

# EPİTEL KÖKENLİ GEVŞETİCİ FAKTÖR

İclal ÇAKICI (\*) Nurettin ABACIOĞLU (\*) İlker KANZIK (\*)  
Hakan ZENGİL (\*\*)

## ÖZET:

*Bu derlemede, epitelsizleştirmenin solunum yollarının duyarlılığını etkileme mekanizmaları ve özellikle, epitelden salıverildiği 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 epitheliumderived relaxing factor on certain physiologic and some pathophysiologic conditions.*

(\*) Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

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

## 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 uygulanabilirliğini incelemeye karar vermişlerdir. 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 sağlanan gevşetici faktörlerin bronkokonstriktör tonusunun düzenlenmesinden sorumlu olabileceği görüşü ile ilgili orijinal gözlemleri özetlemektedir.

### A- EPİTELSİZLEŞTİRME

İlk çalışmalarda, solunum yolu preparatlarında epitelsizleştirmenin olanaklı olup olmadığını belirlenmiş ve bronş lümeninin hafifçe kazanması ile bunun başarılabilirliğinin anlaşılması üzerine, bir forsepsin ucu lümene geçirildikten sonra preparat yavaşça tersine çevrilerak fizyolojik tuz çözeltisinde ıslatılmış filtre kağıdı ile epitel tabakası uzaklaştırılabilmıştır. Bu yöntemle epitelsizleştirmenin epitel altı tabakalarda hiçbir morfolojik hasar oluşturmadığı histolojik olarak saptanmıştır. Ayrıca, bronş düz kasının depolarize olma ve kasılma ya da gevşeme yeteneğinin de değişmediği gözlenmiştir. Bu koşullar altında bronş düz kasının intrinsik özelliklerinin değişmediği kabul edilmektedir (1).

### B- EPİTELSİZLEŞTİRMENİN SONUÇLARI VE TÜRLERARASI FARKLILIKLAR

Epitelsizleştirmenin, izole solunum yolu preparatlarında kontraktıl maddelere verilen cevapları arttırdığı ilk kez Flavahan ve arkadaşları tarafından köpek bronşunda gösterilmiştir. Epitelsiz preparatlarda histamin (HA), asetilkolin (AK) ve 5-hidroksitriptaminin (5-HT) doz-cevap eğrileri, maksimum cevapları değişmeksizin sola kaymaktadır. İndometazin (siklo-oksijenaz inhibitörü)( $10^{-5}$ M) veya BAY G 6575 (lipoksijenaz inhibitörü) ( $10^{-5}$ M), AK'nın doz-cevap eğrisini değiştirmemektedir. Ancak, epitel-intakt preparatlarda indometazin AK'nın cevaplarını potansiyalize etmekte BAY G 6575 ise etkilememektedir. Önceden kastırılmış bronş halkalarında izoprenalinin (ISO), oluşturduğu gevşemeler ise epitel uzaklaştırıldıktan sonra anlamlı olarak azalmaktadır (1).

Sığır trakea düz kası şeritlerinde Barnes ve arkadaşlarının yaptığı bir

çalışmada ise epitelsizleştirmenin HA, 5-HT ve AK'nın hem maksimum cevabını arttırdığı hem de ED<sub>50</sub>'lerini değiştirdiği bulunmuştur. Ancak me-pakrin (fosfolipaz A<sub>2</sub> inhibitörü) AK'nın maksimum cevabını ve ED<sub>50</sub>'sini etkilememektedir. ISO ise tıpkı köpek bronş halkalarında olduğu gibi önceden kastırılmış sığır trakea şeritlerini epitel-intakt olduğu zaman anlamlı olarak daha fazla gevşetmektedir (2).

Görüldüğü gibi, köpek ve sığır solunum yolu epitelinin uzaklaştırılması ISO'nun gevşetici etkisini azaltmakta, kontraktıl maddelerin cevaplarını ise arttırmaktadır. Bu bulgular, epitelin bir inhibitör madde ya da maddeler salgıladığının kanıtı olarak kabul edilmiştir. Ancak solunum yolu düz kaslarının bronkodilatör maddelere verdiği cevaplarda epitelin uzaklaştırılmasının etkileri açısından türler arası farklılıklar vardır. Kobaylarda epitelin uzaklaştırılmasının 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 duyarlılığı arttırdığını göstermiştir. Lipoksijenaz inhibitörü ditiyotreytol ve siklooksijenaz inhibitörü indometazin ise epitel-intakt veya epiteli uzaklaştırılmış preparatlarda HA'nın doz-cevap eğrisini sola kaydıracağı 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). Başka bir çalışmada ise izole trakea şeritlerinde epitelin uzaklaştırılmasının, yalnızca ortamda uptake ve parçalanmayı inhibe eden maddeler bulunması halinde ISO ve adenozin duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir. Ekstranöronal uptake'i olmayan bir katekolamin olan salbutamole duyarlılığın ise epitelsizleştirmeden etkilenmediği de gözlenmiştir (4).

Barnes ve arkadaşları bir başka çalışmalarında eksojen ve endojen taşıkininlerin etkilerinin epitelsizleştirmeden sonra ne yönde değiştiğini incelemişlerdir. Epitelsiz preparatlarda taşıkininlerin etkileri potansiyalize edilmektedir. Ancak, siklooksijenaz ve metaloendopeptidaz birlikte inhibe edildiğinde de aynı derecede potansiyalizasyon söz konusudur. Araştırmacıların bu çalışmada ulaştıkları sonuç, taşıkininlerin epitelden inhibitör etkili prostanoidlerin salıverilmesine yolaçtıkları ve epitel tarafından sentezlenen enzimlerce parçalandıkları şeklindedir (30).

Goldie ve arkadaşları ise kobay trakea halkalarında AK, karbakol ve potasyumun potansiyelinin epitelin uzaklaştırılmasından sonra değişmediğini, oysa HA'nın potansiyelinin anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır. Gene epitelsiz ve karbakol ile önceden kastırılmış preparatlarda ISO'ya bağlı gevşemelerin kontrole göre % 33 oranında azaldığını, oysa teofilin, forskolin ve nitrogliserine bağlı gevşemelerin değişmediğini saptamışlardır (5).

İnsan solunum yolu preparatları dahil çeşitli türlerden izole edilen dokular ile yapılan çalışmalarda kontraktıl maddelere verilen cevaplar ço-

gunlukla 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- MEKANİZMA ÜZERİNE BAZI GÖRÜŞLER

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

I. Epitel, bazı gevşetici ve kastırıcı agonistlerin parçalanmasından ya da uptake'inden sorumlu olabilir. Kobay trakeasında ISO'ya verilen cevabın epitelin uzaklaştırılmasından sonra artması bu görüşü destekleyen bir bulgudur. Çünkü ekstranöronal uptake blokörü kortikosteronun ortamda bulunması halinde de gevşemeler, epitelsiz preparatlardakine benzer şekilde artmaktadır. Uptake'e uğramayan salbutamol'e verilen cevaplar ise epitelsizleştirmeden sonra değişmemektedir(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 eşittir. 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 difüzyon engeli oluşturduğudur. Epitelsizleştirme sonucu böyle bir difüzyon engelini 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 epitelden geçerek değil de doğrudan ulaşacağı için zaten difüzyon sorunu yoktur(1). Bir başka önemli bulgu da insan solunum yolu preparatlarında epitelsizleştirmenin verapamilin gevşetici etkisini azaltmasıdır (9).

Enzimatik yıkımda azalma veya pasif bir diffüzyon engelini 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 tonusunun, damar endoteli tarafından salıverilen endotel kökenli gevşetici faktör tarafından düzenlenmesine benzemektedir(11).

#### D- EPİTEL-KÖKENLİ GEVŞETİCİ FAKTÖRÜN BİYOSEYİ

Çeşitli biyosey çalışmaları epitelin bronş veya damar düz kasını gevşete-bilen ve difüze olabilen faktörler salgılayabildiğini göstermiştir. İlhan ve Şahin, solunum yolu epitelinin EDRF'ye benzer bir faktör salıverdiğini özel bir biyosey sistemi kullanarak göstermişlerdir. Bu çalışmalarda kobay trakeası kendi orijinal tüp şekli ile donör organ olarak kullanılmıştır. Test 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 ko-aksiyal 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 kasma koaksiyal sistemde 0.01, 0.1 ve 1 mM AK uygulandığında ise gevşemenin plato yapma süresi sıra ile  $8.0 \pm 1.2$ ,  $6.1 \pm 0.5$  ve  $6.0 \pm 1.2$  dakikadır. Bu deneylerde önceden kastırılmış test dokuları epitelsiz trakea içine takıldıktan sonra AK uygulandığında gevşeme oluşmamaktadır. Diğer yandan, AK'ya bağlı gevşemelerin indometazin, hidrokionon, metilen mavisi ve propranololden etkilenmediği saptanmıştır (14). Bu da epitel kökenli gevşetici faktörün bir siklooksijenaz ürünü olmadığını, yapıcı EDRF'ye benzemediğini ve olaya  $\beta$ -reseptörlerin katkısı bulunmadığını göstermektedir. Hay ve arkadaşları aynı koaksiyal sistemi kullanarak epitel kökenli gevşetici faktörün salınımı ile ilgili direkt bulgu sağlamışlardır(15). Bunlara karşın, Holroyde ve arkadaşları bir kaskad biyosey sistemi kullanarak, solunum yolu epitelinden herhangi bir inhibitör faktör salıverildiğini gösterememişlerdir(3). Son olarak, Fernandes ve arkadaşları, sıçan torasik aortunu kullanarak koaksiyal biyosey 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 yanısıra damar dışı bir düz kası da (sıçan anokoksigeus kası) gevşete-bilen, difüze olabilir faktörler salgılayabildiğini gösteren çeşitli biyosey çalışmaları vardır. An-

cak, bu eseylerde teknik sorunlar vardır ve sonuçlar EDRF'nın varlığını gösteren çalışmalar kadar tatmin edici değildir. Epitel kökenli gevşetici faktörlerin biyoeseisindeki güçlükler, büyük bir olasılıkla epitel hücrelerinin endotelin aksine, alttaki tabakalara doğru son derece polarize olması ve lümeneye doğru salınan faktör ya da faktörlerin mukus tarafından bağlanması veya inaktive edilmesi olasılığına dayanmaktadır. Ayrıca epitel kökenli gevşetici faktör ya da faktörlerin tatmin edici bir biyoeseiyi güçleştirecek şekilde EDRF'den daha kısa yarı ömre sahip olabileceği öne sürülmüştür(11).

#### E- EPİTEL KÖKENLİ GEVŞETİCİ FAKTÖRÜN ÖZELLİKLERİ

Solunum yolu epitelden salınan inhibitör mediyatörün yapısı bilinmemektedir. Arakidonik asit metabolitleri (özellikle PGE<sub>2</sub>) bronkodilatördür ve epitel bağımlı gevşemelere neden olduğu 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 salınan 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 sözkonusudur (18,20,21). Brunelleschi ve arkadaşları, trombosit aktive edici faktörün (4 µM) izole kobay trakea preparatlarını (HA, 5-HT veya lökotrien D<sub>4</sub> ile önceden kastırılmış) gevşettiğini göstermişlerdir (18). İndometazin veya aspirin bu etkiyi anlamlı olarak azaltmaktadırlar. Aynı preparatta epitelin uzaklaştırılması, trombosit aktive edici faktörün gevşetici etkisini engellemektedir. İzole kobay trakea preparatları HA ile kastırıldığında, PGE<sub>2</sub> salıverirler. HA ve trombosit aktive edici faktör varlığında, PGE<sub>2</sub>'nin düzeylerinde anlamlı bir artış kaydedilmiş ve indometazinin bu artışı engellediği görülmüştür. Bu deneylerde TXB<sub>2</sub> düzeylerinde hiçbir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Epitelin bulunmadığı preparatlarda HA'nın PGE<sub>2</sub> düzeylerini arttırmadığı da gösterilmiştir. Sonuçlar, trombosit aktive edici faktörün izole kobay solunum yolu preparatını epitel kökenli bir siklooksijenaz ürününün (büyük bir olasılıkla PGE<sub>2</sub>) salınmasına 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- EPİTEL KÖKENLİ GEVŞETİCİ FAKTÖRÜN FİZYOLOJİK 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, salıverilen 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 benzerlik kurulacak olursa, istirahat tonusundaki değişiklikler, büyük çaplı solunum yollarının 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 salıverilmesidir. Bu tip uyarıcıların en önemlisi ozmotik değişikliklerdir. Beta adrenerjik aktivasyonun da salıverilmeyi 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 salıverilmenin tersine, stimülasyona bağlı salıverilmenin küçük çaplı solunum yollarında daha belirgin olduğu bilinmektedir. Beta-adrenerjik 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 salıverilmesi ile bağlantılı beta adrenerjik reseptörlerin, beta adrenerjik agonistler ile yapılan aerosol tedavisinin etkinliğinden sorumlu olabileceğini öne sürmüşlerdir (5,22,23).

## G- EPİTELİN DÜZENLEYİCİ İŞLEVİNİN EKSİKLİĞİNİN SOLUNUM YOLUNUN AŞIRI CEVAPLILIĞINDAKİ OLASI ROLÜ

İntakt organizmada epitelden bazı gevşetici faktörlerin salıverilmesi sözkonusu 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 oluşturmakta kullanılan uyarıcılar, örneğin ozon, allerjen veya respiratuvar virüsler hem hayvanlarda 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 in vivo 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 olmadıkları 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 hücrelerinin 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. Pharmac.* 86:685-691, 1985.
3. Holroyde, M.C. The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. *Br. J. Pharmac.* 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. Pharmac.* 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. Pharmac.* 87:514, 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, S.J. Epithelium removal increases the activity of human isolated tracheal muscle to methacoline 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.
11. Vanhoutte, P.M. Epithelium-derived Relaxing Factor(s) and Bronchial Reactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.* 138: S24-S30, 1988.
  12. Devillier, P., Advenier, C., Drapeau, G., Marsac, J., Regoli, D. Comparison of the effect 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 E<sub>2</sub> 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., Fedan, 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  $\beta$ -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., Armor, 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.