

KARBAKOLÜN İZOLE KURBAĞA AKCİĞER ŞERİTLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

The Effect of Carbachol on the Frog Lung Tissue

Sühendan ADIGÜZEL

Çukurova Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Farmakoloji AbD
ADANA

İletişim:

Sühendan ADIGÜZEL
Refik Saydam Hıfızısıhha
Merkezi Başkanlığı
Zehir Araştırma Müd. 06100
Sıhhiye/ANKARA
Tel: 0 312 458 2192
Faks: 0312 458 2408
E-posta:
suhendan.adiguzel@rshn.gov.tr

ÖZET

Amaç: Karbakol vücutta asetilkolinin etkilerini gösteren parasempatomimetik etkili bir ilaçtır. Bu çalışmada kurbağa akciğer dokusunda (Bufo marinus) intrinsek tonus üzerine karbakolün tek doz ve kümülatif doz etkileri değerlendirilmiştir.

Yöntem: Karbakol kurbağa akciğer dokusuna 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M konsantrasyonlarında tek doz ve kümülatif doz teknikleri kullanılarak uygulandı. Tek doz uygulamalarında her bir konsantrasyon için 7 (Toplam 28), kümülatif doz uygulaması için ise 14 deney uygulaması yapıldı. Oluşan kasılma ve gevşemeler zamana bağlı olarak ölçüldü.

Bulgular: Tek doz karbakol uygulamalarında intrinsek tonus üzerinde ek bir kasılma geliştirdiği görüldü. Bu kasılma preparatların ringer solüsyonu ile yıkanmasını takiben ortadan kalktı. Kümülatif tekniğin uygulandığı deneylerde ise kasılmalarının doza bağımlı olarak azaldığı izlendi.

Sonuç: Karbakol, muskarinik etkiler yanında belirgin nikotinik etkiler de sergilediğinden belirli dokular üzerindeki etkisi karmaşıktır. Bu etkilerin ortaya çıkarılması sadece oftalmik preparat olarak kullanılmakta olan ilacın yeni tedavi alanlarında kullanılmasını sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: Karbakol, intrinsek tonus, kurbağa akciğer dokusu

ABSTRACT

Objective: Carbachol is a parasympathomimetic medicine which mimics the action of acetylcholine in the body. In this study, we studied on the effect of carbachol on intrinsic tone of the frog lung tissue.

Method: Carbachol was applied to the frog lung tissue at 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M concentrations by using single or cumulative dose techniques. Seven single dose experiments were conducted at each Carbachol concentration (total of 28). Fourteen experiments were conducted using cumulative dose technique in which the dose was gradually increased from 10^{-6} to 10^{-3} M. Isometric contractions and relaxations were observed and measured time-dependently during the experiments.

Results: In the experiments in which single dose technique was used, carbachol caused an additional contraction on intrinsic tone. The contraction disappeared after washing the tissue with Ringer solution. The contraction tended to decrease after reaching a maximum, especially at the highest drug doses. In the experiments in which cumulative dose technique was used, a dose-dependent decrease in contractions was observed.

Conclusion: Since Carbachol stimulates both nicotinic and muscarinic receptors, it has complicated effects on different tissues. If the mechanism of the drug could be explained it would be possible to use carbachol as a drug aside from ophthalmic purposes.

Key words: Carbachol, intrinsic tone, frog lung tissue

GİRİŞ

Karbakol (Karbamilkolin) belirgin muskarinik ve nikotonik etkinliği olan kolinestazaya karşı dayanıklı kolinomimetik bir maddedir (1). Karbakolün nikotinik etkileri asetilkolinin nikotinik etkilerine göre daha güçlüdür. Bu maddenin ilginç olarak tatlı su kurbağası akciğerinde gevşetici cevaplara neden olduğu ve bu etkinin non-adrenerjik/non-kolinerjik (NANC) sistem aracılığı ile gelişebileceği düşünülmüştür (2). Burada açığa çıkan mediyatörün bir peptid olabileceği tezi ileri sürülmüştür. Sinirsel yapılarda nikotonik reseptörlerin uyarılması sonucu inhibitör etkili bir aracı maddenin salınması suretiyle gevşemenin gelişmesi mümkündür.

Bu çalışmada, Karbakolün, Türkiye'de yetişen tatlı su kurbağası (*Bufo marinus*) akciğer dokusunda etkilerinin nasıl olduğu tek doz ve kümülatif doz uygulamaları ile araştırılmıştır. Karbakolün etkili olduğu reseptör türlerinin kesin olarak açığa çıkarılması parasempatomimetik sistemin mekanizmasını ortaya çıkarmada yararlı olabilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanı

Çalışmada ağırlıkları 20 ± 5 g olan tatlı su kurbağaları kullanılmıştır. Kurbağa, gazlı bez ile yakalanarak içinde eter emdirilmiş pamuk bulunan bir kavanoza konuldu ve uyutulmuştur. Makas ile gözlerin birleştiği çizginin arkasından kesilerek kurbağalar dekapite edilmiştir. Daha sonra, sırt ortasındaki vertebral kanala stile sokularak *medulla spinalis* harap edilmiştir(3).

Organ banyosu çalışmaları

Sağ ve sol akciğerler bütün olarak çıkarılmıştır. Akciğerler, Ringer solüsyonu (RS) (102.5 mM NaCl, 2.6 mM KCl, 1.8 mM CaCl₂, 1.19mM NaHCO₃ ve 2.77mM Glukoz) içerisine alınmıştır. Sağ ve sol akciğerlerden uzunlamasına şeritler (1,52 cm) çıkarılmıştır(3). Sıcaklığı 25 °C' de sabit tutulan organ banyosuna sürekli

oksijen verilmiştir. Hazırlanan preparatlara 0,5g tansiyon uygulanmıştır. Şeritlerin cevapları izotonik yazdırıcı aracılığıyla kimografa 8-10 kez büyütülerek kaydedilmiştir. Şeritler, Ringer solüsyonunda üç saat inkube edildikten sonra oluşan intrinsek tonus 10 dk kaydedilmiştir.

Karbakol uygulaması

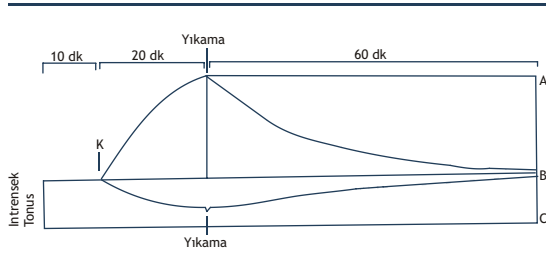
Karbakol, preparatlara tek doz va da kümülatif olarak uygulanmıştır. Tek doz uygulamalarda Karbakol preparatla 20 dk temas ettirilmiş ve elde edilen cevap kaydedilerek izlenmiştir. Daha sonra kimograf durdurularak şerit bir dakika Ringer solüsyonu ile yıkanmıştır. Preparatın tonusu 60 dk kaydedilmiştir.

Kümülatif uygulamalarda 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M konsantrasyonlarında hazırlanan karbakol kullanılmıştır. Her bir konsantrasyonun temas süresi 15 dk olacak şekilde kümülatif teknik kullanılarak ortama karbakol ilave edilmiştir. Elde edilen kasılma ve gevşemeler kaydedilmiştir.

Sonuçların değerlendirilmesi

Tek doz ve kümülatif doz uygulamalar ile elde edilen cevapların değerlendirilmesi için ayrı yöntemler kullanılmıştır. Tek doz uygulama süresince gelişen cevabın intrinsek tonusun üst sınırından çekilen çizgiye göre (Şekil 1-B) konumu göz önüne alınmıştır. Bu çizginin 1, 3, 5, 7, 9, 10, 13, 15, 17, 19 ve 20. dakikalara isabet eden noktalardan çizilen dikeylerin cevapla keştiği noktalardaki uzunluğu (mm) saptanarak oluşan cevabın niteliği ve seyri değerlendirilmiştir.

Tek doz uygulamasını takiben yıkama yapılmasını izleyen tonus düzelmesinin seyri organın cevabı kasılma tarzında ise yıkamanın başlangıcındaki kasılmanın üst sınırından geçirilen çizgiye göre (Şekil 1-A) konumu göz önüne alınarak ölçüm yapılmıştır. Gevşeme tarzında cevabın geliştiği durumlarda ise tonusun düzelmesi değerlendirilirken B çizgisine göre seyri değerlendirilmiştir. Burada 60 dk sürenin 1, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60. dakikalarının A veya B çizgisine isabet eden nok-



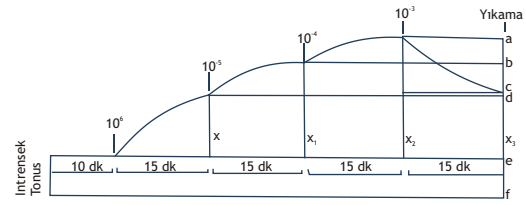
Şekil 1. Kurbağa akciğer dokusu üzerine tek doz uygulama ile oluşan cevapların değerlendirilmesinde kullanılan yöntemin açıklama diyagramı. Karbakol (K) uygulama noktası; Yıkama yapıldığı andaki kasılma boyundan çekilen çizgi (A); İntrensek tonusun üst sınırından çekilen çizgi (B)

talardan çizilen dikeylerin dokunun oluşturduğu çizgiyi kesen mesafeleri ölçülmüştür (Şekil 1).

Kümülatif doz tekniğinin kullanıldığı deney gruplarında ise her dozun 15. dakikasında oluşan cevabın intrensek tonusun üst sınırından geçen çizgiye göre olan (Şekil 2) mesafesi dikeylerin çizilip ölçülmesi suretiyle saptanmıştır. Bu dikeyler sırası ile X , X_1 , X_2 ve X_3 olarak belirlenmiştir. Ayrıca $X_1 - X$, $X_2 - X_1$ ve $X_3 - X_2$ değerleri saptanarak X değeri ile birlikte belirlenmiştir. Her konsantrasyonun kasılma tarzında (maksimum kasılma) cevapları +mm olarak ölçülmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda oluşan gevşemeler de (maksimum gevşemeler)-mm olarak belirlenmiştir. Kasılma olayı maksimum yaptıktan sonra inişe geçmişse veya doğrudan inişe geçme tarzında bir cevap gözlemlenmişse gevşemenin mevcut olduğu kabul edilmiştir. Kasılma olayını gevşeme izlemişse kasılmanın maksimumdan geçirilen hat ile X ekseninin en üst noktası arasındaki mesafe, mm gevşeme değeri olarak kabul edilmiştir.

İstatistiksel analiz

Ölçümlerde elde edilen değerler mm olarak ifade edilmiştir. Ölçüm sonuçlarının aritmetik ortalama (\bar{X}), standart sapma ($\mp SD$) ve standart hata ($\pm SE$) değerleri belirlenmiştir ve istatistiksel değerlendirmeler için *Students t* testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 2. Kurbağa akciğer dokusu üzerine kümülatif uygulama tekniği sonucu ile oluşan cevapların değerlendirilmesinde kullanılan yöntemin açıklama diyagramı. Her konsantrasyonun uygulama süresi 15 dakikadır. 10^6 M (d); 10^6 M (b); 10^5 M (a); 10^6 M (c) konsantrasyonlarında uygulanan ilaç ile temas süresinin sonunda oluşan tonusun bulunduğu noktalar. İntrensek tonusun üst sınırından çekilen çizgi (e). X , X_1 , X_2 ve X_3 : Farklı konsantrasyonlarda saptanan d, b, a, ve c noktaları ile intrensek tonüs arasındaki mesafe (mm).

BULGULAR

Kullanılan tüm kurbağa akciğer şeritleri üç saatlik dengeleşme süresi içinde yavaş gelişen ve kararlı duruma ulaşan belirgin bir tonüs (intrensek tonüs) kazanmıştır.

Karbakolün Etkisi

Tek doz tekniğinin uygulandığı deneylerde kullanılan bütün karbakol konsantrasyonları intrensek tonüs üzerinde ek bir kasılmaya neden olmuştur. Kasılma, uygulamanın 7. veya 9. dakikasında maksimuma ulaştı ve 20 dakikalık izleme süresince kararlılığını korumuştur (Tablo 1).

10^5 M (n=7) karbakol konsantrasyonunun neden olduğu maksimum kasılma, 10^6 M (n=7) karbakol konsantrasyonuna bağlı maksimum kasılma ile karşılaştırıldığında daha fazla, fakat 10^4 M (n=7) karbakol konsantrasyonlarının oluşturduğu maksimum kasılmalardan da daha büyük bulunmuştur. 10^5 M konsantrasyon ile 10^3 M (n=7) konsantrasyon arasında söz konusu parametre yönünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($P < 0.02$). İlaç uygulamasından sonra 20. dakikada preparatın kurbağa ringer solüsyonu ile yıkanması bir gevşemeye neden olmuştur. Bütün gruplarda, meydana gelen bu gevşemenin, bir saat içinde karbakol uygulamasından önceki tonüs düzeyine yaklaşık

olarak ulaştığı saptanmıştır (Tablo 2; Şekil 3, 4).

Kümülatif tekniğin uygulandığı 14 deneyin düzeneğinden elde edilen sonuçlar tek doz tekniğinin uygulandığı deney sonuçlarına benzer bulunmuştur. En düşük karbakol konsantrasyonunun (10^{-6} M) neden olduğu kasılma, diğer konsantrasyonların oluşturduğu kasılmalardan daha fazla olup (Şekil 4), başka bir deyişle kasılma doza bağımlı bir tarzda azalmıştır. Gevşeme şeklinde cevap veren şerit sayısı da doz ile orantılı olarak artmıştır. Bu tarz cevap veren şerit sayısı (10^{-6} M konsantrasyondaki karbakol için 7, 10^{-5} M için 10, 10^{-4} M için 13 ve 10^{-3} M için 14 olarak belirlenmiştir. X_1 - X , X_2 - X_1 ve X_3 - X_2 değerlerinin konsantrasyon arttıkça daha fazla negatif olduğu saptandı.

TARTIŞMA

Kurbağa akciğer şeritlerinde dengeleşme periyodu sırasında ortaya çıkan tonus artışı daha önce yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir (2, 4). Ancak, oluşan intrensek tonusun mekanizması konusunda, bir nörotransmitterin ortama salıverileceği ve bu maddenin akciğer dokusunun kontraktıl elementlerini etkilemek suretiyle tedricen gelişen bir tonus artışına neden olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür (3). Çalışmamızın preliminere deneylerinde, atropinli ortamda intrensek tonusun gelişmediğinin ve fizostigminli ortamda gelişen intrensek tonusun, anılan ilacın ortamdaki uzaklaştırılması ile azalması bu olguda kolinerjik mekanizmaların rolü olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan, intrensek tonusun gelişmesine katkıda bulunan bir başka mekanizma vasküler ve bron-

şiyal düz kası gevşetici etkinliğe sahip doğal bir mediyatör veya mediyatörlerin in vitro koşullarda kaybı ile ilgili olabilir. Bu nedenle, memelilerde epitel tabakasının ortadan kaldırılması ile havayolu düz kasının asetilkolin dahil çeşitli bronkokonstriktör maddelere verdiği kasılma tarzındaki cevapta bir artış olduğu bildirilmiştir (5).

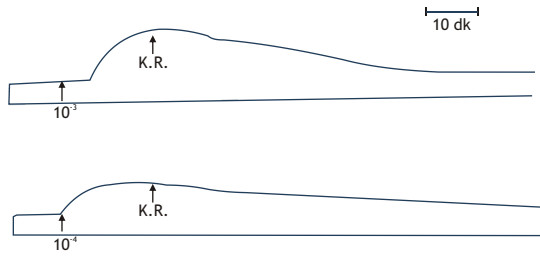
Kaskad veya ko-aksiyal bioassay sistemleri kullanılarak yapılan çalışmalar hava yolu epitelinden EDRF (epithelium-derived relaxing factor) olarak isimlendirilen, vasküler ve bronşiyal düz kasları gevşetebilen bir mediyatörün salıverildiğini göstermiştir (5). Söz konusu mediyatörün EDRF veya siklooksijenaz ürünü olmadığı ve etkisini purinerjik veya adrenerjik mekanizmalar aracılığı ile geliştirmedeği saptanmıştır (6). Çalışmamızda kullanılan preparatın, sıcak kanlı akciğer parankim şeritlerine benzer şekilde kan damarları, alveoler duktusların proksimalindeki yapılar ve alveoler kontraktıl dokular gibi en azından üç tür kontraktıl komponent içerdiği düşünülebilir (7). Böyle bir yapıda gevşetici mekanizmaların etkinliğinin azalması, dengenin kasıcı mekanizma lehine bozulmasına ve tonusta bir artışa neden olabilir. İntrensek tonusun geç gelişmesi bu görüşü desteklemektedir. Preparat üzerine karbakolün kasıcı etkisinin görülmesi beklenen bir durumdur. Ancak söz konusu ilacın kolinesteraza dayanıklı parasempatometik bir ajan olduğu iyi bilinmektedir (1). Köpek bronşiyal düz kasının kolinerjik stimulası verdiği kontraktıl cevapta ve kobay trakea düz kasında karbakole bağlı kasılmalardan başlıca M_2 tipi reseptörlerin sorumlu

Tablo 1. Tek doz karbakol uygulamalarında kasılmaların zamana göre seyri

Karbokol (M)	ZAMAN (dk)									
	1	3	5	7	9	12	16	18	20	
10^{-6} (n:7)	6.28±1.9**	6.28±1.8	13.2±1.8	14.1±1.8	14±1.8	14.3±1.9	14.3±1.9	14.3±2	14.3±2.2	
10^{-5} (n:7)*	8.71±1.6	16.6±2.6	18.57±2.4	19.42±2.4	19.42±2.4	19.6±2.4	19.6±2.4	19.3±2	19.14±2.4	
10^{-4} (n:7)	7.16±0.6	13.5±1.2	15.5±1.4	16.3±1.5	16.5±1.5	16.5±1.5	16.5±1.5	16.5±1.5	16.16±1.5	
10^{-3} (n:7)*	4.7±1.1	8.14±1.3	9.4±1.3	10.3±1.5	10.7±1.52	10.85±1.8	11±1.8	10.85±1.8	10.57±1.8	

*p<0,05

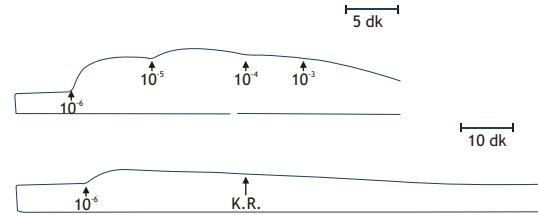
**±SE: Standart sapma



Şekil 3. Tek doz uygulanan karbakolün izole kurbağa akciğeri üzerindeki etkisi. 10^{-3} M ve 10^{-4} M (\uparrow) konsantrasyonlardaki karbakol uygulama noktası (\uparrow). 20 dakika izleme süresi sonunda kurbağa ringeri (K.R.) ile yıkama noktası (\uparrow)

olduğu bildirilmiştir (8,9). Çalışmamızda kullanılan doku için literatürde muskarinik reseptör subklasifikasyonu ile ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır.

Bununla birlikte Bufo türü kurbağa akciğeri dokusunda sitokimyasal yöntemler ile yapılan bir çalışmada %25 kolinerjik %25 adrenerjik ve %50 non-adrenerjik non-kolinerjik sinirlerin bulunduğu gösterilmiş olması bu yapıda muskarinik reseptörlerin varlığına dolaylı bir kanıt oluşturmaktadır (10). Bu durumda karbakole bağlı kasılmaların muskarinik reseptörler aracılığı ile geliştiği söylenebilir. Karbakolün 10^{-5} M konsantrasyondan daha yüksek konsantrasyonlarının kullanılması ile kasılma boyunda konsantrasyona bağımlı azalma gözlenmesi, söz konusu ilacın kasıcı mekanizmalara zıt yönde işlev gören başka mekanizmaları da tetikleyebileceğini düşündürmektedir. Karbakol, muskarinik etkiler yanında belirgin nikotinik etkiler de



Şekil 4. Kümülatif teknik ile uygulanan karbakolün 5 dakikalık zaman periyotları (üst şekil) izole kurbağa akciğeri üzerindeki etkisi. 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M ve 10^{-3} M (\uparrow) konsantrasyonlardaki karbakol uygulama noktaları (\uparrow). Tek doz uygulanan karbakolün 10 dakikalık zaman periyotları izole kurbağa akciğeri üzerindeki etkisi (alt şekil). 20 dakika izleme süresi sonunda kurbağa ringeri (K.R.) ile yıkama noktası (\uparrow).

sergilediği için belirli dokular üzerindeki etkileri kompleks hale gelmektedir (11). *Rana catesbiana* türü kurbağa akciğeri dokusunun kullanıldığı bir çalışmada 10^{-8} ile 10^{-5} M konsantrasyonlar arasında karbakolün doza bağımlı kasılmaya neden olduğu, daha yüksek konsantrasyonlarda değişik derecelerde gevşeme oluşturduğu ve bu nedenle söz konusu dokuda gevşetici etki için eşik konsantrasyonun 10^{-5} M olduğu bildirilmiştir (2). Aynı çalışmada karbakole bağlı gevşemenin non-kolinerjik; non-adrenerjik postganglionik sinirler aracılığı ile salıverilen inhibitör bir transmittere bağlı olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmadan da elde ettiğimiz sonuçlar bu görüşü desteklemektedir. Kümülatif tekniğin uygulandığı deneylerde net gevşemeler ortaya çıkmıştır. Kümülatif ilaç uygulamaları ile maksimum şekilde kasılan preparat gevşetici mekanizmalara daha duyarlı hale gelebileceğini düşündürmüştür.

Tablo 2. Tek doz karbakol uygulamalarında gevşemelerin zamana göre seyri

Karbokol (M)	ZAMAN (Dk)							
	1	10	20	30	40	50	60	
10^{-6}	2.14±0.82**	7.71±2.63	13.2±1.8	14.1±1.8	14±1.8	14.3±1.9	14.3±1.9	
10^{-5}	1.57±0.2	6±1.66	18.57±2.4	19.42±2.4	19.42±2.4	19.6±2.4	19.6±2.4	
10^{-4}	1.66±0.33	13.5±1.2	15.5±1.4	16.3±1.5	16.5±1.5	16.5±1.5	16.5±1.5	
10^{-3}	1.28±0.35	8.14±1.3	9.4±1.3	10.3±1.5	10.7±1.52	10.85±1.8	11±1.8	

** SE: Standart sapma

Diğer taraftan, memeli deney hayvanı kullanılmak suretiyle yürütülen çalışmaların sonuçları da bu bulgularımızı desteklemektedir. Kobay izole trakeasında non-kolinerjik, non-adrenerjik sinirlerin elektriksel olarak uyarılması ile gelişen gevşeme şeklindeki cevaba en azından kısmen nitrik oksidin katkısı olduğu gösterilmiştir (12, 13). Sığır trakeası epitelyumu çıkartılarak hazırlanan düz kas preparatında karbakolün cGMP düzeyini yükselttiği ve bu yükselmenin süperoksid anyonu oluşturan pyrogallol tarafından inhibe edildiği, son ajana bağlı inhibisyonun süperoksid dismutaz ile ortadan kaldırıldığı saptanmıştır (5). Aynı çalışmada karbakole bağlı cGMP düzeyindeki artışın N-metil, L-arginin ve N⁶ nitro-L-arginin tarafından inhibe edildiği ve bu antagonist etkinin ortama L-arginin ilavesi ile ortadan kalktığı gözlenmiştir. Ayrıca cGMP düzeyinde bir artışa neden olabilecek eşik karbakol konsantrasyonunun, trakeal düz kasın tonusunda artış oluşturabilecek konsantrasyonun 10.000 kat üzerinde olduğu da saptanmıştır. Çalışmamızda da özellikle yüksek konsantrasyonlarda gözlenen gevşeme tarzındaki cevaplar karbakolün non-kolinerjik non-adrenerjik sinirleri gangliyon düzeyinde stimüle etmesinden kaynaklanabilir.

Karbakol, muskarinik etkiler yanında belirgin nikotinik etkiler de göstermektedir. Dokular üzerindeki karmaşık etkilerinin ortaya çıkarılması günümüzde sadece oftalmik preparat olarak kullanılmakta olan ilacın yeni tedavi alanlarında kullanılmasını sağlayabilir.

TEŞEKKÜR

Değerli katkılarından dolayı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığından Parazitolog Dr. Ayşegül Taylan Özkan' a ve Vet. Hek. Özcan Özkan 'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR:

- 1.Kayaalp S.O., Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 3. cilt, 5. Baskı, Feryal Matbaası, Ankara, 1990.
- 2.Downes H., Taylor S.M., Distinctive pharmacological profile of a nonadrenergic inhibitory system in buulfrog lung. *Br.J.Pharmacol.* 1983; 78 : 339-351.
- 3.Öğülener N., Önder S., Atçı S., Göçmen C., Şirindirik E., Dikmen A., Baysal F., İzole kurbağa akciğer şeritleri ve izoprenalin. *Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi.* 1992.
- 4.Aksu F., Öğülener N., Baysal F., Önder S. İzole kurbağa akciğer şeritlerinde elektriksel olarak hasıl edilen gevşemelerde sempatik etkinliğin muhtemel katkısı ile ilgili bir çalışma. *Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi.* 1992 .
- 5.Sheng, H., Ishii, K., Murad, F., Generation of an endothelium-derived relaxing factor-like substance in bovine tracheal smooth-muscle. *American Journal of Physiology.* 1991; 260 L489 - L493.
- 6.Güç M.O., İlhan M., Kayaalp S.O., Epithelium-dependent relaxation of guinea-pig tracheal smooth muscle by carbacol. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1988 ; 294(1, 2) : 241-247.
- 7.Bertram, J.F, Goldie R.G, Papadimitriou J.M, Paterson J.W., Correlations between pharmacological responses and structure of human lung parenchyma strips. *Br.J.Pharmacol.* 1983; 80:107-114.
- 8.Güç M.O., İlhan M., Kayaalp S.O., Epithelium-dependent relaxation of guinea-pig tracheal smooth muscle by histamine: Evidence for non-H₁ and non-H₂ Histamine receptors. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1988; 296 (1, 2): 57-65.
- 9.O'rourke S.T., Flavahan N.A., Vanhout P.M., Characterization of muscarinic receptors in canine bronchial smooth muscle. *Europ J Pharmacol.* 1987; 140: 117-120.
- 10.Campbell G., Halles C.J., Rogers D.C., Fine structural and cytochemical study of innervation of smooth muscle in an amphibian (*Bufo marinus*) lung before and after denervation. *Cell Tissue Res.* 1978;194(3): 419-432.
- 11.Claque R.U., Eglen R.M., Strachan A.C., Whiting R.L, Action. of agonists and antagonists at muscarinic receptors present on. ileum and atria *in vitro.* *Br.J.Pharmacol.* 1985; 86(1):163-170.
- 12.Li C.G., Rand M.J., Evidence that part of the NANC relaxant. response of guinea-pig trachea to electrical field stimulation. is mediated by nitric oxide. *Br.J.Pharmacol.* 1991; 102 : 91-94.
- 13.Tucker JF, Brave SR, Charalambous L, Hobbs AJ, Gibson A., L-N-nitro arginine. inhibits non-adrenergic non-cholinergic relaxations of guinea-pig isolated tracheal smooth muscle. *Br.J.Pharmacol.* , 1990; 100: 663-664.