

Sıvıların Mideden Boşalma Hızına Oksitosinin Etkisi: Oksitosin ve Kolesistokin-2 Reseptörlerinin Rolü

Zarife Nigâr Ö. Kumral, Emil Novruzov, Nefize Turan, Berrak Ç. Yeğen

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, İstanbul - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Berrak Ç. Yeğen,
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı 34668 Haydarpaşa, İstanbul - Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: byegen@marmara.edu.tr
Kabul tarihi / Date of acceptance: 6 Mart 2013 / March 6, 2013

ÖZET

Sıvıların mideden boşalma hızına oksitosinin etkisi: Oksitosin ve kolesistokin-2 reseptörlerinin rolü

Amaç: Hipotalamusta supraoptik ve paraventricüler çekirdeklerde sentezlenen düzenleyici bir nonapeptid olan oksitosinin (OT) yağlı bir öğün sonrası endojen olarak ya da kolesistokininin (CCK) eksojen olarak uyarılmasıyla kana verildiği gösterilmiştir. OT'nin sağlıklı bireylerde mide boşalma hızını artırdığını gösteren çalışmalara karşın, yavaşlattığını belgeleyen deneysel çalışmalar da bulunmaktadır.

Yöntem: Santral veya periferik yolla verilen OT'nin ya da endojen OT'nin sıvı gıdanın mideden boşalma hızı üzerine etkisini uyanık sıçanlarda ölçmek ve bu etkilerde OT ve CCK-2 reseptörlerinin aracılığını açıklamak amacıyla Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Anestezisi uygulanan sıçanların bir grubuna ilaç uygulamaları için intraserebroventriküler (isv) kanül, bir gruba ise paslanmaz çelik mide kanülü yerleştirildi. Mide boşalma testleri öncesinde sıçanlara intraperitoneal veya isv olarak serum fiziyojji, OT, OT antagonisti atosiban (ATO) ve/veya CCK-2 antagonisti L365,260 enjeksiyonları yapıldıktan sonra mide boşalma testi uygulandı. Mide kanülü yerleştirilmeyen bir grup sıçanda ise ilaç enjeksiyonları sonrası fenol kırmızısı eklenmiş metil selüloz, orogastrik gavajla verilip mide boşalma hızları hesaplandı.

Bulgular: Mide kanüllü sıçanlarda OT'nin hem santral hem de periferik enjeksiyonu fiziyojji tuzlu suyun mideden boşalmasını yavaşlatıp, metil selülozun mide boşalmasını 30. dakikada hızlandırdı. Reseptör antagonisti ATO verilerek endojen OT'nin hızlandırıcı etkili olduğu ortaya kondu. Eksojen verilen OT'nin geç dönemde metil selülozun boşalmasını hızlandırıcı etkisini ATO baskımlarken, CCK-2 antagonistinin etkisi gözlenmedi.

Sonuçlar: Sonuç olarak, eksojen OT visköz bir sıvı olan metil selüloz ve mide kanülü aracılığıyla yapılan deneylerde mide motilitesini kısa süreli olarak inhibe etmekte ve ardından hızlandırmakta, endojen OT ise mide boşalmasını artırıcı etki göstermekte ve OT ve CCK-2 reseptörleri OT'nin bu etkilerinde aracılık etmektedirler.

Anahtar sözcükler: Atosiban, CCK-2 reseptörleri, mide kanülü, mide boşalması

ABSTRACT

The effect of oxytocin on the gastric emptying rate of liquids: the role of oxytocin and CCK-2 receptors

Objectives: Studies have indicated that oxytocin (OT), a regulatory nonapeptide synthesized in the hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei, is endogenously released into blood following a fatty meal or by the stimulation of exogenous cholecystokinin (CCK). Despite OT's acceleratory effect on gastric emptying, there are also experimental studies documenting its delaying action.

Methods: Sprague Dawley rats were used to evaluate the effect of centrally or peripherally administered OT on the gastric emptying rate of a liquid meal in awake rats and to explain the interaction of OT and CCK-2 receptors in these effects. Under anesthesia, a group of rats was inserted intracerebroventricular (icv) cannula for drug applications, while some were inserted with stainless steel gastric cannulas for gastric emptying. Before gastric emptying tests were performed, rats were given intraperitoneally or icv saline, OT, OT antagonist atosiban (ATO) and/or CCK-2 antagonist L365,260. Following the drug injections, in another group that had no gastric cannula placement, rats were given orogastrically methylcellulose containing phenol red, and the gastric emptying rate was calculated.

Results: Both central and peripheral injections of OT slowed the gastric emptying of physiological saline in rats with gastric cannula, while gastric emptying of methyl cellulose was accelerated at the 30th minute. It has been shown by using the receptor antagonist ATO that endogenous OT has an accelerating effect. The acceleratory effect of the exogenous OT on methyl cellulose in the late period was suppressed by ATO, but CCK-2 antagonist had no effect.

Conclusion: In the experiments performed by using a viscous methyl cellulose meal and solutions through the gastric cannulas, exogenous OT inhibits gastric motility for a short term and then accelerates. Endogenous OT increases gastric emptying, while OT and CCK-2 receptors mediate these effects.

Key words: Atosiban, CCK-2 receptors, gastric cannula, gastric emptying

GİRİŞ

Gebe kadınlarda plazmadaki östrojen ve progesteron gibi hormonların düzeylerinin değişmesi nedeniyle mide ve

bağırsak motilitesi değişikliğe uğrar (1,2). Plazma düzeyi gebeliğin geç döneminde yükselen oksitosinin (OT) de motilite değişikliklerinden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (3,4). Hipotalamusta supraoptik (SON) ve paravent-

riküler (PVN) çekirdeklerde sentezlenen düzenleyici bir nonapeptit olan OT'nin klasik etkisi düz kasları kasıcı etkisidir ve bu etkisi uterusun ve meme bezinin miyoepitel hücrelerinin kasılması şeklinde gözlenir (5). Uterus, meme bezi ve bazı diğer periferik dokular dışında, sindirim sistemi boyunca da OT ve OT reseptör mRNA sentezi yapılır (6,7). OT ve OT reseptörünün sindirim sisteminde birlikte ekspres olmaları, OT'nin sindirim sistemi hareketlerinin düzenlenmesinde etkili olabileceği varsayımını ortaya çıkarmıştır. Ancak, farklı hayvan türlerinde in vivo yapılan çalışmaların sonuçları OT'nin etkileri konusunda net ve açıklayıcı değildir. Bu çalışmaların bazıları OT'nin sıçan, köpek ve kobay üzerinde mide boşalmasını azaltıcı etkisi olduğunu gösterirken (8-13), diğer bazı çalışmalar ise OT'nin sıçanlarda mide motilitesini hızlandırıcı bir etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır (14). Tavşanlarda yapılan farklı çalışmalarda OT'nin proksimal kolon kasılmasını inhibe ettiği (15), ancak safra kesesinin fazik kasılmaları üzerinde uyarıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (16). Qin ve ark. (14) tarafından yapılan in vitro bir çalışmaya göre OT mide kasılmasını mide düz kaslarında bulunan OT reseptörlerini aktive ederek sağlamaktadır. OT'nin sistemik yolla insanlara uygulanması mide hareketlerini arttırdığından, vagotomi sonrası gelişen mide atonisinde tedavi amaçlı OT kullanımı fikri önerilmiştir (17,18). Ancak, Borg ve ark. (19) tarafından yapılan bir çalışmada OT infüzyonunu takiben mide boşalma hızında hiçbir anlamlı değişiklik olmadığı gösterilirken, araştırmacılar tarafından OT reseptör antagonisti atosiban (ATO) uygulanmasının ise mide boşalmasını geciktirdiği belirtilmiştir. Ohlsson ve ark. (20) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, normal mide boşalma hızına sahip diabetes mellitus (DM) tanısı olan deneklerde OT salgılanmasında yemek sonrası artış olduğu gösterilirken, uzamış mide boşalma hızına sahip DM deneklerde yemek sonrası OT salgılanmasında bu tip bir artış gösterilmemiştir. OT'nin sağlıklı kadınlarda kolon aktivitesini de arttırdığı gösterilmiştir (21), ancak OT kronik konstipasyonlu hastalarda sindirim fonksiyonlarında iyileşmeye neden olmamıştır (22).

Kolesistokininin (CCK) işlevleri arasında pankreas enzim salgısı ve mide boşalmasının inhibisyonunun yanı sıra gıda alımının baskılanması da yer alır (23-25). CCK'nin gıda alımını baskılama yollarından biri mide boşalmasını inhibe etmektir (25). Wu ve ark'nın (11) sıçanlarda yaptığı çalışmada, intraperitoneal OT verilmesinin (0.2-0.8 mg/kg) plazmada CCK konsantrasyonundaki artışa paralel olarak mide

boşalmasında da azalmaya neden olduğu gözlenmiş ve bu sonuç "OT'le oluşan mide boşalması inhibisyonu CCK'nin aşırı serbestlenmesine bağlıdır" şeklinde yorumlanmıştır. Ancak, insanlarda ve değişik türlerde yapılan birçok çalışmaya rağmen, endojen OT'nin mide hareketi üzerindeki düzenleyici rolü ve ekzojen OT'nin sıvı boşalmasındaki etkisiyle ilgili bilgiler henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Mevcut çalışmanın amacı, santral veya periferik yolla verilen OT'nin sıvı gıdanın mideden boşalma hızı üzerine etkisini uyanık sıçanlarda ölçmektir. Diğer amacı ise, endojen OT'nin etkisinde OT'ye bağlı değişen mide boşalma hızında OT ve CCK-2 reseptörlerinin aracılığını açıklamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hayvanlar

Erkek (n=36) ve dişi (n=48) Sprague-Dawley sıçanlar (250±20g oda ısısında (22±1°C), %65-70 nem ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsünde ortama alıştırdılar. Sıçanlar standart hayvan yemi pelleti ile beslenip mide boşalması çalışmaları öncesi tabanı ızgaralı kafeslerde suya erişimleri serbest şekilde yemleri alınarak 16 saat aç bırakıldılar. Çalışma protokolü için Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (MÜHDEK)'nden etik onay alındı (Onay no: 37.2009.mar).

İlaçlar

Oksitosin (OT; 0,8 mg/kg), oksitosin antagonisti atosiban (ATO; 0,8 mg/kg, Tractocile, Ferring, İstanbul) ve CCK-2 reseptör antagonisti L365,260 (1 mg/kg, ML Laboratories) günlük olarak serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlandı ve intraperitoneal (ip) olarak deneklere uygulandı. İntraserebroventriküler (isv) uygulamalarda ise Hamilton şırıngası ile ilaçlar aynı dozlarda sıçan başına 5 µl olacak şekilde uygulandı.

İntraserebroventriküler kanülasyon

Dişi sıçanların yarısında (n=24) ilaçlar ip verilirken, diğer yarısı (n=24) isv kanülasyon yapmak için ketamin (100 mg/kg ip) ve klorpromazin (0.75 mg/kg ip) ile anestezi edilip stereotaksik alete (Stoelting Lab) yerleştirildi. Paxinos ve Watson (26) sıçan beyin atlasındaki koordinatlara göre, pas-

lanmaz çelik serebroventriküler kılavuz kanüller (22-gauge; Plastic Products, Roanoke, VA) sağ lateral serebral ventriküle (bregmanın 1,1 mm kaudali ve 1,5 mm lateraline, kafatası yüzeyinden 3,2 mm derinliğe) yerleştirildi ve 3 küçük vida yardımı ile dış akrilik dolgu maddesi kullanarak kafatasına sabitlendi. Sıçanlara operasyon sonrası 1 hafta derlenme süresi tanındı. Mide boşalma çalışmalarına başlamadan önce 3 gün kafeslere alıştırmaya yapıldı. Mide boşalması gününde, Hamilton enjektörü kullanılarak sıçan başına 5 µl olacak şekilde enjeksiyonlar yapıldı. Deneyler sonunda, kanül yerini doğrulamak amacıyla hayvanlara isv metilen mavisi verildi ve dekapitasyon gerçekleştirildi.

Mide kanülü ile mide boşalması ölçümleri

Ketamin (100 mg/kg, ip) ve klorpromazin (0,75 mg/kg, ip) karışımı ile anestezi edilen dişi sıçanlar (n=48) aseptik koşullarda laparotomiye hazırlandı. Küçük paslanmaz çelik Gregory kanülü midenin korpus kısmına yerleştirildi. Kanül ağzı dışarıda kalacak şekilde kesi kapatıldı ve sıçanlar derlenme için 2-3 hafta kafeslerinde bakıldı. Cerrahi derlenme sonrası sıçanlar mide boşalmasının uygulanacağı Bollman kafeslerine alıştırıldı. Deneyler öncesinde sıçanlar 16 saat aç bırakıldı ve Bollman kafeslerine yerleştirilip sakinleşmelerinden sonra mide kanülleri açıldı ve mide içeriği nazikçe ılık (37°C) serum fizyolojik ile yıkandı ve midenin 45 dakika boyunca serbest bir şekilde boşalması sağlandı. Serum fizyolojik (%0,9 NaCl, 300 mOsm/kg), 50 mM HCl ve pepton (%4,5, (w/v) et peptonu II, Sigma) sıvılarının boşalması her hayvanda rastgele sırayla uygulandı. Mide boşalması hızı daha önce tarif yapılmış şekilde uygulandı (27). Boşalma hızı ölçülecek sıvı mide içine doldurulmadan 5 dakika önce serum fizyolojik (SF), OT, ATO, OT+L365,260, OT+ATO veya OT+ATO+L365,260 ip veya isv olarak uygulandı. Midede emilimi gerçekleşmeyen bir işaretleyici olarak fenol kırmızısı (60 mg/l) içeren SF, HCl ya da pepton 3 ml hacimde mide kanülünden mideye gönderildi ve kanül kleplendi. Beş dakika sonra klempin açılması ile alınan içerik hacmi ve bu içerikteki fenol kırmızısı miktarı spektrofotometrik (550 nm absorbansta) olarak saptanarak mide boşalma hızı hesaplandı (28). Mide boşalması hızı (E; ml/5 dk) absorbanlardan (A1: gönderilen solüsyonun absorbanı, A2: 5 dk sonra alınan solüsyonun absorbanı) ve hacimlerden (V1: gönderilen solüsyonun hacmi: 3 ml, V2: 5 dk sonra alınan solüsyonun hacmi) elde edilen aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$E = \frac{(V1 \times A1) - (V2 \times A2)}{(A1 + A2) / 2}$$

Metil selüloz ile mide boşalması ölçümleri

Mide boşalmasının yüzde olarak ifadesinde metil selüloz kullanımı ile mide boşalması sıkça kullanılan bir yöntemdir (29). Metil selüloz (1,5 gr /100 ml) 80°C su içerisinde çözüldürüldükten sonra içerisine işaretleyici olarak fenol kırmızısı (50 mg/100 ml) eklenerek ısı 37°C getirildi. Erkek sıçanlara SF, OT, ATO, OT+L365,260, OT+ATO veya OT+ATO+L365,260 ip olarak uygulandı ve hızlı bir şekilde 1,5 ml metil selüloz polietilen tüp yardımı ile orogastrik olarak gavajla sıçanlara verildi. Otuz dakika sonra dekapitasyonu takiben pilor ve kardiya klemlenerek mide %0,9'luk tuzlu suda yıkayıp 100 ml 0,1N NaOH'e konarak küçük parçalara kesildi. Otuz saniye homojenize edilen mide karışımının 60 dk oda ısısında çökmesi beklendi ve çöken karışımın süpernatantınının 5 ml'si 0,5 ml TCA eklenerek (2 g TCA+10 ml distile su) 2800 rpm'de 20 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant alınarak 4 ml 0,5N NaOH'e eklenip spektrofotometrede (Pharmacia, Ultraspec III, American Laboratory Trading) 560 nm'de absorbanları okundu. Mide Boşalması (%) = [1-(test mideden elde edilen absorban/ Standart mideden elde edilen ortalama absorban)] x 100.

İstatistiksel yöntem

Çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prism 4.0 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde gruplar arası karşılaştırmalarda Tek yönlü ANOVA testi, ikili bağımsız grup karşılaştırmasında unpaired t-testi kullanılmıştır. Değerler "ortalama ± standart hata" şeklinde yazılmış ve sonuçlar, p<0,05 düzeyinde değerlendirildikten sonra veriler anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

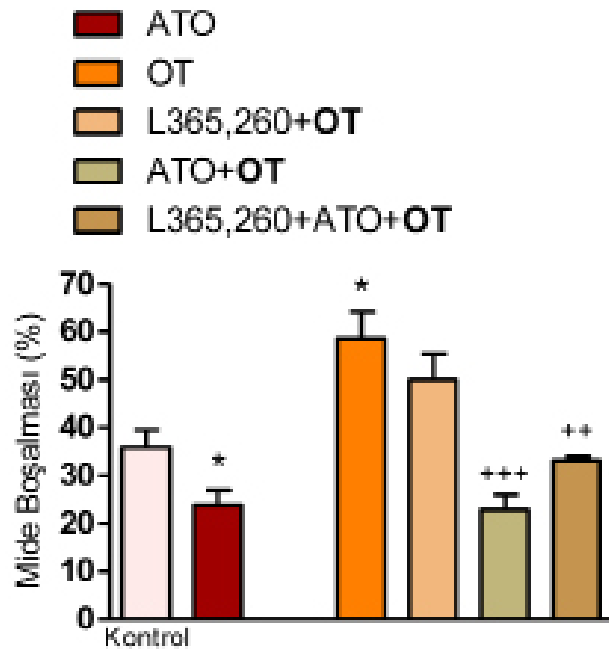
Metil selüloz ile mide boşalması sonuçları

Sıçanların besin değeri olmayan metil selüloz ile ölçülen mide boşalma hızları karşılaştırıldığında, kontrol grubuna (%35,9±3,6) göre OT'nin (%58,5±5,8) mide boşalmasını anlamlı ölçüde hızlandırdığı (p<0,05), OT reseptör antagonisti ATO'nun (%23,7±3,2; p<0,05) yavaşlattığı görüldü

(Şekil 1). Buna karşın, OT'ye bağlı hızlanmış mide boşalmasını CCK-2 antagonisti L365,260 etkilemezken (%50,1±5,4), hem ATO'nun (%22,8±3,2; p<0,001) hem de ATO+L365,260'ın (%33,2±0,8; p<0,01) OT'ye bağlı artmış boşalma hızını inhibe ettiği, ancak iki antagonistin birlikte etkisinin ATO'nun tek başına etkisinden daha fazla olmadığı bulunmuştur.

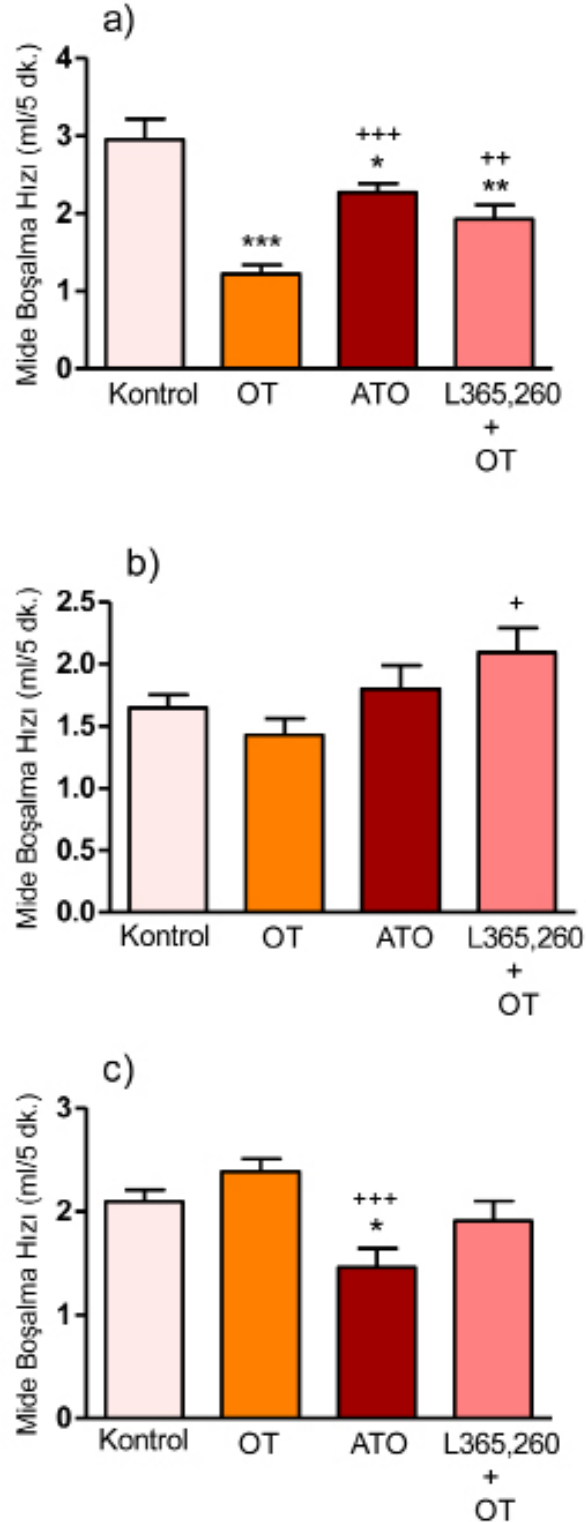
Mide kanülü ile mide boşalması sonuçları

Metil selüloz yöntemiyle yapılan ölçümlerin aksine, mide kanüllü sıçanlarda, ip OT'nin SF boşalmasını inhibe ettiği gözlemlendi (p<0,001; Şekil 2a). Metil selülozda olduğu gibi, OT antagonisti ATO uygulamasıyla boşalmanın inhibe olduğu (p<0,05) ama bu inhibisyonun OT'ye göre daha az olduğu görüldü (p<0,001). OT ile beraber uygulanan L365,260'ın OT ile ortaya çıkan mide boşalmasındaki yavaşlamayı inhibe ettiği görüldü (p<0,01). SF test sıvısına göre daha yavaş boşaldığı bilinen asit sıvının (50 mM HCl) mideden boşalmasında OT'nin ya da ATO'nun etkili olmadığı, L365,260+OT verilen grubun midelerinden asit sıvının boşalmasında OT grubuna kıyasla bir hızlanma olduğu gözlemlendi (p<0,05; Şekil 2b). Pepton ile yapılan boşalma ölçümü-



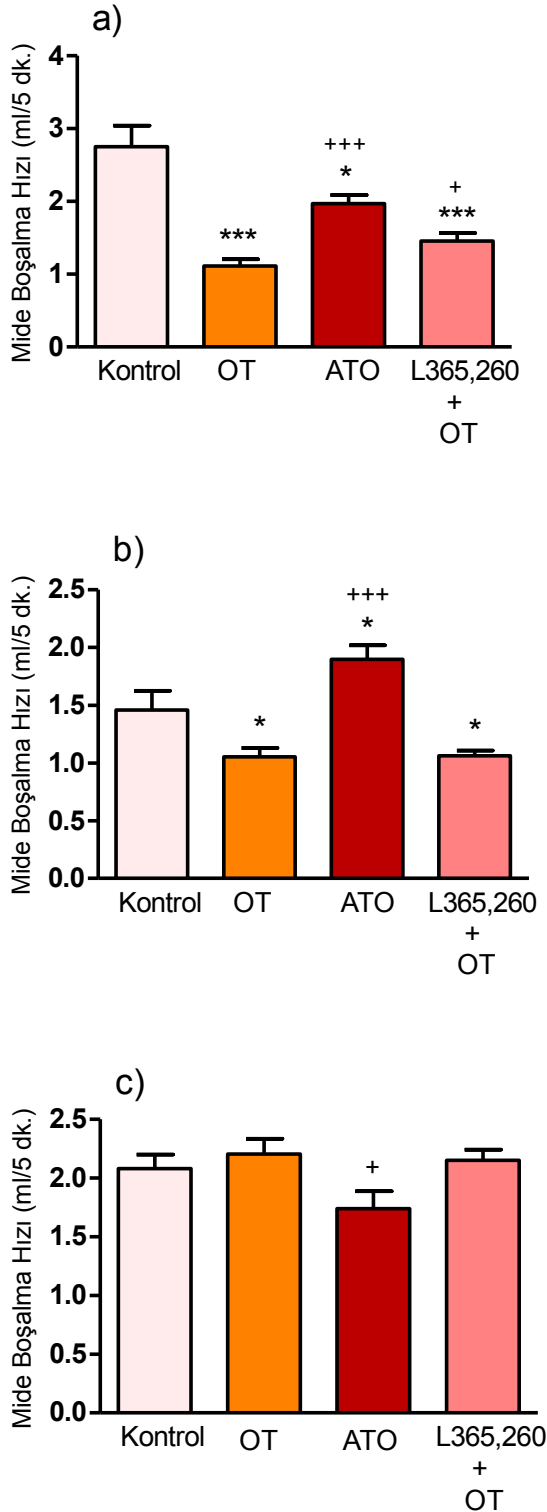
Şekil 1: İntraperitoneal olarak OT (Oksitosin, 0,8 mg/kg), ATO (Atosiban, 0,8 mg/kg) ve L365,260 (CCK-2 reseptör antagonisti, 1 mg/kg) ayrı ayrı ve beraber uygulamaları sonrası metil selüloz ile erkek sıçanlarda mide boşalması.

*p<0,05 Kontrol grubuna kıyasla. ++p<0,01, +++p<0,001 Oksitosin (OT) grubuna kıyasla.



Şekil 2: İntraperitoneal olarak OT (Oksitosin, 0,8 mg/kg), ATO (Atosiban, 0,8 mg/kg) ve L365,260 (CCK-2 reseptör antagonisti, 1 mg/kg)+OT enjeksiyonu sonrası mide kanülü ile dişi sıçanlarda mide boşalması ölçümleri. a) Serum fizyolojik boşalma hızı, b) Asit (HCl) boşalma hızı, c) Pepton boşalma hızı.

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 Kontrol grubuna kıyasla. +p<0,05, ++p<0,01, +++p<0,001 Oksitosin (OT) grubuna kıyasla.



Şekil 3: İntraserebroventriküler olarak OT (Oksitosin, 0,8 mg/kg), ATO (Atosiban, 0,8 mg/kg) ve L365,260 (CCK-2 reseptör antagonisti, 1 mg/kg)+OT enjeksiyonu sonrası mide kanülü ile dişi sıçanlarda mide boşalması ölçümleri. a) Serum fizyolojik boşalma hızı, b) Asit (HCl) boşalma hızı, c) Pepton boşalma hızı.

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 Kontrol grubuna kıyasla. +p<0,05, +++p<0,001 Oksitosin (OT) grubuna kıyasla.

lerinde, OT etkili bulunmazken ATO mide boşalma hızını kontrole kıyasla anlamlı şekilde ($p<0,05$; Şekil 2c) azalttı.

Santral yolla (isv) uygulanan OT ve ATO mideden SF boşalma hızını anlamlı şekilde azalttı (sırasıyla; $p<0,001$ ve $p<0,05$; Şekil 3a). L365,260'ın OT'ye eklenmesi ise, SF boşalmasındaki yavaşlamayı OT'ye kıyasla anlamlı oranda azaltarak hızlandırdı ($p<0,05$, Şekil 3a). SF'ye göre gecikmiş bulunan HCl'nin boşalma hızının isv OT ile daha da yavaşladığı ($p<0,05$), buna karşın isv ATO ile hızlandığı görüldü ($p<0,05$, Şekil 3b). L365,260'ın OT'ye eklenmesinin tek başına OT'ye göre mide boşalma hızına ek bir etkisi gözlenmedi, boşalma hızının yavaşladığı görüldü ($p<0,05$, Şekil 3b). Pepton boşalmasının isv OT ile değişmediği, buna karşın isv ATO ile yavaşladığı görüldü ($p<0,05$; Şekil 3c).

TARTIŞMA

Çalışmada iki ayrı protokol kullanılarak iki farklı dönemde OT'nin etkisinin irdelenmesi sayesinde mide motilitesine OT'nin etkileri konusunda literatürdeki çelişkiler aydınlatılmaya çalışılmıştır. Mide kanüllü sıçanlarda OT'nin hem santral hem de periferik enjeksiyonunun 10. dakikada SF'nin mide boşalmasını yavaşlattığı, buna karşın daha viskoz olan metil selülozun mide boşalmasını 30. dakikada hızlandırdığı gözlemlendi. Bu bulgular, OT'nin süreye bağlı olarak sıvı boşalmasında bifazik bir etki oluşturduğu, motilitede önce bir yavaşlamaya daha sonra bir artışa yol açtığı şeklinde yorumlandı. Kalori değeri olan peptonun 10 dakikalık boşalma hızı üzerine OT'nin etkisi gözlenmedi. Reseptör antagonisti ATO verilerek endojen OT etkisi bloke edildiğinde ise, hem 10 dakikada hem de 30 dakikada ATO mide boşalmasını yavaşlatarak, endojen OT'nin hızlandırıcı etkili olduğu ortaya kondu. Burada tek dikkati çeken nokta, isv ATO'nun verilmesiyle asidin mideden daha hızlı boşalmasıdır. Eksojen verilen OT'nin geç dönemde metil selülozun boşalmasını hızlandırıcı etkisini ATO baskımlarken, CCK-2 antagonisti etkisi gözlenmedi. Diğer taraftan, CCK-2 reseptörlerinin eksojen OT'nin mide boşalmasını geciktirici etkisinde aracı oldukları, erken dönemde OT'ye bağlı gecikmiş SF boşalmasının CCK-2 antagonisti ile kısmen azaltılmasıyla doğrulanmış oldu.

OT, gastrointestinal (Gi) kanal boyunca etkisini santral ve periferik mekanizmalar ile gösterir. OT ve reseptörlerinin insan Gi mukozasında da eksprese oldukları (6,7), OT'nin yağlı besine yanıt olarak serbestlenerek (30) mide boşalma-

sını hızlandırdığı (17,18) ve öğün sırasında reseptör antagoninin verilmesinin ise mide boşalmasını geciktirdiği gösterilmiştir (19). Sağlıklı aç gönüllülerde intravenöz uygulanan OT yarı-katı gıdanın mide boşalmasını hızlandırmıştır (18). Bu sonuç, bizim metil selüloz boşalmasında artmış mide boşalması ile uyum içindedir. Buna karşın, OT'nin sıçanlarda ip verilmesi (0.8 mg/kg, bizim çalışmamızla aynı dozda) besin değeri olmayan sıvı gıdanın boşalmasını, çalışmamızdaki kanüllü sıçanlarda olduğu gibi, inhibe etmiştir (31). Benzer şekilde, OT'nin anestezi altındaki sıçanlarda vagusun dorsal motor çekirdeğine uygulanması (4 pmol) mide motilitesini inhibe etmiştir (32). Anestezi altındaki köpeklerde intravenöz verilen OT de (0.5 -2.0 U/kg) peristaltik kasılmaları ortadan kaldırmaktadır (33). Diğer taraftan, intravenöz OT (0.1–0.8 µg/kg) tavşanlarda mide motilitesini artırmıştır (34). In vitro koşullarda çalışıldığında ise, benzer şekilde OT'nin sıçan mide gövde ve antrum kas striplerinde doza bağımlı (10^{-9} – 10^{-6} M) kasılmaya neden olduğu gözlenmiştir. Bu kasılmaların tetrodotoksin ve atropinden etkilenmemesi etkinin doğrudan düz kas üzerinden olduğunu düşündürmüştür (14). Sonuç olarak, OT'nin doğrudan düz kas üzerinde kasıcı ve birçok türde motiliteyi artırıcı etkisi gözlenmektedir. Bununla birlikte, mide motilitesi üzerine kısa süreli bir inhibitör etkisi olduğu ve bu etkisinin bazı türlerde daha baskın olduğu çalışmaların irdelenmesinden anlaşılmaktadır.

Stresin birçok fonksiyonel Gİ rahatsızlığa neden olduğu ve bu hastaların yakındığı semptomların büyük bölümünün de Gİ motilite bozukluklarından kaynaklandığı bilinmektedir (35). Ochi ve ark. (36) akut stresin mide boşalmasını yavaşlattığını, 5 gün boyunca tekrarlanan kronik stresin ise hızlandırdığını göstermişlerdir. Buna karşın, isv verilen OT'nin akut stresle bozulan mide boşalmasını ve motiliteyi düzelttiği ve bu etkinin isv verilen OT antagonistleri ile engellendiği gösterilmiştir (35). Diğer taraftan, kronik tekrarlayan stresin hipotalamusta SON ve PVN çekirdeklerde mRNA ekspresyonunu artırdığı da gösterilmiştir. Bu sonuçlar, strese koruyucu olarak serbestlenen OT ile birlikte, santral OT ekspresyonunun arttığını ve adaptasyondan sorumlu olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak, streste santral olarak serbestlenen OT'nin anksiyolitik ve antistres etkilerinin yanısıra (37), strese bağlı bozulan mide motilitesinin düzenlenmesinde de etkili olduğu görülmüştür. Çalışmamızın sonuçlarına göre, endojen serbestlenen OT'nin etkisi OT antagonisti ATO ile baskılanınca, mide boşalma hızı yavaşla-

dığına göre, endojen OT'nin etkisi mide boşalmasını hızlandırıcı yöndedir. Bu hızlanma, ekzojen OT verilip 30 dakikalık metil selüloz boşalması yapıldığında da gözlemlendiği halde, ekzojen verilen OT'nin kendisi kanüllü sıçanlarda SF boşalmasını inhibe etmiştir. Bu erken dönemdeki mide boşalmasını geciktirici etki, CCK-2 reseptör antagonisti ile kısmen azaltılmıştır.

CCK, üst ince bağırsağın endokrin I hücrelerinde üretilen bir nöropeptit ve hormondur (29). CCK-1 reseptörü (CCK1R, daha önce CCK-A olarak bilinirdi) Gİ kanalda pankreas, safra kesesi, pilor sfinkteri ve aferent vagal sinirler gibi periferik dokularda bulunurken, CCK-2 reseptörü (CCK2R, önceki adı CCK-B) ise merkezi sinir sistemi, paryetal hücreler, mide epiteli içinde bulunan enterokromafin hücreler, sindirim sisteminin düz kas hücreleri, pankreas hücreleri, miyenterik sinirler ve immün sistem hücrelerinde tanımlanmıştır (38, 39). Ekzojen verilen OT'nin erkek sıçanlarda mide boşalmasında azalmayla birlikte plazmada CCK konsantrasyonunda artışa neden olduğunun gözlenmesiyle, OT-CCK etkileşimini aydınlatmak için CCK reseptör alttıpleri denendiğinde CCK-1 reseptör antagonisti devazepide'in OT'le indüklenen gecikmiş mide boşalmasını bloke ettiği, CCK-2 antagonisti L-365,260'ın etkili olmadığı bildirilmiştir (11). Yazarlar yaptıkları benzer çalışmalarında OT ile indüklenen mide boşalması inhibisyonunda CCK-1 reseptörlerinin aracı olduğunu, CCK-2 reseptörlerinin ise bu etkileşimde yer almadığını dişi sıçanlarda da yinelemişlerdir (12). Diğer taraftan sıçanlara CCK verilmesi de plazma OT düzeylerinde artışa yol açmış ve bu OT yanıtı öğrenilmiş tat-kaçınmalarına neden olan bulantı yapıcı kimyasal maddelere benzer bir artış olarak ölçülmüştür (40). Sonuç olarak, tokluk hissi, tat duyusu, CCK ve OT arasında karşılıklı bir etkileşim vardır. Bizim sonuçlarımız, OT'ye bağlı sıvı boşalmasının erken dönemde gözlenen gecikmesinin, Wu ve ark'nın (11,12) çalışmalarının aksine CCK-2 reseptörleri aracılı olduğunu göstermiştir. Bu farklılık olasılıkla adı geçen çalışmalarda kullanılan mide boşalma yönteminin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, farmakolojik ve genetik deneyler CCK-aracılı toklukta CCK-1 reseptörünün yer aldığını gösterse de (41, 42), sonuçlarımız OT ile gerçekleşen mide boşalması inhibisyonunda CCK-2'nin de aracı olduğunu ortaya koymaktadır.

Visköz bir sıvı olan metil selüloz ve mide kanülü aracılığıyla yapılan deneylerde ekzojen verilen OT'nin mide motilitesini kısa süreli olarak inhibe ettiğini, ardından hızlandır-

dığını, endojen OT'nin ise mide boşalmasını artırıcı etkili olduğunu, hem OT reseptörünün hem de CCK-2 reseptörünün OT'nin bu etkilerinde aracılık ettiğini gösteren çalışmamızın sonuçları, mideden sıvı boşalmasının kontrolünde CCK ve OT etkileşmesine ait önemli veriler sunmuştur.

Bu mekanizmalarla ilgili reseptör-fonksiyon ilişkisini gösteren moleküler düzeyde çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

Not: Bu çalışmanın bir bölümüne 2011 Eczacıbaşı Tıp Öğrencileri Bilimsel Araştırma Ödülü verilmiştir.

KAYNAKLAR

- Chiloiro M, Darconza G, Piccioli E, De Carne M, Clemente C, Riezzo G. Gastric emptying and orocecal transit time in pregnancy. *J Gastroenterol.* 2001; 36: 538-543.
- Chang FY, Lee SD, Yeh GH, Lu CC, Wang PS, Wang SW. Disturbed small intestinal motility in the late rat pregnancy. *Gynecol Obstet Invest.* 1998; 45: 221-224.
- Mizutani S, Hayakawa H, Akiyama H, Sakura H, Yoshino M, Oya M, Kawashima Y. Simultaneous determinations of plasma oxytocin and serum placental leucine aminopeptidase (P-LAP) during late pregnancy. *Clin Biochem.* 1982; 15: 141-145.
- Kumaresan P, Subramanian M, Anandarangam PB, Kumaresan M. Radioimmunoassay of plasma and pituitary oxytocin in pregnant rats during various stages. *J Endocrinol Invest.* 1979;2(1):65-70.
- Gimpl Gerald, Fahrenholz Falk. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation, *Physiol Rev.* 2001; 81: 629-683.
- Monstein HJ, Grahn N, Truedsson M, Ohlsson B. Oxytocin and oxytocin-receptor mRNA expression in the human gastrointestinal tract: a polymerase chain reaction study. *Regul Pept.* 2004; 119: 39-44.
- Ohlsson B, Truedsson M, Djerf P, Sundler F: Oxytocin is present throughout the human gastrointestinal tract. *Reg Pept.* 2006; 135:7-11.
- Milenov K, Barth T, Jost K, Kasakov L. Effect of deamino-dicarboxytocin and oxytocin on myoelectrical and mechanical activity of uterus, stomach and small intestine in dog. *Endocrinol Exp.* 1979; 13: 177-83.
- Flanagan LM, Olson BR, Sved AF, Verbalis JG, Stricker EM. Gastric motility in conscious rats given oxytocin and an oxytocin antagonist centrally. *Brain Res.* 1992; 578: 256-60.
- Flanagan LM, Dohanics J, Verbalis JG, Stricker EM. Gastric motility and food intake in rats after lesions of hypothalamic paraventricular nucleus. *Am J Physiol.* 1992; 263: 39-42.
- Wu CL, Hung CR, Chang FY, Pau KY, Wang JL, Wang PS. Involvement of cholecystokinin receptor in the inhibition of gastric emptying by oxytocin in male rats. *Pflugers Arch.* 2002; 445(2):187-93.
- Wu C-L, Hung C-R, Chang F-Y, Pau K-Y, Wang PS: Pharmacological effects of oxytocin on gastric emptying and intestinal transit of a non-nutritive liquid meal in female rats. *Naunyn-Schiedeberg's Arch Pharmacol.* 2003; 367:406-413.
- Duridanova DB, Nedelcheva MD, Gagov HS. Oxytocin induced changes in single cell K+ currents and smooth muscle contraction of guinea-pig gastric antrum. *Eur J Endocrinol/Eur Fed Endocr Soc.* 1997; 136: 531-8.
- Qin J, Feng M, Wang C, Ye Y, Wang PS, Liu C. Oxytocin receptor expressed on the smooth muscle mediates the excitatory effect of oxytocin on gastric motility in rats. *Neurogastroenterol Motil.* 2009; 21(4): 430-8.
- Xie DP, Chen LB, Liu CY, Liu JZ, Liu KJ. Effect of oxytocin on contraction of rabbit proximal colon in vitro. *World J Gastroenterol.* 2003; 9: 165-168.
- Liu CY, Liu JZ, Xie DP, Liu PY, Wang PS. Endogenous oxytocin excites phasic contraction of gallbladder in rabbits through oxytocin receptor. *Chin J Physiol.* 2003; 46: 95-101.
- Hashmonai M, Torem S, Argov S, Barzilai A, Schramek A. Prolonged post-vagotomy gastric atony treated by oxytocin. *Br J Surg.* 1979; 66: 550-1.
- Petring OU. The effect of oxytocin on basal and pethidine-induced delayed gastric emptying. *Br J Clin Pharmacol.* 1989; 28: 329-32.
- Ohlsson B, Björgell O, Ekberg O, Darwiche G: The oxytocin/vasopressin receptor antagonist atosiban delays the gastric emptying of a semisolid meal compared to saline in human. *BMC Gastroenterology.* 2006, 6: 11.
- Borg J, Melander O, Johansson L, Uvnäs-Moberg K, Rehfeldt JF, Ohlsson B. Gastroparesis is associated with oxytocin deficiency, esophageal dysmotility with hyperCKemia, and autonomic neuropathy with hypergastrinemia. *BMC Gastroenterology.* 2009, 9:17.
- Ohlsson B, Ringström G, Abrahamsson H, Simrén M, Björnsson ES: Oxytocin stimulates colonic motor activity in healthy women. *Neurogastroenterol Mot.* 2004; 16: 233-240.
- Ohlsson B, Sjölund K. Oxytocin increased stool frequency in patients with chronic constipation. A preliminary report. *Int J Surg Investig.* 2001; 3: 287-92.
- Chey WY, Hitanant S, Hendricks J, Lorber SH Effect of secretin and cholecystokinin on gastric emptying and gastric output in man. *Gastroenterology.* 1970; 58: 820-827.
- Jin HO, Lee KY, Chang TM, Chey WY, Dubois A Physiological role of cholecystokinin on gastric emptying and acid output in dogs. *Dig Dis Sci.* 1994; 39: 2306-2314.
- Moran TH, McHugh PR Cholecystokinin suppresses food intake by inhibiting gastric emptying. *Am J Physiol.* 1982; 242: 491-R497.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* 1996, Academic, New York.
- Green T, Dimaline R, Peikin S, Dockray GJ. The action of the cholecystokinin antagonist L-364,718 on gastric emptying in the rat. *Am. J. Physiol.* 255 Gastrointest. Liver Physiol. 1988; 18: 685-689.
- Debas HT, Farooq O, Grossman MI: Inhibition of gastric emptying is a physiological action of cholecystokinin. *Gastroenterology.* 1975; 68: 1211-1217.

29. Grider JR: Role of cholecystokinin in the regulation of gastrointestinal motility. *J Nutr.* 1994; 124: 1334-1339.
30. Ohlsson B, Forsling ML, Rehfeld JF, Sjölund K: Cholecystokinin leads to increased oxytocin secretion in healthy women. *Eur J Surg.* 2002; 168: 114-118.
31. Liu CY, Chen LB, Liu PY, Xie DP, Wang PS. Effects of progesterone on gastric emptying and intestinal transit in male rats. *World J Gastroenterol.* 2002; 8: 338-341.
32. Rogers RC, Hermann GE. Oxytocin, oxytocin antagonist, TRH, and hypothalamic paraventricular nucleus stimulation effects on gastric motility. *Peptides.* 1987; 8: 505-513.
33. Milenov K, Kasakov L. Effect of synthetic oxytocin on the motor and bioelectrical activity of the stomach and small intestines (in vivo). *Acta Physiol Pharmacol Bulg.* 1975; 3-4: 31-40.
34. Li L, Kong X, Liu H, Liu C. Systemic oxytocin and vasopressin excite gastrointestinal motility through oxytocin receptor in rabbits. *Neurogastroenterol Motil.* 2007; 19: 839-844.
35. Babygirija R, Zheng J, Ludwig K, Takahashi T. Central oxytocin is involved in restoring impaired gastric motility following chronic repeated stress in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010; 298(1): 157-65.
36. Ochi M, Tominaga K, Tanaka F, Tanigawa T, Shiba M, Watanabe T, Fujiwara Y, Oshitani N, Higuchi K, Arakawa T. Effect of chronic stress on gastric emptying and plasma ghrelin levels in rats. *Life Sci.* 2008; 82: 862-868.
37. Amico JA, Miedlar JA, Cai HM, Vollmer RR. Oxytocin knockout mice: a model for studying stress-related and ingestive behaviours. *Prog Brain Res.* 2008; 170: 53-64.
38. Moran TH, Robinson PH, Goldrich MS, McHugh PR. Two brain cholecystokinin receptors: implications for behavioral actions. *Brain Res.* 1986; 362, 175-179.
39. Wank SA, Pisegna JR, De Weerth A. Brain and gastrointestinal cholecystokinin receptor family: structure and functional expression. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1992; 89: 8691-8695.
40. Verbalis JG, McCann MJ, McHale CM, Stricker EM. Oxytocin secretion in response to cholecystokinin and food: differentiation of nausea from satiety. *Science.* 1986; 13: 232(4756): 1417-9.
41. Moran TH, Katz LF, Plata-Salaman CR, Schwartz GJ. Disordered food intake and obesity in rats lacking cholecystokinin A receptors. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: 618-625.
42. Kopin AS, Mathes WF, McBride EW, Nguyen M, Al-Haider W, Schmitz F, Bonner-Weir S, Kanarek R, Beinborn M. The cholecystokinin-A receptor mediates inhibition of food intake yet is not essential for the maintenance of body weight. *J. Clin. Invest.* 1999; 103: 383-391.