

INSTYTUT CENTRUM MEDYCYNY DOŚWIADCZALNEJ
I KLINICZNEJ POLSKIEJ AKADEMII NAUK

mgr Beata Kopczyńska

**UDZIAŁ DRÓG DOŚRODKOWYCH
Z PŁUC I KRTANI W MECHANIZMIE BEZDECHU
I KSZTAŁTOWANIU WZORCA ODDECHOWEGO
W CHEMOODRUCHU PŁUCNYM U KOTA**



Praca doktorska

LS 224
H3035

Promotor:

doc. dr hab. n. med. Małgorzata Szereda-Przestaszewska

Pracownia Fizjologii Oddychania Zakładu Neurofizjologii

WARSZAWA 2002

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania
Pani Docent Małgorzacie Szereda-Przestaszewskiej
za wszechstronną pomoc i życzliwość okazywaną podczas
przygotowywania niniejszej pracy,
Panu Profesorowi Pawłowi Griebowi,
Panu Docentowi Mirosławowi Rybie,
Panu Doktorowi Stanisławowi Chrapuście
za pomoc w obliczeniach statystycznych
oraz Pani Monice Janisz
i Pani Teresie Warnawin
za pomoc techniczną w części doświadczalnej

*Moim Rodzicom
i dzieciom
Monice i Krzysztofowi*

Badania, których wyniki przedstawiono w tej pracy, były częściowo finansowane przez Komitet Badań Naukowych w latach 1996-1997 w ramach projektu badawczego nr PO5A 096 10.

SPIS TREŚCI

SKRÓTY STOSOWANE W PRACY	4
WSTĘP	5
METODYKA	21
1. Przygotowania wstępne	21
1. Materiał doświadczalny, znieczulenie, preparatyka wstępna	21
2. Metoda rejestracji oporów krtaniowych	23
3. Metody wypreparowania i rejestracji aktywności nerwu przeponowego	24
<i>Metody wypreparowania nerwu przeponowego</i>	24
<i>Rejestracja aktywności nerwu przeponowego</i>	24
4. Metody preparowania innych nerwów	25
<i>Preparatyka nerwów krtaniowych górnych</i>	25
<i>Preparatyka i neurotomia nerwów zatokowych</i>	25
<i>Preparatyka i neurotomia nerwów błędnych w odcinku śródszyjnym oraz ponad</i> <i>zwojami guzkowymi</i>	26
5. Metody preparatyki i pomiaru aktywności mięśni oddechowych	26
<i>Metoda przygotowania do rejestracji mięśnia poprzecznego klatki piersiowej</i> ..	26
<i>Metoda przygotowania do rejestracji mięśni wewnętrznych międzyżebrowych</i> ..	27
<i>Metoda przygotowania do rejestracji mięśnia międzyżebrowego</i> <i>przmostkowego klatki piersiowej</i>	27
<i>Metoda rejestracji aktywności badanych mięśni</i>	28
6. Substancje farmakologiczne stosowane w doświadczeniach	30
2. Układy doświadczalne zastosowane w pracy	30
1. Analiza powstawania chemoodruchu płucnego i kształtowania się wzorca oddechowego po dożylnym podaniu kapsaicyny	30
<i>Zbadanie przebiegu chemoodruchu w zależności od dawki podawanej</i> <i>kapsaicyny</i>	30
<i>Zbadanie wpływów pętli wagalnej oraz nerwów krtaniowych górnych na</i> <i>przebieg chemoodruchu płucnego wywołanego podaniem kapsaicyny</i>	31
<i>Badanie zachowania się oporów krtaniowych pod wpływem kapsaicyny</i>	32
<i>Zbadanie wpływu nerwów błędnych na aktywność efektorów oddechowych po</i> <i>iniekcji kapsaicyny</i>	32
<i>Wpływ blokady receptorów waniloidowych na chemoodruch płucny wywołany</i> <i>kapsaicyną</i>	33
2. Analiza powstawania chemoodruchu płucnego i kształtowania się wzorca oddechowego po dożylnym podaniu serotoniny (5HT)	34
<i>Zbadanie przebiegu chemoodruchu w zależności od ilości podawanej serotoniny</i>	34
<i>Zbadanie wpływów nerwów krtaniowych górnych i pętli wagalnej na przebieg</i> <i>chemoodruchu płucnego wywołanego podaniem serotoniny</i>	34
<i>Badanie zachowania się oporów oddechowych krtani pod wpływem serotoniny</i>	35
<i>Zbadanie wpływu nerwów błędnych na zachowanie się aktywności efektorów</i> <i>oddechowych pod wpływem serotoniny</i>	35
<i>Zbadanie wpływu nerwów zatokowych na przebieg oddychania</i> <i>poserotoninowego</i>	36

<i>Zbadanie wpływu zwojów guzkowych na wzorzec chemoodruchu poserotoninowego</i>	36
<i>Zbadanie przebiegu chemoodruchu poserotoninowego po zastosowaniu blokady receptorów serotonergicznyc</i>	37
3. Obliczenia stosowane w pracy	38
1. Obliczanie głównych parametrów oddechowych	38
2. Obliczanie współczynnika zahamowania oddychania	39
3. Obliczanie średniego ciśnienia tętniczego	39
4. Obliczenia statystyczne.....	39
WYNIKI.....	41
1. Kapsaicyna	41
1. Wpływ nerwów krtaniowych górnych na przebieg reakcji pokapsaicynowej....	42
2. Odpowiedź oddechowa na kapsaicynę	43
<i>Zahamowanie oddychania i bezdech pokapsaicynowy</i>	43
<i>Zmiany głównych parametrów oddechowych</i>	45
<i>Zmiany gazometryczne po podaniu kapsaicyny</i>	48
<i>Zmiany ciśnienia tętniczego krwi</i>	48
3. Wpływ kapsaicyny na opory oddechowe krtani	49
4. Wpływ kapsaicyny na zmiany aktywności mięśni oddechowych i nerwu przeponowego	51
5. Przebieg oddychania po podaniu kapsaicyny w czasie blokady receptorów waniloidowych czerwieną rutenową.....	55
<i>Zahamowanie oddychania i czas trwania bezdechu</i>	55
<i>Zmiany głównych parametrów oddechowych</i>	57
2. Serotonina.....	59
1. Wpływ nerwów krtaniowych górnych na przebieg reakcji poserotoninowej....	60
2. Przebieg oddychania po podaniu serotoniny	62
<i>Zahamowanie oddychania i czas trwania bezdechu</i>	62
<i>Zmiany głównych parametrów oddechowych</i>	63
<i>Zmiany gazometryczne podczas zatrzymania oddychania wywołanego przez 5HT</i>	66
<i>Zmiany ciśnienia tętniczego</i>	67
3. Wpływ serotoniny na opory oddechowe krtani	68
4. Wpływ serotoniny na aktywność mięśni oddechowych i nerwu przeponowego	70
5. Wpływ nerwu zatokowego na odpowiedź oddechową wywołaną podaniem 5HT	75
6. Wpływ zwojów guzkowych na przebieg reakcji poserotoninowej	78
7. Przebieg reakcji wywołanej przez 5HT po blokadzie receptorów serotonergicznyc.....	81
<i>Blokada receptorów przy użyciu ketanseryny</i>	81
<i>Blokada receptorów przy użyciu MDL</i>	84
DYSKUSJA.....	87
1. Wpływ nerwów krtaniowych górnych na przebieg reakcji oddechowej po podaniu serotoniny i kapsaicyny	87
2. Zmiany głównych parametrów oddechowych	89
<i>Bezdech: długość i występowanie</i>	89
<i>Charakterystyka przywróconego po bezdechu oddychania</i>	96

3. Zmiany ciśnienia tętniczego krwi i zaburzenia gazometryczne podczas bezdechu	100
4. Wpływ stosowanych substancji na opory krtaniowe	103
5. Zachowanie się mięśni oddechowych w czasie chemoodruchu płucnego	109
6. Blokada receptorów waniloidowych	116
7. Blokada receptorów serotonergicznyc.....	119
PODSUMOWANIE I WNIOSKI	124
PIŚMIENICTWO.....	125
STRESZCZENIE	152

SKRÓTY STOSOWANE W PRACY

CSN	nerw zatokowy
f	częstość oddychania
GABA	kwasy γ -aminomasłowe
GR38032F	antagonista receptorów 5HT ₃
IIC	mięśnie międzyżebrowe wewnętrzne
MAP	średnie ciśnienie krwi
MDL 72222	tropanseryna, antagonista receptorów 5HT ₃
NMDA	kwasy N-metylo-D-asparginowe
NTS	jądro pasma samotnego
PDG	fenyloguanidyna
PIM	mięsień międzyżebrowy przymostkowy
P _{TR}	ciśnienie poprzecznicowe
REM	faza snu o szybkich ruchach gałek ocznych
RR	czerwień rutenu
SLN	nerw krtaniowy górny
T _I	czas wdechu
T _E	czas wydechu
T _{TOT}	czas trwania cyklu oddechowego
TS	mięsień poprzeczny klatki piersiowej
VR1, VN ₁ , VN ₂	receptory waniloidowe
V _T	objętość oddechowa
V _E	wentylacja minutowa
5 HT	serotonina, 5-hydroxytryptamina
5 HT ₁ , 5 HT ₂ , 5 HT ₃	receptory serotoninowe

WSTĘP

Drogi oddechowe poniżej noso-gardzieli zaopatrzone są czuciowo i ruchowo przez nerw błędny. Pełni on zatem rolę podstawową w obwodowej regulacji oddychania. Odruchy płucne, przewodzone drogami nerwu błędnego do ośrodków w rdzeniu przedłużonym, dzieli się na odruchy regulacyjne i obronne. W warunkach prawidłowych odruchy wywołane zmianami objętości oddechowej regulują wzorzec oddechowy i napięcie mięśniówki gładkiej. Odruchy zaś powodowane przez substancje chemiczne wprowadzone do dolnych dróg oddechowych i zagrażające ich prawidłowej funkcji, tak zwane odruchy obronne, spełniają odmienne funkcje. Stanowią je odpowiedzi ochronne na czynniki szkodliwe dostające się do dróg oddechowych z powietrzem oddechowym lub z krwioobiegiem. Mogą mieć one charakter czysto ochronny, to znaczy nie prowadzą do aktywnego usunięcia czynnika szkodliwego (np. bezdech, skurcz krtani i skurcz oskrzeli), lub obronny, mający na celu usunięcie czynnika drażniącego poprzez procesy takie, jak kaszel, kichanie, odruch aspiracyjny i ekspiracyjny, z których trzy ostatnie powstają w górnych drogach oddechowych (Korpaś i Tomori, 1979; Coleridge i Coleridge, 1986; Karlsson i wsp., 1988).

Dla odruchów regulacyjnych drogę dośrodkową są wejścia z niskoprogowych zakończeń czuciowych nerwu błędnego, znajdujących się w mięśniówce gładkiej dróg oddechowych, mięśniu tchawiczym, w tylnej ścianie tchawicy i zewnątrzplucnych oskrzelach. Bodźcem dla tych zakończeń jest objętość lub ciśnienie w drogach oddechowych, a ich aktywność wyraźnie czasowo zależna od ruchów oddechowych, współuczestniczy w kontroli wentylacji z zadaniem utrzymania status quo. (Coleridge i Coleridge, 1986; Sant' Ambrogio, 1987, Schelegle i Green, 2001). Są to tzw. wolnoadaptujące receptory wrażliwe na rozciąganie, przewodzą z nich włókna mielinowe, których zakończenia ośrodkowe znajdują się w jądrach: pośrednim,

śródmiażdżowym, brzuszny i brzuszno-bocznym pasma samotnego (NTS) w rdzeniu przedłużonym po przeciwnej stronie (Davies i wsp., 1987).

Receptory te odpowiedzialne są za klasyczny odruch inflacyjny Heringa-Breuera (zakończenie wdechu i przedłużenie wydechu podczas inflacji płuc). Odruch ten u uśpionych zwierząt jest głównym mechanizmem regulacji głębokości i częstości oddychania.

Drugim rodzajem receptorów o nieregularnej modulacji oddechowej są receptory szybko adaptujące, znajdujące się w bardziej powierzchniowych warstwach śluzówki dróg oddechowych głównie w tchawicy i oskrzelach. Charakteryzują się nieregularnymi wyładowaniami przeważnie w czasie inflacji płuc i są mało aktywne w spokojnym oddychaniu u uśpionych zwierząt. Receptory te pobudzane są przez deflację płuc oraz bodźce mechaniczne i substancje chemiczne (pary amoniaku, pyły, dym papierosowy oraz mediatory zapalne i immunologiczne). Odpowiedzialne są za odruch kaszlowy i w związku z tym biorą udział w odruchach obronnych (Coleridge i Coleridge, 1986; Sant'Ambrogio, 1987; Sant'Ambrogio i Widdicombe, 2001). Przewodzą z nich małe ($A\delta$) włókna mielinowe, mające swoje zakończenia w podjądrze spoidłowym i środkowym pęczka samotnego, z projekcją po przeciwnej stronie (Davies i Kubin, 1986; Kubin i Davies, 1988).

Przeważająca liczba zakończeń nerwu błędnego związana z mięszem płucnym i drogami oddechowymi wykazuje aktywność bez wyraźnej modulacji oddechowej. Przewodzą z nich włókna niemielinowe, które w nerwie błędnym kota stanowią większość jego składu w proporcji do włókien mielinowych 4:1 w jego części szyjnej i 11:1 w gałązkach oskrzelowych (Agostoni i wsp., 1957; Mei i wsp., 1980; Jammes i wsp., 1982). Aktywność tych zakończeń jest rzadka i nieregularna. Noszą one nazwę receptorów oskrzelowo-płucnych powiązanych z włóknami C (Sant' Ambrogio, 1987;

Sant'Ambrogio i Sant'Ambrogio, 1997). Ich właściwości badane były przy użyciu substancji egzogennych takich jak kapsaicyna i fenylo diguanidyna, a podział na płucne i oskrzelowe zależy od pojawienia się aktywności po podaniu kapsaicyny odpowiednio do krążenia płucnego lub układowego (Coleridge i Coleridge, 1977, 1986, 1994). Receptory płucne znajdują się między ścianą pęcherzyków a kapilarami płucnymi i to umiejscowienie jak i charakterystyka wyładowań odpowiada receptorom J opisanym przez Paintala (1969). Receptory oskrzelowe zlokalizowane są w ścianach tchawicy i oskrzeli (Sant'Ambrogio, 1987). Zakończenia ośrodkowe receptorów oskrzelowo-płucnych znajdują się w części środkowej NTS, w jądrze grzbietowym i spoidłowym, kontralateralnie (Kubin i wsp., 1991).

Właściwości funkcjonalne tych receptorów opisane zostały stosunkowo późno, przy zapisach aktywności dośrodkowych, rejestrowano je bowiem przypadkowo. Bodźce pobudzające te receptory podzielone mogą być na dwie kategorie: egzogenne substancje chemiczne i endogennie wydzielane mediatory. Receptory oskrzelowo-płucne wykazują funkcje chemoczułe, a ich efekty odruchowe ograniczają się w większości do regulacji napięcia mięśniówki gładkiej dróg oddechowych i naczyń, wydzielaniu śluzu (Davis i wsp. 1982) i wynaczynianiu osocza (Lundberg i wsp. 1983; Lundberg i Saria, 1983). Wymienionym receptorom przypisuje się główną rolę w zmianach wzorca oddechowego (bezdech, szybkie, płytkie oddychanie) w odpowiedzi na różne czynniki chemiczne, a także w stanach patologicznych miąższu płucnego, takich jak obrzęk, przekrwienie, mikrozatory (Sant'Ambrogio i Remmers, 1985; Lee i Pissari, 2001). Receptory te powiązane są z włóknami niemielinowymi typu C w nerwie błędnym i powrócimy do nich przy omawianiu chemoodruchu płucnego.

Receptory nerwu błędnego o różnej modalności zidentyfikowano także w krtani, zaopatrzonej ruchowo przez nerw krtaniowy zwrotny i czuciowo przez nerw krtaniowy

górny, będące gałązkami wagalnymi. Ich rola w odruchowej regulacji oddychania nie jest w pełni wyjaśniona. Typy receptorów i odpowiadająca im aktywność dośrodkowa jest tak różna, jak różne są odpowiedzi odruchowe powstałe w krtani.

Krtań jest zastawką oddechową, zbudowaną z mięśni poprzecznie prążkowanych, opartych na szkielecie chrzęstnym o pełnym pierścieniu, uniemożliwiającym zapadanie podczas wdechu. Z pięciu par wewnętrznych mięśni krtani tylko jedna to odwodziciele fałdów głosowych (mięsień pierścienno-nalewkowy tylny), pozostałe są przywodzicielami. Mechanizm zastawkowy, który stanowią fałdy głosowe jest elementem regulującym opory w drogach oddechowych (Bartlett, 1989). Nerw krtaniowy górny, będący głównym czuciowym zaopatrzeniem krtani (część podgłośniową unerwia nerw zwrotny) składa się u kota w przeważającej mierze z włókien mielinowych (Dubois i Foley, 1936; Mei i wsp., 1980) i niewielkiej proporcji włókien niemielinowych dośrodkowych (Miller i Loizzi, 1974). Większość ciał komórkowych tych włókien znajduje się w zwoju guzkowym nerwu błędnego (Kubin i wsp. 1991). Ośrodkowe projekcje nerwu krtaniowego górnego u kota znajdowano w grzbietowo-bocznym, pośrednim, śródmiąszowym i spoidłowym podjądrzu NTS (Lucier i wsp., 1986).

Aktywność dośrodkową z krtani można podzielić na dwie kategorie: o wyładowaniach związanych z cyklem oddechowym i pozostałą pojawiającą się nieregularnie, wywołaną drażnieniem chemicznym lub mechanicznym śluzówki krtani. Pierwszą z nich należy wiązać z regulacją światła dróg oddechowych i wzorcem oddechowym, a tę zależną od bodźców drażniących, z odruchami obronnymi (Sant' Ambrogio i Mathew, 1986). Wiele receptorów krtaniowych wykazuje polimodalność i było przedmiotem intensywnych badań w ostatnim dwudziestoleciu, kiedy to patologiczne warunki takie jak obturacyjny bezdech śródsenny, czy nagła śmierć

noworodków zaistniały jako problem badawczy. Z dotychczasowych badań wynika, że w bezdechu śródsennym u ludzi droga oddechowa zapada się powyżej krtani (Krieger, 1986; Horner, 2000), natomiast nerwowe zakończenia chemoczułe w krtani pobudzone np. przez wodę i liczne substancje chemiczne mogą powodować bezdech, prowadzący w warunkach ekstremalnych do zejścia śmiertelnego, zwłaszcza u osobników niedojrzałych.

Rejestrując aktywność dośrodkową z gałązki wewnętrznej nerwu krtaniowego górnego sklasyfikowano u psa trzy typy receptorów krtaniowych o modulacji oddechowej: (1) pobudzone przez ujemne ciśnienie w drogach oddechowych, (2) zmieniające aktywność w czasie skurczu mięśni krtani lub kikuta odciętej tchawicy, (3) wrażliwe na temperaturę powietrza w czasie wdechu. Dwa pierwsze typy receptorów noszą charakter mechanoreceptorów (Sant'Ambrogio i wsp., 1983; Sant'Ambrogio i wsp., 1985a).

Nerwy krtaniowe górne przewodzą również aktywności z receptorów szybkoadaptujących, podobnych do tych znajdujących się w dolnych drogach oddechowych, pobudzanych przez bodźce mechaniczne, substancje drażniące oraz z receptorów chemoczułych i stawowych. Główną odpowiedzią na drażnienie struktur krtaniowych jest bezdech, kaszel, wysiłki wydechowe i skurcz krtani. Receptory rozmieszczone są powierzchownie (w nabłonku i podśluzówce) a także głęboko (w mięśniach i stawach). Brak jednak mapy pól receptorowych i charakterystyki aktywności inicjujących odruchy krtaniowe (Widdicombe, 1981).

Rola niemielinowych włókien dośrodkowych w nerwie krtaniowym górnym nie jest w pełni wyjaśniona. Zakończenia typu C obecne są w krtani kotów i świnek morskich (Jammes i wsp., 1987; Forsberg i wsp., 1988). Drażnienie elektryczne nerwu krtaniowego górnego powoduje bezdech u zwierząt i ludzi, bardziej nasilony u

nowonarodzonych. W pracach doświadczalnych stanowi najlepszą metodę wywoływania odruchowego bezdechu w pozycji wydechowej, będącego wynikiem aktywacji ośrodkowych mechanizmów hamujących, stanowiących o przerwaniu centralnego napędu oddechowego (Lawson, 1981; Daly i Kirkman, 1988; van Vliet i Uenishi, 1992).

U zwierząt dojrzałych przepływ powietrza przez górne drogi oddechowe wpływa w niewielkim stopniu hamująco zarówno na komponentę czasową jak i intensywność aktywności wdechowej, w warunkach zachowania nietkniętego czuciowego unerwienia krtani. Przecięcie nerwu krtaniowego górnego znosi wszelkie odruchy z krtani, a także redukuje odpowiedzi oddechowe z mięśni górnych dróg oddechowych (Widdicombe, 1981; Sant' Ambrogio i Remmers, 1985; Widdicombe, 1986; Bartlett, 1989; Sant' Ambrogio i Widdicombe, 2001).

Wymienione na początku wstępu receptory oskrzelowo-płucne, powiązane z włóknami niemielinowymi C zaangażowane są w chemoodruch płucny. Po raz pierwszy opisany w 1900 r. przez Brodie'go, znalazł szerokie omówienie w pracy Dawes'a i Comroe'go (1954). Odruch ów posiada złożony wzorzec odpowiedzi, na który składa się spadek ciśnienia i bradykardia (chemoodruch depresyjny) oraz bezdech z następowym płytkim, szybkim oddychaniem (chemoodruch oddechowy). Wywołany jest dożylnym podaniem pewnych substancji chemicznych i inicjowany wraz z dotarciem tych czynników do płuc i pobudzeniem dośrodkowych, niemielinowych włókien C nerwu błędnego, osiągalnych z płucnego łoża naczyniowego. W konstelacji chemoodruchu na plan pierwszy wysuwa się przejściowe zatrzymanie oddychania, będące natychmiastowym przerwaniem wdechu i przedłużeniem następującego po nim czasu wydechu. Bezdech ów charakteryzuje się zahamowaniem aktywności motoneuronów alfa mięśni wdechowych i wydechowych i zniesieniem aktywności

motoneuronów gamma mięśni międzyżebrowych. Przecięcie gałązek płucnych nerwu błędnego lub wagoatomia szyjna znoszą chemoodruch (Dawes i Comroe, 1954; Coleridge i Coleridge, 1984, 1986, 1994).

Spośród wielu czynników chemicznych będących w stanie wywołać chemoodruch płucny zajęto się w tej pracy dwoma: kapsaicyną i serotoniną. Pierwsza z nich jest substancją egzogenną – wyciągiem z owoców czerwonej papryki (chemicznie: 8 metylo-N-vanililo-6-noneamid), natomiast serotonina (5-hydroxytryptamina) jest naturalnie obecna w organizmie.

Kapsaicyna jest neurotoksyną w małych dawkach ($\mu\text{g}/\text{kg}$) selektywnie pobudzającą niemielinowe dośrodkowe włókna C i mielinowe A δ . W niemielinowych włóknach C wrażliwych na kapsaicynę zlokalizowane są neuropeptydy czuciowe (tachykininy i genowo-zależna kalcytonina). Dotyczy to zarówno aksonów w nerwie błędnym jak i ciał komórkowych w zwojach górnym i dolnym (guzkowym) tego nerwu (Lundberg i Saria, 1987). Włókna C znajdują się w życiowo ważnych narządach: wokół naczyń mózgowych, tchawiczo-oskrzelowych komórek zwojowych, naczyń płucnych, w mięśniówce gładkiej drzewa tchawiczo-oskrzelowego, w krtani, a także pod i w nabłonku wyścielającym drogi oddechowe. Kapsaicyna, pobudzająca włókna C, jest najczęściej stosowanym związkiem chemicznym powodującym wyzwolenie neuropeptydów (Holzer, 1988, 1991; Solway i Leff, 1991). Opisane w latach dziewięćdziesiątych receptory kapsaicynowe (waniloidowe) występują w ciałach komórek nerwowych, aksonach i zakończeniach czuciowych (Wood i Docherty, 1987). Wykryto je zarówno w zwojach czuciowych somatycznych (trójdzielny, korzenie grzbietowe) i trzewnych (guzkowy), obwodowo w nerwie błędnym i kulszowym, w rogach grzbietowych rdzenia kręgowego, w jądrze pasma samotnego i jądrze rdzeniowym nerwu trójdzielnego (Szallasi i wsp., 1995).

Oddechowe efekty dożylnego podania kapsaicyny opisano w połowie lat pięćdziesiątych jako bezdech, z następowym płytkim, szybkim oddychaniem oraz spadkiem ciśnienia tętniczego u kotów, psów i szczurów (Toh i wsp., 1955; Pórszász i wsp., 1955; Pórszász i wsp., 1957; Bevan, 1962; Makara i wsp., 1967), znoszonymi przez przecięcie lub blokadę nerwów błędnych (Toh i wsp., 1955; Pórszász i wsp., 1957; Makara i wsp., 1967).

Odpowiedź na kapsaicynę była zatem odruchem wagalnym o niezidentyfikowanych receptorach. Pórszász i wsp. (1957), a później Bevan (1962) sugerowali, że obserwowane efekty powodowane są pobudzeniem baroreceptorów tętnicy płucnej. Następne badania na psach z izolowanym krążeniem potwierdziły, że receptory związane z odpowiedzią na kapsaicynę znajdują się w płucach i powiązane są z włóknami C nerwu błędnego (Coleridge i wsp. 1965; Coleridge i Coleridge, 1977; Green i wsp., 1984; Coast i Cassidy, 1985).

Bezpośrednie rejestracje z włókien dośrodkowych nerwu błędnego wykazały, że włókna C są jedynymi zakończeniami aferentnymi w płucach jednoznacznie pobudzonymi przez kapsaicynę podaną do krążenia płucnego u kotów (Armstrong i Luck, 1974), psów (Coleridge i Coleridge, 1977) i szczurów (Ho i wsp., 2001). Dane w powyższych pracach wskazują na niewielką aktywację receptorów szybkoadaptujących u kota i szczura oraz wolnoadaptujących u psa. Kapsaicyna podana dożylnie lub w aerozolu pobudza włókna C u szczurów i świnek morskich (Bergren, 1997; Bergren i wsp., 1997). Opisano także wpływ pobudzający kapsaicyny na zakończenia typu IV (włókna C) i III (A δ) w receptorach mięśni szkieletowych psa (Kaufman i wsp., 1982). Pies stanowił zwierzę modelowe w badaniach nad chemoodruchem płucnym, wywołanym dożylnym podaniem kapsaicyny. Sugerowano, że jest bardziej podatny na jej działanie niż kot (Pórszász i wsp. 1955). Poza szczegółowym opisem dostępności

włókien C pobudzanych selektywnie przez kapsaicynę oraz odruchowych odpowiedzi oddechowych, niewiele jest danych liczbowych określających zmiany wentylacyjne w chemoodruchu płucnym. Praca wykonana na nieuśpionych psach zawiera dane liczbowe wykazujące spadek objętości oddechowej i zwiększenie częstości oddychania we wznowionym po bezdechu pokapsaicynowym oddychaniu w warunkach kontrolnych i zniesienie depresji objętościowej po wagotomii śródklatkowej (Clifford i wsp. 1987).

Chemoodruch płucny wywołany u kota dożylnym podaniem kapsaicyny był przedmiotem wymienionych uprzednio wczesnych badań (Toh i wsp. 1955; Pórszász i wsp., 1955; Bevan, 1962) i wzorzec odpowiedzi prezentowany na zapisach doświadczalnych w tych pracach nie odbiegał od opisanego u psa czy szczura. Czas trwania bezdechu po podaniu substancji i depresja oddechowa (Jancsó i Such, 1983) nie różnią się od obserwowanych u innych gatunków. Żadna z prac przeprowadzonych na kotach nie zawiera danych wentylacyjnych.

Drugą z substancji będącą przedmiotem zainteresowania niniejszej pracy i wywołującą chemoodruch płucny, serotonina (5-hydroxytryptamina) jest nie-katecholową aminą biogenną, endogennym neuroprzekaźnikiem i neuromodulatorem w wielu układach organizmu. Komórki srebrochłonne jelit, neurony serotonergiczne obwodowego i ośrodkowego układu nerwowego biorą udział w jej biosyntezie i magazynowaniu. W układzie żołądkowo-jelitowym zgromadzone jest 90% całkowitej serotoniny, pozostałe 10% jest magazynowane głównie w płytkach krwi i w mózgu (Meller i wsp., 1990; Buczko, 1995).

Układ neuronów serotonergicznych zajmuje jądra szwu w pniu mózgu. Ciała komórek zawierających serotoninę zlokalizowane są w linii środkowej pnia mózgu w grupie górnej i dolnej, z których pierwsza zaopatruje struktury przedomózgowia, druga

zaś rdzeń kręgowy i opuszkę. Neurony serotonergiczne mają projekcje w wielu regionach ośrodkowego układu nerwowego i unerwiają struktury ważne dla kontroli oddychania. Włókna serotonergiczne rozgałęziają się kończąc się w lub w pobliżu opuszkowych neuronów oddechowych grupy grzbietowej i brzusznej oraz motoneuronach nerwu przeponowego, nerwów międzyżebrowych, krtaniowych i podjęzykowych (Jacobs i Azmitia, 1992; McCrimmon i wsp., 1995).

W obrębie obwodowego układu nerwowego receptory serotonergiczne umieszczone są w neuronach sympatycznych (zwojach szyjnym górnym, gwiaździstym i kręzkowym dolnym), w zwojach układu parasympatycznego i czuciowym układzie nerwowym (Wallis, 1981). Receptory 5HT₂ znajdują się w mięśniówce gładkiej naczyń kriownośnych i dróg oddechowych, pośredniczą w skurczu naczyń i oskrzeli, agregacji płytek i pobudzeniu nerwowym. Receptory 5HT₃ umiejscowione są przed- i pozazwojowo w neuronach autonomicznych i neuronach czuciowych układu nerwowego. Odpowiedzialne są za szybką depolaryzację neuronów obwodowych, odruch Bezolda-Jarisch, uwalnianie katecholamin w sercu, rozszerzenie naczyń oraz odruchy płucne i chemorecepcyjne (Hoyer, 1994; Saxena, 1995). Obecność receptorów typu 5HT₃ opisano w ciałkach szyjnych kota (Dashwood i wsp., 1990; McQueen i wsp., 1993), zwoju guzkowym (Segu i wsp., 1981; Gaudin-Chazal i wsp., 1982; Higashi i Nishi, 1982; Wallis i wsp., 1982), w zwoju szyjnym górnym (Wallis i wsp., 1978; McQueen i wsp., 1993) kota i królika. Występują także w aksonach czuciowych nerwu błędnego (Azami i wsp., 1985), w jądrze pasma samotnego, jądrach grzbietowym i dwuznacznym nerwu błędnego oraz w jądrze nerwu podjęzykowego (Dashwood i wsp., 1990) u kota i w zwojach korzeni grzbietowych u szczura (Robertson i Bevan, 1991).

Serotonina wywiera silny wpływ na neuroprzekaznictwo w wielu układach, stosunkowo w niewielkim jednak stopniu badano jej rolę w układzie oddechowym. Jest

autakoidem, a więc substancją tworzoną i uwalnianą w płucach i drogach oddechowych w różnych warunkach fizjologicznych i patologicznych takich jak hipoksja, zatory płucne (Coleridge i Coleridge, 1984; Christian i wsp., 1989; Armstrong i Kay, 1990). Znajdująca się w krążeniu, zwiększa aktywność impulsów we włóknach aferentnych typu C u królika (Christian i wsp., 1989). Odpowiednia koncentracja substancji odgrywa rolę w pobudzeniu chemoodruchów przewodzonych drogą płucno-sercowych włókien dośrodkowych nerwu błędnego.

Jak podano na początku wstępu, przy omawianiu niemielinowych włókien typu C nerwu błędnego, fenylodiguanidyna (PDG) jest podobnie jak kapsaicyna silnym stymulatorem tych włókien u kota (Paintal, 1969), u którego wywołuje chemoodruch płucny, natomiast receptory płucne, z których przewodzą włókna C są niewrażliwe na fenylodiguanidynę u psów (Coleridge i wsp., 1965; Coleridge i Coleridge, 1977). Jest to substancja działająca podobnie do serotoniny (Fastier i wsp., 1959), lecz o odmiennej strukturze chemicznej (Kay i Armstrong, 1990). Przyjęto, że jest agonistą receptorów 5 HT₃ (Kay i Armstrong, 1990; Hoyer i wsp., 1994; Saxena, 1995). Istnieją dane wskazujące, że dożylnie podanie serotoniny aktywuje wagalne włókna niemielinowe typu C królika i podobne działanie wykazuje fenylodiguanidyna, choć efekty pobudzenia mają charakter przejściowy (Douglas i Ritchie, 1957).

Rejestracja aktywności aferentnej w nerwie błędnym wykazała pobudzenie włókien niemielinowych C u kota po dożylnym podaniu fenylodiguanidyny (Armstrong i Luck, 1974). Podobnie dożylnie podana serotonina stymulowała płucne i oskrzelowe włókna typu C u królika (Kay i Armstrong, 1991).

W odróżnieniu od kapsaicyny, która powoduje chemoodruch płucny o jednolitym wzorcu odpowiedzi oddechowej u większości zwierząt, serotonina nie wywołuje chemoodruchu płucnego u psów oraz nie spełnia jednego z klasycznych

kryteriów u kota, a mianowicie wagotomia śródszyjna nie zapobiega pojawieniu się bezdechu wydechowego u części zwierząt (Dawes i Comroe, 1954). Wśród wczesnych prac przeprowadzonych nad oddechowymi skutkami serotoniny niewiele z nich dotyczy chemoodruchu. Pełny jego opis u kota zawiera praca Comroe i wsp. (1953), gdzie po dożylnym podaniu 5HT pojawiła się triada: bradykardia, spadek ciśnienia oraz bezdech z następowym płytkim, szybkim oddychaniem. Wagotomia nie znosiła odpowiedzi bezdechowej u wszystkich kotów. Bezdech i szybkie, płytkie oddychanie potwierdzono u sztucznie wentylowanych (Schneider i Yonkman, 1953), a także obecność bezdechu u wagotomizowanych kotów (Mott i Paintal, 1953).

Szczur prezentował klasyczną triadę odpowiedzi, a więc bradykardię, spadek ciśnienia i bezdech z niewielką depresją objętości oddechowej we wznowionym oddychaniu i efekty te wyłączała wagotomia lub oziębianie nerwów błędnych do temperatury blokującej włókna niemielinowe (Makara i wsp., 1967; Mitchell i wsp., 1984). W chemodruchu płucnym u królika szybkie, płytkie oddychanie niekiedy poprzedzane było bezdechem wydechowym (Szereda-Przestaszewska, 1979; Kay i Armstrong, 1991).

Jak już poprzednio wspomniano, serotonina nie wywołuje chemoodruchu płucnego u psów. Zarówno po dożylnym jak i dotętnicznym (do tętnicy szyjnej wspólnej) podaniu substancji zwierzęta te wykazywały stymulację oddychania (hyperpnoe), utrzymującą się po wagotomii szyjnej i przecięciu nerwów zatokowych (Douglas i Toh, 1953). Autorzy sugerowali zależność odpowiedzi od pobudzenia przez serotoninę dróg dośrodkowych w nerwie zatokowym i błędnym. McCubbin i wsp. (1956) stwierdzili, że aktywacja oddychania po dożylnym lub dotętnicznym podaniu serotoniny zależna jest od pobudzenia chemoreceptorów ciałek szyjnych i aortalnych, bowiem ich wyłączenie z krążenia zapobiega odpowiedzi. Rejestrowany przez nich wzrost wyładowań nerwu

zatokowego po wstrzyknięciu serotoniny i ustępowanie zmian po neurotomii nerwu zatokowego potwierdzone zostało przez Bisgarda i wsp. (1979).

Serotonina i fenyloguanidyna podana do tętnic szyjnych wspólnych u psów powodowała bradykardię, spadek ciśnienia i hiperpnoe znoszone przez wagotomię i odnerwienie ciałek szyjnych (Comroe i Mortimer, 1964). Podobną stymulację oddychania po obu substancjach obserwowali Black i wsp. (1972). Według ogólnie przyjętych poglądów serotonina jest silnym stymulatorem chemoreceptorów obwodowych u psów.

Chemoreceptory ciałek szyjnych kota zawierają znaczne ilości zmierzonej biochemicznie i zidentyfikowanej immunohistochemicznie serotoniny (Ciocchio i wsp., 1967; Abramovici i wsp., 1991). Badano zatem wpływ na oddychanie serotoniny podanej w pobliżu kłębków szyjnych. Według dostępnych danych aktywność nerwu zatokowego po podaniu serotoniny do tętnicy szyjnej wspólnej u kota wykazuje przejściowy wzrost wyładowań, z następującą po nich chemodepresją (Black i wsp., 1972; Nishi, 1975; Kirby i McQueen, 1984). U kotów 5HT podana do tętnicy językowej wywoływała bezdech z następowym pobudzeniem oddychania i bezdech pojawiał się po wagotomii, przy zastosowaniu podwyższonej dawki substancji (Ginzel i Kottogoda, 1954). 5HT podobnie jak PDG, podane to tętnicy szyjnej wspólnej powodowały bezdech lub depresję oddechową, bradykardię i spadek ciśnienia u tego zwierzęcia, utrzymujące się po przecięciu nerwów zatokowych (Jacobs i Comroe, 1971; Black i wsp., 1972).

Reasumując dane literaturowe prezentujące chemoodruch płucny i inicjujące go substancje: egzogenną kapsaicynę oraz endogennie wyzwalany mediator, serotoninę, następujące punkty zasługują na podkreślenie:

1. Obie substancje pobudzają receptory w obrębie łoża naczyniowego płuc, z których przewodzą niemielinowe włókna C nerwu błędnego.
2. Kapsaicyna wywołuje klasyczny chemoodruch płucny, eliminowany przez wago-tomię śródziwną i w przedstawianych w tej pracy doświadczeniach posłużyła jako punkt odniesienia dla niektórych, odbiegających od wzorca tego odruchu, efektów oddechowych serotoniny.
3. Chemoodruch płucny u kota, będącego do niedawna podstawowym zwierzęciem w badaniach nad neuroregulacją oddychania, stanowił odległy w czasie i nie w pełni opisany przedmiot badań.

Wyniki doświadczeń przedstawionych w niniejszej pracy zostały częściowo opublikowane :

1. M. Szereda-Przestaszewska, B. Wypych* – Effects of vagal and laryngeal afferents on apnoeic response to serotonin in cats. *Resp. Physiol.* 101: 231-237. 1995
2. M. Szereda-Przestaszewska, B. Wypych – Respiratory effects of serotonin challenge to pulmonary and laryngeal circulation in anaesthetized cats. *Acta Neurobiol. Exp.* 56: 889-896. 1996.
3. M. Szereda-Przestaszewska, B. Wypych - Laryngeal constriction produced by capsaicin in the cat. *J. Physiol. Pharmacol.* 47: 351-360. 1996.
4. M. Szereda-Przestaszewska, B. Wypych – Action of serotonin on laryngeal airway in anaesthetized cats. *Acta Neurobiol. Exp.* 57: 209-216. 1997.
5. B. Kopczyńska, M. Szereda-Przestaszewska – Apnoeic responses to pulmonary and systemic challenge of capsaicin in cats. *J. Physiol. Pharmacol.* 49: 25-35. 1998.

* obecnie : B.Kopczyńska

CEL PRACY

Celem pracy jest wyjaśnienie roli i zaangażowania komponenty odruchowej, wywodzącej się z płuc i drogi krtaniowej w całkowitą odpowiedź oddechową chemoodruchu płucnego, wywołanego podaniem kapsaicyny i serotoniny. Jest to zagadnienie zasadnicze w ludzkiej patofizjologii: a) zaburzeń oddychania w czasie snu, związanych z nerwową regulacją napięcia mięśni dróg oddechowych; b) odruchów obronnych, inicjowanych wyzwalanymi przez kapsaicynę neuropeptydami oraz uwalnianą w patologjach przebiegających z uszkodzeniem naczyń serotoniną.

Problem ten wymaga:

1. Przebadań roli informacji dośrodkowej z płuc i krtani w modelowaniu bezdechu i wzorca wznowionego po nim oddychania.
2. Określenia udziału motoneuronów wydechowych krtani w bezdechu i ich roli w kształtowaniu pobezdechowej depresji oddychania dla obu substancji.
3. Ustalenia stopnia zależności aktywacji ośrodków oddechowych wpisanych w aktywność wdechową nerwu przeponowego oraz wdechową i wydechową mięśni klatki piersiowej od zachowania sprzężenia wagalnego w kreowaniu zjawisk oddechowych chemoodruchu płucnego.
4. Wyjaśnienie udziału pozapłucnych pól receptorowych w aktywacji oddechowej wywołanej serotoniną.
5. Ustalenie skuteczności antagonistów obu substancji neuroaktywnych w blokowaniu konstelacji chemoodruchu płucnego.

METODYKA

1. Przygotowania wstępne

1. Materiał doświadczalny, znieczulenie, preparatyka wstępna

Doświadczenia przeprowadzono na 59 kotach obu płci, głównie samcach, o masie ciała od 2.5 do 4.5 kg. Badania wykonano na podstawie zgody Komisji Etycznej przy CMDiK.PAN. Wstępnie stosowano narkozę pentobarbitalową (Sagatal, May and Baker Ltd), podawaną dootrzewnowo w dawce 30 mg / kg m.c. Poziom znieczulenia był kontrolowany w ciągu całego doświadczenia poprzez ocenę ciśnienia tętniczego krwi oraz reakcji na bodźce bólowe i uzupełniany w miarę potrzeby dożylnym wstrzykiwaniem chloralozy (α -chloralose, Fluka AG) w dawce 16 mg / kg m.c. Tak skojarzony system znieczulenia ogólnego gwarantował zachowanie odruchów oddechowych, które po depresji wywołanej wstępną dawką Sagatalu (Gautier, 1986), w wyniku podawania podtrzymujących dawek chloralozy utrzymywane były na niezmiennym poziomie (Flecknell, 1992).

Zwierzęta ułożone były w pozycji poziomej na grzbiecie, na podgrzewanym stole operacyjnym i oddychały spontanicznie. Po wprowadzeniu zwierząt w stan uśpienia ogólnego, przecinano skórę, powięź i mięśnie powierzchowne szyi w linii środkowej, rozszerzano mięśnie głębokie za pomocą pincet na tępo, wyosobniano tchawicę wraz z krtanią i gardłem od wcięcia mostkowego aż do kości zuchwowej. Wykonywano tracheostomię umocowując rurkę tracheostomijną w dolnej części tchawicy. Górny otwór rurki połączony był poprzez głowicę czujnikową z pneumotachografem (Electrospirometr CS6, Mercury) w celu pomiaru objętości oddechowej. Do rurki podłączona była igła kapnografu (Engström Eliza plus, Gambro) służąca do kontroli poziomu wydechowego dwutlenku węgla.

Do prawej żyły oraz prawej i lewej tętnicy udowej wprowadzono cewniki polietylenowe (\varnothing zew. 1.5 mm, \varnothing wew. 1 mm) wypełnione solą fizjologiczną (0.9% roztwór chlorku sodowego), wzbogaconą 0.1% roztworem heparyny (Heparinum, Polfa). Cewnik umieszczony w żyłe służył do wstrzykiwania narkozy i badanych substancji. Za pomocą cewnika wprowadzonego do aorty brzusznej przez prawą tętnicę udową, mierzono średnie ciśnienie tętnicze przy użyciu przetwornika ciśnienia (C.K.01 Mera -Tronik) oraz elektromanometru (MCK 4 11S). Kaniula wprowadzona do lewej tętnicy służyła do pobierania próbek krwi do badań gazometrycznych, na podstawie których oceniano ciśnienie parcjalne O_2 i CO_2 oraz poziomu jonów wodorowych pH, dokonując pomiarów średnio co 2 godziny przy użyciu analizatora równowagi kwasowo - zasadowej (Corning 238). Odchylenia tych wartości od norm fizjologicznych korygowano przez podawanie do oddychania mieszanki powietrznej wzbogaconej tlenem lub przez dożylnie podawanie 8.4% roztworu wodorowęglanu sodowego (Natrium bicarbonicum, Polfa, Starogard).

Temperatura ciała zwierząt była mierzona w odbytnicy przy pomocy termometru rtęciowego i utrzymywana na średnim poziomie 37.4 ± 0.2 °C, poprzez włączanie poduszki grzejnej.

W celu dokonania późniejszych neurotomii, wypreparowywano przez oddzielenie od sąsiadujących tkanek część szyjną nerwów błędnych, nerwy krtaniowe górne lub/ oraz nerwy zatokowe (w zależności od przeprowadzanej serii doświadczeń) i podkładano pod nie bawełniane nitki.

2. Metoda rejestracji oporów krtaniowych

Po wykonaniu preparatyki wstępnej, zwierzętom oddychającym przez rurkę umocowaną w dolnej części tchawicy umieszczano drugą rurkę tuż pod chrząstką pierścieniową, kierując ją dogłowowo. Ścianę gardła otwierano w okolicy nadgnykowej, wyprowadzając na zewnątrz nagłośnię i umocowując ją, podobnie jak ścianę gardła, za pomocą szwu według metody opisanej przez Stránsky'ego i wsp. (1973). W czasie tych manewrów zwracano baczną uwagę, aby nie uszkodzić nerwów zwrotnych. Pod nerwy te, podobnie jak pod nerwy krtaniowe górne, podkładano luźno leżące nitki dla lepszego izolowania tych ostatnich przy ich późniejszej neurotomii.

Celem zachowania nienaruszonego prawostronnego unerwienia ruchowego krtani po tej stronie wagotomię wykonywano w klatce piersiowej, poniżej odejścia prawego nerwu krtaniowego dolnego (zwrotnego). W tym celu otwierano klatkę piersiową, a po przeprowadzonej operacji szczelnie ją zaszywano przywracając spontaniczne oddychanie. Lewy nerw błędny przecinano na szyi. W ten sposób wyłączano obustronnie odruchy płucne, utrzymując niezaburzone prawostronne zaopatrzenie wagalne tchawicy i prawidłową ruchomość prawego fałdu głosowego, sprawdzaną wizualnie każdorazowo po doświadczeniu. Odczekiwano ok. 30 min do uzyskania stanu ustalonego i dalej kontynuowano doświadczenie. Taki sposób obustronnej wagotomii z zachowaniem prawego nerwu zwrotnego stosowano wielokrotnie (Bartlett, 1980; Jammes i wsp., 1985; Szereda - Przystaszewska i wsp., 1992).

Opór krtani mierzono przepuszczając strumień ogrzewanego, wilgotnego powietrza o stałym przepływie, zwykle 1-2 l / min mierzonego rotametrem, przez górną rurkę tchawiczą i krtani oraz rejestrując ciśnienie poprzez krtaniowe. Stosunek ciśnienia

do przepływu definiowano jako opór krtani. Strumień powietrza wypływał głównie poprzez otwór w ścianie gardła, a także przez usta i nozdrza. Ciśnienie tchawicze mierzono za pomocą manometru pojemnościowego (Hilgier IRD), oraz w części doświadczeń przy użyciu czujnika ciśnienia Viggo Spectramed (Ohmeda) i wzmacniacza AS108 (Asbit).

3. Metody wypreparowania i rejestracji aktywności nerwu przeponowego

Metody wypreparowania nerwu przeponowego

Po przeprowadzeniu preparatyki wstępnej, pod kontrolą mikroskopu operacyjnego (P 20), odsłaniano w odcinku szyjnym korzenie: C₄ i C₅ prawego nerwu przeponowego leżące na głębokich mięśniach szyi, a następnie odseparowywano ten odcinek nerwu przeponowego od otaczających go tkanek. Wypreparowane tkanki zabezpieczano przed wysychaniem i parowaniem gazą lub watą nasączoną solą fizjologiczną. Nerw przeponowy po stronie lewej pozostawał nienaruszony.

Rejestracja aktywności nerwu przeponowego

W celu rejestracji aktywności nerwu przeponowego, korzeń C₄ prawego nerwu przeponowego przecinano obwodowo, zdejmowano osłonki łącznotkankowe i układano na dwubiegunowej elektrodzie rejestrującej. Miejsce, gdzie znajdował się nerw oraz sąsiadujące z nim tkanki zalewano ciekłą parafiną (PZF Cefarm, Warszawa), zabezpieczając je przed wysychaniem i parowaniem oraz polepszając jakość przewodnictwa elektrycznego między biegunami elektrody. Rejestrowany sygnał wzmacniano za pomocą wzmacniacza (Tektronix 3A3) i integrowano przy użyciu

integratora z upływnością (Medipan 464) o stałej czasu 100 ms w początkowej serii doświadczeń. W pozostałych eksperymentach wzmacniania i integracji aktywności nerwu dokonywano z zastosowaniem wzmacniacza NL 104 (Neurolog, Digitimer Ltd) i integratora AS 101 (Asbit). Aktywność nerwu przeponowego była monitorowana w sposób ciągły akustycznie przy pomocy wzmacniacza głośnikowego AS 120 (Asbit) i rejestrowana na papierze.

4. Metody preparowania innych nerwów

Preparatyka nerwów krtaniowych górnych

Nerw krtaniowy górny, odchodzący od zwoju guzkowego, identyfikowano po obu stronach powyżej krtani w jego przebiegu przyśrodkowym do tętnicy szyjnej wewnętrznej i wejścia do krtani nad chrząstką tarczowatą. Nerw oddzielano od otaczających tkanek i przygotowywano do przecięcia w czasie doświadczenia.

Preparatyka nerwów zatokowych

W wykonanym uprzednio podłużnym otworze biegnącym w linii środkowej wzdłuż szyi po jej stronie brzusznej, odnajdywano tętnicę szyjną wspólną biegnącą obok tchawicy, równoległe do nerwu błędnego. Przy użyciu mikroskopu operacyjnego wypreparowywano ją za pomocą pincet w kierunku głowy, aż do jej rozwidlenia na tętnicę szyjną zewnętrzną i tętnicę szyjną wewnętrzną, które umiejscowione jest na poziomie górnego brzegu chrząstki tarczowatej. W miejscu rozwidlenia naczyń występuje rozszerzenie, zwane zatoką szyjną, w pobliżu którego znajduje się kłębek

szyjny zawierający chemoreceptory. Unerwiony jest on przez nerw zatokowy będący gałązką nerwu językowo - gardłowego (IX). Po ustaleniu położenia kłębka szyjnego, odsuwano pokrywające go tkanki i odnajdywano zaopatrujący go nerw zatokowy, który po wypreparowaniu przecinano obustronnie w miejscu jego połączenia z nerwem IX (Zapata i Zuazo, 1980).

Preparatyka nerwów błędnych w odcinku śródszyjnym oraz ponad zwojami guzkowymi

W wykonanym uprzednio podłużnym otworze, biegnącym w linii środkowej wzdłuż szyi po jej stronie brzusznej, odnajdywano nerw błędny, położony wzdłuż tchawicy wraz z tętnicą szyjną wspólną. Odsłanianie go w kierunku dogłowym, przecinano obustronnie w odcinku pomiędzy nerwem przeponowym a nerwem krtaniowym górnym, dokonując wagotomii śródszyjnej.

W części doświadczeń izolowano zwój guzkowy i krótki odcinek nerwu błędnego ponad nim. Tak przygotowany nerw przecinano obustronnie wykonując w ten sposób wagotomię nadguzkową (Jacobs i Comroe, 1971).

5. Metody preparatyki i pomiaru aktywności mięśni oddechowych

Metoda przygotowania do rejestracji mięśnia poprzecznego klatki piersiowej

W celu odsłonięcia mięśnia poprzecznego klatki piersiowej (TS), rozcinano skórę w pobliżu mostka, na poziomie między drugim a czwartym żebrzem po stronie prawej, przecinano mięśnie powierzchowne klatki piersiowej (piersiowy i mostkowy) i

odsłanianio mięsień przymostkowy. Po jego przecięciu uzyskiwano dostęp do mięśnia poprzecznego. Mięsień poprzeczny klatki piersiowej (mostkowo - żebrowy) położony jest głęboko podmostkowo, pod mięśniami przymostkowymi w grzbietowej dolnej części mostka i jego włókna biegną dogłowowo i bocznie do wewnętrznych powierzchni kostnych części II-VII żebra. Mięsień ten należy do grupy mięśni głębokich i pełni rolę wspomagającą przy wydechu (De Troyer i Ninane, 1986a). Tak odsłonięty mięsień był już gotowy do rejestracji jego aktywności.

Metoda przygotowania do rejestracji mięśni wewnętrznych międzyżebrowych

Aby dostać się do mięśni międzyżebrowych wewnętrznych, nacinano skórę w linii środkowej na poziomie między VIII a IX żebrem po stronie prawej i oddzielano za pomocą peana wierzchnią warstwę mięśni międzyżebrowych zewnętrznych i mięsień zewnętrzny skośny tworząc otwór, przez który widoczne były mięśnie międzyżebrowe wewnętrzne (IIC) (Le Bars i Duron, 1984). Należą one do grupy mięśni środkowych i wraz z mięśniami międzyżebrowymi zewnętrznymi, wypełniają przestrzenie między żebrami, uszczelniając jamę klatki piersiowej. IIC działają jako mięśnie pomocnicze podczas wydechu (De Troyer i Ninane, 1986b). Tak odsłonięte, były gotowe do rejestracji ich aktywności.

Metoda przygotowania do rejestracji mięśnia międzyżebrowego przymostkowego klatki piersiowej

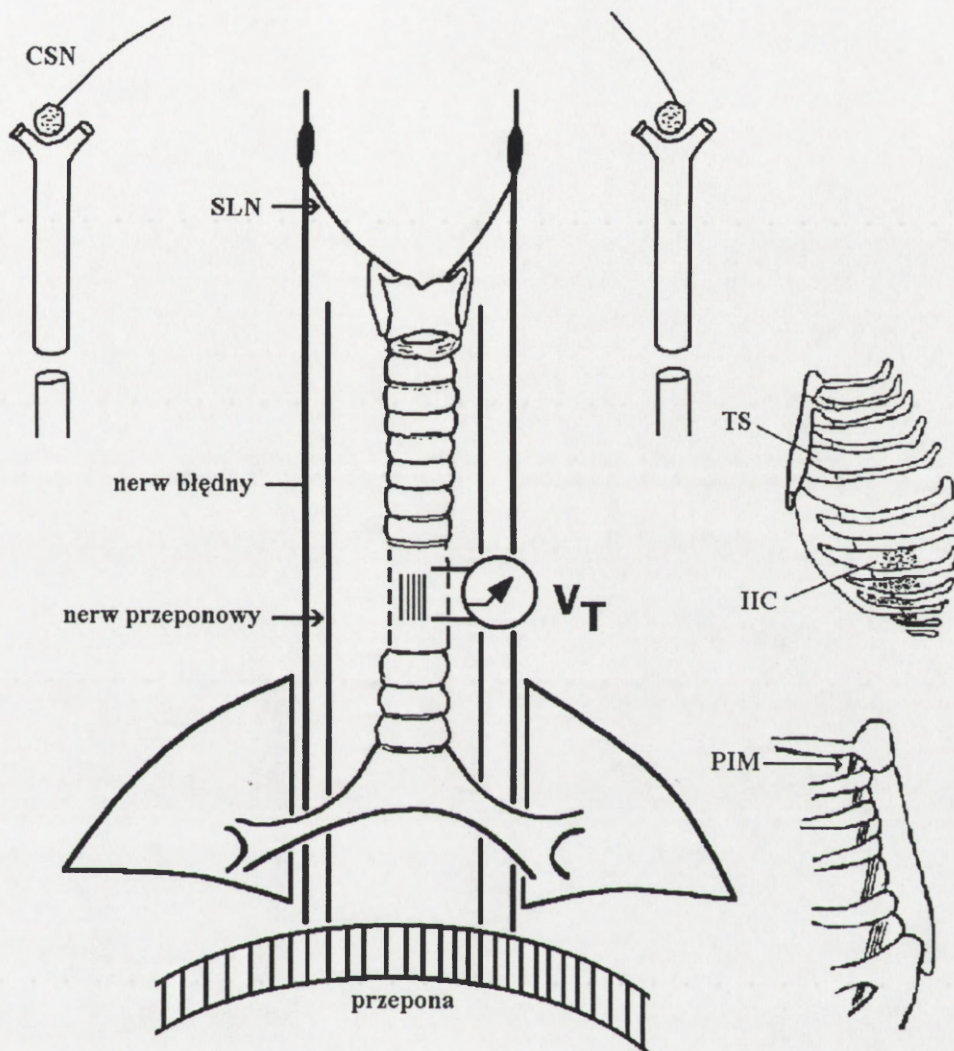
Celem odsłonięcia mięśnia przymostkowego (PIM), cięciem wzdłuż mostka rozcinano skórę na poziomie między drugim a czwartym żebrem po stronie prawej,

przecinano mięśnie powierzchowne klatki piersiowej (piersiowy i mostkowy) i odsłaniano mięsień przymostkowy. Mięśnie przymostkowe mające swoje przyczepy na mostku i żebrach są mięśniami wdechowymi (Decramer i wsp., 1985).

Metoda rejestracji aktywności badanych mięśni

Do przygotowanych w opisany powyżej sposób mięśni wprowadzano dwubiegunową elektrodę, wykonaną ze splotu drutów stalowych, z otwartymi obunożnymi zakończeniami, przeznaczoną do rejestracji ich aktywności wydechowej (w przypadku TS i IIC) lub wdechowej w przypadku PIM. Górną część elektrody przyszywano do skóry otaczającej otwór odsłaniający mięśnie po to, by uniemożliwić jej wysunięcie się z tkanki mięśniowej. Rejestrację prowadzono nie jednocześnie dla wszystkich mięśni, lecz oddzielnie dla każdego z nich, odpowiednio w każdej serii doświadczeń. Sygnał z elektrody był podawany na przedwzmacniacz prądu stałego NL832, a następnie poprzez wzmacniacz NL 104 (Neurolog, Digitimer Ltd) do integratora AS 101 (Asbit) o stałej czasu 100 ms. Zapisu dokonywano przy użyciu rejestratora (Omnilight Recorder 8M36 Honeywell, Japonia) oraz monitorowano akustycznie w sposób ciągły w czasie doświadczenia.

Schemat doświadczalny



Obrazuje podstawowe zaopatrzenie nerwowe dróg oddechowych oraz miejsca dokonywanych rejestracji parametrów oddechowych, aktywności nerwowej, mięśniowej i neurotomii.

CSN – nerw zatokowy, SLN – nerw krtaniowy górny, TS – mięsień poprzeczny klatki piersiowej, IIC – mięśnie międzyżebrowe wewnętrzne, PIM – mięsień międzyżebrowy przymostkowy

6. Substancje farmakologiczne stosowane w doświadczeniach

Kapsaicyna (8 methyl - N - vanillyl - 6 - noneamide, Sigma) w dawce 0.01 mg / kg (0.032 μmol / kg) w 0.1% roztworze soli fizjologicznej z etanolem i 10% Tween 80

Czerwień rutenu (Ruthenium red, Sigma) w dawce 1 mg / kg (0.44 μmol / kg) w 0.1% roztworze wodnym

Serotonina (serotonin hydrogenoxalat, Fluka AG, Buchs SG) w dawce 0.05 mg / kg (0.188 μmol / kg) w 0.1% roztworze soli fizjologicznej

Ketanseryna (ketanserin tartrate, Research Biochemicals) w dawce 0.1 mg / kg (0.18 μmol / kg) w 0.1% roztworze wodnym

MDL 72222 (3-tropanyl-3.5-dichlorobenzoate, Research Biochemicals) w dawce 0.2 mg / kg (0.64 μmol / kg) rozpuszczony w 10% DMSO (3.5 mg / ml)

Dopamina (3-hydroxytyramine hydrochloride, crystalline; Sigma) w dawce 0.02 mg / kg (0.1055 μmol / kg) w 0.9% roztworze soli fizjologicznej

Cyjanek potasu (KCN) w dawce 2 mg (3.07 μmol) w 0.1% roztworze wodnym

2. Układy doświadczalne zastosowane w pracy

1. Analiza powstawania chemoodruchu płucnego i kształtowania się wzorca oddechowego po dożylnym podaniu kapsaicyny

Zbadanie przebiegu chemoodruchu w zależności od dawki podawanej kapsaicyny

W tej serii eksperymentów, po wykonaniu preparatyki wstępnej, podawano dożylnie 3 rosnące dawki kapsaicyny: 5, 10 i 20 μg / kg m.c. Podania kapsaicyny

wykonywano po kolei stosując 15 minutowe przerwy pomiędzy nimi. W przypadku każdej dawki, rejestrowano wstępnie kontrolne wartości parametrów oddechowych, po czym dokonywano iniekcji substancji. Czas zapisu wszystkich wartości wynosił 1 min od podania, dla każdej porcji kapsaicyny. Stwierdzono, że do wywołania chemoodruchu wystarczającą jest dawka 10 $\mu\text{g} / \text{kg m.c.}$. Dawka wyższa (20 $\mu\text{g} / \text{kg m.c.}$) nie zmienia znacząco jego wzorca (Ryc. 1).

Zbadanie wpływów pętli wagalnej oraz nerwów krtaniowych górnych na przebieg chemoodruchu płucnego wywołanego podaniem kapsaicyny

Początkowym etapem tej serii badań było przeprowadzenie preparatyki wstępnej. Następnie wykonywano tracheostomię, aby rejestrować objętość oddechową i wydechowy CO_2 . Kaniulowano prawą tętnicę udową w celu monitorowania ciśnienia tętniczego krwi oraz lewą tętnicę udową do pobierania próbek krwi. Przygotowywano do rejestracji prawy nerw przeponowy oraz wypreparowywano nerwy krtaniowe górne i odcinek szyjny nerwów błędnych po obu stronach i przygotowywano je do przecięcia.

Pobierano próbkę krwi z lewej tętnicy udowej i ustalano jej pH oraz ciśnienie parcjalne zawartych w niej gazów O_2 i CO_2 . Przez dren, wprowadzony uprzednio do prawej żyły udowej, podawano do krążenia płucnego w szybkiej iniekcji 0.3 ml 0.9% roztworu soli fizjologicznej jako kontrolę objętości oraz 0.3 ml rozpuszczalnika (sól fizjologiczna, etanol, Tween). Po ok. 5 minutach wstrzykiwano kapsaicynę w dawce 10 $\mu\text{g} / \text{kg m.c.}$ i rejestrowano parametry oddechowe, ciśnienie tętnicze krwi oraz zintegrowaną aktywność nerwu przeponowego w przebiegu chemoodruchu płucnego wywołanego wstrzyknięciem substancji. Podczas bezdechu pokapsaicynowego

ponownie pobierano krew w celu sprawdzenia ciśnienia parcjalnego zawartych w niej gazów. Czas zapisu odpowiedzi na kapsaicynę wynosił 1 min.

Następnie przecinano nerwy krtaniowe górne, odczekiwano 15 min i powtarzano podanie kapsaicyny. Po obustronnej wagotomii szyjnej i ustabilizowaniu się oddychania pobierano próbkę krwi do pomiarów gazometrycznych i dokonywano ponownie iniekcji kapsaicyny, w celu analizy przebiegu chemoodruchu wywołanego tą substancją po wagotomii. Analogicznie do czynności wykonanych przed otwarciem pętli wagalnej, wszystkie parametry rejestrowano przez 1 min i wykonywano pomiary prężności tlenu (P_{aO_2}), prężności dwutlenku węgla (P_{aCO_2}) i poziomu jonów wodorowych pH przed i po podaniu kapsaicyny.

Badanie zachowania się oporów krtaniowych pod wpływem kapsaicyny

W serii doświadczeń u zwierząt z wyizolowaną z obiegu krtanią (rozdz. 1.2) mierzono kontrolnie panujące w niej ciśnienie przy zastosowaniu wymuszonego przepływu ciepłego, wilgotnego powietrza (1 - 2 l / min). Rejestrowano wpływ podania kapsaicyny na ciśnienie poprzecznicowe u zwierząt nieuszkodzonych, po przecięciu nerwów krtaniowych górnych oraz po obustronnej wagotomii wykonanej w sekwencji opisanej w rozdz. 1.2.

Zbadanie wpływu nerwów błędnych na aktywność efektorów oddechowych po iniekcji kapsaicyny

Po wykonaniu podstawowej preparatyki wstępnej przygotowywano do rejestracji mięśnie wydechowe (TS i IIC) oraz mięsień wdechowy (PIM) klatki

piersiowej do rejestracji (patrz rozdz. 1.5.). W mięśniach umieszczano dwubiegunowe elektrody stalowe i zapisywano kontrolne wartości zintegrowanej aktywności poszczególnych mięśni. Następnie podawano kapsaicynę w dawce 10 μg / kg m.c. i, oprócz obserwacji zmian głównych parametrów oddechowych, monitorowano zmiany aktywności mięśni występujące po podaniu tej substancji. Rejestracja trwała 1 min. Po jednoczesnym, obustronnym przecięciu nerwów krtaniowych i błędnych oczekiwano 15 min na ustabilizowanie się oddychania.

Po wagotomii przeprowadzano zapis kontrolny aktywności mięśniowych, a następnie ponownie wstrzykiwano tę samą dawkę kapsaicyny i monitorowano zmiany wyładowań mięśni przez 1 min. Należy nadmienić, że zapisy aktywności każdego mięśnia prowadzono oddzielnie w kolejnych próbach, a nie wszystkie jednocześnie. Zatem, w jednej serii doświadczeń badano pokapsaicynowe zmiany aktywności mięśnia poprzecznego klatki piersiowej, a w następnej - mięśni międzyżebrowych wewnętrznych i.t.d.

Wpływ blokady receptorów waniloidowych na chemoodruch płucny wywołany kapsaicyną

Po wykonaniu preparatyki wstępnej, dokonywano kontrolnego pomiaru parametrów oddechowych, a następnie podawano dożylnie dawkę kapsaicyny (10 μg / kg m.c.) i rejestrowano zmiany oddychania przez 1 min.

Przeprowadzano blokadę receptorów waniloidowych przy użyciu czerwieni rutenowej (RR), którą wstrzykiwano dożylnie w dawce 1 mg / kg m.c. Po iniekcji blokera ponownie przeprowadzano wstępny pomiar parametrów, po czym wstrzykiwano kapsaicynę w dawce jw. i rejestrowano zmiany oddechowe przez 1 min.

2. Analiza powstawania chemoodruchu płucnego i kształtowania się wzorca oddechowego po dożylnym podaniu serotoniny (5HT)

Zbadanie przebiegu chemoodruchu w zależności od ilości podawanej serotoniny

Kot jest zwierzęciem reagującym długotrwałym bezdechem w chemoodruchu płucnym (Dawes i Comroe, 1954), a jego pojawienie się i czas trwania zależą od wrażliwości zwierzęcia na substancję go wywołującą (Comroe i wsp., 1953). Celem wyboru odpowiedniej dawki serotoniny, powodującej wyraźny bezdech, zbadano wstępnie wpływ trzech jej dawek na czas trwania bezdechu. W tej serii doświadczeń, po dokonaniu preparatyki wstępnej, aplikowano dożylnie 3 wzrastające dawki serotoniny: 10, 20 oraz 50 $\mu\text{g} / \text{kg m.c.}$ Kolejne podania wykonywano z 15-minutowymi przerwami. W przypadku każdej dawki, rejestrowano wstępnie kontrolne wartości parametrów oddechowych, po czym dokonywano iniekcji substancji. Czas zapisu wszystkich danych wynosił 1 min od podania, dla każdej porcji 5HT.

Czas zahamowania oddychania był najdłuższy przy dawce 50 $\mu\text{g} / \text{kg m.c.}$ (Ryc. 14) i tę dawkę stosowano jako podstawową we wszystkich doświadczeniach.

Zbadanie wpływów nerwów krtaniowych górnych i pętli wagalnej na przebieg chemoodruchu płucnego wywołanego podaniem serotoniny

Po przeprowadzeniu preparatyki wstępnej schemat postępowania był analogiczny do opisanego w doświadczeniach nad chemoodruchem pokapsaicynowym (rozdz.2.1.). Po początkowych zapisach wszystkich parametrów, zwierzętom wstrzykiwano dożylnie 0.3 ml 0.9% roztworu soli fizjologicznej, jako kontrolę objętości

i efektu rozpuszczalnika. Następnie podawano roztwór serotoniny (Serotonin - hydrogenoxalat, Fluka) w soli fizjologicznej w dawce 50 µg/kg m.c. w objętości 0.4 ml i tą samą objętością soli fizjologicznej przepłukiwano kaniulę i rejestrowano odpowiedź oddechową na tę substancję przez 1 min. Stosowano serotoninę po obustronnej neurtomii nerwów krtaniowych górnych. Następnie w 15 min po przecięciu nerwów błędnych w odcinku szyjnym, podawano ponownie 5HT w tej samej dawce oraz przez okres 1 min rejestrowano zmiany wartości parametrów. Podczas bezdechu (jeśli wystąpił po wagotomii szyjnej) pobierano krew do badania i wykonywano pomiary gazometryczne ciśnienia parcjalnego O₂ i CO₂. W pewnej serii doświadczeń wykonywano dodatkowo wagotomię ponad zwojami guzkowymi i po ponownym odczekaniu 15 min rejestrowano zmiany wszystkich parametrów po podaniu serotoniny.

Badanie zachowania się oporów oddechowych krtani pod wpływem serotoniny

U zwierząt z wyizolowaną z obiegu krtanią (rozd. 1.2.) mierzono kontrolnie ciśnienie poprzekrtaniowe stosując wymuszony przepływ ogrzanego, wilgotnego powietrza (1 - 2 l / min). Rejestrowano wpływ podania serotoniny u zwierząt nieuszkodzonych, po przecięciu nerwów krtaniowych górnych oraz po obustronnej wagotomii wykonanej w sekwencji opisanej w rozdz. 1.2.

Zbadanie wpływu nerwów błędnych na zachowanie się aktywności efektorów oddechowych pod wpływem serotoniny

Podobnie jak w opisie dotyczącym kapsaicyny (rozd. 2.1.) po przygotowaniu do rejestracji odpowiednich mięśni oddechowych, zapisywano wartości wyjściowe ich

aktywności w normalnym oddychaniu i podawano dożylnie serotoninę u zwierząt nieuszkodzonych i po jednoczesnej neurotomii nerwów krtaniowych górnych i nerwów błędnych na szyi.

Zbadanie wpływu nerwów zatokowych na przebieg oddychania poserotoninowego

Po wykonaniu preparatyki wstępnej (patrz rozdz. 1.1.) przecinano nerwy błędne z obu stron i czekano na ustabilizowanie się oddychania. Następnie rejestrowano wszystkie parametry oddechowe, podawano dożylnie serotoninę w dawce 50 μg / kg m.c. i rejestrowano zmiany zachodzące w oddychaniu przez okres 1 min od iniekcji substancji. Wartości parametrów oddechowych po wagotomii były w tej serii doświadczeń traktowane jako kontrolne. Przy użyciu mikroskopu operacyjnego wypreparowywano nerwy zatokowe i przecinano je z obu stron. Po wykonaniu tej czynności i sprawdzeniu jej skuteczności (brak stymulacji oddychania w odpowiedzi na dotętnicze podanie 0.2 ml 0.1% KCN, 20 μg dopaminy i ciśnieniowej na zamknięcie tętnicy szyjnej wspólnej) odczekiwano 15 min, aby stan zwierzęcia uzyskał równowagę. Zapisywano parametry oddechowe i podawano serotoninę (również w dawce 50 μg / kg m.c.). Oddychanie poserotoninowe monitorowano także przez 1 min od podania 5HT.

Zbadanie wpływu zwojów guzkowych na wzorzec chemoodruchu poserotoninowego

Po wykonaniu preparatyki wstępnej (patrz rozdz. 1.1.) przecinano nerwy błędne z obu stron i czekano na ustabilizowanie się oddychania. Następnie rejestrowano wszystkie parametry oddechowe, podawano dożylnie serotoninę w dawce 50 μg / kg m.c. i rejestrowano zmiany zachodzące w oddychaniu przez okres 1 min od iniekcji

substancji. Wartości parametrów oddechowych po wagotomii były w tej serii doświadczeń traktowane jako kontrolne. Odnajdywano zwój guzkowy, nad którym wypreparowywano krótki odcinek nerwu błędnego. Tak przygotowany nerw przecinano obustronnie, wykonując w ten sposób wagotomię nadguzkową (Rozdz. 1.4). Po wykonaniu tej czynności odczekiwano 15 min, aby stan zwierzęcia uzyskał równowagę. Zapisywano parametry oddechowe i podawano serotoninę (również w dawce 50 $\mu\text{g} / \text{kg}$ m.c.). Oddychanie poserotoninowe monitorowano przez 1 min od podania 5HT.

Zbadanie przebiegu chemoodruchu poserotoninowego po zastosowaniu blokady receptorów serotonergicznyc

W tej serii eksperymentów, po wykonaniu preparatyki wstępnej, dokonywano kontrolnego pomiaru parametrów oddechowych, a następnie podawano dożylnie dawkę 50 $\mu\text{g} / \text{kg}$ m.c. serotoniny i rejestrowano zmiany oddychania przez 1 min. Następnie aplikowano dożylnie ketanserynę w dawce 100 $\mu\text{g} / \text{kg}$ m.c. Substancja ta jest selektywnym blokerem receptorów 5HT_{2A}. Po iniekcji blokera, ponownie przeprowadzano wstępny pomiar parametrów, po czym również wstrzykiwano 5HT w dawce jw. i rejestrowano zmiany oddechowe przez 1 min.

Analogicznie przeprowadzano blokadę za pomocą substancji MDL 72222, antagonisty receptorów 5HT₃ (Fozard, 1984). MDL podawany był w dawce 200 $\mu\text{g} / \text{kg}$ m.c.

3. Obliczenia stosowane w pracy

1. Obliczanie głównych parametrów oddechowych

Wśród parametrów oddechowych, wartościami mierzonymi i odczytywanymi bezpośrednio z zapisu rejestracyjnego są: objętość oddechowa (V_T) mierzona w ml oraz zintegrowana aktywność nerwu przeponowego. Ze zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego analizowano następujące parametry: maksymalną wartość amplitudy nerwu przeponowego, czas wdechu, czyli długość trwania fazy czynnej (T_I), czas wydechu, czyli długość trwania fazy biernej (T_E), całkowity czas trwania pojedynczego cyklu oddechowego (T_{TOT}), częstość oddychania ($f = 60 / T_{TOT}$). Bezpośrednio z zapisu odczytywano także maksymalną wartość amplitudy aktywności mięśni oddechowych, podając ją w jednostkach umownych.

Pomiar czasu trwania wdechu, wydechu i całkowitego cyklu oddechowego dokonywany był w sekundach, częstość oddychania w min^{-1} , natomiast wartość maksymalnej amplitudy w jednostkach umownych, według ogólnie przyjętej metody (Haxhiu i wsp., 1984; van Lunteren i wsp., 1988a; Coon i wsp., 1995).

Wentylację minutową (V_E), czyli objętość powietrza pobieraną i oddawaną w ciągu minuty, obliczano według wzoru:

$$V_T (\text{ml}) \times f (\text{min}^{-1}) = V_E (\text{ml} / \text{min})$$

Odpowiedź mierzonych parametrów na serotoninę i kapsaicynę szacowano porównując średnią z pięciu oddechów we wznowionym po bezdechu oddychaniu, 30 i 60 sekund po podaniu substancji, ze średnią pięciu kontrolnych oddechów i wyrażano je w wartościach absolutnych.

Bezdech w chemoodruchu płucnym określany był jako wydłużona przerwa wydechowa, wywołana podaniem serotoniny lub kapsaicyny. Mierzono ją od ostatniego

oddechu przed podaniem substancji do pierwszego znaczącego oddechu po iniekcji. Określano go jako pierwszy oddech dający wyraźne wychylenie na zapisie objętości oddechowej.

2. Obliczanie współczynnika zahamowania oddychania

W każdej z serii doświadczeń, w której analizowano właściwości bezdechu wydechowego obliczano współczynnik zahamowania oddychania, następującego po podaniu substancji wywołującej go substancji (kapsaicyna, 5HT). Jest on wartością stosunku długości bezdechu (jeżeli wystąpił) lub długości pierwszego wydechu pojawiającego się po podaniu substancji ($T_{E \text{ test}}$) do średniego czasu trwania 5-ciu wydechów kontrolnych przed iniekcją ($T_{E \text{ kontrola}}$):

$$\text{Wsp. zahamowania} = T_{E \text{ test}} / T_{E \text{ kontrola}}$$

3. Obliczanie średniego ciśnienia tętniczego

Podczas wszystkich doświadczeń monitorowano ciśnienie tętnicze krwi zwierzęcia. Przy jego analizie brano pod uwagę średnie ciśnienie tętnicze, którego wartości wyliczano za pomocą wzoru:

$$\text{Śr. ciśn. tętnicze} = \text{ciśn. rozkurczowe} + 1/3 (\text{ciśn. skurczowe} - \text{ciśn. rozkurczowe})$$

4. Obliczenia statystyczne

We wszystkich seriach doświadczalnych stosowano odpowiednio jedno- lub dwu- czynnikową analizę wariancji (ANOVA) dla powtarzalnych pomiarów. Różnice

między indywidualnymi stanami doświadczalnymi badano za pomocą testu Duncana i Scheffégo oraz analizy kontrastów. W przypadkach porównania między sobą dwóch grup używano testu t - Studenta dla zmiennych zależnych i testu kolejności par Wilcoxon.

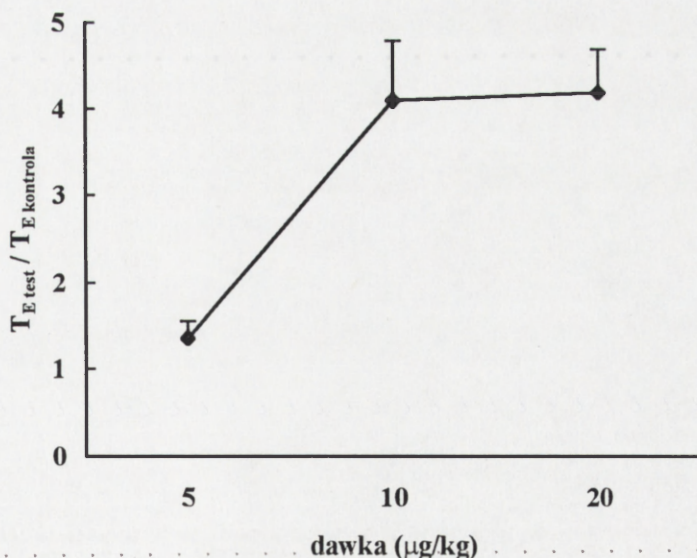
Wyniki uznawano za znamienne, gdy poziom istotności p był mniejszy niż 0.05.

Wartości obliczanych parametrów podane są jako średnie \pm błąd średniej.

WYNIKI

1. Kapsaicyna

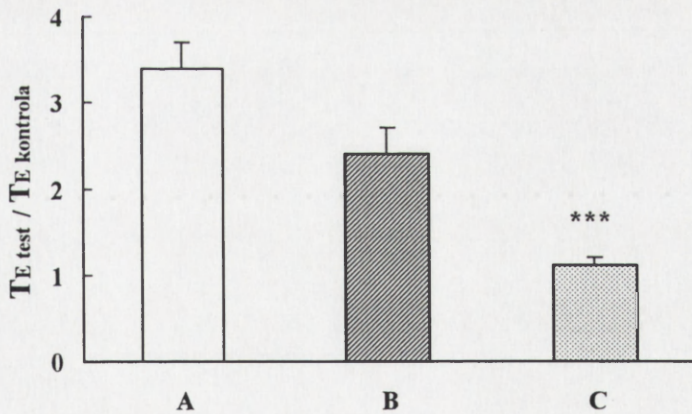
Badania nad chemoodruchem płucnym wywołanym za pomocą kapsaicyny poprzedzone były etapem przygotowawczym, polegającym na przetestowaniu trzech różnych dawek substancji: 5, 10 i 20 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ Podawano je zwierzętom nieuszkodzonym drogą dożylną. Stwierdzono, że wystarczającą do wywołania bezdechu u większości zwierząt oraz wyraźnych zmian w oddychaniu jest dawka 10 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ i ją właśnie wybrano do dalszych doświadczeń. Odpowiedź oddechowa na większą (20 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$) porcję kapsaicyny nie różniła się od reakcji na dawkę 10 $\mu\text{g} / \text{kg}$ (Ryc. 1). Zastosowanie tej ostatniej dawki uzasadniają także opisane poprzednio odpowiedzi oddechowe u kotów, gdzie używano dożylnych dawek kapsaicyny: 5 – 20 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ (Coleridge i wsp., 1973), 5 – 15 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ (Tatar i wsp., 1988) i psów, przy zastosowaniu substancji w dawce: 5 – 20 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ (Coleridge i Coleridge, 1964; Coleridge i wsp., 1973).



Ryc. 1. Wpływ różnych dawek kapsaicyny na współczynnik zahamowania oddychania wywołanego podaniem tej substancji; $n=7$.

1. Wpływ nerwów krtaniowych górnych na przebieg reakcji pokapsaicynowej

W jedenastu wstępnych doświadczeniach zbadano wpływ dożylniej iniekcji kapsaicyny w dawce $10 \mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ na pojawienie się bezdechu i zmiany wzorca oddechowego po wznowieniu oddychania u nieuszkodzonych kotów, oraz po obustronnej neurotomii kolejno: nerwów krtaniowych górnych i następnie nerwów błędnych w odcinku szyjnym. Nie stwierdzono wpływu przecięcia nerwów krtaniowych górnych na całokształt reakcji pokapsaicynowej, w tym na obecność i czas trwania bezdechu. Wykonanie wagoatomii szyjnej natomiast, powodowało znamienny spadek średniej wartości współczynnika zahamowania oddychania z 3.4 ± 0.3 u zwierząt nieuszkodzonych do 1.1 ± 0.1 (Ryc. 2.), co oznaczało eliminację depresji oddechowej przez wagotomię.



Ryc. 2. Średnie wartości współczynnika zahamowania oddychania wywołanego dożylnym podaniem kapsaicyny u zwierząt nieuszkodzonych (A) oraz po obustronnym przecięciu nerwów krtaniowych górnych (B) i nerwów błędnych w odcinku szyjnym (C). *** $p < 0.001$ w porównaniu z kontrolą (test Scheffego); $n = 11$.

W pojawiającym się po bezdechu oddychaniu, wpływ kapsaicyny na parametry wentylacyjne był statystycznie nierozróżnialny u zwierząt neurologicznie nietkniętych i po przecięciu nerwów krtaniowych górnych. Ilustruje to Tabela 1.

Tabela 1. Zmiany wentylacji po dożylnym podaniu kapsaicyny u kotów nieuszkodzonych i po przecięciu SLN.

	V_T (ml)			f (min ⁻¹)		
	kontrola	30 s	60 s	kontrola	30 s	60 s
zwierzęta nieuszkodzone	30.7±2.6	19.7±3.0***	26.5±2.6**	16.0±1.2	24.2±2.4***	19.7±1.2***
zwierzęta po neurotomii SLN	29.5±2.2	19.6±2.4***	26.6±2.4*	16.2±1.4	22.7±2.1***	18.8±1.2**

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu z wartością kontrolną (test Duncana); $n=11$

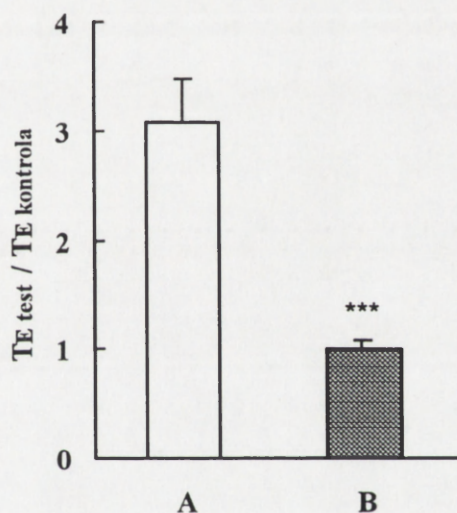
Ze względu na fakt, że nie wykryto wpływu nerwu krtaniowego górnego na czas trwania bezdechu oraz na wzorzec oddechowy, w dalszych eksperymentach rejestrowano i porównywano wyniki uzyskane na zwierzętach nieuszkodzonych i po jednoczesnym przecięciu nerwów krtaniowych górnych i nerwów błędnych.

2. Odpowiedź oddechowa na kapsaicynę

Zahamowanie oddychania i bezdech pokapsaicynowy

Bezdech wydechowy powstały po dożylnym wstrzyknięciu dawki 10 µg/kg kapsaicyny pojawił się u 20 z 26 nieuszkodzonych kotów wziętych pod uwagę w analizie (3 koty pominięto ze względu na zakłócony zapis zarejestrowanego

neurogramu nerwu przeponowego uniemożliwiający oszacowanie długości zatrzymania oddychania) i trwał od 2.5 do 18.7 sekund (średni czas zatrzymania oddychania wynosił 6.0 ± 0.95 s). Otwarcie pętli wagalnej, poprzedzone przecięciem nerwów krtaniowych, zapobiegało występowaniu bezdechu pokapsaicynowego u wszystkich testowanych zwierząt. Prowadziło to do znacznego zmniejszenia średniej wartości współczynnika zahamowania oddychania po wagotomii do 1.0 ± 0.02 w porównaniu z wartością 3.1 ± 0.4 obliczoną przed neurotomią nerwów błędnych (Ryc. 3).



Ryc. 3. Pokapsaicynowa depresja oddechowa wyrażona przez współczynnik zahamowania oddychania, wywołana dożylną iniekcją kapsaicyny u zwierząt nieuszkodzonych (A) i po obustronnej wagotomii (B).

*** $p < 0.001$ w porównaniu do kontroli (test t - Studenta dla zmiennych zależnych); $n = 26$.

W każdym doświadczeniu obliczano współczynnik zahamowania oddychania, następującego po wstrzyknięciu kapsaicyny, jako wartość stosunku czasu trwania bezdechu (jeżeli wystąpił) lub długości pierwszego wydechu pojawiającego się po

podaniu substancji do średniego czasu trwania 5-ciu wydechów kontrolnych (przed iniekcją).

Zmiany głównych parametrów oddechowych

Przeprowadzono 29 doświadczeń, w których podanie kapsaicyny w dawce 10 µg / kg masy ciała do żyły udowej wywoływało powstanie chemoodruchu płucnego. Według danych literaturowych dawka ta pobudza wyłącznie włókna chemoczułe typu C (Jancsó i Such, 1983; Holzer, 1991; Naida i wsp., 1996).

Dożylnie podanie kapsaicyny powodowało wystąpienie typowej triady chemoodruchu, a więc: bezdechu wydechowego, który pojawił się u większości badanych zwierząt, spadku ciśnienia tętniczego krwi z następowym płytkim, szybkim oddychaniem. Wznowione po bezdechu oddychanie, charakteryzowało się znamienym, długotrwałym obniżeniem objętości oddechowej (Tabela 2).

Tabela 2. Odpowiedź komponenty objętościowej na kapsaicynę podaną dożylnie u zwierząt nieuszkodzonych oraz po obustronnej wagotomii szyjnej.

	V_T (ml)			
	kontrola	kapsaicyna	30 s	60 s
zwierzęta nieuszkodzone	32.0 ± 1.8	19.6 ± 2.0***	27.0 ± 1.8**	27.3 ± 1.7**
zwierzęta po obustronnej wagotomii szyjnej	47.9 ± 3.0	47.1 ± 3.0	51.7 ± 3.3	48.9 ± 3.1
	###	###	###	###

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu do wartości przed podaniem kapsaicyny, ### $p < 0.001$ w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (test Sheffégo); $n = 29$.

Niski poziom V_T utrzymywał się przez 1 min od podania substancji, a jej wartości nie wracały do poziomu kontrolnego. Pokapsaicynowe znamienne skrócenie ($p < 0.001$) czasu wdechu i wydechu widoczne było tylko do 30 s. od podania kapsaicyny. Wpływało to na skrócenie do 30 s. okresu trwania przyspieszonego oddychania po bezdechu wywołanym kapsaicyną (Tabela 3).

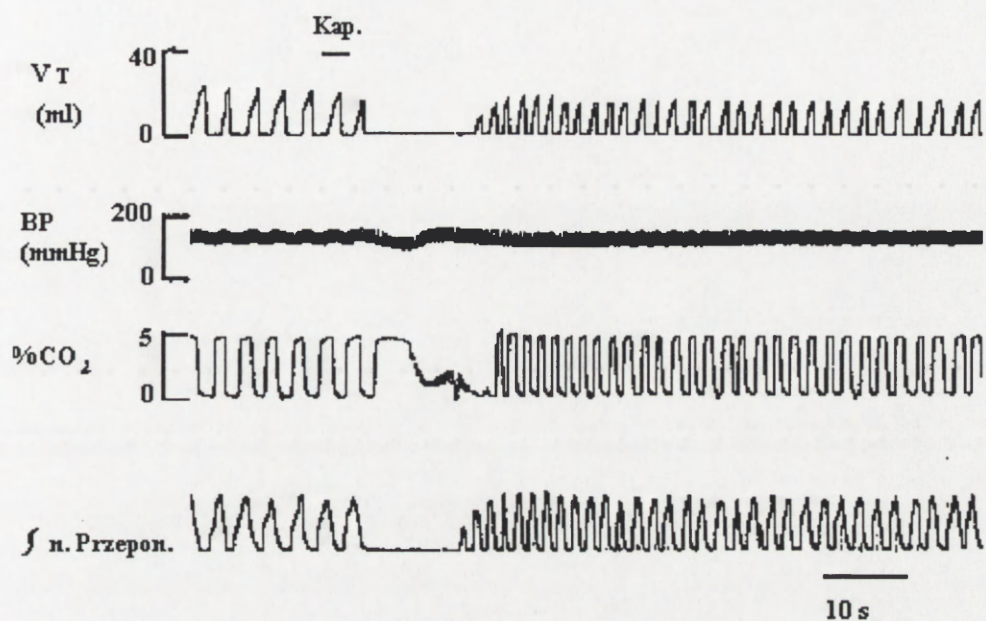
Tabela 3. Średnie wartości częstości oddychania w odpowiedzi na iniekcję kapsaicyny u zwierząt nieuszkodzonych oraz po obustronnym przecięciu nerwów błędnych w odcinku szyjnym.

	f (min ⁻¹)			
	kontrola	kapsaicyna	30 s	60 s
zwierzęta nieuszkodzone	20.9 ± 0.7	31.6 ± 1.7***	26.6 ± 1.1***	23.7 ± 1.1
zwierzęta po obustronnej wago-	13.5 ± 0.8	13.3 ± 0.7	13.4 ± 0.7	13.3 ± 0.7
tomii szyjnej	###	###	###	###

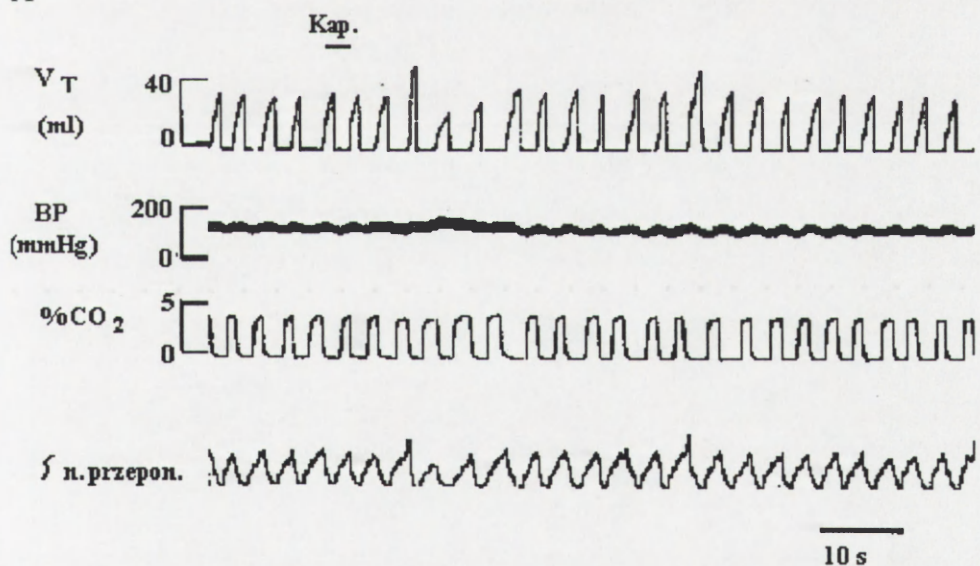
*** $p < 0.001$ w porównaniu do wartości przed podaniem kapsaicyny, ### $p < 0.001$ w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (test Sheffego); $n = 29$.

Po podaniu kapsaicyny nie obserwowano znamienych zmian wentylacji minutowej. Obustronna wago- tomia szyjna znosiła całkowicie pokapsaicynowe zmiany wszystkich głównych parametrów oddechowych (Tabela 2, 3). Zwiększona objętość oddechowa po otwarciu pętli wagalnej, wykazywała nieznamienny wzrost po podaniu kapsaicyny. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi u kotów i psów (Pórszász i wsp., 1955; Coleridge i wsp., 1964).

Zmiany oddechowe występujące po podaniu kapsaicyny ilustrują zapisy rejestracji parametrów oddechowych (Ryc. 4.)



A



B

Ryc. 4. Zmiany parametrów oddechowych po podaniu kapsaicyny u kotów nieuszkodzonych (A) i wagnetomizowanych (B). V_T – objętość oddechowa, $\%CO_2$ – % wydechowego dwutlenku węgla, BP – ciśnienie tętnicze, $\int n. przepon.$ – zintegrowana aktywność nerwu przeponowego.

Zmiany gazometryczne po podaniu kapsaicyny

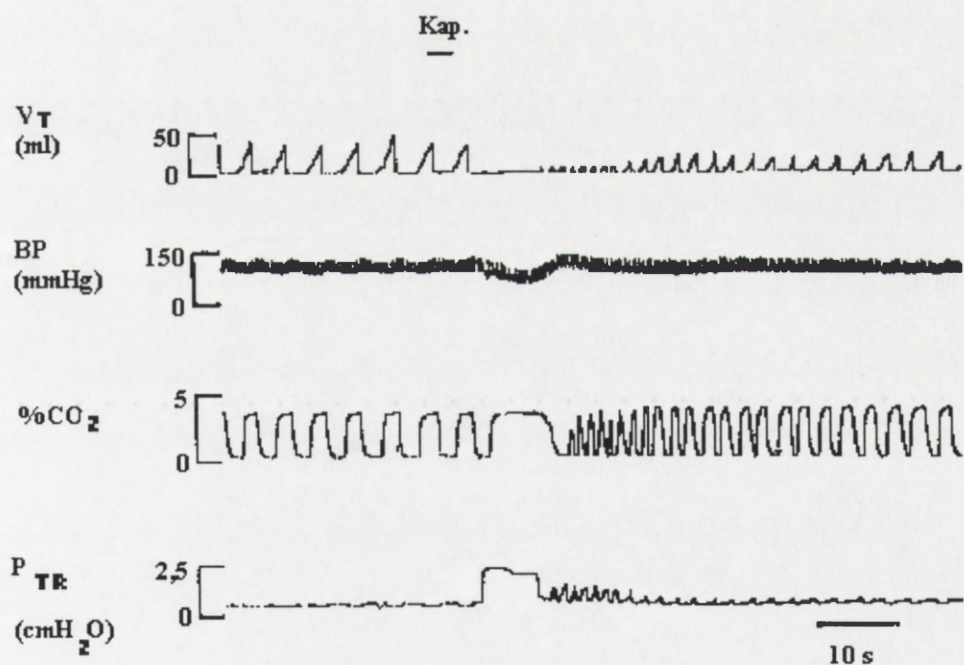
U 11 zwierząt badano zmiany zawartości stężenia gazów we krwi tętniczej po dożylniej iniekcji kapsaicyny. Pokapsaicynowe zatrzymanie oddychania obserwowane u nieuszkodzonych kotów związane było ze znamienym wzrostem ciśnienia parcjalnego CO₂ we krwi z 30.1 ± 1.6 przed bezdechem do 33.2 ± 1.9 mmHg w czasie zatrzymania oddychania ($p < 0.05$) i ze znamienym spadkiem ciśnienia parcjalnego O₂ z 84.4 ± 5.2 przed do 76.6 ± 5.1 mmHg ($p < 0.05$) w bezdechu wywołanym przez kapsaicynę. Wykonanie neurotomii nerwów błędnych całkowicie zapobiegało tym zmianom.

Zmiany ciśnienia tętniczego krwi

Badano zmiany średniego ciśnienia tętniczego krwi w chemoodruchu płucnym wywołanym kapsaicyną u 23 zwierząt. Podczas bezdechu indukowanego dożylnym podaniem tej substancji obserwowano znaczne obniżenie ciśnienia do 127.1 ± 7.5 w porównaniu z wartością kontrolną wynoszącą 146.6 ± 6.8 mmHg, zarejestrowaną przed zatrzymaniem oddychania ($p < 0.001$, test Duncana). Podanie kapsaicyny po otwarciu pętli wagalnej nie wywoływało bezdechu wydechowego, podwyższało jednak znamienne ciśnienie tętnicze krwi tuż po iniekcji, z wartości wyjściowej 148.9 ± 6.0 do 161.7 ± 6.0 mmHg ($p < 0.001$, test Scheffégo).

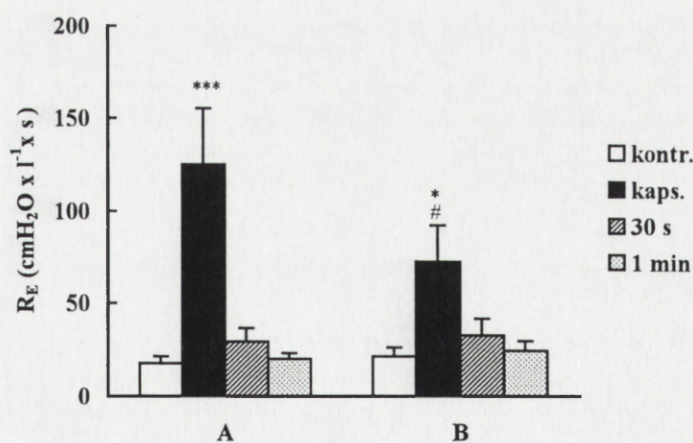
3. Wpływ kapsaicyny na opory oddechowe krtani

W grupie 9 kotów mierzono opory oddechowe krtani po podaniu kapsaicyny. Wartości kontrolne oporów wynosiły u zwierząt nieuszkodzonych: wdechowy (R_I) 13.0 ± 3.4 , wydechowy (R_E) 17.6 ± 3.7 $\text{cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$, a u zwierząt po przecięciu nerwów krtaniowych 17.1 ± 4.7 i 21.4 ± 4.5 $\text{cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$, odpowiednio. Dożylnie podanie kapsaicyny u 9 nieuszkodzonych kotów i po neurotomii nerwów krtaniowych górnych powodowało pojawienie się bezdechu wydechowego. Ryc. 5. przedstawia reprezentacyjny zapis odpowiedzi na dożylnie podanie kapsaicyny u nieuszkodzonego kota. Zatrzymaniu oddychania towarzyszył wzrost ciśnienia poprzeczchawiczego.



Ryc. 5. Wpływ kapsaicyny na oddychanie oraz zmiany ciśnienia poprzeczchawiczego u nieuszkodzonych kotów. V_T – objętość oddechowa, $\%CO_2$ – $\%$ wydechowego dwutlenku węgla, BP – ciśnienie tętnicze, P_{TR} – ciśnienie poprzeczchawicze.

Dwuczynnikowa analiza wariancji ANOVA wykazała znamienny wpływ kapsaicyny na opory wydechowe krtani ($p < 0.001$) i znamienne oddziaływanie między kapsaicyną a stanem unerwienia ($p < 0.01$). W czasie bezdechu opór wydechowy wzrastał wielokrotnie u zwierząt nieuszkodzonych i osiągał wartości $125.0 \pm 30.0 \text{ cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$ ($p < 0.001$) i $72.7 \pm 20.4 \text{ cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$ ($p < 0.05$) po przecięciu nerwów krtaniowych górnych (w porównaniu z odpowiednimi wartościami kontrolnymi). Test wykazał znamienne większy wzrost oporu wydechowego podczas bezdechu u zwierząt nieuszkodzonych ($p < 0.05$) (Ryc. 6). We wznowionym oddychaniu wartości oporów wdechowych w sekwencji czasowej nie były znamienne różne od wartości kontrolnych w obu stanach neurologicznych. Opory wydechowe w czasie wznowionego oddychania po bezdechu były nieznamienne podwyższone (30 s) i nie odbiegały od kontroli w 60 s po podaniu kapsaicyny (Ryc. 6.). Po obustronnej wagotomii, przeprowadzonej w sposób opisany w metodach, średnie wartości oporów wdechowych wynosiły 25.2 ± 4.2 i wydechowych $41.23 \pm 7.6 \text{ cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$ i po podaniu kapsaicyny opory wdechowe oraz wydechowe nie ulegały zmianie (ANOVA, $p = 0.4$ i 1.0 dla obu rodzajów oporów).

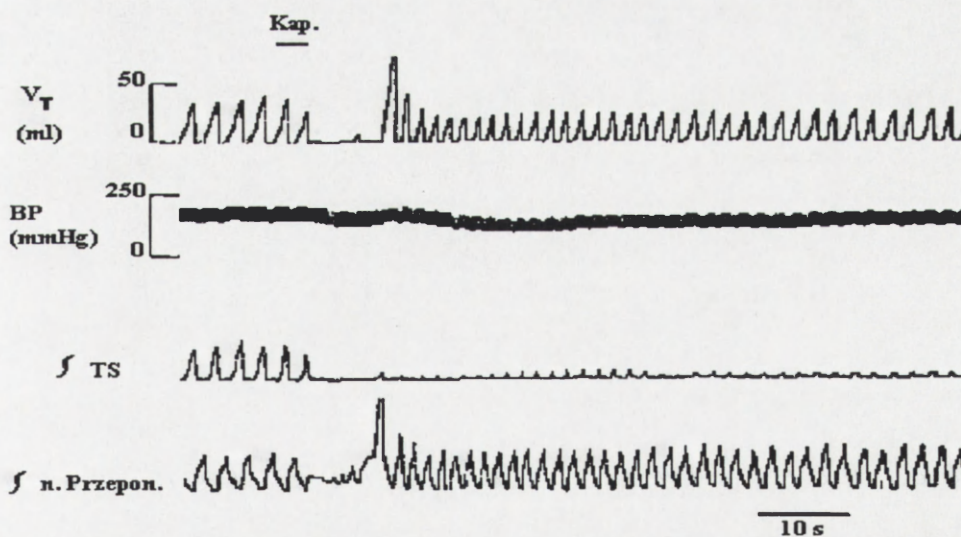


Ryc. 6. Zmiany oporu wydechowego krtani występujące po iniekcji kapsaicyny przed (A) i po obustronnym przecięciu nerwów krtaniowych górnych (B).
 *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem kapsaicyny,
 # $p < 0.05$ w porównaniu do wartości u zwierząt nieuszkodzonych (test Scheffégo); $n = 9$.

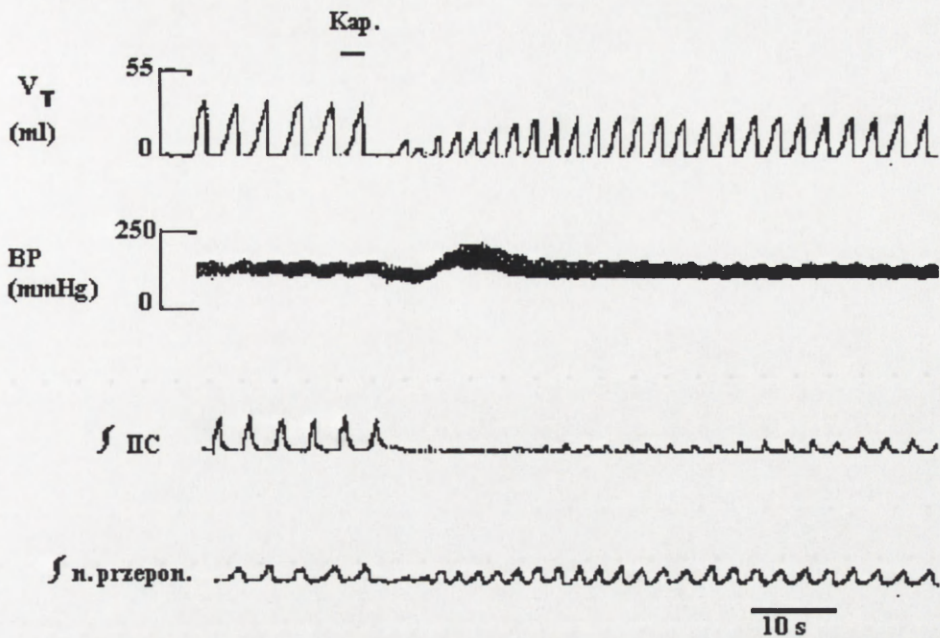
4. Wpływ kapsaicyny na zmiany aktywności mięśni oddechowych i nerwu przeponowego

W doświadczeniach prowadzonych zgodnie z opisem zamieszczonym w metodyce, wykonano pomiary zintegrowanej aktywności mięśni oddechowych wydechowych: mięśnia poprzecznego klatki piersiowej - triangularis sterni (TS) dla 8 oraz wewnętrznych mięśni międzyżebrowych (IIC) dla 10 testowanych zwierząt. U 7 zwierząt mierzono aktywność wdechowego mięśnia międzyżebrowego okołomostkowego (PIM), a w 23 przypadkach badano również odpowiedź pokapsaicynową mięśnia wdechowego przepony, którą określano na podstawie odczytu zapisu aktywności unerwiającego ją nerwu przeponowego.

U zwierząt nieuszkodzonych, bezdechowi wydechowemu wywołanemu podaniem dożylnym kapsaicyny, towarzyszyła całkowita cisza elektryczna w aktywności mięśni wydechowych (Ryc. 7, 8).

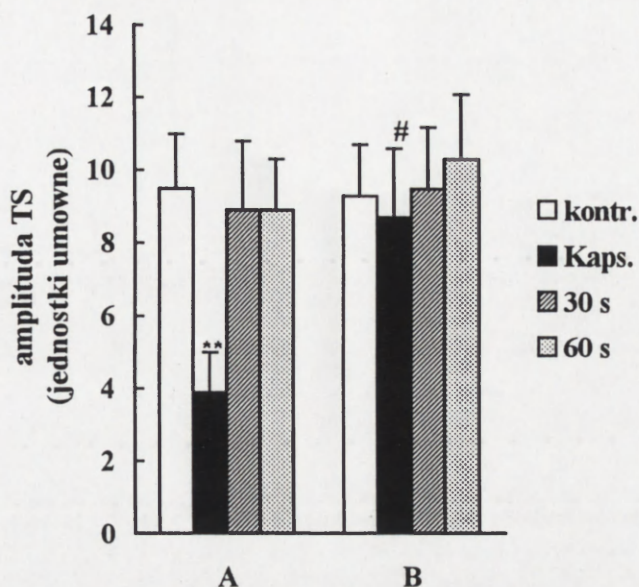


Ryc. 7. Zmiany aktywności mięśnia poprzecznego klatki piersiowej (TS) po iniekcji kapsaicyny. V_T – objętość oddechowa, BP – ciśnienie tętnicze,
} TS – zintegrowana aktywność mięśnia poprzecznego,
} n. przepon. – zintegrowana aktywność nerwu przeponowego.

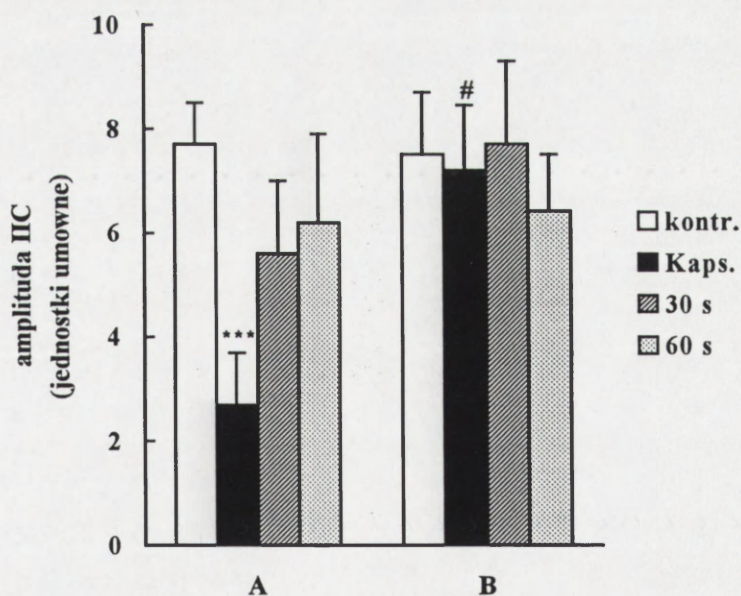


Ryc. 8. Wpływ kapsaicyny na aktywność wewnętrznych mięśni międzyżebrowych (IIC) u nieuszkodzonych zwierząt. V_T – objętość oddechowa, BP – ciśnienie tętnicze, \int IIC – zintegrowana aktywność mięśni IIC, \int n. przepon. – zintegrowana aktywność nerwu przeponowego.

W czasie wznowionego oddychania, bezpośrednio po bezdechu wywołanym podaniem kapsaicyny, następował znamieny ($p < 0.01$) spadek średniej amplitudy aktywności mięśnia TS z 9.5 ± 1.5 do 3.9 ± 1.1 jednostek (Ryc. 9), a także znaczne ($p < 0.001$) obniżenie aktywności mięśni IIC z 7.7 ± 0.8 do 2.7 ± 1.0 jednostek (Ryc. 10). Po 30 sekundach od podania substancji, amplitudy aktywności obydwu mięśni wykazywały tendencję powrotu do wartości kontrolnych. Wstrzyknięcie kapsaicyny po przeprowadzeniu obustronnej wagoatomii szyjnej nie wywoływało bezdechu, ani żadnych znamienych zmian aktywności mięśni wydechowych: mięśnia poprzecznego klatki piersiowej (TS) oraz wewnętrznych mięśni międzyżebrowych (IIC).



Ryc. 9. Średnie wartości amplitudy aktywności mięśnia poprzecznego klatki piersiowej po dożylniej iniekcji kapsaicyny u zwierząt nieuszkodzonych (A) i po wagotomii szyjnej (B). ** $p < 0.01$ w porównaniu do wartości przed podaniem substancji, # $p < 0.05$ w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (analiza kontrastów); $n = 8$.

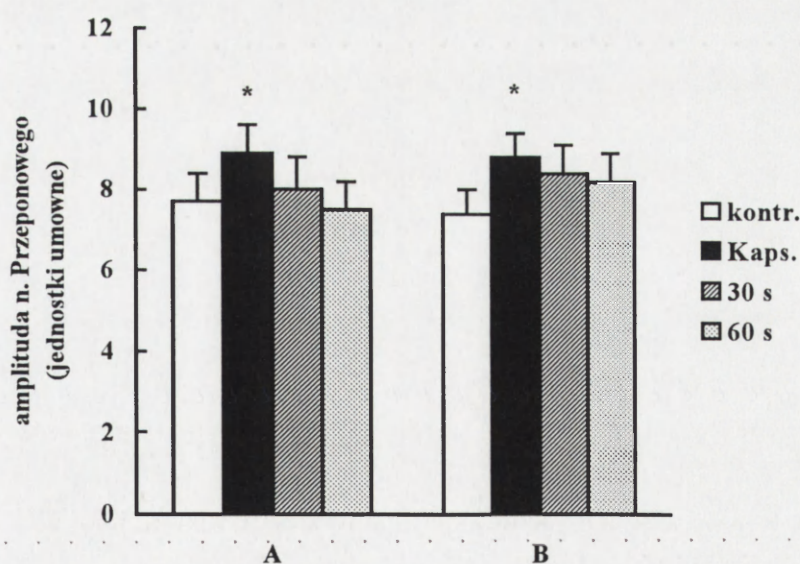


Ryc. 10. Średnie wartości amplitudy aktywności mięśni wewnętrznych międzyżebrowych po dożylnym wstrzyknięciu kapsaicyny u zwierząt nieuszkodzonych (A) i po wagotomii szyjnej (B). *** $p < 0.001$ w porównaniu do wartości przed podaniem substancji, # $p < 0.05$ w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (analiza kontrastów); $n = 10$.

Podobnie, jak w przypadku mięśni wydechowych, u nieuszkodzonych zwierząt, podczas bezdechu wywołanego wprowadzeniem do krążenia tej substancji, następowała całkowita cisza elektryczna w zapisach aktywności nerwu przeponowego, jak i w zapisie wyładowań mięśnia międzyżebrowego okołomostkowego.

Aktywność mięśnia PIM nie wykazała żadnych zmian w odpowiedzi na dożylnie podanie kapsaicyny podczas wznowionego po bezdechu oddychania. Po przecięciu nerwów błędnych, która likwidowała bezdech pokapsaicynowy, również nie obserwowano żadnych znaczących zmian amplitudy tego mięśnia po podaniu substancji.

Podczas rejestracji aktywności nerwu przeponowego, w czasie wznowionego oddychania, obserwowano znamienne ($p < 0.05$) wzrost jego amplitudy w odpowiedzi na podanie kapsaicyny z 7.7 ± 0.7 do 8.9 ± 0.7 jednostek u nieuszkodzonych kotów. Po otwarciu pętli wagalnej bezdech nie pojawiał się po podaniu kapsaicyny, a aktywność nerwu przeponowego wzrastała zanmiennie ($p < 0.05$) bezpośrednio po podaniu substancji z 7.4 ± 0.6 do 8.8 ± 0.6 jednostek (Ryc. 11).



Ryc. 11. Średnie wartości amplitudy aktywności nerwu przeponowego przed (A) i po wagotomii (B) zmieniające się w czasie pod wpływem iniekcji kapsaicyny.

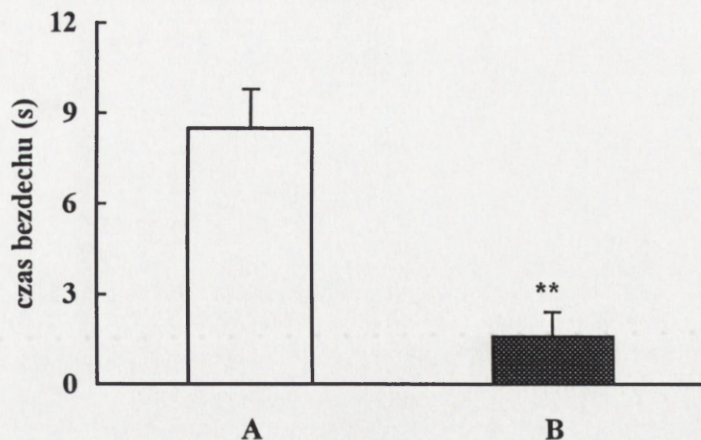
* $p < 0.05$ w porównaniu do wartości sprzed podania kapsaicyny (analiza kontrastów); $n = 23$.

5. Przebieg oddychania po podaniu kapsaicyny w czasie blokady receptorów waniloidowych czerwień rutenową

Czerwień rutenowa – Ruthenium Red (RR) jest nieorganicznym barwnikiem, który wpływa bezpośrednio na transport kationów przez kanały połączone z receptorami waniloidowymi (Amann i Maggi, 1991). Uniemożliwiając przepływ kationów przez kanały (Szallasi, 1993) substancja ta blokuje receptory waniloidowe, a co za tym idzie, odpowiedź na podanie kapsaicyny (Wood i Docherty, 1997). W 7 doświadczeniach u nieuszkodzonych kotów, badano różnice wzorca oddechowego pojawiającego się po dożylniej iniekcji kapsaicyny w dawce 10 µg / kg m. c. przed i po wprowadzeniu blokera do krążenia płucnego w ilości 1 mg / kg m. c. Wstrzyknięcie samego blokera nie zmieniało przebiegu oddychania.

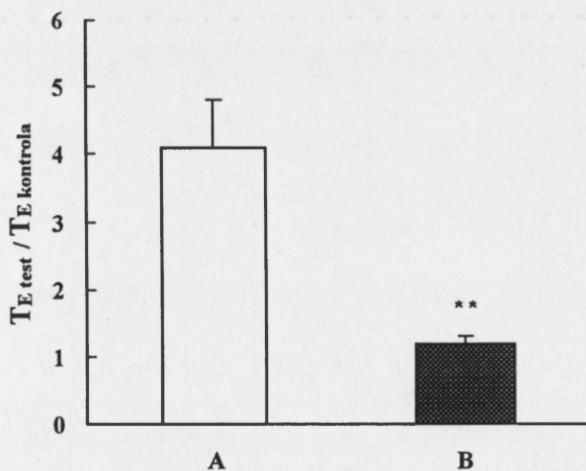
Zahamowanie oddychania i czas trwania bezdechu

Po użyciu dawki 10 µg / kg kapsaicyny zatrzymanie oddychania wystąpiło u wszystkich badanych zwierząt, a czas jego trwania wynosił średnio 8.5 ± 1.3 s. W wyniku blokady receptorów waniloidowych za pomocą RR, kapsaicyna wywoływała jedynie wydłużenie wydechu trwające średnio 1.6 ± 0.8 s, co stanowiło wyraźną ($p < 0.01$) różnicę w porównaniu z odpowiedzią uzyskaną przed blokadą (Ryc. 12).



Ryc. 12. Średni czas bezdechu wywołanego podaniem kapsaicyny przed (A) i po zastosowaniu blokady receptorów waniloidowych za pomocą czerwieni rutenu (B). ** $p < 0.01$ w porównaniu z czasem bezdechu przed blokadą (test t – Studenta dla zmiennych zależnych); $n = 7$.

Potwierdzeniem znacznego osłabienia depresji oddechowej po zablokowaniu receptorów waniloidowych czerwienią rutenową, było znamienne zmniejszenie współczynnika zahamowania oddychania ($p < 0.01$) z wartości kontrolnej wynoszącej przed blokadą 4.1 ± 0.7 do 1.2 ± 0.1 (Ryc. 13).



Ryc. 13. Współczynnik zahamowania oddychania po podaniu kapsaicyny przed (A) i po blokadzie czerwienią rutenową (B). ** $p < 0.01$ w odniesieniu do wartości kontrolnej A (test t – Studenta dla zmiennych zależnych); $n = 7$.

Zmiany głównych parametrów oddechowych

Jak wykazano w rozdziale 2, podanie kapsaicyny skutecznie obniżało objętość oddechową podczas wznowionego po bezdechu oddychania. Znamienne spadki V_T obserwowano do 1 min od iniekcji substancji. Zastosowanie blokera skracało tę reakcję. Znaczne obniżenie objętości oddechowej widoczne było tylko bezpośrednio po wznowieniu oddychania, następującym po wywołanym przez kapsaicynę bezdechu (Tabela 4).

Tabela 4. Pokapsaicynowe zmiany objętości oddechowej przed blokadą (kontrola) i po zastosowaniu czerwieni rutenowej (RR).

	V_T (ml)			
	0	kapsaicyna	30 s	60 s
kontrola	32.2 ± 3.9	23.9 ± 7.0**	29.6 ± 5.9*	29.4 ± 4.2*
RR	34.0 ± 4.9	21.0 ± 3.1**	30.0 ± 4.6	30.7 ± 4.4

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem kapsaicyny (test *Duncana*); $n = 7$.

Wznowione po bezdechu pokapsaicynowym oddychanie pozostawało znacznie przyspieszone do 30 sekund od momentu podania substancji. Blokada z zastosowaniem czerwieni rutenu nie zmieniała tej odpowiedzi, nieznamienne redukując przyrost częstości. Po 60 sekundach od podania kapsaicyny następował powrót częstości

oddychania do wartości kontrolnych przed i po blokadzie RR (Tabela 5). Wentylacja minutowa nie wykazywała znamienych różnic.

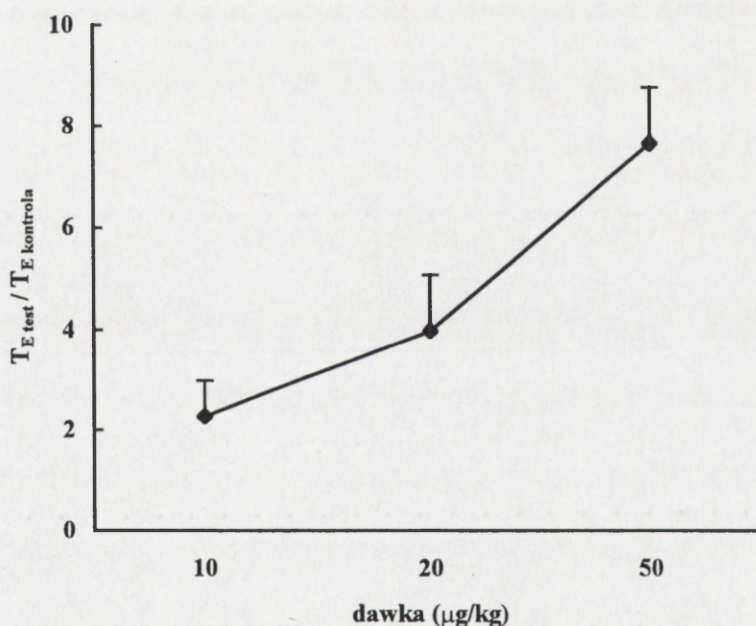
Tabela 5. Zmiany częstości oddychania przed blokadą (kontrola) i po zastosowaniu czerwieni rutenowej (RR).

	f (min ⁻¹)			
	0	kapsaicyna	30 s	60 s
kontrola	17.2 ± 0.9	23.4 ± 2.0***	21.5 ± 1.5***	19.8 ± 1.2
RR	16.6 ± 0.7	21.0 ± 2.0*** ###	18.0 ± 0.9* ###	17.6 ± 1.0 ##

*** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem kapsaicyny, ### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$ w stosunku do stanu sprzed blokady (test Duncana); $n = 7$.

2. Serotonina

Przed przystąpieniem do właściwych doświadczeń, wykonano wstępne badania w celu ustalenia odpowiedniej dawki serotoniny, którą należałoby zastosować w eksperymencie. Nieuszkodzonym zwierzętom podawano dożylnie kolejno 3 dawki substancji: 10, 20 i 50 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ Stwierdzono, że zastosowanie największej dozy serotoniny wywołuje bezdech wydechowy u większości zwierząt oraz wyraźne zmiany parametrów wentylacyjnych (Ryc. 14).

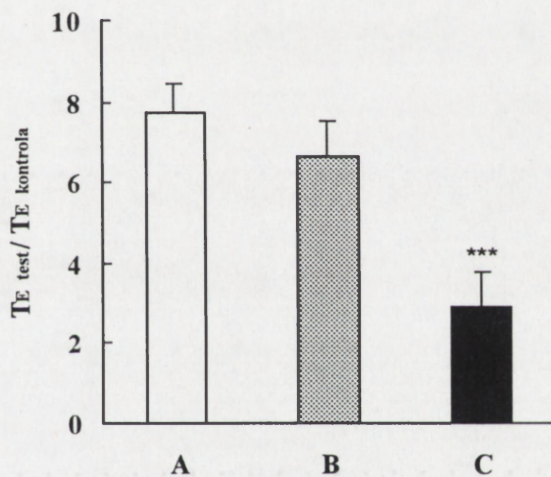


Ryc. 14. Średni współczynnik zahamowania oddychania wywołanego użyciem różnych dawek serotoniny; $n=9$.

Do dalszych doświadczeń wybrano więc dawkę 50 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ Podobnych i większych dożylnych dawek 5HT używano w eksperymentach prowadzonych na kotach (Comroe i wsp., 1953; Spannhake i wsp., 1980; Skaburskis i wsp., 1990; McMahon i wsp., 1993), psach (Comroe i Mortimer, 1964; Dixon i wsp., 1979) i szczurach (Meller i wsp., 1992; Yoshioka i wsp., 1992 a, b).

1. Wpływ nerwów krtaniowych górnych na przebieg reakcji poserotoninowej

W 10 wstępnych doświadczeniach zbadano zmiany zahamowania oddychania i zmiany wzorca oddechowego po jego wznowieniu po dożylniej iniekcji 50 $\mu\text{g} / \text{kg m. c.}$ serotoniny u kotów nieuszkodzonych, oraz po obustronnej neurotomii kolejno: nerwów krtaniowych górnych, a następnie nerwów błędnych w odcinku szyjnym. Nie stwierdzono znamiennego wpływu przecięcia nerwów krtaniowych górnych na kształt reakcji poserotoninowej, w tym na obecność i długość bezdechu.



Ryc.15. Średnie wartości współczynnika zahamowania oddychania po dożylnym podaniu serotoniny u zwierząt nieuszkodzonych (A) oraz po obustronnym przecięciu nerwów krtaniowych górnych (B) i nerwów błędnych w odcinku szyjnym (C). *** $p < 0.001$ w porównaniu z wartościami u nieuszkodzonych zwierząt (test Duncana); $n = 10$.

Wykonanie obustronnej wagoTomii szyjnej natomiast, powodowało znamienny ($p < 0.001$) spadek średniej wartości współczynnika zahamowania oddychania z 7.7 ± 0.7 u zwierząt nieuszkodzonych do 2.9 ± 0.8 jednostek (Ryc. 15), co oznaczało zmniejszenie poserotoninowej depresji oddechowej, występującej po obustronnej

wagotomii szyjnej. W pojawiającym się po bezdechu oddychaniu, wpływ serotoniny na wentylację był statystycznie nierozróżnialny u zwierząt nieuszkodzonych i po obustronnym przecięciu nerwu krtaniowego górnego. Ilustruje to Tabela 6.

Tabela 6. Zmiany wzorca oddechowego po dożylnym podaniu serotoniny u kotów nieuszkodzonych i po przecięciu SLN.

	V_T (ml)			f (min^{-1})		
	kontrola	30 s	60 s	kontrola	30 s	60 s
zwierzęta nieuszkodzone	33.3±3.0	20.3±3.4***	33.5±3.6	16.8±1.5	25.9±4.4***	21.1±1.7*
zwierzęta po neurotomii SLN	32.7±3.4	21.9±3.5***	32.4±3.8	16.1±1.4	22.4±1.7**	21.3±1.6*

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ w porównaniu z wartościami kontrolnymi (test *Duncana*); $n = 11$.

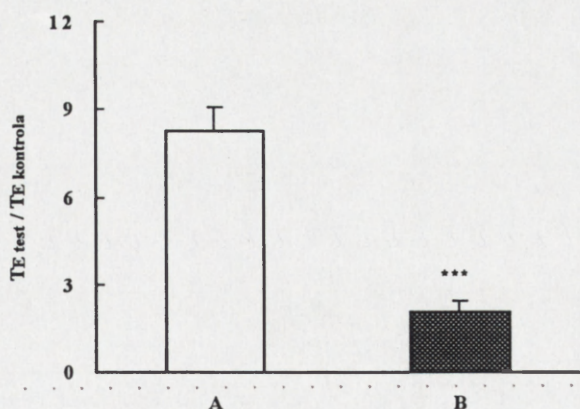
Ze względu na fakt, iż nie wykryto wpływu nerwów krtaniowych górnych na powstawanie bezdechu poserotoninowego oraz na wzorzec wznowionego oddychania, w dalszych eksperymentach rejestrowano i porównywano wyniki u zwierząt nieuszkodzonych i po jednoczesnym obustronnym przecięciu nerwów krtaniowych górnych i nerwów błędnych. Zastosowaną metodę uzasadniają wyniki uzyskane przy odwrotnej sekwencji neurotomii. Wagotomia wykonana jako pierwsza redukowała bezdech poserotoninowy, a następowe przecięcie nerwów krtaniowych górnych nie zmieniało tej odpowiedzi (Szereda–Przestaszewska i Wypych, 1995).

2. Przebieg oddychania po podaniu serotoniny

Zahamowanie oddychania i czas trwania bezdechu

Bezdech wydechowy, indukowany dożylnym podaniem 5HT, pojawił się u wszystkich 25 przetestowanych, nieuszkodzonych kotów. Jego długość była zmienna i wynosiła od 2.75 do 32.5 s (średni czas zatrzymania oddychania wynosił 16.95 ± 1.7 s). Po przecięciu nerwów krtaniowych i błędnych bezdech poserotoninowy nie wystąpił w 11 przypadkach. U pozostałych 14 zwierząt otwarcie pętli wagalnej wywołało znamienne ($p < 0.001$), trzykrotne skrócenie bezdechu średnio do 5.6 ± 1.4 s.

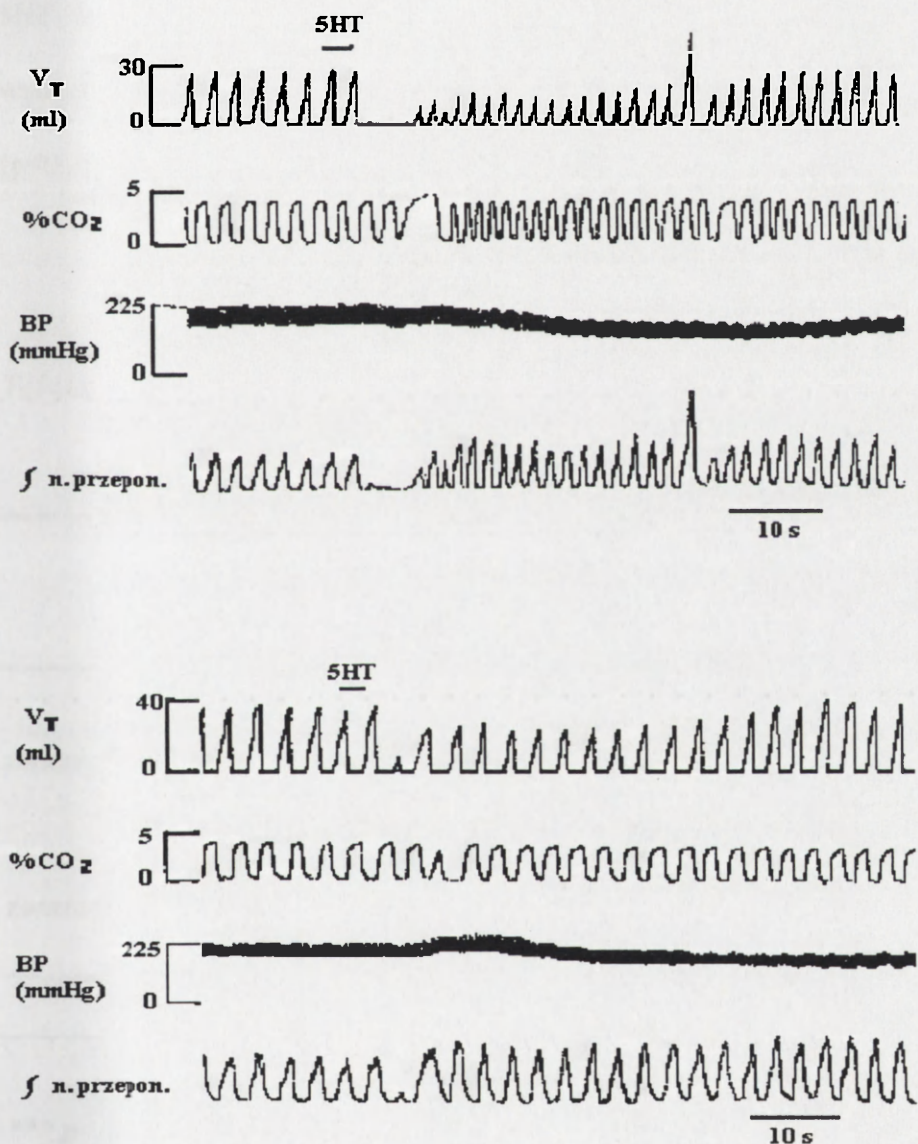
W każdym doświadczeniu obliczano współczynnik zahamowania oddychania następującego po wstrzyknięciu 5HT, który jest wartością stosunku czasu trwania bezdechu (jeżeli wystąpił) lub długości pierwszego wydechu pojawiającego się po podaniu substancji, do średniego czasu trwania 5-ciu wydechów kontrolnych (przed iniekcją). Średnia wielkość współczynnika zahamowania wynosiła 8.25 ± 0.8 dla wszystkich 25 kotów, a po wagoTomii szyjnej została znamienne ($p < 0.001$) czterokrotnie zredukowana (średnio do 2.1 ± 0.4) (Ryc. 16).



Ryc. 16. Wpływ wagoTomii szyjnej (B) na poserotoninowe wydłużenie czasu wydechu ($T_{E \text{ test}} / T_{E \text{ kontrola}}$; średnia \pm SEM). *** $p < 0.001$ w porównaniu do wartości występujących u kotów nieuszkodzonych (A). Test kolejności par Wilcoxon; $n = 25$.

Zmiany głównych parametrów oddechowych

W 35 doświadczeniach po podaniu serotoniny w dawce 50 $\mu\text{g} / \text{kg}$ wagi ciała do żyły udowej, u zwierząt nieuszkodzonych obserwowano pojawienie się oddechowego chemoodruchu płucnego z typową sekwencją reakcji: bezdech wydechowy, obniżenie ciśnienia tętniczego krwi oraz następujące po nich płytkie, szybkie oddychanie (Ryc. 17).



Ryc. 17. Wpływ serotoniny na zmiany parametrów oddechowych u kotów nieuszkodzonych (zapis górny) i wagotomizowanych (zapis dolny). V_T – objętość oddechowa, %CO₂ - % wydechowego dwutlenku węgla, BP – ciśnienie tętnicze, $\int n$ przepon. – zintegrowana aktywność nerwu przeponowego.

Obserwowana w doświadczeniach odpowiedź oddechowa na serotoninę po upływie latencji krótszym niż 3.5 s świadczy o tym, że zmiany odruchowe wywoływane są w obrębie krążenia płucnego (Coleridge i Coleridge, 1977; Daly i Kirkman, 1988; Bergren, 1997). Podczas wznowionego oddychania obserwowano znamienne ($p < 0.001$) spadek objętości oddechowej V_T (Tabela 7) utrzymujący się do 30 s od podania substancji.

5HT wywoływała także znaczne ($p < 0.001$) skrócenie czasu wdechu (T_I) oraz czasu wydechu (T_E). Zmiana ta trwała do 1 minuty po iniekcji i była przyczyną znamienego ($p < 0.001$) przyspieszenia oddychania z 18.6 ± 0.7 do $35.2 \pm 2.1 \text{ min}^{-1}$ (Tabela 8).

Tabela 7. Zmiany objętości oddechowej po dożylniej iniekcji 5HT u zwierząt nieuszkodzonych i po wagotomii szyjnej.

	V_T (ml)			
	kontrola	5HT	30 s	60 s
zwierzęta nieuszkodzone	34.6 ± 1.6	$19.0 \pm 1.4^{***}$	$24.1 \pm 1.2^{***}$	31.2 ± 1.6
zwierzęta po obustronnej wagotomii szyjnej	49.6 ± 3.0	$42.9 \pm 3.2^{**}$	49.6 ± 3.2	52.9 ± 2.6
	###	###	###	###

**** $p < 0.001$ w porównaniu ze stanem sprzed podania substancji, ### $p < 0.001$ różnica w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (test Sheffégo); $n = 35$.*

Tabela 8. Poserotoninowe średnie wartości częstości oddychania przed i po wagotomii szyjnej.

	f (min ⁻¹)			
	kontrola	5HT	30 s	60 s
zwierzęta nieuszkodzone	18.6 ± 0.7	35.8 ± 1.7***	32.4 ± 3.2***	25.8 ± 1.0***
zwierzęta po obustronnej wagotomii szyjnej	12.4 ± 0.6	17.4 ± 0.8**	16.5 ± 0.9	15.0 ± 0.8
	###	###	###	###

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu do wartości przed podaniem substancji, ### $p < 0.001$ różnica w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (test Sheffégo); $n = 35$.

Podanie serotoniny wywołało znamienne ($p < 0.05$) wzrost wentylacji minutowej (V_E) obserwowany po 1 min od podania. Zmiana ta była wynikiem trwającego wciąż przyspieszenia oddychania, przy powracającej do wartości kontrolnych, a więc wysokiej wartości objętości oddechowej.

Przeprowadzenie obustronnej wagotomii szyjnej nie wyłączało całkowicie bezdechu poserotoninowego w większości przypadków, a następujące po nim oddychanie przebiegało według wzorca widocznego przed obustronnym przecięciem nerwów błędnych (Ryc. 17, zapis dolny). Należy jednak zaznaczyć, iż przeprowadzenie dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) wykazało znamienne wpływy wagotomii na obniżenie objętości oddechowej ($p < 0.001$) oraz na przyspieszenie oddychania ($p < 0.001$), a także znaczącą interakcję między faktem podania serotoniny a denerwacją ($p < 0.001$ dla zmian V_T oraz $p < 0.001$ dla zmian f). Wpływ obustronnej wagotomii szyjnej na poserotoninowe zmiany tych dwóch parametrów oddechowych manifestował

się ograniczeniem odpowiedzi V_T i f do reakcji występującej bezpośrednio po bezdechu (Tabela 7, 8). Zmiany powyższych parametrów wpłynęły na znamienne ($p < 0.05$) wzrost wentylacji minutowej już po 30 s od podania 5HT po obustronnej wagotomii szyjnej.

Zmiany gazometryczne podczas zatrzymania oddychania wywołanego przez 5HT

W 13 doświadczeniach mierzono parametry gazometryczne we krwi tętniczej w czasie bezdechu poserotoninowego. Obserwowano znamienne wzrost ciśnienia parcjalnego CO_2 w czasie zatrzymania oddychania. Towarzyszył mu spadek ciśnienia parcjalnego O_2 . Wynikiem skrócenia bezdechu poserotoninowego po wykonaniu obustronnej wagotomii szyjnej był brak zmian stężenia CO_2 i redukcja spadku ciśnienia parcjalnego O_2 w czasie jego trwania (Tabela 9).

Tabela 9. Zmiany ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla i tlenu (w mmHg) we krwi tętniczej podczas bezdechu poserotoninowego u zwierząt nieuszkodzonych i wagotomizowanych.

	ZWIERZĘTA	NIEUSZKODZONE	ZWIERZĘTA	WAGOTOMIZOWANE
	Kontrola	Bezdech	Kontrola	Bezdech
Pa_{CO2}	29.8 ± 1.2	33.9 ± 1.0 ***	33.3 ± 2.4	35.2 ± 2.3
Pa_{O2}	90.7 ± 2.8	74.0 ± 3.1 ***	96.8 ± 4.7	85.3 ± 4.4 *

*** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ w stosunku do odpowiedniej kontroli (analiza kontrastów); $n = 13$.

Zmiany ciśnienia tętniczego

Testowano zmiany średniego ciśnienia tętniczego podczas chemoodruchu płucnego w 9 przypadkach (dwuczynnikowa ANOVA). Bezdech posero-toninowy u nieuszkodzonych kotów charakteryzował się znamienym ($p < 0.001$) spadkiem średniego ciśnienia tętniczego krwi ze 154.9 ± 8.3 w warunkach kontrolnych do 100.4 ± 12.8 mmHg w czasie bezdechu. Pozostawało na obniżonym poziomie aż do 1 min po podaniu substancji i nie powracało do wartości kontrolnych. Po obustronnej wagotomii szyjnej, spadek ciśnienia podczas bezdechu wydechowego wywołanego przez 5HT był mniejszy niż przed wagotomią i jego wartość obniżyła się ze 148.5 ± 11.2 do 137.2 ± 15.0 mmHg ($p < 0.01$). Wznowienie oddychania łączyło się z powrotem ciśnienia do stanu sprzed iniekcji (Tabela 10).

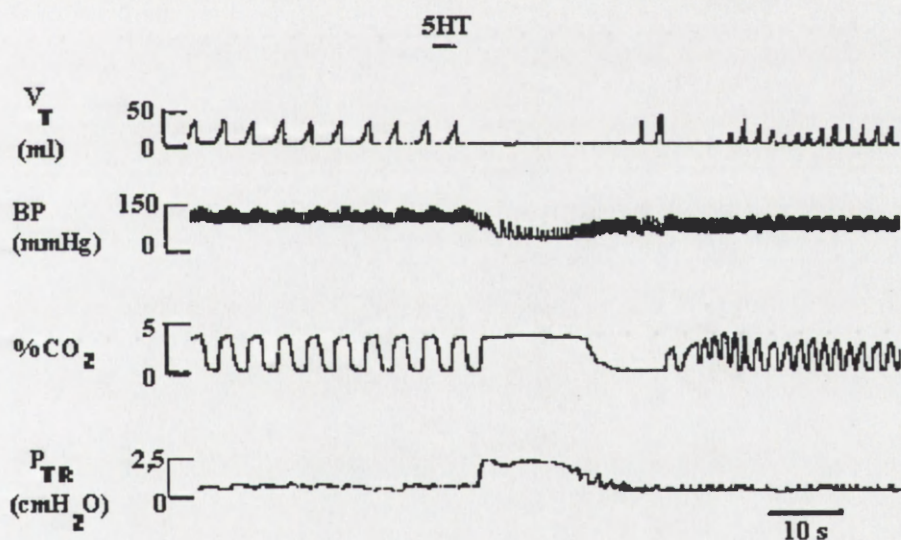
Tabela 10. Zmiany średniego ciśnienia tętniczego po dożylniej iniekcji 5HT u zwierząt nieuszkodzonych i po wagotomii szyjnej.

		MAP (mmHg)			
		kontrola	bezdech	30 s	60 s
zwierzęta		154.5 ± 8.2	$99.0 \pm 12.7^{***}$	$125.2 \pm 11.2^{***}$	$120.0 \pm 10.5^{***}$
nieuszkodzone					
zwierzęta	po	148.5 ± 11.2	$137.2 \pm 15.0^{**}$	148.5 ± 12.7	144.0 ± 12.0
wagotomii			###	###	###

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu ze stanem sprzed podania substancji, ### $p < 0.001$ różnica w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych (test Duncana); $n = 9$.

3. Wpływ serotoniny na opory oddechowe krtani

U 11 kotów dokonano pomiaru zmian oporów oddechowych krtani, występujących po podaniu serotoniny. Średnie wartości kontrolne oporu wdechowego (R_I) wynosiły 32.6 ± 8.7 , oporu wydechowego (R_E) 39.5 ± 9.5 u nieuszkodzonych, a 31.0 ± 10.0 i 39.4 ± 10.6 $\text{cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$ (odpowiednio: opór wdechowy i wydechowy) u zwierząt z przeciętymi nerwami krtaniowymi górnymi. Dożylnie podanie serotoniny u 10 nieuszkodzonych kotów i 11 z przeciętymi nerwami krtaniowymi górnymi wywołało szybko pojawiający się bezdech. Ryc. 18. przedstawia reprezentacyjny zapis odpowiedzi na dożylnie podanie serotoniny u nieuszkodzonego kota.

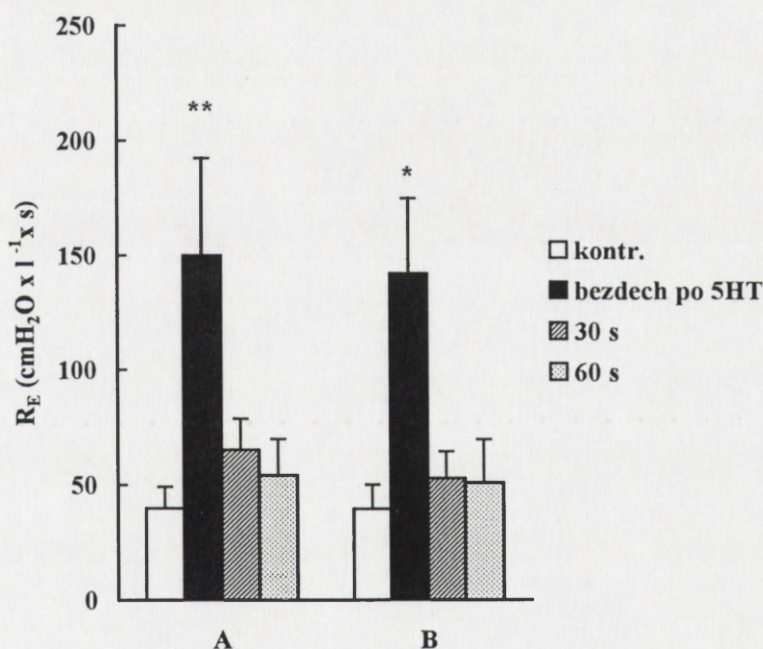


Ryc. 18. Zmiany ciśnienia poprzecznicowego po podaniu serotoniny u zwierząt nieuszkodzonych. V_T – objętość oddechowa, BP – ciśnienie tętnicze, $\%CO_2$ – $\%$ wydechowego dwutlenku węgla, P_{TR} – ciśnienie poprzecznicowe.

Zatrzymaniu oddychania towarzyszył wzrost ciśnienia poprzecznicowego. Analiza wariancji (ANOVA) wykazała u zwierząt nieuszkodzonych i po przecięciu nerwów krtaniowych górnych znamiennej wpływ serotoniny na opory wydechowe krtani

($p < 0.001$), brak efektu odnerwienia i wzajemnego oddziaływania odnerwienia i serotoniny.

W czasie bezdechu (Ryc. 19) opór wydechowy wzrastał trzykrotnie osiągając wartości 150 ± 42.4 i 142 ± 33.0 $\text{cmH}_2\text{O} \times \text{l}^{-1} \times \text{s}$ u zwierząt nieuszkodzonych i po przecięciu nerwu krtaniowego górnego, odpowiednio ($p < 0.01$ i $p < 0.05$ w porównaniu do wartości kontrolnych). Z pojawieniem się oddychania po bezdechu, opory wdechowe nie zmieniały się (ANOVA, $p = 0.08$). Opory wydechowe natomiast ulegały obniżeniu, przekraczały jednak wartości kontrolne. W późniejszej fazie wznowionego oddychania (60 s), wielkość oporów powróciła do wartości nie różnych od kontroli.



Ryc. 19. Poserotoninowe zmiany oporu wydechowego krtani u zwierząt nieuszkodzonych (A) oraz po przecięciu nerwów krtaniowych górnych (B). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości oporu przed podaniem 5HT (test Sheffégo); $n = 11$.

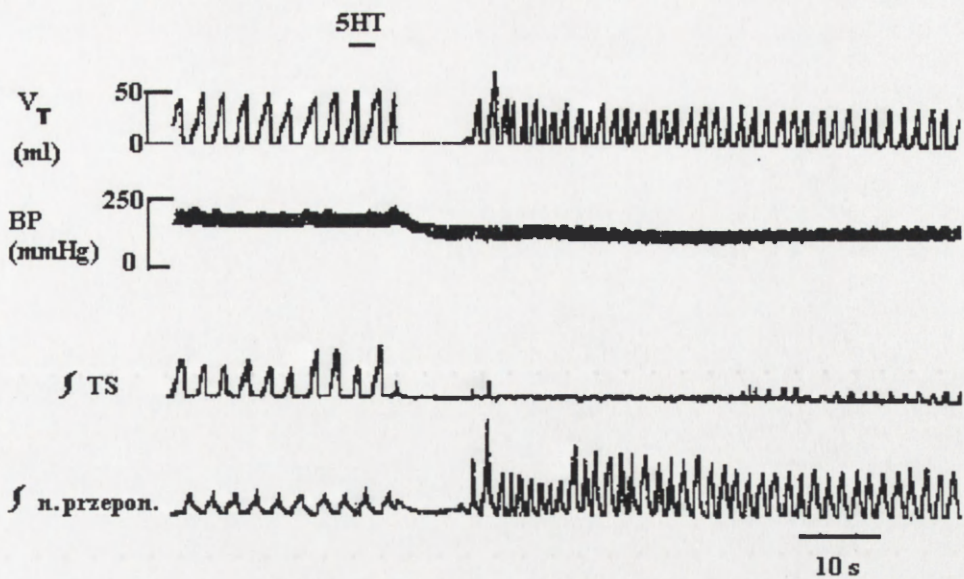
Po obustronnej wagoTomii przeprowadzonej w sposób opisany w metodyce, kontrolna wartość oporów wdechowych wynosiła 36.2 ± 12.0 i wydechowych 47.5 ± 12.8 cmH_2O

$\times l^{-1} \times s$. Analiza wariancji wykazała znamiennego wpływ serotoniny na opory wdechowe ($p < 0.01$). Bezpośrednio po podaniu serotoniny następowało obniżenie oporów wdechowych do $18.5 \pm 5.4 \text{ cmH}_2\text{O} \times l^{-1} \times s$ ($p < 0.05$) w porównaniu do kontroli. Średnie wartości oporów wydechowych po podaniu serotoniny nie różniły się statystycznie od wartości kontrolnych. Z 10 kotów tylko 3 prezentowały bezdech wydechowy i trzykrotny wzrost oporu wydechowego. U pozostałych zwierząt po iniekcji serotoniny opory wydechowe wzrastały nieznamienne ($p = 0.9$) i następnie wracały do wartości kontrolnych.

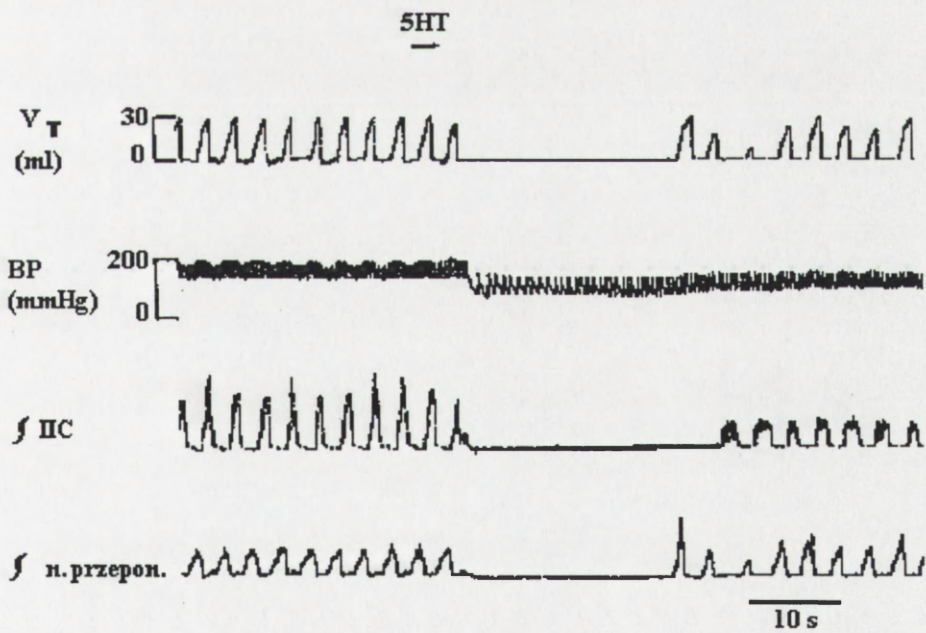
4. Wpływ serotoniny na aktywność mięśni oddechowych i nerwu przeponowego

Celem zbadania zachowania się aktywności efektorów oddechowych wykonano pomiary zintegrowanej aktywności mięśni oddechowych wydechowych: mięśnia poprzecznego klatki piersiowej - triangularis sterni (TS) - 12 kotów, wewnętrznych mięśni międzyżebrowych (IIC) - 10 kotów oraz mięśnia wdechowego: międzyżebrowego okołomostkowego (PIM) - 12 kotów, po dożylnym podaniu 5HT. Badano również odpowiedź poserotoninową mięśnia wdechowego przepony, którą określano na podstawie odczytu zapisu aktywności unerwiającego ją nerwu przeponowego u 12 kotów.

Bezdechowi powstającemu po wstrzyknięciu 5HT towarzyszyła zupełna cisza elektryczna w aktywności wydechowego mięśnia poprzecznego (TS) klatki piersiowej (Ryc. 20) oraz wydechowych, wewnętrznych mięśni międzyżebrowych (IIC) (Ryc. 21) zarówno u kotów nieuszkodzonych, jak i po obustronnej wagoatomii szyjnej (jeśli bezdech wystąpił).

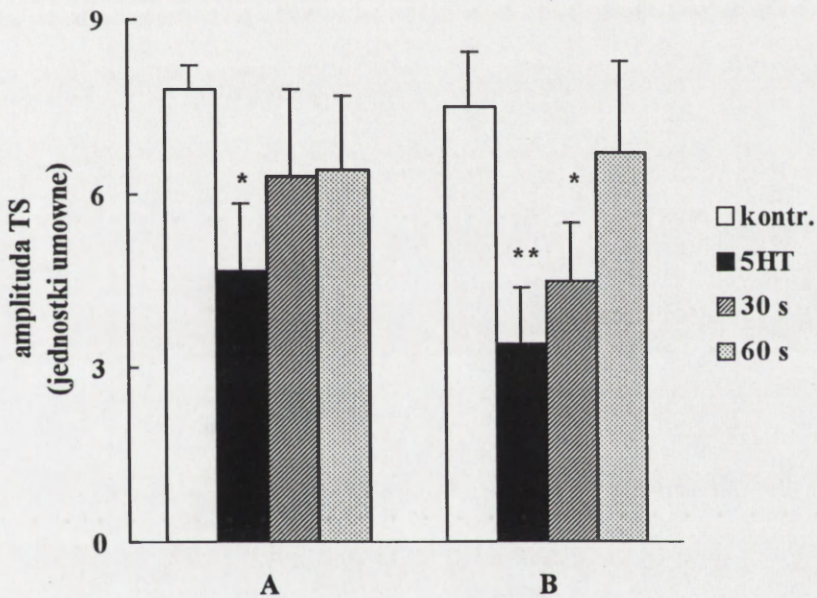


Ryc. 20. Zmiany aktywności mięśnia poprzecznego klatki piersiowej (TS) po podaniu serotoniny u nieuszkodzonych kotów. V_T – objętość oddechowca, BP – ciśnienie tętnicze, \int IIC – zintegrowana aktywność mięśni IIC, \int n. przepon. – zintegrowana aktywność mięśnia przeponowego.



Ryc. 21. Wpływ serotoniny na aktywność wewnętrznych mięśni międzyżebrowych (IIC) u nieuszkodzonych kotów. Objaśnienia podano przy Ryc. 20.

Bezpośrednio we wznowionym po bezdechu wywołanym serotoniną oddychaniu, zaobserwowano znamienne (analiza kontrastów dwuczynnikowej ANOVY, $p < 0.05$) w stosunku do wartości kontrolnych spadek aktywności wydechowego mięśnia poprzecznego klatki piersiowej TS z 7.8 ± 0.4 do 4.7 ± 1.1 jednostek (Ryc. 22). Podobna odpowiedź mięśnia TS po podaniu serotoniny widoczna była również po wykonaniu obustronnej wagoatomii (aktywność TS obniżyła się z 7.5 ± 0.9 do 3.4 ± 1.0 jednostek).

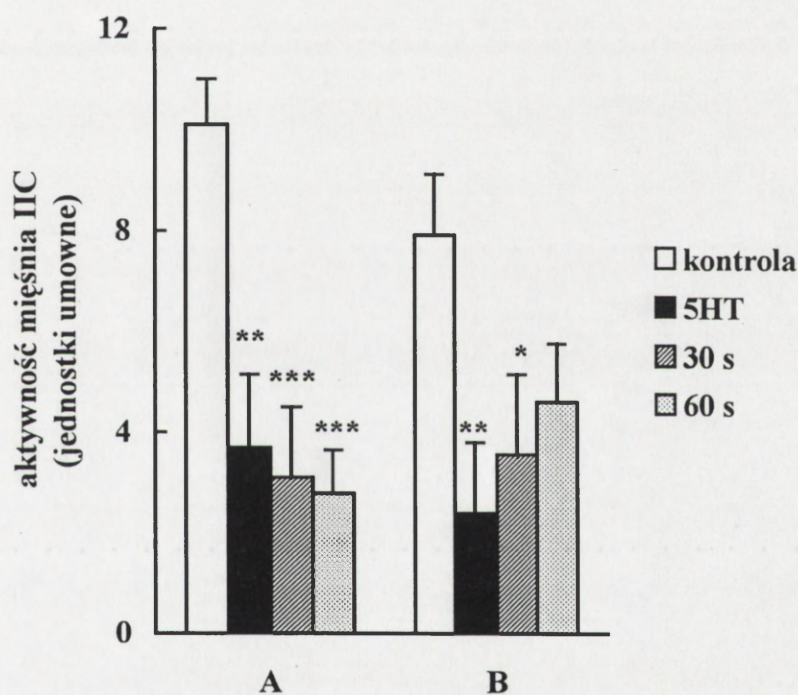


Ryc. 22. Spadek aktywności mięśnia poprzecznego klatki piersiowej po podaniu serotoniny u zwierząt nieuszkodzonych (A) oraz po przecięciu nerwów błędnych (B). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ w porównaniu z wartościami przed podaniem 5HT (analiza kontrastów); $n = 12$.

Zgodnie z przeprowadzoną dwuczynnikową analizą wariancji (ANOVA), zarówno przed jak i po neurotomii obserwowano znamienne wpływy serotoniny na reakcję

mięśni IIC ($p < 0.001$) oraz brak wpływu odnerwienia i wzajemnego oddziaływania tej neurotomii na reakcję poserotoninową mięśni.

Podczas wznowionego po bezdechu oddychania, obserwowano znamienne ($p < 0.01$) obniżenie aktywności mięśni IIC u zwierząt nieuszkodzonych ze średnich wartości 10.1 ± 0.9 do 3.7 ± 1.4 jednostek. Podanie serotoniny po obustronnej wagoTomii szyjnej również obniżyło znamienne ($p < 0.01$) zintegrowaną aktywność mięśni IIC z 7.7 ± 1.2 do 2.4 ± 0.4 jednostek (Ryc. 23).

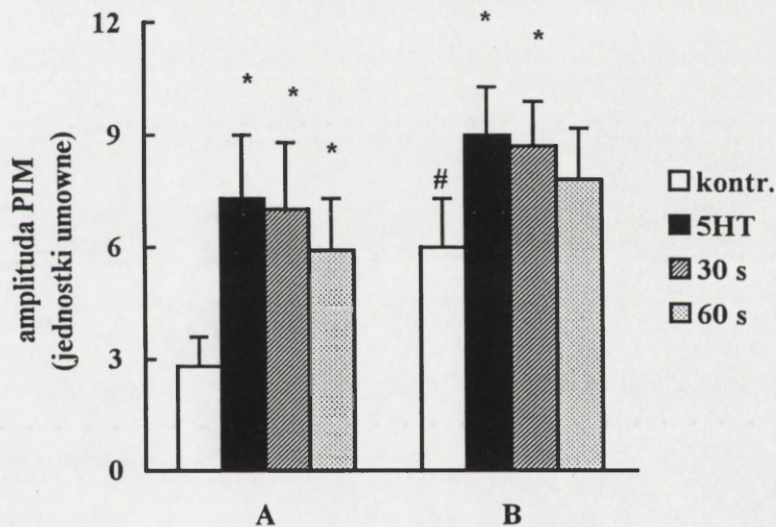


Ryc. 23. Spadek aktywności wewnętrznych mięśni międzyżebrowych po podaniu serotoniny u zwierząt nieuszkodzonych (A) oraz po przecięciu nerwów błędnych (B). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu z wartościami przed podaniem 5HT (analiza kontrastów); $n = 10$.

Obniżenie amplitudy wyładowań mięśni, zarówno w przypadku kotów nieuszkodzonych jak i obustronnie wagoTomizowanych, utrzymywało się ponad 1 min

(Ryc. 20, 21) i trwało zwykle ok. 4 min od podania 5HT. Po tym czasie aktywność mięśni powracała do wartości kontrolnych.

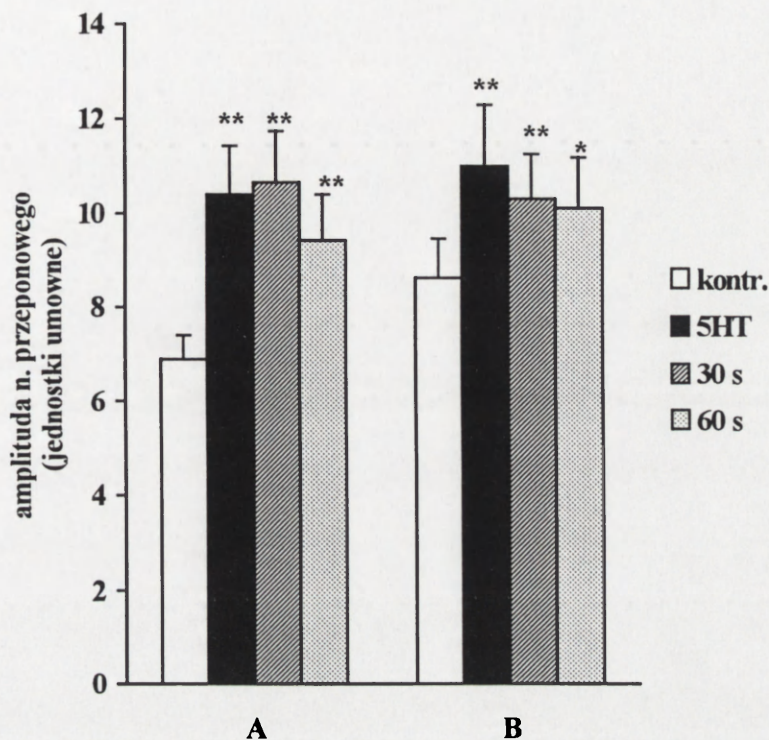
Podobnie, podczas bezdechu wywołanego iniekcją serotoniny obserwowano całkowitą ciszę elektryczną w zapisie wyładowań mięśnia wdechowego PIM, a także w aktywności nerwu przeponowego (Ryc. 20, 21). Na podstawie wykonanej analizy kontrastów dwuczynnikowej ANOVY stwierdzono, że wznowione oddychanie charakteryzowało się znamienym ($p < 0.05$), w porównaniu do wartości kontrolnych, wzrostem szczytowej amplitudy aktywności mięśnia wdechowego PIM z 2.8 ± 0.8 do 7.3 ± 1.7 jednostek (Ryc. 24) oraz znacznym



Ryc. 24. Średnie wartości amplitudy aktywności mięśnia międzyżebrowego okołomostkowego po podaniu 5HT u zwierząt nieuszkodzonych (A) i po wagctomii szyjnej (B). * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem 5HT, # $p < 0.05$ w porównaniu do wartości u zwierząt nieuszkodzonych (analiza kontrastów); $n = 12$.

($p < 0.001$) zwiększeniem amplitudy wyładowań nerwu przeponowego z 6.9 ± 0.5 do 10.4 ± 1.0 jednostek (Ryc. 25). Zmiany te były nadal widoczne w 60 s po podaniu

substancji, a wagoTomia szyjna nie zmieniała poserotoninowej odpowiedzi nerwu przeponowego i skracala czas reakcji PIM do 30 s od podania 5HT.



Ryc. 25. Średnie wartości amplitudy aktywności nerwu przeponowego przed (A) i po wagoTomii (B) zmieniające się w czasie pod wpływem iniekcji serotoniny. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem 5HT (analiza kontrastów); $n = 12$.

5. Wpływ nerwu zatokowego na odpowiedź oddechową wywołaną podaniem 5HT

U 8 kotów poddanych wagoTomii szyjnej, zbadano zmiany występujące w oddychaniu po dożylniej iniekcji 50 $\mu\text{g} / \text{kg}$ serotoniny przy zachowanych nerwach zatokowych oraz po obustronnej ich neurotomii. Tabela 11 ilustruje fakt, iż iniekcja serotoniny nie wpływała na objętość oddechową w obu stanach neurologicznych

zwierząt (ANOVA, $p=0.4$). Przekucie nerwów zatokowych powodowało obniżenie kontrolnej wartości objętości na granicy znamienności statystycznej ($p=0.05$).

Tabela 11. Zmiany objętości oddechowej po dożylniej iniekcji 5HT u zwierząt poddanych wagotomii szyjnej i przekuciu nerwów zatokowych.

	V_T (ml)			
	kontrola	5HT	30 s	60 s
zwierzęta po obustronnej wagotomii szyjnej	41.6 ± 3.8	40.7 ± 5.2	44.1 ± 5.7	44.3 ± 4.0
zwierzęta po przekuciu nerwów zatokowych	36.5 ± 3.8	28.2 ± 5.6	35.1 ± 5.1	35.1 ± 5.2
		#		#

$p < 0.05$ w porównaniu do zwierząt nieuszkodzonych (analiza kontrastów); $n = 8$.

Zarówno u zwierząt wagotomizowanych jak i poddanych neurotomii nerwu zatokowego, serotonina wywoływała znamienne przyspieszenie oddychania (ANOVA, $p=0.001$) w ciągu jednodominutowej obserwacji (Tabela 12).

Tabela 12. Poserotoninowe średnie wartości częstości oddychania po wagotomii szyjnej i po przecięciu nerwów zatokowych.

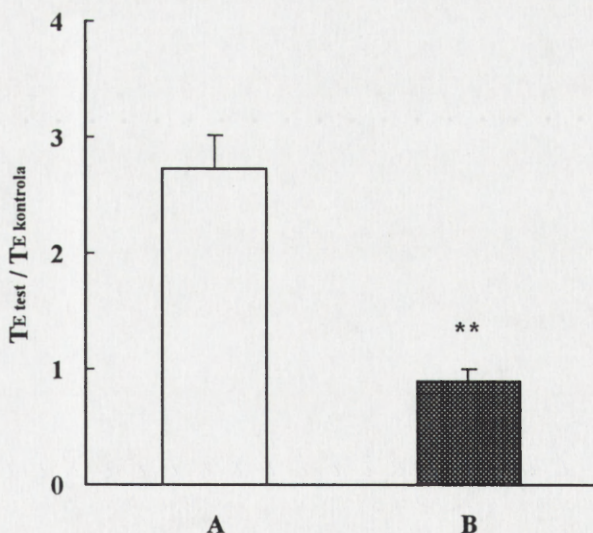
	f (min ⁻¹)			
	kontrola	5HT	30 s	60 s
zwierzęta po obustronnej wagotomii szyjnej	14.1 ± 0.9	19.4 ± 1.7**	20.4 ± 2.6*	17.2 ± 1.6*
zwierzęta po przecięciu nerwów zatokowych	15.0 ± 1.3	19.4 ± 1.7**	20.2 ± 1.5*	17.8 ± 1.2*

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem substancji (analiza kontrastów); $n = 8$.

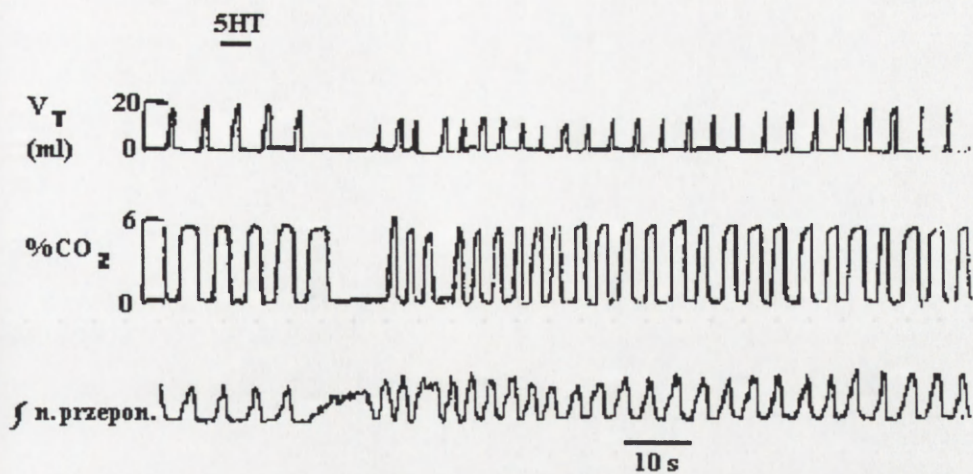
Zwiększenie wentylacji minutowej obserwowano u kotów przed chemodenerwacją (ANOVA, $p = 0.01$). Serotonina wywołała bezdech wydechowy u pięciu z ośmiu wagotomizowanych kotów (średni czas trwania bezdechu 7.9 ± 1.2 s, $n = 5$). Po przecięciu nerwów zatokowych pojawił się u trzech z nich i trwał średnio 8.9 ± 1.6 s. Średnie wydłużenie wydechu po iniekcji 5HT wynosiło 2.4 ± 0.8 i 2.0 ± 0.7 przed i po przecięciu nerwów zatokowych, wykazując podobny poziom zahamowania wydechu ($p = 0.7$). Średnia aktywność nerwu przeponowego pozostawała również na podobnym poziomie przed i po przecięciu nerwów zatokowych.

6. Wpływ zwojów guzkowych na przebieg reakcji poserotoninowej

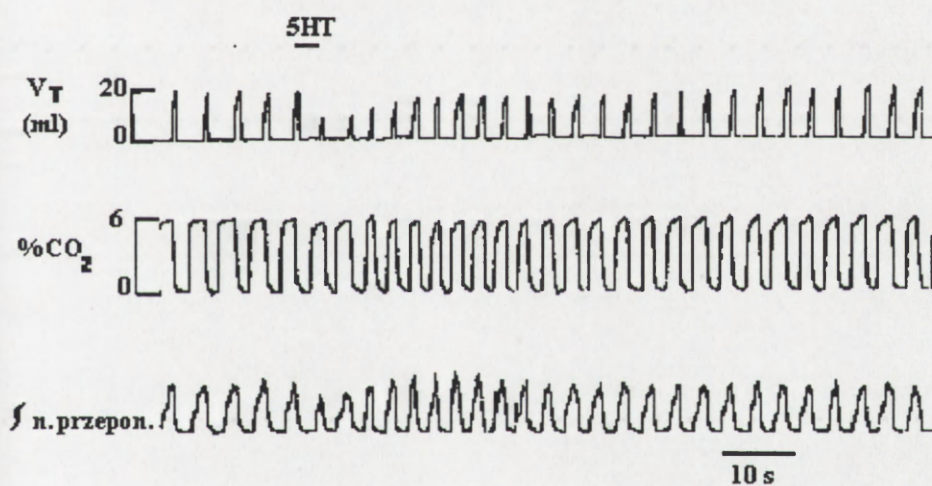
U 8 zwierząt po uprzednio przeprowadzonej obustronnej wagotomii szyjnej, przecinano również nerwy błędne ponad zwojami guzkowymi. Wagotomia szyjna redukowała jedynie długość bezdechu wydechowego obserwowanego po iniekcji 50 μg / kg 5HT, ale nie u wszystkich zwierząt prowadziła do jego zaniku. Nie zmieniała ona również wzorca oddychania poserotoninowego i średnich wartości jego podstawowych parametrów: objętości oddechowej i częstości oddychania. Przecięcie nerwów błędnych ponad zwojami guzkowymi prowadziło do całkowitej eliminacji zatrzymania oddychania u wszystkich testowanych kotów (Ryc. 27) oraz do znamiennej ($p < 0.01$) redukcji depresji oddychania, odzwierciedlonej zmniejszeniem średnich wartości współczynnika zahamowania z 2.72 ± 0.3 po wagotomii szyjnej do 0.9 ± 0.1 po sekcji nerwów błędnych ponad zwojami guzkowymi (Ryc. 26).



Ryc. 26. Średnie wartości współczynnika zahamowania oddychania u zwierząt po obustronnej wagotomii szyjnej (A) oraz po wagotomii wykonanej ponad zwojami guzkowymi (B). ** $p < 0.01$ (test t – Studenta dla zmiennych zależnych); $n = 8$.



A



B

Ryc. 27. Zmiany parametrów oddechowych po podaniu 5HT u kotów po wagotomii szyjnej (A) i po wagotomii nadguzkowej (B). V_T – objętość oddechowca, $\%CO_2$ – % wydechowego dwutlenku węgla, f n. przepon. – zintegrowana aktywność nerwu przeponowego.

Wagotomia wykonana ponad zwojami guzkowymi obniżała znamienne ($p < 0.001$) wartości kontrolne objętości oddechowej oraz zapobiegała spadkowi V_T , po bezdechu wywołnym podaniem serotoniny obserwowanym po przecięciu nerwów błędnych na szyi (Tabela 13). Po wyłączeniu zwojów guzkowych nie pojawiał także wzrost częstości oddychania wznowionego po bezdechu (Tabela 14). Rezultatem braku poserotoninowych zmian objętości i częstości oddychania po wykluczeniu wpływu zwojów guzkowych był niezmienny poziom wentylacji minutowej.

Tabela 13. Zmiany objętości oddechowej po dożylniej iniekcji 5HT obserwowane u zwierząt po obustronnej wagotomii szyjnej i wagotomii nadguzkowej.

	V_T (ml)			
	kontrola	5HT	30 s	60 s
wagotomia szyjna	43.9 ± 5.4	33.8 ± 6.6***	43.3 ± 7.6	46.4 ± 6.3
wagotomia nadguzkowa	35.0 ± 4.7	32.1 ± 5.2	37.4 ± 5.7	37.8 ± 5.0
	###		#	###

*** $p < 0.001$ w porównaniu ze stanem przed podaniem substancji, ### $p < 0.001$, # $p < 0.05$ różnica w stosunku do zwierząt po wagotomii śródszyjnej (test Duncana); $n = 8$.

Tabela 14. Poserotoninowe przyspieszenie oddychania wyrażone jako średnie wartości częstości oddychania po obustronnej wagotomii szyjnej i po wagotomii nadguzkowej.

	f (min ⁻¹)			
	kontrola	5HT	30 s	60 s
wagotomia szyjna	11.6 ± 0.7	16.5 ± 1.8***	14.3 ± 1.3**	12.6 ± 0.8
wagotomia nadguzkowa	13.0 ± 1.5	14.9 ± 1.3	14.9 ± 1.7	15.1 ± 1.6 #

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu do wartości przed podaniem substancji, # $p < 0.05$ różnica w stosunku do zwierząt po wagotomii śróduszynnej (test Duncana); $n = 8$.

Po wagotomii wykonanej ponad zwojami obserwowano zjawisko znamiennego ($p < 0.01$) wzrostu ciśnienia tętniczego bezpośrednio po podaniu 5HT z wartości 144.0 ± 13.5 do 154.0 ± 15.0 mmHg, będącego prawdopodobnie konsekwencją braku bezdechu wydechowego, gdyż zwykle w czasie jego trwania ciśnienie ulegało obniżeniu.

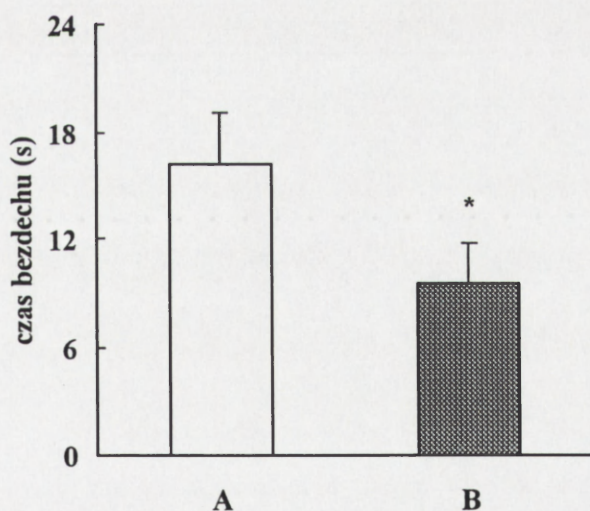
7. Przebieg reakcji wywołanej przez 5HT po blokadzie receptorów serotonergicznym

Blokada receptorów przy użyciu ketanseryny

Ketanseryna jest substancją selektywnie blokującą receptory 5HT_{2A} (Saxena, 1995). U 6 nieuszkodzonych zwierząt porównano wzorzec oddychania występujący po dożylniej iniekcji podstawowej (50 µg / kg) dawki serotoniny przed i po zastosowaniu

tego blokera, który wprowadzano także do krążenia płucnego w dawce 100 $\mu\text{g} / \text{kg}$. Wstrzyknięcie ketanseryny wywoływało nieznamienne wzrost objętości oddechowej, nie wpływając na komponentę częstotliwościową wzorca oddechowego.

W warunkach kontrolnych (przed blokadą) długość bezdechu poserotoninowego wynosiła średnio 16.2 ± 2.9 s. Podanie ketanseryny nie zapobiegało zatrzymaniu oddychania, zachodzącego w odpowiedzi na wstrzyknięcie 5HT, ale wywoływało znaczne ($p < 0.05$, test t Studenta dla zmiennych zależnych) jego skrócenie do 9.45 ± 2.3 s (Ryc. 28). Redukcja długości bezdechu prowadziła również do zmniejszenia wartości współczynnika zahamowania oddychania do 4.2 ± 1.1 , w porównaniu do jego wielkości kontrolnej przed blokadą, wynoszącej 7.4 ± 1.7 . Wynik ten znajdował się jednak na granicy znamienności ($p = 0.052$, test t – Studenta dla zmiennych zależnych).



Ryc. 28. Średnia długość bezdechu poserotoninowego u zwierząt kontrolnych (A) oraz po zastosowaniu blokady ketanseryną (B). * $p < 0.05$ w porównaniu z wartościami kontrolnymi (test t – Studenta dla zmiennych zależnych); $n = 6$.

Zablokowanie receptorów serotonergiczných przy pomocy ketanseryny nie miało większego wpływu na poserotoninowe zmiany podstawowych elementów oddychania, polegających na znacznym ($p < 0.001$, ANOVA) zmniejszeniu się objętości oddechowej i znamionym ($p < 0.001$, ANOVA) wzroście częstości oddychania (Tabela 15, 16).

Tabela 15. Poserotoninowe zmiany objętości oddechowej przed (kontrola) i po blokadzie ketanseryną.

	V_T (ml)			
	0	5HT	30 s	60 s
kontrola	36.4 ± 3.1	$14.7 \pm 2.4^{***}$	$21.1 \pm 2.8^{***}$	$30.9 \pm 2.1^*$
ketanseryna	36.6 ± 2.6	$14.5 \pm 1.7^{***}$	$25.7 \pm 1.6^{***}$	$30.9 \pm 1.8^*$

*** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ w porównaniu do wartości przed podaniem 5HT (test Duncana); $n = 6$.

Tabela 16. Wpływ serotoniny na częstość oddychania przed i po blokadzie ketanseryną.

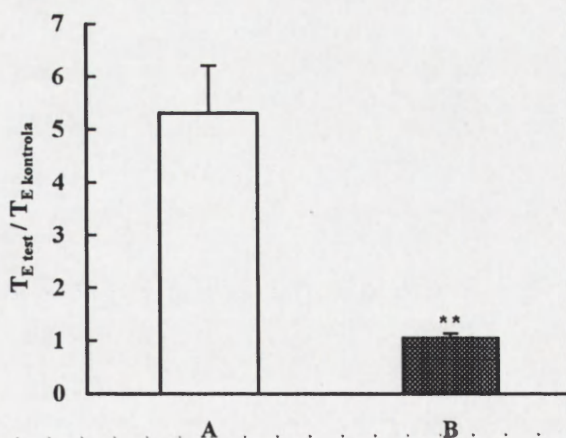
	f (min^{-1})			
	0	5HT	30 s	60 s
kontrola	16.5 ± 1.5	$26.1 \pm 2.4^{***}$	$22.7 \pm 2.3^{***}$	$20.2 \pm 1.5^{**}$
ketanseryna	16.7 ± 1.2	$24.8 \pm 3.1^{***}$	$21.0 \pm 1.9^{***}$	$20.5 \pm 2.0^{**}$

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu z wartościami przed podaniem 5HT (test Duncana); $n = 6$.

Po blokadzie ketanseryną, poziom ciśnienia tętniczego w odpowiedzi na 5HT pozostawał znacznie ($p < 0.001$) obniżony przez ponad 1 min od momentu jej podania. Nieco inaczej wyglądała reakcja zwierząt kontrolnych, u których znamienne ($p < 0.001$) spadek średniego ciśnienia krwi obserwowano tylko podczas bezdechu indukowanego przez serotoninę. Natychmiast po nim następowało wyrównanie ciśnienia do stanu sprzed iniekcji.

Blokada receptorów przy użyciu MDL

MDL 72222 blokuje selektywnie receptory 5HT₃ (Fozard, 1984). Substancji tej użyto dożylnie u 6 nieuszkodzonych zwierząt. Podanie dożylnie samego MDL w dawce 200 µg / kg nie zmieniało wzorca oddechowego. Blokada wywołana MDL po 5 min od jego podania, całkowicie eliminowała występowanie bezdechu wydechowego po podaniu 5HT. Dowodem na zmniejszenie poserotoninowej depresji oddychania był znamienne ($p < 0.01$) obniżony do 1.05 ± 0.01 średni współczynnik zahamowania, który przed podaniem antagonisty wynosił 5.3 ± 0.9 jednostek (Ryc. 29).



Ryc. 29. Poserotoninowa depresja oddechowa przed (A) i po blokadzie przy użyciu MDL (B) wyrażona przez średni współczynnik zahamowania oddychania. ** $p < 0.01$ w porównaniu z kontrolą (test kolejności par Wilcozona); $n = 6$.

Zablokowanie receptorów serotonergiczných przy użyciu MDL zapobiegało wywoływaniu przez 5HT spadkowi objętości oddechowej (Tabela 17).

Tabela 17. Poserotoninowa reakcja komponenty objętościowej przed (kontrola) i po zastosowaniu blokady przez MDL.

	V_T (ml)			
	0	5HT	30 s	60 s
kontrola	38.8 ± 2.6	$13.7 \pm 2.3^{***}$	$23.4 \pm 2.9^{***}$	33.3 ± 2.2
MDL	38.9 ± 3.5	$35.7 \pm 3.1^{###}$	$34.0 \pm 4.6^{##}$	38.6 ± 2.5

*** $p < 0.001$ w porównaniu do wartości przed podaniem 5HT, ### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$ w porównaniu do stanu przed blokadą (test Duncana); $n = 6$.

Blokada znosiła również poserotoninowe skrócenie wdechu i wydechu, obserwowane u zwierząt kontrolnych, czego wynikiem był brak zmian średnich wartości częstości oddychania (Tabela 18).

Tabela 18. Średnie wartości częstości oddychania w odpowiedzi na dożylną iniekcję serotoniny przed (kontrola) i po wprowadzeniu blokera MDL.

	f (min^{-1})			
	0	5HT	30 s	60 s
kontrola	14.2 ± 1.2	$21.8 \pm 1.8^{***}$	$18.6 \pm 1.3^{***}$	$17.9 \pm 1.2^{**}$
MDL	13.4 ± 1.0	$13.2 \pm 0.9^{###}$	$13.2 \pm 1.1^{###}$	$13.0 \pm 0.9^{###}$

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ w porównaniu do wartości przed podaniem 5HT, ### $p < 0.001$ w stosunku do stanu przed blokadą (test Duncana); $n = 6$.

Zastosowanie MDL eliminowało bezdech poserotoninowy, w którym przed blokadą, ciśnienie obniżało się ze 106.5 ± 8.2 do 89.2 ± 12.0 mmHg ($p < 0.05$, test Duncana) i pozostawało zmniejszone do 60 s od podania 5HT. W czasie blokady receptorów, bezpośrednio po iniekcji 5HT ciśnienie ulegało nieznamiennemu podwyższeniu z wartości kontrolnej 110.2 ± 5.2 do 117.0 ± 5.2 mmHg, a po 30 s od podania serotoniny następował jego znamienny, w stosunku do wartości kontrolnych, spadek do 95.7 ± 9.0 mmHg ($p < 0.05$, test Duncana). Stan ten trwał do 60 s od iniekcji 5HT.

DYSKUSJA

W pracy starano się wykazać, jak klasyczny chemoodruch płucny, wywołany iniekcją kapsaicyny do prawego przedsionka, różni się od wieloneuronalnych odpowiedzi na tak samo podany neuroprzekaźnik, jakim jest serotonina.

W poprzednich rozdziałach omówiono szczegółowo zaobserwowane zmiany w odpowiedzi na obie substancje. W tym rozdziale natomiast, podjęta została próba całościowej interpretacji występujących w doświadczeniach zjawisk, zależnych wyjściowo od aktywacji niemielinowych włókien C nerwu błędnego w obszarze płuc, z pewnym rozgraniczeniem informacji dośrodkowej, i od udziału receptorów dla obu substancji, o nie w pełni poznanych funkcjach.

1. Wpływ nerwów krtaniowych górnych na przebieg reakcji oddechowej po podaniu serotoniny i kapsaicyny

Reakcja oddechowa na obydwie substancje była podobna w warunkach zachowania czuciowego unerwienia krtani i po jego wyeliminowaniu za pomocą przecięcia nerwów krtaniowych górnych. Ich neurotomia nie wpływała na współczynnik zahamowania wydechu w chemoodruchu wywołanym przez obie substancje (Ryc. 2, 11). Drogą dośrodkową tego odruchu jest nerw błędny, którego przecięcie znosi całkowicie odpowiedź na kapsaicynę i redukuje liczbę bezdechów wywołanych przez serotoninę.

Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi u szczurów traktowanych serotoniną, u których wagoatomia śródszyjna redukowała częstość bezdechów, a następująca po niej neurotomia nerwów krtaniowych górnych wykazywała mało znaczący wpływ (Yoshioka i wsp., 1992a).

Deaferentacja krtani w obecnej pracy nie zmieniła wartości kontrolnych objętości oddechowej i częstości oddychania, co zgodne jest z wcześniejszymi danymi uzyskanymi u królików oddychających z pominięciem krtani (Citterio i wsp., 1985; Kamosińska i Szereda-Przestaszewska, 1988). W obu stanach unerwienia podanie substancji neuroaktywnych wywoływało podobne efekty (Tabela 1, 6). Wynik ten minimalizuje udział dróg dośrodkowych z krtani w efektach oddechowych wywołanych doświadczalnie przez serotoninę i kapsaicynę. Nie można natomiast całkowicie wykluczyć ich udziału w kształtowaniu chemoodruchu. Świadczy o tym chociażby nieznamienne skrócenie czasu bezdechu poserotoninowego w wyniku przecięcia nerwów krtaniowych górnych.

W warunkach swobodnego oddychania przez krtani znajdującą się w obiegu oddechowym pobudzone są dwa typy mechanoreceptorów krtaniowych: 1) zależne od ciśnienia panującego w drogach oddechowych, 2) zmieniające aktywności w wyniku skurczu mięśni krtani lub kikuta odciętej tchawicy. Ważną rolę przypisuje się także receptorom wrażliwym na temperaturę wdychanego powietrza (Sant' Ambrogio i wsp., 1985c). Istotny element stanowi ciśnienie w nietkniętych drogach oddechowych. Podczas ujemnego ciśnienia, jakie generowane jest w zwężeniu światła górnych dróg oddechowych i panuje poniżej miejsca zwężenia, aktywowane są mięśnie górnych dróg oddechowych (Mathew i wsp., 1982). Zwiększenie aktywności ich motoneuronów, w wywołanym doświadczalnie u decerebrowanych szczurów obniżeniem ujemnego ciśnienia w górnych drogach oddechowych, było znoszone lub osłabione po przecięciu nerwów krtaniowych górnych (Paton i Nolan, 2000). Podobnie u uśpionych szczurów powyższa neurotomia znosiła odpowiedź, samo zaś ujemne ciśnienie hamowało aktywność nerwu krtaniowego górnego (Ryan i wsp., 2001).

Należy podkreślić, że zastosowana w doświadczeniach tej pracy (tak, jak w większości ostrych doświadczeń na zwierzętach) tracheostomia, wyklucza krtani z pasażu oddechowego. Podczas oddychania przez tracheostomię aktywowany jest tylko drugi typ mechanoreceptorów (Sant'Ambrogio i wsp., 1985a), a także aktywacji ulega sama krtani przez sprzężenie z aktywnością mięśni górnych dróg oddechowych (Mathew i wsp., 1984). Pominięcie krtani w pasażu oddechowym redukuje w znacznym stopniu udział jej innych receptorów w procesie oddychania.

Na podstawie danych literaturowych należy przypuszczać, że obie substancje podane do krążenia płucnego docierają do krtani w odpowiednim stężeniu, powodując pobudzenie włókien niemielinowych typu C u kota (Jammes i wsp., 1987).

Dysponując obecnymi wynikami należy rozważyć tę możliwość, biorąc pod uwagę jednak niewielką proporcję włókien niemielinowych w nerwie krtaniowym górnym (Miller i Loizzi, 1974).

Opisano zwiększenie zintegrowanej aktywności SLN w chemoodruchu wywołanym serotoniną, utrzymujące się po przecięciu nerwów krtaniowych górnych. Trudno jest jednak rozstrzygnąć, czy ten wzrost aktywności odzwierciedla wpływ serotoniny na receptory krtaniowe, czy jest następstwem stymulacji oddychania spowodowanej wzrostem aktywności mięśni krtani (Szereda-Przestaszewska i Kopczyńska, 1997).

2. Zmiany głównych parametrów oddechowych

Bezdech: długość i występowanie

W doświadczeniach wykonywanych w niniejszej pracy wzorzec chemoodruchu płucnego wywołanego za pomocą serotoniny różnił się nieco od chemoodruchu

inicjowanego podaniem kapsaicyny. Pierwsza faza chemoodruchu – bezdech – wystąpiła u wszystkich badanych zwierząt poddanych działaniu serotoniny. Kapsaicyna, natomiast nie wywoływała zatrzymania oddychania u zaledwie kilku kotów, co mogło wynikać z osobniczych różnic we wrażliwości na kapsaicynę (Jancsó i Such, 1983). Należy również podkreślić, iż przerwa w oddychaniu wywołana podaniem 5HT była średnio dłuższa niż po iniekcji kapsaicyny.

Bezdech jest czasowym zatrzymaniem oddychania w fazie wydechu. W chemoodruchu płucnym nosi on cechy bezdechu ośrodkowego (centralnego), charakteryzującego się natychmiastowym przerwaniem przepływu powietrza, z zatrzymaniem ruchów przepony, mięśni oddechowych klatki piersiowej i mięśni brzucha (Krieger, 1986). Jest ekstremalną formą niestabilności wzorca oddechowego.

W przypadku zwierząt traktowanych kapsaicyną, pojawiający się bezdech, był usuwany przez otwarcie pętli wagalnej (Ryc. 3, 4). Stanowi to klasyczną cechę chemoodruchu płucnego u większości zwierząt doświadczalnych, co zostało szeroko omówione we wstępie.

Stosując kapsaicynę w izolowanym krążeniu płucnym u psów (Green i wsp., 1984; Coast i Cassidy, 1985) udowodniono, że bezdech jest wynikiem nadmiernego pobudzenia włókien C. Wrażliwe na kapsaicynę włókna C, mające swoje zakończenia w jądrach pasma samotnego (NTS) stanowią drogę dośrodkową tego odruchu. W tych strukturach, podobnie jak w nerwie błędnym, opisano obecność receptorów waniloidowych (Szallasi i wsp., 1995). Należy przypuszczać, że silne pobudzenie włókien C inicjuje chwilowe zahamowanie aktywności neuronów oddechowych pnia mózgu i pojawienie się bezdechu. Znajduje to poparcie w badaniach na kotach (Mitra i wsp., 1985), gdzie w czasie bezdechu pokapsaicynowego u sztucznie wentylowanych zwierząt nastąpiło wyhamowanie aktywności nerwu przeponowego i podjęzykowego,

oraz nasilenie aktywności nerwu zwrotnego. Wyłączenie chemoreceptorów ośrodkowych przedłużało trwanie bezdechu, co potwierdza istotną rolę zarówno obwodowych jak i ośrodkowych struktur chemowrażliwych w wychodzeniu z bezdechu. Nasilenie aktywności nerwu zwrotnego można wiązać z opisanym w naszej pracy skurczem krtani podczas bezdechu.

W rozpatrywaniu źródeł bezdechu pokapsaicynowego należy brać pod uwagę także wyzwianie neuropeptydów przez kapsaicynę. Substancja P i neurokininy A i B, działając poprzez swoje receptory powodują skurcz mięśniówki gładkiej naczyń i dróg oddechowych. Tachykininy te znajdują się w NTS, zwojach i jądrze grzbietowym nerwu błędnego (Otsuka i Yoshioka, 1993; Maggi i wsp., 1995).

Zatem wrażliwe na kapsaicynę włókna C pośredniczą w przenoszeniu pobudzenia obu układów: receptorów waniloidowych oraz tachykinin. Pobudzenie włókien C w drogach oddechowych wydaje się mieć podwójne skutki: nie tylko aktywowania ośrodkowych łuków odruchowych, ale także miejscowych reakcji poprzez wyzwianie neuropeptydów w odruchu aksonalnym (Coleridge i Coleridge, 1994). Pozostaje do wyjaśnienia kwestia, czy zachodzi to jednocześnie. Dostępne dane literaturowe nie są w tym punkcie jednoznaczne.

W odróżnieniu od bezdechów wywołanych przez serotoninę u kota, dla kapsaicyny drogę dośrodkową stanowią nerwy błędne do poziomu zwojów guzkowych. Nieznana jest gęstość receptorów waniloidowych w zwoju guzkowym kota. Dotyczące ich dane pochodzą głównie z badań na szczurach (Szallasi i wsp., 1995). U tego właśnie zwierzęcia, o bogatym zaopatrzeniu w omawiane receptory, bezdechowa odpowiedź na kapsaicynę, obecna po otwarciu pętli wagalnej, znoszona była przez przecięcie nerwów krtaniowych górnych, jedynej w tym układzie drogi do zwojów guzkowych (Kaczyńska i Szereda-Przestaszewska, 2002).

W dyskusowaniu bezdechu pokapsaicynowego i odpowiedzi oddechowej na tę substancję należy przypomnieć, że przekracza ona barierę krew-mózg (Reid i McCulloch, 1987). Wydaje się jednak, że bezdech związany jest z wpływem ośrodkowym kapsaicyny poprzez wagalne włókna C z odcinka płucnego.

W przedstawionych doświadczeniach, obustronne przecięcie nerwów błędnych w odcinku szyjnym, wyłączała bezdech poserotoninowy u mniejszości zwierząt, a u pozostałej części tylko znamienne go skracała. Jest to zgodne z poprzednimi badaniami na kotach (Mott i Paintal, 1953; Comroe i wsp., 1953; Jacobs i Comroe, 1971). Wydaje się wskazywać, że aferentne włókna z klatki piersiowej przebiegają częściowo drogami pozawagalnymi (King i Gregg, 1948) i może potwierdzać istnienie receptorów 5HT poza klatką piersiową.

Obserwowane w tej pracy pojawianie się i czas trwania bezdechu wydechowego wywołanego serotoniną było w znacznej mierze uzależnione od zachowanej informacji czuciowej z płuc. Po podaniu serotoniny u zwierząt wagtomiczowanych, współczynnik bezdechu przekraczał jednak trzykrotnie wartości kontrolne (Ryc. 12)

Podanie egzogennej serotoniny powoduje uwalnianie jej z płytek krwi i zwiększenie koncentracji w obszarze płuc (Sadavongvivad, 1970). Małe dawki tej substancji są wychwytywane w ciągu pojedynczego pasażu przez płuca (Alabaster i Baxhale, 1970). Duże dawki serotoniny zastosowane w naszej pracy były skuteczne w wywoływaniu odpowiedzi oddechowych na serotoninę.

Działanie serotoniny w zastosowanym przez nas układzie doświadczalnym miało charakter obwodowy, ponieważ substancja ta nie przekracza bariery krew-mózg (Gillis, 1985). Serotonina pobudzając receptory, z którymi wiążą się włókna C (Kay i Armstrong, 1991), wyposażone w receptory 5 HT₃ (Azami i wsp., 1985) zwiększa ich aktywność serotonergiczną, przekazywaną drogą nerwów błędnych do jąder pęczka

samotnego w pniu mózgu. W jego strukturach związanych z ośrodkową regulacją oddychania zidentyfikowano trzy podstawowe typy receptorów: 5HT₁, 5HT₂, 5HT₃ (Haji i wsp., 2000).

Efekty ośrodkowego działania serotoniny na oddychanie są skomplikowane, a mechanizmy mało poznane. Istnieje serotonergiczna kontrola sieci oddechowej wewnątrz opuszki (Holtman, 1988; Voss i wsp., 1990; Arita i wsp., 1993), a serotonergiczne neurony kompleksu szwu wykazują stałe, modulowane oddechowo wyładowania (Lalley i wsp., 1994). Zastosowana miejscowo na neurony oddechowe opuszki powoduje głównie depresję, ale i pobudzenie aktywności (McCrimmon i Lalley, 1982; Arita i Ochiishi, 1991), zależne najprawdopodobniej od rodzaju aktywowanych receptorów (Lalley i wsp., 1995); motoneurony zaopatrujące górne drogi oddechowe ulegają zdecydowanemu pobudzeniu przez serotoninę (Kubin i wsp., 1992; Fenik i wsp., 1997).

Mechanizm bezdechu po dożylnym podaniu serotoniny, będący między innymi przedmiotem tej pracy, jest trudny do ustalenia w świetle opisanego powyżej różnorodnego działania tego neuroprzekaźnika w obrębie neuronów rdzenia przedłużonego. Nie ulega wątpliwości, że bezdech generowany jest ośrodkowo.

5HT wstrzyknięta do izolowanego naczyniowo zwoju guzkowego kota powodowała hamowanie aktywności wdechowych i pobudzenie neuronów wydechowych NTS (Sutton, 1981). U nowonarodzonych kotów bezdech wywołany był podaniem serotoniny na dno komory IV mózgu (Khater-Boidin i wsp., 1994, 1996). Obserwowano go także podczas drażnienia jądra ciemnego szwu u dorosłych kotów (Lalley i wsp., 1997).

Wykazano, iż zwiększenie biosyntezy serotoniny może wywoływać bezdech obturacyjny u nowonarodzonych szczurów. Sugeruje to, że odbiegający od normy

poziom 5HT w mózgu może być przyczyną przypadków nagłej śmierci niemowląt (Hilaire i wsp., 1993). Także dootrzewnowe podanie 5HT zwiększało częstość pojawiania się bezdechów centralnych w czasie snu REM u szczurów (Carley i Radulovacki, 1999). Bezdech po podaniu dożylnym 5HT u szczurów (Yoshioka i wsp., 1992a), podobnie jak u badanych przez nas kotów miał cechy bezdechu centralnego. W obu pracach na szczurach i w naszych doświadczeniach blokada receptorów 5HT₃ redukowała jego trwanie lub zapobiegała jego powstaniu, odpowiednio.

Nie ma jasności co do genezy bezdechu. Czy, jak wspomniano wcześniej serotonergiczna modulacja aktywności dośrodkowej w nerwie błędnym docierając do neuronów oddechowych opuszki powoduje wygaszenie stałej, wewnętrznej pobudzającej aktywności neuronów serotonergicznych jąder szwu (Holtman i wsp., 1987; Arita i wsp., 1995), mających apozycję na ciałach komórkowych motoneuronów przeponowych (Pilowsky i wsp., 1990) i jądra dwuznacznego (Arita i wsp., 1993) i wtedy pojawia się bezdech. Wówczas skutki obniżonej aktywności powodowałyby zahamowanie wyładowań nerwu przeponowego oraz zmniejszenie aktywności odwodzicieli fałdów głosowych i zamknięcie krtani, co stwierdzono w niniejszej pracy. Mikroiniekcja serotoniny lub jej agonistów do jądra dwuznacznego powodowała pobudzenie mięśnia odwodzącego fałdy głosowe (Arita i wsp., 1995), a także pobudzenie neuronów wdechowych i wydechowych (Fenik i wsp., 1997), co wskazywałoby na aktywację odwodziciela i przywodzicieli fałdów głosowych. Przeważająca liczba tych ostatnich tłumaczyłaby obserwowane przez nas zamknięcie głośni w bezdechu.

Udział serotoniny w powstawaniu bezdechu jest skomplikowany licznością jej receptorów oraz wzajemną współgrą ich pobudzenia. W niniejszej pracy wzięto pod uwagę pobudzający wpływ serotoniny na chemoreceptory ciałek szyjnych (omówiony

we wstępie), jako prawdopodobne miejsce generacji bezdechu. Obustronne przecięcie nerwów zatokowych, wykonane po uprzedniej wagotomii szyjnej, nie miało większego wpływu na reakcję po podaniu 5HT. Zaobserwowano jedynie nieznaczne skrócenie bezdechu i podobny poziom zahamowania wydechu. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi w doświadczeniach na kotach (Jacobs i Comroe, 1971; Black i wsp., 1972). Wymieniona we wstępie obecność serotoniny w tkance chemorecepcyjnej, a także jej receptorów (Dashwood i wsp., 1990) oraz skuteczność blokady zwiększonych wyładowań w nerwie zatokowym przy pomocy selektywnego antagonisty receptorów 5HT₃ u kota i szczura (Kirby i Mc Queen, 1984; Yoshioka, 1989) implikuje, że działać ona może jako mediator nerwowy w tej strukturze, jednak nie o fundamentalnym znaczeniu w procesie pobudzenia chemoreceptorów.

Jądro pasma samotnego, które bierze udział w generowaniu napędu oddechowego przez integrację sygnałów przewodzonych, między innymi, przez nerwy zatokowe, otrzymuje też informacje z układu serotonergicznego włókien wagalnych i ciał komórek nerwowych, umieszczonych w zwojach guzkowych (Higashi i Nishi, 1982). Wyniki tej pracy wykazały, że po iniekcji 5HT zarówno zwierzęta wagotomizowane jak i po przecięciu nerwów zatokowych, reprezentują podobny wzorzec oddechowy. Wystąpienie bezdechu po usunięciu dróg dośrodkowych z ciałek szyjnych, a także płytkie, szybkie oddychanie po bezdechu może być rezultatem stymulacji receptorów 5HT₃ w zwojach guzkowych (Jackson i Yakel, 1995). Tę sugestię potwierdza efekt działania antagonisty receptorów 5HT₃ – GR38032F, który zmniejsza częstość pojawiania się bezdechu poserotoninowego u szczurów (Yoshioka i wsp., 1992a).

W naszych doświadczeniach, przecięcie nerwów błędnych ponad zwojami guzkowymi, eliminowało całkowicie poserotoninowe zatrzymanie oddychania u

wszystkich doświadczalnych zwierząt, uprzednio wagotomizowanych. Współczynnik zahamowania wydechu kształtował się poniżej jedności (Ryc. 18). W rezultacie wagotomii nadguzkowej nie obserwowano efektów wentylacyjnych serotoniny (Tabela 13, 14). Całkowite usunięcie odpowiedzi oddechowej na serotoninę po odcięciu nadguzkowej drogi wagalnej potwierdza podstawową rolę zwoju guzkowego w generacji bezdechu. Z wcześniejszych prac wynika, że serotonina wywiera bezpośredni wpływ pobudzający na komórki czuciowe tego zwoju u kotów wagotomizowanych śródszyjnie (Sampson i Jaffe, 1974). Bezdech wywołany jej podaniem do izolowanego naczyniowo zwoju guzkowego, w warunkach odnerwienia kłębków szyjnych, wykluczony był przez wagotomię nadguzkową (Sutton, 1981). Należy tu nadmienić, że zwoj guzkowy kota jest bogato wyposażony w receptory 5HT₃ (Hoyer i wsp., 1989; Zhuo i wsp., 1997). Fakt, że wagotomia nadguzkowa znosi odpowiedź na serotoninę u kotów, wykazany w naszej pracy, zgodny jest z wynikami poprzednich badań na tych zwierzętach oraz na szczurach (Jacobs i Comroe, 1971; Black i wsp., 1972; Yoshioka i wsp., 1992a). Mechanizm, w który zaangażowane są receptory 5HT₃ w drogach dośrodkowych nerwu błędnego, obejmujących zwoje guzkowe, stanowi zasadnicze ogniwo powstawania odruchowego bezdechu. Odcięcie tych zwojów przerywa projekcję ośrodkową i zakłóca serotonergiczną regulację odruchów obwodowych.

Charakterystyka przywróconego po bezdechu oddychania

W wywołanym doświadczalnie przez obydwie substancje chemoodruchu płucnym przywrócone po bezdechu oddychanie charakteryzowało się obniżoną objętością oddechową (Tabela 2 – kapsaicyna; Tabela 7 – 5HT) i było znacznie przyspieszone (Tabela 3 – kapsaicyna; Tabela 8 – 5HT). Ma ono na celu

prawdopodobnie przywrócenie ustrojowi równowagi gazowej, zaburzonej w wyniku pojawienia się bezdechu. Jest to zgodne z wynikami prac przytoczonych we wstępie, dotyczących chemoodruchu po kapsaicynie u kotów, gdzie opisywany był spadek objętości oddechowej (Toh i wsp., 1955; Pórszász i wsp., 1955, 1957; Hatridge i wsp., 1989), podobnie jak to ma miejsce u psów (Clifford i wsp., 1987; McCaffrey i Kern, 1980).

Spośród niewielu prac, w których wywoływano chemoodruch przy pomocy serotoniny, zawarte w nich zapisy objętości wskazują także na jej depresję u kotów (Comroe i wsp., 1953) i szczurów (Yoshioka i wsp., 1992a). W ten sam sposób wpływała na objętość oddechową fenylodiguanidyna u kotów (Stránsky i wsp., 1973; Dały i Kirkman, 1988). Podobny wzorzec oddechowy, charakteryzujący się przyspieszeniem oddychania i obniżeniem objętości oddechowej, obserwowano podczas zatoru płucnego w doświadczeniach na królikach (Armstrong i Kay, 1990; Kay i Armstrong, 1991). Udowodniły one, że przede wszystkim serotonina jest odpowiedzialna za przyspieszenie oddychania w modelu zatoru płucnego u królika, potwierdzając hipotezy Comroe i wsp. (1953) o związku 5HT z reakcjami oddechowymi, zachodzącymi podczas zatoru płucnego (tachypnoea oraz obniżenie objętości oddechowej) u kota i człowieka. Płytkie, szybkie oddychanie z obniżoną objętością oddechową obserwuje się również w przypadkach doświadczalnego przekrwienia naczyniowego płuc u kota (Hatridge i wsp., 1989). Główną przyczyną występowania takiego wzorca oddechowego jest pobudzenie niemielinowych włókien typu C (Holmes i Remmers, 1989).

Obie badane w naszej pracy substancje stymulują receptory płucne, z których przewodzą włókna C, z tym, że kapsaicyna pobudza je w sposób selektywny. Aktywacja bodźców dośrodkowych w niemielinowych aksonach nerwu błędnego

doprowadza do odruchowych zmian motorycznego wyjścia oddechowego. Generowany jest odruch mostowo-opuszkowy polegający na przyspieszeniu oddychania i obniżeniu V_T oraz hamowania wydechu, czego ekstremalnym przejawem jest bezdech. W tym ostatnim uczestniczą motoneurony krtaniowe, powodując zwolnienie lub całkowite zatrzymanie przepływu powietrza przez głośnię (Holmes i Remmers, 1989; Schelegle i wsp., 1995). Stwierdzono to w niniejszej pracy, dokonując pomiarów oporów krtaniowych.

W naszych doświadczeniach u zwierząt nieuszkodzonych ten etap reakcji wyglądał podobnie dla obydwu użytych środków. Zmniejszenie objętości oddechowej oraz przyspieszenie oddychania były bardzo znamienne zarówno po podaniu serotoniny jak i kapsaicyny. W chemoodruchu wywołanym 5HT większą rolę w usuwaniu zaburzeń oddychania, spowodowanych jego zatrzymaniem, odgrywało przyspieszenie rytmu oddechowego. Po bezdechu pokapsaicynowym, powrót do status quo przypisać można głównie obniżeniu objętości oddechowej. Niewielkie, ale jednak widoczne różnice w przebiegu przywróconego po bezdechu oddychania mogły wynikać z różnic w długości przerwy w oddychaniu: dłuższa po podaniu 5HT i krótsza po kapsaicynie. Długi bezdech poserotoninowy wywoływał większe zaburzenia równowagi gazowej niż trwający krócej, pojawiający się po kapsaicynie. Po bezdechu wywołanym kapsaicyną, przyspieszenie oddychania ustępowało już po 30 sekundach od jej iniekcji, podczas gdy przywrócenie stanu kontrolnego sprzed podania 5HT następowało po ok. 3 min. Serotonina wydaje się być silniejszym czynnikiem wywołującym chemoodruch dzięki szerokiej dystrybucji układu serotonergicznego w organizmie kota.

Płytke, szybkie oddychanie mogą wywoływać same niskoprogowe wyładowania z włókien C, lub łagodne ich pobudzenie na fizjologicznym poziomie (Schelegle i wsp., 1995). Doświadczenia prowadzone przez Green'a i wsp. (1984) i

Schertel'a i wsp. (1986) wykazały, że bardziej fizjologiczna stymulacja włókien C, polegająca na infuzji kapsaicyny do izolowanego obiegu płucnego, wywołuje tylko płytkie, szybkie oddychanie, a bezdech doświadczalny występujący podczas chemoodruchu płucnego jest wynikiem nienaturalnej, zbyt silnej stymulacji tych włókien. Oziębienie nerwu błędnego do temperatury 0° (Pisarri i wsp., 1986) lub jego okołonerwowa blokada kapsaicyną usuwa wywołane przez nią efekty oddechowe (Hatrige i wsp., 1989).

W doświadczeniach tej pracy, obustronna wagotomia szyjna znosiła całkowicie pokapsaicynowy chemoodruch płucny. U wagotomizowanych w odcinku szyjnym zwierząt, po iniekcji 5HT, reakcja odruchowa była słabsza, lecz występowała mimo przerwania sprzężenia wagalnego z płuc.

We wzorcu oddechowym wagotomizowanych kotów z odnerwionymi ciałkami szyjnymi nadal obserwowano bezdech i przyspieszenie oddychania po podaniu serotoniny. Efektem samego przecięcia nerwów zatokowych było zmniejszenie objętości oddechowej (Tabela 11), co zgodne jest z wynikami odnerwienia ciałek szyjnych (Gautier i Bonora, 1979) i blokady lidokainowej nerwów zatokowych u kotów (Eugenin i wsp., 1989). W tych warunkach, objętość oddechowa nie ulegała zmianie po serotoninie. Wykonanie sekcji nerwów błędnych ponad zwojami guzkowymi powodowało całkowity zanik odpowiedzi na serotoninę, a więc brak bezdechu i płytkiego, szybkiego oddychania.

Należy tutaj nadmienić, że wagotomia nadguzkowa powodowała spadek objętości oddechowej (Tabela 13). Według naszej najlepszej wiedzy ten poziom neurotomii wagalnej nie stanowił punktu wyjścia do badań nad wzorcem oddechowym, a zatem nasza praca zawiera jego pierwszy opis. Odcięcie zwoju guzkowego było dotychczas sposobem eliminacji bezdechu poserotoninowego.

Zapisy kontrolne objętości oddechowej po wagotomii nadguzkowej przedstawione w dwóch pracach wykazują jej nieznaczne zwiększenie u kota (Jacobs i Comroe, 1971) i wyraźne zmniejszenie u szczura (Yoshioka i wsp., 1992a). Objętościowa i czasowa komponenty wzorca oddechowego regulowane są przez wagalne sprzężenia z płuc i aktywność struktur opuszkowo-mostowych (Sant'Ambrogio i Remmers, 1995). Wagotomia śródszyjna zwiększa objętość oddechową, tak więc obserwowana przez nas jej depresja, będąca skutkiem następowej wagotomii nadguzkowej, może wskazywać na istotną rolę informacji dośrodkowej ze zwoju guzkowego w regulacji tej komponenty wzorca oddechowego. Problem ten wymaga dalszego doświadczalnego wyjaśnienia.

Wydaje się, że istotne w regulacji wzorca oddechowego wagalne sprzężenie z płuc, przerwane w naszych doświadczeniach ponad zwojami guzkowymi, zawierającymi ciała komórkowe włókien dośrodkowych, wyłącza główny mechanizm obwodowych efektów oddechowych serotoniny.

3. Zmiany ciśnienia tętniczego krwi i zaburzenia gazometryczne podczas bezdechu

Z wcześniejszych prac wiadomo, że stymulacja niemielinowych, chemoczułych włókien typu C (zarówno serotonina jak i kapsaicyna mają zdolność aktywacji tych włókien) wywołuje przejściowe obniżenie ciśnienia tętniczego krwi (Coleridge i Coleridge, 1984), spowodowane zwolnieniem czynności serca i rozszerzeniem obwodowych naczyń krwionośnych (Coleridge i Coleridge, 1986; Lee i Pisarri, 2001). Całkowity opór układu krążenia maleje w odpowiedzi na dożylnie podanie fenyloguanidyny lub kapsaicyny do izolowanego krążenia płucnego u kotów (Daly i Kirkman, 1988) i psów (Green i wsp., 1984).

Powyższe dane są zgodne z wynikami naszych doświadczeń, w których podczas fazy bezdechu, w chemoodruchu płucnym wywołanym przez obydwie użyte do jego indukcji substancje, obserwowano znamienne spadki ciśnienia tętniczego.

Odpowiedź na kapsaicynę jest odruchem wagalnym i spadek ciśnienia znoszony jest przez wagotomię szyjną. Zjawisko wzrostu ciśnienia tętniczego krwi obserwowane w tej pracy po dożylniej iniekcji kapsaicyny u wagotomizowanych zwierząt, znajduje potwierdzenie we wcześniejszych pracach na kotach (Toh i wsp., 1955; Pórszász i wsp., 1955), psach (Coleridge i wsp., 1964; Clifford i wsp., 1987) i szczurach (Chahl i Lynch, 1987). Presyjne efekty kapsaicyny związane mogą być z bezpośrednim jej wpływem na mięśniówkę naczyń lub/i wyzwaniem neuropeptydów (Holzer, 1991). Istnieje też możliwość przewodzenia tej informacji drogami pozawagalnymi (Brender i Webb-Peploe, 1969).

W występującym nadal, ale krótszym bezdechu poserotoninowym u kotów wagotomizowanych w odcinku szyjnym, spadek ciśnienia tętniczego krwi był mniej nasilony niż przed denerwacją i krótkotrwały (Tabela 9). W wyniku przecięcia nerwów błędnych ponad zwojami guzkowymi, iniekcja 5HT wywoływała znamienne wzrosty ciśnienia tętniczego. Jest to zgodne z opisanym zniesieniem odpowiedzi hipotensyjnej na podanie 5HT do zwoju guzkowego u kotów, poddanych tej neurotomii (Sutton, 1981) i u szczurów (Yoshioka i wsp., 1992a). U tych ostatnich, podobnie, jak w naszych doświadczeniach obserwowano odpowiedź presyjną.

Istnieją też dane wskazujące, że spadek ciśnienia tętniczego po podaniu 5HT i fenyloguanidyny do tętnicy szyjnej wspólnej u kotów, poddanych wagotomii nadguzkowej, nie zanika całkowicie, jak w obecnej pracy, lecz jest tylko znacznie zredukowany (Sampson i Jaffe, 1974).

Różne odpowiedzi tensyjne na 5HT wstrzykniętą do tętnicy szyjnej wspólnej po wagotomii nadguzkowej uzyskali Jacobs i Comroe (1971). Należy podkreślić, że przy iniekcji dotętnicznej 5HT, sugerowany był udział chemo- i baroreceptorów ciałek szyjnych w kształtowaniu spadku ciśnienia tętniczego (Ginzel i Kottegoda, 1954). Niezależnie od drogi podania substancji, zwiększa ona opory w obrębie łoża naczyniowego płuc (Reid, 1952; Ginzel i Kottegoda, 1954; Dawes i Comroe, 1954) przez bezpośrednie działanie pobudzające na mięśniówkę gładką naczyń krwionośnych. To samo dotyczy mięśniówki gładkiej oskrzeli (Comroe i wsp., 1953; Coleridge i Coleridge, 1984), i mogłoby intensyfikować skurcz naczyń płucnych. Serotonina podana do perfundowanej tętnicy płatowej u kota powodowała zwiększenie ciśnienia tętniczego w tym płacie, z jednoczesnym spadkiem ciśnienia układowego (McMahon i wsp., 1993). Odpowiedź ta wydaje się być zatem niezależna od napięcia mięśniówki drzewa oskrzelowego.

Podczas bezdechu w chemoodruchu płucnym wywołanym doświadczalnie przez obydwie użyte substancje stwierdzono zmiany zawartości gazów oddechowych we krwi tętnicznej. Według naszej najlepszej wiedzy są to jedyne pomiary, jakich dokonano podczas bezdechu w chemoodruchu płucnym. U nieuszkodzonych kotów, w czasie zatrzymania oddychania wywołanego iniekcją obu substancji, następował wzrost ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla i spadek ciśnienia parcjalnego tlenu.

Zwiększenie zawartości CO₂ i spadek zawartości O₂ we krwi tętnicznej w tej fazie chemoodruchu były większe po podaniu serotoniny (Tabela 10), niż po podaniu kapsaicyny. Przypuszczalnie było to spowodowane występowaniem dłuższego, a zatem wywołującego większe zaburzenia fizjologiczne, bezdechu po podaniu 5HT. Po obustronnej wagotomii szyjnej, podczas skróconego bezdechu poserotoninowego, spadek ciśnienia parcjalnego tlenu było mniejszy niż przed neurotomią, bez retencji

dwutlenku węgla. Kapsaicyna, nie indukująca zatrzymania oddychania u wagotomizowanych zwierząt, nie zaburzała równowagi gazowej we krwi.

W doświadczeniach tej pracy zaobserwowano wprost proporcjonalną zależność między długością bezdechu a głębokością hipoksemii. Znaczna hipoksemia powstająca podczas długich bezdechów, zmniejsza wrażliwość receptorów centralnych, zwiększając wrażliwość chemoreceptorów obwodowych na wzrastającą w bezdechu zawartość CO₂ we krwi (Wolsink i wsp., 1992).

Obserwowana przez nas hipoksemia pobudza wyładowania z chemoreceptorów ciałaek szyjnych (Gonzalez i wsp., 1994; Bisgard i Neubauer, 1995). Nie oznacza to jednak zwiększenia wentylacji, dla której progami jest wzrost PaCO₂ o 5 mmHg i spadek PaO₂ do około lub poniżej 60 mmHg u kotów (Gautier, 1976). Niewykluczone, że zmiany wysycenia krwi tętniczej tlenem u naszych zwierząt, poprzez pobudzenie chemoreceptorów ciałaek szyjnych, przyspieszyły wyjście z bezdechu, jak to ma miejsce u ludzi podczas bezdechu śródsenego. Zmiany gazometryczne w naszych doświadczeniach nie miały wpływu na wentylację, bowiem we wznowionym oddychaniu zachowany został wzorzec charakterystyczny dla chemoodruchu płucnego.

4. Wpływ stosowanych substancji na opory krtaniowe

Model izolowanej krtani, zastosowany w przedstawionych doświadczeniach, pozwolił na ilościowy pomiar jej oporów u uspiętych zwierząt i analizę ich zmian w przebiegu chemoodruchu płucnego. Bezpośrednia obserwacja fałdów głosowych poprzez otwór w ścianie gardła potwierdziła we wszystkich doświadczeniach integralność unerwienia ruchowego krtani oraz nerwowo-mięśniowy charakter zmian ich zachowania w czasie stymulacji przez substancje neuroaktywne. Opór krtaniowy, mierzony w przedstawionych doświadczeniach, składał się z oporu dla przepływu

stawianego przez samą krtani. Rejestrowane wartości oporów krtaniowych różniły się pomiędzy poszczególnymi zwierzętami, niemniej jednak wzorzec ich odpowiedzi był taki sam i powtarzalny.

W doświadczeniach przeprowadzonych w niniejszej pracy średnie wartości kontrolne oporów wydechowych przewyższały wartości oporów wdechowych, co zgodne jest z wynikami eksperymentów prowadzonych na kotach i królikach (Stránský i wsp., 1973; Szereda-Przestaszewska, 1979, 1989). Pole głóśni jest bowiem większe we wdechu niż w wydechu dla tej samej objętości oddechowej (Baier i wsp., 1977).

Za fazowość zmian oporów krtaniowych podczas oddychania odpowiadają ruchy fałdów głosowych. Ich aktywne odwiedzenie podczas wdechu zwiększa, a przywiedzenie podczas wydechu zmniejsza światło głóśni, wpływając na wzorzec oddechowy u kotów (Bartlett i wsp., 1973), a także u ludzi (England i wsp., 1982).

Zwierzęta nieuszkodzone i po przecięciu nerwów krtaniowych górnych przedstawiały podobne wartości kontrolne wdechowych i wydechowych oporów krtani przed podaniem obu substancji. Zarówno u zwierząt nieuszkodzonych jak i u zwierząt z przeciętymi nerwami krtaniowymi górnymi serotonina i kapsaicyna wywoływały bezdech wydechowy, podczas którego następował bardzo znamieny przyrost ciśnienia poprzeczchawiczego. Jest to pierwszy opis skurczu krtani w chemoodruchu płucnym u kota. Znaczny wzrost oporów wydechowych jest dowodem na zamknięcie się krtani, któremu niejednokrotnie towarzyszył świst powietrza przeciskającego się przez zaciśniętą głóśnię w czasie zatrzymania oddychania.

Podobny skurcz krtani, po dożylnym podaniu fenyloguanidyny u kotów, był znoszony lub redukowany przez wago-tomię wykonaną poniżej odejścia nerwów krtaniowych zwrotnych, która wykluczała także bezdech (Stránský i wsp., 1973). Podobieństwo reakcji krtaniowej na podanie serotoniny i fenyloguanidyny może wynikać z faktu, że

ta ostatnia jest agonistą receptorów 5HT₃. Cząsteczka serotoniny różni się budową od fenylodiguanidyny będącej molekułą symetryczną (Kay i Armstrong, 1990), co może tłumaczyć odmienne efekty farmakologiczne obydwu związków. W doświadczeniach prowadzonych na kotach przez Dały'ego i Kirkmana (1988) odpowiedź oddechowa wywołana podaniem fenylodiguanidyny była całkowicie znoszona przez wagotomię szyjną, podczas gdy reakcja na 5HT zostaje po tej neurotomii zredukowana, ale nie zanika (Jacobs i Comroe, 1971; Yoshioka i wsp., 1992a).

Króliki wagotomizowane w klatce piersiowej, a więc z zachowanym ruchowym unerwieniem krtani, w odległym czasie po zabiegu, wykazywały dwukrotny wzrost oporów wydechowych po dożylnym podaniu serotoniny. Odpowiedź całkowicie zanikała po wagotomii szyjnej (Szereda-Przestaszewska, 1989). Należy tu dodać, że w konstelacji chemoodruchu poserotoninowego u tego zwierzęcia, bezdech wydechowy jest zjawiskiem rzadkim.

Podobnie, jak u badanych w tej pracy kotów, całkowite zamknięcie się krtani występuje także podczas bezdechu wywołanego dożylną iniekcją kapsaicyny u psów i ta odpowiedź jest znoszona przez wagotomię śródkiłkową (McCaffrey i Kern, 1980), blokadę płucnych aferentów wagalnych (Jammes i wsp., 1985) i wagotomię śródszyjną (Paleček i wsp., 1989). W czasie bezdechu pokapsaicynowego u tego zwierzęcia Haxhiu i wsp. (1988) obserwowali zahamowanie wyładowań odwodziciela (mięśnia pierścienno-nalewkowego tylnego), z wyraźną aktywacją przywodziciela fałdów głosowych (mięśnia tarczowo-nalewkowego), co koreluje z opisanym powyżej zwiększeniem oporów wydechowych krtani. Wagotomia wykonana na szyi znosiła pokapsaicynowy skurcz krtani u szczura, nie u wszystkich jednak zwierząt zapobiegała bezdechowi (Paleček i wsp., 1989).

W doświadczeniach nad zachowaniem się oporu krtaniowego w czasie bezdechu w chemoodruchu płucnym, wywołanym przez obie substancje, badano wpływ czuciowego odnerwienia krtani na wielkość jej oporów. Przecięcie nerwu krtaniowego górnego nie zmieniało w sposób znamieny wartości oporów kontrolnych, co zgodne jest z poprzednimi badaniami (Kamosińska i Szereda-Przestaszewska, 1988). W chemoodruchu wywołanym przez serotoninę, wzrost oporu wydechowego kształtował się na tym samym poziomie u zwierząt nieuszkodzonych i po przecięciu nerwów krtaniowych górnych.

Ponieważ serotonina nie przekracza bariery krew-mózg (Gillis, 1985), zatem podanie jej do krążenia płucnego wywołuje jej skutki obwodowe. Dostając się do krtani serotonina powodować może pobudzenie receptorów wewnętrznych mięśni krtani i wywołać na tyle silny ich skurcz, że deaferentacja, przy której odnerwieniu ulega tylko jeden mięsień pierścienno-tarczowy, nie wpływa na obniżenie ciśnienia poprzecznicowego. Opisana modulacja oddechowej aktywności nerwu krtaniowego górnego, niezależna od przepływu i ciśnienia w krtani (Mathew i wsp., 1984), przypisywana jest receptorom pobudzonym aktywnością jej mięśni i ruchami tchawicy. Ta aktywność ulega zwiększeniu przy wprowadzeniu zwiększonych w chemoodruchu oporów krtani (Sant' Ambrogio i wsp., 1985a). Wyłączenie wejścia czuciowego z krtani nie musi powodować zmniejszenia jej aktywności mięśniowej wywołanej serotoniną, zwłaszcza, że u kota informacja może być przewodzona przez nerw krtaniowy zwrotny, z podgłośniowej części krtani i jej głębszych struktur (Suzuki i Kirchner, 1969).

Nie ma danych, co do obecności receptorów serotoninowych w samej krtani. Biorąc pod uwagę jednak fakt, że istnieje obwodowy układ serotonergiczny w nerwie błędnym i zwoju guzkowym (Gaudin-Chazal i wsp., 1982; Higashi i Nishi, 1982), nie można wykluczyć jego występowania w nerwie krtaniowym górnym zważywszy, że

receptory serotoniny opisano w nerwie krtaniowym zwrotnym u kota (King i Holtman, 1990).

Nie ma pewności, czy aktywacja włókien dośrodkowych nerwu błędnego przez serotoninę zachodzi bezpośrednio przez receptory 5HT, czy wtórnie poprzez receptory, z których przewodzą włókna niemielinowe C, w obu wypadkach droga odruchowa jest taka sama. Jeśli przyjąć, że serotonina podana do krążenia płucnego pobudza włókna niemielinowe C, to drogą nerwu błędnego pobudzenie to dociera do jego zakończeń w NTS powodując aktywację motoneuronów krtaniowych w jądrze dwuznacznym, zawierających włókna serotonergiczne (Holtman, 1988) i drogą odśrodkową w nerwie zwrotnym powoduje skurcz mięśni wewnętrznych krtani. Wówczas odcięcie jej wejścia czuciowego pozostanie bez wpływu na odpowiedź skurczową.

Odpowiedź skurczowa krtani na podanie kapsaicyny do łoża naczyniowego płuc stanowi klasyczny element chemoodruchu płucnego. Doświadczenia tej pracy wykazały jej obecność także u kota. Odmiennie, niż w chemoodruchu wywołanym serotoniną, odnerwienie czuciowe krtani spowodowało znamienne niższy wzrost oporu wydechowego po podaniu kapsaicyny, w porównaniu do odpowiedzi sprzed neurotomii (Ryc.6).

Kapsaicyna podana do krążenia płucnego pobudza receptory nerwu błędnego, z których przewodzą włókna niemielinowe C, inicjując w obrębie swoich zakończeń w opuszce odruch zwiększający hamowanie przepływu wydechowego, doprowadzając do bezdechu (Holmes i Remmers, 1989). Dane, co do zawartości włókien niemielinowych w nerwie krtaniowym górnym u kota wskazują na ich niewielką proporcję (Miller i Loizzi, 1974). Z badań elektrofizjologicznych przeprowadzonych u tego zwierzęcia wynika, że pewna ich liczba aktywowana jest przez fenylodiguanydynamę (Jammes i wsp., 1987). Nie oznacza to jednak, że włókna te były wrażliwe także na kapsaicynę. Dane

doświadczalne Jancsó i Such'a (1983) wskazują na istnienie dwu różniących się chemiczną specyfiką populacji włókien niemielinowych w nerwie błędnym kota: tych wrażliwych na kapsaicynę i innych, między innymi reagujących na fenylodiguanidynę.

Pobudzenie receptorów wrażliwych na kapsaicynę w krtani, przez bezpośrednie podanie substancji na błonę śluzową u szczurów i świnek morskich wywołuje bezdech, znoszony nie u wszystkich zwierząt przez przecięcie nerwu krtaniowego górnego (Paleček i wsp., 1990; Tsubone i wsp., 1991; Hishida i wsp., 1996). Według dostępnej wiedzy literaturowej nie wykazano takich zakończeń w krtani kota. Jeśli SLN wyposażony jest w receptory wrażliwe na kapsaicynę, to ich wyłączenie w wyniku czuciowego odnerwienia krtani byłoby odpowiedzialne za obserwowane w tej pracy obniżenie oporów wydechowych krtani.

W doświadczeniach tej pracy, wznowione po bezdechu oddychanie charakteryzowało się nieznamienne podwyższonym oporem wydechowym i nie zmienionym w stosunku do kontroli oporem wdechowym. Przeprowadzenie jednostronnej wagotomii w klatce piersiowej i drugostronnej na szyi, podwyższało średnie wartości kontrolne oporów wydechowych, co jest zgodne z danymi opisanymi u kotów i królików, przy zastosowaniu obustronnej wagotomii w klatce piersiowej (Stránský i wsp., 1973; Szereda-Przestaszewska, 1979). Wartości oporów wdechowych pozostały niezmienione w stosunku do zwierząt nieuszkodzonych.

Po dokonaniu wspomnianej powyżej denerwacji, podanie użytych w doświadczeniach substancji różniło się efektem. Podobnie jak w doświadczeniach na psach (McCaffrey i Kern, 1980), iniekcja kapsaicyny nie wywoływała bezdechu u żadnego z badanych kotów. W związku z tym nie obserwowano zmian w wartościach obydwu rodzajów oporów. Przerwanie pętli wagalnej nie zapobiegało całkowicie poserotoninowemu zatrzymaniu oddychania. U części zwierząt, u których obserwowano bezdech,

neurotomia ta nie miała wpływu na pojawienie się skurczu krtani. Zwierzęta, które nie generowały bezdechu po wagotomii, reagowały na wstrzykniętą serotoninę znaczącym obniżeniem oporów wdechowych i brakiem zmian wartości oporów wydechowych. Wynik ten potwierdza odmienną dróg przewodzenia informacji o obydwu substancjach.

5. Zachowanie się mięśni oddechowych w czasie chemoodruchu płucnego

W doświadczeniach tej pracy, czasie bezdechu indukowanego przez obydwie substancje, u zwierząt nieuszkodzonych zanikała aktywność wszystkich badanych mięśni wdechowych i wydechowych, co manifestowało się zupełną ciszą elektryczną. Psy wykazywały nieco odmienny wzorzec odpowiedzi w bezdechu pokapsaicynowym, charakteryzujący się aktywnością toniczną mięśni wydechowych: poprzecznej klatki piersiowej, międzyżebrowych i brzusznych (Haxhiu i wsp., 1988; Paleček i wsp., 1989), oraz ciszą elektryczną przepony i mięśni międzyżebrowych wdechowych (Haxhiu i wsp., 1988).

Podczas obserwacji oddychania przywróconego po bezdechu wywołanym kapsaicyną, nie zauważono żadnych większych zmian aktywności mięśni wdechowych u zwierząt nieuszkodzonych (Ryc. 7). U psów, we wznowionym oddychaniu zmniejszeniu ulegała amplituda wdechowych mięśni międzyżebrowych i przepony, a także mięśni wydechowych (Haxhiu i wsp., 1988). W wymienionej wyżej pracy oraz w naszych doświadczeniach, wagotomia znosiła odpowiedź oddechową na kapsaicynę, zatem i tę motoneuronów mięśni oddechowych.

Obserwowany przez nas bezdech po serotoninie, z ciszą elektryczną w aktywności mięśni wdechowych i wydechowych zgodny jest z wynikami jedynej pracy

dotyczącej efektów tej substancji u kotów, gdzie wyhamowanie aktywności dotyczyło mięśni wdechowych i wydechowych (Schmidt i Wellhöner, 1970).

W czasie przywróconego po bezdechu oddychania zaobserwowano znamienne wzrost aktywności mięśni wdechowych: mięśnia międzyżebrowego okołomostkowego oraz przepony jedynie w przypadku indukcji chemoodruchu przy użyciu 5HT (Ryc. 13, 14). Podobnie, zwiększenie wyładowań mięśni międzyżebrowych wdechowych opisano we wznowionym oddychaniu po bezdechu serotoninowym (Schmidt i Wellhöner, 1970). Obustronna wagotomia szyjna w naszych doświadczeniach nie likwidowała tych zmian, zmniejszyła jedynie tendencję wzrostową aktywności mięśnia przeponowego (Ryc. 13). W przytoczonej powyżej pracy, wagotomia znosiła odpowiedź oddechową na serotoninę, i ten wynik w sposób niezrozumiały odbiega od uprzednio i następnie opisywanej niepełnej skuteczności wagotomii śródszyjnej w eliminacji efektów serotoniny.

Analizując wyniki niniejszej pracy należy zauważyć, iż w doświadczalnie wywołanym serotoniną oraz kapsaicyną chemoodruchu płucnym, faza przywróconego po bezdechu oddychania charakteryzowała się zwiększoną aktywnością mięśni wdechowych (Ryc. 7, 13, 14). Substancje wywoływały w tej fazie odwrotną reakcję, czyli obniżenie aktywności mięśni wydechowych, reprezentowanych przez mięsień poprzeczny klatki piersiowej oraz wewnętrzne mięśnie międzyżebrowe (Ryc. 5, 6, 15, 16), co zgodne jest z efektami kapsaicyny u psów (Haxhiu i wsp., 1988) oraz zmniejszeniem aktywności mięśni międzyżebrowych wydechowych w odpowiedzi na serotoninę u kotów (Schmidt i Wellhöner, 1970). Podkreślić natomiast należy, że wagotomia w odcinku szyjnym znosiła całkowicie odpowiedź mięśni wydechowych na kapsaicynę, podobnie jak w eksperymentach prowadzonych na psach (Haxhiu i wsp., 1988), nie zlikwidowała jednak reakcji tych mięśni w odpowiedzi na serotoninę.

Oznacza to, że główną aferentną ścieżką związaną z zanikiem aktywności mięśni podczas bezdechu pokapsaicynowego są włókna niemielinowe w nerwie błędnym.

Kontrastowe reakcje mięśni wydechowych (spadek aktywności) i mięśni wdechowych (wzrost aktywności) podczas fazy przywróconego po bezdechu oddychania w chemoodruchu płucnym, wynikają być może z odmiennych mechanizmów wdechu i wydechu. Wdech jest czynną fazą cyklu oddechowego. Aby szybko przywrócić zaburzenia, jakie wywołało w organizmie zatrzymanie oddychania w chemoodruchu, potrzebna jest wzmożona aktywność mięśni wdechowych, dzięki którym do płuc dostaje się większa ilość powietrza. Proces wydechu, opierający się częściowo na biernym wypchnięciu powietrza z płuc, angażuje mięśnie: poprzeczny klatki piersiowej i wewnętrzne międzyżebrowe (De Troyer i Ninane, 1986a). Należy przypuszczać, że zaburzenia występujące po bezdechu redukowane są szybciej, jeśli mięśnie wydechowe mają mniejszą aktywność i w ten sposób faza wdechu jest „silniejsza” od fazy wydechu, co pozwala na dostarczenie organizmowi większej ilości tlenu.

Badany w naszej pracy mięsień międzyżebrowy okołomostkowy (PIM), będący agonistą wdechowym, wykazywał zwiększoną aktywność podczas oddychania wznowionego po serotoninie. Według De Troyer'a i Sampson'a (1982) aktywność tego mięśnia podczas spokojnego oddychania u ludzi zależy od odruchowego mechanizmu ośrodkowego i nie jest związana z aktywacją mechanoreceptorów międzyżebrowych. Aktywność PIM związana jest z pracą przepony i wzrasta przy próbach wykonania wdechu za pomocą samej przepony. Zwiększenie aktywności mięśnia okołomostkowego obserwowano podczas okluzji dróg oddechowych u psów (van Lunteren i wsp., 1988d) i we wdechowej fazie kaszlu u kotów (van Lunteren i wsp., 1989a).

Rejestrowany w doświadczeniach naszej pracy, wydechowy mięsień poprzeczny klatki piersiowej, wykazuje aktywność podczas fazy wydechu u spokojnie oddychających psów (De Troyer i Ninane, 1986a; Ninane i wsp., 1986). Nie obserwowano jego wyładowań podczas wydechu u spokojnie oddychających ludzi. W przeciwieństwie do psów, u których wydech jest czynną częścią oddechu i angażuje wiele mięśni wydechowych, między innymi mięsień poprzeczny, u człowieka wydech jest pasywny a mięsień poprzeczny wykazuje aktywność w czasie wykonywania czynności wymagających wysiłku, takich jak kaszel, mówienie czy śmiech (De Troyer i wsp., 1987). Podczas kaszlu i kichania u psów opisano zwiększone wyładowania tegoż mięśnia (van Lunteren i wsp., 1988c).

Wykazane w naszej pracy przeciwne reakcje mięśni wdechowych i wydechowych w chemoodruchu płucnym potwierdzają poprzednio opisanie ich zachowanie w odpowiedzi na różne bodźce. Obniżenie aktywności mięśnia poprzecznego i wzrost aktywności przepony obserwowano w czasie hipoksji, głębokich oddechów i ujemnego ciśnienia w górnych drogach oddechowych podczas wydechu u kotów (van Lunteren i wsp., 1988a; van Lunteren i wsp., 1988b; van Lunteren i wsp., 1989b).

Ta kombinacja kontrastowych odpowiedzi mięśni wydechowego i wdechowego klatki piersiowej wywołuje zwolnienie przepływu wydechowego i zwiększa objętość płuc w końcowej fazie wydechu (van Lunteren i wsp., 1988b).

Opisany w naszych badaniach chemoodruch płucny prezentuje charakter reakcji ochronnej, charakteryzujący się bezdechem i zamknięciem światła krtani. Przytoczone powyżej dane literaturowe dotyczące zachowania się mięśni oddechowych pod wpływem stosowania obu substancji neuroaktywnych są dość ograniczone. Efekty zaś

znoszony jest przez wagotomię śródszyjną. A więc informacja docierająca do ośrodków oddechowych pnia mózgu głównie drogą nerwów błędnych wydaje się wywoływać, poprzez receptory waniloidowe umieszczone w NTS (Szallasi i wsp., 1995) lub/i wyzwalać neuropeptydów (Maggi i wsp., 1995), zmiany wyjść motoneuronów mięśni oddechowych.

Jak wspomniano we wstępie, ciała komórek zawierających serotoninę zlokalizowane w grupie dolnej jąder szwu, zaopatrują rdzeń kręgowy i opuszkę. Kontrola serotonergiczna, oprócz sieci oddechowej wewnątrz opuszki, obejmuje motoneurony mięśni międzyżebrowych (Jiang i Shen, 1985) i motoneurony nerwu przeponowego. Temu ostatniemu, jako głównemu wyjściu z ośrodków oddechowych poświęcono wiele badań. U kota stwierdzono obecność 5-HT w jądrze motorycznym tego nerwu oraz projekcje z jąder szwu: ciemnego i bladego (Holtman i wsp., 1984a; 1984b). Wykazano także, że motoneurony nerwu przeponowego u szczura i kota otrzymują połączenia synaptyczne z opuszkowo-rdzeniowych neuronów serotonergicznych, których ciała znajdują się w jądrach szwu (Zhan i wsp., 1989; Pilowsky i wsp., 1990). Stymulacja jądra ciemnego u kotów wywoływała zarówno wpływ pobudzający na motoneurony przeponowe (Holtman i wsp., 1986; 1987), jak i depresyjny (Lalley, 1986; Lalley i wsp., 1997). Oba typy odpowiedzi blokowane były przez odpowiednich antagonistów serotoniny (Holtman i wsp., 1987; Lalley, 1986).

Jak wynika z przytoczonych danych, endogenna, ośrodkowo działająca serotonina wywiera niejednoznaczny wpływ na zachowanie się motoneuronów przeponowych. Podobne rozbieżności istnieją przy zastosowaniu egzogennej serotoniny. Podana jontoforetycznie na motoneurony przeponowe kota miała niewielki wpływ pobudzający (Lalley, 1986). Natomiast mikroiniekcja do jąder nerwu przeponowego u królika zwiększała jego szczytową amplitudę (Schmid i wsp., 1990).

Dożylne wstrzyknięcie prekursora 5HT, tryptofanu, hamowało wyładowania nerwu przeponowego (McCrimmon i Lalley, 1982).

Spadek amplitudy wyładowań nerwu przeponowego i zwolnienie oddychania wywoływało zastosowanie agonistów 5HT₂ na brzuszną powierzchnię rdzenia (King i Holtman, 1990). Podana na dno komory IV u decerebrowanych kotów powodowała wzrost częstości oddychania, aktywowała mięśnie międzyżebrowe wydechowe, w niewielkim stopniu stymulując mięśnie wdechowe i pozostając bez wpływu na amplitudę przepony (Rose i wsp., 1995). Podobnie zwiększoną aktywność mięśni wydechowych przy tym samym podaniu obserwowano u nowonarodzonych kotów, ale towarzyszyło jej zwolnienie oddychania (Khater-Boidin i wsp., 1996).

Powyższe badania mają ograniczenia interpretacyjne, bowiem serotonina podana bezpośrednio na struktury nerwowe zwiększa koncentrację w płynie mózgowo-rdzeniowym, powyżej wartości fizjologicznych. Penetracja 5 HT do różnych struktur ośrodkowego układu nerwowego i aktywacja wielu typów jej receptorów, a także współdziałanie z innymi neuroprzekaźnikami przybliża, ale nie wyjaśnia w pełni mechanizmów działania.

Efekty obwodowego działania serotoniny, rejestrowane w naszych doświadczeniach we wznowionym po bezdechu oddychaniu, dotyczyły zwiększonej aktywności motoneuronów wdechowych przepony i mięśni klatki piersiowej oraz depresji wyładowań motoneuronów wydechowych. Wzorzec odpowiedzi był niezależny od informacji wagalnej z płuc. Dośrodkowe włókna niemielinowe w nerwie przeponowym i nerwach międzyżebrowych stanowią potencjalne źródło informacji dla ośrodków oddechowych pnia mózgu. Opisano pobudzenie tych włókien w nerwie przeponowym w odpowiedzi na dożylne podanie fenylodiguanidyny (agonisty

receptorów 5HT₃) u wagotomizowanych kotów, spinalizowanych na poziomie C₈ (Jammes i wsp., 1986).

Pobudzenie włókien niemielinowych stosowaną przez nas serotonina, przekazywane do ośrodków oddechowych może mieć swój udział w zmianie wyjść motorycznych do mięśni oddechowych. Istnieje też druga droga przekazywania pobudzenia przez nadguzkową część nerwu błędnego do tychże ośrodków pnia mózgu.

Trudnym do wyjaśnienia problemem jest, czy obserwowana przez nas zmiana wyjść motoneuronów oddechowych spowodowana jest docierającą informacją serotonergiczną poprzez nadguzkowy nerw błędny jak i rdzeń kręgowy do miejsc ich projekcji w opuszce, kontrolowanych przez sieć serotonergiczną. Nie do odrzucenia jest argument, że obserwowana podczas bezdechu poserotoninowego hipoksja z niewielką hiperkapnią (Tabela 10), zwiększać może wyładowania motoneuronów wdechowych i powodować zahamowanie motoneuronów wydechowych, podobnie do wyników opisanych u kotów przez Fregosi'ego i Bartlett'a (1989).

6. Blokada receptorów waniloidowych

Do blokowania receptorów waniloidowych użyto w doświadczeniach barwnika nieorganicznego - czerwieni rutenowej, uważanej za funkcjonalnego antagonistę kapsaicyny (Amann i Maggi, 1991), ale nie przejawiającego z kapsaicyną podobieństw w budowie strukturalnej (Szallasi i wsp., 1993). O tym, że receptory waniloidowe zaangażowane są w odruchy oddechowe świadczy fakt, że wykryto je w strukturach kontrolujących oddychanie takich jak: zwoje wagalne (np. guzkowy) (Helliwell i wsp., 1998), jądro pasma samotnego, zawierające zakończenia dośrodkowe nerwu błędnego (Szallasi i wsp., 1995) oraz same błony komórek układu oddechowego (Szallasi i wsp., 1993; Wood i Docherty, 1997).

Pobudzenie tych receptorów przez kapsaicynę polega na otwarciu kanałów kationowych (Dray i wsp., 1990; Szallasi, 1993; Wood i Docherty, 1997) w błonach cytoplazmatycznych neuronów czuciowych, obejmujących w większości włókna niemielinowe typu C oraz niewielką ilość włókien typu A_δ, pokrytych cienką warstwą mieliny (Griffiths i wsp., 1996; Wood i Docherty, 1997; Ma, 2002). Pobudzeniu neuronów czuciowych przez kapsaicynę towarzyszy zmniejszenie oporów błon komórkowych komórek nerwowych. Rezultatem napływu kationów do wnętrza komórek jest pobudzenie włókien aferentnych (funkcja aferentna) i uwolnienie neuromodulatorów (funkcja eferentna) (Bevan i Szolcsányi, 1990).

Antagonistyczne w stosunku do receptorów waniloidowych działanie czerwieni rutenowej polega na hamowaniu pokapsaicynowego pobudzenia neuronów czuciowych. Aktywacji neuronów towarzyszy depolaryzacja ich błon komórkowych, spowodowana zwiększeniem ich przepuszczalności, co wywołuje otwarcie kanałów jonowych selektywnie dla kationów Na⁺, K⁺ i Ca²⁺ (Wood i wsp., 1988). Czerwień rutenowa działa na błony komórkowe tych neuronów w taki sposób, że nie dopuszcza do otwarcia kanałów jonowych aktywowanych przez kapsaicynę i redukuje indukowany przez kapsaicynę napływ kationów Ca²⁺ do komórek (Dray i wsp., 1990).

Wykazano, że chemoodruch płucny, powstały u szczura po iniekcji kapsaicyny do krążenia płucnego, generowany jest poprzez aktywację receptorów waniloidowych VR1 (Lin i Lee, 2002). Należą one do typu C, będących częścią nioselektywnych kanałów kationowych, związanych z procesem napływania jonów Ca²⁺ do komórek (Lee i Lundberg, 1994; Caterina i wsp., 1997; Biro i wsp., 1998). Kapsaicyna aktywuje receptory VR1 obecne w neuronach czuciowych, wywołując napływ kationów Ca²⁺ do wnętrza komórek, a czerwień rutenowa hamuje ten proces w przypadku receptorów szczurzych (Sprague i wsp., 2001) i ludzkich (Smart i wsp., 2001)

Znajduje to potwierdzenie w wynikach niniejszej pracy, które wykazały, że blokada receptorów tą substancją była w pewnym zakresie skuteczna. Po wprowadzeniu blokera kapsaicyna nie indukowała bezdechu. Obserwowano jedynie wydłużony wydech (Ryc. 8). Współczynnik zahamowania wydechu uległ znamiennej redukcji (Ryc. 9). W oddychaniu rejestrowanym bezpośrednio po blokerze, spadek objętości oddechowej był krótkotrwały i ograniczał się tylko do momentu iniekcji kapsaicyny. Blokada receptorów waniloidowych nie skracała odpowiedzi częstotliwościowej na kapsaicynę, lecz redukowała jej wielkość w porównaniu do warunków kontrolnych.

Wydaje się zatem, że w chemoodruchu płucnym, indukowanym przez kapsaicynę, receptory waniloidowe odgrywają rolę w generowaniu bezdechu. Wykazują natomiast mniejszy wpływ na zmianę wzorca oddechowego.

Według naszej najlepszej wiedzy blokada przy użyciu czerwieni rutenu u kota, została po raz pierwszy zastosowana w doświadczeniach tej pracy. Dotychczasowe badania z RR, jako selektywnym antagonistą pobudzających skutków kapsaicyny, przeprowadzano na izolowanych płucach świnki morskiej. I tak stwierdzono, że skurcz mięśni oskrzeli wywołany infuzją kapsaicyny lub ekspozycją na dwutlenek siarki był hamowany przez czerwień rutenu (Maggi i wsp., 1989; Lou i wsp., 1991; Atzori i wsp., 1992). Substancja ta była także skuteczna w blokowaniu wyzwalań przez kapsaicynę genowo-zależnej kalcytoniny (Lou i wsp., 1991), a także wynaczyniania osocza u szczurów (Brokaw i White, 1995).

Czerwień rutenu w naszych doświadczeniach wykazywała skuteczność w blokowaniu bezdechu pokapsaicynowego. Wydaje się być najbardziej efektywna w obszarze krążenia płucnego. Znaczne zahamowanie bezdechu przy dożylnym i dokrtaniowym podaniu kapsaicyny obserwowano u szczurów (Naida i wsp., 1996), a

kompletną blokadę triady chemoodruchu, w wyniku działania RR, prezentowały wagotomizowane szczury (Kaczyńska i Szereda-Przestaszewska, 2000).

Czerwień rutenu podana do krążenia płucnego działa obwodowo, ponieważ bardzo słabo penetruje do ośrodkowego układu nerwowego (Tapia i wsp., 1976). Zatem może ona blokować waniloidowe receptory obwodowe znajdujące się na wypustkach obwodowych i zakończeniach nerwowych układu oddechowego (Wood i Docherty, 1997).

Dane literaturowe wprowadzają różne rodzaje klasyfikacji receptorów waniloidowych (Colquhoun i wsp., 1995; Griffiths i wsp., 1996; Wood i Docherty, 1997; Biro i wsp., 1998). Kwestia liczby podtypów tych receptorów pozostaje wciąż otwarta i jest przedmiotem dalszych badań (Wood i Docherty, 1997). Być może istnieją jeszcze inne, nieznanne rodzaje receptorów waniloidowych, które regulują zmiany wzorca oddechowego w chemoodruchu pokapsaicynowym, a czerwień rutenowa nie jest dla nich specyficznym blokerem.

7. Blokada receptorów serotonergicznyc

Do eksperymentów wykorzystanych w tej pracy zastosowano substancje blokujące dwa typy receptorów serotonergicznyc: 5HT₂ i 5HT₃. Receptory 5HT₂ znajdują się w mięśniówce gładkiej naczyń krwionośnych i dróg oddechowych (Hoyer i wsp., 1994; Saxena, 1995). Najbardziej aktywnym antagonistą receptorów 5HT₂ jest ketanseryna. Według jednych autorów, substancja ta blokuje wyłącznie receptory podtypu 5HT_{2A} (Bradley, 1986; Meller i wsp., 1992; McMahon i wsp., 1993; Hoyer i wsp., 1994; Borne, 1994; Saxena, 1995), według innych, ma cechy antagonistyczne także w stosunku do podtypów 5HT_{2B} i 5HT_{2C} (Sévoz-Couche i wsp., 2000a).

Substancja o nazwie MDL 72222 (tropanseryna), jest specyficznym antagonistą receptorów 5HT₃ (Fozard, 1984; Bradley, 1986; Meller i wsp., 1992; Hoyer i wsp., 1994; Saxena, 1995). Receptory typu 5HT₃ są częścią kanałów kationowych (Peters i wsp., 1992; Saxena, 1995) i występują w formie związanych z kanałami jonowymi ligandów podobnych nieco w budowie do receptorów NMDA, GABA i receptorów nikotynowych (Borne, 1994).

Jak podano we wstępie, receptory 5HT₃ umieszczone są w neuronach centralnego układu nerwowego, w baro- i chemoreceptorach, neuronach obwodowych - przed i pozazwojowych neuronach autonomicznych i czuciowych, w aksonach czuciowych nerwu błędnego (Azami i wsp., 1985; Fozard, 1990; Saxena i Villalón, 1990; Martin i Humphrey, 1994; Hoyer i wsp., 1994; Saxena, 1995).

Ze względu na miejsce występowania oraz na pełnione funkcje, w niniejszej pracy szerzej zbadano reakcje na egzogenną serotoninę, które regulowane są poprzez receptory 5HT₂ i 5HT₃. Są one zaangażowane w powstawanie bezdechu poserotoninowego u szczurów (Yoshioka i wsp., 1992a). Na udział obydwu typów receptorów w odruchach generowanych w płucach wskazuje fakt, że pobudzenie aktywności włókien aferentnych nerwu błędnego przez serotoninę jest blokowane nie tylko przez selektywną dla receptorów 5HT₃ antagonistyczną substancję GR38032F, lecz także przez selektywnego antagonistę receptorów 5HT₂ – ketanserynę (Yoshioka i wsp., 1992b).

Zastosowanie ketanseryny w naszych doświadczeniach skracało znamienne bezdech poserotoninowy (Ryc. 28), lecz nie zmieniało wzorca oddechowego następującego po zatrzymaniu oddychania (Tabela 15, 16). Skrócenie czasu trwania bezdechu po ketanserynie było zgodne z wynikami badań na szczurach, uzyskanymi przez zespół Yoshioki (1992a).

Podanie MDL 72222 zapobiegało całkowicie bezdechowi generowanemu przez 5HT (Ryc. 29) oraz szybkiemu oddychaniu, następującemu zwykle po zatrzymaniu respiracji. Stosowany przez nas MDL 72222 wykazał skuteczność w kompletnej blokadzie odpowiedzi oddechowej na 5HT, podobnie jak w zniesieniu wywołanej przez tę substancję aktywacji chemoreceptorów ciałaek szyjnych u kotów (Kirby i McQueen, 1984) i bezdechu po podaniu agonisty receptorów 5HT₃ u szczura (McQueen i wsp., 1998). Ten neuronalny bloker redukował przyspieszenie oddychania po wstrzyknięciu zatorów, antagonizował odpowiedź oddechową na dożylne podanie serotoniny, oraz blokował wywołaną przez nią stymulację wagalnych włókien C u królika (Armstrong i Kay, 1990; Kay i Armstrong, 1990; Kay i Armstrong, 1991). Wymieniony powyżej GR38032F redukował odpowiedź bezdechową u szczurów, nie znosząc jej całkowicie (Yoshioka i wsp., 1992a).

Nasze wyniki mogą sugerować, że za przebieg poszczególnych faz chemoodruchu płucnego, wywołanego doświadczalnie przez dożylne podanie serotoniny, tzn. bezdech i płytkie, szybkie oddychanie, odpowiedzialne są głównie receptory 5HT₃. W fazie samego zatrzymania oddychania biorą także udział, w mniejszym stopniu, receptory typu 5HT_{2A}. MDL 72222 przechodzi przez barierę krew/mózg (Camsonne i wsp., 1993), zatem blokuje także ośrodkowe receptory 5HT₃, mające swój udział w zmianach wzorca oddechowego, wywołanego podaniem serotoniny.

Przeprowadzony w naszych badaniach pomiar ciśnienia tętniczego wykazywał, że za jego obniżenie w czasie chemoodruchu płucnego nie są odpowiedzialne receptory 5HT₃, gdyż ich zablokowanie przy użyciu MDL 72222 nie zmieniało w żaden sposób odpowiedzi ciśnieniowej, występującej po podaniu serotoniny. Wyniki te zgodne są z

opisanym brakiem efektu tego blokera na wywołaną przez 5HT hipotensję u kotów (Kirby i McQueen, 1984).

W doświadczeniach tej pracy, po blokadzie receptorów 5HT_{2A} ketanseryną, spadek ciśnienia wywołany serotoniną utrzymywał się dłużej, niż po jej wstrzyknięciu kontrolnym. Jest to odpowiedź różna od redukcji lub zniesienia spadku ciśnienia w wyniku blokady ketanseryną (Kirby i McQueen, 1984). Obserwowany przez nas po zastosowaniu ketanseryny spadek ciśnienia wynikać może z działania 5HT poprzez układ serotonergiczny w nerwie błędnym, na inne typy receptorów, np. 5HT_{1A}, umiejscowione na brzusznej powierzchni opuszki. Ich aktywacja wywołuje hipotensję i bradykardię, blokowane przez odpowiedniego antagonistę lub wagoatomię szyjną (King i Holtman, 1990). Uzyskany przez nas wynik sugeruje, że rola receptorów typu 5HT_{2A} w odpowiedziach hipotensyjnych na serotoninę nie jest w pełni wyjaśniona. Agonista receptorów 5HT₂, podany na brzuszną powierzchnię opuszki powodował wzrost ciśnienia tętniczego, blokowany ketanseryną (King i Holtman, 1990). Ketanseryna używana jest również jako nioselektywny środek obniżający ciśnienie (Borne, 1994).

W powstawaniu odruchów depresyjnych pewną rolę odgrywają także receptory 5HT₂ obecne w jądrze pasma samotnego (NTS) (Sévoz-Couche i wsp., 2000b). Mikroiniekcja agonistów receptorów 5HT₂ do NTS wywołuje obniżenie ciśnienia tętniczego i bradykardię (Merahi i wsp., 1992) podobną do tej, którą obserwuje się podczas aktywacji sercowo-płucnych aferentów nerwu błędnego (Verbene i Guyenet, 1992). Wydaje się zatem istnieć rozbieżność między ośrodkowym a obwodowym wpływem tensyjnym receptorów 5HT₂. Ketanseryna w niewielkim stopniu przechodzi przez barierę krew-mózg (Michiels i wsp., 1988), zatem nie dezaktywuje w pełni tych receptorów w ośrodkowym układzie nerwowym. Przedłużony w czasie, obserwowany przez nas spadek ciśnienia po blokadzie może zależeć od aktywności ośrodkowych

receptorów 5HT₁ i 5HT₂, przy wyłączonych receptorach obwodowych 5HT₂ modulujących ciśnienie krwi.

Przedstawione w pracy i omówione w dyskusji wyniki odsłaniają nowe aspekty odpowiedzi oddechowych w chemoodruchu płucnym. Wykazano, że wejście czuciowe z krtani nie współuczestniczy w generowaniu bezdechu indukowanego przez obydwie substancje. W czasie zatrzymania oddychania następuje zamknięcie szpary głośni i kilkakrotny wzrost oporów wydechowych krtani, w którym w przypadku gdy bezdech wywołany jest za pomocą kapsaicyny współuczestniczy nerw krtaniowy górny. Jest to pierwszy pomiar oporów krtaniowych w chemoodruchu wywołanym przez obie substancje u kota.

Zebrano rzadko spotykane w literaturze dane o zachowaniu się wzorca aktywności mięśni oddechowych klatki piersiowej i przepony, wykazując obecność pobudzenia tego ostatniego zarówno przez kapsaicynę jak i serotoninę, niezależnie od informacji przewodzonej dośrodkowo drogą nerwu błędnego.

W poszukiwaniu dróg dośrodkowych dla indukcji bezdechu poserotoninowego u zwierząt wagotomizowanych, wykluczono udział nerwu zatokowego i potwierdzono miejsce jego generacji w zwoju guzkowym. Opisano po raz pierwszy parametry oddechowe kotów poddanych wagotomii nadguzkowej. Wykazano, że odpowiedź oddechowa na serotoninę sterowana jest przez receptory 5 HT₃, a receptory waniloidowe (kapsaicynowe) są istotne w pojawianiu się bezdechu po kapsaicynie.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1. Nerw krtaniowy górny nie bierze udziału w tworzeniu wzorca chemoodruchu płucnego, generowanego przez kapsaicynę i serotoninę. Reguluje on natomiast wzrost wydechowych oporów krtaniowych występujących w fazie bezdechu pokapsaicynowego.
2. W fazie bezdechu wydechowego skurczowi krtani towarzyszy zanik aktywności elektrycznej mięśni oddechowych klatki piersiowej oraz spadek prężności tlenu i wzrost prężności dwutlenku węgla we krwi tętniczej.
3. Następowe płytkie, szybkie oddychanie cechuje zmniejszenie aktywności mięśni wydechowych oraz zwiększenie aktywności mięśni wdechowych klatki piersiowej, które w chemoodruchu pokapsaicynowym zależy od informacji dośrodkowej przewodzonej nerwem błędnym.
4. W chemoodruchu płucnym, indukowanym przez kapsaicynę, pobudzenie receptorów waniloidowych bierze udział w generowaniu bezdechu, natomiast wpływa nieznacznie na wzorzec oddechowy.
5. Za przebieg poszczególnych faz chemoodruchu płucnego, poserotoninowego, odpowiedzialne są głównie receptory 5HT₃.
6. Opisana konstelacja chemoodruchu płucnego u kota nosi cechy reakcji ochronnej przed czynnikami szkodliwymi, dostającymi się do dróg oddechowych z krążeniem. Zatrzymanie przepływu powietrza i zahamowanie pracy mięśni oddechowych ma cechy bezdechu centralnego, obserwowanego m.in. w czasie snu u ludzi. Pewne dane wskazują na istnienie u nich skurczu krtani, podobnie do opisanego w tej pracy u kotów.

PIŚMIENICTWO

Abramovici A., Pallot D. J., Polak J. M. Immunohistochemical approach to the study of the cat carotid body. *Acta Anat.* 140: 70-74. 1991.

Agostoni E., Chinnock J. E., Daly M. B., Murray J. E. Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the heart, lungs and abdominal viscera in the cat. *J. Physiol. (London)* 135: 182 – 205. 1957.

Alabaster V. A., Baxhle Y. S. Removal of 5-hydroxytryptamine in pulmonary circulation of rat isolated lungs. *Br. J. Pharmacol.* 40: 468-482. 1970.

Amann R., Maggi C. A. Ruthenium red as a capsaicin antagonist. *Life Sci.* 49:849-856. 1991.

Arita H., Ochiishi M. Opposing effects of 5-hydroxytryptamine on two types of medullary inspiratory neurons with distinct firing patterns. *J. Neurophysiol.* 66: 285-292. 1991.

Arita H., Sakamoto M., Hirokawa Y., Okado N. Serotonin innervation patterns differ among the various medullary motoneuronal group involved in upper airway control. *Exp. Brain Res.* 95: 100-110.1993.

Arita H., Ichikawa K., Sakamoto M. Serotonergic cells in nucleus raphe palladius provide tonic drive to posterior cricoarytenoid motoneurons via 5-Hydroxytryptamine₂ receptors in cats. *Neurosci. Lett.* 197: 113-116. 1995.

Armstrong D. J., Luck J. C. A comparative study of irritant type J receptors in the cat. *Resp. Physiol.* 21: 47 – 60. 1974.

Armstrong D. J., Kay I. S. 5-hydroxytryptamine mediates the post-embolic increase in respiratory rate in anaesthetized rabbits. *Exp. Physiol.* 75: 475-481. 1990.

- Atzori L., Bannenberg G., Corrigan A. M., Lou Y-P., Lundberg J. M., Ryrfeldt Å., Moldéus P.** Sulfur Dioxide-induced bronchoconstriction via ruthenium red-sensitive activation of sensory nerves. *Respiration* 59: 272-278. 1992.
- Azami J., Fozard J. R., Round A. A., Wallis D. I.** The depolarising action of 5-hydroxytryptamine on rabbit vagal primary afferent and sympathetic neurones and its selective blockade by MDL 72222. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 328: 423 – 429. 1985.
- Baier H., Wanner A., Zanecki S., Sackner M. A.** Relationships among glottis opening, respiratory flow and upper airway resistance in humans. *J. Appl. Physiol.* 43: 603-611. 1977.
- Bartlett D. Jr., Remmers J. E., Gautier H.** Laryngeal regulation of respiratory airflow. *Resp. Physiol.* 18: 194-204. 1973.
- Bartlett D. Jr.** Effects of vagal afferents on laryngeal responses to hypercapnia and hypoxia. *Resp. Physiol.* 42: 189-198. 1980.
- Bartlett D. Jr.** Respiratory functions of the larynx. *Physiol. Rev.* 69: 33 – 57. 1989.
- Bergren D. R.** Sensory receptor activation by mediators of defense reflexes in guinea-pig lungs. *Resp. Physiol.* 108: 195-204. 1997.
- Bergren D. R., Ustinova E. E., Schultz H. D.** Pulmonary C-fiber activation before and after peptidase inhibition in rats. *Resp. Physiol.* 107: 99-109. 1997.
- Bevan J. A.** Action of lobeline and capsaicin on afferent endings in the pulmonary artery of the cat. *Circ. Res.* 10: 792-797. 1962.
- Bevan S., Szolcsányi J.** Sensory neuron-specific actions of capsaicin: mechanisms and applications. *Trends Pharmacol. Sci.* 11: 330-333. 1990.
- Biro T., Brodie C., Modarres S., Lewin N. E., Acs P., Blumberg P. M.** Specific vanilloid responses in C6 rat glioma cells. *Mol. Brain Res.* 56: 89-98. 1998.

Bisgard G. F., Mitchell R. A., Herbert D. A. Effects of dopamine, norepinephrine and 5-hydroxytryptamine on the carotid body of the dog. *Resp. Physiol.* 37: 61-80. 1979.

Bisgard G. E., Neubauer J. A. Peripheral and carotid effects of hypoxia. W: Regulation of breathing, Wyd. Dempsey J. A., Pack A. J., Marcel Dekker Inc. New York pp.617-668. 1995.

Black A. M. S., Comroe J. H. Jr, Jacobs L. Species difference in carotid body response of the cat and dog to dopamine and serotonin. *Am. J. Physiol.* 223: 1097 – 1102. 1972.

Borne R. F. Serotonin: The Neurotransmitter for the 90's. *Drug Topics*, October 10, p. 108. 1994.

Bradley P. B., Engel G., Feniuk W., Fozard J. R., Humphrey P. P., Middlemiss D. N., Mylecharane E. J., Richardson B. P., Saxena P. R. Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 25: 563-76. 1986.

Brender D., Webb-Peploe M. H. Vascular responses to stimulation of pulmonary and carotid baroreceptors by capsaicin. *Am. J. Physiol.* 217: 1837-1845. 1969.

Brokaw J. J., White G. W. Characterization of ruthenium red as an inhibitor of neurogenic inflammation in the rat trachea. *Gen. Pharmacol.* 26: 327-331. 1995.

Buczko W. The role of platelet serotonergic mechanisms in the vascular effects of some non-serotonergic receptor blockers. W: Serotonin in the central nervous system and periphery. Wyd. Takada A., Curzon G., Excerpta Medica, Elsevier, pp. 231-239. 1995.

Camsonne R., Barre L., Petit-Taboué M. C., Travère J. M., Jones R., Debruyne D., Moulin M. A., MacKenzie E. T., Baron J. C. Positron emission tomographic studies of [⁴C] MDL72222 a potential 5HT₃ receptor radioligand: distribution, kinetics and binding in the brain of baboon. *Neuropharmacology* 32: 65-71. 1993.

Carley D. W., Radulovacki M. Role of peripheral serotonin in the regulation of central sleep apneas in rats. *Chest* 115: 1397-1401. 1999.

Caterina M., Schumacher M. A., Tominaga M., Rosen T. A., Levine J. D., Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389: 816-824. 1997.

Chahl L. A., Lynch A. M. The acute effects of capsaicin on the cardiovascular system. *Acta Physiol. Hung.* 69: 413-419. 1987.

Christian E. P., Taylor G. E., Weinreich D. Serotonin increases excitability of rabbit C-fiber neurons by two distinct mechanisms. *J. Appl. Physiol.* 67: 584-591. 1989.

Ciocchio S. R., Biscardi A. M., Tramezzani J. H. 5-Hydroxytryptamine in the carotid body of the cat. *Science* 158: 790-791. 1967.

Citterio G., Mortola J. P., Agostoni E. Reflex effects on breathing of laryngeal denervation, negative pressure and SO₂ in upper airways. *Resp. Physiol.* 62: 203-215. 1985.

Clifford P. S., Litzow J. T. and Coon R. L. Pulmonary depressor reflex elicited by capsaicin in conscious intact and lung - denervated dogs. *Am. J. Physiol.* 252: R394-R397. 1987.

Coast J. R., Cassidy S. S. Diaphragmatic responses to graded stimulation of pulmonary C-fibers with capsaicin. *J. Appl. Physiol.* 59: 1487-1494. 1985.

Coleridge H.M., Coleridge J.C.G. and Kidd C. Role of the pulmonary arterial baroreceptors in the effects produced by capsaicin in the dog. *J. Physiol. (London)* 170: 272-285. 1964.

Coleridge H. M., Coleridge J. C. G., Dangel A., Kidd C, Luck J. C., Sleight P. Impulses in Slowly Conducting Vagal Fibers from Afferent Endings In the Veins, Atria and Arteries of Dogs and Cats. *Circ. Res.* 33: 87-97. 1973.

Coleridge H. M., Coleridge J. C. G. Impulse acting in afferent vagal C-fibres with endings in the intrapulmonary airways of dogs. *Resp. Physiol.* 29: 125–142. 1977.

Coleridge J. C. G., Coleridge, H. M. Afferent vagal C-fibre innervation of the lungs and airways and its functional significance. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 99: 1–110. 1984.

Coleridge H. M., Coleridge J. C. G. Reflexes evoked from tracheobromchial tree and lungs. W: *Handbook of Physiology. Sec. 3. The Respiratory System. Control of Breathing.* Część. I. Wyd. Charniack N. S., Widdicombe J. G., Am. Physiol. Soc. 2, Washington, DC pp.395 – 429. 1986.

Coleridge H. M., Coleridge J. C. G. Pulmonary reflexes: Neural mechanisms of pulmonary defense. *Annu. Rev. Physiol.* 56: 69 – 91. 1994.

Colquhoun E. Q., Eldershaw T. P. D., Bennet K. L., Hall J. L., Dora K. A., Clark M. G. Functional and metabolic evidence for two different vanilloid (VN₁ and VN₂) receptors in perfused rat hindlimb. *Life Sci.* 57: 91-102.1995.

Comroe J. H. Jr, B van Lingen, R. C. Stroud, Roncoroni A. Reflex and Direct Cardiopulmonary Effects of 5-OH-Tryptamine (Serotonin). *Am. J. Physiol.* 173: 379-386. 1953.

Comroe J. H. Jr., Mortimer L. The respiratory and cardiovascular responses of temporally separated aortic and carotid bodies to cyanide, nicotine, phenyldiguanide and serotonin. *J. Phrmacol.* 146: 33-41. 1964.

Coon R. L., Hopp F. A., Zuperku E. J. Reflex effects of stimulation of sympathetic afferents on the triangularis sterni. *Resp. Physiol.* 102: 187-194. 1995.

Daly M. B., Kirkman E. Cardiovascular responses to stimulation of pulmonary C fibres in the cat: their modulation by changes in respiration. *J. Physiol. (London)* 402: 43-63. 1988.

- Dashwood M. R., McQueen D. S., Daly M. B., Spyer K. M., Evrard Y.** Autoradiographic studies on the effects of chronic unilateral sectioning of a carotid sinus nerve on 5HT and SP binding sites in the carotid body and NTS. W: Chemoreceptors and chemoreceptor reflexes. Wyd. Acker H., Trzebski A., O'Regan R. G., Plenum Press, New York and London pp. 305-309. 1990.
- Dawes G. S., Comroe J. H. Jr.** Chemoreflexes from the heart and lungs. *Physiol. Rev.* 34: 167-201. 1954.
- Davies R. O., Kubin L.** Projection of pulmonary rapidly adapting receptors to the medulla of the cat; an antidromic mapping study. *J. Physiol. (London)* 373: 63-86. 1986.
- Davies R. O., Kubin L., Pack A. I.** Pulmonary neurons of the cat; location and contralateral medullary projections. *J. Physiol. (London)* 383: 571-585. 1987.
- Davis B., Roberts A. M., Coleridge M., Coleridge J. C. G.** Reflex tracheal gland secretion evoked by stimulation of bronchial C-fibres in dogs. *J. Appl. Physiol.* 53: 985-991. 1982.
- Decramer M., Reid M. B., De Troyer A.** Relationship between parasternal length and rib cage displacement in dogs. *J. Appl. Physiol.* 58: 1517-1520. 1985.
- De Troyer A. i Sampson M. G.** Activation of the parasternal intercostals during breathing efforts in human subjects. *J. Appl. Physiol.* 52: 524-529. 1982.
- De Troyer A., Ninane V.** Triangularis sterni: a primary muscle of breathing in the dog. *J. Appl. Physiol.* 60: 14-21. 1986a.
- De Troyer A., Ninane V.** Respiratory function of intercostal muscles in supine dog: an electromyographic study. *J. Appl. Physiol.* 60: 1692-1699. 1986b.
- De Troyer A., Ninane V., Gilmartin J. J., Lemere C., Estenne M.** Triangularis sterni muscle use in supine humans. *J. Appl. Physiol.* 62: 919-925. 1987.

- Dixon M., Jackson D. M., Richards I. M.** The effects of histamine, acetylcholine and 5-hydroxytryptamine on lung mechanics and irritant receptors in dogs. *J. Physiol. (London)* 287: 393-403. 1979.
- Douglas W. W., Toh C. C.** The respiratory stimulant action of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the dog. *J. Physiol. (London)* 120: 311-318. 1953.
- Douglas W. W., Ritchie J. M.** On excitation of non-medullated afferent fibres in the vagus and aortic nerves by pharmacological agents. *J. Physiol. (London)* 138: 31-43. 1957.
- Dray A., Forbes C. A., Burgess G. M.** Ruthenium red blocks the capsaicin-induced increase in intracellular calcium and activation of membrane currents in sensory neurones as well as the activation of peripheral nociceptors in vitro. *Neurosci. Lett.* 110: 52-59. 1990.
- Dubois F. S., Foley J. O.** Experimental studies on the vagus and spinal accessory nerves in the cat. *Anat. Rec.* 64: 285 – 308. 1936.
- Duron B., Condamin M.** Etude au microscope électronique de la composition amyélinique du nerf phrénique du chat. *CR. Soc. Biol.* 164: 577-585. 1970.
- Duron B.** Intercostal and diaphragmatic muscle endings and afferents. W: Regulation of Breathing. Część I. Wyd. Hornbein T. F., Marcel Dekker Inc., New York pp.473-540. 1981.
- England S. J., Bartlett D. Jr., Daubenspeck J. A.** Influence of human vocal cord movements on airflow and resistance during eupnea. *J. Appl. Physiol.* 52: 773-779. 1982.
- Eugenin J., Larrin C., Zapata P.** Correlative contribution of carotid and aortic afferents to the ventilatory chemosensory drive in steady-state normoxia and to the

ventilatory chemoreflexes induced by transient hypoxia. *Arch. Biol. Med. Exp.* 22: 395-408. 1989.

Fastier F. N., McDowall M. A., Waal H. Pharmacological properties of phenyl-diguanide and other amidine derivatives in relation to those of 5-hydroxytryptamine. *Br. J. Pharmacol.* 14: 527-535. 1959.

Fenik V., Kubin L., Okabe S., Pack A. I., Davies K. O. Differential sensitivity of laryngeal and pharyngeal motoneurons to iontophoretic application of serotonin. *Neuroscience* 81: 873-885. 1997.

Flecknell P. A. *Laboratory Animal Anaesthesia.* Academic Press Ltd. pp. 136-143. 1992.

Forsberg K., Karlsson J. A., Theodorsson E., Lundberg J. M., Persson C. G. A. Cough and bronchoconstriction mediated by capsaicin – sensitive sensory neurons in the guinea – pig. *Pulmon. Pharmacol.* 1: 33 – 39. 1988.

Fozard J. R. Neuronal 5-HT receptors in the periphery. *Neuropharmacology* 23: 1473-86. 1984.

Fozard J. R. Agonists and antagonists of 5HT₃ receptors. W: *Cardiovascular Pharmacology of 5-Hydroxytryptamine: Prospective Therapeutic Applications.* Wyd. Saxena P. R., Wallis D. I., Wouters W., Bevan P., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 101-115. 1990.

Fregosi R. F., Bartlett D. Jr. Internal intercostal nerve discharges in the cat: influence of chemical stimuli. *J. Appl. Physiol.* 66: 687-694. 1989.

Gaudin-Chazal G., Seyfritz N., Arameda S., Vigier D., Puizillout J. J. Selective retrograde transport of ³H-serotonin in vagal afferents. *Brain Res. Bull.* 8: 503-509. 1982.

- Gautier H.** Pattern of breathing during hypoxia or hypercapnia of the awake or anaesthetized cat. *Resp. Physiol.* 27: 193-206. 1976.
- Gautier H., Bonora M.** Effects of carotid body denervation on respiratory pattern of awake cats. *J. Appl. Physiol.* 46: 1127-1131. 1979.
- Gautier H.** Effects of chronic administration of pentobarbital in low doses on control of breathing in the cat. *Resp. Physiol.* 64: 307-316. 1986.
- Ginzel G. H., Kottegoda S. R.** The action of 5-hydroxytryptamine and tryptamine on aortic and carotid sinus receptors in the cat. *J. Physiol. (London)* 123: 277-288. 1954.
- Gillis C. N.** Peripheral metabolism of serotonin. W: Serotonin and cardiovascular system. *Wyd. Vanhoutte P. M., Raven Press, New York* pp. 27-36. 1985.
- Gonzalez C., Almaraz L., Obeso A., Rignal R.** Carotid body chemoreceptors: from neural stimuli to sensory discharges. *Physiol. Rev.* 74: 829-898. 1994.
- Green J. F., Schmidt N. D., Schultz H. D., Roberts A. M., Coleridge H. M., Coleridge, J. C. G.** Pulmonary C-fibres evoke both apnoea and tachypnea of pulmonary chemoreflex. *J. Appl. Physiol.* 57: 562- 567. 1984.
- Griffiths C. D., Eldershaw T. P. D., Geraghty D. P. Hall J. I. and Coloquhoun E. Q.** Capsaicin-induced biphasic oxygen uptake in rat muscle antagonism by capsazepine and ruthenium red provides further evidence for peripheral vanilloid receptor subtypes (VN1/VN2). *Life Sci.* 59: 105-117. 1996.
- Haji A., Takeda R., Okazaki M.** Neuropharmacology of control of respiratory rhythm and pattern in mature mammals. *Pharmacol. Ther.* 86: 277-304. 2000.
- Hatridge J., Haji A., Perez-Padilla J. R., Remmers J. E.** Rapid shallow breathing caused by pulmonary vascular congestion in cats. *J. Appl. Physiol.* 67: 2257-2264. 1989.

Haxhiu M. A., Lunteren van E., Graaf van de W. B., Strohl K. P., Bruce E. N., Mitra Y., Charniack N. S. Action of nicotine on the respiratory activity of the diaphragm and genioglossus muscles and nerves that innervate them. *Resp. Physiol.* 57: 153-169. 1984.

Haxhiu, M. A., Lunteren van, E., Deal, E. C., Charniack, N. S. Effect of stimulation of pulmonary C-fiber receptors on canine respiratory muscles. *J. Appl. Physiol.* 65: 1087-1092. 1988.

Helliwell R. J. A., McLatchie L. M., Clarke M., Winter J., Bevan S., McIntyre P. Capsaicin sensitivity is associated with the expression of the vanilloid (capsaicin) receptor (VR₁)mRNA in adult rat sensory ganglia. *Neurosci. Lett.* 250: 177-180. 1998.

Higashi S., Nishi, S. 5-hydroxytryptamine receptors of visceral primary afferent neurones in rabbit nodose ganglia. *J. Physiol. (London)* 323: 543-567. 1982.

Hilaire G., Morin D., Lajard A. M., Monteau R. Changes in serotonin metabolism may elicit obstructive apnoea in the newborn rat. *J. Physiol. (London)* 466: 367-382. 1993.

Hishida N., Tsubone H., Sekizawa S., Sugano S. Cardiopulmonary responses to capsaicin instillation to the laryngeal lumen and their reflex mechanism in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 58: 761-767. 1996.

Ho C-Y., Gu O., Lin Y. S., Lee L-Y. Sensitivity of vagal afferent endings to chemical irritants in the rat. *Resp. Physiol.* 127: 113-124. 2001.

Holmes H. R., Remmers J. E. Stimulation of vagal C-fibers alters timing and distribution of respiratory motor output in cats. *J. Appl. Physiol.* 67: 2249-2256. 1989.

Holtman J. R. Jr., Norman W. P., Gillis R. A. Projections from the raphe nuclei to the phrenic motor nucleus in the cat. *Neurosci. Lett.* 44: 105-111. 1984a.

- Holtman J. R. Jr., Norman W. P., Skirboll L., Dretchen K. L., Cuello C., Visser T. J., Hökfelt T., Gillis R.** Evidence for 5-hydroxytryptamine, substance P, and thyrotropin-releasing hormone in neurons innervating the phrenic motor nucleus. *J. Neurosci.* 4: 1064-1071. 1984b.
- Holtman J. R. Jr., Dick T. E., Berger A. J.** Involvement of serotonin in the excitation of phrenic motoneurons evoked by stimulation of the raphe obscurus. *J. Neurosci.* 6: 1185-1193. 1986.
- Holtman J. R. Jr., Dick T. E., Berger A. J.** Serotonin-mediated excitation of laryngeal and phrenic motoneurons evoked by stimulation of the raphe obscurus. *Brain Res.* 417: 12-20. 1987.
- Holtman J. R. Jr.** Immunohistochemical localization of serotonin- and substance P-containing fibres around respiratory muscle motoneurons in the nucleus ambiguus of the cat. *Neuroscience* 26: 169-178. 1988.
- Holzer P.** Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience* 24: 739-768. 1988.
- Holzer P.** Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* 43: 143-201. 1991.
- Horner R. L.** Impact of brainstem sleep mechanisms on pharyngeal motor control. *Resp. Physiol.* 119: 113-121. 2000.
- Hoyer D., Waeber C., Karpf A., Neijt H., Palacios J. M.** [³H] ICS 205-930 labels 5HT₃ recognition sites in membranes of cat and rabbit vagus nerve and superior cervical ganglion. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 340: 396-402. 1989.
- Hoyer D., Clarke D.E., Fozard J. R., Hartig P. R., Martin G. R., Mylecharane E. J., Saxena P. R., Humphrey P. A.** VII. International Union of Pharmacology

Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol. Rev.* 46: 157-203. 1994.

Jackson M. B., Yakel J. L. The 5HT₃ receptor channel. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 447-468. 1995.

Jacobs L., Comroe J. H. Jr. Reflex apnea, bradycardia, and hypotension produced by serotonin and phenyldiguanide acting on the nodose ganglia of the cat. *Circ. Research* 29: 145-155. 1971.

Jacobs B. L., Azmitia E. C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol. Rev.* 72: 165-229. 1992.

Jammes Y., Fornais E., Mei N., Barrat E. Afferent and efferent components of the bronchial vagal branches in cats. *J. Autonom. Nerv. Sys.* 5: 165-176. 1982.

Jammes Y., Davies A., Widdicombe J. G. Tracheobronchial and laryngeal responses to hypercapnia, histamine and capsaicin in dogs. *Bull. Eur. Physiopatol. Respir.* 21: 515-520. 1985.

Jammes Y., Buchler B., Delpierre S., Rasidakis A., Grimaud Ch., Russos Ch. Phrenic afferents and their role in inspiratory control. *J. Appl. Physiol.* 60: 854-860. 1986.

Jammes Y., Nail B., Mei N., Grimaud Ch. Laryngeal afferents activated by phenyldiguanide and their response to cold air or helium oxygen. *Resp. Physiol.* 67: 379-389. 1987.

Jammes Y. Tonic sensory pathways of the respiratory system. *Eur. Respir. J.* 1: 176-183. 1988.

Jammes Y., Speck D. F. Respiratory control by diaphragmte and respiratory muscle afferents. *W: Regulation of Breathing Vol. 79.* Wyd. Dempsey J. A., Pack A. I., Marcel Dekker Inc., New York pp. 543-583. 1995.

- Jancsó G., Such G.** Effects of capsaicin applied perineurally to the vagus nerve on cardiovascular and respiratory functions in the cat. *J. Physiol. (London)* 341: 350–370. 1983.
- Jiang Z. H., Shen E.** Synaptic conduction between monoaminergic terminals and intercostal respiratory motoneurons in cats. *Acta Physiol. Sin.* 37: 479-485. 1985.
- Kaczyńska K., Szereda-Przestaszewska M.** Respiratory effects of capsaicin occur beyond the lung vagi in anaesthetized rats. *Acta Neurobiol. Exp.* 60: 159-165. 2000.
- Kaczyńska K., Szereda-Przestaszewska M.** Superior laryngeal nerve section abolishes capsaicin evoked chemoreflex in anaesthetized rats. *Acta Neurobiol. Exp.* 62: 19-24. 2002.
- Kamosińska B., Szereda-Przestaszewska M.** Effect of the larynx on ventilation and respiratory pattern in anaesthetized rabbits. *Res. Exp. Med.* 188: 49-57. 1988.
- Karlsson J. A., Sant’Ambrogio G., Widdicombe J. G.** Afferent neural pathways in cough and reflex bronchoconstriction. *J. Appl. Physiol.* 65: 1007–1023. 1988.
- Kaufman M. P., Iwamoto G. A., Longhurst J. C., Mitchell J. H.** Effects of capsaicin and bradykinin on afferent fibres with endings in skeletal muscle. *Circ. Res.* 51: 133–139. 1982.
- Kay I. S., Armstrong D. J.** Phenylbiguanide not phenyldiguanide is used to evoke the pulmonary chemoreflex in anaesthetized rabbits. *Exp. Physiol.* 75: 383-389. 1990.
- Kay I. S., Armstrong D. J.** MDL 72222 (a selective 5-HT₃ receptor antagonist) prevents stimulation of intrapulmonary C fibres by pulmonary embolization in anaesthetized rabbits. *Exp. Physiol.* 76: 213-218. 1991.
- Khater-Boidin J., Wallois F., Toussaint P., Duron B.** Nonvagal reflex apnea in the newborn kitten and during the early postnatal period. *Biol. Neonate* 65: 41-50. 1994.

Khater-Boidin J., Rose D., Duron B. Central effects of 5HT on activity of respiratory and hypoglossally innervated muscles in newborn kittens. *J. Physiol. (London)* 495.1: 255-265. 1996.

King B. T., Gregg R. L. An anatomical reason for the various behaviours of paralysed vocal cords. *Ann. Otol. Rhinol. Lar.* 57: 925-944. 1948.

King K. A., Holtman J. R. Characterization of the effects of activation of ventral medullary serotonin receptor subtypes on cardiovascular activity and respiratory motor outflow to the diaphragm and larynx. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252(2): 665-674. 1990.

Kirby G. C., McQueen D. S. Effects of the antagonists MDL 72222 and ketanserin on responses of cat carotid body chemoreceptors to 5-hydroxytryptamine. *Br. J. Pharmacol.* 83: 259-269. 1984.

Korpaš J., Tomori Z. Protection and defence mechanisms of the respiratory system. W: Cough and other respiratory reflexes. *Progress in respiration research*. Vol. 12. Wyd. Herzog H., Basel pp.1-12. 1979.

Krieger J. Les syndromes d'apnées du sommeil de l'adulte. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 22: 147-189. 1986.

Kubin L., Davies R. O. Sites of termination and relay of pulmonary rapidly adapting receptors as studied by spike – triggered averaging. *Brain Res.* 443: 215-221. 1988.

Kubin L., Kimura H., Davies R. O. The medullary projections of afferent bronchopulmonary C-fibres in the cat as shown by antidromic mapping. *J. Physiol. (London)* 435: 207-228. 1991.

Kubin L., Tojima H., Davies K. O., Pack A. I. Serotonergic excitatory drive to hypoglossal motoneurons in the decerebrate cat. *Neurosci. Lett.* 139: 243-248. 1992.

Lalley P. M. Serotonergic and non-serotonergic responses of phrenic motoneurons to raphe stimulation in the cat. *J. Physiol. (London)* 380: 373-385. 1986.

- Lalley P. M., Bischoff A. M., Richter D. W.** 5HT-1A receptor-mediated modulation of medullary expiratory neurons in the cat. *J. Physiol. (London)* 476.1: 117-130. 1994.
- Lalley P. M., Bischoff A. M., Schwarzacher S. W., Richter D. W.** 5HT₂ receptor-controlled modulation of medullary respiratory neurones in the cat. *J. Physiol. (London)* 487.3: 653-661. 1995.
- Lalley P. M., Benačka R., Bischoff A. M., Richter D. W.** Nucleus raphe obscurus evokes 5-HT-1A receptor-mediated modulation of respiratory neurones. *Brain Res.* 747: 156-159. 1997.
- Lawson E. E.** Prolonged central inspiratory inhibition following reflex-induced apnoea. *J. Appl. Physiol.* 50: 874-879. 1981.
- Le Bars P., Duron B.** Are the external and internal intercostal muscles synergist or antagonist in the cat? *Neurosci. Lett.* 51: 383-386. 1984.
- Lee L.-Y., Lundberg J. M.** Capsazepine abolishes pulmonary chemoreflex induced by capsaicin in anaesthetized rats. *J. Appl. Physiol.* 76: 1848-1855. 1994.
- Lee L.-Y., Pisarri T. E.** Afferent properties and reflex functions of bronchopulmonary C-fibres. *Resp. Physiol.* 125: 47-65. 2001.
- Lin Y. S., Lee L.-Y.** Stimulation of pulmonary vagal C-fibers by anandamide in anaesthetized rats: role of vanilloid type 1 receptors. *J. Physiol. (London)* 539.3: 947-955. 2002.
- Lou Y. P., Karlsson J. A., Franco-Cereceda A., Lundberg J. M.** Selectivity of ruthenium red in inhibiting bronchoconstriction and CGRP release induced by afferent C-fibre activation in the guinea-pig lung. *Acta Physiol. Scand.* 142: 191-199. 1991.
- Lucier G. E., Egizzi R., Dostrovsky J. O.** Projections of the internal branch of the superior laryngeal nerve in the cat. *Brain. Res.* 16: 713-721. 1986.

- Lundberg J. M., Bradin E., Saria A.** Effects and distribution of vagal capsaicin-sensitive substance P neurons with special reference to the trachea and lungs. *Acta Physiol. Scand.* 119: 243–252. 1983.
- Lundberg J. M., Saria A.** Capsaicin – induced desensitization of the airway mucosa to cigarette smoke, mechanical and chemical irritants. *Nature.* 302: 251 – 253. 1983.
- Lundberg J. M., Saria A.** Polipeptide – containing neurons in airway smooth muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 49: 557 – 572. 1987.
- Lunteren van E., Cherniack N. S., Dick T. E.** Upper airway pressure receptors alter expiratory muscle EMG and motor unit firing. *J. Appl. Physiol.* 65: 210-217. 1988a.
- Lunteren van E., Prabhakar N. R., Cherniack N. S., Haxhiu M. A., Dick T. E.** Inhibition of expiratory muscle EMG and motor unit activity during augmented breaths in cats. *Resp. Physiol.* 72: 303-314. 1988b.
- Lunteren van E., Haxhiu M. A., Cherniack N. S., Arnold J. S.** Role of triangularis sterni during coughing and sneezing in dogs. *J. Appl. Physiol.* 65: 2440-2445. 1988c.
- Lunteren van E., Arnold J. S., Cherniack N. S.** Vagal influences on parasternal intercostal muscle inspiratory shortening during hypercapnia and airway occlusion. *Resp. Physiol.* 71: 201-212. 1988d.
- Lunteren van E., Daniels R., Deal E. C. Jr., Haxhiu M. A.** Role of costal and crural diaphragm and parasternal intercostals during coughing in cats. *J. Appl. Physiol.* 66: 135-141. 1989a.
- Lunteren van E., Martin R. J., Haxhiu M. A., Carlo W. A.** Diaphragm, genioglossus and triangularis sterni responses to poikilocapnic hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 67: 2303-2310. 1989b.
- Ma Q.-P.** Expression of capsaicin receptor (VR1) by myelinated primary afferent neurons in rats. *Neurosci. Lett.* 319:87-90. 2002.

- Maggi C. A., Pataccini R., Santicioli S., Del Bianco E., Geppetti P., Meli A.** The efferent function of capsaicin sensitive nerves: ruthenium red discriminates between different mechanisms of activation. *Eur. J. Pharmacol.* 170: 167-177. 1989.
- Maggi C. A., Giachetti A., Dey R. D., Said S. I.** Neuropeptides as regulators of airway function: vasoactive intestinal peptide and the tachykinins. *Physiol. Rev.* 75: 277-321. 1995.
- Makara G. B., György L., Molnár J.** Circulatory and respiratory responses to capsaicin. 5-hydroxytryptamine and histamine in rats pretreated with capsaicin. *Arch. int. Pharmacodyn.* 170: 39 – 45. 1967.
- Martin G. L., Humphrey P. P. A.** Classification review. Receptors for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. *Neuropharmacol.* 33: 261-273. 1994.
- Mathew O. P., Abu-Osba Y. K., Thach B. T.** Influence of upper airway pressure changes on respiratory frequency. *Resp. Physiol.* 49: 223-233. 1982.
- Mathew O. P., Sant’Ambrogio G., Fisher J. T., Sant’Ambrogio F. B.** Respiratory afferent activity in the superior laryngeal nerves. *Resp. Physiol.* 58: 41-50. 1984.
- McCrimmon D. R., Lalley P. M.** Inhibition of respiratory neural discharges by clonidine and 5-hydroxytryptophan. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 222: 771-777. 1982.
- McCrimmon D. R., Mitchell G. S., Dekin M. S.** Glutamate, GABA, and serotonin in ventilatory control. *W: Regulation of Breathing, Vol. 79.* Wyd. Dempsey J., Pack A. I., Marcel Dekker Inc., New York pp. 151-218. 1995.
- McCaffrey T. V., Kern E. B.** Laryngeal regulation of airway resistance. *Ann. Otol. Rhinol. Lar.* 89: 462-466. 1980.
- McCubbin J. W., Green J. H., Salmoiraghi G. G., Page I. H.** The chemoreceptor stimulant action of serotonin in dogs. *Pharmacol. Exp. Ther.* 116: 191-197. 1956.

McMahon T. J., Hood J. S., Nossman B. D. and Kadowitz P. J. Analysis of responses to serotonin in the pulmonary vascular bed of the cat. *J. Appl. Physiol.* 75: 93-102. 1993.

McQueen D. S., Dashwood M. R., Spyer K. M., Daly M. B. Identification of 5HT receptors associated with central and peripheral projections of cat carotid chemoreceptor afferents. Abstracts of the XXXII Congress of IUPS, Glasgow, 283.1/P. 1993.

McQueen D. S., Bond S. M., Moores C., Chessell I., Humphrey P. P. A., Dowd E. Activation of P2X receptors for adenosine triphosphate evokes cardiorespiratory reflex in anaesthetized rats. *J. Physiol. (London)* 507.3: 843-855. 1998.

Mei N., Condamin M., Boyer A. The composition of the vagus nerve of the cat. *Cell Tissue Res.* 209: 423 – 431. 1980.

Meller S. T., Lewis S. J., Ness T. J., Brody M. J., Gebhart G. F. Vagal afferent-mediated inhibition of a nociceptive reflex by intravenous serotonin in the rat. I Characterization. *Brain Res.* 524: 90 – 100. 1990.

Meller S. T., Lewis S. J., Brody M. J. and Gebhart G. F. Vagal afferent-mediated inhibition of nociceptive reflex by i.v. serotonin in the rat. II. Role of 5-HT receptor subtypes. *Brain Res.* 585: 71-86. 1992.

Merahi N., Orer H. S., Laguzzi R. 5-HT₂ receptors in the nucleus tractus solitarius: characterization and role in cardiovascular regulation in the rat. *Brain Res.* 575: 74-78. 1992.

Michiels M., Monbaliu J., Meuldermans W., Hendriks R., Geerts R., Woestenborghs R., Heykants J. Pharmacokinetics and tissue distribution of ketanserin in rat, rabbit and dog. *Arzneimittelforschung* 38: 775-784. 1988.

Miller A. J., Loizzi R. F. Anatomical and functional differentiation of superior laryngeal nerve fibres affecting swallowing and respiration. *Exp. Neurol.* 42: 369 – 387. 1974.

Mitchell H. W., Tomlin J., Ward R. J. Reflex changes in respiration and heart rate evoked by intravenous and left ventricular injection of 5HT and capsaicin in anaesthetized rats: a comparison of mechanism. *Lung* 162: 153-163. 1984.

Mitra J., Prabhakar N. R., Haxhiu M. A., Cherniack N. S. The effects of hypercapnia and cooling the ventral medullary surface on capsaicin induced respiratory reflexes. *Resp Physiol.* 60: 377-385. 1985.

Mott J. C., Paintal A. S. The action of 5-hydroxytryptamine on pulmonary and cardiovascular vagal afferent fibres and its reflex respiratory effects. *Br. J. Pharmacol.* 8: 238-241. 1953.

Naida A. M., Ghosh T. K., Mathew O. P. Airway protective reflexes elicited by laryngeal ammonia: role of C-fiber afferents. *Resp. Physiol.* 103: 11 – 17. 1996.

Ninane V., Decramer M., De Troyer A. Coupling between triangularis sterni and parasternals during breathing in dogs. *J. Appl. Physiol.* 61: 539-544. 1986.

Nishi K. The action of 5-hydroxytryptamine on chemoreceptor discharges of the cat's carotid body. *Br. J. Pharmacol.* 55: 27 – 40. 1975.

Otsuka M., Yoshioka K. Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins. *Physiol Rev.* 73: 229-308. 1993.

Paintal A. S. Mechanism of stimulation of type J pulmonary receptors. *J. Physiol.* (London) 203: 511-532. 1969.

Paleček F., Sant'Ambrogio G., Sant'Ambrogio F. B., Mathew O. P. Reflex responses to capsaicin: intravenous, aerosol and intratracheal administration. *J. Appl. Physiol.* 67: 1428 – 1437. 1989.

- Paleček F., Mathew O. P., Sant'Ambrogio F. B., Sant'Ambrogio G.** Cardiorespiratory responses to inhaled laryngeal irritants. *Inhal. Toxicol.* 2: 93-104. 1990.
- Paton J. F. R., Nolan P. J.** Similarities in reflex control of laryngeal and cardiac vagal motor neurones. *Resp. Physiol.* 119:101-111. 2000.
- Peters J. A., Malone H. M., Lambert J. J.** Recent advances in the electrophysiological characterization of 5HT₃ receptors. *TiPS* 13: 391-397. 1992.
- Pilowsky P. M., de Castro D., Llewellyn-Smith I., Lipski J., Voss M. D.** Serotonin immunoreactive boutons make synapses with feline phrenic motoneurons. *J. Neurosci.* 10: 1091-1098. 1990.
- Pisarri T. E., Yu J., Coleridge H. M., Coleridge J. C. G.** Background activity in pulmonary vagal C-fibers and its effects on breathing. *Resp. Physiol.* 64: 29-43. 1986.
- Pórszász J., György L., Pórszász-Gibisz K.** Cardiovascular and respiratory effects of capsaicin. *Acta Physiol. Hung.* 8: 61-76. 1955.
- Pórszász J., Such G., Pórszász-Gibisz K.** Circulatory and respiratory chemoreflexes I. Analysis of the site of action and receptor types of capsaicin. *Acta. Physiol. Hung.* 12: 189 – 205. 1957.
- Reid G.** Circulatory effects of 5-hydroxytryptamine. *J. Physiol. (London)* 118: 435-453. 1952.
- Reid J., McCulloch J.** Capsaicin and blood-brain barrier permeability. *Neurosci. Lett.* 81: 165-170. 1987.
- Revelette W. R., Jewell L. A., Frazier D. T.** Effect of diaphragm small fibre stimulation on ventilation in dogs. *J. Appl. Physiol.* 65: 2007-2106. 1988.
- Robertson B., Bevan S.** Properties of 5-hydroxytryptamine₃ receptor-gated currents in adult rat dorsal root ganglion neurones. *Br. J. Pharmacol.* 102: 272-6. 1991.

- Rose D., Khater-Boidin J., Toussaint P., Duron B.** Central effects of 5HT on respiratory and hypoglossal activities in the adult cat. *Resp. Physiol.* 101: 59-69. 1995.
- Ryan S., Mc Nicholas W. T., O'Rayan R. G., Nolan P.** Reflex respiratory response to changes in upper airway pressure in the anaesthetized rat. *J. Physiol. (London)* 537.1: 251-265. 2001.
- Sadavongvivad Ch.** Pharmacological significance of biogenic amines in the lungs: 5hydroxytryptamine. *Br. J. Pharmacol.* 38: 353-365. 1970.
- Sampson S. R., Jaffe R. A.** Excitatory effects of 5-Hydroxytryptamine, veratridine and phenyl diguanide on sensory ganglion cells of the nodose ganglion of the cat. *Life Sci.* 15: 2157-2165. 1974.
- Sant'Ambrogio G., Mathew O. P., Fisher J. T., Sant'Ambrogio F. B.** Laryngeal receptors responding to transmural pressure, airflow and local muscle activity. *Resp. Physiol.* 54: 317- 330. 1983.
- Sant'Ambrogio F. B., Mathew O. P., Clark W. O., Sant'Ambrogio G.** Laryngeal influences on breathing pattern and posterior cricoarytenoid muscle activity. *J. Appl. Physiol.* 58: 1298-1304. 1985a.
- Sant'Ambrogio G., Mathew O. P., Sant'Ambrogio F. B.** Role of intrinsic muscles and tracheal motion in modulating laryngeal receptors. *Respir. Physiol.* 61: 289-300. 1985b.
- Sant'Ambrogio G., Remmers J.** Reflex influences acting on the respiratory muscles of the chest wall. *W: The Thorax.* Wyd. Roussos C., Maclem P. T., M. Dekker, New York, Basel pp. 531-594. 1985.
- Sant'Ambrogio G., Mathew O. P.** Laryngeal receptors and their reflex responses. *W: Clinics in Chest Medicin Vol. 7, 12,* pp.211-222. 1986.
- Sant'Ambrogio G.** Nervous receptors of the tracheobronchial tree. *Ann. Rev. Physiol.* 49: 11 - 27. 1987.

Sant'Ambrogio G., Sant'Ambrogio F. B. Reflexes from the upper airway, lungs, chest wall and limbs. W: The Lung. Wyd. Cristal R. G., West J. B., Lippincott – Raven Publishers, Philadelphia pp. 1805–1819. 1997.

Sant'Ambrogio G., Widdicombe J. G. Reflexes from rapidly adapting receptors. *Resp. Physiol.* 125: 33–45. 2001.

Saxena P. R., Villalón C. M. Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists. *J. Cardiovasc. Pharmac.* 15: S17-S34. 1990.

Saxena P. R. Serotonin receptors: subtypes, functional responses and therapeutic relevance. *Pharmac. Ther.* 66: 339-68. 1995.

Schelegle E. S., Mansor J. K., Green J. F. Influence of background vagal C-fiber activity on eupneic breathing pattern in anaesthetized dogs. *J. Appl. Physiol.* 79: 600-606. 1995.

Schelegle E. S., Green J. F. An overview of the anatomy and physiology of slowly adapting pulmonary stretch receptors. *Resp. Physiol.* 125: 17–31. 2001.

Schertel E. R., Adams L., Schneider D. A., Smith K. S., Green J. F. Rapid shallow breathing evoked by capsaicin from isolated pulmonary circulation. *J. Appl. Physiol.* 61: 1237-1240. 1986.

Schmid K., Bohuer G., Merkelbach S. Serotonergic control of phrenic motoneuronal activity at the level of the spinal cord of the rabbit. *Neurosci. Lett.* 116: 204-209. 1990.

Schmidt T., Wellhöner H. H. The reflex influence of a group of slowly conducting vagal afferents on α and γ discharges in cat intercostal nerves. *Pflügers Arch.* 318: 332-345. 1970.

Schneider J. A., Yonkman F. F. Action of serotonin (5HT) on vagal afferent impulses in the cat. *Am. J. Physiol.* 174: 127-134. 1953.

- Segu L., Gaudin-Chazal G., Seyfritz N., Puizillout J. J.** A serotonergic system in the nodose ganglia of the cat: radiographic studies. *J. Physiol. (Paris)* 77: 187-189. 1981.
- Sévoz-Couche C., Spyer K. M., Jordan D.** In vivo modulation of vagal-identified dorsal medullary neurones by activation of different 5-Hydroxytryptamine₂ receptors in rats. *Br. J. Pharmacol.* 131: 1445-1453. 2000a.
- Sévoz-Couche C., Wang Y., Ramage A. G., Jordan D.** Modulation of neurones in the nucleus tractus solitarius (NTS) of the rat by 5HT₂ receptors. *Neuropharmacology* 39: 2006-2016. 2000b.
- Skaburskis M., Shardonowsky F., Milic-Emili J.** Effect of serotonin on expiratory pulmonary resistance in cats. *J. Appl. Physiol.* 68: 2419-2425. 1990.
- Smart D., Jerman J. C., Gunthorpe M. J., Brough S. J., Ranson J., Cairns W., Hayes P. D., Randall A. D., Davis J. B.** Characterisation using FLIPR of human vanilloid VR1 receptor pharmacology. *Eur. J. Pharmacol.* 417: 51-58. 2001.
- Solway J., Leff, A. R.** Sensory neuropeptides and airway function. *J. Appl. Physiol.* 71: 2077-2087. 1991.
- Spannhake E. W., Levin J. L., Mellion B. T., Gruetter C. A., Hyman A. L., Kadowitz P. J.** Reversal of 5HT-induced bronchoconstriction by PGI₂: distribution of central and peripheral actions. *J. Appl. Physiol.* 49: 521-527. 1980.
- Sprague J., Harrison C., Rowbotham D. J., Smart D., Lambert D. G.** Temperature-dependent activation of recombinant rat vanilloid VR1 receptors expressed in HEK293 cells by capsaicin and anandamide. *Eur. J. Pharmacol.* 423: 121-125. 2001.
- Stránský A., Szereda-Przestaszewska M., Widdicombe J. G.** The effects of lung reflexes on laryngeal resistance and motoneurone discharge. *J. Physiol. (London)* 231:417-438. 1973.

Sutton P. M. I. The interaction between reflex apnea and bradycardia produced by injecting 5-HT into the nodose ganglion of the cat. *Pflügers Arch.* 389: 181-187. 1981.

Suzuki M., Kirchner J. A. Sensory neurones in the recurrent laryngeal nerve. *Am. Otol. Rhinol. Lar.* 78: 21-31. 1969.

Szallasi A. The vanilloid (capsaicin) receptor: receptor types and species differences. *Gen. Pharmacol.* 25: 223-243. 1993.

Szallasi A., Goso C., Blumberg P. M., Manzini S. Competitive inhibition by capsazepine of [³H] resiniferatoxin binding to central (spinal cord and dorsal root ganglia) and peripheral (urinary bladder and airways) vanilloid (capsaicin) receptors in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 267: 728-733. 1993.

Szallasi A., Nillsson S., Forkas-Szallasi T., Blumberg P. M., Hökfelt T., Lundberg J. M. Vanilloid (capsaicin) receptors in the rat: distribution in the brain, regional differences in the spinal cord, axonal transport to the periphery, and depletion by systemic vanilloid treatment. *Brain Res.* 703: 175-183. 1995.

Szereda-Przestaszewska M. Laryngeal effects of serotonin in rabbits. *Acta Neurobiol. Exp.* 39: 241-248. 1979.

Szereda-Przestaszewska M. Effects of serotonin on laryngeal resistance and respiratory timing in lung denervated rabbits. *Mat. Med. Pol.* 72: 297-300. 1989.

Szereda-Przestaszewska M., Jakuš J., Stránský A., Baráni H. Characteristics of augmented breaths provoked by almitrine bismesylate in cats. *Exp. Physiol.* 77: 109-117. 1992.

Szereda-Przestaszewska M., Wypych B. Effects of vagal and laryngeal afferents on apnoeic response to serotonin in cats. *Resp. Physiol.* 101: 231-237. 1995.

Szereda-Przestaszewska M., Kopczyńska B. Action of serotonin on the laryngeal airway in anaesthetized cats. *Acta Neurobiol. Exp.* 57: 209-216. 1997.

- Tapia R., Meza-Ruiz G., Duran L., Drucker-Colin R. R.** Convulsions or flaccid paralysis induced by ruthenium red depending on route of administration. *Brain Res.* 116: 101-9. 1976.
- Tatar M., Webber S. E., Widdicombe J. G.** Lung C-fibre receptor activation and defensive reflexes in anaesthetized cats. *J. Physiol. (London)* 402: 411-420. 1988.
- Toh C. C., Lee T. S., Kiang A. K.** The pharmacological actions of capsaicin and analogues. *Br. J. Pharmacol.* 10: 175. 1955.
- Tsubone H., Sant'Ambrogio G., Anderson J. W., Orani G. P.** Laryngeal afferent activity and reflexes in the guinea pig. *Resp. Physiol.* 86: 215 – 231. 1991.
- Verbene A. J. M., Guyenet P. G.** Medullary pathway of the Bezold-Jarisch reflex in the rat. *Am. J. Physiol.* 263: R1195-R1202. 1992.
- Vliet Van B. N., Uenishi M.** Antagonistic interaction of laryngeal and central chemoreceptor respiratory reflexes. *J. Appl. Physiol.* 72: 643-649. 1992.
- Voss M. D., De Castro D., Lipski J., Pilowsky P. M., Jiang C.** Serotonin immunoreactive boutons from close appositions with respiratory neurons of the dorsal respiratory group in the cat. *J. Comp. Neurol.* 295: 208-218. 1990.
- Wallis D. I., North R. A.** The action of 5-hydroxytryptamine on single neurones of the rabbit superior cervical ganglion. *Neuropharmacology* 17: 1023-1028. 1978.
- Wallis D. I.** Neuronal 5-hydroxytryptamine receptors outside the central nervous system. *Life Sci.* 29: 2345-2355. 1981.
- Wallis D. I., Stansfeld C. E., Nash H. L.** Depolarizing responses recorded from nodose ganglion cells of the rabbit evoked by 5-hydroxytryptamine and other substances. *Neuropharmacology* 21: 31 – 40. 1982.
- Widdicombe J. G.** Nervous receptors in the respiratory tract and lungs. W: Lung biology in health and disease. Wyd. Dekker M., Hornbein, London pp. 429–472. 1981.

- Widdicombe J. G.** Reflexes from the upper respiratory tract. W: Handbook of Physiology, Section 3: The respiratory system, Vol. II. Control of Breathing, Part I. Wyd. Cherniack N. S., Widdicombe J. G., Betesda M. D., Am. Physiol. Soc. pp. 363–394. 1986.
- Wolsink J. G., Berkenbosch A., DeGoede J., Olivier C. N.** The effects of hypoxia on the ventilatory response to sudden changes in CO₂ in newborn piglets. *J. Physiol.* (London) 456: 39-48. 1992.
- Wood J. N., Winter J., James I. F., Rang H. P., Yeats J., Bevan S.** Capsaicin-induced ion fluxes in dorsal root ganglion cells in culture. *J. Neurosci.* 8: 3208-3220. 1988.
- Wood J. N., Docherty R.** Chemical activators of sensory neurons. *Annu. Rev. Physiol.* 59: 417 – 482. 1997.
- Yoshioka M.** Effect of novel 5-hydroxytryptamine 3 – antagonist, GR38032F, on the 5-hydroxytryptamine – induced increase in carotid sinus nerve activity in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 250: 637–641. 1989.
- Yoshioka M., Goda T., Togashi H., Matsumoto M., Saito H.** Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine-induced apnoea in the rat. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 260: 917-924. 1992a.
- Yoshioka M., Ikeda T., Abe M., Togashi H, Minami M., Saito H.** Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine-induced excitation of afferent cervical vagus nerve in anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.* 106: 544-549. 1992b.
- Zapata P., Zuazo A.** Respiratory effects of dopamine-induced inhibition of chemosensory inflow. *Resp. Physiol.* 40: 79-92. 1980.

Zhan W. Z., Ellenberger H. H., Feldman J. L. Monoaminergic and gabaergic terminations in phrenic nucleus of rat identified by immunohistochemical labelling. *Neuroscience* 31: 105-113. 1989.

Zhuo H., Ichikawa H., Helke C. J. Neurochemistry of the nodose ganglion. *Progress in Neurobiology*. 52: 79-107. 1997.

STRESZCZENIE

Celem podjętych badań było określenie udziału dróg dośrodkowych z płuc i krtani w odpowiedziach oddechowych chemoodruchu płucnego: pojawiającym się bezdechu wydechowym i we wznowionym oddychaniu, ze szczególnym uwzględnieniem aktywności mięśni oddechowych krtani, klatki piersiowej i przepony.

Doświadczenia przeprowadzono na spontanicznie oddychających kotach, w znieczuleniu pentobarbitalowo-chloralozowym.

Wypreparowywano: nerwy błędne, przeponowy, krtaniowe górne, zatokowe, mięśnie wdechowe i wydechowe klatki piersiowej, wyizolowywano krtąń.

Rejestrowano: parametry wentylacyjne, ciśnienie tętnicze krwi, aktywność nerwu przeponowego, aktywności mięśni klatki piersiowej, ciśnienie poprzecznicowe.

Dokonywano tego w warunkach kontrolnych oraz po podaniu dożylnym kapsaicyny i serotoniny:

a) u zwierząt nieuszkodzonych

b) po neurotomiiach :	1. nn. krtaniowych górnych	kapsaicyna	serotonina
	2. nn. błędnych na szyi		
	3. nn. zatokowych		
	4. nn. błędnych ponad zwojami guzkowymi		

Wykazano:

Wejście czuciowe z krtani nie współuczestniczy w generowaniu bezdechu; eliminacja zaś płucnych pni nerwów błędnych znosi całkowicie chemoodruch pokapsaicynowy i redukuje odpowiedź na serotoninę.

W czasie bezdechu wydechowego następuje zamknięcie światła i wzrost oporów wydechowych krtani, wyraźnie zredukowany przez przecięcie nerwów krtaniowych górnych, w przypadku, gdy bezdech wywołany był za pomocą kapsaicyny.

Wyraźnej stymulacji motoneuronów wydechowych krtani w bezdechu towarzyszy zahamowanie aktywności mięśni oddechowych klatki piersiowej i przepony, a we wznowionym oddychaniu wyraźne obniżenie oporów krtaniowych i aktywacja mięśni wdechowych klatki piersiowej i przepony.

W odpowiedzi bezdechowej na serotoninę u zwierząt wagotomizowanych nie współuczestniczą ciałka szyjne. Jest ona generowana w zwojach guzkowych nerwu błędnego.

Blokada receptorów 5HT₃ znosi całkowicie odpowiedź oddechową na serotoninę, natomiast zablokowanie receptorów waniloidowych (kapsaicynowych) eliminuje wywołany przez nią bezdech.

Wagotomia śródszyjna jest punktem różnicującym efekty oddechowe kapsaicyny i serotoniny. Droga odruchowa tej ostatniej angażuje nerw błędny do poziomu zwoju guzkowego.