

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
Διευθυντής: Καθηγητής Π. Α. Μολυβδάς

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΑΣΗΣ ΗΡΕΜΙΑΣ ΣΤΗ ΣΥΣΠΑΣΗ ΤΩΝ
ΛΕΙΩΝ ΜΥΪΚΩΝ ΙΝΩΝ ΤΡΑΧΕΙΑΣ ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΓΕΝΩΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ
ΑΖΩΤΟΥ

ΕΥΡΙΠΙΔΗΣ Δ. ΠΡΑΝΤΣΟΥΔΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

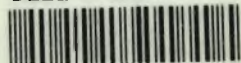
ΛΑΡΙΣΑ 2005

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 7821/1
Ημερ. Εισ.: 26-11-2009
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ
612.2
ΠΡΑ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083831

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
Διευθυντής: Καθηγητής Π. Α. Μολυβδάς

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΑΣΗΣ ΗΡΕΜΙΑΣ ΣΤΗ ΣΥΣΠΑΣΗ ΤΩΝ
ΛΕΙΩΝ ΜΥΪΚΩΝ ΙΝΩΝ ΤΡΑΧΕΙΑΣ ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΓΕΝΩΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ
ΑΖΩΤΟΥ**

**ΕΥΡΙΠΙΔΗΣ Δ. ΠΡΑΝΤΣΟΥΔΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2005

Στους καθηγητές μου

Π.Α. Μολυβδά και Κ.Ι. Γουργουλιάνη

με αγάπη, σεβασμό, εκτίμηση

και ευγνωμοσύνη

Στους γονείς μου

Στον αδερφό μου Κωστή

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Από τα φοιτητικά μου χρόνια στην Ιατρική σχολή, είχα αποφασίσει ότι αυτό που με ενδιαφέρει να κάνω ως γιατρός ήταν το κλινικό έργο, η μάχιμη ιατρική πράξη. Η βασική έρευνα δεν αποτελούσε προτεραιότητά μου και μάλιστα αισθανόμουν ότι θα περιόριζε την καθημερινή κλινική μου πράξη. Θεωρώ εξαιρετική τύχη και ιδιαίτερη χαρά και τιμή την γνωριμία μου με τον Καθηγητή Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη που μου έδωσε την ευκαιρία να αναθεωρήσω τα παραπάνω. Μέσα από την επαφή μου με την βασική έρευνα συνηδετοποίησα την γοητεία της, καθώς και το γεγονός ότι αποτελεί αλληλένδετο κομμάτι της κλινικής πράξης. Η εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου για την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής ήταν μεγάλη τιμή για μένα. Εκτός από καθηγητής μου, ήταν και ο φίλος που μου συμπαραστάθηκε σε στιγμές απογοήτευσης στο εργαστήριο. Η ανεκτίμητη διδασκαλία του έδωσε νέα μορφή στην επιστημονική μου σκέψη. Αισθάνομαι ευγνωμοσύνη, σεβασμό, αγάπη και βαθιά εκτίμηση για τον Καθηγητή Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη. Η γνώμη του θα είναι πάντα πολύτιμη για μένα.

Η λύπη μου για την αποχώρηση του από το εργαστήριο Φυσιολογίας, για να αναλάβει τα καθήκοντά του ως Διευθυντής της Πνευμονολογικής Κλινικής του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, λόγω της περιορισμένης πλέον συνεργασίας μας, γρήγορα μετατράπηκε σε χαρά. Αυτό οφείλεται στον Καθηγητή Πασχάλη-Αδάμ Μολυβδά, Διευθυντή του εργαστηρίου Φυσιολογίας, επιστημονικό υπεύθυνο της διατριβής αυτής, στον οποίο εκφράζω τις βαθιές και ειλικρινείς μου ευχαριστίες για την πολύτιμη όσο και καθοριστική βοήθεια που προσέφερε για την εκπόνηση της διατριβής. Η γνώση του, η υπομονή του, οι

συμβουλές του, οι πολύτιμες παρατηρήσεις του, η αμέριστη συμπαράστασή του και η μεγαλοψυχία του βοήθησαν στην ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ευτυχία Ασπροδίνη για την συμβολή της στην διόρθωση και παρουσίαση της διατριβής.

Επίσης ευχαριστώ από καρδιάς την Επίκουρη Καθηγήτρια του Εργαστηρίου Φυσιολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Αποστολία Χατζηευθυμίου, για την επιστημονική βοήθεια, για τις κριτικές παρατηρήσεις και τις συμβουλές της.

Η μελέτη αυτή δεν θα είχε ολοκληρωθεί χωρίς την συμβολή συνεργατών και φίλων. Τους αναφέρω εκφράζοντας τις ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου.

Ευχαριστώ,

τον κ. Ιωάννη Μακαντάση, τεχνικό του εργαστηρίου φυσιολογίας για την εξάαιρετη τεχνική του υποστήριξη.

τους φίλους Νεκταρία Αναστασίου, Βασιλική Σουφαράπη, Χρύσα Χατζόγλου, Έλενα Σουλούκου, Βασιλική Κουλουμέντα, Κωνσταντίνο Βογιατζίδη, και Σωτήρη Ζαρογιάννη για την συμπαράσταση και υποστήριξή τους.

τον Προϊστάμενο της Υγειονομικής Υπηρεσίας του Αρχηγείου Τακτικής Αεροπορίας, Σμήναρχο Υγειονομικού- Φυσιάτρο Ηλία Ζλατάνο, για την κατανόηση, την ηθική του συμπαράσταση και την αμέριστη βοήθειά του κατά την διάρκεια της στράτευσής μου.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Επιβλέπων: Πασχάλης-Αδάμ Μολυβδάς

Καθηγητής Φυσιολογίας

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

2. Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης

Καθηγητής Πνευμονολογίας

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

3. Ευτυχία Ασπροδίνη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Πασχάλης-Αδάμ Μολυβδάς

Καθηγητής Φυσιολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης

Καθηγητής Πνευμονολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νικόλαος Σταθάκης

Καθηγητής Παθολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Χατζηθεοφίλου

Καθηγητής Χειρουργικής, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ευτυχία Ασπροδίνη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σπυρίδων Ποταμιάνος

Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας-Γαστρεντερολογίας, Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Τεπετές

Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑ Ευριπίδης Δ. Πραντσούδης

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ Θεοτοκοπούλου 40-42
ΤΚ 41221
Λάρισα

ΤΗΛΕΦΩΝΟ 2410 233289
6974 661570

E-MAIL eprants@yahoo.gr

ΗΜΕΡ. ΓΕΝΝΗΣΗΣ 9 Μαΐου 1971

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ Λάρισα

ΣΠΟΥΔΕΣ

Ιούνιος 1989 Απολυτήριο 2^ο Γενικού Λυκείου Λάρισας
(Βαθμός 19 και 6/12)

Δεκέμβριος 1997 Πτυχίο Ιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου
Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.)
(Καλώς 6.35)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά First certificate in English,
Cambridge University

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

01/98 - 03/99 Αγροτικός Ιατρός - Περιφερειακό Ιατρείο
Μακρυχωρίου Λάρισας

| | |
|---------------|---|
| 04/00 – 11/01 | Ειδικευόμενος Ιατρός - Χειρουργική Κλινική Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας |
| 10/00 – 10/01 | Καθηγητής στο Ι.Ε.Κ Ε.Κ.Α.Β στη Λάρισα (μερική απασχόληση) |
| 11/01 –5/03 | Στρατεύσιμος Σμηνίας Ιατρός Αρχηγείο Τακτικής Αεροπορίας |
| 5/03-10/03 | Ειδικευόμενος Ιατρός - Χειρουργική Κλινική Γενικού Νοσοκομείου Ξάνθης |
| 01/04- σήμερα | Ειδικευόμενος Ιατρός -Παιδοχειρουργική Κλινική Α.Π.Θ Γ. Γεννηματάς |

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

| | |
|--------------|--|
| 01/99- 06/03 | Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Λάρισα |
|--------------|--|

ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Συγγραφή κεφαλαίου στο βιβλίο ΕΞΕΛΙΞΕΙΣ ΣΤΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ 2000

Σύνδρομο Κηλαϊδίτη: Ένα διαχρονικό χειρουργικό πρόβλημα. Κεφάλαιο 8.31

Σελ:318-320.Εκδόσεις Σύνεδρον Αθήνα 2001.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Ε. Ναούμ, Ε. Πραντσούδης, Ε. Πιτσαργιώτης, Μ. Καραμούτη. Σύνδρομο Κηλαϊδίτη: Ένα διαχρονικό χειρουργικό πρόβλημα. Γαληνός 44(5),528-533, 2002.

2. I. Κουτρούμπας, E. Πραντσούδης, I. Πράπας, X. Σάρρος, K. Γκουντής, Γ.Γεωργιάδης. Οξεία κοιλία από διάτρηση παχέος εντέρου. Ιατρικά Χρονικά, 27(5), 291-292, 2004

- 3.. A. Filippopoulos, X. Sinopidis, C. Kεperdis, G. Koutsoumis, E. Rammata, E. Prantsoudis, M. Svirkos, D. Anagnostopoulos. Multiple congenital anomalies. A case report. *Reprod Toxicol*, 18 (5): 725-726, 2004.

4. A. Hatziefthimiou, E. Karetsi, E. Pratsoudis, KI Gourgoulianis, PA Molyvdas. Resting tension effect on airway smooth muscle. The involvement of epithelium. *J Respir Physiol Neurobiol*, 145: 201-208, 2005.

5. E. Πραντσούδης, I. Κουτρούμπας, Π. Παπουλίδης, X. Σάρρος, Γ.Γεωργιάδης, Δ. Θεοδώρου. Μεμονωμένη κάκωση παγκρέατος σε κλειστές κακώσεις κοιλίας. *Τραύμα*, 2: 144-147, 2004.

6. E. Prantsoudis, G. Koutsoumis, E. Rammata, K. Farmakis, M. Mitroudi, K. Panagiotopoulou, M. Kokkoli, K. Kallergis, D. Anagnostopoulos. Nodular fasciitis presenting as an abdominal wall tumor. (In press, *Ped Surg Int*).

7. E. Prantsoudis, G. Koutsoumis, E. Rammata, K. Farmakis, M. Mitroudi, M. Kokkoli, K. Kallergis, D. Anagnostopoulos. Neonatal Peritonitis at the onset of Incontinentia Pigmenti. (In press, *Ped Surg Int*).

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Η αποτελεσματικότητα του ανταγωνιστή των υποδοχέων λευκοτριένης Zafirlukast στο ήπιο- μέτριο άσθμα. Ε. Πραντσούδης, Χ. Παστάκα. 14⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Βρογχολογικής Εταιρείας. Αθήνα, Απρίλιος 1998.
2. Η άμεση και η απότερη αλλεργική αντίδραση σε τμηματική βρογχοπνευμονική πρόκληση στο άσθμα. Ε. Πραντσούδης, Χ. Παστάκα. 14⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Βρογχολογικής Εταιρείας. Αθήνα, Απρίλιος 1998.
3. Σύνδρομο Κηλαϊδίτη: Ένα διαχρονικό χειρουργικό πρόβλημα. Ε. Πραντσούδης, Κ. Σκριάπας, Κ. Τασόπουλος, Χ. Σάρρος, Ε. Ναούμ. 22⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής. Αθήνα, Νοέμβριος 2000.
4. Οι κακώσεις των λαρυγγικών νεύρων στις θυρεοειδεκτομές. Ε. Πιτσαργιώτης, Μ. Καραμούτη, Ε. Πραντσούδης, Β. Λαχανάς, Γ. Γεωργιάδης, Γ. Πράπας, Ε. Ναούμ. 7⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων. Θεσσαλονίκη, Δεκέμβριος 2001.
5. Αποκατάσταση ομφαλοκήλης και μικρής κοιλιοκήλης με το διπλό πλέγμα. Α. Χιώτης, Γ. Γεωργίου, Α. Καμπούρης, Φ. Κωδωνάς, Ε. Πραντσούδης, Ι. Αγαθαγγέλου, Α. Δημόπουλος. 6⁰ Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος. Θεσσαλονίκη, Νοέμβριος 2003.
6. Ο ρόλος του επιθηλίου στην σύσπαση των λείων μυϊκών ινών τραχείας κουνελιού. Ε. Καρέτση, Ε. Πραντσούδης, Β. Κουλουμέντα, Α. Χατζηευθυμίου, Κ. Γουργουλιάνης, Π- Α. Μολυβδάς. 12⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος. Αθήνα, Δεκέμβριος 2003.
7. Η οξεία κοιλία σαν πρώτη κλινική εκδήλωση συστροφής ωοθηκών με κυστικό τεράτωμα. Γ. Κουτσούμης, Ξ. Σινοπίδης, Α. Ραμματά, Χ. Κεπερτής, Μ. Μητρούδη, Ε. Πραντσούδης, Α. Φιλιππόπουλος, Κ. Καλλέργης, Δ.

Αναγνωστόπουλος. 2^H Ημερίδα της Παιδοχειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος. Θεσσαλονίκη, Φεβρουάριος 2004.

8. Multiple congenital anomalies. A case report. A. Filippopoulos, X. Sinopidis, C. Kepertis, G. Koutsoumis, E. Rammata, E. Prantsoudis, M. Svirkos, D. Anagnostopoulos. 32ND Conference of the European Teratology Society. Thessaloniki, Greece, September 2004.

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

Απρίλιος 2003

Μετευκαιδευτικό Σεμινάριο Ανάνηψης (Pre Hospital Trauma Life Support) 251 Γ.Ν.Α (25 ώρες)

Απρίλιος 2003

Μετευκαιδευτικό Σεμινάριο Ανάνηψης (Advanced CardioPulmonary Life Support) 251 Γ.Ν.Α (25 ώρες)

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ-ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΩΝ

Φεβρουάριος 2003

«Ιατρική βασισμένη σε ενδείξεις» Παθολογικός Τομέας Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας (15 ώρες)

Οκτώβριος 2004

Seminar in Fetal and Neonatal Surgery
Bologna- Italy October 21- 23, 2004 (30 ώρες)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | <u>Σελ.</u> |
|--|-------------|
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 17 |
| ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 20 |
| ΛΕΙΟΙ ΜΥΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΤΟΛΗΣ ΚΑΙ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΟΥ ΛΕΙΟΥ ΜΥΪΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ | 21 |
| Λείοι μύες | 21 |
| Μηχανισμοί συστολής απλής ίνας | 22 |
| Λείο μυϊκό κύτταρο και ομοιόσταση ιόντων ασβεστίου | 23 |
| Η σύζευξη της διέγερσης με την συστολή στις λείες μυϊκές ίνες | 24 |
| Ρύθμιση της σύσπασης- χάλασης | 27 |
| Ο ρόλος των διαύλων ασβεστίου στο μηχανισμό σύσπασης- χάλασης | 29 |
| Ο ρόλος των ιόντων στο μηχανισμό σύσπασης- χάλασης | 30 |
| Ο μηχανισμός μάνταλο για συστολές λείων μυϊκών ινών με παρατεταμένο κράτημα | 30 |
| Μηχανισμός δράσης του φαινομένου μάνταλο | 31 |
| ΑΥΤΟΝΟΜΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ | 32 |
| Μηχανισμός δράσης Ακετυλοχολίνης στις λείες μυϊκές ίνες | 34 |
| Μηχανισμός δράσης Χλωριούχου καλίου στις λείες μυϊκές ίνες | 35 |
| ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ | 36 |
| ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ | 43 |
| ΕΠΙΘΗΛΙΟ ΤΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ | 45 |
| Ο ρόλος του ακέραιου επιθηλίου | 46 |

| | |
|---|----|
| NO ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ | 47 |
| Βιοσύνθεση του NO | 48 |
| Η συνθάση του NO | 50 |
| Μηχανισμοί δράσης του NO | 51 |
| Το NO και η δράση του στο αναπνευστικό σύστημα | 52 |
| ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ-1 ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ | 53 |
| Υποδοχείς ενδοθηλίνης-1 | 53 |
| Μηχανισμός δράσης ενδοθηλίνης-1 | 54 |
| Αλληλεπίδραση ενδοθηλίνης-1 και NO στους αεραγωγούς | 55 |
| ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΝΔΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ | 56 |
| Βιοσύνθεση προσταγλανδινών | 57 |
| Υποδοχείς προσταγλανδινών | 58 |
| Μηχανισμός δράσης προσταγλανδινών | 59 |
| Αλληλεπίδραση προσταγλανδινών και NO στους αεραγωγούς | 59 |
| Αναστολή της σύνθεσης των προστανοειδών | 60 |
| ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 61 |
| ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ | 62 |
| ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΙΣΤΟΥ | 63 |
| ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ | 64 |
| ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | 74 |
| Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών | |

| | |
|---|-----|
| της τραχείας ενήλικου κουνελιού | 74 |
| Η επίδραση του επιθηλίου στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών | |
| της τραχείας ενήλικου κουνελιού | 86 |
| Η επίδραση της ηλικίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών | |
| της τραχείας κουνελιού | 99 |
| | |
| ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 105 |
| | |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 113 |
| | |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 115 |
| | |
| SUMMARY | 117 |
| | |
| BIBLIOΓΡΑΦΙΑ | 119 |

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια φαίνεται ότι έχει εδραιωθεί η αντίληψη που θεωρούσε ότι η αρχική παθητική τάση που ασκείται σε κάποιο μυ είναι ένας σημαντικός παράγοντας για τον καθορισμό της ανταποκρισιμότητας των λείων μυϊκών ινών (ΛΜΙ) των αεραγωγών στην επίδραση συσπαστικών παραγόντων. Αυτή η αρχική παθητική τάση που ασκείται σε κάποιο μυ ονομάζεται τάση ηρεμίας του μυός και φαίνεται να εμπλέκεται στην παθογένεση των αποφρακτικών νόσων των αεραγωγών όπως στη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και το άσθμα (9,34,52,63,100,108). Η αρχική τάση ηρεμίας επηρεάζει το μήκος του ιστού και συνεπώς την ανάπτυξη ενεργού δύναμης καθώς και τον ενδογενή τόνο των ΛΜΙ (3,68,69,70,88,117).

Η διατήρηση του τόνου και του όγκου των αεραγωγών είναι μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες των ΛΜΙ. Οι ΛΜΙ αλλάζουν μήκος και φορτίο κατά τη διάρκεια της εισπνοής και της εκπνοής και οι μεταβολές του μήκους επηρεάζουν τη διάμετρο των αεραγωγών και συνεπώς τη ροή του αέρα προς τους πνεύμονες. Μελέτες αναφέρουν ότι η ανικανότητα των αεραγωγών να διαστέλλονται κατά την διάρκεια της εισπνοής μπορεί να είναι ένα πρωτογενές σύμπτωμα στο άσθμα. Μια βαθιά εισπνοή προκαλεί ελάττωση της αντίστασης των αεραγωγών σε φυσιολογικά άτομα, ενώ στους ασθματικούς ασθενείς παρατηρείται είτε καμία αλλαγή είτε μια ελαφρά αύξηση στην αντίσταση των αεραγωγών. Η παρουσία φυσιολογικής παλιρροιακής τάσης επιτρέπει στις ΛΜΙ των αεραγωγών να ανταποκριθούν φυσιολογικά στις βαθιές εισπνοές, αλλά η κατάργηση της παλιρροιακής τάσης στην λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα (FRC) μετά από πρόκληση με μεταχολίνη είναι ικανή να μετατρέψει την φυσιολογική ανταποκρισιμότητα της διαστολής στην βαθιά εισπνοή σε μια ανώμαλη σύσπαση (183,185). Πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι κατά τη διάρκεια της παλιρροιακής πράξης της αναπνοής κάποιου μυός που έχει

υποστεί παθητική διάταση, ταλαντώσεις επιβάλλονται συνεχώς στις ΛΜΙ των αεραγωγών, οι οποίες με τη σειρά τους υφίστανται βράχυνση και διάταση. Αλλαγές στην τάση όσο και στο μήκος του μυός παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της μηχανικής του (8,117). Βασικό ρόλο στην ενεργοποίηση της συστολής των ΛΜΙ των αεραγωγών κατέχει ο μηχανισμός των εγκαρσίων γεφυρών.

Διάφορες μελέτες σε πειραματικά μοντέλα έχουν προτείνει την ύπαρξη και άλλων μηχανισμών, όπως η ακαμψία και η διατασιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών (70) και μεταβολές στην ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca^{2+} (3,68). Η ρύθμιση των μορίων που σχετίζονται με την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών που προκαλούν σύσπαση είναι ένας ακόμα μηχανισμός (169,190).

Εκτός από τους παραπάνω μηχανισμούς που είναι εξαρτώμενοι από την μηχανική της δομής των λείων μυϊκών κυττάρων και εμπλέκονται στην ρύθμιση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ των αεραγωγών, το επιθήλιο είναι ένας ακόμα ρυθμιστής της ανταποκρισιμότητας των αεραγωγών. Σε ενήλικα κουνέλια το επιθήλιο ρυθμίζει τις συσπάσεις που προκαλούνται από ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ενώ δεν έχει καμία επίδραση σε συσπάσεις που προκαλούνται σε μικρότερη τάση ηρεμίας (63). Μεταξύ των βιολογικά ενεργών ουσιών που παράγονται ενδογενώς από το επιθήλιο περιλαμβάνονται οξείδιο του αζώτου (NO) (62), προϊόντα κυκλοξυγενάσης (75,151) και ενδοθηλίνη-1 (ET-1) (78). Η καταστροφή του επιθηλίου είναι ένα κοινό παθολογικό εύρημα σε ασθενείς με άσθμα και φαίνεται να σχετίζεται με την υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών (52). Πολλές μελέτες δείχνουν ότι αλλαγές στο μήκος ηρεμίας των λείων μυών είναι επίσης υπεύθυνες για την ανταποκρισιμότητα των αεραγωγών στο άσθμα (7,64,68). Τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών (141) καθώς και ο παρακείμενος χόνδρος (138) είναι ικανά να συνθέσουν προϊόντα κυκλοξυγενάσης. Τα τελευταία με την σειρά τους,

ρυθμίζουν την ανταποκρισιμότητα των αεραγωγών (που προκαλείται από την ασκούμενη τάση) άμεσα (55) ή έμμεσα επηρεάζοντας τον τόνο των ΛΜΙ των αεραγωγών (8,26). Η ενδοθηλίνη-1(ET-1) διαμορφώνει την ενεργητικότητα των λείων μυϊκών ινών των αεραγωγών (107) διαμέσου της ενεργοποίησης υποδοχέων ενδοθηλίνης A (ETA) και B (ETB) (22,25,168,189).

Σε πολλά είδη ζώων (133,136) συμπεριλαμβανομένων των κουνελιών (77) έχουν αναφερθεί μεταβολές που σχετίζονται με την ηλικία στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας. Στα κουνέλια υπάρχουν διαφορές στην κατασκευή του τοιχώματος των αεραγωγών ανάλογα με το στάδιο ωρίμανσή τους (172) καθώς και διαφορές στην μέγιστη ανταποκρισιμότητα των αεραγωγών κατά την διάρκεια παλιρροιακού αερισμού (103,155). Άλλες μελέτες που σχετίζονται με την ηλικιακή ωρίμανση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών έχουν δείξει διαφορές μετά από επίδραση μεταχολίνης στην αντίσταση του πνεύμονα και στην στένωση των αεραγωγών (171).

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να εξετάσει την επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο. Για τον σκοπό αυτό, στα πειράματα του χλωριούχου καλίου χρησιμοποιήθηκε ένας αναστολέας της απελευθέρωσης ακετυλοχολίνης, η ατροπίνη. Επιπρόσθετα εξετάστηκε η επίδραση της ηλικιακής ωρίμανσης στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο. Για τον λόγο αυτό η μελέτη έγινε σε τμήματα τραχείας δύο ομάδων κουνελιών, με κριτήριο την ηλικία (άνηθα και ενήλικα κουνέλια). Εξετάστηκε και η επίδραση του επιθηλίου των αεραγωγών, καθώς και η επίδραση της ενδογενούς παραγωγής NO, ενδοθηλίνης και προϊόντων κυκλοξυγενάσης.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΛΕΙΟΙ ΜΥΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΤΟΛΗΣ ΚΑΙ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΟΥ

ΛΕΙΟΥ ΜΥΪΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

ΛΕΙΟΙ ΜΥΕΣ

Δύο κοινά χαρακτηριστικά όλων των λείων μυών είναι η έλλειψη των γραμμώσεων που παρατηρούνται στις σκελετικές και καρδιακές ίνες (έτσι προκύπτει ο όρος λείος μυς) και η έλλειψη σωματικών νευρικών ιών αφού νευρώνονται από νεύρα του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Για τον λόγο αυτό ο λείος μυς δεν υπόκειται σε εθελούσιο έλεγχο (71).

Οι λείοι μύες αποτελούνται από πολύ μικρότερες μυϊκές ίνες (διάμετρος 2-5 μικρά και μήκος 20-500 μικρά) σε αντίθεση με τις μυϊκές ίνες των γραμμωτών μυών, οι οποίες είναι μέχρι και 20 φορές μεγαλύτερες όσον αφορά τη διάμετρό τους και χιλιάδες φορές μεγαλύτερες όσον αφορά το μήκος τους. Ωστόσο, οι βασικές αρχές της συστολής είναι ίδιες (178).

Οι λείοι μύες διακρίνονται σε πολυδύναμους και μονοδύναμους λείους μύες με βάση τα ηλεκτροφυσιολογικά χαρακτηριστικά της κυτταρικής μεμβράνης τους. Το σημαντικό γνώρισμα των πρώτων είναι ότι η κάθε ίνα μπορεί να συστέλλεται ανεξάρτητα από τις άλλες, η δε ρύθμισή τους γίνεται κυρίως με νευρικές ώσεις. Ο όρος μονοδύναμοι είναι παραπλανητικός γιατί δεν σημαίνει μεμονωμένες λείες μυϊκές ίνες. Αντίθετα, σημαίνει μια ολόκληρη μάζα από εκατοντάδες έως εκατομμύρια λείων μυϊκών ιών που το χαρακτηριστικό τους είναι ότι συστέλλονται όλες μαζί σαν μία μόνο μονάδα. Η κυτταρική τους μεμβράνη έχει την ικανότητα να μεταδίδει δυναμικά ενέργειας από το ένα κύτταρο στο άλλο μέσω χασματικών συνδέσεων και να εκπολώνεται αυθόρμητα. Οι χασματικές συνδέσεις διευκολύνουν την ελεύθερη διακίνηση ιόντων διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών των μονοδύναμων λείων μυών.

Η συγκέντρωση μυοσίνης στον λείο μυ είναι μόνο το ένα τρίτο ($1/3$) της μυοσίνης του γραμμωτού σκελετικού μυός ενώ η περιεκτικότητά του σε ακτίνη μπορεί να είναι δύο φορές μεγαλύτερη.

Η παρουσία ακτίνης και μυοσίνης, εγκαρσίων γεφυρών με αλληλοκάλυψη παχέων και λεπτών νηματίων και της σχέσης μήκους-δύναμης αποδεικνύουν ότι η συστολή στο λείο μυ επιτελείται από έναν μηχανισμό διολίσθησης νηματίων όμοιο με αυτόν που υπάρχει στο σκελετικό και καρδιακό μυ.

Το εύρος μήκους μέσα στο οποίο η παραγόμενη τάση είναι μέγιστη είναι μεγαλύτερο από το εύρος του σκελετικού μυός.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΤΟΛΗΣ ΑΠΛΗΣ ΙΝΑΣ

Η δύναμη που εξασκείται πάνω σε ένα αντικείμενο από έναν συστελλόμενο μυ ονομάζεται μυϊκή τάση. Η δύναμη που εξασκείται από το βάρος ενός αντικειμένου πάνω σε έναν μυ ονομάζεται φορτίο. Η τάση και το φορτίο είναι αντίθετες δυνάμεις. Αν η παραγωγή δύναμης οδηγεί σε μυϊκή βράχυνση ή όχι εξαρτάται από τη σχέση της τάσης με φορτίο.

Όταν ένας μυς αναπτύσσει τάση αλλά ούτε βραχύνεται ούτε επιμηκύνεται, η συστολή αυτή λέγεται ότι είναι στατική. Η αντίστοιχη συστολή μίας απομονωμένης ίνας ονομάζεται ισομετρική επειδή έχει σταθερό μήκος. Η ισομετρική συστολή κατά την οποία το φορτίο παραμένει σταθερό και ο μυς βραχύνεται λέγεται δυναμική ή ισοτονική.

Τα γεγονότα των σταδίων της συστολής είναι ίδια σε όλα τα είδη μυϊκής συστολής εκτός από το δεύτερο στάδιο. Σύμφωνα με αυτό, στην ισοτονική συστολή οι εγκάρσιες γέφυρες προσδεδεμένες στην ακτίνη κινούνται υπό γωνία, προκαλώντας βράχυνση των σαρκομερίων. Αντίθετα, κατά την ισομετρική συστολή, οι

προσδεμένες γέφυρες είναι αδύνατο να κινήσουν τα λεπτά νημάτια αφού το φορτίο είναι υψηλό αλλά εξασκούν δύναμη πάνω στα λεπτά νημάτια.

ΛΕΙΟ ΜΥΪΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΙ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ ΙΟΝΤΩΝ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Η σύσπαση του λείου μυϊκού κυττάρου είναι αποτέλεσμα της αύξησης στην ενδοκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων Ca^{2+} . Στην ηρεμία η ενδοκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων Ca^{2+} είναι μεταξύ 0,05 και 0,35 μM ενώ η εξωκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων Ca^{2+} είναι 1-2mM. Σε κατάσταση ηρεμίας παρατηρείται παθητική μετακίνηση ιόντων Ca^{2+} . Η μετακίνηση αυτή δεν μεταβάλλει ούτε την ενδοκυττάρια συγκέντρωσή του, ούτε την κατάσταση του κυττάρου (93).

Αύξηση στην ενδοκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων Ca^{2+} μπορεί να γίνει με δύο τρόπους: αφενός από μετακίνηση ιόντων Ca^{2+} από το εξωκυττάριο περιβάλλον και αφετέρου από τις ενδοκυττάρια αποθήκες του σαρκοπλασματικού δικτύου.

Το ασβέστιο που χρησιμοποιείται για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της σύσπασης εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα κατά την εκπόλωση της μεμβράνης μέσω της μηχανικής διάτασης ή τη διέγερσης από αγωνιστές. Έχουν αναγνωρισθεί δύο τύποι διαύλων ασβεστίου στη μεμβράνη των λείων μυϊκών ινών: οι διάλυλοι που ενεργοποιούνται από το δυναμικό της μεμβράνης ή τασεοεξαρτώμενοι διάλυλοι ασβεστίου και οι διάλυλοι που ενεργοποιούνται από τη σύνδεση κάποιου αγωνιστή με τη πρωτεΐνη του διαύλου (24).

Η μετακίνηση ιόντων Ca^{2+} από τις ενδοκυττάρια αποθήκες του σαρκοπλασματικού δικτύου γίνεται μέσω δύο σημαντικών διαύλων ασβεστίου στα μυϊκά κύτταρα. Οι διάλυλοι αυτοί είναι ο υποδοχέας της τριφωσφορικής ινοσιτόλης και ο υποδοχέας της ρυανοδίνης που μεσολαβούν για την απελευθέρωση του ασβεστίου (16).

Μετά τη σύσπαση ακολουθεί χάλαση και η ομοίωση του ασβεστίου επιτυγχάνεται με την εκ νέου είσοδο του ασβεστίου στις αποθήκες και την έξοδό του από το κύτταρο. Αυτές οι διαδικασίες επιτελούνται μέσω ειδικών μεταφορέων ασβεστίου και ιόντων που εδράζονται στην μεμβράνη και μεταφέροντας το ασβέστιο δημιουργούν διαφορά δυναμικού σε αυτή (150).

Η ΣΥΖΕΥΞΗ ΤΗΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΣΥΣΤΟΛΗ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ

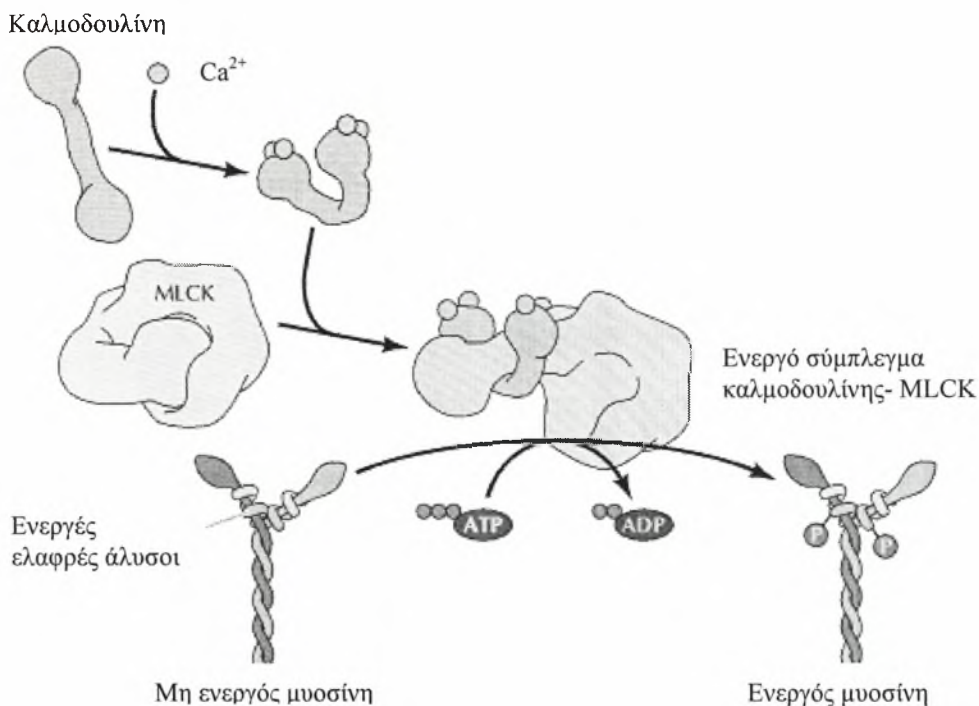
Η σύζευξη της διέγερσης με την συστολή στις λείες μυϊκές ίνες (ΛΜΙ) αποτελεί ένα αρκετά πολύπλοκο φαινόμενο. Αυτό οφείλεται κατά ένα μέρος στην εμπλοκή μεγάλης ποικιλίας νευροδιαβιβαστών, ορμονών, ιόντων, ιοντικών διαύλων, μεταβολιτών και της δραστηριότητας κυτταρικών σχηματισμών που βρίσκονται σε ανατομική και λειτουργική σχέση με τις ΛΜΙ στην διαδικασία της διέγερσης (132). Σε κάποιο βαθμό όμως οφείλεται τόσο στις ιδιαιτερότητες του συστήματος των δεύτερων αγγελιοφόρων όσο και στις ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει ο συσταλτικός μηχανισμός σε σχέση με τον συστολικό μηχανισμό των σκελετικών μυϊκών ινών (36).

Όπως ο σκελετικός, έτσι και ο λείος μυς χρησιμοποιεί για την διαδικασία της συστολής την κίνηση των εγκάρσιων γεφυρών μεταξύ των νηματίων ακτίνης και μυοσίνης για την παραγωγή τάσης. Η δραστηριότητα των νηματίων αυτών ελέγχεται από το σύμπλοκο ασβεστίου-καλμοδουλίνης. Σε κάποιο συγκεκριμένο μήκος η παραγόμενη τάση είναι μέγιστη. Το μήκος αυτό λέγεται βέλτιστο. Στους λείους μύες το εύρος μήκους μέσα στο οποίο μπορούν να παράγουν τάση είναι μεγαλύτερο από το εύρος των σκελετικών μυών. Η ιδιότητα αυτή τους προσδίδει υψηλή προσαρμοστικότητα αφού οι περισσότεροι λείοι μύες περιβάλλουν κοίλα όργανα τα οποία υπόκεινται σε αλλαγές όγκου προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο αλλαγές του μήκους των ινών του λείου μύος που βρίσκεται στα τοιχώματά τους. Μπορούν

δηλαδή να προσαρμόζονται στον όγκο του κοίλου οργάνου χωρίς να μεταβάλλεται αισθητά η ασκούμενη πίεση από τα τοιχώματά τους.

Στο κυτταρόπλασμα των ινών του λείου μυός υπάρχουν δύο είδη νηματίων: τα νημάτια της μυοσίνης και τα νημάτια της ακτίνης. Αυτά τα δύο είδη νηματίων δεν είναι οργανωμένα σε μυοϊνίδια, όπως στο γραμμωτό μυ και έτσι δεν υπάρχει κανονική ευθυγράμμιση αυτών των νηματίων σε σαρκομέριο, το οποίο προσδίδει το ραβδωτό σχέδιο στο μυοσκελετικό μυ. Η σύσπαση των ΛΜΙ επιτελείται μέσω ενός μηχανισμού ολίσθησης των νηματίων (60,64).

Ο κύκλος της εγκάρσιας γέφυρας στο λείο μυ ελέγχεται από ένα ένζυμο που η λειτουργία του εξαρτάται από την παρουσία του συμπλόκου ασβεστίου-καλμοδουλίνης και το οποίο επιφέρει φωσφορυλίωση στη μυοσίνη (Εικόνα 1). Μόνο η φωσφορυλιωμένη μυοσίνη των ΛΜΙ έχει την ικανότητα να προσδένει ακτίνη και να υπόκειται σε ανακύλιση εγκάρσιων γεφυρών.



Εικόνα 1. Σχηματική παράσταση της φωσφορυλίωσης της μυοσίνης παρουσία του συμπλόκου ασβεστίου-καλμοδουλίνης.

Η διαδικασία της συστολής περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο γίνεται πρόσδεση ουσιών (νευροδιαβιβαστές, ορμόνες) στους ειδικούς υποδοχείς στη μεμβράνη των λείων μυϊκών κυττάρων και με τον τρόπο αυτό ενεργοποιούνται διάφοροι τύποι G-πρωτεϊνών οι οποίες συνδέονται με διαύλους ιόντων και με ένζυμα και τροποποιούν τις δραστηριότητες τους. Στα ένζυμα αυτά περιλαμβάνονται η φωσφολιπάση C και η αδενυλική κυκλάση που μεταβολίζει το ATP και οδηγεί στην παραγωγή cAMP. Το σύστημα της αδενυλικής κυκλάσης συνδέεται με διεγερτικούς και ανασταλτικούς υποδοχείς οι οποίοι μεταδίδουν το σήμα μέσω δύο G πρωτεϊνών λόγω της ικανότητας τους να διεγείρουν ή να αναστέλλουν αντίστοιχα την αδενυλική κυκλάση (69).

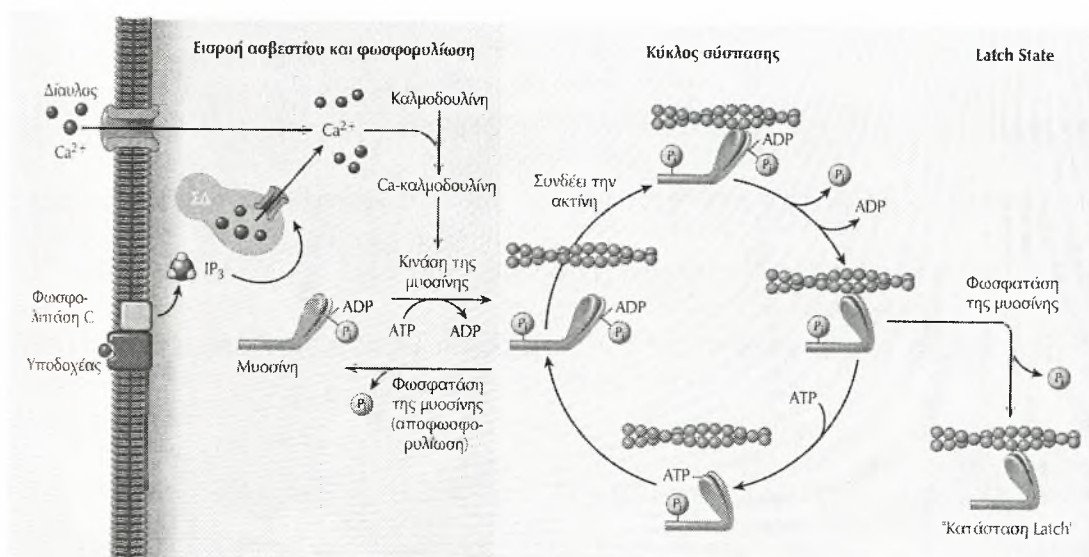
Στο δεύτερο στάδιο γίνονται αλλαγές στην ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου. Κατά τη διαδικασία της συστολής γίνεται απότομη αύξηση στην ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου. Με την αύξηση του κυτταροπλασματικού ασβεστίου στις ΛΜΙ σηματοδοτείται η έναρξη της συστολής. Η αλληλουχία των γεγονότων που παρατηρείται είναι η εξής (Εικόνα 2):

Αρχικά προσδένεται ασβέστιο στην καλμοδουλίνη. Η καλμοδουλίνη είναι μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στα περισσότερα κύτταρα και η δομή της σχετίζεται με τη δομή της τροπονίνης. Στη συνέχεια το σύμπλοκο καλμοδουλίνης-ασβεστίου προσδένεται στην κινάση των ελαφρών αλύσεων της μυοσίνης και την ενεργοποιεί. Η ενεργοποιημένη κινάση των ελαφρών αλύσεων της μυοσίνης καταναλώνει ATP για να φωσφορυλιώσει τις ελαφριές αλύσεις στη κεφαλή της μυοσίνης. Η φωσφορυλιωμένη εγκάρσια γέφυρα προσδένεται στην ακτίνη και ο μηχανισμός διολίσθησης τίθεται σε λειτουργία για την πρόκληση σύσπασης.

Οι φωσφορυλιωμένες ελαφριές αλυσίδες της μυοσίνης αποφωσφορυλιώνονται από τη φωσφατάση των ελαφρών αλύσεων της μυοσίνης και αυτό έχει σαν συνέπεια

την χάλαση. Η ισορροπία μεταξύ κινάσης και φωσφατάσης των ελαφρών αλύσεων της μυοσίνης μεταβάλλεται από την παρουσία δευτέρων αγγελιοφόρων όπως είναι το cAMP και το cGMP (86).

Όλοι οι παραπάνω μηχανισμοί χρησιμοποιούν ενέργεια που παράγεται κυρίως από την οξειδωτική φωσφορυλίωση που προμηθεύει ATP κυρίως στα συσταλά στοιχεία. Σε μικρότερο βαθμό χρησιμοποιείται ενέργεια από την αναερόβια γλυκόλυση που προμηθεύει ATP στις αντλίες ιόντων της μεμβράνης (80).



Εικόνα 2. Η σύζευξη της διέγερσης με την συστολή των λείων μυϊκών ινών (178).

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΠΑΣΗΣ-ΧΑΛΑΣΗΣ

Ο συντονισμός και η ρύθμιση των ενδοκυττάρων λειτουργιών εξαρτάται από σήματα που προέρχονται από το εξωκυττάριο περιβάλλον. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την κυτταρική λειτουργία με αυτόν τον τρόπο μπορεί να είναι νευροδιαβιβαστές, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες. Αυτοί οι παράγοντες συνδέονται με υποδοχείς της μεμβράνης και ή ενεργοποιούν διαύλους ιόντων ή κάποια ενζυμική οδό με αποτέλεσμα αλληλουχία βιοχημικών διαδικασιών που οδηγεί σε μεταβολή της κυτταρικής δραστηριότητας (10). Η μεταφορά ενός σήματος μπορεί

να γίνει με την δημιουργία ενός δεύτερου ενδοκυττάριου μεταβιβαστή ή με την φωσφορυλίωση του υποδοχέα.

Πολλές φορές η παραγωγή ενός δεύτερου αγγελιοφόρου κατά την σύνδεση μεταβιβαστή υποδοχέα είναι έμμεση και γίνεται με την παρεμβολή της G πρωτεΐνης, η οποία μπορεί να δρα επίσης και άμεσα σε διαύλους ιόντων (105).

Πολλοί μεταβιβαστές δρουν αυξάνοντας την παραγωγή του κυκλικού cAMP, το οποίο παράγεται από την αδενυλική κυκλάση. Η δραστηριότητα της τελευταίας επηρεάζεται από δύο G πρωτεΐνες. Το cAMP ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση με αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση πρωτεϊνών στόχων.

Το cGMP είναι ένας δεύτερος αγγελιοφόρος όπως και το cAMP. Από την παραγωγή του γίνεται φωσφορυλίωση του υποδοχέα και αποκλεισμός των διαύλων Ca^{2+} με συνέπεια την χάλαση των λείων μυϊκών κυττάρων. Η παραγωγή του cGMP ενεργοποιείται από την γουανυλοκυκλάση μέσω της ενεργοποίησής της από το NO (83).

Άλλος δεύτερος μεταβιβαστής που παράγεται από την υδρόλυση φωσφολιπιδίων είναι η τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) που παράγεται μετά την διάσπαση της φωσφατιδυλινοσιτόλης από την φωσφολιπάση A. Η IP3 συνδέεται με εξειδικευμένους υποδοχείς του ενδοπλασματικού δικτύου και προκαλεί την απελευθέρωση ιόντων Ca^{2+} από αυτό. Με τον τρόπο αυτό προκαλείται σύσπαση του λείου μυϊκού κυττάρου (47).

Ένα άλλο προϊόν της παραπάνω διάσπασης είναι η διακυλογλυκερόλη (DAG) η οποία ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C που αναστέλλει την έκλυση ιόντων από το σαρκοπλασματικό δίκτυο με αποτέλεσμα την χάλαση του λείου μυϊκού κυττάρου. Η πρωτεϊνική κινάση δρα ουσιαστικά μέσω της αναστολής των υποδοχέων της IP3 (46). Επίσης προκαλεί χάλαση μέσω της ενεργοποίησης της αντλίας Ca^{2+} -

ΑΤΡάσης η οποία προωθεί την έξοδο των ιόντων Ca^{2+} μέσω της αντλίας K^+ και μέσω της αναστολής των διαύλων Ca^{2+} . Η αναστολή αυτή αφορά κυρίως τα κανάλια L-τύπου (3,36,158).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΔΙΑΥΛΩΝ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΣΥΣΠΑΣΗΣ-ΧΑΛΑΣΗΣ

Η κυτταρική μεμβράνη πρέπει να διατηρεί σταθερό το δυναμικό ηρεμίας της και σημαντικό ρόλο στην λειτουργία της αυτή παίζει η μετακίνηση των ιόντων που γίνεται διαμέσου αυτής. Τα ιόντα διαπερνούν τη μεμβράνη με την βοήθεια καναλιών ή διαύλων. Τα κανάλια συμμετέχουν στη ρύθμιση πρωτεϊνών που ελέγχουν την ηλεκτρική δραστηριότητα κατά μήκος των κυτταρικών μεμβρανών (150).

Οι διαδικασίες σύσπασης-χάλασης όπως αναφέρθηκε επιτελούνται μέσω ειδικών μεταφορέων ασβεστίου και καναλιών ιόντων που εδράζονται στην μεμβράνη και μεταφέρουν το ασβέστιο (143). Έχουν αναγνωριστεί δύο υποτύποι διαύλων Ca^{2+} ανάλογα με τις ηλεκτροφυσιολογικές τους ιδιότητες. Τα τασεο-εξαρτώμενα L-τύπου κανάλια που ανοίγουν σαν απάντηση στην εκπόλωση του κυττάρου προκαλώντας είσοδο ιόντων Ca^{2+} στο κύτταρο και αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσής του. Τα κανάλια αυτά αναστέλονται από τις διυδροπυριδίνες (όπως νιφεδιπίνη, βεραπαμίλη) (143). Τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια παίζουν μεγαλύτερο ρόλο στην σύσπαση των ΛΜΙ των αγγείων παρά των αεραγωγών (98). Τα T-τύπου κανάλια ανοίγουν στην εκπόλωση του κυττάρου αλλά δεν επηρεάζονται από τις διυδροπυριδίνες (24,46,79). Υπάρχουν και διάυλοι Ca^{2+} που ανοίγουν όταν κάποια συσπαστική ουσία (ισταμίνη, ακετυλοχολίνη) αντιδράσει με τον ειδικό για αυτήν υποδοχέα που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη. Η είσοδος Ca^{2+} μέσω των

διαύλων αυτών είναι σημαντική για την επαναφόρτιση των ενδοκυττάρων αποθηκών Ca^{2+} (10,15,16,175).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΣΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΣΥΣΠΙΑΣΗΣ-ΧΑΛΑΣΗΣ

Τα κύτταρα των περισσότερων θηλαστικών διαθέτουν στις μεμβράνες τους αντλίες Na^+/K^+ . Η αντλία Na^+/K^+ που υπάρχει στο λείο μυϊκό κύτταρο λειτουργεί με αναλογία $3\text{Na}^+/2\text{K}^+$. Δηλαδή για κάθε 3 ιόντα Na^+ που οδηγεί έξω από το κύτταρο εισάγει 2 ιόντα K^+ στο κύτταρο. Η δραστηριότητα αυτή συμμετέχει στην διατήρηση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης και η απαιτούμενη ενέργεια αντλείται από την υδρόλυση του ATP (158).

Υπάρχει επίσης ένας μηχανισμός ανταλλαγής $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ και στα λεία μυϊκά κύτταρα όπου ανταλλάσσονται 3Na^+ με 1Ca^{2+} . Η κατεύθυνση μετακίνησης των ιόντων καθορίζεται από την διαφορά στη συγκέντρωση των ιόντων στις δύο πλευρές της μεμβράνης και από το δυναμικό της. Μέσω αυτού του μηχανισμού μεταφέρονται ιόντα ασβεστίου στο εξωκυττάριο περιβάλλον (93).

Όταν για κάποιο λόγο σταματήσει να λειτουργεί η αντλία Na^+/K^+ , αυξάνεται η ενδοκυττάρια συγκέντρωση Na^+ και τότε η αντλία $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ εξάγει Na^+ και εισάγει Ca^{2+} με αποτέλεσμα την αύξηση της συσταλτικότητας (36). Μελέτες σε ασθματικούς ασθενείς οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η δραστηριότητα της Na^+/K^+ ATPάσης ίσως να είναι ελαττωματική (1).

Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΜΑΝΤΑΛΟ ΓΙΑ ΣΥΣΤΟΛΕΣ ΛΕΙΩΝ ΜΥΩΝ ΜΕ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΟ ΚΡΑΤΗΜΑ

Όταν ο λείος μυς έχει αναπτύξει την πλήρη του συστολή, ο βαθμός ενεργοποίησής του μπορεί να ελαττώνεται πολύ κάτω από το αρχικό του επίπεδο και

παρόλα αυτά ο μυς να εξακολουθεί να διατηρεί την ολική δύναμη συστολής του. Η ενέργεια που καταναλώνεται για την διατήρηση της συστολής είναι πολύ μικρή σε σύγκριση με αυτή που απαιτείται για παρόμοια συνεχή συστολή σκελετικού μυός. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται μηχανισμός μάνταλου (178).

Η σημασία του μηχανισμού μάνταλου συνίσταται στο ότι με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατή η διατήρηση παρατεταμένης τονικής συστολής του λείου μυός για πολλές ώρες με ελάχιστη μόνο κατανάλωση ενέργειας. Επίσης, ελάχιστα μόνο διεγερτικά σήματα απαιτούνται από νευρικές ίνες ή ορμόνες.

Το αίτιο του μηχανισμού μάνταλου αναμφισβήτητα σχετίζεται με την μακρόχρονη προσήλωση των εγκαρσίων γεφυρών της μυοσίνης στα ινίδια της ακτίνης.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΜΑΝΤΑΛΟ

Όταν η κινάση και η φωσφατάση της μυοσίνης ενεργοποιηθούν έντονα, τότε η συχνότητα της ανακύκλησης των κεφαλών της μυοσίνης είναι πολύ μεγάλη και συνεπώς και η ταχύτητα της συστολής. Στη συνέχεια, όσο η ενεργοποίηση των ενζύμων περιορίζεται, η συχνότητα της ανακύκλησης ελαττώνεται. Παράλληλα όμως η ελαττωμένη ενεργοποίηση συντελεί στην ολοένα και μεγαλύτερη παράταση του χρόνου σύνδεσης των κεφαλών της μυοσίνης με τα ινίδια της ακτίνης, ώστε αυτός ο χρόνος να καταλαμβάνει όλο και μεγαλύτερο ποσοστό της περιόδου ανακύκλησης. Κατά συνέπεια, ο αριθμός των κεφαλών που συνδέονται με τα ινίδια της ακτίνης, σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή εξακολουθεί να είναι ακόμα πολύ μεγαλύτερος. Επειδή ο αριθμός των κεφαλών που είναι συνδεδεμένες με την ακτίνη είναι ο παράγοντας που καθορίζει την δύναμη της συστολής, διατηρείται ακόμα η τάση, δηλαδή εκδηλώνεται ο μηχανισμός του μάνταλου. Όμως, ελάχιστη ενέργεια καταναλώνεται

από τον μυ, γιατί ATP δεν διασπάται σε ADP, εκτός από την σπάνια περίπτωση της αποσύνδεσης κάποιας κεφαλής μυοσίνης από την ακτίνη (178).

ΑΥΤΟΝΟΜΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ

Οι αεραγωγοί νευρώνονται από το χολινεργικό σύστημα που ασκεί διεγερτική δράση, από το αδρενεργικό σύστημα που ασκεί ανασταλτική δράση και από το μη αδρενεργικό μη χολινεργικό σύστημα (NANC). Το μη αδρενεργικό μη χολινεργικό σύστημα έχει ανασταλτική δράση, η οποία φαίνεται να ρυθμίζει τον τόνο των αεραγωγών. Έχει περιγραφεί και διεγερτική δράση η οποία όμως φαίνεται να έχει ρόλο στη ρύθμιση της νεύρωσης στην φλεγμονή σε πειραματικά μοντέλα (184).

Η χολινεργική νεύρωση των ΛΜΙ (παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα) είναι το μόνο άμεσο αυτόνομο ρυθμιστικό σύστημα των μυϊκών ινών των βρόγχων. Τα χολινεργικά νεύρα είναι υπεύθυνα για τον βρογχόσπασμο. Το παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα νευρώνει τους αεραγωγούς με το πνευμονογαστρικό νεύρο, στα γάγγλια που βρίσκονται στο έσω τοίχωμα και η διέγερση των μεταγαγγλιακών ινών οδηγεί στην απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης. Η τελευταία με την σειρά της, δεσμεύεται από τους υποδοχείς της στα κύτταρα στόχους και προκαλεί σύσπαση των ΛΜΙ, έκκριση βλέννας και αύξηση της διαπερατότητας των αιμοφόρων αγγείων (126).

Υπάρχουν δύο υποτύποι των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης: οι νικοτινικοί που έχουν κύριο αγωνιστή την νικοτίνη και οι μουσκαρινικοί με κύριο αγωνιστή την μουσκαρίνη. Η ακετυλοχολίνη επιδρά στους νικοτινικούς και μουσκαρινικούς υποδοχείς, σαν αποτέλεσμα της δέσμευσής της στα κύτταρα στόχους.

Έχουν βρεθεί 5 υποτύποι μουσκαρινικών υποδοχέων (M1-M5) (37). Στην τραχεία εντοπίζονται σε μεγαλύτερο αριθμό στο κατώτερο τμήμα της (47) και

αποτελούν υποδοχείς που συνδέονται με G- πρωτεΐνες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση διαύλων ιόντων, είτε την επαγωγή δευτερογενούς μηνύματος και την κινητοποίηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου. Οι υποδοχείς που συνδέονται με G- πρωτεΐνες ρυθμίζουν τα επίπεδα του κυκλικού AMP (cAMP) και του κυκλικού GMP (cGMP) και την διαπερατότητα των ιοντικών διαύλων.

Στους πνεύμονες εντοπίζονται μουσκαρινικοί υποδοχείς M2 και M3 στις ΛΜΙ. Μουσκαρινικοί υποδοχείς M2 εντοπίζονται στις μεταγαγγλιακές ίνες του παρασυμπαθητικού που ρυθμίζουν τον τόνο των ΛΜΙ (17). Στο επιθήλιο των αεραγωγών εντοπίζονται μουσκαρινικοί υποδοχείς M1 και M3 (149) και στους αδένες M3 (53). Στα περισσότερα είδη ζώων υπάρχουν περισσότεροι M2 παρά M3 υποδοχείς (37). Αποτελούν το 50-80% των μουσκαρινικών υποδοχέων στους αεραγωγούς. Αυτό όμως εξαρτάται και από το είδος του ζώου (184). Η διέγερση των M2 υποδοχέων προκαλεί προσυναπτική αναστολή της έκκρισης ακετυλοχολίνης από τις μεταγαγγλιακές ίνες του παρασυμπαθητικού, μέσω ενός μηχανισμού αρνητικής επανατροφοδότησης εμποδίζοντας την περαιτέρω απελευθέρωση ακετυλοχολίνης (34,42,111). Άλλος ρόλος που αποδίδεται στους M2 υποδοχείς συσχετίζεται με την αναστολή της αδενυλοκυκλάσης μέσω σύνδεσης με ανασταλτική G-πρωτεΐνη (119). Παρόλο που οι M2 υποδοχείς δεν έχουν ουσιαστικό ρόλο στη σύσπαση των ΛΜΙ, φαίνεται ότι αναστέλλουν τη χάλαση των ΛΜΙ από β-αγωνιστές που απαιτούν ενεργοποίηση της αδενυλοκυκλάσης (136).

Αντίθετα οι M3 υποδοχείς έχουν άμεσο ρόλο στη σύσπαση των ΛΜΙ, καθότι η διέγερσή τους προκαλεί σύσπαση (118). Οι M3 υποδοχείς συνδέονται με την φωσφολιπάση C μέσω της ενεργοποιημένης G-πρωτεΐνης. Η ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης καταλύει τη δημιουργία της διακυλογλυκερόλης και της

τριφωσφορικής ινοσιτόλης καθώς και τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών μέσω της ενεργοποίησης πρωτεϊνικών κινασών (119).

Διέγερση του μη-αδρενεργικού μη-χολινεργικού συστήματος μέσω νευροδιαβιβαστών προκαλεί βρογχοδιαστολή. Τέτοιοι νευροδιαβιβαστές είναι το αγγειοδραστικό πολυπεπτίδιο του γαστρεντερικού (VIP) και το οξείδιο του αζώτου (NO) (11,12). Νευροδιαβιβαστές της διεγερτικής δράσης του μη-αδρενεργικού μη-χολινεργικού συστήματος είναι η ουσία P και η νευροκίνη A (91). Οι νικοτινικοί υποδοχείς NK2 εντοπίζονται στις ΛΜΙ των αεραγωγών (181).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΗΣ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ

Η ακετυλοχολίνη προκαλεί σύσπαση των ΛΜΙ μέσω ενεργοποίησης των μουσκαρινικών υποδοχέων. Η σύσπαση που προκαλεί είναι εξαρτώμενη της συγκέντρωσης της (73). Το ποσό του ασβεστίου που απελευθερώνεται σαν απάντηση των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη ακολουθεί ένα διφασικό πρότυπο: μια αιφνίδια αρχικά μεταβολή, η οποία ακολουθείται από περιοδικές μεταβολές. Οι περιοδικές μεταβολές εξαπλώνονται μέσα στις ΛΜΙ σαν κύματα ασβεστίου (13). Μπορούν να συμβούν και απουσία εξωκυτταρίου ασβεστίου για λίγο, αλλά στη συνέχεια σταματούν. Άρα το εξωκυττάριο ασβέστιο δεν είναι απαραίτητο για την άμεση αύξηση στη συγκέντρωση του ενδοκυτταρίου ασβεστίου μετά από την δράση της ακετυλοχολίνης. Είναι όμως απαραίτητο για την πλήρωση των ενδοκυττάρων αποθηκών και για την εξισορρόπηση της απώλειας ασβεστίου μέσω της μεμβράνης. Η επίδραση της ακετυλοχολίνης πάνω στις ΛΜΙ έχει ως αποτέλεσμα μια αρχική μικρή απελευθέρωση ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο μέσω υποδοχέων τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3) (16). Η ενεργοποίηση των IP3 υποδοχέων ρυθμίζεται από το κυτταροπλασματικό ασβέστιο και υπάρχει μια διφασική σχέση μεταξύ της

δυνατότητας διάνοιξης αυτών των διαύλων και της απελευθέρωσης ασβεστίου. Έτσι αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου έως τη συγκέντρωση των 300nM αυξάνει τη δραστικότητα της IP3 όσον αφορά στο άνοιγμα των διαύλων, αλλά υψηλότερες συγκεντρώσεις ελαττώνουν τη δραστικότητα των IP3 υποδοχέων. Έτσι υψηλά επίπεδα ενδοκυττάρου ασβεστίου οδηγούν σε αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση για την απελευθέρωση περισσότερου ασβεστίου (46).

Η απελευθέρωση ασβεστίου διαμεσολαβείται από διαύλους ασβεστίου μέσω υποδοχέων ρυανοδίνης, γιατί ενεργοποιείται ένα μη ειδικό ρεύμα κατιόντων, χωρίς να απαιτείται ενζυματική σύνθεση δευτερογενούς αγγελιοφόρου (175) Ταυτόχρονα γίνεται είσοδος εξωκυττάρου ασβεστίου για να αντισταθμιστεί η απώλεια ασβεστίου από το κύτταρο στον εξωκυττάριο χώρο (13).

Συμπερασματικά, η ακετυλοχολίνη δρα στους μουσκαρινικούς υποδοχείς και προκαλεί σύσπαση: α) μέσω της ενεργοποίησης του Ca^{2+} από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες β) μέσω της εισόδου Ca^{2+} από τον εξωκυττάριο χώρο ενεργοποιώντας διαύλους Ca^{2+} και γ) από την ενεργοποίηση υποδοχέων υπεύθυνων για τους διαύλους ασβεστίου στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης (90).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΚΑΛΙΟΥ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ

Το χλωριούχο κάλιο προκαλεί σύσπαση στις ΛΜΙ, δρώντας με διαφορετικό τρόπο από αυτόν της ακετυλοχολίνης. Η παραγόμενη σύσπαση εξαρτάται από την συγκέντρωση του (16). Η επίδραση του χλωριούχου καλίου γίνεται είτε μέσω εκπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης λόγω διάνοιξης των τασεο-εξαρτώμενων διαύλων ασβεστίου που εντοπίζονται πάνω στα λεία μυϊκά κύτταρα ενεργοποιώντας αντλίες Na^+/K^+ , με αποτέλεσμα την είσοδο ασβεστίου μέσα στο κύτταρο, είτε μέσω απελευθέρωσης ακετυλοχολίνης από μεταγαγγλιακούς νευρώνες (158). Ο τελευταίος

μηχανισμός δράσης του χλωριούχου καλίου φαίνεται να είναι ο σημαντικότερος στα κουνέλια (98).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ

Η διατήρηση του τόνου και του όγκου των αεραγωγών είναι μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες των ΛΜΙ. Κατά την διάρκεια του αναπνευστικού κύκλου συμβαίνουν μεταβολές στο μήκος των αεραγωγών. Οι ΛΜΙ βρίσκονται σε συνεχή διαδικασία εναλλαγής σύσπασης και χάλασης. Αυτές οι μεταβολές του μήκους επιφέρουν αλλαγές και στην τάση (ενεργή και παθητική) που ασκείται στους αεραγωγούς. Η αρχική παθητική τάση που ασκείται σε κάποιο μυ ονομάζεται τάση ηρεμίας του μυός και φαίνεται να εμπλέκεται στη παθογένεση των αποφρακτικών νόσων των αεραγωγών όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και το άσθμα (108,129,130,157).

Η τάση ηρεμίας που εφαρμόζεται αρχικά στις ΛΜΙ έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ αφού επηρεάζει τόσο το μήκος του ιστού όσο και την ανάπτυξη ενεργού τάσης η οποία αυξάνεται με το μήκος έως ότου να επιτευχθεί το βέλτιστο μήκος (67,69). Οι ΛΜΙ αλλάζουν μήκος και φορτίο κατά τη διάρκεια της εισπνοής και της εκπνοής και οι μεταβολές του μήκους επηρεάζουν τη διάμετρο των αεραγωγών και συνεπώς τη ροή του αέρα προς τους πνεύμονες. Αλλαγές τόσο στην τάση όσο και στο μήκος του μυός κατέχουν σημαντική θέση στη διαμόρφωση της μηχανικής του (47,63,64,88). Στην ενεργοποίηση της συστολής των ΛΜΙ των αεραγωγών βασικό ρόλο κατέχει ο μηχανισμός των εγκαρσίων γεφυρών. Διάφορες μελέτες σε πειραματικά μοντέλα πειραματόζωων, στην προσπάθειά τους να εξηγήσουν τις διεργασίες που υπόκεινται οι ΛΜΙ κατά την διάρκεια της συστολής έχουν προτείνει την ύπαρξη και άλλων μηχανισμών.

Η προσαρμοστικότητα του μήκους του μυ, φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα μίας δυναμικής διαμόρφωσης των συσπαστικών και των κυτταροσκελετικών ινιδίων του σε οργανωμένη δομή. Η δομή αυτή σε κυτταρικό επίπεδο προσαρμόζεται στις αλλαγές του σχήματός του κυττάρου σε διαφορετικά μήκη του μυός. Σε μακροσκοπικό επίπεδο οι ΛΜΙ έχουν την ικανότητα τόσο της ακαμψίας όσο και της διατασιμότητας (70). Οι ΛΜΙ είναι σημαντικά πιο άκαμπτες και λιγότερο διατάσιμες μετά από σύσπαση σε μικρό μήκος, συγκριτικά με σύσπαση σε μεγάλο μήκος, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη στενότερη επαφή των κυτταροσκελετικών στοιχείων τους (121).

Το μοντέλο της οργάνωσης των ινιδίων των ΛΜΙ των αεραγωγών, πιστεύεται ότι χαρακτηρίζεται από πλαστικότητα και μπορεί να διαπλαστεί ώστε να προσαρμοστεί στις αλλαγές του εξωτερικού φυσικού περιβάλλοντος (65).

Σημαντικό ρόλο στην κατανόηση των μεταβολών στην δομή των ΛΜΙ κατέχει η θεωρία της πλαστικότητας των λείων μυών. Αυτή περιγράφει την ικανότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών να βελτιώνουν την μηχανική τους απόδοση σε ένα δεδομένο μήκος του μυ (128). Αυτή η υπόθεση της πλαστικότητας στηρίζεται σε διάφορες μελέτες (66). Χαρακτηριστική είναι η παρατήρηση, ότι πριν από την ελάττωση του μήκους των λείων μυών κουνελιού με ενεργοποιημένους υποδοχείς, υπάρχει σημαντική ελάττωση της ισομετρικής δύναμης για το ίδιο μήκος του μυός (117). Οι Mehta et al, παρατήρησαν την μεγιστοποίηση της δύναμης που ασκείται στο μυ στο μήκος πριν από την συστολή του. Η μεγιστοποίηση της δύναμης που ασκείται σε συγκεκριμένο μήκος μυός επιτυγχάνεται χάρη στην αναδόμηση του, σε κυτταροσκελετικό επίπεδο. Η ισομετρική δύναμη που ασκείται στο λείο μυ είναι σταθερή και σχετικά ανεξάρτητη από το μήκος των λείων μυών των αεραγωγών.

Η σύνδεση του Ca^{2+} στις πρωτεΐνες που προκαλούν σύσπαση ή ρυθμίζουν τη διαδικασία της συστολής ελαττώνεται όταν το μήκος του μυ ή η ενεργός δύναμη που αναπτύσσεται σε αυτόν ελαττώνεται. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση του ενδοκυττάριου Ca^{2+} που είναι συνδεδεμένο με πρωτεΐνες στο κυτταρόπλασμα (3,68). Η άσκηση περιοδικής τάσης αυξάνει τα επίπεδα της τριφωσφορικής ινοσιτόλης και του ενδοκυττάριου ασβεστίου στα επιθηλιακά κύτταρα τραχείας αρουραίων (15,41).

Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca^{2+} ρυθμίζεται από το σαρκοπλασματικό δίκτυο και την κυτταρική μεμβράνη των ΛΜΙ των αεραγωγών. Για τον λόγο αυτό η συστολή του μυός που προκαλείται από την ελάττωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} μπορεί να εξηγηθεί από την ανισορροπία της ροής Ca^{2+} μόνο στο σαρκοπλασματικό δίκτυο ή την κυτταρική μεμβράνη ή και στα δύο.

Η συστολή του μυός μπορεί να ενεργοποιήσει Ca^{2+} του σαρκοπλασματικού δικτύου και αυτό έχει σαν συνέπεια την ελάττωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} . Ένας εναλλακτικός μηχανισμός υποστηρίζει ότι, η συστολή του μυός μπορεί να απενεργοποιήσει την ροή Ca^{2+} του σαρκοπλασματικού δικτύου και συνεπώς να ελαττωθεί η ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca^{2+} .

Η φωσφοριλίωση της μυοσίνης και η αντικατάσταση της φωσφατιδυλινοσιτόλης που επιτυγχάνεται χάρη στην ενεργοποίηση των μουσκαρινικών υποδοχέων, διαμορφώνεται από την μηχανική κατάσταση του λείου μυ (152). Παρόμοια αποτελέσματα έδειξαν και μελέτες με την χρήση ιντεγκρίνης, μίας κινάσης που σχετίζεται με την εστιακή προσκόλληση των πρωτεϊνών και της παξιλλίνης, που χρησιμοποιήθηκαν σαν μεσολαβητές της μηχανικής αναδιοργάνωσης στα λεία μυϊκά κύτταρα. Παρουσιάστηκαν μεταβολές στη δομή και την συσπαστικότητα των λείων μυϊκών κυττάρων διαμέσου της αναδιοργάνωσης του

σηματισμού της ακτίνης και μέσω της ρύθμισης των μορίων που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των πρωτεϊνών που προκαλούν σύσπαση (169).

Πάνω στις ΛΜΙ ασκούνται ελαστικές δυνάμεις από τους χόνδρους, το επιθήλιο στους μεγάλους αεραγωγούς, το πνευμονικό παρέγχυμα στους μικρούς αεραγωγούς και από τον συνδετικό ιστό. Επειδή οι ελαστικές δυνάμεις επαναφοράς αυξάνονται με τη βράχυνση των ΛΜΙ, η τάση που ασκείται πάνω στις ΛΜΙ των αεραγωγών δεν παραμένει σταθερή, αλλά αυξάνεται όσο ο μυς βραχύνεται. Συνεπώς η αύξηση του ελαστικού φορτίου οδηγεί σε ελάττωση της βράχυνσης και της ταχύτητας βράχυνσης, ενώ προκαλεί αύξηση στη τάση που αναπτύσσεται στις ΛΜΙ (106). Οι χόνδροι βάσει ανατομικής δομής, συμμετέχουν στην μηχανική του τοιχώματος των αεραγωγών και αποτελούν εμπόδιο στη στένωση τους. Η χονδρομαλάκυνση που προκαλείται μετά από χορήγηση παπαΐνης, αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των αεραγωγών στην ακετυλοχολίνη στα κουνέλια. Μεταβολή στην ποσότητα των χόνδρων έχει σαν συνέπεια στένωση των αεραγωγών.

Οι ΛΜΙ της τραχείας έχουν έναν ενδογενή τόνο, ο οποίος επηρεάζεται από το αρχικό μήκος του ιστού και αναστέλλεται από την παρουσία αναστολέα κυκλοξυγενάσης (7). Παρά το γεγονός ότι με την επίδραση της τάσης ο αριθμός των M3 υποδοχέων δεν μεταβάλλεται, παρατηρούνται μεταβολές στην ικανότητα του υποδοχέα να συνδέεται με αγωνιστές και στην αδυναμία της γουανυλικής κυκλάσης να ρυθμίσει την σύνδεση των αγωνιστών. Αυτές οι μεταβολές, θα μπορούσαν να ελαττώσουν την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ (157).

Ταλαντούμενες τάσεις και διατάσεις επιβάλλονται συνεχώς στους λείους μύες των αεραγωγών λόγω της παλιρροιακής πράξης της αναπνοής. Η δυναμική του φορτίου που ασκείται σε αυτούς είναι ένα χαρακτηριστικό κομμάτι της φυσιολογίας των λείων μυών. Τα αποτελέσματα των ταλαντούμενων φορτίων στους λείους μύες

των αεραγωγών έδειξαν ότι η επιβολή παλιρροιακών αλλαγών στο μήκος του μυ ελαττώνει την ενεργό δύναμη που ασκείται σε αυτόν (64,65,66). Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι οι επιβαλλόμενες ταλαντώσεις στο μήκος του μυ, προκαλούν βαθμιαία ελάττωση της δύναμης και της ακαμψίας του, που αναλογούν κυρίως στο σημείο που ασκείται τάση. Συγχρόνως προκαλούν αύξηση του ρυθμού χρησιμοποίησης του ATP και της υπερευαισθησίας του μυός. Το μήκος του μυ έχει σαν σημείο αναφοράς ένα σταθερό μέσο μήκος στο οποίο μπορούν να αναχθούν τα αποτελέσματα των μελετών. Η επιβαλλόμενη δύναμη των ταλαντώσεων προδιαθέτει τους λείους μύες των αεραγωγών σε διάταση. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται διατασιμότητα του μυ λόγω ταλάντωσης (103). Η δύναμη των ταλαντώσεων αναφέρεται σε μια σταθερή μέση δύναμη διάτασης.

Η παλιρροιακή πράξη της διάτασης του πνεύμονα διαμορφώνει την λειτουργία των λείων μυών με την θεωρία της μεταβολής της σύνδεσης της μυοσίνης. Σύμφωνα με αυτήν, η διάταση του πνεύμονα επιφέρει διάταση των ΛΜΙ των αεραγωγών σε κάθε αναπνοή. Αυτές οι μηχανικές περιοδικές διατάσεις μεταδίδονται στην κεφαλή της μυοσίνης και προκαλεί αποσύνδεσή της από τα ινίδια της ακτίνης. Η αποσύνδεση αυτή επέρχεται πολύ νωρίτερα από αυτή που θα γινόταν κατά τη διάρκεια μιας ισομετρικής σύσπασης. Αυτή η νωρίτερη αποσύνδεση ελαττώνει τον ρόλο του κύκλου της μυοσίνης κατά 20%, σε σχέση με αυτήν που προκύπτει στην ισομετρική σύσπαση, που είναι μια σταθερή κατάσταση. Με τον τρόπο αυτό ελαττώνεται και ο αριθμός των γεφυρών που προσκολλώνται και άρα και η ενεργός δύναμη. Συνεπώς ένα μικρό τμήμα της πλήρους ισομετρικής δύναμης του μυός μπορεί να αντέξει την στένωση των αεραγωγών, ακόμα και όταν ο μυς δέχεται την μέγιστη δύναμη. Σε μακροσκοπικό επίπεδο ο μυς χάνει την ακαμψία του και γίνεται περισσότερο γλοιώδης και το τελικό αποτέλεσμα είναι να μοιάζει με γλοιώδες υγρό.

Σε μοριακό επίπεδο αυτή η ρευστή κατάσταση ανταποκρίνεται στην διαταραχή της ισορροπίας της σύνδεσης της μυοσίνης. Η διαταραχή της ισορροπίας της σύνδεσης της μυοσίνης μπορεί να εξηγήσει την διατασιμότητα του μυ λόγω ταλάντωσης. Δεν μπορεί όμως να εξηγήσει την ανικανότητα του μυ να συστέλλεται όταν αίρονται οι συνθήκες των ταλαντούμενων φορτίων. Για τον λόγο αυτό η πλαστικότητα του μυός πρέπει να οφείλεται και σε άλλους μηχανισμούς.

Έχει παρατηρηθεί συστολή ΛΜΙ μετά από διάταση. Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου είναι αντιστρόφως ανάλογη με το μήκος του μυός (67). Η διάταση ανοίγει μηχανοευαίσθητους διαύλους ιόντων και οδηγεί τη μεμβράνη σε εκπόλωση.

Η δύναμη που αναπτύσσεται κατά την διάρκεια που ασκείται τάση στο μυ αυξάνεται όσο ελαττώνεται το μήκος, στο οποίο η αρχική ισομετρική σύσπαση λαμβάνει χώρα. Όσο ελαττώνεται η δύναμη και άρα η ενεργοποίηση του μυός ή αυξάνεται ο χρόνος της σύσπασης, αυξάνεται η ανασταλτική επίδραση της βράχυνσης του (68).

Η μοριακή οργάνωση και κατασκευή του μηχανισμού που προκαλεί σύσπαση στους λείους μύες στηρίζεται σε ένα μοντέλο παραγόμενης δύναμης, η οποία προέρχεται από την σύζευξη των παρακείμενων ινιδίων της ακτίνης με αυτά της μυοσίνης. Στους λείους μύες των αεραγωγών η ενεργοποίηση της ακτομυοσίνης αρχίζει με την φωσφορυλίωση της 20 kDa ελαφριάς αλύσου της μυοσίνης. Η τάση παράγεται από τα ινίδια που προκαλούν σύσπαση και μεταδίδεται σε όλο το κύτταρο μέσω ενός δικτύου ινιδίων ακτίνης που διατάσσονται σε πυκνές στοίβες στην κυτταρική μεμβράνη. Οι πρωτεΐνες που συνδέονται με την ακτίνη ή εδράζονται στα ινίδια της ακτίνης καθιζάνουν σε σημεία που μπορεί να συμμετέχουν στο καθορισμό του σχήματος του λείου μυϊκού κυττάρου και στην οργάνωση του συστήματος των

ινιδίων που προκαλούν σύσπαση. Αυτές οι πρωτεΐνες φαίνεται να συμμετέχουν στην ρύθμιση του μηχανισμού ενεργοποίησης των εγκαρσίων γεφυρών καθώς και στην διαμόρφωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης. Η ενεργός δύναμη που εξαρτάται από το μήκος του μυ και η πλαστικότητα της μηχανικής δομής των ΛΜΙ των αεραγωγών έχει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της ανταποκρισιμότητας των αεραγωγών κατά την διάρκεια των αλλαγών του όγκου των πνευμόνων in vivo. Η μοριακή βάση για την τάση που αναπτύσσεται και η οποία εξαρτάται από το μήκος του μυ, διαφέρει από αυτή των σκελετικών μυών και μπορεί να περιλαμβάνει μηχανισμούς που ρυθμίζουν την ενεργοποίηση των συσταλών ινιδίων και την οργάνωση του σκελετού του κυττάρου, σαν απάντηση στις αλλαγές του μήκους του μυ. Η αναδιοργάνωση των ινιδίων που προκαλούν σύσπαση επισημαίνει την σημασία της πλαστικότητας της μηχανικής ανταπόκρισης των λείων μυών των αεραγωγών (55).

Η βράχυνση των ΛΜΙ, όπως αναφέρθηκε, προκαλεί σύσπαση. Παράγοντες που επιδρούν στον βαθμό της σύσπασης εκτός από τη βράχυνση των ΛΜΙ, είναι η σύσταση του τοιχώματος των βρόγχων και η εξάρτηση των ΛΜΙ από το παρέγχυμα. Οι ΛΜΙ έχουν ενεργητικό ρόλο στην ανταποκρισιμότητα των αεραγωγών. Η δράση τους όμως επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες που ρυθμίζουν τη βράχυνση των ΛΜΙ (129, 130) και την ελάττωση του εύρους των αεραγωγών(100). Η δύναμη που αναπτύσσεται στις ΛΜΙ προκαλεί σύσπαση. Ο βαθμός της σύσπασης μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τις συνθήκες και τις ικανότητες των αεραγωγών. Ο βαθμός της σύσπασης των ΛΜΙ καθορίζεται από την σχέση δύο αντίθετων μεταξύ τους δυνάμεων. Η μία είναι η δύναμη που δημιουργούν οι ΛΜΙ και η άλλη, η δύναμη που ανθίσταται στη σύσπαση των ΛΜΙ (82, 83, 100, 139, 147). Η βράχυνση των ΛΜΙ εξαρτάται από τις παθητικές δυνάμεις που αναπτύσσονται στους αεραγωγούς και αντιτίθενται σε αυτήν. Παθητικές δυνάμεις είναι οι δυνάμεις συμπίεσης,

παραμόρφωσης και ελαστικής επαναφοράς. Έτσι όταν ο μυς βραχύνεται, οι μεταβολές που συμβαίνουν σε αυτόν οδηγούν στην ανάπτυξη παθητικών δυνάμεων που αντιστέκονται στην περαιτέρω σύσπαση (100, 123, 139). Οι παθητικές δυνάμεις αυτές καλούνται εσωτερικές αντιστάσεις και σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωσή τους κατέχουν μη συστατικά στοιχεία του μυ που του δίνουν ινοελαστικές ιδιότητες και συμπεριφέρονται κατά την διαδικασία της σύσπασης.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΙΣ ΛΕΙΪΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ

Η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ζωής. Σε πολλές μελέτες φαίνεται ότι τα ανώριμα ζώα εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιδραστικότητα στους αεραγωγούς (84,120,155,172). Υπάρχουν μελέτες όμως, όπου η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ αυξάνεται με την ηλικία (163) και κάποιες άλλες στις οποίες δεν μεταβάλλεται (123). Η ποικιλομορφία στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών σε σχέση με την ηλικία δεν έχει διευκρινιστεί.

Η διαφορετική ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ σε συνάρτηση με την ηλικία, μπορεί να οφείλεται σε λειτουργικές διαφορές των ΛΜΙ και σε διαφορές της δομής των αεραγωγών (110). Με την ωρίμανση, συμβαίνουν μεταβολές στους αεραγωγούς. Έτσι μεταβάλλεται το μέγεθος των αεραγωγών, η ποσότητα της μυϊκής τους μάζας και η αναλογία μυϊκών και μη μυϊκών στοιχείων τους (124). Επομένως οποιαδήποτε μεταβολή σε κάποιον από αυτούς τους παράγοντες, μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα και μεταβολή στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ μετά από επίδραση συσπαστικών παραγόντων (28,170).

Η ποσότητα των ΛΜΙ στο τοίχωμα των αεραγωγών είναι σημαντικός παράγοντας, γιατί περισσότερες ΛΜΙ θα οδηγούσαν σε μεγαλύτερη δύναμη που ασκείται σε αυτές και άρα σε μεγαλύτερη στένωση των αεραγωγών (152).

Μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν ότι δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές στην ποσότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών σε παιδιά και ενήλικες. Η μόνη διαφορά είναι ότι τα παιδιά έχουν λιγότερες ΛΜΙ στους μικρούς αεραγωγούς (121). Αντίθετα αποτελέσματα έδειξαν κάποιες άλλες μελέτες. Σύμφωνα με τους Ramchandani και συν, το μέσο εκατοστιαίο ποσοστό των ΛΜΙ στο βρογχικό δένδρο ήταν μεγαλύτερο στα άνηθα συγκριτικά με τα ενήλικα κουνέλια (139). Στους χοίρους ούτε η αναλογία των ΛΜΙ ούτε το μέγεθος των ΛΜΚ μεταβάλλεται με την ηλικία (173,185). Στα ινδικά χοιρίδια η ποσότητα των ΛΜΙ δεν μεταβάλλεται με την ηλικία (28).

Με την ηλικιακή ωρίμανση έχουν παρατηρηθεί μεταβολές και στην ποσότητα του χόνδρινου τμήματος των αεραγωγών, γεγονός που επηρεάζει την ευενδοτότητα και άρα το εύρος των αεραγωγών. Έχει περιγραφεί μικρότερη ποσότητα χόνδρου στους αεραγωγούς άνηθων σε σύγκριση με τα ενήλικα κουνέλια (81). Η μικρότερη ποσότητα χόνδρου μπορεί να επιφέρει μεγαλύτερη ευενδοτότητα στο τοίχωμα των αεραγωγών. Μελέτες σε διάφορα είδη ζώων και τον άνθρωπο έδειξαν ότι τα άνηθα ζώα έχουν πιο ευένδοτους αεραγωγούς (110, 133).

Με την ηλικιακή ωρίμανση φαίνεται ότι συμβαίνουν μεταβολές και στους μουσκαρινικούς υποδοχείς. Έτσι ελαττώνονται οι M2 υποδοχείς, αυξάνονται οι M1 ενώ δεν βρέθηκε διαφορά στους M3 υποδοχείς. Μελέτες όμως στους M3 υποδοχείς έδειξαν ότι μεταβάλλεται η ικανότητά τους να συνδέονται με αγωνιστές. Στα ενήλικα ζώα παρατηρήθηκε αδυναμία της γουανυλικής κυκλάσης να ρυθμίσει την σύνδεση των αγωνιστών. Αυτό συνηγορεί υπέρ της ελάττωσης της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ (116,171).

Μια σημαντική παράμετρος στην εκτίμηση της επίδρασης της ηλικίας στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ είναι και η διαφορετική ωριμότητα του αναπνευστικού συστήματος στα χρησιμοποιούμενα είδη πειραματόζωων. Τα κουνέλια έχουν πολύ λίγο αναπτυγμένο το αναπνευστικό τους σύστημα κατά την γέννησή τους (171).

Μελέτες που αφορούσαν την σχέση της ποσότητας των ΛΜΙ και του μεγέθους των αεραγωγών, δεν έδειξαν διαφορές σε άνηθα και ενήλικα κουνέλια (139). Παρά το γεγονός ότι το μέγεθος των αεραγωγών αυξάνεται με την ηλικιακή ωρίμανση, δεν μεταβάλλεται η ποσότητα της μυϊκής μάζας των ΛΜΙ, ούτε η αναλογία των μυϊκών και μη μυϊκών στοιχείων τους.

ΕΠΙΘΗΛΙΟ ΤΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ

Το επιθήλιο εκτός από τον προστατευτικό του ρόλο, είναι ρυθμιστικός παράγοντας της φλεγμονής, ασκώντας δράση μέσω διαφόρων ειδών κυττάρων και των μεταβιβαστών ουσιών που εκλύονται από αυτά. Εμπλέκεται ενεργά στην ρύθμιση του τόνου των ΛΜΙ των αεραγωγών, στην έκκριση βλέννας, στην μεταφορά ιόντων και στην αυτόνομη νευρική ρύθμιση των αεραγωγών καθώς και στον πολλαπλασιασμό και αύξηση των κυττάρων που συμμετέχουν στο τοίχωμα των αεραγωγών (49,61,76,144).

Το επιθήλιο των αεραγωγών αποτελείται από μια ποικιλία κυττάρων που χαρακτηρίζονται από ετερογένεια, στην οποία οφείλεται η πολυπλοκότητα των λειτουργιών του (151). Προστατεύει από την ερεθιστική δράση των αλλεργιογόνων. Συνθέτει ένα μεγάλο αριθμό ουσιών που αναστέλλουν τη βρογχοσύσπαση (167). Περιέχει αποδομητικά ένζυμα για έναν αριθμό πεπτιδίων και βιολογικών αμινών (131). Εκλύει ουσίες που προκαλούν αναστολή της σύσπασης των ΛΜΙ (61). Οι

ουσίες αυτές είναι γνωστές σαν παράγοντες χάλασης (EDRF). Τα επιθηλιακά κύτταρα είναι ικανά να παράγουν μια ποικιλία βιολογικά ενεργών ουσιών όπως οι μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, το οξειδίο του αζώτου (NO), οι ενδοθηλίνες, οι κυτοκίνες και οι παράγοντες ανάπτυξης (141). Εκτός από το οξειδίο του αζώτου και η προσταγλανδίνη PGE₂ είναι ουσία που παράγεται από το επιθήλιο και αναστρέφει την σύσπαση. Μέσω αυτών των δύο ουσιών, το επιθήλιο επιτυγχάνει την ρύθμιση της υπερουαισθησίας των αεραγωγών. Μελέτες σε τραχεία μοσχαριού όμως έδειξαν ότι το παραγόμενο NO και η προσταγλανδίνη που απελευθερώνονται από το επιθήλιο μετά από επίδραση ισταμίνης, δεν αναστρέφουν την σύσπαση (76). Το επιθήλιο παράγει και την προσταγλανδίνη PGF_{2α}, η οποία έχει συσπαστική δράση και ίσως εξουδετερώνει την δράση των βρογχοδιασταλτικών ουσιών (144). Όλοι αυτοί οι μεσολαβητές ρυθμίζουν τη λειτουργία των φλεγμονωδών κυττάρων, των ανοσοκυττάρων, των ΛΜΙ των αεραγωγών, των ΛΜΙ των αγγείων και των νευρικών κυττάρων. Συνεπώς, το επιθήλιο ασκεί ρυθμιστικό ρόλο στην λειτουργία των ΛΜΙ των αεραγωγών (151).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΚΕΡΑΙΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ

Το επιθήλιο που έχει καταστραφεί από φλεγμονή μετά από επίδραση ουσιών όπως η προσταγλανδίνη και τα λευκοτριένια συμμετέχει στην σύνθεση παραγόντων κυκλο-οξυγενάσης και της λιπο-οξυγενάσης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα αύξηση του τόνου των ΛΜΙ, ενώ επίσης προκαλεί την μετακίνηση ιόντων χλωρίου, αλλαγή στην ωσμωτικότητα των εκκρίσεων και δημιουργία παχύρρευστης βλέννας, η οποία περιορίζει περισσότερο το εύρος του αυλού των αεραγωγών (76, 141,160).

Η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου μεταβάλλει τη συσπαστικότητα και ελαττώνει την ικανότητα χάλασης των ΛΜΙ των αεραγωγών (52,129). Ο μηχανικός

ερεθισμός του επιθηλίου οδηγεί στην απελευθέρωση προστανοειδών (PGE₂ και PGF_{2α}) τα οποία επηρεάζουν την ένταση της σύσπασης (140).

Παρατηρήσεις σε επιθήλιο ασθματικών ασθενών δείχνουν μορφολογικές αλλαγές και καταστροφή του επιθηλίου. Φαίνεται λοιπόν ότι ο ρόλος του στην παθογένεια του βρογχικού άσθματος είναι καθοριστικός (45).

Το επιθήλιο που έχει υποστεί βλάβη, έχει την ικανότητα να επουλώνει το τραύμα του γρήγορα. Πρόσφατες μελέτες *in vivo* σε μοντέλα πειραματόζωων με περιορισμένης έκτασης καταστροφή του επιθηλίου έδειξαν, ότι άμεσα μετά τη βλάβη τα επιθηλιακά κύτταρα διαφοροποιούνται. Τα κύτταρα της γύρω περιοχής γίνονται επίπεδα και μεταναστεύουν σε ένα μεταβατικό-προσωρινό καλούπι, ώστε να σχηματίσουν ένα προστατευτικό στρώμα πάνω ακριβώς στο σημείο της βλάβης. Μέσα σε χρονικό διάστημα 24 ωρών το καινούργιο επιθηλιακό στρώμα επανανευρώνεται και τα κύτταρα παρουσιάζουν μιτωτική δραστηριότητα. Έτσι η καταστροφή του επιθηλίου και η αποκατάστασή του μπορεί να είναι ένα σημαντικό στοιχείο για την ανάπλαση των αεραγωγών (80).

Κατά τη διάρκεια των αναπνευστικών κινήσεων η διάμετρος των αεραγωγών μεταβάλλεται και αυτό έχει σαν συνέπεια να επηρεάζονται και τα επιθηλιακά κύτταρα. Η διάταση του επιθηλίου αναστέλλει την σύνθεση των προστανοειδών μέσω απενεργοποίησης της κυκλοξυγενάσης (122).

NO ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ

Το οξείδιο του αζώτου (NO) είναι ένα από τα μικρότερα μόρια που βρίσκονται στη φύση και αποτελείται από ένα άτομο αζώτου και ένα άτομο οξυγόνου. Παρουσιάζει ενδιαφέρον για τις ιδιότητες που έχει. Έτσι μπορεί να

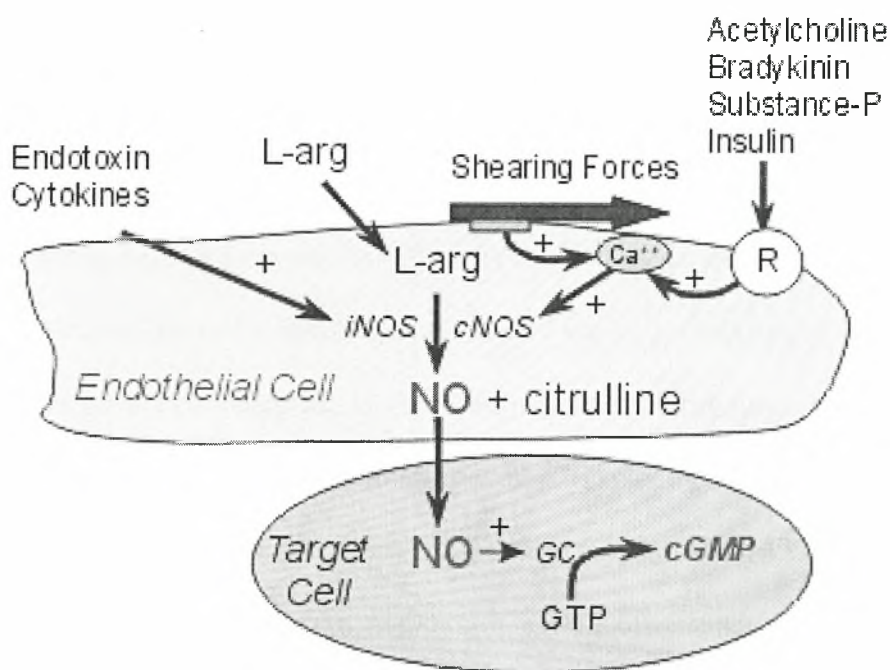
συντίθεται σε διαφορετικά κύτταρα τα οποία ελέγχονται ή επηρεάζονται από διαφορετικά προϊόντα. Η συνθάση του NO, το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την σύνθεση του NO, βρίσκεται μόνο στα κύτταρα των θηλαστικών. Το NO μπορεί να διαχέεται ελεύθερα μέσω των κυτταρικών μεμβρανών επιτυγχάνοντας έναν νέο τρόπο επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων (9,59,86).

Αξιοσημείωτο είναι ότι το μόριο του NO μπορεί να συμμετέχει σε φυσιολογικά γεγονότα παράλληλα όμως και να είναι εξαιρετικά τοξικό. Αντιδρά με οξυγόνο, υπεροξειδία και μέταλλα. Οι κύριες ιδιότητες του NO είναι η ανοσοκυτταροτοξική, η νευροδιαβιβαστική καθώς και η ρύθμιση του τόνου των ΛΜΙ (84). Ρυθμίζει πολλές βιολογικές λειτουργίες, όπως την ροή του αίματος, τη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων και την νευρομεταβίβαση στο μη αδρενεργικό μη χολινεργικό σύστημα (NANC). Το NO είναι αυξημένο σε φλεγμονώδεις παθήσεις του αναπνευστικού (1). Κατέχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας του αναπνευστικού συστήματος και των παθήσεων του (10,43,83).

Βιοσύνθεση του NO

Στους αεραγωγούς το NO παράγεται από πληθώρα κυττάρων όπως: τα επιθηλιακά, τα φλεγμονώδη (μακροφάγα, ουδετερόφιλα και μαστοκύτταρα), τα νευρικά, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων (9). Το NO παράγεται από την οξείδωση του αμινοξέος L-αργινίνη. Η L-αργινίνη μετατρέπεται σε NO και κιτρουλλίνη μέσω της συνθάσης του NO (NOS) (92). Η αργινίνη είναι το μόνο φυσικό αμινοξύ που μπορεί να αποδώσει NO. Για την σύνθεση του NO απαραίτητη είναι η παρουσία οξυγόνου και NADPH που μετατρέπει την L-αργινίνη σε N-υδροξυ-L-αργινίνη (Εικόνα 3). Το NO που παράγεται στο επιθήλιο από την L-αργινίνη,

γρήγορα οξειδώνεται σε διοξείδιο του αζώτου, νιτρικά και νιτρώδη τα οποία απεκκρίνονται μέσω των νεφρών (99).



Εικόνα 3. Βιοσύνθεση του NO και μηχανισμός δράσης του.

Στο αίμα το NO απενεργοποιείται συνδεδεμένο με την αιμοσφαιρίνη παράγοντας την μεθαιμοσφαιρίνη, η οποία περιορίζει την αγγειοδιασταλτική δράση του NO στα αγγεία και μειώνει την ικανότητα απόδοσης οξυγόνου στους ιστούς. Το εισπνεόμενο NO είναι διαστολέας της πνευμονικής κυκλοφορίας και διαχέεται ελεύθερα από τους αεραγωγούς και τα βρογχιόλια στο πνευμονικό παρέγχυμα (86).

Η ενδογενής παραγωγή του NO μπορεί να ανασταλεί από ουσίες όπως είναι τα ανάλογα της L-αργινίνης. Πιθανόν οι ουσίες αυτές να λειτουργούν σαν μουσκαρινικοί

χολινεργικοί ανταγωνιστές των υποδοχέων. Ορισμένα από τα ανάλογα της L-αργινίνης αναστέλλουν την παραγωγή του NO στο ενδοθήλιο (43,137).

Η συνθάση του NO

Η συνθάση του NO έχει τρεις ισότυπους: τον ενδοθηλιακό τύπο (e-NOS ή NOS-III), το νευρωνικό τύπο (nNOS ή NOS-I) και τον επαγωγίμο τύπο (iNOS ή NOS-II). Στους αεραγωγούς η eNOS εντοπίζεται στο ενδοθήλιο των αγγείων και στα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών και έχει εφαρμογή στην χάλαση των AMI, με κύρια λειτουργία την ανοσοκυτταροτοξική (38). Η nNOS εντοπίζεται στους νευρώνες και συντελεί στη μη-αδρενεργική μη-χολινεργική χάλαση με κύρια λειτουργία την νευροδιαβιβαστική. Πάντως η nNOS έχει εντοπιστεί και σε μη νευρικά κύτταρα και η eNOS έχει ανιχνευθεί σε νευρώνες. Η iNOS διεγείρεται από την ιντερλευκίνη-1 (IL-1), την ιντερφερόνη γ (INF- γ) και τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF) ενώ τα κορτικοστεροειδή (IL-4 και IL-10) καταστέλλουν την έκκριση της iNOS (44).

Τελευταία ανακαλύφθηκε και μια ακόμη μορφή συνθάσης, η μιτοχονδριακή (mtNOS) που ευθύνεται για την παραγωγή NO από τα μιτοχόνδρια (34,81).

Υπάρχει και ένας άλλος διαχωρισμός της συνθάσης του NO (για λειτουργικούς λόγους) σε δύο μορφές: την δομική (constitutive-cNOS) και την επαγωγίμη (inducible-iNOS) (44). Η cNOS εξαρτάται από την συγκέντρωση ιόντων Ca^{2+} και καλμοδουλίνης για την ενεργοποίησή της. Αντίθετα η iNOS είναι ανεξάρτητη από την συγκέντρωση ιόντων Ca^{2+} και καλμοδουλίνης. Η cNOS εντοπίζεται στα αιμοπετάλια, στα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η cNOS εντοπίζεται ακόμη και στα μακροφάγα όπου η έκκριση και ενεργοποίησή της διεγείρεται από κυτοκίνες και ενδοτοξίνες. Η iNOS εντοπίζεται στα μακροφάγα, επιθηλιακά, ενδοθηλιακά, λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και ουδετερόφιλα (99).

Μηχανισμοί δράσης του NO

Το NO, όπως έχει αναφερθεί, μπορεί να συμμετέχει σε φυσιολογικά γεγονότα παράλληλα όμως και να είναι εξαιρετικά τοξικό. Δεν υπάρχουν σαφείς προγνωστικοί παράγοντες πότε το NO μπορεί να συμπεριφερθεί με τον ένα ή τον άλλο τρόπο, παρά μόνο ενδεικτικά στοιχεία. Το NO μπορεί να διαχέεται ελεύθερα μέσω των κυτταρικών μεμβρανών και να αλληλεπιδρά με άλλα μόρια τόσο μέσα στα κύτταρα που παράγεται όσο και στα κύτταρα-στόχους. Για την φυσιολογική δράση του NO εμπλέκεται η παραγωγή του cGMP. Η γουανυλική κυκλάση που ενεργοποιείται από το NO μετατρέπει το GTP σε cGMP. Το τελευταίο με την σειρά του ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση που προωθεί την ελάττωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου. Η ελάττωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου οδηγεί σε χάλαση τους λείους μύες (75).

Τα υψηλά επίπεδα NO προέρχονται κυρίως από την ενεργοποίηση της iNOS (κυτταροτοξικότητα) ενώ τα χαμηλά επίπεδα NO οφείλονται κυρίως σε ενεργοποίηση της nNOS και e-NOS (νευροδιαβιβαστική και μυοχαλαρωτική δράση αντίστοιχα) (3). Επιπρόσθετα, οι πρωτεΐνες που είναι συνδεδεμένες με ένα μόριο θειόλης μπορούν να προστατεύουν το κύτταρο από την οξειδωση. Αυτό συμβαίνει γιατί το NO αντιδρά με την θειόλη και μετατρέπεται σε νιτροζοθειόλη που είναι πιο σταθερό μόριο από το NO και έχει μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής. Οι νιτροζοθειόλες έχουν βρογχοδιασταλτική ικανότητα, είναι σε συγκεντρώσεις τέτοιες που μπορούν να επηρεάσουν τον τόνο των αεραγωγών και δεν εξαρτώνται από το δρόμο του cGMP (49, 51).

Σε καταστάσεις οξειδωσης (stress) τα κύτταρα αδειάζουν από τις θειόλες (18). Η iNOS διευκολύνει την νιτροζυλίωση του γλυκολυτικού ενζύμου GADPH. Η νιτροζυλίωση του GADPH ακολουθείται από ριβοσιλίωση του ADP. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας. Έτσι φαίνεται η

κυτταροτοξικότητα του NO να οφείλεται στην ελαττωμένη παραγωγή ενέργειας από το κύτταρο (131).

Σημαντική είναι και η αλληλεπίδραση του NO με το ανιόν του σουπεροξειδίου που είναι κυτταροτοξικό (110).

Το NO και η δράση του στο αναπνευστικό σύστημα

Το NO παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της λειτουργίας των αεραγωγών και στην παθογένεια των νοσημάτων του αναπνευστικού (57,90). Ρυθμίζει τον τόνο των αγγείων καθώς και τον τόνο των ΛΜΙ των αεραγωγών (58,95). Φαίνεται ότι η δράση του στον τόνο των αεραγωγών είναι μικρότερη από αυτή στον τόνο των αγγείων (61). Επιπλέον το NO είναι ο νευρομεταβιβαστής του μη αδρενεργικού μη χολινεργικού συστήματος (NANC) (164).

Εκτός από την e-NOS και η iNOS έχει συσχετιστεί με την παθοφυσιολογία νοσημάτων του αναπνευστικού. Ποσότητες της iNOS βρίσκονται στο επιθήλιο ασθενών με βρογχικό άσθμα και στα μακροφάγα ασθενών με βρογχεκτασίες. Μετρήσεις στον εκπνεόμενο αέρα ασθενών με φλεγμονή των αεραγωγών έδειξαν αυξημένη συγκέντρωση NO. Το επιθήλιο των αεραγωγών απελευθερώνει NO που επηρεάζει τη σύσπαση των ΛΜΙ των αεραγωγών που έχει προκληθεί από διάφορες βρογχοσυσπαστικές ουσίες (63).

Η αυξημένη παραγωγή ενδογενούς NO στους πνεύμονες οδηγεί σε υπεραιμία, εξοίδηση πλάσματος, συγκέντρωση των Th-2 λεμφοκυττάρων και αύξηση του αριθμού των ηωσινοφίλων. Τα Th-2 λεμφοκύτταρα είναι υποπληθυσμός των Τ-βοηθητικών κυττάρων (T-helper). Τα τελευταία εμπλέκονται στις χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις. Τα Τ- κύτταρα (T-helper) διακρίνονται σε Th-1 και Th-2

λεμφοκύτταρα. Τα Th-1 λεμφοκύτταρα παράγουν ιντερφερόνη γ (INF- γ), παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF) και ιντερλευκίνη 2 (IL-2). Τα Th-2 λεμφοκύτταρα παράγουν ιντερλευκίνες (IL-4, IL-5, IL-6 και IL-10). Οι IL-4 και IL-5 είναι υπεύθυνες για την δημιουργία φλεγμονής (12,170).

ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ-1 ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ

Η ενδοθηλίνη-1 (ET-1) είναι ένα ισομερές πεπτίδιο των ενδοθηλινών. Οι ενδοθηλίνες αποτελούν μια οικογένεια τριών ισομερών μορφών πεπτιδίων, της ET-1, της ET-2 και της ET-3, οι οποίες απομονώθηκαν αρχικά από τμήμα καλλιέργειας ενδοθηλιακών κυττάρων χοίρου (174) και επιθηλιακών κυττάρων τραχείας (13). Η ενδοθηλίνη-1 αποτελεί ορμονικό πεπτίδιο με παρατεταμένη και ισχυρή αγγειοδιασταλτική δραστηριότητα (145, 146). Παράγεται από ένα ευρύ φάσμα ιστών στον άνθρωπο (22).

Υποδοχείς ενδοθηλίνης-1

Οι επιδράσεις της ET-1 επιτελούνται μέσω δύο υποτύπων υποδοχέων: ETA και ETB. Οι ETA και ETB υποδοχείς ανήκουν στην ίδια οικογένεια με τις G-πρωτεΐνες συνδεδεμένων υποδοχέων (113). Η ET-1 αποτελεί εκλεκτικό συνδέτη για τους ETA υποδοχείς, ενώ παρουσιάζει ισότιμη χημική συγγένεια με τις ET-2 και ET-3 όσον αφορά τους ETB υποδοχείς (30, 188). Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι οι ETB υποδοχείς βρίσκονται σε παρασυμπαθητικούς νευρώνες των αεραγωγών. Τόσο οι ETA όσο και οι ETB υποδοχείς συνυπάρχουν σε πολλά λεία μυϊκά κύτταρα και μεσολαβούν για την αύξηση των συσπάσεων που προκαλεί η ET-1. Μελέτες σε

βρόγχους ανθρώπων τόσο ασθματικών όσο και φυσιολογικών έδειξαν ότι οι ETB υποδοχείς αποτελούν το 82-88% του συνόλου των υποδοχέων της ET-1 (107).

Μηχανισμός δράσης ενδοθηλίνης-1

Η ET-1 έχει ισχυρή αγγειοδιασταλτική δράση στα αγγεία των αεραγωγών. Στα αγγεία των μεγάλων βρόγχων η δράση αυτή προάγεται από τους ETB υποδοχείς, οι οποίοι βρίσκονται διάσπαρτοι κυρίως στις αρτηρίες και παρουσιάζουν μεγάλη ανομοιογένεια, ενώ στους μικρούς βρόγχους από τους ETA, οι οποίοι βρίσκονται κυρίως στις φλέβες, όπως έδειξαν μελέτες σε ποντίκια (40).

Η ET-1 ασκεί νευρορρυθμιστικό ρόλο στους αεραγωγούς καθώς και άμεση συσπαστική δράση στους λείους μύες των βρόγχων και των αρτηριών. Προάγει την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης με ταυτόχρονη ενεργοποίηση και των δύο υποτύπων υποδοχέων. Προκαλεί σύσπαση της τραχείας και του πνευμονικού παρεγχύματος κυρίως μέσω των ETB υποδοχέων. Συνεπώς η δράση της ET-1 προκαλείται κυρίως από τους ETB υποδοχείς, ενώ οι ETA δεν φαίνεται να έχουν ρόλο στον συσπαστικό μηχανισμό (113). Έτσι η ενδογενής παραγωγή προστανοειδών που προάγεται από την ET-1 πιθανώς οφείλεται στην μη συμμετοχή των ETA υποδοχέων στην πρόκληση σύσπασης, όπως έδειξαν μελέτες σε ανθρώπους (44).

Η ET-1 ασκεί δύο αντίθετες δράσεις στους αεραγωγούς, μια συσπαστική μέσω της ενεργοποίησης των ETB υποδοχέων και μια ανασταλτική μέσω της ενεργοποίησης των ETA υποδοχέων, η οποία είναι υπεύθυνη για την απελευθέρωση NO (14).

Η αύξηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} που επιτελείται μέσω των τασεοεξαρτώμενων διαύλων, έχει σημαντικό ρόλο στην συσπαστική δράση της ET-1,

όπως έδειξαν μελέτες σε αεραγωγούς κουνελιών και σκύλων (146). Στα κουνέλια, η ET-1 ενεργοποιεί τους ETB υποδοχείς προκαλώντας αύξηση στην εξωκυττάρια συγκέντρωση Ca^{2+} μέσω τασεοεξαρτώμενων διαύλων και προάγει την σύσπαση, η οποία μερικώς εξαρτάται από την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης. Ο ίδιος μηχανισμός δρα και στα σκυλιά μόνο που οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς σε αυτά είναι ETA. Η δράση της ET-1 δεν εξαρτάται από την εξωκυττάρια συγκέντρωση Ca^{2+} στον άνθρωπο αλλά από την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης μετά την σύνδεσή της στους ETB υποδοχείς. Μελέτες σε πρόβατα έδειξαν ότι η ET-1 ελαττώνει την ταχύτητα της βλέννας στην τραχεία (7).

Η συσπαστική δράση της ET-1 οφείλεται στην ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C που ρυθμίζει την αδενυλοκυκλάση (1145). Η τελευταία οδηγεί σε αύξηση του cAMP μέσω των ETA υποδοχέων αρχικά και σε ελάττωσή της στη συνέχεια μετά από ενεργοποίηση φοσκολίνης στους ETB υποδοχείς. Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις η ET-1 προκαλεί σύσπαση με ενεργοποίηση μη ειδικών διαύλων. Σε υψηλές συγκεντρώσεις ενεργοποιεί την φωσφολιπάση C και η προκαλούμενη σύσπαση οφείλεται στην ενεργοποίηση τασεοεξαρτώμενων διαύλων.

Αλληλεπίδραση ενδοθηλίνης-1 και NO στους αεραγωγούς

Όταν αυξηθεί η τάση που ασκείται στις ΛΜΙ, η ενδοθηλιακού τύπου συνθάση (eNOS) του NO έχει αυξημένη δράση και αυτό οδηγεί σε χάλαση των ΛΜΙ (39). Μελέτες στην τραχεία ινδικού χοιριδίου έδειξαν ότι η παραγωγή της ET-1 αυξάνεται όταν ασκηθεί μικρή τάση ηρεμίας για λίγο χρονικό διάστημα, αλλά ελαττώνεται μετά από παρατεταμένη άσκηση μεγάλης τάσης ηρεμίας (44). Ενεργοποίηση του cGMP αναστέλλει την απελευθέρωση ET-1. Η ελάττωση της

απελευθέρωσης ET-1 που προκαλείται μετά από άσκηση μεγάλης τάσης ηρεμίας, αποδίδεται στην ενεργοποίηση του cGMP σαν συνέπεια της αυξημένης παραγωγής NO. Η ενδογενής παραγωγή NO ενεργοποιεί την γουανυλική κυκλάση που μετατρέπει το GTP σε cGMP. Το τελευταίο με την σειρά του ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση που προωθεί την ελάττωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου. Η ελάττωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου οδηγεί σε χάλαση τους λείους μύες, ενώ αναστέλλει την δράση της iNOS μέσω διέγερσης κυτοκινών από τα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα (113). Η ET-1 φαίνεται να έχει διπλή δράση στις ΛΜΙ των αεραγωγών, η οποία εξαρτάται από τον βασικό τόνο τους. Έτσι όταν ο βασικός τόνος των ΛΜΙ είναι υψηλός η ET-1 προκαλεί χάλαση, ενώ σε χαμηλό βασικό τόνο προκαλεί σύσπαση. Και οι δύο αυτές δράσεις της ET-1 εξαρτώνται από την ακεραιότητα του επιθηλίου καθώς αφαίρεση του επιθηλίου οδηγεί στην συσπαστική και αναστέλλει την χαλαρωτική δράση της ET-1. Η χάλαση που προκαλεί η ET-1 μπορεί να αποδοθεί μερικώς στην παραγωγή NO, όπως φαίνεται από την προεπάωση ιστοτεμαχίων τραχείας ινδικού χοιριδίου με καρβαχόλη.

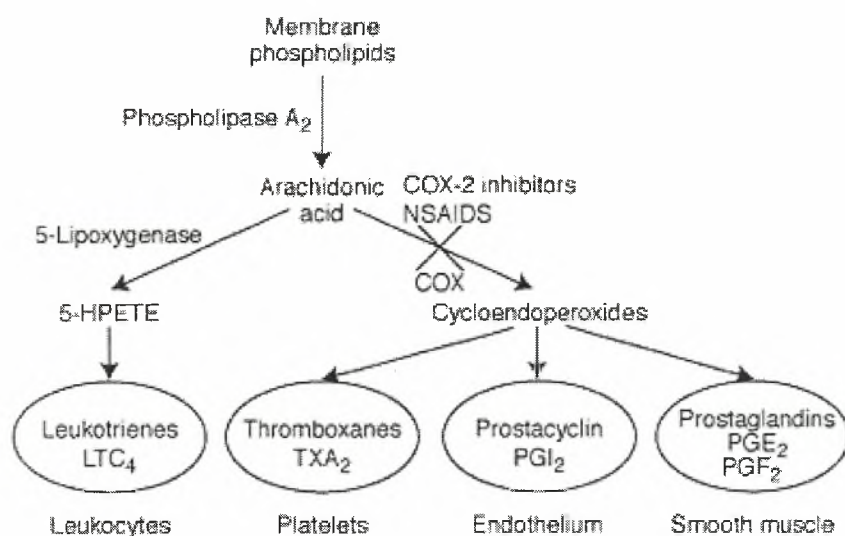
Το NO έχει ρυθμιστικό ρόλο στην δράση της ET-1 στους αεραγωγούς. Το εξωγενώς παραγόμενο NO αναστέλλει την αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων (174). Η ET-1 και ιδιαίτερα το NO είναι ρυθμιστές της συμπεριφοράς των κυττάρων τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε ανώμαλες συνθήκες (107).

ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΝΔΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΕΡΑΓΩΓΟΙ

Οι προσταγλανδίνες είναι ορμόνες που δρουν τοπικά και η ενδογενής παραγωγή τους επηρεάζει τον τόνο των αεραγωγών.

Βιοσύνθεση προσταγλανδινών

Το σύνθετο πολυένζυμο κυκλοοξυγενάση (COX) μετατρέπει το ελεύθερο αραχιδονικό οξύ σε προστανοειδή (προσταγλανδίνες και θρομβοξάνη A_2) τα οποία όμως δεν αποθηκεύονται στα κύτταρα, αλλά παράγονται κάθε φορά μετά από πρόκληση κάποιου ερεθίσματος (128) (Εικόνα 4). Υπάρχουν δύο τύποι κυκλοοξυγενάσης: κυκλοοξυγενάση ένα (COX-1) και δύο (COX-2) (32).



Εικόνα 4. Βιοσύνθεση προσταγλανδινών.

Η βιοσύνθεση των προστανοειδών περιλαμβάνει τρία στάδια: Στο πρώτο στάδιο γίνεται παραγωγή αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης και κυρίως από την φωσφολιπάση A_2 . Στο δεύτερο στάδιο γίνεται μετατροπή του ελεύθερου αραχιδονικού οξέος σε κυκλικό υπεροξειδίο PGH_2 μέσω της κυκλοοξυγενάσης που συνδέεται με τη μεμβράνη, και στο τρίτο στάδιο ακολουθεί μεταβολισμός της PGH_2 . Έτσι παράγονται βιολογικά ενεργά προϊόντα ($PGF_{2\alpha}$, PGE_2 , PGD_2 , PGI_2 , TXA_2). Η διαδικασία αυτή επιτελείται με τη συνθάση της θρομβοξάνης,

με τη συνθάση της προστακυκλίνης ή με τις ισομεράσεις PGH-PGD₂ και PGH-PGE₂ (159).

Υποδοχείς προσταγλανδινών

Έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές στον τύπο των υποδοχέων των προσταγλανδινών στα διάφορα είδη ζώων. Στους αεραγωγούς οι προσταγλανδίνες παράγονται τόσο κάτω από φυσιολογικές όσο και παθολογικές συνθήκες (21). Φαίνεται ότι το σημαντικότερο ρόλο στην παραγωγή τους έχουν τα κύτταρα του επιθηλίου (74). Για να δράσουν πρέπει να συνδεθούν σε ειδικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη (32).

Έχει βρεθεί ότι οι προσταγλανδίνες έχουν διπλή δράση στους αεραγωγούς. Έτσι η PGE₂ σε μεγάλες συγκεντρώσεις προκαλεί σύσπαση των ΛΜΙ των αεραγωγών, ενώ σε μικρές συγκεντρώσεις προκαλεί χάλαση (56).

Οι προσταγλανδίνες επηρεάζουν τον τόνο των αεραγωγών. Έτσι βρέθηκε ότι στον πνεύμονα η PGF_{2α} αυξάνει τον τόνο των αεραγωγών, προκαλώντας αύξηση στην δράση της ακετυλοχολίνης που απελευθερώνεται από τους χολινεργικούς νευρώνες (72). Είναι πιθανό όμως να ισχύει και το αντίστροφο. Δηλαδή, ο ενδογενής τόνος των ΛΜΙ των αεραγωγών να επηρεάζει τη δραστηριότητα των προσταγλανδινών. Μελέτες στον άνθρωπο και τη γάτα δείχνουν ότι εφαρμογή περιοδικής τάσης αναστέλλει την δράση της κυκλοξυγενάσης και προκαλεί ελάττωση της παραγωγής PGE₂ και TxB₂ (151). Αντίθετα, κάποιες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο βασικός τόνος των αεραγωγών είναι ανεξάρτητος από την δράση των προσταγλανδινών (140).

Μηχανισμός δράσης προσταγλανδινών

Η χάλαση των ΛΜΙ συσχετίζεται με αύξηση του ενδοκυττάριου cAMP. Η PGE₂ αυξάνει τα επίπεδα του cAMP, όπως φαίνεται από μελέτες σε τραχεία ινδικών χοιριδίων. Η σύσπαση των ΛΜΙ οφείλεται στην αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα. Σύμφωνα με μελέτες, τα τασεοεξαρτώμενα κανάλια δεν φαίνεται να εμπλέκονται στη συσπαστική δράση των προσταγλανδινών, αφού η βεραπαμίλη που είναι ανταγωνιστής τους, δεν φαίνεται να έχει καμία επίδραση στη σύσπαση των ΛΜΙ (6). Επομένως, πρέπει να διευκρινιστεί αν η αύξηση του ασβεστίου οφείλεται στην είσοδο εξωκυττάριου ασβεστίου μέσω των τασεοεξαρτώμενων καναλιών ή στην κινητοποίηση ασβεστίου από τις ενδοκυττάρια αποθήκες. Σε άλογα, η χορήγηση PGE₂ δεν έχει καμία επίδραση στην απελευθέρωση ακετυλοχολίνης στους βρόγχους, αλλά σε μεγάλη συγκέντρωση αυξάνει την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης στην τραχεία (191). Η PGE₂ δρώντας σε προσυναπτικούς υποδοχείς των προσταγλανδινών αναστέλλει την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης από τους παρασυμπαθητικούς νευρώνες της τραχείας ινδικών χοιριδίων (122).

Αλληλεπίδραση προσταγλανδινών και NO στους αεραγωγούς

Δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες για την αλληλεπίδραση προσταγλανδινών και NO τους αεραγωγούς. Στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα τόσο το εξωγενές όσο και το ενδογενές NO αυξάνουν τη δραστηριότητα του συστήματος COX-2 όσον αφορά στην ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυτοκινών και αυτό συμβαίνει μάλλον μέσω ενεργοποίησης της γουανυλικής κυκλάσης (180).

Αναστολή της σύνθεσης των προστανοειδών

Η ινδομεθακίνη είναι ένας μη ειδικός αναστολέας της κυκλοξυγενάσης 1 (COX-1) και 2 (COX-2) (26). Έχουν γίνει μελέτες για την δράση της στις ΛΜΙ των αεραγωγών στον άνθρωπο (45,95). Η ινδομεθακίνη φαίνεται ότι αναστέλλει την υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών (5). Ο ρόλος των προσταγλανδινών στον ενδογενή τόνο των ΛΜΙ αεραγωγών δεν έχει διευκρινιστεί. Έτσι, μελέτες της δράσης της ινδομεθακίνης στον βασικό τόνο των αεραγωγών στον άνθρωπο *in vitro* έδωσαν αντικρουόμενα αποτελέσματα: αύξησης (33), ελάττωσης (89) ή και καμίας επίδρασης (39). Πάντως, φαίνεται να ελαττώνει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη και την ισταμίνη (19). Αναστολή της κυκλοξυγενάσης σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα προκαλεί βρογχοσύσπαση. Αυτό σημαίνει ότι τα προϊόντα της κυκλοξυγενάσης μπορούν κάτω από κάποιες συνθήκες να μεταβάλουν τον τόνο των ΛΜΙ των βρόγχων (45). Η ινδομεθακίνη προκαλεί αύξηση του τόνου των ΛΜΙ των αεραγωγών ανθρώπου. Η αύξηση αυτή όμως, δεν είναι στατιστικά σημαντική (182). Μελέτες σε άλογα με πνευμονικό εμφύσημα έδειξαν ότι η ινδομεθακίνη δεν επηρεάζει την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης. Το ίδιο αποτέλεσμα προκαλεί και η χορήγηση προσταγλανδίνης E2 (179).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη έγινε σε τμήματα τραχείας δύο ομάδων κουνελιών, με κριτήριο την ηλικία. Συνοπτικά καθορίστηκαν οι ομάδες των πειραματόζωων ως εξής :

A) Άνηβα κουνέλια ηλικίας τεσσάρων εβδομάδων &

B) Ενήλικα κουνέλια ηλικίας οκτώ εβδομάδων.

Χρησιμοποιήθηκαν τμήματα τραχείας από άρρενα και θήλεα κουνέλια και των δυο ομάδων.

Η επιλογή των ομάδων των πειραματόζωων, έγινε λαμβάνοντας υπόψη :

α) ότι οι Hayashi και Toda (1980) έδειξαν σε κουνέλια, ότι οι συσπάσεις των λείων μυϊκών ινών της τραχείας που προκαλούνται από βρογχοσυσπαστικούς παράγοντες, αυξάνονται σημαντικά όσο αυξάνει η ηλικία των πειραματοζώων, από την 3^η έως την 90^η ημέρα.

β) τη φυσιολογία του κουνελιού

Η διαδικασία επιλογής στηρίχτηκε στις εξής παρατηρήσεις:

A) Τα κουνέλια ηλικίας τριάντα ημερών (τεσσάρων εβδομάδων) σταματούν να θηλάζουν. Για το λόγο αυτό θεωρούνται ότι εισέρχονται στην παιδική ηλικία. Με βάση αυτό το κριτήριο, τα κουνέλια αυτά αποτελούσαν την άνηβη ομάδα πειραματόζωων μας.

B) Τα κουνέλια ηλικίας δύο μηνών (οκτώ εβδομάδων) αποκτούν σεξουαλική διέγερση και ικανότητα αναπαραγωγής. Για τον λόγο αυτό θεωρούμε ότι εισέρχονται στην ενήλικη ζωή. Με βάση αυτό το κριτήριο τα κουνέλια αυτά αποτελούσαν την ενήλικη ομάδα πειραματόζωων μας.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΙΣΤΟΥ

Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν εξωθωρακικά τμήματα τραχείας από άνηβα και ενήλικα κουνέλια. Το κουνέλι ακινητοποιούνταν πάνω σε τροχήλατο τραπέζι. Διαποτιζόταν κομμάτι βαμβακιού με διάλυμα ξυλόλης (Merck) και εφαρμοζόταν στην έξω επιφάνεια του ενός αυτιού του κουνελιού. Η ξυλόλη δρα σαν τοπικό αγγειοδιασταλτικό. Έτσι διαστέλλονταν τα αγγεία στο αυτί του κουνελιού και καθιστούσαν εύκολη τη φλεβοκέντηση. Στη συνέχεια γινόταν ενδοφλέβια χορήγηση πεντοθάλης (Abbot) με σύριγγα, η άκρη της οποίας συνδεόταν με αποστειρωμένη βελόνα φλεβοκέντησης (πεταλούδα) 21G, διαμέσου της οποίας διοχετεύονταν η πεντοθάλη αργά, ενδοφλέβια στο κουνέλι, σε δόση 20mg/kg βάρους. Η πεντοθάλη δρα προκαλώντας καταστολή στο κέντρο της αναπνοής στον προμήκη μυελό και τελικά το θάνατο. Την ευθανασία του κουνελιού ακολουθούσε χειρουργική διάνοιξη του τραχήλου του. Μετά τη διάνοιξη του δέρματος, ακολουθούσε ανεύρεση και διατομή της επιπολής τραχηλικής περιτονίας, ανεύρεση και διατομή της εν τω βάθει τραχηλικής περιτονίας και η ανεύρεση της τραχείας. Η χειρουργική αφαίρεση της τραχείας γινόταν στο πάνω μέρος της, στο ύψος του κρικοθυρεοειδούς χόνδρου και στο κάτω μέρος της, στο ύψος όπου αυτή εισέρχεται στο θώρακα.

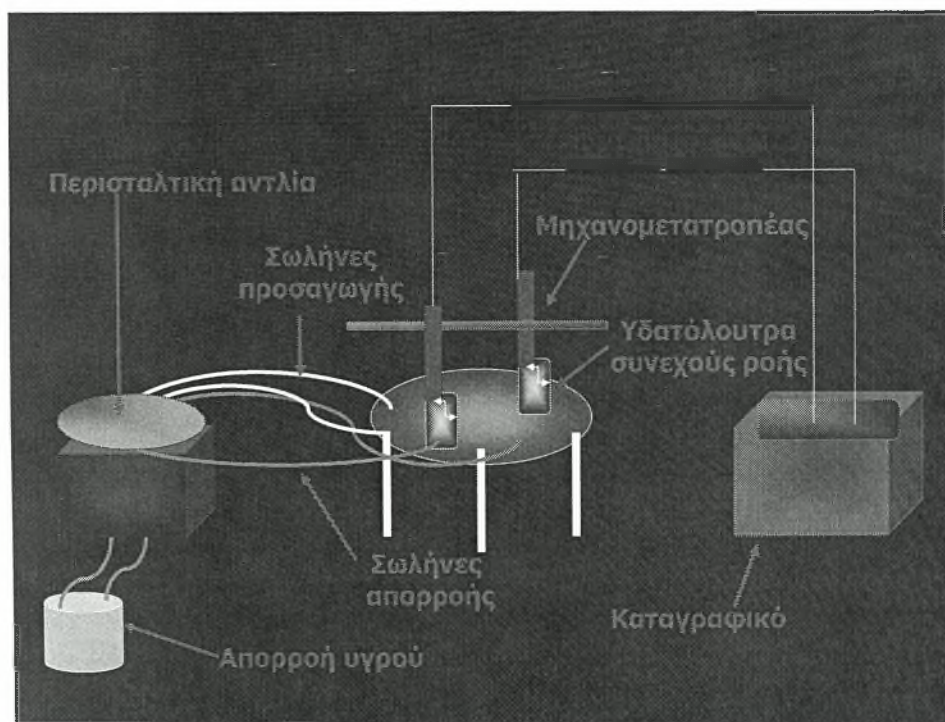
Η τραχεία καθαριζόταν από τον περιβάλλοντα συνδετικό ιστό και από τον οισοφάγο του κουνελιού που εδράζεται στην πίσω επιφάνειά της, συνδεδεμένος με αυτή με ίνες συνδετικού ιστού. Μέριμνα λήφθηκε ώστε η διαδικασία αφαίρεσης και καθαρισμού της τραχείας να γίνεται στο συντομότερο χρονικό διάστημα, όχι περισσότερο από 5 λεπτά, διότι παρατεταμένη παραμονή της τραχείας στο εξωτερικό περιβάλλον χωρίς συνεχή οξυγόνωση και παρουσία ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων, θα είχε καταστρεπτικές συνέπειες τόσο στην ανταποκρισιμότητά της, όσο και στην βιωσιμότητα της κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Ο εξωθωρακικός ιστός της τραχείας εμβαπτιζόταν και παρέμενε κατά τη διάρκεια του πειράματος σε δοχείο που περιείχε διάλυμα Krebs (pH 7,4 στους 37 °C με την ακόλουθη σύνθεση (mM): Na^+ 137, Mg^{+2} 1,1, K^+ 5,9, Cl^- 123,0 Ca^{+2} 2,0, HCO_3^- 24,9 και γλυκόζη 9,6. Στο διάλυμα διοχετευόταν συνεχώς αέριο σύνθεσης: 95% O_2 και 5% CO_2 .

Δακτύλιοι της τραχείας (1-2 ημικίρια) με τις λείες μυϊκές ίνες τεμαχιζόταν από το μέσο αυτής σε στερεοσκόπιο SZ 30 Olympus έτσι ώστε τα ιστοτεμάχια της τραχείας να έχουν πλάτος 1 χιλιοστό. Τα τμήματα της τραχείας κόβονταν κατά μήκος μέσω του χόνδρου απέναντι από το στρώμα των λείων μυϊκών ινών και δημιουργούνταν με τον τρόπο αυτό μυϊκές λωρίδες τραχείας.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

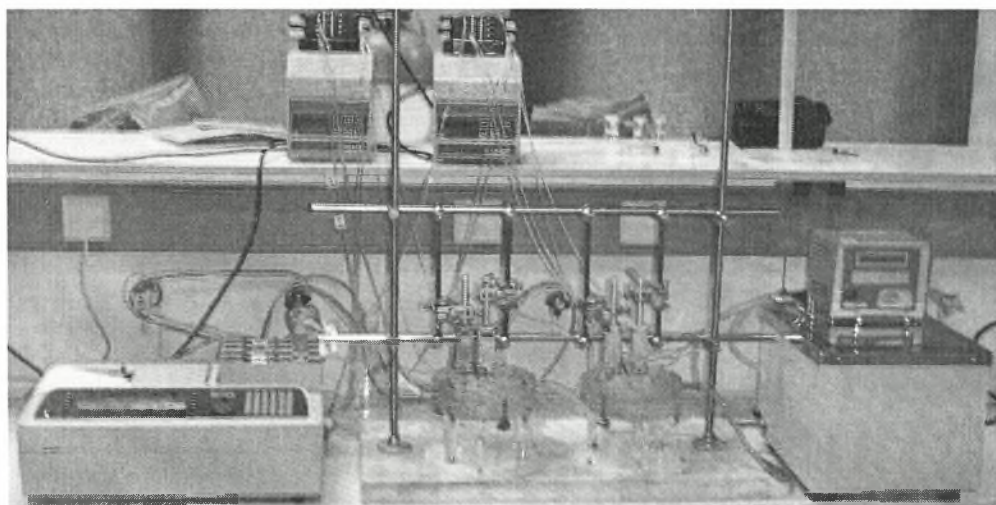
Τα τμήματα της τραχείας τοποθετούνταν σε υδατινό λουτρό με συνεχή έγχυση διαλύματος Krebs και παροχή αερίου 95% O_2 και 5% CO_2 στους 37 °C.



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση της διάταξης που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία.

Ο βλεννογόνος των μυϊκών λωρίδων της τραχείας τοποθετούνταν προς την επιφάνεια του διαλύματος. Το ένα άκρο του τμήματος της τραχείας ακινητοποιούνταν με τη βοήθεια άγκιστρου και το άλλο συνδεόταν με ισομετρικό καταγραφέα τάσης τύπου Grass FT 03C. Συγχρόνως υπήρχε συνεχής ένδειξη σήματος σε οθόνη παλμογράφου Harvard Universal. Ο όγκος του λουτρού ήταν 3 ml και η ταχύτητα διάχυσης ήταν 5ml/λεπτό (Εικόνα 5).

Μετά την τοποθέτηση στο λουτρό ασκήθηκε μηχανικά τάση ηρεμίας 0,5, ή 1, ή 1,5, ή 2, ή 2,5 γραμμάρια, η οποία παρέμενε σταθερή κατά τη διάρκεια του πειράματος. Πριν την έναρξη του κάθε πειράματος χορηγούνταν μια εφάπαξ δόση 0,1- 0,2 ml 10^{-1} M ακετυλοχολίνης με σκοπό την πρόκληση μυϊκής σύσπασης. Ακολουθούσε συνεχής έκπλυση με διάλυμα Krebs και τα τμήματα της τραχείας αφήνονταν να ηρεμήσουν για 60 λεπτά τουλάχιστον, μέχρι η τάση να επανέλθει στη βασική γραμμή (φάση ηρεμίας) (Εικόνα 7).

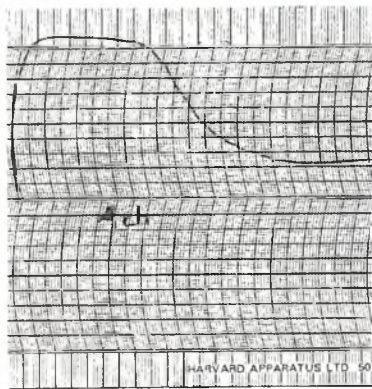


Εικόνα 6. Υδάτινα λουτρά στα οποία τοποθετούνταν τα τμήματα τραχείας συνδεδεμένα με οθόνη παλμογράφου Harvard Universal που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία.

Μετά τη φάση ηρεμίας χορηγείτο διάλυμα χλωριούχου καλίου (KCl) 80Mm, προκαλώντας σύσπαση στα τμήματα της τραχείας, αυξάνοντας την εξωκυττάρια

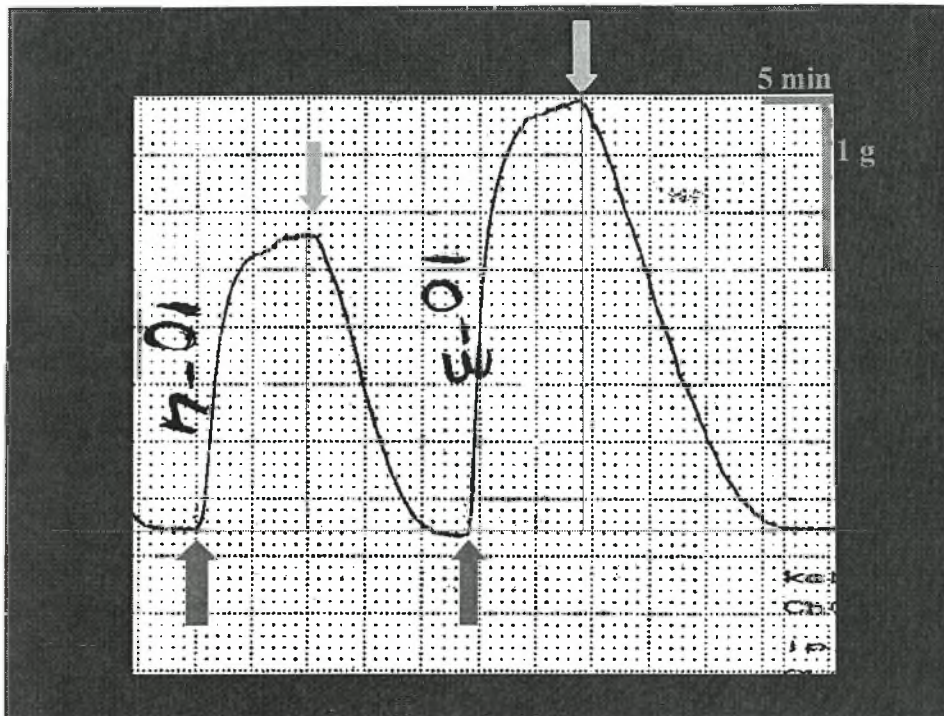
συγκέντρωση Καλίου [K⁺], με ισοσμοτική αντικατάσταση με ιόντα Νατρίου [Na⁺], μέχρι να επιτευχθεί μια σταθερή και αναπαραγόμενη σύσπαση από διαλύματα ακετυλοχολίνης 10⁻⁹ έως 10⁻³M.

Η σύσπαση που προκαλούσε το διάλυμα του χλωριούχου καλίου καταγραφόταν σαν καμπύλη σε καταγραφικό χαρτί του ισομετρικού καταγραφέα τάσης. Αυτό που μετρήθηκε σαν σύσπαση ήταν το ύψος από τη βασική γραμμή μέχρι το μέγιστο σημείο της καμπύλης.



Εικόνα 7. Μεταβολή στην τάση των ΛΜΙ με την επίδραση διαλύματος 0,1- 0,2 ml 10⁻¹ M ακετυλοχολίνης για την πρόκληση αρχικής σύσπασης

Στη συνέχεια χορηγούνταν διαλύματα ακετυλοχολίνης 10⁻⁹ έως 10⁻³ M και καταγράφονταν η σύσπαση που προκαλούσαν στα τμήματα της τραχείας, που ήταν κρεμασμένα και ισορροπούσαν κάθε φορά στο υδάτινο λουτρό.



Εικόνα 8. Καταγραφή της καμπύλης σύσπασης των ΛΜΙ με την επίδραση διαλυμάτων 10^{-4} Μ και 10^{-3} Μ ακετυλοχολίνης. Στον οριζόντιο άξονα μετρήθηκε ο χρόνος επίδρασης του διαλύματος στις ΛΜΙ και στον κατακόρυφο άξονα μετρήθηκε η τάση ηρεμίας που ασκήθηκε σε αυτές.

Ο τρόπος μέτρησης της σύσπασης, ήταν ο ίδιος κάθε φορά. Δηλαδή μετρούνταν το ύψος από τη βασική γραμμή μέχρι την αρχική καταγραφή του μεγίστου της καμπύλης. (Εικόνα 8). Η πειραματική αυτή διαδικασία εφαρμόστηκε σε ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 0,5 ή 1 ή 1,5 ή 2 ή 2,5 γραμμάρια.

Πιο συγκεκριμένα, σε ενήλικα κουνέλια έγιναν: 30 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, 9 πειράματα σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάριο, 9 πειράματα σε τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια, 8 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια και 32 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η σύσπαση που προκαλείται στα τμήματα της τραχείας, με την επίδραση διαλυμάτων ακετυλοχολίνης 10^{-9} έως 10^{-3} Μ και διαλύματος χλωριούχου καλίου 80 mM, από τη

βασική γραμμή έως την αρχική καταγραφή του μεγίστου της σύσπασης, σε συνάρτηση με την τάση ηρεμίας που ασκείται.

Τα τμήματα της τραχείας, μετά το τέλος κάθε πειράματος, αφήνονταν να στεγνώσουν σε διηθητικό χαρτί και στη συνέχεια ζυγίζονταν. Η μέγιστη ενεργός τάση που παράγονταν σε απάντηση στις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ακετυλοχολίνης ή του χλωριούχου καλίου υπολογίστηκε και οι τιμές εκφράζονται σαν τάση σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό χιλιοστό (gr/mm^2).

Σε μια άλλη σειρά πειραμάτων αντί για ακετυλοχολίνη χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα χλωριούχου καλίου 5×10^{-3} έως 10^{-3} M. Τα πειράματα αυτά έγιναν σε τμήματα τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια (5 πειράματα) και 2,5 γραμμάρια (5 πειράματα). Τα πειράματα αυτά έγιναν παρουσία ή όχι διαλύματος ατροπίνης σε συγκέντρωση 10^{-3} M. Η ατροπίνη ανταγωνίζεται τη δράση του παρασυμπαθητικού νευροδιαβιβαστή της ακετυλοχολίνης στους μουσκαρινικούς υποδοχείς.

Οι συγκεντρώσεις επιλέχθηκαν με βάση τις υψηλότερες ανασταλτικές επιδράσεις των ουσιών. Τα τμήματα της τραχείας επώαστηκαν πέντε λεπτά με την ατροπίνη ή τη βεραπαμίλη προτού προστεθούν τα διαλύματα του χλωριούχου καλίου.

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η σύσπαση που προκαλείται στα τμήματα της τραχείας ενήλικου κουνελιού, σε τάση ηρεμίας 0,5 ή 2,5 γραμμάρια με την επίδραση διαλυμάτων χλωριούχου καλίου και με την παρουσία ή απουσία διαλύματος ατροπίνης 10^{-3} M. Η σύσπαση μετρήθηκε από τη βασική γραμμή έως την αρχική καταγραφή του μεγίστου της καμπύλης καταγραφής.

Η μέγιστη ενεργός τάση που παρήχθη σε απάντηση στις διαφορετικές συγκεντρώσεις χλωριούχου καλίου, παρουσία ή απουσία ατροπίνης, υπολογίστηκε

και οι τιμές εκφράζονται σαν τάση σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό χιλιοστό ιστού (gr/mm^2).

Σε μια σειρά πειραμάτων έγινε μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου από τα τμήματα της τραχείας. Έξι πειράματα σε ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και επτά πειράματα σε ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Στα πειράματα με αφαίρεση του επιθηλίου, τα τμήματα της τραχείας κόπηκαν κατά μήκος μέσω του χόνδρου, απέναντι από το στρώμα των λείων μυϊκών ινών και δημιουργήθηκαν μυϊκές λωρίδες τραχείας, με την ίδια διαδικασία όπως και στα τμήματα της τραχείας χωρίς αφαίρεση του επιθηλίου.

Εφαρμόζοντας βαμβακοφόρο στυλεό παράλληλα προς την επιφάνεια του επιθηλίου και τρίβοντας με ήπιους χειρισμούς κατά τη μία φορά (είτε προς τα πάνω, είτε προς τα κάτω), καταστράφηκε μηχανικά το επιθήλιο της τραχείας. Πριν την τοποθέτηση των λωρίδων της τραχείας, πιστοποιήθηκε η καταστροφή του επιθηλίου σε οπτικό μικροσκόπιο SZ 30 Olympus.

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η σύσπαση που προκαλείται στα τμήματα της τραχείας με επιθήλιο ή χωρίς επιθήλιο, με επίδραση διαλυμάτων ακετυλοχολίνης ή γλωριούχου καλίου, σε συνάρτηση με την ασκούμενη τάση ηρεμίας.

Η μέγιστη ενεργός τάση που παρήχθη σε απάντηση στις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ακετυλοχολίνης, υπολογίστηκε, και οι τιμές εκφράζονται σαν τάση σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό χιλιοστό (gr/mm^2).

Σε επόμενη σειρά πειραμάτων χορηγήθηκαν :

A) N^{O} -νίτρο - L-αργίνη-μεθυλοεστερας (L-NAME), ένας αναστολέας της συνθάσης του NO, σε συγκέντρωση 10^{-4} M.

B) L-αργίνη, μια πρόδρομη ουσία του NO, σε συγκέντρωση 10^{-3} M και

Γ) Ινδομεθακίνη, ένας αναστολέας των προσταγλανδινών, σε συγκέντρωση 10^{-5} M.

Οι συγκεντρώσεις αυτές επιλέχθηκαν με βάση τις υψηλότερες ανασταλτικές ή διεγερτικές επιδράσεις των ουσιών. Τα τμήματα τραχείας επώαστηκαν με τον ανασταλτικό παράγοντα ή την πρόδρομη ουσία για σαράντα πέντε λεπτά προτού προστεθούν τα διαλύματα ακετυλοχολίνης.

Ιστός αναφοράς (control) θεωρείται ο ιστός στον οποίο χορηγήθηκε μόνο διάλυμα ακετυλοχολίνης, χωρίς την προσθήκη ανασταλτικού παράγοντα ή πρόδρομης ουσίας.

Τα πειράματα αυτά έγιναν σε ενήλικα κουνέλια και σε τάση ηρεμίας 0,5 ή 2,5 γραμμάρια. Έγιναν: 10 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0,5 και 2,5 γραμμάρια παρουσία ή όχι διαλύματος 10^{-4} M L-NAME, 8 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0,5 και 2,5 γραμμάρια παρουσία ή όχι διαλύματος 10^{-3} M L-Αργινίνης και 8 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 7 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, παρουσία ή όχι διαλύματος 10^{-5} M ινδομεθακίνης.

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η σύσπαση που προκαλείται στα τμήματα της τραχείας ενήλικου κουνελιού, σε τάση ηρεμίας 0,5 ή 2,5 γραμμάρια, με την επίδραση διαλυμάτων ακετυλοχολίνης παρουσία ή απουσία του ανασταλτικού παράγοντα (L-NAME, Ινδομεθακίνη) ή της πρόδρομης ουσίας (L-Αργινίνη). Η σύσπαση μετρήθηκε από την βασική γραμμή έως την αρχική καταγραφή του μεγίστου της καμπύλης καταγραφής.

Η μέγιστη ενεργός τάση που παράγονταν σε απάντηση στις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ακετυλοχολίνης, παρουσία ή απουσία του ανασταλτικού παράγοντα ή της πρόδρομης ουσίας, υπολογίστηκε και οι τιμές εκφράζονται σαν τάση σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό χιλιοστό ιστού (gr/mm^2).

Σε μια άλλη σειρά πειραμάτων χορηγήθηκαν οι ανταγωνιστές των υποδοχέων

ενδοθηλίνης -1, BQ-123 [Cyc (D Trp-D Asp-Pro-Dval-Leu)] και BQ-788 (N-[N [N[(2,6-Dimethyl-1-piperidinyl) carbonyl]-4-methyl-L-Leucyl])). Το BQ-123 είναι ανταγωνιστής των υποδοχέων ενδοθηλίνης 1 A (ET-1^A), ενώ το B-Q788 είναι ανταγωνιστής των υποδοχέων ενδοθηλίνης 1 B (ET-1^B). Και οι δύο ανταγωνιστές χρησιμοποιήθηκαν σε συγκεντρώσεις $3 \times 10^{-6} \text{M}$. Οι συγκεντρώσεις αυτές επιλέχθηκαν με βάση τις υψηλότερες ανασταλτικές επιδράσεις των ουσιών. Τα τμήματα της τραχείας επώαστηκαν με τον ανταγωνιστή πέντε λεπτά προτού προστεθεί η ακετυλοχολίνη.

Ιστός αναφοράς (control) θεωρείται ο ιστός στον οποίο χορηγήθηκε μόνο διάλυμα ακετυλοχολίνης χωρίς την προσθήκη του ανταγωνιστή. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων ακετυλοχολίνης που χρησιμοποιήθηκαν για την πρόκληση σύσπασης στα τμήματα της τραχείας ήταν από 10^{-6} έως 10^{-3} M. Δεν χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα ακετυλοχολίνης 10^{-9} M και 10^{-7} M, γιατί οι συγκεντρώσεις αυτές είναι πολύ μικρές και η συγκριτική μελέτη παρουσία του αναστολέα ήταν αδύνατη .

Τα πειράματα έγιναν σε ενήλικα κουνέλια και σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, 4 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία ή απουσία BQ-123 σε συγκέντρωση $3 \times 10^{-6} \text{M}$ και 6 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, παρουσία ή απουσία BQ-123 σε συγκέντρωση $3 \times 10^{-6} \text{M}$.

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η σύσπαση που προκαλείται στα τμήματα της τραχείας ενήλικου κουνελιού, σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, με την επίδραση διαλυμάτων ακετυλοχολίνης παρουσία ή απουσία BQ-123 ή BQ-788. Η σύσπαση μετρήθηκε από τη βασική γραμμή έως την αρχική καταγραφή του μέγιστου της καμπύλης καταγραφής. Η μέγιστη ενεργός τάση που παράγονταν σε απάντηση στις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ακετυλοχολίνης, παρουσία ή απουσία BQ-123 ή

BQ-788, υπολογίστηκε και οι τιμές εκφράζονται σαν τάση σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό χιλιοστό ιστού (gr/mm^2).

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η σύσπαση που προκαλείται στα τμήματα της τραχείας ενήλικου κουνελιού, σε τάση ηρεμίας 0,5 ή 2,5 γραμμάρια, με την επίδραση διαλυμάτων χλωριούχου καλίου, παρουσία ή απουσία διαλύματος ατροπίνης 10^{-3} M. Η σύσπαση μετρήθηκε από τη βασική γραμμή έως την αρχική καταγραφή του μεγίστου της καμπύλης καταγραφής.

Τα πειράματα στα τμήματα τραχείας με επίδραση διαλυμάτων ακετυλοχολίνης ή χλωριούχου καλίου, καθώς επίσης και αυτά με επίδραση αναστολέων ή προδρόμων ουσιών, σε ιστό με επιθήλιο ή χωρίς επιθήλιο, πραγματοποιήθηκαν παράλληλα.

Για την μελέτη της επίδρασης της ηλικίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας, χρησιμοποιήθηκαν εκτός από ενήλικα και άνηθα κουνέλια. Πιο συγκεκριμένα σε άνηθα κουνέλια έγιναν: 23 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, 6 πειράματα σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάριο, 7 πειράματα σε τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια, 5 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια και 29 πειράματα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Στη μελέτη της επίδρασης της ηλικίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας, η μέγιστη ενεργός τάση που παράγονταν σε απάντηση στις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ακετυλοχολίνης υπολογίστηκε και οι τιμές εκφράστηκαν σαν τάση σε γραμμάρια ανά βάρος ξηραμένου ιστού (g/g). Αυτό έγινε, για να εξομαλυνθεί η διαφορά που προκύπτει από την αύξηση του μεγέθους της τραχείας και συνεπώς της μάζας των λείων μυϊκών ινών με την ωρίμανση των πειραματόζωων. Στα πειράματα αυτά, σκοπός μας ήταν να προσδιοριστεί το βέλτιστο μήκος των μυών, δηλαδή το μήκος που ασκούσαν η μέγιστη τάση. Το μήκος του

ιστού αυξανόταν προοδευτικά μετά από κάθε διέγερση έως ότου η δύναμη της ενεργού σύσπασης να φτάσει το μέγιστο. Στα ενήλικα κουνέλια το βέλτιστο μήκος αντιστοιχούσε σε εφαρμογή αρχικής τάσης ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ενώ στα άνηθα κουνέλια αντιστοιχούσε σε αρχική τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Έτσι, στο βέλτιστο μήκος υπολογίστηκε η μέγιστη τάση της ενεργού δύναμης τροποποιώντας τη μέγιστη δύναμη ως προς τη διατομή του ιστού και στη συνέχεια έγινε τροποποίηση των τιμών της ενεργού δύναμης (σύσπασης) ως προς το βάρος του ιστού.

Σε όλες τις σειρές των πειραμάτων, αμέσως μετά τη χορήγηση κάποιου διαλύματος και πριν τη χορήγηση του επόμενου, τα τμήματα της τραχείας που ήταν κρεμασμένα και ισορροπούσαν ξεπλένονταν για δέκα λεπτά από την επίδραση της ουσίας με διάλυμα Krebs.

Μετά το τέλος κάθε πειράματος τα τμήματα της τραχείας αφήνονταν να στεγνώσουν σε διηθητικό χαρτί και στη συνέχεια ζυγίζονταν. Σαν ιστός αναφοράς (control) χρησιμοποιούνταν κάθε φορά ιστός από το ίδιο ζώο, ώστε να αποφύγουμε τυχόν διαφορές που οφείλονται σε διαφορετικά ζώα.

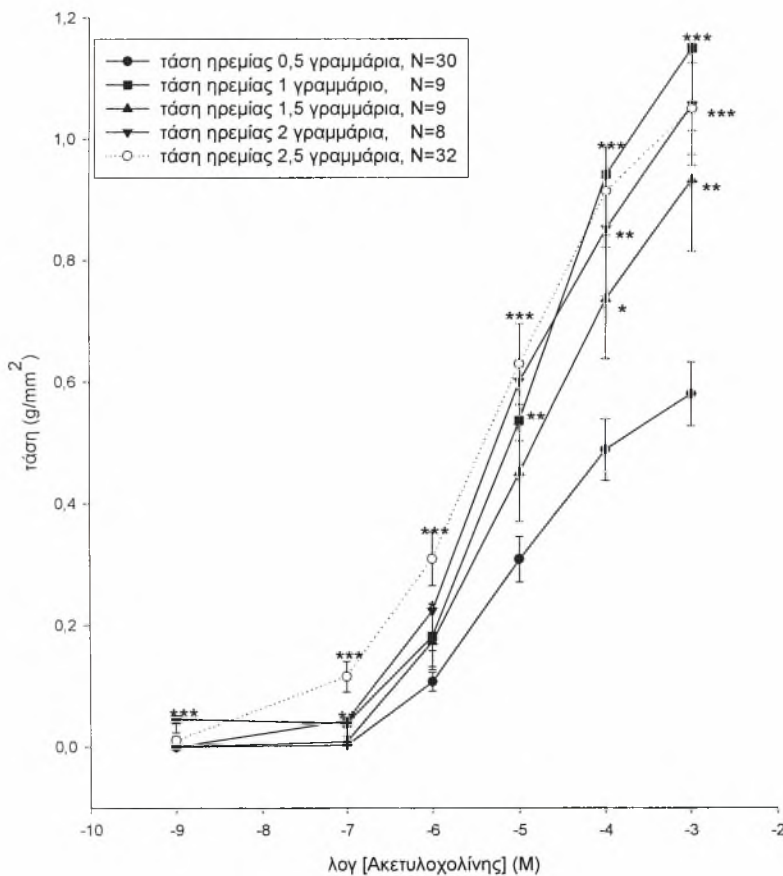
Σε ότι αφορά την παρασκευή διαλύματος ινδομεθακίνης, αυτή πρώτα διαλύοταν σε διάλυμα 0,1 M NaHCO_3 , γιατί την κατασττούσε διαλυτή στα διαλύματα της ακετυλοχολίνης.

Η στατιστική ανάλυση και τα διαγράμματα έγιναν στο πρόγραμμα Sigma Plot for Windows. Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσοι όροι \pm συστηματικό λάθος (SE) και η στατιστική σημαντικότητα καθορίστηκε με unpaired & paired t-test. Η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς καθορίστηκε όταν το p ήταν μικρότερο από 0,05. Το N αναφέρεται στον αριθμό των πειραμάτων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας ενήλικου κουνελιού.

Στα ενήλικα ζώα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 1 και στους πίνακες 1-4, η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 γραμμάρια έως και 2,5 γραμμάρια αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στην ακετυλοχολίνη.



Διάγραμμα 1. Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε ενήλικα κουνέλια (* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$).

Σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάριο, οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση στις συγκεντρώσεις

10^{-9} M ($p<0.001$) και 10^{-7} M ($p<0.01$), και 10^{-5} M ($p<0.01$) έως 10^{-3} M ($p<0.001$) ακετυλοχολίνης, σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια (διάγραμμα 1 και πίνακας 1).

Πίνακας 1. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάσεις ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 1 γραμμάριο. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 30 και 9 πειραμάτων σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 1 γραμμάριο αντίστοιχα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό | | % μεταβολή | Τιμές p |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια | Τάση ηρεμίας 1 γραμμάριο | | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 4.57±2.18 | - | p<0.001 |
| 10^{-7} | 0.27±0.18 | 3.91±2.16 | 93.04 | p<0.01 |
| 10^{-6} | 10.70±1.55 | 18.17±4.94 | 41.11 | NS |
| 10^{-5} | 30.83±3.73 | 53.59±8.88 | 42.47 | p<0.01 |
| 10^{-4} | 48.80±5.05 | 94.15±11.9 | 48.16 | p<0.001 |
| 10^{-3} | 57.96±5.23 | 115.01±13.65 | 50.40 | p<0.001 |

Σε τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση στις συγκεντρώσεις 10^{-4} M έως 10^{-3} M ακετυλοχολίνης ($p<0.05$), σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 1 και στον πίνακα 2.

Σε τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση στις συγκεντρώσεις 10^{-5} M έως 10^{-3} M ακετυλοχολίνης ($p<0.01$), σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια (διάγραμμα 1 και πίνακας 3).

Πίνακας 2. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάσεις ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 1,5 γραμμάρια. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 30 και 9 πειραμάτων σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 1,5 γραμμάρια αντίστοιχα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό | | % μεταβολή | Τιμές p |
|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια | Τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια | | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 | |
| 10^{-7} | 0.27±0.18 | 0.85±0.85 | 68.03 | NS |
| 10^{-6} | 10.70±1.55 | 17.28±4.58 | 38.07 | NS |
| 10^{-5} | 30.83±3.73 | 45.02±7.98 | 31.51 | NS |
| 10^{-4} | 48.80±5.05 | 73.61±9.82 | 33.70 | p<0,05 |
| 10^{-3} | 57.96±5.23 | 93.32±11.84 | 37.89 | p<0,01 |

Πίνακας 3. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάσεις ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2 γραμμάρια. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 30 και 8 πειραμάτων σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2 γραμμάρια αντίστοιχα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό | | % μεταβολή | Τιμές p |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια | Τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια | | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 | |
| 10^{-7} | 0.27±0.18 | 4.33±3.19 | 93.7 | p<0.01 |
| 10^{-6} | 10.70±1.55 | 22.35±6.51 | 52.12 | p<0.01 |
| 10^{-5} | 30.83±3.73 | 60.06±9.77 | 48.66 | p<0.01 |
| 10^{-4} | 48.80±5.05 | 85.20±11.18 | 57.27 | p<0.01 |
| 10^{-3} | 57.96±5.23 | 105.7±9.99 | 45.16 | p<0.001 |

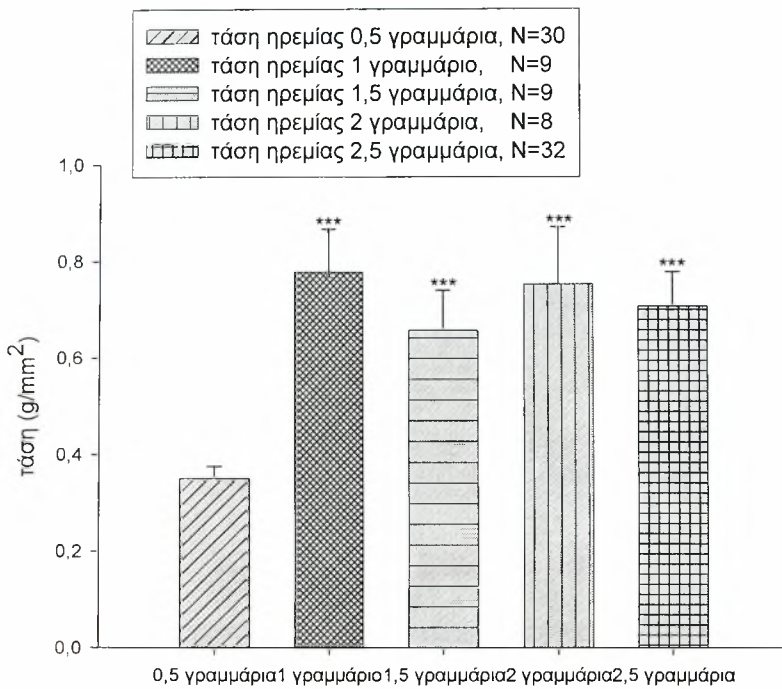
Σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση στις συγκεντρώσεις 10^{-7} Μ έως 10^{-3} Μ ακετυλοχολίνης ($p < 0.001$), συγκρινόμενες με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια (διάγραμμα 1 και πίνακας 4).

Πίνακας 4. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάσεις ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2,5 γραμμάρια. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 30 και 32 πειραμάτων σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2,5 γραμμάρια αντίστοιχα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό | | % μεταβολή | Τιμές p |
|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια | | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 1.07±0.55 | - | - |
| 10^{-7} | 0.27±0.18 | 11.56±2.51 | 97.64 | p<0.001 |
| 10^{-6} | 10.70±1.55 | 30.90±4.39 | 65.37 | p<0.001 |
| 10^{-5} | 30.83±3.73 | 62.90±6.64 | 51.00 | p<0.001 |
| 10^{-4} | 48.80±5.05 | 91.39±7.26 | 46.5 | p<0.001 |
| 10^{-3} | 57.96±5.23 | 105.00±7.60 | 45.00 | p<0.001 |

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αυξήσεις των συσπάσεων που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 1,5, 2 και 2,5 γραμμάρια, συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάριο, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 1 .

Η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 γραμμάρια έως και 2,5 γραμμάρια στα ενήλικα ζώα, αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στο χλωριούχο κάλιο όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2 και στον πίνακα 5.



Διάγραμμα 2. Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στο χλωριούχο κάλιο (80Mm) σε ενήλικα κουνέλια (***) $p < 0.001$).

Οι συσπάσεις που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάριο παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια ($p < 0.001$). Οι συσπάσεις αυτές ήταν 2,21 φορές μεγαλύτερες από τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Δεν υπήρξε περαιτέρω αύξηση των συσπάσεων που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο σε τάση ηρεμίας 1,5 ή 2 ή 2,5 γραμμάρια.

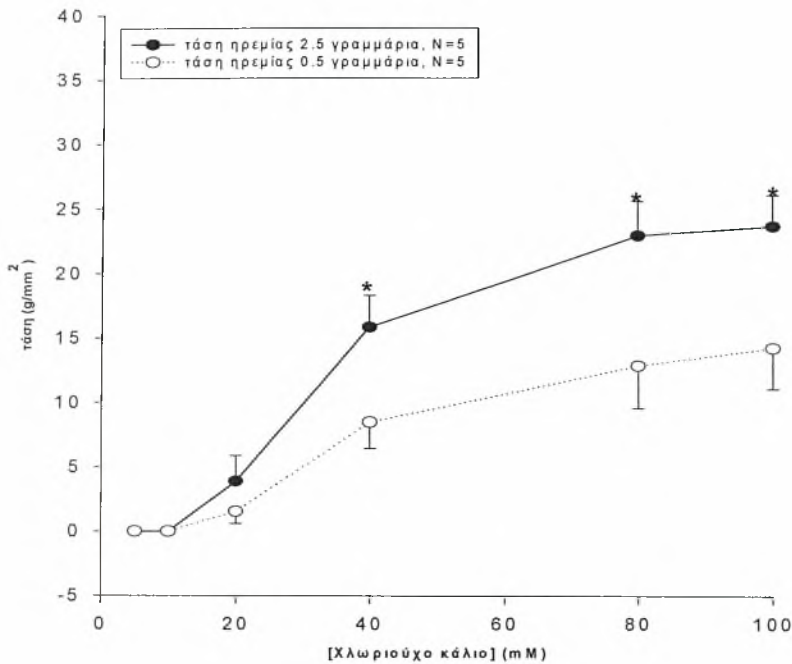
Οι συσπάσεις που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο σε τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια ήταν 1,88 φορές μεγαλύτερες από τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Οι συσπάσεις σε τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια, ήταν 2,14 φορές μεγαλύτερες από τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5

γραμμάρια. Οι συσπάσεις σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ήταν 2 φορές μεγαλύτερες από τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια.

Πίνακας 5. Η δράση διαλύματος χλωριούχου καλίου 80 mM σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού στις διαφορετικές τάσεις ηρεμίας. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος πειραμάτων (***) $p < 0,001$

| Συγκέντρωση η Χλωριούχου Καλίου (Mm) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | | | |
|--|---|--|--|--|---|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια N=30 | Τάση ηρεμίας 1 γραμμάρια N=9 | Τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια N=9 | Τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια N=8 | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια N=32 |
| 80 | 35.06±2.4 9 | 77.81±8.87** * | 65.74±8.30** * | 75.26±11.90** * | 70.72±7.14** * |

Στα ενήλικα ζώα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 3 και στον πίνακα 6, η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 γραμμάρια έως και 2,5 γραμμάρια αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στο χλωριούχο κάλιο. Οι συσπάσεις που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια στη συγκέντρωση 80 mM χλωριούχου καλίου είναι 1,66 φορές μεγαλύτερες σε σχέση με τις συσπάσεις που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια στη συγκέντρωση 80 mM χλωριούχου καλίου. Στη συγκέντρωση 100 mM χλωριούχου καλίου οι συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια είναι 1,45 φορές μεγαλύτερες σε σχέση με τις συσπάσεις που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια στη συγκέντρωση 80 mM χλωριούχου καλίου.

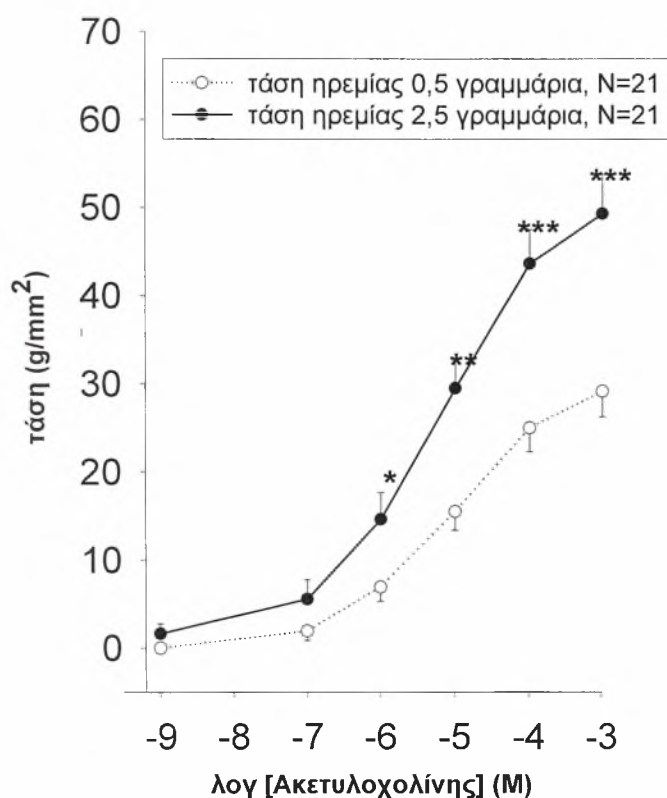


Διάγραμμα 3. Επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών ενήλικου κουνελιού στο χλωριούχο κάλιο.

Πίνακας 6. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων χλωριούχου καλίου σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάσεις ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2,5 γραμμάρια. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 5 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2,5 γραμμάρια (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Χλωριούχου Καλίου (mM) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια | |
| 10 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 20 | 0.8±0.8 | 1.54±0.94 | (NS) |
| 40 | 8.47±2.02 | 15.84±2.47 | p<0,05 |
| 80 | 14.23±3.15 | 23.67±2.41 | p<0,05 |
| 100 | 18.42±2.03 | 26.78±2.63 | p<0,05 |

Παρομοίως με τη δράση του χλωριούχου καλίου η ακετυλοχολίνη επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στα ενήλικα ζώα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4 και στον πίνακα 7, οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένες, συγκρινόμενες με τις συσπάσεις που προκαλεί αυτή σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια.



Διάγραμμα 4. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 και 2,5 γραμμάρια (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

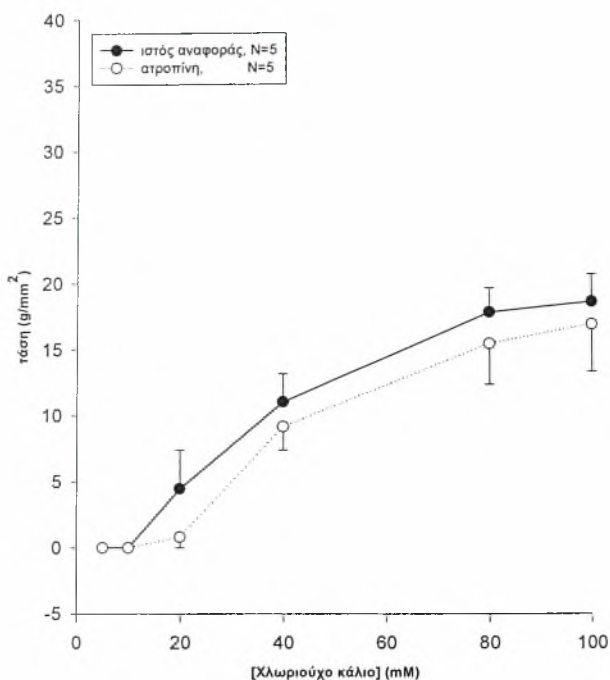
Πιο συγκεκριμένα, οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια ήταν 2,1 φορές μεγαλύτερες από τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια σε συγκέντρωση 10^{-6} M ακετυλοχολίνης ($p < 0,05$).

Πίνακας 7. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάσεις ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2,5 γραμμάρια. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 21 πειραμάτων. (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό | | % μεταβολή | Τιμές p |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια | | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 1.65±1.12 | - | NS |
| 10^{-7} | 1.94±1.07 | 5.55±2.20 | 65.04 | NS |
| 10^{-6} | 6.91±1.60 | 14.60±3.05 | 52.68 | p<0.05 |
| 10^{-5} | 15.47±2.14 | 29.47±3.14 | 47.5 | p<0.01 |
| 10^{-4} | 24.98±2.72 | 43.65±3.87 | 42.78 | p<0.001 |
| 10^{-3} | 29.13±2.93 | 49.32±4.50 | 40.94 | p<0.001 |

Σε συγκέντρωση 10^{-5} M ακετυλοχολίνης (p<0.01), οι συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια ήταν 1,9 φορές μεγαλύτερες από τις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Στη συγκέντρωση 10^{-4} M και στη συγκέντρωση 10^{-3} M ακετυλοχολίνης (p<0.001), οι συσπάσεις ήταν 1,7 φορές μεγαλύτερες σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Παρουσία διαλύματος 10^{-3} M ατροπίνης σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 5 και στον πίνακα 8, δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στις συσπάσεις που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο στις ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού.

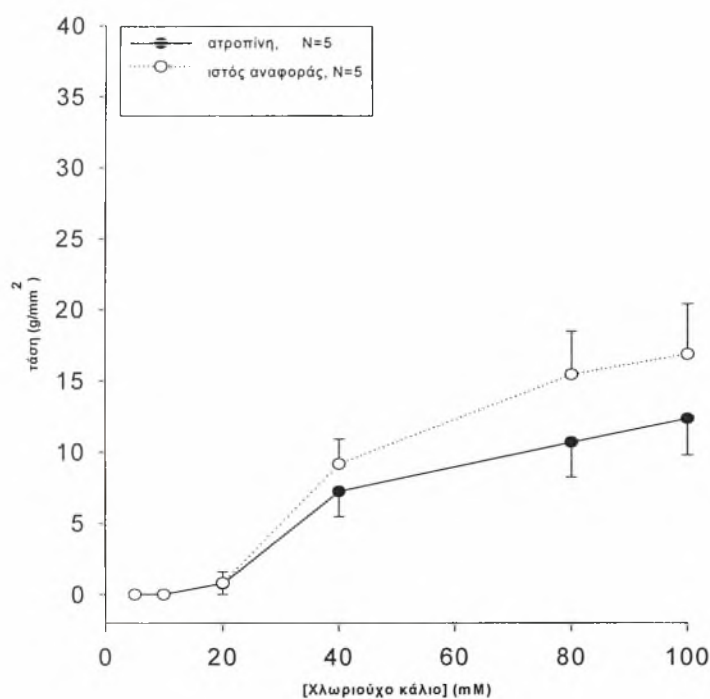


Διάγραμμα 5. Επίδραση της ατροπίνης στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στο χλωριούχο κάλιο σε ενήλικα κουνέλια, σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια.

Πίνακας 8. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων χλωριούχου καλίου σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Η σύσπαση προκαλείται από χλωριούχο κάλιο παρουσία ή όχι ατροπίνης σε συγκέντρωση 10^{-3} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 5 πειράματα σε τάση ηρεμίας 0.5 γραμμάρια παρουσία ή απουσία ατροπίνης. (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Χλωριούχου Καλίου (mM) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|------------------------------------|---|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια παρουσία ατροπίνης | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια απουσία ατροπίνης (ιστός αναφοράς) | |
| 10 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 20 | 0.8±0.8 | 4.46±2.94 | NS |
| 40 | 9.15±1.77 | 11.02±2.14 | NS |
| 80 | 15.44±3.07 | 17.82±1.82 | NS |
| 100 | 16.89±3.56 | 18.59±2.09 | NS |

Επιπρόσθετα η παρουσία διαλύματος 10^{-3} M ατροπίνης σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 6 και στον πίνακα 9, είχε σαν αποτέλεσμα ελάττωση των συσπάσεων, που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο στις ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική.



Διάγραμμα 6. Επίδραση της ατροπίνης στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών ενήλικου κουνελιού στο χλωριούχο κάλιο, σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Η παρουσία ατροπίνης στη συγκέντρωση 40 mM χλωριούχου καλίου προκάλεσε ελάττωση των συσπάσεων κατά 1,87 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο στη συγκέντρωση αυτή.

Στη συγκέντρωση 80 mM χλωριούχου καλίου η ατροπίνη προκάλεσε ελάττωση των συσπάσεων κατά 1,78 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο στη συγκέντρωση αυτή.

Στη συγκέντρωση 100 mM χλωριούχου καλίου η ατροπίνη προκάλεσε ελάττωση των συσπάσεων κατά 1,66 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο στη συγκέντρωση αυτή.

Πίνακας 9 .Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων χλωριούχου καλίου σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Η σύσπαση προκαλείται από χλωριούχο κάλιο παρουσία ή όχι ατροπίνης σε συγκέντρωση 10^{-3} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 5 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

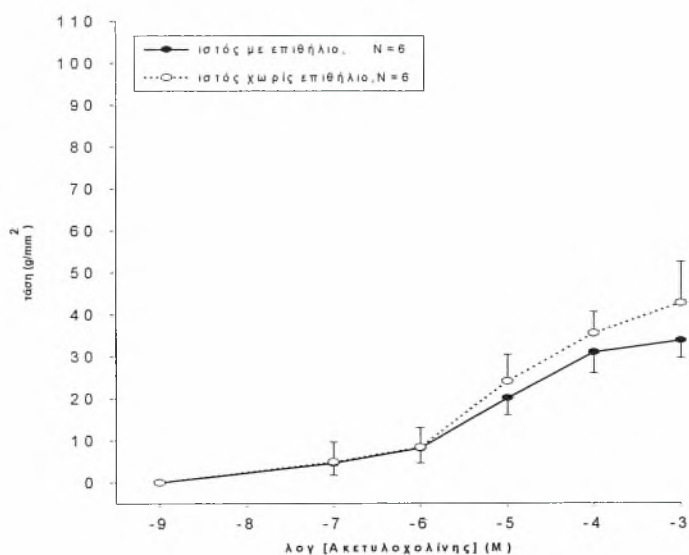
| Συγκέντρωση Χλωριούχου Καλίου (mM) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|------------------------------------|---|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία ατροπίνης | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια απουσία ατροπίνης (ιστός αναφοράς) | |
| 10 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 20 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 40 | 15.84±2.47 | 11.47±2.02 | NS |
| 80 | 22.93±2.65 | 14.85±3.28 | NS |
| 100 | 23.66±2.41 | 15.23±3.15 | NS |

Οι συσπάσεις που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο παρουσία διαλύματος 10^{-3} M ατροπίνης ήταν σημαντικά ελαττωμένες, συγκρινόμενες με τις συσπάσεις που προκαλούνται από διάλυμα 10^{-3} M ακετυλοχολίνης, σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια ή 2,5 γραμμάρια όπως φαίνεται στα διαγράμματα 5 και 6 και τους πίνακες 8 και 9.

Παρουσία διαλύματος 2×10^{-6} M βεραπαμίλης σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια ή 2,5 γραμμάρια είχε σαν αποτέλεσμα πλήρη αναστολή των συσπάσεων που προκαλούνται από το χλωριούχο κάλιο στις λείες μυϊκές ίνες της τραχείας ενήλικου κουνελιού.

2. Η επίδραση του επιθήλιου στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας ενήλικου κουνελιού.

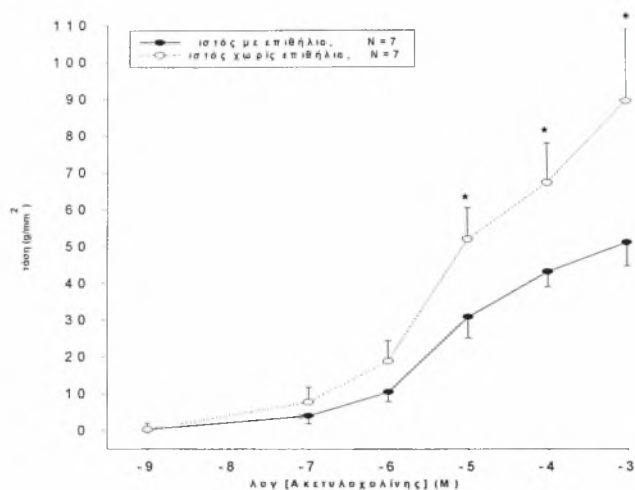
Στα ενήλικα ζώα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 7 και στον πίνακα 10, η μηχανική αφαίρεση του επιθήλιου σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, δεν είχε σαν αποτέλεσμα στατιστικά σημαντική αύξηση των συσπάσεων που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη στις ΛΜΙ της τραχείας.



Διάγραμμα 7. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια σε ιστό με και χωρίς επιθήλιο

Πίνακας 10. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια σε ιστό με και χωρίς επιθήλιο. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 6 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια σε ιστό με επιθήλιο | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια σε ιστό χωρίς επιθήλιο | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 10^{-7} | 4.62±2.85 | 4.91±4.71 | NS |
| 10^{-6} | 8.16±3.57 | 8.37±4.70 | NS |
| 10^{-5} | 20.10±4.05 | 24.12±6.33 | NS |
| 10^{-4} | 31.00±5.03 | 36.50±5.10 | NS |
| 10^{-3} | 33.85±4.21 | 42.75±9.84 | NS |



Διάγραμμα 8. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια σε ιστό με και χωρίς επιθήλιο (* $p < 0,05$).

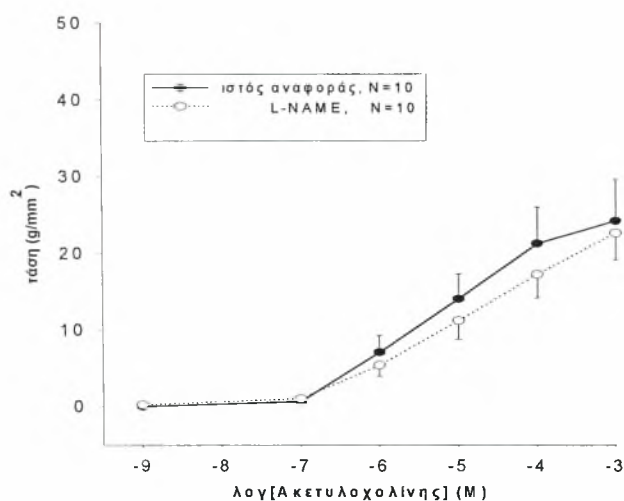
Αντίθετα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 8 και στον πίνακα 11, η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, είχε σαν αποτέλεσμα στατιστικά σημαντική αύξηση των συσπάσεων που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη στις ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού.

Πίνακας 11 .Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια σε ιστό με και χωρίς επιθήλιο. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 7 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|---|------------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια σε ιστό με επιθήλιο | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια σε ιστό χωρίς επιθήλιο | |
| 10^{-9} | 0.29±0.29 | 0.32±1.73 | NS |
| 10^{-7} | 4.03±2.05 | 7.71±4.08 | NS |
| 10^{-6} | 10.50±2.56 | 18.89±5.61 | NS |
| 10^{-5} | 30.90±5.76 | 51.93±8.55 | $p < 0.05$ |
| 10^{-4} | 43.10±4.01 | 67.14±10.67 | $p < 0.05$ |
| 10^{-3} | 50.96±6.24 | 89.21±19.43 | $p < 0.05$ |

Η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 1,68 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί συγκέντρωση 10^{-5} M ακετυλοχολίνης σε ιστό με επιθήλιο. Στη συγκέντρωση 10^{-4} M ακετυλοχολίνης, η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 1,55 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί συγκέντρωση 10^{-4} M ακετυλοχολίνης σε ιστό με επιθήλιο. Η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 1,75 φορές στη συγκέντρωση 10^{-3} M ακετυλοχολίνης σε σχέση με αυτές σε ιστό με επιθήλιο.

Στα ενήλικα ζώα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 9 και στον πίνακα 12, διάλυμα L-NAME 10^{-5} M σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας στην ακετυλοχολίνη. Στις συγκεντρώσεις 10^{-6} M μέχρι 10^{-3} M ακετυλοχολίνης, η επίδραση διαλύματος L-NAME 10^{-5} M είχε χαλαρωτική δράση στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας στην ακετυλοχολίνη, όχι όμως στατιστικά σημαντική.

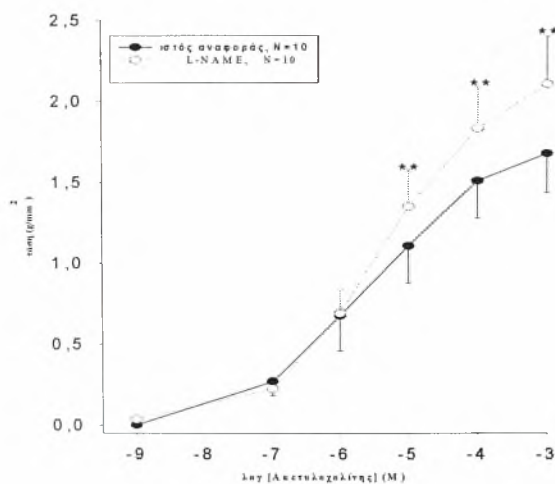


Διάγραμμα 9. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια με την παρουσία διαλύματος L-NAME 10^{-4} M.

Πίνακας 12. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Η σύσπαση προκαλείται από ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι L-NAME σε συγκέντρωση 10^{-4} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 10 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|--|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια παρουσία L-NAME | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια απουσία L-NAME (ιστός αναφοράς) | |
| 10^{-9} | 0.22±0.22 | 0.00±0.00 | NS |
| 10^{-7} | 1.03±0.45 | 0.65±0.29 | NS |
| 10^{-6} | 5.35±1.37 | 7.05±2.21 | NS |
| 10^{-5} | 11.15±2.36 | 14.00±3.27 | NS |
| 10^{-4} | 17.20±3.08 | 21.20±4.77 | NS |
| 10^{-3} | 22.57±3.49 | 24.15±5.37 | NS |

Αντίθετα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 10 και στον πίνακα 13, επίδραση διαλύματος L-NAME 10^{-5} M σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων, σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, η οποία ήταν στατιστικά σημαντική.



Διάγραμμα 10. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια με την παρουσία διαλύματος L-NAME 10^{-4} M (**p<0,01).

Στη συγκέντρωση 10^{-5} M ακετυλοχολίνης, το L-NAME προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 1,2 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί συγκέντρωση 10^{-5} M ακετυλοχολίνης στις ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού. Στη συγκέντρωση 10^{-4} M ακετυλοχολίνης, το L-NAME προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 1,22 φορές. Στη συγκέντρωση 10^{-3} M ακετυλοχολίνης, το L-NAME προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 1,25 φορές.

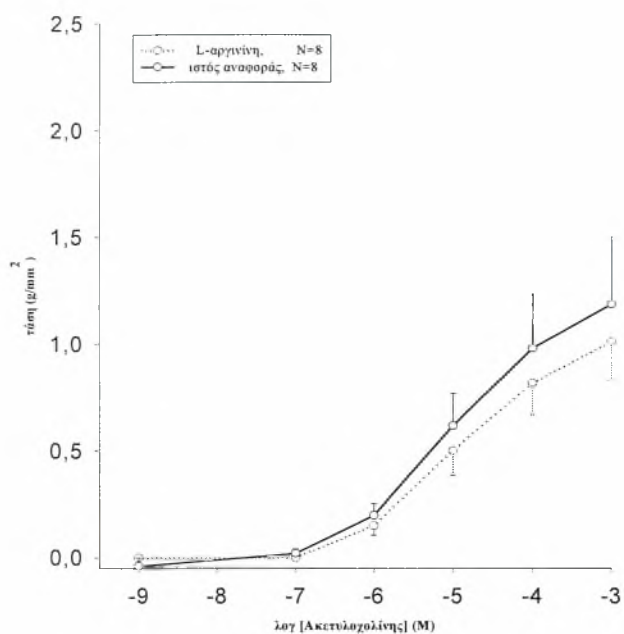
Τόσο η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου, όσο και η επίδραση του L-NAME σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, μεταφέρει την καμπύλη δόσης-απάντησης των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού προς τα αριστερά.

Πίνακας 13 .Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια .Η σύσπαση προκαλείται από Ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι L-NAME σε συγκέντρωση 10^{-4} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 13 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|--|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία L-NAME | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια απουσία L-NAME (ιστός αναφοράς) | |
| 10^{-9} | 0.01±0.06 | 0.00±0.00 | NS |
| 10^{-7} | 0.36±0.15 | 0.23±0.06 | NS |
| 10^{-6} | 0.80±0.19 | 0.58±0.17 | NS |
| 10^{-5} | 2.07±0.34 | 0.97±0.19 | p<0.01 |
| 10^{-4} | 2.91±0.43 | 1.33±0.19 | p<0.01 |
| 10^{-3} | 3.77±0.70 | 1.51±0.20 | p<0.01 |

Παρουσία διαλύματος L-αργινίνης 10^{-3} M σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 11 και στον πίνακα 14, η L-αργινίνη ασκεί χαλαρωτική δράση στην ανταποκρισιμότητα

των λείων μυϊκών ινών της τραχείας στην ακετυλοχολίνη στις συγκεντρώσεις 10^{-5} M μέχρι 10^{-3} M ακετυλοχολίνης, σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όχι όμως στατιστικά σημαντική.



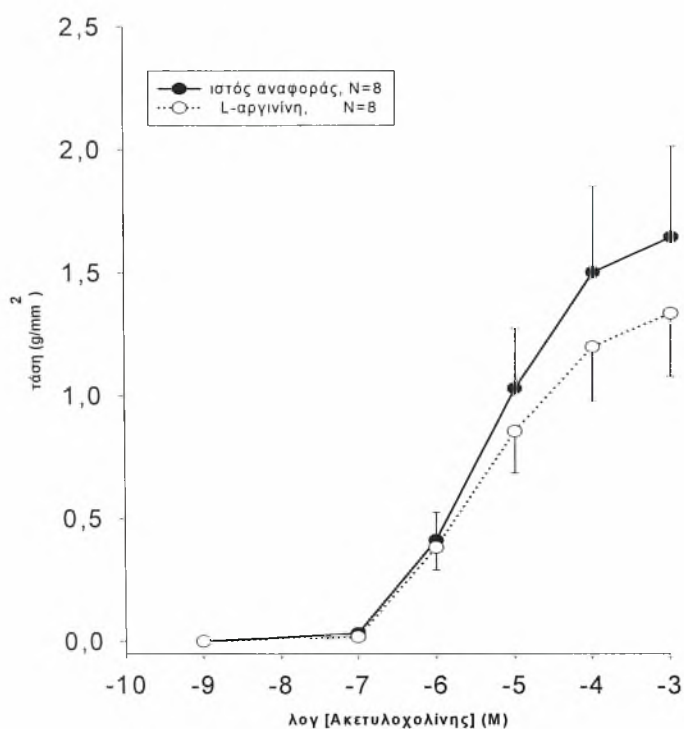
Διάγραμμα 11. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια με την παρουσία διαλύματος L-αργινίνης 10^{-3} M.

Πίνακας 14. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Η σύσπαση προκαλείται από ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι L-αργινίνης σε συγκέντρωση 10^{-3} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 8 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|---|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια παρουσία L-αργινίνης % | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια απουσία L-αργινίνης (ιστός αναφοράς) % | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | -3.89±3.89 | - |
| 10^{-7} | 0.00±0.00 | 2.06±2.06 | NS |
| 10^{-6} | 15.12±4.60 | 19.76±5.43 | NS |
| 10^{-5} | 50.09±11.53 | 61.73±15.21 | NS |
| 10^{-4} | 81.75±14.98 | 98.15±25.25 | NS |
| 10^{-3} | 101.23±18.03 | 118.77±31.55 | NS |

Παρόμοια είναι η επίδραση της L-αργινίνης σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 12 και στον πίνακα 15. Η L-αργινίνη ασκεί χαλαρωτική δράση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΠ της τραχείας στην ακετυλοχολίνη στις συγκεντρώσεις 10^{-5} M μέχρι 10^{-3} M ακετυλοχολίνης, σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, όχι όμως στατιστικά σημαντική. Στη συγκέντρωση 10^{-4} M ακετυλοχολίνης οι συσπάσεις που προκαλεί η L-αργινίνη είναι ελαττωμένες κατά 0,79 φορές συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη.

Στη συγκέντρωση 10^{-3} M ακετυλοχολίνης οι συσπάσεις που προκαλεί η L-αργινίνη είναι ελαττωμένες κατά 0,81 φορές συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη.

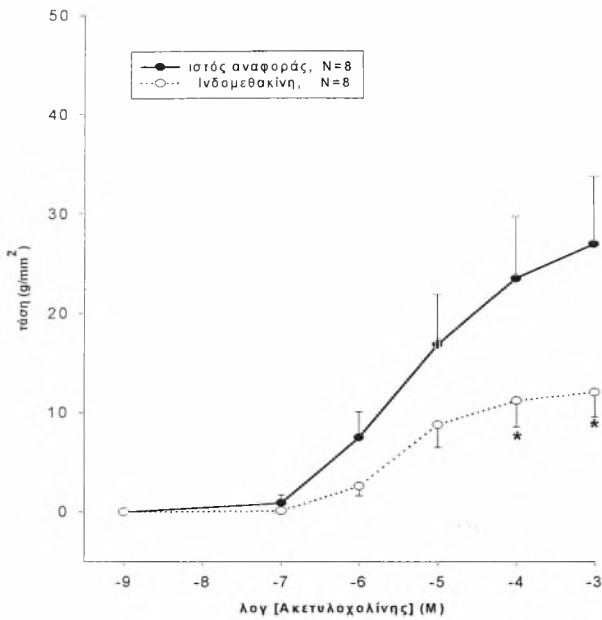


Διάγραμμα 12. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια με την παρουσία διαλύματος L-αργινίνης 10^{-3} M.

Πίνακας 15 .Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια .Η σύσπαση προκαλείται από ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι L-αργινίνης σε συγκέντρωση 10^{-3} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 8 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|---|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία L-αργινίνης % | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια απουσία L-αργινίνης (ιστός αναφοράς) % | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | - |
| 10^{-7} | 1.84±1.08 | 3.31±2.24 | NS |
| 10^{-6} | 38.12±9.15 | 41.13±11.34 | NS |
| 10^{-5} | 85.35±16.86 | 102.77±24.28 | NS |
| 10^{-4} | 119.64±22.07 | 149.90±35.02 | NS |
| 10^{-3} | 133.24±25.51 | 164.24±37.01 | NS |

Παρουσία διαλύματος ινδομεθακίνης 10^{-5} M σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 13 και στον πίνακα 16, η ινδομεθακίνη ασκεί χαλαρωτική δράση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας στην ακετυλοχολίνη, σε σύγκριση με τις συσπάσεις που προκαλεί η ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Η ινδομεθακίνη μεταφέρει την καμπύλη δόσης-απάντησης των λείων μυϊκών ινών της τραχείας ενήλικου κουνελιού προς τα δεξιά.



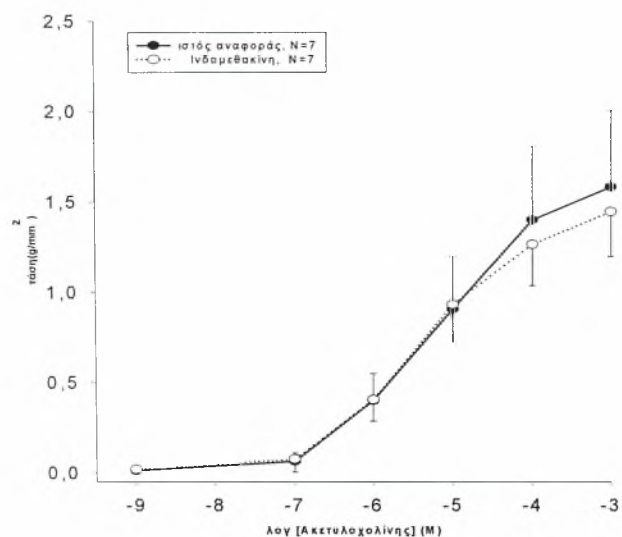
Διάγραμμα 13. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια με την παρουσία διαλύματος ινδομεθακίνης 10^{-5} M (* $p < 0,05$).

Σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, στη συγκέντρωση 10^{-4} M ακετυλοχολίνης, η ινδομεθακίνη προκάλεσε ελάττωση των συσπάσεων κατά 2,7 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί συγκέντρωση 10^{-4} M ακετυλοχολίνης στις ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού. Ομοίως, στη συγκέντρωση 10^{-3} M ακετυλοχολίνης, η ινδομεθακίνη προκάλεσε ελάττωση των συσπάσεων κατά 2,7 φορές συγκρινόμενη με τις συσπάσεις που προκαλεί συγκέντρωση 10^{-3} M ακετυλοχολίνης στις ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού.

Πίνακας 16. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια .Η σύσπαση προκαλείται από ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι ινδομεθακίνης σε συγκέντρωση 10^{-5} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 8 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|---|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια παρουσία ινδομεθακίνης % | Τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια απουσία ινδομεθακίνης (ιστός αναφοράς) % | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 10^{-7} | 1.10±1.10 | 7.87±7.11 | NS |
| 10^{-6} | 9.82±4.36 | 42.67±23.06 | NS |
| 10^{-5} | 34.44±10.00 | 85.39±33.34 | NS |
| 10^{-4} | 42.49±12.67 | 116.77±41.86 | p<0.05 |
| 10^{-3} | 48.94±12.82 | 133.07±43.49 | p<0.05 |

Αντίθετα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 14 και στον πίνακα 17, παρουσία διαλύματος ινδομεθακίνης 10^{-5} M σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη.



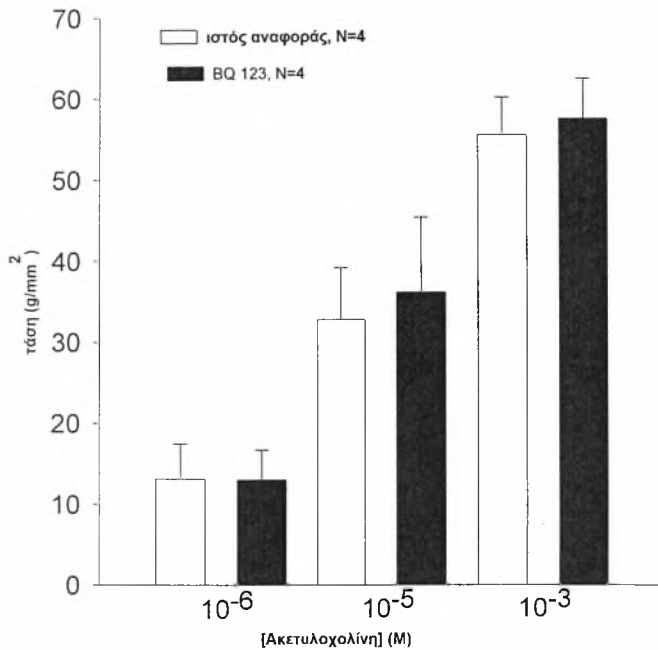
Διάγραμμα 14. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια με την παρουσία διαλύματος ινδομεθακίνης 10^{-5} M.

Πίνακας 17. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια .Η σύσπαση προκαλείται από ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι ινδομεθακίνης σε συγκέντρωση 10^{-5} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 7 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|---|---|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία ινδομεθακίνης % | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια απουσία ινδομεθακίνης (ιστός αναφοράς) % | |
| 10^{-9} | 2.09±2.09 | 1.38±1.38 | NS |
| 10^{-7} | 7.65±7.20 | 6.45±4.51 | NS |
| 10^{-6} | 40.47±11.77 | 39.95±15.08 | NS |
| 10^{-5} | 92.97±20.59 | 90.96±29.17 | NS |
| 10^{-4} | 126.28±22.91 | 139.71±40.71 | NS |
| 10^{-3} | 144.26±24.68 | 158.00±42.19 | NS |

Παρουσία του BQ-123 (ανταγωνιστής των υποδοχέων της ενδοθηλίνης -1 A), όπως φαίνεται στο διάγραμμα 15 και στον πίνακα 18, στις συγκεντρώσεις ακετυλοχολίνης, σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη.

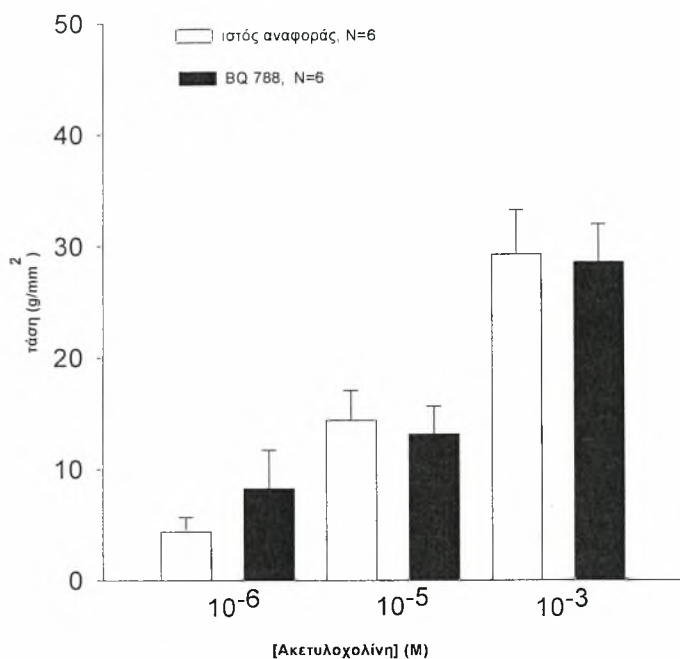
Παρόμοια ήταν και η δράση του BQ-788 (ανταγωνιστής των υποδοχέων της ενδοθηλίνης -1 B), όπως φαίνεται στο διάγραμμα 16 και στον πίνακα 19. Σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη.



Διάγραμμα 15. Επίδραση του BQ-123 στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Πίνακας 18. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Η σύσπαση προκαλείται από Ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι BQ-123 σε συγκέντρωση 3×10^{-6} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 4 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|--|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία BQ-123 | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια απουσία BQ-123 (ιστός αναφοράς) | |
| 10 ⁻⁶ | 13.00±3.68 | 13.12±4.33 | NS |
| 10 ⁻⁵ | 36.12±9.23 | 32.75±6.41 | NS |
| 10 ⁻³ | 57.50±4.88 | 55.50±4.88 | NS |



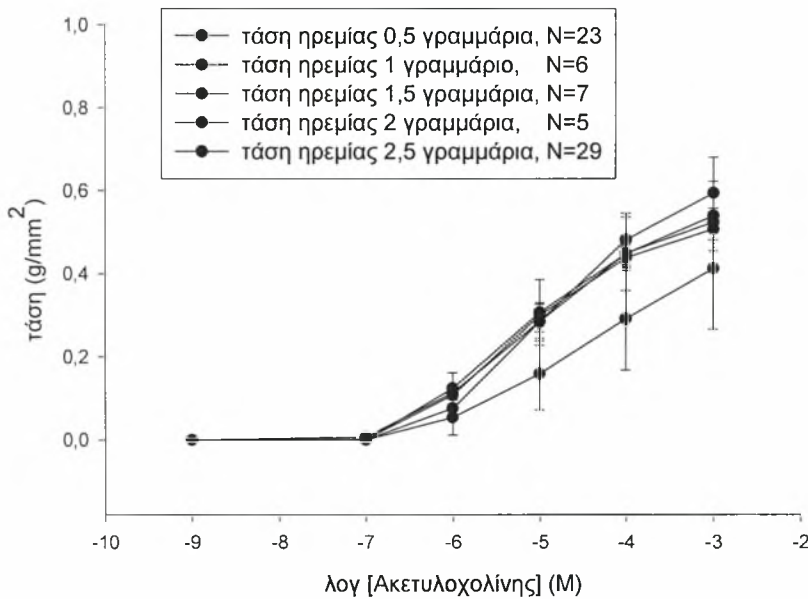
Διάγραμμα 16. Επίδραση του BQ-788 στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας ενήλικου κουνελιού στην ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Πίνακας 19. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια .Η σύσπαση προκαλείται από ακετυλοχολίνη παρουσία ή όχι BQ-788 σε συγκέντρωση 3×10^{-6} M. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 6 πειράματα (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/χιλιοστό διατομής | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|--|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια παρουσία BQ-788 | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια απουσία BQ-788 (ιστός αναφοράς) | |
| 10 ⁻⁶ | 4.37±1.30 | 8.25±3.44 | NS |
| 10 ⁻⁵ | 14.37±2.70 | 13.12±2.50 | NS |
| 10 ⁻³ | 29.20±3.96 | 28.50±3.41 | NS |

3. Η επίδραση της ηλικίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών της τραχείας κουνελιού.

Στα άνηθα ζώα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 17 και στον πίνακα 20, η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 γραμμάρια έως 2,5 γραμμάρια δεν ακολουθείται από αύξηση της ανταποκρισιμότητας των λείων μυϊκών ινών στην ακετυλοχολίνη.



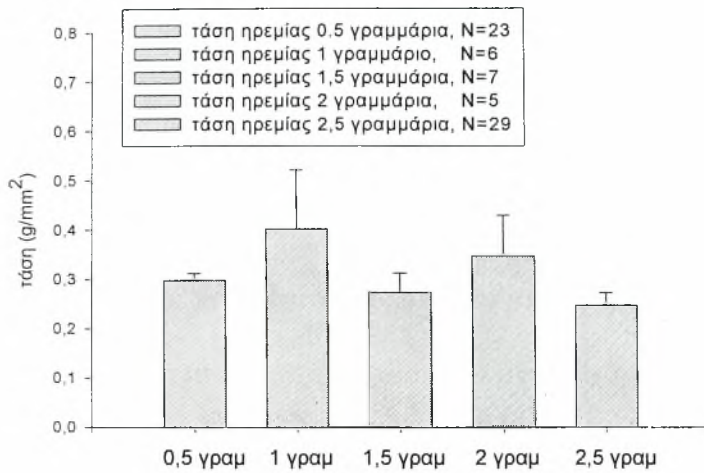
Διάγραμμα 17. Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στην ακετυλοχολίνη σε άνηθα κουνέλια.

Πιο συγκεκριμένα, σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα άνηθα κουνέλια είναι η μέγιστη και η περαιτέρω αύξηση της τάσης ηρεμίας μέχρι 2,5 γραμμάρια, δεν επιφέρει περαιτέρω αύξηση των συσπάσεων.

Πίνακας 20. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας άνηβου κουνελιού στις διαφορετικές τάσεις ηρεμίας. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος πειραμάτων (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια % | Τιμές p |
|--------------------------------|---|---------------------------------------|---|---------------------------------------|---|---------|
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | NS |
| 10^{-7} | 0.083±0.083 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.67±0.32 | NS |
| 10^{-6} | 10.71±2.07 | 5.33±4.24 | 12.33±3.75 | 7.50±2.33 | 11.30±1.70 | NS |
| 10^{-5} | 29.90±2.65 | 15.78±8.63 | 30.60±7.93 | 28.38±4.58 | 28.45±2.55 | NS |
| 10^{-4} | 43.74±3.09 | 29.00±12.31 | 44.72±8.90 | 48.06±6.45 | 44.79±2.77 | NS |
| 10^{-3} | 50.73±2.60 | 41.19±14.57 | 53.88±8.39 | 59.43±8.67 | 52.38±2.60 | NS |
| | N=23 | N=6 | N=7 | N=5 | N=29 | |

Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και με την επίδραση χλωριούχου καλίου στα άνηβα ζώα. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 18 και στον πίνακα 21, η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 γραμμάρια έως 2,5 γραμμάρια δεν ακολουθείται από αύξηση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ στο χλωριούχο κάλιο. Σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια η ανταποκρισιμότητα στο χλωριούχο κάλιο στα άνηβα κουνέλια είναι μέγιστη και δεν παράγονται περαιτέρω συσπάσεις με την αύξηση της τάσης ηρεμίας μέχρι 2,5 γραμμάρια.



Διάγραμμα 18. Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των λείων μυϊκών ινών στο χλωριούχο κάλιο σε άνηβα κουνέλια.

Πίνακας 21. Η δράση διαλύματος χλωριούχου καλίου (KCl) 80 Mm σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας άνηβου κουνελιού στις διαφορετικές τάσεις ηρεμίας. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος πειραμάτων (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Χλωριούχου Καλίου (Mm) | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 1 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 1,5 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 2 γραμμάρια % | Σύσπαση σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια % | Τιμές p |
|------------------------------------|---|---------------------------------------|---|---------------------------------------|---|---------|
| 80 Mm | 29.72±1.40 | 40.17±11.98 | 27.35±3.92 | 34.68±8.29 | 24.75±2.55 | NS |
| | N=23 | N=6 | N=7 | N=5 | N=29 | |

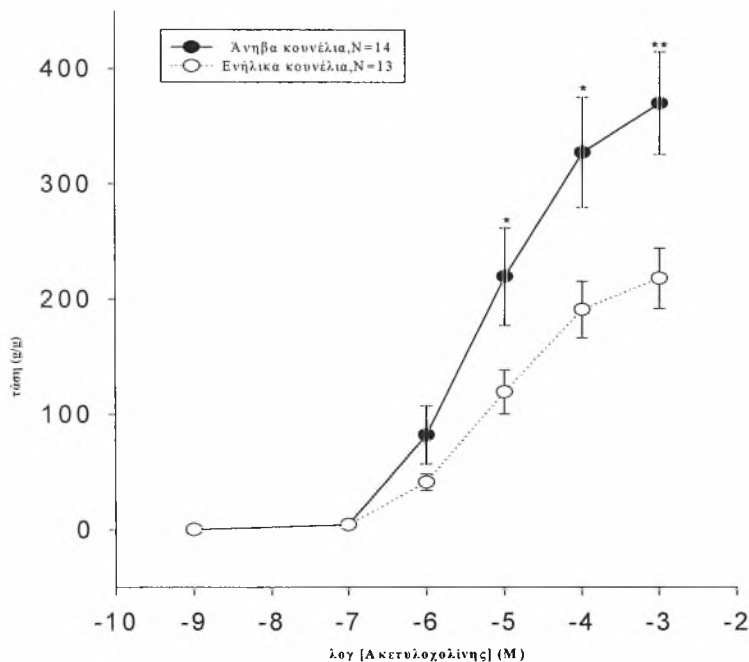
Στα ενήλικα ζώα, όπως έχει αναφερθεί και φαίνεται στα διαγράμματα 1 και 2 και στους πίνακες 1 -5, η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 έως και 2,5 γραμμάρια αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο.

Σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια δεν υπήρχαν διαφορές σε άνηβα και ενήλικα κουνέλια στις προκαλούμενες από ακετυλοχολίνη συσπάσεις όπως φαίνεται στα διαγράμματα 1 και 17 και στους πίνακες 1 και 20. Αντίθετα σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια η ακετυλοχολίνη προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση των συσπάσεων στα ενήλικα ζώα. Πιο συγκεκριμένα, σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, η ισομετρική δύναμη που αναπτύχθηκε στις λείες μυϊκές ίνες της τραχείας άνηβου κουνελιού από την ακετυλοχολίνη στη συγκέντρωση 10^{-7} M, ήταν $0,67 \pm 0,32$ gr/mm² (N=29), ενώ η αντίστοιχη δύναμη που αναπτύχθηκε σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια και σε συγκέντρωση 10^{-7} M ακετυλοχολίνης στις λείες μυϊκές ίνες της τραχείας ενήλικου κουνελιού, ήταν $11,56 \pm 2,51$ gr/mm² (N=32) ($p < 0,001$). Δηλαδή σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, η ακετυλοχολίνη σε συγκέντρωση 10^{-7} M προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα ενήλικα ζώα, συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλεί στα άνηβα ζώα, κατά 17,25 φορές. Ομοίως, σε συγκέντρωση 10^{-6} M προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα ενήλικα ζώα κατά 2,73 φορές. Σε συγκέντρωση 10^{-5} M προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα ενήλικα ζώα κατά 2,21 φορές. Σε συγκέντρωση 10^{-4} M προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 2,04 φορές. Σε συγκέντρωση 10^{-3} M προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων κατά 2 φορές.

Σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια το χλωριούχο κάλιο προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση των συσπάσεων στα ενήλικα ζώα, συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλεί στα άνηβα ζώα, όπως φαίνεται στα διαγράμματα 2 και 18 και στους πίνακες 5 και 21. Πιο συγκεκριμένα, σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, η ισομετρική δύναμη που αναπτύχθηκε στις λείες μυϊκές ίνες της τραχείας άνηβου κουνελιού από το χλωριούχο κάλιο, ήταν $24,75 \pm 2,55$ gr/mm² (N=29), ενώ η αντίστοιχη δύναμη που αναπτύχθηκε σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια στις λείες μυϊκές ίνες της τραχείας ενήλικου κουνελιού, ήταν $70,72 \pm 7,14$ gr/mm² (N=32), ($p < 0,001$). Το χλωριούχο

κάλιο προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα ενήλικα ζώα, συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλεί στα άνηθα ζώα, κατά 2,85 φορές.

Σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, όταν η μέγιστη ενεργός δύναμη που αναπτύσσεται στο τμήμα της τραχείας εκφραστεί σαν τάση σε γραμμάρια ανά βάρος ξηραμένου ιστού, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 19 και στον πίνακα 22, τότε οι συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη, με την ωρίμανση της ηλικίας από τα άνηθα στα ενήλικα κουνέλια, ελαττώνονται στατιστικά σημαντικά ($p < 0,05$).



Διάγραμμα 19. Καμπύλη δόσης-απάντησης ακετυλοχολίνης σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις από 10^{-9} M έως 10^{-3} M σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας άνηθου και ενήλικου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

Πίνακας 22. Η δράση των αυξανόμενων συγκεντρώσεων ακετυλοχολίνης σε λείες μυϊκές ίνες τραχείας ενήλικου και άνηβου κουνελιού σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος από 14 πειράματα στα άνηβα κουνέλια και από 13 πειράματα στα ενήλικα κουνέλια (NS: μη στατιστικά σημαντικό).

| Συγκέντρωση Ακετυλοχολίνης (M) | Τάση Γραμμάρια/ γραμμάρια | | Τιμές p |
|--------------------------------|--|--|---------|
| | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια σε τραχεία άνηβου κουνελιού | Τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια σε τραχεία ενήλικου κουνελιού | |
| 10^{-9} | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00 |
| 10^{-7} | 3.96±3.07 | 4.12±2.77 | NS |
| 10^{-6} | 81.96±25.20 | 40.97±7.23 | NS |
| 10^{-5} | 219.41±42.26 | 119.29±19.00 | p<0.05 |
| 10^{-4} | 327.25±103.62 | 190.80±24.58 | p<0.05 |
| 10^{-3} | 370.24±44.53 | 218.11±26.30 | p<0.01 |

Σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, η ακετυλοχολίνη σε συγκέντρωση 10^{-5} M προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα άνηβα ζώα, συγκριτικά με τις συσπάσεις που προκαλεί στα ενήλικα ζώα κατά 1,83 φορές, όταν αυτές είναι εκφρασμένες σε γραμμάρια ανά βάρος ξηραμένου ιστού.

Σε συγκέντρωση 10^{-4} M η ακετυλοχολίνη προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα άνηβα ζώα 1,71 φορές. Σε συγκέντρωση 10^{-3} M η ακετυλοχολίνη προκάλεσε αύξηση των συσπάσεων στα άνηβα ζώα κατά 1,7 φορές, όταν αυτές είναι εκφρασμένες σε γραμμάρια ανά βάρος ξηραμένου ιστού.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η μεταβολή της αρχικής τάσης ηρεμίας από 0.5 γραμμάρια σε 2.5 γραμμάρια, επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ σε συσπαστικούς παράγοντες στα ενήλικα κουνέλια. Η τάση ηρεμίας είναι σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας σε συσπαστικούς παράγοντες, επειδή δρα μεταβάλλοντας το μήκος του ιστού (67,117). Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας στα ενήλικα ζώα, η τάση ηρεμίας επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο, καθώς η αύξηση της από 0,5 γραμμάρια σε 2,5 γραμμάρια προκαλεί αύξηση της ανταποκρισιμότητας. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με αυτά μελετών σε τραχεία χοίρου (88) και σε βρόγχους ανθρώπου (183). Σε κουνέλια επίσης, έχει δειχθεί, ότι η τάση ηρεμίας επηρεάζει τις συσπάσεις που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη (54). Η επίδραση της τάσης ηρεμίας και του αρχικού μήκους του ιστού στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ σε συσπαστικούς παράγοντες έχει περιγραφεί σε κουνέλια και σε βρόγχους ανθρώπου όπου παρατηρήθηκε αύξηση της ανταποκρισιμότητας με την αύξηση της αρχικής τάσης ηρεμίας (127,145). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε μελέτες που διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ του μήκους του μυός και της τάσης ηρεμίας στις ΛΜΙ (3,68,69,70). Η συμπεριφορά των ΛΜΙ που καθορίζεται από την σχέση αυτή, μεταβάλλεται ανάλογα με το ερέθισμα που εφαρμόζεται σε αυτές (8,26). Έτσι εφαρμογή ηλεκτρικού ερεθίσματος έχει σαν αποτέλεσμα διαφορετική επίδραση στη σύσπαση των λείων μυών (89). Αυτό επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} και της φωσφοριλίωσης της ελαφριάς αλυσού της μυοσίνης μετά από ηλεκτρικό ερέθισμα καθώς και της ενεργοποίησης υποδοχέων στα λεία μυϊκά κύτταρα (3,121).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών εξαρτάται από τον συσπαστικό παράγοντα που χρησιμοποιείται και από τον μηχανισμό δράσης του. Στην παρούσα μελέτη οι συσπαστικοί παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ σε συνάρτηση με την τάση ηρεμίας ήταν η ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο. Η ακετυλοχολίνη δρα στους μουσκαρινικούς υποδοχείς προκαλώντας σύσπαση: α)μέσω της ενεργοποίησης του Ca^{2+} από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες β)μέσω της εισόδου Ca^{2+} από τον εξωκυττάριο χώρο ενεργοποιώντας διαύλους Ca^{2+} και γ)από την ενεργοποίηση υποδοχέων υπεύθυνων για τους διαύλους ασβεστίου στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης (16).

Το χλωριούχο κάλιο προκαλεί σύσπαση στις ΛΜΙ δρώντας με διαφορετικό τρόπο από αυτόν της ακετυλοχολίνης. Απελευθερώνει ακετυλοχολίνη από μεταγαγγλιακούς νευρώνες και ενεργοποιεί τους τάση-εξαρτημένους διαύλους Ca^{2+} που εντοπίζονται πάνω στα λεία μυϊκά κύτταρα, επιτρέποντας την είσοδο Ca^{2+} στο κύτταρο (90). Στα ενήλικα κουνέλια η τάση ηρεμίας δεν φαίνεται να επηρεάζει το ποσοστό της σύσπασης που οφείλεται στην απελευθέρωση ακετυλοχολίνης λόγω της επίδρασης χλωριούχου καλίου. Για τον λόγο αυτό, δεν μπορούμε να εκτιμήσουμε την επίδραση της τάσης ηρεμίας στην απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης, που οφείλεται στο χλωριούχο κάλιο.

Η παρουσία ατροπίνης επιφέρει ελάττωση των συσπάσεων που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο τόσο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όσο και στις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Η ατροπίνη ανταγωνίζεται τη δράση του παρασυμπαθητικού νευροδιαβιβαστή της ακετυλοχολίνης στους μουσκαρινικούς υποδοχείς. Η δράση της στις ΛΜΙ είναι έμμεση. Οι μεταγαγγλιακές ίνες του ιστού παραμένουν ανέπαφες και η εκπόλωση που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο επιφέρει

έμμεση εκπόλωση στις μεταγαγγλιακές ίνες. Η αύξηση της τάσης ηρεμίας από 0,5 σε 2,5 γραμμάρια επηρεάζει την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης από το χλωριούχο κάλιο. Δεν υπήρχαν διαφορές στις συσπάσεις που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο παρουσία ατροπίνης σε τάση ηρεμίας 0,5 και 2,5 γραμμάρια. Η μεταβολή αυτή της τάσης ηρεμίας δεν φαίνεται να επιδρά στο μη χολινεργικό σύστημα της πρόκλησης συσπάσεων από το χλωριούχο κάλιο, παρά μόνο στο χολινεργικό σύστημα.

Η επίδραση της τάσης ηρεμίας στο επιθήλιο των ΛΜΙ των αεραγωγών διερευνήθηκε με πειράματα που εκτελέστηκαν παράλληλα σε ιστοτεμάχια τραχείας ενήλικου κουνελιού με επιθήλιο και χωρίς επιθήλιο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια και 2,5 γραμμάρια. Σύμφωνα με αυτά η αφαίρεση του επιθηλίου επηρέασε την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ της τραχείας μόνο σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ενώ δεν είχε καμία επίδραση στις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με μελέτες σε κουνέλια που δείχνουν την ίδια επίδραση της τάσης ηρεμίας στο ρυθμιστικό ρόλο του επιθηλίου (63). Καθώς η μηχανική αφαίρεση του επιθηλίου σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια δεν είχε καμία επίδραση στις συσπάσεις που προκαλούνται από ακετυλοχολίνη, η πηγή της ενδογενούς παραγωγής προστανοειδών φαίνεται να είναι άλλη από το επιθήλιο. Ο χόνδρος των αεραγωγών είναι πιθανώς αυτή η πηγή. Μελέτες σε ινδικά χοιρίδια έδειξαν ότι η θρομβοξάνη έχει κάποιο ρόλο στις συσπάσεις που δεν εξαρτώνται από το επιθήλιο (54,55) καθώς και ο χόνδρος των αεραγωγών είναι πηγή ικανοποιητικού αριθμού προστανοειδών (138).

Καθώς τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών είναι ικανά να συνθέτουν μια ποικιλία βιολογικά ενεργών ουσιών ερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της τάσης ηρεμίας στην ενδοθηλίνη, στο οξείδιο του αζώτου (NO) και στα προϊόντα της κυκλοοξυγενάσης. Στα κουνέλια η ενδογενής πηγή του NO φαίνεται να είναι το επιθήλιο,

αφού φάνηκε ότι το επιθηλίο συνθέτει NO, το οποίο είναι σημαντικό στη ρύθμιση της λειτουργίας των ΛΜΙ. Το ανασταλτικό μη αδρενεργικό μη χολινεργικό σύστημα (NANC) έχει αποδειχθεί ότι δεν χρησιμοποιεί ως νευροδιαβιβαστή το NO στους αεραγωγούς των κουνελιών (4,7). Υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ειδών όσον αφορά τη ρύθμιση της λειτουργίας των αεραγωγών από το ενδογενώς παραγόμενο NO.

Στους αεραγωγούς, τα επιθηλιακά κύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν ενδοθηλίνη (78). Η ενδοθηλίνη-1 (ET-1) διαμορφώνει την ενεργητικότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών διαμέσου της ενεργοποίησης συγκεκριμένων υποδοχέων ενδοθηλίνης A (ETA) και B (ETB), όπως έδειξαν μελέτες σε κουνέλια (25,168,188). Έτσι, η ET-1 προκαλεί σύσπαση των ΛΜΙ της τραχείας άμεσα ή έμμεσα διευκολύνοντας την νευρομεταβίβαση του παρασυμπαθητικού συστήματος. Με σκοπό να ερευνηθεί η πιθανή συμμετοχή της απελευθερούμενης ενδοθηλίνης-1 (ET-1) στην αύξηση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ των αεραγωγών σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια επιδράσαμε στα ιστοτεμάχια της τραχείας με τους ανταγωνιστές των ETA και ETB υποδοχέων BQ-123 και BQ-788 αντίστοιχα. Παρά το γεγονός ότι κάποιες μελέτες που έγιναν σε καρδιά (22,30) και αγγεία (25,189) δείχνουν ότι η τάση μπορεί να ρυθμίσει την απελευθέρωση και την λειτουργία της ενδοθηλίνης-1 (ET-1), παρόμοιες μελέτες δεν έχουν γίνει στους αεραγωγούς. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η απελευθερούμενη ET-1 δεν έχει ρόλο στην αύξηση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ της τραχείας σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Η παρουσία του αναστολέα της συνθάσης του NO, L-NAME συνέβαλλε στην αύξηση των συσπάσεων που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Το L-NAME δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Η παρουσία της πρόδρομης ουσίας του NO, L-αργινίνης δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στις συσπάσεις που προκαλούνται από την

ακετυλοχολίνη σε καμία από τις δύο τάσεις ηρεμίας. Συνεπώς δεν μεταβάλλει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ ούτε σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, ούτε σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Η ενδογενής παραγωγή NO φαίνεται να εξαρτάται από την τάση ηρεμίας και είναι υπεύθυνη (όχι ολοκληρωτικά αλλά σε μεγάλο βαθμό) για την αύξηση των συσπάσεων που προκαλούνται από την ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, στα πειράματα με αφαίρεση του επιθηλίου. Το επιθήλιο έχει την ικανότητα να συνθέτει NO, που είναι σημαντικός παράγοντας για την ρύθμιση της λειτουργίας των ΛΜΙ των αεραγωγών, όπως έδειξαν μελέτες σε κουνέλια (63). Αποτελέσματα σε *in vivo* μελέτες έδειξαν ότι η διατασιμότητα μπορεί να διεγείρει την παραγωγή NO στους αεραγωγούς (5,8). Αύξηση της ενεργού τάσης του αναπνευστικού συστήματος προκαλεί ταλαντώσεις κατά την διάρκεια υψηλής συχνότητας αερισμού και είναι υπεύθυνη για την αυξημένη παραγωγή NO (64,65,69). Μελέτες σε ενδοθηλιακά κύτταρα έδειξαν ότι οι μηχανικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση της ενεργοποίησης του ισοτύπου του ενδοθηλιακού τύπου (e-NOS ή NOS-III) της συνθάσης του NO (NOS) (48). Στα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών εκφράζεται ο ισοτύπος e-NOS, όπως έδειξαν μελέτες σε κουνέλια (125). Θα πρέπει βέβαια να ερευνηθεί η πιθανή επίδραση της διατασιμότητας στην ενεργοποίηση της e-NOS. Παρόλα αυτά, σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η τάση ηρεμίας δεν είχε καμία επίδραση στην ενδογενή παραγωγή NO στα ενήλικα ζώα αφού το L-NAME και η L-αργινίνη δεν είχαν καμία επίδραση.

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η ενδογενής παραγωγή προστανοειδών επηρεάζει την βασική τάση των ΛΜΙ των αεραγωγών και την ένταση των συσπάσεων κατά την ανάπτυξη ενεργού τάσης (7,33,47,55,108). Κάποιες άλλες μελέτες έδειξαν ότι η ενδογενής παραγωγή προστανοειδών διεγείρει την παραγωγή προσταγλανδινών (151). Σε επιθηλιακά κύτταρα η τασεο-εξαρτώμενη αναστολή της σύνθεσης

προστανοειδών έχει μελετηθεί σε γάτες και ανθρώπους και οφείλεται στην απενεργοποίηση της δράσης της κυκλο-οξυγενάσης (140).

Για τον λόγο αυτό τα ιστοτεμάχια της τραχείας επώαστηκαν με ινδομεθακίνη, έναν αναστολέα της κυκλο-οξυγενάσης. Η ινδομεθακίνη δεν είχε καμία επίδραση σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια στις συσπάσεις που προκαλούνται από ακετυλοχολίνη (βέλτιστο μήκος), ενώ σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια προκάλεσε την ελάττωση των συσπάσεων.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μας η ωρίμανση της ηλικίας από τις 4 στις 8 εβδομάδες απαιτεί αυξανόμενη τάση μέχρι να επιτευχθεί το βέλτιστο μήκος. Για να προσδιορισθεί η αρχική τάση ηρεμίας στην οποία θα υπήρχε το βέλτιστο μήκος του ιστού, μελετήθηκε η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ τραχείας κουνελιών στην ακετυλοχολίνη σε διαφορετικές τιμές αρχικής τάσης ηρεμίας (0,5 έως 2,5 γραμμάρια) και στις δύο ηλικίες. Στα ενήλικα κουνέλια το βέλτιστο μήκος επιτεύχθηκε σε αρχική τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ενώ στα άνηθα σε αρχική τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια. Αφού τα ιστοτεμάχια της τραχείας είχαν το ίδιο πλάτος και στις δύο ηλικίες, αυτή η διαφορά στα αποτελέσματα μπορεί να οφείλεται σε δομικές διαφορές του ιστού. Μικρότερο ποσοστό χόνδρου στο τοίχωμα της τραχείας στα άνηθα κουνέλια θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιο ευένδοτους αεραγωγούς. Υπάρχουν δομικές διαφορές σε ανάλογα ανατομικά τμήματα των αεραγωγών άνηβων και ενήλικων κουνελιών που μπορεί να επηρεάσουν τη σύσπαση των αεραγωγών τους (31,88,186).

Η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών σε διάφορα ερεθίσματα ελαττώνεται σταδιακά με την αύξηση της ηλικίας (81,120). Για να εξομαλυνθούν οι διαφορές που υπάρχουν στο μέγεθος των αεραγωγών με την ηλικία (σε απόλυτο αριθμό) από την μέγιστη δύναμη που αναπτύσσεται, είναι απαραίτητο οι τιμές να εκφράζουν τη δύναμη που αναπτύσσεται ανά διατομή ιστού (133,139). Είναι πιθανό

οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στις μελέτες με τα αντίθετα αποτελέσματα να οφείλονται στον διαφορετικό τρόπο με τον οποίο υπολογίζεται η τάση των ΛΜΙ που αναπτύσσεται ως απάντηση στις συσπαστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν.

Σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο ήταν αυξημένη στα ενήλικα συγκριτικά με τα άνηβα ζώα όταν οι τιμές εκφράζονταν ως δύναμη προς διατομή. Αντίθετα στο βέλτιστο μήκος, όταν οι τιμές εκφράζονταν σαν βάρος ξηρού ιστού, η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη ήταν ελαττωμένη στα ενήλικα συγκριτικά με τα άνηβα ζώα, ενώ στο χλωριούχο κάλιο παρέμεινε σταθερή. Η εξομάλυνση των τιμών της δύναμης που αναπτύσσεται από τις ΛΜΙ σαν απάντηση στα συσπαστικά ερεθίσματα, ως προς το βάρος του ιστού έγινε επειδή η συμβολή τόσο των συσταλών όσο και των μη συσταλών στοιχείων των αεραγωγών μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια τη ανάπτυξης.

Αυτή η ανομοιογένεια των αποτελεσμάτων θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός ότι το χλωριούχο κάλιο προκαλεί σύσπαση κυρίως μέσω της ενδογενούς απελευθέρωσης ακετυλοχολίνης (90) και το ποσό της απελευθερούμενης ακετυλοχολίνης δεν θα μπορούσε να προκαλέσει σημαντικές μεταβολές στην ανταποκρισιμότητα στις δύο ηλικιακές ομάδες. Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με αντίστοιχα άλλων μελετών. Γενικά η επίδραση της ηλικίας στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ τραχείας σε συσπαστικές ουσίες εξαρτάται εκτός από την ουσία και από το είδος και την ηλικία του ζώου. Μεταβολές στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο ανάλογα με την ηλικία έχουν καταγραφεί σε κουνέλια (172).

Συμπερασματικά τα ενήλικα ζώα εμφανίζουν μεγαλύτερη ανταποκρισιμότητα στην ακετυλοχολίνη και στο χλωριούχο κάλιο με την αύξηση της τάσης ηρεμίας. Η

αφαίρεση του επιθηλίου προκαλεί αύξηση των συσπάσεων σε υψηλή τάση ηρεμίας. Τα ενήλικα ζώα χρειάζονται μεγαλύτερη αρχική τάση ώστε να επιτευχθεί το βέλτιστο μήκος στο οποίο καταγράφονται οι μεγαλύτερες συσπάσεις. Η ενδογενής παραγωγή NO ως απάντηση στο ερέθισμα της ακετυλοχολίνης είναι σχετικά αυξημένη στα ενήλικα ζώα σε υψηλή τάση ηρεμίας, ενώ δεν φαίνονται διαφορές στην ενδογενή παραγωγή προσταγλανδινών.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της μελέτης συνηγορούν υπέρ των ακόλουθων συμπερασμάτων:

1. Η μεταβολή της αρχικής τάσης ηρεμίας και συνεπώς του αρχικού μήκους επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ σε συσπαστικές ουσίες (ακετυλοχολίνη και χλωριούχο κάλιο) στα ενήλικα κουνέλια.
2. Η ατροπίνη επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στο χλωριούχο κάλιο στα ενήλικα κουνέλια τόσο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όσο και σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ελαττώνοντας τις προκαλούμενες συσπάσεις, χωρίς όμως οι μεταβολές αυτές να είναι στατιστικά σημαντικές.
3. Η αφαίρεση του επιθηλίου επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια αυξάνοντας τις συσπάσεις.
4. Η τραχεία μπορεί να παράγει NO στα ενήλικα ζώα αφού το L-NAME (αναστολέας συνθάσης NO) αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια .
5. Η ινδομεθακίνη (αναστολέας προσταγλανδινών) επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια ελαττώνοντας τις προκαλούμενες συσπάσεις, συνεπώς οι ενδογενώς παραγόμενες προσταγλανδίνες φαίνεται να έχουν ρόλο στην μεταβολή της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ σε μικρή τάση ηρεμίας στα ενήλικα κουνέλια.
6. Η L-Αργινίνη (πρόδρομη ουσία του NO) επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα ενήλικα κουνέλια τόσο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όσο και σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια, ελαττώνοντας τις προκαλούμενες συσπάσεις, χωρίς όμως οι μεταβολές αυτές να είναι στατιστικά σημαντικές.

7. Η απελευθερούμενη ενδοθηλίνη-1 (ET-1) δεν έχει ρόλο στην αύξηση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικων κουνελιών σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

8. Στο βέλτιστο μήκος όταν οι τιμές τροποποιηθούν σύμφωνα με το βάρος του ιστού και όχι με την διατομή του ιστού, παρατηρείται ελαττωμένη ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των ενήλικων κουνελιών στην ακετυλοχολίνη, συγκριτικά με τα ανώριμα.

9. Οι ΛΜΙ της τραχείας των άνηβων κουνελιών σε μικρή αρχική τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, επιτυγχάνουν τη μέγιστη σύσπαση (βέλτιστο μήκος) στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο, ενώ στα ενήλικα κουνέλια για την επίτευξη του βέλτιστου μήκους απαιτείται μεγαλύτερη αρχική τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η λειτουργία των ΛΜΙ επηρεάζεται από την αρχική τάση ηρεμίας και συνεπώς από το αρχικό μήκος τους. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία έχει περιγραφεί μεγαλύτερη ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των αεραγωγών ενήλικων ζώων με την αύξηση της τάσης ηρεμίας σε διάφορα είδη πειραματόζωων συμπεριλαμβανομένων και των κουνελιών. Χρησιμοποιήθηκαν διάφορα πειραματικά πρωτόκολλα στην προσπάθεια διερεύνησης των μηχανισμών αυτών. Στους μηχανισμούς αυτούς φαίνεται να εμπλέκονται το οξείδιο του αζώτου (NO) και οι προσταγλανδίνες, ουσίες οι οποίες παράγονται από τα κύτταρα του επιθηλίου των αεραγωγών. Η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ φαίνεται να επηρεάζεται και από την ηλικία των πειραματόζωων.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της αρχικής τάσης ηρεμίας, του επιθηλίου και της ηλικίας καθώς και ο ρόλος του ενδογενώς παραγόμενου NO και των προσταγλανδινών στην ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ τραχείας κουνελιού.

Τα ενήλικα ζώα εμφανίζουν μεγαλύτερη ανταποκρισιμότητα στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο όσο η αρχική τάση ηρεμίας αυξάνεται και φτάνει το μέγιστο σε υψηλή τάση ηρεμίας (2,5 γραμμάρια). Στα ανώριμα ζώα όμως, η ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη και το χλωριούχο κάλιο φτάνει το μέγιστο σε χαμηλή τάση ηρεμίας (0,5 γραμμάρια).

Η παρουσία ατροπίνης στα ενήλικα ζώα επιφέρει ελάττωση των συσπάσεων που προκαλεί το χλωριούχο κάλιο τόσο σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια, όσο και στις συσπάσεις που προκαλούνται σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Η αφαίρεση του επιθηλίου επηρεάζει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια αυξάνοντας τις συσπάσεις.

Το L-NAME (αναστολέας της συνθάσης του NO) αυξάνει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των ενήλικων κουνελιών στην ακετυλοχολίνη σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια. Η L-Αργινίνη (πρόδρομη ουσία του NO) δεν μεταβάλλει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των ενήλικων κουνελιών στην ακετυλοχολίνη σε καμία από τις δύο τάσεις ηρεμίας. Η ινδομεθακίνη (αναστολέας της κυκλο-οξυγενάσης) μεταβάλλει την ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ στην ακετυλοχολίνη στα ενήλικα κουνέλια σε τάση ηρεμίας 0,5 γραμμάρια.

Η απελευθερούμενη ενδοθηλίνη-1 (ET-1) δεν έχει ρόλο στην αύξηση της ανταποκρισιμότητας των ΛΜΙ της τραχείας ενήλικων κουνελιών σε τάση ηρεμίας 2,5 γραμμάρια.

Στο βέλτιστο μήκος όταν οι τιμές τροποποιήθηκαν σύμφωνα με το βάρος του ιστού παρατηρήθηκε ελαττωμένη ανταποκρισιμότητα των ΛΜΙ των ενήλικων κουνελιών στην ακετυλοχολίνη, συγκριτικά με τα άνηβα, ενώ δεν καταγράφηκαν διαφορές στην ανταποκρισιμότητα στο χλωριούχο κάλιο.

Συμπερασματικά τα ενήλικα ζώα χρειάζονται μεγαλύτερη αρχική τάση ώστε να επιτευχθεί το βέλτιστο μήκος στο οποίο καταγράφονται οι μεγαλύτερες συσπάσεις και εμφανίζουν μεγαλύτερη ανταποκρισιμότητα στην ακετυλοχολίνη ενώ στο χλωριούχο κάλιο δεν παρουσιάζονται διαφορές. Η διαφορά αυτή μπορεί εν μέρει να αποδοθεί στην ικανότητα του ιστού της τραχείας των ενήλικων κουνελιών να παράγει μεγαλύτερα ποσά ενδογενούς NO ενώ δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την παραγωγή προσταγλανδινών.

SUMMARY

The responsiveness of tracheal smooth muscle is influenced by the resting tension and therefore by the initial tissue length. The responsiveness of tracheal smooth muscle is influenced also by the maturation of the animals.

According to many studies a greater airway responsiveness in mature animals has been reported when the resting tension increases in many species including rabbits. Several experimental protocols have been used in order to determine the mechanisms of these differences. These mechanisms may involve NO and prostaglandins, substances that are synthesized by the epithelium of airway smooth muscle.

We studied the effect of resting tension (RT), epithelium removal and the influence of animal age on contractions of tracheal smooth muscle induced by KCl or acetylcholine, as well as the role of endogenously produced NO and prostanoids on these responses. In 8 weeks old (adult) animals the contractile response of tracheal smooth muscle to acetylcholine and to KCl increased significantly as RT rose. In 4 weeks old (young) animals contractions obtained under RT 0,5g were the maximal.

The presence of atropine decreased the response of airway smooth muscle (ASM) to KCl in adult animals obtained under RT 0,5g or 2,5g, but the decrease in the response of ASM to KCl was not statistically significant.

Epithelium removal increased the response to acetylcholine in adult animals in resting tension 2,5g. L-NAME, a NO synthase inhibitor, also increased the response to acetylcholine in adult animals in resting tension 2,5g. L-Arginine decreased the responsiveness to acetylcholine in adult animals under RT 0,5g or under RT 2,5g, but the decrease in the response of ASM to acetylcholine was not statistically significant.

. Indomethacin decreased the response to acetylcholine in adult animals under resting tension 0,5g.

The released endothelin-1 (ET-1) had no difference in the responsiveness of ASM of adult animals under RT 2,5g.

At optimal length, when values were normalized to tissue weight, maturation from 4 to 8 weeks was associated with a significant decrease in responsiveness to acetylcholine and with no difference in responsiveness to KCl.

These results demonstrate that increase in the resting tension is accompanied by an increase in the responsiveness of tracheal smooth muscle in adult animals to acetylcholine, while the responsiveness to KCl remains constant. Also, maturation from 4 to 8 weeks is accompanied by an increase in the demanded load until an optimum length is achieved. The ability of tracheal tissue to produce endogenously NO in adult animals is obvious in high resting tension (2,5g), while there are no differences in the production of endogenous prostanoids.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J*, 6: 1368-1370, 1993.
2. Agard E. Nitric oxide mediator, murderer and medicine. *Lancet* 343: 1199-2006, 1994.
3. An SS, Hai CM. Mechanical signals and mechanosensitive modulation of intracellular $[Ca^{2+}]$ in smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 279: C1375-C1384, 2000.
4. Artlich A, Adding C, Agvald P, Persson MG, Lonnqvist PA, Gustafsson LE. Exhaled nitric oxide increases during high frequency oscillatory ventilation in rabbits. *Exp Physiol*, 84:959-969, 1999.
5. Armour CL, Johnson PR, Black JL. Potentiation of contraction of rabbit airway smooth muscle by some cyclooxygenase products. *Prostaglandins*, 35: 959-968, 1988.
6. Armour CL, Johnson PR, Alfredson ML, Black JL. Characterization of contractile prostanoid receptors on human airway smooth muscle. *Eur J Pharmacol*, 165: 215-222, 1989.
7. Bannenberg GL, Gustafsson LE. Stretch-induced stimulation of lower airway nitric oxide formation in the guinea-pig: inhibition by galolinium chloride. *Pharmacol Toxicol*, 81: 13-18, 1997.
8. Bard M, Salmeron S, Coirault C, Blank FX, Lecarpentier Y. Effects of initial length on intrinsic tone in guinea pig tracheal smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 275: L1026-1030, 1998.
9. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax*, 48: 1034-1043, 1993.

10. Barnes PJ. General pharmacological principles. *Respir Pharmacology* 251-284, 1994.
11. Barnes PJ. What is the role of nerves in chronic asthma and symptoms? *Am J Respir Crit Care Med*, 153: 55-57, 1995.
12. Belvisi MG, Bai TR. Inhibitory nonadrenergic, noncholinergic innervation of airways smooth muscle: role of nitric oxide. In D. Raeburn and MA Giembycz, editors. *Airways Smooth Muscle: Structure, Innervation and Neurotransmission*. Birkhauser Verlag, Basel. 157-188, 1994.
13. Berger A, Sanderson MJ. Acetylcholine-induced calcium signaling and contraction of airway smooth muscle cells in lung slices. *J Gen Physiol*, 119: 187-198, 2002.
14. Black PN, Ghatei MA, Takahashi K, Bretherton-Watt D, Krautz T, Dollery CT, Bloom SR. Formation of endothelin-1 by cultured airway epithelial cells. *FEBS Lett*, 255: 129-132, 1989.
15. Boitano S, Dirksen KL, Sanderson MJ. Intercellular propagation of calcium waves mediated by inositol triphosphate. *Science*, 258: 292-295, 1992.
16. Bootman MD, Collins TJ, Peppiatt CM, Prothero LS, MacKenzie L, De Smet P, Travers M, Tovey SC, Seo JT, Berridge MJ et al. Calcium signalling: an overview. *Semin Cell Dev Biol*, 12: 3-10, 2001.
17. Borson DB, Chinn RA, Davis B, Nadel JA. Adrenergic and cholinergic nerves mediate fluid secretion from tracheal glands of ferrets. *J Appl Physiol*, 49: 1027-1031, 1980.
18. Bowman A, Gillespie JS, Pollock D. Oxyhaemoglobin blocks non adrenergic non cholinergic inhibition in the bovine retractor penis muscle. *Eur J Pharmacol* 85: 221-4, 1982.

19. Brink C, Grimaud C, Guillot C, Orehek J. The interaction between indomethacin and contractile agents on human isolated airway muscle. *Br J Pharmacol*, 69: 383-388, 1980.
20. Brune B, Dimmeler S, Molina Y, Vedia L, Lapetina EG. Nitric oxide: a signal for ADP-ribosylation of proteins. *Life Sciences* 54 :61-70, 1994.
21. Butler GB, Adler KB, Evans JN, Morgan DW, Szarek JL. Modulation of rabbit airway smooth muscle responsiveness by respiratory epithelium. Involvement of an inhibitory metabolite of arachidonic acid. *Am Rev Respir Dis*, 135: 1099-1104, 1987.
22. Calaghan S, White E. Contribution of angiotensin II endothelin-1 and endothelium to the slow inotropic response to stretch in ferret papillary muscle. *Eur J Phys*, 441:514-520, 2001.
23. Casey ML, Mac Donald PC. The endothelin parathyroid hormone-related protein vasoactive peptide system in human endometrium: modulation by transforming growth factor-beta. *Hum Reprod Suppl* 2:62-82, 1996.
24. Catterall WA. Structure and function of voltage-gated ion channels. *Annu Rev Biochem*, 64: 493-531, 1995.
25. Cattaruzza M, Eberhardt I, Hecker M. Mechanosensitive transcription factors involved in endothelin B receptor expression. *J Biol Chemistry*, 276:36999-37003, 2001.
26. Charette L, Misquitta C, Guay J, Reindeau D, Jones TR. Involvement of cyclooxygenase 2 (COX-2) in intrinsic tone of isolated guinea pig trachea. *Can J Physiol Pharmacol*, 73: 1561-1567, 1995.

27. Cherg JB, Townley RG. Comparison of muscarinic and beta adrenergic receptors between bovine peripheral lung and tracheal smooth muscles: striking difference. *Life Sci*, 30: 2079-2086, 1982.
28. Chitano P, Wang J, Cox CM, Stephens NL, Murphy TM. Different ontogeny of rate of force generation and shortening velocity in guinea pig trachealis. *J Appl Physiol*, 88: 1338-1345, 2000.
29. Cingolani H, Perez N, Camilion de Hurtado M. An autocrine/paracrine mechanism triggered by myocardial stretch induces changes in contractility. *News Phys Sci*, 16:88-91, 2001
30. Cioffi GA, Orgul S, Onda E, Bacon DR, Van Buskirk EM. An in vivo model of chronic optic nerve ischemia: the dose-dependent effects of endothelin-1 on the optic nerve microvasculature. *Curr Eye Res*, 14:1147-1153, 1995.
31. Colasurdo GN, Loader JE, Graves JP, Larsen GL. Maturation of nonadrenergic noncholinergic inhibitory system in normal and allergen-sensitized rabbits. *Am J Physiol*, 267: L739-744, 1994.
32. Coleman RA, Kennedy I, Humphrey PPA, Bunce KT, Lumley P. Prostanoids and their receptors. In: Hansch C, Sammes PG, Taylor JB, editors. *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Oxford: Pergamon Press, 643-714, 1990.
33. Coleman RA, Nials AT, Rabe KF, Vardey CJ, Watson N. Isolated electrically-stimulated airway preparations- their use in determining β -adrenoreceptor agonist activity. *Pulm Pharmacol*, 9: 107-117, 1996.

34. Costello R, Fryer A. Cholinergic mechanisms in asthma. In P. Barnes and M Grunstein, editors. *Asthma*, Chap 68, Lippincott-Raven, Philadelphia, 965-984, 1997.
35. D Agostino B, Galleli L, Falciani M, Pierro P, Rossi F, Fillipelli A, Rossi F. Endothelin-1 induced bronchial hyperresponsiveness in the rabbit : an ETA receptor-mediated phenomenon. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 360 (6): 665-9, 1999.
36. Davis MJ and Hill MA. Signalling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol Rev*, 79: 387-423, 1999.
37. Eglen RM, Hegde SS, Watson N. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. *Pharmacol Rev*, 48:531-565, 1996.
38. Elfering SL, Sarkela TM, Giulivi C. Biochemistry of mitochondrial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem*, 277: 38079-38086, 2002.
39. Ellis JL, Udem BJ. Role of cysteinyl-leukotrienes and histamine in mediating intrinsic tone in isolated human bronchi. *Am J Respir Crit Care Med*, 149: 118-121, 1994.
40. El Mowafy, Biggs D. ETB receptor activates adenylyclase via a c-PLA2-dependent mechanism: a novel counterregulatory mechanism of ET-induced contraction in airway smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 286:388-393, 2001.
41. Felix JA, Woodruff ML, Dirksen ER. Stretch increases inositol 1,4,5-trisphosphate concentration airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 14: 296-301, 1996.

42. Fernades LB, fryer AD, Hirshman CA. M2 muscarinic receptors inhibit isoproterenol-induced relaxation of canine airway smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther*, 262: 119-126, 1992.
43. Figni M, Ricciardolo LM, Javdan P, Nijkamp FP, Emanuelli C, Pradelles P, Folkerts G, Geppetti P. Evidence that epithelium-derived relaxing factor released by bradykinin in the guinea-rig trachea is nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*, 153: 918-923, 1996.
44. Filep JG, Battistini B, Sirois P. Induction by endothelin-1 of epithelium-dependent relaxation of guinea pig trachea in vitro: role for nitric oxide. *Br J Pharmacol*, 109: 637-644, 1993.
45. Fish JE, Ankin MG, Adkinson F, Peterman VI. Indomethacin modification of immediate-type immunologic airway responses in allergic asthmatic and no asthmatics subjects. *Am Rev Resp Dis*, 123: 609-614, 1981.
46. Fleischmann BK, Wang YX, Pring M, and Kotlikoff MI. Voltage dependent calcium currents and cytosolic calcium in equine airway myocytes. *J Physiol*, 492: 347-358, 1996.
47. Fleischmann BK, Wang YX, Kotlikoff MI. Muscarinic activation and calcium permeation of nonselective cation current in airway myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 272: C341-C349, 1997.
48. Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284: R1-R12, 2003.
49. Folkerts G, Nijkamp FP. Airway epithelium: more than just a barrier. *Trends Pharmacol Sci*, 20:52-54, 1998.

50. Forstermann U, Schmidt HH, Pollock JS et al. Isoforms of nitric oxide synthase: characterization and purification from different cell types. *Biochem Pharmacol*, 42: 1849-1857, 1991.
51. Franchi-Micheli S, Faili P, Mazzetti L, Bani D, Ciuffi M, Zilletti L. Mechanical stretch reveals different components of endothelial-mediated vascular tone in rat aortic strips. *Br J Pharmacol*, 131: 1355-1362, 2000.
52. Frankel DJ, Holgate ST. Etiology of asthma: pathology and mediators. *Asthma*, 32:443-470, 1993.
53. Fryer AD, Jakoby DB. Muscarinic receptors and control of airway smooth muscle. *Am J Respir Crit Care Med*, 158: S154-S160, 1998.
54. Furchgott RF, Zawadski JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288:371-376.
55. Gao Y, and Vanhoutte PM. Responsiveness of the guinea pig trachea to stretch: role of the epithelium and cyclooxygenase products. *J Appl Physiol*, 75: 2112-2116, 1993.
56. Gardiner PJ. The effects of some natural prostaglandins on isolated human circular bronchial muscle. *Prostaglandins*, 10: 607-616, 1975.
57. Gaston B, Drazen JM, Jansen A, et al. Relaxation of human bronchial smooth muscle by S-nitrosothiols in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*, 268: 978-984, 1993.
58. Gaston B, Reilly JM, Drazen JM, Fackler J, Ramdey P, Arnette D. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator. S-nitrosothiol in human airways. *Proc Natl Acad Sci USA* 90 :10957-10961, 1993.

59. Gaston B, Reilly JM. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 10957-10961, 1993. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J et al. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med*, 149: 538-551, 1994.
60. Gilbert EK, Weaver BA, Rembold CM. Depolarization decreases the $[Ca^{+2}]$ sensitivity of myosin light-chain kinase in arterial smooth muscle: comparison of aequorin and fura 2 $[Ca^{+2}]$ estimates. *FASEB J*, 5: 2593-2599, 1991.
61. Gourgoulianis KI, Iliodromitis Z, Hatziefthimiou A, Molyvdas PA. Epithelium-dependent regulation of airways smooth muscle function. A histamine-nitric oxide pathway. *Mediators Inflamm*, 7: 409-11, 1998.
62. Gourgoulianis KI, Molyvdas PA. Histamine-induced ventilation distribution: epithelial factors or NO? *J Appl Physiol*, 85: 1198, 1998.
63. Gourgoulianis KI, Domali A, Molyvdas PA. Airway responsiveness: role of inflammation, epithelium damage and smooth muscle tension. *Mediators Inflamm*, 8: 261-263, 1999.
64. Gunst SJ, Mitzner W. Mechanical properties of contracted canine bronchial segments in vitro. *J Appl Physiol*, 50: 1236-1247, 1981.
65. Gunst SJ. Contractile force of airway smooth muscle during cyclic length changes. *Appl Physiol Respir Environ Exercise Physiol* 55, 759-769, 1983.
66. Gunst SJ, Meiss RA, Wu MF, Rowe M. Mechanisms for the mechanical plasticity of tracheal smooth muscle. *Am J Physiol* 268: 1267-1276, 1995.

67. Gunst SJ. Effects of length history on contractile behavior of canine tracheal smooth muscle. *Am J Physiol*, 250:146-154, 1986.
68. Gunst SJ. Effects of muscle length and load on intracellular Ca²⁺ in tracheal smooth muscle. *Am J Physiol*, 256: C807-C812, 1989.
69. Gunst SJ, Tang DD. The contractile apparatus and mechanical properties of airway smooth muscle. *Eur Respir J*, 15: 600-616, 2000.
70. Gunst SJ, Wu MF. Selected contribution: plasticity of airway smooth muscle stiffness and extensibility: role of length-adaptive mechanisms. *J Appl Physiol*, 90: 741-749, 2001.
71. Guyton. *Ιατρική Φυσιολογία*. Τόμος Α. 8^η Έκδοση, Σελ 113-124, 1984.
72. Hadhazy P, Quach Van B, Malomvolgyi B, Magyar K. Nanomolar concentrations of prostaglandin F₂ alpha potentiate cholinergic contractions of rabbit isolated tracheal muscle. *Eur J Pharmacol*, 24; 83: 207-212, 1982.
73. Hall IP. Second messengers, ion channels and pharmacology of airway smooth muscle. *Eur Respir J*, 15: 1120-1127, 2000.
74. Hanky SP. Prostaglandins and the lung 164: 65-77, 1986. Liu MC, Bleecker ER, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Niv Y, McLemore TL. Evidence for elevated levels of histamine, prostaglandin D₂ and other bronchoconstricting prostaglandins in the airways of subjects with mild asthma. *Am Ren Respir Dis*, 142: 126-132, 1990.
75. Hatziefthimiou AA, Gourgoulialis KI, Molyvdas PA. Epithelium-depedent effect of L-glutamate on airways: involvement of prostaglandins. *Mediators Inflamm*, 11: 33-38, 2002.

76. Hay DWP, Muccitelli RM, Hostmeyer DL, Raeburn D. Is epithelium-derived inhibitory factor in guinea pig trachea a prostanoid? *Prostaglandins*, 35: 625-637, 1988.
77. Hayashi S, and Toda N. Age-related alterations in the response of rabbit tracheal smooth muscle to agents. *J Pharmacol Exp Ther*, 214: 675-681, 1980.
78. Henry P. Endothelin receptor distribution and function in the airways. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 26 :162-167, 1999.
79. Hermesmeier K, Mishra S, Miyagawa K, and Minshall R. Physiologic and pathophysiologic relevance of T-type calcium channels: potential indications for T-type calcium antagonists. *Clin Ther*, 19: 18-26, 1997.
80. Hirata M, Kohse KP, Chang CH, Ikebe T, Murad F. Mechanism of cyclic GMP inhibition of inositol phosphate formation in rat aorta segments and cultured bovine aortic smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 265:1268-1273, 2002.
81. Hislop AA, Haworth SG. Airway size and structure in the normal fetal infant lung and the effect of premature delivery and artificial ventilation. *Am Rev Respir Dis*, 140: 1717-1726, 1989.
82. Holtzman MJ, Handborough JR, Rosen GD, Turk J. Uptake, release and novel species-dependent oxygenation of arachidonic acid in human and animal epithelial cells. *Biochem Biophys Acta*, 963: 401-413, 1988.
83. Hobbs AJ, Ignarro LJ. The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system. In: Zapol WM, Bloch KD, eds. *Nitric oxide and the lung*. New York: Marcel Dekker: 1-57, 1997.

84. Hopp RJ, Bewtra A, Nair NM, Townley RG. The effects of age on methacholine response. *J Allergy Clin Immunol*, 76: 609-613, 1985.
85. Hutcheson IR, Griffith TM. Central role of intracellular calcium stores in acute flow and agonist evoked endothelial nitric oxide release. *Br J Pharmacol*, 122:117-125,1997.
86. Ignarro LJ, Kadowitz PJ. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 25: 171-191, 1985.
87. Inoue R and Isenberg G. Effect of membrane potential on acetylcholine-induced inward current in guinea-pig ileum. *J Physiol*, 424: 57-71, 1990.
88. Ishida K, Pare PD, Blogg T, Schellenberg R. Effects of elastic loading on porcine trachealis muscle mechanics. *J Appl Physiol*, 69: 1033-1039, 1990.
89. Ito Y, Suzuki H, Aizawa H, Hakoda H, Hirose T. The spontaneous electrical and mechanical activity of human bronchial smooth muscle: its modulation by drugs. *Br J Pharmacol*, 98: 1249-1260, 1989.
90. Janssen LJ, and Sims SM. Acetylcholine activates non-selective cation and chloride conductances in canine and guinea-pig tracheal myocytes. *J Physiol*, 453: 197-218, 1992.
91. Joos GF. The role of neuroeffector mechanisms in the pathogenesis of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep*, 1:134-143, 2001.
92. Jorens PG, Vermeire PA, Herman AG. G-arginine-dependent nitric oxide synthase: a new metabolic pathway in the lung and airways. *Eur Respir J*, 6: 258-266, 1993.

93. Karaki H, Ozaki H, Hori M, Mitsui-Saito M, Amano K, Harada K, Miyamoto S, Won KJ, and Sato K. Calcium movements, distribution and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev*, 49: 157-230, 1997.
94. Kato T, Ishiguro N, Iwata H, Kojima T, Ito T, Naruse K. Up-regulation of COX2 expression by uni-axial cyclic stretch in human lung fibroblast cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 244: 615-619, 1998.
95. Kirby JG, Hargreave FE, Cockcroft JW, O;Byrne PM. Effect of indomethacin on allergen induced asthmatic responses. *J Appl Physiol*, 66: 578-583, 1989.
96. Knight D. Epithelium-fibroblast interactions in response to airway inflammation. *Immunol Cell Biol*, 79, 160-164, 2001.
97. Kosonen O, Kankaanranta H, Malo-Randa U, Ristimaki A, Moilanen E. Inhibition by nitric oxide-releasing compounds of prostacyclin production in human endothelial cells. *Br J Pharmacol*, 125: 247-254, 1998.
98. Kotlikoff, MI, Wang YX. Calcium release and calcium-activated chloride channels in airway smooth muscle cells. *Am J Respir Crit Care Med*, 158: S109-S114, 1998.
99. Lacza Z, Snipes JA, Zhang J, Horvath EM, Figueora JP, Szabo C, Busija DW. Mitochondrial nitric oxide synthase is not eNOS, nNOS, or iNOS. *Free Radic Biol Med*, 15;35: 1217-1228, 2003.
100. Lambert RK, Wiggs BR, Kuwano K, HoggPC, Pare PD. Functional significance of increased airway smooth muscle in asthma and COPD. *J Appl Physiol*, 74: 2771-2781, 1993.
101. Lambert RK, Pare PD. Lung parenchymal shear modulus of mature and

- immature rabbit lungs. *J Appl Physiol*, 83: 140-147, 1997.
102. Lancaster JR. Nitric oxide in cells. *Am Scient*, 80: 248-259, 1992.
103. Latourelle J, Fabry B, Fredberg JJ. Dynamic equilibration of airway smooth muscle contraction during physiological loading. *J Appl Physiol*, 92: 771-779, 2002.
104. Loenders B, Jorens PG, Herman AG. Epithelial modulation of \ cholinergic responses in rabbit trachea is partly due to neural endopeptidase activity. *Eur. J. Pharmacol*, 296: 89-96, 1996.
105. Loirand G and Pacaud P. Mechanism of the ATP-induced rise in cytosolic Ca²⁺ in freshly isolated smooth muscle cells from human saphenous vein. *Pflugers Arch*, 30: 429-436, 1995.
106. Lorino AM, Benichou M, Macquin-Mavier I, Franco-Montoya ML, Lorino H, Harf A. Influence of lung volume on histamine-induced bronchoconstriction in guinea-pigs. *Eur Respir J*, 4: 1191-1196, 1991.
107. Markewitz Boaz A, Michael R, Kohan ED. Endothelin-1 inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase. *Am J Physiol*, 272: L1078-1083, 1997.
108. Martin JG, Duguet A, Eidelman DH. The contribution of airway smooth muscle to airway narrowing and airway hyperresponsiveness in disease. *Eur Respir J*, 16: 349-354, 2000.
109. Matera MG, D;Agostino B, Constantino M, Amorena M, Lucarelli C, Rossi F. Possible functional modulation by acetylcholine of nitric oxide on guinea pig isolated trachea. *Life Sci*, 62: 553-559, 1998.
110. Matsuba K, Thurlbeck WM. A morphometric study of bronchial and bronchiolar walls in children. *Am Rev Respir Dis*, 105: 908-913, 1972.

111. Matsumoto S, Nagayama T, Kanno T, Yamasaki M, Shimizu T. Evidence for the presence of function of the inhibitory M2 muscarinic receptors in rabbit airways and lungs. *J Auton Nerv Sys*, 53: 126-136, 1995.
112. Mauderly JL. Effect of age on pulmonary structure and function of immature and adult animals and man. *Fed Proc*, 38: 173-177, 1979.
113. MaxwellMJ, Goldie RG, Henry PJ. Ca²⁺ signalling by endothelin receptors in rat and human cultured airway smooth muscle cells. *Br J Pharm*, 125: 1768-1778, 1998.
114. Mc Culloch K, Docherty C, Mac Lean R. Endothelin receptors mediating contractions of rat and human pulmonary resistance arteries: effect of chronic hypoxia in the rat. *Br J Pharmacol*, 123: 1621-1630, 1998.
115. McDonald DM. The concept of neurogenic inflammation in the respiratory tract. In MA Kaliner, PJ Barnes GHH Kunkel and JN Baraniuk, editors. *Neuropeptides in Respiratory Medicine*. Marcel ekker, New York, 321-350, 1994.
116. McFawn PK, Mitchell HW. Bronchial compliance and wall structure during development of the immature human and pig lung. *Eur Respir J*, 10: 27-34, 1997.
117. Mehta D, Wu MF, Gunst SJ. Role of contractile protein activation in the length-dependent modulation of tracheal smooth muscle force. *Am J Physiol*, 270: C243-C252, 1996.
118. Meurs H, Timmermans A, Van Amsterdam GM, Brouwer F, Kauffman HF, Zaagsma J. Muscarinic receptors in human airway smooth muscle are coupled to phosphoinositide metabolism. *Eur J Pharmacol*, 156: 271-274, 1989.

119. Minette P, Barnes PJ. Prejunctional inhibitory muscarinic receptors on cholinergic nerves in human and guinea pig airways. *J Appl Physiol*, 64: 2532-2537, 1988.
120. Montgomery GL, Tepper RS. Changes in airway reactivity with age in normal infants and young children. *Am Rev Respir Dis*, 142: 1372-1376, 1990.
121. Moreno RH, Hogg JC, Pare PD. Mechanics of airway narrowing. *Am Rev Respir Dis*, 133: 1171-1180, 1986.
122. Murad F, Kimura H. Cyclic nucleotide levels in incubations of guinea pig trachea. *Biochem Biophys Acta*, 343: 275-286, 1974.
123. Murphy TM, Mitchell RW, Halayko A, Roach J, Roy EL, Kelly EA et al. Effect of maturational changes in myosin content and morphometry on airway smooth muscle contraction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 260: L471-L480, 1991.
124. Murphy TM, Roy L, Phillips IJ, Mitchell RW, Kelly EA, Munoz NM. Effect of maturation on topographic distribution of bronchoconstrictor responses in large diameter airways of young swine. *Am Rev Respir Dis*, 143: 126-131, 1991.
125. Muto E, Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Sagai M, Iguchi A. Endothelial-constitutive nitric oxide synthase exists in airways and diesel exhaust particles inhibit the effect of nitric oxide. *Life Sci*, 59: 1563-1570, 1996.
126. Nadel J, Barnes P. Autonomic regulation of the airways. *Ann Rev Med*, 35: 451-467, 1984.
127. North AJ, Star RA, Brannon TS, Ujiie K, Wells LB, Lowenstein CJ, Snyder SH and Shaul PW. Nitric oxide synthase type I and type II gene

- expression are developmentally regulated in rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 266: L635-L641, 1994.
128. Ogilvie MD, Bogen DK, Galante RJ, Pack AI. Response of stretch receptors to static inflations and deflations in an isolated tracheal segment. *Respir Physiol*, 75: 289-307, 1989.
129. Opazo-Saez A, Pare PD. Stimulus-response relationships for isotonic shortening and isometric tension generation in rabbit trachealis. *J Appl Physiol*, 77: 1638-1643, 1994.
130. Opazo-Saez A, Seow CY, Pare PD. Peripheral airway smooth muscle mechanics in obstructive airways disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 161: 910-917, 2000.
131. Orehek J, Douglas JS, Bouhuys A. Contractile responses of the guinea-pig trachea in vitro: modification by prostaglandin synthesis-inhibiting drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, 194: 554-64, 1975.
132. Ozaki H, Blondfield DP, Stevens RJ, Publicover NG, and Sanders KM. Simultaneous measurement of membrane potential, cytosolic calcium and muscle tension in smooth muscle tissue. *Am J Physiol Cell Physiol*, 260: C917-C925, 1991.
133. Panitch HB, Deoras KS, Wolfson MR, and Shaffer TH. Maturation changes in airway smooth muscle structure-function relationships. *Pediatr Res*, 31: 151-156, 1992.
134. Park JM, Yang T, Arend LJ, Schnermann JB, Peters CA, Freeman MR, Briggs JP. Obstruction stimulates COX-2 expression in bladder smooth muscle via increased mechanical stretch. *Am J Physiol*, 276: 129-136, 1999.

135. Prendergast BD, Sagach VF, Shah AM. Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart. *Circulation* 96: 1320-1329, 1997.
136. Preuss JMH, Goldie RG. Muscarinic cholinceptor subtypes mediating tracheal smooth muscle contraction and inositol phosphate generation in guinea pig and rat. *Eur J Pharmacol*, 372: 269-277, 1999.
137. Radi R, Beckman JS, Bush KM. Peroxynitrate-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*, 288: 481-487, 1991.
138. Raeburn D, Hay D, Muccitelli R, Dey R, Fedan J. The development of tone in the smooth muscle of guinea pig isolated trachea preparations may be influenced by prostanoids released from the adjacent airway cartilage. *Prostaglandins*, 33: 651-661, 1987
139. Ramchandani R, Shen X, Elmsley CL, Ambrosius WT, Gunst SJ, Tepper RS. Differences in airway structure in immature and mature rabbits. *J Appl Physiol*, 89: 1310-1316, 2000.
140. Richter M, Sirois P. Effects of eicosanoids, neuromediators and bioactive peptides on murine airways. *Eur J Pharmacol*, 389: 225-234, 2000.
141. Robbins RA, Rennard SI. Biology of airway epithelial cells. In: *The Lung: Scientific Foundations* edited by RG Crystal, JB West et al. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 445-455, 1997.
142. Rodriguez RJ, Dreshaj IA, Kumar G, Miller MJ, Martin RJ. Maturation of the cholinergic response of tracheal smooth muscle in the piglet. *Pediatr Pulmonol*, 18: 28-33, 1994.
143. Rubart M, Patlak, J, Nelson MT. Ca²⁺ currents in cerebral artery

- smooth muscle cells of rat at physiological Ca² concentrations. *J Gen Physiol*, 107: 459-472, 1996.
144. Sadeghi-Hashjin G, Henricks PA, Folkerts G, Yerheyen AK, van der Linde, Nijkamp FP. Bovine tracheal responsiveness in vitro: role of epithelium and nitric oxide. *Eur Respir J*, 9:2286-2293, 1996.
145. Sakamoto A, Yanagisawa M, Tsujimoto G, Nakao K, Toyo-oka, Masaki T. Pseudo-non competitive antagonism by BQ123 of intracellular calcium transients mediated by human ETA endothelin receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 29: 200: 679-86, 1994.
146. Sakata K, Ozaki H, Kwonc C, Karaki H. Effects of endothelin on the mechanical activity and cytosolic calcium levels of various types of smooth muscle. *Am J Physiol*, 272: L301-L310, 2002.
147. Sakuraj T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T. Cloning of c- DNA encoding a non-isopeptide selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*, 348:732-735, 1990.
148. Sakuraj T. Coronary artery spasm and vascular biology. Cholinergic constriction. *Acta Pathol Jpn*, 41:865-873, 1991.
149. Salathe M, Lipson E, Ivonnet P, Brookman R. Muscarinic redeptor signaling in ciliated tracheal epithelial cells: dual effects on Ca²⁺ and ciliary beating. *Am J Physiol*, 272: L301-L310, 1997.
150. Sanders KM. Invited review: Mechanisms of calcium handling in smooth muscles. *J Appl Physiol*, 91: 1438-1449, 2001.
151. Savla U, Sporn PHS, Waters CM. Cyclic stretch of airway epithelium inhibits prostanoids synthesis. *Am J Physiol*, 273: L1013-L1019, 1997.
152. Seow CY, Stephens NL. Force-velocity curves for smooth muscle

- analysis of internal factors reducing velocity. *Am J Physiol Cell Physiol*, 251: C362-C368, 1986.
153. Seow CY. Mechanical properties of airway smooth muscle: Modulation of Receptors and Response, edited by Agrawal DK and Townley RG. Boston, MA: CRC, 271-297, 1991.
154. Setoguchi M, Ohya Y, Abe I, and Fujishima M. Stretch-activated whole-cell currents in smooth muscle cells from mesenteric resistance artery of guinea pig. *J Physiol*, 501: 343-353, 1997.
155. Shen X, Bhargava V, Wodicka GR, Doerschuk CM, Gunst SJ, Tepper RS. Greater airway narrowing in immature than in mature rabbits during methacholine challenge. *J Appl Physiol*, 81: 2637-2643, 1996.
156. Shimoda L, Sylvester JT, Sham J. Inhibition of voltage-gated K⁺ current in rat intrapulmonary arterial myocytes by endothelin-1. *Am J Physiol* 274: L842-853, 1998.
157. Shioya T, Munoz NM, Leff AR. Effect of resting tension on contractile response in resistance airways. *J Appl Physiol*, 62: 711-717, 1987.
158. Skou JS. Overview: the Na, K-pump. *Meth Enzymol*, 156: 1-25, 1988.
159. Smith WL. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochem J*, 259: 315-324, 1989.
160. Southgate WM, Pichoff BE, Stevens EL, Balaraman V, Yuehara CFT, Nakamura KT. Ontogeny of epithelial modulation of airway smooth muscle function in the guinea pig. *Ped Pulmonol*, 15: 105-110, 1993.
161. Spina, D. Epithelium smooth muscle regulation and interactions. *Am J Respir Crit Care Med*, 158: S141-S145, 1998.
162. Stamler JS, Simon DI, Osborne JA, Mullins ME, Jaraki O, Michael T,

- Singel DJ, Loscalzo J. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc Nat Acad Science USA*, 89: 444-448, 1992.
163. Stecenko A, McNicol K, Polk S. evaluation of the mechanism of decreased airway responsiveness in lambs. *J Appl Physiol*, 66: 727-731, 1989.
164. Stretton D. Nonadrenergic, noncholinergic neural control of the airways. *Clin Exp Pharmacol Pathol*, 18: 675-684, 1991.
165. Sumpio BE, Banes AJ. Prostacyclin synthetic activity in cultured aortic endothelial cells undergoing cyclic mechanical deformation. *Surgery*, 104: 383-389, 1988.
166. Swierkosz TA, Michell JA, Warner TD, Botting RM, Vane JR. Co-induction of nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase: interactions between nitric oxide and prostanoids. *Br J Pharmacol*, 114: 1335-1342, 1995.
167. Tamaoki J, Ueki IF, Widdicombe JH, Nadel JA. Stimulation of Cl secretion by neurokinin A and neurokinin B in canine tracheal epithelium. *Am Rev Respir Dis*, 137 :899-903, 1988.
168. Tanaka Y, Shigenobu K, Nakayama K. Effects of endothelin-1 on the myogenic contraction of canine cerebral artery in response to quick stretch. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 109: 95-101, 2001.
169. Tang D, Mehta D, Gunst SJ. Mechanosensitive tyrosine phosphorylation of paxillin and focal adhesion kinase in tracheal smooth muscle. *Am J Physiol*, 276: C250-C258, 1999.
170. Taylor-Robinson AW, Liew FY, Severn A. Regulation of the immune

- response by nitric oxide differentially produced by T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur J Immunol*, 24: 980-984, 1994.
171. Tepper RS, Due T, Styhler A, Ludwig M, Martin JC. Increased maximal pulmonary response to methacholine and airway smooth muscle in immature compared with mature rabbits. *Am J Respir Crit Care Med*, 151: 836-840, 1995.
172. Tepper RS, Shen X, Bakan E, Gunst SJ. Maximal airway response in mature and immature rabbits during tidal ventilation. *J Appl Physiol*, 79: 1190-1198, 1995.
173. Tepper RS, Wiggs B, Gunst SJ, Pare PD. Comparison of the shear modulus of mature and immature rabbit lungs. *J Appl Physiol*, 87: 711-714, 1999.
174. Tsutamoto T, Wada A, Maeda Y, Adachi T, Kinoshita M. Relation between endothelin-1 spillover in the lungs and pulmonary vascular resistance in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 23:1427-33.
175. Van Breemen C, and Saida K. Cellular mechanisms regulating $[Ca^{2+}]_i$ smooth muscle. *Annu Rev Physiol*, 51: 315-329, 1989.
176. Vandenburg HH, Hatfaludy S, Sohar I, Shansky J. Stretch-induced prostaglandins and protein turnover in cultured skeletal muscle. *Am J Physiol*, 259: C232-C240, 1990.
177. Vandenburg HH, Shanky J, Solerssi R, Chromiac J. Mechanical stimulation of skeletal muscle increases prostaglandin F₂ alpha production, cyclooxygenase activity and cell growth by a pertussis toxin sensitive mechanism. *J Cell Physiol*, 163: 284-285, 1995.

178. Vender, Sherman, Luciano, Τσακόπουλος. Φυσιολογία του ανθρώπου
I. Μηχανισμοί της λειτουργίας του οργανισμού. 8^η Έκδοση. Σελ 444-
455.
179. Wang YX, Fleischmann BK, Kotlikoff MI. M2 receptor activation of
nonselective cation channels in smooth muscle cells: calcium and
Gi/Go requirements Am J Physiol Cell Physiol, 273: C500-C508,
1997.
180. Watkins DN, Garlepp MJ, Thompson PJ. Regulation of the inducible
cyclo-oxygenase pathway in human cultured airway epithelial (A549)
cells by nitric oxide. Br J Pharmacol, 121: 1482-1488, 1997.
181. Watson N, Maclaren J, and Barnes PJ. Vagal control of guinea-pig
tracheal smooth muscle: lack of involvement of VIP and nitric oxide. G
Appl Physiol, 74: 229-238, 1993.
182. Watson N, Magnussen H, and Rabe KF. Inherent tone of human
bronchus: role of eicosanoids and the epithelium. Br J Pharmacol, 121:
1099-1104, 1997.
183. Watson N, Magnussen H, Rabe KF. The relevance of resting tension to
responsiveness and inherent tone of human bronchial smooth muscle.
Br J Pharmacol, 123: 694-700, 1998.
184. Widdicombe JG. Autonomic regulation: i-NANC/e-NANC. Am J
Respir Crit Care Med, 158: S171-S175, 1998.
185. Wiggs BR, Moreno R, Hogg JC, Hilliam C, Pare PD. A model of the
mechanics of airway narrowing. J Appl Physiol, 69: 849-860, 1990.
186. Wills-Karp M. Age-related changes in pulmonary muscarinic receptor
binding properties. Am J Physiol, 265: L103-L109, 1993.

187. Yanagisawa M, Kurihara M, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto T, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 332: 411-415, 1989.
188. Yoneyama T, Hori M, Makatani M. Subtypes of endothelin ETA and ETB receptors mediating tracheal smooth muscle contraction. *Biochem Biophys Res Commun*, 207: 668-674, 1995.
189. Yoneyama T, Hori M, Tanaka T, Matsuda Y, Karaki H. Endothelin ETA and ETB receptors facilitating parasympathetic neurotransmission in rabbit trachea. *J Pharmacol Exp Ther*, 275: 1084-1089, 1995.
190. Yoo J, Ellis R, Morgan KG, Hai CM. Mechanosensitive modulation of myosin phosphorylation and phosphatidylinositol turnover in smooth muscle. *Am J Physiol*, 267: C1657-C1665, 1994.
191. Zhao WW, Robinson NE, Yu MF. PGE₂ inhibits acetylcholine release from cholinergic nerves in canine but not equine airways. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 51: 347-355, 1994.