

EPİTEL KÖKENLİ GEVŞETİCİ FAKTÖR

İsmail ÇAKICI (*)
İlker KANZİK (**)

Nurettin ABACIOĞLU (*)
Hakan ZENGİL (**)

ÖZET:

Bu derlemede, epitelsizleştirmenin solunum yollarının duyarlılığını etkileme mekanizmaları ve özellikle, epitelden salverildiği gösterilen bir gevşetici faktör (ya da faktörler) ile ilgili bilgiler özetlenmiş ve bu faktörün fizyolojik ve bazı fizyopatolojik olaylardaki rolü tartışılmıştır.

EPITHELIUM - DERIVED RELAXANT FACTOR

SUMMARY:

In this review, it has been summarized that the mechanisms of epithelium denudation to affect the airway smooth muscle sensitivity and principally, the knowledge about a relaxant factor (or factors) which has been shown to release by epithelium and it has also been discussed the role of epithelium derived relaxing factor on certain physiologic and some pathophysiologic conditions.

GİRİŞ

Furchgott ve Zawadski, ilk kez 1980'de izole arterlerde endotel tahribatından sonra asetilkoline (AK) bağlı gevşemelerin önlendiğini göstermişlerdir. bu buluş, birçok fizyolog ve farmakoloğun bakış açısını değiştirmiştir. Çünkü endotel yokluğunda yalnızca vazodilatör cevaplar değişmemekte, vasküler düz kasın çeşitli vazokonstriktör maddelere cevabı da önemli ölçüde güçlenmektedir. 1982'de Vanhoutte ve arkadaşları, arter lümenini çevreleyen endotel hücrelerinin düz kasın cevaplarını etkilemesi ile ilgili bu prensibin, vücuttaki diğer tübümsü yapılara uygulanıp uygulanmayacağını incelemeye karar verilmişlerdir. Bronş epitelinin, bronş düz

kasının cevaplarını nasıl etkilediğini incelemek üzere ilk tasarlanan deneylerde, epitel hücrelerinin mekanik olarak uzaklaştırılmasının köpek solunum yolu düz kasında beklenenin ötesinde bir duyarlılık oluşturduğu görülmüştür. bu derleme, epitelden salverilen gevşetici faktörlerin bronkokonstriktör tonusun düzenlenmesinden sorumlu olabileceği görüşü ile ilgili orijinal gözlemleri özetlemektedir.

A- Epitelsizleştirme

İlk çalışmalar, solunum yolu preparatlarında epitelsizleştirmenin olanaklı olup olmadığını belirlemek üzerinde yoğunlaşmıştır. Bronş lümeninin hafifçe

*) Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

***) Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

kazınması ile bunun başarılabilceğinin anlaşılması üzerine, bir forsepsin ucu lümenine geçiril-dikten sonra preparat yavaşça tersine çev-rilerek fizyolojik tuz çönde ıslatılmış filtre kağıdı ile epitel ta-baaklaştırılabilmiştir. Bu yöntemle epitel-sizleştirirnenin epitel altlı tabakalarda hiçbir morfolojik hasar oluşturmadığı his-tolojik olarak saptan-mıştır. Ayrıca, bronş düz kasının depolarize olma ve kasılmaya da gevşeme yeteneğinin de değişmediği gözlenmiştir. Bu koşullar altında bronş düz kasının intrinsik özelliklerinin değişmediği kabul edilmektedir (1).

B- Epitelsizleştirirnenin Sonuç-ları ve Türlerarası Farklılıklar

Epitelsizleştirirnenin, izole solunum yolu preparatlarında kontraktıl maddelere verilen cevapları arttırdığı ilk kez Flavahan ve arkadaşları tarafından köpekte gösteril-miştir. Histamin (HA), AK ve 5-hidroksit-riptominin (5-HT) doz-cevap eğrileri, mak-simum cevapları değişmeksizin sola kay-maktadır. Epitelsiz preparatlarda indometaz-in (siklooksijenaz inhibitörü) (10-5M) veya BAY G 6575 (lipoksijenaz inhibitörü) (10-5M), AK'ın doz-cevap eğrisini değiştir-memektedir. Ancak, epitel-intakt preparat-larda indometazin AK'nın cevaplarını po-tansiyalize etmekte BAY G 6575 ise etki-lememektedir. Önceden kastırılmış bronş halkalarında izoprenalinin (ISO), oluşturdu-ğu gevşemeler ise epitel uzaklaştırıldıktan sonra anlamlı olarak azalmaktadır (1).

Sığır trakea düz kası şeritlerinde Barnes ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise epitelsizleştirirnenin HA, 5-HT ve AK'nın hem maksimum cevabını arttırdığı hem de ED50'lerini değiştirdiği bulunmuştur. Ancak mepakrin (fosfolipaz A2 inhibitörü) AK'ın maksimum cevabını ve ED50'sini etkileme-mektedir. ISO ise tıpkı köpek bronş halka-larında olduğu gibi önceden kastırılmış sığır trakea şeritlerini epitel-intakt olduğu zaman anlamlı olarak daha fazla gevşet-mektedir (2).

Görüldüğü gibi, köpek ve sığır solunum yolu epitelinin uzaklaştırılması ISO'nun gevşetici etkisini azaltılmakta, kontraktıl maddelerin cevaplarını ise arttırmaktadır.

Bu bulgular, epitelin bir inhibitör madde ya da maddeler salgıladığının kanıtı olarak ka-bul edilmiştir. Ancak solunum yolu düz kaslarının bronkodilatör maddelere verdiği cevaplarda epitelin uzaklaştırılmasının et-kileri açısından türler arası farklılıklar vardır. Kobaylarda epitelin uzak-laştırılmasının trakea düz kasında ISO'ya duyarlılığı arttırdığı saptanmıştır (3,4). Holroyde, kobay izole trakea zincirlerinde epitelin uzaklaştırılmasının 5-HT, HA, AK, adenozin, ISO ve potasyum klorüre duy-arlılığı arttırdığını göstermiştir. Lipoksije-naz inhibitörü ditiyotreytol ve siklooksije-naz inhibitörü indometazinin ise epitel intakt veya epiteli uzaklaştırılmış preparat-larda HA'nın doz-cevap eğrisini solı kaydirdiği ve maksimum cevabını da arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada Holroyde, bir kaskad süperfüzyon sistemi ile epitelden herhangi bir inhibitör faktör salıverilip salıverilmediğini belirlemek istemiş, fakat başarılı olamamıştır (3). Başlı bir çalışmada ise izole trakea şeritlerinde epitelin uzaklaştırılmasının, yalnızca or-tamda uptake ve parçalanmayı inhibe eden maddeler bulunması halinde ISO ve adeno-zine duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir. Ekstranöronal uptake'i olmayan bir kate-kolamin olan salbutamole duyarlılığın ise epitelsizleştirirmeden etkilenmediği de gözlenmiştir (4).

Barnes ve arkadaşları bir başka çalışmada eksojen ve endojen taşikininlerin etkilerinin epitelsiz-leştirirmeden sonra ne yönde değiştiğini in-celemişlerdir. Epitelsiz preparatlarda taşikininlerin etkileri potansiyelize edil-mektedir. Ancak, siklooksijenaz ve met-loendopeptidaz birlikte inhibe edildiğinde de aynı derecede potansiyalizasyon söz-konusudur. Araştırmacıların bu çalışmada ulaştıkları sonuç, taşikininlerin epitelde inhibitör etkili prostanoidleri salıverilmesine yolaçtıkları ve epitel tarafından sentezlenen enzimlerle parçalandıkları şeklindedir (30).

Goldie ve arkadaşları ise kobay trakea halkalarında AK, karbakol ve potasyum potensinin epitelin uzaklaştırılmasında sonra değişmediğini, oysa HA'nın potens-

nin anlam olarak arttığını bulmuşlardır. Gene epitelsiz ve karbakol ile önceden kastırılmış preparatlarda ISO'ya bağlı gevşemelerin kontrole göre % 33 oranında azaldığını, oysa teofilin, forskolin ve nitroglicerine bağlı gevşemelerin değişmediğini saptamışlardır (5).

İnsan solunum yolu preparatları dahil çeşitli türlerden izole edilen dokular ile yapılan çalışmalarda kontraktıl maddelere verilen cevaplar çoğunlukla epitelsizleştirmeden sonra potansiyalize olmaktadır. Ancak, görüldüğü gibi düz kas gevşeticilerine verilen cevaplar, kullanılan preparatın türüne (şerit, halka, zincir gibi) de bağlı olarak değişmekte yani potansiyalize olmakta veya aksine, azalmaktadır (6,7,8,9,10).

C- Mekanizma Üzerine bazı Görüşler

Epitelsizleştirmeden sonra solunum yolu düz kasının cevaplarının değiştiği saptanmakla beraber, olayın mekanizması tartışmalıdır. Epitelin mekanik olarak uzaklaştırılmasının, düz kasın kontraktıl mekanizmalarında bir eksiklik oluşturmadığı öne sürülmüştür. Çünkü KCI ile oluşturulan kasılmalarda herhangi bir değişiklik meydana gelmemektedir (11). Barnes ve goldie'nin bulgularına da bu yöndedir (2,5). Üç ayrı mekanizma öne sürülmüştür.

I. Epitel, bazı gevşetici ve kastırıcı agonistlerin parçalanmasından yada uptake'inden sorumlu olabilir. Kobay trakeasında ISO'ya verilen cevabın epitelin uzaklaştırılmasından sonra artması bu görüşü destekleyen bir bulgudur. Çünkü ekstranöronal uptake blokörü korkitosteronun ortamda bulunması halinde de gevşemeler, epitelsiz preparatlardakine benzer şekilde artmaktadır. Uptake'e uğramayan salbutamol'e verilen cevaplar ise epitelsizleştirmeden sonra değişmektedir (4). Fakat AK ve hA için aynı tezi öne sürmek olası değildir. Çünkü asetilkolinesteraz ve monoaminoksidaz inhibitörleri ile inkübasyondan sonra epitel-intakt ve epitelsiz preparatların cevaplarında herhangi bir değişiklik olmamaktadır (1). Diğer yandan, Devillier ve arkadaşları P maddesi ve

bazı P maddesi analoglarının kastırıcı etkisinin epitelsizleştirmeden sonra anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır. Ancak ortamda endopeptidaz inhibitörü tiorfanın (10^{-5} M) bulunması halinde cevaptaki artış, epitelsizleştirmeden sonra oluşan artışa çitir. Tiorfan ilavesinin yanısıra epitelsizleştirme işlemi de yapıldığında doz-cevap eğrisindeki sola kaymada herhangi bir artış görülmemiştir (12).

II. Öne sürülen görüşlerden ikincisi, epitel tabakasının, bronkokonstriktör maddelerin düz kasa ulaşmalarına karşı önemli bir diffüzyon engeli oluşturduğudur. Epitelsizleştirme sonucu böyle bir diffüzyon engelinin ortadan kaldırılması tezi bazı çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Örneğin, kobay trakeasında ISO'nun oluşturduğu gevşemelerin epitelsizleştirmeden sonra artması, agonistin düz kasa daha kolay ulaşabildiğini yansıtmaktadır (3,4). Ancak, köpek bronş halkalarında epitelsizleştirme yalnızca kastırıcı maddelere verilen cevabı değil, kolinerjik sinir uçlarının elektriksel stimülasyonuna verilen cevapları da arttırmaktadır. Elektriksel stimülasyon ile salıverilen mediyatör düz kasa epitelten geçerek değil de doğrudan ulaşacağı için, zaten diffüzyon sorunu yoktur (1). Bir başka önemli bulgu da insan solunum yolu preparatlarında epitelsizleştirminin verapamilin gevşetici etkisini azaltmasıdır (9).

Enzimatik yıkımda azalma veya bir pasif diffüzyon engelinin ortadan kalkması tezleri, epitel-intakt köpek bronş düz kasının elektriksel olarak, epitelsiz preparatlardan daha polarize olmasını da açıklayamamaktadır (11).

III. En mantıklı görünen açıklama, solunum yolu epitelinin düz kası gevşeten bir faktör ya da bazı faktörler salgılaması gibi görünmektedir. Bu durum, damar düz kası tonüsünün, damar endoteli tarafından salıverilen endotel kökenli gevşetici faktör tarafından düzenlenmesine benzemektedir (11).

D- Epitel-Kökenli Gevşetici Faktörün Blyoeseyl

Çeşitli biyoeseysel çalışmaları epitelin bronş veyadamar düz kasını gevşetebilen

ve difüze olabilen salgılayabildiğini göstermiştir. İlhan ve Şahin, solunum yolu epitelinin EDRF'ye benzer bir faktör salıverdiğini özel bir biyoeseysel sistemi kullanarak göstermişlerdir. Bu çalışmalarda kobay trakeası kendi orjinal tüp şekli ile donör organ olarak kullanılmıştır. Tes organı olarak ise önce epiteli kazınmış tavşan aort şeridi, daha sonra sıçan anokoksigeus kasını kullanmışlardır (13,14). Epitelsiz tavşan aort şeridi veya sıçan anokoksigeus kası fenilefrin ile önceden kastırıldıktan sonra AK uygulandığında gevşememekte, aksine ilave kasılma oluşmaktadır. Ancak aynı preparatlar epitel-intakt trakea içine yerleştirilerek koaksiyal sistem hazırlandıktan sonra AK uygulandığında doza bağlı gevşemeler görülmektedir. AK'ya bağlı gevşeme oldukça yavaştır ve 1mM konsantrasyonda AK ile 25,5 dakikada maksimuma ulaşmaktadır. Sıçan anokoksigeus kasına koaksiyal sistemde 0.01, 0.1 ve 1mM AK uygulandığında ise gevşemenin plato yapma süresi sıra ile 8.0 ± 1.2, 6.1 ± 0.5 ve 6.0 ± 1.2 dakikadır. Bu deneylerde önceden kastırılmış test dokuları epitelsiz trakea içine takıldıktan sonra AK uygulandığında gevşeme oluşmamaktadır. Diğer yandan, AK'ya bağlı gevşemelerin indometazin, hidrokinon, metilen mavisi ve propranolol-en etkilenmediği saptanmış (14). Bu da epitel kökenli gevşetici faktörün bir siklooksijenaz ürünü olmadığını, yapıcı EDRF'ye benzemediğini ve olaya β-reseptörlerin katkısı bulunmadığını göstermektedir. Hay ve arkadaşları aynı koaksiyal sistemi kullanarak epitel kökenli gevşetici faktörün salınımı ile ilgili direkt bulgu sağlamışlardır (15). Bunlara karşın Holrovd ve arkadaşları bir kaskad biyoeseysel sistemi kullanarak, solunum yolu epitelinin herhangi bir inhibitör faktör salıverildiğini gösterememişlerdir (3). Son olarak, Fernandes ve arkadaşları, sıçan torasik aortunu kullanarak koaksiyal biyoeseysel sisteminde kobay trakeasından salıverilen bir maddenin gevşetici aktivitesini doğrudan saptamışlardır. Bu çalışmada donör organ olarak insan bronşlarından hazırlanan preparatlar da kullanılmıştır

(16).

Görüldüğü gibi, epitelin bronş ve damar düz kasının yanı sıra damar dışı bir düz kası da (sıçan anokoksigeus kası) gevşetebilen, difüze olabilir faktörler salgılayabildiğini gösteren çeşitli biyoeseysel çalışmaları vardır. Ancak bu eseylerde teknik sorunlar vardır ve sonuçlar EDRF'nin varlığını gösteren çalışmalar kadar tatmin edici değildir. Epitel kökenli gevşetici faktörlerin biyoeseyselindeki güçlükler, büyük bir olasılıkla epitel hücrelerinin, endotelin aksine alttaki tabakalara doğru son derece polarize olması ve lümene doğru salıverilen faktör ya da faktörlerin mukus tarafından bağlanması veya inaktive edilmesi olasılığına dayanmaktadır. Ayrıca epitel kökenli gevşetici faktör ya da faktörlerin tatmin edici bir biyoeseysel güçleştirecek şekilde EDRF'den daha kısa yarı ömre sahip olabileceği öne sürülmüştür (11).

E- Epitel Kökenli Gevşetici Faktörün Özellikleri

Solunum yolu epitelinin salıverilen inhibitör mediyatörün yapısı bilinmemektedir. Arakidonik asit metabolitleri (özellikle PGE₂) bronkodilatördür ve epitel bağımlı gevşemelere neden oldukları gösterilmiştir (17,18,19). Arakidonik asitin epitelsiz ve epitel-intakt trakeadaki etkileri indometazin ile tamamen ortadan kaldırılabilir. Bir "sandöviç protokolü" uygulanarak intakt trakea şeridinden eksojen arakidonik asitle salıverilen epitel kökenli gevşetici faktörün, aynı izole organ banyosundaki epitelsiz trakea şeridini gevşettiği gösterilmiştir. Bu gevşeme indometazin ile antagonize edildiğinden sorumlu faktörün bir siklooksijenaz ürünü olduğu öne sürülmüştür (17).

Köpekte (1) ve kobayda (3), epitel tarafından gösterilen inhibitör etkiye bir arakidonik asit ürününün katkıda bulunabileceğini gösteren sonuçlar alınmıştır. Sığır solunum yolu preparatlarında aynı etki görülmemekle beraber (2), arakidonik asit ve trombosit aktive edici faktör tarafından oluşturulan epitele bağımlı gevşemelerde bu durum çoğunlukla söz konusudur (18,20,21). Brunelleschi ve arkadaşları, trombosit aktive edici faktörün (4 μ M)

izole kobay trakea preparatlarını (HA, 5-HT veya lökotrien D4 ile önceden kastırılmış) gevşettiğini göstermişlerdir (18). İndometazin veya aspirin bu etkiyi anlamlı olarak azaltılmaktadırlar. Aynı preparatta epitelin uzaklaştırılması, trombosit aktive edici faktörün gevşetici etkisini engellemektedir. İzole kobay trakea preparatları HA ile kastırıldığında, PGE₂ saliverirler HA ve trombosit aktive edici faktör varlığında, PGE₂'nin düzeylerinde anlamlı bir artış kaydedilmiş ve indometazinin bu artışı engellediği görülmüştür. Bu deneylerde TXB₂ düzeylerinde hiçbir değişiklik olmadığı saptanmıştır Epitelin bulunmadığı preparatlarda HA'nın PGE₂ düzeylerini arttırmadığı da gösterilmiştir. Sonuçlar, trombosit aktive edici faktörün izole kobay solunum yolu preparatını epitel kökenli bir siklooksijenaz ürününün (büyük bir olasılıkla PGE₂) saliverilmesine neden olarak gevşettiğini göstermektedir (18). Fakat İlhan ve Güç'ün bulgularına göre epitel kökenli gevşetici faktör EDRF'den kimyasal olarak farklıdır ve bir siklooksijenaz ürünü değildir (13,14).

F- Epitel Kökenli Gevşetici Faktörün Fizyolojik Rolü

Epitel kökenli gevşetici faktörün olası fizyolojik rolü ile ilgili olarak iki temel görüş ortaya çıkmaktadır (12). İlki, çeşitli agonistler ile elde edilen doz-cevap eğrilerinin epitelin uzaklaştırılmasından sonra sola kayması, epitel kökenli gevşetici faktör ya da faktörlerin bazal salınımı olduğunu düşündürmektedir. Bu durumda, saliverilen faktör solunum yolu düz kasının istirahat tonusu üzerinde etkili olacaktır. Asıl ilginç olan ise epitelin bu tonik gevşetici etkisinin, bronşiyollerden çok bronşlarda belirgin olmasıdır (11,24). Damarlar ile bir benzerlik kurulacak olursa, istirahat tonusundaki değişiklikler, büyük çaplı solunum yollarının çapında içeriye giren havanın bir fonksiyonu olarak oluşan ayarlamalara bağlıdır. EpDRF bu düzenlemeyi sağlayan doğal ve önemli bir uyarıcı olabilir. İkinci olasılık ise, epitel kökenli gevşetici faktörün uyarana bağlı olarak saliverilmesidir. Bu tip uyarıların en

önemlisi ozmotik değişikliklerdir. Beta adrenerjik aktivasyonunun da saliverilmeyi başlatabilen diğer bir uyarıcı olabileceği ve bu olgunun solunum yolunun çapına bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir. Ancak, ISO'nun epitele bağımlı cevaplarından elde edilen verilere göre, bazal saliverilmenin küçük çaplı solunum yollarında daha belirgin olduğu bilinmektedir. Betaadrenerjik reseptörlerin, otoradyografik lokalizasyonlarının belirlenmesi ile küçük çaplı solunum yolu epiteli üzerinde daha bol oldukları gösterilmiştir. Bu nedenle çeşitli araştırmacılar epitel üzerindeki epitel kökenli gevşetici faktör saliverilmesi ile bağlantılı beta adrenerjik reseptörlerin, beta adrenerjik agonistler ile yapılan aerosol tedavisinin etkinliğinden sorumlu olabileceğini öne sürmüşlerdir (5, 22, 23).

G- Epitelin Düzenleyici İşlevinin Eksikliğinin Solunum Yolunun Aşırı Cevaplılığındaki Olası Rolü

İntakt organizmada epitelten bazı gevşetici faktörlerin saliverilmesi söz konusu olduğuna göre, epitel hücrelerinin yokluğu veya işlev görememesi bronşlarda anormal cevaplar gelişmesine neden olabilir. Epitelin işlevinde anormalliklerin görülmesinin bronşlarda aşırı duyarlılık oluşturduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır (25,26,27,28). Nitekim, deneysel olarak solunum yollarındaki aşırı duyarlılık oluşturmakla kullanılan uyarıcılar, örneğin ozon, allerjen veya respiratuvar virüsler hem hayvanlara hem de insanlarda, epitelde akut inflamasyona yol açar. Epitel yokluğunun solunum yollarında aşırı duyarlılığa yol açtığını destekleyen diğer bir gözlem ise, astımlılarda solunum yolunun tüm dallarında epitel tahribinin belirgin olmasıdır. Astımlı hastalarda invivo aşırı duyarlılığın, yalnızca düz kasın duyarlılığı ile açıklanamayışı da bir başka destekleyici olgudur. Astımlıların solunum yollarının en karakteristik özelliği olan inflamasyonda eozinofillerin rolü giderek önem kazanmaktadır. Eozinofil temel proteini (eosinophil major basic protein) inflamasyonlu hücreler tarafından üretilen başlıca toksin olarak kabul edilmektedir ve bu toksin, AK veya HA

tarafından solunum yolu düz kasında oluşturulan kasılmaları epitele bağımlı şekilde güçlendirmektedir. Aşırı duyarlılık, epitel hücreleri eozinofil toksinin etkisi altında nekroze oldukları zaman ortaya çıkmaktadır (29). Bu gözlem, normal solunum yollarında epitelin uzaklaştırılmasının etkisi ile astım patolojisi arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir, çünkü astımlı bronşlarda epitelin tahrip olduğu bölgeler vardır. Bu nedenle epitel hücrelerin yokluğu ve sonuçta epitel kökenli gevşetici faktörün sentezindeki azalmanın, astımın karakteristiği olan solunum yolu aşırı duyarlılığından sorumlu etkilerden biri olabileceği öne sürülmüştür (22). Sonuç olarak epitel kökenli gevşetici faktörün, bronş ve pulmoner damarlara diffüze olması halinde pulmoner vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR:

1. Flavahan, A., Aarhus, L. L. Rimele, T.J., Vanhoutte, P.M. Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J. Appl. Physiol.* 58 (3): 834-838, 1985.
2. Barnes, P.J., Cuss, F.M., Palmer, J.B. The effect of airway epithelium on smooth muscle contractility in bovine trachea. *Br. J. Pharmacol.* 86:685-691, 1985.
3. Holroyde, M.C. The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. *Br. J. Pharmacol.* 87:501-507, 1986.
4. Farmer, S.G., Fedan, J.S., Hay, D.W.P., Raeburn, D. The effects of epithelium removal on the sensitivity of guinea-pig isolated trachealis to bronchodilator drugs. *Br. J. Pharmacol.* 89:407-414, 1986.
5. Goldie, R.G., Papadimitrou, J.M., Paterson, J.W., Rigby, P.J., Self, H.M., Spina, D. Influence of the epithelium on responsiveness of guinea-pig isolated trachea to contractile and relaxant agonists. *Br. J. Pharmacol.* 87:5-14, 1986.

6. Hay, D.W.P., Farmer, S.G., Raeburn, D., Robinson, V.A., Fleming, W.W., Fedan, J.S. Airway epithelium modulates the reactivity of guinea-pig respiratory smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 129:11-18, 1986.
7. Hay, D.W.P., Raeburn, D., Farmer, S.G., Fleming, W.W., Fedan, J.S. Epithelium modulates the reactivity of ovalbumin - sensitized guinea - pig airway smooth muscle. *Life Sci.* 38: 2461 - 2468, 1986.
8. Tschirhart, E., Landry, Y. Airway epithelium releases a relaxant factor: demonstration with Substance P. *Eur. J. Pharmacol.* 132: 103 - 104, 1986.
9. Raeburn, D.; Hay, D.W.P., Farmer, S.G., Fedan, J.S. Epithelium removal increases the reactivity of human isolated tracheal muscle to methacholine and reduces the effect of verapamil. *Eur. J. Pharmacol.* 123:451 - 453, 1986.
10. Aizawa, H., Miyazaki, N., Shigematsu, N., Tomooka, M. A possible role of airway epithelium in modulating hyperresponsiveness. *Br. J. Pharmacol.* 93:139 - 145, 1988.
12. Devillier, P., Advenier, C., Drapeau, G., Marsac, J., Regoli, D. Comparison of the effects of epithelium removal and of an enkephalinase inhibitor on the neurokinin induced contractions of guinea-pig isolated trachea. *Br. J. Pharmacol.* 94: 675-684, 1988.
13. İlhan, M., Şahin, I. Tracheal epithelium releases a vascular smooth muscle relaxant factor: demonstration by bioassay. *Eur. J. Pharmacol.* 131:293-296, 1986.
14. Güç, M.O., İlhan, M., Kayaalp, O. The rat anococcygeus muscle is a convenient bioassay organ for the airway - epithelium derived relaxant factor. *Eur. J. Pharmacol.* 148:405-409, 1988.
15. Hay, D.W.P., Muccitelli, R.M., Horstemeyer, D.L., Wilson, K.A., Raeburn, D. Demonstration of the release of an epithelium - Derived inhibitory factor from a novel preparation of guinea-

- pig trachea. *Eur. J. Pharmacol.* 136:247-250, 1987.
16. Fernandes, L.B., Paterson, J.W., Goldie, R.G. Co-axial bioassay of a smooth muscle relaxant factor released from guinea-pig tracheal epithelium. *Br. J. Pharmacol.* 96:117-124, 1989.
 17. Tschirhart, E., Frossard, N., Bertrand, C., Landry, Y. Arachidonic Acid metabolites and Airway-Epithelium Dependent Relaxant Factor. *J. Exp. Pharm. Ther.* 243 (1): 310-316, 1987.
 18. Brunelleschi, S., Haye-Legrand, I., Labat, C., Norel, X., Benveniste, J., Brink, C. Platelet - Activating Factor - acether induced Relaxation of Guinea-pig airway muscle: Role of Prostaglandin E₂ and the Epithelium. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 243 (1): 356-363, 1987.
 19. Barnett, K., Jacoby, D.B., Nadel, J.A., Lazarus, S.C. The effects of Epithelial Cell Supernatant on Contractions of Isolated Canine Tracheal Smooth Muscle. *Am. Rev. Respir. Dis.* 138:780-793, 1989.
 20. Nijkamp, F.P., Folkerts, G. Reversal of arachidonic acid - induced guinea-pig tracheal relaxation into contraction after epithelium removal. *Eur. J. Pharmacol* 131: 315-316, 1987.
 21. Farmer, S.G., Hay, D.W.P. Raeburn, D., Fedar, J.S. Relaxation of guinea-pig tracheal smooth muscle to arachidonate is converted to contraction following epithelium removal *Br. J. Pharmac* 92:231-236, 1987
 22. Vanhoutte, P.M. Epithelium derived relaxing factor: myth or reality? *Thorax*, 43: 665-668, 1988.
 23. Carstairs, J.R., Nimmo, A.J. Barnes, P.J. Autoradiographic localisation of β adrenoceptors in human lung. *Eur. J. Pharmacol.* 103:189-190, 1984.
 24. Stuart - Smith, K., Vanhoutte, P.M. Airway epithelium modulates the responsiveness of porcine bronchial smooth muscle. *J. Appl. Physiol.* 65 (2): 721-727, 1988.
 25. Vincenc, K.S., Black, J.L., Yan, K., Armour, C.L. Donnelly, P.D., Woolcock, A.J. Comparison of in vivo and in vitro responses to histamine in human airways. *Am. Rev. Respir. Dis.* 128:875-879, 1983.
 26. Hogg, J.C. Is Asthma an Epithelial Disease? *Am. Rev. Respir. Dis.* 129:207-208, 1984.
 27. Laitinen, L.A., Heino, M., Laitinen, A., Kova, T., Haahtela, T. Damage of the Airway Epithelium and Bronchial Reactivity in Patients with Asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131: 599-606, 1985.
 28. Cerrina, j., Le Roy Ladurie, M., Labat, C., Raffestin, B., Bayol, A., Brink, C. Comparison of Human Bronchial Muscle Responses to Histamine in vivo with Histamine and isoproterenol Agonists in vitro. *Am. Rev. Respir. Dis* 134: 57-61, 1986.
 29. Flavahan, N.A., Slifman, N.R., Gleich, G.J., Vanhoutte, P.M. Human Eosinophil Major Basic Protein Causes Hyperreactivity of Respiratory Smooth Muscle. *Am. Rev. Respir. Dis.* 138:685-688, 1988.
 30. Frossard, N., Rhodent, K.J., Barnes, J. influence of epithelium on guinea-pig airway responses to Tachykinins: Role of Endopeptidase and Cyclooxygenase. *J. Pharm. Exp. Ther.* 245: 292 - 298, 1989.