

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ARALIKLI VE SÜREKLİ HİPOKSİYE MARUZ
BIRAKILAN SIÇANLARDA SOLUNUMSAL UZUN
SÜRELİ FASILİTASYONUN (vLTF) ARAŞTIRILMASI VE
BEYİN SAPI VE OMURİLİK ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Kemal Erdem BAŞARAN**

**Danışmanlar
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN
Prof. Dr. Frank L. POWELL**

Doktora Tezi

**Kasım 2015
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ARALIKLI VE SÜREKLİ HIPOKSIYE MARUZ
BIRAKILAN SIÇANLARDA SOLUNUMSAL UZUN
SÜRELİ FASILİTASYONUN (vLTF) ARAŞTIRILMASI VE
BEYİN SAPI VE OMURİLİK ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Kemal Erdem BAŞARAN**

**Danışmanlar
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN
Prof. Dr. Frank L. POWELL**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TDK-2014-4435 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Kasım 2015
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Kemal Erdem BAŞARAN

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Aralıklı ve Sürekli Hipoksiye Maruz Bırakılan Sıçanlarda Solunumsal Uzun Süreli Fasilitasyonun (vLTF) Araştırılması ve Beyin Sapı ve Omurilik Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması" adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Kemal Erdem BAŞARAN

Danışman

Prof. Dr. Sami AYDOĞAN

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

Prof. Dr. Sami AYDOĞAN danışmanlığında **Kemal Erdem BAŞARAN** tarafından hazırlanan "**Aralıklı ve Sürekli Hipoksiye Maruz Bırakılan Sıçanlarda Solunumsal Uzun Süreli Fasilitasyonun (vLTF) Araştırılması ve Beyin Sapı ve Omurilik Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması**" adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

02.11.2015

JÜRİ

İmza

Danışman	: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN	
	(Erciyes Üniversitesi Fizyoloji ABD)	
Üye	: Doç. Dr. Tolga ERTEKİN	
	(Erciyes Üniversitesi Anatomi ABD)	
Üye	: Doç. Dr. Nuri TUTAR	
	(Erciyes Üniversitesi Göğüs Hastalıkları ABD)	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Mehmet YALÇIN GÜNAL	
	(Medipol Üniversitesi Fizyoloji ABD)	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Faruk Metin ÇOMU	
	(Kırıkkale Üniversitesi Fizyoloji ABD)	

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, her konuda bana destek olup rehberlik eden danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Sami AYDOĞAN'a şükranlarımı sunarım. Eğitimim sürecinde yardımını esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Fatma BAŞARAN ve babam Opr. Dr. Salim BAŞARAN' a saygı ve sevgilerimi sunarım. Her zaman sabırla yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Güzide BAŞARAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı hocalarıma ve arkadaşlarıma geçirdiğimiz seneler boyunca yardımlarından dolayı her birine tek tek çok teşekkür ederim. Üniversitemiz eski rektörü ve şu an TÜSEB Başkanlığı görevini yürüten, her yönüyle örnek aldığım ve saygı duyduğum değerli hocam Prof. Dr. H. Fahrettin KELEŞTEMUR' a ve ailesine sonsuz minnetlerimi sunarım. Ayrıca University of California San Diego' da yurtdışı eğitimim boyunca bana her zaman destek olan danışmanım Prof. Dr. Frank L. POWELL' a,engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. John B. West' e ve kendisinden birçok deneysel yöntem ve model öğrendiğim, projelerimi tamamlamamda yardımcı olan çalışma arkadaşım Dr. Zhenxing Fu' ya şükranlarımı sunarım.

**ARALIKLI VE SÜREKLİ HİPOKSİYE MARUZ BIRAKILAN SIÇANLARDA
SOLUNUMSAL UZUN SÜRELİ FASILİTASYONUN (vLTF) ARAŞTIRILMASI
VE BEYİN SAPI VE OMURİLİK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Kemal Erdem BAŞARAN

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi, Eylül 2015
Danışman: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

ÖZET

Akut aralıklı hipoksi, solunumsal motor çıktı cevabın genliğinde kalıcı bir artış olarak bilinen uzun süreli fasilitasyona (LTF) neden olur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar solunumsal plastisiteye sebep olan hücreiçi sinyal yolları ve bununla ilgili deneysel modeller üzerinde odaklanmıştır. LTF, aralıklı hipoksi sonrasında oluşurken, sürekli hipoksi ile oluşmaz. Birçok hücreiçi sinyal yollarının solunumsal LTF' ye sebep olabildiği aydınlatılmıştır. Bu yollar temel olarak serotonin bağımlı Gq (Q yolağı) ve adenosin bağımlı Gs (S yolağı) olarak ifade edilen metabolik protein çifti reseptörlerini aktive eder. Solunumsal nöral plastisiteye neden olan hipoksinin bir başka durumu kronik sürekli hipoksidir (KSH). KSH boyunca oluşan ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) sırasında hipoksik ventilatuar cevap (HVR) artar ve bu olayın fizyolojik anlamlılığı O₂ taşınmasındaki artışla ifade edilmektedir. Bu tez çalışmasında AAİH' nin indüklediği vLTF oluşumuna neden olacağı düşünülen moleküler sinyal mekanizması içerisindeki S yolağının, A_{2A} reseptör alt tipi aktivasyonunun, VAH oluşumunda asıl rolü oynadığı hipotez olarak sunulmuştur.

Bu çalışmamızda üç deney grubu kullanıldı. Normaksik grubu beyin sapı ve spinal kord dokuları çıkarılana kadar normaksik ortamda tutuldu. AAİH' ye maruz bırakılan grup için oluşturulan iki farklı protokolde bütün vücut pletismografisi (WBP) kullanılarak ventilasyon, solunum frekansı ve tidal volüm ölçümleri yapıldı. Ayrıca WBP ile entegre olan bir sistemle protokolde belirlenen zamanlarda arteriyel kan gazı analizi ile birlikte metabolizma ölçümleri yapıldı. Son olarak, KSH grubu ise bir hafta boyunca hipobarik hipoksik ortama maruz bırakıldı. İstatistiksel analiz için p<0.05 anlamlılık düzeyi kabul edildi.

Bu çalışmada LTF oluşumuna neden olan sinyal yolları ve bu yollar arasındaki etkileşimlerin VAH oluşumu için tartışılmıştır. Bulunan sonuçlara göre orta şiddetli AAİH sonrasında aktive olan Q yolağı pLTF oluşumuna neden oldu fakat vLTF oluşumuna neden olan

herhangi bir kanıt bulunamadı. Sürekli hipoksi ile oluşan VAH, S yolağındaki adenosin A_{2A} reseptör aktivasyonundan kaynaklanan plastisite oluşumu ile benzerlik gösterdi. Henüz üzerinde yeterince çalışma yapılmamış bu mekanizmaları veya etkileşimleri anlamak, solunum yetmezliği ve diğer motor fonksiyon bozuklukları olan hastaların tedavisinde yeni yöntemlerin gelişmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Solunumsal nöral plastisite, Uzun süreli fasilitasyon (LTF), Ventilasyonun Hipoksiye Aklimatizasyonu (VAH), Aralıklı hipoksi, Sürekli hipoksi

**INVESTIGATION OF VENTILATORY LONG-TERM FACILITATION (vLTF)
EXPOSED TO INTERMITTENT AND SUSTAINED HYPOXIA AND
COMPARED EFFECTS ON BRAIN STEM AND SPINAL CORD IN RATS**

Kemal Erdem BAŞARAN

**Erciyes University, Health Science Institute,
Department of Physiology
Doctorate Thesis, September 2015
Advisor: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

ABSTRACT

Acute intermittent hypoxia elicits long term facilitation (LTF) known as a persistent augmentation of respiratory motor output. Considerable recent progress has been made toward an understanding of the mechanisms of this potentially model of respiratory plasticity. LTF is elicited by intermittent but not sustained hypoxia. Multiple intracellular pathways have been elucidated that are capable of giving rise to ventilatory LTF (vLTF). They mainly activate the metabolic receptors coupled to Gq (Q pathway) and Gs (S pathway) proteins. Another condition to elicit ventilatory neural plasticity is chronic sustained hypoxia (CSH). Hypoxic ventilatory response augments during CSH when ventilatory acclimatization to hypoxia (VAH) occurs and physiological significant of this event could be explain with augmentation of carrying O₂ to tissues. In this study we hypothesis that activation of A2_A receptor subtypes induced by AIIH in vLTF also play a role to present VAH in the actual formation of molecular signaling S pathway.

In this study we used three experimental groups. Normoxia group kept in normoxic conditions until brain stem and spinal cord tissues were taken out. There are two different protocols created for AIIH group. We used whole body pletismography (WBP) to measure ventilation, breathing frequency and tidal volume. In addition to WBP device we also used integrated devices to measure arterial blood gases and metabolism parameters simultaneously on timing points in protocols. Lastly, CSH group exposed to hypobaric hypoxia condition for one week. For statistical analysis, p <0.05 significance level was adopted.

In this study we discussed the possibility that interactions between pathways confer properties to LTF, including pattern sensitivity and formation of VAH. For our results activated Q pathway caused pLTF but not vLTF after exposed to moderate AIIH conditions. Activated adenosine A2_A receptor in S pathway showed similar effect to occur plasticity with VAH during sustained hypoxia. Understanding these mechanisms and their interactions may enable us to

understand plasticity as a treatment for patients with ventilatory impairment or other motor deficits.

Keywords: Ventilatory neural plasticity, Long term facilitation (LTF), Ventilatory Acclimatization to Hypoxia (VAH), Intermittent hypoxia, Sustained hypoxia

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI	iii
KABUL ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
TABLO, ŞEKİL, RESİM VE GRAFİK LİSTESİ	xiv
KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. SOLUNUMUN KONTROLÜ	8
2.1.1. Solunum Merkezinin Nöro-Anatomik Lokasyonu	9
2.1.1.1. Dorsal Solunum Grubu (DRG)	10
2.1.1.2. Ventral Solunum Grubu (VRG)	11
2.1.1.3. Pons, Pontin Solunum Grubu (PRG) ve Serebral Korteks.....	13
2.1.2. Solunum Fazları.....	14
2.1.3. Solunum Refleksinin Oluşumu	16
2.2. SOLUNUM RİTMİNİN OLUŞMASI VE NÖROMODÜLASYONU	18
2.2.1. Solunum Ritminin Oluşması.....	18
2.2.2. Nöromodülatörlerin Solunum Aktivitesi Üzerine Etkisi	21
2.2.3. Solunumla İlişkili Nöromodülatörlerin Reseptörleri ve İkincil Haberci Sistemleri	24
2.2.4. Solunum Aktivitesinin Frekansının İnhibitör ve Eksibitörlerle Kontrolü	26
2.2.5. Solunum Aktivitesinin Genliğinin Nörol Kontrolü ve Nöromodülasyonu.....	27

2.3. SOLUNUMSAL NÖROPLASTİSİTE	28
2.3.1. Solunumsal Plastisite Oluşumunda Potansiyel Mekanizmalar	31
2.3.1.1. Sinaptik Dirençteki Değişiklikler.....	31
2.3.1.1.1. Aktivite Bağımlı Sinaptik Plastisite	31
2.3.1.1.2. Nöromodülatörlerle İndüklenen Sinaptik Plastisite	32
2.3.1.1.3. Sessiz Sinaps Oluşumu.....	32
2.3.1.2. Nöromodülatör Sistemdeki, Nöron Özelliklerindeki Değişiklikler ve Yeni Sinapsların Oluşumu	33
2.3.1.3. Modülatör Balans	34
2.3.1.4. Nöral Ağdaki Değişimler	35
2.3.2. Plastisiteyi Başlatan ve Aracılık Eden Bazı Faktörler	36
2.3.3. Solunumsal Plastisite Oluşumunun Deneysel Modelleri.....	36
2.3.4. Uzun Süreli Fasilitasyon (LTF)	40
2.3.4.1. Uzun Süreli Fasilitasyon (LTF) için Önerilen Moleküler Sinyal Mekanizması	43
2.3.4.1.1. Serotonin bağımlı LTF Yolağı	44
2.3.4.1.2. Serotoninden bağımsız LTF Yolağı	47
2.3.4.1.3. Q ve S Yolakları Arasında Çapraz Cevap İnhibisyonu	49
2.3.4.1.4. Diğer LTF Yolakları.....	50
2.4. KEMOSENSİTİVİTE	51
2.4.1. Periferel Kemoreseptör Sistemi	52
2.4.2. Merkezi Kemoreseptör Sistemi	53
2.4.3. Periferel ve Merkezi Solunumsal Kemorefllekslerin Entegrasyonu.....	58
2.4.4. Solunumun Hipoksiye Aklimatizasyonu (VAH).....	60
2.4.4.1. VAH Oluşum Teorileri	62
2.4.4.2. Kronik Hipoksi Boyunca Plastisite Mekanizmaları.....	63
3. GEREÇ VE YÖNTEM	65
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	65

3.2. DENEY GRUPLARI	65
3.3. CERRAHİ İŞLEMLER	66
3.3.1. Kolera toksin altünite B (CtB) Enjeksiyonu	66
3.3.2. Telemetrik Termometre Yerleştirilmesi	67
3.3.3. Femoral Artere Katater Kanule Edilmesi	67
3.4. FİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER	68
3.4.1. Akut Aralıklı İzokapnik Hipoksi (AAİH) Modeli	69
3.4.1.1. Akut İzokapnik Aralıklı Hipoksi Modeli Öncesi	69
3.4.1.2. Akut İzokapnik Aralıklı Hipoksi Modelinin Oluşturulması	70
3.4.1.3. Akut İzokapnik Aralıklı Hipoksi Modeli Sonrası ve Poikilokapni.....	70
3.4.2. Kronik sürekli hipoksi (KSH) modeli oluşturulması	72
3.5. DOKU PERFÜZYONU, DOKULARIN ÇIKARILMASI VE DOKU KESİTLERİNİN ALINMASI	72
3.6. FLORESAN BOYAMA VE FLORESAN MİKROSKONU ÖLÇÜMÜ	73
3.7. İSTATİKSEL ANALİZ.....	74
4. BULGULAR	75
4.1. VENTİLASYONUNUN HİPOKSİYE VE HİPERKAPNİYE CEVABI VE SOLUNUMSAL UZUN SÜRELİ FASILİTASYON	75
4.1.1. Hipoksik Ventilatuvar Cevap (HVR)	75
4.1.2. Solunumsal Uzun Süreli Fasilitasyon (vLTF)	75
4.1.3. Hiperkapnik Ventilatuvar Cevap (HCVR)	76
4.1.4. Ekspirasyon / CO ₂ üretim oranı	78
4.2. ARTERİYEL KAN GAZLARI VE METABOLİZMA.....	79
4.2.1. Arteriyel pH ve kan gazlarındaki değişiklikler	79
4.2.1.1. Arteriyel kan pH'ındaki değişiklikler	79
4.2.1.2. Arteriyel kan parsiyel CO ₂ basıncı (PaCO ₂) değişiklikler	79
4.2.1.3. Arteriyel kan parsiyel O ₂ basıncı (PaO ₂) değişiklikler.....	80
4.2.2. Metabolizmadaki değişiklikler	81

4.3. LTF OLUŞUMU İÇİN ÖNERİLEN SİNYAL MEKANİZMASININ OMURİLİK VE BEYİN SAPINDAKİ AKTİVASYONUNUN FARKLI HİPOKSİK KOŞULLARDA KARŞILAŞTIRILMASI	82
4.3.1. AAİH ve KSH koşullarında frenik sinir üzerinde aktive olan reseptör ve proteinlerin ekspresyonları	82
4.3.2. AAİH ve KSH koşullarında beyin sapı üzerinde aktive olan reseptör ve proteinlerin ekspresyonları	86
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	89
6. KAYNAKLAR	97
EKLER.....	130
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO, ŞEKİL, RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

Tablo 4.1.	Uygulanan Protokol 1 (n=5) ve Protokol 2 (n=6) için soluk frekansı (f_R), tidal volüm (V_t) ve ventilasyon (V_i) değerlerinin zaman bağımlı değişimleri.	76
Tablo 4.2.	Ekspirasyon / CO_2 üretim oranı.	78
Tablo 4.3.	Arteriyel pH ve kan gazlarının (Pa_{O_2} , Pa_{CO_2}) zaman bağımlı protokollere göre değişimi.	80
Tablo 4.4.	Oksijen (O_2) tüketimi, karbondioksit (CO_2) üretimi ve respiratuar değişim oranı (R) değerlerinin zaman bağımlı protokollere göre değişimi.	82
Şekil 2.1.	Beyin sapı üzerindeki solunum grubu bölgeleri.	11
Şekil 2.2.	Medulla üzerindeki solunum nöronlarının dorsal ve ventral görünümü.	12
Şekil 2.3.	Respiratuar nöron gruplarının ateşleme modeli ve respiratuar kas grubuyla eş zamanlı aktivitesi.	15
Şekil 2.4.	Solunum Refleksinin oluşması.	17
Şekil 2.5.	Rostral medulla üzerinde solunum ritmi oluşturan bölgeler.	20
Şekil 2.6.	Solunum nöral ağ aktivitesinin nöromodülasyonu.	24
Şekil 2.7.	Solunum ritim modülasyonuna katılan reseptörler ve ikincil haberci sistemleri.	25
Şekil 2.8.	Solunumun motor kontrolünde modülasyon ve plastisitenin oluşumu.	30
Şekil 2.9.	Solunumsal plastisitenin potansiyel hücresel ve/veya sinaptik mekanizması.	33
Şekil 2.10.	Nöron özelliklerindeki değişimler.	34
Şekil 2.11.	Sinaptik balans.	35
Şekil 2.12.	Epizodik hipoksiye maruz kalınması sonrasında ventilasyon artışı.	38
Şekil 2.13.	Aralıklı hipoksinin süresi ve yoğunluğundaki çeşitliliği gösteren deneysel protokoller.	39
Şekil 2.14.	Frenik uzun süreli fasilitasyonun oluşumunda kullanılan modelin duyarlılığı.	42

Şekil 2.15. 5-HT _{2A} reseptör aktivasyonu ile LTF oluşumu	45
Şekil 2.16. A _{2A} / 5-HT ₇ reseptörlerinin reseptör aktivasyonu ile LTF oluşumu.	48
Şekil 2.17. Hipoksi şiddetine ve modeline bağlı olarak LTF oluşumuna yol açan Q ve S yolakları arasındaki çapraz cevaplı inhibitör etkileşimler.....	50
Şekil 2.18. Periferik ve Merkezi Kemorefllekslerin etki mekanizması.....	59
Şekil 2.19. Sürekli hipoksi boyunca ventilasyondaki zaman bağımlı değişiklikler	61
Şekil 2.20. Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonundaki (VAH) değişiklikler.....	62
Şekil 3.1. Yaklaşık olarak CtB enjeksiyon lokalizasyonu	67
Resim 3.1. Tüm vücut pletismografisi sistemi	66
Resim 3.2. Femoral arter kataterinin yerleşimi	68
Resim 3.3. Hipobarik Chamber	72
Resim 4.1. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki 5HT _{2A} R ve A _{2a} R lokalizasyonu ve aktivasyonu.....	83
Resim 4.2. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki BDNF lokalizasyonu ve aktivasyonu.....	84
Resim 4.3. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki pERK lokalizasyonu ve aktivasyonu.....	85
Resim 4.4. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki pAkt (veya pPKB) protein lokalizasyonu ve aktivasyonu	86
Resim 4.5. Beyin sapında BDNF lokalizasyonu ve aktivasyonu	87
Resim 4.6. Beyin sapında pERK lokalizasyonu ve aktivasyonu.....	88
Resim 4.7. Beyin sapında pAkt (veya pPKB) protein lokalizasyonu ve aktivasyonu ..	88
Grafik 3.1. AAİH 1. Protokolü	71
Grafik 3.2. AAİH 2. Protokolü	71

- Grafik 4.1.** İkinci protokolde (n=6) uygulanan modele göre bazal tidal volümün (preAAİH30) poikilokapni boyunca (postAAİH65) arttığını gösteren zaman bağımlı tidal volüm grafiği ($P < 0,05$).....77
- Grafik 4.2.** İkinci protokolde (n=6) uygulanan modele göre bazal ventilasyonun (preAAİH45 ve preAAİH60) poikilokapni boyunca (postAAİH65) arttığını gösteren zaman bağımlı ventilasyon grafiği ($P < 0,05$).77

KISALTMALAR

AAH	: Akut aralıklı hipoksi
AAİH	: Akut aralıklı izokapnik hipoksi
A_{2A}R	: Metabotropik adenosin 2 _A reseptör alt tipi
AC	: Adenilil siklazı
ACh	: Asetil kolin
Akt	: Protein kinaz B
AP	: Postrema alanı
A5 bölgesi	: Ventrolateral pons
A6 bölgesi (LC)	: Lokus seruleus
ASH	: Akut sürekli hipoksi
ATP	: Adenosin trifosfat
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BDNF	: Beyinden salgılanan nörotrofik faktör
BötC	: Bötzinger kompleksi
CSN	: Karotid sinüs sinirini (hering siniri)
CPG	: Merkezi solunum ritim modeli jeneratörü
CCK	: Kolesitokinin
cNA	: Nükleus ambiguusun kompakt bölümü
cVRG	: Kaudal ventral solunum grubu
CtB	: Kolera toksin alt ünite B
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
DMN	: Dorsal motor nükleusu
DRG	: Dorsal solunum grubu
E nöronları	: Ekspirasyon nöronları
Erk	: Hücre dışı düzenleyici kinaz
EPO	: Eritropoietin
EPOR	: Eritropoietin reseptörü

FN	: Fastigial nükelus
f_R	: Solunum frekansı
GABA	: gama (γ) aminobütrik asit
GABA_A	: gama (γ) aminobütrik asit A reseptör alt tipi
GAD67	: Glutamik asit dekarboksilaz 67
GlyT2	: Glisin taşıyıcı 2
HVR	: Hipoksik ventilatuar cevap
HCVR	: Hiperkapnik ventilatuar cevap
HVD	: Hipoksik ventilasyon düşüşü
HD	: Hipoksik desensitizasyon
I-aug	: İnspirasyonu arttıran nöronlar
I nöronları	: İnspirasyon nöronları
IP₃	: İnositol 1,4,5-trifosfat
iTrkB	: Olgunlaşmamış tropomiyozin bağlantılı kinaz B
IGF1	: İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1
K-opioid	: Kappa opioid reseptör
KAH	: Kronik aralıklı hipoksinin
KSH	: Kronik sürekli hipoksi
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KF	: Kölliker-fuse nükleus
LTF	: Uzun süreli fasilitasyon
LRN	: Lateral retikular nükleus
LTP	: Uzun süreli potansiyel
LTD	: Uzun süreli depresyon
MAP	: Mitojen aktive protein
MSS	: Merkezi sinir sistemi
mACh	: Muskarinik astil kolin reseptörü
μ-opioid	: Mu opioid reseptör
N	: Normaksi

NE	: Norepinefrin
NHE3	: Na ⁺ /H değiştirici protein alt tipi 3
NTS	: Nükleus traktus solitarius (veya nükleus solitari trakt)
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NA	: Nükleus retroambigualis
NP	: Nükleusu para-ambigualis
NR	: Nükleus retrofasialis
NPBH	: Nükleus parabrakialis medialis
NPBL	: Nükleus parabrakialis lateralis
NK1R	: Nörokinin-1 reseptörünü
nACh	: Nikotinik astil kolin reseptörü
OSA	: Obsturiktif uyku apnesi
PBS	: Fosfat tamponu
PaO₂	: Arteriyel parsiyel oksijen basıncı
PaCO₂	: Arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı
pLTF	: Frenik uzun süreli fasilitasyon
pMF	: Frenik motor fasilitasyon
pAkt	: Fosforillenmiş protein kinaz B
pPKB	: Fosforillenmiş protein kinaz B
pErk	: Fosforillenmiş h�creğiş düzenleyici kinaz
PKA	: Protein kinaz A
PKC	:Potein kinaz C
PRG	: Pontin solunum grubu
PVN	: Paraventriküler nükleusu
preBötC	: preBötzinger kompleks
pFRG	: Parafasiyal solunum grubu
PLC	: Fosfolipaz C
PI3K	: Fosfotidilinositol 3-kinaz
PDK	: Fosfoinositid bağımlı protein kinaz

preAAIH	: Akut aralıklı izokapnik hipoksi modeli öncesi
postAAIH	: Akut aralıklı izokapnik hipoksi modeli sonrası
rVRG	: Rostral ventral solunum gurubu
R	: Respiratuar değişim oranı
RTN	: Retrotrapezoid nükleus
Ras, Raf	: Guanozin trifosfatazlar (GTPaz)
SST	: Siklik polipeptid somatostatin
SP	: P maddesi
SAP	: Saporinin
TASK	: TWIK bağlantılı asit duyarlı K ⁺ kanalları
TRH	: Tirotropin salgılayan hormon
TrkB	: Tropomiyozin bağlantılı kinaz B
TM	: Tüberomammillar nükleus
vLTF	: Solunumsal uzun süreli fasilitasyon
VAH	: Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu
VDH	: Ventilasyonun hipoksiye deaklimatizasyonu
VRG	: Ventral solunum grubu
VRC	: Ventral solunum grubu kolonu
VLM	:Ventro lateral medulla
vLPF	: Ventrolateral parafasiyal
VGLUT2	: Veziküler glutamat taşıyıcı 2
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR-2	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-2
vPAG	: Ventral periaguedutal gray
Vi	: Ventilasyon
V_T	: Tidal volüm
VO₂	: Oksijen tüketimi
VCO₂	: Karbondioksit üretimi
yBOS	: Yapay beyin omurilik sıvısı

5-HT	: 5-hidroksitriptamin (serotonin)
5-HT_{2A}R	: Serotonin 2A reseptör alt tipi
α-1	: Alfa 1 adrenerjik reseptör

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde sayısı ve çeşitliliği bakımından oldukça fazla olan akciğerlerin işlevsel bozukluklarıyla veya dokularının hasarlanmasıyla ilgili hastalıkların gelişmesi solunumun kontrolünü etkilemektedir. Bunun yanında çevresel faktörlere bağlı olarak vücudun farklı bir hava ortamına maruz kalması da solunumun kontrolü üzerinde bir etkiye sahiptir. Özellikle akut ve kronik pulmoner patolojinin her ikisine karşı oluşan adaptasyon, solunumun kontrolü için kritik bir durum teşkil eder. Solunumun aktivasyonu istemsiz olarak oluşan ritmik bir motor davranış olmasına rağmen bilinçli olarak da kontrol edilebilmektedir (1). Solunum sistemini kontrol eden refleks yapısı, beyin sapı üzerinde bulunan bir kontrol merkezi, sensörler ve bu sensörlerden gelen afferent bilginin ilgili merkezlerde işlenmesiyle oluşan motor sinir cevabının etkisi altındaki akciğer, göğüs duvarı ve solunum kaslarından oluşur. Bu refleks sistemi kendi fizyolojik sınırları içinde çeşitli kontrol değişkenleriyle solunumun sürekliliğini sağlar. Aynı zamanda öngörülme-yen uyarılara karşı ventilasyon cevabının hızlı bir şekilde değişmesinden de sorumludur. Afferent bilgiyi kontrol merkezinde işleyen bu hiyerarşik organizasyon, vücut davranışına göre solunum hareketinin koordinasyonuna ve entegrasyonuna izin verir (2).

Solunum ritim modeli, medulla oblongata (veya kısaca medulla) ve pons içerisinde bilateral olarak yerleşmiş nöron popülasyonlarıyla bağlantılı olarak oluşur ve şekillenir. Bu nöral kontrol ağı, solunum kaslarını uyaran frenik ve interkostal sinirlerin oluşturduğu spinal motor nöron havuzunun aktivasyon enerjisini oluşturur ve merkezi solunum model jenerasyonu (CPG) olarak adlandırılır. Ayrıca medulla ve pons üzerindeki nöron popülasyonlarının birbirleriyle karşılıklı bağlantıları, akut çevresel uyarı ve kronik hastalık süreçlerinin her ikisine karşı sistemin kontrolünün adaptasyonunun belirlenmesi için kilit bir rol oynarlar. Bunun yanında kemoreseptörler ve mekanoreseptörler ise bu sisteme geri beslemeli bir döngü sağlarlar. Kemoreseptör

sensitivitesindeki değişimlerin sebep olduğu kronik hipoksemi gibi ileri beslemeli ve adaptif mekanizmalar da sistemin plastisitesi için kritik bir öneme sahiptir. Solunum, hipoksik veya kemoafferent nöron aktivasyonunun, anormal oksijen seviyelerinin veya vücut gelişimi sırasındaki stresin, egzersizin ve coğrafik konumun, hiperkapninin, duysal denervasyonun ve nöral hasarlanmanın neden olduğu etkiler için nöral ağ üzerinde önemli bir plastisite oluşturmaktadır. Solunumsal nöroplastisite ise solunumu düzenleyen fonksiyonları korumak için aracılık yapar (3).

Solunumsal nöroplastisite oluşumuna sebep olan etkenlerden biri hipoksidir. Hipoksi; normal koşullarda (oksijen (O_2); %20.93, karbondioksit (CO_2); %0.03, azot (N_2); %78.1) solunan havadan dokulara taşınacak olan O_2 miktarının azalmasıyla, homeostazın korunması için yeterli olmamasından kaynaklanan bir durumdur. Hipoksinin semptomları ise arteriyel parsiyel oksijen basıncının (PaO_2) normal değerinden aşağıya düşüş hızına ve miktarına bağlı olarak gruplandırılmaktadır. Hipoksi ile ilişkili deneysel protokoller en çok akut aralıklı, kronik aralıklı ve kronik sürekli hipoksi modelleri üzerinde durmuştur. Solunan havadaki CO_2 miktarının normal değerinden daha fazla olması sonucu arteriyel parsiyel karbondioksit basıncının ($PaCO_2$) yükselmesiyle oluşan hiperkapni de plastisite oluşumuna neden olan bu deneysel protokoller içerisinde gösterilmektedir. Hiperkapni için de iki çeşit durum tanımlanmıştır. Bunlardan ilki; solunan havadaki CO_2 miktarının normal koşuldan daha yüksek olması ve sürekli sabit bir şekilde kalmasıyla oluşan izokapnidir. İkincisi ise CO_2 miktarının normal koşuldan daha yüksek ve sürekli değişken olmasıyla oluşan poikilokapni durumudur (4).

Günlük hayatta, uyku apnesi gibi bazı hastalıklarda karşılaşılan bir durum olan solunumun aralıklarla kesilmesi, bu duruma ventilasyon cevabının değişikliğine neden olmaktadır. Ayrıca çevresel faktörlere bağlı olarak solunan normal hava bileşiminin değişmesi ve yüksek irtifada uzun süre kalma veya tırmanış gibi sürekli olarak o ortama maruz kalınması da ventilasyon cevabında değişikliğe neden olmaktadır. Hipoksik ventilatuar cevap (HVR) sadece tek bir mekanizmanın değil bir kaç farklı mekanizmanın birbirleri arasındaki kompleks etkileşimin ürünüdür. Bu farklı mekanizmaların ayırt edici özellikleri arasında; (1) buna neden olan spesifik uyaranlar (hipoksik uyarının modeli ve yoğunluğu gibi), (2) ventilatuar cevabın zaman süreci (saniyelerden yıllara kadar sürmesi), (3) ventilasyon bileşenleri (solunum frekansı, tidal

volüm) üzerindeki etkiler, (4) bu etkilerin yönü (fasilitasyona veya depresyona neden olması) ve (5) bu olayların gerçekleşmesi için gereken nörokimyasallar bulunmaktadır. Hipoksi veya hiperkapni koşulları ile oluşturulan deneysel protokoller arasındaki bu ince farklılıklar, zaman bağımlı mekanizmaların farklı kombinasyonlarla sonuçlandığını göstermektedir. Bu nedenle solunumun nöral kontrol ağındaki davranışları değiştirerek plastisiteye neden olan tüm spesifik koşullar için HVR' nin nasıl oluştuğu belirlenmelidir (5).

Gesell ve Hamilton, solunumsal plastisite oluşumunu göstermek için yaptıkları bir çalışmada anestezi altında, vagotomize köpeklerin karotid sinüs sinirini (hering siniri; CSN) 10 saniye kadar sürekli veya inspirasyon/ekspirasyon boyunca tekrarlayan kısa uyarılarla (aralıklarla) elektriksel olarak uyarak, spirometre ile spontan ventilasyonlarını eş zamanlı ölçerek takip etmişlerdir. Her iki durumda da deşarj sonrası uzun süreli ve sürekli kalıcı bir hiperventilasyon gözlemlemişlerdir. Fakat bu çalışmada, aralıklı uyarıların yeni bir yapay solunum ritmi oluşturma kapasitesini sonuç olarak vurgulamaları dışında, stimülasyondan sonra indüklenen hiperpnöyü bir kaç dakikadan daha fazla bir zaman süresince takip etmemişlerdir (6). Bu çalışmanın ardından Millhorn ve ark. tekrarlayan CSN stimülasyonunun frenik sinir aktivitesi üzerinde, periferik kemoreseptörlerin aralıklı stimülasyonunun en belirgin özelliği olan solunumsal motor nöron aktivitesi genliğinin kalıcı bir şekilde arttığını bulmuştur. Çalışmanın sonucunda, tekrarlayan CSN stimülasyonunun bitiminden bir saat sonra, frenik sinir aktivitesi üzerinde uzun süreli fasilitör bir etkiyi tanımlamış ve "uzun süreli potansiyalizasyon" olarak adlandırmışlardır (7). Daha sonra bu terimi "uzun zamanlı fasilitör hafıza" olarak refere etmişlerdir (8). Bunlardan sonra yapılan çalışmalarda ise solunumsal hafızanın bu uzun süreli plastisitesi "uzun süreli fasilitasyon (LTF)" olarak tanımlanmış ve refere edilmiştir (9-11). Solunumsal plastisite konusu içerisinde tanımlanan LTF, solunumu kontrol eden nöral sistemin bir özelliğidir (12). Solunumsal plastisite oluşumunu göstermek için bilinen en iyi deneysel model, klasik olarak arteriyel PaO_2 ' nin 45-55 mmHg arasında olduğu akut aralıklı hipoksi (AAH) tarafından indüklenen frenik motor sinir çıktı cevabının genliğinin, uzun bir süreden sonraki artışı olan frenik uzun süreli fasilitasyondur (pLTF) (13). LTF; aralıklı hipoksi tarafından üretilebilen, ventilasyonda veya solunumsal motor sinirlerin aktivitesinde uzun bir süreden (>1 saat) sonra gerçekleşen kalıcı bir artma olarak ifade edilmektedir. Buna

paralel olarak solunumsal LTF (vLTF), aralıklı hipoksiye maruz kalındıktan en az bir saat sonra ventilasyonun, bazal ventilasyona göre artması durumu olarak ifade edilmektedir. Aralıklı hipoksik stimülasyona ek olarak, 5-hidroksitriptamin (serotonin; 5-HT) salınımının da ventilasyonu stimüle etmek için gerekli olduğu bulunmuştur (7). LTF oluşumunun altında yatan hücresel ve sinaptik mekanizmanın anlaşılması için bir çok çalışma, anestezi altında, vagotomize ve yapay olarak ventile edilmiş deney hayvanlarının respiratuar sinirlerinin aktivite kayıtlarından oluşmaktadır (14, 15). LTF, periferik kemoreseptör stimülasyonu ve ağırlıklı olarak medulla üzerinde bulunan nükleus traktus solitarius (NTS) bölgesi içindeki CSN sinapslarının afferent fiberlerinde özgün olarak oluşmaktadır. Ayrıca serotonerjik nöronların hücre gövdelerinin beyin sapı üzerindeki rafe nüklei içinde olmasından dolayı beyin sapının bu bölgesindeki nöronlarında da oluştuğu gösterilmiştir. Serotonerjik bağlantılı LTF oluşumunda, karotid kemoreseptörlerin aktivasyonu, rafe nöronlarını stimüle etmektedir. Bu potansiyel rafe nöronları, solunum motor nöronlarının uyarılmasını arttırmak için diğer lokasyonlar arasında spinal korda ve kranial motor nükleilere projekte olur. Bunun sonucunda solunumsal motor çıktı cevabın genliğinde bir artış meydana gelmektedir (16). Ayrıca bir çok çalışmada, solunum frekansı (f_R) değişmeden LTF' nin oluşabileceği belirtilmiştir. Bu yüzden LTF' nin öncelikli olarak ritim jenerasyonuna karşın, solunum modeli formasyonu etkisi üzerinden oluştuğu öngörülmektedir (9, 10, 17). Buna ek olarak, solunumsal motor nöronlar üzerindeki hareketler veya davranışlar yoluyla da bazı serotonerjik etkilerin oluştuğu anlaşılmıştır. Bu fizyolojik durumu karakterize eden, stabil olmayan solunum modelleri sıklıkla epizodik hipoksi ve hiperkapni ile sonuçlandığından, LTF' nin uyku boyunca solunumu stabil tutmak için aracılık ettiği de yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (18). Bütün bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, solunum motor nöronlarına serotonerjik girişin engellenip, bu nöronların epizodik hipoksi ile tekrarlayan aktivasyonları dengelenerek, solunum kas hareketi şiddetinin sınırlandırılabilmesi veya kontrol altına alınabileceği öngörülmektedir (19).

AAH tarafından indüklenen LTF oluşumunun altında yatan hücresel ve moleküler sinyal mekanizması 5-HT reseptör aktivasyonunu gerektirmektedir. Yapılan çalışmalarda 5-HT_{2A} reseptör alt tipinin aktivasyonunun, hipoksi olmaksızın LTF oluşumuna neden olmak için yeterli olduğu belirtilmiştir. LTF oluşumuna neden olan bu

sinyal mekanizması içerisinde 5-HT_{2A} reseptör alt tipi Gq protein çiftini indüklediği için "Q yolağı" olarak adlandırılmaktadır. Bu yolak içerisindeki hücre içi aşağı sinyal kaskadı, protein kinaz C (PKC) aktivasyonunu ve yeni proteinlerin sentezini sağlamaktadır. Özellikle beyinden salgılanan nörotrofik faktör (BDNF) ve BDNF' nin yüksek afiniteli reseptörü olan tropomiyozin bağlantılı kinaz B (TrkB), AAH' nin indüklediği LTF için gerekli ve oluşumu için yeterli olduğu görülmüştür. Aynı motor nöronlar üzerinde LTF oluşumuna yol açan bir başka yolak da metabotropik adenosin 2_A (A_{2A}) reseptör alt tipidir. A_{2A} reseptör alt tipi, Gs protein çiftini indüklediği için "S yolağı" olarak adlandırılmaktadır. Bu yolak için hücre içi aşağı sinyal kaskadı, protein kinaz A (PKA) ve endoplazmik retikulumdan yeni sentezlenmiş olgunlaşmamış TrkB (iTrkB) izoformlarını içerir. LTF oluşumu için önerilen adenosine bağımlı bu yeni mekanizma, epizodların hipoksi şiddeti arttığında, normalde serotonine bağımlı olan mekanizmanın üstünlüğünü aldığı düşünülmektedir. AAH' yi takip eden solunumsal motor plastisite içerisinde, bir yolağın diğer bir yolağa üstünlüğü, hipoksinin şiddeti ve süresi gibi faktörlere veya spinal kord hasarı ve motor sinir hastalıklarının oluşturduğu durumlardaki değişikliğe bağlı olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre daha az şiddetteki aralıklı hipoksi protokolleri, terapatik uygulamalara bir alternatif olarak önerilmektedir (20).

Hipoksinin bir başka durumu olan kronik sürekli hipoksi (KSH) boyunca oluşan ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) sırasında da HVR artar. Sürekli hipoksiye maruz kalınmasından en az iki gün sonra normal koşullara döndüğünde ise bazal ventilasyonun artmış bir şekilde kaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu konu hakkında yapılan ilk çalışmalarda, VAH altında yatan hücresel mekanizmanın sadece LTF mekanizmasına bağlı olarak tanımlanabileceği düşünülmüştür (8). Fakat LTF oluşum mekanizmasının, VAH oluşumunu tamamen açıklamak için yeterli olmadığı düşünülmektedir (16). Örneğin, serotoninin bütün vücutta azaltılmasının ardından VAH oluşumu görülürken, LTF oluşumunun yok olduğu görülmektedir. LTF ve VAH oluşumu arasındaki potansiyel etkileşimler henüz üzerinde çok çalışılmamış bir konudur. VAH oluşumu, bir kaç saat veya aylarca KSH' ye maruz kalınmasıyla oluşan, ventilasyonun zamana bağlı bir artışı olarak ifade edilmektedir (21, 22). VAH oluşumunu göstermek için verilen en klasik örnek, yüksek irtifaya ventilasyonun aklimatizasyonudur ve bu olayın fizyolojik anlamlılığı dokulara oksijen taşınmasındaki

artışla ifade edilmektedir (23). VAH oluşumu üzerinde yapılan deneyler, genellikle KSH veya hipokapninin etkilerinin birlikte olduğu, sağlıklı deneklerin hipoksiye maruz kalmasıyla çalışılmıştır. Daha önce VAH oluşum mekanizmasının merkezi kemosenstivitedeki değişikliklerle birlikte beyin omurilik sıvısı (BOS) ve arteriyel pH'nın da ayarlanmasıyla kronik respiratuar alkalozis ile sonuçlandığı düşünülmüştür. Fakat beyin dokusu asiditesinin hipokapni ve/veya hipoksi ile indüklenmesi yalnızca bu mekanizmanın da VAH oluşumunu açıklaması için yetersiz olduğu düşünülmektedir (22). Bunun yanında karotid organ oksijen duyarlılığının, VAH oluşumuna yol açan bir mekanizması olduğu genel anlamda kabul edilmektedir. Yukarıda da anlatıldığı gibi VAH oluşumunu açıklamak için, LTF oluşumuna neden olan serotonerjik mekanizma araştırmacılar tarafından yeterli bulunmamaktadır. Fakat bunun yanında LTF oluşumunun, aklimatizasyon boyunca sürekliliği veya yokluğu üzerinde bugüne kadar yeterli sayıda çalışma da yapılmamıştır. VAH, HVR'nin afferent kolunun oksijen duyarlılığındaki önemli değişikliklerle karakterize edilmektedir. KSH boyunca oksijen duyarlılığının artmasının arkasındaki hücresel mekanizma karotid organın glomus hücrelerindeki potasyum ve kalsiyum kanallarının durumunun değişimini de kapsamaktadır (24). CSN stimülasyonunun mekanizmasını, VAH oluşumu gibi uzun zaman süreci gerektiren deneysel modeller ile onaylamak ve ölçmek oldukça zordur. Bu çalışmalar göz önünde bulundurulursa, LTF ve VAH oluşumunun ve de ventilasyonun hipoksiye deaklimatizasyonu (VDH) yollarının, glutamaterjik nörotransmisyonunda ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinde plastisiteye yol açtığı fakat farklı mekanizmalara sahip olduğu düşünülmektedir. Bunun altında yatan sebebin ise 5-HT_{2A} reseptör alt tipi antagonist uygulamasının, VAH oluşumunu bloke etmemesi ve aynı şartlar altında 50 dakika boyunca aralıklı ve sürekli hipoksiye maruz kalınmasının, LTF oluşumuna neden olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (13).

Bu projenin genel amacı akut aralıklı izokapnik hipoksi (AAİH) ve KSH sonrasında solunumu kontrol eden reflekslerin nöral plastisitelerinin oluşturduğu hücresel ve moleküler sinyal mekanizmalarını karşılaştırarak HVR ve hiperkapnik ventilatuar cevap (HCVR) bileşenleri arasındaki zıtlıkları ve/veya benzerlikleri ortaya çıkarmaktır. Bu deneyler daha önce anestezi altında, AAH'ye ve KSH'ye maruz bırakılmış ratlarda, orta derecede ve şiddetli hipoksi seviyelerinde frenik sinir aktivitesinin cevabı ölçülerek, pLTF oluşumunu göstermek için çalışılmıştır (25). Buna karşın LTF oluşumu için orta

şiddetteki hipokside aktive olan Q yolağı, 5-HT reseptörleri haricindeki diğer basamakları ve şiddetli hipoksi durumunda aktive olan S yolağının ise hiçbir basamağı KSH durumunda oluşan VAH mekanizması için çalışılmamıştır (25, 26). Bu araştırmada uygulanan hipoksi ve hiperkapni protokolleri ve deneysel modelleri, bazı hastalıkları (uyku apnesi, kronik dağ hastalığı gibi) solunan havadaki gaz değişimlerini taklit etmesi yönünden klinik anlamda da önem taşımaktadır.

Buna bağlı olarak bu tez çalışmasının iki alt spesifik amacından birincisi; anestezi edilmemiş, serbest hareket eden sıçanlarda vLTF oluşumunda, pLTF oluşumu için çalışılan moleküler sinyal mekanizmasındaki benzerlik ve farklılığı ortaya çıkarmaktır. Bunun yanında vLTF, HVR ve HCVR oluşumlarını ventilasyon ve ventilasyon bileşenleri üzerindeki etkileriyle birlikte göstermektir. Uygulanan AAİH protokolleri boyunca hipoksinin (aralıklı hipoksi) ve hiperkapninin (izokapni ve poikilokapni) şiddeti ve de merkezi ve periferel kemoreseptörlerin sensitivitesindeki değişiklikler arteriyel kan gazları ve pH ölçümleri yapılarak bu durumların vLTF oluşumuna bağımlılık derecesi araştırılmıştır. İkincisi ise; medulla ve spinal kord C3-C5 aralığındaki frenik sinir kesitleri üzerinde BDNF, fosforillenmiş protein kinaz B (pAkt veya pPKB), fosforillenmiş hücre dışı düzenleyici kinaz (pErk) proteinlerinin ve 5-HT_{2A} ve A_{2A} reseptörler alt tiplerinin lokalizasyonu ve miktarındaki değişimleri solunumun plastisitesine neden olan her iki hipoksik durum için karşılaştırılarak vLTF ve VAH oluşumunda rol oynayan reseptör aktivasyonu ve protein oluşumlarını göstermektir. Bu çalışmada AAİH' nin indüklediği vLTF oluşumuna neden olacağı düşünülen hücresel sinyal mekanizması içerisindeki S yolağının A_{2A} reseptör alt tipi aktivasyonunun, VAH oluşumunda asıl rolü oynadığı hipotez olarak sunulmuştur.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. SOLUNUMUN KONTROLÜ

Gebeliğin erken dönemlerinde fetal beyin sapı, uzun yıllar kesintisiz olarak ritmik solunum aktivitesi oluşturacak bir "solunum merkezi" geliştirir (27). Solunum işlemi, uterus içerisinde, üçüncü trimester dönemi boyunca aralıklarla başlar ve doğumla birlikte, kısa duraksamalar haricinde, aralıksız olarak devam eder (28). Yaşam boyunca insan, fiziksel ve kimyasal reflekslerin kombinasyonu ile sıkıca kontrol edilen bu olaydan habersiz olmasına rağmen solunum, kısa zaman aralıklarında tamamen istemli olarak kontrol edilebilir. Bunun yanında yutma sırasında kesilebilir ve esneme, kusma, hıçkırma, hapşırma, öksürme gibi olaylarda istemsiz olarak ritmik olmayan davranış gösterebilir (29). İnsan vücudu, arteriyel pH, PaO₂ ve PaCO₂ normal limitlerinde tutmak, dokuların oksijen ihtiyacını karşılamak, solunumun mekanik işini azaltmak ve çevresel ajanlardan akciğerlerin hasarlanmasını önlemek için bir çok fizyolojik kontrol sistemini içinde bulundurur. Solunumu kontrol eden bu sistemler, arteriyel kan gazlarına ve pH' ya duyarlı olan kemoreseptörlerin, akciğer ve solunum hava yollarındaki veya iskelet kasında ve göğüs kafesi duvarındaki reseptörlerin uyarılmasıyla tipik refleks cevapları içermektedir. Fakat solunum için gereken ritmik enerji, bu reflekslerden bağımsız olarak oluşur ve beyin sapı (pons ve medulla) üzerindeki nöronlar tarafından üretilir. Bundan dolayı solunumun kontrolünün fizyolojik temelini, solunum ritminin oluşması ve bu ritmi düzenleyen reflekslerin nörobiyolojisi oluşturur (30).

Solunumun ilk ve en önemli fonksiyonu, kanın ve beynin O₂, CO₂ ve pH miktarını düzenlemeyle başlar. İkinci fonksiyonu, düzenlenen bu değişkenlerin (sıcaklık da dahil olmak üzere) ventilasyonun kendisinin ritmik motor aktivitesiyle sürekliliğinin korunmasını sağlayabilmesidir. Üçüncü ve son fonksiyonu ise, nefes tutmayı veya uyku

apnesini saymazsak, solunumun hiç bir zaman kesintiye uğramamasıdır. İnsanlarda dahil olmak üzere memeliler, uyku/uyanıklık, dinlenme/egzersiz, panik/korku, anestezi boyunca ve tüm kortikal fonksiyon kayıplar veya deserebrasyon gibi bütün davranış koşulları altında nefes almaya devam eder (31). Solunumun nöral kontrolü, sinir sisteminin fonksiyonunun normalde nasıl olduğu, yüksek derecede düzenleme özelliği ile doğal sağlamlığını nasıl koruduğu, değişen koşullara hızlı veya yavaş bir şekilde kendini nasıl adapte edebildiği ve sistemdeki kısmi bozuklukların hastalıklara nasıl yol açtığı ve bu hastalıkların nasıl sonuçlandığı sorularına cevap aramak için bir fırsat sunmaktadır. Solunumun kontrolü, sinir bilimciler için özel bir ilgi alanı oluşturmuş ve bu kontrol mekanizması için üç kritik görüşe açıklama getirme ihtiyacı duyulmuştur. Bu alanlar kısaca aşağıda özetlenmiştir (28, 32, 33).

1.Ritmisite: Solunum ritmi nerede ve nasıl oluşur? Solunum gibi ritmik hareketler, temel ve kompleks davranışlardır. Memelilerde solunum ritminin oluşmasının altında yatan mekanizma, deneysel araştırmalarla ayrıntılı olarak elde edilebilir.

2.Plastisite: Solunumdaki uzun süreli değişimlerin özellikleri ve altında yatan mekanizma nedir? Bir solunum enfeksiyonunun başlangıcı veya yüksek irtifalara tırmanış, akciğer ve göğüs kafesinin gelişmesi ve yaşlanması, kilodaki değişim veya hamilelik gibi vücuttaki ve çevresel durumlardaki değişiklikler, kan gazlarının homeostazını korumak için solunumsal motor çıktı cevapta önemli değişiklikler olmasını gerektirir. Belirlenmiş deney modelleri ve protokolleri için solunum, çalışılmak için kullanışlı adaptif bir davranıştır.

3.Kemosensitivite: Vücut tarafından algılanan ve işlenen CO₂ ve pH' daki değişikliklerin solunum tarafından düzenlenmesi beyinde nerede ve nasıl yapılır? Merkezi kemoreseptörler ve vücut içerisinde kompleks ve dağılmış halde bulunan diğer reseptörleri içeren merkezi sinir sisteminin (MSS) periferel duyu geribildirim sistemi, solunumun kontrolünün çalışılması için iyi bir model teşkil etmektedir.

2.1.1. Solunum Merkezinin Nöro-Anatomik Lokasyonu

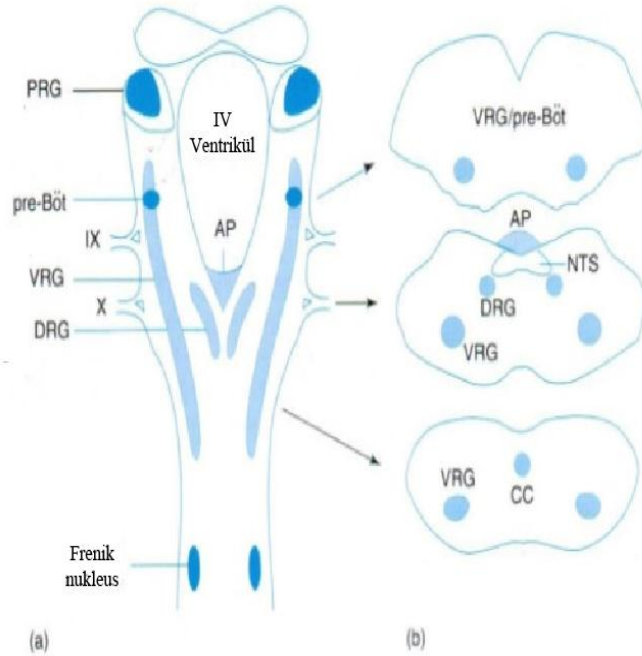
Solunumun kontrol merkezinin lokasyonunu bulmak için hayvanlar üzerinde yapılan ilk çalışmalarda, beyin sapının özel alanlarının haraplanması ya da uyarılması gibi

yöntemler anatomik bir yaklaşım olarak kullanılmıştır. Daha sonra belirli görüntüleme tekniklerinin gelişmesiyle, kemirgenlerle ve sonrasında da normal insan denekleriyle yapılan deneyler, solunum merkezinin lokasyonunun bulunmasına izin vermiştir (34). Homeostatik solunum kontrolünün, beyin sapı üzerindeki merkezlerinin organizasyon ve etkileşimini açıklamak için ponstan kaudala ve oradan da medullaya kadar uzanan bir model araştırmacılar tarafından genel anlamda kabul edilmiştir (35, 36). Ritmik solunum, MSS' nin motor nöronları ile ilişkili solunum kaslarının periyodik aktivasyonu ile oluşmaktadır. Nöron ağlarından oluşmuş sözde bir merkezi solunum ritim modeli jeneratörü, bu basit solunum ritmini oluşturur. CPG, solunum kaslarına motor çıktı cevabı iletmek için solunum refleksinin afferent bilgisini bütünleyen diğer solunum merkezlerinin yanında, medulla içerisinde lokalize olmuştur (36). Medulla, solunum modelinin olduğu ve çeşitli istemli ve istemsiz solunum aktivitesinin koordine edildiği bir beyin bölgesi olarak kabul edilmiştir. Medullanın içerisinde ve dışarısında bir çok nöronal bağlantı bulunmaktadır. Medulla üzerindeki solunum nöronları çok sayıda ara bağlantılarla birlikte başlıca; dorsal solunum grubu (DRG) ve ventral solunum grubu (VRG) olarak iki anatomik ve fonksiyonel bölgede yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca bu alanlara ek olarak, medullanın üst kısmında yer alan pons üzerinde ise pontin solunum grubu (PRG) bulunur (37, 38).

2.1.1.1. Dorsal Solunum Grubu (DRG)

DRG, inspirasyon nöronlarını (inspiratuar veya I nöronları) içerir ve nükleus solitari traktın (veya nükleus traktus solitarius; NTS) bir parçasıdır. Arteriyel kemoreseptörlerden gelen afferent girdi ve akciğer mekanoreseptörleri, NTS bölgesi üzerindeki nöronlar ile sinaps yaparlar. DRG, çoğunlukla karşı tarafa, inspiratuar ön boynuz hücrelerine geçen üst motor nöronlar ile inspiratuar nöronlarından oluşmaktadır. Dorsal grup nöronları, solunum döngüsünün zamanlaması ile ilişkilidir. DRG, IX. (glossofaringeal) ve X. (vagus) kranial sinirlerin visseral afferentlerinin sonlandığı NTS bölgesi içindedir. NTS' ye komşu vagus sinirinin dorsal motor nükleusu (DMN) solunumda önemli rolü olan bir başka nükleustur. Vagus siniri daha çok iç organların inerve edilmesinden sorumludur. XII. kranial sinir (hipoglossal nükleus) ise NTS ve DMN gibi medullanın aynı seviyesinde lokalize olmuş ve hemen DMN ve merkezi kanalın (CC) ventralinde yer almaktadır. Ayrıca XII. kranial sinir, genioglossus kası üzerinden dil çıkartmayı kontrol ettiğinden dolayı hayvanlarda en geniş solunum yolu

obstrüksiyonu tipik olarak gözlenmektedir. Şekil 2.1(a) ve 2.1(b)' de yukarıda anlatılan bu anatomik alanların medulla üzerinde yerleşimi gösterilmiştir (30, 37, 38).



Şekil 2.1. Beyin sapı üzerindeki solunum grubu bölgeleri. (a) Cerebellumun kaldırılması ile pons ve medullanın dorsal görüntüsü. (b) Medullanın 3 farklı seviyesinin transvers kesitleri. (PRG; pontin solunum grubu. pre-BÖT; preBötzingler kompleksi, normal solunum ritminin üretilmesinden sorumludur. DRG; dorsal solunum grubu. VRG; ventral solunum grubu. IX ve X; kranial sinirler. AP; postrema alanı. NTS; nükleus traktüs solitarius. CC; merkezi kanal) (30).

2.1.1.2. Ventral Solunum Grubu (VRG)

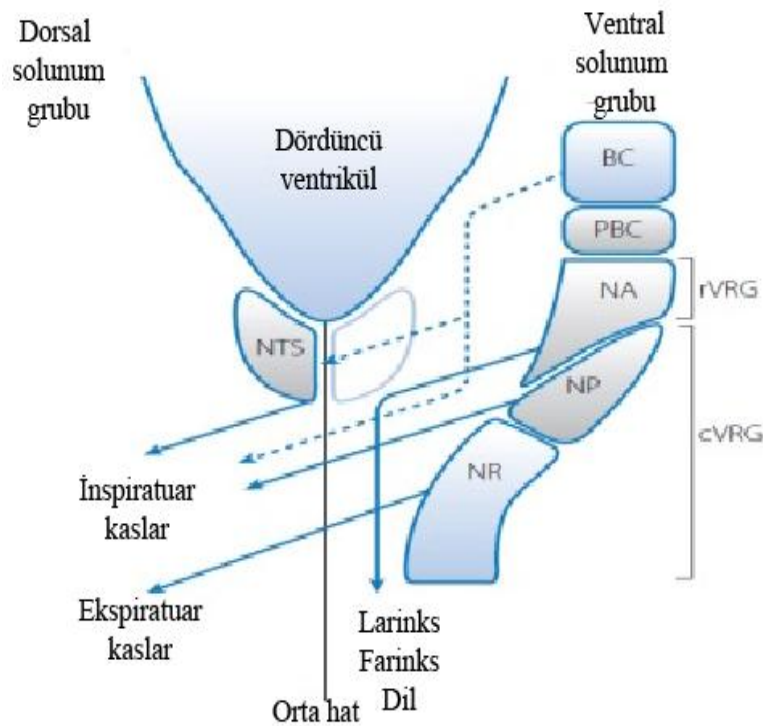
Ventilasyonun aktivasyonu için gerekli CPG bölgesi deney hayvanlarının medullasında, çok küçük bir alan olan ve preBötzingler kompleksi (preBötC) olarak adlandırılan bölgede bulunmaktadır. preBötC, Şekil 2.1.(b)' de gösterildiği üzere rostral VRG (rVRG) bölgesi içerisinde yer alır. VRG, respirasyon evresi içerisinde aksiyon potansiyeli ateşleme özelliği olan bir grup kolon nöronlarından oluşmuştur. İnspirasyon boyunca depolarize olan I nöronlarını ve ekspirasyon nöronlarını (ekspiratuar veya E nöronlarını) içerir. VRG solunum nöronları, aşağıda anlatıldığı gibi bir grup kolon solunum nöronlarından oluşur. Şekil 2.2' de bu nöron gruplarının yerleşimi gösterilmiş ve öncesinde hangi bölgeleri içerdiği anlatılmıştır (37-39).

Kaudal ventral solunum grubu (cVRG): Nükleus retroambigualisi (NA) ve ekspirasyon kaslarını kontralateral olarak geçen üst motor nöronları ile ağırlıklı olarak kontralateral inspirasyon kaslarının kontraksiyon gücünün kontrolünden sorumlu olan ekspirasyon ve inspirasyon nükleusu para-ambigualisi (NP) de içeren nöron gruplarından oluşur.

Rostral ventral solunum gurubu (rVRG): Büyük bir kısmını NA oluşturur ve larinks, farinks ve dil için solunum hava yollarının dilatör fonksiyonu ile ilgilidir.

preBötzinger kompleksi (preBötC): VRG üzerinde bulunur ve CPG' nin anatomik lokasyonu olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda inspirasyon ritminin oluşumundan sorumludur.

Bötzinger kompleksi (BötC): Nükleus retrofasialis (NR) içerisinde bulunur ve çoğunlukla ekspiratuar fonksiyondan sorumludur.



Şekil 2.2. Medulla üzerindeki solunum nöronlarının dorsal ve ventral görünümü. Orta hattın sol tarafı DRG nöronlarını (DRG nöronları; Nükleus traktüs solitariusu (NTS)) göstermektedir. Orta hattın sağ tarafı VRG nöronlarını (VRG nöronları; preBötzinger kompleks (preBötC veya BC), rostral VRG alanı (rVRG) içerisinde nükleus ambiguus (NA) ve kaudal VRG (cVRG) içerisinde nükleus para-ambiguus (NP) ve nükleus retroambiguus (NR)) göstermektedir. Ekspiratuar aktiviteden sorumlu alanlar mavi renk, inspiratuar aktiviteden sorumlu alanlar gri renk ile gösterilmiştir. Kesik çizgiler inspirasyon nöronlarını inhine eden ekspiratuar yolağı göstermektedir (29).

2.1.1.3. Pons, Pontin Solunum Grubu (PRG) ve Serebral Korteks

Pons, PRG içerisinde inspirasyon ve ekspirasyon arasındaki faz geçişini ve ventilasyon sırasında akciğer mekanoreseptörlerinin refleks etkisi ile ilgili bir grup nöron içerir. Pons üzerinde lokalize olan solunumla ilgili nöron grupları; nükleus parabrakialis medialis (NPBH), nükleus parabrakialis lateralis (NPBL) ve kölliker-fuse (KF) nükleuslarından oluşmaktadır (40). Pons üzerinde bulunan PRG nöronlarından NPBL ve KF nükleusu, inspiratuar premotor aktiviteyi artırır. Ayrıca MSS' nin başka bölgelerinden gelen impulslar da söz konusu nöronların aktivitesini etkilerler. PRG içerisinde, hipotalamusla, korteksle ve NTS ile bağlantısı olan bir çok afferent yolak vardır. Bu bağlantıların, kortikal kontrol, periferel duyu bilgisi (koku, sıcaklık gibi) ve visseral/kardiyovasküler girdileri kapsayan çeşitli MSS aktivitelerinin solunuma olan etkilerinin pons tarafından koordine edildiği düşünülmektedir (41). İnsanlarda pons yaralanması veya haraplanması durumunda apneusis (anormal uzun inspirasyon) olayının meydana geldiği görülmüştür. KF nükleus, dalma olayında olduğu gibi solunum hava yolları için koruyucu refleks göstermesi ile ilgili bir alandır. Bunun yanında parabrakial kompleks ise solunum plastisitesinin oluşması için inspirasyonun rampa sinyalini sona erdiren Hering-Breuer refleksi (solunumun baskılanması) ile ilişkilidir. Pons üzerindeki solunum ritim jenerasyonunun meydana gelip gelmediği ve bu oluşuma katkı sağlayıp sağlamadığı halen araştırmacılar tarafından tartışılmaktadır (42).

Bu bölümün başında da söz edildiği gibi solunum istemli olarak kesilebilir ve arteriyel kan gazlarının belirli limitler içerisinde değişikliğiyle belirlenerek solunum hareketinin modeli değişebilmektedir. Bu olay, konuşma, şarkı söyleme, koklama veya solunum fonksiyon testlerinin yapılması gibi olaylarda zorunludur. Bu gibi durumlarda istemli yapılan solunum hareketinde uyarılar, solunum merkezine uğramadan serebral korteksten gelir. Aynı zamanda solunum sırasında, serebral korteks üzerindeki bu nöronlar, solunumdan sorumlu olan diğer nöronlara göre daha aktif olabilir. Bunun yanında, solunum merkezini tamamen atlayarak kortiko-spinal traktda yol alır ve böylece solunumu kontrol eden sistem, interkostal kaslarının aşağı motor nöronlarına direkt olarak etki edebilir (42, 43). Serebral korteks, hipotalamus ve DRG' ye inhibitör uyarı sağlayarak da solunumu etkileyebilir. Serebral korteks tarafından kontrol edilen ve istemli gerçekleşen, konuşma gibi olaylarda solunumun refleks kontrolünün açıklanması

oldukça karmaşık bir durum teşkil etmektedir (44). Serebral korteks ve limbik sistem, emosyonel ve ağırlı uyarıyı hipotalamusla entegre ederek solunum merkezi üzerinde inhibitör veya eksitatör etkiye neden olabilmektedir (40).

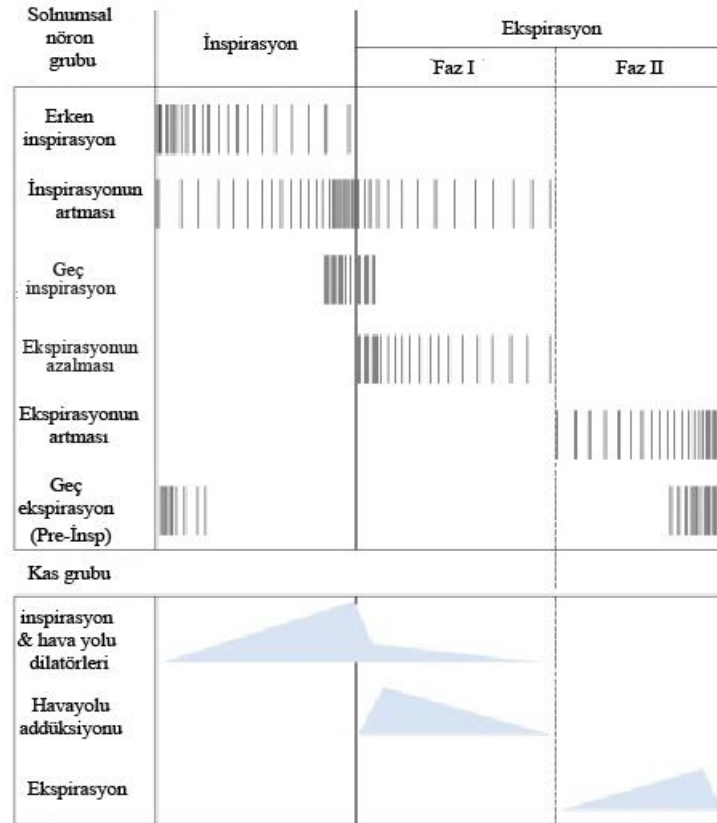
2.1.2. Solunum Fazları

Solunum, kendiliğinden oluşması, uyku ve genel anestezi sırasında devam etmesi açısından kalp atımına benzer olmasına rağmen, solunum sırasında kullanılan iskelet kasları, kalp kası gibi spontan olarak kasılmazlar. Kalbin aksine sadece tek bir pacemaker nöron, solunumun başlamasından sorumlu değildir. Bunun yerine, solunumun devamından sorumlu bir pacemaker nöron grubu bulunduğunu ön gören hipotezler, nöron gruplarının nöral aktivitesinin düzenli nöbetleriyle ilişkilendirilmiştir. Solunum için, bu grup pacemakerlar medulla boyunca yayılmış, teşhis edilebilen ateşleme modeli oluşturan ve birbirleriyle kompleks bağlantı içerisinde olan en az altı adet nöron grubu içermektedir. Bu nöron grupları; (1) erken inspiratuar nöronları, (2) inspiratuarı arttıran (I-aug) nöronları, (3) geç inspiratuar ara nöronları (varsayılan "kapama" nöronları), (4) ekspiratuarı erken azaltan nöronları, (5) ekspiratuarı arttıran nöronları ve (6) geç ekspiratuar (öncül inspiratuar) nöronlarından oluşmaktadır (45). Solunum aktivasyonunun tipik ateşleme modeli ve kas grubu aktivitesi şekil 2.3' de gösterilmiştir. Buna göre respirasyonun apneik modeli üç faza ayrılmıştır. Bu fazlar; inspirasyon, inspirasyon sonrası (pasif ekspirasyon) ve ekspirasyonun ikinci aşamasından oluşur (46, 47). Ortaya çıkan bu respirasyon döngüsünün fazları kısaca şu şekilde açıklanabilir.

1.İnspiratuar fazı: I-aug nöronlarındaki rampa artışını takiben, frengial dilator kasları da içeren, inspirasyon kaslarının ani başlangıçlı motor deşarjları ile sonuçlanır. Inspirasyon başlamadan önce, geç ekspiratuar (öncül inspiratuar) nöronlarının aktivitesi ile frengial dilatör kaslar yavaşça kasılmaya başlar.

2.İnspiratuar sonrası veya ekspiratuar faz I: Bu faz, I-aug nöronlarının deşarjının azalması ve bu nedenle inspirasyon kaslarının da motor deşarjı ile karakterize edilir. Ekspiratuarı erken azaltan nöronlar aynı zamanda laringeal addüktör kasların aktivitesinin de azalmasına yol açar. Bu faz ayrıca, inspirasyon kas tonusunu kademeli düşürerek ve larinks ile ekspiratuar gaz akış hızını frenleyerek pasif ekspirasyonu tekrar gerçekleştirir.

3.Ekspiratuar faz II: Bu faz da ise inspirasyon kasları sessizdir ve eğer gerekirse ekspirasyon artışı sağlayan nöronlar, ekspirasyon kas aktivitesinin kademeli artışı için aktive olur (48). Dinlenme anındaki solunum boyunca hava, geri çekim kuvvetleri ile pasif olarak ekspire edilir (49). Ekspirasyonun ikinci fazı boyunca artan ekspirasyon aktivitesi apne sırasında her zaman beyin sapı içinde oluşur. Motor çıktı akımındaki güçlü fazik bir ekspirasyon aktivitesi bir insanda egzersiz boyunca (50) ya da hiperkapni veya hipoksik koşullardaki canlılarda sadece artan ventilatör gereksinim boyunca gözlemlenmiştir (51, 52). Abdominal sinir üzerindeki spesifik yüksek genlikli geç ekspiratör (geç-E) nöbetler, hiperkapnik asidozis ve hipoksi boyunca frenik sinirin nöbetinden önce davrandığı gözlenmiştir (53). Bu geç-E motor aktivitesinin kökeni ve mekanizmasının oluşumu ve de dinlenme anında normal ekspiratuar aktivitenin oluşumu ile ilişkisi halen anlaşılamadığı için değişik fikirler tartışma konusu olmaktadır.



Şekil 2.3. Respiratuar nöron gruplarının ateşleme modeli ve respiratuar kas grubuyla eş zamanlı aktivitesi. Ekspirasyon iki faza ayrılmıştır: Pasif (faz I) ve aktif (faz II) ekspirasyon (29).

2.1.3. Solunum Refleksinin Oluşumu

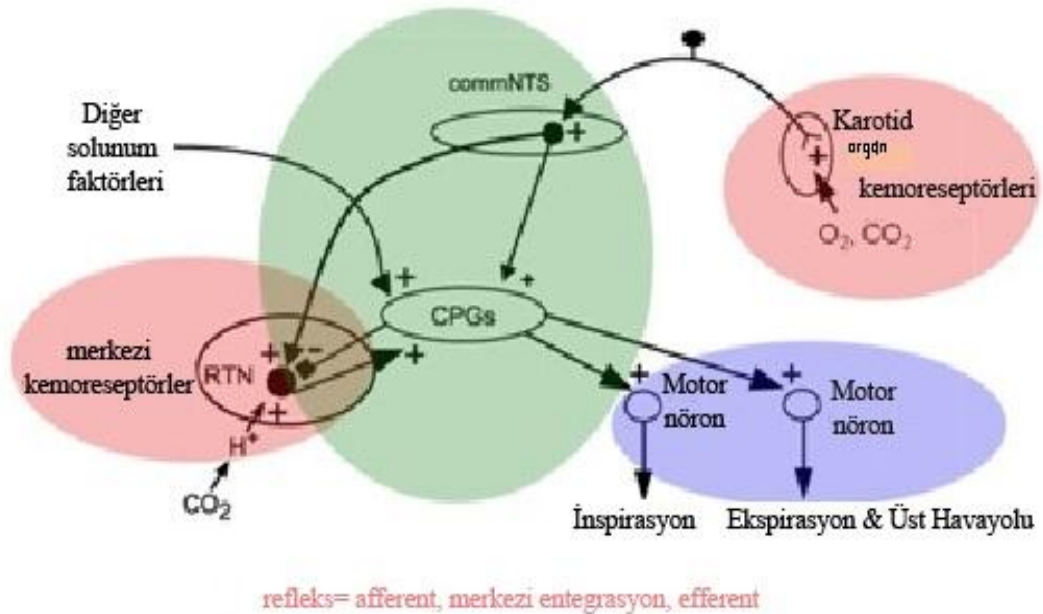
Solunumu kontrol eden negatif geribildirim refleksleri genel olarak üç kısımdan meydana gelir. Şekil 2.4' de solunum refleksi oluşumu şematize edilmiştir.

1.Afferent Duysal Sistem (Sensörler): Bir duysal sistem fizyolojik uyarı adı altında kemoreseptörlerden, akciğerler ve diğer reseptörlerden aldığı bilgiyi belirler ve beyin sapı üzerindeki solunumun kontrol merkezine iletir. Oluşan aksiyon potansiyeli uyarısının yoğunluğunu ve frekansını kodlayan bu duysal bilgiye "afferent girdi" denir. Solunum sistemi fonksiyonuyla ilgili iki ana duyu sistemi afferent bilgiyi taşır. Birincisi; arteriyel kan gazlarının değişimine duyarlı reseptörler ve ikincisi; akciğerlerdeki ve solunum yollarındaki reseptörlerdir. Kemoreseptörler arteriyel kan gazlarındaki değişimi monitörize eder ve arteriyel kan gazları normal değerlerine dönene kadar ventilasyonda refleks değişikliğine neden olurlar. Merkezi ve arteriyel olmak üzere kemoreseptörler iki ana sınıfa ayrılırlar. Birincisi, vagal mekanoreseptörleri içeren akciğerlerdeki ve solunum hava yollarındaki reseptörlerdir. Bu reseptörler pulmoner mekanikle ilgili afferent bilgiyi sağlamak için bu bölgelerdeki basınç ve hacim değişikliklerini monitörize ederler. Genellikle mekanoreseptörler farklı mekanik koşullarda ve ventilasyonun farklı seviyelerinde solunum derinliğine ve oranına göre refleks değişimini uyarırlar. İkincisi ise akciğerlerdeki diğer vagal afferentler, solunan havadaki iritanlara karşı veya histamin (H) gibi endojen kimyasal uyarılara duyarlı reseptörleri içerir. Akciğerlerden veya solunum hava yollarından gelen duysal sinirler, akciğerleri çevresel etkilere korumak için hem solunum yolu kaslarının kas tonusunda hem de bronkial sekresyonda refleks değişikliğine neden olurlar (54).

2.Kontrol merkezi: Solunumun merkezi kontrol bölgesi olan pons ve medullaya, afferent yolla iletilen bilgi işlenir ve solunum ritminin yeniden düzenlenmesi için efektörler olan solunum kaslarına uyarı gönderirler (54). Bu kısım "solunum ritminin oluşması ve nöromodülasyonu" başlığı adı altında detaylı olarak anlatılmıştır.

3.Efferent Yolak: Afferent bilgiyi işleyen kontrol merkezi, gelen uyarıya cevap vermek amacıyla efferent çıktı oluşturur ve ventilasyonda değişiklik gerçekleştirir. Ventilasyon refleksi için efektörler, iskelet solunum kaslarıdır. İnsan vücudundaki primer efferent yolak, diyaframa giden frenik sinirdir. Ekspirasyon dinlenme anında, akciğerin ve göğüs

duvarının pasif elastik geri tepmesi oluşurken, diyaframın ritmik kasılması inspirasyona neden olmaktadır. Solunum ritmi bilgisi spinal kordun üçüncü (C3) ve beşinci (C5) servikal seviyesinde frenik motor nöronlar üzerinden yapılan bir çok sinapsla iletilir. Frenik sinir aktivitesi, solunum ritmi oluşumu için temel refleks özelliği göstermektedir. Bu özellikler kısaca; (1) inspirasyon aktivitesinin ani başlangıcını, (2) inspirasyon boyunca aktivitedeki rampa-benzeri artış ve (3) ekspirasyon başlangıcı ile nispeten inspirasyon aktivitesindeki ani durma olarak üç kısımdan oluşmaktadır. Ekspirasyon başlangıcındaki düşük seviyedeki frenik sinir aktivitesi, diyafram kasından diğer düz kaslara geçiş ile pasif ekspirasyona izin verir. Diğer solunum kasları ise inspirasyon ve ekspirasyon interkostal kaslarını içermektedir ve spinal kordun tüm torasik (T1-T11) seviyelerinde inerve olur. Eksternal interkostal kaslar, frenik sinir benzeri elektriksel aktivite gösterir fakat internal interkostal kaslar ekspirasyon boyunca aktive olmaktadır (54, 55).



Şekil 2.4. Solunum Refleksinin oluşması. Merkezi kemoreseptörlerden, karotid organ ve diğer solunum kaynaklı reseptörlerden afferent bilginin, solunum kontrol merkezine ulaşmasıyla bilginin burada işlenmesi ve inspirasyon ve ekspirasyon motor nöronlarının efektör organı uyarıp, refleks oluşumunun gerçekleşmesi şematize edilmiştir. Pembe renk; kemoreseptör alanları, Yeşil renk; kontrol merkezini, Mor renk; inspirasyona veya ekspirasyona neden olan motor nöronları göstermektedir. (commNTS: kommissural nükleus solitari trakt, CPG: solunum ritmi model jenerasyonu, RTN: retrotrapezoid nükleus) (56).

2.2. SOLUNUM RİTMİNİN OLUŞMASI VE NÖROMODÜLASYONU

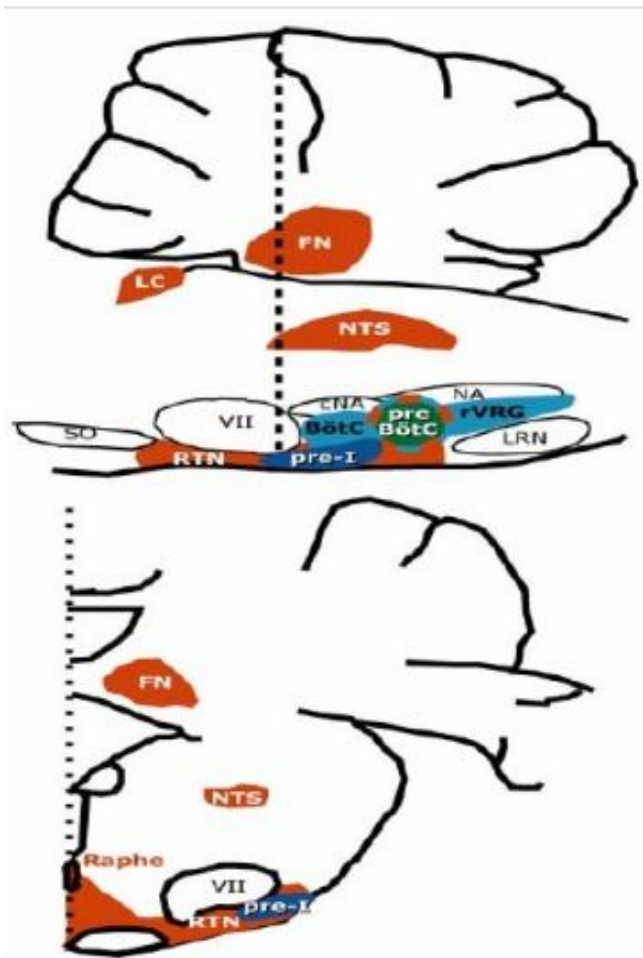
2.2.1. Solunum Ritminin Oluşması

Solunum ritmi, şekil 2.5' de medulla üzerinde lokasyonları gösterilen solunum nöronları tarafından oluşturulur ve düzenlenir. Solunum ritmini oluşturan bu beyin sapı nöronları; fasiyal nükleustan spinal korda uzanan bir ventrolateral kolon içerisinde bulunur. Aynı zamanda spinal ve kranial solunum motor nöronlarına ve propriobulbar nöronlara projekte olan premotor solunum nöronlarını da içermektedir. CPG' nin, ventral solunum grubu kolonu (VRC) ve parafasiyal solunum grubu (pFRG) üzerinde yerleşmiş nöral ağın etkileşimiyle oluştuğunu gösteren kanıtlar vardır (57, 58). Bu kanıtlara dayanılarak, medulla üzerinde bulunan VRC' nin rostral kısmında yer alan BötC bölgesinin ekspiratuar aktivitenin öncül kaynağı olduğu düşünülmektedir (47, 59-63). Ayrıca beyin sapı üzerindeki bu bölgelerin solunum ritminin oluşumuna nasıl aracılık yaptığı halen kesin olmamasına rağmen VRC içerisinde kısmen yerleşmiş olan ve preBötC olarak adlandırılan özel bir alanın da inspirasyon aktivitesinin oluşmasında kritik bir rol oynadığı bulunmuştur (64). İn vitro olarak yapılan çalışmaların sonucunda, solunum ritim jenerasyon mekanizmasının, BötC inspiratuar nöronları ve ekspiratuar nöronları arasındaki inhibitör etkileşimlerin daha kaudalda bulunan preBötC üzerinde ve ventral solunum grubunun rostral kısmı olan rVRG üzerinde gerçekleştiği öngörülmektedir (35, 36, 47, 59-63). Fakat iki yeni görüş ekspiratuar aktive oluşumunda BötC' nin daha önemli bir rol oynadığını göstermektedir (58, 65-67). Bu iki tartışmalı kavram sözde bir "öncül-inspiratuar" aktivitenin olduğu temeline dayanmaktadır. Bu konu ile ilgili yapılan bir başka çalışmada, yeni doğan ratların en-bloc in vitro beyin sapı-spinal kord preperasyonlarından, fasiyal nükleusun ventral ve kaudal (parafasiyal solunum grubu) bölgelerinden bu aktivite kayıt edilmiştir (68, 69). Aktivite kaydı yapılmış bu pFRG bölgesi RTN ve ventrolateral parafasiyal (vlPF) bölgeleri üzerine gelmektedir (70). Ayrıca öncül inspiratuar nöronların, ekspirasyonun çok sonralarına doğru ateşlendiği de anlaşılmıştır. Bu nöronların inspirasyon boyunca inhibe olduğu ve sıklıkla erken inspirasyon sonrası evresinde ikinci bir nöbet sergilediği görülmüştür. Bu nedenle, bu nöronlar bifazik ekspiratuar (bifazik-E) nöronları olarak adlandırılmıştır (71, 72). Onimaru ve ark. bu öncül inspiratuar (veya bifazik-E) aktivitenin pFRG içinde yer alan bir primer (öncül inspiratuar) osilatör ile oluştuğunu ve preBötC içinde sekonder bir inspiratuar osilatörle üstüste bindiğini hipotez olarak önermişlerdir (67-69). Yeni doğan

sıçanlar üzerinde hem en-bloc in vitro hem de in vivo olarak yapılan diğer bir araştırmada ise pFRG bölgesi üzerinde, aynı bifazik-E aktivitenin, abdominal kasların aktivitesinin enerjisinden köken aldığı rapor edilmiştir (65). Anestezi altındaki yeni doğan sıçanların pontin bölgesinin transseksiyonundan elde edilen verilerde ise RTN/vIPF üzerinde yine aynı bifazik-E aktivitenin, preBötC inspiratuar osilatörü ile karşılıklı etkileşim halinde olduğu fakat ayrı ve bağımsız bir ekspiratuar osilatör ile oluştuğu gösterilmiştir. Böylelikle bu iki osilatörün solunum ritminin oluşmasındaki temel mekanizmayı sergilediği bulunmuştur (58, 73). İzole edilen medulla kesitleri üzerinde yapılan bir çalışmada, solunum aktivitesi modelinin üç farklı formu için preBötC' nin basit ritmik enerjiyi sağladığı ortaya çıkarılmış ve bazen apne olarak da refere edilen (1) normal solunum aktivitesi, (2) derin nefes alma, (3) nefesin kesilmesi veya tutulması gibi üç farklı tip aktivite modelinin oluşumunda rol aldığı gözlenmiştir (74). Böylelikle bir çok deney modeli ile yapılan çalışmalar, preBötC bölgesinin aydınlatılması ve solunum ritmogenezisinin çekirdeği olduğunun gösterilmesine izin vermiştir (75-77).

Solunum ritmi, bu bölgeyi de içeren, in vitro beyin kesitleri üzerindeki motor nükleilerden de ölçülebilmektedir. Yetişkin memeliler üzerinde yapılan çalışmalarda, bu alanın içindeki ve dışındaki nöral fonksiyon bozuklukların solunumun dengesini bozabildiği gösterilmiş fakat preBötC nöronları için net bir anatomik işaretleyicinin bulunmaması bazen çelişkili olan bu sonuçların anlaşılmasını engellemiştir (75, 78). Bütün bu bilgiler doğrultusunda araştırmacılar tarafından üç farklı bulgu sunulmuştur. Bunlardan ilki; kemirgen in vitro preperasyonlarında hipoglossal sinirin çıktı cevabının genliğindeki değişimler örnek olarak gösterilerek, preBötC' nin inspiratuar motor cevap oluşumunda gerekli ve yeterli olduğunu savunmaktadır (75, 77). İkincisi; genç sıçanların in vivo beyin sapı kesitlerinin transseksiyonundan elde edilen veriler, sadece rostral preBötC bölgesinin solunum modelinin hakim olduğu ritmik inspiratuar aktiviteyi oluşturduğunu göstermiştir (66). Üçüncü olarak da preBötC bölgesinin alt kümelerinde tanımlı peptid reseptörlerin nörotoksik lezyonlarının, normal sıçanların aksine, ataksik solunum oluşturduğu gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada, medullanın her iki tarafında yaklaşık olarak 300 civarındaki glutamaterjik preBötC nöronlarının, ligandı P maddesi (SP) olan nörokinin-1 reseptörünü (NK1R) eksprese ettiği bulunmuştur. Bir toksin olan seçici öldürücü saporinin (SAP), SP' ye bağlanmasını (SP-

SAP) takip eden bir kaç gün içerisinde ise nöronların NK1R' nü ekspire ettiği görülmüştür. Yetişkin sıçanlarda preBötC bölgesi üzerine SP-SAP enjeksiyonundan bir kaç gün sonra, uyku sırasında solunum bozukluğu olduğu ve daha çok lezyonun tamamlanmasıyla da uyanıklık anında ataksik solunumun gerçekleştiği (64) ve uyku boyunca apnelerin olduğu görülmüştür (79). Böylelikle preBötC yaralanması veya hasarlanması üzerine yapılan bu çalışmaların sonuçlarıyla solunumun kesilmesine yol açtığı gösterilmiş ve bu bölgenin solunum ritim jenerasyonunda önemli bir rolü olduğu kanıtlanmıştır (80).



Şekil 2.5. Rostral medulla üzerinde solunum ritmi oluşturan bölgeler. (A) Parasagittal görüntü. (B) Transvers görüntü. Ventrolateral medulladaki mavi alanlar frenik, interkostal ve abdominal motor nöronlara projekte olan respiratuar bulboşpinal premotor nöronların ana lokasyonudur. pre-I nöron popülasyonu ritmogenezisde rol oynayan birçok nöron ile ventral yüzeye yakın preBötC' nin ventral ve rostralinde lokalize olduğu görülmektedir. (FN: fastigial nükleus, LC: lokus seruleus, NTS: nükleus traktus solitarius, VII: facial nükleus, rVRG: rostral ventral solunum grubu, NA: nükleus ambiguus, cNA: nükleus ambiguusun kompakt bölümü, LRN: lateral retikular nükleus, RTN: retrotrapezoid nükleus, SO: superior olive, BötC: Bötzingler kompleks, preBötC: preBötzingler kompleks.) (28).

2.2.2. Nöromodülatörlerin Solunum Aktivitesi Üzerine Etkisi

Nöromodülatörlerin solunumun ritim aktivitesi üzerinde bir çok fonksiyonu vardır ve her biri farklı olarak solunum aktivitesinin genliğini ve frekansını düzenlemede rol oynarlar. Nöromodülatörler, motor nöron, duysal nöron ve MSS' ne ait çeşitli nükleiler içerisinde lokalize olmuş nöronlar üzerinden etkilerini gösterirler. Ayrıca solunumun farklı formları boyunca respiratuar ağın yeniden yapılandırılmasıyla ilgilidirler. Bu nedenle nöromodülatörlerin solunum sistemini nasıl kontrol ettiğinin anlaşılması sadece nöromodülasyonun temel ilkelerinin kavranması için değil aynı zamanda ritmik solunum aktivitesinin nasıl üretildiğinin ve düzenlendiğinin anlaşılması açısından da önemlidir (81). Genel olarak nöromodülatörler, CPG çıktısına etki edebilen maddelerdir fakat kendileri solunum ritminin oluşmasına katılmazlar. CPG üzerinde ritim oluşumunun gerçekleşmesi, eksibitör ve inhibitör nörotransmitterlerin kombinasyonunu gerektirmektedir. Genellikle glutamat gibi eksibitör amino asitler bir çok farklı reseptörü aktive eder. Bu reseptörler, iyon kanallarına hızlı etki eden NMDA reseptörleri ve G-proteini aracılığıyla etki eden reseptörleri de kapsayan yavaş etkili non-NMDA reseptörleri olarak iki gruba ayrılmıştır. Glutamat hem NMDA hem de non-NMDA reseptörleri üzerinden CPG üzerindeki pontin etkiye aracılık etmektedir. Aynı zamanda glutamat, solunum modeli jenerasyonu sırasında pulmoner gerim reseptörleri ve periferik kemoreseptörlerin etkilerine de katılan bir nöromodülatördür (81).

Solunum ritmi üreten preBötC gibi alanlar, bu bölge dışarısındaki alanlardan ve preBötC etrafından gelen çok sayıda modülatör girdiyi de almaktadır. Bu alanlar kısmen aynı nöronlardan salınmış çok sayıda nöromodülatörleri içermektedir (30). Gray ve ark. yaptıkları bir çalışmada, preBötC üzerine direkt olarak uygulanan SP ve opioidler gibi solunum frekansını değiştiren peptidlerin reseptörlerinin, ritim üreten nöronları belirleyeceğini varsayarak bu konu üzerine odaklanmışlardır. NK1R' yi ekspirese eden nöronların ventrolateral solunum kolonunun, bir çoğu merkezi kemoreseptör alanı olan sınırlı bir bölgede işaretlenmediğini bulmuş ve bunların varlığını preBötC bölgesini tanımlamak için kullanmışlardır (82). preBötC üzerinde bulunan NK1R' lerin, γ -aminobütrik asitin (GABA) sentetik enzimi olan glutamik asit dekarboksilaz 67 (GAD67), glisin taşıyıcı 2 (GlyT2), tirozin hidroksilaz veya kolin asetil transferazdan nadiren ekspirese olduğu (83) ve çoğunlukla veziküler glutamat taşıyıcı 2 (VGLUT2)

(84) ve glutamat immün reaktiflerinden ekspirese olduğu görülmüştür (85). Yapılan bu çalışmaların sonucunda bulunan bu öneriler, preBötC nöronlarının eksitator olduğunu göstermiştir.

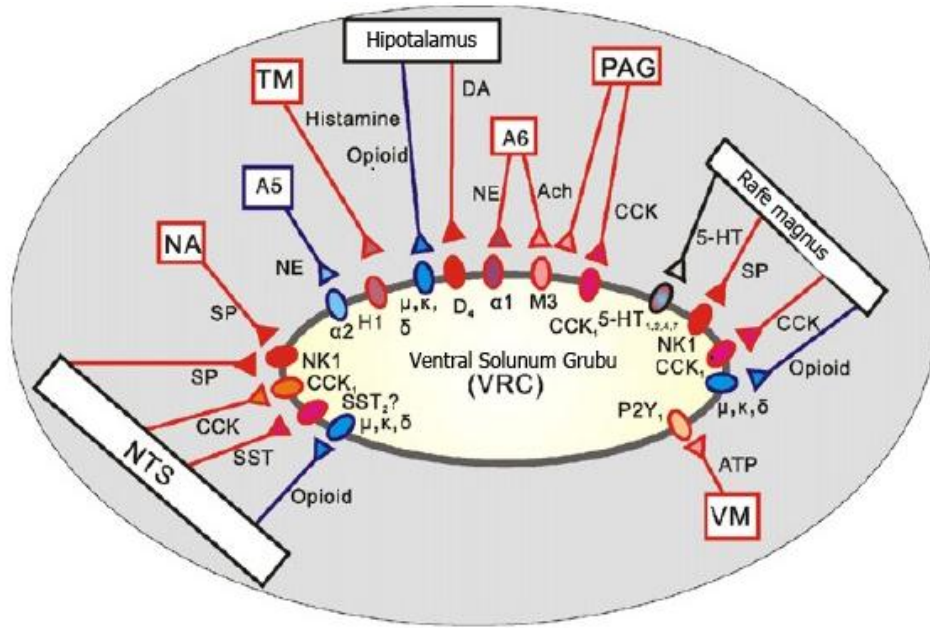
Glutamat, CPG' nin temel uyarıcı (eksitator) nörotransmitteri olmasının yanında solunum ritmi üreten nöronların arasında ve bulbospinal premotor nöronlarda ve de frenik sinir gibi spinal motor nöronlarında da bulunmaktadır. Ayrıca preBötC bölgesi üzerinde yapılan in vitro deneyler inhibitör nörotransmitterler olan GABA ve glisin, solunum ritminin üretiminde zorunlu olarak bulunmasını öngörmüş ve bu bulgu da karşılıklı inhibasyonun ritim üretiminde gerekli olmadığını göstermiştir. İnhibitör nörotransmitterler, spesifik glisin reseptörleri ve GABA_A reseptör alt tipi aracılığı ile nöronları hipolarize edip, aktivitesini inhibe eden glisin ve GABA reseptörlerini içermektedir. Bu iki inhibitör transmitterin, CPG' nin farklı fazları boyunca yarı bağımsız olarak davrandığı görülmüştür. Solunum için özel olan bu bölgede çeşitli nöromodülatörlerin birlikte bulunması muhtemelen PKA ve PKC içeren, potasyum ve klor kanalları ile bağlantılı, sırasıyla GABA, glisin ve glutamatın aktivitesini etkileyen ortak bir hücreler arası sinyal yolağı üzerinden CPG nöronlarına etki ettiğini göstermektedir (86).

P maddesinin ise periferik kemoreseptör aktivitesinin sorumluluğunda tidal volümdeki artış ile sonuçlanan eksitator bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. preBötC üzerindeki, duyarlı NK1R' ye sahip özel bir sınıf nöronların öldürülmesi şiddetli arteriyel hipoksi veya hiperkapni ile sonuçlanan anormal ve değişken solunuma neden olduğu görülmüştür. Fakat preBötC bölgesi içindeki CPG' nin kaybolması ile beynin diğer bölgelerinin solunumu dengelediği ve canlının hayatta kalabildiği de gözlemlenmiştir (87-91).

Önemli modülatör role sahip rafe magnus ve rafe obskurus da en iyi bilinen bölgeler arasında yer almaktadır. Bu bölgeler, GABA, 5-HT, SP ve tiotropin salgılayan hormonun da (TRH) dahil olduğu çeşitli nörotransmitter ve nöromodülatörleri içerirler. Özellikle, rafe magnusun nöronları 5-HT ve SP içermektedir (92, 93). SP aynı zamanda NTS, NA, vagus ve hipoglossal nükleusun dorsal motor nöronlarında da bulunur (94). Bütün bu alanların her birinin preBötC' ye afferent girdileri ulaştırdığı veya projekte ettiği düşünülmektedir (41).

Posterior hipotalamus içerisinde bulunan bir küme magnoselüler hücre topluluğu olan tüberomamiller nükleustan histamin salgılanırken (95), hipotalamusun paraventriküler nükleusu (PVN) dopamin için önemli bir kaynaktır (96). Memeli ön beyni ve hipotalamik bölgeleri ile birlikte alt beyin sapı, siklik polipeptid somatostatin (SST) içermektedir. Beyin sapı üzerinde SST, parabrakial nükleus ve NTS' nin de dahil olduğu merkezi solunum grubu ile bağlantılı bir çok nükleinin somasında ve terminalinde tespit edilebilmiştir. Aynı zamanda SST' nin immunreaktif fiberleri LC, NTS ve NA içerisinde de tespit edilmiştir (97). Glutamaterjik, SST ifadeleyen inspiratuar modülatör preBötC nöronları, RTN/pFRG' ye projekte olduğu bilinmektedir (98). Glutamaterjik, galanin-pozitif RTN/pFRG nöronları ise preBötC' ye projekte olmaktadır (99). Aynı zamanda NTS ve VRC, immünreaktif kolesitokin (CCK) 8-nöron benzerini içerir (100). Ayrıca preBötC, BDNF ile aktive olan TrkB reseptörünün ekspresyonunu da sağlamaktadır. Diğer bazı nöromodülatörler ise asetilkolin (ACh) içerir ve respirasyon sırasında merkezi kemoreseptörlerin etkilerine aracılık etmek için hem muskarinik hem de nikotinik reseptörler üzerinden etki eder. Pons (A5; ventrolateral pons ve A6; lokus seruleus) ve medulla (A1, A2 bölgeleri) noradrenerjik nöronları içermektedir. Pons A6 bölgesinde bulunan bazı noradrenerjik nöronlar aynı zamanda ACh' de içermektedir. Asetilkolin, vagus ve diğer sinirlerin dorsal motor nükleusunda, ventral periaqueductal gray (vPAG) bölgesi içerisinde de bulunduğu gösterilmiştir (101).

Güncel kanıtlar, birleşmiş pacemaker nöronların ve bu süreyi ayarlayan sinaptik bağlantıların ve de inspirasyon ve ekspirasyon arasındaki geçişin olduğunu gösteren hibrit bir ağ modeli olduğunu göstermiştir (82). Şekil 2.6' da gösterilen bu ağ modelinde yer alan nöronlar üzerindeki reseptörlerin hangi nörotransmitterlerle ve hangi bölgelerle etkileşim halinde olduğu özet olarak gösterilmiştir. Eğer bu pacemaker hipotezi doğru ise preBötC içerisindeki birleşmiş pacemaker nöron davranışının ortadan kaldırılması, solunum ritminin şiddetle karışmasına veya durmasına neden olur. Bu ağ-bazlı birleşmiş grup pacemaker mekanizma, buradaki topluluk halindeki nöronların kimyasal ve elektriksel eksitator sinaptik etkileşimi sayesinde ritmik olarak aktif hale gelmesiyle, solunum ritminin nasıl oluştuğunun açıklanması için bir alternatif sunmaktadır (39, 102).



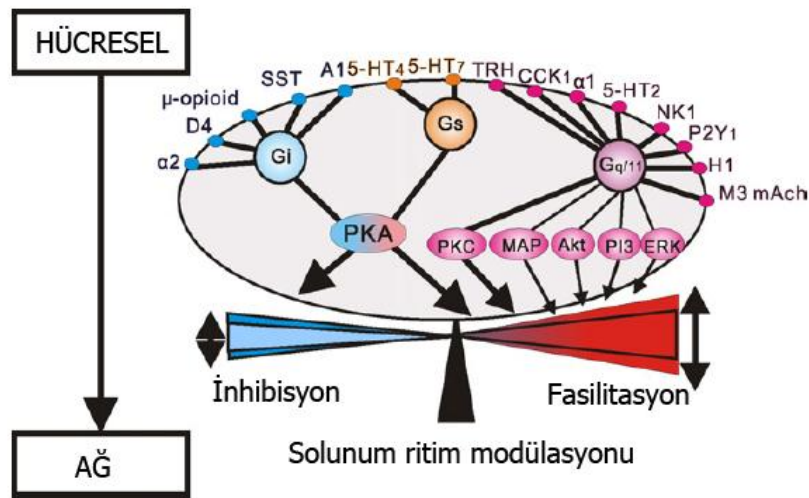
Şekil 2.6. Solunum nöral ağ aktivitesinin nöromodülasyonu. Solunum ağı solunum davranışını oluşturmak için entegre olmuş eksitator ve inhibitör girdileri bir çok kaynaktan alır. (NA: nükleus ambiguus, A5: ventrolateral pons, TM: tuberomammillar nükleus, A6: lokus seruleus, SP: P maddesi, NE: norepinefrin.) (81).

2.2.3. Solunumla İlişkili Nöromodülatörlerin Reseptörleri ve İkincil Haberci Sistemleri

Bir önceki başlıkta, MSS' nin farklı alanlarından köken alan bazı nöromodülatörler tanımlanmış ve solunum aktivasyonu üzerindeki etkileri açıklanmıştır. Buna ek olarak, hücresel seviyede modülatörler, çeşitli alt tipleri ile farklı ikincil haberci sistemleri üzerinden solunum ağında inhibitör veya eksitator olarak rol oynamaktadır. Bu kısımda ACh, SP, 5-HT ve NE gibi solunum aktivitesi üzerinde kilit rol oynayan bazı nöromodülatörlerin hücresel mekanizması anlatılacaktır. Şekil 2.7' de solunumu inhibe eden ve fasilitasyona neden olan reseptörler ve ikincil haberci sistemleri gösterilmiştir. Buna göre preBötC bölgesi üzerinde ACh; $\alpha\beta 2$ nikotinik (nACh), M2 ve M3 muskarinik (mACh) reseptörleri üzerinden etki etmektedir (103, 104). M3 mACh reseptörleri eksibitör etki gösterir ve $G_{q/11}$ protein çifti hücre içi aşağı sinyal kaskadında fosfolipaz C (PLC), inositol 1,4,5-trifosfat (IP_3) reseptörü ve PKC' yebağlanır. Buna karşın M2 mACh reseptörleri inhibitör etki gösterir ve adenilil siklazı (AC) baskılar. SP için tanımlanmış üç ana reseptör tipi vardır ve bunlar NK1, NK2 ve NK3 reseptör alt tipleridir (105). Yapılan bir çalışmada, NK1 reseptör alt tipinin immün boyanması

preBötC bölgesi için işaretleyici olarak kullanılmış (82) ve NK1 reseptör aktivasyonunun eksibitör bir etki gösterdiği bulunmuştur. NK1 reseptörleri $G_{q/11}$ proteini, IP3 reseptörü ve/veya PKC' ye bağlanır ve sodyum (Na^+), kalsiyum (Ca^{2+}), potasyum (K^+) kanallarını (105) ve muhtemelen bilinmeyen bir katyon kanalının aktivitesini düzenlediği bulunmuştur (106).

5-HT etkisini, işlevleri tanımlanmış 5-HT_{1,2,3,4} ve 5-HT₇ reseptör alt tipleri üzerinden gösterir (107-111). 5-HT₁ reseptör alt tipi, $G_{i/o}$ protein çiftine bağlanır ve AC' yi inhibe ederek K^+ iletkenliğini arttırmaktadır. 5-HT₂ reseptör alt tipi ise $G_{q/11}$ protein çifti, PLC ve IP3 reseptörlerine bağlanarak hücrelerarası Ca^{2+} geçişini hareketlendirdiği ve/veya voltaj bağımlı K^+ kanallarını bloke ederek PKC üretimini kolaylaştırdığı bulunmuştur (112). 5-HT₃ reseptörü ise iyonotrofiktir ve katyon iletimini sağlamaktadır. 5-HT₄ ve 5-HT₇ reseptör alt tipleri farklı olarak G_s protein çifti ile bağlantılıdır ve AC' i artırır. Ayrıca PKA' yı uyararak K^+ kanallarını inaktive eder (96). 5-HT₂ ve 5-HT₄ reseptörleri solunumun ritmik aktivitesini kolaylaştırırken, 5-HT₁ inhibe etmektedir. Bu geleneksel ve kabul görmüş sinyal yollarına ek olarak, 5-HT reseptör aktivasyonunun hücre içerisinde BDNF, ekstraselüler-düzenleyici kinaz (Erk), Akt, mitojen-aktif protein (MAP), insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (IGF1), Ras, Raf (GTPaz), fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K) ve fosfoinositid bağımlı protein kinazı da (PDK) aktive ettiği bilinmektedir (113).



Şekil 2.7. Solunum ritim modülasyonuna katılan reseptörler ve ikincil haberci sistemleri. $G_{q/11}$; hücre içerisindeki protein ekspresyonuna etki eden ve solunumda fasilitasyona yol açan reseptörlerin bağlandığı protein çiftidir. G_s ve G_i ; hücre içerisinde PKA ekspresyonuna neden olan ve solunumu inhibe eden reseptörlerin bağlandığı proteinlerdir (81).

2.2.4. Solunum Aktivitesinin Frekansının İnhibitör ve Eksibitörlerle Kontrolü

Endojen olarak salgılanan nöromodülatörler solunum ağına sürekli eksibitör veya inhibitör enerji sağlarlar. SP' nin primer olarak eksibitör etki gösteren bir modülatördür. preBötC bölgesi içindeki NK1 reseptörleri üzerinden bu etkiyi gösterir fakat beyin sapı-spinal kord örneklerinden hazırlanan preperatlar NK1 ve NK3 reseptör agonistlerinin solunum frekansı üzerinde, konsantrasyona bağımlı bir artışa sebep olduğunu göstermiştir (114). Bir diğer primer eksibitör nöromodülatör CCK' dır. Bu peptid bir veya daha fazla medullar bölge veya pontin solunum grubu üzerindeki CCK1 reseptörleri üzerinden etki göstermektedir (100). TRH ise, NTS nöronlarında ateşleme özelliği olan ve solunumun kontrolünde önemli bir eksitatör nöromodülatördür (115). Endojen olarak uygulanan H1 ve H3 reseptör agonistleri frenik sinir aktivitesinin genliğini artırır fakat sadece H1 reseptör antagonistlerinin solunum frekansında azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bu nedenle endojen olarak salgılanan histamin, eksitatör etkisini öncelikle H1 reseptörlerindeki rolü ile göstermektedir (116).

Opioids ve SST, primer olarak inhibitör modülatörlerdir (117). SST içeren preBötC nöronları doğal olarak SST etkisine hedef olurlar fakat SST' nin solunum frekansını nasıl inhibe ettiği hala kesin olarak anlaşılamamıştır. Opioidlerin etkisi hakkında daha fazla bilgi vardır. Opioidler, solunumun frekansı aktivitesi üzerine farklı reseptör ve nöronlar üzerinden etki ederek farklı inhibitör etki gösterirler. preBötC üzerine direkt olarak enjekte edilen mu (μ)- opioid reseptör agonistleri, preBötC üzerindeki bir kısım nöronlar aracılığıyla solunum frekansını etkilediği görülmüştür (82). Yapılan bu çalışmada, preBötC nöronlarının aktivitesini inhibe etmiş ve ilginç olarak da opioidlerin parafasiyal nükleus üzerinde hiç bir etkisi olmadığı görülmüştür. Farklı olan bu opioid modülasyonu solunum ağına farklı kontrol edilen inspirasyon ve ekspirasyon hakkında önemli ip uçları sağlamaktadır (118). Delta opioid reseptör aktivasyonu solunum aktivitesini etkilediği halde bu reseptörlerin solunum frekansı üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür (119). Kappa (κ)- ve mu (μ)-opioid reseptörler kendileri tarafından aktive edildiğinde solunum aktivitesinin frekansını baskılamaktadır. Beraber aktive olduklarında ise κ -opioid reseptörlerinin aktivasyonu, μ -opioid reseptör aracılığı ile solunumun baskılanmasına engel olmaktadır (120). Bu da farklı modülatörlerin salınmasının solunum sistemi tarafından oldukça iyi düzenlenebildiğini ve koordine

edilebildiğini ve de görünüşte benzer olan bu farklı nöromodulatorlerin eş zamanlı salınması halinde kompleks modulatorler olarak etki gösterdiğini öngörmüştür (120).

Dopamin (D), serotonin ve norepinefrin inhibitör ve bunun yanında eksibitör etkisi olan nöromodulatorlerdir. D salınması, solunum aktivitesinin frekansını artırırken (108), spesifik D₄ reseptörlerinin öncül inspiratuar nöronlarının solunumun ritmik aktivitesini baskıladığı görülmüştür (121). 5-HT' nin öncül inspirasyon ve inspirasyon nöronlarının frekans ateşlemesini önce arttırdığı ve daha sonra da azalttığı bulunmuştur. Solunum ritminin bu bifazik modülasyonu en iyi 5-HT_{2A} (eksitator), 5-HT_{2C} (eksitator) ve 5-HT_{1A} (inhibitör) reseptör alt tipleri ile açıklanabilmektedir (107). Fakat bu reseptörleri farklı olarak aktive eden doğal koşullar tam anlamıyla bilinmemektedir. Serotonin gibi NE' de farklı reseptörler üzerinden eksibitör ve inhibitör etkiye yol açar. Pons üzerindeki A5 bölgesi, medullar solunum ağını muhtemelen alfa-1-adrenerjik ($\alpha 1$) reseptörler üzerinden aktive etmektedir. Aslında ekzojen olarak uygulanan $\alpha 1$ agonistleri, izole edilmiş transvers medulla kesitlerinde, solunum frekansının artmasına neden olmaktadır. Fakat $\alpha 1$ reseptörlerinin antagonistleri medullar kesitlerde spontan ritmik aktiviteye neden olmadığı görülmüştür. Bu da $\alpha 1$ reseptörlerinin medulla dışında bulunan noradrenerjik nöronlar ile endojenez yolla aktive olduğunu göstermektedir (122).

Bu başlıkta kısmen özetlenmeye çalışılan ve halen taslak halinde olup, bilinmeyen bir çok yönleri olan bu nöromodulator sistemin farklı fizyolojik alanlarda da çalışılması, sistemin işleyişine çözüm üretilmesi bakımından önem taşımaktadır. Ayrıca solunum aktivasyonu oluşumunun anlaşılması için bu fizyolojik alanların, farklı nöromodulator nöronların ve bu nöronların projeksiyonları üzerindeki etkileri de içermesi yapılan bu in vitro deneylerden beklenmedik sonuçlara ulaşılmasını sağlayabilir.

2.2.5. Solunum Aktivitesinin Genliğinin Nörol Kontrolü ve Nöromodülasyonu

Solunumun kontrolünden sorumlu bütün nöronların aktivasyonunun genliğinin düzenlenmesi ve preBötC üzerinde tek bir hücre ateşlenmesinin, motor çıktı cevap üzerindeki genlik modülasyonunun oluşumu için geçerli bir sebep sayılmamaktadır. Motor nöronların kendi intrinsik membran özelliğinin olması ve sinaptik girdilerin modulatorlerin kontrolü altında olması hem de ritim üreten nöral ağ üzerinde modulator

etkilerden bağımsız olarak düzenlenmesi, solunum aktivitesinin genliğinin modülasyonu için açıklanması gereken bir olaydır. Bağımsız genlik kontrolü için verilebilecek en güzel örnek ritim üreten nöral ağın ve motor çıktının hipoksiye olan cevabıdır. preBötC bölgesi içerisindeki solunum kontrol ağı öncelikli olarak frekansı düzenlemektedir. Buna göre hipoglossal motor nöronlar ağır bir depolarizasyon ve genlik modülasyonu sergilerler. Bu olay da preBötC üzerindeki genlik modülasyonunun prensibini yansıtmadığını göstermektedir (123). Solunum sistemindeki bu bağımsız genlik kontrolünün, farklı motor çıktıların farklı şekilde düzenlenmesine izin verdiği düşünülmektedir. Bu konu diyaframatik kontrolün gereksinimlerinin diğer üst solunum yolu veya torasik kaslarının kontrolünden tamamen farklı olduğu için önem taşımaktadır (58). Bağımsız genlik kontrolüne karşıt bir görüş, ekzojen olarak uyarılan $\alpha 1$ reseptörleri, 5-HT_{2A} reseptörleri ve NK1 reseptörlerinin sadece solunum frekansını arttırmadığını aynı zamanda preBötC bölgesi düzeyinde solunum aktivitesinin genliğini de arttırdığını savunmaktadır (106, 109, 124). Hem frekansda hem de genlikte olan bu artış, nöronların intrinsik ateşleme özelliklerinin, eksitator sinaptik potansiyel enerjinin kuvvetlendirilmesine yol açarak nöral ağın bütününe genliğinde bir büyümeye neden olabildiğini göstermektedir (125).

2.3. SOLUNUMSAL NÖROPLASTİSİTE

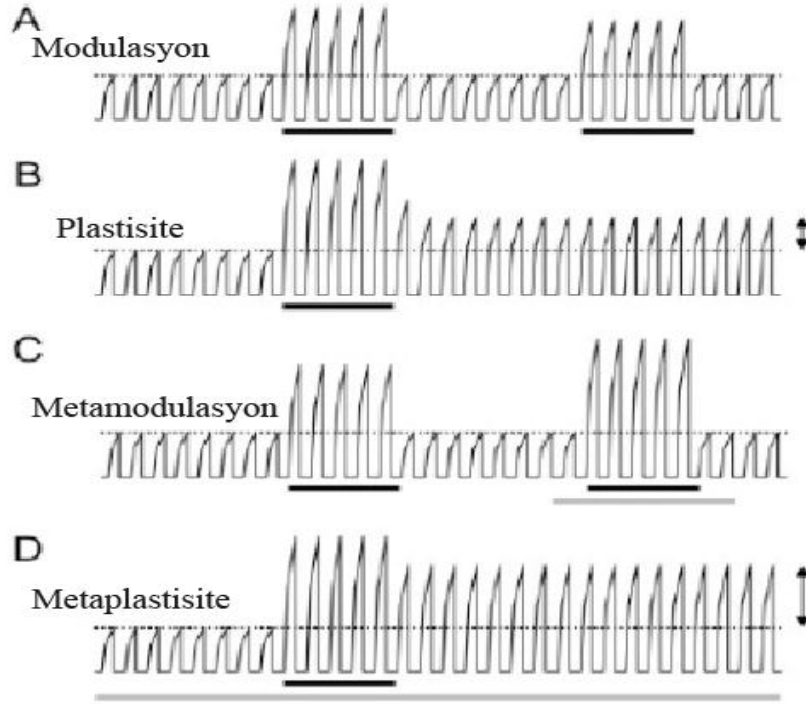
Plastisite nöral sistemin temel bir özelliğidir. Solunumsal nöroplastisite ise homeostazın korunması için gereken düzenleyici fonksiyonlar için aracılık yapar. Solunum, hipoksi veya kemoafferent nöron aktivasyonunun, anormal O₂ seviyelerinin veya gelişim sırasındaki stresin, egzersizin ve coğrafik konumun, hiperkapninin, duyuşal denervasyonun, nöral hasarlanmanın ve çevresel şartların neden olduğu etkiler için önemli bir plastisite oluşturur (3). Solunumsal plastisite oluşumu için serotonerjik, dopaminerjik veya noradrenerjik reseptör aktivasyonu gerekmektedir (28). Solunumun nöral kontrolü içerisinde plastisite için benimsenmiş bir tanım yoktur. Bu yüzden plastisite ile bağlantılı bir kavram olan modülasyonu ve ardından da plastisiteyi tanımlamamız gereklidir. Modülasyon ve plastisite ortak özellikleri paylaşırsa da, farklılıkları da vardır. Modülasyon (veya metamodülasyon) plastisiteyi başlatmada ve/veya başlamasına aracılık etmede kilit bir rol oynamaktadır. Bu kavramların daha iyi anlaşılması için aşağıda kısa tanımları yapılmıştır.

Modülasyon: Modülasyon, nörokimyasal olarak uyarılarak sinaptik dirençte veya hücresel özelliklerde değişiklik yapar ve nöral ağ fonksiyonunu ayarlar ya da işlevini dönüştürür (126-128). Şekil 2.8(A)' da solunum motor çıktı cevabında modülasyon oluşumu gösterilmiştir. Modülasyon, plastisite ile karşılaştırıldığında nispeten kısa zaman aralığıyla ve plastisitenin tersine, nöromodülatörler ortamda mevcut olmadığında belirlenir. Modülasyon için solunumun motor kontrolünde verilebilecek en iyi örneklerden biri solunum nöronlarının serotonerjik modülasyonudur (41, 129-131).

Plastisite: Plastisite, nöral kontrol sisteminin morfolojisi ve/veya fonksiyonunda kalıcı bir değişiklik oluşturur. Konu ile ilgili yapılan deneyler nöral aktivite, hipoksi, nöral yaralanma (hasarlanma) veya yaşlanmayı da içermektedir. Aralıklı hipoksiyi takiben frenik sinirde meydana gelen LTF oluşumu, solunumun motor kontrolü içerisinde plastisiteyi tanımlayan en iyi örnektir. LTF, uyarılara (aralıklı hipoksi) daha çok dayanarak, solunum motor çıktısındaki cevabın genliğinin artmasını yansıtır. Şekil 2.8 (B)' de plastisite oluşumu gösterilmiştir (132).

Metamodülasyon: Metamodülasyon, nöromodülasyonun kendisinden kaynaklanarak modülasyona maruz kalması olarak tanımlanmaktadır (127). Metamodülasyon, ilk modülasyon ile aynı mekanizmayı paylaşmasına rağmen fosforilasyon ile ilk modülasyona katılan elementlerin kontrolü (taşıyıcı protein aktivitesinin geri alınımının kontrolü) veya gen ekspresyonu (reseptör indüksiyonu) gibi kendisine özgün mekanizmalara sahiptir (Şekil 2.8 (C)). Serotonerjik metamodülasyon, solunumun motor kontrolünde plastisitenin potansiyel olarak önemli formlarının temelini oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır (133-135).

Metaplastisite: Metaplastisite, plastisitenin hızlandırılması için kapasitede olan değişimdir ve plastik plastisite olarak da adlandırılabilir (136). Şekil 2.8 (D)' de metaplastisite oluşumu gösterilmiştir. Metaplastisite son zamanlarda diğer nöral sistemler içerisinde tanımlanan plastisitenin yüksek dereceli bir formu olarak kabul edilmektedir (136-139). Metaplastisite, solunumun motor kontrolü sırasında oluştuğunu gösteren çalışmalar vardır. Kronik aralıklı hipoksiyi (KAH) takiben pLTF (135) veya servikal dorsal rizotomi (134) ile oluşan plastisitenin artması bu olaya örnek olarak verilebilir. Bu örneklerdeki deneylerde (KAH veya duysal denervasyon) plastisitenin diğer farklı formu olan LTF' ye başkalaştığı görülmektedir.



Şekil 2.8. Solunumun motor kontrolünde modülasyon ve plastisitenin oluşumu. (A). Nöromodülatör aktifken (siyah çizgi) solunum motor çıktı cevabının yükselmesinin fasilitatör modülasyonunu göstermektedir. Nöromodülatör ortamdan uzaklaştırıldığında solunum aktivitesinin normal seviyesine döndüğü görülmektedir. (B). Plastisite solunum motor çıktı cevabında başlayan uyarılara daha çok dayanarak kalıcı bir artış oluşturduğu görülmektedir. (C). Metamodülasyon bir nöromodülatöre cevap (siyah çizgi) olarak oluşur. Fakat solunum çıktısı primer nöromodülatör kaldırıldığında solunum çıktısı hızla normal seviyesine döner. (D). Metaplastisite, plastisiteyi başlatan aynı stimulusun (siyah çizgi) artan plastisitesini gösterir (12).

Plastisite, solunum motor kontrolünün adaptasyonunun uzun süre kalıcı veya devamlı olması için faydalı bir mekanizmadır (140, 141). Hücresel ve sinaptik özelliklerdeki uzun dönemli fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler solunumun plastisitesinin temelini oluşturmaktadır. Daha önceki bölümde "solunum ritminin oluşması ve nöromodülasyonu" başlığı altında solunum ritim oluşumu ve oluşan bu ritim modelinin düzenlenmesi ve de nöromodülatör ve duysal nöronların solunum ritminin oluşmasındaki rolleri anlatılmıştı. Nöromodülatör nöronlar; projeksiyonlarını, sinaptik ve hücresel özelliklerin değişimine neden olan nöroaktif maddelerini solunumla bağlantılı diğer nöronlara etki ederek gösterirler. Nöromodülatörler hedeflerini etkinleştirerek veya plastisiteye neden olan hücresel/sinaptik olayları başlatarak

plastisite oluşumuna önayak olurlar. Diğer yandan nöromodülasyon kapasitesinin değişmesi, plastisitenin yeni ve potansiyel olarak önemli bir formunu tekrar sunmaktadır (127). Nöromodülatör sistem yukarıda da belirtildiği gibi solunum plastisitesinde, serotonerjik, noradrenerjik ve dopaminerjik sistemleri de içine alan belli modeller içinde kilit bir rol oynamaktadır.

Plastisite, solunumun kontrolü ile ilişkili veya periferik duysal reseptörlerdeki değişikliklerle etkilenen merkezi nöroanatomik bölgeler üzerinden kaynaklanan değişimlerle oluşabilmektedir. Mesela, KSH' ye maruz kalınması, karotid kemoafferent nöronların üzerindeki karotid organ reseptörlerini aktive eder. Daha sonra hipoksi süresinin uzamasıyla bu reseptörlerin merkezi nöral etkileşim üzerinde geciken etkileri daha belirgin aktivite sergilemeye başlar ve plastisite oluşumuna neden olur (5, 142, 143). KAH boyunca ise karotid organ reseptörlerine ek etkilerle, merkezi nöral mekanizmalar, oluşan plastisitenin artmasına neden olmaktadır (135, 144). Birbirini destekleyen bu her iki örnek, solunumsal plastisitenin, hem periferik hem de merkezi nöral bölgede olan değişikliklerle birden fazla merkezde gerçekleşebildiğini göstermektedir.

2.3.1. Solunumsal Plastisite Oluşumunda Potansiyel Mekanizmalar

2.3.1.1. Sinaptik Dirençteki Değişiklikler

2.3.1.1.1. Aktivite Bağımlı Sinaptik Plastisite

Aktivite bağımlı sinaptik plastisite, sinaptik transmisyonun, bu sinaptaki önceki aktivitesi nedeniyle, etkisinin değişmesi olarak tanımlanır. MSS' nin bir çok bölgesinde yüksek frekanslı aktiviteler, sinaptik transmisyonu saatlerce ve günlerce sürecektir bir şekilde artırır. Bu artış uzun süreli potansiyel (LTP) olarak tanımlanmaktadır (145-148). Bunun tersine, düşük frekanslı aktivite, sinaptik direnci dakikalar ve saatler içerisinde düşürebilir ve bu da uzun süreli depresyon (LTD) olarak tanımlanmaktadır (149, 150). Potansiyelin ve depresyonun uzun süreli formlarına karşın kısa süreli formları da sinaptik aktivite sonrasında gözlenmiştir (151-153). Böylelikle solunumun kontrol sistemi içerisinde gerçekleşen sinaptik aktivite, aktivite bağımlı sinaptik

plastisiteyi indükleyebilir olduğu halde plastisitenin genişliğinin ve yönünün, sinapsa ve içinde bulunduğu geçerli koşullara da bağlı olabildiği görülmektedir.

2.3.1.1.2. Nöromodülatörlerle İndüklenen Sinaptik Plastisite

Sinaptik plastisitenin en klasik modeli, *Aplysia*'daki (deniz tavşanı) sensorimotor sinapslar üzerinde oluşan fasilitasyondur (154-158). Bu deneysel model sisteminde, presinaptik terminal üzerine serotonin salınmasının, hücreler arası kaskadı başlattığı ve bir çok zaman aralığında sinaptik direnci arttırdığı görülmüştür. Serotonin bağımlı plastisite aynı zamanda solunumun motor kontrolü için önemli olsa bile hücresel ve/veya sinaptik mekanizmasının detayları farklı olabilmektedir. Norepinefrin (145, 159) veya BDNF proteini benzeri trofik faktörler gibi diğer nörokimyasallar da sinaptik plastisiteyi başlattığı veya düzenlenmesine yardımcı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (160-164).

2.3.1.1.3. Sessiz Sinaps Oluşumu

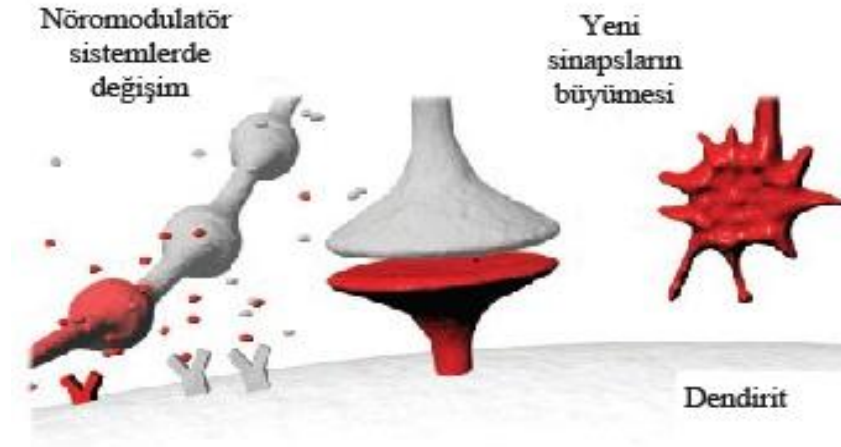
Bazı nöral sistemlerde, fonksiyonsuz sinaptik yollar bulunabilmektedir. Bu varolan fakat etkisiz sinaptik yollar, deneysel manipulasyonlarla veya hasarlanmayla sayıları arttırılabilmektedir (146, 165-169). Solunumun motor kontrolü içerisinde, frenik motor sinire etkisiz, çapraz spinal sinaptik yollar, serotonin reseptör aktivasyonu (170, 171), spinal hasarlanma (172-174) ve spinal duysal devervasyon (175) ile ortaya çıkarılabilir. Sessiz sinaptik yollar içerisinde plastisite, aktivite bağımsız veya nöromodülatör indükleyici sinaptik arttırıcılar için özel bir konu olarak çalışılmaktadır. Solunumdal plastisite oluşuma neden olan potansiyel mekanizmalar şekil 2.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Solunumsal plastisitenin potansiyel hücrel ve/veya sinaptik mekanizması. Her paneldeki plastisite oluşumu kırmızı ile gösterilmiştir. Sinaptik plastisite nöromodulatorlerden kaynaklı olarak başlayabilir (sol). İkinci olarak diğer sinaptik girdilerin kuvvetindeki değişiklikten kaynaklanabilir (orta). Üçüncü olarak da sessiz sinaps oluşumu anatomik olarak oluşabilir fakat fonksiyonel olarak aktif değildir (sağ) (12).

2.3.1.2. Nöromodulator Sistemdeki, Nöron Özelliklerindeki Değişiklikler ve Yeni Sinapsların Oluşumu

Solunum, her biri farklı fizyolojik koşullarda aktif olan ve her biri potansiyel olarak plastisite oluşumunu ortaya çıkaran bir çok inhibitör ve eksibitör nöromodulator sistemin etkisi altındadır. Nöromodulatorların konsantrasyon değişimleri; (1) kendi hedeflerinin yakınındaki nöromodulator nöronların aktivitesindeki değişimle, (2) sayısının ve nöromodulator terminalinin büyüklüğüyle, (3) nöromodulatorların salınmasıyla birlikte geri alınımıyla veya (4) sentez ve indirgemesi ile sonuçlanmaktadır. Herhangi bir modulator sistemin fonksiyonu aynı zamanda kendi presinaptik ve postsinaptik hedefindeki reseptör tipine, yoğunluğuna ve ayrıca hücrelerarası sinyal mekanizmasına bağlıdır. Bu faktörlerden herhangi birindeki değişiklik nöromodülasyonun hem plastisitesi hem de metamodülasyonundaki değişim ile sonuçlanır. Metamodülasyon üzerinden oluşan solunumla bağlantılı plastisite, serotonin bağımlı plastisiteyi (176), serotonin transport proteinin fonksiyonunun değişimi (177), serotonin indirgenme değişimi (178, 179) ve kronik spinal duysal denervasyonunu takiben serotonin bağımlı solunumsal plastisiteyi (134, 175, 180) içermektedir.



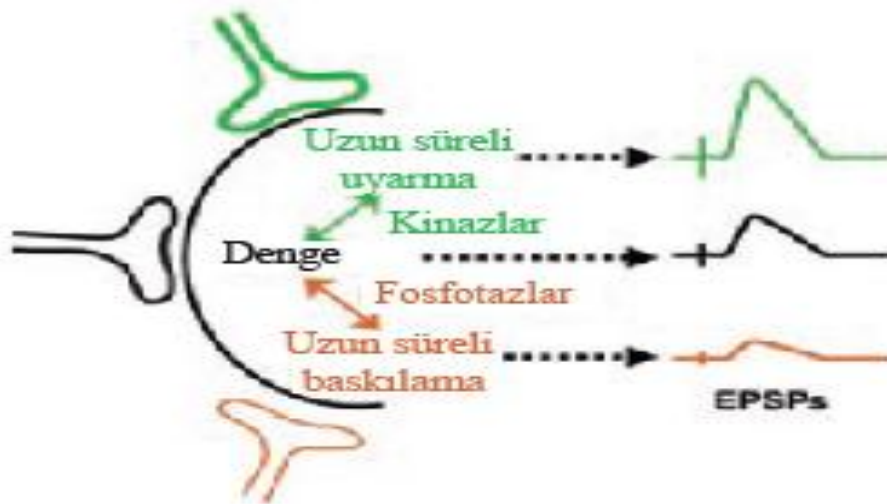
Şekil 2.10. Nöron özelliklerindeki değişimler. Modulator sistemin değişmesiyle nöron özelliklerindeki değişimler sonrası yeni sinapslar oluşabilir. Morfolojik değişiklikler ise solunumsal plastisitenin fonksiyonunun değişikliği altında yatan bir sebep olabilir (12). Nöronlar kendi fonksiyonel karakterizasyonlarını morfolojik plastisite, somata veya dendritlerinin büyüklük ve şeklini veya dendritik spin özelliklerini değiştirerek gösterirler (181-184). Elektrofizyolojik olarak, nöronlar kendi membran potansiyellerini, girdi direncini, kapasitansını ve aksiyon potansiyeli eşik değerini, membran kanalları veya postsinaptik resptörlerin ekspresyonundaki veya dağılımındaki değişiklikler ile değiştirebilmektedir (185-188).

Eksitator ve inhibitör sinapsların direnci, özellikle vücut gelişiminin erken evreleri boyunca mevcut nöronlar arasında yeni sinaptik bağlantıların oluşumuyla artabilmektedir. Yeni sinapsların büyümesi sinaptik aktivasyonla, deafferentasyon ve/veya nörotrofik faktörlerin ekspresyonunun artması ile tetiklenmektedir. Sinaptik budamanın, gelişim boyunca veya kök hücre implantasyonu gibi terapatik doku transplantasyonu sonrası, plastisitenin mekanizması için önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (189, 190). Şekil 2.10.' da nöron özelliklerine bağlı plastisite değişimi gösterilmiştir.

2.3.1.3. Modulator Balans

Modulator sistemdeki değişime verilen bir başka örnek de modulator sistemin değişik koşullara karşı bir balans içerisinde durmasıdır. Fasilitator ve inhibitör modulator balansın değişmesi ile tüm nöral ağ net fasilitasyona veya net inhibasyona geçebilir. Modulator balanstaki bu değişimlere örnek olarak aralıklı hipoksiye karşın

hiperkapninin oluşturduğu etkiler verilebilir. Serotonerjik ve nonadrenejik modölatör sistemin birbirleri ile ters etkileri, solunumun kontrol sisteminin verdiği farklı cevaplarla açıklanabilmektedir (145, 159). Şekil 2.11.' de gösterildiği üzere analog olarak sinaptik dirençte gerçekleşen bu değişiklikler, presinaptik ve postsinaptik kinazlar ve fosfatazların birbirleri ile olan fasilitatör etkilerinin balansından kaynaklanmaktadır. Bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, hipokampal sinapslarda LTD ve LTP arasındaki bu farkların, düşük uyarı frekanslarında fosfatazların ve yüksek frekanslı uyarılarda kinazların predominant etkisinden kaynaklandığı varsayılmaktadır. Oluşan bu depresyon ve potansiyel derecesinin, net fosforilasyon evresinden ortaya çıktığı bilinmektedir (191-193).



Şekil 2.11. Sinaptik balans. Sinaptik balans, sinaptik dirençteki akışı postsinaptik kinazların (fasilitatör) ve fosfatazların (inhibitör) etkisiyle değiştirebilir. Yeşil renk kinaz aktivitesi ile sağlanan etkiyle oluşan uzun süreli potansiyel aktiviteyi göstermektedir. Turuncu renk ise fosfataz aktivitesi ile sağlanan etkiyle oluşan uzun süreli depresyonu göstermektedir (12).

2.3.1.4. Nöral Ağdaki Değişimler

Hüresel ve/veya sinaptik özelliklerdeki değişimlere ek olarak solunumun kontrolüne hizmet eden nöral ağdaki değişimleri de göz önünde bulundurmak gereklidir. Bu özellikler, hüresel ve/veya sinaptik seviyede kolayca fark edilemediğinden plastisitenin mekanizması için yeni bir modeli tekrar sunabilmektedir. Plastisiteye neden olan karotid kemoafferent nöronlarını aktive eden bir uyarıdan sonra beyin sapı solunum

nöronlarının ana ateşleme değerinde de bir değişim olduğu ve büyük bir senkronizasyon sergiledikleri görülmüştür (194, 195). Artan bu senkronizasyon anlamlı olmasına rağmen açık bir şekilde henüz anlaşılamamıştır. Sabit temporal bir model içerisinde, aynı sayıda sinaptik potansiyel sunan girdilere göre senkronize olmuş sinaptik girdiler, daha büyük bir postsinaptik cevabı daha fazla tetikleyebildiği düşünülmektedir (196).

2.3.2. Plastisiteyi Başlatan ve Aracılık Eden Bazı Faktörler

Nöroplastisitenin bir çok modelinde, plastisiteyi başlatan faktörler aracılık eden faktörlerden farklıdır. Aracılık eden faktörler çoğunlukla hücrel kaskadların ve/veya sinaptik mekanizmaların farklı zaman aralıklarında aktive olmasından kaynaklanır. Plastisiteyi başlatan ortak faktörler (1) kalsiyum girişi ile ilgili nöral aktivite, (2) nöromodülatörler, (3) hasarlanma, (4) hipoksi/iskemi ve (5) nöral aktivite ile bağlantılı rastlantısal veya zamansal faktörlerin arasındaki özgün işbirliğini içermektedir. Hücrelerarası artan kalsiyum, kalsiyum bağlantılı kinaz ve fosfatazları aktive ederek kısa zamanlı ve uzun zamanlı plastisite ile sonuçlanan bir sinyal kaskadını tetiklediği görülmüştür (186, 188). Kısa zaman aralıklarında aktive olan kinazlar kovalent olarak, artan sinaptik transmiseye neden olan mevcut proteinlere modifiye (fosforilize) olmaktadır. Fakat uyarıların fazlalaşması, yeni protein sentezine veya protein yıkımının gecikmesini tetikleyerek daha uzun ömürlü plastisiteye neden olmaktadır. Yeni protein sentezi mRNA oluşturan translasyonun artmasından (ara zamanlı plastisite) veya artan transkripsiyon aktivitesinden (uzun süreli plastisite) kaynaklanabileceği düşünülmektedir (186). Oluşan bu yeni proteinler, kinazları, nörotrofik faktörleri, iskele proteinlerini, transkripsiyon faktörlerini ve adhezyon molekülleri gibi yapısal proteinleri içermektedir.

2.3.3. Solunumsal Plastisite Oluşumunun Deneysel Modelleri

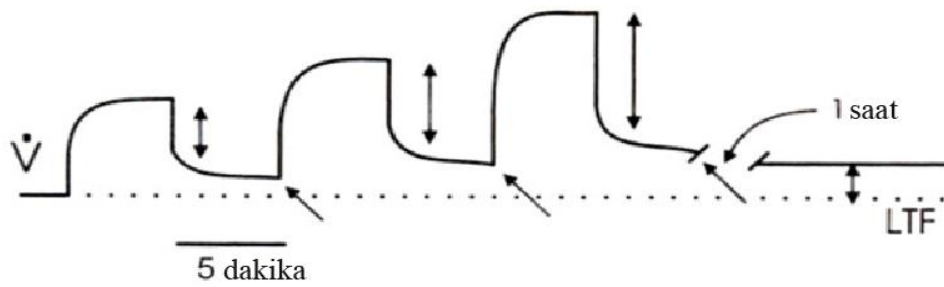
Plastisiteyi indükleyen deneysel bir model, solunum motor çıktısının genliğindeki ve zamanlamasındaki değişimlerin vücut içerisinde ölçülebilir olmasından dolayı oluşturulabilmekte ve bu değişimlerin fizyolojik ilişkisi solunum konusu içerisinde yorumlanabilmektedir. Solunumun kontrolü konusu içerisinde bugüne kadar yapılan deneysel modeller; hipoksi, hiperkapni, egzersiz, nöral hasarlanma veya yaralanma tarafından indüklenen, serotonin veya aktivite bağımlı, vücut gelişimi sırasında veya

farklı hava koşullarında oluşan plastisite durumları için tasarlanmıştır. Bu tez çalışmanın içerisinde yer alan deneysel modeller akut aralıklı ve kronik hipoksi/hiperkapni ve de serotonin/adenozin reseptör aktivasyonuna bağımlı solunumsal plastisite üzerine kurgulanmıştır. Hipoksi tarafından indüklenen solunumsal plastisite; hipoksiye ne sıklıkla (aralıklarla veya sürekli) ve ne kadar süre ile (zamana bağlı) maruz kalındığını göz önünde bulundurarak ventilasyonun bu duruma verdiği cevaplar yönünden farklılıklar içermektedir. Ayrıca hiperkapni, hipoksinin aksine solunumun fasilitasyonu yerine daha çok uzun süreli depresyonu ile ilişkilidir. Hiperkapni boyunca, solunum aktivitesinin ilk önce arttığı ve daha sonra hiperkapninin devam etmesiyle dereceli olarak düştüğü gözlenmiştir (197). Hiperkapni dakikalar veya saatler sonra sonlandığında, her iki hiperkapni modeli olan aralıklı ve sürekli hiperkapninin, uzun süreli depresyona neden olduğu bulunmuştur (145, 198). Hiperkapni tarafından indüklenen frenik depresyona α -2 adrenerjik reseptör aktivasyonundan kaynaklandığı da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (159).

Aralıklı hipoksi, solunumun merkezi nöral kontrolünde, plastisitenin özgül serotonin bağımlı mekanizmasının aktivasyonuna neden olmaktadır. Plastisitenin toplamda eşit süredeki sürekli hipoksi ile değil de aralıklı hipoksi nedeniyle oluşması, MSS' nin bu formasyonu için özgül olarak kabul edilir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar, aralıklı hipoksinin dakikalardan günlere kadar değişen farklı zaman süreçlerinde indüklediği plastisiteye (LTF) neden olan iki spesifik formunu ele almıştır. Bunlar; 1) 3-10 arasında değişen hipoksi epizodlarının sonucu olarak pLTF ve 2) KAH' ın bir sonucu olarak da pLTF oluşumundaki artmadır. Bu iki durumu öneren bir çalışma modeli, zaman süreçleri ve gen transkripsiyonu gereksinimleri farklı olmasına rağmen aynı sekans olayının başlatılması ile gerçekleşmektedir. Bu modeller, plastisitenin diğer nöral sistemleri için global olarak uygulanabilir ortak bir mekanizmasını sunmaktadır. Kısa zamanlı (dakika) hipoksi boyunca solunumun hipoksiye verdiği cevap en az 3 ayrı bölümden oluşmaktadır. Bunlardan ilki; akut cevaptır. İkincisi; kısa süreli potansiyalizasyon ve üçüncüsü de kısa süreli depresyondur (5, 10). Hipoksiye karşı verilen bu ventilatuar cevap, kısa süreli solunumsal (veya frenik) hipoksik cevabı oluşturur. Kısa zamanlı (5 dakika gibi) bir hipoksik periyota maruz kalındıktan sonra solunumsal motor aktivite 10-15 dakika içerisinde hipoksi öncesi durumuna geri

dönmekte olduğu gözlenmiştir (133). VAH sırasında gerçekleşen bu olaylar zinciri, aynı başlık adı altında ayrıntılı olarak bir sonraki bölümde anlatılmıştır.

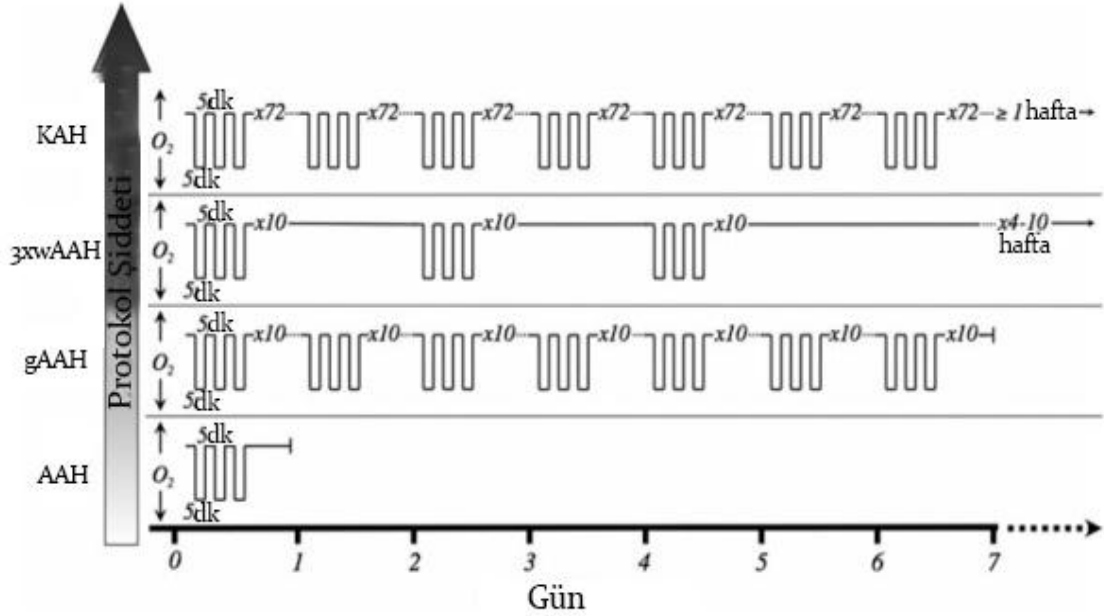
Diğer bir yandan şekil 2.12' de gösterildiği üzere, 5'er dakikalık aralıklarla oluşturulan ardışık hipoksik epizodlar solunum motor çıktısında, LTF oluşumunu refere eden uzun süreli (>1 saat) posthipoksik fasilitasyona neden olmaktadır. Farklı hipoksik süreçlerde veya hipoksiye maruz kalınan farklı modellerde, solunum ile ilişkili diğer mekanizmalar deneysel modellerle oluşturulabilmektedir (5, 10 ,15, 16).



Şekil 2.12. Epizodik hipoksiye maruz kalınması sonrasında ventilasyon artışı. Epizodik hipoksi boyunca ve sonrasında, ventilasyondaki artmayı (dikey oklar) ve uzun süreli fasilitasyonu (LTF) da içeren ventilasyonun hipoksiye cevabı gösterilmiştir (5).

AAH (3-10 hipoksi epizodu < 2 saat) nispeten daha kısa zaman aralıklarında spinal plastisiteye neden olmaktadır. Şekil 2.13.' de gösterildiği gibi AAH etkilerini uzatmak ve arttırmak için bir hafta boyunca her gün bir kez (günlük akut aralıklı hipoksi; gAAH) (199) veya 4-10 hafta içinde haftada üç kez (haftalık akut aralıklı hipoksi; wAAH) hipoksiye maruz kalınma şeklinde tekrarlayan AAH modelleri de kullanılmaktadır (200, 201). Optimal protokoller henüz bilinmemesine rağmen dAAH ve wAAH protokollerinin her birinin spinal plastisiteye neden olduğu gösterilmiştir. Bu protokollerin bariz olumsuz sonuçları gözardı edilirse, kronik spinal kord yaralanması veya hasaralanmasının tedavileri için kullanışlı olabileceği düşünülmektedir (202). Önemli araştırmalar, epizodların sıklığının günde yaklaşık 8-12 defa veya daha fazla gün ve aylarca süren aralıklı hipoksi protokolleri kullanarak, uyku sırasında görülen solunum bozukluklarının patofizyolojik sonuçlarının tedavisi için terapatik yöntemler geliştirmeye odaklanmıştır (203). Bu gibi KAH protokolleri, güçlü spinal plastisiteye neden olmasına rağmen (204) patofizyolojik etkilerinin spinal kord yaralanmaları gibi

durumlarda tedaviye yönelik bir araç olarak kullanılması açısından bazen uygun olamayacağı da görülmüştür. Aralıklı hipoksinin başka protokolleri olumsuz yan etkileri olmadan spinal plastisiteyi tetikleyebilmektedir.



Şekil 2.13. Aralıklı hipoksinin süresi ve yoğunluğundaki çeşitliliği gösteren deneysel protokoller. En sınırlı protokol olan akut aralıklı hipoksi (AAH) kısa zaman sürecinde LTF oluşumuna neden olur. Günlük AAH (gAAH) 7 gün içinde 10 kez hipoksi epizodunu içerir. 4-10 hafta içinde haftada 3 kez AAH (3xwAAH) günde 10 epizodu içerir. Bu tekrarlayan AAH protokolleri plastisiteye neden olan proteinlerin regülasyonu için kilit rol oynarlar. Aynı zamanda yoğunluğu 7-14 gün içinde günde 72 kez hipoksi epizodlarıyla oluşturulan kronik aralıklı hipoksi (KAH) plastisite ve metaplastisiteye neden olmaktadır (205).

Aralıklı hipoksi, uyku apnesi (206), prematüre apnesi (207), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (208), pulmoner fibrosis (209) ve nokturnal astım (210) gibi birçok klinik durumun sonuçları ile bağlantılı bozuklukların gelişmesine yol açabilir (144). Bu durumların her birinin ilgili klinik fenotipi, heterojen patofizyolojik süreçler olmasına rağmen güncel klinik ve deneysel kanıtlar, AH periyodlarına maruz kalmanın nörokognitif morbiditenin gelişimini desteklediğini savunmaktadır. AH geleneksel olarak, düşük arteriyel kan oksijen seviyesi ve daha sonra bunu reoksijenizasyonun takibi ile yinelenen olayların varlığıyla ilişkilendirilmektedir. AH etkilerinin daha iyi anlaşılması için hipoksi-reoksijenizasyon döngülerinin sıklığı ve süreci, hipoksik uyarının şiddeti ve son olarak da hipoksiye maruz kalınma süresi dikkatlice

tanımlanmalıdır. Şimdiye kadar kullanılan çeşitli AH protokollerinin karakterizasyonlarından geliştirilmiş, nöral hasarlanmaya karşı artan doku direnci (ön koşullanma), kardiyo-respiratuar fonksiyonları düzenleyen nöral mekanizmanın plastisitesi ve nöral hücre yaralanması ve ölümü gibi AH' nin protokole özgü ve farklı çıkan sonuçları, MSS üzerinde AH protokollerinin etkilerinin genellenmesini zorlaştırmaktadır (211-213).

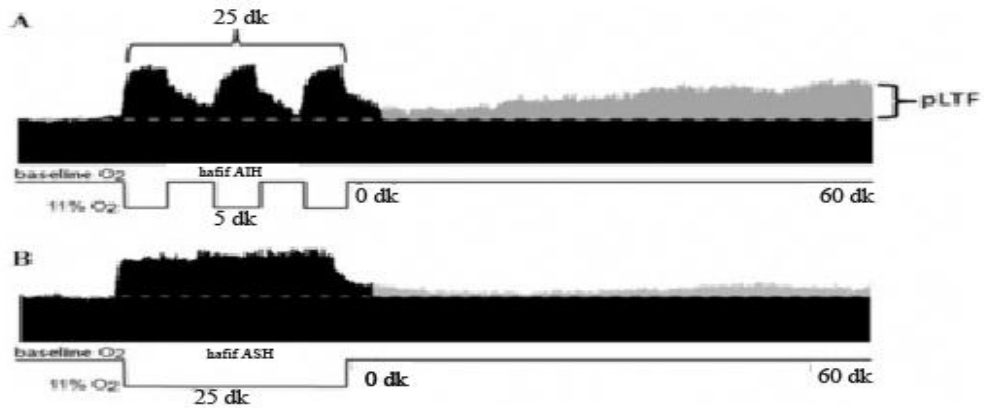
2.3.4. Uzun Süreli Fasilitasyon (LTF)

Solunumun kontrol sistemi, öncelikli olarak duysal reseptörlerin negatif geri bildirimleri üzerinden kontrol edilir (12). Fakat solunumun kontrol sistemi tek başına negatif geri bildirim ile kontrol edilse de uygun olmayan refleks artışları nedeniyle stabil olmayan bir durum sergileyebilir (214). Solunum yetmezliği gibi durumlarda bu negatif kontrol sistemlerinin bozulmasıyla oluşan solunumdaki düzensizliklerin dengelenmesinde vücut yeteri kadar başarılı olamamaktadır. Bu yüzden plastisite, solunumun kontrol sisteminde dahil olduğu sağlam ve homeostatik regülasyonu teşvik eden nöral sistemin kilit bir özelliği olarak işlev görmektedir (12). Plastisite solunumu kontrol eden, nöromusküler (215), kemoreseptör (216), spinal (205) ve beyin sapı (194) seviyelerinde tanımlanmıştır.

Solunumsal plastisitenin en iyi bilinen modeli; aralıklı hipoksiye, akut olarak maruz kalınmasının ardından hipoksiye karşı solunumum yanıtı olarak frenik motor sinir çıktısının genliğinin uzun bir süre (>1 saat) içerisindeki artışıdır. Genlikteki bu artışın pLTF olarak ifade edildiğini daha önce açıklanmıştır. AAH, klasik olarak arteriyel P_{O_2} ' nin 45-55 mmHg aralığında olan bir durumunu yansıtır (13, 217). LTF, aralıklı hipoksiye maruz kalındıktan sonra motor çıktı cevabının genliğinin kalıcı artışı ile karakterize edilir. Ayrıca LTF, AAH takiben normal koşullara dönülmesinin ardından 60 dakikadan daha fazla bir süreden sonra kademeli ve kalıcı olarak artmaktadır (132). AAH tarafından arttırılan tonik ve solunumsal modüle aktivitenin her ikisinde sempatik sinir sistemi içerisinde LTF oluşturur (218). Millhorn ve ark. anestezi altında, vagotomize, paralize edilmiş ve yapay olarak ventilasyonu sağlanmış kedilerde epizodik CSN stimülasyonunun frenik motor çıktı cevabının genliğinde uzun süreli bir artmaya neden olduğunu göstermiştir (7). Daha sonra aynı koşullar altında ratlarda (10) tekrarlayan CSN stimülasyonunun pLTF' ye neden olduğu ve kedilerde (9) inspiratuar

interkostal sinirde LTF oluşumu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan protokollerde 25Hz gibi yüksek sıklıkta CSN stimülasyonu uygulanmıştır. Bu da hipoksi boyunca karotid afferent sinir deşarj frekanslarının fizyolojik sınır aralığının çok üzerinde olduğu anlamına gelmektedir (219). Bu yüzden solunumsal LTF oluşumunu uyarmak için aralıklı hipoksinin kullanılması, fizyolojik olarak daha anlamlıdır. Mitchell ve ark. üç kez, beşer dakikalık hiperoksik (inspire edilen oksijen fraksiyonu; $Fi_{O_2}=0.50$) aralarla bölünmüş, beşer dakikalık hipoksik epizodları ile uyarılan, ürean anestezisi yapılmış, vagotomize, paralyze ve yapay olarak solunumu sağlanmış ratlarda, aralıklı hipoksik nöbetlerini uyaran olarak kullanarak pLTF ve hipoglossal sinir LTF oluşumunu ilk defa rapor etmişlerdir (217).

Şekil 2.14 (A)' da anestezi altındaki sıçanlarda üç kısa hipoksik epizodunu takiben pLTF oluşumu şematize edilmiştir (10, 217). AAH' yi takiben, son hipoksik epizodtan 60 dakika sonra frenik sinir genliğinde kalıcı bir artış olup pLTF, bu uzun süreli artışı ifade etmek için kullanılmıştır. pLTF oluşumuna akut sürekli hipoksinin (ASH) toplamda aynı süre içerisinde tek bir periyodu ile değil aralıklı hipoksi periyodları neden olduğu gösterilmiştir (13). Ayrıca beşer dakikalık hipoksi epizodları 30' ar dakikalık aralıklarla uygulandığında da LTF oluşumu uyarılmamıştır (133). AAH tarafından indüklenen solunumsal LTF oluşumu, bilinci açık, spontan nefes alan, serbestçe hareket eden hayvanlarda pletismograf ile dakikada yaptıkları ventilasyonları ölçülmüş ve bu durumda da vLTF oluşumunun AAH tarafından uyarılabildiği görülmüştür (211). Bugüne kadar vLTF, köpekler (17), keçiler (221), ördekler (237), tavşanlar (222), ratlar (223) ve fareler (224) üzerinde yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Bütün bu veriler birlikte ele alındığında spesifik zamansal bir model ile aralıklı hipoksi tarafından indüklenen pLTF ve vLTF oluşumu için zorunlu olduğu görülmüştür.



Şekil 2.14. Frenik uzun süreli fasilitasyonun oluşumunda kullanılan modelin duyarlılığı. pLTF hafif şiddetteki AAH ile ASH ile oluşmaz. (A) AAH nöbetlerinden 60 dakika sonra frenik sinir genliğinde artma olur. (B) Aynı süredeki ASH nöbetini takip eden 60. dakikada frenik sinir genliğinde çok az artma olur. Bu da LTF oluşumunun aralıklı hipoksi ile indüklendiğini göstermektedir (220).

İnsanlarda solunumun motor aktivitesinde LTF oluşumunu incelemek için yapılan ilk çalışmalarda, sağlıklı insanlarda on kez ikişer dakikalık izokapnik hipoksi periyotları (arteriyel oksijen satürasyonu; % 80-84) arasına iki dakikalık normoksik koşullarda (inspire edilen oksijen fraksiyonu; $FiO_2 = 0.21$) toparlanma süresi (veya reoksijenizasyon süresi) koyarak uyanık, bilinci yerinde sağlıklı gönüllülerde LTF oluşumu tanımlanmıştır (225, 226).

Buna benzer çalışmalarda kullanılan protokol ile dakikadaki ventilasyonla eş zamanlı olarak diyafragmatik aktivite veya genioglossus kas aktivitesi gözlemlenmiş ve LTF oluşumu görülmemiş ve de hipoksi süresinin dört dakikaya kadar artması da LTF oluşumuna neden olmamıştır (227, 228). Bu bulguların aksine solunumsal LTF oluşumu, uyuyan insanlarda, özellikle horlayan ve uyku boyunca inspiratuar hava akımı sınırlaması bulunan hastalarda kanıtlanmıştır (229, 230). Ayrıca obstruktif uyku apnesi (OSA) olan kişilerde de LTF oluşumu gözlenmiştir (231). Mateika ve ark. ise yaptıkları çalışmalarda, normal insanlarda solunumsal LTF oluşumunun AAH' yi takiben düşük plazma karbondioksit seviyesi ile sınırlandırıldığını bulmuşlardır (228). Bu çalışmada ise sonuç olarak hipoksi ile LTF oluşumunun olup olmadığını ve normal karbondioksit basıncının yaklaşık 5 mmHg yukarısında bir değerinde olmasıyla hiperkapni ile kendini göstermesini test etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda, karbondioksit normal

seviyesinin yukarısında sabitlendiğinde, solunumsal LTF oluşumu hem ventilasyonda hem de genioglossus kas aktivitesindeki artışa neden olmuş, sağlıklı erkek ve kadınlarda (232, 233) ve de bireyler arasında uyku apnesi (234) olanlarda kanıtlanmıştır.

2.3.4.1.Uzun Süreli Fasilitasyon (LTF) için Önerilen Moleküler Sinyal Mekanizması

Sistemik hipoksi periyodlarına (akciğer hastalıkları veya yüksek irtifada yaşayan yerliler gibi) maruz kalınması, primer olarak karotid organ içerisinde yer alan arteriyel kemoreseptörler aracılığı ile ventilasyonun hipoksiye verdiği cevap, vücudun ilk savunma hattıdır (235). Ventilasyonun hipoksiye verdiği cevabın net etkisi, hipoksiye maruz kalmanın modeli ve yoğunluğuna bağlı olan farklı mekanizmalar arasındaki etkileşimle gerçekleşmektedir. Hipoksik stimülasyonun modeline bağlı olan, ventilasyonun hipoksiye verdiği cevap, artan nörotransmitter salınımı gibi geçici sinaptik aktiviteyi değiştiren kısa zamanlı etkilerle sonuçlanır. Bunun yanında reseptör modifikasyonu ve yeni protein sentezinden kaynaklanan solunum kontrol devresindeki kimyasal sinapslardaki direncin değişmesi gibi uzun zamanlı etkilerle de sonuçlanır. Bu değişimler saniyelerden yıllara kadar sürebilen ventilasyonun ya fasilitasyonu ya da depresyonu ile sonuçlandığı görülmüştür (5). Bu gibi mekanizmaların solunumun ileri bir zamanda cevabını değiştirdiğinin öğrenilmesinden bu yana solunumun kontrol sistemi içerisinde nöroplastisiteye örnek olarak gösterilmişlerdir (12). Örneğin, aralıklı hipoksinin epizodları sonrasında, son stimülasyondan 90 dakika sonrasındaki tidal volümdeki artış, ventilasyonda LTF oluşumu ile sonuçlanır (5, 8, 132). Bu duruma alternatif olarak, günlerden aylara kadar süren kronik sürekli hipoksi durumunda, hipoksik stimulusun kalkmasının ardından solunum frekansı ile ventilasyonun arttığının görüldüğü VAH ile sonuçlandığı gösterilmiştir (5).

Hipoksemi ile solunumun hipoksiye verdiği cevap, aralıklı hipoksi ile uyku apnesinde oluşan LTF ve kronik hipoksemi ile obstruktif pulmoner hastalıklarda oluşan VAH gibi çeşitli plastisite mekanizmaları bu durumların farklı zamanlarının etkileri için bu konuya dahil edilmektedir. Solunumun hipoksiye verdiği cevabın, farklı zamanların etkileri; (1) hipoksik nöbetlerin modeli ve yoğunluğu, (2) ventilasyon cevabının zaman süreci (saniyelerden yıllara), (3) solunumun hipoksiye cevabının çeşitli fizyolojik bileşenler üzerinde stimülasyonunun etkisi (solunum frekansı ve tidal volüm), (4) bu

etkilerin ventilasyonu artırması veya azaltması ile sonuçlanması, (5) bu cevapları belirleyen nörokimyasalların gerekliliği daha önceki bölümlerde anlatılmıştır. Son yıllarda kayda değer çalışmalar, özellikle LTF oluşumunu açıklanmasına netlik getirmek için yapılmıştır. Ayrıca birden fazla sinyal yolağının ventilasyondaki aynı değişikliklere sebep olabileceği de net bir şekilde anlatılmıştır. Farklı mekanizmaların türlere göre farklı zamanlarda aktive olduğu veya ortadan kalktığı, deneysel preperasyonlarda ve bireylerde gösterilmiştir. Bundan dolayı farklı çalışmalar arasındaki sonuçları karşılaştırmaya çalışırken, nörokimyasal veya sinyal yolları açısından solunumsal cevabın verilmesi ve belli bir zaman aralığında tanımlanması belirsizliğe neden olabilmektedir. Bu ikilemi çözmek için bir çok moleküler ve hücresel mekanizmanın oluşmasına sebep olan hipoksik bir stimulusa verilen fizyolojik bir cevabın (HVR gibi) farklı zaman alanlarında tanımlarının yapılması gereklidir (236).

2.3.4.1.1.Serotonin bağımlı LTF Yolağı

Uyanık ve anestezi altındaki değişik hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda LTF, hem bazal ventilasyondaki artma hem de frenik sinir aktivitesi genliğinin artması olarak gözlenmiştir (15, 224, 237, 238). vLTF oluşumu uyku-uyanıklık durumlarına, türlere ve hipoksiyi indükleyen protokollere bağlıdır (4, 239). Yapılan çalışmalar vLTF oluşumunun genioglossal, hipoglossal ve interkostal motor cevapları ile frenik sinir cevabın oluşturduğu toplam plastisiteyi düşündürmektedir (9, 239, 240). LTF oluşumunun, nörokimyasal mekanizmasının tanımlanması için anestezi altındaki hayvan deneklerine ve frenik LTF oluşumuna odaklanılarak bir çok deney modeli tasarlanmıştır. Literatürde LTF oluşumu ilk kez tanımlanırken serotonin bağımlı bir mekanizma olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda LTF oluşumu için gereken hipoksik stimulus, aynı süredeki aralıklı epizodların toplamına karşılık gelen sürekli hipoksi ile değil aralıklı hipoksi sonrası olduğu da gösterilmiştir (241). Bugüne kadar serotonin tip 2A reseptör alt tipi (5-HT_{2A}R) aktivasyonunun aralıklı hipoksi sonrasında değil, aralıklı hipoksi boyunca solunumsal LTF ve frenik LTF için primer sinyal mekanizması olduğu düşünülmüştür (145, 242, 243). Deneysel çalışmalarda, genel 5-HT₂R antagonisti olan metiserjid (217) veya spesifik 5-HT_{2A}R antagonisti olan ketanserin (135, 244, 245) kullanarak 5-HT_{2A}R blokajı oluşturmuş ve aralıklı hipoksi tarafından indüklenen frenik LTF veya CSN stimülasyonunu önlediği görülmüştür. Aynı zamanda serotonin biyosentezinin enzim değerini sınırlamak için kullanılan triptofan hidroksilaz

girdinin sensitivitesini yükseltmek için glutamat reseptörlerinin, postsinaptik membrana eklenmesini ve/veya fosforillenmesini de içerir (252-254). 5-HT_{2A} reseptörlerinin epizodik aktivasyonları, spinal kord içerisindeki frenik motor nöronların yakınında beyinden salgılanan nörotrofik faktörün (BDNF) sentezine yol açar. Bunu destekleyen kanıtlar, tek bir intratekal BDNF enjeksiyonu uygulamasının hipoksik bir stimulus olmadan LTF oluşumunu indüklediğini göstermiştir. Ayrıca BDNF translasyonunun ve protein sentezinin RNA interferaz ile bloklanması gibi uygulamalarla hipoksi tarafından indüklenen LTF' i ortadan kaldırdığı ileri sürülmüştür (251). BDNF uyarılması, yüksek afiniteli BDNF reseptörü olan tirozin kinazları (TrkB; tropomiyozin reseptör kinaz B) aktive eder ve bu da ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlar olan MAP kinaz 1 ve 2' nin (ERK1/2) aktive olmasıyla sonuçlanır (199, 251, 255).

ERK1/2 diğer sistemlerde glutamaterjik reseptör fosforilasyonunu ve/veya postsinaptik membran yoğunluğunu düzenler ve bu da muhtemelen frenik LTF oluşumu ile sonuçlanır (135, 245, 256). Aralıklı hipoksiye maruz kalınması, LTF oluşumunu indüklemek için gerekli olmasına rağmen çok miktarda BDNF enjeksiyonu, LTF' i aktive etmesi için yeterli olması da ilginç bir durumdur. LTF' in aktivasyonu ve solunumsal kontrol sisteminin hipoksiye maruz kalınma modellerini birbirinden nasıl ayırt ettiğiyle ilgili bu soru oldukça önemlidir. Belki de aralıklı hipoksinin ilk nöbeti ile BDNF sentezindeki artma veya sürekli hipoksinin başlaması, LTF oluşumunu indüklemek için yeterli değildir. Fakat çok sayıda hipoksik kısa nöbetlerin BDNF sentezini arttırması, bu durumdan farklı olarak LTF oluşumuna nasıl neden olduğu halen bilinmemektedir (160, 161, 251).

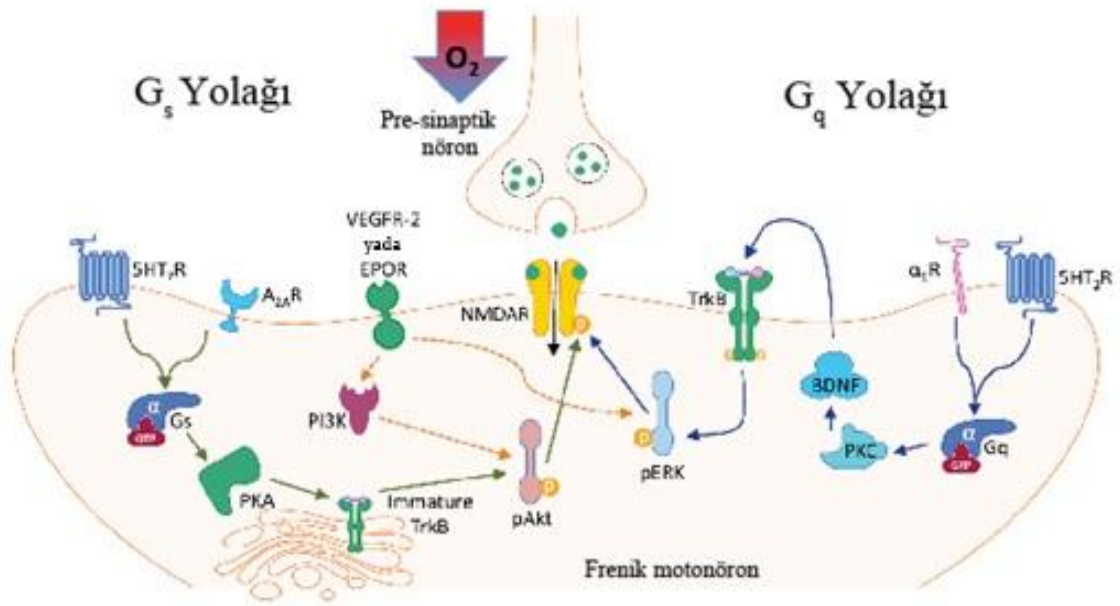
Akut aralıklı hipoksi durumdan farklı olarak kronik aralıklı hipoksi ile artan frenik LTF, hipoksik stimulus ile hem yükselmiş karotid organ kemoreseptör cevabını (duysal LTF) ve hem de solunumsal hipoksik cevaba MSS' nin kazancının artmasını içerir (257). Kronik aralıklı hipoksi, LTF yolağına aracılık eden yeni protein sentezine ve frenik LTF' in artmasını indükler (135, 257). Kronik aralıklı hipoksi sonrası oluşan frenik LTF oluşumunda akut aralıklı hipoksidede olduğu gibi 5-HT_{2A} reseptörlerinin aktivasyonuna bağlıdır. Fakat kronik aralıklı hipoksidede frenik LTF' deki artış akut aralıklı hipoksi ile kıyaslandığında 5-HT_{2A} reseptörlerinin farklı alt tiplerinin merkezi (karotid organ ile kıyaslırsak) etkisiyle olduğu görülmektedir. Bu bulgu LTF oluşumunun birçok mekanizma ile düzenlendiğinin kanıtıdır (135). LTF oluşum mekanizması solunumsal

motor nöronlar üzerindeki sinapslarda henüz kesin olarak ispat edilememiştir ve hücresel eksitabilite, internöronlar veya glia hücreleri üzerindeki değişimlerin potansiyel rolleri de tam olarak anlaşılamamıştır.

2.3.4.1.2. Serotoninden bağımsız LTF Yolağı

LTF oluşumunun indüklenmesi ile ilgili serotoninden bağımsız mekanizmalar da ileri sürülmüştür. Yapılan bir araştırmada α 1-adrenerjik reseptörlerinin aktivasyonu frenik LTF' i, ERK'lar yerine protein kinaz B (PKB veya Akt) aracılığıyla olan bir yolak üzerinden de indükleyebildiğini saptanmıştır (258, 259). İlginç olarak α 1-adrenerjik ve 5-HT reseptörlerinin herikisinin de G proteinleri sınıfından olan ve fosfolipaz C' nin (260) aktivasyonu ile bağlantılı metabotropik reseptör çifti Gq-proteinlerine bağlanmaktadır. Bu iki tip reseptör ortak bir yolda birleşmekte ve LTF oluşumunda beraber yer almaktadır. Yukarıda da tanımlanan serotononin bağımlı bu mekanizmanın yolağı "Q" yolağı olarak adlandırılmıştır (20). Ayrıca adenosin tip 2A ($A_{2A}R$) (261, 262) ve 5-HT₇R (262, 263)reseptörleri aracılığı ile frenik LTF oluşumuna duyarlı olan bir başka sinyal yolağı da tanımlanmıştır. $A_{2A}R$ ' leri, metabotropik reseptör çifti Gs protein bağlantılı olduğu için bu yolak "S yolağı" olarak adlandırılmıştır. Gs proteinin aktivasyonu, adenilat siklaz, siklik adenosin monofosfat (siklik AMP) ve protein kinaz A' yı (PKA) aktive etmektedir (20). Gs yolağını kullanan ve aynı zamanda frenik LTF oluşumunu indükleyen 5-HT₇ reseptörlerinin incelenmesi Gs sinyalinin daha yaygın bir role sahip olduğunu göstermiştir (263).

Kronik aralıklı hipoksi ile birlikte frenik LTF' de artmanın gözlenmesi 5-HT₇ reseptörlerinin kilit bir rol oynadığını göstermektedir. S yolağı, BDNF sentezinden bağımsız olarak endoplazmik retikulumdan yeni sentezlenmiş tirozin kinaz reseptörü B (iTrkB) aktivasyonunu içerir. Bu yolak ERK' larin aktivasyonuna gerek kalmadan Şekil 2' de gösterildiği üzere PI3K (fosfatidil inositol 3-kinaz)/Akt aktivasyonu sayesinde ilerler. $A_{2A}R$ ile indüklenen frenik LTF oluşumu otodimerize, oto-fosforilize ve frenik motor nöronlara sinyal sağlayan yeni iTrkB izoformlarının sentezlemesini gerektirir. İntraselüler iTrkB aktive olduğunda PI3kinaz aktivasyonu Akt fosforilasyonunu arttırarak LTF oluşumuna neden olur (261).



Şekil 2.16. A_{2A} / 5-HT₇ reseptörlerinin reseptör aktivasyonu ile LTF oluşumu. G_q yolağı (mavi oklar) Şekil 2.15' de anlatılmıştır. Fakat aynı zamanda bu yolak al-adrenerjik reseptörleri (α₁R) ve G_s yolağından daha az şiddetli hipoksida aktive olabilir. G_s yolağı (yeşil oklar) adenosin tip 2_A reseptörleri (A_{2A}R) veya serotonin tip 7 (5-HT₇) reseptörlerinin aktivasyonu ile indüklenir. G_s sinyali, protein kinaz A (PKA)' yı aktive ederek immature TrkB (iTrkB) stimüle eder ve fosfo-protein kinaz B (pAkt) modüle edilmesini sağlar. Diğer sistemler glutamaterjik N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDARs) fosforilize eder ve presinaptik glutamat salınımını duyarlılığını artırır. Buna ek yollar (sarı oklar) vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) veya eritropoietin reseptörü (EPOR) ile aktive olan fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) ve pAkt ve belki de pERK üzerinden LTF oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (236).

Hipoksinin merkezi sinir sistemi içerisinde nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden adenosintrifosfat (ATP), adenosin ve/veya adenin nükleotid salınımını da indüklediğini gösteren çalışmaların yanında (264-267) adenosin salınımını azalttığı da rapor edilmiştir (268, 269). Ekstraselüler ATP' nin arttığını bildiren çalışmalarda, ATP' nin ektonükleotidazlarla adenosine dönüştüğü ve ekstraselüler adenosin konsantrasyonunu artırdığı rapor edilmiştir (270). Bu durumda şiddetli hipoksiye (PaO₂= 25-30 mmHg) maruz kalınması potansiyel olarak nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden daha çok ATP/adenosin salınımını arttıracak için, plastisite oluşumunda serotonin bağımlı LTF yolağı yerine adenosin bağımlı mekanizma kullanılmaktadır. Solunumun hipoksiye verdiği cevap için bu iki G protein mekanizmasının fizyolojik önemi, farklı

seviyelerdeki hipoksinin farklı yollar üzerinden LTF oluşumunu indüklemesidir. Daha şiddetli hipoksi epizodlarının (Pa_{O_2} =25-30 mmHg) tercihen S yolağını indüklediği ve buna karşın orta şiddetli hipoksiepizodlarının ise (Pa_{O_2} = 45-55 mmHg) Q yolağını indüklediği gösterilmiştir (25, 236).

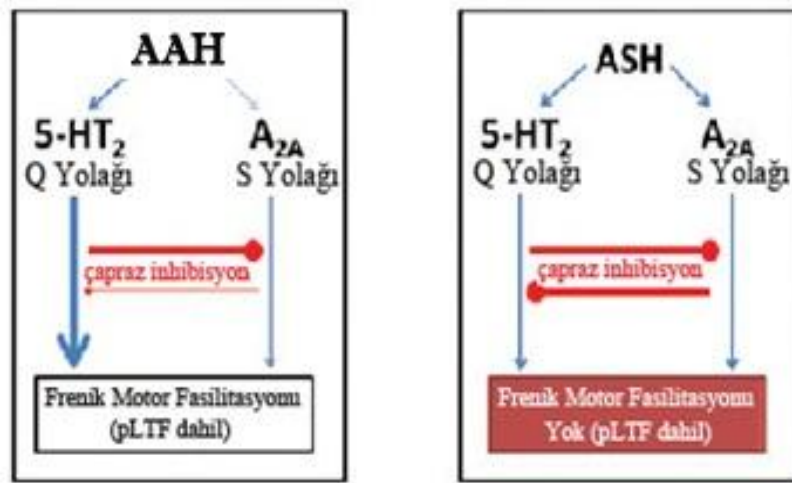
S ve Q yolları aralıklı hipoksi ile aynı anda başlatılabilir fakat birbirlerine sınırlama eğilimi göstererek sadece bir yolak LTF oluşumunu ve artmasını sağlar (20, 262). Bu etkileşim solunum dışında diğer sistemler içerisinde tanımlanmış çapraz cevaplı inhibisyon mekanizmaları üzerinden birbirlerine müdahale eden Gs ve Gq proteinlerine özgüdür (271).

LTF' nin dışında Q ve S yolları, her iki duyuşal ve motor sisteme aracılık eden çeşitli solunum ve solunum dışı devreler için önemli modölatörlerdir. Örneğin Gs yolağı; sempatik yolla kalp hızının ve kardiyak pacemaker hücrelerinin vagal sinir beta-adrenerjik girdilerinin düzenlenmesinde (272), REM uykusu boyunca solunumun kontrolünün baskılanmasında (273), ağrı ve motor kontrolde önemli bir rol oynayan inhibitor glisin reseptörlerinin duyarlılığı gibi birçok süreçten sorumludur (274, 275). Benzer olarak motor kontrolün koordinasyonu içerisinde, purkinje hücre sinyali Q yolağı ve diğer G protein reseptörleri arasındaki etkileşim aracılık ederken (276), Q yolağı genç ratların beyin sapında solunumun kontrolü için solunum ritminin oluşumundan sorumludur (277). Bu yüzden LTF içindeki bu yolların rollerinin anlaşılması için diğer alanlardaki çalışmaların sonuçlarına ihtiyaç olacaktır.

2.3.4.1.3. Q ve S Yolları Arasında Çapraz Cevap İnhibisyonu

Şiddetli AAH boyunca LTF oluşumu değişerek S yolağına bağımlı olmasına rağmen bu değişimin nasıl meydana geldiği hala anlaşılamamıştır (25). Yapılan çalışmalarla, yollar arasındaki bu çapraz cevap inhibisyonu bir yolağın üstünlük kazanmasına izin verdiğini ve böylece LTF' in oluştuğunu hipotez olarak sunmuştur. Uyarıyı başlatan güç (5-HT₂ veya A_{2A} reseptör aktivasyonu) burada kilit faktördür. Şiddetli hipoksi boyunca büyük ölçüde adenozin oluşumu veya birikmesi A_{2A} reseptör aktivasyonunu artırarak güçlü S yolağı aktivasyonunu oluşturur ve daha sonra Q yolağı baskılanır. LTF için geçerli mekanizma, yolların baskınlığı arasındaki yarışma ile sonuçlanmaktadır. Hipoksinin bazı seviyelerinde (şiddeti, süresi) inhibitör etkileşimler S veya Q

yolaklarının birinin diğerini dengelemesi ile LTF oluşturmaz ve bu da LTF oluşumunun duyarlılığıyla mümkün olmaktadır. ASH gibi uzun süreli hipoksiye maruz kalınma durumlarında büyük ölçüde adenosin oluşumu veya birikimi Q ve S yolaklarının dengelenmiş aktivasyonuna neden olarak, LTF oluşumunu engelleyebileceği düşünülmektedir (278). Ayrıca hiperkapni boyunca artan serotonin salınımı, dengeyi sağlamak için Q yolağı yönüne kaymış ve vLTF ekspirasyonuna neden olduğu da yapılan başka çalışmalarda gösterilmiştir (279).



Şekil 2.17. Hipoksi şiddetine ve modeline bağlı olarak LTF oluşumuna yol açan Q ve S yolakları arasındaki çapraz cevaplı inhibitör etkileşimler. AAH boyunca serotonin reseptör aktivasyonu ile Q yolağı baskın olması adenosin birikiminin az olmasından kaynaklanmaktadır (sol). ASH boyunca ise çok miktardaki adenosin salınımı veya birikmesiyle S yolağı aktive olur ve Q yolağı aktivasyonunu baskılar (sağ). Dengelenmiş çapraz cevap inhibisyonu ile her iki yolağın aktivasyonu AAH sonrasında LTF' i sağlar fakat ASH boyunca her iki yolakda LTF oluşumu gözlenmez (220).

2.3.4.1.4. Diğer LTF Yolakları

NMDA reseptörleri de LTF oluşumunu indüklemek ve oluşumuna aracılık etmek için gereklidir. Solunum aktivasyon enerjisinin sinaptik transmisyonu için premotor nöronlardan major solunum motor nöronlarına kadar (frenik, hipoglossal ve interkostal) hepsi nörotransmitter olarak glutamati kullanır ve NMDA ile non-NMDA reseptörlerine aracılık etmektedir (280). NMDA reseptör antagonisti MK-801' in mikroenjeksiyonla uygulanması (frenik motor nükleus bölgesine) AAH ile indüklenen frenik LTF oluşumunu engellemiştir (281). Bu çalışmaya ek olarak uyanık ratlarda AAH tarafından

indüklenen vLTF' e non-NMDA değil de, NMDA iyonotropik glutamat reseptörlerinin LTF' nin hem formasyonunu ve hem de korunmasını sağlamak için gerekli olduğu gösterilmiştir (282). LTF oluşumunda iki farklı büyüme/trofik faktörü olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) (283) ve eritropoietinde (EPO) (284) yer almaktadır. Bu iki molekül aracılı sinyal mekanizmalarının aktivasyonu ERK ve Akt sinyallerinin etkileşimi ile gerçekleşmektedir (285, 286). VEGF ve EPO reseptörlerinin sentezine yol açan hipoksiye duyarlı genler uzun zaman süreçlerinde frenik motor sinirin plastisitesini mümkün kılabilir. Örneğin kronik aralıklı hipoksi veya kronik sürekli hipoksi boyunca frenik motor sinir aktivitesinin fasilitasyonunda VEGF ve EPO' nun rol oynadığı görülmektedir (283-286).

2.4. KEMOSENSİTİVİTE

Solunum aktivitesi, kanın O_2 , CO_2 ve pH seviyeleri hakkında temel bilgiler sağlayan kemoreseptörlerden gelen uyarılara bağlıdır. Homeostazı korumak için her zaman ve çeşitli koşullara karşı uygun Pa_{O_2} ve Pa_{CO_2} seviyelerinin korunması gerekmektedir (287). Solunum sistemi havadaki O_2 ' ni inspire edip ve metabolik artık olan CO_2 ' i ekspire ederek, ventilasyondaki değişimle bu değişkenleri sürekli kontrol altında tutmaktadır. Vücut içerisinde CO_2 ve suyun bağlanma reaksiyonu ile karbonik asit formuna dönüşmesi, Pa_{CO_2} seviyesini arttırarak direkt olarak arteriyel pH' ya etki eder. Bu olay düzenlenmezse normal koşullardaki protein bağlanması üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır (288). O_2 duyarlı kemoreseptörler, beynin dışında karotid organ üzerinde yer almaktadır. CO_2 /pH duyarlı kemoreseptörler de karotid organ üzerinde yer alır fakat büyük çoğunluğu beynin içerisinde yerleşmişlerdir ve merkezi kemoreseptörler olarak tanımlanırlar. CO_2 /pH sinyalleri, kanın ve beynin asit-baz durumu ile bağlantılıdır ve metabolizmayla bağlantılı solunumun yeterliliğini yansıtır. CO_2 /pH değerlerindeki küçük değişimler solunumu etkilemektedir. Beyin lokasyonlarının bir çok bölgesindeki nöronlar, CO_2 /pH aracılığıyla in vitro olarak uyarılabilir veya inhibe edilebilmektedir. Fakat nöral kemosensitivite ile solunum arasında in vivo olarak bağlantı kurmak oldukça zordur (289). Bunlar, bu tip nöronları içermesinin yanında komşu bölgeler ile üst üste gelerek fonksiyonları bütünleştirir veya solunum ritim ve model oluşumuna katılırlar. Bu da deneysel olarak çalışılmalarını zorlaştırmaktadır (28).

İntraselüler ve ekstraselüler pH' nın her ikisinde merkezi kemoresepsiyona, uyarıcı olarak hizmet eder. İntraselüler pH, LC ve medullar rafenin nöronlarına daha duyarlıken (290-292) ekstraselüler pH, solunumu düzenleyen nöronlara daha duyarlıdır (293). pH duyarlı proteinleri içinde bulunduran bir çok kemoresptör lokasyonu; TASK kanallarını (292, 293), düşük dirençli gap junctionları (294, 295), kalsiyumu hücre içine yönlendirici K^+ kanallarını (296) ve intraselüler pH değişimlerinin derecesini ve zamanlamasını değiştirerek kemosenitiviteyi etkileyen Na^+/H^+ değiştirici protein alt tipi 3 (NHE3) gibi pH duyarlı membran iyon taşıyıcı proteinlerini (297, 298) içermektedir. Ayrıca birden fazla pH duyarlı fonksiyon, aynı anda işlev görebilmektedir. Kısacası, periferel ve merkezi kemoreseptör sistemi arteriyel kanda O_2 , CO_2 ve pH değişikliğine duyarlıdır ve solunumun değişmesi bu önemli kan gazı parametrelerinin sabit değerlerde tutulmasına aracılık etmektedir. Aşağıda periferel ve merkezi kemoreseptör sistemlerinin, solunumun kontrolüne etkileri ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

2.4.1. Periferel Kemoreseptör Sistemi

Periferel kemoreseptörler; aortik ve karotid organ kemoreseptörlerini içermektedir. Bir çok fizyolojik koşul altında, karotid organ kemoreseptörleri en önemli ve üzerinde en çok tartışılan reseptör tiplerinden biri olmuştur. Karotid organ hem kardiyovasküler hem de solunum kemorefleksi oluşumuna aracılık etmektedir. Arteriyel Pa_{O_2} , Pa_{CO_2} ve pH değişiklikleri karotid organ tarafından algılanmaktadır. Afferent bilgi, CSN aracılığı ile beyin sapına iletilir ve daha sonra solunumdan sorumlu diğer bölgelerle entegre olarak ventilasyonun düzenlenmesine yardımcı olurlar. Pa_{O_2} ve pH' ın normal seviyesinin altına düşmesi ve Pa_{CO_2} ' nin yükselmesi, ventilasyonun stimülasyonuna neden olan dinamik değişkenlerdir. Karotid organ Pa_{O_2} ' nın ana sensörüdür ve bunun yanında Pa_{CO_2} ve pH, merkezi kemoreseptörlere duyarlıdır. Karotid organlar, ortak karotid arterin çatallanma yerinde bilateral olarak lokalize olmuştur. Karotid organ kemoresptörleri, nöral glial ve vasküler hücrelerle birlikte bağ dokusu ile paketlenmiş bir halde bulunur. Karotid organlar oldukça vaskülarize olmuştur ve büyüklüğü gözönünde bulundurulduğunda vücut içerisindeki diğer tüm organlara göre dakikada, kilogram başına 1.5 ile 2 litre arasında değişen en yüksek kan akımına maruz kalan organdır (299, 300). Bu da karotid organların Pa_{O_2} , Pa_{CO_2} ve pH' nın sistemik değişimlere duyarlı olmasına izin vermektedir. Karotid organ tip 1 glomus hücreleri, depolarize olarak

uyarıldığında ve karotid sinus afferent sinir fiberleri aktif hale geldiğinde elektriksel olarak uyarılmaktadır. İlginç olarak glomus hücreleri ve karotid sinus afferentleri arasındaki eksitator nörotransmitterler halen tam olarak tespit edilebilmiş değildir (301).

Hipoksi, membran potasyum kanal aktivitesinin inhibasyonu sayesinde algılanmaktadır. O_2 ve iyon kanallarının arasındaki direkt etkileşim ve O_2 duyarlı moleküllerle olan indirekt modülasyonun her ikisi de hipoksik koşulun nasıl algılandığının açıklanması için hipotez olarak sunulmuştur. Karotid organların normoksik koşullar (Pa_{O_2} = 90-100 mmHg) altında tonik bir çıktı cevabı sağladığı ve sadece hipoksinin orta şiddetteki (Pa_{O_2} =50-60 mmHg) seviyelerinde aktive olmaya başladığı bulunmuştur (302). Böylece yapılan gözlemler, Pa_{CO_2} 'deki küçük değişimlerin ve Pa_{O_2} 'de orta şiddetteki düşmenin, sırasıyla, hiperkapniye ve hipoksiye ventilasyonun cevap oluşturması için yeterli olduğunu göstermektedir.

2.4.2. Merkezi Kemoreseptör Sistemi

Karotid organ kemoreseptörlerine ek olarak, beyin sapı Pa_{CO_2} değişimlerine duyarlı hücreleri de içerir. Merkezi solunum kemorefleksi, MSS' nin asidifikasyonu ile solunumun stimüle edilmesi olarak da tanımlanabilir (303). Bu konu hakkındaki ilk öneri, anestezi altındaki köpeklerin (304) ve uyanık haldeki keçilerin (305, 306) serebral ventrikülleri içerisine asidik sıvılar perfüze edilerek, beyin sapının CO_2 'ye duyarlı olup olmadığının araştırılması ile ortaya atılmıştır. Yapılan çalışmalarla, ventrolateral medullanın (VLM) subaraknoid bölgesinin asitlenmesi, ventilasyonda büyük bir artışa neden olmuş ve böylelikle beyin sapı kemosensitivitesi için ventral medullar yüzeyin önemi vurgulanmıştır. Kaudal VLM (Mitchell' in alanı) içerisindeki ve rostral VLM (Loeschke' nin alanı) içerisindeki kemosensitif bölgeler üzerinde yapılan çalışmalarla da bu kemosensitif bölgelerin lokasyonları daha çok aydınlatılmaya çalışılmıştır (307-309). Bu iki alan arasındaki ara bölgenin de (Schlaefke' nin alanı) kemosensitif olduğuna dair bir kanıt ulaşılmamasına rağmen, bu alanının soğutulmasının, solunumu ve kemosensitiviteyi baskıladığı görülmüştür (308, 310, 311). Bu bölgeler üzerinde daha sonra yapılan çalışmalarda ise kemosensitif alanın VLM üzerinde, 800 μm ' lik bir kısmında, RTN üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir (312, 313). RTN bölgesinden başka, varsayılan beyin sapı kemoreseptör alanları aşağıda tanımlanmış ve kanıtları tartışılmıştır.

Vücuttaki bir çok hücre CO_2 molekülü veya H^+ iyonuna yanıt verir. Kemosensitif nöronların sinyal aktivasyonunun CO_2 ' in kendisinden kaynaklandığı düşünülüyor olsa da, intraselüler veya ekstraselüler olarak algılanan H^+ iyonları veya bikarbonat iyonlarının hücresel aktivasyonu nasıl sağladığı da halen tam olarak bilinmemektedir. Bu durum tartışmalı olmasına rağmen, bu uyaranların hepsinin kemosenitivasyonda rol oynayabildiği düşünülmektedir. Bazı kanıtlar hiperkapninin, pH duyarlı K^+ kanallarını inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca merkezi kemosenitivitenin spesifik kanal alt tipleriyle bağlantılı olduğu düşünülse de kesin olarak aydınlatılamamıştır. Putman ve ark. merkezi kemosenitif sinyallerin, CO_2/H^+ iyonlarına nöral cevap veren bir çok hücresel sinyal ve iyon kanalı hedefi içeren çoklu faktör teorisini öngörmüştür (314). Merkezi bir kemoreseptörün, gerçektende kemoreseptör olduğunun kabul edilebilir olması için CO_2/H^+ duyarlı hücrelerin solunumu etkilediğini yansıtmalı ve stimüle edilirken ventilasyonda değişiklik yapmalıdır. Bir hücrenin merkezi kemoreseptör olduğunu ispatlamak kesinlikle zordur. Fakat bir hücrenin kemoreseptör olduğunun kabul edilmesi için bir kaç koşulu sağlaması gerektiği araştırmacılar tarafından önerilmiştir (314). Buna göre; ilk olarak, CO_2/H^+ değişimlerine göre hücrenin ateşleme derecesinin de değişmesi gerektiği, ikinci olarak da bu değişimlerin sinaptik çıktıdan bağımsız olarak oluşması ve son olarak da hücreler fokal olarak asidifiye olurken ventilasyonda değişime sebep olan bölgeler içerisinde bulunması gerektiği önerilmiştir. Bu koşulları sağlayan kemoreseptif nöronlar, beyin kesitleri üzerinde; RTN (313, 315), medullar raphe (316), NTS (317), lokus koeruleus (318) ve NA (319) muhtemel bölgeleri içerisinde bulunmuştur. Bütün bu deneylerde sinaptik blokaj için girişimde bulunulmamış ve intrinsik kemosenitivite de kesin olarak kanıtlanmamıştır. Bunun sebebinin ise, gap junctionların elektriksel bağlantısı ve kimyasal nörotransmisyonun artıkları, ihtimal olarak bazı nöronların CO_2/H^+ cevabını etkilemiş olabileceği olarak düşünülmüştür.

Daha sonra yapılan çalışmaların sonucunda, tahmini kemoreseptör alanlar için in vitro olarak yapılan deneylerle elde edilen kanıtlar, fokal olarak asidifiye olan kemoreseptör alanları gerçektende belirlemiştir. Fokal asidifikasyon için karbonik anhidraz inhibitörünün, asetazolamid mikroenjeksiyonu ve %25' lik CO_2 ile dengelenmiş bir solüsyonun mikrodializi ile iki farklı yöntem kullanılmıştır. Anestezi edilmiş ratlarda (312, 320, 321) ve kedilerde (312, 322), RTN, NTS, LC, orta hat raphe ve fastigial

nükleiyi de içeren ventral medulla üzerinde asetazolamid ile asidifikasyon uygulaması frenik sinir aktivitesinde artmaya neden olduğu görülmüştür. Uyanık durumdaki hayvanlarda da RTN, medullar raphe ve NTS üzerine, CO₂ mikrodializ yöntemiyle stimülasyonunun da, solunumda bir artmaya neden olduğu görülmüştür (323-325). Bu bölgelere ek olarak, solunum ritminin oluşmasından sorumlu preBötzinger kompleksi alanı içerisinde de CO₂ duyarlı hücrelerin olduğuna dair kanıtlar vardır (326). Fokal asidifikasyon çalışmaları, benzer kemoreseptör alanları in vitro çalışmalarla tanımlamış fakat potansiyel olarak kompleks bir organizasyonu ve bu alanların CO₂' e cevabının bağımlılık durumunu da göstermiştir. RTN içerisine, CO₂ mikrodializi, uyanıklık durumu boyunca ventilasyonda artmaya sebep olduğu halde uyku durumunda sebep olmadığı görülmüştür (323). Bunun tam tersi bir model olarak CO₂ mikrodializinin, sadece uyku durumu boyunca ventilasyonu stimüle ettiği medullar raphe üzerinde gösterilmiştir (324). NTS bölgesi üzerine CO₂ mikrodializi ise hem uyku da hem de uyanık durumda ventilasyonu arttırdığı görülmüştür (325). Anestezi altındaki ratların sadece RTN nöronlarından yapılan kayıtlar, RTN' nin in vivo olarak kemosensitif olduğuna dair ek kanıtlar sağlamıştır. RTN nöronlarının bir alt kümesi içerisinde, inspire edilen CO₂' e verilen cevabın artmasını sağlayan bir ateşleme şarjı kayıt edilmiştir. CPG' nin inhibe edilmesi veya periferik kemoreseptör girdinin kaldırılması hiperkapnik cevabı bloke etmediği gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak da hiperkapninin raphe içerisinde serotonerjik hücreleri aktive etmediği gösterilmiştir (313). Genel anestezinin kemoresepsiyon üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğundan dolayı, anestezi altındaki ve uyanık ratlar arasındaki kemoreseptör stimülasyonun derecesinin karşılaştırılması oldukça zordur. RTN içerisinde, kemosensitivite indeksi anestezi durumuna göre uyanık durumda 7.3 kez daha fazla olduğu görülmüştür (327). Buna ek olarak, anestezi altında %25' lik CO₂' in fokal diyalizini takiben, pH' da daha büyük bir değişim oluşmaktadır (306, 327). Çalışmalarda kullanılan bu yöntemlerle, anestezi ve uyanıklık durumlarının her ikisinde de ventilasyonu uyarabilen birçok muhtemel kemoreseptör alanları gösterilmiştir.

Stimülasyon çalışmalarına ek olarak, lezyon çalışmaları da merkezi kemoreseptör alanlarının rollerinin aydınlatılmasında kullanılmıştır. RTN üzerindeki lezyonların bir çok tipi hiperkapniye olan cevabı etkilemektedir. Anestezi altındaki ratlarda ve kedilerde, unilateral kainik asit veya elektrolitik RTN lezyonlarının, frenik sinir

genliğini düşürdüğü ve karotid organ denervasyonunu takiben değişmeyen etkilere göre neredeyse hiperkapnik yanıtı ortadan kaldırdığı görülmüştür (328, 329). Farklı bir çalışmada ise uyanık ratlarda aynı unilateral RTN lezyonları bazal ventilasyona hiçbir etki göstermemiş fakat solunumun CO₂' e cevabını %39' dan %7' ye düşürdüğü görülmüştür (330). Bu çalışmaya ek olarak, GABA_A reseptör agonisti musimolünün, RTN içerisine mikrodializi, inspire edilen CO₂' e cevabı düşürdüğü görülmüştür (331).

NTS, anatomik ve elektrofizyolojik kayıtlara göre karotid organdan ilk sinapsları alan medullar bölgedir (332-336) ve aynı zamanda periferel MSS' den sinyal entegrasyonu için ideal bir lokasyon olarak CO₂ duyarlı kemoreseptör hücreleri de içerir (312, 317). Yapılan bir çalışmada, NTS içerisine musimolün mikrodializi her iki non-REM uyku ve uyanıklık durumlarında benzer olarak hiperkapnik cevabı inhibe ettiği görülmüştür (337). Bir başka çalışma da ise aynı ortam sıcaklıklarında musimol mikrodializi, hipoksiye değil sadece hiperkapniye verilen cevabı düşürmüştür. Bu da musimol ile periferel CO₂ kemosenitivitesi değil, merkezi kemosenitivitenin etkilendiğini göstermiştir. Fakat 30⁰ C' de hem hiperkapnik ve hem de hipoksik cevap düşmüştür. İlginç olarak NTS üzerine musimolünün oluşturduğu hiperkapnik cevap RTN' nin oluşturduğu cevaba göre 2 kat daha fazla bir düşmenin oluşmasına neden olmuştur (331, 337). Kaudal NTS içindeki nöronlar, kainik asit ile işlem gördüğünde solunumun hipoksiye cevabının %67 oranında düştüğü ve fonksiyonel bir azalmanın olduğu görülmüştür (334). NTS bölgesi afferentlerden bilgi alsa da kemosenitif nöronlara da sahiptir. NTS üzerinde asetazolamid mikroenjeksiyonu ve CO₂ mikrodializinin her ikisi de frenik sinirde cevap oluşumunu sağlamıştır (325). Bir başka çalışmada ise ratların lokus koeruleusu içerisinde, noradrenerjik nöronlarının imhası tidal volumü azaltarak solunumun hiperkapniye olan cevabını düşürdüğü görülmüştür ve bunun yanında bazal ventilasyonda ise bir değişim gözlenmemiştir (338).

Bu çalışmalar RTN, NTS, LC ve medullar raphe içerisinde merkezi kemoreseptif alanlarının varlığının kanıtını sağlamıştır. Bu alanların varlığı söz konusu olmasına rağmen nasıl organize oldukları ve anlamlılıkları halen tam olarak bilinmemektedir. Bunun için merkezi kemoreseptör alanlarının nasıl organize olduğuna dair 2 teori geliştirilmiştir. Bunlar; özelleşmiş kemoreseptörler ve dağıtılmış nöral ağ teorileridir. Özelleşmiş kemoreseptörler teorisi in vivo ve en eski olanıdır. Bu teori, CPG' nin pH duyarlı olmadığını ve merkezi kemoreflleksleri bir ana grup özelleşmiş asit duyarlı

nöronların, nöral ağ sinaptik olarak sürüklemesinden kaynaklanmakta olduğunu savunur (303, 307). Dağıtılmış ağ teorisi ise buna zıt olarak büyük miktardaki kemoreseptör alanların ve kemosenitivitenin olması nedeniyle birçok pH duyarlı kanal tipi ve reseptör olduğunu savunmaktadır. Buna ek olarak, dağıtılmış nöral ağ teorisi farklı alanlara hiyerarşiyi devretmediğini ve farklı alanların farklı durumlar boyunca belki de daha önemli olabildiğini savunur (314, 327).

Özelleşmiş kemoreseptör teorisini savunanlar RTN' nin kemoresepsiyonun en büyük alanı olduğunu ve eğer bundan başka bir şey varsa diğer muhtemel kemoreseptör alanlarının sadece RTN' nin aktivitesini düzenlediğini tartışmaktadır (303). İlk kemoreseptör alan ventromedullar yüzeyde tanımlanmıştır (307, 309). Bu tanımlamadan sonra ventrolateral medulla içerisinde kemosenitivitenin özellikle RTN' de lokalize olduğu ve RTN' nin CO₂ duyarlılığında büyük bir rol oynadığına dair bir çok kanıt bulunmuştur (313, 314). RTN nöronları üzerinde hem in vivo hem de in vitro olarak yapılan çalışmalarda sadece respirasyon ile modüle edildiği ve güçlü bir şekilde pH değişikliği ile aktive olabildiği görülmüştür (313, 314). Buna ek olarak, RTN kemosenitivitesinin CPG oluşumu bloklansa bile devam ettiği bulunmuştur (313). Ayrıca RTN kemoreseptör hücreleri; medullar yüzey üzerindeki marjinal katman içerisinde dendritlerin uzunluğu boyunca ve kan damarlarının yakınında pH değişimlerine duyarlı olacak şekilde ideal olarak lokalize olmuş görünmektedirler (287, 313, 339). Daha önce de anlatıldığı gibi NTS, medullar raphe ve LC' nin dahil olduğu spesifik alanların stimülasyonu ventilasyonda bir artmaya neden olabildiği görülmüştür. Guyenet ve ark. mikrodializ probunun nöral çevreyi ve çevresindeki hücrelerin pH tampon kapasitesini bozduğunu ve böylece normal koşullarda meydana gelmeyen solunum cevabının oluşmasına neden olduğunu söylemektedir (303). Fakat başka bir çalışmada yapay beyin-omurilik sıvısının (yBOS) tek başına ventilasyonda hiç bir değişikliğe neden olmadığını ve bunu çevreleyen alanın da ventilasyonun değişimine etkisi için gerekli olmadığını bulmuştur (327).

Dağıtılmış nöral ağ teorisi savunucuları ise CO₂ duyarlılığının beklenenden daha fazla önemli bir fonksiyon olduğunu savunmaktadır (327). Bu nöron popülasyonunun farklı mekanizmalarla CO₂ duyarlılığı kabiliyeti olduğuna dair hücresel kanıtlar da vardır (314). Örneğin, TASK kanallarının CO₂ duyarlılığı in vitro olarak medullar raphe hücrelerinde görüldüğü halde RTN üzerinde görülmemektedir (340). Dağıtılmış nöral

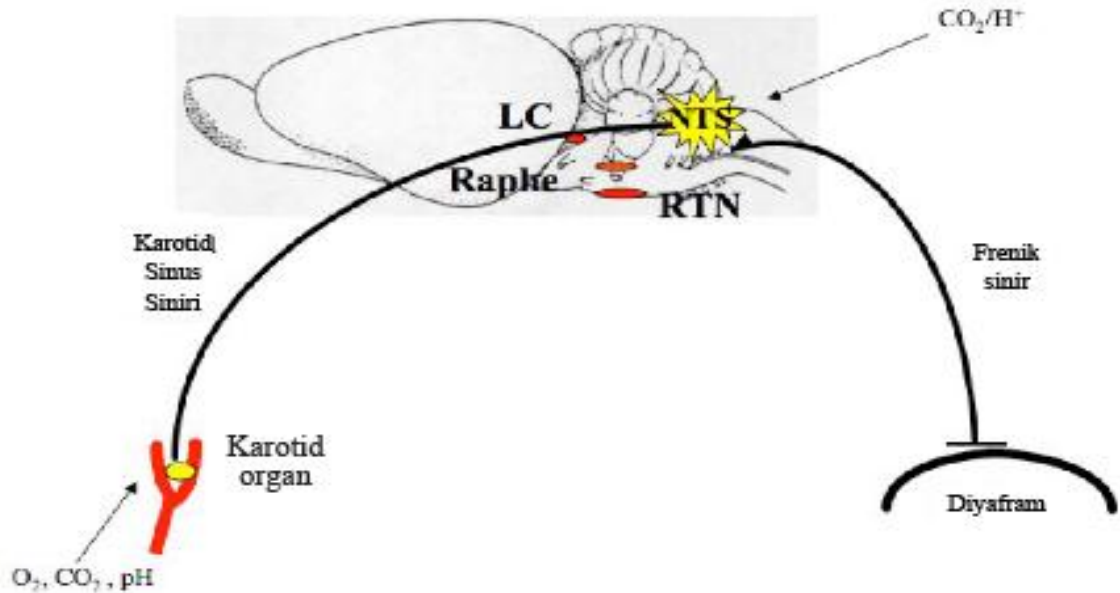
ağ teorisine ait kanıtlar, diğer bölgelelerin henüz kesin olarak deneysel olarak çalışmış olmadığından dolayı daha anlamlı olarak kabul edilmektedir. Bu tez çalışması da medullan üzerinde bulunan RTN dışındaki bir bölge olan NTS ve NTS etrafındaki yakın bölgenin aralıklı izokapnik hipoksi ve kronik hipoksi boyunca CO₂ duyarlılığı gösterdiğini doğrulamıştır.

2.4.3. Periferik ve Merkezi Solunumsal Kemoreflekslerin Entegrasyonu

Periferik ve merkezi kemoreseptörler homeostazın korunması için birlikte çalışırlar ve her iki sistem, PaCO₂ seviyesindeki değişime duyarlıdır. Hiperkapnik ventilatuar cevabın (HCVR) oluşmasında, periferik ve merkezi kemoreseptörlerin katkılarını görebilmek için yapılan bir çalışmada, denek olarak kullanılan köpeklerde, CO₂ stimülasyonunu ayrı ayrı kontrol etmek için, bir ekstra korporeal perfüzyon devresi implantasyonu yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda HCVR' nin üçte ikisinin merkezi kemoreseptörlerle, üçte birinin periferik kemoreseptörler nedeniyle oluştuğunu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışma, merkezi kemoreseptör stimülasyonun tek başına periferik cevaptan yaklaşık 11 saniyelik bir gecikmeyle solunumun cevabına neden olduğunu göstermiştir (341).

HCVR oluşumunda, periferik ve merkezi kemoreseptör etkileşiminin hangisiyle olduğu hala çok iyi bir şekilde bilinmemektedir. Periferik merkezi etkileşimin olmadığı (342-345) hiperadditif ilişki; bir sistemin aktivasyonunun diğer sistemin kazancını arttırdığının (346, 347) ve hipoadditif ilişki; bir sistemin aktivasyonunun diğer sistemin kazancını azalttığının (348, 349) katkı ilişkisini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Bir hipoadditif ilişkiye örnek olarak yapılan çalışma da, arteriyel olarak perfüze edilmiş in situ, vagotomize ve deserebre rat preperasonunda beyin sapı ve periferik kemoreseptörler ayrı ayrı perfüze edilmiştir. Bu çalışmada hem hipoksi için hem de hiperkapni için beynin aşağı seviyelerinde, P_{CO2}, periferik kemoreseptör stimülasyonuna frenik sinir cevabının frekans genliğini arttırmıştır (349). Benzer bir hipoadditif sonuç, yapay olarak perfüze edilmiş uyanık keçi modelinde (348) gösterilmiş olmasına rağmen Daristotle ve Bisgarduyanık keçilerde additif bir merkezi-periferik etkileşim göstermiştir (343). Aynı zamanda insan deneklerinde de ayrı ayrı yapılan periferik ve merkezi CO₂ duyarlılığı çelişkili ve varsayımlara bağlı veriler içermektedir. Bazı araştırmalar ise periferik ve merkezi kemoreseptörler arasında hiç bir etkileşim bulamamıştır (350, 351) ve bazıları addatif bir etkileşim bulmuşlardır (344, 347, 352).

Periferal ve merkezi kemoreseptörler arasındaki etkileşim ne olursa olsun karotid organ ile oluşan tonik girdiler tam bir merkezi cevap için gereklidir. Karotid organ reseksiyonu yapılan hastalarda cerrahi sonrası CO_2 cevabı 3-6 gün arasında %75 düşmüştür ki bu da hayvan çalışmalarının önerdiği periferal kemoreseptörlerin HCVR'ye yalnızca üçte birine cevap sağlayabilmesinin çok üzerinde bir miktardır (348). İki yıl sonra ise bu duruma bir plastisite olduğu ve hastaların cerrahi öncesi HCVR değerlerine tekrar döndükleri görülmüştür (350). Karotid organ reseksiyonunu takiben CO_2 sensitivitesinin merkezi bileşenleri içerisindeki düşüşü başka bir grup araştırmacı tarafından ayrıca gözlenmiştir. Fakat denekler üzerinde yapılan çalışma, cerrahi işlem ve çalışma süresinin 1 ile 26 yıl gibi uzun bir zaman aralığında olmasından dolayı sonuçların karşılaştırılmasını oldukça güçleştirmiştir (353). Keçilerde ise karotid organ denervasyonu CO_2 sensitivitesini başlangıçta %60 azaltsa da, insanlardan daha kısa süre içerisinde sadece 15 günde normale geri döndüğü görülmüştür (354). Şekil 2.18' de periferal ve merkezi kemoreseptörlerin aktivasyonu ile solunum refleksinin oluşumu ve birbirleri ile entegrasyonu gösterilmiştir.

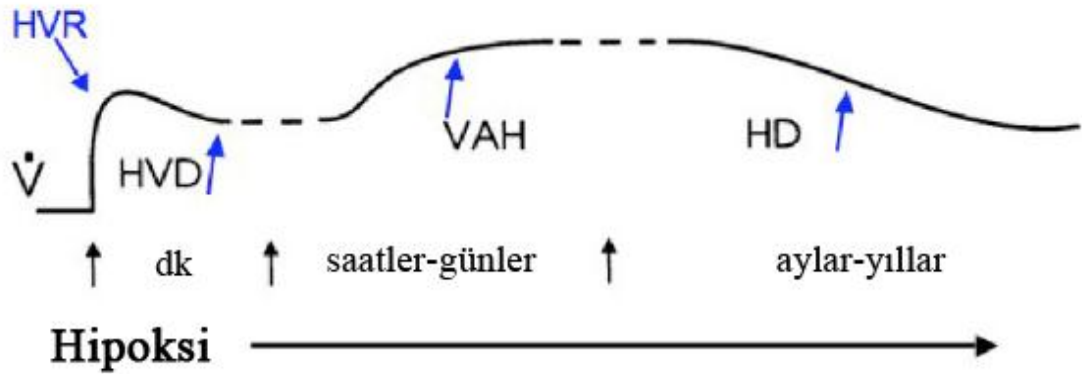


Şekil 2.18. Periferal ve Merkezi Kemoreflekslerin etki mekanizması. Periferal Kemorefleks: Karotid organ arteriyel O_2 , CO_2 ve pH değişimlerine duyarlıdır ve NTS ile sinaps yapan karotid sinus sinirine afferent bilgiyi gönderir. Merkezi Kemorefleks: NTS, LC, Rafe ve RTN' nin dahil olduğu CO_2 duyarlı bir çok alan beyin sapında lokalize olmuştur. Frenik sinir üzerinden diyaframı da içeren solunum kaslarının aktivitesi solunum enerjisinin sağlanmasıyla gerçekleşir.

2.4.4. Solunumun Hipoksiye Aklimatizasyonu (VAH)

Ventilasyon, solunum frekansı (f_R) venefes alıp-verme başına gaz volümünü tanımlayan tidal volümün (V_T) bir ürünüdür. Akut hipoksiye maruz kalınmasıyla karotid organ uyarılır ve merkezi sinir sistemi hem f_R ' de hem de V_T ' de gerçekleştirdiği bir artışla ventilasyonun artmasına neden olmaktadır. Hipoksinin hiperbolik bir fonksiyonu olarak solunum artması ve Pa_{CO_2} ' nin arka planda olmasına bağlı olarak, belli bir dönüm noktasına kadar Pa_{O_2} ' deki değişiklikler, ventilasyonda değişimlere neden olmaktadır (355).

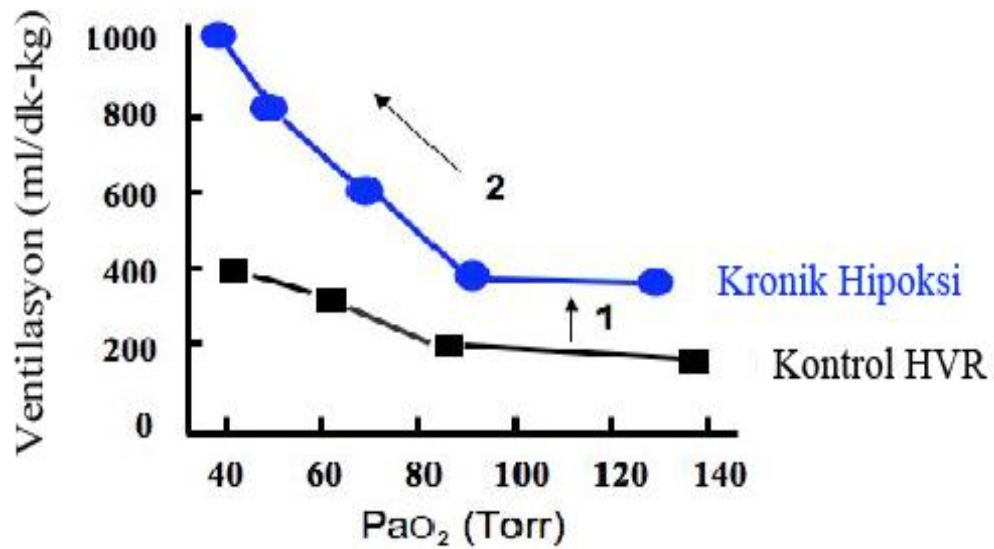
Kronik hipoksiyi takiben HVR' de bir plastisite oluşur. Ventilasyonun hipoksiye cevabı zamana ve hipoksik stimulusun modeline bağlıdır. Şekil 2.19' da gösterildiği üzere, sürekli hipoksiyi takip eden 5. dakikadan 30. dakikaya kadar ventilasyon azalır ve hipoksik ventilasyon düşüşü (HVD) meydana gelir. HVD, akut cevapla bağlantılı olarak ventilasyonda bir düşüşle karakterize edilmektedir ve bu durum normaksik koşulların tekrar sağlanmasından sonra bir saate kadar devam eder. Eğer hipoksi saatlerden günlere kadar devam ederse VAH olarak adlandırılan, ventilasyonda ikinci bir artma meydana gelir. Hipoksinin yıllarca devam etmesiyle hipoksik desensitizasyon (HD) oluşur ve böyle bir durum, hipoksiye daha kısa bir zaman maruz kalan deneklerle karşılaştırıldığında, ventilasyonda düşüş olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, ventilasyonun akut hipoksik cevabı körelmiş olarak nitelendirilir (5). Bu tez çalışmasının bir amacı, hipoksinin saatlerden günlere kadar sürmesinin ardından oluşan VAH için geçerli potansiyel mekanizmanın, LTF için çalışılan moleküler sinyal mekanizması ile karşılaştırarak benzerliklerinin ve farklılıklarının gösterilmesine katkı sağlamaya çalışılmıştır.



Şekil 2.19. Sürekli hipoksi boyunca ventilasyondaki zaman bağımlı değişiklikler. Hipoksik ventilatuar cevap, hipoksik uyarının uzunluğuna bağlıdır. Hipoksiye maruz kalınmasının ilk anlarında ventilasyon artar (akut hipoksik ventilatuar cevap). Hipoksiyi takiben bir kaç dakika içerisinde ventilasyonda düşme gerçekleşir (hipoksik solunumsal düşüş veya HVD). Ventilasyondaki ikinci bir artış (solunumun hipoksiye aklimatizasyonu veya VAH) hipoksik koşullarda saatlerce veya günlerce kalınmasıyla oluşur. Hipoksik koşullarda aylarca veya yıllarca kalınmasıyla hipoksik azalış (HD) oluşur. Mavi oklar her zaman noktasındaki HVR'yi göstermektedir (5).

VAH oluşumunun gelişmesi için zaman süreci hipoksinin şiddetine ve aynı zamanda canlı türlerine de bağlıdır. Keçilerde VAH, 6 saat gibi küçük bir zaman aralığında geliştiği gözlenmiştir (356) ve buna karşın midillilerde 24 saat sonra VAH oluşumunun tamamlandığı bulunmuştur (357). Bu zaman süreci, insalarda 2900 metrede 4 gün içinde (358) ve 4300 metrede 10 gün (359) içinde gerçekleşebildiği gibi oldukça geniş bir zaman sürecinde oluşur. 8000 metrenin üzerindeki yerlerde ise 30 gün üzerinde bir zaman gerekli olduğu bulunmuştur (360). Kronik hipoksi boyunca ve sonrasında ratlarda insanlar gibi VAH oluşumu için benzer bir zaman süreci sergilemeleri nedeniyle VAH oluşumu üzerinde yapılan araştırmalar için en çok kullanılan hayvan modeli olmuştur (361). Şekil 2. 20' de gösterildiği üzere, izokpanik HVR'ın yükselen eğimiyle ve aynı zamanda normaksik seviyeye dönüldüğünde kalıcı bir hiperventilasyon oluşturmasıyla VAH oluşumu karakterize edilmektedir. Eğer ölçüm poikilokapnik koşullarda yapılırsa HVR'ın eğimi değişmediği fakat Pa_{O_2} 'nin bütün seviyelerinde ventilasyonun yüksek olarak kaldığı görülmüştür. Eğer izokapnik koşullar korunursa HVR'ın oluşan eğimi kronik hipokside yüksek olarak kalmaktadır (362). Ventilasyondaki değişik, kontrol grubunda da VAH oluşumunun zaman sürecine benzer bir şekilde geri döner ve bu da ventilasyonun hipoksiye deaklimatizasyonu (VDH)

olarak adlandırılmaktadır (363). Oluşan bu hiperventilasyon PaCO_2 düşüşüne yol açar ve bu da bir normaksik deneğin apne eşiğinden anlamlı olarak daha düşük bir seviyede bulunmaktadır. Kronik hipoksi boyunca oluşan plastisite gibi aynı zamanda kronik hiperkapni deventilasyonu stimüle etmektedir. Hiperkapniye maruz kalınmasını takip eden bir kaç gün hem hiperkapni hem de normaksi koşullarının ventilasyonun azalmasına yol açtığı bulunmuştur (364). Bu da kronik hipoksi boyunca ventilasyonda ne değişiklik oluşuyorsa kesinlikle tam tersini göstermektedir.



Şekil 2.20. Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonundaki (VAH) değişiklikler. VAH normaksik koşullara göre solunumun aktivitesinde ki artma (1) ile ve izokapnik hipoksik solunum cevabının eğiminin artmasıyla (2) karakterize edilir (362).

2.4.4.1. VAH Oluşum Teorileri

VAH oluşumunu açıklamak için önerilen ilk teorilerden biri; arteriyel ve merkezi kemoreseptörler için CO_2 stimülasyonundaki potansiyel değişiklikler üzerine odaklanılmıştır. Severinghaus ve ark. bikarbonatın BOS içerisinde aktif taşınmasının, serebrospinal sıvı pH' sını normalize ettiğini ve merkezi kemoreseptör hücrelerinde solunum aktivasyonu için gerekli enerjinin sürekliliğine izin verdiğini öne sürmüşlerdir (365). Kemoreseptörlerden kaynaklanan hipoksik enerjinin, solunum için gerekli ve ventilasyonun artmasına neden olması akut hipoksinin tersine kronik hipoksi ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Aynı zamanda düşük PaCO_2 ve alkalotik BOS' un olduğu yerlerde solunum inhibe olduğu gözlenmiştir. Bu durumun devam ettiği daha

sonraki zaman noktalarında, arteriyel pH' nın renal kompenzasyonu, serebrospinal sıvının pH kompenzasyonunu tamamen tamamlanmasına izin verdiği hipotez olarak sunulmuştur (365). Yüksek irtifada kalan deneklerde bir haftayı takiben ve bir grup yüksek irtifada yaşayan yerlilerde, serebrospinal sıvı pH' sı normal seviyedikine benzer olarak ölçülmüştür (365, 366). Bu çalışmanın, bir önceki çalışmayı desteklemediği görülmektedir ve ayrıca serebrospinal sıvı pH' sı kronik hipoksiye maruz kalmış deneklerde alkalik olarak gösterilmiştir (359). Aynı zamanda diğer kimyasal stimülasyonlar, hipoksik durumda zamanla solunumu inhibe etmektedir ve bu durumda VAH oluşumunu açıklamak mümkün olmamaktadır. Yapılan başka bir çalışmada, Pa_{O_2} seviyesinin yükselmesi ve Pa_{CO_2} seviyesinin düşmesi ile ventilasyonun arttığı görülmektedir (358). Buna ek olarak yapılan bir çalışmada, kronik hipokside arteriyel pH seviyesinin değişiminin, akut hipoksi boyunca oluşan arteriyel pH seviyesinin değişiminden farklı olmadığı da görülmüştür (367). Bu da kemoreseptör duyarlılığının veya kemoreseptör stimülasyonu sürecinin, kimyasal stimülasyonun kendisinin değil, kronik hipoksi boyunca görülen ventilasyondaki artmanın zamana da bağlı olduğunu açıklamaktadır.

2.4.4.2. Kronik Hipoksi Boyunca Plastisite Mekanizmaları

Kronik hipoksi boyunca solunum motor nöronlarında ve kas fonksiyonlarında bir değişim gözlenmektedir. Fakat bu olasılığın, aralıklı hipoksiyi takiben frenik sinir motor havuzunda oluşan plastisite için de gözardı edilemeyeceği düşünülmektedir. Aralıklı hipoksi sırasında bir çok hipoksik nöbetle frenik nöral aktivite (pLTF) kuvvetlendirilerek hipoksinin şiddetine ve sürecine bağlı olarak serotonin veya adenosin bağımlı plastisiteye neden olduğu görülmektedir. Benzer fasilitasyon, hipoksiye maruz kalınmasının aynı zaman periyodu içerisinde ve sürekli nöbet halinde olması ile gerçekleşmediği görülmektedir (145). Bu incelemeyi takiben merkezi kemoreseptör aktivasyonunun stimülasyonunun kronik hipoksi boyunca değişmediği anlaşılmış (359) ve VAH oluşumunu göstermek için merkezi kemoreseptörlerin rolü büyük ölçüde çalışılmamış olarak kalmıştır. Kronik hipoksi ile birlikte ventilasyon enerjisi her iki hipoksik ve normoksik durum için artmış ve Pa_{CO_2} ' nin normalden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum bu şekilde olmasına rağmen CO_2 ' nin set noktası değişmiş ve de hem insanlarda hem de ratlarda VAH oluşumu tamamen geliştiği halde ventilasyonun hiperkapniye cevabının eğiminde hiç bir değişiklik görülmemiştir. İnsanlarda kronik

hipoksiyi takiben 5 gün içerisinde HCVR eğimi normaksik kontrol grubuyla aynı olmasına rağmen, eğri kronik hipoksik grubunda sola kaymış bir şekilde bulunur (368). Sürekli hipoksiyi takiben 8 saat sonra insanlarda HCVR eğimi artmış ve sadece periferik bileşenler CO₂ duyarlılığına anlamlı bir artış göstermiştir (369). CO₂ değişimine cevabın eğimi kronik hipoksi ile zamanla değişebilir olması, belki de kronik hipoksi boyunca merkezi CO₂ kemosensitivitesi değişikliğinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Bu tezin bir amacı da kronik sürekli hipoksi sonrasında oluşan plastisitenin en az bir merkezi kemoreseptör alanı (NTS) içerisinde oluşma ihtimali olduğunu araştırmaktır.

Bu bilgilerin ışığında bu tez çalışmasında, solunum ritminin normaksik koşulda solunan havanın ventilasyon ve metabolizma değerleri ile normaksik koşuldan farklı ortamların oluşturulmasıyla değişen ventilasyon cevabının ve metabolizmanın bu farklı koşullara nasıl adapte olduğunun mekanizmaları karşılaştırılmıştır. Solunum ritminin değişmesiyle oluşan bu plastisiteye karşı merkezi ve periferik kemoreseptörlerin O₂ ve/veya CO₂ kemosensitivitesi duyarlılığının ventilasyonu nasıl etkilediğinin ve solunum merkezi ve spinal kord üzerindeki nöron gruplarının oluşturduğu spesifik bölgeler üzerinde aktive olmuş nöronların lokalizasyonu ve miktarı belirlenerek solunumun nöral kontrolünün nasıl oluştuğu incelenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

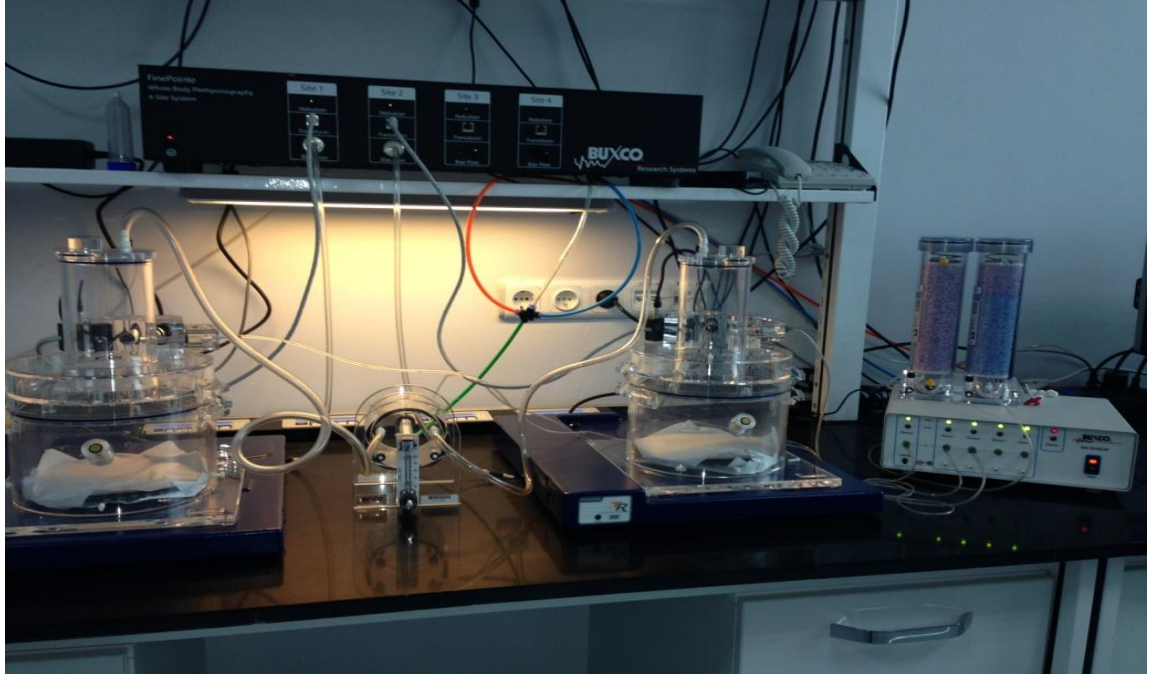
3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada, her bir grup için 12 adet olmak üzere toplamda 36 adet, ortalama ağırlıkları 362.5 (± 26.47) gr, yetişkin erkek 4-6 aylık Spraque Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Bir grup hariç (kronik sürekli hipoksi grubu) bütün sıçanlar Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde üretilmiş olup, 12 saat ışık 12 saat karanlık bir saat döngüsü içerisinde standart sıçan kafeslerinde, musluk suyu ve standart sıçan yemi ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi. Diğer grup Kalifornia Üniversitesi San Diego Hayvan Bakımı ve Kullanımı Komitesi onayı ile üretildi. Sıçanlar aynı cins ve aynı yaş aralığında olup, ortalama ağırlık hesaplamasına eklenmedi. Deney bittikten sonra sıçanlar sodyum pentobarbital aşırı doz (210 mg/kg, IV) enjeksiyonu ile ötanazi edildi.

3.2. DENEY GRUPLARI

Sıçanlar, kontrol (N), akut aralıklı izokapnik hipoksi (AAİH) ve kronik sürekli hipoksi grubu (KSH) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. AAİH grubu modelinde 2 farklı protokol uygulandı. Birinci protokolda için ayrılan 6 sıçandan bir tanesi katater kanülasyonu sonrasında öldüğünden dolayı AAİH grubundan sadece 5 adet sıçana bu modele ek olarak ilk bazal ventilasyon ve metabolizma ölçümünün hemen sonrası sadece bir kez olmak üzere 3 dakika hipoksik nöbete (Hnöbet) maruz bırakıldı ve ardından 15 dakika reoksijenizasyonun sağlanması için süre tanınarak, sıçanlara hipoksik uyandırma yapıldı. İkinci prokolde ise bu uygulama yapılmadı. AAİH ve KSH durumlarının karşılaştırılmasında kontrol grubu olarak kullanılacak N grubu ötanazi yapılmıncaya kadar sürekli olarak normal koşullarda bekletildi. AAİH grubu için oluşturulacak hipoksi modeli bütün vücut pletismografisi (Resim 3.1) ölçümü sırasında akut olarak

gerçekleştirildi (AAİH grubu için oluşturulan model "plestismografi ölçümleri" başlığı adı altında ayrıntılı olarak anlatılmıştır.). KSH grubu için sıçanlar 7 gün boyunca 0.5 atm (380 mmHg) basınca ve deniz seviyesine göre %10' luk O₂ inspirasyonuna maruz bırakılan bir ortamda tutuldu. Ayrıca immünofloresan boyama yöntemi için her gruptan 4 sıçana aşağıda anlatılan yöntem ile kolera toksin altünite B (CtB) enjeksiyonu yapıldı.



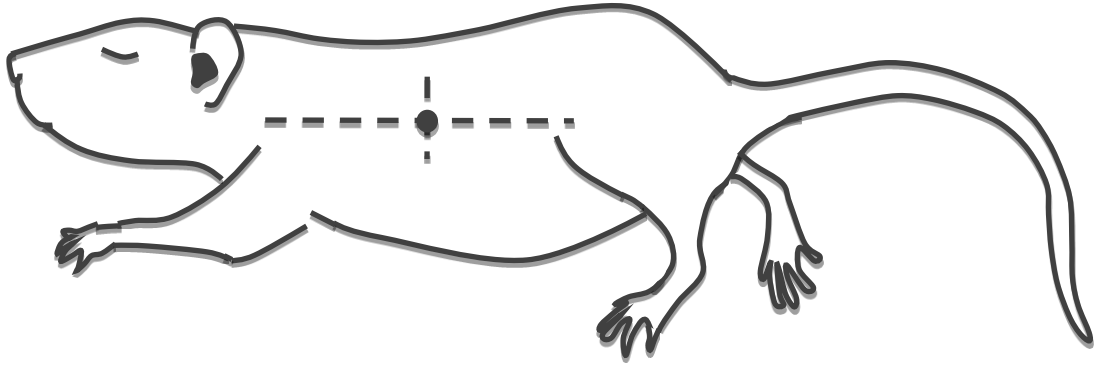
Resim 3.1. Tüm vücut pletismografisi sistemi (model PLY3213; Buxco Electronics, Wilmington, NC.).

3.3. CERRAHİ İŞLEMLER

3.3.1. Kolera toksin B (CtB) Enjeksiyonu

Cerrahi işlem öncesi sıçanların ağırlıkları ölçüldü. Ağırlığı ölçülen sıçan %100 O₂ içerisinde %5 izofloran bulunan anestezi chamberına konuldu. Sıçan anesteziye girdiğinde chamberdan çıkartılarak anestezinin devamı için burun anestezi konisine bağlandıktan sonra %5 izoflorana ayarlanmış olan izofloran vaporizatörü, sıçanın solunum durumuna bakılarak %2.3-3 arasındaki bir değere düşürüldü. Tam anestezi altında olan sıçan enjeksiyon için hazırlandı. Enjeksiyon yapılacak şırınga iğnesinin içerisine 25 µl kolera toksin altünite B (CtB) çekildi. Şekil 3.1' de işaretli alana göre sternumun hemen altından kaudala doğru 0.5 cm uzunluğunda bir kesi açıldı ve diyafram kası görüldü. Sağa ve sola olmak üzere, diyafram kasının içerisine her bir yön

için 25 µl CtB, intrapleural olarak enjekte edildi. Enjeksiyon sonrası açılan yer yumuşak bir şekilde ovuşturuldu (5–10 sn), sızıntı ve kanama olmadığından emin olunduktan sonra kesi açık bırakılarak telemetrik termometre yerleştirilmesi işlemine geçildi. CtB uygulaması spinal kord boyunca uzanan frenik sinir yolundaki ve medulla üzerinde frenik sinir uzantılarıyla sinaps yapan nöronları işaretlemek amacıyla kullanıldı (370).



Şekil 3.1. Yaklaşık olarak CtB enjeksiyon lokalizasyonu. Koyu siyah nokta, enjeksiyon yapılan yerin kesişim noktasını göstermektedir.

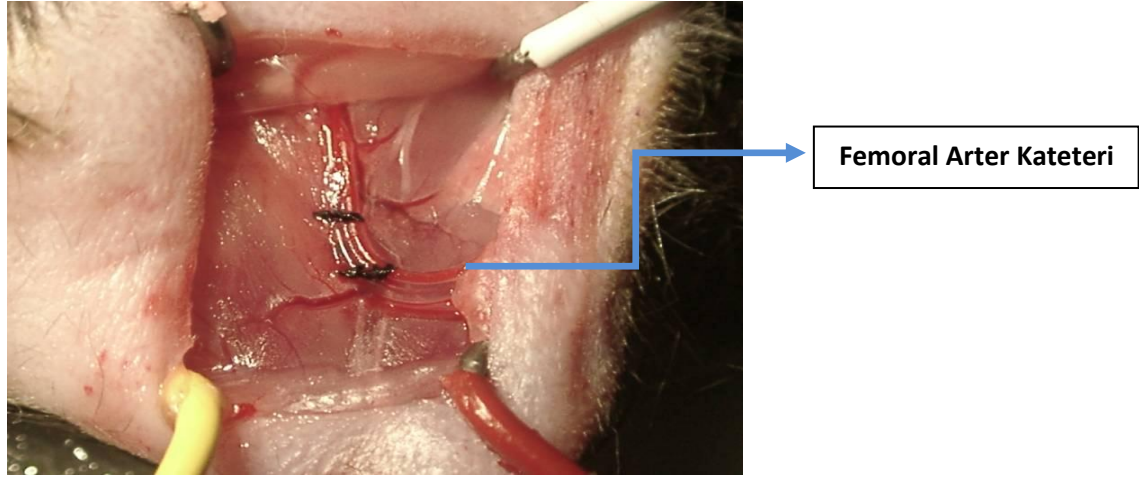
3.3.2. Telemetrik Termometre Yerleştirilmesi

CtB enjeksiyon prosedürü için açılan kesiden enjeksiyon sonrası, kesit kapatılmadan önce ve başka bir kesi açılmasına gerek kalmadan, 33–41 °C aralığındaki vücut sıcaklığının ölçümüne izin veren 15.5 mm X 6.5 mm boyutlarında ve 1.1 mg ağırlığında (G2-E mitter, Bio-Lynx) sıcaklık telemetrisi abdominal boşluğa konuldu ve açık olan kesi dikilerek kapatıldı. Ventilasyon ve metabolizma ölçümleri sırasında sensör sürekli olarak anlık vücut sıcaklığındaki değişimleri kaydetmemizi sağladı.

3.3.3. Femoral Artere Katater Kanülasyonu

Ventilasyon ve metabolizma ölçümü yapılacak sıçanların hepsine, ölçüm yapılmadan 3 gün önce ve diğer cerrahi işlemlerle beraber, sıçan anesteziden uyanmadan, abdominal boşluktan 1.5–2 cm aşağıdan sağ patella hizasından açılan kesiden femoral arterin bulunduğu bölgeye ulaşıldı. Arteri izole ettikten hemen sonra PE50-PE10 kalınlıklarında ki iki kateterin kostümizasyonu (PE50' nin bir ucu ısıtılarak yaklaşık olarak PE-10' un çapına getirildi) ile oluşturulan katater femoral artere kanule edildi. İki kulağın ortasından açılan küçük bir kesiden deri altından ilerleyerek katatere ulaşıp

katater o noktada hayvanın katetere zarar vermemesi için sabitlendi. Cerrahi işlem gerçekleştirilen her bölge üzerine antibiyotik merhem sürüldü (Fura-Zone, Squire) (361, 362, 371).



Resim 3.2. Femoral arter kataterinin yerleşimi.

3.4. FİZYOLOJİK ÖLÇÜMLER

Hipoksi ve hiperkapni boyunca ventilasyon cevabını ölçmek için barometrik bütün vücut pletismografi kullanıldı. Sıçanları chambera koymadan önce bir basınç kalibrasyon sinyali Drorbaugh ve Fenn denkleminde (372) kullanılan; pletismograf içinin sıcaklığı, sıçan vücut sıcaklığı, çevresel ve chamber içi basıncı ve de sıçan vücut ağırlığı parametreleri her nefes alımı ve verimi için dakikadaki ventilasyon ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), frekans (nefes/min) ve tidal volüm ($\text{ml}/100 \text{ g}$) hesaplanması için kullanıldı (Biosystems XA software; Buxco Electronics, Wilmington, NC). Normal koşullarda bulunan sıçanlar bütün vücut pletismografisine (model PLY3213; Buxco Electronics, Wilmington, NC) konuldu. Chamberlara giden basınçlı havanın $3\text{L}/\text{dk}'$ lık eğilimli bir akış göstermesi sağlanarak inspire edilen havanın gaz kompozisyonunun kontrol edilmesi, O_2 ve CO_2 miktarlarının değiştirilmesi ve CO_2 birikimini önlemesi için kütle akış kontrolörü (Sable Systems MFC-4) kullanıldı. Fizyolojik ölçümlere başlanmadan önce sıçanların 30 dk boyunca aklimatizasyonu sağlandı. Metabolizma ölçümleri için O_2 tüketimi ($\text{ml}/\text{min} \cdot \text{kg}$) ve CO_2 üretimi ($\text{ml}/\text{min} \cdot \text{kg}$) aynı sisteme ait kütle spektrometresi ile görüntülendi ve ventilasyon parametreleri ile eş zamanlı ölçüldü (261).

Dizayn edilen zaman periyodları içerisinde solunum parametreleri sürekli olarak ölçülürken sıçanların uyanık veya sakin olduğu zaman durumları analiz için kullanıldı. Verilerin kabul edilebilirliği için gözler açık, vücut hareketinin olmadığı ve bilgisayar ekranında normal bir solunum modelinin sürekli izlendiği alanlar göz önünde bulunduruldu. Sıçanların uyuduğu veya uyku halinde olduğu gözlemlendiyse veri optimizasyonunun sağlanması için bu veriler kullanılmadı (373).

Arteriyel katetere bağlı hipodermik tüp (PE10-PE50 kombinasyonlu kateter tüpleri) chamberın üst kısmına uzanan polietilen tüp boyunca (PE 50) arteriyel kan örnekleri alındı. Arteriyel kan gazı (akg) ölçümleri protokolde belirtildiği zamanlarda, kan örneğinin alınmasının hemen ardından ez az 1 dakika içerisinde ölçüldü. Bu zaman dilimleri içerisinde 17 µl arteriyel kan örneği en fazla 2 kez alındı. Örnekler alındıktan hemen sonra Instrument Laboratory Syntesis GEM Premier 4000 kan gazı makinasında (San Jose, CA) PaO₂, PaCO₂, pH değerleri için analiz edildi.

3.4.1. Akut Aralıklı İzokapnik Hipoksi (AAİH) Modeli

3.4.1.1. Akut İzokapnik Aralıklı Hipoksi Modeli Öncesi

Yukarıda da belirtildiği üzere solunum parametreleri ölçülecek 11 sıçan, ölçüm yapılacağı gün plestismografi içerisinde ilk 30 dakika aklmatize olmalarına izin verildi. Akut aralıklı izokapnik hipoksi (AAİH) durumu oluşturulmadan önce sıçanların 60 dakika boyunca normal koşullarda; FI_{O2}= 0.21 ve FI_{CO2}= 0.03 gaz fraksiyonlarında bazal ventilasyonu ve 60 dakika içerisinde 30., 45. ve 60. dakikalarda üç ayrı zamanda bazal metabolizmaları ölçüldü. Metabolizma ölçümü; oksijen tüketimi (VO₂) ve karbondioksit üretimi (VCO₂) ölçülerek, inspire edilen oksijen seviyesindeki düşüş ve ekspire edilen karbondioksit seviyesindeki artış kütle spektrometresi yardımı ile hesaplandı.

Bu süreç içerisinde sadece 60. dakika sonunda metabolizma hızı ölçülmeden önce femoral artere katater kanule edilmiş sıçanlardan 17 µl (0.17ml) kan örneği alınıp kan gazı analizi (akg1) ve hemen ardından metabolizma ölçümü yapıldı. Ayrıca toplam 5 sıçan üzerinde AAİH öncesi sadece 3 dakika FI_{O2}= 0.10 ve FI_{CO2}= 0.03 gaz fraksiyonlarında kısa süreli hipoksik bir nöbete maruz bırakılarak hipoksik uyandırma

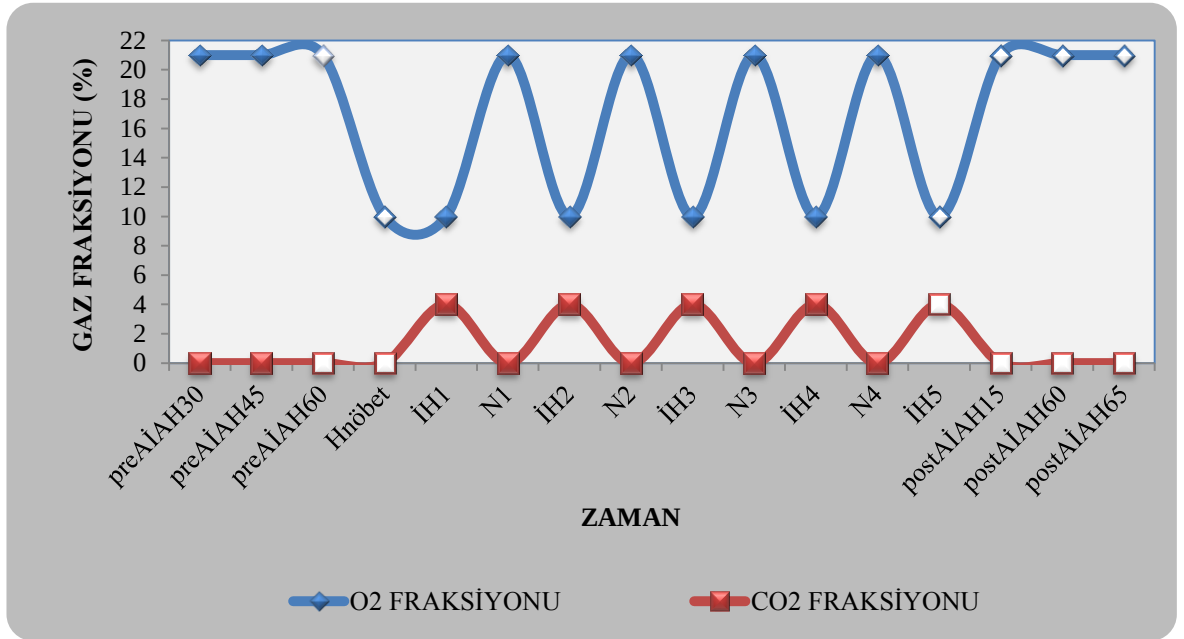
yapıldı ve hemen ardından 15 dakika boyunca normaksik koşullarda tutularak reoksijenizasyonu sağlandı. 15. dakikanın bitiminde HVR oluşumunu göstermek için sadece ventilasyon ve kan gazı ölçümü (akg1_1) yapılmıştır (223). Şekil 3.1' de birinci protokol ve 3.2' de ise ikinci AAİH modelinin protokolü zamana bağlı anlık gaz fraksiyonları değişimi gösterilerek şematize edilmiştir.

3.4.1.2. Akut İzokapnik Aralıklı Hipoksi Modelinin Oluşturulması

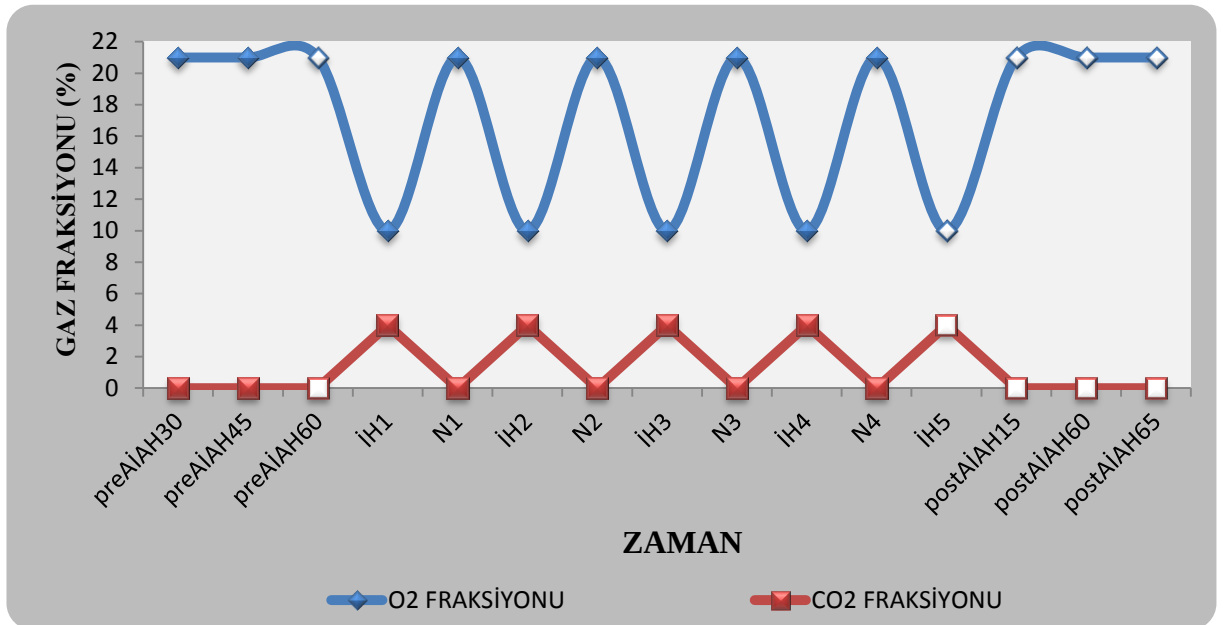
60 dakika sonra sıçanlar pletismografi dışarısına çıkarılmadan izokapnik aralıklı hipoksi modeli oluşturuldu. Buna göre; 5 kez 5' er dakika (5x5 dakika) $FIO_2 = 0.10$ ve $FICO_2 = 0.04$ gaz fraksiyonlarında hiperkapnik hipoksik nöbetlere maruz bırakılıp, aralara 4 kez 5' er dakika (4x5 dakika) $FIO_2 = 0.21$ ve $FICO_2 = 0.03$ normaksi koşullarındaki gaz fraksiyonları uygulanarak, 50 dakika süren AAİH modeli oluşturuldu. İzokapnik aralıklı hipoksi sonrası metabolizma ölçümü yapılmayıp sadece 50. dakikada kan gazlarının analizi (akg2), hipoksinin şiddetini belirlemek için yapıldı (25, 223, 373).

3.4.1.3. Akut İzokapnik Aralıklı Hipoksi Modeli Sonrası ve Poikilokapni

50 dakika boyunca izokapnik aralıklı hipoksiye maruz bırakılan sıçanlar, pletismografi dışarısına alınmadan 60 dakika boyunca tekrar normaksik koşullara döndürülerek hipoksi sonrası bazal ventilasyon ve metabolizma ölçümü yapıldı. 15. dakikada (akg3) ve 60. dakikada (akg4) kan gazları analizi ve metabolizma değeri ölçülerek AAİH sonrası hipoksinin şiddeti kontrol edildi. AAİH' yi takiben ventilasyonunun toparlanma durumu ve ventilasyonun artarak LTF' e (AAİH sonrası > 1 saat) sebep olup olmadığı test edildi. 60 dakika sonunda 5 dakika boyunca normaksi koşulunda bulunan sıçanlara, akg4 değerleri gözönünde bulundurularak, akg1 değişkenlerinden PaO_2 ve $PaCO_2$ değerlerine yaklaşması için ilave %0.012 ile %0.026 arasına değişen CO_2 eklenenerek poikilokapni modeli oluşturulup ventilasyon, metabolizma ve kan gazı değerleri (akg 5) ölçüldü (223, 373).



Grafik 3.1. AAİH 1. Protokolü (n=5). Tek bir hipoksik nöbete (Hnöbet) maruz bırakılan sıçanlara uygulanan AAİH modeli protokolü boyunca O₂ ve CO₂ konsantrasyonları gösterilmiştir. Ayrıca grafik üzerindeki beyaz noktalarda arteriyel kan gazı ölçümünün yapıldığı noktalar belirtilmiştir. Buna göre arteriyel kan gazları sırasıyla akg1, akg1_1, akg2, akg3, akg4, akg5 olarak sınıflandırılmış ve protokole göre her zaman sürecinin sonunda kan alınmıştır.



Grafik 3.2. AAİH 2. Protokolü (n=6). AAİH modeli protokolü boyunca O₂ ve CO₂ konsantrasyonları gösterilmiştir. Ayrıca grafik üzerindeki beyaz noktalarda arteriyel kan gazı ölçümünün yapıldığı noktalar belirtilmiştir. Hipoksik nöbet protkolünden farklı olarak arteriyel kan gazları sırasıyla akg1, akg2, akg3, akg4, akg5 olarak sınıflandırılmış ve aynı şekilde protokole göre her zaman bitiminin sonunda kan alınmıştır.

3.4.2. Kronik sürekli hipoksi (KSH) modeli oluşturulması

KSH grubu için 12 sıçan ayrı ayrı kafeslere konularak, 7 gün boyunca 0.5 atm (380 mmHg) basınca ve deniz seviyesine göre %10' luk O₂ inspirasyonuna maruz bırakılan sıçanlar deniz seviyesinden yaklaşık 6000 m yükseklikteki kronik hipoksik şartların taklit edildiği hipobarik çembere içerisine konuldu. 5 dakikayı biraz aşan bir süre içerisinde basınç 1 atm' den 0.5 atm atmosferik basınca düşürüldü. Hipobarik chamber, deneklerin bulunduğu kafeslerin temiz kafesler ile değiştirilmesi ve deney için uygun olmayan deneklerin gruptan çıkarılması için günlük yaklaşık 10 dakika açıldı.



Resim 3.3.Hipobarik Chamber (Oda).

3.5. DOKU PERFÜZYONU, DOKULARIN ÇIKARILMASI VE DOKU KESİTLERİNİN ALINMASI

Her bir grupta bulunan sıçanlar deney bitiminden hemen sonra yukarıda da belirtildiği üzere ötanazi yapıldı. Ötanazi işleminin ardından 0.4 ml heparin (1000 ünite/ml) intraperitonel (IP) olarak yapıldı ve bir kaç dakika beklendi. Sıçanlar buz içerisinde tutulan 40 ml serum fizyolojik veya 0.01 M tuz tamponu (PBS tablet, Sigma Aldrich pH= 7.4) ile vücuttaki tüm kan uzaklaştırılana kadar ve hemen sonrasında %4' lük paraformaldehit (Paraformaldehit Granular, MERCK) tamponu ile sol ventrikül/aortik kateterizasyonla perfüze edildi. Daha sonra spinal kord C3-C5 seviyesi ventral boynuzundan ve medulladan kesitler almak için tamamen çıkarılarak immunohistokimya çalışması için işleme alındı. Çıkarılan dokular +4⁰C derecede bir gün veya iki gün PBS içinde çözünmüş %2' lik paraformaldehit tamponu içerisinde

tutuldu. Daha sonra yine PBS içinde çözünmüş %30' luk sükröz çözeltisi içerisine transfer edilerek +4°C' de 2 gün muhafaza edildi. Teneke kutu içerisine konulan izopentan sıvı nitrojen kabına sarkıtıldı ve beyin sapı ve spinal kord preparatları bir mantar parçasına otutturularak doku yapıştırıcı ile izopentan içerisinde donduruldu. Dondurulan dokular -80 °C derecede saklandı ve sonra donduruculu karyostat (CM 1860 UV, LEICA) kullanılarak -20 °C derecede 20 µm kalınlığında transvers kesitler alındı. Toplanan dokular daha sonra immünohistokimya ve immünofloresan boyama çalışılmak üzere antifriz solüsyonuna (%50 PBS, %30 etilen glisöl, %20 gliserol) konularak -20 °C derecede saklandı (26, 286).

3.6. FLORESAN BOYAMA VE FLORESAN MİKROSKOBUNDA GÖRÜNTÜLEME

CtB enjeksiyonu yapılmış sıçanlardan alınan sabitlenmiş medulla ve spinal kord kesitleri için sırayla 5 slayt kullanıldı. Her gruptan 2 tanesi analiz için primer slayt olarak kullanıldı ve 3 tanesi ise yedek olarak saklandı. Doku kesitleri, membran permeabilizesi için PBS içinde çözünmüş %0.5 Triton X-100 içerisinde 2 saat bekletildi. Permeabilizasyondan sonra doku kesitleri PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Nonspesifik fluorofoer bağlayıcı bölgeler blok tamponu (PBS içinde %5 serum) kullanılarak 1 saat boyunca blokladı. Bloklama işleminden sonra slaytlar bloklama kavonozundan çıkarıldı ve blok tamponunun fazlalığını giderilmesi içindikkatli bir şekilde kenarları ve arka tarafı silindi.Slaytlar nem chamberına yerleştirildi ve anti-BDNF; 1/500(N-20, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA), anti-fosfo ERK; 1/200anti-fosfo ERK (rabbit polyclonal; Cell Signaling Technology, Danvers, MA), anti-fosfo Akt; 1/200(rabbit polyclonal; Cell Signaling Technology, Danvers, MA), 5-HT_{2A}; 1/500,anti-5-HT (rabbit polyclonal Cell Signaling Technology, Danvers, MA) ve anti-adenosine A2R; 1/500 (mouse monoclonal; Millipore) konsantrasyonlarında kullanılan primer antibadi kokteyli doku kesitlerinin yüzeyine eklendi.Slaytlar nem chamberında +4 °C' de 48 saat boyunca inkübe edildi. Antibodi ile işlem görmüş slaytlar boyama kavonozuna tekrar konuldu ve PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Slaytlar bir kez daha boyama kavonozundan kaldırılarak fazla blok tamponunun giderilmesi için dikkatli bir şekilde aynı şekilde silindi. Slaytlar nem chamberına yerleştirildi ve sekondergoat anti-rabbit antibodi kokteyli doku kesitlerinin yüzeyine eklendi. Fluorofoerun ışıktan zarar görmemesi için nem chamberı alimünyum folyo ile kaplandı. Bu ortamda, kaplanmış

slaytlar 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Boyama kabında boyanan slaytlar tekrar 3 kez PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Boyanan doku slaytları DAPI ile birlikte anti-fade (Prolong Gold anti-fade reagent, Invitrogen, Oregon; renk solmasını önleyen koruyucu) kaplandı, gece boyunca kurutuldu ve kenarları kapatıldı. Spektral dekonvolüsyon konfokal mikroskop (Leica SP5, Germany) kullanılarak 10x ve 20x büyütme kesitleri görüntülemek için kullanıldı (26, 286).

Dorsal medullada kemosenitif solunum kontrol nükleusu olan nükleus solitarius trakt (NTS) alanı içerisinde her sıçanın medullasından ve spinal kord frenik sinir nöronları için işlem gören kesitlerinden 2 doku kesiti kullanılarak yoğunluk analizi yapıldı. DAPI için emisyon ayarları 425-475nm olarak belirlendi (286, 325). Postrema alanının büyüklüğü, bregmaya göre refere edilen alanlarda; -14.08, -13.8, -13.5 ve -13.3 toplam dört seviyede işaretleyici olarak kullanılarak NTS için ve bundan bağımsız spinal kord alanında frenik sinir preperatları üzerinde hücreler sayıldı. Rostral bölüm 4. ventrükülün başlangıcına yakın obex düzeyinde (~ Bregma – 7.20mm), diğer bölümler 180µm daha kaudalda (~ Bregma – 7.40mm) ve postrema alanının altında olmak üzere bütün kesitler 3 nükleinin bölümlerini içerir. Yakalanan görüntüler nöronların floresan yoğunluğu kullanılarak Image J programında analiz edildi.

3.7. İSTATİKSEL ANALİZ

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 20.0 (Armonk, NY) ve SigmaPlot 12.0 paket programları ile değerlendirildi. Ventilasyon(V_I) ve ventilasyon bileşenleri(f_R, V_T), metabolizma (VO_2, VCO_2) ve kan gazı ($Pa_{O_2}, Pa_{CO_2}, pH, sO_2$) değişkenlerinin, gruplar arası karşılaştırmalar için bağımsız iki örneklem t testi, zamana göre olan karşılaştırmalarda tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni testi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. VENTİLASYONUNUN HIPOKSİYE VE HİPERKAPNİYE CEVABI VE SOLUNUMSAL UZUN SÜRELİ FASILİTASYON

Kısa süreli tek bir hipoksik nöbetin (HVR), akut aralıklı izokapnik hipoksinin (vLTF) ve akut poikilokapninin (HCVR) bazal ventilasyon etkinliğini etkileyip etkilemediğini araştırmak için, ventilasyon (V_i ; mL/min . kg) ve ventilasyon bileşenleri olan soluk frekansı (f_R ; br/min) ve tidal volüm (V_t ; mL/kg) üzerine olan etkisi incelendi.

4.1.1. Hipoksik Ventilatuvar Cevap (HVR)

Hipoksik ventilatuvar cevap (HVR), zamana ve hipoksik stimulusun modeline bağlıdır. Çalışmamızda, birinci protokolde uygulanan modelde kısa süreli tek bir hipoksik nöbete (Hnöbet) maruz kalınmasının ardından normal koşullara dönülerek reoksijenizasyonun sağlanmasıyla bazal V_i ve ventilasyon bileşenleri f_R ve V_t üzerinde, bazal ventilasyon ölçümünün 30. dakikası (preAAİH30) zaman noktasına göre Hnöbet zaman noktası karşılaştırıldığında anlamlı ($P > 0.05$) bir artış bulunmadı (Tablo 4.1.).

4.1.2. Solunumsal Uzun Süreli Fasiliteasyon (vLTF)

Akut aralıklı izokapnik hipoksi öncesi (preAAİH) bazal f_R , V_t ve V_i ve akut aralıklı izokapnik hipoksi sonrası (postAAİH) boyunca f_R , V_t ve V_i değerlerinin ölçümleri tablo 4.1' de gösterildi. Oluşturulan birinci protokol ($n=5$) ve ikinci protokolde ($n=6$) AAİH modeli öncesi sırasıyla 30., 45. ve 60. dakikalarda (preAAİH30, 45 ve 60) bazal f_R , V_t ve V_i değerleri üzerinde AAİH modeli sonrası 60. dakikada (postAAİH60) bazal ventilasyonda ve ventilasyon bileşenlerinde vLTF oluşumunu gösteren anlamlı ($P > 0.05$) bir artış bulunmadı. Bu sonuca göre her iki protokolde de vLTF oluşumuna yol açması beklenen ventilasyondaki artışın f_R' deki değişikliğe bağlı olmadığı bulundu.

Aralıklı hipoksi ile indüklenebilen vLTF oluşumuna, izokapnik hiperkapni nöbetlerinin eş zamanlı uygulanması, hiperkapni sonlandığında fasilitasyon yerine uzun süreli depresyona neden olduğu bulundu.

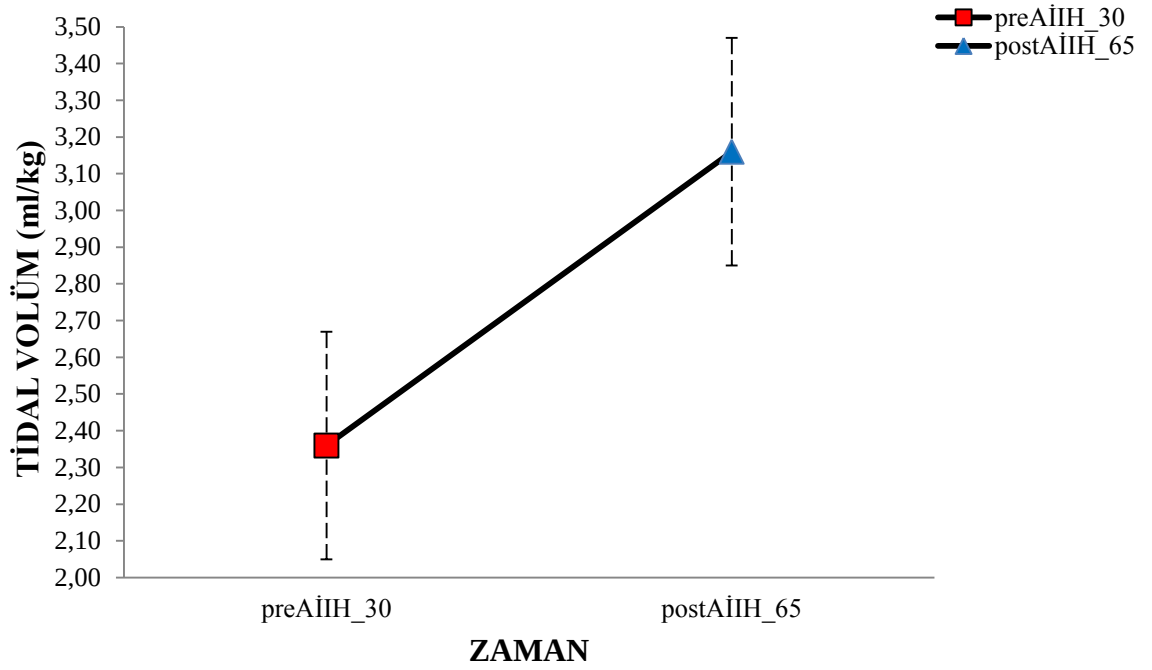
Tablo 4.1. Uygulanan Protokol 1 (n=5) ve Protokol 2 (n=6) için soluk frekansı (f_R), tidal volüm (V_t) ve ventilasyon (V_i) değerlerinin zaman bağımlı değişimleri.

Ventilasyon Parametreleri	ZAMAN							
	preAAİH30	Hnöbet	preAAİH45	preAAİH60	postAAİH15	postAAİH60	postAAİH65	p
f_R (br/min)								
Protokol 1	99.11±9.45	116.91±16.24	109.49±17.76	100.80±9.50	111.57±18.26	114.17±14.76	124.17±30.28	0.083
Protokol 2	124.28±23.13	-	114.62±18.29	104.10±16.84	122.00±15.39	107.62±18.70	127.71±14.76	0.139
P	0.050		0.664	0.712	0.330	0.542	0.805	
V_t (mL/kg)								
Protokol 1	2.33±0.51	2.58±0.76	2.39±0.38	2.40±0.46	2.48±0.31	2.54±0.57	2.80±1.13	0.532
Protokol 2	2.36±0.31 ^a	-	2.40±0.46 ^{ab}	2.46±0.27 ^{ab}	2.57±0.39 ^{ab}	2.67±0.56 ^{ab}	3.16±0.61 ^b	0.024
p	0.933		0.960	0.804	0.717	0.720	0.515	
V_i (mL/min.kg)								
Protokol 1	233.01±68.18	309.04±129.55	264.26±76.40	244.66±70.41	280.23±75.27	285.50±49.17	374.41±267.99	0.225
Protokol 2	297.92±94.91 ^{ab}	-	274.87±65.33 ^a	257.98±59.34 ^a	312.44±59.00 ^{ab}	280.33±37.99 ^{ab}	410.62±131.95 ^b	0.019
P	0.234		0.819	0.755	0.446	0.848	0.776	

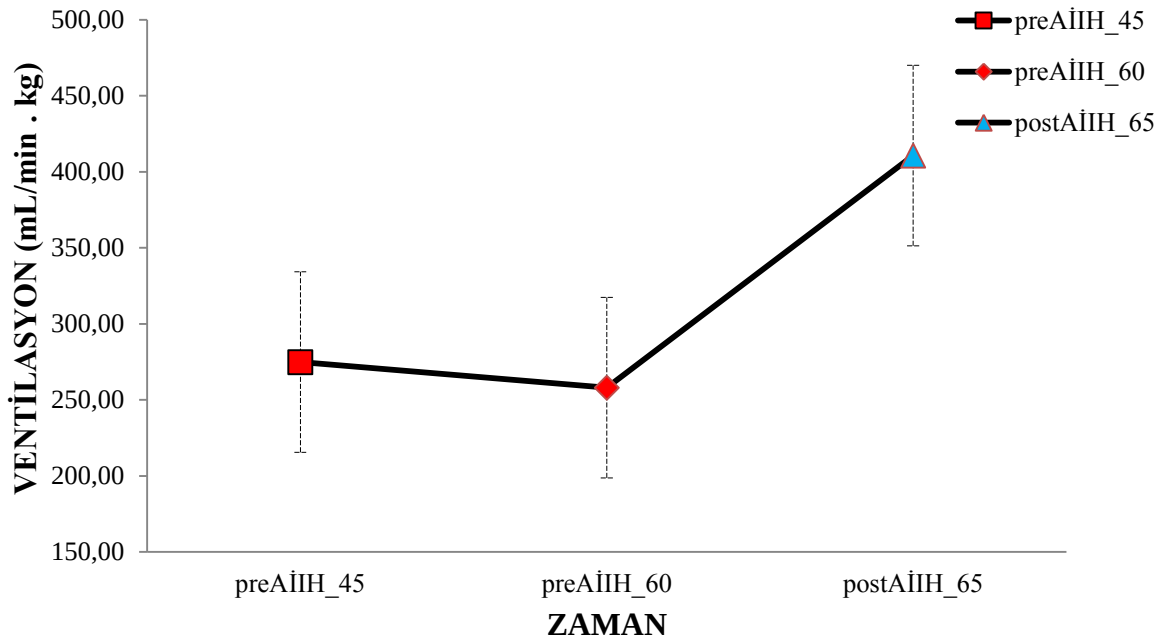
Değerler ortalama ± standart hatadır ve 175 dakikalık kayıt sonucunda belirli zamanlarda elde edilen ventilasyon ve ventilasyon bileşenleri analizlerinin değişimini ifade eder. Sağ sütundaki P değeri zamana göre farklılık, alt satırdaki P değeri gruplar arasındaki bireysel farklılıktır ($P < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.).

4.1.3. Hiperkapnik Ventilatuvar Cevap (HCVR)

Birinci protokolde akut poikilokapninin bazal ventilasyon ve ventilasyon bileşenlerinin üzerine anlamlı bir etkisi görülmedi ($P > 0.05$). İkinci protokolde ise tüm zaman süreçlerindeki f_R' de bir değişiklik bulunmadı. Buna karşın akut aralıklı izokapnik hipoksi modeli uygulamasının 30 dakika öncesi (preAAİH30) yapılan bazal ventilasyon değeri ile 65 dakika sonrası akut poikilokapni (postAAİH65) arasında V_t üzerinde anlamlı bir artış bulundu (Şekil 4.1) ($P < 0.05$). Ayrıca AAİH modeli uygulamasının 45 dakika öncesi (preAAİH45) ve 60 dakika öncesi (preAAİH60) bazal değerleri ile 65 dakika sonrası akut poikilokapni (postAAİH65) arasında V_i üzerinde de anlamlı bir artış bulundu (Şekil 4.2) ($P < 0.05$). Bu sonuçlara göre aralıklı izokapnik hipoksi stimülasyonunun neden olduğu ventilasyonun uzun süreli depresyonunun aksine kısa süreli poikilokapninin bazal ventilasyonda ve tidal volümde artmaya neden olduğu bulundu.



Grafik 4.1. İkinci protokolde (n=6) uygulanan modele göre bazal tidal volümün (preAİİH30) poikilokapni boyunca (postAİİH65) arttığını gösteren zaman bağımlı tidal volüm grafiği ($P < 0.05$).



Grafik 4.2. İkinci protokolde (n=6) uygulanan modele göre bazal ventilasyonun (preAİİH45 ve preAİİH60) poikilokapni boyunca (postAİİH65) arttığını gösteren zaman bağımlı ventilasyon grafiği ($P < 0.05$).

4.1.4. Ekspirasyon / CO₂ üretim oranı

Oluşturulan modellerde inspire edilen havanın, üretilen CO₂ miktarına oranı birinci protokolde bazal ekspirasyon / CO₂ üretimi (V_E/V_{CO_2}) oranı preAAİH60 zaman noktasına göre postAAİH65 zaman noktasında anlamlı ($P < 0.05$) olarak azaldığı bulundu. İkinci protokolde ise preAAİH30 zaman noktasına göre postAAİH65 zaman noktasında anlamlı ($P < 0.05$) olarak azaldığı bulundu. Tablo 4.2' de gösterilen bu değerlere göre her iki protokolde de akut poikilokapni boyunca V_E/V_{CO_2} oranının kısa süreli hiperventilasyona bağlı olarak ekspire edilen CO₂ miktarında azalmaya yol açtığı bulundu.

Tablo 4.2. V_E / CO_2 üretimi oranı.

Ekspirasyon / VCO ₂	ZAMAN							
	preAAİH30	Hnöbet	preAAİH45	preAAİH60	postAAİH15	postAAİH60	postAAİH65	p
V_E / V_{CO_2}								
Protokol 1	6720.92± 1417.89 ^{ab}	8420.18± 1022.30 ^{ab}	8444.88± 1877.42 ^{ab}	8583.55± 883.60 ^a	6745.87± 2504.11 ^{ab}	18615.47± 57811.94 ^{ab}	3436.15± 1908.19 ^b	0.001
Protokol 2	6238.67± 1157.67 ^a	-	5666.42± 1729.35 ^{ab}	5455.57± 1630.42 ^{ab}	6236.24± 2082.86 ^{ab}	5851.88± 1374.28 ^{ab}	2021.50± 738.42 ^b	
p	0.549		0.041	0.011	0.721	0.398	0.179	

Değerler ortalama ± standart hatadır ve 175 dakikalık kayıt sonucunda belirli zamanlarda elde edilen ventilasyon ve karbondioksit tüketimi oranı değişimini ifade eder. Sağ sütundaki P değeri zamana göre farklılık, alt satırdaki P değeri gruplar arasındaki bireysel farklılıktır ($P < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.).

Uygulanan iki farklı protokol arasında V_t ve V_i değerlerinin tüm zaman noktalarında anlamlı ($P > 0.05$) bir farklılık bulunmamasına rağmen sadece AAİH modeli uygulamasının 30 dakika öncesinde (preAAİH30) bazal f_R üzerine etkisi birinci protokolde anlamlı ($P < 0.05$) olarak daha düşük bulundu (Tablo 4.1.). Bu bulgu oluşturulan gruplardaki deneklerin aklimatizasyon süreçlerinde bireysel farklılıklar olabileceğini gösterdi.

4.2. ARTERİYEL KAN GAZLARI VE METABOLİZMA

4.2.1. Arteriyel pH ve kan gazlarındaki değişiklikler

Protokollerde belirtilen zaman süreçlerinde femoral arterden alınan kan örneklerinin analizi sonrası arteriyel pH, P_{aO_2} ve P_{aCO_2} değerleri tablo 4.3' de gösterilmiştir. Zaman bağımlı protokollerde P_{aO_2} değeri hipoksinin, P_{aCO_2} değeri ise hiperkapninin şiddetini belirlemek için kullanıldı. pH' daki değişim ise CO_2 parsiyel basıncına bağlı olarak solunumsal asidoz ve/veya alkaloz değerini belirlemek için kullanıldı.

4.2.1.1. Arteriyel kan pH' sındaki değişiklikler

Buna göre; birinci protokolde AAİH öncesi 60. dakikadaki (preAAİH60) bazal pH değeri AAİH sonrası 15. dakikadaki (postAAİH15) pH değerine göre anlamlı ($P < 0.05$) olarak daha yüksek olduğu ve solunumsal alkalozu gösterdiği bulundu. İkinci protokolde ise pH, AAİH sonrası 65. dakikada (postAAİH65) AAİH sonrası 60. dakikaya (postAAİH60) göre anlamlı ($P < 0.05$) olarak daha düşük olduğu ve ventilasyona bağlı olarak solunumsal alkaloz değerinde düşme olduğu belirlendi. Gruplar arasında ise AAİH hemen sonrasında (AAİH) birinci protokolde uygulanan modele göre ikinci protokolde uygulanan modeldeki pH değeri daha yüksek bulundu. Aynı şekilde AAİH sonrası 60. dakikada (postAAİH60) birinci protokole göre ikinci protokolde uygulanan modeldeki pH değeri yüksek tespit edildi.

4.2.1.2. Arteriyel kan parsiyel CO_2 basıncındaki (P_{aCO_2}) değişiklikler

P_{aCO_2} değeri birinci protokolde AAİH öncesi 60. dakikaya (preAAİH60) göre AAİH sonrası 15. dakikada (postAAİH15) ve 60. dakikada (postAAİH60) anlamlı ($P < 0.05$) olarak daha düşük bulundu. Buna göre postAAİH15 zaman sürecinde bazal arteriyel parsiyel CO_2 basıncının hafif derecede solunumsal asidozu gösterdiği, normaksi koşullarının devam etmesiyle postAAİH60 zaman sürecinde ise basınçta azalma olmasına rağmen normal aralığında olduğu bulundu. İkinci protokolde ise AAİH öncesi 60. dakika (preAAİH60) ve AAİH hemen sonrasına (AAİH) göre AAİH sonrası 60. dakikadaki (postAAİH60) arteriyel parsiyel CO_2 basıncı anlamlı ($P < 0.05$) olarak daha düşük bulundu. Buna göre bazal arteriyel parsiyel CO_2 basıncının AAİH boyunca bir değişim göstermediği ve postAAİH60 zaman sürecinde ise basıncın azalmasına rağmen

normal aralığında olduğu bulundu. Gruplar arasında ise tüm zaman süreçlerinde anlamlı ($P > 0.05$) bir farklılık bulunmadı.

4.2.1.3. Arteriyel kan parsiyel O₂ basıncındaki (PaO₂) değişiklikler

PaO₂ değerleri tablo 4.3' de gösterildiği üzere her iki protokolde de sadece AAİH hemen sonrasında (AAİH), AAİH sonrası ve öncesine göre tüm zaman süreçleri boyunca anlamlı ($P < 0.05$) olarak azalmıştır. AAİH öncesindeki bazal PaO₂ değerleri normaksik koşulları gösterdiği bulundu. AAİH hemen sonrasındaki PaO₂ değerleri ise her iki protokolde uygulanan %10' luk oksijen inspirasyonunun orta şiddette hipoksiye neden olduğunu gösterdi. Ayrıca AAİH sonrası normal koşullara dönülmesiyle reoksijenizasyonun sağlandığı bulundu. Gruplar arasında ise sadece AAİH sonrası 15. dakikada (postAAİH15) anlamlı bir farklılık bulundu. Buna göre tek bir hipoksik nöbetin uygulandığı birinci protokolde reoksijenizasyonun toparlanma süresine olumlu bir katkı sağlandığı gösterildi.

Tablo 4.3. Arteriyel pH ve kan gazlarının (PaO₂, PaCO₂) zaman bağımlı protokollere göre değişimi.

Arteriyel Kan Gazı Değişkenleri	ZAMAN						p
	preAAİH60	Hnöbet	AAİH	postAAİH15	postAAİH60	postAAİH65	
pH(T)							
Protokol 1	7.43±0.02 ^a	7.44±0.01 ^{ab}	7.43±0.02 ^{ab}	7.46±0.02 ^b	7.46±0.01 ^{ab}	7.45±0.02 ^{ab}	
Protokol 2	7.46±0.02 ^{ab}	-	7.46±0.02 ^{ab}	7.48±0.02 ^{ab}	7.49±0.03 ^a	7.46±0.03 ^b	
p	0.078		0.020	0.220	0.030	0.560	
PaCO₂(T)							
Protokol 1	45.20±4.15 ^a	37.00±1.22 ^{ab}	41.60±5.59 ^{ab}	33.80±2.95 ^b	35.20±3.83 ^b	37.60±1.67 ^{ab}	
Protokol 2	42.80±5.17 ^a	-	45.00±5.66 ^a	37.83±2.73 ^{ab}	36.83±3.49 ^b	41.83±4.67 ^{ab}	
p	0.441		0.345	0.690	0.478	0.088	
PaO₂(T)							
Protokol 1	99.00±10.22 ^a	98.40±10.26 ^a	52.80±2.17 ^b	95.60±9.04 ^a	101.60±10.83 ^a	117.00±6.56 ^a	
Protokol 2	101.20±5.85 ^a	-	48.83±4.62 ^b	85.33±5.39 ^a	88.00±9.90 ^a	103.67±14.39 ^a	
p	0.687		0.113	0.044	0.058	0.090	

Değerler ortalama ± standart hatadır ve 175 dakikalık kayıt sonucunda belirli zamanlarda örnek olarak alınan arteriyel kan analizlerinin değişimini ifade eder. Alt satırdaki P değeri zamana göre farklılık, sol sütundaki P değeri gruplar arasındaki bireysel farklılıktır ($P < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.).

4.2.2. Metabolizmadaki değişiklikler

Ventilasyon ölçümleri ile eş zamanlı olarak yapılan oksijen tüketimi (VO_2 ; mL/min. 100 g), karbondioksit üretimi (VCO_2 ; mL/min . 100 g) ve respiratuar değişim oranı (R) değerleri tablo 4.4' de gösterildi. Bulgulara göre her iki protokol için VO_2 değerlerinin tüm zaman süreçlerinde anlamlı ($P > 0.05$) bir farklılığı bulunmadı. Gruplar arasında sadece AAİH sonrası 15. dakikada (postAAİH15) ve 60. dakikada (postAAİH60) arasında oksijen tüketiminde anlamlı ($P < 0.05$) bir farklılık bulundu.

Birinci protokolde VCO_2 bazal değeri AAİH öncesi 60. dakikaya (preAAİH60) göre AAİH sonrası 65. dakikada (postAAİH65) anlamlı ($P < 0.05$) olarak artmıştır. İkinci protokolde ise AAİH öncesi 30., 45. ve 60. dakikalara (sırasıyla preAAİH30, 45 ve 60) göre AAİH sonrası 65. dakikada (postAAİH65) anlamlı ($P < 0.05$) olarak arttığı bulundu. Gruplar arasında ise herhangi bir anlamlı bir farklılık görülmedi.

Respiratuar değişim oranı, birinci protokolde AAİH öncesi 60. dakikaya (preAAİH60) göre AAİH sonrası 65. dakikada (postAAİH65) CO_2 tüketimine bağlı olarak anlamlı ($P < 0.05$) olarak artmıştır. İkinci protokolde ise AAİH öncesi 30. dakikaya (preAAİH30) ve AAİH sonrası 15. dakikaya (postAAİH15) göre AAİH sonrası 65. dakikada (postAAİH65) anlamlı ($P < 0.05$) olarak arttığı bulundu. R değerindeki bu artış protokollerde uygulanan akut poikilokapni ile CO_2 üretimindeki artmaya bağlı olduğunu gösterdi. Gruplar arasında ise sadece AAİH öncesi 60. dakikada (preAAİH60) tek bir hipoksik nöbetin neden olduğu oksijen tüketime bağlı olan anlamlı ($P < 0.05$) bir farklılık bulundu.

Tablo 4.4. Oksijen (O₂) tüketimi, karbondioksit (CO₂) üretimi ve respiratuar değişim oranı (R) değerlerinin zaman bağımlı protokollere göre değişimi.

Metabolizma Parametreleri	ZAMAN							
	preAAİH30	Hnöbet	preAAİH45	preAAİH60	postAAİH15	postAAİH60	postAAİH65	p
VO₂ (mL/min 100g)								
Protokol 1	0.051± 0.024	0.055± 0.026	0.048± 0.027	0.048± 0.015	0.053± 0.013	0.037± 0.026	0.051± 0.027	0.394
Protokol 2	0.060± 0.025	-	0.061± 0.028	0.059± 0.027	0.076± 0.019	0.071± 0.014	0.060± 0.019	0.213
p	0.537		0.443	0.447	0.045	0.020	0.384	
VCO₂ (mL/min 100g)								
Protokol 1	0.03656± 0.01669 ^{ab}	0.03714± 0.01704 ^{ab}	0.03427± 0.01901 ^{ab}	0.02503± 0.00199 ^a	0.04756± 0.02192 ^{ab}	0.03534± 0.02813 ^{ab}	0.14694± 0.14503 ^b	0.002
Protokol 2	0.05073± 0.02335 ^a	-	0.05090± 0.02550 ^a	0.04970± 0.02493 ^a	0.05262± 0.01125 ^{ab}	0.04981± 0.01125 ^{ab}	0.22288± 0.08374 ^b	0.000
p	0.286		0.260	0.060	0.632	0.275	0.304	
R								
Protokol 1	0.625± 0.192 ^{ab}	0.584± 0.117 ^{ab}	0.608± 0.116 ^{ab}	0.435± 0.080 ^a	0.755± 0.294 ^{ab}	0.769± 0.387 ^{ab}	2.141± 1.196 ^b	0.001
Protokol 2	0.528± 0.405 ^a	-	0.757± 0.125 ^{ab}	0.765± 0.117 ^{ab}	0.644± 0.106 ^a	0.639± 0.109 ^a	3.580± 2.075 ^b	0.000
p	0.638		0.072	0.001	0.407	0.504	0.205	

Değerler ortalama ± standart hatadır ve 175 dakikalık kayıt sonucunda belirli zamanlarda elde edilen metabolizma analizlerinin değişimini ifade eder. Alt satırdaki P değeri zamana göre farklılık, sol sütundaki P değeri gruplar arasındaki bireysel farklılıktır (P < 0.05 anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.).

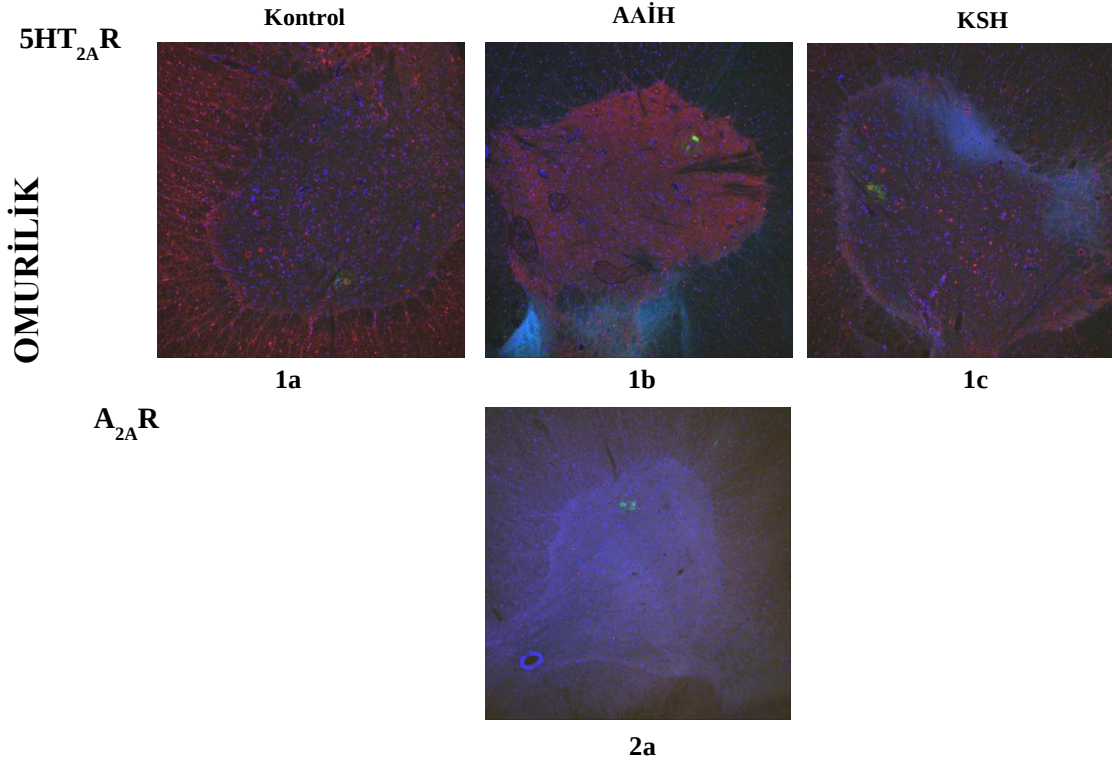
4.3. LTF OLUŞUMU İÇİN ÖNERİLEN SİNYAL MEKANİZMASININ OMURİLİK VE BEYİN SAPINDAKİ AKTİVASYONUNUN FARKLI HİPOKSİK KOŞULLARDA KARŞILAŞTIRILMASI

4.3.1. AAİH ve KSH koşullarında frenik sinir üzerinde aktive olan reseptör ve proteinlerin ekspresyonları

İmmüno Floresan görüntüleme yöntemi kullanılarak frenik motor sinir nöronlarının sinapsları üzerinde ekspresyona olan reseptör ve proteinleri etiketlemek için kullanılan özgül antiserumların (kırmızı), frenik sinirin lokalizasyonunu referans eden CtB

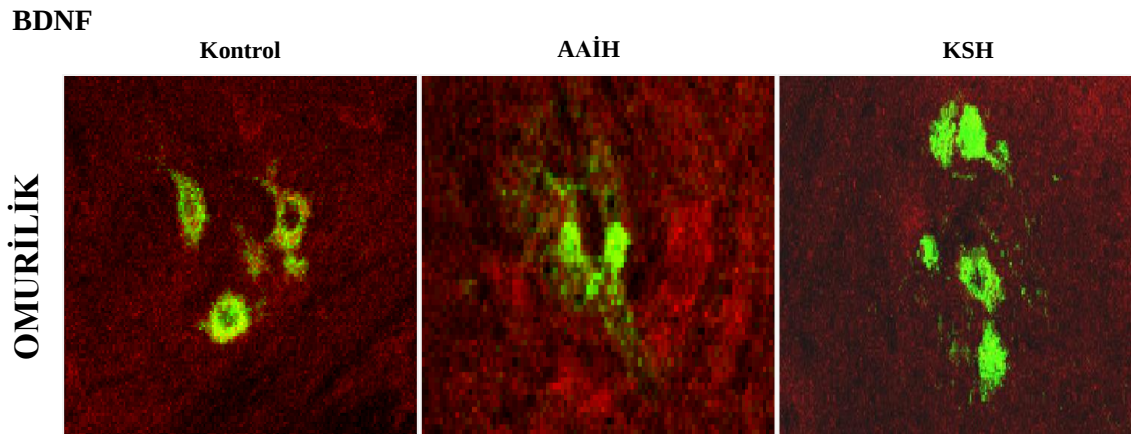
etiketlemesi (yeşil) yapılan bölgelerdeki yoğunluğu dikkate alınarak reseptör ve proteinlerin lokalizasyonu yapıldı. Ayrıca yoğunluğa bağlı olarak ekspirese olan reseptör ve proteinlerin aktivasyonları değerlendirildi.

Aralıklı hipoksinin indüklediği frenik uzun süreli fasilitasyonun (pLTF) oluşumu için önerilen sinyal yolağı mekanizmasına göre AAİH grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 5HT_{2A}R, CtB etiketlemesi yapılan bölgede aktive olduğu görüldü (Şekil 4.3.(1a) ve (1b)). Aynı zamanda 5HT_{2A}R aktivasyonunun KSH grubunda, AAİH grubuna göre CtB etiketlemesi yapılan bölgede yoğunluğunun daha düşük olduğu görüldü (Şekil 4.3.(1b) ve (1c)). Bu bulgu 5-HT salınımının AAİH grubunda daha çok gerçekleştiğini gösterdi. Buna karşın, AAİH grubunda 5HT_{2A}R aktivasyonu görülürken, A_{2A}R aktivasyonu görülmedi (Şekil 4.3.(1b) ve (2a)). AAİH hemen sonrasındaki PaO₂'deki düşüş de dikkate alındığında, uygulanan AAİH modelindeki oksijen gaz fraksiyonunun (F_{IO2}= %10) orta şiddetteki hipoksi için yeterli olduğunu ve 5HT_{2A}R aktivasyonuna neden olduğunu gösterdi.



Resim 4.1. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki 5HT_{2A}R ve A_{2A}R lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Yeşil; CtB etiketlemesi, Mavi; nükleuslar, Kırmızı; 5HT_{2A} ve A_{2A}reseptörleri etiketlemesi.).

BDNF proteininin frenik sinir sinapslarındaki ekspresyonunun kontrol grubuna göre AAİH grubunda daha çok olduğu görüldü. Buna karşın hem kontrol grubuna göre hem de AAİH grubuna göre KSH grubundaki BDNF proteini ekspresyonunun daha az olduğu görüldü (Şekil 4.4). Bu bulgu AAİH modeli uygulanmasıyla, 5HT_{2A}R aktivasyonunun BDNF ekspresyonunu frenik motor sinir nöronlarının sinapslarında arttırdığını gösterdi.

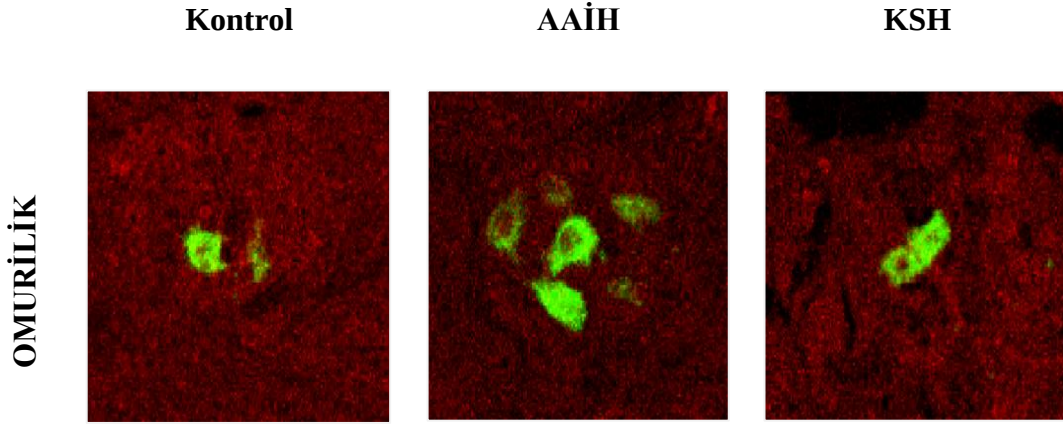


Resim 4.2. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki BDNF lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Yeşil; CtB etiketlemesi, Mavi; nükleuslar, Kırmızı; özgül BDNF proteini etiketlemesi.)

Şekil 4.5' de gösterildiği üzere pERK protein ekspresyonunun frenik frenik motor sinir nöronlarının sinapslarında kontrol grubuna göre AAİH grubunda daha yoğun olduğu görüldü. KSH grubunda ise her iki gruba göre pERK ekspresyonunun daha az olduğu görüldü.

Bu bulgulara göre frenik sinir sinapslarında, 5HT salınımı ile aktive olan 5HT_{2A}R'lerinin BDNF ekspresyonunu arttırdığı ve BDNF proteininin artması ile de pERK proteininin artması orta şiddetteki aralıklı hipoksinin indüklediği pLTF için önerilen moleküler sinyal yolağında Q yolağı yönüne kaydığı bulundu.

pErk

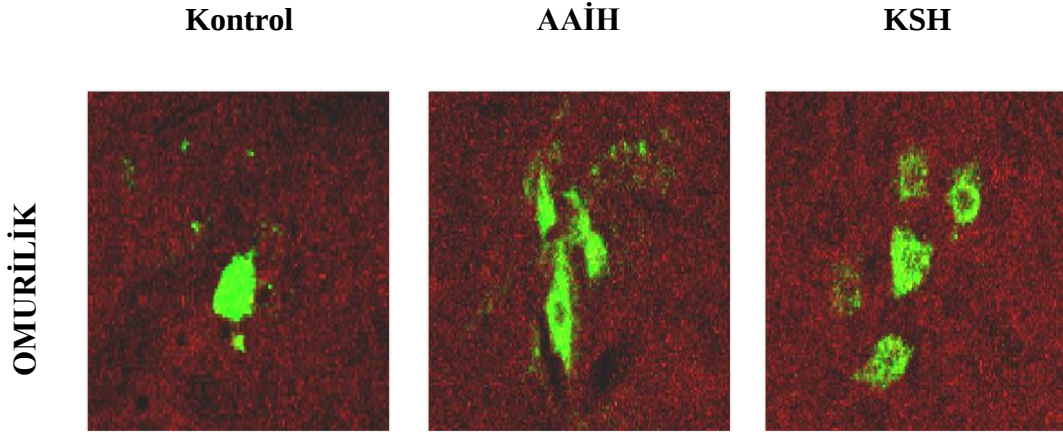


Resim 4.3. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki pERK lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Yeşil; CtB etiketlemesi, Mavi; nükleuslar, Kırmızı; özgül pErk proteini etiketlemesi.).

Frenik motor sinir nöronlarının sinapslarında pAkt (veya pPKB) protein ekspresyonunun kontrol grubuna göre AAİH grubunda daha yoğun olduğu görüldü. Buna karşın pAkt yoğunluğu her iki gruba göre KSH grubunda daha yoğun olduğu görüldü (Şekil 4.6).

Bu bulgulara göre ise orta şiddette oksijen gaz fraksiyonu uygulanan aralıklı hipoksi modelinde fasilitasyona yol açan mekanizmalardan Q yolağını kullandığı bulundu. Fakat bu çalışmada uygulanan AAİH modelinde $A_{2a}R$ aktivasyonunun gerçekleşmemesi ve pAkt proteinlerinin aynı hipoksik şiddette uygulanan sürekli hipoksi modelinde daha çok ekspresyon olması sürekli hipoksinin S yolağına çapraz-cevap inhibasyon etkileşimi gerçekleştirdiğini gösterdi.

pAkt



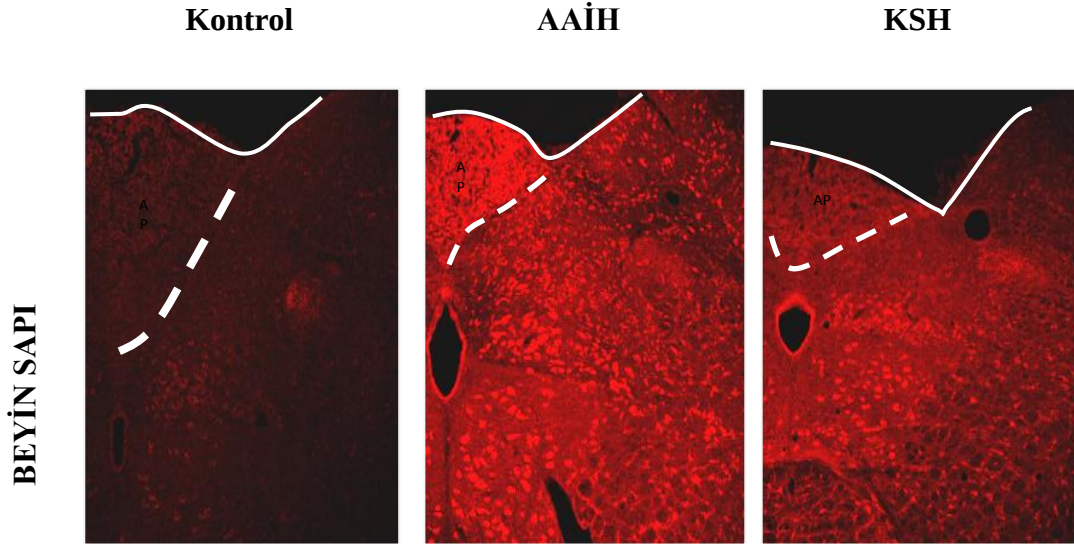
Resim 4.4. Omurilik C3-C5 seviyesinde frenik sinir üzerindeki pAkt (veya pPKB) protein lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Yeşil; CtB etiketlemesi, Mavi; nükleuslar, Kırmızı; özgül pAkt proteini etiketlemesi.).

4.3.2. AAİH ve KSH koşullarında beyin sapı üzerinde aktive olan reseptör ve proteinlerin ekspresyonları

İmmüno Floresan görüntüleme yöntemiyle beyin sapı üzerinde ekspresyona olan proteinleri etiketlemek için kullanılan özgül antikorların (kırmızı) ekspresyonlarının yoğunluğu dikkate alınarak lokalizasyonu yapıldı. Ayrıca yoğunluğa bağlı olarak ekspresyon olan proteinlerin aktivasyonları değerlendirildi.

Buna göre Şekil 4.7' de gösterildiği üzere AAİH grubunda, beyin sapı üzerinde BDNF proteini ekspresyonunun diğer gruplara göre daha fazla olduğu görüldü. KSH grubunda ise BDNF proteini ekspresyonu kontrol grubuna göre daha yoğun olduğu görüldü.

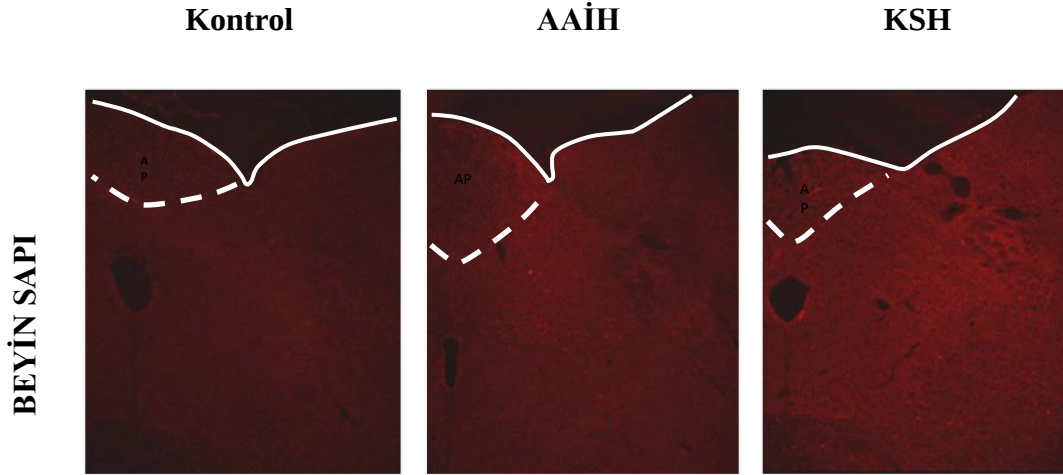
BDNF



Resim 4.5. Beyin sapındaBDNF lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Kırmızı; nükleuslar üzerindeki özgül BDNF etiketlemesi.).

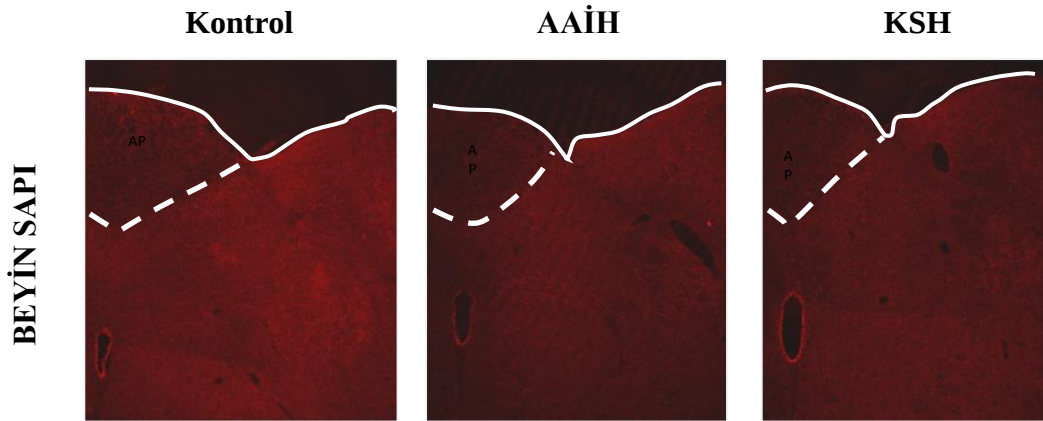
Aynı lokasyonlar kullanılarak etiketleme yapılan beyin sapı kesitleri üzerinde pERK (Şekil 4.8) ve pAkt (Şekil 4.9) protein ekspresyonlarının kontrol grubunda ve hiç bir hipoksik grupta gerçekleşmediği görüldü. Çalışmamızda oluşturulan AAİH modeli uygulaması frenik sinirde Q yolağını kullanarak pLTF oluşmasına neden olduğu görüldü. Fakat beyin sapı üzerinde BDNF proteini ekspresyonunun gerçekleşmesi, pERK veya pAkt ekspresyonlarının gerçekleşmemesi solunumsal LTF oluşumu için yeterli olmadığı görüldü.

pErk



Resim 4.6. Beyin sapındapERK lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Kırmızı; nükleuslar üzerindeki özgül pErk proteini etiketlemesi.).

pAkt



Resim 4.7. Beyin sapındapAkt (veya pPKB) protein lokalizasyonu ve aktivasyonu. (Kırmızı; nükleiler üzerindeki özgül pAkt etiketlemesi.).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sistemik hipoksi periyodlarına maruz kalınmasıyla karotid organ içerisinde yer alan arteriyel kemoreseptörler aracılığıyla oluşan HVR, vücudun ilk savunma hattıdır (235). Karotid organların normal koşullar (Pa_{O_2} = 90-100 mmHg) altında tonik bir çıktı cevabı sağladığı ve sadece orta şiddetteki hipoksi (Pa_{O_2} =45-55 mmHg) seviyelerinde aktive olmaya başladığı bulunmuştur (302). Ventilasyonun hipoksiye verdiği cevabın net etkisi, hipoksiye maruz kalmanın modeli ve yoğunluğuna bağlı olan farklı mekanizmalar arasındaki etkileşimlerle gerçekleşmektedir. Bu değişimler saniyelerden yıllara kadar sürebilen ventilasyonun ya fasilasyonu ya da depresyonu ile sonuçlandığı görülmüştür (5). Bu çalışmada birinci protokolde uygulanan kısa süreli tek bir hipoksik nöbete (Hnöbet) maruz kalmanın ardından tekrar normoksik koşula dönülerek reoksijenizasyonun sağlanmasıyla V_i ve ventilasyon bileşenleri f_R ve V_t üzerinde hipoksik nöbetten kaynaklanan HVR' de anlamlı bir artış bulunmadı (Tablo 4.1). Bu da normoksik koşullarda reoksijenizasyonun sağlanmasıyla karotid organların tonik çıktı cevabı tekrar sağlanması, Tablo 4.3' de gösterilen Pa_{O_2} ve Tablo 4.4' de gösterilen V_{O_2} değerleri de göz önünde bulundurulduğunda, HVR' nin bazal seviyede olmasına neden olduğunu göstermektedir.

Bu tez çalışması, hücrel sinyal ve nöral plastisite açısından solunumsal LTF ve VAH oluşum mekanizmalarının benzerlik ve farklılıklarını karşılaştıran az sayıdaki deneysel çalışmalardan birisidir. Solunumun şiddeti, sürekliliği ve modeli bakımından bu durumlar incelendiğinde anestezi edilmemiş sıçanlardaki solunumsal LTF oluşumu, anestezi altında vagotomize ve ventile edilen sıçanlarda, AAH ile indüklenen frenik sinir aktivasyonu ile oluşan frenik LTF açısından benzerlik göstermektedir (13, 217, 223, 374, 375). Buna karşın yapılan bir başka çalışmada solunumsal LTF oluşumu, anestezi edilmiş ve spontan nefes alan ratlarda gösterilememiştir (376). Janssen ve Fregosi (376) ile Olson ve ark. (223) solunumsal LTF oluşumunu göstermek için

yaptıkları iki farklı çalışmada buldukları sonuçlar arasındaki tutarsızlığa neden olan iki farklı duruma açıklama getirilebilir. Bu durumlardan ilki, Olson' ın çalışmasına zıt olarak Janssen ve Fregosi anestezi edilmiş sıçanlarda çalışmışlardır. Araştırmacıların da işaret ettiği gibi LTF oluşumunun gözlenebilmesi için P_{aCO_2} değeri, apne eşik değerine yakın olması gerekmektedir (376). İkincisi, Janssen ve Fregosi, V_i / V_{CO_2} veya frenik sinir aktivitesi ölçümü yapmamışlardır. Bunun yerine dil ve interkostal kas EMG aktivitesinin yanısıra özofagus basıncını da monitörize etmişlerdir (376). Çalışmalarında rapor ettikleri özofagus basıncı, aralıklı hipoksi sonrası bazal 60. ve 90. dakikalar arasında anlamlı olmayan bir artış göstermiştir (376). Olson ve ark. çalışmalarında ise anestezi edilmemiş sıçanlarda solunumsal LTF oluşumunda dil veya interkostal kas aktivitesinde hiç bir değişiklik gözlenmemiştir (223). Bu tez çalışması da Olson ve ark. yaptıkları çalışmaya benzer olarak Tablo 4.1' de V_i ve ventilasyon bileşenleri f_R , V_t değerlerinin zaman bağımlı değişimleri gösterilmiştir. Bunun yanında Tablo 4.2' de ise V_E / V_{CO_2} oranı aynı zaman noktalarında gösterilmiştir. Bulunan bu sonuçlara göre f_R ölçümünde hiç bir zaman noktasında anlamlı bir farklılık çıkmaması solunum frekansı değişmeden LTF' nin oluşabileceğini sonuç olarak gösteren çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ayrıca preAAIH30 zaman noktasında protokoller arasında bulunan f_R ' deki anlamlı farklılık da bireyler arasında aklimatizasyon süresi ve buna bağlı olarak solunum frekansı yönünden farklılıklar olabileceğini göstermiştir. Fakat LTF' nin öncelikli olarak ritim jenerasyonuna karşın, solunum modeli formasyonu etkisi üzerinden oluştuğu da başka çalışmalarda öngörülmektedir (9, 10, 17). Hipoksi ve hiperkapni ile birlikte oluşturulan protokollerde kullanılan farklı gaz konsantrasyonlarına maruz kalınma süresi ve sıklığı, solunum modeli formasyonunu etkilemektedir. Uyanık ve anestezi altındaki değişik hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda LTF, hem bazal ventilasyondaki artma hem de frenik sinir aktivitesi genliğinin artması olarak gözlenmiştir (15, 224, 237, 238). Aynı zamanda vLTF oluşumu uyku-uyanıklık durumlarına, türlere ve hipoksiyi indükleyen protokollere de bağlıdır (4, 239). Yapılan bazı çalışmalarda vLTF oluşumunun genioglossal, hipoglossal ve interkostal motor cevapları ile frenik sinir cevabın oluşturduğu toplam plastisiteyi gösterdiği vurgulanmıştır (9, 239, 240). Tablo 4.1' de gösterildiği üzere Olson ve ark. yaptığı çalışmanın aksine bu tez çalışmasında solunumsal LTF oluşumunun gösterilememesi, oluşturulan protokolde AAH ile birlikte izokapnik hiperkapninin eş zamanlı uygulanmasının ventilasyonun depresyonuna neden

olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalarda AAH tarafından indüklenen solunumsal LTF oluşumu ventilasyonun fasilitasyonuna neden olduğu gösterilmiş (13, 217, 218, 233) fakat hiperkapni boyunca, solunum aktivitesinin ilk önce arttığı ve daha sonra hiperkapninin devam etmesiyle dereceli olarak düştüğü de rapor edilmiştir (197). Hiperkapni dakikalar sonra sonlandığında, her iki hiperkapni modeli olan aralıklı ve sürekli hiperkapninin, uzun süreli depresyona neden olduğu başka çalışmalarda sonuç olarak bulunmuştur (145, 198). Bu çalışmaların sonuçları göz önüne alındığında, bu tez çalışmasında AAH ile eş zamanlı uygulanan izokapnik hipoksik nöbetlerin solunumun fasilitasyonu yerine depresyonuna yol açtığı gözlenmiş ve vLTF oluşumunu gösteren bir sonuç bulunmamıştır.

Solunumsal LTF ve frenik LTF oluşumu arasında belli farklılıkların olduğu da çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Anestezi altındaki sıçanların aralıklı hipoksiye maruz kaldıktan 60 dakika sonrasındaki frenik genlikteki artışı %63 (217), %37 (375), %78 (13) ve %57 (243) oranlarında rapor edilmiştir. Aynı zamanda bir başka çalışmada AAİH sonrası ventilasyon, bazal ventilasyona göre %22 oranında artmış olarak bulunmuştur (223). Bunlara zıt olarak bu tez çalışmasında AAİH uygulamasının 60 dakika sonrasında ventilasyonda bir artışın bulunmamasından dolayı solunumsal LTF oluşumu görülmedi. Bu sonuçlara göre anestezi altındaki vagotomize ratlarla, anestezi edilmemiş ratlar arasında LTF oluşumundaki bu belli kantitatif farklılıklar, sağlam bir inhibitör geribildirim sistemini yansıtır olabileceğini düşündürmektedir. Bundan farklı olarak Grafik 4.1 ve Grafik 4.2' de gösterildiği üzere, kısa zamanlı poikilokapnik hiperkapni uygulamasının bazal ventilasyonu arttırdığı bulunmuştur. Hiperkapninin, yapılan bir çalışmada refere edildiği gibi kısa süreli bu uygulaması ve 5 dakika gibi kısa bir zaman süresi (197) ile sınırlandırılması solunum aktivitesini arttırmış ve HCVR oluşumu gözlenmiştir. Bunun yanında V_E / V_{CO_2} oranının gösterildiği Tablo 4.2' de bazal V_E / V_{CO_2} oranının her iki protokolde bulunan poikilokapnik hiperkapni uygulaması sonrasında azaldığı bulunmuş ve HCVR ile ventilasyonun arttığı gösterilmiştir.

Bu tez çalışması için belirlenen protokollere içerisinde farklı zaman noktalarında alınan kan örneklerinin analizi, Tablo 4.3' de zaman bağımlı protokollerde gösterildiği üzere Pa_{O_2} değeri hipoksinin, Pa_{CO_2} değeri ise hiperkapninin şiddetini belirlemek için kullanıldı. pH' daki değişim ise CO_2 parsiyel basıncına bağlı olarak solunumsal asidoz ve/veya alkaloze değerini belirlemek için kullanıldı. Bulunan sonuçlara göre AAİH

hemen sonrası arteriyel Pa_{O_2} 'nin her iki protokolde uygulanan AAİH modelinin, orta şiddetteki (45-55 mmHg Pa_{O_2}) hipoksi sınırları için tanımlanan değerler (13) arasında olduğu bulunmuştur. Frenik LTF oluşumu aralıklı hipoksi sonrasında değil, aralıklı hipoksi boyunca 5-HT reseptör aktivasyonunu (217, 375) gerektirdiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Buna karşın hiperkapni tarafından indüklenen frenik depresyona, α_2 adrenerjik reseptör aktivasyonundan kaynaklandığı yapılan bir çalışmada gösterilse de (159), Pa_{CO_2} değerinin AAİH hemen sonrasında anlamlı olarak değişmemesi, aralıklı hipoksik uyarılarla aktive olan 5-HT_{2A} reseptörleri ile α_2 adrenerjik reseptörlerinin birbirleri üzerindeki etkileşimden kaynaklandığını düşündürmektedir (14, 145, 242, 245). Fakat AAİH hemen sonrasında Pa_{CO_2} değerinde anlamlı bir artış olmamasına rağmen postAAİH60. dakikadaki Vi 'de da bir artışın olmaması (Tablo 4.1) ve kan gazı analizinin postAAİH60 noktasındaki değerlerin bazal ölçüme göre anlamlı bir farklılığın olmaması, solunumun uzun bir zaman süresi içerisinde deprese olup daha sonra artmasıyla da ventilasyonun dengelediğini göstermektedir.

Kronik sürekli hipoksi (KSH) boyunca oluşan ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) sırasında da HVR arttığı gösterilmiştir (5, 26). Bu konu hakkında yapılan ilk çalışmalarda, VAH altında yatan hücresel mekanizmanın sadece LTF mekanizmasına bağlı olarak tanımlanabileceği düşünülmüştür (8). Fakat LTF oluşum mekanizmasının, VAH oluşumunu tamamen açıklamak için yeterli olmadığı düşünülmektedir (16). VAH oluşumu, bir kaç saat veya aylarca KSH'ye maruz kalınmasıyla oluşan, ventilasyonun zamana bağlı bir artışıdır (21, 22). Fizyolojik olarak ventilasyonun artmasına neden olan bu olayın anlamlılığı O_2 taşınmasındaki artışla ifade edilmektedir (23). VAH oluşumunun merkezi kemosensitivitedeki değişikliklerle birlikte, BOS ve arteriyel pH'nın ayarlanmasıyla kronik respiratuar alkalozis ile sonuçlandığı düşünülmüştür. Fakat hipoksi ile indüklenen beyin dokusu asiditesinin de VAH oluşumunun açıklaması için yetersiz olduğu düşünülmektedir (22). Yapılan çalışmalarla karotid organ oksijen duyarlılığının, VAH oluşumuna yol açan bir mekanizması olduğu genel anlamda kabul edilmektedir. VAH oluşumu, HVR'nin afferent kolunun oksijen duyarlılığındaki önemli değişikliklerle karakterize edilmektedir. KSH boyunca oksijen duyarlılığının artmasının altında yatan hücresel mekanizma, karotid organın glomus hücrelerindeki potasyum ve kalsiyum kanallarının durumunun değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (24).

LTF oluşumu da periferel kemoreseptör stimölasyonu sonucu medulla üzerinde bulunan NTS bölgesi içindeki CSN sinapslarının afferent fiberlerinde özgün olarak oluşmaktadır (16). Karotid organ sinapsları NTS bölgesinde sonlandığından dolayı LTF ve VAH oluşumları hücresel sinyal ve nöral plastisite açısından karşılaştırılabileceğı bu tez çalışmasının spesifik bir amacını oluşturmaktadır. Çalışmamızda normal koşullara ve KSH' ye maruz bırakılan sıçanların solunum parametreleri ölçümü yapılmadı fakat bu iki grubun beyin sapı ve spinal kord (C3-C5) doku örnekleri LTF için tanımlanan hücresel ve moleküler sinyal yolağındaki reseptör aktivasyonu ve protein oluşumunu, kontrol grubu ile her iki mekanizmayı karşılaştırmak için kullanıldı. Yukarıda da anlatıldığı gibi VAH oluşumunu açıklamak için, LTF oluşumuna neden olan serotonerjik mekanizma araştırmacılar tarafından yeterli bulunmamaktadır. Fakat bunun yanında LTF oluşumunun, aklimatizasyon boyunca sürekliliğı veya yokluğu üzerinde bugüne kadar yeterli sayıda çalışma da yapılmamıştır. LTF oluşumunun, nörokimyasal mekanizmasının tanımlanması için anestezi altındaki hayvan deneklerine ve frenik LTF oluşumuna odaklanılarak bir çok deney modeli tasarlanmıştır (239). Literatürde LTF oluşumu ilk kez tanımlanırken serotonin bağımlı bir mekanizma olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda LTF oluşumu için gereken hipoksik stimulus, aynı süredeki aralıklı epizodların toplamına karşılık gelen sürekli hipoksi ile değil aralıklı hipoksi sonrası oluştuğı da gösterilmiştir (217, 241). Bunun altında yatan sebebin ise 5-HT_{2A} reseptör alt tipi antagonist uygulamasının, VAH oluşumunu bloke etmemesi ve aynı şartlar altında 50 dakika boyunca aralıklı ve sürekli hipoksiye maruz kalınmasının, LTF oluşumuna neden olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (13). Başka bir çalışmada ise serotoninin bütün vücutta azaltılmasının ardından VAH oluşumu görülürken, LTF oluşumunun yok olduğu görülmektedir. LTF ve VAH oluşumu arasındaki potansiyel etkileşimler henüz üzerinde çok çalışılmamış bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu tez çalışmasında ilk defa AAİH tarafından indüklenen LTF oluşumu ve KSH süresince oluşan VAH mekanizmalarının hücresel sinyal ve nöral plastisitesi, hipoksinin ve hiperkapninin şiddeti ve süresi gibi etkenlere bağılı olarak karşılaştırılmıştır. pLTF ve solunumsal LTF orta şiddetteki AAH (45-55 mmHg Pa_{O2}) modeli (15, 217, 239, 377) ile kemirgenlerle çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda uygulanan modellerde pLTF, frenik motor fasilitasyon (pMF) oluşumunun spinal Gq protein çifti metabotropik serotonin

reseptörlerinin bu cevaba neden olmasında zorunlu ve gerekli (14) olduğunun bilinmesinden bu yana serotonin bağımlı "Q yolağı" ndan kaynaklandığını ifade etmişlerdir. pMF' ye neden olan farklı bir hücresel mekanizma adenosin 2A (261) veya serotonin tip 7 reseptör (263) gibi Gs protein çifti metabotropik reseptörlerinin aktivasyonu ile de başlatılmaktadır. Bizim ilk beklentilerimizin aksine bu özel yollar kompleks bir yolla (çapraz inhibisyon) pMF oluşumuna neden olmaktadır. Şiddetli AAH boyunca LTF oluşumu değişerek "S yolağı" na bağımlı olmasına rağmen bu değişimin nasıl meydana geldiği hala anlaşılamamıştır (25). Yapılan çalışmalarla, yollar arasındaki bu çapraz cevap inhibisyonu bir yolağın diğerini inhibe ettiğini ve böylece LTF' nin oluştuğunu hipotez olarak sunmuştur (25). Uyarıyı başlatan güç (5-HT₂ veya A_{2A} reseptör aktivasyonu) burada kilit faktördür. Resim 4.1' de gösterildiği üzere AAH ile indüklenen pLTF oluşumunda, 5-HT_{2A} reseptör aktivasyonu orta şiddetli araklı hipoksi uygulamasıyla aktive olduğu bulundu. KSH' ye maruz bırakılan sıçanların spinal kordlarında ise çok az aktive olduğu bulundu. Aynı zamanda bu bulgu, LTF oluşumu için gereken hipoksik stimulusun araklı hipoksi sonrası oluştuğunu da göstermiştir. Orta şiddette uygulanan AAH modelinde ise A_{2A} reseptör aktivasyonu ile pMF oluşumu görülmemesi şiddetli AAH şartlarda (25) yapılan çalışmayı desteklediğini göstermektedir. Gq yolağı içerisinde 5-HT_{2A} reseptör aktivasyonu ile ekspresyonu artan BDNF' de, AAH' nin indüklediği LTF için gerekli ve oluşumu için yeterli olduğu bulunmuştur (251). Çalışmamızda Resim 4.2' de AAH indüklemesi sonucu pLTF oluşumu, BDNF sentezinin diğer gruplara göre spinal kord frenik sinir sinapslarında daha yoğun olduğu gösterildi. Gq bağımlı sinyal yolağının hücre içi aşağı sinyal kaskadını göstermek için yapılan başka çalışmalarda ise BDNF sentezinin artması pErk sentezinin artmasına da neden olduğunu göstermiştir (199, 255). AAH boyunca BDNF salgılanmasının artması sonucunda Şekil 4.3' de gösterildiği üzere pErk protein sentezinin de arttığı gösterildi. Buna karşın spinal kord frenik sinir sinapsları üzerinde pAkt ekspresyonunda (Şekil 4.4), AAH sonrası önemli bir artış gözlenmemesi Dale ve ark. (284, 285) yaptıkları çalışmayı desteklemektedir. Bu tez çalışmasında pLTF oluşumu spinal kord frenik sinir sinapsları üzerinde gösterilse de vLTF oluşumu beyin sapı üzerinde toplam plastisiye neden olan bölgelerde gösterilememiştir. vLTF oluşumu yukarıda da belirtildiği gibi genioglossal, hipoglossal ve interkostal motor cevaplar ile frenik sinir cevabın oluşturduğu toplam plastisiteyi göstermektedir. Bu çalışmada Gs protein çifti indüklenmesine bağlı pLTF oluşumu

gerçekleşse de muhtemelen diğer motor sinirler üzerinde LTF oluşumu gerçekleşmediği için ventilasyonun toplam plastisitesini gösteren vLTF oluşumunu engellediğini düşünmekteleriz.

Aynı motor nöronlar üzerinde LTF oluşumuna yol açan bir başka yolak da metabotropik adenosin 2_A (A_{2A}) reseptör alt tipidir (261, 262). Şiddetli hipoksi boyunca büyük ölçüde adenosin oluşumu veya birikmesi A_{2A} reseptör aktivasyonunu arttırarak güçlü "S yolağı" aktivasyonunu oluşturur ve daha sonra Q yolağı baskılanır. LTF için geçerli mekanizma, yolakların baskınlığı arasındaki yarışma ile sonuçlanmaktadır (284, 285). LTF oluşumu için önerilen adenosine bağımlı bu yeni mekanizma, epizodların hipoksi şiddeti arttığında, normalde serotonine bağımlı olan mekanizmanın üstünlüğünü aldığı düşünülmektedir (25). Çalışmamızda orta şiddetteki AAİH protokolü ile pLTF oluşumuna neden olan "Q yolağı"nın hücresel basamakları gösterilmiştir. Bu bulgu Şekil 4.1' de gösterildiği üzere A_{2A} reseptör alt tipinin spinal kord frenik sinir sinapslarında aktive olmaması ile desteklenmiştir. Fakat "S yolağı"nın hücre içi aşağı sinyal kaskadında rol alan pAkt proteinlerinin AAİH duruma göre KSH durumunda daha çok sentezlenmesi (Şekil 4.4) hipoksik stimulusun şiddetinin yanında sürekliliğinin de nöral plastisite için önemli olduğunu göstermektedir. Beyin sapı üzerinde BDNF sentezinin gösterildiği Şekil 4.5' de, KSH ile de az da olsa BDNF sentezinin gerçekleştiği görülmektedir. Fakat KSH boyunca beyin sapı üzerinde pAkt sentezinin görülmemesi de hipoksik stimulusun plastisite oluşturmaları için yeterli zaman verilmediğini göstermektedir. Hipoksinin bazı seviyelerinde (şiddeti, süresi) inhibitör etkileşimler S veya Q yolaklarının birinin diğerini dengelemesi ile LTF oluşturmayaabilir ve bu da LTF oluşumunun duyarlılığıyla mümkün olmaktadır. ASH gibi uzun süreli hipoksiye maruz kalınma durumlarında büyük ölçüde adenosin oluşumu veya birikimi Q ve S yolaklarının dengelenmiş aktivasyonuna neden olarak, LTF oluşumunu engelleyebileceği düşünülmektedir (278). Ayrıca hiperkapni boyunca artan serotonin salınımı, dengeyi sağlamak için Q yolağı yönüne kaymış ve vLTF ekspresyonuna neden olduğu da yapılan başka çalışmalarda gösterilmiştir (279). AAH' yi takip eden solunumsal motor plastisite içerisinde, bir yolağın diğer bir yolağa üstünlüğü, hipoksinin şiddeti ve süresi gibi faktörlere veya spinal kord hasarı ve motor sinir hastalıklarının oluşturduğu durumlardaki değişikliğe bağlı olduğu düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre daha az şiddetteki aralıklı hipoksi protokolleri, terapatik uygulamalara bir alternatif olarak önerilmektedir (20).

Sonuç olarak orta şiddetli AAİH' nin indüklediğı frenik LTF oluşumu, frenik motor nöron sinapslarında gösterilmiş fakat toplam plastisiteyi gösteren vLTF oluşumu saptanamamıştır. Bu alışmada AAİH' nin indüklediğı vLTF oluşumuna neden olacağı düşünölen moleköler sinyal mekanizması içerisindeki S yolağının A2A reseptör alt tipi aktivasyonunun, ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonun gerçekleşmesinde asıl rolü oynadığı hipotez olarak sunulmuştur. Hipoksik periyotların sıklığı, şiddeti, süresi ve bunun yanında hipoksinin sürekliliğı göz önünde bulundurularak oluşum mekanizması açıklanmak istenen solunumsal uzun süreli fasilasyon ve ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyon oluşum mekanizmaları arasındaki etkileşimin A2A reseptör alt tipi aktivasyonu ile bağlantılı olduğı, hipotezimi doğırlamıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Jacono FJ. Control of ventilation in COPD and lung injury. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 189: 371–376.
2. Martini FH. The Respiratory System In: Martini FH, ed. *Fundamentals of Anatomy&Physiology*, 5th edition New Jersey, Prentice. Hall 2001; pp: 797-844.
3. Mitchell GS. Respiratory plasticity following intermittent hypoxia: a guide for novel therapeutic approaches to ventilatory control disorders. In *Genetic Basis for Respiratory Control Disorders*. 1st ed. Gaultier C, Springer, New York. 2007; pp: 291–306.
4. Mitchell GS, Terada J. Should we standardize protocols and preparations used to study respiratory plasticity? *Respir Physiol Neurobiol* 2011; 177: 92–97.
5. Powell FL, Milsom WK, Mitchell GS. Time domains of the hypoxic ventilatory response. *Respir Physiol* 1998; 112: 123–34.
6. Gesell R, Hamilton MA. Reflexogenic components of breathing. *Am J Physiol* 1941; 133: 694–719.
7. Millhorn DE, Eldridge FL, Waldrop TG. Prolonged stimulation of respiration by a new central neural mechanism. *Respir Physiol* 1980; 41: 87–103.
8. Eldridge FL and Millhorn DE. Oscillation, gating, and memory in the respiratory control system. In: *Handbook of Physiology. The Respiratory System. Control of Breathing*. Bethesda, MD: Am Physiol Soc, sect. 3, vol. II, pt. 1, chapt. 3, 1986, pp: 93–114.
9. Fregosi RF, Mitchell GS. Long-term facilitation of inspiratory intercostal nerve activity following carotid sinus nerve stimulation in cats. *J Physiol Lond* 1994; 477: 469–479.

10. Hayashi F, Coles SK, Bach KB, Mitchell GS, McCrimmon DR. Time-dependent phrenic nerve responses to carotid afferent activation: intact vs. decerebellate rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 1993; 265: 811–819.
11. Olson EB Jr. Physiological dead space increases during initial hours of chronic hypoxemia with or without hypocapnia. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1526–1531.
12. Mitchell GS, Johnson SM. Neuroplasticity in respiratory motor control. *J Appl Physiol* 2003; 94: 358–374.
13. Baker TL, Mitchell GS. Episodic but not continuous hypoxia elicits long-term facilitation of phrenic motor output in rats. *J Physiol* 2000; 529: 215–219.
14. Baker TL, Mitchell GS. Spinal serotonin receptor activation is necessary for phrenic long term facilitation following episodic hypoxia. *FASEB J* 2001; 15: A422.
15. Fuller DD, Bach KB, Baker TL, Kinkead R, Mitchell GS. Long term facilitation of phrenic motor output. *Respir Physiol* 2000; 121: 135–146.
16. McCrimmon DR, Dekin MS, Mitchell GS. Glutamate, GABA and serotonin in ventilatory control. In: *Regulation of Breathing*, edited by Dempsey JA and Pack AI Jr. New York: Dekker, 1995, pp: 151–218.
17. Cao KY, Zwillich CW, Berthon-Jones M, Sullivan CE. Increased normoxic ventilation induced by repetitive hypoxia in conscious dogs. *J Appl Physiol* 1992; 73: 2083–2088.
18. Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 1992; 72, 165–229.
19. Kubin L, Tojima H, Davies RO, Pack AI. Serotonergic excitatory drive to hypoglossal motoneurons in the decerebrate cat. *Neurosci Lett* 1992; 139: 243–248.
20. Dale-Nagle EA, Hoffman MS, MacFarlane PM, Mitchell GS. Multiple pathways to long-lasting phrenic motor facilitation. *Adv Exp Med Biol* 2010; 669: 225–230.
21. Weil JV. Ventilatory control at high altitude. In: Cherniack NS, Widdicombe JG. (Eds.), *Handbook of Physiology; Section 3: The Respiratory System, Control of Breathing*, vol. II. American Physiological Society, Bethesda, MD, 1986, pp: 703–728.

22. Bisgard GE, Neubauer JA. Peripheral and central effects of hypoxia. In: Dempsey JA, Pack AI. (Eds.), *Regulation of Breathing*. Marcel Dekker, New York, 1995, pp: 617–618.
23. Bouverot P. *Adaptation to Altitude-Hypoxia in Vertebrates*. Springer, Berlin, Germany. 1985; pp: 19-120.
24. Hempleman SC. Sodium and potassium currents in neonatal rat carotid body cells following in vivo chronic hypoxia. *Brain Res* 1995; 699, 42–50.
25. Nichols NL, Dale EA, Mitchell GS. Severe acute intermittent hypoxia elicits phrenic long-term facilitation by a novel adenosine-dependent mechanism. *J Appl Physiol* 2012; 112, 1678–1688.
26. Wilkinson KA, Fu Z, Powell FL. Ventilatory effects of substance P-saporin lesions in the nucleus tractus solitarii of chronically hypoxic rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 301: 343–350.
27. Blanco CE. Maturation of fetal breathing activity. *Biol Neonate* 1994; 65: 182–188.
28. Feldman JL, Mitchell GS, Nattie EE. Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 239–266.
29. Davies A, Moores C. *The Respiratory System: Basic Science and Clinical Conditions* 2nd Edition, Chapter 5: Control of Breathing. Elsevier Ltd. 2010; pp: 61-82.
30. Powell FL. Control of breathing. In: Berne RM, Koeppen BM, Stanton BA, eds. *Physiology*. 5 th edition United States of America, Mosby 2004; 22: 289-303.
31. Feldman JL, Del Negro CA, Gray PA. Understanding the Rhythm of Breathing: So Near, Yet So Far. *Annu Rev Physiol* 2013; 75: 423-452.
32. Funk GD, Ramirez JM. Special issue: ‘Neural control of breathing’. *Respir Physiol Neurobiol* 2002; 131: 1–3.
33. Richter DW, Spyer KM. Studying rhyth-mogenesis of breathing: comparison of in vivo and in vitro models. *Trends Neurosci* 2001; 24: 464–72.
34. Corfield DR, Fink GR, Ramsay SC. Evidence for limbic system activation during CO₂-stimulated breathing in man. *J Physiol* 1995; 488: 77–84.

35. Smith JC, Abdala AP, Koizumi H, Rybak IA, Paton JF. Spatial and functional architecture of the mammalian brain stem respiratory network: ahierarchy of three oscillatory mechanisms. *J Neurophysiol* 2007; 98: 3370–3387.
36. Rybak IA, Abdala AP, Markin SN, Paton JF, Smith JC. Spatial organization and state-dependent mechanisms for respiratory rhythm and pattern generation. *Prog Brain Res* 2007; 165: 201–220.
37. Guyton AC & Hall JE. Textbook of medical physiology 12th edition. New York, NY: W.B. Saunders. 2013, pp: 514-523.
38. Ganong WF. Pulmonary function In: Review of Medical Physiology. 23 th edition United States of America A Simon & Schust 2011; 34: pp: 617-634.
39. Rekling JC, Feldman JL. Pre-Bötzinger complex and pacemaker neurones: hypothesised site and kernel for respiratory rhythm generation. *Annu Rev Physiol* 1998; 60: 385–405.
40. Bray JJ, Cragg PA, Macknight ADC, Mills RG. Lecture notes on Human Physiology. Blackwell Science. 4th edition New Zeland: Cambridge 1999; 16: 399-467.
41. Bianchi AL, Denavit-Saubie M, Champagnat J. Central control of breathing in mammals: Neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev* 1995; 75: 1–31.
42. Bolton CF, Chen R, Wigdiks EFM, Zifko UA. Anatomy and physiology of the nervous system, control of respiration. In: *Neurology of Breathing*. United States of America, 2004; 2: 19-35.
43. Corfield DR, Murphy K, Guz A. Does the motor cortical control of the diaphragm ‘bypass’ the brain stem respiratory centres in man? *Respir Physiol* 1998; 114: 109–117.
44. Winkworth AL, Davis PJ, Adams RD, Ellis E. Breathing patterns during spontaneous speech. *J Speech Hear Res* 1995; 38: 124–144.
45. Del Negro CA, Hayes JA. A ‘group pacemaker’ mechanism for respiratory rhythm generation. *J Physiol* 2008 ; 586: 2245–2246.
46. Richter DW. Generation and maintenance of the respiratory rhythm. *J Exp Biol* 1982; 100: 93–107.

47. Richter DW. Neural regulation of respiration: rhythmogenesis and afferent control. In *Comprehensive Human Physiology*, ed. Gregor R & Windhorst U, Springer-Verlag, Berlin. 1996; pp: 2079–2095.
48. Richter DW, Ballanyi K, Schwarzscher S. Mechanisms of respiratory rhythm generation. *Curr Opin Neurobiol* 1992; 2: 788–793.
49. Iscoe S. Control of abdominal muscles. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 433–506.
50. Abraham KA, Feingold H, Fuller DD, Jenkins M, Mateika JH, Fregosi RF. Respiratory-related activation of human abdominal muscles during exercise. *J Physiol* 2002; 541: 653–663.
51. Fregosi R. Influence of hypoxia and carotid sinus nerve stimulation on abdominal muscle activities in the cat. *J Appl Physiol* 1994; 76: 602–609.
52. Fregosi R, Bartlett D Jr. Central inspiratory influence on abdominal expiratory nerve activity. *J Appl Physiol* 1998; 65: 1647–1654.
53. Iizuka M, Fregosi R. Influence of hypercapnic acidosis and hypoxia on abdominal expiratory nerve activity in the rat. *Resp Physiol Neurobiol* 2007; 157: 196–205.
54. West JB, *Respiratory Physiology: the essentials* 9th Edition, 2012; pp: 125–140.
55. Hlastala MP, Berger AJ. *Physiology of Respiration*, New York, NY, Oxford University Press, 1996.
56. Takakura ACT, Moreira TS, Colombari E, West GH, Stornetta RL, Guyenet PG. *J Physiol* 2006; 572: 503–523.
57. Alheid GF, Gray PA, Jiang MC, Feldman JL, McCrimmon DR. Parvalbumin in respiratory neurons of the ventrolateral medulla of the adult rat. *J Neurocytol* 2002; 31: 693–717.
58. Feldman JL, Del Negro CA. Looking for inspiration: new perspectives on respiratory rhythm. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 232–242.
59. Cohen MI. Neurogenesis of respiratory rhythm in the mammal. *Physiol Rev* 1979; 59: 1105–1173.
60. Ezure K. Synaptic connections between medullary respiratory neurons and considerations on the genesis of respiratory rhythm. *Prog Neurobiol* 1990; 35: 429–450.

61. Jiang C, Lipski J. Extensive monosynaptic inhibition of ventral respiratory group neurons by augmenting neurons in the Bötzing complex in the cat. *Exp Brain Res* 1990; 81: 639–648.
62. Tian GF, Peever JH, Duffin J. Bötzing-complex, bulbospinal expiratory neurones monosynaptically inhibit ventral-group respiratory neurones in the decerebrate rat. *Exp Brain Res* 1999; 124: 173–180.
63. Ezure K, Tanaka I, Kondo M. Glycine is used as a transmitter by decrementing expiratory neurons of the ventrolateral medulla in the rat. *J Neurosci* 2003; 23: 8941–8948.
64. Gray PA, Janczewski WA, Mellen N, McCrimmon DR, Feldman JL. Normal breathing requires preBötzing complex neurokinin-1 receptor-expressing neurons. *Nat Neurosci* 2001; 4: 927–930.
65. Janczewski WA, Onimaru H, Homma I, Feldman JL. Opioid-resistant respiratory pathway from the preinspiratory neurones to abdominal muscles: in vivo and in vitro study in the newborn rat. *J Physiol* 2002; 545: 1017–1026.
66. Janczewski WA, Feldman JL. Distinct rhythm generators for inspiration and expiration in the juvenile rat. *J Physiol* 2006; 570: 407–420.
67. Onimaru H, Kumagawa Y, Homma I. Respiration related rhythmic activity in the rostral medulla of newborn rats. *J Neurophysiol* 2006; 96: 55–61.
68. Onimaru H, Arata A, Homma I. Localization of respiratory rhythm-generating neurons in the medulla of brainstem–spinal cord preparations from newborn rats. *Neurosci Lett* 1987; 78: 151–155.
69. Onimaru H, Arata A, Homma I. Primary respiratory rhythm generator in the medulla of brainstem–spinal cord preparation from newborn rat. *Brain Res* 1988; 445: 314–324.
70. Fortuna MG, West GH, Stornetta RL, Guyenet PG. Bötzing expiratory-augmenting neurons and the parafacial respiratory group. *J Neurosci* 2008; 28: 2506–2515.
71. Smith JC, Greer JJ, Liu GS, Feldman JL. Neural mechanisms generating respiratory pattern in mammalian brain stem–spinal cord in vitro. I. Spatiotemporal patterns of motor and medullary neuron activity. *J Neurophysiol* 1990; 64: 1149–1169.

72. Smith JC, Butera RJ, Koshiya N, Del Negro C, Wilson CG, Johnson SM. Respiratory rhythm generation in neonatal and adult mammals: the hybrid pacemaker network model. *Respir Physiol* 2000; 122: 131–147.
73. Janczewski WA, Feldman JL. Novel data supporting the two respiratory rhythm oscillator hypothesis. Focus on ‘respiration-related rhythmic activity in the rostral medulla of newborn rats’. *J Neurophysiol* 2006; 96: 1–2.
74. Lieske SP, Thoby-Brisson M, Telgkamp P, Ramirez JM. Reconfiguration of the neural network controlling multiple breathing patterns: eupnea, sighs and gasps. *Nat. Neurosci.* 2000; 3: 600–607.
75. Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL. Pre-Bötzinger Complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 1991; 254: 726–29.
76. Suzue T. Respiratory rhythm generation in the in vitro brain stem-spinal cord preparation of the neonatal rat. *J Physiol* 1984; 354: 173–83.
77. Feldman JL, Connelly CA, Ellenberger HH, Smith JC. The cardiorespiratory system within the brainstem. *Eur J Neurosci* 1990; 3: 171.
78. Fung ML, Wang W, St John WM. Medullary loci critical for expression of gasping in adult rats. *J Physiol* 1994; 480: 597–611.
79. McKay LC, Janczewski WA, Feldman JL. Sleep-disordered breathing after targeted ablation of preBötzinger Complex neurons. *Nat Neurosci* 2005; 8: 1142–44
80. Wenninger JM, Pan LG, Klum L, Leekley T, Bastastic J, Hodges MR, Feroah TR, Davis S, Forster HV. Large lesions in the pre-Botzinger complex area eliminate eupneic respiratory rhythm in awake goats. *J Appl Physiol* 2004; 97: 1629–1636.
81. Doi A, Ramirez JM. Neuromodulation and orchestration of the respiratory rhythm. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2008; 164: 96–104.
82. Gray PA, Rekling JC, Bocchiaro CM, Feldman JL. Modulation of respiratory frequency by peptidergic input to rhythmogenic neurons in the preBotzinger complex. *Science* 1999; 286: 1566–68.

83. Wang H, Stornetta RL, Rosin DL, Guyenet PG. Neurokinin-1 receptor-immunoreactive neurons of the ventral respiratory group in the rat. *J Comp Neurol* 2001; 434: 128–46.
84. Guyenet PG, Sevigny CP, Weston MC, Stornetta RL. Neurokinin-1 receptor-expressing cells of the ventral respiratory group are functionally heterogeneous and predominantly glutamatergic. *J Neurosci* 2002; 22: 3806–16.
85. Liu YY, Ju G, Wong-Riley MT. Distribution and colocalization of neurotransmitters and receptors in the pre-Botzinger Complex of rats. *J Appl Physiol* 2001; 91: 1387–95.
86. Richter DW, Lalley PM, Pierrefiche O. Intracellular signal pathways controlling respiratory neurons. *Respir Physiol* 1997; 110: 113–123.
87. Hsieh JH, Chang YC, Su CK, Hwang JC, Yen CT, Chai CY. A single minute lesion around the ventral respiratory group in medulla produces fatal apnea in cats. *J Auton Nerv Syst* 1998; 73: 7–18.
88. Ramirez JM, Schwarzacher SW, Pierrefiche O, Olivera BM, Richter DW. Selective lesioning of the cat pre-Böttinger Complex in vivo eliminates breathing but not gasping. *J Physiol* 1998; 507: 895–907.
89. Solomon IC, Edelman NH, Neubauer JA. Patterns of phrenic motor output evoked by chemical stimulation of neurons located in the pre-Botzinger Complex in vivo. *J Neurophysiol* 1999; 81: 1150–61.
90. Mutolo D, Bongianni F, Carfi M, Pantaleo T. Respiratory changes induced by kainic acid lesions in rostral ventral respiratory group of rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 283: 227–42.
91. Bongianni F, Mutolo D, Carfi M, Pantaleo T. Respiratory responses to ionotropic glutamate receptor antagonists in the ventral respiratory group of the rabbit. *Pflugers Arch* 2002; 444: 602–9.
92. Kachidian P, Poulat P, Marlier L, Privat A. Immunohistochemical evidence for the coexistence of substance P, thyrotropin-releasing hormone, GABA, methionine-enkephalin, and leucin-enkephalin in the serotonergic neurons of the caudal raphe nuclei: a dual labeling in the rat. *J Neurosci Res* 1991; 30: 521–530.

93. Lalley PM. Serotonergic and non-serotonergic responses of phrenic motoneurons to raphe stimulation in the cat. *J Physiol* 1986; 380: 373–385.
94. Ribeiro-da-Silva A, Hokfelt T. Neuroanatomical localisation of Substance P in the CNS and sensory neurons. *Neuropeptides* 2000; 34: 256–271.
95. Huston JP, Wagner U, Hasenohrl RU. The tuberomammillary nucleus projections in the control of learning, memory and reinforcement processes: evidence for an inhibitory role. *Behav. Brain Res.* 1997; 83: 97–105.
96. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002; 66: 355–474.
97. Chigr F, Najimi M, Leduque P, Charnay Y, Jordan D, Chayvialle JA, Tohyama, M, Kopp N. Anatomical distribution of somatostatin immunoreactivity in the infant brainstem. *Neuroscience* 1989; 29: 615–628.
98. Tan W, Pagliardini S, Yang P, Janczewski WA, Feldman JL. Projections of preBöttinger Complex neurons in adult rats. *J Comp Neurol* 2010; 518: 1862–78.
99. Bochorishvili G, Stornetta RL, Coates MB, Guyenet PG. Pre-Bötzing Complex receives glutamatergic innervation from galaninergic and other retrotrapezoid nucleus neurons. *J Comp Neurol* 2012; 520: 1047–61.
100. Ellenberger HH, Smith FM. Sulfated cholecystokinin octapeptide in the rat: pontomedullary distribution and modulation of the respiratory pattern. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77: 490–504.
101. VanderHorst VG, Ulfhake B. The organization of the brainstem and spinal cord of the mouse: relationships between monoaminergic, cholinergic, and spinal projection systems. *J Chem Neuroanat* 2006; 31: 2–36.
102. Rekling JC, Shao XM, Feldman JL. Electrical coupling and excitatory synaptic transmission between rhythmogenic respiratory neurons in the preBötzing Complex. *J Neurosci* 2000; 20: 1–5.
103. Shao XM, Feldman JL. Cholinergic neurotransmission in the preBotzinger complex modulates excitability of inspiratory neurons and regulates respiratory rhythm. *Neuroscience* 2005; 130: 1069–1081.
104. Shao XM, Tan W, Xiu J, Puskar N, Fonck C, Lester HA, Feldman JL. Alpha4* nicotinic receptors in preBotzinger complex mediate cholinergic/nicotinic modulation of respiratory rhythm. *J Neurosci* 2008; 28: 519–528.

105. Quartara L, Maggi CA. The tachykinin NK1 receptor. Part I: ligands and mechanisms of cellular activation. *Neuropeptides* 1997; 31: 537–563.
106. Pena F, Ramirez JM. Substance P-mediated modulation of pacemaker properties in the mammalian respiratory network. *J Neurosci* 2004; 24: 7549–7556.
107. Onimaru H, Shamoto A, Homma I. Modulation of respiratory rhythm by 5-HT in the brainstem-spinal cord preparation from newborn rat. *Pflugers Arch* 1998; 435: 485–494.
108. Johnson SM, Wilkerson JE, Henderson DR, Wenninger MR, Mitchell GS. Serotonin elicits long-lasting enhancement of rhythmic respiratory activity in turtle brain stems in vitro. *J Appl Physiol* 2001; 91: 2703–2712.
109. Pena F, Ramirez JM. Endogenous activation of serotonin-2A receptors is required for respiratory rhythm generation in vitro. *J Neurosci* 2002; 22: 11055–11064.
110. Manzke T, Guenther U, Ponimaskin EG, Haller M, Dutschmann M, Schwarzacher S, Richter DW. 5-HT₄(a) receptors avert opioid-induced breathing depression without loss of analgesia. *Science* 2003; 301: 226–229.
111. Gunther S, Maroteaux L, Schwarzacher SW. Endogenous 5-HT_{2B} receptor activation regulates neonatal respiratory activity in vitro. *J Neurobiol* 2006; 66: 949–961.
112. Fink KB, Gothert M. 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. *Pharmacol Rev* 2007; 59: 360–417.
113. Cowen DS. Serotonin and neuronal growth factors—a convergence of signaling pathways. *J Neurochem* 2007; 101: 1161–1171.
114. Monteau R, Ptak K, Broquere N, Hilaire G. Tachykinins and central respiratory activity: an in vitro study on the newborn rat. *Eur J Pharmacol* 1996; 314: 41–50.
115. Dekin MS, Richerson GB, Getting PA. Thyrotropin-releasing hormone induces rhythmic bursting in neurons of the nucleus tractus solitarius. *Science* 1985; 229: 67–69.
116. Dutschmann M, Bischoff AM, Busselberg D, Richter DW. Histaminergic modulation of the intact respiratory network of adult mice. *Pflugers Arch* 2003; 445: 570–576.

117. Llona I, Eugenin J. Central actions of somatostatin in the generation and control of breathing. *Biol Res* 2005; 38: 347–352.
118. Mellen NM, Janczewski WA, Bocchiaro CM, Feldman JL. Opioid-induced quantal slowing reveals dual networks for respiratory rhythm generation. *Neuron* 2003; 37: 821–826.
119. Lonergan T, Goodchild AK, Christie MJ, Pilowsky PM. Presynaptic delta opioid receptors differentially modulate rhythm and pattern generation in the ventral respiratory group of the rat. *Neuroscience* 2003; 121: 959–973.
120. Haji A, Takeda R. Effects of a kappa-receptor agonist U-50488 on bulbar respiratory neurons and its antagonistic action against the mu receptor-induced respiratory depression in decerebrate cats. *Jpn J Pharmacol* 2001; 87: 333–337.
121. Fujii M, Umezawa K, Arata A. Dopaminergic modulation on respiratory rhythm in rat brainstem-spinal cord preparation. *Neurosci Res* 2004; 50: 355–359.
122. Viemari JC, Ramirez JM. Fictive gasping and eupneic activity in transverse slices require activity activation of noradrenergic receptors. *Society of Neuroscience Meeting Abstract* 2006; 455: 16.
123. Telgkamp P, Ramirez JM. Differential responses of respiratory nuclei to anoxia in rhythmic brain stem slices of mice. *J Neurophysiol* 1999; 82: 2163–2170.
124. Viemari JC, Ramirez JM. Norepinephrine differentially modulates different types of respiratory pacemaker and nonpacemaker neurons. *J Neurophysiol* 2006; 95: 2070–2082.
125. DelNegro CA, Morgado-Valle C, Hayes JA, Mackay DD, Pace RW, Crowder EA, Feldman JL. Sodium and calcium current-mediated pacemaker neurons and respiratory rhythm generation. *J Neurosci* 2005; 25: 446–453.
126. Getting PA. Emerging principles governing the operation of neural networks. *Annu Rev Neurosci* 1989; 12: 185–204.
127. Katz PS, Edwards DH. *Beyond Neurotransmission*. New York: Oxford Univ. Press, 1999; pp: 349–381.
128. Marder E. From biophysics to models of network function. *Annu Rev Neurosci* 1998; 21: 25–45.

129. Bonham AC. Neurotransmitters in the CNS control of breathing. *Respir Physiol* 1995; 101: 219–230.
130. McCrimmon DR, Dekin MS, Mitchell GS. *Regulation of Breathing*. New York: Dekker, 1995; pp: 151–218.
131. Rekling JC, Funk GD, Bayliss DA, Dong XW, Feldman JL. Synaptic control of motoneuronal excitability. *Physiol Rev* 2000; 80: 767–852.
132. Mitchell GS, Baker TL, Nanda SA, Fuller DD, Zabka AG, Hodgeman BA, Bavis RW, Mack KJ, Olson EB Jr. Invited review: Intermittent hypoxia and respiratory plasticity. *J Appl Physiol* 2001; 90: 2466–2475.
133. Bach KB, Kinkead R, Mitchell GS. Post-hypoxia frequency decline in rats: sensitivity to repeated hypoxia and α_2 -adrenoreceptor antagonism. *Brain Res* 1999; 817: 25–33.
134. Kinkead R, Zhan WZ, Prakash YS, Bach KB, Sieck GC, and Mitchell GS. Cervical dorsal rhizotomy enhances serotonergic innervation of phrenic motoneurons and serotonin-dependent long-term facilitation of respiratory motor output in rats. *J Neurosci* 1998; 18: 8436–8443.
135. Ling L, Fuller DD, Bach KB, Kinkead R, Olson EB Jr, Mitchell GS. Chronic intermittent hypoxia elicits serotonin dependent plasticity in the central neural control of breathing. *J Neurosci* 2001; 21: 5381–5388.
136. Byrne JH. Synapses. Plasticity. *Nature* 1997; 389: 791–792.
137. Abraham WC, Bear MF. Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 1996; 19: 126–130.
138. Abraham WC, Tate WP. Metaplasticity: a new vista across the field of synaptic plasticity. *Prog Neurobiol* 1997; 52: 303–323.
139. Kim JJ, Yoon KS. Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends Neurosci* 1998; 21: 505–509.
140. Mitchell GS, Douse MA, Foley KT. Receptor interactions in modulating ventilatory activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1990; 259: 911–920.
141. Poon CS. *Bioengineering Approaches to Pulmonary Physiology and Medicine*. New York: Plenum, 1996; pp: 93–113.

142. Boggs DF. Comparative Biology of the Normal Lung. Boca Raton, FL: CRC, 1992; pp: 309–350.
143. Dwinell MR, Powell FL. Chronic hypoxia enhances the phrenic nerve response to arterial chemoreceptor stimulation in anesthetized rats. *J Appl Physiol* 1999; 87: 817–823.
144. Prabhakar NR. Oxygen sensing during intermittent hypoxia: cellular and molecular mechanisms. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1986– 1994.
145. Baker TL, Fuller DD, Zabka AG, Mitchell GS. Respiratory plasticity: differential actions of continuous and episodic hypoxia and hypercapnia. *Respir Physiol* 2001; 129: 25–35.
146. Feldman DE, Nicoll RA, Malenka RC. Synaptic plasticity at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex: LTP, LTD, and silent synapses. *J Neurobiol* 1999; 41: 92–101.
147. Kempermann G, van Praag H, and Gage FH. Activity dependent regulation of neuronal plasticity and self repair. *Prog Brain Res* 2000; 127: 35–48.
148. Malenka RC, Nicoll RA. Long-term potentiation—a decade of progress? *Science* 1999; 285: 1870–1874.
149. Daniel H, Levenes C, Crepel F. Cellular mechanisms of cerebellar LTD. *Trends Neurosci* 1998; 21: 401–407.
150. Kemp N, Bashir ZI. Long-term depression: a cascade of induction and expression mechanisms. *Prog Neurobiol* 2001; 65: 339–365.
151. Fisher SA, Fischer TM, Carew TJ. Multiple overlapping processes underlying short-term synaptic enhancement. *Trends Neurosci* 1997; 20: 170–177.
152. Malenka RC. Postsynaptic factors control the duration of synaptic enhancement in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 1991; 6: 53–60.
153. Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 355–405.
154. Byrne JH, Kandel ER. Presynaptic facilitation revisited: state and time dependence. *J Neurosci* 1996; 16: 425–435.

155. Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 2001; 294: 1030–1038.
156. Mauelshagen J, Parker GR, Carew TJ. Dynamics of induction and expression of long-term synaptic facilitation in *Aplysia*. *J Neurosci* 1996; 16: 7099–7108.
157. Mauelshagen J, Sherff CM, Carew TJ. Differential induction of long-term synaptic facilitation by spaced and massed applications of serotonin at sensory neuron synapses of *Aplysia californica*. *Learn Mem* 1998; 5: 246–256.
158. Sutton MA, Masters SE, Bagnall MW, Carew TJ. Molecular mechanisms underlying a unique intermediate phase of memory in *Aplysia*. *Neuron* 2001; 31: 143–154.
159. Kinkead R, Bach KB, Johnson SM, Hodgeman BA, Mitchell GS. Plasticity in respiratory motor control: intermittent hypoxia and hypercapnia activate opposing serotonergic and noradrenergic modulatory systems. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 130: 207–218.
160. Kovalchuk Y, Hanse E, Kafitz KW, Konnerth A. Postsynaptic induction of BDNF-mediated long-term potentiation. *Science* 2002; 295: 1729–1734.
161. Manabe T. Does BDNF have pre- or postsynaptic targets? *Science* 2002; 295: 1651–1653.
162. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 24–32.
163. Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2000; 23: 639–645.
164. Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 1995; 270: 593–598.
165. Gasparini S, Saviane C, Voronin LL, Cherubini E. Silent synapses in the developing hippocampus: lack of functional AMPA receptors or low probability of glutamate release? *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9741–9746.
166. Li P, Zhuo M. Silent glutamatergic synapses and nociception in the mammalian spinal cord. *Nature* 1998; 393: 695–698.
167. Liao D, Scannevin RH, Huganir R. Activation of silent synapses by rapid activity-dependent synaptic recruitment of AMPA receptors. *J Neurosci* 2001; 21: 6008–6017.

168. Poncer JC, Malinow R. Postsynaptic conversion of silent synapses during LTP affects synaptic gain and transmission dynamics. *Nat Neurosci* 2001; 4: 989–996.
169. Zhou M. Silent glutamatergic synapses and long-term facilitation in spinal dorsal horn neurons. *Prog Brain Res* 2000; 129: 101–113.
170. Ling L, Bach KB, Mitchell GS. Serotonin reveals ineffective spinal pathways to contralateral phrenic motoneurons in spinally hemisected rats. *Exp Brain Res* 1994; 101: 35–43.
171. Zhou SY, Goshgarian HG. 5-Hydroxytryptophane-induced respiratory recovery after cervical spinal cord hemisection in rats. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1528–1536.
172. Golder FJ, Reier PJ, and Bolser DC. Altered respiratory motor drive after spinal cord injury: supraspinal and bilateral effects of a unilateral lesion. *J Neurosci* 2001; 21: 8680–8689.
173. Hadley SD, Walker PD, Goshgarian HG. Effects of the serotonin synthesis inhibitor p-CPA on the expression of the crossed phrenic phenomenon 4 h following C2 spinal cord hemisection. *Exp Neurol* 1999; 160: 479–488.
174. O'Hara TE, Goshgarian HG. Quantitative assessment of phrenic nerve functional recovery mediated by the crossed phrenic reflex at various time intervals after spinal cord injury. *Exp Neurol* 1991; 111: 244–250.
175. Fuller DD, Johnson SM, Johnson RA, Mitchell GS. Chronic cervical spinal sensory denervation reveals ineffective spinal pathways to phrenic motoneurons in the rat. *Neurosci Lett* 2002; 323: 25–28.
176. Yeh SR, Fricke RA, Edwards DH. The effect of social experience on serotonergic modulation of the escape circuit of crayfish. *Science* 1996; 271: 366–369.
177. Mossner R, Daniel S, Albert D, Heils A, Okladnova O, Schmitt A, Lesch KP. Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF). *Neurochem Int* 2000; 36: 197–202.
178. Bou-Flores C, Lajard AM, Monteau R, De Maeyer E, Seifl, Lanoir J, Hilaire G. Abnormal phrenic motoneuron activity and morphology in neonatal monoamine oxidase A-deficient transgenic mice: possible role of a serotonin excess. *J Neurosci* 2000; 20: 4646–4656.

179. Burnet H, Bevengut M, Chakri F, Bou-Flores C, Coulon P, Gaytan S, Pasaro R, Hilaire G. Altered respiratory activity and respiratory regulations in adult monoamine oxidase A-deficient mice. *J Neurosci* 2001; 21: 5212–5221.
180. Johnson RA, Okragly AJ, Haak-Frendscho M, Mitchell GS. Cervical dorsal rhizotomy increases brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 expression in the ventral spinal cord. *J Neurosci* 2000; 20: RC77.
181. Cameron WE, Nunez-Abades P. A Physiological changes accompanying anatomical remodeling of mammalian motoneurons during postnatal development. *Brain Res Bull* 2000; 53: 523–527.
182. Hering H, Sheng M. Dendritic spines: structure, dynamics and regulation. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 880–888.
183. Nimchinsky EA, Sabatini BL, Svoboda K. Structure and function of dendritic spines. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 313–353.
184. Sperry MA, Goshgarian HG. Ultrastructural changes in the rat phrenic nucleus developing within 2 h after cervical spinal cord hemisection. *Exp Neurol* 1993; 120: 233–244.
185. Haas K. Directing AMPA receptor traffic. *Trends Neurosci* 2001; 24: 137.
186. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill, 2000.
187. Luscher C, Frerking M. Restless AMPA receptors: implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends Neurosci* 2001; 24: 665–670.
188. Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Squire LR. *Fundamental Neuroscience*. San Diego, CA: Academic, 1998.
189. Peterson DA. Stem cells in brain plasticity and repair. *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2: 34–42.
190. Temple S. Stem cell plasticity—building the brain of our dreams. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 513–520.
191. Hunter T. Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell* 1995; 80: 225–236.

192. Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 2000; 23: 75–80.
193. Tokuda M, Hatase O. Regulation of neuronal plasticity in the central nervous system by phosphorylation and dephosphorylation. *Mol Neurobiol* 1998, 17: 137–156
194. Morris KF, Baekey DM, Nuding SC, Dick TE, Shannon R, Lindsey BG. Invited review: neural network plasticity in respiratory control. *J Appl Physiol* 1985; 94: 1242–1252.
195. Morris KF, Shannon R, Lindsey BG. Changes in cat medullary neurone firing rates and synchrony following induction of respiratory long-term facilitation. *J Physiol* 2001; 532: 483–497.
196. Parkis MA, Robinson DM, Funk GD. A method for activating neurons using endogenous synaptic waveforms. *J Neurosci Methods* 2000; 96: 77–85.
197. Nattie EE. Brain and cerebrospinal fluid ionic composition and ventilation in acute hypercapnia. *Respir Physiol* 1980; 40: 309–322.
198. Bach KB, Mitchell GS. Hypercapnia-induced long-term depression of respiratory activity requires $\alpha 2$ -adrenergic receptors. *J Appl Physiol* 1998; 84: 2099–2105.
199. Wilkerson JE, Mitchell GS. Daily intermittent hypoxia augments spinal BDNF levels, ERK phosphorylation and respiratory long-term facilitation. *Exp Neurol* 2009; 217: 116–123.
200. Satriotomo I, Dahlberg JM, Dale-Nagle EA, Mitchell GS. Repetitive acute intermittent hypoxia increases neurotrophic and growth factor expression in non-respiratory motor neurons. *FASEB J* 2009; 23: 791.7.
201. Vinit S, Satriotomo I, MacFarlane PM, Mitchell GS. Enhanced phrenic long-term facilitation (pLTF) following repetitive acute intermittent hypoxia. *FASEB J* 2010; 799: 15.
202. Vinit S, Lovett-Barr MR, Mitchell GS. Intermittent hypoxia induces functional recovery following cervical spinal injury. *Resp Phys & Neurobiol* 2009; 169: 210–217.
203. Gauda EB. Introduction: Sleep-disordered breathing across the life span: exploring human disorder using animal models. *ILAR J* 2009; 50: 243–247.

204. Fuller DD. Synaptic pathways to phrenic motoneurons are enhanced by chronic intermittent hypoxia after cervical spinal cord injury. *J Neurosci* 2003; 23: 2993–3000.
205. Dale-Nagle EA, Hoffman MS, MacFarlane PM. Spinal plasticity following intermittent hypoxia: implications for spinal injury. *Ann N.Y. Acad Sci* 2010; 1198: 252–259.
206. Hoffstein V, Herridge M, Mateika S, Redline S, Strohl KP. Hematocrit levels in sleep apnea. *Chest* 1994; 106: 787-791.
207. Reher C, Kuny KD, Pantalitschka T, Urschitz MS, Poets CF. Randomised crossover trial of different postural interventions on bradycardia and intermittent hypoxia in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008; 93: 289-291.
208. Douglas NJ, Calverley PM, Leggett RJ, Brash HM, Flenley DC, Brezinova V. Transient hypoxaemia during sleep in chronic bronchitis and emphysema. *Lancet* 1979; 1: 1-4.
209. Francis PW, Muller NL, Gurwitz D, Milligan DW, Levison H, Bryan AC. Hemoglobin desaturation: Its occurrence during sleep in patients with cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1980; 134: 734-740.
210. Catterall JR, Douglas NJ, Calverley PM, Brash HM, Brezinova V, Shapiro CM, Flenley DC. Irregular breathing and hypoxaemia during sleep in chronic stable asthma. *Lancet* 1982; 1: 301-304.
211. McGuire M, Zhang Y, White DP, Ling L. Effect of hypoxic episode number and severity on ventilatory long-term facilitation in awake rats. *J Appl Physiol* 2002; 93: 2155-2161.
212. Prabhakar NR, Kline DD. Ventilatory changes during intermittent hypoxia: Importance of pattern and duration. *High Alt Med Biol* 2002; 3: 195- 204.
213. Waters KA, Gozal D. Responses to hypoxia during early development. *Respir Physiol Neurobiol* 2003; 136: 115-129.
214. Doyle JC, Csete M. Architecture, constraints, and behavior. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2011; 108: 15624–15630.
215. Rowley KL, Mantilla CB, Sieck GC. Respiratory muscle plasticity. *Respir Physiol Neurobiol* 2005; 147: 235–251.

216. Prabhakar NR. Sensory plasticity of the carotid body: role of reactive oxygen species and physiological significance. *Respir Physiol Neurobiol* 2011; 178: 375–380.
217. Bach KB, Mitchell GS. Hypoxia-induced long-term facilitation of respiratory activity is serotonin dependent. *Respir Physiol* 1996; 104: 251–260.
218. Xing T, Pilowsky PM. Acute intermittent hypoxia in rat in vivo elicits a robust increase in tonic sympathetic nerve activity that is independent of respiratory drive. *J Physiol* 2010; 588: 3075-88.
219. Marshall JM. Peripheral chemoreceptors and cardiovascular regulation. *Physiol Rev* 1994; 74: 543-94.
220. Devinney MJ, Huxtable AG, Nichols NL, Mitchell GS. Hypoxia-induced phrenic long-term facilitation: emergent properties. *Ann N.Y. Acad Sci New York Academy of Sciences* 2013; 1279: 143–153.
221. Turner DL, Mitchell GS. Long-term facilitation of ventilation following repeated hypoxic episodes in awake goats. *J Physiol* 1997; 499: 543-450.
222. Sokolowska B, Pokorski M. Ventilatory augmentation by acute intermittent hypoxia in the rabbit. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 341-7.
223. Olson EB Jr, Bohné CJ, Dwinell MR, Podolsky A, Vidruk EH, Fuller DD, Powell FL, Mitchell GS. Ventilatory long-term facilitation in unanesthetized rats. *J Appl Physiol* 2001; 91: 709 –716.
224. Terada J, Nakamura A, Zhang W. Ventilatory long-term facilitation in mice can be observed during both sleep and wake periods and depends on orexin. *J Appl Physiol* 2008; 104: 499-507.
225. McEvoy RD, Popovic RM, Saunders NA, White DP. Effects of sustained and repetitive isocapnic hypoxia on ventilation and genioglossal and diaphragmatic EMGs. *J Appl Physiol* 1996; 81: 866-75.
226. Jordan AS, Catcheside PG, O' Donoghue FJ, McEvoy RD. Long-term facilitation of ventilation is not present during wakefulness in healthy men or women. *J Appl Physiol* 2002; 93: 2129-36.

227. Morelli C, Badr MS, Mateika JH. Ventilatory responses to carbon dioxide at low and high levels of oxygen are elevated after episodic hypoxia in men compared with women. *J Appl Physiol* 2004; 97: 1673-80.
228. Mateika JH, Mendello C, Obeid D, Badr MS. Peripheral chemoreflex responsiveness is increased at elevated levels of carbon dioxide after episodic hypoxia in awake humans. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1197-205.
229. Babcock M, Shkoukani M, Aboubakr SE, Badr MS. Determinants of long-term facilitation in humans during NREM sleep. *J Appl Physiol* 2003; 94: 53-9.
230. Babcock MA, Badr MS. Long-term facilitation of ventilation in humans during NREM sleep. *Sleep* 1998; 21: 709-16.
231. Aboubakr SE, Taylor A, Ford R, Siddiqi S, Badr MS. Long-term facilitation in obstructive sleep apnea patients during NREM sleep. *J Appl Physiol* 2001; 91: 2751-7.
232. Harris DP, Balasubramaniam A, Badr MS, Mateika JH. Long-term facilitation of ventilation and genioglossus muscle activity is evident in the presence of elevated levels of carbon dioxide in awake humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 291: 1111-9.
233. Wadhwa H, Gradinaru C, Gates GJ, Badr MS, Mateika JH. Impact of intermittent hypoxia on long-term facilitation of minute ventilation and heart rate variability in men and women: Do sex differences exist? *J Appl Physiol* 2008; 104: 1625-33.
234. Lee DS, Badr MS, Mateika JH. Progressive augmentation and ventilatory long-term facilitation are enhanced in sleep apnoea patients and are mitigated by antioxidant administration. *J Physiol* 2009; 587: 5451-67.
235. Fitzgerald RS, Lahiri S. Reflex Responses to Chemoreceptor Stimulation. *Compr Physiol* 2011; 11: 313-362.
236. Pamenter ME, Powell FL. Signalling mechanisms of long term facilitation of breathing with intermittent hypoxia. *F1000 Prime Reports* 2013, 5: 23.
237. Mitchell GS, Powell FL, Hopkins SR, Milsom WK. Time domains of the hypoxic ventilatory response in awake ducks: episodic and continuous hypoxia. *Respir Physiol* 2001; 124: 117-128.

238. Morris KF, Gozal D. Persistent respiratory changes following intermittent hypoxic stimulation in cats and human beings. *Respir Physiol Neurobiol* 2004; 140: 1-8.
239. Mateika JH, Sandhu KS. Experimental protocols and preparations to study respiratory long term facilitation. *Respir Physiol Neurobiol* 2011; 176: 1-11.
240. McKay LC, Janczewski WA, Feldman JL. Episodic hypoxia evokes long-term facilitation of genioglossus muscle activity in neonatal rats. *J Physiol* 2004; 557: 13-18.
241. Dwinell MR, Janssen PL, Bisgard GE. Lack of long-term facilitation of ventilation after exposure to hypoxia in goats. *Respir Physiol* 1997; 108:1-9.
242. Baker-Herman TL, Mitchell GS. Phrenic long-term facilitation requires spinal serotonin receptor activation and protein synthesis. *J Neurosci* 2002; 22: 6239-6246.
243. Fuller DD, Zabka AG, Baker TL, Mitchell GS. Phrenic long-term facilitation requires 5-HT receptor activation during but not following episodic hypoxia. *J Appl Physiol* 2001; 90: 2001-2006.
244. Zhang Y, McGuire M, White DP, Ling L. Serotonin receptor subtypes involved in vagus nerve stimulation-induced phrenic long-term facilitation in rats. *Neurosci Lett* 2004; 363: 108-111.
245. McGuire M, Zhang Y, White DP, Ling L. Serotonin receptor subtypes required for ventilatory long-term facilitation and its enhancement after chronic intermittent hypoxia in awake rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004, 286: 334-341.
246. Brodin E, Linderöth B, Goïny M, Yamamoto Y, Gazelius B, Millhorn DE, Hokfelt T, Ungerstedt U. In vivo release of serotonin in cat dorsal vagal complex and cervical ventral horn induced by electrical stimulation of the medullary raphe nuclei. *Brain Res* 1990; 535: 227-236.
247. Morris KF, Arata A, Shannon R, Lindsey BG: Inspiratory drive and phase duration during carotid chemoreceptor stimulation in the cat: medullary neurone correlations. *J Physiol* 1996; 491: 241-259.

248. Richter DW, Schmidt-Garcon P, Pierrefiche O, Bischoff AM, Lalley PM. Neurotransmitters and neuromodulators controlling the hypoxic respiratory response in anaesthetized cats. *J Physiol* 1999; 514: 567-578.
249. Erickson JT, Millhorn DE. Hypoxia and electrical stimulation of the carotid sinus nerve induce Fos-like immunoreactivity within catecholaminergic and serotonergic neurons of the rat brainstem. *J Comp Neurol* 1994; 348: 161-182.
250. Erickson JT, Millhorn DE. Fos-like protein is induced in neurons of the medulla oblongata after stimulation of the carotid sinus nerve in awake and anesthetized rats. *Brain Res* 1991; 567: 11-24.
251. Baker-Herman TL, Fuller DD, Bavis RW, Zabka AG, Golder FJ, Doperaliski NJ, Johnson RA, Watters JJ, Mitchell GS. BDNF is necessary and sufficient for spinal respiratory plasticity following intermittent hypoxia. *Nat Neurosci* 2004; 7: 48-55.
252. Sanchez-Perez A, Llansola M, Cauli O, Felipe V. Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. II. Signaling pathways and physiological modulators regulating NMDA receptor function. *Cerebellum* 2005; 4: 162-170.
253. Llansola M, Sanchez-Perez A, Cauli O, Felipe V: Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. 1. Properties of the NMDA receptor that modulate its function. *Cerebellum* 2005; 4: 154-161.
254. Lisman J, Raghavachari S: A unified model of the presynaptic and postsynaptic changes during LTP at CA1 synapses. *Sci STKE* 2006, 356: re11.
255. Kishino A, Nakayama C. Enhancement of BDNF and activated-ERK immunoreactivity in spinal motor neurons after peripheral administration of BDNF. *Brain Res* 2003, 964: 56-66.
256. Roskoski R Jr. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacol Res* 2012; 66: 105-143.
257. Peng YJ, Prabhakar NR. Effect of two paradigms of chronic intermittent hypoxia on carotid body sensory activity. *J Appl Physiol* 2004, 96: 1236-1242.
258. Neverova NV, Saywell SA, Nashold LJ, Mitchell GS, Feldman JL. Episodic stimulation of alpha1-adrenoreceptors induces protein kinase C-dependent persistent changes in motoneuronal excitability. *J Neurosci* 2007, 27: 4435-4442.

259. Hoffman MS, Nichols NL, Macfarlane PM, Mitchell GS. Phrenic long term facilitation after acute intermittent hypoxia requires spinal ERK activation but not TrkB synthesis. *J Appl Physiol* 2012; 113: 1184-1193.
260. Bockaert J, Claeysen S, Becamel C, Dumuis A, Marin P. Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. *Cell Tissue Res* 2006; 326: 553-572.
261. Golder FJ, Ranganathan L, Satriotomo I, Hoffman M, Lovett-Barr MR, Watters JJ, Baker-Herman TL, Mitchell GS. Spinal adenosine A2a receptor activation elicits long-lasting phrenic motor facilitation. *J Neurosci* 2008; 28: 2033-2042.
262. Hoffman MS, Golder FJ, Mahamed S, Mitchell GS: Spinal adenosine A2(A) receptor inhibition enhances phrenic long term facilitation following acute intermittent hypoxia. *J Physiol* 2010; 588: 255-266.
263. Hoffman MS, Mitchell GS. Spinal 5-HT₇ receptor activation induces long-lasting phrenic motor facilitation. *J Physiol* 2011; 589: 1397-1407.
264. Gourine AV, Llaudet E, Dale N, Spyer KM. Release of ATP in the ventral medulla during hypoxia in rats: role in hypoxic ventilatory response. *J Neurosci* 2005; 25: 1211–1218.
265. Martin ED, Fernández M, Perea G, Pascual O, Haydon PG, Araque A, Ceña V. Adenosine released by astrocytes contributes to hypoxia-induced modulation of synaptic transmission. *Glia* 2007; 55: 36–45.
266. Phillis JW, O'Regan MH, Perkins LM. Adenosine 5'-triphosphate release from the normoxic and hypoxic in vivo rat cerebral cortex. *Neurosci Lett* 1993; 151: 94–96.
267. Wallman-Johansson A, Fredholm BB. Release of adenosine and other purines from hippocampal slices stimulated electrically or by hypoxia/hypoglycemia. Effect of chlormethiazole. *Life Sci* 1994; 55: 721–728.
268. Dale N, Pearson T, Frenguelli BG. Direct measurement of adenosine release during hypoxia in the CA1 region of the rat hippocampal slice. *J Physiol* 2000; 526: 143–155.

269. Frenguelli BG, Llaudet E, Dale N. High-resolution real-time recording with microelectrode biosensors reveals novel aspects of adenosine release during hypoxia in rat hippocampal slices. *J Neurochem* 2003; 86: 1506–1515.
270. Parkinson FE, Xiong W, Zamzow CR. Astrocytes and neurons: different roles in regulating adenosine levels. *Neurol Res* 2005; 27: 153–160.
271. Roy AA, Nunn C, Ming H, Zou MX, Penninger J, Kirshenbaum LA, Dixon SJ, Chidiac P: Up regulation of endogenous RGS2 mediates cross-desensitization between Gs and Gq signaling in osteoblasts. *J Biol Chem* 2006; 281: 32684–32693.
272. Yatani A, Okabe K, Codina J, Birnbaumer L, Brown AM: Heart rate regulation by G proteins acting on the cardiac pacemaker channel. *Science* 1990; 249: 1163–1166.
273. Shuman SL, Capece ML, Baghdoyan HA, Lydic R: Pertussis toxin-sensitive G proteins mediate carbachol-induced REMs sleep and respiratory depression. *Am J Physiol* 1995; 269: 308–317.
274. Yevenes GE, Moraga-Cid G, Romo X, Aguayo LG: Activated Gprotein alpha s subunits increase the ethanol sensitivity of human glycine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 339: 386–393.
275. Yevenes GE, Peoples RW, Tapia JC, Parodi J, Soto X, Olate J, Aguayo LG. Modulation of glycine-activated ion channel function by G-protein betagamma subunits. *Nat Neurosci* 2003; 6: 819–824.
276. Hartmann J, Blum R, Kovalchuk Y, Adelsberger H, Kuner R, Durand GM, Miyata M, Kano M, Offermanns S, Konnerth A: Distinct roles of G α (q) and G α 11 for Purkinje cell signaling and motor behavior. *J Neurosci* 2004; 24: 5119–5130.
277. Niebert M, Vogelgesang S, Koch UR, Bischoff AM, Kron M, Bock N, Manzke T. Expression and function of serotonin 2A and 2B receptors in the mammalian respiratory network. *PLoS One* 2011; 6: e21395.
278. Conde SV, Monteiro EC. Hypoxia induces adenosine release from the rat carotid body. *J Neurochem* 2004; 89: 1148–1156.

279. Griffin HS, Kumar P, Pugh K, Balanos GM. Longterm facilitation of ventilation following acute continuous hypoxia in awake humans during sustained hypercapnia. *J Physiol Lond* 2012; 590: 5151–5165.
280. McCrimmon DR, Smith JC, Feldman JL. Involvement of excitatory amino acids in neurotransmission of inspiratory drive to spinal respiratory motoneurons. *J Neurosci* 1989; 9: 1910-21.
281. McGuire M, Zhang Y, White DP, Ling L. Phrenic long-term facilitation requires NMDA receptors in the phrenic motonucleus in rats. *J Physiol* 2005; 567: 599-611.
282. McGuire M, Liu C, Cao Y, Ling L. Formation and maintenance of ventilatory long-term facilitation require NMDA but not non-NMDA receptors in awake rats. *J Appl Physiol* 2008; 105: 942-50.
283. Dale-Nagle EA, Satriotomo I, Mitchell GS. Spinal vascular endothelial growth factor induces phrenic motor facilitation via extracellular signal-regulated kinase and Akt signaling. *J Neurosci* 2011; 31: 7682-7690.
284. Dale EA, Satriotomo I, Mitchell GS. Cervical spinal erythropoietin induces phrenic motor facilitation via extracellular signalregulated protein kinase and Akt signaling. *J Neurosci* 2012; 32: 5973-5983.
285. Dale EA, Mitchell GS. Spinal vascular endothelial growth factor (VEGF) and erythropoietin (EPO) induced phrenic motor facilitation after repetitive acute intermittent hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 185: 481-488.
286. Satriotomo I, Dale EA, Dahlberg JM, Mitchell GS. Repetitive acute intermittent hypoxia increases expression of proteins associated with plasticity in the phrenic motor nucleus. *Exp Neurol* 2012; 237: 103-115.
287. Ballantyne D, Scheid P. Central chemosensitivity of respiration: a brief overview. *Respir Physiol* 2001; 129: 5–12.
288. Nattie EE. Central Chemoreceptors, pH, and Respiratory Control. New York: Wiley-Liss, 1998; pp: 560.
289. Nattie EE. CO₂, brainstem chemoreceptors and breathing. *Prog Neurobiol* 1999; 59: 299–331.

290. Filosa J, Dean J, Putnam R. Role of intracellular and extracellular pH in the chemosensitive response of rat locus ceruleus neurons. *J Physiol Lond* 2002; 541: 493–509.
291. Wang W, Tiwari JK, Bradley SR, Zaykin RV, Richerson GB. Acidosis-stimulated neurons of the medullary raphe are serotonergic. *J Neurophysiol* 2001; 85: 2224–35.
292. Washburn CP, Sirois JE, Talley EM, Guyenet PG, Bayliss DA. Serotonergic raphe neurons express TASK channel transcripts and a TASK-like pH- and halothane-sensitive K⁺ conductance. *J Neurosci* 2002; 22: 1256–65.
293. Bayliss DA, Talley EM, Sirois JE, Lei Q. TASK-1 is a highly modulated pH-sensitive ‘leak’ K⁺ channel expressed in brainstem respiratory neurons. *Respir Physiol* 2001; 129: 159–74.
294. Dean JB, Kinkade EA, Putnam RW. Cell-cell coupling in CO₂/H⁺-excited neurons in brainstem slices. *Respir Physiol* 2001; 129: 83–100.
295. Solomon IC, Halat TJ, El-Maghrabi MR, O' Neal MH III. Localization of connexin26 and connexin32 in putative CO₂-chemosensitive brainstem regions in rat. *Respir Physiol* 2001; 129: 101–21.
296. Jiang C, Xu H, Cui N, Wu J. An alternative approach to the identification of respiratory central chemoreceptors in the brainstem. *Respir Physiol* 2001; 129: 141–57.
297. Putnam RW. Intracellular pH regulation of neurons in chemosensitive and nonchemosensitive areas of brain slices. *Respir Physiol* 2001; 129: 37–56.
298. Wiemann M, Bingmann D. Ventrolateral neurons of medullary organotypic cultures: intracellular pH regulation and bioelectric activity. *Respir Physiol* 2001; 129: 57–70.
299. Acker H, O'Regan RG. The effects of stimulation of autonomic nerves on carotid body blood flow in the cat. *J Physiol* 1981; 315: 99–110.
300. De Burgh Daly M, Lambertsen CJ, Schweitzer A. Observations on the volume of blood flow and oxygen utilization of the carotid body in the cat. *J Physiol* 1954; 125: 67–89.

301. Iturriaga R, Alcayaga J. Neurotransmission in the carotid body: transmitters and modulators between glomus cells and petrosal ganglion nerve terminals. *Brain Res Brain Res Rev* 2004; 47: 46-53.
302. López-Barneo J, del Toro R, Levitsky KL, Chiara MD, Ortega-Sáenz P. Regulation of oxygen sensing by ion channels. *J Appl Physiol*, 2004; 96: 1187-95.
303. Guyenet PG, Bayliss DA, Mulkey DK, Stornetta RL, Moreira TS, Takakura AT. The retrotrapezoid nucleus and central chemoreception. *AdvExp Med Biol* 2008; 605: 327-32.
304. Leusen IR. Chemosensitivity of the respiratory center; influence of CO₂ in the cerebral ventricles on respiration. *Am J Physiol* 1954; 176: 39-44.
305. Pappenheimer JR, Fencel V, Heisy SR, Held D. Role of cerebral fluids in control of respiration as studied in unanesthetized goats. *Am J Physiol* 1965; 208: 436-50.
306. Fencel V, Miller TB, Pappenheimer JR. Studies on the respiratory response to disturbances of acid-base balance, with deductions concerning the ionic composition of cerebral interstitial fluid. *Am J Physiol* 1966; 210: 459-72.
307. Loeschcke HH, Mitchell RA, Katsaros B, Perkins JF, König A. Interaction of intracranial chemosensitivity with peripheral afferents to the respiratory centers. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 109: 651-60.
308. Schlaefke ME, See WR, Loeschcke HH. Ventilatory response to alterations of H⁺ ion concentration in small areas of the ventral medullary surface. *Respir Physiol* 1970; 10: 198-212.
309. Mitchell RA, Loeschcke HH, Massion WH, Severinghaus JW. Respiratory responses mediated through superficial chemosensitive areas on the medulla. *J Appl Physiol* 1963; 18: 519-22.
310. Cherniack NS, von Euler C, Homma I, Kao FF. Graded changes in central chemoceptor input by local temperature changes on the ventral surface of medulla. *J Physiol* 1979; 287: 191-211.
311. Millhorn DE, Eldridge FL, Waldrop TG. Effects of medullary area I(s) cooling on respiratory response to chemoreceptor inputs. *Respir Physiol* 1982; 49: 23-39.
312. Coates EL, Li A, Nattie EE. Widespread sites of brain stem ventilatory chemoreceptors. *J Appl Physiol* 1993; 75: 5-14.

313. Mulkey DK, Stornetta RL, Weston MC, Simmons JR, Parker A, Bayliss D. Respiratory control by ventral surface chemoreceptor neurons in rats. *Nat Neurosci* 2004; 7: 1360-9.
314. Putnam RW, Filosa JA, Ritucci NA. Cellular mechanisms involved in CO₂ and acid signaling in chemosensitive neurons. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: 1493-526.
315. Wellner-Kienitz MC, Shams H. Hyperpolarization-activated inward currents contribute to spontaneous electrical activity and CO₂/H⁺ sensitivity of cultivated neurons of fetal rat medulla. *Neuroscience* 1998; 87: 109-21.
316. Richerson GB. Response to CO₂ of neurons in the rostral ventral medulla in vitro. *J Neurophysiol* 1995; 73: 933-44.
317. Dean JB, Lawing WL, Millhorn DE. CO₂ decreases membrane conductance and depolarizes neurons in the nucleus tractus solitarii. *Exp Brain Res* 1989; 76: 656-61.
318. Oyamada Y, Ballantyne D, Mückenhoff K, Scheid P. Respiration modulated membrane potential and chemosensitivity of locus coeruleus neurones in the in vitro brainstem-spinal cord of the neonatal rat. *J Physiol* 1998; 513: 381-98.
319. Rigatto H, Fitzgerald SC, Willis MA, Yu C. In search of the central respiratory neurons: II. Electrophysiologic studies of medullary fetal cells inherently sensitive to CO₂ and low pH. *J Neurosci Res* 1992; 33: 590-7.
320. Bernard DG, Li A, Nattie EE. Evidence for central chemoreception in the midline raphe. *J Appl Physiol*; 1996; 80, 108-15.
321. Xu F, Zhang Z, Frazier DT. Microinjection of acetazolamide into the fastigial nucleus augments respiratory output in the rat. *J Appl Physiol* 2001; 91: 2342-50.
322. Coates EL, Li AH, Nattie EE. Acetazolamide on the ventral medulla of the cat increases phrenic output and delays the ventilatory response to CO₂. *J Physiol* 1991; 441: 433-51.
323. Li A, Randall M, Nattie EE. CO₂ microdialysis in retrotrapezoid nucleus of the rat increases breathing in wakefulness but not in sleep. *J Appl Physiol* 1999; 87: 910-9.

324. Nattie EE, Li A. CO₂ dialysis in the medullary raphe of the rat increases ventilation in sleep. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1247-57.
325. Nattie EE, Li A. CO₂ dialysis in nucleus tractus solitarius region of rat increases ventilation in sleep and wakefulness. *J Appl Physiol* 2001; 92: 2119-30.
326. Solomon IC, Edelman NH, O'Neal MH. CO₂/H(+) chemoreception in the cat pre-Bötzinger complex in vivo. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1996-2007.
327. Nattie E, Li A. Central chemoreception 2005: a brief review. *Auton Neurosci* 2006; 126-127: 332-8.
328. Nattie EE, Li A. Retrotrapezoid nucleus lesions decrease phrenic activity and CO₂ sensitivity in rats. *Respir Physiol* 1994; 97: 63-77.
329. Nattie EE, Li A, Mills J, Huang, Q. Retrotrapezoid nucleus muscarinic receptor subtypes localized by autoradiography. *Respir Physiol* 1994; 96: 189-97.
330. Akilesh MR, Kamper M, Li A, Nattie EE. Effects of unilateral lesions of retrotrapezoid nucleus on breathing in awake rats. *J Appl Physiol* 1997; 82: 469-79.
331. Nattie E, Li A. Muscimol dialysis in the retrotrapezoid nucleus region inhibits breathing in the awake rat. *J Appl Physiol* 2000; 89: 153-62.
332. Donoghue S, Felder RB, Jordan D, Spyer KM. The central projections of carotid baroreceptors and chemoreceptors in the cat: a neurophysiological study. *J Physiol* 1984; 347: 397-409.
333. Housley GD, Martin-Body RL, Dawson NJ, Sinclair JD. Brain stem projections of the glossopharyngeal nerve and its carotid sinus branch in the rat. *Neuroscience* 1987; 22: 237-250.
334. Housley GD, Sinclair JD. Localization by kainic acid lesions of neurones transmitting the carotid chemoreceptor stimulus for respiration in rat. *J Physiol* 1988; 406: 99-114.
335. Vardhan A, Kachroo A, Sapru HN. Excitatory amino acid receptors in commissural nucleus of the NTS mediate carotid chemoreceptor responses. *Am J Physiol* 1993; 264: 41-50.

336. Marchenko V, Sapru HN. Different patterns of respiratory and cardiovascular responses elicited by chemical stimulation of dorsal medulla in the rat. *Brain Res* 2000; 857: 99-109.
337. Nattie E, Li A. Muscimol dialysis into the caudal aspect of the Nucleus tractus solitarii of conscious rats inhibits chemoreception. *Respir Physiol Neurobiol* 2008; 164: 394-400.
338. Biancardi V, Bicego KC, Almeida MC, Gargaglioni LH. Locus coeruleus noradrenergic neurons and CO₂ drive to breathing. *Pflugers Arch* 2008; 455: 1119-28.
339. Bradley SR, Pieribone VA, Wang W, Severson CA, Jacobs RA, Richerson GB. Chemosensitive serotonergic neurons are closely associated with large medullary arteries. *Nat Neurosci* 2002; 5: 401-2.
340. Mulkey DK, Talley EM, Stornetta RL, Siegel AR, West GH, Chen X. TASK channels determine pH sensitivity in select respiratory neurons but do not contribute to central respiratory chemosensitivity. *J Neurosci* 2007; 27: 14049-58.
341. Smith CA, Rodman JR, Chenuel BJ, Henderson KS, Dempsey JA. Response time and sensitivity of the ventilatory response to CO₂ in unanesthetized intact dogs: central vs. peripheral chemoreceptors. *J Appl Physiol* 2006; 100: 13-9.
342. Van Beek JH, Berkenbosch A, de Goede J, Olievier CN. Effects of brain stem hypoxaemia on the regulation of breathing. *Respir Physiol* 1984; 57: 171-88.
343. Daristotle L, Bisgard GE. Central-peripheral chemoreceptor ventilatory interaction in awake goats. *Respir Physiol* 1989; 76: 383-91.
344. Clement ID, Bascom DA, Conway J, Dorrington KL, O'Connor DF, Painter R. An assessment of central-peripheral ventilatory chemoreflex interaction in humans. *Respir Physiol* 1992; 88: 87-100.
345. St Croix CM, Cunningham DA, Paterson DH. Nature of the interaction between central and peripheral chemoreceptor drives in human subjects. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74: 640-6.
346. Adams JM, Attinger FM, Attinger EO. Medullary and carotid chemoreceptor interaction for mild stimuli. *Pflugers Arch* 1978; 374: 39-45.

347. Robbins PA. Evidence for interaction between the contributions to ventilation from the central and peripheral chemoreceptors in man. *J Physiol* 1988; 401: 503-18.
348. Smith CA, Jameson LC, Mitchell GS, Musch TI, Dempsey JA. Central-peripheral chemoreceptor interaction in awake cerebrospinal fluid-perfused goats. *J Appl Physiol* 1984; 56: 1541-9.
349. Day TA, Wilson RJ. A negative interaction between brainstem and peripheral respiratory chemoreceptors modulates peripheral chemoreflex magnitude. *J Physiol* 2009; 587: 883-96.
350. Dahan A, DeGoede J, Berkenbosch A, Olievier IC. The influence of oxygen on the ventilatory response to carbon dioxide in man. *J Physiol* 1990; 428: 485-99.
351. Clement ID, Pandit JJ, Bascom DA, Dorrington KL, O'Connor DF, Robbins PA. An assessment of central-peripheral ventilatory chemoreflex interaction using acid and bicarbonate infusions in humans. *J Physiol* 1995; 485: 561-70.
352. Bellville JW, Whipp BJ, Kaufman RD, Swanson GD, Aqleh KA, Wiberg DM. Central and peripheral chemoreflex loop gain in normal and carotid body-resected subjects. *J Appl Physiol* 1979; 46: 843-53.
353. Fatemian M, Nieuwenhuijs DJ, Teppema LJ, Meinesz S, van der Mey AG, Dahan, A. The respiratory response to carbon dioxide in humans with unilateral and bilateral resections of the carotid bodies. *J Physiol* 2003; 549: 965-73.
354. Pan LG, Forster HV, Martino P, Strecker PJ, Beales J, Serra A. Important role of carotid afferents in control of breathing. *J Appl Physiol* 1998; 85: 1299-306.
355. Weil JV, Byrne-Quinn E, Sodal IE, Friesen WO, Underhill B, Filley GF. Hypoxic ventilatory drive in normal man. *J Clin Invest* 1970; 49: 1061-72.
356. Forster HV, Bisgard GE, Klein JP. Effect of peripheral chemoreceptor denervation on acclimatization of goats during hypoxia. *J Appl Physiol* 1981; 50: 392-8.
357. Forster HV, Bisgard GE, Rasmussen B, Orr JA, Buss DD, Manohar M. Ventilatory control in peripheral chemoreceptor-denervated ponies during chronic hypoxemia. *J Appl Physiol* 1976; 41: 878-85.

- 358. Rahn H, Otis AB. Man's respiratory response during and after acclimatization to high altitude. *Am J Physiol* 1949; 157: 445-62.
- 359. Forster HV, Dempsey JA, Chosy LW. Incomplete compensation of CSF H⁺ in man during acclimatization to high altitude (4830 M). *J Appl Physiol* 1975; 38: 1067-72.
- 360. West JB. Rate of ventilatory acclimatization to extreme altitude. *Respir Physiol* 1988; 74: 323-33.
- 361. Olson EB, Dempsey JA. Rat as a model for humanlike ventilatory adaptation to chronic hypoxia. *J Appl Physiol* 1978; 44: 763-9.
- 362. Aaron EA, Powell FL. Effect of chronic hypoxia on hypoxic ventilatory response in awake rats. *J Appl Physiol* 1993; 74: 1635-40.
- 363. Dempsey JA, Forster HV, Bisgard GE, Chosy LW, Hanson PG, Kiorpes L. Role of cerebrospinal fluid H⁺ in ventilatory deacclimatization from chronic hypoxia. *J Clin Invest* 1979; 64: 199-205.
- 364. Lai YL, Lamm JE, Hildebrandt J. Ventilation during prolonged hypercapnia in the rat. *J Appl Physiol* 1981; 51: 78-83.
- 365. Severinghaus JW, Mitchell RA, Richardson BW, Singer MM. Respiratory control at high altitude suggesting active transport regulation of CSF pH. *J Appl Physiol* 1963; 18: 1155-66.
- 366. Severinghaus JW, Carcelen A. Cerebrospinal fluid in man native to high altitude. *J Appl Physiol* 1964; 19: 319-21.
- 367. Dempsey JA, Forster HV. Mediation of Ventilatory Adaptations. *Physiol Rev* 1982; 62: 262-346.
- 368. Somogyi RB, Preiss D, Vesely A, Fisher JA, Duffin J. Changes in respiratory control after 5 days at altitude. *Respir Physiol Neurobiol* 2005; 145: 41-52.
- 369. Fatemian M, Robbins PA. Selected contribution: chemoreflex responses to CO₂ before and after an 8-h exposure to hypoxia in humans. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1607-14.
- 370. Mantilla CB, Zhan WZ, Sieck GC. Retrograde labeling of phrenic motoneurons by intrapleural injection. *J Neurosci* 2009; 182: 244-9.

371. Olson EB Jr, Dempsey JA, McCrimmon DR. Serotonin and the control of ventilation in awake rats. *J Clin Invest* 1979; 64: 689–693.
372. Drorbaugh JE, Fenn WO. A barometric method for measuring ventilation in newborn infants. *Pediatrics* 1955; 16: 81–87.
373. Liu C, Cao Y, Malhotra A, Ling L. Sleep fragmentation attenuates the hypercapnic (but not hypoxic) ventilatory responses via adenosine A1 receptors in awake rats. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2011; 175: 29–36.
374. Fuller DD, Baker TL, Behan M, Mitchell GS. Expression of hypoglossal long term facilitation differs between substrains of Sprague-Dawley rats. *Physiol Genomics* 2001; 4: 175–181.
375. Kinkead R, Mitchell GS. Time-dependent hypoxic ventilatory responses in rats: effects of ketanserin and 5-carboxamidotryptamine. *Am J Physiol Regulatory Integrative CompPhysiol* 1999; 277: 658–666.
376. Janssen PL, Fregosi RF. No evidence for long-term facilitation after episodic hypoxia in spontaneously breathing, anesthetized rats. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1345–1351.
377. Baker-Herman TL, Mitchell GS. Determinants of frequency long-term facilitation following acute intermittent hypoxia in vagotomized rats. *Respir Physiol Neurobiol* 2008; 162: 8–17.

EKLER

**ERCİYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

ETİK KURULUN ADRESİ : Erc.Üni. Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi

Tarih: 13.02.2013

Toplantı Sayısı: 02

Karar No: 13/22

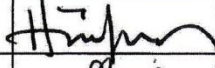
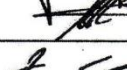
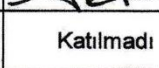
Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul

13.02.2013

tarihinde

Prof. Dr. Harun ÜLGER

Başkanlığı'nda toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Unvanı	Bölümü	İmza
Harun Ülger	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Abdullah İnci	Prof. Dr.	Vet. Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun Tez	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Fusun F. Erdoğan	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Ahmet Öztürk	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül Aycan.	Doç. Dr.	Ecz. Fakültesi	
Gökçen Y. Çelik	Doç. Dr.	Ecz. Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Aydın ALAN	Yrd. Doç. Dr.	DEKAM	
Asiye Gökbelen	Yar. Sevenler Der. Baş.	Sivil top. kuruluşu temsilcisi	Katılmadı
Serap A. Eroğlu	Avukat	Kurumla ilişkisi olmayan üye	Katılmadı

Üniversitemiz Tıp Fakültesinden **Prof. Dr. Sami AYDOĞAN** tarafından sunulan "**Aralıklı ve kronik hipoksiye maruz bırakılan sıçanlarda solunumsal uzun süreli fasilitasyonun (vLTF) araştırılması ve beyin sapı ve omurilik üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması**" adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına **oy birliğiyle** karar verildi.

Tarih : 13.02.2013

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER

İmzası



ASLININ AYNIĞIDIR


Prof. Dr. Harun ÜLGER
Erciyes Üniversitesi
Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Kemal Erdem BAŞARAN

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 11 Eylül 1983, TRABZON

Medeni Durumu: Evli

Tel: 0533 034 06 93

E-mail: ebasaran@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Endüstri Mühendisliği	Başkent Üniversitesi	2005
Lisans	Biyoloji	Erciyes Üniversitesi	2009
Doktora	Fizyoloji	Erciyes Üniversitesi	

Akademik Ünvanlar

Görev Unvanı	Alan	Üniversite	Yıl
Arş.Gör.	Fizyoloji	Erciyes Üniversitesi	2010-...
Arş.Gör.	Physiology	Univ. of California, San Diego	2011-2013

BİLDİRİLER

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında (Proceedings) Basılan Bildiriler

Yay A.H., Gölgeci A., Yalçın B., Yazgan K. , Keklik E., Başaran K.E., et al., "Brain tissue plasticity in high fat diet fed and fasting rats", XXIV International Symposium on Morphological Sciences, İSTANBUL, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2015, vol.9, no.2, pp.167-168.

Başaran K.E., Moya E., Fu Z. , Powell F.L., "Effects of A2a Receptors on the Hypoxic Ventilatory Response in Rats Exposed to Chronic Sustained Hypoxia", Experimental Biology 2015, Boston, A.B.D., 28 Mart - 1 Nisan 2015, vol.29, no.1, pp.29-29.

Başaran K.E., Aydoğan S., Artış A.S., Dolu N., "Alterations in red blood cell rheological properties in healthy people living at low and mid-altitudes", Experimental Biology 2012, San Diego, A.B.D., 21-25 Nisan 2012, pp.26-26.

Artış A.S., Süer C., Dolu N., Başaran K.E., "How cold stress affects hippocampal function in female rats?", FEBS and TURKISH SOCIETY of PHYSIOLOGICAL SCIENCES, İSTANBUL, TÜRKİYE, 3-7 Eylül 2011, vol.203, no.686, pp.PC113-PC113.

Artış A.S., Başaran K.E., Dolu N., Aydoğan S., "The effects of experimental epilepsy and environmental enrichment on the mechanical properties of erythrocytes in rats", FEBS and TURKISH SOCIETY of PHYSIOLOGICAL SCIENCES, İSTANBUL, TÜRKİYE, 3-7 Eylül 2011, vol.203, no.686, pp.OC29-OC29.

Aydoğan S., Başaran K.E., Artış A.S., Dolu N., "Exercise-induced alterations in hemorheological parameters in sedentary and exercise-trained individuals living at mid-altitude", FEBS and TURKISH SOCIETY of PHYSIOLOGICAL SCIENCES, İSTANBUL, TÜRKİYE, 3-7 Eylül 2011, vol.203, no.686, pp.PC233-PC233.

Dolu N., Başaran K.E., Artış A.S., Aydoğan S., "Influence of acute daily mountain climbing on some hematological parameters and red blood cell rheology in winter", FEBS and TURKISH SOCIETY of PHYSIOLOGICAL SCIENCES, İSTANBUL, TÜRKİYE, 3-7 Eylül 2011, vol.203, no.686, pp.PC234-PC234.

Dolu N., Süer C., Artış A.S., Bitiktaş S., Başaran K.E., "The role of the inhibitory mechanism of histamine in hippocampal long term potentials", FEBS and TURKISH SOCIETY of PHYSIOLOGICAL SCIENCES, İSTANBUL, TÜRKİYE, 3-7 Eylül 2011, vol.203, no.686, pp.PC119-PC119.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

Başaran K.E., Aydoğan S., "Solunumsal Uzun Süreli Fasilitasyonun Sinyal Mekanizmaları", Sağlık Bilimleri Dergisi, cilt.24, ss.70-78, 2015.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

Aydoğan S., Yıldız S., Başaran K.E., "Farklı Normobarik Hipoksi Koşullarında Kan Viskozite Değişiklikleri", 41. ULUSAL HEMATOLOJİ KONGRESİ, ANTALYA, TÜRKİYE, 21-24 Ekim 2015, ss.18-18.

Yazgan K. , Keklik E., Başaran K.E., Gölgeci A., "Evaluation memory with three panel test generated high calorie and hunger model in rats ", 13th Turkish Neuroscience Congress, KONYA, TÜRKİYE, 30 Nisan - 3 Mayıs 2015, cilt.9, no.1, ss.S32-S32.

Yıldız S., Başaran K.E., Aydoğan S., Erdoğan E., "HIF-1 alpha Levels In Different Hypoxic Conditions", 41. ULUSAL FİZYOLOJİ KONGRESİ, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-13 Eylül 2015, ss.38-38.

Gölgeli A., Yazgan K., Keklik E., Başaran K.E., Yay A.H., Hatipoğlu N. , "Sıçanlarda beslenmeye bağlı davranış ve kognitif fonksiyonlardaki değişimler, nöroglial plastisite", 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 9-12 Eylül 2015, ss.49-49.

Başaran K.E., "Solunumsal Uzun süreli Fasilitasyonun Kan Gazlarının Regülasyonuna Etkisi", 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, KAYSERİ, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2014, ss.56-56.

Yıldız S., Keklik E., Başaran K.E., Gölgeli A., "Dişi farelerde öğrenilmiş çaresizliğin anksiyete ve davranış parametrelerine etkisi", 12. ULUSAL SİNİRBİLİM KONGRESİ, İSTANBUL, TÜRKİYE, 28-31 Mayıs 2014, cilt.77, no.1, ss.75-75.

Çoksevim B., Başaran K.E., Saritaş N., "İzokinetik Tepe Tırmanışlarına Kardiovasküler Sistem Cevabı", 40. ULUSAL FİZYOLOJİ KONGRESİ, KAYSERİ, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2014, ss.59-59.

Yıldız S., Tunç T. , Aydoğan S., Başaran K.E., "Organofosfat Bileşiklerinden Ethionun Eritrositlerin Reolojik Özelliklerine Etkisi ve Vinposetinin Muhtemelen Koruyucu Rolü", 40. ULUSAL FİZYOLOJİ KONGRESİ, KAYSERİ, TÜRKİYE, 2-6 Eylül 2014, ss.48-48.

Yıldız S., Dolu N., Başaran K.E., Aydoğan S., "Erciyes Dağında Sürekli Yaşayanlar ile Akut Tırmanış Yapanlarda 2,3 DPG Düzeylerinin Karşılaştırılması", 4. EGZERSİZ FİZYOLOJİSİ SEMPOZYUMU, İSTANBUL, TÜRKİYE, 17-18 Mayıs 2013, ss.53-53.

Dolu N., Süer C., Artış A.S., Bitiktaş S., Başaran K.E., "Deneyisel hipertiroidili sıçanlarda hipokampal uzun süreli potansiyasyondaki inhibisyon", 10. ULUSAL SİNİRBİLİM KONGRESİ, İSTANBUL, TÜRKİYE, 9-12 Nisan 2011, ss.83-83.

Dolu N., Süer C., Artış A.S., Bitiktaş S., Başaran K.E., "Deneyisel Hipertiroidili Sıçanlarda Hipokampal Uzun Süreli Potansiyasyondaki İnhibisyon", 10. Ulusal Sinirbilim Kongresi, İSTANBUL, TÜRKİYE, 9-12 Nisan 2011, ss.83-83.

Artış A.S., Başaran K.E., Aydoğan S., Baktir M.A., Dolu N., Süer C., "Kronik Soğuk Stresin Sıçanlarda Eritrositlerin Reolojik Özellikleri Üzerine Etkileri", 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi, EDİRNE, TÜRKİYE, 14 Eylül 2010 - 17 Eylül 2011, ss.47-47.

Artış A.S., Başaran K.E., Aydoğan S., Dolu N., "Deneysel epilepside sıçanlarda eritrositlerin mekanik özelliklerinde değişiklikler", 10. ULUSAL SİNİRBİLİM KONGRESİ, İSTANBUL, TÜRKİYE, 9-12 Nisan 2011, ss.231-231.

Süer C., Artış A.S., Dolu N., Başaran K.E., "Ooferektominin kronik dönemde sıçanların Y labirenti performansı üzerinde etkileri", 10. ULUSAL SİNİRBİLİM KONGRESİ, İSTANBUL, TÜRKİYE, 9-12 Nisan 2011, ss.198-198.

Aydoğan S., Artış A.S., Başaran K.E., "A Possible New Role of L-Carnosine As Rejuvenating Agent For Improvement Erythrocyte Quality and Mechanical Properties", III. ANTI-AGING CONGRESS, ANKARA, TÜRKİYE, 2-5 Aralık 2010, ss.73-73.

Projeler

"Yüksek rakımda yaşayan bireylerde yüksekliğin kardiyovasküler ve solunum fonksiyonları ile egzersiz üzerine etkilerinin araştırılması ", BAP Arastırma Projesi, TOA-11-3320, Arastirmaci, 2013.

"Erciyes kaplanlarının kronik dağ yürüyüşlerinde oluşan fizyolojik cevapları ", BAP Arastırma Projesi, TOA-11-3295, Arastirmaci, 2013.

"Aralıklı ve kronik hipoksiye maruz bırakılan sıçanlarda solunumsal uzun süreli fasilitasyonun(vLTF) araştırılması ve beyin sapı ve omurilik üzerindeki etkilerin immunohistokimyasal olarak karşılaştırılması", BAP Doktora, TDK-2014-4435, Arastirmaci, 2015.

"Açlık ve Obezite Modelleri Oluşturulan Sıçanlarda Tanisit Plastisitesinin Araştırılması", TÜBİTAK Projesi, 114S009, Arastirmaci, 2015.

"Uzun Süreli Solunumsal Fasilitasyonda (vLTF) VEGF ve EPO Sinyal Yolaklarının Araştırılması", BAP Y.Lisans, TYL-2014-5311, Arastirmaci, Devam Ediyor.

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

APS, Üye, 01.08.2011 - Devam Ediyor.

TFBD, , Üye, 11.09.2009 - Devam Ediyor.

TUSAD, , Üye, 21.01.2013 - Devam Ediyor.

TTD, Üye, 26.06.2015 - Devam Ediyor.