

Gastrointestinal Sistemde Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik Nörotransmisyonunda Nitrik Oksit'in Mediatör Rolü

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN NON-ADRENERGIC NON-CHOLINERGIC NEUROTRANSMISSION IN GASTROINTESTINAL SYSTEM

İrfan KAPUTLU*

* Dr.Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD, ANTALYA

ÖZET

Memelilerde barsak motilitesi intrinsek ve ekstrinsek nöronlar ve sinir liflerinin oluşturduğu kompleks bir ağ ile düzenlenmektedir. Fizyolojik deneylerde kolinerjik ve adrenerjik sinirlerin yanısıra, desendan gevşemede rol oynadığı düşünülen non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) sinirlerin varlığı da ortaya çıkarılmıştır. Bu sinirlerin alan stimülasyonu veya nöral reflex yolları aracılığıyla uyarılması kavşak sonrası düz kas membranlarında hiperpolarizasyona (inhibitör kavşak potansiyeli) ve gevşemeye yol açmaktadır. Ancak inhibitör NANK nöronlardan salıverilen inhibitör nörotransmitterin kimliği henüz kesin olarak anlaşılamamıştır. Vazoaktif intestinal polipeptid (VIP) ve adenosin trifosfat (ATP) başlıca olası NANK nörotransmitter adaylarıdır. Yakın zamanda çeşitli dokularda nitrik oksidin NANK inhibitör nörotransmitter rolünü destekleyen birçok kanıt elde edilmiştir. Nitrenerjik transmisyonla ilgili yapılacak yeni çalışmalarla fizyolojik kontrol mekanizmaları ve patofizyolojik olaylar üzerinde yeni görüşler gelişebileceği ve yeni terapötik endikasyonlar ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gastrointestinal motilite, Non-adrenerjik non-kolinerjik nörotransmisyon, Nitrenerjik sinirler, Nitrik oksit

T Klin Tıp Bilimleri 1996, 16:338-342

İn vitro deney ortamında adrenerjik ve kolinerjik bloke edici ajanlar bulunmasına karşın barsak duvarında bazı sinirlerin stimülasyonu sonucu gevşeme yanıtı ortaya çıktığı ilk kez 1960'lı yıllarda gözlenmiştir (1,2). Ortaya çıkan yanıtın bu özelliğinden dolayı aracılık eden sinirler non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) sinirler olarak isimlendirilmiştir. NANK nöronların transmitterini belirlemek üzere yapılan çalışmalar değişik dokularda çeşitli yanıtlara aracılık eden birçok transmitter adayının

Geliş Tarihi: 15.01.1996

Yazışma Adresi: Dr.İrfan KAPUTLU
Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Farmakoloji ABD,
06018 Etilik-ANKARA

SUMMARY

The motility of the mammalian intestine is regulated by a complex network of neurones and nerve fibres of both intrinsic and extrinsic origin. Physiological experiments have established that in addition to cholinergic and adrenergic nerves, non-adrenergic non-cholinergic (NANC) nerves also exist in the gut which are thought to take part in descending relaxation. Stimulation of these nerves, either by field stimulation or via neural reflex pathways, elicits hyperpolarization of postjunctional smooth muscle membranes referred to as inhibitory junction potentials and relaxation. However, the exact nature of the inhibitory neurotransmitter released by inhibitory NANC neurones still remains controversial. Mainly, vasoactive intestinal polypeptide (VIP) or adenosine 5'-triphosphate (ATP) have been suggested as the putative NANC neurotransmitter. Recently, many evidence provided in support of the proposal that nitric oxide is the inhibitory NANC neurotransmitter in various tissues. Further studies on nitrenergic transmission will provide new insights into physiological control mechanisms and pathophysiological control mechanisms and may lead to new therapeutic developments.

Key Words: Gastrointestinal motility, Non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission, Nitrenergic nerves, Nitric oxide

T Klin J Med Sci 1996, 16:338-342

ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. NANK yanıtlar inhibitör veya eksitatör nitelikte olabilmektedir. NANK inhibitör nöronların gastrointestinal kanalda inhibitör yanıtların büyük bir kısmına aracılık etmeleri ve distansiyona yanıt olarak gelişen desendan inhibisyon, beslenme sırasına midenin proksimal kısmında gelişen reseptif gevşeme ve çiğneme sonrası alt özefagus sfinkterinin gevşemesi gibi önemli fizyolojik reflekslerde düzenleyici rol oynamaları ne derece önemli olduklarını ortaya çıkarmaktadır.

Adenosin trifosfat (ATP) veya ATP ile ilişkili bir pürin nükleotidinin NANK nörotransmisyonundan sorumlu olabileceği 1970'li yıllarda ileri sürülmüştür (3). Pürinerjik nörotransmisyon santral sinir sistemi (SSS) de dahil olmak üzere birçok dokuda gösterilmiştir. Aspartik asit, glutamik asit, γ -aminobutirik asit (GABA) ve glisin gibi SSS'deki sinaptik transmisyonunda rol oynayan amino asit

mediatörlerin sınırlı sayıda da olsa periferik nöroeffektör transmisyonunda rol oynadıkları saptanmıştır (4). Çeşitli periferik otonomik ve enterik sinirler üzerinde güçlü etkiler gösteren vazoaaktif intestinal peptid (VIP) ve nöropeptid Y (NPY) gibi peptidlerin de NANK transmitter veya ko-transmitter rollerinin olabileceği bildirilmiştir (5).

Yakın zamanda nitrik oksit'in (NO) gastrointestinal kanalın inhibitör nöral regülasyonundan sorumlu yeni bir NANK nörotransmitter olabileceğini gösteren kanıtlar elde edilmiştir. Oldukça basit bir kimyasal yapıya sahip olan nitrik oksit'in (NO) birçok dokuda primer nörotransmitter olduğu gösterilmiştir. Gastrointestinal kanalın hemen hemen her bölgesinde NO'nin NANK inhibitör yanıtına aracılık ettiği saptanmıştır. Son yıllarda NO'nin aracılık ettiği bu ileti sistemi nitrejik transmisyon olarak isimlendirilmektedir (6).

NİTRİK OKSİT'İN BİYOLOJİK MEDIATÖR ROLÜ

İlk kez 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki asetilkolin'in kan damarlarında vazodilatör etkisinin ortaya çıkabilmesi için intakt endotele gereksinim duyduğunu göstermişlerdir (7). Asetilkolin etkisiyle endotelden salıverilen ve ortaya çıkan inhibitör yanıtın sorumlu olan bu ajan endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak isimlendirilmiştir. Ardısıra yapılan çalışmalarda birçok endojen ve eksojen maddenin damar endotelinden EDRF salınımına yol açtığı ve spontan EDRF salınımının bazal damar tonusunun sürdürülmesinde önemli rolünün olduğu gösterilmiştir (8).

EDRF, saniyelerle ölçülebilecek kadar kısa yarılanma ömrüne sahip (3-50 sn), biyolojik etkileri hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksid anyonları tarafından bloke edilen bir hümmoral ajandır. EDRF'nin biyolojik etkilerine solubl guanilat siklaz stimülasyonu sonucu, dokularda siklik guanozin monofosfat (sGMP) düzeylerinin artışı aracılık etmektedir. Yakın zamanda kimyasal ve farmakolojik özelliklerinin büyük benzerlik göstermesi sonucu EDRF'nin NO veya NO içeren bir molekül olduğu belirlenmiştir (8).

NO SENTEZİ VE NO SENTAZ İNHİBİTÖRLERİ

NO, L-arginin'in terminal guanidino azot molekülünün enzimatik oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu reaksiyonu katalize eden NO sentaz enzimi stereospesifite gösterdiğinden D-arginin'in substrat olarak kullanılmamaktadır (9). NO sentazında rol oynayan NO sentaz enziminin başlıca iki tipi belirlenmiştir. Yapısal NO sentaz olarak isimlendirilen birinci tip sitozolde bulunur ve Ca⁺⁺/kalmodulin'e bağımlıdır. Reseptör veya fiziksel stimülasyona yanıt olarak kısa periyodlarla NO salıverilmesine yol açar. Bu şekilde salıverilen NO çeşitli fizyolojik yanıtların oluşmasında bir transdüksiyon mekanizması olarak rol oynamaktadır.

İndüklenebilir NO sentaz olarak adlandırılan ikinci tip enzim ise aktive olmuş makrofajlar, endotel hücreleri ve sitokinler tarafından indüklenmesini takiben uzun

sürelili ve büyük miktarlarda NO sentezleyebilmektedir. Sitozolik, kalsiyuma bağımlı olmayan, tetrahidrobiopterin gibi kofaktörlere gereksinim duyan bu enzimin indüksiyonu glukokortikoidler tarafından inhibe olmaktadır. İndüklenebilir NO sentaz tarafından salıverilen NO'nin mikroorganizmalar ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik rolü olduğu, patolojik vazodilatasyon ve doku hasarında da öneminin olabileceği düşünülmektedir (10).

Bir L-arginin analogu olan L-N^G-monomethyl-arginine (L-NMMA) ilk bulunan kompetitif NO sentaz inhibitörüdür (8). Bu bileşiğin diğer arginin metabolize eden enzimlere etkisi bildirilmemişse de arginaz veya arginin dekarboksilazı etkilemediği gösterilmiştir (11). Ardısıra yapılan çalışmalarda L-N^G-iminoetil-ornitin (L-NIO), L-N^G-nitroarginin (L-NA), L-N^G-nitroarginin metil ester (L-NAME), L-N^G-amino arginin (L-NAA) gibi birçok nitrik oksit sentaz inhibitörü, L-arginin analogu ajanlar sentezlenmiştir. Bu bileşmelerin içinde sadece L-NMMA ve L-NAME ağız yolundan verildiğinde aktivite gösterebilmektedir (12).

PERİFERAL NÖROEFFEKTÖR SİSTEMLERDE NİTRERJİK TRANSMİSYON

Dokularda NO etkilerini ortadan kaldıracı olan NO sentaz inhibitörü maddelerin kullanıma girmesi ve nöronlarda NADPH diaforaz aktivitesinin NO sentaz aktivitesinin varlığı hakkında belirleyici olduğunun anlaşılması nitrejik sinirler ve nitrejik nörotransmisyon hakkındaki çalışmaların artmasına neden olmuştur. NANK inhibitör transmisyonundan sorumlu mediatör ile nitrik oksid arasındaki benzerlikler ilk kez sıçan anokoksigeus kasında ve siğir retraktör penis kasında gösterilmiştir (13-15).

Gastrointestinal sistemde gerek motor gerekse inhibitör fonksiyonlarda rol oynayan oldukça yaygın ve kompleks bir NANK innervasyon bulunmaktadır. ATP, VIP, serotonin, GAMA, opioidler, P maddesi ve somatostatın gastrointestinal kanaldaki olası NANK inhibitör transmitterlerdir (16). TP ve VIP, NO hakkındaki kanıtlar elde edilinceye kadar GI kanaldaki en kuvvetli NANK nörotransmitter adayları olmuşlardır. NO sentaz enzimi kobay ve sıçan gastrointestinal sirküler kaslarını innerve eden sinir liflerini ve myenterik pleksus nöronlarının hücre gövdelerinde lokalize olmuştur (17-19).

A. Özefagus:

Özefagus sirküler düz kasında tonus düşüktür ve elektriksel alan stimülasyonu zayıf bir gevşemeye yol açmaktadır. Ancak hiperpolarizasyonu bir depolarizasyon dönemi izlemekte ve stimülasyonun kesilmesini takiben bir kontraksiyon ortaya çıkabilmektedir (20). Hiperpolarizasyon ve bu geç kontraksiyon NO sentaz inhibitörü L-NNA ile kaybolmaktadır (21). Özefagus alt sfinkterinde ise tonus daha yüksektir ve alan stimülasyonu frekansa bağımlı NANK gevşemeye neden olmaktadır. Bu gevşeme yanıtına yavaş bir hiperpolarizasyon eşlik etmesine karşın ardısıra depolarizasyon veya kontraksiyon ortaya çıkmamaktadır. Bazal sfinkter tonusunu etkilememesine karşın, elektriksel stimülasyonla oluşturulan gevşeme yanıtı L-NNA tarafından inhibe edilmiş, bazen

atropine duyarlı kontraksiyonlara dönüşmüş, ancak NO veya sodyum nitroprussid yanıtları L-NNA'dan etkilenmemiştir (22). Bu bulgular özefagus alt sfinkterinde hem kolinerjik motor sinirlerin hem de nitrerjik inhibitör sinirlerin bulunduğu ve stimülasyon yanıtının her ikisinin etkilerinin etkileşimi sonucu ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

B. Gastrik fundus:

VIP'in gastrik fundusun NANK gevşemesinden tamamen sorumlu olmasa da önemli bir kısmına katkıda bulunduğu bilinmektedir. Yakın zamanda sıçan gastrik fundus preparatlarında yapılan çalışmalarda VIP ile oluşan NANK gevşeme VIP antiserumu tarafından bloke edildikten sonra ortadan kalkmayan gevşeme yanıtının NO sentaz inhibitörleriyle tamamen kaybolduğu gösterilmiştir (23). NO sentaz inhibitörlerine yanıtın düşük stimülasyonlar üzerinde daha güçlü olduğu, VIP ile oluşan gevşemelerin ise daha yavaş geliştiği daha yüksek frekanslı stimülasyon ile ortaya çıktığı ve daha uzun süreli olduğu saptanmıştır (24). Rezerpin ön tedavisi uygulanmış sıçan gastrik fundus preparatlarının elektriksel stimülasyonu sonucu süperfüzata salıverilen NO'in endoteli soyulmuş noradrenalin ile kasılmış tavşan aort halkalarında gevşeme oluşturduğu biyoassay çalışmalarında gösterilmiştir (25). Bu yanıt tetrodotoksin veya L-NNA ile azalmış, hemoglobin ile kaybolmuş, L-arginin veya superoksid dismutaz ile ise güçlenmiştir (26).

Bugün NO'in sıçan gastrik fundusunda inhibitör nörotransmitter rolünü gösteren kanıtlar VIP için elde edilenlere yakındır. Her iki nörotransmitterin stimülasyonunun özelliğine bağlı olarak farklı derecelerde inhibitör yanıtı katkıda bulunabilecekleri düşünülmektedir. Farklı nöronlardan çok aynı nörondan nitrik oksid veya VIP'in kotransmitter olarak salıverilmeleri olasıdır. Bu düşünceye uygun olarak kobay barsağında NO sentaz ve VIP immünoreaktivitelerinin aynı nöronlarda buldukları gösterilmiştir (27).

C. Duodenum:

Gastrointestinal kaslarda NO'in NANK nörotransmitter rolü olabileceğini düşündüren ilk çalışma köpek duodenum longitudinal kaslarında yapılmıştır. Elektriksel alan stimülasyonu ile NANK sinir aracılı bu gevşeme yanıtını NO sentaz inhibitörü L-NNA ve oksihemoglobinin inhibe etmiştir (28). Son yıllarda izole sıçan duodenumunda elektriksel stimülasyon (29) ve GABA ile oluşan NANK gevşemelerde NO'in aracı rolü gösterilmiştir (30). Duodenumun bir parçası sayılabilen Oddi sfinkteri sirküler düz kasındaki NANK gevşemeyi L-NAME'nin ortadan kaldırdığı ve L-arginin ile kısmen geri döndüğü bildirilmiştir.

D. İleum:

Kobay ince barsağı myenterik pleksusundaki hücre gövdelerinde %23 oranında NO sentaz immünoreaktivitesi saptanmıştır. Bu lifler anal doğrultuda sirküler düz kasa myenterik ve submüköz gangliyonlara doğru uzanırlar (27,31). Kobay barsağı segmentlerinin transmural stimülasyonu bir başlangıç tviç kontraksiyonuna ve

daha zayıf ama uzun süreli ikinci bir kontraksiyona neden olmaktadır. Tviç kontraksiyonda kolinerjik mekanizmaların, ikinci fazda ise P maddesinin aracılık ettiği düşünülmektedir. Asetilkolin ve P maddesi yanıtları NO sentaz inhibitörlerinden etkilenmemesine karşın ikinci faz kontraksiyonunun L-NMMA varlığında büyük oranda arttığı görülmüştür. Bu bulgular endojen NO salınımının kavşak öncesi etki mekanizmasıyla SP salınımını inhibe edebileceğini düşündürmektedir (32).

Kobay ileumu sirküler kas tabakası içindeki NANK sinirlerin elektriksel alan stimülasyonu, stimülasyonunun kesilmesini takiben bir kontraksiyona yol açmaktadır. L-NNA bu kontraksiyonunun süresini kısaltmakta ve bazen stimülasyon sırasında ortaya çıkmasına neden olmaktadır (33). Köpek ve insan ileumu sirküler düz kas şeritlerinde de NO sentaz inhibitörleri NANK gevşemeleri inhibe edilmektedir (34,35).

Köpek ileokolonik kavşağında elektriksel stimülasyonla oluşan NANK gevşemenin yanısıra ATP ve GABA ile oluşan NANK gevşemede de NO'in rol oynadığını düşündüren bulgular elde edilmiştir (36). Bu nedenle de GABA yanıtlarının nitrerjik sinirlerin aktivasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Köpek terminal ileumunda olmasa da ileokolonik sfinkterinde NO'in tonik nöronal salınımı gösterilmiştir (37,38). Ancak tek başına L-arginin verildiğinde NANK stimülasyona yanıtın artmaması endojen L-arginin sunusunun hız kısıtlayıcı bir basamak olmadığını göstermektedir.

E. Çekum, kolon, anal sfinkter:

İlk kez 1996 yılında Burnstock tarafından çekum tenyasında ve longitudinal düz kasında sinir stimülasyonu ile oluşan NANK inhibitör yanıtı gösterilmiştir (39). ATP ve VIP'in yanısıra NO'in de nörotransmitter rolü olabileceğini gösteren kanıtlar elde edilmiştir (40). Kobay çekumu myenterik pleksusunda NO sentaz immünoreaktif nöronlarda gösterilmiştir (41).

Çeşitli türlerde izole kolon preparatlarında oluşturulan lokal distansiyon, duysal nöronlar, internöronlar ve efferent NANK nöronların rol oynadığı lokal refleks mekanizmaları aktive ederek desendan inhibisyonun sorumlu olabileceği bildirilmiştir (42).

GASTROİNTESTİNAL KANALDA NİTRERJİK NÖROTRANSMİSYONUNUN ÖNEMİ

Gastrointestinal kanal fonksiyonunun kontrolünde nitrerjik nöronların önemini gösteren çeşitli kanıtlar bulunmaktadır. Gastrointestinal kanalın bir bölümünde tonik inhibitör bir kontrol olmasına karşın, bazı bölgelerde ise olasılıkla gereksinime bağlı olarak intermittan bir etki ortaya çıkmaktadır. Sıçan kolonu, kobay mide, ince barsak ve kolonunda nitrerjik transmisyonun enterik sinir sisteminin refleks aktivitesinde fizyolojik rolü olduğu gösterilmiştir.

Endojen nitrerjik sistemin varlığının gösterilmesi NO salıvererek etkisini gösteren ilaçlar için yeni tedavi yaklaşımları getirmekte veya eski kullanımlarının etki

mekanizmasını açıklayabilmektedir. Örneğin akalazyza tedavisinde uzun süredir kullanılan izoamil nitrit ve gliseril trinitrat olasılıkla yetersiz nitrejik inhibitör transmisyonun eksikliğini gidermektedirler. Morfin'in neden olduğu safra kesesi koliğine karşı nitrogliserin kullanılmaktadır.

SONUÇ

Bugüne dek bilinen klasik nörotransmitterler ile NO arasında oldukça çarpıcı farklılıklar bulunmaktadır. Klasik nörotransmitter maddeler sinir uçlarındaki veziküllerde depolanmaktadırlar. Ancak NO için böyle bir depolanma söz konusu değildir. Nitrejik NANK gevşemelerin NO sentaz inhibitörleri verilir verilmez ortadan kalkması da yapısında NO içeren bir maddenin sinir uçlarında depolanabileceği olasılığını ortadan kaldırmaktadır. Oysa asetilkolin, noradrenalin gibi klasik nörotransmitterlerin sentez inhibitörleri verildiğinde, transmitter depoları boşalana kadar yanıtlarda bir azalma ortaya çıkmamaktadır. Ancak kolinerjik ve noradrenerjik transmisyonunda olduğu gibi, nitrejik transmisyon için de gerekli transmitter sentezleyici sistem sinir uçlarında bulunmaktadır. Konotoksin-duyarlı N tipi kanallar aracılığıyla hücre içine kalsiyum girmesini takiben, klasik nöroefektör transmitterler depolandıkları veziküllerden ekzositoz sonucu salıverilirler (43). Nitrejik nörotransmisyonun da ekstrasellüler Ca^{++} 'un hücre içine girişiyle ilişkisi belirlenmiştir. Sitozolik kalsiyum konsantrasyonu artışı sinir uçlarında NO sentaz enzimini aktive etmektedir. Sentezlenen NO ise membrandan diffüze olmaktadır. Diğer taraftan NO sentaz enziminin veziküllerde depolanması ve buradan ekzositoza uğrayarak NO sentezini başlatması da olasıdır. Henüz bu olasılıkları doğrulayacak bulgular bildirilmemiştir.

NO dışındaki nöroefektör transmitterlerin birinci hedefi, ikincil ulak sistemleri veya bir iyon kanalı ile kenetli hücre yüzeyinde yer alan reseptörlerdir. NO reseptörünün intraselüler solubl guanilat siklaz enziminin prostetik hem grubu olduğu düşünülmektedir. Santral sinir sistemindeki sinaptik transmisyonun anlaşılmasında periferik nöroefektör transmisyonla ilgili çalışmalara katkısı olmaktadır. SSS'de de NO'nin nörotransmitter veya nöromodülatör rolünü gösteren kuvvetli kanıtlar bulunmaktadır (44,45). Anak guanilat siklazı aktive etmenin dışında fonksiyonel rolü hakkında fazla bilgi yoktur. Periferik nitrejik nöroefektör nörotransmisyonun ise fonksiyonel rolü büyük oranda aydınlatılmıştır. Bu konudaki çalışmaların nitrejik nörotransmisyonunun sadece fizyolojik ve fizyopatolojik önemini aydınlatmakla kalmayıp tedavi değeri olan ilaçların geliştirilmesine de katkıda bulunması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Burnstock G. The nonadrenergic noncholinergic nervous system. *Arch Int Pharmacodyn* 1986; 280(Suppl):1-15.
2. Burnstock G, Campbell G, Rand MJ. The inhibitory innervation of the taenia of the guinea-pig caecum. *J Physiol* 1966; 182:504-26.
3. Burnstock G. Purinergic nerves. *Pharmacol Rev* 1972; 24:509-81.

4. Erdö SL. Peripheral GABAergic mechanisms. *TIPS* 1985; 6:205-8.
5. Hökfelt T, Johannsoon O, Ljunddahl A, Lundberg JM, Schultzberg M. Peptidergic neurones. *Nature* 1980; 284:515-21.
6. Rand MJ, Li CG. Nitric oxide mediates non-adrenergic non-cholinergic relaxation in some neuroeffector systems: Examples of nitrenergic transmission XIth International Congress of Pharmacology, Amsterdam. *Eur J Pharmacol* 1990; 183:1184.
7. Furchgott RF, Zawadski JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373-6.
8. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989; 38:1709-15.
9. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333:664-6.
10. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-42.
11. Palmer RMJ, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 158:348-52.
12. Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S. Regional haemodynamic changes during oral ingestion of N^G -monomethyl-L-arginine or N^G -nitro-L-arginine methyl ester in conscious Brattleboro rats. *Br J Pharmacol* 1990; 101:10-2.
13. Gillespie JS. Searching for the non-adrenergic non-cholinergic autonomic transmitter. In: Rand MJ, and Raper C, eds. *Pharmacology*. Amsterdam: Excerpta Medica 1987:161-70.
14. Gillespie JS. The rat anococcygeus muscle and its response to nerve stimulation and some drugs. *Br J Pharmacol* 1972; 45:404-16.
15. Li CG, Rand MJ. Evidence for a role of nitric oxide in the neurotransmitter system mediating relaxation of the rat anococcygeus muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1989; 16:933-8.
16. Furness JB, Costa M. *The Enteric Nervous System*. London: Churchill Livingstone, 1987.
17. Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 1990; 347:768-70.
18. Fang S, Christensen J. Distribution of NADPH diaphorase in intramural plexuses of cat and opossum esophagus. *J Auton Nerv Syst* 1993; 46:123-33.
19. Ward SM, Xue C, Shuttleworth CW, Bredt DS, Snyder SH, Sanders KM. NADPH diaphorase and nitric oxide synthase colocalization in enteric neurons of canine proximal colon. *Am J Physiol* 1992; 263:G277-84.
20. Du C, Murray J, Conklin JL, Bates JN. Nitric oxide: Mediator of non-adrenergic non-cholinergic hyperpolarization of opossum esophageal circular smooth muscle. *Gastroenterology* 1991; 100:A439.
21. Murray J, Du C, Ledlow A, Bates JN, Conklin JL. Effects of N^G -nitro-L-arginine and nitric oxide on the latency gradient of contraction in the opossum esophagus. *Gastroenterology* 1991; 100:A474.
22. Tottrup A, Svane D, Forman A. Nitric oxide mediating NANC inhibition in opossum lower esophageal sphincter. *Am J Physiol* 1991; 260:G358-89.

23. Li CG, Rand MJ. Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus. *Eur J Pharmacol* 1990; 191:303-9.
24. D'amato M, Curro D, Montuschi P. L-N^G-nitro arginine partially inhibits non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the rat gastric fundus. *Gastroenterology* 1991; 100:A434.
25. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, De Man JG, Herman AG, Van Maercke YM. Nitric oxide released upon stimulation of non-adrenergic nerves in the rat gastric fundus. *Br J Pharmacol* 1991; 102:84.
26. Boeckxstaens GE, Bult H, Pelckmans PA, et al. Nitric oxide release in response to stimulation of non-adrenergic non-cholinergic nerves. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17(Suppl 3):238-42.
27. Costa M, Furness JB, Brookes SJH, Bredt DS, Snyder SH. Presence and chemical coding of neurones with nitric oxide synthase immunoreactivity in the guinea-pig small intestine. *Proc Aust Physiol Pharmacol Soc* 1991; 22:97.
28. Toda N, Baba H, Okamura T. Role of nitric oxide in non-adrenergic non-cholinergic nerve-mediated relaxation in dog duodenal muscle strips. *Japan J Pharmacol* 1990; 53:281-4.
29. Martins SR, Bicudo R, Oliveria RB, Ballejo G. Evidence for the participation of the L-arginine-nitric oxide pathway in neurally induced relaxation of isolated rat duodenum. *Brazilian J Med Biol Res* 1993; 26:1325-35.
30. Kaputlu İ, Şadan G. Evidence that nitric oxide mediates non-adrenergic non-cholinergic relaxation induced by GABA and electrical stimulation in the isolated rat duodenum. *J Auton Pharmacol* 1996 (baskıda).
31. Furness JB, Costa M, Pompolo S, Bornstein JC, Bredt DS, Snyder SH. Projections of neurones with nitric oxide synthase immunoreactivity in the guinea-pig small intestine. *Proc Aust Physiol Pharmacol Soc* 1991; 22:99.
32. Gustaffson LE, Wiklund LP, Wiklund CE, Cederqvist B, Persson MG, Moncada S. Modulation of autonomic neuroeffector transmission by nitric oxide-like activity in guinea-pig smooth muscle. In: Moncada S, and Higgs EA, eds. *Nitric Oxide from L-arginine: A Bioregulatory System*. Elsevier Amsterdam 1990:177-81.
33. Knudsen MA, Tottrup A. Evidence for two mediators of NANC inhibition in circular muscle of the guinea-pig ileum. *Gastroenterology* 1991; 100:459.
34. Christinck F, Daniels EE. Nitric oxide is an inhibitory mediator in the small intestine. *Gastroenterology* 1991; 100:822.
35. Maggi CA, Barbanti G, Turini D, Giuliani S. Effect of N^G-monomethyl L-arginine (L-NMMA) and N^G-nitro L-arginine (L-NOARG) on non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the circular muscle of human ileum. *Br J Pharmacol* 1991; 103:1970-2.
36. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Bult H, DeMan JG, Herman AG, Maercke YM. Evidence for nitric oxide as mediator of non-adrenergic, non-cholinergic relaxations induced by ATP and GABA in the canine gut. *Br J Pharmacol* 1991; 102:434-8.
37. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Rampart M, Ruytjens IF, Venbeuren TJ, Herman AG, Van Maercke YM. GABA_A receptor-mediated stimulation of non-adrenergic non-cholinergic neurones in the dog ileocolonic junction. *Br J Pharmacol* 1990; 101:460-4.
38. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Ruytjens IF, Bult H, DeMan JG, Herman AG, Van Maercke YM. Bioassay of nitric oxide released upon stimulation of non-adrenergic non-cholinergic nerves in the canine ileocolonic junction. *Br J Pharmacol* 1991; 103:1085-91.
39. Mackenzie I, Burnstock G. Evidence against vasoactive intestinal polypeptide being the non-adrenergic non-cholinergic inhibitory transmitter released from nerves supplying the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *Eur J Pharmacol* 1980; 67:255-64.
40. Grider JR, Cable MB, Bitar KN, Said SI, Maklouf GM. Vasoactive intestinal polypeptide: Relaxant neurotransmitter in taenia coli of the guinea-pig. *Gastroenterology* 1985; 89:36-42.
41. Shuttleworth CWR, Furness JB, Murphy R, Bredt RS, Snyder SH. Evidence that nitric oxide participates in non-adrenergic inhibitory transmission to intestinal muscle in the guinea pig. *Proc Aust Physiol Pharmacol Soc* 1991; 22:101.
42. Sanders KM, Ward SM. Nitric oxide as a mediator of non-adrenergic noncholinergic neurotransmission. *Am J Physiol* 1992; 262:379-92.
43. DeLuca A, Li CG, Rand MJ, Reid JJ, Thaina P, Wong-Dusting HK. Effects of ω-conotoxin GVIA on peripheral neuroeffector transmission in various tissues. *Br J Pharmacol* 1990; 101:437-47.
44. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends in Neurosci* 1991; 14:60-7.
45. Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature* 1988; 336:385-8.