



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Gastroenteroloji Bilim Dalı

**RATLARDA AKUT PANKREATİT İLE OLUŞAN İNTESTİNAL
MOTİLİTE BOZUKLUĞUNDA L-NAME NİN ETKİSİ**

GASTROENTEROLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatma Ebru Akın

Ankara, 2006



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Gastroenteroloji Bilim Dalı

**RATLARDA AKUT PANKREATİT İLE OLUŞAN İNTESTİNAL
MOTİLİTE BOZUKLUĞUNDA L-NAME NİN ETKİSİ**

GASTROENTEROLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatma Ebru Akın

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Uğur Yılmaz

**Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından DA 05/08 nolu
proje numarası ile desteklenmiştir.**

Ankara, 2006

ÖZET

Ratlarda Akut Pankreatit ile Oluşan İntestinal Motilite Bozukluğunda L-NAME nin Etkisi

Akut pankreatit relatif olarak morbidite ve mortalitesi yüksek olan sık görülen bir hastalıktır. Pankreatik nekroz dokusuna barsaktan bakterilerin translokasyonu, akut pankreatitte septik komplikasyonların oluşması ve mortalitede en önemli faktördür. Nitrik oksid (NO), akut pankreatitin lokal ve sistemik belirtilerinin ana medyatörüdür. NO in motilite üzerine olan etkileri iyi tanımlanmıştır ve barsakta ana inhibitör nörotransmitter olduğuna inanılmaktadır.

Çalışmamızın amacı akut pankreatitte gelişen gastrointestinal motilite bozukluğunda indüklenen nitrik oksid sentetaz (iNOS) inhibisyonunun rolünü belirlemek.

Otuz sekiz adet Wistar Albino cinsi rat çalışmaya alındı. Ratlar 4 gruba ayrıldılar. Grup I (n=8) e intraperitoneal (İP) olarak normal salin verildi. Grup II (n=10) deki ratlara toplam 6 kez ip cerulein (100 µgr/kg) verildi. Group III (n=10) deki ratlara N-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME), (5mg/kg, SC) verildi. Group IV (n=10) deki ratlara cerulein ile birlikte L-NAME verildi. Gastrik boşalma ve intestinal transit phenol red recovery yöntemi ile değerlendirildi. Diğer ölçümler serum amilaz, lipaz aktiviteleri ve pankreatik histopatolojik değerlendirmeyi içerdi.

Plazma amilaz, lipaz ve pankreatik histolojik skor cerulein verilen grup II de, salin verilen Grup I ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti. Cerulein ve L-NAME ince barsak transitini inhibe etti. Cerulein ile birlikte L-NAME verilmesi ince barsak transitini inhibe etti fakat tek başına cerulein ile karşılaştırıldığında fark yoktu.

Akut pankreatit ratlarda farklı patojenik mekanizmalarla gastrointestinal motilite kaybına yol açmaktadır. L-NAME verilmesi oluşan motilite bozukluğunu etkilememiştir.

Anahtar kelimeler: Akut pankreatit, dismotilite, nitrik oksid, L-NAME

ABSTRACT

Effect of L-NAME on Intestinal Dysmotility Induced by Acute Pancreatitis in Rats

Acute pancreatitis is a common disease with a relatively high morbidity and mortality. Translocation of bacteria from the gut into pancreatic necrosis is an important factor in the development of septic complications and mortality in acute pancreatitis. Suggested underlying mechanism is decreased gut motility. Nitric oxide (NO) represents a potential key mediator of the local and systemic manifestations of acute pancreatitis. NO has well described effects on motility and is believed to be the major inhibitory neurotransmitter in the gut.

The study aim was to determine the role of inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in gastrointestinal dysmotility during acute pancreatitis.

Thirty-eight Wistar Albino rats were studied. Rats were divided four groups. Group I (n=8) received intraperitoneal (IP) normal saline. Group II (n=10) received six ip injections of cerulein (100 µgr/kg). Group III (n=10) received injections of N-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME), (5mg/kg, SC). Group IV (n=10) received cerulein with L-NAME. Gastric emptying and intestinal transit were assessed by the phenol red recovery method. Other investigations included measurement of serum amylase and lipase activity and pancreatic histopathological examination.

Plasma amylase, lipase and pancreatic histologic score were significantly induced in Group II rats given cerulein compared with those in Group I rats given saline. Gut motility was inhibited in ceerulein given rats as aspected. However decresed motility was not effected by L-NAME.

Acute pancreatitis impairs gastrointestinal motility in rats with differences in the pathogenic mechanisms. L-NAME dosen't effect inhibited gut motility.

Key words: Acute pancreatitis, dysmotility, nitric oxide, L-NAME

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Özet	<i>iii</i>
İngilizce özet	<i>iv</i>
İçindekiler dizini	v
Kısaltmalar ve simgeler dizini	1
Şekiller ve tablolar dizini	11
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Akut Pankreatit	2
2.1.1. Patofizyoloji	2
2.1.2. Klinik Bulgular	4
2.1.3. Tedavi	5
2.1.4. Cerulein ile Uyarılan Akut Pankreatit	5
2.2. İntestinal Motilite	5
2.3. Nitrik Oksid	7
2.4. Akut Pankreatit ve İntestinal Disfonksiyon	8
2.5. Akut Pankreatit ve Nitrik Oksit	9
2.6. Nitrik Oksid ve Gastrointestinal Motilite	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. Metil Selüloz Test Yemeğinin Hazırlanması	13
3.2. İnce Barsak Transitinin Değerlendirilmesi	13
3.3. Histoloji	13
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	14
3.5. İstatistik	14
4. BULGULAR	15
5. TARTIŞMA	19
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	23
7. KAYNAKLAR	24

KISALTMALAR

Ach; Asetilkolin
NO; Nitrik oksid
VIP; Vazoaktif intestinal peptid
NA; Noradrenalin
ATP; Adenozin trifosfat
CO; Karbon monoksit
MMC; Migrating motor kompleks
ERCP; Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi
IL-1; İnterlökin-1
IL-6; İnterlökin-6
TNF; Tümör nekroze edici faktör
NOS; Nitrik oksid sentetaz
iNOS; İnducible nitrik oksid sentetaz
cNOS; Constutive nitrik oksid sentetaz
nNOS; Nöronal nitrik oksid sentetaz
eNOS; Endotelyal nitrik oksid sentetaz
NANC; Non-adrenerjik non-kolinerjik
MODS; Multipl organ yetmezliği sendromu
SIRS; Sistemik inflamatuvar respons sendromu
L-NNA; L-nitro-N-arginin
L-NAME;L-nitro-N-arginin metil ester
LPS; Lipopolisakkarid
ip; İnterperitoneal
sc; Subkutan
H&E; Hemotoksilen ve eosin

ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1: Gruplara göre amilaz, lipaz değerleri	15
Grafik 1: Amilaz değerlerinin gruplara göre dağılımı	16
Grafik 2; Lipaz değerlerinin gruplara göre dağılımı	16
Resim 1. Kontrol grubu rat pankreas histopatolojisi	17
Resim 2.Cerulein grubu rat pankreas histopatolojisi	17
Tablo 2. Gruplara göre mide ve ince barsak segmentlerinin Phenol Red dağılımı	18

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut pankreatit, yeni tanısal ve terapötik gelişmelere rağmen hala morbidite ve mortalitesi yüksek olan kritik bir durumdur. Akut pankreatitli hastaların ölüm sebeplerinin yaklaşık % 80 ini bakteriyel infeksiyonlar oluşturmaktadır. Akut pankreatitli hastalarda enterik bakterilerin translokasyonu gösterilmiştir. Bakteri translokasyonunun altta yatan mekanizmalarından biri de barsak motilitesindeki azalmadır. Akut pankreatitte barsak motilitesinde azalma olduğu bilinmekle birlikte altta yatan patofizyolojik mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır.

Akut pankreatitte, inflame pankreasdan endojen inflamatuvar medyatörler salınmaktadır. İnterlökin-1, interlökin-6 ve tümör nekrozis faktör- α konsantrasyonları akut pankreatitte serumda yüksek bulunmuştur. Bu sitokinler indüklenabilen nitrik oksid sentetazı aktive ederek aşırı miktarda nitrik oksid üretimine sebep olurlar.

Nitrik oksid, non-adrenerjik non-kolinerjik nöronların medyatörüdür. Nitrik oksid, barsakta en önemli inhibitör nörotransmitterdir.

Biz bu deneysel çalışmayı, ratlarda oluşturulan akut pankreatit modelinde barsak motilitesi üzerine nitrik oksid inhibisyonunun etkisini göstermek ve akut pankreatitte oluşan motilite bozukluğunun altta yatan sebeplerinden birini açıklamak amacıyla planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Pankreatit

Akut pankreatit, peripankreatik doku ve uzak organların farklı derecelerde tutulduğu pankreasın akut, inflamatuvar bir hastalığıdır. Hastalık hafif dereceli bir seyirle kendi kendini sınırlayabileceği gibi, katastrofik seyirli olup birçok ciddi komplikasyona ve ölüme yol açabilir (1, 2)

Akut pankreatit morbidite ve mortalitesi yüksek olan bir hastalıktır. İnsidansı her yıl 100000 de 30-40 dır (3). Geçen 40 yılda akut pankreatitin insidansında artış görülmüştür. Bu artış alkol alımındaki artışa veya tanısal testlerdeki düzelmeye bağlı olabilir (4). Yüzde yirmibeşinde ciddi veya yaşamı tehdit eden komplikasyonlar meydana gelir. Geçen yarım yüzyılda akut pankreatitin mortalitesi azalmıştır. Ancak, yoğun bakımdaki düzelmelere rağmen mortalite geçen dekatta %10-15 lerde kalmıştır (3).

Endüstriyel toplumlarda akut pankreatitin %70-80 nedeni safra taşları ve alkoldür. Daha az görülmekle birlikte genetik hiperlipidemi, kronik hiperkalsemi, cerrahi, abdominal travma, endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP), infeksiyonlar ve ilaçlar diğer önemli nedenlerdir. Pankreatik kanserler ve ampuller tümörler seyrek olarak akut pankreatit şeklinde ortaya çıkabilir (1, 2, 4). Serilerin çoğunda akut pankreatitli hastaların %10-30 u idiopatik akut pankreatit olarak kabul edilmektedir (1, 4).

Safra taşları ve direk travma dışındaki nedenlerin hangi mekanizma ile akut pankreatit yaptığı bilinmemektedir. Deneysel çalışmalar ve bazı klinik gözlemler, neden ne olursa olsun sekretuar blok gelişmesinin ortak özellik olduğunu düşündürmektedir (1).

2.1.1. Patofizyoloji

Akut pankreatiti bezdeki pankreatik salgı (asiner) hücreleri, kanal sistemi veya hücreler arası mesafede zimogenlerin (sindirim enzimi öncülleri) prematür aktivasyonu sonucu oluşan otosindirim olayının başlattığına inanılmaktadır. Sonuçta asiner hücre hasarı, nekroz, ödem ve inflamasyon ortaya çıkmaktadır. Ayrıca oksidatif stres, kanın pankreastaki bozulmuş mikrosirkülasyonu, özellikle interlökin-1 (IL-1), tümör nekroze edici faktör (TNF), trombosit aktive edici faktör ve nitrik oksid (NO) başta olmak üzere sitokinlerin salınması hem pankreas zedelenmesine hemde pankreas dışı komplikasyonların gelişmesine katkıda bulunmaktadır (1).

Bu inflamasyonun pankreas boyunca yayılması lokalize komplikasyonlara neden olmaktadır ve birçok sistemik komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (1, 4).

A- Akut pankreatitin lokal komplikasyonları;

a- Pankreatik komplikasyonlar

Flegmon (inflamatuvar kitle)

Peripankreatik effüzyon

Enfekte nekroz veya pankreatik abse

b-Pankreas dışı komplikasyonlar

Gastrointestinal ileus

Pankreatik asit ve plevral effüzyon

Safra kanalı obstrüksiyonu

B- Akut pankreatitin sistemik komplikasyonları;

a- Kardiyovasküler komplikasyonlar

Hipovolemi

Hipotansiyon veya şok

b- Renal komplikasyonlar

Oligüri

Azotemi veya böbrek yetmezliği

c- Hematolojik komplikasyonlar

Vasküler tromboz

Dissemine intravasküler koagülasyon

d- Pulmoner komplikasyonlar

Hipoksemi

Atektazi veya plevral effüzyon

ARDS veya solunum yetmezliği

e- Metabolik komplikasyonlar

Hipokalsemi

Hiperglisemi

Hipertrigliseridemi

Metabolik asidoz

f- Gastrointestinal kanama

Stres gastriti

Psödoanevrizma

Gastrik varisler

g- Diğer komplikasyonlar

Periferik yağ nekrozu

Ensefalopati

Hastaların %75-80 inde inflamatuvar olay kendiliğinden sınırlanır, sadece pankreas ve yakın pankreatik doku tutulur ve günler ile haftalar içinde düzelir. Diğer kalan %20-25 vakada ise ciddi seyir gözlenir, birçok lokal ve sistemik komplikasyonlar gelişir. Hastanede kalış süresi uzar ve ölüm riski ortaya çıkar. Akut pankreatit nedeniyle hastaneye yatan hastalarda mortalite %5-10 dur (1).

Hastaların %20 sinde ciddi akut nekrotizan pankreatit meydana gelir. Ciddi akut nekrotizan pankreatit gelişen hastalardan steril olan vakalarda mortalite %10 iken, infekte pankreatik nekrozu olan hastalarda mortalite oranı %25 dir (5). Ciddi akut pankreatit 72 saat içinde multipl organ yetmezliği sendromuna (MODS) yol açabilen sistemik inflamatuvar respons sendromunun (SIRS) başlangıcı olduğu kabul edilmiştir (3). SIRS ve MODS un akut pankreatitte bağırsaktan translokasyon sonucu meydana geldiği konusunda fikir birliği oluşmuştur (3).

DeneySEL pankreatit modellerinde bakteriyel aşırı çoğalma ve bakteriyel translokasyona gastrointestinal ileusun yol açtığı ve pankreatite bağlı sepsisin patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmüştür. Pankreatik infeksiyonda sıklıkla ortak enterik bakteriler görülmüş ve bu da pankreatite bağlı sepsisin patogenezinde barsağın önemli rol oynadığını düşündürmüştür (5, 6).

2.1.2. Klinik Bulgular

Semptomlar ve Bulgular

Karın ağrısı akut pankreatitin en belirgin ortaya çıkış şekli olup hastaların %95 inde vardır. Ağrı, epigastrik olup hastaların yarısı ile üçte ikisinde sırta doğru yayılır. Bulantı, kusma ve karında distansiyon diğer sık görülen şikayetlerdir (1, 4).

Muayenede abdominal hassasiyet genellikle vardır. Hastaların çoğunda defans ve rebound saptanabilir. Hastalığın ciddiyetine bağlı olarak hastalarda ateş, taşikardi, takipne ve hipotansiyon görülebilir (1, 4).

Laboratuvar Bulguları

Serum amilaz düzeyleri akut pankreatitte hastaların %80-85 inde artmıştır. Serum lipazının tayini amilaz düzeyi gibi duyarlı ve daha özgül bir testtir. Lipaz düzeyleri amilaz düzeylerinden daha uzun süre yüksek kalır (1, 4).

Görüntüleme Yöntemleri

Abdominal görüntüleme, özellikle bilgisayarlı tomografi tetkiki, akut pankreatitin doğru teşhisinde ve komplikasyonların saptanmasında en fazla fayda sağlayan tetkiktir (1, 4).

Manyetik rezonans görüntüleme pankreatik inflamatuvar hastalıklarda bilgisayarlı tomografiden üstün olmayıp, intravenöz kontras madde alamayan hastalar faydalı olabilir (1).

2.1.3. Tedavi

Tedavinin amaçları; destekleyici bakımın sağlanması, pankreatik inflamasyon ve sonuçlarının azaltılması ve komplikasyonlarının önlenmesi, tanınması ve tedavisidir (1).

2.1.4. Cerulein ile Uyarılan Akut Pankreatit

Akut pankreatitin patogenezi değerlendirilmede en sık bir sekretegog olan cerulein kullanılır. Cerulein, asiner hücrelerde mikrotübül ve mikroflamanların toplanmasını bozar. Normal luminal eksositoz bloke olur. Zimojen granüller sitoplazmada toplanır. Asiner hücrelerde sindirim enzimlerinin aktivasyonu ile pankreatit başlar (7). Cerulein ile uyarılan akut pankreatit modelinde pankreatik asiner hücre vakuolizasyonu, lizozomal hidrolazların subsellüler yeniden dağılımı ve pankreatik glutatyon seviyelerinde düşme görülür. Cerulein verildikten 10-15 dakika sonra lizozomal enzimlerin yeniden dağılımı ve pankreasda tripsinojen aktivasyonu olur. Otuz dakika sonra amilaz seviyeleri yükselir, 60 dakika sonra pankreatik ödem oluşur (8). Ogawa T ve arkadaşlarının yaptığı ratlarda cerulein ile uyarılan akut pankreatit modelinde intraperitoneal olarak verilen ceruleinin ilk dozundan 4 saat sonra serum amilaz ve lipaz seviyelerinde belirgin artış görüldü. Lipaz aktivitesi amilaz aktivitesine paraleldi. İlk cerulein injeksiyonundan 6 saat sonra amilaz ve lipaz maksimum değerlere ulaştı (9).

2.2. İntestinal Motilite

İntestinal motilite, yukarı doğru uyarıcı ve aşağı doğru inhibitör refleksler ile kontrol edilir. Bu refleksler intestinal sirküler kasın aktivitesini düzenlerler. Bu refleksler, asetilkolin (Ach), taşikininer, 5-hidroksiamin, NO ve vazoaktif intestinal peptidi (VIP) içerir (10).

İnce barsak motilitesinin 4 temel modeli vardır: interdigestive migrating motor kompleks (MMC), postprandial karıştırma hareketleri, itici güç motor paterni ve muskülomotor sessizlik (fizyolojik ileus).

MMC, çoğu memeli türünde açlık boyunca mide ve ince barsaktaki spesifik motor paternidir. Ratta, MMC düzenli aralıklarla ortaya çıkar ve kontraktıl faz (faz III) boşaltım

yönünde ince barsağın itici gücünü oluşturur. MMC sekresyon, hücre debrisleri ve sindirilmemiş gıdalardan lümeni temizler (11-13). Açlık boyunca mide ve ince barsakta her 2 saatte bir tekrarlayan siklik motilite paterni vardır. Bu siklik motor patern mideden başlar ve ince barsağa doğru hareket eder (14). İnce barsakta bakteriyel aşırı çoğalma MMC nin yokluğu ile ilişkilidir. İntestinal içeriğin lümende durgunlaşmasına izin verilirse mikroorganizmaların aşırı çoğalması söz konusu olur (13). Morfin tedavisi ile MMC in inhibe edildiği ratlarda enterik flora seviyesinde artış, takiben anlamlı bakteriyel translokasyon olduğu izlenmiştir. Ayrıca MMC de yetersizlik olan hastalarda bakteriyel aşırı çoğalma rapor edilmiştir (11, 12).

MMC, birbirini takip eden 3 fazdan oluşmaktadır. Faz I; hareketsiz patern, faz II; irregüler sivri aktivite, faz III; bağırsak boyunca uzanan yoğun, düzenli aktivite. MMC, açlık paternidir. Beslenmeyle birlikte faz II uzar ve faz III ün ilerleme hızı azalır (15).

Karıştırıcı hareket paterni (segmentasyon), yemeğin alınmasını takiben sindirim durumunda ince barsakta MMC nin yerini alır. Yemeğin volüm ve kalori içeriği postprandial motilite paterninin süresini belirler (13).

Postprandial patern boyunca peristaltik kontraksiyonlar çok kısa aralarla oluşur. Yemeğin alınması ile enterik sinir sistemine vagal efferent sinirler ile beyin sapından gelen sinyaller MMC yi keser ve karıştırıcı hareket paternini başlatır (13). Beslenme durumunda besinlerin karıştırılması ve emilmesini sağlar. Böylece bu motor paternler ve onların kontrolü normal gastrointestinal fonksiyonların sağlanmasında büyük önem taşır (14). Köpek modellerinde ince barsağın ekstrensek olarak denerve segmentlerinde yemek ile MMC nin kesilmediği görülmüştür. Vagal sinirin blokajı interdigestiv formdan postprandial motilite durumuna dönüşü engellemiştir (13).

İtici güç motor paterni, sirküler kasın güçlü kontraksiyonları ile karakterize peristaltik itici gücüdür. İnce ve kalın barsak boyunca sürer. İtici güç boyunca sirküler kas kontraksiyonları, MMC veya karıştırıcı patern boyunca oluşan fazik kontraksiyonlardan oldukça güçlüdür. Bu kontraksiyonlar 18-20 sn sürer ve elektriksel yavaş dalgaların birkaç siklusunu kapsar. Son derece etkili itici mekanizma barsak boyunca hızlıca ilerleyerek lümeni temizler (13).

Gastrointestinal motilitenin kontrolünde hormonal mekanizmalar tanımlanmıştır. Motilin, duodenum ve jejunumun endokrin hücrelerinden salınan 22 aminoasitlik polipeptiddir. MMC nin faz III ünü indükler. Bazı çalışmalarda dışardan motilin verilmesinin MMC nin faz III ünü uyardığı gösterilmiştir. Kolesistokinin (CCK), ince barsağın I hücrelerinden salınır. Özellikle yağ ve protein sindiriminde rol alır. Safra

kesesinin kasılması ve Oddi sfinkterinin gevşemesini sağlar. Vazoaktif intestinal peptid (VIP), barsağın inhibitör sinirlerinin nörotransmitteridir. Gastrointestinal sistemde düz kasın gevşemesinden sorumlu inhibitör nörotransmitterdir (16).

Mukozaya iritanların uygulanması, luminal parazitlerin girmesi, patojen bakterilerin enterotoksinleri, allerjik reaksiyonlar, iyonizan radyasyon maruziyeti güçlü itici motor programı aktive eder (13).

Kritik hastalarda (yoğun bakım hastalarında), jeneralize ileus veya diyare atakları ile ilişkili gastrointestinal transitin gecikmesi veya hızlanması sık görülen intestinal bozukluklardır (17).

Gastrointestinal dismotilite sepsis ve MODS da sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Burada altta yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Bakteri toksinlerinin, özellikle endotoksinin barsakta sitokin oluşumunu uyararak sepsise bağlı ileusa yol açtığı düşünülmüştür. Lipopolisakkarid (LPS) makrofajı aktive etmektedir. Aktive makrofajdan prostoglandinler, lökotrienler, sitokinler ve NO sekrete edilmektedir. Bu faktörlerin çoğu gastrointestinal düz kasın kinetik özelliklerini değiştirmektedir ve intestinal ileusun potansiyel medyatörleridir (18).

2.3. Nitrik Oksid

NO, 1987 de Palmer ve arkadaşları, Ignarro ve arkadaşları tarafından gösterildi. Çeşitli fizyologlar NO in rolünü araştırdı. NO sadece kardiyovasküler sistemde değil aynı zamanda özofagus, özofagial sfinkter, mide, ince bağırsak, ileokolonik bileşke, kalın bağırsak, internal anal sfinkter, karaciğer, pankreas, safra kesesi, oddi sfinkteri gibi gastrointestinal sistemde önemli fonksiyonları bulundu (19, 20).

NO hidrofobik gaz moleküldür (21). NO, aşırı reaktif bir serbest radikaldir (22). Çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda birçok önemli rolü saptanmıştır (23). Nitrik oksid sentetaz (NOS) enzimi ile L-argininden sentezlenir. NOS un iki ana formu tanımlanmıştır (20, 21). Constutive form (cNOS) fizyolojik durumlarda aktiftir (23). cNOS un iki izoformu vardır. nNOS nöronal ve eNOS endotelial hücrelerden salgınır (21, 23). Bu enzimin aktivitesi için hücre içinde kalsiyum bulunması gerekir (21). nNOS ve eNOS sürekli olarak bulunurlar ve küçük miktarlarda NO sentezlerler (24). nNOS gastrointestinal sistemde özellikle enterik sinir sisteminde yoğun olarak bulunmaktadır ve ince barsakta majör inhibitör nörotransmitter olarak bilinmektedir. eNOS, endotelde bulunmakta ve vasküler tonusu düzenlemektedir. İndüklenen NOS (iNOS), makrofajlar, düz kas hücreleri, kondrositler ve hepatositleri içeren çeşitli hücreler tarafından üretilir (25, 26). Aktivitesi kalsiyumdan bağımsızdır (21). iNOS normal durumlarda hücrelerde

bulunmaz (22) ve genellikle inflamatuvar mediatörlerin uyarısı ile sentezlenir (21, 24). iNOS, cNOS a göre çok daha yüksek miktarlarda NO üretir ve patolojik rolü daha önemlidir (18, 21, 24).

NO in çok değişik fonksiyonları vardır. Bu fonksiyonlar kabaca proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir. Proinflamatuvar fonksiyonlarının çoğu NO in serbest radikal gibi davranması sonucu olur. Demir-sülfür gruplarının nitrozilasyonu, tirozinin nitrozilasyonu, lipid peroksidasyonunu içerir. Anti inflamatuvar etkilerini guanilat siklaz aktivasyonu veya nükleer transkripsiyon faktör κ B inhibisyonu ile yapar. Guanilat siklaz aktivasyonu; düz kas relaksasyonu, inflamatuvar hücre ve platelet aktivasyonunda azalmaya yol açar. Nükleer transkripsiyon faktör κ B inhibisyonu; proinflamatuvar sitokinler ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunda azalmaya yol açar (21).

NO, vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynar (25). NO in aşırı üretimi vazodilatasyon yapar ve vazokonstrüktörlere dirençli hipotansiyona sebep olur. Mikrovasküler permeabiliteyi ve üçüncü boşluğa sıvı geçişini artırır. NO hızlıca süperoksid anyon ile reaksiyona girer ve peroksinitrat ve hidroksil radikallere dönüşür. Bunlar güçlü oksidan ve sitotoksik ajanlardır (24).

NO in yarı ömrü çok kısadır. Büyük kısmı oksijen ile reaksiyona girip nitrit ve nitrate dönüşür. Nitrit ve nitrat, NO sentezinin stabil son ürünleridir (27).

2.4. Akut Pankreatit ve İntestinal Disfonksiyon

Akut pankreatitte intestinal ileusun olduğu bilinmektedir fakat pankreatitin uyardığı intestinal disfonksiyonun sebebi tam olarak anlaşılamamıştır. Gastrointestinal fonksiyonlar üzerine pankreatitin etkilerini araştıran bazı deneysel çalışmalar mevcuttur (5).

Akut pankreatit oluştuğunda MMC uzunluğu artmaktadır. Barsak itici gücünün azalması ince barsakta bakteriyel aşırı çoğalmaya sebep olmaktadır. İntra abdominal organlara bakteriyel translokasyon olmaktadır. Pankreasın steril nekrotik dokusunda infeksiyon oluşmaktadır (6, 16).

Bir çalışmada kolinden fakir ve ethionin eklenmiş diyetle oluşturulan deneysel akut pankreatit modelinde gastrik ve intestinal fonksiyonlar değerlendirilmiştir. Akut pankreatitte gastrik boşalma ve intestinal transitte kontrol grubuna göre anlamlı azalma görülmüştür (5).

Leveau P ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ratlarda oluşturulan akut pankreatitin ince barsak transit zamanına olan etkileri araştırılmış. Akut pankreatit, retrograd

intraduktal taurodeoksikolat infüzyonu ile uyarılmış. Akut pankreatitin indüksiyonundan 3 saat sonra ince barsak transit zamanında gecikme görülmüş (28).

Van Felius ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada intravenöz cerulein ile birlikte düşük doz intraduktal glikodeoksikolik asid ile oluşturulan deneysel akut pankreatit modelinde akut pankreatit boyunca MMC siklus uzunluğunda anlamlı artış izlenmiş (6, 29).

Lı Y.F ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı çalışmada safra kanalı duodenuma giriş yerinden bağlanarak akut pankreatit modeli oluşturulmuş. Safra kanal ligasyonundan sonra, ligasyon yapılmadan önceki ile karşılaştırıldığında MMC intervalinde anlamlı uzama izlenmiş (30).

Moody FG ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada obstrüktif pankreatit modelinde intestinal transitin yavaşladığı ve barsakta ve mezenterik lenf nodlarında enterik bakterilerin arttığı görülmüş (31).

Wang X ve ark. akut pankreatitte görülen gastrointestinal dismotilitede serum motilin, CCK ve VIP değişikliklerini ölçmüşler. Akut pankreatitli hasta serumlarında motilin ve CCK seviyelerinde azalma, VIP seviyelerinde ise artma gözlemlenmişler. Akut pankreatitte sıklıkla görülen gastrointestinal dismotilitenin sebeplerinden birinin motilin, CCK, VIP gibi barsak hormonlarının sinerjik etkisi olabileceğini söylemişlerdir (16).

2.5. Akut Pankreatit ve Nitrik Oksit

Akut pankreatitte, inflame pankreasdan endojen inflamatuvar medyatörlerin salınması erken dönemde olur (32). İnterlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve TNF- α konsantrasyonları akut pankreatitli hayvanların serumlarında bir saat içinde yükselmektedir (32-34). Bu sitokinler ve diğer endotoksin içeren mediatörler iNOS un üretimini aktive eder ve bu NO aşırı üretimi ile sonuçlanır (22, 27, 35).

Al Mufti RA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada cerulein ile uyarılan akut pankreatitin deneysel modelinde pankreasda iNOS indüksiyonu ve oksidatif doku hasarı, sistemik dolaşımdaki artmış NO ile ilişkili bulunmuş. Bu artış, endotoksemi, termal hasar ve diğer inflamatuvar durumlarda olduğu gibi pankreatitte de iNOS aktivitesinin arttığını gösteriyor. Bu çalışmada, pankreatitte iNOS un vasküler düz kas hücrelerinden salındığı gösterildi. iNOS normalde vasküler düz kas hücrelerinde salınmazken TNF- α ve IL-1 gibi sitokinler ile veya endotoksin ile salınımı uyarılır. Vasküler düz kas hücrelerinde iNOS un uyarılması ile aşırı miktarda NO üretilir. Sistemik vazodilatasyon ve hipotansiyonun en önemli medyatörüdür (22).

Ayub K ve ark, pankreasın deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde iNOS salınımının arttığını ve bu artışın akut pankreatit oluşmasına katkıda bulunduğunu gösterdiler (21).

Rahman SH ve ark yaptıkları çalışmada total üriner nitrit atılımının ciddi akut pankreatiti olan hastalarda artmış olduğunu gösterdiler (3).

Um SH ve ark, cerulein ile oluşturulan deneysel akut pankreatitte NO in rolünü araştırmışlar. Pankreatit grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iNOS un ekspresyonunda ve plazma NO metabolitlerinde anlamlı artış olduğunu göstermişler. iNOS inhibitörü olan N-nitro-L-arginin-metilesterin (L-NAME), plazma NO seviyelerini azalttığını göstermişler (24).

iNOS eksikliği olan farelerde, cerulein ile uyarılan deneysel akut pankreatit modeline karşı direnç görülmüştür. Böylece iNOS ile NO üretiminin akut pankreatitte patojenik faktör olduğu düşünülmüştür (36).

2.6. Nitrik Oksid ve Gastrointestinal Motilite

Sempatik ve parasempatik sinir lifleri gastrointestinal düz kasın inhibitör ve eksitatör regülasyonunu sağlar. Bunların nörotransmitterleri noradrenalin (NA) ve Ach dır. Enterik sinir sisteminde substance P ve Ach eksitatör nörotransmitterlerdir. Adenozin trifosfat (ATP), VIP, karbon monoksit (CO) ve NO inhibitör nörotransmitterlerdir. Bu bileşikler beslenme durumunda ve açlıkta gastrointestinal motiliteyi düzenlerler (19).

NO, sadece kardiyovasküler sistemde değil, gastrointestinal sistemde de önemli rollere sahiptir (19). İnhibitör non-adrenerjik non-kolinerjik (NANC) sinirler barsağın ana inhibitör sinir ağını oluşturur (39, 40). NO, NANC nöronların ana nörotransmitteridir (19, 37, 38).

NO, enterosit ve düz kas hücresindeki cGMP yi artırır. cGMP, myozin light zincir fosforilasyonunu bozarak aktin ve myozinin çapraz bağlanmasını engeller (41, 42).

Son hayvan çalışmaları, adinamik ileusun patogenezinde artmış NO sentezinin muhtemel rolünü göstermiştir (39, 40). Postoperatif ileusda, cerrahiden sonraki ilk 24 saatte üriner nitrat atılımında artış görülmüştür. Bu durum postoperatif ileusda NO in önemine işaret etmektedir (39).

Hemorajik şok/resusitasyon, barsak iskemi/reperfüzyonu ve ince barsağın direk manüplasyonundan sonra oluşan ileusda iNOS ekspresyonunun kritik mediatör olduğu gösterilmiştir. Resusitasyona bağlı barsak ödemi ile ilişkili intestinal transit inhibisyonunun iNOS inhibisyonu ile önlendiği gösterilmiştir (41).

NOS inhibitörlerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *Trichinella spiralis* infeksiyonun uyardığı ince barsak hipermotilitesinde NOS un rolü olduğu saptanmıştır (29).

NO in motilite üzerine olan etkileri iyi tanımlanmıştır ve barsak üzerine majör inhibitör nörotransmitter olduğuna inanılmaktadır. Kolit veya kolon kanseri olup komplike olmamış hastalarda NOS aktivitesi normalken, megakolon gelişmiş olan hastalarda NOS aktivitesinin artmış olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar NO in düz kası gevşetme yeteneğinden dolayı, toksik dilatasyonun mediatörünün NO olduğu yorumunu yapmışlardır (37).

Diyabetik enteropati ve yavaş transitli konstipasyonda, ince ve kalın barsakta NO oluşumunda eksiklik saptanmıştır. Uzun süreli diyabeti olan hastalarda NOS salınımında kayıp görülmüştür (43).

Özellikle myenterik pleksustaki nNOS sentezinin kaybı akalazya, diyabetik gastroparezi, infantil hipertrofik pilor stenozu, Hirschprung hastalığı ve Chagas hastalığının patogenezinde en önemli faktördür (44).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Kurulu'nun 2005/AP-486 sayılı etik kurulu onayı ile Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma laboratuvarlarında yürütüldü. Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen toplam 38 adet dişi Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Tüm ratlar Başkent Üniversitesi deney hayvanları kurallarına uygun davranılarak takip edildiler. Tüm ratlar standart laboratuvar diyeti ile beslendi.

Akut pankreatit modeli oluşturulurken daha önce Balanchandra S ve ark. (45) ile Yamaguchi H. ve ark. (46) nın tarif ettiği modeller modifiye edilerek kullanıldı.

Ratlar 18 saat aç bırakıldıktan sonra çalışmaya alındılar. Çalışma başlayıncaya kadar suya ulaşmalarına izin verildi.

Çalışmaya alınan ratlar 4 gruba ayrıldılar;

Grup I, sekiz rattan oluşturuldu. Bu gruptaki ratlara birer saat arayla olmak üzere toplam 6 kez, 1 cc İP serum fizyolojik verildi. Grup II, 10 rattan oluşturuldu. Bu gruptaki ratlara birer saat arayla olmak üzere toplam 6 kez, 100 µgr/kg İP cerulein (Sigma, MO, USA) verildi. Grup III, 10 rattan oluşturuldu. Bu gruptaki ratlara, daha önce literatürde kullanıldığı şekli ile subkutan (SC) olarak 5 mg/kg L-NAME (Sigma, MO, USA) 1 ml distile suda çözündürülüp verildikten (47) 30 dk sonra birer saat arayla toplam 6 kez, 1 cc İP serum fizyolojik verildi. Grup IV, 10 rattan oluşturuldu. Bu gruptaki ratlara SC olarak 5 mg/kg L-NAME verildikten 30 dk sonra birer saat arayla toplam 6 kez, 100 µgr/kg İP cerulein verildi.

İnce barsak transitisi, daha önce literatürde tanımlanmış olan phenol red (Sigma, MO, USA) içeren yöntem ile değerlendirildi (48-51). Tüm gruplarda ilaçların son İP injeksiyonundan 30 dk sonra 2 ml sinde 1,5 mg phenol red içeren % 1,5 luk metil selülozdan oluşan test yemeğinden 2 ml, orogastrik beslenme tüpüyle intragastrik olarak verildi. Otuz dk sonra İP 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazin anestezisi altında batın orta hat insizyon ile açıldı. Hızlıca kardiya, pilor ve çekum kleplendi. Biyokimyasal testler için her rattan ortalama 2 cc kan örneği alındı. Ardından histopatolojik inceleme için pankreas dokusu çıkarıldı ve daha sonra değerlendirilmek üzere %10 luk formol içine konuldu. Mide ve ince bağırsak düz bir yüzeye alındı. İnce bağırsak 4 eşit parçaya bölündü. Gastrik ve intestinal segmentler ayrı tüplere konuldu ve phenol red içerikleri değerlendirilinceye kadar -20 °C de saklandı.

3.1. Metil Selüloz Test Yemeğinin Hazırlanması

Metil selüloz, final solüsyonu %1,5 luk olacak şekilde, su içinde, 80 °C de devamlı karıştırılarak eritildi. Bu solüsyon daha sonra 37 °C ye kadar soğutuldu. Ardından phenol red (50 mg/100 ml) eklendi. Bu sıvı kullanılmadan önce taze olarak hazırlandı ve deney boyunca 37 °C de tutuldu (51).

3.2. İnce Barsak Transitinin Değerlendirilmesi

Mide ve ince barsak transit ölçümleri Reynell ve Spray in tanımladığı teknik ile Gondim ve ark nın yaptığı modifikasyona göre belirlendi (52). Mide ve intestinal segmentlerin her biri ayrı tüplere koyuldu ve 100 ml 0,1 M NaOH içinde küçük parçalara bölündü ve 30 s de homojenize edildi. Homojenat 20 dakika oda ısısında bekletildi. Süpernatanın 10 ml si alınarak 2800 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Homojenatın 5 ml si alınarak 0,5 ml %20 lik sıvı trikloroasetik asit (Sigma, MO, USA) eklendi. Yirmi dk, 2800 g de santrifüj edildikten sonra süpernatandan 3 ml alındı. Süpernatana 4 ml 0,5 N NaOH eklendi. Örneğin absorbanı 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu. Standart dilüsyon eğimi, her bir örneğin phenol red konsantrasyonuna bağlı olarak elde edildi. Standart dilüsyon eğiminin (α) lineer katsayısı hesaplandı ve solüsyonun 560 nm de okunan konsantrasyonunu (C) belirlemede kullanıldı. Daha sonra her bir segmentten elde edilen phenol red miktarı hesaplandı ($m=C \times \text{volüm}$). Her bir segmentteki phenol red in kalan yüzdesi şu formülle hesaplandı;

$X \text{ segmentindeki phenol red} = \left(\frac{\text{segmentteki phenol red miktarı}}{\text{tüm beş segmentteki toplam phenol red miktarı}} \right)$

3.3. Histoloji

Pankreas dokusu % 10 formol içinde fiske edildi. Daha sonra dokular parafine gömüldü ve 5 µm lik dilimlere ayrıldı. Hemotoksilen ve eosin ile (H&E) boyandı. H&E ile boyanan kesitler daha önce Balachandra ve ark. nın tanımlamasına göre değerlendirildi (45). Total asiner hücresinin yüzdesine göre asiner hücre hasarının yayılımı değerlendirildi. İnterstisyel ödem (0-4), asiner hücre vakuolizasyonu (0-4), hücresel şişme (0-4), asinide parsiyel veya total yapı bozukluğu (0-4), inflamasyonun (0-4) şiddeti ve yayılımı derecelendirildi. Daha sonra her biri için alınan puanlar toplanarak toplam skor oluşturuldu. Toplam alınabilecek skor 0-20 arasında değişti.

0; lezyon yok

1; parsiyel hafif

2; hafif

3; orta

4; yaygın şekilde skorlandı.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Serum amilaz ve lipaz seviyeleri klinik biyokimya laboratuvarında ölçüldü. Sonuçlar litrede international ünite olarak verildi.

3.5. İstatistik

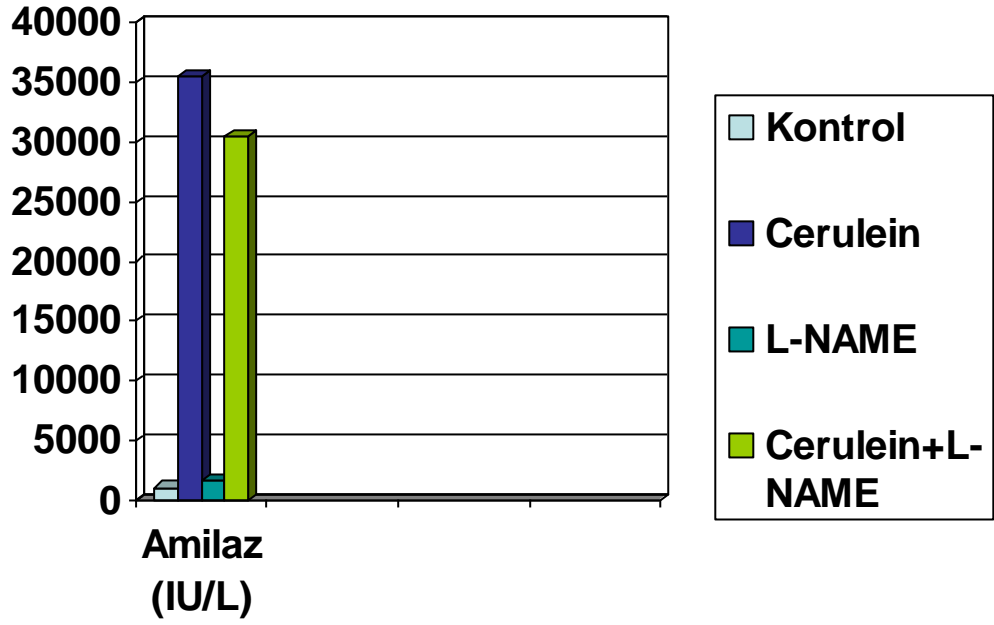
İstatistik analizler Statistical packages for Socail Sciences (SPSS) (version 11.0;SPSS; inc Chicago) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değerler normal dağılıma uyup uymadıklarına göre ortalama \pm standart deviasyon olarak verildi. Dört grubun istatistiksel değerlendirilmelerinde Kruskal-Wallis, iki grubun istatistiksel değerlendirilmelerinde Mann-Whitney testi kullanıldı. p değeri<0,05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

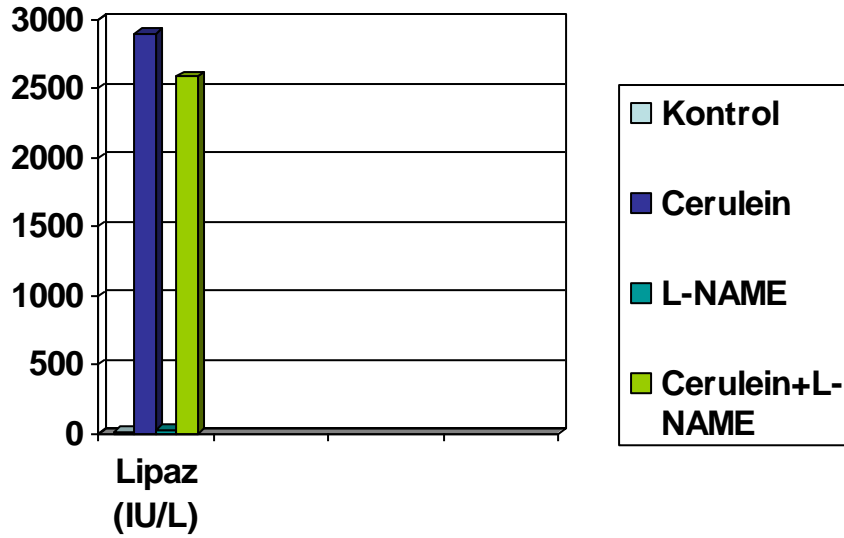
Çalışmaya alınan ratların tümü çalışma sonunda değerlendirilmeye alındı. Amilaz ve lipaz değerlerine bakıldığında cerulein verilen grupta amilaz, lipaz değerlerinde belirgin yükseklik saptandı ($p=0$). Cerulein ile birlikte L-NAME verilen grup ile sadece cerulein verilen grup karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı. Amilaz ve lipaz değerleri Tablo 1, Grafik 1 ve Grafik 2 de gösterildi.

Tablo 1: Gruplara göre amilaz, lipaz değerleri

	Amilaz (İU/L)	Lipaz (İU/L)
Kontrol	1074±297	17±7
Cerulein	35582±9405	2902±541
L-NAME	1619±589	31±8
Cerulein+L-NAME	30529±7588	2584±872

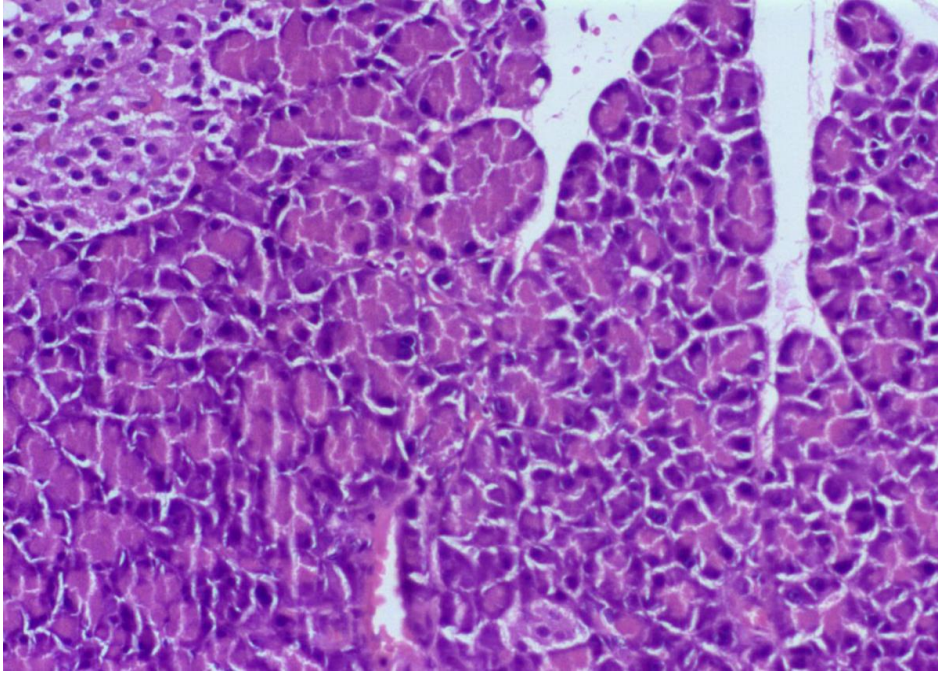


Grafik 1: Amilaz değerlerinin gruplara göre dağılımı

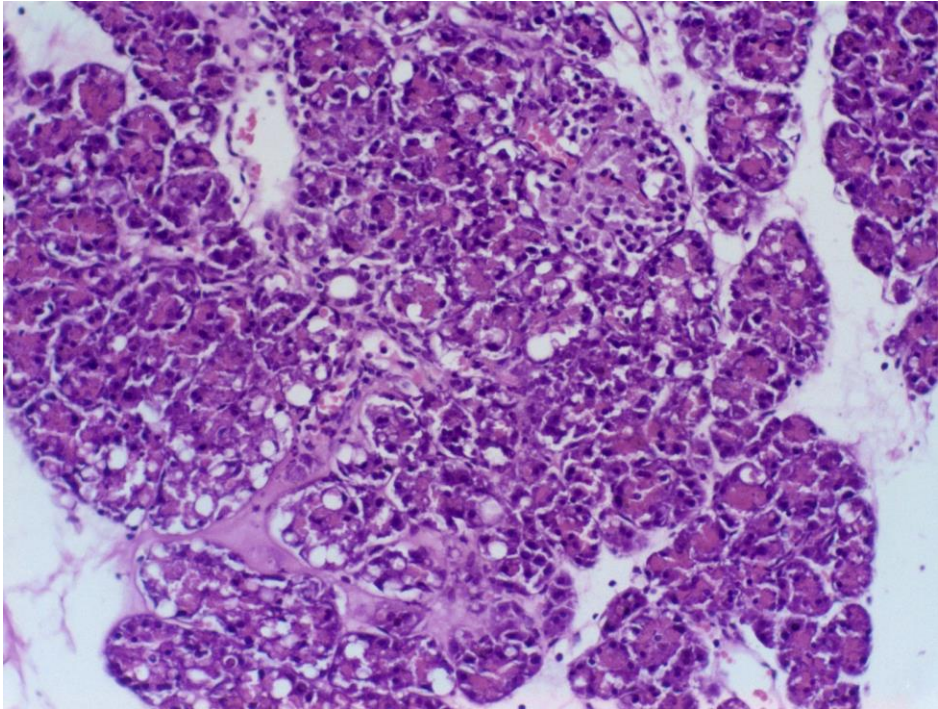


Grafik 2; Lipaz değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ratların pankreas dokusunun histopatolojik incelemelerinde, kontrol grubu ile cerulein grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak belirgin fark saptandı ($p=0$). Sadece cerulein verilen grup ile cerulein+L-NAME verilen iki grup arasında istatistiksel yönden fark yoktu ($p>0,05$).



Resim 1. Kontrol grubu rat pankreas histopatolojisi (H&EX20)



Resim 2.Cerulein grubu rat pankreas histopatolojisi (H&EX20)

Bu kan amilaz, lipaz değerleri ve histopatolojik veriler göz önüne alındığında cerulein ile etkili pankreatit oluştuğu görüldü. L-NAME nin pankreatitin şiddeti üzerine biyokimyasal ve histopatolojik olarak etkisi olmadığı izlendi.

Ratların mide ve 4 intestinal segmentindeki phenol red dağılımı Tablo 2. de gösterildi.

Tablo 2. Gruplara göre mide ve ince barsak segmentlerinin Phenol Red dağılımı

Phenol Red içeriği (% \pm SEM)					
Gruplar	Mide	1.segment	2.segment	3.segment	4.segment
Kontrol	27,2 \pm 11,4	6,0 \pm 1,4	21,1 \pm 10,2	38,5 \pm 12	6,2 \pm 11,4
Cerulein	42,0 \pm 17,5	17,0 \pm 4,8	20,2 \pm 10,3	17,7 \pm 14 ^a	2,9 \pm 4
L-NAME	30,6 \pm 11,0	13,6 \pm 7,7	39,0 \pm 10,7	15,4 \pm 15,2 ^b	0,7 \pm 0,4
Cerulein+L-NAME	42,9 \pm 8,4	25,7 \pm 7,7	20,9 \pm 8,5	7,9 \pm 5,8	2,4 \pm 2,6

Kontrol grubu ile cerulein verilen grup: ^ap < 0,05

Kontrol grubu ile L-NAME verilen grup: ^bp < 0,05

Cerulein verilen grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cerulein verilen grupta midede kalan phenol red miktarı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha fazlaydı (p=0,07). Üçüncü segmente ulaşan phenol red miktarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha azdı (p<0,05).

Sadece cerulein verilen ratlar ile cerulein+L-NAME verilen ratların sonuçları karşılaştırıldığında mide boşalması ve intestinal transit arasında fark yoktu.

L-NAME verilen ratların mide ve ince barsak phenol red içerikleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME verilen grup ile kontrol grubunun midelerindeki phenol red miktarı arasında fark yokken L-NAME grubunda 3.segmente ulaşan phenol red miktarı kontrol grubuna göre daha azdı (p<0,05).

5. TARTIŞMA

Akut pankreatit, morbidite ve mortalitesi yüksek olan relatif olarak sık görülen bir hastalıktır. Hastaların % 25 inde ciddi ve yaşamı tehdit eden komplikasyonlar meydana gelmektedir. Akut pankreatitte gelişen multi organ yetmezliği sendromu (MODS) ve sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) ın en önemli sebebinin enterik organizmaların barsaktan translokasyonu olduğu düşünülmektedir (3, 53). Bakteri translokasyonunun altta yatan sebeplerinden biri de barsak motilitesindeki azalmadır (53). Akut pankreatitin hayvan modellerinde gastrointestinal ileusun olduğu ve bunun da bakteriyel aşırı çoğalmaya yol açarak bakteriyel translokasyona sebep olduğu ve pankreatite bağlı sepsisin patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (5). Pankreatitin uyardığı barsak disfonksiyonunda patogenez tam olarak ortaya konamamıştır.

Akut pankreatitte, inflame pankreasdan çok erken dönemde endojen inflamatuvar medyatörlerin salındığı gösterilmiştir (32). Akut pankreatitli hayvanların serumunda bir saat içinde IL-1, IL-6, TNF- α konsantrasyonlarında artış gösterilmiştir (33, 34). Bu sitokinler inflame pankreas dokusundan salınmakta ve serum konsantrasyonları pankreatik inflamasyonun derecesi ile ilişkili görünmektedir (54). Akut pankreatitli hastaların serumundaki IL-6 konsantrasyonları hastalığın ciddiyeti ile ilişkili bulunmuştur (55). Bu sitokinler ve endotoksinleri içeren diğer medyatörler, iNOS üretimini aktive ederek NO üretimini arttırmaktadır. Al-Mufti RA ve ark nın yaptığı çalışmada cerulein ile uyarılan akut pankreatit modelinde pankreas dokusunda immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak iNOS artışını göstermişlerdir (22). Yine pankreatit grubunda plazma NO metabolitleri artmıştır. iNOS un artmış salınımı sonucu NO sentezindeki artış, akut pankreatitdeki lokal ve sistemik hemodinamik bozukluklarla ilişkili bulunmuştur (22). NO in gastrointestinal motilite üzerinde inhibitör etkileri olduğu bilinmektedir (19). Akut pankreatitte yüksek miktarda oluşan NO in intestinal transit zamanı üzerine olan etkilerini göstermek amacıyla bu çalışmayı planladık.

Literatürde NOS inhibisyonunun akut pankreatit üzerine olan etkileri ile ilgili çelişkili sonuçlar mevcut. Bazı çalışmalar NOS inhibisyonun olumlu etkilerinden bahsederken bir grup çalışmada ise olumsuz etkilerinden bahsedilmektedir. Um SH ve ark deneysel akut pankreatit modelinde iNOS inhibisyonunun pankreatit üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. L-NAME verilen akut pankreatit grubunda, verilmeyen gruba göre amilaz seviyelerinde, plazma NO seviyelerinde ve pankreatik hasarda azalma olduğunu göstermişlerdir (24). Biz bu çalışmada, verdiğimiz L-NAME nin NO seviyelerini düşürüp

düşürmediğine bakmadık. Şimşek İ ve ark. taurokolat ve tripsin ile uyarılan deneysel akut pankreatit modelinde iNOS inhibitörü verdikleri ve vermedikleri ratların plazma amilaz seviyeleri ve pankreas histolojisini karşılaştırmışlardır. iNOS inhibitörü verdikleri grupta plazma amilaz seviyesinin azaldığını ve pankreas histolojisinin düzeldiğini göstermişlerdir (53). Bu çalışmalar göz önüne alındığında iNOS inhibitörlerinin, pankreatiti iyileştirici özelliğinden dolayı intestinal motilite üzerinde olumlu etki göstermesi beklenmelidir. Ancak bu konuda yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Birkaç çalışmada akut pankreatitte NO in koruyucu etkisi olduğu düşünülmüştür. NO in pankreatik mikrosirkülasyonu düzeltip lökosit adezyonunu ve takiben doku infiltrasyonunu azalttığını düşünmüşlerdir. Bu çalışmalarda NO donörü olan L-arginin ile pankreatik ödem, pankreastaki tripsinojen aktivasyonu ve amilaz sekresyonunda azalma görülmüştür. Buna karşın L-NAME ile pankreatik inflamasyonun ciddiyetinin artmış olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (56-58).

Bizim yaptığımız çalışmada, akut pankreatit oluşturduğumuz ratlarda, L-NAME verilen grupta plazma amilaz, lipaz değerlerinde ve pankreasın histopatolojik incelemesinde iyileştirici etki saptamadık.

Biz bu çalışmada cerulein ile oluşan akut pankreatitte gastrik boşalmanın ve intestinal transitin inhibe olduğunu gördük. Bizim sonuçlarımız deneysel akut pankreatit ile uyarılan intestinal motilite bozukluğunu gösteren diğer çalışmaların sonuçlarını destekledi. Moody FG ve ark. obstrüktif pankreatit modelinde invitro olarak intestinal kontraktilitenin bozulduğunu ve in vivo olarak intestinal transitin geciktiğini gösterdiler (31). Benzer şekilde Seerden TC ve ark nın yaptığı çalışmada kolinden fakir diyet ile oluşturulan akut pankreatitin intestinal transitini bozduğu gösterildi (5). Leveau ve ark, akut pankreatitin indüksiyonunun erken evrelerinde, radyoizotop transit çalışmaları ile ince barsak transitinin geciktiğini gösterdiler. Akut pankreatitin indüksiyonundan 3 saat sonra ince barsak transitinin geciktiğini ve radyoaktivitenin büyük kısmının ilk iki intestinal segmentte kaldığını gösterdiler (28).

Akut pankreatitin uyardığı motilite bozukluğunun patojenik mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Al-Mufti ve ark. pankreatitin hayvan modellerinde iNOS aktivasyonunda artış gösterdiler (22). Bu sonuç, endotoksemi, termal hasar veya diğer inflamatuvar olaylarda olduğu gibi pankreatitin de iNOS u aktive ettiğini düşündürdü. Böylece iNOS inhibisyonu akut pankreatitte oluşan çeşitli patofizyolojik durumlarda bazı yararlı etkiler sağlayabilir. iNOS inhibisyonu hem akut pankreatitin şiddetini azaltarak hemde NO in serum düzeylerini azaltıp, NO in intestinal motilite üzerine olan inhibitör

etkisini baskılayarak intestinal motilite üzerine olumlu etkiler sağlayabilir. Biz bu çalışmada NO üretimini inhibe etmek amacıyla L-NAME kullandık.

L-NAME verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında L-NAME verilen grupta ince barsağın 3.segmentine geçen phenol red miktarında azalma olduğunu gördük. NOS un 2 ana formu tanımlanmıştır. cNOS fizyolojik durumlarda bulunan formudur. İki alt tipi vardır. Endotelyal (eNOS) ve nöronal (nNOS) hücrelerden salgılanırlar (21, 24, 25). NOS inhibitörlerinin verilmesinin, mezenterik arteriyolar seviyede NOS inhibisyonu yaparak splanknik kan akımını azalttığı gösterilmiştir (43). iNOS inflamatuvar medyatörlere yanıt olarak salgılanır ve patolojik durumlarda sentez edilir. iNOS, cNOS a göre çok yüksek miktarlarda NO oluşmasına sebep olur (21, 24, 25). cNOS, mikrovasküler perfüzyonun korunması için hayati önemi olan NO i üretir (21, 43).

Vane JR ve ark L-NNA (L-nitro-N-arginin) nin verilmesinden sonra, gastrin, CCK, insulin, glukagon gibi bazı hormonların plazma seviyelerinde anlamlı azalma olduğunu göstermişlerdir. Beslenmiş köpeklerde plazma hormonlarında L-NNA ile uyarılan azalma L-arginin ilavesi ile geri dönmüştür. L-NNA verilmesinden sonra plazma hormon seviyelerindeki değişikliklerin intestinal kan akımındaki azalmaya bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir (59, 60).

iNOS a karşı selektivitesi düşük olan L-NAME in kullanılması sonucu fizyolojik şartlarda daha çok bulunan cNOS inhibisyonu, doku iskemisine neden olup intestinal motiliteyi bozmuş olabilir.

Sarna ve ark, NOS inhibitörünün verilmesi ile postrandial gastrik kontraksiyonların arttığını ancak midedeki katı ve sıvıların boşalmasının suprese olduğunu göstermişlerdir. NO, pilordaki kasların tonusunu ayarlamaktadır. NOS inhibitörü, gastrik kontraksiyonları artırırken pilorun da gevşemesini önleyerek gastrik akomodasyonu bozmaktadır ve mide boşalması gecikmektedir (61). Bizim çalışmamızda gözlenen, NOS inhibisyonu ile intestinal transittteki yavaşlamanın sebebi peristaltik kontraksiyonlar ve itici güç motor paternindeki disorganizasyon olabilir.

Cullen ve ark. endotoksemi ile intestinal transitin arttığını göstermişlerdir. LPS nin, jejunal ve ileal düz kasta iNOS aktivitesinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Dolayısıyla endotoksin ile uyarılan NO artışının, intestinal transitini hızlandırdığını söylemişler (62). Rahman ve ark da endotoxeminin MMC nin disorganizasyonu sonucu hızlı intestinal transite yol açtığını söylemişlerdir. NOS inhibisyonu ile bu etkilerin düzeldiğini göstermişlerdir (63). Böylece bizim çalışmamızda L-NAME ile NO in

oluşmasının inhibiyonu sonucunda intestinal transitin yavaşlaması Cullen ve ark nın yaptığı çalışmayı desteklemiştir.

Bizim çalışmamızda cerulein grubunda mide boşalmasının ve intestinal transitin yavaşladığını gösterdik. Yine L-NAME grubunda da intestinal transitte yavaşlama izlendi. Bu durumda, cerulein ve L-NAME in birlikte verildiği grupta intestinal transitin, tek başına cerulein verilen gruba göre daha da yavaşlaması beklenirken fark olmadığı görüldü.

Biz bu çalışmada NO in ekisini değerlendirmek amacıyla NOS inhibitörü olan L-NAME yi kullandık. L-NAME tek başına intestinal transiti yavaşlatırken akut pankreatitli grupta akut pankreatitin sebep olduğu yavaşlamaya ilave bir katkı sağlamadı. Bu durumda yukarıda da bahsedildiği gibi NOS un farklı izoformları devreye giriyor olabilir. Fizyolojik şartlarda cNOS (eNOS, nNOS) daha fazla bulunurken (24), akut pankreatitte iNOS miktarında artış beklenmektedir (22). Fizyolojik şartlarda L-NAME, eNOS üzerinden etki edip intestinal perfüzyonu bozarak motiliteyi yavaşlatmış olabilir. Ancak akut pankreatitte, fazla miktarda üretilen iNOS inhibisyonu üzerinden etki sağlamış olabilir. Bu durumda akut pankreatitdeki intestinal transitin gecikmesi üzerine NOS inhibisyonunun katkı sağlamadığı söylenebilir. Biz bu çalışmada, daha önce ratlardaki peritonit modelinde ileal kontraktilitenin araştırıldığı çalışmada kullanılan dozu örnek alarak 5 mg/kg dozunda L-NAME kullandık. Daha önce akut pankreatitdeki dismotiliteyi düzeltmek amacıyla L-NAME kullanan herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Ancak akut pankreatit çalışmalarında akut pankreatiti iyileştirmek amacıyla 30 mg/kg (24, 25) L-NAME kullanıldığını gördük. Bizim kullandığımız L-NAME dozu yeterli miktarda iNOS inhibisyonu sağlamamış olabilir.

Wang X ve ark akut pankreatitte gastrointestinal dismotilitede motilin, CCK ve VIP in etkilerini araştırmışlar. Kolonik transit zamanı değerlendirmişler. Akut pankreatitli hastalarda kolonik transit zamanında uzama olduğunu göstermişler. Akut pankreatitli hastaların serumunda motilin ve CCK seviyelerinde azalma izlenirken, serum VIP seviyelerinde artış olduğunu göstermişler. Serum motiliumdaki azalmanın MMC nin faz III ünü etkileyip gastrointestinal motiliteyi yavaşlattığını söylemişlerdir. Gastrointestinal sistemin düz kasında relaksasyona neden olan VIP in akut pankreatitte artmış olmasının enteroparaliziye yol açabileceğini söylemişlerdir (16). Varga G ve ark. endojen ve eksojen CCK nın gastrik boşalmayı geciktirdiğini göstermişlerdir (64). Bu çalışmada bağırsak hormonlarının üzerinde durulmuştur. Akut pankreatitte oluşan motilite bozukluğunun muhtemelen birden çok sebebi vardır. Biz bu çalışmada NO in rolünü belirlemeye çalıştık ancak intestinal motilitenin düzenlenmesi multifaktöriyeldir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Ratlarda cerulein ile uyarılan akut pankreatit modelinde intestinal transitte gecikme saptandı.

2. Ratlarda cerulein ile oluşturulan akut pankreatit modelinde L-NAME ile NOS inhibisyonunun pankreatitin şiddeti üzerine yararı gösterilemedi.

3. L-NAME nin NO seviyelerini düşürdüğü varsayılırsa, akut pankreatitte NO düşüşünün motilite üzerine etkisini saptamadık.

4. Akut pankreatitte görülen yavaşlamış transit üzerine inflamasyon sonucu gelişen olayların rolü, NO ya göre daha baskın olmalıdır.

5. Akut pankreatitte görülen intestinal motilite bozukluğu multifaktöriyeldir. NO dışında sitokinlerin ve bağırsak hormonlarının etkisini ayrı ayrı araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1-Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH. Current diagnosis & treatment in gastroenterology. Second edition, New York, Lange Medical Books/McGraw-Hill, 489-495, 2003
- 2-Castillo CF, Rattner DW, WarshaW AL. Acute pancreatitis. *Lancet* 342;475-479,1993.
- 3-Rahman SH, Ammori BJ, Larvin M, McMahan MJ. Increased nitric oxide excretion in patients with severe acute pancreatitis: evidence of an endotoxin mediated inflammatory response? *Gut* 52:270-274,2003.
- 4-Kingsnorth A, O'Reilly D. Acute pancreatitis. *BMJ* 332;1072-1076,2006.
- 5-Serden TC, De Winter BY, Van Den Bossche RM, Herman AG, Pelckmans PA, De Man JG. Regional differences in gastrointestinal motility disturbances during acute necrotising pancreatitis. *Neurogastroenterol Motil* 17:671-679,2005.
- 6-Van Felius ID, Akkermans LMA, Bosscha K, Verheem A, Harmsen W, Visser MR, Gooszen HG. Interdigestive small bowel motility and duodenal bacterial overgrowth in experimental acute pancreatitis. *Neurogastroenterol Motil* 15:267-276, 2003.
- 7-Steinle AU, Weidenbach H, Wagner M, Adler G, Schmid RM. NF- κ B/Rel activation in cerulein pancreatitis. *Gastroenterology* 116:420-430, 1999.
- 8-Grady T, Saluja A, Kaiser A, Ster M. Edema and intrapancreatic trypsinogen activation precede glutathione depletion during caerulein pancreatitis. *Am J Physiol* 271:20-26, 1996.
- 9-Ogawa T, Sugidachi A, Tanaka N, Fujimoto K, Fukushige J, Tani Y, Asai F. Effects of R-102444 and its active metabolite R-96544, selective 5-HT_{2A} receptors in the development of experimental pancreatitis. *Eur J Phar* 521(1-3):156-163,2005
- 10-Thomson ABR, Keelan M, Thiesen A, Clandinin MT, Ropeleski M, Wild GE. Small bowel review, normal physiology part 2. *Dig Dis Sci* 46:2588-2607,2001
- 11-Hellström PM, Al-Saffar A, Ljung Tryggve, Theodorsson E. Endotoxin actions on myoelectric activity, transit, and neuropeptides in the gut. *Dig Dis Sci* 42:1640-1651, 1997.
- 12-Russo A, Fraser R, Adachi K, Horowitz M, Boeckxstaens G. Evidence that nitric oxide mechanism regulate small intestinal motility in humans. *Gut* 44:72-76, 1999.
- 13-Grundy D, Al-Chaer ED, Aziz Q, Collins SM, Ke M, Tache Y, Wood JD. Fundamentals of neurogastroenterology:basic science. *Gastroenterology* 130:1391-1411,2006.
- 14-Cullen JJ, Caropreso DK, Hemann LL, Hinkhouse M, Conklin JL, Ephgrave KS. Pathophysiology of adynamic ileus. *Dig Dis Sci* 42 (4):731-737,1997.
- 15-Membrilla-Rodriguez A, Martinez V, Jimenez M, Gonalons E, Vergara P. Is nitric oxide the final mediator regulating the migrating myoelectric complex cycle? *Am J Physiol* 268:G207-G214, 1995.
- 16-Wang X, Gong Z, Wu K, Wang B, Yuang Y. Gastrointestinal dysmotility in patients with acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 18:57-62,2003.
- 17-Bruns MJ, Luiking YC, Soeters PB, Lamers WH, Akkermans LMA, Deutz NEP. Effects of long-term intravenous and intragastric L-arginine intervention on jejunal motility and visceral nitric oxide production in the hyperdynamic compensated endotoxaemic pig. *Neurogastroenterol Motil* 16:819-828,2004.
- 18-Eskandari MK, Kalff JC, Billiar TR, Lee KKW, Bauer Aj. LPS-induced muscularis macrophage nitric oxide suppresses rat jejunal circular muscle activity. *Am J Physiol* 277:G478-G486,1999.

- 19- Tanaka T, Mizumoto A, Itoh Z. Effects of nitric oxide synthase on the digestive system measured by simultaneous monitoring of gastric motility, gastric emptying activity and postprandial pancreaticobiliary secretion in dogs. *Exp Anim* 54:309-317, 2005.
- 20- Samel S, Kese M, Lanig S, Kleczka M, Gretz N, Hafner M, Strum J, Post S. Supplementation and inhibition of nitric oxide synthesis influences bacterial transit time during bacterial translocation in rats. *Schok* 19(49):378-382, 2003.
- 21- Ayub K, Serracino-Inglott F, Williamson CN, Mathie RT. Expression of inducible nitric oxide synthase contributes to the development of pancreatitis following pancreatic ischaemia and reperfusion. *Br J Surg* 88:1189-1193, 2001.
- 22- Al Mufti RA, Williamson RCN, Mathie RT. Increased nitric oxide activity in rat model of acute pancreatitis. *Gut* 43:564-570, 1998.
- 23- Sandstrom P, Woods CM, Brooke-Smith M, Saccone GTP, Toouli J, Svanvik J. Highly selective iNOS inhibition and sphincter of Oddi motility in the Australian possum. *Acta Physiol Scand* 181:321-331, 2004.
- 24- Um SH, Kwon YD, Kim CD, Lee HS, Jeon YT, Chun HJ, Lee SW, Choi JH, Ryu HS, Hyun JH. The role of nitric oxide in experimental cerulein induced pancreatitis. *J Korean Med Sci* 18:520-526, 2003.
- 25- Alhan E, Küçüktülü U, Erçin C. The effects of nitric oxide synthase inhibitors on acute pancreatitis in rats. *Eur J Surg* 164:697-702, 1998.
- 26- Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 221:220-235, 1995.
- 27- Gomez-Jimenez J, Salgado A, Mourelle M. L-arginine: nitric oxide pathway in endotoxaemia and human septic shock. *Crit Care Med* 23:253-258, 1995.
- 28- Leveau P, Wang X, Soltesz V, Ihse I, Andersson R. Alterations in intestinal motility and microflora in experimental acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 20(2):119-125, 1996.
- 29- Smout AJPM. Small intestinal motility. *Curr Opin Gastroenterol* 20:77-81, 2004.
- 30- Li YF, Newton TJ, Weisbrodt NW, Moody FG. Intestinal migrating myoelectric complexes in rats with acute pancreatitis and bile duct ligation. *J Surg Res* 55:182-187, 1993.
- 31- Moody FG, Haley-Russell D, Muncy DM. Intestinal transit and bacterial translocation in obstructive pancreatitis. *Dig Dis Sci* 40(8):1798-1804, 1995.
- 32- Kusske AM, Rongione AJ, Reber HA. Cytokines and acute pancreatitis. *Gastroenterology* 110:639-642, 1996.
- 33- Grewal HP, Koth M, El Din AM, Ohman M, Salem A, Gaber L, Gaber O. Induction of tumor necrosis factor in severe acute pancreatitis and its subsequent reduction after hepatic passage. *Surgery* 115:213-221, 1994.
- 34- Norman J, Franz M, Messina J, Riker A, Fabri PJ, Rosemurgy AS, Gower W Jr. Interleukin-1 receptor antagonist decreases severity of experimental acute pancreatitis. *Surgery* 117:648-655, 1995.
- 35- Fahey TJ, Yoshioka T, Shires GT, Fantini GA. The role of tumor necrosis factor and nitric oxide in the acute cardiovascular response to endotoxin. *Ann Surg* 223:63-69, 1996.
- 36- Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Centorinno T, Ciccolo A, Van de Loo FAJ, Britti D, Caputi AP, Thiemermann C. Inducible nitric oxide synthase deficient mice exhibit resistance to the acute pancreatitis induced by cerulein. *Shock* 4:16-22, 2002.
- 37- Collins SM. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology* 111:1683-1699, 1996.
- 38- De Winter BY, Boeckxstaens GE, De Man JG, Moreels TG, Herman AG, Pelckmans PA. Effect of adrenergic and nitrergic blockade on experimental ileus in rats. *Br J Pharmacol* 120:464-8, 1997.

- 39-Moojen TM, Van Gulik TM, Hoek FJ, Gouma DJ, Tytgat GNJ, Boeckxstaens GEE. Possible role of nitric oxide in postoperative ileus: a comparative study. *Neurogastroenterol Mot* 11:403-408, 1999.
- 40-De Winter BY, Boeckxstaens GE, De Man JG, Moreels TG, Herman AG, Pelckmans PA. Effect of adrenergic and nitrenergic blockade on experimental ileus in rats. *Br J Pharmacol* 120:464-468, 1997.
- 41-Moore-Olufemi SD, Xue H, Allen SJ, Moore FA, Stewart RH, Laine GA, Cox CS. Inhibition of intestinal transit by resuscitation induced gut edema is reversed by L-NIL. *J Surg Res* 129:1-5, 2005.
- 42-Denninger JW, Marletta MA. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochimica et Biophysica Acta* 1411:334-350, 1999.
- 43-Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 126:903-913, 2004.
- 44-Takahashi T. Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 38:421-430, 2003.
- 45-Balachandra S, Genovese T, Mazzon E, Di Paola R, Thiemerman C, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Inhibition of tyrosine-kinase-mediated cellular signaling by tyrphostins AG 126 and AG556 modulates murine experimental acute pancreatitis. *Surgery* 138:913-23, 2005.
- 46-Yamaguchi H, Kimura T, Nawata H. Does stress play a role in the development of severe pancreatitis in rats? *Gastroenterology* 98:1682-1688, 1990.
- 47-Köylüoğlu G, Kaya T, Bağcivan I, Yıldız T. Effect of L-NAME on decreased ileal muscle contractility induced by peritonitis in rats. *J Pediatr Surg* 37(6):901-905, 2002.
- 48-Izbeki F, Wittmann T, Csati S, Jeszenszky E, Lonovics J. Opposite effects of acute and chronic administration of alcohol on gastric emptying and small bowel transit in rat. *Alcohol & Alcoholism* 36(4):304-308, 2001.
- 49-Feldman S, Gibaldi M. Effect of bile salts on gastric emptying and intestinal transit in rat. *Gastroenterology* 54:918-921, 1968.
- 50-Feldman S, Putcha L. Effect of anti-Parkinsonism drugs on gastric emptying and intestinal transit in rat. *Pharmacology* 15:503-511, 1977.
- 51-Tache Y, Maeda-Hagiwara M, Turkelson CM. Central nervous system action of corticotropin-releasing factor to inhibit gastric emptying in rats. *Am J Physiol* 253:G241-G245, 1987.
- 52-Gondim FAA, Rodrigues CL, Graça JRV, Camurça FD, Alencar HMP, Santos AA, Rola FH. Neural mechanisms involved in the delay of gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid after thoracic spinal cord transection in awake rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 87:52-58, 2001.
- 53-Şimşek İ, Refik M, Yaşar M, Özyurt M, Sağlamkaya U, Deveci S, Cömert B, Başustaoglu, A, Kocabalkan F. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces bacterial translocation in a rat model of acute pancreatitis. *Pancreas* 23:296-301, 2001.
- 54-Norman JG, Fink GW, Franz MG. Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch Surg* 130:966-70, 1995.
- 55-Heath DI, Cruickshank OH, Gudgeon M. Role of interleukin-6 in mediating the acute phase protein response and potential as an early means of severity assessment in acute pancreatitis. *Gut* 34:41-5, 1995.
- 56-Liu X, Nakano I, Yamaguchi H, Ito T, Goto M, Koyonagi S, Kinjoh M, Nawata H. Protective effect of nitric oxide on development of acute pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci* 40:2162-9, 1995.

- 57-Werner J, Rivera JA, Fernandez-del Castillo C, Lewandrowski K, Adrie C, Rattner DW, Warshaw AL. Differing roles of nitric oxide in the pathogenesis of acute eudematous versus necrotising pancreatitis. *Surgery* 121:23-30, 1997.
- 58-Molero X, Guarner F, Salas A, Mourelle M, Puig V, Malagelada JR. Nitric oxide modulates pancreatic basal secretion and response to cerulein in the rat: effects in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 108:1855-1862, 1995.
- 59-Maczka M, Thor P, Lorens K, Konturek J. Nitric oxide inhibits the myoelectric activity of the small intestine in dogs. *J Physiol Pharmacol* 44(1):31-42, 1993.
- 60-Vane JR, Botting RM. Secretory functions of the vascular endothelium. *J Physiol Pharmacol* 43:195-207, 1992.
- 61-Sarna SK, Otterson MF, Ryan RP, Cowles VE. Nitric oxide regulates migrating motor complex cycling and its postprandial disruption. *Am J Physiol* 265:759-766, 1993.
- 62-Cullen JJ, Mercer D, Hinkhouse M, Ephgrave KS, Conklin JL. Effects of endotoxin on regulation of intestinal smooth muscle nitric oxide synthase and intestinal transit. *Surgery* 125:339-44, 1999.
- 63-Rahman M, l-Saffar A, Hellstrom PM. Nitric oxide-mediated disorganisation of migrating myoelectric complex induced by diarrheogenic E. Coli toxin. *J Gastrointest Mot* 5:212, 1993.
- 64-Varga G, Scarpignato C. Camostatate- and cerulein- induced delay of gastric emptying in rat: effect of CCK receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 306:153-159, 1996.