3.4: Gruplarda Arg (10⁻⁵) M, SNP (10⁻³) M, 8-Br cGMP (10⁻⁶) M, EFS + Arg (10⁻⁵) M, EFS + SNP (10⁻³) M ve EFS + 8-Br cGMP (10⁻⁶) uygulamalarının ileum kasılımlarında oluşturduğu % inhibisyon

	Kontrol (OV)	25 µg 17β östradiol	50 µg 17β östradiol	100 µg 17β östradiol	P
Arg (10 ⁻⁵)	27,33±4,77 ^a	19,13±1,64 ^a	7,19±1,68 ^b	4,50±1,11 ^b	0,000***
SNP (10 ⁻³)	25,66±3,85 ^b	34,16±3,04 ^{ab}	39,33±2,12 ^a	43,33±4,33 ^a	0,010*
8-Br-cGMP (10 ⁻⁶)	9,66±1,28 ^a	5,80±1,41 ^b	2,36±1,20 ^c	0,75±0,40 ^c	0,000***
EFS + Arg (10 ⁻⁵)	6,33±1,38 ^a	2,00±0,81 ^b	1,16±0,65	1,50±0,71	0,020*
EFS + SNP (10 ⁻³)	11,83±1,30	10,33±1,56	9,83±1,07	7,16±2,10	0,231
EFS + 8-Br-cGMP (10 ⁻⁶)	4,33±0,66 ^a	1,83±0,74 ^b	1,16±0,66 ^b	0,83±0,47 ^b	0,007**

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında istatistik olarak fark bulunmuştur. (*): p<0,05; (**):p<0,01; (***) : p<0,001

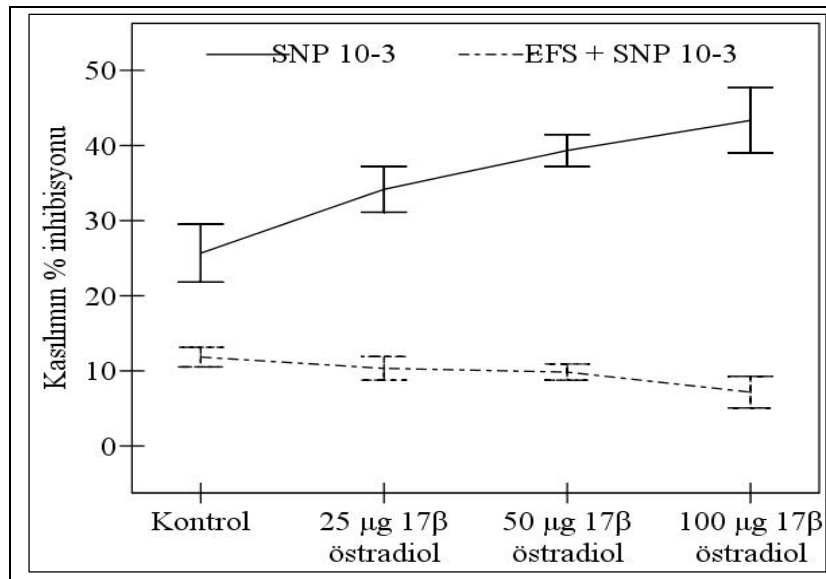
Arginin (10⁻⁵) uygulamasının spontan kasılımlarda kontrol ve 25 µg 17β östradiol grupları arasında fark oluşturmazken 50 µg 17β östradiol ve 100 µg 17β östradiol gruplarında kasılımın inhibisyonunu bu gruplara göre azalttığı (p<0,001)

görüldü. EFS ile uyarılmış kasılımlarda ise kontrol grubuna göre tüm östrojen gruplarında argininin etkinliğinin azaldığı ($p<0,05$) belirlendi (Grafik 3.7)



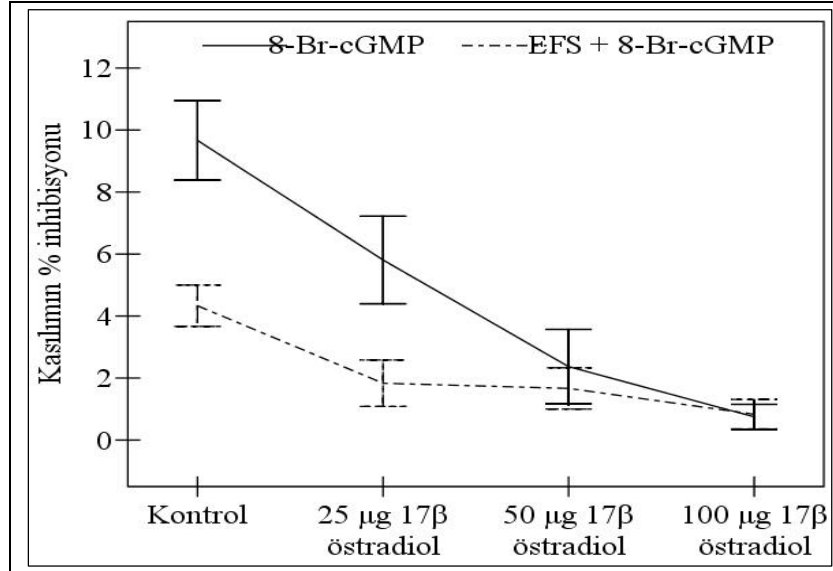
Grafik 3.7 İleumda Arginin (10^{-5}) ve EFS + Arginin (10^{-5}) uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyonu.

SNP (10^{-3}) M uygulaması spontan kasılımlarda 25 µg 17β östradiol, 50 µg 17β östradiol ve 100 µg 17β östradiol gruplarında kendi aralarında fark oluşturmazken bu gruplarda kontrol grubuna göre kasılımın % inhibisyonunda artış ($p<0,05$) görüldü. Buna karşın EFS ile uyarılmış kasılımlarda SNP 10^{-3} uygulamasının gruplar arasında fark oluşturmadığı belirlendi (Grafik 3.8).



Grafik 3.8 İleumda SNP (10^{-3}) ve EFS + SNP (10^{-3}) uygulamalarının kasılımlar da oluşturduğu % inhibisyonu.

cGMP analogu olan 8-Br-cGMP (10^{-6}) M uygulamasının ise spontan kasılımlarda 50 μg 17β östradiol ve 100 μg 17β östradiol gruplarında kasılımın % inhibisyonunda kontrol ve 25 μg 17β östradiol gruplarına göre azalttığı ($p<0,001$) belirlendi. EFS ile uyarılmış kasılımlarda ise tüm östrojen gruplarında kontrol grubuna göre % inhibisyonun azaldığı ($p<0,001$) görüldü (Garafik 3.9) .



Grafik 3.9 İleumda 8-Br-cGMP (10^{-6}) ve EFS + 8-Br-cGMP (10^{-6}) uygulamalarının kasılımlarda oluşturduğu % inhibisyon.

TARTIŞMA

Bu araştırmada farklı dozlarda kullanılan 17 β östradiolün ince bağırsak motilitesi üzerine etkisi değerlendirilirken aynı zamanda olası etkiler üzerine nitrik oksidin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

Temel dişi cinsiyet hormonu olan östrojenler vücutta östron, 17 β östradiol ve östrol olarak bulunmaktadır. Bunlardan vücutta en fazla bulunan ve en etkin olan 17 β östradioldür (56). Östrojenin sıçanlarda etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda 17 β östradiolün 2-100 μ g/sıçan dozlarında kullanılırken etkilerinin 18. saatte pik yaptığı bildirilmektedir (83, 84). Bülbül ve ark. (80,81) düşük dozda 17 β östradiolün kolon motilitesini azaltırken, NOS ekspirasyonunu arttırdığını bildirmektedir. Bu çalışmada ise 17 β östradiolün etkinliğini ortaya koyabilmek için 25, 50 ve 100 μ g/sıçan 17 β östradiol kullanılmış ve literatürlere uygun olarak son uygulamadan 18 saat sonra dokularda kasılımlar ve L-arginin/NOS/NO/cGC/cGMP yolu değerlendirilmiştir.

17 β östradiol östrus siklusunun düzenlenmesinde önemlidir. Östrojenler birincil cinsiyet karakterlerinin gelişimi yanı sıra büyümenin uyarılması, seksüel organlarda kan akımının düzenlenmesi, periferik ve merkezi sinir sistemini de içeren çeşitli dokuların fonksiyonunu ve maturasyonun düzenlenmesini sağlar (56). Östrojenler aynı zamanda düz kaslarda kasılımlar için gerekli olan kontraktıl proteinlerin, düzenleyici enzimlerin, koneksin 43 ün sentezini artırarak ve oksitosin reseptörlerini düzenleyerek kasılımları artırır (85). Buna karşın yapılan araştırmalar da 17 β östradiol'ün vücutta bulunan düz kaslarda kasılmaya etkileri bakımından farklı bildirimler mevcuttur. Uterus düz kaslarında kasılımları artırırken (86,87), safra kanalı (88), trakea (89) ve damar düz kaslarında (90) ise gevşeme oluşturduğu bildirilmektedir. Sindirim sistemi motilitesi üzerine ise östrojenin ileum (91) ve kolonda (92) kasılımları inhibe ettiği bildirilmektedir.

İnce bağırsak motilitesi yaş, uyku, besinlerin içeriği ve kalori miktarı ile beslenme hızı gibi biyolojik faktörlere göre değişmektedir. İnce bağırsak motilitesinin bir düzenleyicisi olarak cinsiyetin rolü ise tartışmalıdır (65). Ovaryum steroidlerinden olan progesteronun eksojen uygulanması ya da gebe memelilerden alınan mide bağırsak kas şeritlerinde kolinerjik ajanlara artmış kontraktıl yanıtlar

gösterdiği bildirilmektedir (16). Tam tersine progesteronun en yüksek düzeyde olduğu over siklusunun luteal fazı boyunca besinlerin bağırsak geçişleri östrojenin yüksek olduğu foliküler fazdan daha yavaş olduğu ve gebelik sürecince konstipasyon insidansının arttığı ve gastrointestinal motilitenin azaldığı ifade edilmektedir (13).

Menapoz öncesi ve sonrası dişilerde yapılan araştırmalarda ise menopoz sonrası dişilerde katı besinlerin boşalım hızı erkeklerle benzer hızda iken östrojen hormonu ile replaman tedavisi alan postmenopozal kadınlarda katı besinlerin gastrik boşalım hızı erkeklerle kıyaslandığında azaldığı belirlenmiştir (62,64,70). Sindirimin ara dönemlerinde mide boşalımı ve ince bağırsak motilite hızının artışıyla karakterize olan ilerleyici miyoelektrik kompleks (MMC) de (7,8) kadınlarda erkeklerden daha kısa sürmektedir (65). sıçanlarda yapılan araştırmada ise östrojenin ileum ve kolonda motiliteyi azalttığı görülmüştür (91,92).

Bu araştırmada spontan duodenum ve ileum kasılımlarının östrojenin dozuna bağımlı olarak azaldığı belirlenirken jejunumda ise fark belirlenmemiştir. Araştırma bulgusu östrojenin ince bağırsak anatomik yapısına göre etkinliğinin değiştiğini göstermekle beraber deodenum ve ileumda gevşetici bir görev üstlendiğine işaret etmektedir.

Gebelik hormonlarından oksitosinin son dönem gebelikte plazma yoğunluğu en yüksek seviyededir. Oksitosin verilmesi kolesistokinin salınımı yaptırması yoluyla sıçan mide bağırsak sistem motilitesini baskılamaktadır (63). Yine relaksin hormonu intrinsik NO biyosentezinin etkinliği yoluyla düz kaslarda direkt bir etki yaparak ileum motilitesinde belirgin bir azalmaya neden olmaktadır (62,93). Progesteron düz kas hücrelerinde hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu sağlayarak gebelikte motiliteyi baskılayabilmektedir (69). Östradiolün kolesistokinin stimülasyonu ve kolesistokinin A reseptör etkinliği gerektiren bir mekanizma yoluyla overektomize sıçanlarda gastrik boşalım ve mide bağırsak geçişini baskıladığı bildirilmiştir (68). Ayrıca östrojenler düz kaslarda hücre dışına K^+ çıkışını uyararak hücreyi hiperpolarize edebilir ve böylece spontan kasılımların oluşumunu engeller (94). Yine voltaja bağımlı Ca^{++} ve K^+ kanallarını inhibe ederek hücre içine Ca^{++} girişini engellemekte ve gevşeme oluşmasını sağlamaktadır (95).

Sindirim sisteminde cinsiyet hormonlarının etkilerine aracılık eden moleküllerden birisinin de nitrik oksit olduğu ifade edilmektedir. Nonkolinerjik nonadrenerjik sinirlerde bulunan nNOS tarafından salınan nitrik oksit mide bağırsak sisteminde motilite ve geçiş süresinin kontrolünde önemli bir faktördür (70). Nitrik oksit inorganik ve baskılayıcı bir kimyasal araçtır. Transmitter fonksiyonları nitrik oksit salınımına bağlı olan NANK sinirler mide bağırsak sisteminde sıvı salınımı, motilite ve düz kas geriliminin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Elektriksel alan uygulamasından sonra mide bağırsak sisteminin uyarılmasıyla NANK sinirlerden NO salınır ve mide bağırsak sisteminde düz kasların gevşemesine aracılık eder (16).

Elektriksel alan uyarımı ile myenterik ağdan kimyasal aracı olarak NO'nun salınımı kobay ileumunda ortaya konmuştur (96). Myenterik pleksustaki nöronların uyarılmasına bağlı ince bağırsaktaki fizyolojik gevşemenin ve bazı arterlerin elektriksel alan uyarımına (EFS) bağlı olarak gevşemesinin NOS inhibitörü L-NNA gibi maddelerle bloke edildiği bulunmuştur (12). Duedonum ve mide fundus şeritlerinin EFS ile oluşturulan kasılımlında NO' nun gevşetici etkisi nitrik oksit sentaz inhibitörü olan L-NMMA tarafından ortadan kaldırılmıştır (16,97,98). Köpek duodenum longitudinal kası ve ileokolonik kavşağıyla sıçan mide fundusunda NO'nun NANK baskılayıcı bir kimyasal aracı olarak etki ettiği ortaya konmuştur (16,97-99).

Gebelik süresince NOS etkinliği ve NANK sinirlerden salınan NO üretimi artmaktadır. Son dönem gebe sıçanlardan elde edilen proksimal kolon ve gastrik fundusta salınan NO miktarı gebe olmayan veya gebeliğin ortasındaki sıçanlara göre daha fazladır (15). Son dönem gebelikte kalsiyuma bağımlı NOS (cNOS) etkinliğinde dört kattan fazla artış gözlenmiştir. Progesteronsuz yalnızca östrodiol tedavisi alan kadınların incelenen dokularında cNOS etkinliği artmıştır. Kalsiyum bağımsız NOS (iNOS) etkinliğinde ise ne gebelik ne de herhangi bir cinsiyet hormonunun verilmesiyle bir değişiklik oluşmamıştır. Bununla birlikte hem gebelik hem de östrodiol tedavisi alanlarda iskelet kasında cNOS izomerleri olan eNOS ve nNOS için mRNA miktarını arttırarak enzim indüksiyonundan kaynaklanan NOS etkinliğinde bir artış oluşmuştur (28). Yine overoktemi yapılmış sıçanlarda östrojen

uygulamasının bağırsaklarda eNOS, nNOS ve iNOS sentezlenmesini artırdığı belirlenmiştir (86,87).

Yapılan araştırmalarda duodenum, jejunum ve ileumda NO'nun insanlarda (100), sıçanta (101-103), köpekte (104-106), kobay (107) ve farede (108) gerek spontan kasılımları gerekse EFS veya nikotinik reseptörlerin uyarılmasıyla oluşan kasılımları azalttığı belirlenmiştir.

Nitrik oksit endojen olarak L-argininden NOS enzimi tarafından sentezlenmektedir. Fizyolojik koşullarda sıçan serumundaki L-arginin yoğunluğu yaklaşık 0,2 – 3 mM civarındadır. İn vitro ortamdaki L-Argininin yaklaşık 0.01–1mM yoğunluğu düz kasların kasılım etkinliğini tamamen ortadan kaldırmaktadır. Bülbül ve ark. (80,81,86,87).yaptıkları araştırmada bağırsakta L-argininin en etkili dozun (10^{-5} M) olduğunu ortaya koymuşlardır Bu araştırmada bildirimlere uygun olarak L-arginin (10^{-5} M) yoğunluğunda kullanılmıştır.

Arginin 10^{-5} M uygulanması sonrasında deodenum jejunum ve ileum'da spontan kasılımların şiddetinin azaldığı bulunurken EFS ile uyarılmış kasılımlar da bu etkinin azaldığı ortaya konulmuştur. Östrojenin bağırsakta NOS ekspirasyonunu artırdığı literatürlerde ifade edilmekle beraber (109) araştırmada tüm gruplarda östrojenin dozuna bağımlı olarak arjininin kasılımı engelleme düzeyinin azaldığı görüldü. Araştırma bulgusu östrojenin cGC/cGMP/cGMP-PK yolunun basamaklarından birisinin engellendiğini düşündürmektedir.

Ekzojen bir NO donörü olan SNP verilmesi ileal spontan kasılımlarda yoğunluğa bağımlı bir azalmaya neden olmuştur. Bir cGC inhibitörü olan 1H-[1,2,4]oxadiazolol [4,3,a] quinoxalin-1-one (QDO) SNP'nin neden olduğu etkileri azaltmıştır. Siklik guanizin monofosfat (cGMP) membran analogu 8-Br-3',5'-cyclic monophosphate de spontan mekanik etkinliği azaltmıştır (110).

Eksojen nitrik oksit kaynağı olan SNP, in vitro çalışmalarda 10^{-8} - 10^{-3} M yoğunluğunda kullanılmaktadır. Düz kaslarda oluşturduğu gevşetici etki en yüksek 10^{-3} M'de görülürken bundan daha yüksek dozların toksik olduğu bildirilmektedir (111) Sindirim sisteminde yapılan motilite çalışmalarında bu dozun düz kaslarda gevşeme oluşturduğu bildirilmektedir (80,81,86,87). Bu araştırmada bildirimlere uygun olarak SNP barsağın tüm anatomik kısımlarında gevşetici etki ortaya koyarken bu etkinliğin östrojen uygulaması ile arttığı ortaya konmuştur.

SNP'nin düz kaslarda cGMP'ye bağımlı ve bağımsız bir gevşeme oluşturduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (80,81). Bu araştırmada Arginin östrojenin dozuna bağımlı olarak etkinliği azalırken SNP'nin etkinliğini artırmasını östrojenin cGMP'ye bağımlı yolu engellerken bağımlı olmayan yolu etkinleştirdiğini ortaya koymaktadır.

Düz kaslarda SNP' nin gevşetici etkisine cGMP seviyeleri ve cGMP-PKG' nin etkinliğindeki artışın aracılık ettiğine dair deliller vardır. Bir çalışmada çok sayıda siklik nükleotid analogunun PKG'yi etkinleştirdiği ve kobay koroner arterinin izole şeritlerini gevşetebildiği bulunmuştur (112). Tam tersine NO' nun kolon düz kas hareketini gevşetici etkisine PKG I α / β ' nin etki etmediği bildirilirken 17 β östradiolün PKG I α / β ekspirasyonunu baskıladığı görülmüştür (81). Sıçan vas deferens ve distal kolonunda SNP ve ANF gibi bazı yükseltici ajanlar gevşeme yapmaksızın cGMP yoğunluğunda artışa neden olur. Gevşemenin olmayışı ya bu ajanlar tarafından PKG etkinliğinin yokluğu ya da bu dokularda PKG' nin düşük seviyeleriyle açıklanabilir (112).

Nitrik oksitinin barsağın çeşitli bölümlerinde guanilil siklazın uyarılması yoluyla etkili olabileceği bildirilmiştir (113). İnsan jejunum longitudinal düz kasında NO muhtemelen diğer mekanizmaları da gerektirmekle beraber guanilil siklaz mekanizması yoluyla baskılayıcı etki göstermektedir (114).

Bir NO donorü olan N-morpholino-N-nitroso-aminoacetonitrile yada cGMP analogu olan 8-(4-chlorophenylthio)-cGMP sıçan ince bağırsağının prekontrakte şeritlerinde konsantrasyon bağımlı bir gevşemeye neden olmuştur. Bu iki maddenin baskılayıcı etkileri daha düşük yoğunluklarda tamamen engellenmiş ve seçici cGMP-PKG antagonisti olan KT-5823 tarafından daha yüksek yoğunluklarda önemli derecede azalmıştır (60).

cGMP'ye bağımlı yolda gerek endojen gerekse eksojen nitrik oksit donörleri NOS enzimleri aracılığıyla nitrik oksid oluşturmakta, oluşan nitrik oksit ise cGC'ı etkinleştirerek cGMP düzeyini artırmaktadır. cGMP ise cGMP-PK'ı fosforilize ederek düz kasta gevşeme oluşturmaktadır. İn vitro araştırmalarda cGMP'yerine 8-Br-cGMP kullanılmakta olup en etkili dozunun 10⁻⁶ M olduğu bildirilmektedir (80,81,86,87). Yapılan araştırmalarda 8-Br cGMP uterus, damar ve bağırsak düz kaslarında gevşeme oluşturduğu bildirilmektedir. Bu araştırmada ise spontan

kasılımlar üzerine 8-Br cGMP'nin gevşetici etkisi ortaya konurken östrojen uygulanan gruplarda bu etkinliğin azaldığı veya tamamen kaybolduğu bulunmuştur. Kolonda yapılan bir araştırmada östrojen uygulamasının cGMP-PK1' in ekspirasyonunu azalttığı bildirilmektedir (81). Gerek bu bildirim gerekse araştırmada elde edilen arginin, SNP ve 8-Br-cGMP bulguları östrojenin ince barsağın tüm bölümlerinde cGMP-PK' nın etkinliğini engellendiğini düşündürmektedir.

SONUÇ

- 1) Östrojenin deodenum ve ileumda spontan kasılımların şiddetini azaltırken jejenumda etkili olmadığı,
- 2) İnce bağırsakta L- Arginin ve 8-Br-cGMP' nin spontan kasılımların şiddetini engelleyici etkisi östrojenin dozuna bağımlı olarak azalırken, SNP'nin etkinliğinin arttığı,
- 3) Östrojenin aynı zamanda cGMP-PK etkinliğini engellediği,
- 4) Dolayısı ile östrojenin ince bağırsak motilitesi üzerine olan etkilerine nitrik oksitin ve ikincil habercilerden cGMP'nin aracılık etmediği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Birol L., Akdemir N., Bedük T. (1997) İç hastalıkları hemşireliği (8th ed). Hacettepe Üniversitesi basımevi, Ankara.
2. Hatemi A.İ., Dobrucalı A., (2005) İnce bağırsak fizyolojisi ve motilite bozuklukları. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* **1**, 3-11.
3. Bölükbaşı M.F. (1989) Fizyoloji ders kitabı (Vücut ısısı ve sindirim) Ankara Üniversitesi basımevi, Ankara.
4. Ganong W.F. (1996) Ganong tıbbi fizyoloji (17th ed). Barış Kitabevi, İstanbul.
5. Guyton A.C. (1987) Tıbbi Fizyoloji (1 ed) Merk Yayıncılık, İstanbul.
6. Marieb E. N., Hoehn K. (2004) Human anatomy and physiology . (7th ed) Pearson Education Inc.
7. Karataş C. (2006) Klasik ve çapraz gastrojejunostomi yapılan ratlarda mide boşalımının karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul.
8. Reece W.O. (2008) Dukes veteriner fizyoloji (12nd ed) Medipres yayıncılık, Malatya.
9. Noyan A., (2004) Yaşamda ve hekimlikte Fizyoloji (15th ed) Metaksan yayıncılık, Ankara.
10. Yıldız Ö. (2006) Gastrointestinal motilite. Doktora Semineri, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
11. Kaya S., Pirinçi I (1997) Veteriner uygulamalı farmakoloji, Medisan yayımları, Ankara.
12. Kayaalp S.O. (2002) Kayaalp rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (10 ed) Hacettepe-Taş, Ankara.
13. Degen L. P., Phillips S. F., (1996) Variability of gastrointestinal transit in healthy women and men. *Gut* **39**, 299.
14. Charles F., Camilleri M., Phillips S.F., et al. Scintigraphy of the whole gut: clinical evaluation of transit disorders. *Mayo Clin Proc* **70**,113.

15. Kaputlu İ. (1996) Gastrointestinal sistemde non-adrenerjik non-kolinerjik nörotransmisyonunda nitrik oksitin mediatör rolü. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* **16**, 338-42.
16. Toda N., Herman A.G. (2005) Gastrointestinal functional regulation by nitregeric efferent nerves. *Pharmacol Rev.* **57**, 315-38.
17. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., et al. (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* **84**, 9265-9.
18. McCall T.B., Feelisch M., Palmer R.M.J., et al. (1991) Identification of N-iminoethyl-L-ornithine as an irreversible inhibitor of nitric oxide synthase in phagocytic cells. *Br.J.Pharmacol.* **102**, 234-8.
19. Büyükaşar K. (2005) Nitrik oksitin fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. *Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı Nitrik Oksitin Farmakolojisi*, Mersin.
20. Çekmen M.B., Turgut M., Türköz Y., ve ark. (2001) Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS)'ın fizyolojik ve fizyopatolojik özellikleri. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* **10**, 226-35.
21. Akçakoyun M. (2004) Koroner arter hastalığı olgularında koroner risk faktörleri ile endotel fonksiyonları arasındaki ilişki. *Kardiyoloji Uzmanlık Tezi*, İstanbul.
22. İmamoğlu D. (2005) Pelvik bölgeye radyoterapi uygulanan serviks kanserli hastalarda oluşan yan etkilerle serum nitrik oksit seviyesi arasındaki ilişki. *Uzmanlık Tezi*, İstanbul.
23. Gürel E., Kandil A., Kaptan E., ve ark. (2003) Bağırsaktaki nitrik oksitin mitotik aktivitedeki ve mukus üretimindeki rolü. *29. TFBD Kongresi (poster)*.
24. Hekimoğlu A. (2007) Terapötik Gazlar: Oksijen , Karbondioksit, Nitrik Oksit ve Helyum. *Dicle Tıp Dergisi* **34**,61-9.
25. Curran R.D., Billiar T.R., Stuehr D.J., et al. (1990) Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit total protein synthesis. *Ann.Surg.* **212**, 462-71.

26. Ignorrra L.J. (1990) Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* **30**, 535-60.
27. Kiechle F.L., Malinski T. (1993) Nitric oxide biochemistry, pathophysiology and detection. *Clin.Chem.* **100**, 567-75.
28. Aladağ M. A., Türköz Y., Özerol İ. H. (2000) Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *Türkiye Klinikleri J. Med Sci.* **20**, 107-11.
29. Basım S., (2005) Alt ekstremitelerde iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda ginkgo biloba EGB 761'in bağırsak anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi. *Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi*, İstanbul.
30. Özkan M., Yüksekokul İ. (2003) Nitrik oksit ve akciğerler. *Toraks Dergisi* **4**, 88-94.
31. Förstermann U., Schmidt H.H.H.W., Pollock J.S., et al. (1991) Isoforms of nitric oxide synthase characterization and purification from different cell types. *Bioc.Pharmacol.* **42**, 1849-57.
32. Türköz Y., Özerol E. (1997) Nitik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center.* **4**, 453-61.
33. Sanders K.M., Ward S.M. (1992) Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncolinergic neurotransmission. *Am.J.Physiol.* **262**, 379-92.
34. Braam B. (1999) Renal endothelial and macula densa NOS: Integrated response to changes in extracellular fluid volume. *Am. J. Physiol.* **276**, 1551-61.
35. Ignarro, L.J., Hrbison R.G., Wood K.S., Kadowitz P.J. (1986) Dissimilarities between methylene blue and cyanide on relaxation and cyclic GMP formation in endothelium-intact pulmonary artery caused by nitrogen oxide-containing vasodilators and acetylcholine. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* **36**, 30-6.
36. Izzo A.A., Mascolo N., Capasso F. (1998) Nitric oxide as a modulator of intestinal water and electrolyte transport. *Digestive Diseases an Sciences* **43**, 1605-20.
37. Kuyumcu A., Düzgün A.P., Özmen M.M., ve ark. (2004) Travma ve enfeksiyonda nitrik oksitin rolü. *Ulus Travma Derg.* **10**, 149-59.

38. Bredt D.S., Hwang P.M., Snyder S.H. (1990) Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature (Lond)* **347**, 768–70.
39. Barbiers M., Timmermans J.P., Scheuermann D.W., Et al. (1993) Distribution and morphological features of nitrenergic neurons in the porcine large intestine. *Histochemistry* **100**, 27–34.
40. Nichols K., Staines W., Wu J.Y., et al. (1995) Immunopositive Gabaergic neural sites display nitric oxide synthase-related NADPH diaphorase activity in the human colon. *J Auton Nerv Syst* **50**, 253–262.
41. Vittoria A., Costagliola A., Carrese E., et al. (2000) Nitric oxide-containing neurons in the bovine gut, with special reference to their relationship with VIP and galanin. *Arch Histol Cytol* **63**, 357–68.
42. Correia N.A., Oliveira R.B., Ballejo G. (2000) Pharmacological profile of nitrenergic nerve-, nitric oxide-, nitrosoglutathione- and hydroxylamine-induced relaxations of the rat duodenum. *Life Sci* **68**, 709–17.
43. Bredt D.S., Snyder S.H. (1990) Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**, 682–85.
44. McCleskey E.W., Fox A.P., Feldman D.H., et al. (1987) Conotoxin: direct and persistent blockade of specific types of calcium channels in neurons but not muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**, 4327–31.
45. Boeckxstaens G.E., De Man J.G., Pelckmans P.A., et al. (1993) Ca^{2+} dependency of the release of nitric oxide from non-adrenergic non-cholinergic nerves. *Br J Pharmacol* **110**, 1329–34.
46. Fujino A., Nakaya S., Wakatsuki T., et al. (1991) Effects of nitroglycerin on ATP-induced Ca^{++} -mobilization, Ca^{++} -activated K channels and contraction of cultured smooth muscle cells of porcine coronary artery, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **256**, 371-77.
47. Anggard E.E., (1992) Endogenous and exogenous nitrates, *Acta Anaesthesiol.Scandinavia*, **36**, 7-10.

48. Ward S.M., McKeen E.S., Sanders K.M. (1992) Role of nitric oxide in nonadrenergic, non-cholinergic inhibitory junction potentials in canine ileocolonic sphincter. *Br J Pharmacol* **105**, 776–82.
49. Ny L., Pfeifer A., Aszodi A., et al. (2000) Impaired relaxation of stomach smooth muscle in mice lacking cyclic GMP-dependent protein kinase I. *Br J Pharmacol* **129**, 395–401.
50. Martins S.L.R., De Oliveira R.B., Ballejo G. (1995) Rat duodenum nitrenergic-induced relaxations are cGMP-independent and apamin-sensitive. *Eur J Pharmacol* **284**, 265–70.
51. Borjesson L., Nordgren S., Delbro D.S. (1997) DMPP causes relaxation of rat distal colon by a purinergic and a nitrenergic mechanism. *Eur J Pharmacol* **334**, 223–31.
52. Christinck F., Jury J., Cayabyab F., et al. (1991) Nitric oxide may be final mediator of nonadrenergic, noncholinergic inhibitory junction potential in the gut. *Can J Physiol Pharmacol* **69**, 1448–58.
53. Thornbury K.D., Ward S.M., Dalziel H.H., et al. (1991) Nitric oxide and nitrosocysteine mimic nonadrenergic, noncholinergic hyperpolarization in canine proximal colon. *Am J Physiol* **261**, 553–7.
54. Shimamura K., Fujisawa A., Toda N., et al. (1993) Effects of NG-nitro-Larginine on electrical and mechanical responses to stimulation of non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory nerves in circular muscle of the rat gastric fundus. *Eur J Pharmacol* **231**, 103–9.
55. Suzuki H., Ward S.M., Bayguinov Y.R., et al. (2003) Involvement of intramuscular interstitial cells in nitrenergic inhibition in the mouse gastric antrum. *J Physiol* **546**, 751–63.
56. Yılmaz B. (1999) Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi (1 ed). Feryal Matbaacılık, Ankara.
57. Gambaryan S., Palmethofer A., Glazova M., et al. (2002) Inhibition of cGMP-dependent protein kinase II by its own splice isoform. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **293**, 1438–44.

58. Wall M.E., Francis S. H., Corbin J. D., et al. (2003) Mechanisms associated with cGMP binding and activation of cGMP-dependent protein kinase. *PNAS* **100**, 2380-5.
59. Pfeifer A., Aszodi A., Seidler U., et al. (1996) Intestinal secretory defects and dwarfism in mice lacking cGMP-dependent protein kinase. *Science* **274**, 2082-6.
60. Huber A., Trudrung P., Storr M., et al. (1998) Protein kinase G expression in the small intestine and functional importance for smooth muscle relaxation. *Am J Physiol* **275**, 629-37.
61. Beckett E.A.H., McCloskey C., O'Kane N., et al. (2006) Effects of female steroid hormones on A-type K⁺ currents in murine colon. *J Physiol* **573**, 453-68.
62. Bani D., Baccari M.C., Quattrone S., et al. (2002) Relaxin depresses small bowel motility through a nitric oxide-mediated mechanism. Studies in mice. *Biology of Reproduction* **66**, 778-84.
63. Liu C.Y., Chen L.B., Liu P.Y., et al. (2002) Effects of progesterone on gastric emptying and intestinal transit in male rats. *World J Gastroenterol* **8**, 338-41.
64. Shah S., Hobbs A., Singh R., et al. (2000) Gastrointestinal motility during pregnancy: role of nitrenergic component of NANC nerves. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **279**, 1478-85.
65. Aytuğ N., Giral A., İmeryüz N., et al. (2001) Gender influence on jejunal migrating motor complex. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **280**, 255-63.
66. Baron T.H., Ramirez B., Richter J.E. (1993) Gastrointestinal motility disorders during pregnancy. *Ann Intern Med.* **118**, 366-75.
67. Pines A., Eckstein N., Dotan I., et al. (1998) Effects of estradiol on rat ileum. *Gen Pharmacol* **31**, 735-6.
68. Wu C.L., Hung C.R., Chang F.Y., et al. (2002) Involvement of cholecystokinin receptor in the inhibition of gastrointestinal motility by estradiol in ovariectomized rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* **37**, 1133-39
69. Everson G.T. (1992) Gastrointestinal motility in pregnancy. *Gastroenterol Clin North Am.* **21**, 751-76.

70. Shah S., Nathan L., Singh R., Fu Y.S., Chaudhuri G. (2001) E₂ and not P₄ increases NO release from NANC nerves of the gastrointestinal tract: implications in pregnancy. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* **280**, 1546-54.
71. Chang F.Y., Lee S.D., Yeh G.H., Lu C.C., Wang P.S., Wang S.W. (1998) Disturbed small intestinal motility in the late rat pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* **45**, 221-4.
72. Chen T.S., Doong M.L., Chang F.Y., et al. (1995) Effects of sex steroid hormones on gastric emptying and gastrointestinal transit in rats. *Am J Physiol*. **268**, 171-6
73. Ba Z.F., Yokoyama Y., Toth B., et al. (2004) Gender differences in small intestinal endothelial function: the inhibitory role of androgens. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **286**, 452-7.
74. Calignano A., Whittle B.J.R., Di Rosa M., et al. (1992) Involvement of endogenous nitric oxide in the regulation of rat intestinal motility in vivo. *Eur J Pharmacol* **229**, 273-6.
75. Wilhelm M., Batori Z., Pasztor I., et al. (1998) NADPH-diaphorase positive myenteric neurons in the ileum of guinea-pig, rat, rabbit and cat: a comparative study. *Eur J Morphol* **36**, 143-52.
76. Timmermans J.P., Barbiers M., Scheuermann D.W., et al. (1994) Nitric oxide synthase immunoreactivity in the enteric nervous system of the developing human digestive tract. *Cell Tissue Res* **275**, 235-45.
77. Yılmaz A., Kabaroglu C., Habif S., ve ark. (2004) Postmenapozal kadınlarda kısa süreli hormon replasman tedavisinin serum nitrik oksit düzeyleri ve lipid profiline etkileri. *Türk Geriatri Dergisi* **7**, 66-9.
78. Lewis S.J., Heaton KçW., Oakey R.E., et al. (1997) Lower oestrogen concentrations associated with intestinal transit. *Br J Cancer* **79**, 395-400.
79. Szell E.A., Yamamoto T., De Groat W.C., et al. (2000) Smooth Muscle and Parasympathetic nerve terminals in the rat urinary bladder have different subtypes of alpha (1) adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology* **130**, 1685-90.

80. Bülbul A., Yağcı A., Altunbaş K., et al. (2008) Effects of ovarian steroids on distal colon concentrations and L-arginine-NOS-NO-cGMP-PK 1 pathway. *J Anim Sci.* **86**, 61.
81. Bülbul A., Altunbaş K., Çelik H.A., et al. (2008) Effects of 17 β -estradiol on distal colon concentrations and L-arginine-NOS-NO-cGMP-PK 1 pathway. *J Anim Sci.* **86**, 62,
82. Daniel W.W. (1991) *Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences (5th ed)* John Wiley&Sons Inc., Canada.
83. Chi O.Z., Hunter C., Lu X., et al. (2006) Effects of 17 β -estradiol on blood-brain barrier disruption during focal cerebral ischemia in younger and older rats. *Horm Metab Res.* **38**, 377-81.
84. Wimalawansa S.J., Simmons D.J., (1998) Prevention of corticosteroid-induced bone loss with alendronate. *Proc Soc Exp Biol Med.* **217**, 162-7.
85. Weiss G. (2000) Endocrinology of parturition *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **12**, 4421-5.
86. Bülbul A., Yağcı A., Altunbaş K., et al. (2007) The role of nitric oxide in the effects of ovarian steroids on spontaneous myometrial contractility in rats. *Theriogenology* **68**, 1156–68.
87. Bülbul A., Yağcı A., Sevimli A., et al. (2007) The effects of ovarian steroids on myometrial contractions in ovariectomized rats. *Revue Méd. Vét* **158**, 11, 556-561.
88. Luo Y.L., Wang Y.L., Li N.L., et al. (2009) Actions of genistein on contractile response of smooth muscle isolated from quinea pig gallbladder. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* **8**, 614-9.
89. Pang J.J., Xu X.B., Li H.F., et al. (2002) Inhibition of beta-estradiol on trachea smooth muscle contraction in vitro and in vivo. *Acta Pharmacol Sin.* **23**, 273-7.
90. Yen C.H., Lau Y.T. (2004) 17 β -Estradiol enhances aortic endothelium function and smooth muscle contraction in male spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond).* **106**, 541-6.

91. Pines A., Eckstein N., Dotan I., et al. (1998) Effects of estradiol on rat ileum. *Gen Pharmacol.* **31**, 735-6.
92. Feng M., Qin J., Wang C. (2009) Estradiol upregulates the expression of oxytocin receptor in colon in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **296**, 1059-66.
93. Baccari M.C., Calamai F., Chiappini L., et al. (2005) Relaxin restores altered ileal spontaneous contractions in dystrophic (mdx) mice. *Ann NY Acad Sci.* **1041**, 308-10.
94. Harder D.R., Coulson P.B., (1979) Estrogen receptors and effect of estrogen on membrane electrical properties of coronary vascular smooth muscle. *J. Cell Physiol.* **100**, 375-82.
95. Okabe K., Inoue Y., Soeda H. (1999) Estradiol inhibits Ca⁺⁺ and K⁺ channels in smooth muscle cells from pregnant rat myometrium. *Eur J Pharmacol.* **376**, 101-8.
96. Wiklund N.P., Iversen H.H., Leone A.M., et al (1996) Real-time imaging of nerve-induced nitric oxide release, *The Biology of Nitric Oxide*, **5**, 228.
97. Toda N., Baba H., Okamura T. (1990) Role of nitric oxide in non-adrenergic, non-cholinergic nerve-mediated relaxation in dog duodenal longitudinal muscle strips. *Jpn J Pharmacol.* **53**, 281-84.
98. C.G., Rand M.J. (1990) Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus. *Eur J Pharmacol* **191**, 303-309.
99. Bult H., Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, et al. (1990) Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature (Lond)* **345**, 346-7.
100. Maggi C.A., Barbanti G., Turini D., et al. (1991) Effect of NG-monomethyl L-arginine (L-NMMA) and NG-nitro L-arginine (L-NOARG) on non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the circular muscle of the human ileum. *Br J Pharmacol* **103**, 1970-2.
101. Correia N.A., Oliveira R.B., Ballejo G. (2000) Pharmacological profile of nitrergic nerve-, nitric oxide-, nitrosoglutathione- and hydroxylamine-induced relaxations of the rat duodenum. *Life Sci* **68**, 709-17.

102. Tanovic A., Jimenez M., Fernandez E. (2001) Actions of NO donors and endogenous nitrenergic transmitter on the longitudinal muscle of rat ileum in vitro: mechanisms involved. *Life Sci* **69**, 1143-54.
103. Yamaji M., Ohta M., Yamazaki Y., et al. (2002) A possible role of neurotensin in NANC relaxation of longitudinal muscle of the jejunum and ileum of Wistar rats. *Br J Pharmacol*. **137**, 629-636.
104. Toda N., Tanobe Y., Baba H. (1991) Suppression by NG-nitro-L-arginine of relaxations induced by non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in dog duodenal longitudinal muscle. *Jpn J Pharmacol* **57**, 527-34.
105. Toda N., Ayajiki K., Tanaka T., et al. (2000) Preganglionic and postganglionic neurons responsible for cerebral vasodilatation mediated by nitric oxide in anesthetized dogs. *J Cerebral Blood Flow Metab* **20**, 700-8.
106. Bogers J.J., Pelckmans P.A., Boeckxstaens G.E., et al. (1991) The role of nitric oxide in serotonin-induced relaxations in the canine terminal ileum and ileocolonic junction. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **344**, 716-9.
107. Toma H., Nakamura K., Emson P.C., et al (1999) Immunohistochemical distribution of c-Kit-positive cells and nitric oxide synthase-positive nerves in the guinea-pig small intestine. *J Auton Nerv Syst* **75**, 93-9.
108. Ogulener N., Ergun Y., Dondas N., et al. (2001) The influence of nitric oxide donors on the responses to nitrenergic nerve stimulation in the mouse duodenum. *Eur J Pharmacol* **421**, 121-31.
109. Altunbas K., Yağcı A., Bülbül A., ve ark. (2006) ratlarda Ovaryum Steroidlerinin Kolon Hücre Proliferasyonu ve Apoptozisi üzerine Etkisi VIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi(Poster), Malatya.
110. Zizzo M.G., Mule F., Serio R. (2005) Mechanism underlying the nitric oxide inhibitory effects in mouse ileal longitudinal muscle. *Can J Physiol Pharmacol* **83**, 805-10.
111. Ann Word R., Cornwell L.T., (1998) Regulation of cGMP-induced relaxation and cGMP-dependent protein kinase in rat myometrium during pregnancy. *American Journal of Physiology*. **43**, 748-56.

112. Patel A. I., Hennan J.K., Diamond J. (1997) Activation of guanosine 3,5- cyclic monophosphate (cGMP)-dependent protein kinase in rat vas deferens and distal colon is not accompanied by Inhibition of contraction. *J PharmacolExp Ther.* 283, 894-900.

113. Young H.M., McConalogue K., Furness J.B., et al. (1993) Nitric oxide targets in the guinea-pig intestine identified by induction of cyclic GMP immunoreactivity. *Neuroscience.* 55, 583-96.

114. Zyromski N.J., Duenes J.A., Kendrick M.L., et al. (2001) Mechanism mediating nitric oxide-induced inhibition in human jejunal longitudinal smooth muscle. *Surgery* 130, 489–96.