

Açlıkta Serotoninin Kobay İnce ve Kalın Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi*

Vedat SAĞMANLIĞİL, İlksin PİŞKİN, Bahri EMRE, Elvin AKDAĞ
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.05.2002

Özet: Bu araştırma, bağırsak motilitesi üzerine düzenleyici etkisi olduğu bilinen serotoninin (5-HT) tok ve aç kobay ince ve kalın bağırsaklarında *in vitro* koşullarda motilite yönünden oluşturacağı etkilerin gözlemlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada 48 ergin (300-450 g) beyaz kobay, kontrol (tok) ve deneysel amaçla (96 saat aç) iki eşit gruba ayrıldı. Her iki gruptaki hayvanların yarısından ince bağırsak parçaları olan medial jejunum ve distal ileum, geri kalanlardan ise kalın bağırsak parçaları olan proksimal ve distal kolon alındı. Bu dokularda, çeşitli agonistlerin yalnız ve farklı antagonistler varlığında oluşturduğu izometrik düz kas hareketleri kaydedildi. Bu amaçla çözeltiliye başlangıçta betanikol (10^{-3} M), sonra 5-HT (5×10^{-5} M), daha sonra da fizostigmin (10^{-5} M) katıldı ve elde edilen amplitüde ait cevabın maksimum noktasında dokuya tekrar 5-HT uygulandı. Araştırmanın devamında aynı konsantrasyondaki 5-HT, L-NNA (N^G -nitro-L-arginine, 10^{-5} M), heksametonyum (10^{-5} M), verapamil (3×10^{-5} M) ve atropinin (5×10^{-5} M) çözeltiliye katılmasından iki dakika sonra olacak şekilde, son olarak da Ca^{++} içermeyen "Tyrode" çözeltilisine katılarak dokulara uygulandı.

Tok ve aç kobay ince ve kalın bağırsağında serotonin etkili kasılımlarda Ca^{++} 'un ve muskarinik sinapsların önemli ölçüde rolü olduğu tespit edildi. Bunun yanında tok ve aç proksimal kolonda nikotinik gangliyonların heksametonyumla bloke edilmesi ve NO (nitrik oksit) sentezinin L-NNA ile inhibe edilmesi sonucunda serotoninle elde edilen kasılımlarda artışlar gözlemlenmesi, bu cevaplarda NO'nun ve nikotinik sinapsların kısmen inhibe edici rolü olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Açlık, serotonin, kobay, ince ve kalın bağırsak, motilite

The Effects of Serotonin on the Motility of Small and Large Intestine of Guinea Pigs in Fasting

Abstract: This study was carried out *in vitro* to observe the effects of serotonin (5-HT), identified as a transmitter candidate for the regulation of intestinal motility, on the motility of the small and large intestines of fed and fasted guinea pigs.

In the study, 48 adult guinea pigs weighing 300-450 g were divided equally into control (fed) and experimental (fasted for 96 h) groups. Half of the animals in both groups were used for taking small intestinal segments, the mid jejunum and distal ileum, while the rest of the animals were used to take large intestinal segments, as well as proximal and distal colons. The isometric contractions of tissues induced by various agonists alone and in the presence of various antagonists were recorded. At first, bethanechol (10^{-3} M) and 5-HT (5×10^{-5} M), and then physostigmine (10^{-5} M) were added to the solution and after getting the maximum response in the amplitudes of the tissues, serotonin (5×10^{-5} M) was used again. After that, 5-HT was added to the solution in the presence of L-NNA (N^G -nitro-L-arginine, 10^{-5} M), hexamethonium (10^{-5} M), verapamil (3×10^{-5} M) and atropine (5×10^{-5} M), and finally Ca^{++} -free Tyrode solution was applied to the tissues.

We found that muscarinic receptors and Ca^{++} play a major role in serotonin-induced contractions in both the fed and fasted small and large intestines of guinea pigs. In addition, the increases in 5-HT-induced contractions after inhibiting NO (nitric oxide) synthesis with L-NNA and blocking the nicotinic ganglions with hexamethonium were interpreted as NO and nicotonic synapses that also play a role in these contractions.

Key Words: Fasting, serotonin, guinea pig, small and large intestine, motility

* Bu araştırma TÜBİTAK VHAG-1630 nolu projeye desteklenmiştir.

Giriş

Serotoninin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), memeli vücudundaki miktarının yaklaşık % 90'ı, bağırsakta kromaffin hücreleri, miyenterik plexus (1) ve propriyadaki mast hücrelerinde bulunmakta ve ayrıca miktarı en yüksek olduğu duodenumdan aşağıya doğru gidildikçe azalmaktadır (2).

Gastrointestinal motilite üzerine yapılan elektrofizyolojik çalışmalar, kobayların bağırsaklarındaki miyenterik sinirlerde 5-HT'nin uyarıcı özellikte en az üç alt tipinin (5-HT_{1P}, 5-HT₃, 5-HT₄) olduğunu ortaya koymuştur (3,4). Bunlardan 5-HT_{1P} reseptörleri yavaş ve uyarıcı tipte cevapların düzenlenmesini sağlayarak (5) peristaltik refleksi oluşturmakta (6), 5-HT₃ ve 5-HT₄ reseptörleri ise bağırsak sinirleri üzerinde bulunup uyarıma bağlı olarak asetilkolin salınımını arttırmaktadırlar (7,8,9). Kobay ve insan kolonunda 5-HT₃ reseptörleri yönünden yapılan bir araştırmada (10), bu reseptörlerin insan kolonunda özellikle miyenterik plexus üzerinde yoğun bir şekilde bulunmasına (kolonik motiliteden sorumlu) karşın kobay kolonunda bulunmadığı bildirilmiştir.

İnsanlarda yapılan bir çalışmada (11), 5-HT'nin intravenöz uygulanması sonucunda ince bağırsakta açlık motilitesinin ve geçiş hızının arttığı bildirilmiştir. Köpeklerde yapılan bir denemede ise (12), 18 saatlik bir açlık sonucunda serotoninin faz I esnasında verilmesi sonucunda faz II-benzeri sirküler kas kontraksiyonlarına neden olduğu tespit edilmiştir. Koyunlarda 5-HT prekürsörü olan "5-hydroxytryptophan" MMC'nin (migrating myoelectric complex) siklus süresini kısaltırken (13), sıçanlarda ise (14) aynı prekürsörün düşük dozda benzer etki yaptığı fakat yüksek dozda MMC'yi bozduğu tespit edilmiştir. Aç fare ve sıçanlarda bağırsak salgısını arttıran serotoninin (15,16), açlığa bağlı ishal olayında da hücre içi Ca⁺⁺'u arttırmak etkili olduğu (17) ve buna bağırsak motilitesi üzerine olan hareketlendirici etkinin de katkısı olabileceği düşünülmektedir.

Bağırsak hareketleri ile ilgili yapılan birçok çalışma bağırsağı bölümlendirmede yetersiz kalsa da, düzenleyici maddelerin dağılımı, innervasyonu ve değişik kasılma tipleri bölümlendirmemizde yardımcı olmaktadır. Bu amaçla *in vitro* koşullarda yapılan birçok sekresyon ve motilite çalışmasında (15,16,18,19) bağırsak segmentleri arasında farklılıklar tespit edilmiştir.

Bu çalışmada serotoninin aç ve tok kobayların ince ve kalın bağırsaklarında *in vitro* koşullarda motilite yönünden oluşturacağı etkinin mekanizmasını açığa çıkarmak ve dokular arasında kasılım yönünden farklılık olup olmadığını gözlemlemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada 48 ergin (300-450 g) beyaz kobay iki eşit gruba ayrılarak kullanıldı. Bu gruplardan kontrol (tok) grubu olarak değerlendirilenlere suları ve yemleri *ad libitum* verilirken, deney grubuna suları *ad libitum* verildi fakat yemleri denemeden 96 saat önce kesildi. Tok ve deney (aç) gruplarının yarısından ince bağırsak parçaları olan medial jejunum ve distal ileum, diğer yarısından ise kalın bağırsak parçaları olan proksimal ve distal kolon alınarak denemede kullanıldı. Bağırsak parçaları alınırken kobaylar sodyum pentobarbital ile sakinleştirildikten sonra etik kurallara uygun olarak boyun eklemelerinden disloke edildi. Karın bölgeleri açıldıktan sonra ince bağırsak parçaları olarak ileo-sekal noktaya 100 santimetre uzaklıktan medial jejunum ile bu noktaya 5 santimetre uzaklıktan distal ileum, kalın bağırsak parçalarından proksimal kolon sekumun hemen bitiminden alta doğru ve distal kolon ise rektumun hemen üstünden ikişer santimetre olarak alındı. Kontrol ve deney grubuna ait olan aynı bağırsak parçaları, iki organ banyosu kadehinde eş zamanlı çalışıldı. Alınan bağırsak parçaları "Tyrode" çözeltisi (gram cinsinden, NaCl, 8; KCl, 0,2; CaCl₂, 0,2; MgCl, 0,1; NaHCO₃, 1; NaH₂PO₄, 0,05 alınarak distile su ile 1 lt'ye tamamlandı) ile temizlendikten sonra mezenter dokudan arındırıldı. Daha sonra bağırsak parçaları 37 °C'lik bir ısıda ve % 95 O₂ - % 5 CO₂ gaz karışımı ile havalandırılan 15 ml'lik "Tyrode" çözeltisi içerisinde olacak şekilde izole organ banyosu kadehlerine yerleştirildi. Dokulara başlangıçta 2 gramlık bir gerim uygulandı ve ortama alışmaları bakımından en az bir saat "Tyrode" çözeltisi içerisinde bekletilirken 15'er dakikalık aralıklarla da çözelti değiştirildi. Bekleme süresini takiben dokunun bulunduğu çözelti içerisinde ilk önce betanikol, bu tür *in vitro* çalışmalarda etkili olduğu bildirilen (16) 10⁻³ M konsantrasyonda verildi ve cevabın alınmasından sonra çözelti ikişer dakika arayla değiştirilerek dokunun önceki tonusuna kavuşması sağlandı. Daha sonra, dokulara 5-HT'nin etkili olan 5x10⁻⁵ M'lık konsantrasyonu (16) uygulandı ve bir önceki yıkama işlemleri tekrar edildi. Doku başlangıç tonusuna ulaşıncaya çözeltiye bu kez fizostigmin, ön denemelerle

etkili olduğu tespit edilen 10^{-5} M konsantrasyonda katıldı ve elde edilen amplitüde ait cevabın maksimum noktasında dokuya tekrar 5×10^{-5} M'lık konsantrasyonda 5-HT katıldı. Çalışmanın devamında aynı konsantrasyondaki 5-HT, çalışmada antagonist olarak kullanılan L-NNA ve heksametonyumun 10^{-5} M, atropinin 5×10^{-5} M (20) ve verapamilin 3×10^{-5} M'lık (21) konsantrasyonlarının çözeltiye katılmasından iki dakika sonra olacak şekilde çözeltiye eklendi ve her antagonist ve devamındaki 5-HT uygulaması arasında yıkama ile ilgili işlemler tekrar edildi. Son olarak, doku başlangıçtaki tonusuna kavuşunca çözelti içerisinde Ca^{++} bulunmayan (Ca^{++} -free) "Tyrode" çözeltisi ile değiştirilerek ve aynı çözeltinin iki kez değiştirildiği toplam 10 dakikalık bir süreyi takiben 5-HT yine aynı konsantrasyonda dokulara uygulandı. Veri olarak, uygulanan betanikol, fizostigmin ve 5-HT'ye verilen kasılım cevaplarının (yalnız, antagonistlerin varlığında ve Ca^{++} -free çözeltide) maksimum düzeyleri gram cinsinden ve maddenin verilmesi ile cevabın oluşmaya başladığı ana kadar olan süre (latent süre) ve ayrıca cevabı geç alınan fizostigmin için maksimal kasılımın olduğu ana kadar geçen süre saniye cinsinden değerlendirildi. Bağırsak düz kasına ait bu cevaplar, izometrik "force transducer" ve "acquisition system" yardımı ile bilgisayarda görüntülenerek elde edildi.

İstatistiksel yöntem olarak, her bağırsak parçası için ayrı olacak şekilde amplitüt ve latent süre değerlerinin tok ve aç koşullarda elde edilenleri arasında yapılan karşılaştırmada "Student t-test", tok ve aç değerleri ayrı olacak şekilde aynı doku için uygulanan maddeler arasında ve aynı koşullarda farklı dokular arasında yapılan

karşılaştırmalarda ise "Varyans analizi" ile "Duncan" testleri uygulandı.

Bulgular

Tok ve aç kobay ince ve kalın bağırsak düz kasları arasında güçlü bir muskarinik agonist olan betanikolün (10^{-3} M) doğurduğu kasılımların amplitütleri ve latent süreleri açısından yapılan karşılaştırma (Tablo 1), genelde açlığa bağlı olarak dokuda daha zayıf cevapların daha kısa sürelerde elde edildiğini ama bunlar arasında istatistiksel yönden farklılığın yalnızca distal ileumda ve amplitütler arasında ($p < 0,05$) olduğunu göstermiştir.

Antikolinesteraz bir madde olan fizostigmin (10^{-5} M) ile aç dokulardan elde edilen cevaplara bakıldığında ise (Tablo 2), amplitüt açısından önem ifade eden azalmaların medial jejunum ($p < 0,01$), distal ileum ($p < 0,05$) ve distal kolonda ($p < 0,001$) olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında latent süreler açısından yapılan karşılaştırmada, distal kolon dışındaki segmentlerde açlığa bağlı önemli olmayan azalmalar gözlemlenirken, kasılımın maksimum noktaya ulaşma süresinin (maksimal süre) medial jejunum dışında açlığa bağlı olarak uzadığı ve distal kolona ait değerler arasında istatistiksel açıdan önem olduğu ($p < 0,05$) saptandı.

Araştırmada, yine ince bağırsak segmentleri olan medial jejunum ve distal ileum, kalın bağırsak segmentleri olarak ise proksimal ve distal kolonda 5×10^{-5} M konsantrasyonda denenen serotoninin (Tablo 3), distal kolonda diğer segmenttekilerin yaklaşık iki katı veya üzerinde bir boyutta kasılım oluşturduğu, ancak her dört

Tablo 1. Tok ve aç (4 gün) kobaylarda, betanikolün (10^{-3} M) medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) ve latent süre (sn) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Betanikol (10^{-3} M)			
	Amplitüt (gram) X ± Sx		Latent süre (saniye) X ± Sx	
	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)
Medial jejunum	3,85 ± 0,19	3,44 ± 0,26	0,59 ± 0,14	0,49 ± 0,12
Distal ileum	5,26 ± 0,26	4,36 ± 0,32*	0,54 ± 0,14	0,30 ± 0,15
Proksimal kolon	9,27 ± 0,75	7,45 ± 0,88	1,18 ± 0,34	1,17 ± 0,38
Distal kolon	9,13 ± 0,42	9,44 ± 0,45	1,57 ± 0,54	1,06 ± 0,33

* : $p < 0,05$

Tablo 2. Tok ve aç (4 gün) kobaylarda, fizostigminin (10^{-5} M) medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g), latent ve maksimal süre (sn) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Fizostigmin (10^{-5} M)					
	Amplitüt (gram) X ± Sx		Latent süre (saniye) X ± Sx		Maksimal süre (saniye) X ± Sx	
	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)
Medial jejunum	2,55 ± 0,29	1,52 ± 0,24**	37,84 ± 1,30	36,98 ± 2,84	96,44 ± 8,50	77,73 ± 7,89
Distal ileum	3,45 ± 0,27	2,32 ± 0,45*	39,95 ± 2,82	37,84 ± 9,09	79,90 ± 7,73	92,50 ± 9,56
Proksimal kolon	4,83 ± 0,73	3,75 ± 0,73	46,25 ± 6,67	33,95 ± 8,40	123,76 ± 14,85	94,58 ± 13,72
Distal kolon	8,85 ± 0,64	5,19 ± 0,62***	34,26 ± 5,23	54,09 ± 8,53	102,84 ± 6,39	122,65 ± 5,75*

* : p<0,05 ** : p<0,01 *** : p<0,001

Tablo 3. Tok ve aç (4 gün) kobaylarda, serotoninin (5×10^{-5} M) medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) ve latent süre (sn) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Serotonin (5×10^{-5} M)			
	Amplitüt (gram) X ± Sx		Latent süre (saniye) X ± Sx	
	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)
Medial jejunum	3,54 ± 0,07	3,65 ± 0,24	2,08 ± 0,27	1,48 ± 0,22
Distal ileum	4,51 ± 0,32	4,26 ± 0,32	2,53 ± 0,29	3,41 ± 0,51
Proksimal kolon	4,32 ± 0,90	3,87 ± 0,73	3,83 ± 0,49	2,04 ± 0,24**
Distal kolon	9,99 ± 0,61	9,24 ± 0,64	2,19 ± 0,62	1,59 ± 0,18

** : p<0,01

dokuda da tokluk ve açlık arasında kasılım açısından istatistiki önemde bir farklılığın oluşmadığı tespit edildi. Buna karşın latent süreler açısından yapılan karşılaştırma, proksimal kolonda açlığa bağlı olarak önem ifade eden (p<0,01) bir azalmayı gösterdi.

Serotoninin fizostigmin varlığında oluşturduğu kasılmayı takiben (Tablo 4), proksimal kolonda açlığa bağlı amplitütte bir küçülme (p<0,001) ve her iki ince bağırsak segmentinin latent sürelerinde ise aynı önemde (p<0,01) bir artış gözlemlendi.

Tablo 4. Tok ve aç (4 gün) kobaylarda, fizostigminin varlığında (10^{-5} M) serotoninin (10^{-5} M) medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) ve latent süre (sn) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Fizostigmin (10^{-5} M) + Serotonin (5×10^{-5} M)			
	Amplitüt (gram) X ± Sx		Latent süre (saniye) X ± Sx	
	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)
Medial jejunum	1,94 ± 0,18	2,56 ± 0,33	0,30 ± 0,09	0,87 ± 0,15**
Distal ileum	2,76 ± 0,25	2,88 ± 0,40	0,68 ± 0,16	1,59 ± 0,26**
Proksimal kolon	7,64 ± 0,51	4,75 ± 0,56***	1,60 ± 0,37	2,05 ± 0,13
Distal kolon	7,15 ± 0,55	6,61 ± 1,00	0,68 ± 0,28	0,93 ± 0,14

** : p<0,01 *** : p<0,001

Serotoninin aynı konsantrasyonda (5×10^{-5} M) L-NNA'nın (10^{-4} M) varlığında denenmesi durumunda (Tablo 5), tok ve aç dokular arasında amplitüt yönünden önemli bir farklılık gözlenmezken, latent süre açısından medial jejunum ve distal ileumda istatistiksel yönden önem ifade eden azalmalar (sırayla $p < 0,001$ ve $p < 0,05$) tespit edildi.

Serotoninin aynı konsantrasyonunun (5×10^{-5} M) bu kez hekzametonyum (10^{-4} M) varlığında denenmesiyle (Tablo 6) amplitüt yönünden medial jejunum, latent süre açısından ise proksimal kolonda istatistiksel yönden önem ifade eden azalma (her ikisi için $p < 0,01$) gözlemlendi.

Öte yandan, tok ve aç hayvanlardan elde edilen bağırsak parçalarında serotoninin yalnız ve fizostigmin, L-NNA ile hekzametonyum varlığında denenmesi koşullarında elde edilen cevapların amplitütleri ile ilgili hem koşullar arasında ve hem de aynı koşulda bağırsak parçaları arasındaki farklılıkları görmek amacıyla yapılan karşılaştırmalar Tablo 7 ve 8'de gösterilmiştir.

Öte yandan serotoninin, verapamil (3×10^{-5} M) ve atropin (10^{-5} M) varlığında ve ayrıca "Ca⁺⁺-free" ortamda

aynı konsantrasyonda (5×10^{-5} M) denenmesi sonucunda, medial jejunumda bir örnekte verapamil varlığında elde edilen 0,13 g'lık amplitüt cevabı dışında her üç koşulda da bir cevap alınmazken, distal ileumda verapamil ve atropin varlığında aynı iki dokuda küçük cevaplar (sırayla amplitütler, $0,27 \pm 0,07$ ve $0,89 \pm 0,40$ g; latent süreler, $8,5 \pm 5,5$ ve $43,13 \pm 21,0$ sn) elde edildi. Distal ileumda da medial jejunumda olduğu gibi serotoninle "Ca⁺⁺-free" ortamda bir cevap alınmadı. Proksimal kolonda verapamilin varlığında serotoninle 12 dokunun beşinde cevap (amplitüt, $0,67 \pm 0,20$ g ve latent süre, $1,9 \pm 0,44$ sn) elde edilirken, atropinin varlığında bu olay altı dokuda (amplitüt, $0,75 \pm 0,22$ g ve latent süre, $26,14 \pm 11,54$ sn) gözlemlendi. Yine bu dokuda da serotoninle "Ca⁺⁺-free" ortamda bir cevap alınmadı. Distal kolonda, serotoninle verapamil varlığında 12 dokunun beşinde, atropinle ve "Ca⁺⁺-free" ortamda ise ikisinde küçük boyutta kasılımlar (sırayla, $1,98 \pm 0,28$; $1,01 \pm 0,2$ ve $0,35 \pm 0,12$ g) yine diğer dokulara benzer sürelerde (sırayla, $1,57 \pm 0,5$; $3,58 \pm 0,51$ ve $46,7 \pm 2,78$ sn) elde edildi.

Tablo 5. Tok ve aç (4 gün) kobaylarda, L-NNA'nın varlığında (10^{-4} M) serotoninin (10^{-5} M) medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) ve latent süre (sn) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	L-NNA (10^{-4} M) + Serotonin (5×10^{-5} M)			
	Amplitüt (gram) X ± Sx		Latent süre (saniye) X ± Sx	
	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)
Medial jejunum	$3,13 \pm 0,11$	$3,08 \pm 0,19$	$1,96 \pm 0,26$	$0,72 \pm 0,14^{***}$
Distal ileum	$5,00 \pm 0,40$	$4,50 \pm 0,42$	$2,14 \pm 0,28$	$1,46 \pm 0,15^*$
Proksimal kolon	$9,56 \pm 0,96$	$7,60 \pm 0,97$	$2,46 \pm 0,36$	$2,18 \pm 0,43$
Distal kolon	$9,15 \pm 0,74$	$10,27 \pm 0,73$	$1,55 \pm 0,34$	$1,06 \pm 0,15$

* : $p < 0,05$ *** : $p < 0,001$

Tablo 6. Tok ve aç (4 gün) kobaylarda, hekzametonyumun varlığında (10^{-4} M) serotoninin (10^{-5} M) medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) ve latent süre (sn) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Hekzametonyum (10^{-4} M) + Serotonin (5×10^{-5} M)			
	Amplitüt (gram) X ± Sx		Latent süre (saniye) X ± Sx	
	Tok	Aç (4 gün)	Tok	Aç (4 gün)
Medial jejunum	$3,24 \pm 0,23$	$2,34 \pm 0,14^{**}$	$1,36 \pm 0,12$	$1,63 \pm 0,24$
Distal ileum	$3,97 \pm 0,41$	$3,73 \pm 0,24$	$2,97 \pm 0,59$	$1,89 \pm 0,33$
Proksimal kolon	$7,67 \pm 0,84$	$6,67 \pm 0,91$	$2,76 \pm 0,45$	$1,16 \pm 0,21^{**}$
Distal kolon	$10,75 \pm 0,49$	$10,06 \pm 0,68$	$1,02 \pm 0,33$	$1,13 \pm 0,19$

** : $p < 0,01$

Tablo 7. Tok kobaylarda, serotoninin (10^{-5} M) yalnız, fizostigmin (10^{-5} M), L-NNA (10^{-4} M) ve hegzametonyumun (10^{-4} M) varlığında medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Tok - Amplitüt (gram)			
	Serotonin	Fizostigmin +Serotonin	L-NNA +Serotonin	Hekzametonyum +Serotonin
Medial jejunum	3,54 ± 0,07 ^a	1,94 ± 0,18 ^b	3,13 ± 0,11 ^c	3,24 ± 0,23 ^d
Distal ileum	4,51 ± 0,32 ^e	2,76 ± 0,25 ^f	5,00 ± 0,40 ^g	3,97 ± 0,41 ^h
Proksimal kolon	4,32 ± 0,90 ⁱ	7,64 ± 0,51 ^j	9,56 ± 0,96 ^k	7,67 ± 0,84 ^l
Distal kolon	9,99 ± 0,61 ^m	7,15 ± 0,55 ⁿ	9,15 ± 0,74 ^o	10,75 ± 0,47 ^p

p<0,05: a-b, a-m, b-c, b-d, b-j, b-n, c-g, c-k, c-o, d-l, d-p, e-f, e-m, f-g, f-h, f-j, f-n, g-k, g-o, h-l, h-p, i-j, i-k, i-l, i-m, l-p, m-n, n-o, n-p

Tablo 8. Aç (4 gün) kobaylarda, serotoninin (10^{-5} M) yalnız, fizostigmin (10^{-5} M), L-NNA (10^{-4} M) ve hegzametonyumun (10^{-4} M) varlığında medial jejunum, distal ileum, proksimal kolon ve distal kolona verilmesiyle elde edilen amplitüt (g) değerleri.

Bağırsak parçası (n=12)	Aç (4 gün) - Amplitüt (gram)			
	Serotonin	Fizostigmin +Serotonin	L-NNA +Serotonin	Hekzametonyum +Serotonin
Medial jejunum	3,65 ± 0,24 ^a	0,56 ± 0,33 ^b	3,08 ± 0,19 ^c	2,34 ± 0,14 ^d
Distal ileum	4,26 ± 0,32 ^e	2,88 ± 0,40 ^f	4,50 ± 0,42 ^g	3,73 ± 0,24 ^h
Proksimal kolon	3,87 ± 0,73 ⁱ	4,75 ± 0,56 ^j	7,60 ± 0,97 ^k	6,67 ± 0,91 ^l
Distal kolon	9,24 ± 0,64 ^m	6,61 ± 1,00 ⁿ	10,27 ± 0,73 ^o	10,06 ± 0,68 ^p

p<0,05: a-b, a-d, a-m, b-j, b-n, c-d, c-k, c-o, d-l, d-p, e-f, e-m, f-g, f-j, f-n, g-k, g-o, h-l, h-p, i-k, i-l, i-m, j-k, j-n, k-o, l-p, m-n, n-o, n-p

Tartışma

Açlıkla ilgili özellikle sıçan ve fare bağırsaklarında *in vitro* koşullarda yapılan sekresyon çalışmaları (17,22), açlığa bağlı olarak salgı olayının arttığını göstermiştir. Açlığın bağırsak motilitesini nasıl etkilediği konusunda özellikle *in vivo* çalışmalar (23,24) bulunmakta ve bunlarda bağırsak motilitesinin arttığı belirtilmektedir. Öte yandan farelerde 48 saat açlık sonucunda *in vitro* koşullarda distal ileumda asetilkolin ile tok ve 24 saat aç olana göre motilite artışının gösterildiği bir çalışma (25) yanında, kobaylarda 72 saat açlık sonucu ampisilinle (214 mg/ml) yine distal ileumda hem amplitüt hem de latent süre açısından artışların olduğu bildirilmiştir (26). Bu araştırmada kobayların ince ve kalın bağırsaklarında yapılan ön denemelerde 72 saatin yetersiz olduğu tespit edildikten sonra uygulanan 96 saatlik (4 gün) açlık sonucunda, betanikol, 5-HT ve fizostigmin gibi agonistler denenmiş ve tok olan dokuya ait amplitüt ve latent süreye ait cevaplarda genel anlamda bir azalma gözlemlenmiştir (Tablo 1,2,3). Bu sonuçların yukarıda belirtilen ve *in vitro* koşullarda yapılan motilite çalışmaları ile olan uyumsuzluğu, tür ve agonist madde ya da açlık süresinin farklılığına bağlanabileceği düşünülmektedir.

Kojima ve Ikeda (20), antikolinesteraz bir madde olan fizostigminin luminal 5-HT salınımını arttırdığını ve bunu sinirsel aktivitenin uyarılması sonucu asetilkolin salgılanmasının arttırılması ile sağlamış olabileceğini bildirmişlerdir. Öte yandan insan ve sıçan kalın bağırsaklarında yapılan çalışmalar (27,28), bu segmentlerde sinirsel olmayan bir asetilkolin aktivitesinin geçerli olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada alınan sonuçlara bakıldığında (Tablo 4), ince bağırsakta serotoninle yalnız olarak elde edilen kasılım cevaplarının fizostigmin varlığında alınanlardan daha büyük olduğu görülecektir. Ancak, serotonin ile fizostigmin varlığında elde edilen kasılım boyutları fizostigmin verilmeden önceki tonusa göre hesaplandığında, bu cevapların önemli bir boyutta olmasa da serotoninle yalnız olarak elde edilenlerden daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Aynı mantıkla proksimal kolonun tersine distal kolonda, serotoninle yalnız olarak ortaya çıkan kasılımların fizostigminle olanlardan yine daha büyük oldukları, fizostigmin+serotonin hesaplamasından sonra ortaya çıkan rakamların ise hem proksimal ve hem de distal kolonda diğer koşullardan oldukça büyük oldukları rahatlıkla gözlemlenmektedir. Ancak bu sonuçların

işığında fizostigminle uyarılmış sinirsel olan veya olmayan bir asetilkolin desteğinden söz edilemez. Aynı şekilde ince ve kalın bağırsaklar arasında belirgin bir ayırımdan da bahsedilmemektedir.

Fonksiyonel ve morfolojik çalışmalarda nitrik oksit (NO) sinirlerinin dorsal çekirdek (29) ve miyenterik pleksusda (30) bulunması ve mide-bağırsak motilitesinin düzenlenmesinde her iki bölgenin de önemli olması, NO'nun motilite açısından önemini göstermektedir. Nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirlerde inhibitör bir transmitter madde olduğu bilinen NO'nun, mide-bağırsak kanalı motilitesinde özellikle gevşeme yaptığı bilinmektedir. Bu amaçla köpeklerde yapılan bazı çalışmalarda, NO sentezinin L-NNA kullanılarak inhibe edilmesi sonucu faz III tipi kasılmalar gözlemlendiği (31,32), aç köpeklerde "interdigestive migrating complex" denilen beslenmenin olmadığı sürede gözlenen bağırsak hareketlerinin süresinin kısalacağı bildirilmiştir (32). Bunun yanında anestezi yapılmamış sıçan ve tavuklarda (33), NO sentezinin inhibe olması ile açlığa bağlı motorik değişimlerin gözlemlendiği de vurgulanmaktadır.

Mizumoto ve ark. (34), Kojima ve Ikeda (20), 5-HT salınımında NO'nun etkisini, kobay kolonunun submukoz pleksusunda nitrik oksit sentezini yapan sinirlerin varlığını gösteren çalışmayı (35) doğrulayacak şekilde, NO sentez inhibitörü olan L-NNA kullanarak göstermişlerdir. Aynı

çalışmada atropin ve heksametyumun etkiyi azaltıcı, fizostigminin ise arttırıcı rollerinden dolayı, 5-HT salınımının NO ve kolinerjik yollar kullanılarak gerçekleştiği ve bu olayda muskarinik ve nikotinik reseptörlerin etkisi olduğu vurgulanmıştır. Yine son yıllarda yapılan bir çalışmada (36), KW-5092 adlı gastrokinetik bir ajanla gerçekleşen 5-HT salınımının atropinle durdurulması sonucunda kolinerjik sinirlerin rolü ortaya konmuştur. Bu araştırmada ise 5-HT-etkili kasılımlarda atropin azalmaya neden olurken, heksametyum tersine tok ve aç şartlarda proksimal kolonda artışa yol açmış, diğer dokularda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 7,8). Bu sonuçlar kobay bağırsağında serotoninin etkisini kolinerjik yolları kullanarak gerçekleştirdiğini, nikotinik gangliyonların proksimal kolon dışında herhangi bir rolünün bulunmadığını düşündürmektedir. Ancak bunu kesin olarak söyleyebilmek için, nikotinik gangliyonlarda inhibisyon yapan başka antagonistler de kullanarak bu sonuçlar desteklenmelidir.

Bütün bunların dışında tok ve aç kobayda ince ve kalın bağırsakta 5-HT etkili kasılmaların verapamil varlığında ve Ca⁺⁺-free ortamda hemen hemen tamamının ortadan kalkması, 5-HT etkili kasılımlarda Ca⁺⁺'un önemini kanıtlamaktadır.

Kaynaklar

1. Prins, N.H., Briejer, M.R., Schuurkes, J.A.J.: Characterization of the contraction to 5-HT in the canine colon longitudinal muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 1997; 120: 714-720.
2. Salvador, M.T., Murillo, M.D., Rodriguez-Yoldi, M.C., Alcalde, A.I., Mesonero, J.E., Rodriguez-Yoldi, M.J.: Effects of serotonin on the physiology of the rabbit small intestine. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2000; 78: 359-366.
3. Craig, D.A., Clarke, D.E.: Pharmacological characterization of a neuronal receptor for 5-hydroxytryptamine in guinea-pig ileum with properties similar to the 5-hydroxytryptamine₄ receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1990; 252: 1378-1386.
4. Pan, H., Galligan, J.J.: 5-HT_{1A} and 5-HT₄ receptors mediate inhibition and facilitation of fast synaptic transmission in enteric neurons. *Am. J. Physiol.*, 1994; 226: G230-238.
5. Mawe, G.M., Branchek, T.A., Gershon, M.D.: Peripheral neural serotonin receptors: Identification and characterization with specific antagonists and agonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986; 83: 9799-9803.
6. Wade, P.R., Chen, J., Jaffe, B., Kassem, I.S., Blakely, R.D., Gershon, M.D.: Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract. *J. Neurosci.*, 1996; 16: 2352-2364.
7. Engel, G., Hoyer, D., Kalkman, H.O., Wick, M.B.: Identification of 5-HT₂ receptors on longitudinal muscle of the guinea pig ileum. *J. Recept. Res.*, 1984; 4: 113.
8. Elswood, C.J., Bunce, K.T., Humphrey, P.P.A.: Identification of the putative 5-HT₄ receptors in guinea pig ascending colon. *Eur. J. Pharmacol.*, 1991; 196: 149.
9. Briejer, M.R., Akkermans, L.M.A., Meulemans, A.L., Lefebvre, R.A., Schuurkes, J.A.J.: Novel 5-HT₂-like receptor mediates neurogenic relaxation of the guinea pig proximal colon. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995; 279: 123-133.
10. Sakurai-Yamashita Y., Yamashita, K., Kaibara, M., Enjoji, A., Kanematsu, T., Taniyama, K.: Differential distribution of 5-hydroxytryptamine₃ receptor in the colon between human and guinea pig. *Chin. J. Physiol.*, 1999; 42(3): 195-198.

11. Gorard, D.A., Libby, G.W., Farthing, M.J.G.: 5-Hydroxytryptamine and human small intestinal motility: effect of inhibiting 5-Hydroxytryptamine reuptake. *Gut*, 1994; 35: 496-500.
12. Ormsbee, H.S., Silber, D.A., Hardy, F.E.: Serotonin regulation of the canine migrating motor complex. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1984; 231(2): 436-440.
13. Ruckebusch, Y., Bardou, T.: Involvement of serotonergic mechanisms in initiation of small intestine cyclic motor events. *Dig. Dis. Sci.*, 1984; 29: 520-527.
14. Sagrada, A., Brancaccio, N., Schiavone, A.: 5-Hydroxytryptamine affects rat migrating myoelectric complexes through different receptor subtypes: evidence from 5-hydroxytryptophan administration. *Life Sci.*, 1990; 46: 1207-1216.
15. Nzegwu, H.C.: The effects of nutritional level on intestinal function. (PhD Thesis), 1990; Sheffield University (U.K.), Biomedical Science.
16. Sağmanlıgil, V.: Effects of dietary deprivation on small and large intestinal ion transport in the mouse. (PhD Thesis), Sheffield University (U.K.), 1992; Biomedical Science.
17. Sağmanlıgil, V., Levin, R.J.: Electrogenic ion secretion in proximal, mid and distal colon from fed and starved mice. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1993; 106C(2): 449-456.
18. Sağmanlıgil, V., İriadam, M., Emre, B., Şireli, M.: PGF_{2α}'nin fare ince bağırsağına etkisi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1995; 42(3): 349-355.
19. Sağmanlıgil, V., İriadam, M., Şireli, M., Emre, B.: Asetilkolin ve PGF_{2α}'nin kobay ince bağırsak tonusu üzerine etkileri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1995; 42(4): 519-526.
20. Kojima, S., Ikeda, M.: Facilitation by endogenous acetylcholine and nitric oxide of luminal serotonin release from the guinea pig colon. *Eur. J. Pharmacol.*, 1998; 355: 51-55.
21. Wrobel, J., Michalska, L.: The effect of verapamil on intestinal calcium transport. *Eur. J. Pharmacol.*, 1977; 45: 385-387.
22. Nzegwu, H.C., Young, A., Levin, R.J.: Effects of starvation and refeeding on electrogenic ion transport in the rat colon: A model for famine diarrhea. *Gut*, 1987; 28: A1395-1396.
23. Bueno L., Ruckebusch, Y.: Migrating myoelectric complexes: Disruption, enhancement and disorganization. In: *Gastrointestinal motility in health and disease*, ed: Duthie H.L., MTP Press Ltd., Lancaster, 1977; pp: 83.
24. Read, N.W.: The migrating motor complex and spontaneous fluctuation of transmural potential difference in the human small intestine. In: *Gastrointestinal Motility*, ed: Christensen J., New York: Raven Press, 1980; pp: 299.
25. Sağmanlıgil, V., Emre, B., Çelebi, F.: Aç ve tok farelerde, medial jejunum, proksimal ve distal ileumda asetilkolinin oluşturduğu kasılmalar ile elde edilen non-kümülatif cevap eğrileri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1994; 41(3-4): 463-475.
26. Sağmanlıgil, V., İriadam, M., Şireli, M., Emre, B.: Açlıkta, ampisilin ince bağırsak motilitesi üzerine etkisi. *Türk. Vet. Hek. Derg.*, 1999; 11(1-2): 49-53.
27. Klapproth, C.J., Remheimer, T., Metzger, J., Munch, M., Bittinger, F., Kirkpatrick, C.J., Höhle, K.D., Schemann, M., Racke, K., Wessler, L.: Non-neuronal acetylcholine, a signalling molecule synthesized by surface cells of rat and man. *Naunyn. Schmied. Arch. Pharmacol.*, 1997; 355: 515-523.
28. Reinheimer, T., Munch, M., Bittinger, F., Racke, K., Kirkpatrick, C.J., Wessler, L.: Glucocorticoids mediate reduction of epithelial acetylcholine content in the airways of rat and human. *Eur. J. Pharmacol.*, 1998; 349: 277-284.
29. Panico, W.H., Cavuto, N.J., Kallimanis, G., Nguyen C., Armstrong, D.M., Benjamin, S.B., Gillis, R.A., Travagli, R.A.: Functional evidence for the presence of nitric oxide synthase in the dorsal motor nucleus of the vagus. *Gastroenterology*, 1995; 109: 1484-1491.
30. Ekblad, E., Alm, P., Sundler, F.: Distribution, origin and projections of nitric oxide synthase-containing neurons in gut and pancreas. *Neuroscience*, 1994; 63: 233-248.
31. Sarna, S.K., Otterson, M.F., Ryan, R.P., Cowles, V.E.: Nitric oxide regulates migrating motor complex cycling and its postprandial disruption. *Am. J. Physiol.*, 1993; 265: G749-766.
32. Maczka, M., Thor, P., Lorens, K., Konturek, S.J.: Nitric oxide inhibits the myoelectric activity of the small intestine in dogs. *J. Physiol. Pharmacol.*, 1993; 44: 31-42.
33. Rodriguez-Membrilla, A., Martinez, V., Jimenez, M., Gonalons, E., Vergara, P.: Is nitric oxide the final mediator regulating the migrating myoelectric complex cycle?. *Am. J. Physiol.*, 1995; 268: G207-214.
34. Mizumoto, A., Muramatsu, S., Yamada, T., Itoh, Z.: Effect of nitric oxide synthase inhibition on plasma motilin release in fasted dogs. *Regul. Pept.*, 1997; 71: 9-14.
35. McConalogue, K., Furness, J.B.: Projection of nitric oxide synthesizing neurons in the guinea-pig colon. *Cell Tissue Res.*, 1993; 271: 545-553.
36. Kojima, S.: KW-5092, a novel gastrokinetic agent, facilitates luminal serotonin release from the guinea-pig colon. *Eur. J. Pharmacol.*, 1999; 374: 113-115.