

Havayollarında Kolinergik Mekanizmalar

CHOLINERGIC MECHANISMS OF THE AIRWAYS: MEDICAL EDUCATION

Dr. Tanseli EFEÖĞLU GÖNLÜGÜR,^a Dr. Uğur GÖNLÜGÜR^b

^aGöğüs Hastalıkları, Sivas Sultan 1. İzzettin Keykavus Devlet Hastanesi,

^bGöğüs Hastalıkları ABD, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, SİVAS

Özet

İnsan solunum yolları, havayolu fonksiyonunu düzenleyen afferent ve efferent otonomik sinirlerce innerve edilmektedir. Parasempatik sinir sisteminin klasik nörotransmitteri olan asetilkolin havayolu tonusunu düzenlemektedir. Ayrıca, merkezi havayollarında mukus üretimi de kolinergik kontrol altındadır. Akciğerin kolinergik aktivitesi periferik aktiviteye göre merkezi havayollarında daha belirgindir. Asetilkolin etkisini nikotik ve muskarinik olmak üzere iki farklı sınıf reseptör üzerinden göstermektedir. Bu nörotransmitter aynı zamanda lökositler, düz kas hücreleri, epitelial ve endotelial hücreler gibi sinirsel olmayan hücrelerde de bulunmaktadır. Asetilkolin havayolu yeniden yapılanma sürecini kısmen düzenleyebilir. M3 reseptörleri havayolu düz kas kasılmasına aracılık eden esas reseptör olmakla beraber düz kas üzerindeki M2 reseptörleri RhoA-Rho kinaz yolunu aktive etmektedir. Bu yol çoğalma uyarısı yapmakta ve inflamatuvar gen ekspresyonuna neden olmaktadır. Havayollarının sinirsel kontrolü ile inflamasyon arasında kompleks bir ilişki mevcuttur. Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı ile ilişkili havayolu inflamasyonlarında vagal tonus artmaktadır. Eozinofil kökenli majör bazik protein nedeniyle allerjik havayolu inflamasyonlarında havayolu sinirlerindeki M2 reseptörlerde fonksiyon bozukluğu görülebilir. Benzer şekilde artmış asetilkolin salgısı, viral enfeksiyonlarda gözlenen havayolu aşırı cevaplılığına katkıda bulunabilir. Bu derleme havayolu kolinergik sistemi ile ilgili güncel bilgileri özetlemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kolinergik ajanlar; asetilkolin; havayolu obstrüksiyonu

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:610-614

Abstract

The human airways are innervated via efferent and afferent autonomic nerves, which regulate many aspects of airway function. Acetylcholine as the classical neurotransmitter of parasympathetic nervous system regulates airway tone. In addition, the production of mucus in the central airways is also under cholinergic control. Cholinergic activity of the lung is more pronounced in large than in peripheral airways. Acetylcholine can act via two different classes of receptors, the nicotinic and muscarinic receptors. This neurotransmitter is also present in non-neural cells including leukocytes, smooth muscle cells, epithelial and endothelial cells. Besides, acetylcholine may in part regulate pathological changes associated with airway remodeling. M3 receptors are the predominant type mediating airway smooth muscle contraction but M2 receptors on the airway smooth muscle also activate RhoA-Rho kinase pathway. This pathway mediates a proliferative stimulus and may cause inflammatory gene expression. There is a complex relation between inflammation and neural control of the airways. Vagal tone is increased in airway inflammation associated with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. M2 receptor dysfunction on the airway neurons may be present in allergic airway inflammation by eosinophil-derived major basic protein. Similarly, an increased release of acetylcholine from parasympathetic nerves seems to contribute to airway hyperresponsiveness associated with viral infection. This review summarizes the current knowledge of the cholinergic system in the airways.

Key Words: Cholinergic agents; acetylcholine; airway obstruction

Asetilkolin, nörotransmitterlerin prototipi olup bakteriler, algler, protozoalar ve ilkel bitkilerde bulunmaktadır.¹ Kolin asetil transferaz enzimi kolin ile asetil koenzim A'yı birleştirerek asetilkolini oluşturmaktadır. Asetilkolin esteraz ise asetilkolini parçalamaktadır. Asetilkolin

etkisini nikotik veya muskarinik reseptörler üzerinden göstermektedir. Nikotik reseptörler özünde iyon kanallarıdır. Aktive olduklarında pozitif yüklü iyonların hücre içine girmesine dolayısıyla depolarizasyona neden olurlar. Nikotik reseptör alt ünitesine (alfa, beta, gamma, epsilon) göre reseptörün etkisi de değişmektedir. On farklı alfa ve 4 farklı beta alt ünitesi tanımlanmıştır. Bronşiyal epitel hücreleri α_3 , α_5 , α_7 , β_2 , β_4 ; alveoler epitel ise α_3 , α_4 , α_5 , α_6 , α_7 alt ünitesini taşımaktadırlar. Submukozal bezler, havayolu ve damar düz kaslarında sadece α_7 alt ünitesi vardır. Muskarinik reseptör

Geliş Tarihi/Received: 18.07.2006 **Kabul Tarihi/Accepted:** 16.10.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Tanseli EFEÖĞLU GÖNLÜGÜR
Sivas Sultan 1. İzzettin Keykavus Devlet Hastanesi,
Göğüs Hastalıkları, SİVAS
tefeoglu@gmail.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

törler 5 tip (M1, M2, M3, M4 ve M5) olup membranla bağlantılı G proteinleriyle ilişkilidirler. M1 reseptörleri, nöronlarda potasyum kanallarını kapatarak depolarizasyonu tetiklerler ve çapı 2 mm'den küçük havayollarında yoğunlaşmışlardır.² Parasempatik sinir sisteminin klasik iletim molekülü olan asetilkolin havayollarında fizyolojik ve patolojik durumlarda önemli roller üstlenmektedir. Mesela kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAHA)'nda havayolu obstrüksiyonunun tek geriye dönebilir bileşeninin vagal tonus olduğu gösterilmiştir.³

Havayolunda Kolinerjik Sinirler

Havayolunda kolinerjik nöronlar lamina propria ve submukozada bulunmaktadır.¹ Havayolundaki otonom gangliyonla gelen parasempatik sinirden asetilkolin salgısı presinaptik aralıkta bulunan M2 reseptörlerinin kontrolündedir. M2 reseptörleri aynı zamanda gangliyondan çıkan sinirin terminal ucunda da bulunmaktadır. Asetilkolin salgısı fazla olursa bu otoreseptörler aktive olmakta ve nöronun asetilkolin salgısı azaltılmaktadır. M2 reseptörleri nöronun asetilkolin salgısını negatif feed-back mekanizmayla kontrol etmektedirler.³ Otonom gangliyondan çıkan efferent kolinerjik sinirler havayolu düz kas tonusunun kontrolünde ana mekanizmayı oluştururlar.² M2 reseptörler sadece asetilkolin salgısını baskılamaz, aynı zamanda havayolu sempatik sinirlerinden noradrenalin salgısını da önlemektedir.² Adrenerjik ajanlar ise havayolu parasempatik sinirlerinden asetilkolin salgısını $\alpha 2$ reseptörler üzerinden baskı-larken $\beta 2$ reseptörler üzerinden arttırmaktadırlar.⁴

Asetilkolinin Sinir Dışı Kaynakları

Asetilkolin havayollarında sadece parasempatik sinirlerden salınmaz, epitel ve iltihap hücreleri de asetilkolin salgılayabilir. İnsanda asetilkolini sentezleyen enzim olan "kolin asetil transferaz" havayolu, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemi döşeyen epitel hücrelerinde, plevra ve perikardda bulunan mezotel hücrelerinde, endotel, miyosit, mast hücreleri, lökositler seri elemanlar ve alveoler makrofajlarda bulunmaktadır.¹

Asetilkolin ve Havayolu Epiteli

Bronş epitelince salgılanabilen asetilkolin, insan bronş epitel hücrelerinin çoğalmasında ve deri-

deki epidermal hücrelerin farklılaşmasını uyarmaktadır.² Her ne kadar havayolu epitelinde muskarinik reseptörler olsa da bu etkiler muhtemelen nikotinik reseptörler aracılık etmektedir.⁵ Çünkü nikotinin yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi vardır. Nikotin reseptör antagonistleri (tubokürarin, mekamilamin) bronş epitel hücrelerini küçültüp birbirlerinden kopartırken nikotin reseptör agonistleri hücrelerin morfolojisini değiştirmekte, büyüme faktörlerine daha az ihtiyaç duymalarına, kontakt inhibisyon ve apoptozise duyarlılıklarının azalmasına neden olmaktadır.^{1,6}

Nikotin maruziyeti, nikotinik reseptörlerde artışa neden olarak nikotin bağımlı reaksiyonlara pozitif feed-back etki yapar. Nikotin maruziyetinin insan bronşiyal epitel hücrelerinde nikotinik reseptör $\alpha 3$ ve $\alpha 7$ alt tip düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir.⁷ Aynı şekilde sigara içicilerinde periferik kan hücrelerinin nikotin bağlama kapasitelerinin günlük içilen sigara sayısı ile doğru orantı göstermektedir.⁸ Bu mekanizmalar nikotin bağımlılığında önemlidir.

Normal fizyolojik şartlarda her gün bronş epitel hücrelerinin %1'den azı değişime uğrarken bu oran havayolu inflamasyonu gibi patolojik durumlarda %17 düzeylerine çıkabilir.¹ Astım ve KOAHA gibi havayolu inflamasyonu yapan durumlarda, bronşlarda parasempatik aktivitenin arttığı bilinmektedir.³ Bu tür durumlarda asetilkolinin havayolu epitelinin yenilenme sürecinde rol aldığı zannedilmektedir.

Asetilkolin ve Havayolu Düz Kası

Düz kas kasılması, esas olarak molekül ağırlığı 20 kDa olan, miyozin hafif zincirinin fosforilasyon düzeyi ile kontrol edilmektedir. Miyozin hafif zincirinin kinaz enzimi fosfor bağlayarak kasılmayı artırıcı etki gösterirken miyozin hafif zincirinin fosfataz enzimi fosforu kopartıp düz kası gevşetici etki göstermektedir.⁹ M3 reseptörüne bağlı G proteini, fosfolipaz C'yi aktifleyince inozitol trifosfat ve diaçil gliserol açığa çıkar. İnozikol trifosfat, hücre içindeki depolardan kalsiyumun boşalmasını tetikler. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı kalmodulin üzerinden miyozin hafif zincirinin kinaz enzimini aktive ederek düz kas kasılmasına neden olmaktadır.²

M3 reseptörü taşımayan canlılar metakolin veya vagus uyarısına bronkokonstriksiyon yanıtı veremezler. Havayolu düz kas kasılmasından başlıca M3 reseptörleri sorumluyken düz kas hücrelerinin membranlarında M3 reseptörlerin 4 katı düzeyinde bulunan M2 reseptörlerinin fonksiyonları tam netleşmemiştir.¹⁰ Havayolu düz kas kasılması, kalsiyum bağımlı ve kalsiyum bağımsız mekanizmalarca düzenlenmektedir. Kalsiyum bağımsız mekanizmalar deyimi sabit bir kalsiyum konsantrasyonunda artmış kasılmayı ifade etmektedir. Bazı kaynaklarda buna kalsiyum duyarlılığı da denilmektedir.⁹ M2 reseptör aracılı sinyal düz kasta Rho kinaz ve RhoA adlı küçük G proteinleri üzerinden miyozin hafif zincirlerinin fosfataz enzimini inhibe ederek düz kas kasılmasını arttırmaktadır.^{2,9} Aktin filamanlarını yeniden organize eden Rho kinazlar, anjiyotensin II'nin insan bronş düz kaslarını kasıcı etkisinden sorumludurlar. Tekrarlayan antijen maruziyetleri olmasa bile, antijene duyarlaşma süreci bronş düz kas hücresinde Rho kinaz aktivitesinin artmasına neden olmaktadır.⁹ RhoA-Rho kinaz mekanizması havayolu düz kasında hem kasılma hem de gen transkripsiyonunda rol alan bir süreç olduğundan tekrarlayan antijen maruziyetleri havayolu düz kas hücresinin kasılma yeteneğini arttırmaktadır.¹¹ Muskarinik reseptör uyarılması bu mekanizma sayesinde havayolu düz kas hücrelerinde IL-8, siklo-oksijenaz 1 ve siklo-oksijenaz 2 gibi inflamatuvar gen ürünlerini de arttırmaktadır.¹²

Havayolu düz kas hücresinde bulunan M2 reseptör aracılı sinyal, seçici olmayan katyon kanallarını açarak sodyum ve kalsiyum iyonlarının hücre içine girmesine neden olmaktadır. Bu etki M3 reseptör aracılı inozitol trifosfat sentezi için gerekli gibi görünmektedir.¹³

M2 reseptör aracılı sinyal düz kas hücresinin kalsiyum duyarlılığını arttırıp kasılmaya destek olurken bir yandan da kasılmayı baskılayıcı etkinlik sergilemektedir. M2 reseptörler tıpkı β_2 adrenerjik ajanlar gibi kendilerine özgü G proteinleri üzerinden adenil siklazı aktive ederek siklik AMP artışına ve protein kinaz A aktivasyonuna yol açarak düz kas kasılması üzerinde inhibitör etkinlik gösterirler.²

Havayolu düz kas liflerinin asetilkolin sentezleyen kolin asetil transferaz enzimine sahip olduk-

ları bilinmektedir. Ancak bu enzimin ve sentezlediği asetilkolinin sitoplazmada ne iş yaptığı tam belli değildir. Sitoskeleton, negatif yüklerden oluşan bir ağı teşkil ettiğinden pozitif yüklü asetilkolin ile etkileşime girmesi kolaydır.¹

Asetilkolin ve Havayolu Salgıları

Merkezi havayollarında mukus salgısı kolinerjik kontrol altında olup bu süreçte asetilkolin dominant nörotransmitterdir.¹⁴ İnsanlarda metakolin nazal yolla uygulandığında sıvı, protein, lizozim ve laktoferrin salgısına neden olmaktadır.¹ Havayolu submukozal bezlerde M1 reseptörlerinin 2 katı düzeyinde M3 reseptörü vardır. Mukus salgısından M3 reseptörleri sorumlu iken bezlerden su ve elektrolit salgısında M1 ve M3 reseptörleri beraberce görev görmektedirler.¹⁵ Muskarinik reseptör stimülasyonuna submukozal bezler gibi Goblet hücreleri de mukus salgısı ile yanıt vermektedir.¹⁴ Siliyer vuru frekansı muskarinik agonistlerce artıp muskarinik antagonistlerce azalmaktadır.¹⁶ Asetilkolinin mukosiliyer akımı arttırıcı etkisi olmasına karşın atropin mukosiliyer akımda ancak kısmi bir azalma yapmaktadır.¹ Bununla beraber KOAH olgularında tiotropiyumun mukosiliyer akımı bozmadığı bildirilmiştir.¹⁷

Asetilkolin ve İnflamasyon

Asetilkolin reseptörleri en çok CD4 T lenfositlerinde, sonra CD8 T lenfositlerinde, daha az olarak da B lenfositlerinde bulunmaktadır.¹ T ve B lenfositlerinde 5 tip muskarinik reseptörün de olabileceği gösterilmiştir.¹⁸ Balgam nötrofil lökosit ve makrofajlarında M1, M2, M3 reseptörleri bulunmakta olup KOAH hastalarının balgam hücreleri asetilkoline maruz kaldıklarında LTB4 salgılamaktadırlar.¹⁹ Bu gözlem kolinerjik mekanizmaların KOAH'da havayolu inflamasyonunu tetikleyebileceklerini de düşündürmektedir. Diğer yandan insan bronşiyal epitel hücrelerindeki nikotinik reseptörlerin uyarılması GM-CSF salgısına neden olmaktadır.¹ Bu nedenle kolinerjik mekanizmaların astım veya KOAH'da havayolu inflamasyonunun kronikleşmesine katkıda bulunması da mümkündür.

Havayolu epitel hücrelerinde bulunan M3 reseptörlerinin uyarılması fosfolipaz A2'yi aktive etmekte ve PGE2 gibi prostanooidlerin salgılanmasına yol açmaktadır.⁵ Ancak açığa çıkan PGE2,

parasempatik sinirlerden asetilkolin salgısını baskılayarak vagal uyarıya bağılı nörojenik inflamasyona negatif feed-back etki oluşturmaktadır.²⁰

Havayolu inflamasyonu durumlarında kolinerjik aktivitenin arttığını gösteren bilgiler mevcuttur. Allerjen veya ozon maruziyetinde kolinerjik gangliyona gelen efferent nöronlardan asetilkolin salgısını azaltan M2 otoreseptörlerinde fonksiyon bozukluğu meydana gelmektedir. Bunun nedeni havayollarına gelen eozinofil lökositlerin salgıladığı majör bazik proteinin M2 reseptörlerin antagonisti olmasıdır. Viral enfeksiyonu olan astımlıların inhale antikolinerjik ajanlara daha güçlü bronkodilatatör yanıt vermesinin nedeni de muhtemelen artmış vagal tonusdur. Allerjik havayolu hastalıklarında kolinerjik aktivitenin artmasının tek nedeni M2 reseptör disfonksiyonu değildir. Anti-jene duyarlaştırılmış deney hayvanlarında sinaptik aralıkta asetilkolini yıkan esteraz enzim aktivitesinin de azaldığı saptanmıştır.^{3,11} İnfluenza ve parainfluenza virüsleri yüzeyinde nöraminidaz enzimi taşırlar. Enfekte ettikleri hücrelere de bu enzimleri taşırlar. Nöraminidaz, M2 reseptörlerindeki siyalik asidi kopartarak M2 reseptörün asetilkoline afinitesini azaltır. Diğer yandan havayolu parasempatik sinirlerinin parainfluenza virüsü ile enfeksiyonunda M2 reseptör mRNA düzeylerinin azaldığı, bunun nedeninin de anti-viral immün yanıt sırasında salınan gamma interferon olabileceğı bildirilmiştir.²

Larenksten akciğer parankimine kadar dağılmış olan afferent C liflerinin uyarılması refleks bronkokonstriksiyon, öksürük ve mukus salgısına neden olmaktadır. Soğuk, sıcak gibi fiziksel veya histamin, serotonin, bradikinin, taşikininler, prostanoidler veya tromboksan A2 gibi inflamatuvar etkenler C liflerini uyarabilmektedir. Bu mekanizma da astım veya KOAH'daki havayolu hiperreaktivitesine ve KOAH'daki artmış vagal tonusa katkıda bulunabilir.³

Asetilkolin M1 muskarinik reseptörler üzerinden mast hücre salgısını baskılamaktadır.^{1,2} Bu nedenle atropin uygulanmış nazal mukoza antijenle temasa geldiğinde daha fazla histamin açığa çıkmaktadır. Muskarinik M1 ve M3 reseptörlerine eşit seçicilik gösteren atropin M3 reseptörleri üzerinden bronş düz kas gevşemesini sağlasa da mast hücre salgılarını arttırarak allerjik havayolu inflamasyonunu şiddetlendirebilir.¹ Bu nedenle astımlılarda

havayolu obstrüksiyonunun tedavisi için antikolinerjik ajanlardan çok β_2 agonistlerin kullanılması daha doğru olabilir. Diğer yandan astımda β_2 agonistler, antikolinerjiklerden daha güçlü bronkodilatasyon yapmaktadır.¹¹ Atropin ile yapılan 3 haftalık antikolinerjik tedavi sonrası havayolunda M2 ve M3 reseptör yoğunluklarının arttığı saptanmıştır.²¹ Dolayısıyla bronkodilatasyon amaçlı antikolinerjik tedavi başlanmış astımlılarda tedavi kesilecek olursa havayolu aşırı cevaplılığında ani artışlar ortaya çıkabilir.

Asetilkolin ve Doku Remodeling Süreci

Kontraktıl protein ekspresyonunu tetikleyen "transforming growth factor" gibi mediyatörler çoğalan mezenkimal hücrelerin olgun düz kas hücrelerine dönüşümünde, havayollarında düz kas hipertrofisi ve miyofibroblast kümeleşmesinde önemli rol oynarlar.²² Havayollarında değişik kompartımanlarda bulunan mezenkimal hücrelerin (mukoza veya adventisyadaki fibroblastlar, havayolu düz kas hücreleri) kasılma yetenekleri bazı özgün kas proteinlerinin (düz kas alfa-aktin, düz kas miyozin ağır zinciri, desmin) ekspresyonu uyarılarak arttırılabilir. Bu uyarılma işlemini RhoA-Rho kinaz aracılı sinyal mekanizması gerçekleştirebilir.²³ M2 reseptör aracılı sinyalin düz kasta RhoA-Rho kinaz yolunu aktive ettiği önceki satırlarda ifade edilmişti.⁹ Muskarinik reseptör aracılı sinyal havayolu düz kas hücresinin çoğalmasında zayıf bir uyarı yaratabilirken büyüme faktörlerinin etkinliğini fazlasıyla arttırmaktadır. Muskarinik reseptör uyarılması havayolu düz kas hücrelerinin gerek EGF'ye gerekse trombosit kökenli büyüme faktörüne verdikleri mitojenik cevabı arttırmaktadır.^{11,24}

Akciğer fibroblastları hem muskarinik hem de nikotinik reseptörler taşımaktadır.² İnsan akciğer fibroblastları muskarinik reseptör uyarısına proliferasyon ile yanıt vermektedir.³ Diğer yandan anenin nikotin maruziyeti fetüs akciğerinde kollajen gen ekspresyonunu arttırmaktadır.²

Kronik glukokortikoid tedavi, hem havayolu düz kas hücresinde M2-M3 reseptör hem de parasempatik sinirlerde M2 reseptör yoğunluğunu azaltmaktadır.^{25,26} Bu sayede kolinerjik mekanizmalara bağılı düz kas kasılması ve doku remodeling süreçlerini geriye çevirebilir.

Asetilkolin ve Akciğer Kanseri

Nikotin, mitojen-aktive protein kinazlar aracılığıyla küçük hücreli akciğer kanseri hücrelerinin çoğalmasını arttırmaktadır.¹ Nikotinden türeyen bazı nitrozaminlerin nikotidik reseptör $\alpha 7$ alt üniteye nikotinden daha kuvvetli bağlandığı saptanmıştır. Sigara dumanının içinde bulunan bu tür moleküller havayolundaki afferent nöronlarda bulunan nikotidik reseptörleri aktive edebilmektedir. İnsan küçük hücreli akciğer kanseri hücrelerinde bulunan nikotidik reseptörler sigara içicilerinde hem kanserin oluşumunda hem de büyümesinde rol oynayabilir.²⁷ Bir başka araştırmada küçük hücreli akciğer kanseri hücreleri üzerinde bulunan M3 muskarinik reseptörlerin uyarılması bu hücrelerin E-cadherin aracılı adezyonlarını tetiklemiştir. Dolayısıyla kolinerjik mekanizmalar kanserin metas-tazında da rol alabilir.²⁸

KAYNAKLAR

- Wessler IK, Kirkpatrick CJ. The Non-neuronal cholinergic system: An emerging drug target in the airways. *Pulm Pharmacol Ther* 2001;14:423-34.
- Racke K, Matthiesen S. The airway cholinergic system: Physiology and pharmacology. *Pulm Pharmacol Ther* 2004; 17:181-98.
- Gosens R, Zaagsma J, Meurs H, Halayko AJ. Muscarinic receptor signaling in the pathophysiology of asthma and COPD. *Respir Res* 2006;7:73.
- Zhang XY, Robinson NE, Wang ZW, Lu MC. Catecholamine affects acetylcholine release in trachea: Alpha 2-mediated inhibition and beta 2-mediated augmentation. *Am J Physiol* 1995;268(3 Pt 1):L368-73.
- Brunn G, Wessler I, Racke K. Mucosa-dependent muscarinic liberation of prostaglandins from rat isolated trachea. *Br J Pharmacol* 1995;116:1991-8.
- West KA, Brognard J, Clark AS, Linnoila IR, Yang X, Swain SM, et al. Rapid Akt activation by nicotine and a tobacco carcinogen modulates the phenotype of normal human airway epithelial cells. *J Clin Invest* 2003;111:81-90.
- Zia S, Ndoye A, Nguyen VT, Grando SA. Nicotine enhances expression of the alpha 3, alpha 4, alpha 5, and alpha 7 nicotinic receptors modulating calcium metabolism and regulating adhesion and motility of respiratory epithelial cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;97:243-62.
- Benhammou K, Lee M, Strook M, Sullivan B, Logel J, Raschen K, et al. [(3)H]Nicotine binding in peripheral blood cells of smokers is correlated with the number of cigarettes smoked per day. *Neuropharmacology* 2000;39:2818-29.
- Gosens R, Schaafsma D, Nelemans SA, Halayko AJ. Rho-kinase as a drug target for the treatment of airway hyper-responsiveness in asthma. *Mini Rev Med Chem* 2006;6:339-48.
- Fisher JT, Vincent SG, Gomez J, Yamada M, Wess J. Loss of vagally mediated bradycardia and bronchoconstriction in mice lacking M2 or M3 muscarinic acetylcholine receptors. *FASEB J* 2004;18:711-3.
- Gosens R, Bos IS, Zaagsma J, Meurs H. Protective effects of tiotropium bromide in the progression of airway smooth muscle remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:1096-102.
- Kanefsky J, Lenburg M, Hai CM. Cholinergic receptor and cyclic stretch-mediated inflammatory gene expression in intact ASM. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006;34:417-25.
- Janssen LJ, Sims SM. Acetylcholine activates non-selective cation and chloride conductances in canine and guinea-pig tracheal myocytes. *J Physiol* 1992;453:197-218.
- Rogers DF. Motor control of airway goblet cells and glands. *Respir Physiol* 2001;125:129-44.
- Ramnarine SI, Haddad EB, Khawaja AM, Mak JC, Rogers DF. On muscarinic control of neurogenic mucus secretion in ferret trachea. *J Physiol* 1996;494(Pt 2):577-86.
- Wanner A, Salathe M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *J Respir Crit Care Med* 1996;154(6 Pt 1):1868-902.
- Hasani A, Toms N, Agnew JE, Sarno M, Harrison AJ, Dilworth P. The effect of inhaled tiotropium bromide on lung mucociliary clearance in patients with COPD. *Chest* 2004; 125:1726-34.
- Fujii T, Kawashima K. An independent non-neuronal cholinergic system in lymphocytes. *Jpn J Pharmacol* 2001;85:11-5.
- Profita M, Giorgi RD, Sala A, Bonanno A, Riccobono L, Mirabella F, et al. Muscarinic receptors, leukotriene B4 production and neutrophilic inflammation in COPD patients. *Allergy* 2005;60:1361-9.
- Spicuzza L, Giembycz MA, Barnes PJ, Belvisi MG. Prostaglandin E2 suppression of acetylcholine release from parasympathetic nerves innervating guinea-pig trachea by interacting with prostanoid receptors of the EP3-subtype. *Br J Pharmacol* 1998;123:1246-52.
- Witt-Enderby PA, Yamamura HI, Halonen M, Lai J, Palmer JD, Bloom JW. Regulation of airway muscarinic cholinergic receptor subtypes by chronic anticholinergic treatment. *Mol Pharmacol* 1995;47:485-90.
- Goldsmith AM, Bentley JK, Zhou L, Jia Y, Bitar KN, Fingar DC, et al. Transforming growth factor-beta induces airway smooth muscle hypertrophy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006;34:247-54.
- Halayko AJ, Kartha S, Stelmack GL, McConville J, Tam J, Camoretti-Mercado B, et al. Phosphatidylinositol-3 kinase/mammalian target of rapamycin/p70S6K regulates contractile protein accumulation in airway myocyte differentiation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:266-75.
- Gosens R, Nelemans SA, Grootte Bromhaar MM, McKay S, Zaagsma J, Meurs H. Muscarinic M3-receptors mediate cholinergic synergism of mitogenesis in airway smooth muscle. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:257-62.
- Emala CW, Clancy J, Hirshman CA. Glucocorticoid treatment decreases muscarinic receptor expression in canine airway smooth muscle. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 1):L745-51.
- Jacoby DB, Yost BL, Kumaravel B, Chan-Li Y, Xiao HQ, Kawashima K, et al. Glucocorticoid treatment increases inhibitory m(2) muscarinic receptor expression and function in the airways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:485-91.
- Schuller HM, Orloff M. Tobacco-specific carcinogenic nitrosamines. Ligands for nicotinic acetylcholine receptors in human lung cancer cells. *Biochem Pharmacol* 1998;55:1377-84.
- Williams CL, Hayes VY, Hummel AM, Tarara JE, Halsey TJ. Regulation of E-cadherin-mediated adhesion by muscarinic acetylcholine receptors in small cell lung carcinoma. *J Cell Biol* 1993;121:643-54.