

Dublet 25162

Wiktor A. Janczewski



ZS 162

H3111

**AKTYWNOŚĆ ODDECHOWA PO ROZSZCZEPIENIU PNIA MÓZGU
- ROLA SKRZYŻOWANYCH POŁĄCZEŃ NEURONALNYCH**

Praca na stopień doktora nauk przyrodniczych wykonana
pod kierunkiem

Prof. dr hab. n. med. Witolda A. Karczewskiego

Zakład Neurofizjologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Polskiej Akademii Nauk

Warszawa 1991

Pracą tą pragnę uczcić pamięć mojej **M a t k i**, która rozbudziła
we mnie zamiłowanie do fizjologii i pracy eksperymentalnej.

Serdecznie dziękuję

Panu Prof. dr hab. med. **Witoldowi A. Karczewskiemu**
za inspirację naukową, **możliwość** wspólnej pracy eksperymentalnej oraz
wiele cennych dyskusji.

SPIS TREŚCI:

Spis rycin	7
Zestawienie użytych skrótów	9
1. WSTĘP	10
1.1 Funkcjonalne cechy generatora oddychania.	10
1.2 Lokalizacja neuronów oddechowych pnia mózgu.	12
1.3 Koncepcje mechanizmów zmiany faz oddechowych.	17
1.4 Wpływ rozszczepienia pnia mózgu na oddychanie.	26
1.5 Różnice gatunkowe w efektach oddechowych cięć w linii pośrodkowej.	37
1.6 Generacja aktywności periodycznej w wydzielonych fragmentach ośrodkowego układu nerwowego.	40
1.7 Inflacyjny odruch Breuera–Heringa i odruchy krtaniowe.	44
1.8 Funkcjonalne konsekwencje podwojenia struktur generujących wzorzec oddychania.	47
1.9 Model rozszczepionego pnia mózgu jako narzędzie do badania funkcji szlaków opuszkowo–rdzeniowych skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego.	51
2. CEL PRACY	55
3. MATERIAŁ I METODA	59
3.1 Ogólne przygotowanie preparatu.	59
3.2 Rejestracja aktywności nerwowej i stymulacja elektryczna nerwów.	61
3.3 Przygotowanie preparatu rozszczepionego pnia mózgu.	62
3.4 Cięcia pnia mózgu i rdzenia kręgowego.	63
3.5 Rejestracje zewnątrzkomórkowe i blokady neuronów oddechowych po rozszczepieniu pnia mózgu.	65

3.6	Hemisekcje, transekcje i blokady farmakologiczne na poziomie pnia mózgu i rdzenia kręgowego.	66
3.7	Analiza aktywności nerwów oddechowych.	68
3.7.1	Analiza zależności pomiędzy aktywnością lewego i prawego nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu.	70
3.8	Metody wywoływania odruchów z płuc i krtani	72
3.9	Metodyka badań symetrii odpowiedzi nerwów twarzowych podjęzykowych i przeponowego na jednostronny bodziec wagalny.....	72
3.9.1	Analiza symetrii odpowiedzi.	73
3.10	Badania histologiczne.	74
4.	Wyniki	75
4.1	Warunki uzyskania desynchronizacji aktywności nerwów oddechowych u królika.	75
4.2	Warunki uzyskania desynchronizacji aktywności nerwów oddechowych u kota.	78
4.3	Porównanie wzorca oddechowego przed i po rozszczepieniu pnia mózgu.	80
4.4	Odruchy oddechowe w preparacie rozszczepionego pnia mózgu.	87
4.5	Fluktuacje amplitudy jako dowód sprzężenia między subgeneratorami rytmu oddechowego za pośrednictwem połączeń neuronalnych skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego.	91
4.6	Pobudzenia skrzyżowane.	102
4.7	Fluktuacje czasu trwania fazy wydechu i wdechu jako dowód sprzężenia między subgeneratorami rytmu oddechowego za pośrednictwem połączeń neuronalnych skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego.	105
4.8	Minimalny substrat neuronalny niezbędny do generacji rytmu oddechowego.	114
4.9	Funkcjonalne konsekwencje podwojenia struktur generujących rytm oddychania.	117

5. DYSKUSJA	122
5.1 Rozszczepiony pień mózgu – wnioski ogólne.	122
5.2 Struktura i lokalizacja generatora rytmu oddechowego – wnioski z badań nad oddechowymi efektami rozszczepienia pnia mózgu.	127
5.3. Przyczyny spadku amplitudy po cięciach w linii pośrodkowej pnia mózgu.	134
5.3.1 Przerwanie połączeń między neuronami przed- ruchowymi i neuronami ruchowymi.	135
5.3.2 Spadek tonicznego pobudzenia sieci neuronów oddechowych pnia mózgu.	140
5.3.3 Uszkodzenie neuronów w pobliżu cięcia.	145
5.4 Rola szlaków skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego w pobudzaniu jąder nerwu przeponowego.	147
5.5 Skrzyżowane hamowanie.	156
5.6 Integracja na neuronach ruchowych przepony wpływów pobudzających i hamujących ze strony neuronów opuszkowych – propozycja modelu.	163
5.7 Fluktuacja czasu trwania wdechu i wydechu – hipoteza o wpływie informacji zwrotnej o aktywności motoneuronów przepony na częstość rytmu oddechowego.	169
5.8. Asymetria odpowiedzi na jednostronny bodziec wagalny jako dowód funkcjonalnego rozdzielania struktur przetwarzających informację aferentną i kształtujących amplitudę nerwów oddechowych po lewej i prawej stronie ciała.	175
6. Wnioski.	180
7. Streszczenie.	182
8. Piśmiennictwo.	191
8.1 Indeks cytowanych autorów.	206

SPIS RYCIN :

Ryc. 1.1	Lokalizacja najważniejszych grup neuronów oddechowych.	13
Ryc. 1.2	Schemat brzusznej powierzchni pnia mózgu z zaznaczonym jądrem zatrapezoidalnym.	16
Ryc. 1.3	Odpowiedź oddechowa na CO ₂ w warunkach fizjologicznych i patologicznych.	24
Ryc. 1.4	Wpływ poziomu tonicznego pobudzenia neuronu na jego odpowiedź na pobudzenie fazowe.	24
Ryc. 1.5	Układ nerwowy robaka płaskiego wirka (<i>Turbellaria</i>) i pierścienic (<i>Annelioida</i>).	47
Ryc. 1.6	Próba wyjaśnienia przyczyn obustronnej aktywności nerwu przeponowego pomimo jednostronnego przzerwania pobudzających szlaków zstępujących.	52
Ryc. 3.1	Lokalizacja (u królika na poziomie C3) aksonów neuronów oddechowych zstępujących z vl-NTS do jąder nerwu przeponowego.	67
Ryc. 3.2	Metodyka pomiaru parametrów wzorca oddechowego z neurogramów nerwu przeponowego.	69
Ryc. 4.1	Zmiana aktywności synchronicznej na zdesynchronizowaną w czasie rozszczepiania pnia mózgu.	77
Ryc. 4.2	Porównanie częstości występowania salw nerwu przeponowego po lewej i prawej stronie ciała po rozszczepieniu pnia mózgu.	81
Ryc. 4.3A	Histogram prawdopodobieństwa pojawienia się salwy wdechowej nerwu przeponowego w określonej części cyklu strony przeciwnej.	84
Ryc. 4.3B	Gęstość prawdopodobieństwa rozpoczęcia się salwy w określonym momencie cyklu strony przeciwnej.	84
Ryc. 4.4	Porównanie parametrów wzorca oddechowego przed i po rozszczepieniu pnia mózgu królików.	85
Ryc. 4.5	Wpływ inflacyjnego odruchu Breuera-Heringa na aktywność lewego i prawego nerwu przeponowego.	89
Ryc. 4.6	Aktywność lewego i prawego nerwu przeponowego oraz nerwu twarzowego u kota po rozszczepieniu pnia mózgu.	90
Ryc. 4.7A	Różne typy salw nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu u królika.	91
Ryc. 4.7B	Porównanie różnych typów salw nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu u królika.	92
Ryc. 4.8	Wykres zależności amplitudy nerwu przeponowego od czasu jej wystąpienia w ramach cyklu aktywności strony przeciwnej.	94
Ryc. 4.9	Wpływ hemisekcji rdzenia szyjnego na aktywność nerwów przeponowych.	96

Ryc. 4.10	Aktywność nerwów przeponowych po rozszczepieniu pnia mózgu oraz segmentów C4–C6 rdzenia szyjnego.	98
Ryc. 4.11	Jednoczesne, obustronne zapisy aktywności gałązek C4 i C5–6 po rozszczepieniu pnia mózgu oraz segmentu C4 i rostralnej 1/3 segmentu C5 rdzenia szyjnego.	99
Ryc. 4.12	Związki czasów i amplitud w salwach częściowo pokrywających się.	101
Ryc. 4.13	Przykład salw skrzyżowanych nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu i hemisekcji lewej strony opuszki.	104
Ryc. 4.14	Histogram czasów trwania wydechu przed i po cięciu w linii pośrodkowej u królika.	107
Ryc. 4.15	Fluktuacje czasu trwania wdechu i wydechu w preparacie rozszczepionego pnia mózgu.	109
Ryc. 4.16	Aktywność neuronu wdechowego opuszki i nerwów przeponowych po rozszczepieniu pnia mózgu	112
Ryc. 4.17	Aktywność neuronu wczesnowdechowego opuszki pobudzanego przez wstępujące włókna rdzeniowo–opuszkowe.	113
Ryc. 4.18	Generacja rytmu oddechowego w połowie opuszki odseparowanej od pnia mózgu .	116
Ryc. 4.19	Asymetryczne zmiany aktywności nerwu podjęzykowego w wyniku rozciągnięcia (inflacji) płuc po jednostronnej wagotomii u kota.	118
Ryc. 4.20	Asymetria odpowiedzi nerwów twarzowych na jednostronną stymulację nerwu błędnego.	120
Ryc. 4.21	Różnica w odpowiedzi lewego względem prawego nerwu przeponowego na jednostronną stymulację nerwu błędnego u królika.	120
Ryc. 5.1	Schemat dotychczas wykrytych śródopuszkowych i rdzeniowych projekcji aksonalnych neuronów oddechowych.	130
Ryc. 5.2	Salwy częściowo pokrywające się po rozszczepieniu pnia mózgu.	157
Ryc. 5.3	Model oddziaływań synaptycznych na neurony ruchowe przepony wyjaśniający fluktuacje amplitudy.	165
Ryc. 5.4	Schemat jąder nerwu przeponowego na poziomie C4 oraz C5–6. Model oddziaływań na te jądra ze strony opuszkowo rdzeniowych szlaków ipsilateralnych i skrzyżowanych.	166
Ryc. 5.5.	Schemat połączeń neuronalnych odpowiedzialnych za fluktuacje czasu T_E i T_I po rozszczepieniu pnia mózgu.	172

SKRÓTY UŻYWANE W PRACY:

BGO –	brzuszna grupa oddechowa
BotC –	kompleks Botzingera
C1, C2, etc.	odpowiednio pierwszy drugi i dalsze segmenty szyjnego rdzenia kręgowego
EMG –	elektromiogram
f –	$60/(T_I + T_E)$ cykli/min – ilość oddechów na minutę
$F_{ET}CO_2$ –	cząstkowe końcowo wydechowe stężenie dwutlenku węgla
GGO –	grzbietowa grupa oddechowa
HRP –	peroksydaza chrzanowa (od ang. horseradish peroxidase)
im-NTS –	pośrodkowe podjądro pasma samotnego
I n.Ph –	zintegrowana aktywność nerwu przeponowego
n. –	nerw
n.Ph –	nerw przeponowy
n.V, n.VII, n.IX, n.X, n.XII –	odpowiednio nerwy trójdzielny, twarzowy, językowo-gardłowy, błędny, podjęzykowy
NPB-KF –	jądra okołoramienne mostu i jądro Kolliker-Fuse
OUN –	ośrodkowy układ nerwowy
$PaCO_2$ –	ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla we krwi tętniczej
PaO_2 –	ciśnienie parcjalne tlenu we krwi tętniczej
pH –	ujemny logarytm ze stężenia jonów wodorowych
PSR –	wolno adaptujące się mechanoreceptory płuc (od ang. slowly adapting pulmonary stretch receptors)
T_I –	faza wdechu lub czas trwania wdechu
T_E –	faza wydechu lub czas trwania wydechu
vl-NTS –	brzuszo-boczne podjądro pasma samotnego

POZAUKŁADOWE JEDNOSTKI CIŚNIENIA

Paskal (skrót Pa) = 1 N/m^2

Tor (skr. Tr). $1 \text{ Tr} = 1 \text{ mmHg} = 133.322 \text{ Paskali}$

$1 \text{ cmH}_2\text{O} = 0.98 \text{ Paskala}$

WSTĘP

1.1 Funkcjonalne cechy generatora oddychania.

Sieć neuronów kontrolująca oddychanie automatyczne znajduje się w pniu mózgu. Funkcją tej sieci jest:

- A) Generowanie rytmu, w takt którego następują cyklicznie skurcz i rozkurcz mięśni oddechowych;
- B) Pobudzanie w odpowiedniej sekwencji i w określonej fazie cyklu oddechowego nerwów zaopatrujących poszczególne grupy mięśni oddechowych (tj. przeponę, mięśnie klatki piersiowej, mięśnie brzucha, mięśnie górnych dróg oddechowych, mięśniówkę gładką dróg oddechowych);
- C) Dopasowanie siły i częstości skurczów poszczególnych grup mięśni oddechowych do wymogów homeostatycznych określonych przez poziom PaCO_2 , PaO_2 i równowagę kwasowo-zasadową;
- D) Dostosowanie ruchów oddechowych do wymogów innych układów homeostatycznych, takich jak układ krążenia [Feldman i Ellenberger – 1988, Koepchen – 1983] czy układ termoregulacji oraz skoordynowanie oddychania z innymi czynnościami ruchowymi [Feldman i Grillner – 1983]. Taka koordynacja umożliwia wykonywanie funkcji o chwilowo wyższym priorytecie czynnościowym jak: mowa [Bunn i Mead – 1971 Phillipson i wsp. – 1978], żucie i przełykanie pokarmu [Luschei i Goldberg, 1982, Miller, 1982], ssanie [Harding i Titchen, 1981], wymiotowanie [Miller i wsp. – 1987]. Koordynacja oddechowo-ruchowa umożliwia optymalizację pracy różnych grup mięśniowych klatki piersiowej i brzucha, które oprócz funkcji oddechowych zaangażowane są jednocześnie w utrzymanie postawy ciała i proces lokomocji [Bramble i Carrier – 1983, Massion i wsp. – 1960, Massion – 1976].

Z wykonaniem każdej z wymienionych funkcji związana jest pewna pula neuronów oddechowych. Są to:

- I. Neurony generujące rytm. Sterują one procesami przełączania jednej fazy oddechowej w drugą, a tym samym czasem trwania wdechu i wydechu.

II. Neurony kontrolujące czasoprzestrzenny wzorzec aktywacji mięśni oddechowych tj. siłę i sekwencję, w jakiej pobudzane są kolejne grupy mięśni oddechowych. Do tego typu zalicza się:

- a) neurony przedruchowe (tzw. upper motoneurons lub premotoneurons) pobudzające neurony ruchowe;
- b) neurony ruchowe przepony, mięśni klatki piersiowej i brzucha – czyli mięśni wymuszających przepływ powietrza do płuc i z płuc;
- c) neurony ruchowe mięśni szkieletowych zapewniających sztywność i drożność górnych dróg oddechowych oraz regulujące opory krtani;
- d) neurony unerwiające mięśnie gładkie dróg oddechowych i płuc, regulujące opory oddechowe.

Neuronami przedruchowymi dla grupy b) są neurony o aksonach opuszkowo-rdzeniowych zlokalizowane w tzw. brzusznej i grzbietowej grupie oddechowej. Neuronami przedruchowymi dla komórek z grupy (c) są neurony pośredniczące, znajdujące się zarówno w brzusznej i grzbietowej grupie oddechowej, jak i w tworze siatkowatym [por. Takada i wsp. 1984, Bystrzycka i Nail 1983].

III. Neurony koordynujące oddychanie z innymi funkcjami fizjologicznymi.

Modulacja oddechowa sieci neuronalnych kontrolujących inne niż oddychanie funkcje fizjologiczne może wynikać z periodycznego, związanego z ruchami oddechowymi pobudzania aferentów [Gandevia i wsp.- 1978a,b, Feldman i Ellenberger - 1988, Gootman i wsp.- 1980] lub być skutkiem mono- lub polisynaptycznych połączeń z neuronami oddechowymi [Feldman i Grillner - 1983, Kawahara i wsp. - 1989, Palisses i wsp.- 1988]

IV. Neurony o przypadkowej modulacji oddechowej. Są to neurony nie związane (nawet pośrednio) z utrzymaniem homeostazy gazów we krwi, których aktywność jest nieznacznie modulowana oddechowo, np. oddechowa modulacja średnicy źrenic [Borgdorff-1975].

1.2 Lokalizacja neuronów oddechowych pnia mózgu

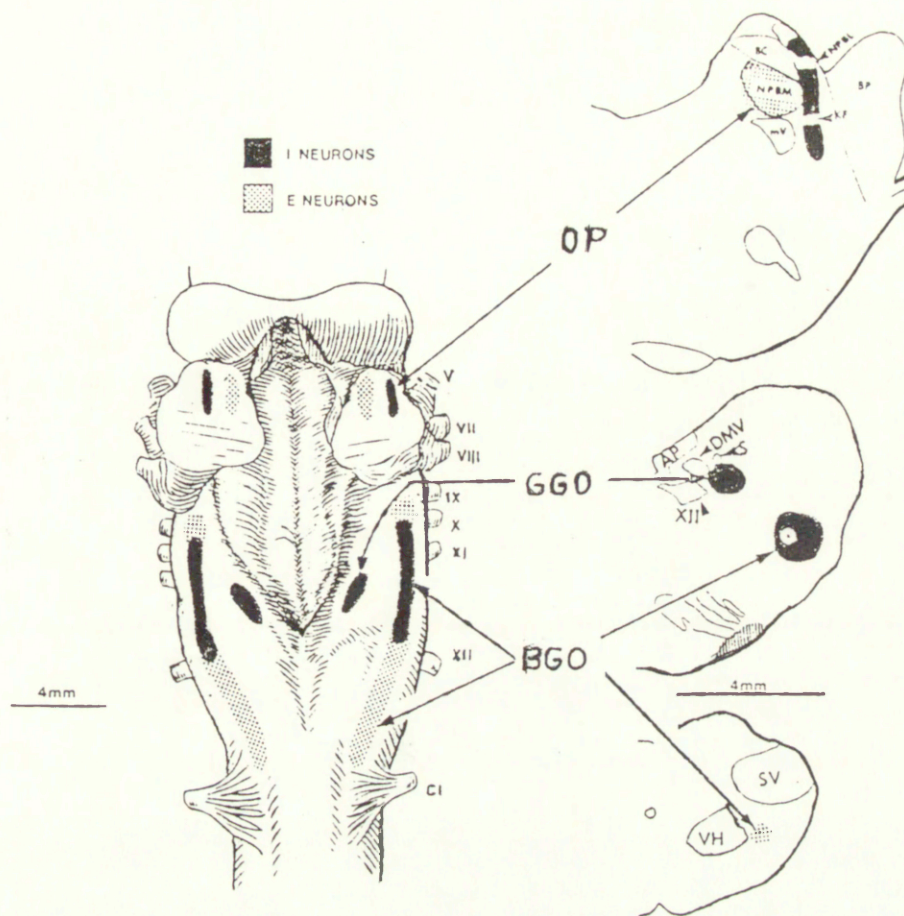
Głównym celem badań elektrofizjologicznych pnia mózgu i rdzenia kręgowego jest znalezienie substratu neuronalnego dla wymienionych w rozdziale 1.1 funkcji. Punktem wyjścia jest lokalizacja neuronów o aktywności synchronicznej z oddychaniem. Komórki tego typu tworzą kilka skupisk, są to:

I. Grzbietowa grupa oddechowa /GGO/ – zlokalizowana w obrębie kompleksu jąder [Loewy i Burton –1978] pasma samotnego. Neurony tej grupy tworzą pierwszą synapsę z włóknami aferentnymi nerwu językowo – gardłowego i błędnego. Tutaj dociera informacja z chemoreceptorów ciałek szyjnych i aortalnych, z baroreceptorów, z receptorów płuc, serca i trzewi. Jednocześnie część komórek tej grupy pełni rolę neuronów przedruchowych dla neuronów ruchowych przepony. U kota neurony o modulacji oddechowej w największej liczbie występują w brzuszno–bocznym podjądrze /vl–NTS/ kompleksu [Euler i wsp. 1973a]. GGO zawiera u kota głównie neurony wdechowe [Baumgarten i Kanzow 1958, Bianchi 1971, Berger 1977, Batsel 1965, Euler i wsp. 1973b, Euler 1983, Feldman i Cohen 1978]. U królika neurony oddechowe grupują się [Ellenberger i wsp. – 1990] w podjądrze pośrednim (intermediate NTS por. Loewy i Burton – 1978).

W vl–NTS u królika oprócz neuronów wdechowych (56%) występuje duża grupa (25%) neuronów wydechowych i mniejsza neuronów wdechowo – wydechowych (19%) [Jiang i wsp. 1986].

II. Brzuszna grupa oddechowa /BGO/ mająca postać podłużnej kolumny rozciągającej się w brzuszno–bocznej części tworu siatkowatego poprzez jądro zadwuznaczne (nucleus retroambiguus) [Merrill 1970, 1974, 1979, 1981] i jądro dwuznaczne (nucleus ambiguus) [Bianchi 1971, Merrill 1970, Kalia 1981b, Bianchi i Barillot 1982, Feldman i Speck 1983].

Do BGO zalicza się także komórki oddechowe tworu siatkowatego położone nieco bardziej brzusznie i bocznie od jądra dwuznacznego.



Ryc. 1.1 Lokalizacja najważniejszych grup neuronów oddechowych (widok pnia mózgu od strony grzbietowej – mózdzek usunięto).

BGO – BRZUSZNA GRUPA ODDECHOWA to kolumna komórek rozciągająca się od poziomu C1 do jądra zatwarzowego. Obejmuje jądro dwuznaczne i jądro przydwuznaczne. W kaudalnej części (poniżej zasuwnicy) znajdują się neurony wydechowe, natomiast w rostralnej części (poczynając od zasuwnicy) neurony wdechowe. Na przedłużeniu BGO bezpośrednio przyśrodkowo i bocznie od jądra zatwarzowego znajduje się grupa neuronów wydechowych nazywana KOMPLEKSEM BOTZINGERA – /BotC/

GGO – GRZBIETOWA GRUPA ODDECHOWA zlokalizowana jest w obrębie brzuszno-bocznego i (głównie u królików) pośrodkowego podjądra kompleksu jąder pasma samotnego. Rozciąga się od poziomu zasuwnicy do ok. 2 mm rostralnie od zasuwnicy i zawiera głównie neurony wdechowe.

OP – OŚRODEK PNEUMOTAKSYCZNY zlokalizowany jest w grzbietowo-bocznej części mostu w obrębie przyśrodkowego i bocznego jądra okołoramieniowego mostu oraz jąder Kolliker–Fuse. Część boczna tej grupy zawiera neurony wdechowe, część środkowa neurony wydechowe. Pomiędzy nimi rejestruje się również aktywności wdechowo-wydechowe (tzw. phase spanning neurons). Oznaczenia użyte na skrawkach czołowych. A – jądro dwuznaczne, AP – pole najdalsze (area postrema), BC – ramiona łączące (brachia conjunctiva), PB – ramiona mostu (brachia pontis), DVM – jądro grzbietowe nerwu błędnego, mV – jądro ruchowe nerwu trójdzielnego, NPBM – jądro przyśrodkowe okołoramieniowe mostu, NPBL jądro boczne okołoramieniowe mostu, S – pasmo pęczka samotnego, SV – jądro pasma rdzeniowego nerwu trójdzielnego, VH – róg brzuszny (ryc. z pracy Feldmana – 1986).

WSTĘP Rozdział 1.2

Określa się je mianem jądra przydwuznacznego (*nucleus paraambiguus* por. Kalia 1981 a, b) w celu odróżnienia go od morfologicznie i funkcjonalnie odmiennego jądra dwuznacznego.

Jądro dwuznaczne zawiera głównie duże neurony ruchowe nerwu błędnego, nerwu dodatkowego i nerwu językowo-gardłowego [Furstenberg i Magielski 1955, Gacek 1975, Kalia 1980 a, b, Yoshida i wsp. – 1980, –1985, Barillot i wsp. 1984, Davis i Nail 1984, Lawn 1966, Ciriello i wsp. –1981, Brodal –1969]. W jądrze przydwuznacznym znajdują się średniej wielkości oddechowe neurony pośredniczące, w tym neurony przedruchowe jądra nerwu przeponowego.

III. Kompleks Botzingera /BotC/ będący dogłowym przedłużeniem BGO.

Tworzą go komórki nerwowe zlokalizowane w pobliżu przyśrodkowej części jądra zatwarzowego (*nucleus retrofacialis*). Są one w większości neuronami wydechowymi. Grupa ta została zlokalizowana, przebadana i nazwana przez Lipskiego i Merrilla [1980]. (Patrz też prace anatomiczne Kalia i wsp 1979, Bystrzycka 1980, i elektrofizjologiczne Bianchi i Barillot 1982, Merrill i Fedorko 1984, Ezure i Manabe 1988).

IV. Ośrodek pneumotaksyczny zlokalizowany w grzbietowo-bocznej części górnego mostu [Bertrand i Hugelin 1971, Cohen 1971, Bertrand i wsp. 1973, 1974] w jądrze okołoramieniowym przyśrodkowym mostu (*nucleus parabiachialis medialis pontis*) i jądrze Kolliker-Fuse /NPB-KF/ (patrz też praca anatomiczna [Taber 1961]).

Lokalizację omówionych grup oddechowych przedstawia ryc. 1.1.

V. Ugrupowanie jąder zlokalizowanych w najbardziej rostralnej i brzusznej części opuszki.

Oddechowy charakter jąder wymienionych w pkt I–IV był wielokrotnie sprawdzony w badaniach *in vivo*. Przy użyciu metod *in vitro* znaleziono łańcuch neuronów położonych u szczura nie dalej niż 0.5 mm od powierzchni brzusznej opuszki. Są to :

- a) kompleks pre-Botzingera [Smith i wsp. 1991 – "Science" vol. 254] leżący brzuszno-bocznie w stosunku do jądra dwuznacznego i nieco doogonowo od jądra zatwarzowego;
- b) górnobrzusne jądro tworzącego siatkowatego położone brzusznie od jądra zatwarzowego [Onimaru i wsp. 1987, 1988, 1989];

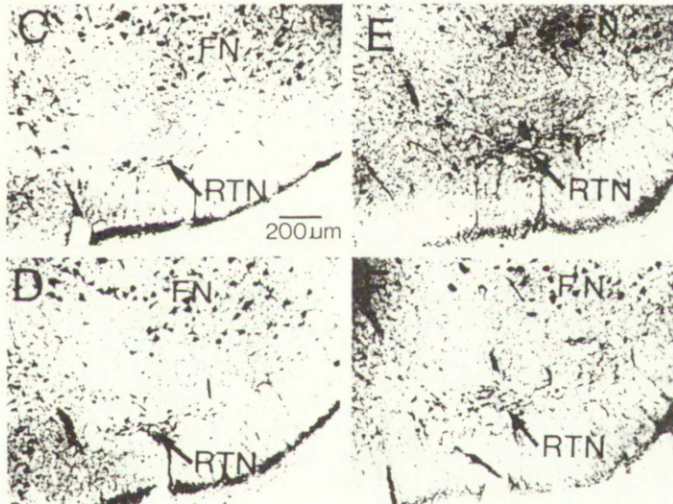
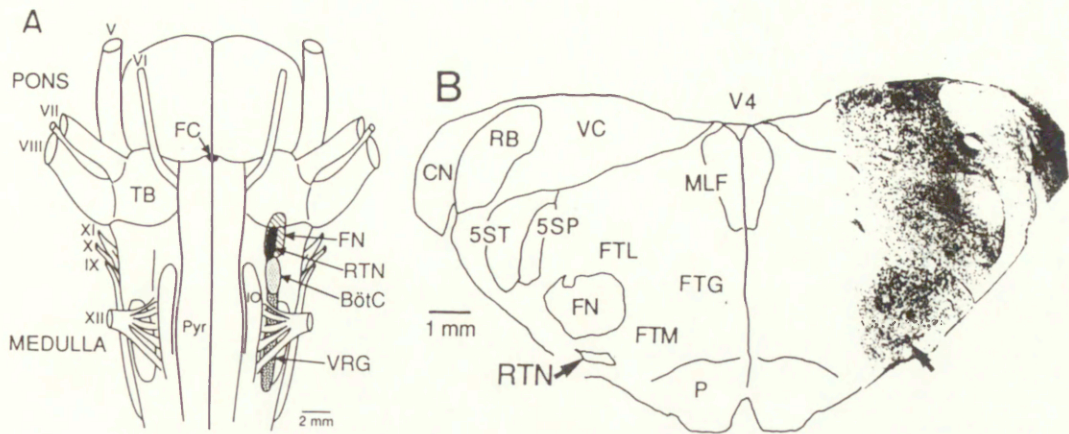
- c) jądro zatrapezoidalne położone brzusznie w stosunku do doogonowego końca jądra nerwu twarzowego [*Smith i wsp. 1989, Connelly i wsp. -1988, -1990*].

Pomimo, że badacze którzy udowodnili oddechowy charakter w/w jąder ściśle je rozgraniczają, trudno zapomnieć, że ich łączny rostralno-kaudalny zakres nie przekracza u szczura 1.0 mm.

ad a) Jądro pre-Botzingera zdaniem odkrywców [*Smith i wsp. -1991*] zawiera komórki rozrusznikowe dla układu oddechowego. Potencjał wewnątrzkomórkowy tych neuronów zbadano w warunkach *in vitro* przy użyciu techniki "patch clamp" całych komórek. Ustalono, że przy niewielkiej stałej depolaryzacji neurony ujawniały swe własności rozrusznikowe i rytmicznie generowały salwy potencjałów czynnościowych. Przedstawiono również dowody wskazujące na połączenia tych komórek z innymi neuronami oddechowymi pnia mózgu.

ad b) górnobrzusne jądro tworzącego siatkowatego (nucleus reticularis rostralis) opisał u szczura *Rossa i wsp. [1985]*. Komórki tego jądra, uznane za oddechowe przez *Onimaru i wsp. [1987, 1988, 1989]*, zlokalizowane są nieco brzusznie od komórek jądra zatwarzowego. Tym samym leżą one bezpośrednio dogłowo od komórek jądra pre-Botzingera i bezpośrednio doogonowo od jądra zatrapezoidalnego. Ich odległość od powierzchni brzusznej opuszki u nowonarodzonego szczura *Onimaru i Homma [1987]* określił na 50 do 250 μm . Badania *Onimaru i wsp. [1987, 1989]* wskazują, że komórki górnobrzusznego jądra tworzącego siatkowatego rozpoczynają generowanie potencjałów czynnościowych tuż przed, a kończą po salwie wdechowej nerwu przeponowego. Pozostają one periodycznie aktywne po przerwaniu przekazywania synaptycznego. Na tej podstawie *Onimaru i wsp. [1989]* uznają, że są to komórki rozrusznikowe generatora oddychania.

ad c) jądro zatrapezoidalne /NRT/ (nucleus retrotrapezoid) zostało tak nazwane przez odkrywców [*Smith i wsp. 1989, por. Pearce i wsp. 1989*] ze względu na położenie nieco doogonowe od granicy ciał trapezoidalnych w najbardziej dogłowej i brzusznej (300 μm od powierzchni) części opuszki w bezpośredniej bliskości tzw. stref chemowrażliwych M.



Ryc. 1.2 A/ Schemat brzusznej powierzchni pnia mózgu z zaznaczonym położeniem jądra zatrapezoidalnego (obszar zaczerpniony) w stosunku do jądra nerwu twarzowego (obszar zakreskowany) i innych charakterystycznych struktur opuszki.

B/ Przekrój czołowy opuszki na poziomie jądra zatrapezoidalnego (rys. z pracy Connelly i wsp. -1990).

C/,D/,E/,F/ - Silnie powiększone fragmenty przekrojów czołowych opuszki, w których znaleziono komórki o aktywności oddechowej.

Użyte skróty:

FN - jądro twarzowe RTN - jądro zatrapezoidalne (nucleus retrotrapezoid),
BotC - kompleks Botzingera, VRG - brzuszna grupa oddechowa.

Jądro to ma zwartą strukturę i złożone jest z małych (10–20 μm średnicy), ciasno upakowanych komórek o wrzecionowatym kształcie. Jego lokalizację prezentuje ryc. 1.2. Komórki jądra zatrapezoidalnego są aktywne we wdechu, dają projekcje aksonalne do BGO, GGO, a co najważniejsze stymulacja elektryczna jądra kilkoma bodźcami w drugiej połowie wydechu powoduje natychmiastową zmianę fazy na wdechową [Smith i wsp. 1989].

Oprócz wymienionych grup oddechowych pewną rolę w regulacji oddychania przypisuje się aktywności a) jądra przyolbrzymiokomórkowego (nucleus paragigantocellularis [Taber, 1961], u królików nazywanego bocznym jądrem tworzącego siatkowatego (nucleus reticularis lateralis Meessen i Olszewski – [1949]), b) jądra olbrzymiokomórkowego (nucleus reticularis gigantocellularis) [Budzińska i wsp. – 1985a, b], c) neuronów zlokalizowanych w obrębie jądra ruchowego nerwu trójdzielnego (nucleus motorius nervi trigemini) [Gromysz i wsp. – 1988, Gromysz i Karczewski – 1990]

1.3 Koncepcje mechanizmów zmiany faz oddechowych.

Do chwili obecnej brak jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, dlaczego aktywność sieci neuronów wdechowych zostaje zahamowana na rzecz sieci neuronów wydechowych, po czym znowu bierze górę sieć wdechowa.

To pytanie o mechanizm działania i lokalizację neuronów bezpośrednio odpowiedzialnych za generację rytmu oddechowego stanowi wyzwanie dla neurofizjologów od co najmniej 180–ciu lat¹. Wszystkie modele generacji

1. Pierwsze próby zlokalizowania generatora rytmu opisane są w pracach LeGallois, J. J. C. (1812) – "Experiences sur le Principe de la Vie, D'Hautel, Paris oraz Flourens, M. J. P. – " Recherches Experimentales sur les Proprietes et les Fonctions du Systeme Nerveux

rytmu przypisywały tę cechę albo sieci neuronalnej, albo komórkom o charakterze rozrusznikowym² (pacemaker cells) [por. Brodie i Borison – 1957]. Istnienie samoistnie depolaryzujących się komórek pokazano w badaniach *in vitro* w kilku miejscach ośrodkowego układu nerwowego /OUN/ u ssaków [Gahwiler i Dreifuss –1979, Legendre i wsp.– 1985], ale zaangażowanie ich w procesie oddychania udowodniono tylko u niektórych krabów i homarów [Mendelson 1971, Russell i Hartline – 1982]. Rozważania o rozrusznikowym charakterze generatora oddychania aż do połowy lat osiemdziesiątych miały charakter, czysto spekulacyjny, gdyż pokazanie, że komórka OUN ma własności rozrusznikowe w preparacie *in vivo* jest praktycznie niemożliwe. *In vivo* nie można wykluczyć, że do pobudzenia dochodzi na drodze synaptycznej.

Wiarygodne wykazanie istnienia grupy rozrusznikowych komórek oddechowych [Onimaru i wsp. 1987, –1988, –1989] stało się możliwe dzięki wprowadzeniu nowego modelu doświadczalnego *in vitro* (Suzue –1984) – izolowanego pnia mózgu i rdzenia kręgowego u nowonarodzonego szczura. Potencjalne komórki rozrusznikowe oddychania zlokalizowane były tuż pod brzuszną powierzchnią górnej opuszki w górno-brzusznym jądrze tworzącego siatkowatego (patrz rozdz. 1.2). Ich aktywność poprzedzała wszystkie bez wyjątku salwy nerwu przeponowego. Stymulacja tej grupy pojedynczym bodźcem elektrycznym w czasie wydechu powodowała jego zakończenie i rozpoczęcie wdechu. Neurony tej grupy pozostawały rytmicznie aktywne po przerwaniu przewodnictwa synaptycznego [Onimaru i wsp. – 1989].

dans les Animaux Vertebres ed.2, J.B. Bailliere, Paris, 1842 cyt. wg. Mitchell i Berger (1975).

2. Są to neurony o takich własnościach błonowych, że bez kontaktu synaptycznego z innymi neuronami periodycznie wytwarzają powolną spoczynkową depolaryzację i serię potencjałów czynnościowych.

Poważnym mankamentem badań Onimaru i wsp. [1989] był brak rejestracji wewnątrzkomórkowych. Wolne od tych zastrzeżeń są wyniki Smitha i wsp. [1991]. Przedstawili oni trudne do zakwestionowania dowody na istnienie komórek rozrusznikowych pracujących synchronicznie z nerwami oddechowymi w warunkach *in vitro*.

Obecnie nie wiadomo jeszcze, czy mechanizm generacji rytmu u dojrzałych ssaków jest taki sam jak w preparatach *in vitro* z nowonarodzonych szczurów. Pozostaje otwarty również problem, czy odkryte komórki rozrusznikowe są niezbędne do generacji rytmu w warunkach fizjologicznych, czy może pełnią one rolę komplementarną i stają się aktywne tylko w warunkach skrajnie odbiegających od normalnych. Odkrywczy nie przedstawili modelu generatora rytmu oddechowego uwzględniającego obecność rozrusznika. Ponieważ salwy potencjałów czynnościowych generowane przez opisane komórki rozrusznikowe rozpoczynają się tuż przed lub w momencie wdechu i kończą wraz z wdechem nie można opierając się wyłącznie na ich własnościach objaśnić szeregu fundamentalnych (np. opisanej dalej cyklicznej zmianie wrażliwości na bodźce) cech kontrolera oddychania.

Dotychczas większość badaczy zakładała, że u podstaw generacji rytmu leżą oddziaływania pomiędzy różnymi subpopulacjami neuronów oddechowych. W ostatnich latach największym uznaniem³ cieszy się model Richtera (*Richter [1982] i Richter i wsp. [1986a]*). Model jest rozwinięciem modelu niesymetrycznego oscylatora wyłącznie wdechowego (*Cohen i Feldman [1977], Bradley i wsp. [1975], Euler [1977, -1980, -1983]*). Model zakłada istnienie specjalnej grupy neuronów hamujących (wyłączających –

3. Model "wszedł" już do nowoczesnych podręczników fizjologii patrz rozdz. 20.4.5 Traczyk i Trzebski (1989)

"off-switch"), nie mających charakteru neuronów wydechowych, których zadaniem jest rytmiczne przerywanie aktywności sieci neuronów wdechowych.

Model Richtera dzieli cykl oddechowy na trzy fazy: wdechową, powdechową (nazywaną też I fazą wydechu) i II fazę wydechu. Model zakłada, że ważną funkcję przy nieodwracalnym przełączaniu wdechu na wydech pełni grupa neuronów wczesnowydechowych o malejącej aktywności – tzw. neuronów powdechowych (*post-inspiratory neurons*, patrz *Ballantyne i Richter – 1984*). Rozpoczynają one generowanie potencjałów czynnościowych tuż po osiągnięciu maksymalnej aktywności przez nerwy przeponowe. Depolaryzacja neuronów powdechowych szybko osiąga maksimum, po czym maleje. W dalszej części wydechu (tzw. II fazie) depolaryzacja przechodzi w narastającą hiperpolaryzację, która osiąga maksimum w pierwszej połowie wdechu. Neurony powdechowe hamują zarówno populację neuronów wdechowych, jak i wydechowych. Ważną dla interpretacji niektórych z przedstawionych dalej w tej pracy wyników jest obserwacja [*Richtera i wsp. –1987*], że neurony powdechowe hamują również większość neuronów tworzących siatkowatego m. in. związanych z podtrzymywaniem aktywności współczulnej.

Mechanizm przełączający fazy posiada kilka cech o kluczowym znaczeniu funkcjonalnym. Do nich zaliczam:

- a) zmianę progu wrażliwości na oddechowe bodźce aferentne w trakcie trwania wdechu i wydechu;
- b) silną zależność parametrów rytmu oddechowego od stanu "wzbudzenia" neuronów tworzących siatkowatego;

c) możliwość (w pewnym ograniczonym zakresie) niezależnych od siebie zmian rytmu, albo amplitudy nerwów oddechowych.

ad a) Generalnie skuteczność działania bodźców modyfikujących długość danej fazy jest tym większa, im bodziec zadziała bliżej jej końca.

Reprezentatywne są w tym względzie obserwacje Clarka i Eulera [1972] oraz Eulera [1972], że do zahamowania wdechu poprzez rozciągnięcie płuc potrzebne jest użycie dużych objętości we wczesnej fazie wdechu i małych w późnej. Również w miarę trwania wdechu spada intensywność stymulacji elektrycznej nerwu błędnego lub krtaniowego [Boyd i Maaske -1939, Larrabee i Hodes -1948], konieczna do jego zahamowania. Analogicznie progresywnie spada progowa intensywność stymulacji jąder NPB-KF [Cohen i Feldman - 1977, Euler i Trippenbach 1976] konieczna do przełączenia fazy oddechowej. Wrażliwość na bodźce rośnie również przy hamowaniu wydechu poprzez odruch deflacyjny. We wczesnej fazie wydechu przełączenie wydechu na wdech wymaga najwyższych podciśnień rzędu -6 do -10 cmH₂O [Knox -1979]. Wraz z trwaniem wydechu wartość ta staje się coraz mniej ujemna i bliska zeru na 0.1-0.2 s przed spontanicznym rozpoczęciem wdechu. Progresywną zmianę wrażliwości na bodziec przełączający fazy zaobserwowali również Burns i Salmoiraghi [1960]. Stymulowali oni pojedynczym bodźcem elektrycznym powierzchnię opuszki tuż powyżej obexu. Stwierdzili, że siła minimalnego bodźca koniecznego do zatrzymania wdechu i rozpoczęcia wydechu była tym mniejsza im bliżej przewidywanego spontanicznego końca wdechu był on podany. Bodziec, który był podprogowy dla zatrzymania wdechu, powodował jego wydłużenie. Identyczne zależności obserwowano, gdy w wydechu podawano bodziec w celu przedwczesnego wywołania wdechu. Progresywny wzrost

wrażliwości na bodźce przełączające fazy oznacza, że wraz z trwaniem bieżącej fazy coraz słabszy bodziec jest w stanie spowodować jej zakończenie. Ponieważ do ośrodków oddechowych nieustannie dociera informacja z aferentów oddechowych mechanizm wzrostu drażliwości musi doprowadzić do zakończenia bieżącej fazy oddechowej. Dlatego uzasadnionym wydaje się założenie, że mechanizm wzrostu drażliwości obok innych równolegle działających mechanizmów może doprowadzić do przełączenia fazy oddechowej. Aferentacja oddechowa jest konieczna do precyzyjnego sterowania wentylacją. Trzeba jednak podkreślić, że aferentacja oddechowa nie jest niezbędna przy generacji najprostrzych postaci rytmu oddechowego [Hukuhara - 1973, -1976, Smith i Feldman - 1986, -1987]. Również pierwszy wdech u noworodków może być całkowicie spontaniczny, nawet w warunkach celowego ograniczenia dopływu bodźców aferentnych [Mortola i wsp. - 1982].

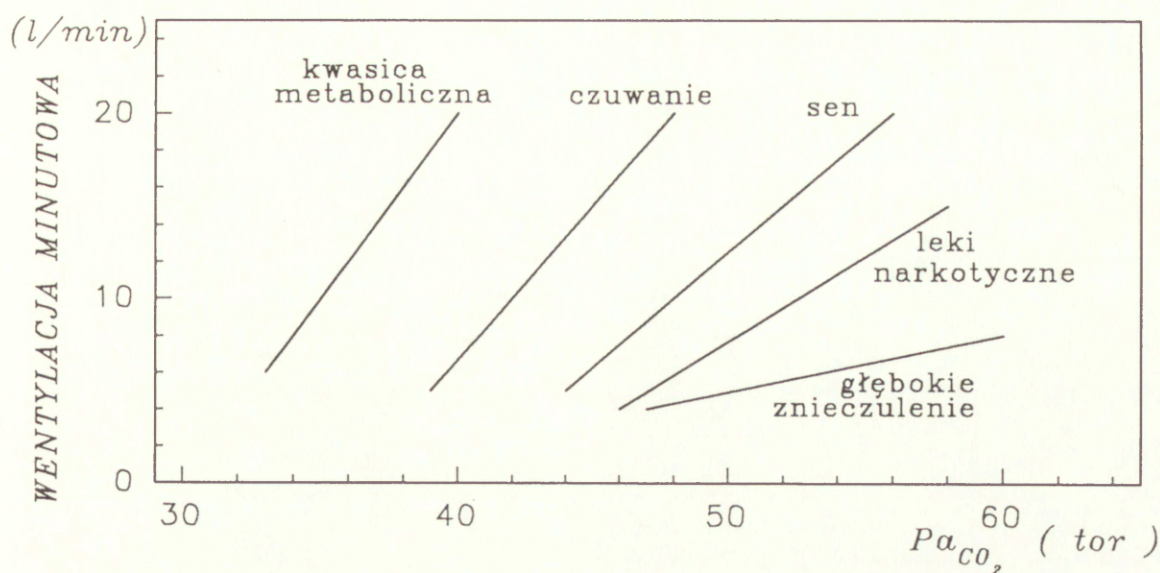
ad b) W podręcznikach fizjologii⁴ znajdują się już informacje o podstawowej roli pobudzenia tworów siatkowatego pnia mózgu w generacji i regulacji rytmu oddechowego. Neurony aktywujące tworów siatkowatego tonicznie pobudzają neurony oddechowe przesuwając ich potencjał spoczynkowy w kierunku depolaryzacji. Jest również prawdopodobne, że za pośrednictwem tworów siatkowatego przekazywane jest do neuronów oddechowych pobudzenie z obszarów chemowrażliwych mózgu i chemoreceptorów tętnicznych. Twór siatkowaty pośredniczy przy modulacji oddychania wywołanej różnymi stanami emocjonalnymi oraz nieswoistym pobudzeniem receptorów dróg oddechowych, skóry (np. zimno) i innych. Zmniejszona aktywność tworów siatkowatego w stanach rozluźnionej uwagi,

4. Patrz Traczyk i Trzebski [1989] rozdziały od 20.4.5 do 20.5.7

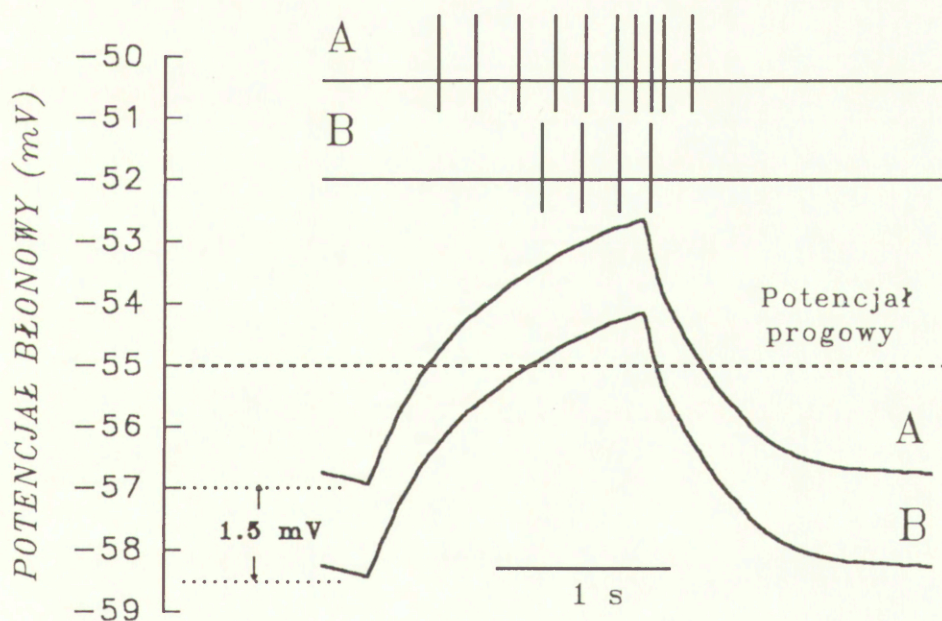
snu [Orem - 1980, Orem i wsp. -1985], znieczulenia ogólnego związana jest zwykle ze spadkiem częstości oddychania i zmniejszeniem odpowiedzi oddechowej na bodźce mechaniczne i chemiczne. Orem i wsp. [1974] stwierdził, że aktywność 79-ciu procent neuronów oddechowych znamienne spada lub całkowicie zanika przy przejściu z fazy czuwania do fazy snu.

Moim zdaniem, jedyną obiektywną metodą porównywania wpływu czynników długotrwale, tj. na dłużej niż kilkanaście oddechów (np. sen lub narkoza), modyfikujących poziom aktywności tworów siatkowatych jest wyznaczanie progu bezdechu hiperwentylacyjnego.

Próg bezdechu wyraża się za pomocą ciśnienia parcjalnego PaCO_2 , poniżej którego następuje zatrzymanie aktywności nerwów przeponowych. Janczewski [1987c] stwierdził, że u królików i kotów w narkozie halotanowej (0.9 vol%) w warunkach normoksji próg bezdechu wynosi odpowiednio 16 mmHg (2.1kPa) i 24 mmHg (3.2kPa). Pogłębienie narkozy (propanidid 40mg/kg i.v.) podnosi próg bezdechu o 4-6 mmHg. Dowodzi to, że podawanie narkozy, obniża stopień pobudzenia neuronów tworów siatkowatych. Rysunek 1.3 pokazuje, w jaki istotny sposób osłabienie aktywności tworów siatkowatych (m.in. podczas snu, w ogólnym uśpieniu farmakologicznym, po przedawkowaniu barbituranów) zmniejsza odpowiedź wentylacyjną na CO_2 . Najbardziej wrażliwe na spadek aktywności tworów siatkowatych są neurony ruchowe nerwów górnych dróg oddechowych, np. n. VII i n. XII. Podczas hiperwentylacji aktywność tych nerwów zanika przy poziomie PaCO_2 odpowiednio o 6 (0.8kPa) i 8 mmHg (1.1kPa) wyższym niż dla nerwów przeponowych (Janczewski -1987c). Staże się to zrozumiałe w świetle prac stwierdzających, że aktywność nerwów górnych dróg oddechowych zależy od pobudzeń synaptycznych ze



Rys. 1.3 Odpowiedź oddechowa na CO_2 w warunkach kontrolnych, tj. czuwania oraz w czasie snu, po podaniu środków narkotycznych, podczas głębokiego znieczulenia i kwasicy metabolicznej. Sen przesuwają krzywą w prawo – w czasie snu wolnofalowego PaCO_2 zwykle wzrasta o 5–6 Tr (0.67–0.8 kPa). Narkotyki i anestetyki silnie tłumią odpowiedź na CO_2 . Depresja oddychania po przedawkowaniu alkaloidów opiatowych i ich pochodnych, a także barbituranów i niektórych anestetyków może prowadzić do zgonu (zmodyfikowano wg. Levitzkygo – 1981).



Rys.1.4 Schemat ilustrujący jak wyjściowy poziom pobudzenia tonicznego wpływa na odpowiedź neuronu ruchowego na pobudzenie fazowe. Przebiegi A) i B) są tym samym pobudzeniem fazowym, jednak w przypadku A) pobudzenie to daje większy efekt, gdyż dodaje się do pobudzenia tonicznego o 1.5 mV wyższego niż w przypadku B). Przy konstruowaniu schematu założono, że neuron ruchowy ma stały próg pobudzenia i że przy jego przekroczeniu częstotliwość potencjałów czynnościowych narasta z szybkością 4 Hz/1mV (zmodyfikowano wg Searsa –1965).

strony jąder tworzącego siatkowatego⁵ (Bystrzycka i Nail -1983], Takada i wsp. - 1984).

Można się spodziewać, że toniczne pobudzenie ze strony neuronów tworzącego siatkowatego pnia mózgu przesuwają potencjał błonowy neuronów oddechowych w kierunku depolaryzacji, co potęguje wpływ fazowych pobudeń ze strony innych komórek oddechowych. Sears [1965] modelował ten efekt badając wpływ tego samego bodźca fazowego na neuron ruchowy mięśni międzyżebrowych przy dwu różnych poziomach potencjału spoczynkowego (ryc. 1.4). Gdy na skutek pobudzenia tonicznego potencjał błonowy podniósł się tylko o 1.5 mV, wynikowa salwa aktywności miała większą liczbę "spajków", większą częstość i była ponad dwukrotnie dłuższa.

ad c) Feldman [1986] w obszernej pracy poglądowej przedstawił dane literaturowe wskazujące, że ośrodkowy generator wzorca oddechowego składa się z dwu funkcjonalnie wyodrębnionych części:

- 1) Generators aktywności periodycznej, który na bazie oddziaływań między subpopulacjami neuronów lub w oparciu o komórki rozrusznikowe generuje z określoną częstością rytmiczne salwy pewnej populacji neuronów.
- 2) Integratora wzorca oddechowego, który w takt salw generatora wytwarza w oparciu o analizę bodźców (odruchów) oddechowych, złożony wzorzec pobudeń neuronów przedruchowych i ruchowych. Różne grupy motoneuronów są aktywowane z opóźnieniem lub wyprzedzeniem w stosunku do salw nerwu przeponowego. Siła pobudzenia zależy od specyficznych funkcji danego mięśnia i od aktualnego stanu organizmu.

5. Dla nerwów VII i XII są to: jądro małokomórkowe (nucleus reticularis parvocellularis) oraz twór siatkowaty tylnej opuszki na poziomie zasuwki pomiędzy jądrem pęczka samotnego a jądrem dwuznacznym. Ponadto są to: jądro nazywane u kotów jądrem przyolbrzymiokomórkowym (nucleus paragigantocellularis [Taber, 1961] a u królików bocznym jądrem tworzącego siatkowatego (nucleus reticularis lateralis patrz Meessen, Olszewski [1949]) oraz jądro olbrzymiokomórkowe (nucleus reticularis gigantocellularis).

Hipoteza o odrębności generatora i integratora wzorca oddechowego poparta jest wynikami wskazującymi na możliwość selektywnego sterowania albo amplitudą, albo rytmem oddychania. Na przykład hiperkapnia u kotów w narkozie nembutalowej wywołuje na ogół wzrost amplitudy bez zmian rytmu [Bradley i wsp. - 1974]. Pobudzenie aferentów z wolno adaptujących się receptorów płuc skraca wdech przy tylko nieznacznie zmniejszonej szybkości jego narastania [Clark i Euler - 1972]. Generator aktywności periodycznej i integrator wzorca łącznie nazywany jest w literaturze przedmiotu mianem ośrodkowego generatora (lub ostatnio częściej - ośrodkowego kontrolera) wzorca oddechowego.

1.4 Wpływ rozszczepienia pnia mózgu na oddychanie.

Wszystkie struktury pnia mózgu uznawane za elementy generatora rytmu oddechowego są parzyste i symetryczne względem linii pośrodkowej (patrz ryc 1.1, 1.2 i opis w par 1.2). Symetryczne są również centralne strefy chemowrażliwe i wejścia aferentne. Rodzi się pytanie, czy jeden generator utworzony jest z pary symetrycznych elementów, czy może mamy do czynienia z dwoma sprzężonymi subgeneratorami.

Eksperymentalnie można rozstrzygnąć ten problem rozdzielając parzyste elementy i sprawdzając, czy każda z tak utworzonych części jest w stanie samodzielnie generować rytm oddechowy.

Każdą z następujących obserwacji z (malejącą wagą) można traktować jako dowód, że rytm oddechowy jest wciąż generowany:

A) Nerwy przeponowe są periodycznie aktywne.

B) Nerwy zaopatrujące pomocnicze mięśnie oddechowe np.: nerwy krtaniowe zwrotne, n. VII, n. XII są periodycznie aktywne.

C) W obrębie kompleksu oddechowego pnia mózgu można znaleźć neurony, które są periodycznie aktywne.

Ponieważ cięcia przerywają szlaki transmitujące pobudzenie od generatora do neuronów ruchowych, brak aktywności w nerwach oddechowych nie wyklucza możliwości, że rytm oddechowy jest nadal generowany.

Jeżeli cięcie spowoduje zatrzymanie generacji, to może to być zjawiskiem:

- I) odwracalnym – spowodowanym zmianą niektórych warunków niezbędnych do generacji (np. zmianą poziomu tonicznego pobudzenia neuronów oddechowych)
- II) nieodwracalnym – spowodowanym uszkodzeniem istotnych elementów generatora.

W dalszej części rozdziału zostaną szczegółowo omówione wyniki eksperymentów, w których wykonywano cięcia w linii pośrodkowej pnia mózgu. We wszystkich tych pracach przedstawiane dowody generacji rytmu były takie jak w pkt A, B i C. W przypadku stwierdzenia zatrzymania generacji starano się odpowiedzieć na pytanie, czy można ją przywrócić poprzez zmianę stanu zwierzęcia (np. podanie mieszanki hiperkapnicznej). W niektórych z cytowanych dalej prac problemy generacji rytmu były dla badaczy sprawą drugorzędną, a głównym celem eksperymentu było określenie poziomu krzyżowania się zstępujących z opuszki aksonów neuronów przedruchowych podążających do rdzeniowych oddechowych neuronów ruchowych. Analiza cytowanych dalej prac wykaże, że efekty cięć w linii

pośrodkowej są wyraźnie różne u królików i kotów. Rozległość cięcia będzie podawana w milimetrach względem zasuwki (por. Metoda roz. 3.4)⁶.

▪ Ponad sto lat temu Langendorff [1879] oraz Langendorff i wsp. [1880, 1881] stwierdzili⁷, że u spontanicznie oddychających królików z przeciętymi nerwami błędnymi po niewielkim cięciu w linii pośrodkowej od zasuwki w kierunku dogłowym, lewa i prawa połowa przepony przestaje pracować synchronicznie. Pomimo desynchronizacji zwierzęta pozostawały wydolne oddechowo przez wiele godzin. Ruchy lewej i prawej połowy przepony rejestrowano na kimografie za pomocą umieszczonych pod przeponą baloników połączonych z bębenkami Mareya. Langendorff i wsp. [1881] podkreślili synchronizujący wpływ jednoczesnej aktywacji nerwów błędnych związanej z rozciąganiem się płuc w czasie wdechu. Przy zachowanych nerwach błędnych do desynchronizacji nie dochodziło. Po przecięciu jednego nerwu rytm oddychania po stronie ipsilateralnej ulegał zwolnieniu. Pełną asynchronię obserwowano po obustronnej wagotomii. Wyniki te zostały rozszerzone o badania na psach przez Kreidla [1899].

▪ Rijlant [1937] użył modelu Langendorffa i wsp. [1881] stosując nowocześniejsze metody rejestracji. Aktywność bioelektryczną nerwów przeponowych i nerwów krtaniowych zwrotnych rejestrowano przy pomocy oscyloskopu. Poziom wentylacji był stały, ponieważ podawano środki

6. Proponuję przyjąć konwencję, że odległość punktów położonych doogonowo względem zasuwki (obexu) będzie oznaczana liczbą ujemną, a miejsc położonych w kierunku dogłowym liczbą dodatnią. Np. cięcie od -2 do +3 mm oznaczać będzie cięcie rozpoczynające się 2 mm doogonowo, a kończące 3 mm dogłowo względem zasuwki.

Konsekwentnie odcinek zlokalizowany od -2 mm doogonowo do 3 mm rostralnie od zasuwki oznaczany będzie (-2,+3)

7. W opracowaniach monograficznych np. C. von Eulera [1986] (str.7), J. Feldmana [1986] (str.472) oraz w większości innych prac cytuje się Langendorffa i wsp. jako pierwszych, którzy opisali desynchronizowanie się rytmów oddechowych u królika. Wydaje się jednak, że zjawisko to było zauważone już wcześniej. Na przykład Kubin i wsp. (1987) cytuje prace Gierke [1873].

związujące i stosowano pompę oddechową. Rijlant [1937] pisze, że po cięciu o rozległości od -1 do +2 mm względem obexu⁶ (cyt. tłum. z ang. str 44P z w/w pracy) "mechanizm koordynujący może być rozdzielony (ang. s p l i t) na dwa niezależne systemy. Obie części ciała oddychają normalnie z niezależnymi rytmami". Obserwacje i wnioski Rijlanta [1937] znalazły potwierdzenie w kilku późniejszych pracach.

▪ W 1960 roku w *J. Neurophysiology* (vol. 23) Salmoiraghi i Burns opublikowali pracę (rozprawa doktorska Salmoiraghiego), która wywarła duży wpływ na późniejsze poglądy dotyczące organizacji kontrolera oddychania. Pracę wykonano na blisko 150 kotach w narkozie barbituranowej i przedstawiono w formie trzech tworzących całość i opublikowanych na kolejnych stronach artykułów. W pierwszym zatytułowanym "Lokalizacja i wzorzec wyładowań neuronów oddechowych w pniu mózgu kota" Salmoiraghi i Burns [1960a] przedstawili efekty mapowania miejsc, w których znaleziono (głównie w BGO) neurony oddechowe w pniu mózgu. Neurony które były aktywne jednocześnie z aktywnością przepony (rejestrowano EMG przepony) autorzy zakwalifikowali jako wdechowe. Neurony aktywne w okresie pomiędzy skurczami przepony uznano za wydechowe.

W dalszej części eksperymentu Salmoiraghi i Burns [1960b] badali skutki rozszczepienia pnia mózgu i sukcesywnej deafferentacji. Wyniki przedstawione są w pracy pt. "Uwagi o mechanizmie rytmicznego oddychania".

Trzecia praca [Burns i Salmoiraghi -1960] analizuje mechanizmy wzajemnego pobudzania się neuronów oddechowych oraz przyczyny zakończenia aktywności puli neuronów wdechowych i wydechowych.

Wyniki tych trzech prac stały się podstawą do sformułowania modelu symetrycznego oscylatora wdechowo-wydechowego.

Używany przez siebie model doświadczalny, w którym stopniowo rozdzielano opuszkę i most za pomocą (wykonywanych fragmentem żyłki) cięć w linii pośrodkowej **Salmoiraghi i Burns [1960b]** nazwali "preparatem rozszczepionego pnia mózgu (ang. *split brain stem preparation*"). Wraz z aktywnością neuronu oddechowego rejestrowali oni EMG przepony i ciśnienie wewnątrzchawicze. Badacze stwierdzili, że (*cyt. tłum z ang. str. 16 z w/w pracy, podkreślenia własne*).

"rozdzielenie mostu na lewą i prawą połowę za pomocą cięcia strzałkowego wzdłuż linii pośrodkowej nie zmieniło oddychania w sposób istotny. (...) Kiedy cięcie wzdłuż linii pośrodkowej było rozszerzane od kaudalnej części mostu poprzez górną i środkową jedną trzecią część opuszki, oddychanie stawało się płytsze i bardziej gwałtowne, ale zwierzęta nie wymagały sztucznej wentylacji. Niezmiennie jednak ruchy oddechowe zanikały nagle i na stałe, gdy cięcie strzałkowe wzdłuż linii pośrodkowej było rozszerzane bardziej doogonowo poprzez dolną jedną trzecią opuszki".

Po ustaniu oddychania rozpoczynano sztuczną wentylację 7% CO₂ w tlenie. Na miejsce sygnału EMG przepony włączano sygnał EKG, tym samym, nawet gdyby aktywność przepony powróciła badacze nie byłiby w stanie jej zarejestrować.

Celem wykonywania cięć w omawianej pracy Salmoiragiego i Burnsa [1960b] było całkowite rozszczepienie opuszki i mostu. Zapewne dlatego sprawie rozległości minimalnego cięcia doprowadzającego do zaniku ruchów oddechowych poświęcono tylko jedno zdanie. Brzmiało ono: (*cyt.str. 16 tłum. z ang.*)

"małe cięcie w linii pośrodkowej pnia mózgu rozciągające się od 2 mm kaudalnie do 2 mm rostralnie względem obexu niezmiennie powoduje trwałe zatrzymanie ruchów oddechowych".

Opis procesu rozszczepiania pnia mózgu, począwszy od mostu w kierunku kaudalnym, zamieszczony w pracy *Salmoiragiego i Burnsa -1960* zacytowano w całości wcześniej w tym rozdziale. Praca ta nie dostarcza bardziej szczegółowych danych o sposobie wykonywania cięć, dlatego (moim zdaniem) niemożliwe jest jednoznaczne stwierdzenie czy mówiąc o "małym cięciu" autorzy mieli na myśli to, że było ono jedynym wykonanym cięciem, czy też, że wykonano je po innych cięciach, ale wyłącznie to małe cięcie prowadziło do zatrzymania oddychania. Ten pierwszy sposób odczytania sensu przytoczonych słów jest powszechnie przyjęty w późniejszych cytowaniach omawianej pracy.

Salmoiraghi i Burns [1960b] wykazali, że po kompletnym rozdzieleniu połówek pnia mózgu cięciem od poziomu C1 do wzgóreków czworaczych górnych (tj. od ok. -6 mm do ok. +14 mm) neurony oddechowe w każdej z połówek pozostały rytmicznie aktywne. Zanik aktywności nerwów przeponowych badacze zinterpretowali jako wynik przecięcia zstępujących szlaków pobudzających neurony ruchowe przepony. Zdając sobie sprawę, że nie byli w stanie korelować aktywności rejestrowanych neuronów z aktywnością nerwu przeponowego wypunktowali następujące cechy wskazujące, że były to faktycznie neurony oddechowe:

- a) rejestracje wykonywano w miejscach, gdzie przed cięciem zlokalizowano neurony oddechowe,
- b) aktywność wielu neuronów rejestrowanych po cięciu była hamowana przez inflację płuc,
- c) odłączenie mieszanki hiperkapnicznej stopniowo zmniejszało, a przyłączenie powiększało natężenie i częstość rejestrowanych salw

aktywności; częstość występowania salw nie była zasadniczo różna (zwykle o ok. 20% niższa) od częstości obserwowanej u tego samego kota w warunkach hiperkapnii przed cięciem.

Autorzy piszą, że nie udawało im się "utrzymać" aktywności neuronu w trakcie cięcia. Tłumaczą to małymi przesunięciami tkanki nerwowej, których nie da się uniknąć w procesie cięcia. Z otrzymanych wyników badacze wyciągnęli wniosek, że (cyt. z w/w pracy str. 23) "dwie symetryczne połowy systemu oddechowego mogą normalnie funkcjonować bez połączeń na poziomie opuszki". Dalej piszą: "z powodu trudności w jednoczesnej rejestracji z dwu neuronów oddechowych nie wiemy czy te dwie rozseparowane grupy komórek oddechowych odpalały salwy synchronicznie, czy może z niezależnymi częstotliwościami".

- Obserwacja, że cięcie w płaszczyźnie strzałkowej głównej eliminuje aktywność nerwów przeponowych u kota została zakwestionowana przez Kahna i Wanga [1965]. Donosili oni o niewielkim spadku amplitudy po cięciach o długości (np. od -2 mm do +6 mm) przekraczającej uznany przez Salmoiraghi i Burns [1960b] za krytyczny zakres od -2 do +2 mm względem zasuwki. Eksperymenty wykonano na decerebrowanych, zwiotczonych, wentylowanych 5% CO₂ w tlenie kotach, aktywność nerwów przeponowych rejestrowano w sposób ciągły.

- Mancina [1969] opisał efekty rozszczepienia pnia mózgu kotów w eksperymentach chronicznych. Praca koncentrowała się na badaniach snu (skrócenie wszystkich faz). Wykonywano w linii pośrodkowej cięcia o długości co najmniej 10 mm. W czasie rozszczepiania opuszki (cięcie od -4 mm do +6 mm) oraz przez ok. 10-12 godzin po zabiegu konieczne było wentylowanie kotów za pomocą pompy oddechowej. Po tym czasie i "wyjściu" ze znieczulenia koty oddychały spontanicznie. Po 24 godzinach oddech był normalny. W przebiegu pooperacyjnym obserwowano:

wzmózione napięcie czterokończynowe, opistotonus, dysmetrię. Zwierzęta leżały na boku. Po 6–10 dniach objawy te ustępowały. Praca [Mancia –1969] dostarcza unikalnych obserwacji o lokalizacji neuronów dotkniętych wstępnym zwyrodnieniem spowodowanym przecięciem ich aksonów. Zwyrodniałe komórki znajdowano głównie w tworze siatkowatym. Najwięcej w jądrze olbrzymiokomórkowym, mniej w jądrze przyolbrzymiokomórkowym i małokomórkowym. Komórki jąder szwu (bladego i wielkiego) były zarówno uszkodzone mechaniczne, jak i zwyrodniałe.

▪ W eksperymentach ostrych przy normalnym napędzie oddechowym zanik aktywności nerwów przeponowych i nerwów międzyżebrowych wewnętrznych (wydechowych) po cięciach lub serii lezji na odcinku od ok. –5 do +3 mm względem zasuwki obserwował Sears [1966], Bainton i wsp. [1978], Bainton i Kirkwood [1979].

Aktywności obu nerwów można było odtworzyć podnosząc poziom PaCO_2 do 50–60 Tr. Badacze stwierdzili, że zarówno aktywność nerwów wdechowych, jak i wydechowych można wyeliminować selektywnie poprzez cięcie odpowiednio: powyżej i poniżej zasuwki. Po cięciu od zasuwki do poziomu C1 zanikała wyłącznie wydechowa aktywność nerwów międzyżebrowych.

Bainton i wsp. [1978] na ryc. 10b pokazali, że u kota, nawet przy nieco obniżonym napędzie chemicznym ($\text{PaCO}_2=31.5$ Tr) po cięciu od –2 do +3 mm względem zasuwki można wyeliminować aktywność nerwów przeponowych, podczas gdy nerwy międzyżebrowe wewnętrzne (wydechowe) pozostają rytmicznie aktywne. Rycina pokazuje, że w wyniku cięcia amplituda aktywności nerwów międzyżebrowych nie zmieniła się, podczas gdy częstość salw spadła o ok. 20%. Zdaniem autorów dowodzi to, że cięcie na odcinku (–2,+3.0) nie zatrzymuje generacji rytmu, a tylko przerywa

zstępujące szlaki do neuronów ruchowych przepony; szlaki do neuronów ruchowych mięśni międzyżebrowych pozostają po cięciu nienaruszone.

- Kawasaki [1979] badał efekty rozszczepienia pnia mózgu u minoga⁸. Interesującą cechą układu oddechowego tego pierwotnego kręgowca jest wyłącznie synergistyczne działanie mięśni oddechowych. Ich skurcz powoduje "wytłoczenie" wody ze skrzel. Napełnienie worków skrzelowych odbywa się dzięki siłom sprężystości. Cięcie w linii pośrodkowej pnia mózgu minoga wywołało asynchroniczne ruchy oddechowe po przeciwnych stronach ciała. Asynchroniczna była również aktywność neuronów oddechowych rejestrowana jednocześnie po lewej i prawej stronie opuszki.
- Gromysz i Karczewski [1981 b] badali zwiotczone, sztucznie wentylowane króliki z obustronnie przeciętymi nerwami błędnymi.

Rejestrowano aktywności obu nerwów przeponowych. Cięcia pnia mózgu wykonano w linii pośrodkowej za pomocą fragmentu żyłki zamocowanej w mikromanipulatorze. Autorzy wyróżnili dwie grupy zwierząt. Pierwszą grupę tworzyło 7 królików, u których po cięciu doszło do desynchronizacji aktywności lewego i prawego nerwu przeponowego. U poszczególnych zwierząt cięcie miało zakres⁶: (0,+4); (-1,+7); (-1,+4.5); (0,+9); (0,+7); (-1,+7.2); (-3,+5) (patrz ryc. 3A Gromysz i Karczewski -1981 a,b).

Najkrótsze z cięć miało długość 4 mm i zakres od zasuwki do 4 mm dogłowo od zasuwki. Druga grupa (ryc. 3B Gromysz i Karczewski -1981 b) obejmowała zwierzęta u których cięcie nie pokrywało w całości odcinka (0,+4mm) lub było nieciągłe, tj. pozostawiono małe mostki tkanki nerwowej łączące obie połowy opuszki. W drugiej grupie królików desynchronizacja nie wystąpiła. Autorzy wyciągnęli wniosek, (cyt. str. 239 z w/w pracy tłum.

8. Minóg – typ strunowce, podtyp kręgowce, gromada bezszczękowce. Układ oddechowy minoga składa się z 7 par otworów skrzelowych prowadzących do workowatych skrzel.

z ang.), że "istnieją dwie stosunkowo niezależne sieci oddechowe w obu połówkach opuszki i że ich synchroniczna aktywność zależy od nienaruszonych wzajemnych połączeń na poziomie od obexu do kaudalnej części jądra n. VII".

▪ Jeżeli u królików z pierwszej grupy po cięciu w linii pośrodkowej wykonano jednostronne cięcie poprzeczne – hemisekcję [Gromysz i Karczewski – 1981a] na poziomie od +6 do +8.5 mm powyżej obexu (ryc. 3A w w/w pracy), to aktywność nerwu przeponowego po stronie cięcia zanikała. Można ją było jednak stosunkowo łatwo wywołać ponownie gdyż, (cyt. str. 228 z pracy j.w. tłum. z ang.) "podczas ciągłej stymulacji elektrycznej nerwu błędnego (zarówno ipsi- jak i kontralateralnego) po kilku sekundach aktywność ulegała odtworzeniu na czas stymulacji". Częstość stymulacji wynosiła 10 do 30 impulsów na sekundę. W drugiej grupie, (w której cięcie było niedostateczne, aby wywołać desynchronizację) hemisekcje zlokalizowane bardziej rostralnie niż 1.5 mm od obexu nie zatrzymywały aktywności nerwu przeponowego po stronie cięcia, a tylko redukowały jej amplitudę.

▪ Gromysz i Karczewski [1982] zbadali również efekty rozszczepienia pnia mózgu u małp i stwierdzili, że (cyt. tłum. z ang. z w/w pracy)" w obu udanych eksperymentach na małpach, cięcie w linii pośrodkowej rozciągające się od poziomu tuż kaudalnie do 7 mm rostralnie od obexu natychmiast wywołało niezależne odpalenie w obu nerwach przeponowych". W tych samych warunkach eksperymentalnych u kotów [Gromysz i Karczewski – 1982] cięcie od 2 mm kaudalnie do 2 mm rostralnie względem zasuwki w normokapnii eliminowało aktywność n. Ph. W hiperkapnii (ok. 65 Tr) pojawiała się ona ponownie i była wciąż synchroniczna.

W drugiej grupie kotów cięcia w linii środkowej w całości wykonano dogłównowo od zasuwki (zakres patrz fig. 1. Gromysz i Karczewski –1982). Cięcia

takie spowodowały (nieodwracalny za pomocą hiperkapnii) zanik aktywności nerwów przeponowych. Ich (wciąż synchroniczną) aktywność przywracała dopiero głęboka asfiksja przy wartościach PaCO_2 rzędu 85 Tr i PaO_2 rzędu 30 Tr. Po podobnych lub rozleglejszych rostralnie (bo przez cały most) cięciach zdaniem Salmoiraghiego i Burnsa [1960b] koty oddychały spontanicznie, jednak autorzy nie prowadzili badań gazometrycznych.

W dalszych badaniach na kotach Gromysz i Karczewski [1984] oprócz obu nerwów przeponowych rejestrowali zewnątrzkomórkowo aktywność neuronów oddechowych brzusznej grupy oddechowej i eferentną (–odśrodkową) aktywność nerwu błędnego. Cięcia w granicach od –2 do +2 mm względem zasuwki eliminowały wszystkie te aktywności, a hiperkapnia przywracała je. Te rezultaty wraz z wynikami uzyskanymi w poprzedniej pracy doprowadziły do konkluzji, że (cyt. tłum. z ang. str. 232 z pracy Gromysza i Karczewskiego –1984) ”rytmogeneza oddychania u kotów zależy w dużym stopniu od połączeń wewnątrzpuszkowych, szczególnie tych które przekraczają linię pośrodkową na poziomie od +2 do +8 mm powyżej obexu”.

▪ Rozszczepienie pnia mózgu wykonano również u psów [Kreidl –1899, Gromysz i wsp. –1986]. W obu pracach stwierdzono asynchroniczną aktywność oddechową po obu stronach ciała. Autorzy byli również zgodni co do faktu występowania u psa silnego krwawienia w czasie cięć, związanego zapewne z topografią naczyń krwionośnych opuszki u tego gatunku. Gromysz i wsp. [1986] uznali za błędną sugestię Kreidla [1899], że krwawienie może być czynnikiem sprzyjającym niezależnej aktywności ośrodków oddechowych po obu stronach pnia mózgu.

1.5 Różnice gatunkowe w efektach oddechowych cięć w linii pośrodkowej.

Przedstawione w poprzednim paragrafie dane wskazują, że w piśmiennictwie istnieje pełna zgodność poglądów, co do możliwości wywołania obustronnie asynchronicznej aktywności nerwów oddechowych u królika. Niewiele odbiegają od siebie doniesienia o lokalizacji koniecznego cięcia.

Zdaniem Langendorffa i wsp. [1881] było to od obexu do 2 mm rostralnie (pomiar na mózгах odwodnionych przez przechowywanie w spirytusie), Rijlant [1937] określił zakres cięcia na od -1 do +2 mm, Gromysz i Karczewski [1981 b] na od 0 do +4 mm.

Ważna ze względów metodycznych i interpretacyjnych była obserwacja Gromysza i Karczewskiego [1981 b], że nerwy przeponowe pozostają synchronicznie aktywne, gdy w obrębie cięcia pozostają małe "mostki" tkanki nerwowej łączące obie połowy opuszki.

Desynchronizację wywołano również u małp [Gromysz i Karczewski, 1982], psów [Kreidl -1899, Gromysz i wsp. -1986] i pierwotnego kręgowca minoga [Kawasaki -1979]. Wyraźnie odmienne były wyniki uzyskiwane na kotach. U kota cięcie w linii pośrodkowej nie powodowało desynchronizacji lecz zanik aktywności nerwów przeponowych .

Próbie sprawdzenia, co leży u podstaw różnic gatunkowych podjęli St. John [1982, 1983], Kubin [1983], Kubin i wsp. [1987]. Wyszunęli oni hipotezę, że zanik aktywności nerwów przeponowych nie musi oznaczać zatrzymania generacji rytmu, lecz może być efektem przerwania połączeń między neuronami przedruchowymi a neuronami ruchowymi przepony. Aby to sprawdzić, rejestrowali obustronnie aktywność nerwów krtaniowych zwrotnych. Neurony ruchowe których aksony tworzą ten nerw zlokalizowa-

ne są wzdłuż całej kolumny jądra dwuznacznego aż do doogonowej części jądra zatwarzowego [Furstenberg i Magielski 1955, Fleiger 1971, Wyke i Kirchner 1977, Kubin – 1981]. Źródło pobudzenia tych neuronów ruchowych nie jest do końca wyjaśnione. Kubin [1983] na podstawie analizy korelacyjnej zlokalizował je w BGO po tej samej stronie co neurony ruchowe [Kubin – 1981]. W warunkach podwyższonego napędu chemicznego St. John [1983], Kubin [1983], Kubin i wsp. [1987] zaobserwowali asynchroniczne salwy nerwów krtaniowych zwrotnych przy milczących nerwach przeponowych. Autorzy wyciągnęli wniosek, że kot jest w stanie generować asynchroniczne rytmy oddechowe i że nerwy krtaniowe mogą być bardziej wiarygodnym wskaźnikiem generacji rytmu niż nerwy przeponowe.

Zdaniem St. Johna [1983] cięcia prowadzące do desynchronizacji aktywności nerwów krtaniowych zawsze eliminowały aktywność nerwów przeponowych. Inną bardzo ważną obserwację poczynili Kubin, Lipski i Trzebski [1987]. U jednego kota stwierdzili, że po cięciu, które rozsynchronizowało nerwy krtaniowe zwrotne i wyeliminowało aktywność nerwu przeponowego, zastosowanie asfiksji (wyłączenie pompy) przywróciło aktywność nerwu przeponowego. Można przypuszczać, że gdyby w tym eksperymencie badacze rejestrowali aktywność obu nerwów przeponowych, to byłyby one asynchroniczne. Autorzy wyciągnęli wniosek, że (cyt. tłum. z ang. z w/w pracy) "różnica pomiędzy kotem, a królikiem polega głównie na proporcji nieskrzyżowanych i skrzyżowanych szlaków oddechowych. Symetria i obustronna organizacja połączeń, które są niezbędne do generacji rytmu wydaje się być podobna u obu gatunków"⁹.

Powyzsze obserwacje zainspirowaly mnie do zbadania mozliwosci wywołania asynchronicznej aktywności nerwów przeponowych u kota

9. cyt. str. 725 z pracy Kubin, Lipski i Trzebski – 1987

i w razie powodzenia sprawdzenia, czy aktywności te mają te same cechy co, u królików. Pozytywny wynik potwierdziłby wnioski Kubina, Lipskiego i Trzebskiego [1987]. Istotne rozbieżności w odpowiedzi na cięcia pomiędzy kotem a innymi gatunkami Karczewski i Gromysz - 1982 (w tym, co najważniejsze małpą - Gromysz i Karczewski - 1982) mogłyby sugerować, że istnieją również poważne różnice w organizacji generatora oddychania u kota i człowieka. Ponieważ głównym celem badań na zwierzętach jest ich odniesienie do człowieka, a prawie cała eksperymentalna neurofizjologia oddychania oparta jest o wyniki otrzymane na kotach, stawiałoby to pod znakiem zapytania sens prac na kotach. Ponadto poprzez jednoczesną rejestrację nerwów przeponowych i krtaniowych zwrotnych chciałem zbadać, czy po rozszczepieniu pnia mózgu aktywność nerwów krtaniowych ma charakter wdechowy, czy wydechowy (czy może różny po obu stronach). Prawdopodobne są wszystkie te możliwości, gdyż nerw krtaniowy zwrotny posiada włókna zaopatrujące kilka mięśni (w tym antagonistyczne). Główne z nich to: mięsień pierścienno nalewkowy tylny¹⁰ aktywny w fazie wdechu, mięsień pierścienno nalewkowy boczny¹¹ - zwiększający stopniowo napięcie od początku wydechu i rozluźniający się nagle przed rozpoczęciem wdechu, mięsień tarczowo nalewkowy¹² - wykazujący nagły wzrost aktywności na początku wydechu i później stopniowo obniżający napięcie [Sasaki i Suzuki -1976]. Ponieważ nerw krtaniowy dolny może być aktywny zarówno we wdechu, jak i wydechu, w proporcjach zależnych od warunków eksperymentu, używanie go jako wskaźnika ośrodkowej

10. Musculus cricoarytenoideus posterior jest odwodzicielem (abduktor) strun głosowych. Powoduje otwarcie szpary głośni.

11. Musculus cricoarytenoideus laterali jest przywodzicielem (adduktor) współdziałającym przy zamykaniu szpary głośni.

12. Musculus thyroarytenoideus jest przywodzicielem współdziałającym przy zamykaniu szpary głośni.

aktywności wdechowej po rozszczepieniu pnia mózgu może być mylące. Istnieje obawa (potwierdzona obserwacjami doświadczalnymi), że po cięciu jeden nerw będzie miał aktywność przeważnie wdechową, a drugi wydechową, co może być błędnie zinterpretowane jako brak synchronizacji pomiędzy stronami. Drugą niedogodnością jest fakt, że nerwy te wyodrębniają się z nerwów błędnych dopiero w klatce piersiowej, co utrudnia wykonanie wagotomii. Zachowanie sprzężenia zwrotnego z płuc uniemożliwia zbadanie naturalnych rytmów rozdzielonych subgeneratorów oraz ich wzajemnych sprzężeń. Dlatego oprócz nerwu krtaniowego dolnego rejestrowałem aktywność gałęzi policzkowo – wargowej nerwu twarzowego. Posiada ona wyraźną modulację oddechową (Bystrzycka i Nail [1983]); na początku wdechu aktywność osiąga maksimum , po czym utrzymuje się na stałym poziomie i spada. Aktywność wydechowa jest wyraźnie inna (obserwacje własne), gdyż wolno narasta w czasie całego wydechu (lub osiąga plateau w drugiej jego części).

1.6 Generacja aktywności periodycznej w wydzielonych fragmentach ośrodkowego układu nerwowego.

Najstarszą i najczęściej używaną techniką lokalizowania struktur generujących rytm oddechowy jest chirurgiczne wydzielenie fragmentów centralnego układu nerwowego i sprawdzenie, czy w warunkach izolacji nadal generuje on aktywność periodyczną.

Metoda ta może prowadzić do błędów, gdyż struktury mające autentyczne własności generatora mogą je utracić na skutek odcięcia dopływu pobudzeń

tonicznych. Z drugiej strony, mechaniczne i ischemiczne uszkodzenie neuronów w obrębie cięcia często prowadzi do ich wyładowań tonicznych. Taka patologiczna aktywność w połączeniu z wpływem pobudzających środków farmakologicznych może powodować rytmiczne pobudzenie motoneuronów nerwów oddechowych (za pośrednictwem sieci neuronów pośredniczących) przez oscylatory nie związane z oddychaniem, lub takie, które w warunkach fizjologicznych nie pracują.

Chirurgiczne oddzielenie rdzenia kręgowego od opuszki nie eliminuje rytmicznej aktywności oddechowych gałęzi nerwów czaszkowych: n. V, n. VII, n. X i n. XII-tego [St. John i wsp. -1981, St. John i Bledsoe -1985]. Jednocześnie periodycznie aktywne są nerwy przeponowe [Coglianese i wsp. 1977, Aoki i wsp. -1980] poniżej cięcia.

Po oddzieleniu mostu od opuszki [St. John i Bledsoe -1985] powyżej cięcia obserwowano periodyczną aktywność gałęzi n. V, a poniżej periodyczną aktywność nerwów przeponowych.

W tych badaniach używano jednak stymulacji farmakologicznej jako substytutu pobudzeń tonicznych ze strony oddzielonych struktur. Wobec zupełnego chirurgicznego rozdzielenia mostu od opuszki, jądro ruchowe n. V i jądra nerwu przeponowego nie mogły być sterowane przez ten sam generator aktywności periodycznej.

Wyżej wymienione rytmiczne salwy nerwu V czy przeponowego (odpowiednio: w izolowanym moście [St. John i Bledsoe -1985] i rdzeniu kręgowym [Coglianese i wsp. 1977, Aoki i wsp. -1980]) wskazują, że w obrębie tych struktur pracuje generator lub generatory aktywności periodycznej [Viala i Vidal -1978, Viala i wsp. -1979, Viala i Freton -1983]. Nie ma jednak dowodów [por. Webber i Pleschka -1983], że są to te same generatory, które odpowiadają za rytmikę oddechową w warunkach fizjologicznych. Obser-

wowana aktywność nerwów oddechowych jest nieregularna, a czas jej występowania jest ograniczony [Aoki i wsp. 1980]. Szybkość narastania i kształt zintegrowanych sygnałów różni się od obserwowanych w warunkach fizjologicznych. Można przypuszczać, że fazowa aktywność n. V była wtórna do znajdującego się w moście generatora żucia [Dellow i Lund, 1971], natomiast aktywność nerwów przeponowych była sterowana rytmiczną aktywnością generatora ruchów lokomocyjnych [Viala i wsp.- 1979, Viala i Freton - 1983, Viala i Viala -1978].

W odróżnieniu od przedstawionych wyżej preparatów zredukowanych jest mało prawdopodobne, aby mechanizmy generacji w każdej z połówek rozszczepionego pnia mózgu były inne niż w preparacie nienaruszonym.

Wobec faktu, że Gromysz i Karczewski - [1981b] wykazali, iż każda z rozdzielonych sieci jest w stanie periodycznie pobudzać nerwy przeponowe i wyciągnęli wniosek (cyt. tłum. z ang. str. 239 z w/w pracy), że "są dwie stosunkowo niezależne sieci oddechowe w obu połowach opuszki", koniecznym do zbadania wydało mi się zagadnienie: w jakim stopniu własności funkcjonalne każdej z rozdzielonych sieci są podobne do własności kontrolera nienaruszonego? Za pierwszoplanowe uważałem znalezienie odpowiedzi na pytania.

- I) Czy funkcjonalna charakterystyka aktywności nerwu przeponowego (kształt zintegrowanej aktywności¹³, amplituda¹⁴) i parametry rytmu oddechowego (T_I , T_E , f) są podobne po cięciach do sytuacji kontrolnej?
- II) Czy zachowane są odruchy oddechowe (np. odruchy z mechanoreceptorów płuc, odruchy krtańowe (np. odruch ochronny, odruch na ujemne ciśnienie)?)

13. Kształt (nachylenie) zintegrowanych sygnałów obrazuje ewolucję napięcia mięśnia w czasie.

14. Amplituda zintegrowanego sygnału jest proporcjonalna do objętości oddechowej [Eldridge -1971, -1975].

- III) Czy podobnie jak w kontroli nerwy zaopatrujące pomocnicze mięśnie oddechowe są rytmicznie aktywne ?
- IV) Czy desynchronizacja oznacza niezależną aktywność po obu stronach, czy może związki fazowe między stronami nie są przypadkowe ?

Rezultaty eksperymentów mających na celu znalezienie odpowiedzi na te pytania opisane są w rozdziale czwartym – "Wyniki".

Ze względów merytorycznych przy cięciach trzeba przyjąć jedną z dwu strategii.

- a) Przerwać cięcia po uzyskaniu asynchronicznej aktywności n. Ph. Można wtedy na podstawie badania histologicznego precyzyjnie ustalić zakres cięcia konieczny do desynchronizacji.
- b) Kontynuować cięcia pomimo uzyskania desynchronizacji.

Strategię a) zastosowano tylko w stosunku do 7 królików i 4 kotów. W pozostałych eksperymentach jednolicie wykonano cięcia o zasięgu (-4, +11mm)¹⁵, gdyż porównywanie wyników przy innej długości cięcia w każdym eksperymencie mogłoby budzić wątpliwości. U 8-miu królików przecięto cały pień mózgu¹⁶. U czterech zwierząt ponadto przecięto międzymózgowie (diencephalon), w tym skrzyżowanie wzrokowe (chiasma opticum) i kresomózgowie (telencephalon) w tym ciało modzelowate (corpus callosum).

Na pytania I)–III) uzyskano odpowiedź twierdzącą, co wskazuje, że własności sieci oddechowych w każdej z połówek pnia mózgu są funkcjonalnie podobne do własności kontrolera nienaruszonego i dlatego można mówić, że w każdej z rozdzielonych sieci znajduje się subkontroler oddychania.

15. Cięcie takie obejmuje zakres od skrzyżowania piramid do rostralnej części jądra ruchowego n. V; odpowiada to w atlasie królika Shek i wsp. [1986] planszy nr 96.

16. Pień mózgowia (truncus encephalicus), tj. rdzeń przedłużony, most i śródmózgowie. Niektórzy anatomicy do pnia mózgu zaliczają, również międzymózgowie, a nawet jądra kresomózgowia, – wg. Ilustrowanego Słownika Mianownictwa Anatomicznego (str.274, poz. 15) – H. Feneis –1991, P.Z.W.L wyd. III. Patrz też A. Bochenek i M. Reicher "Anatomia Człowieka" tom 4, wydanie II, P.Z.W.L., 1981, str. 122.

1.7 Inflacyjny odruch Breuera-Heringa i odruchy krtaniowe.

Odruch z wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc /PSR/ odgrywa u zwierząt (a także noworodków i dzieci) istotną rolę w kształtowaniu wzorca oddechowego [Bystrzycka i wsp. - 1972, Bystrzycka i Huszczuk - 1973, Winning i Widdicombe, 1976, Trenchard - 1977, Karczewski i wsp. - 1980a, b]. Fizjologicznym bodźcem aktywującym mechanoreceptory jest rozciągnięcie płuc w wyniku wzrostu ich objętości w czasie wdechu (tj. inflacja płuc) [Adrian, 1933]. Pobudzenie wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc zależy przede wszystkim od ciśnienia transpulmonalnego [Davis i wsp. - 1956, Grotek i wsp. - 1975].

Pobudzenie PSR w czasie wdechu prowadzi do skrócenia czasu wdechu i torowania wydechu. Jest to tzw. inflacyjny odruch Breuera-Heringa [Breuer - 1868 wg tłumaczenia ang. 1970, Hering - 1868 wg tłumaczenia ang. 1970]. Utrzymujące się pobudzenie PSR w czasie wydechu powoduje przedłużenie wydechu [Kiczka - 1968]. W warunkach fizjologicznych do takiego pobudzenia dochodzi, gdy opróżnianie się płuc jest opóźnione na skutek czynnego wzrostu oporów krtani.

Fizjologiczna rola odruchu z PSR polegać ma na takim dopasowaniu częstości i głębokości oddychania do własności mechanicznych układu oddechowego, by wymaganą wentylację minutową uzyskać przy minimalnej pracy oddechowej [Yamashiro i wsp. - 1975].

Wolno adaptujące mechanoreceptory płuc są czuciowymi zakończeniami najgrubszych włókien nerwu błędnego¹⁷. Opisane wyżej odpowiedzi odruchowe można wywoływać poprzez stymulację elektryczną tego nerwu.

17. Włókna zmielinizowane typu A o szybkości przewodzenia 14-51 m/s.

Należy przy tym tak dobrać parametry stymulacji by jednocześnie nie pobudzać [*Karczewski i wsp. - 1980a -1980b*] cieńszych zmielinizowanych włókien z receptorów podnabłonkowych (szybko adaptujących) i cienkich niezmielinizowanych włókien receptorów typu J tkanki płucnej i receptorów typu C oskrzeli.

Odruchy ochronne krtani wywołane są drażnieniem mechanicznym lub chemicznym śluzówki krtani. Odpowiedzią u zwierząt i ludzi [*Biscoe i Sampson - 1970, Sasaki i Suzuki - 1976, Sutton i wsp. -1978, Iscoe i wsp. -1979*] jest zatrzymanie oddychania [*Donnelly i Haddad -1986, Lawson - 1981*] i zamknięcie światła krtani poprzez skurcz trzech warstw zwieraczy [*Pressman i Kelman - 1955*]. Mechaniczna skuteczność odruchu obronnego zapewniona jest dzięki dużej szybkości skurczu mięśni. Symptomatyczne jest to, że tzw. fałd nalewkowo-nagłośniowy tworzący najbliższy od strony gardła zwieracz zewnętrzny zawiera mięsień tarczowo-nalewkowy. Mięsień ten jest drugim po mięśniu prostym przyśrodkowym gałki ocznej (*m. rectus medialis*), najszybciej kurczącym się, mięśniem prążkowanym organizmu [*Hast - 1977*].

Identyczna odpowiedź odruchowa, tj. zatrzymanie aktywności w nerwach wdechowych i skurcz krtani występuje u zwierząt i ludzi [*Sasaki i Buckwalter - 1984 Ikari i Sasaki - 1980*] w wyniku stymulacji elektrycznej nerwu krtaniowego górnego. Zatrzymanie oddychania występuje zawsze, a skurcz krtani tylko w niektórych warunkach eksperymentalnych.

U ludzi odruchowa aktywacja włókien eferentnych do mięśni przywodzących krtani w odpowiedzi na jednostronną stymulację aferentów biegnących w nerwie krtaniowym górnym pojawia się wyłącznie ipsilateralnie, z latencją 25 ms [*Sasaki i Buckwalter 1984*]. U zwierząt odruch jest obustronny. Wielkość aktywacji mięśni przywodzących spada w warunkach

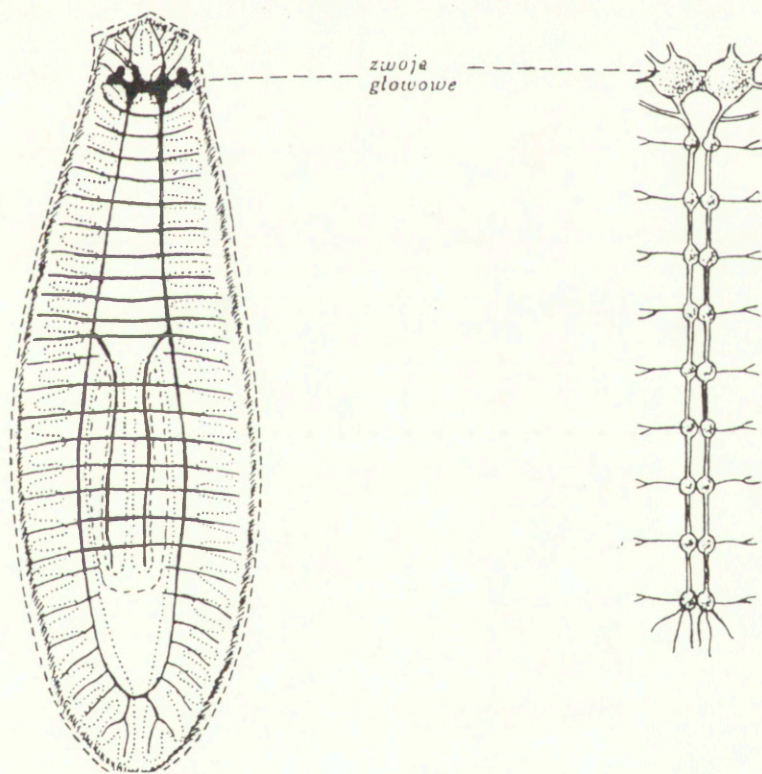
hipoksji oraz przy pogłębianiu narkozy. W badaniach klinicznych obserwowano spontaniczny zanik skurczu krtani wraz ze wzrostem hipoksji.

Bardzo ważnym odruchem krtaniowym jest odruchowa odpowiedź na podciśnienie w obrębie krtani. Spadek ciśnienia wywołany próbą wykonania wdechu przy zamkniętych górnych drogach oddechowych (np. w czasie epizodu obturacyjnego bezdechu sennego) prowadzi do pobudzenia znajdujących się w krtani receptorów wrażliwych na podciśnienie i odruchowy spadek szybkości narastania aktywności n.Ph, zwolnienie rytmu poprzez wzrost T_I i T_E oraz wzrost aktywności mięśni górnych dróg oddechowych (*Mathew i wsp.* -1982).

Opisane odruchy są wszechstronnie przebadane i dobrze nadają się do porównania po rozszczepieniu pnia mózgu. Wykazanie, że po rozdzielnie połówek pnia mózgu odruchy te są zachowane w niezmienionej formie, wskazywałoby, że subgenerator w każdej połowie z osobna stanowi funkcjonalną całość podobną do generatora nienaruszonego

1.8 Funkcjonalne konsekwencje podwojenia struktur generujących wzorzec oddychania.

Korzyści funkcjonalne z podwojenia struktur neuronalnych kontrolujących ruchy kończyn czy mięśni posturalnych są oczywiste. Wykonywanie skomplikowanych ruchów wymaga skoordynowanego działania mięśni po lewej i prawej stronie ciała. Narastająca w rozwoju filogenetycznym (por. objaśnienie ryc.1.5) liczba połączeń neuronalnych między stronami doprowadziła do sytuacji, że o strukturach nerwowych znajdujących się po lewej i prawej stronie ciała myślimy jako o jedności.



Ryc. 1.5. Układ nerwowy a) robaka płaskiego wirka (*Turbellaria*) i b) pierścienic (*Anneliola*). U pierścienic w głowowej części ciała znajdują się cztery zwoje. U pierścienic niższych zwoje w poszczególnych segmentach są rozdzielone tworząc wraz z odchodzącymi od nich włóknami nerwowymi charakterystyczną drabinkę. U pierścienic wyższych dwa, prawy i lewy, brzuszne segmentalne zwoje nerwowe zbliżają się do siebie i zrastają z sobą w każdym segmencie; w ten sposób całość ich układu tworzy pojedynczy brzuszny łańcuch nerwowy, tak jak to pokazano na prawej części rysunku (rys i opis wg Bochenka i Reichera - "Anatomia człowieka" t. VI)

Mniej oczywista i może dlatego zupełnie pomijana w badaniach eksperymentalnych jest potrzeba i możliwość (choćby w małym stopniu) niezależnej kontroli mięśni oddechowych po obu stronach ciała. Poza wynikami własnymi przedstawionymi w rozdziale 4.9 nie znalazłem w piśmiennictwie doniesień o obustronnych rejestracjach aktywności mięśni czy nerwów oddechowych, które byłyby z oddechu na oddech niesymetryczne. Nieliczne są również obserwacje wizualne dotyczące asymetrii. Sasaki i Buckwalter [1984] obserwowali jednostronny skurcz krtani u ludzi w czasie jednostronnej stymulacji nerwu krtaniowego górnego. Alexander [1966] u 6% zdrowych ludzi stwierdził paradoksalny ruch (w górę) jednej (znamiennie statystycznie prawej) połowy przepony przy gwałtownym zaczerpnięciu powietrza (tzw. sniff test).

Struktury układu oddechowego bezpośrednio zaangażowane w proces wentylacji nie są symetryczne (zostanie to przedyskutowane dalej). Dlatego sądzę, że pełna symetria "sygnałów sterujących" mięśniami oddechowymi byłaby, z punktu widzenia optymalizacji pracy układu, niecelowa.

Z tego powodu można się spodziewać, że w pewnych sytuacjach dochodzi do zróżnicowania aktywności w nerwach oddechowych po lewej i prawej stronie ciała, nawet w warunkach zachowanych połączeń sprzęgających oba kontrolery (por. rozdz. 4.9). Jest to tym bardziej prawdopodobne, że istnieje substrat neuronalny do takiej zróżnicowanej kontroli w postaci dwu subkontrolerów (por. rozdz. 1.4 i Gromysz i Karczewski -1981b).

Najważniejszy mięsień oddechowy – przepona jest niesymetryczny. Lewą i prawą część przepony cechuje różna ruchomość. Najsilniejsza – lędźwiowa część przepony rozpoczyna się dwiema odnogami. Odnoga prawa (crus dextrum) jest szersza, dłuższa i silniejsza od odnogi lewej. Przyczepia się ona do trzech pierwszych kręgów lędźwiowych, podczas gdy

mniejsza odnoga lewa (crus sinistrum) do dwóch kręgów. Rozwory: aortowy, przełykowy i żyły głównej dolnej oraz szereg mniejszych otworów nie są rozmieszczone symetrycznie. Część prawa środka ścięgniętego przepony jest większa od części lewej¹⁸. U człowieka lewa część przepony umiejscowiona jest niżej i wykonuje ruchy o większej amplitudzie niż część prawa [Wade -1954]. Dolna prawa część klatki piersiowej przemiesza się nieco bardziej niż lewa.

Lewe płuco składa się z dwu płatów, a prawe z trzech, prowadzi to do asymetrii objętości oddechowych między płucami. Ponadto stopień tej asymetrii zależy od pozycji ciała. Na przykład przy przejściu od położenia na grzbiecie do pozycji na brzuchu lokalizacja i kształt płuc zmieniają się. Po niektórych urazach lub zabiegach chirurgicznych, chorobach, czy przy wadach wrodzonych asymetria, zarówno eferentacji jak i aferentacji z aparatu oddechowego, nie budzi wątpliwości. Stosowana w pierwszej połowie naszego wieku metoda leczenia gruźlicy poprzez założenie odmy prowadziła do zapadnięcia się jednego płuca i wyłączenia go z ruchów oddechowych. Wywoływano także sztuczne porażenie przepony poprzez zmiążdzenie jednego nerwu przeponowego. W efekcie rozluźniona przepona unosiła się do góry, co powodowało zmniejszenie objętości klatki piersiowej i zapadnięcie się jednego płuca.

Różnice między stronami wynikają także z lokalizacji serca, śledziony i wątroby. Wątroba dorosłego mężczyzny waży od 2 do 2.5 kg i całkowicie wypełnia sklepienie przepony po stronie prawej. Wątroba przylega do przepony i jest częściowo z nią zrośnięta, dlatego wykonuje wszystkie ruchy wraz z przeponą, tj. przy głębokim wydechu przesuwana się ku górze wpuklając się w obręb podżebrza, a we wdechu zstępuje ku dołowi. W rezultacie w

18. Według "Anatomii Człowieka" (red. W. Sylwanowicz wyd. II 1974 str. 190)

pozycji stojącej przy wykonywaniu gwałtownego wdechu lewa i prawa połowa przepony nie są jednakowo napięte i obciążone.

Proporcje napięcia i ruchomości każdej ze stron przepony zmieniają się nagle po przyjęciu pozycji leżącej. W położeniu na boku (szczególnie prawym) dolna, (tj. bliższa podłoża) połowa przepony położona jest wysoko w klatce piersiowej, podczas gdy górna nisko (por. fig. 5 i 11 Wade i Gilson – 1951). W efekcie w czasie wdechu, ruchy górnej i dolnej połowy są asymetryczne. Pewne zmiany w geometrii przepony obserwowane przy zmianie położenia ciała z prawego na lewy bok wynikają z faktu, że serce i wątroba pod wpływem swego ciężaru silniej mogą przesuwac się w lewo niż w prawo i w ten sposób różnie wpływać na położenie przepony.

W pozycji leżącej na boku obserwuje się wyraźnie asymetryczny ruch żeber. W połowie klatki piersiowej przylegającej do podłoża żebra są praktycznie unieruchomione i dlatego tym bardziej poruszają się po stronie przeciwnej. W tym kontekście symptomatyczne jest, że przy jednostronnej bolesności klatki piersiowej wywołanej np. zapaleniem opłucnej, chorzy starają się leżeć na stronie bolącej, co zmniejsza ruchomość żeber i dolegliwości. Można się spodziewać, że konsekwencją w/w asymetrii anatomicznych jest zróżnicowana między stronami aferentacja z proprioceptorów mięśni międzyżebrowych.

Asymetria w efektach działania bodźców aferentnych nie musi być jedynie skutkiem obustronnych różnic w budowie anatomicznej. Cross, Guz i Jones [1981] w badaniach wykonanych na psach z oddzielnie zaintubowanym i wentylowanym lewym i prawym płucem wykazali, że zmiany końcowo-wydechowego ciśnienia w prawym płucu silniej wpływają na czas wydechu niż takie same zmiany w płucu lewym. Było to zgodne z obserwacjami Saris i wsp. [1948] oraz Culver i Rahn [1952], którzy wykazali,

że blokada albo przecięcie prawego nerwu błędnego zmniejsza odpowiedź oddechową na ucisk klatki piersiowej znacznie bardziej niż przecięcie nerwu lewego. Wyniki te potwierdzają, że informacja aferentna przekazywana do kontrolera oddechowego nie zawsze jest symetryczna.

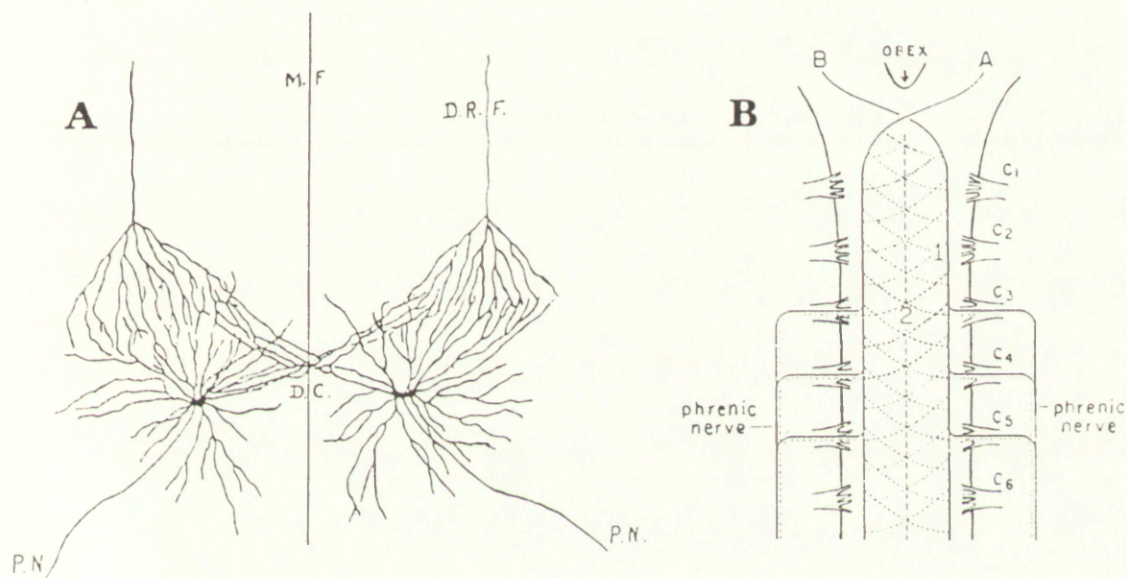
Generalną zasadą biologiczną jest realizacja funkcji fizjologicznych przy minimalnym wydatku energetycznym. Dla układu oddechowego oznacza to osiągnięcie wymaganej wentylacji przy jak najmniejszej pracy mięśni oddechowych [Otis i wsp. -1950, Mead -1960, Milic-Emili i Petit 1960].

Opisane asymetrie anatomiczne i czynnościowe oraz reguła optymalizacji wentylacji sankcjonują wysunięcie hipotezy, że czynnościową konsekwencją podwojenia centralnego kontrolera oddychania jest częściowo asymetryczna siła skurczu mięśni oddechowych w sytuacjach, gdy daje to zmniejszenie pracy oddechowej.

1.9 Model rozszczepionego pnia mózgu jako narzędzie do badania funkcji szlaków opuszkowordzeniowych skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego.

Istnieją dowody, że aksony zstępujące po jednej stronie rdzenia są w stanie pobudzać neurony ruchowe przepony również po stronie przeciwnej. Przykładem może być tzw. "crossed phrenic phenomenon". Mianem tym określano zjawisko polegające na tym, że po hemisekcji rdzenia na poziomie C1-C3 aktywność ipsilateralnego nerwu przeponowego zanikała, jednakże pojawiała się ponownie po przecięciu nerwu przeponowego po stronie przeciwnej do hemisekcji. Badaniom tego zjawiska poświęcono wiele prac [Lewis i Brookhart - 1951, Rosenbaum i Renshaw - 1949, Seligman i Davies -

1941, Guth –1976, Sigmund i wsp. – 1981]. Autorzy w różny sposób starali się wyjaśnić występowanie aktywności nerwu przeponowego pomimo przerwania ipsilateralnych dróg zstępujących. Porter [1895] założył, że niektóre dendryty komórek ruchowych nerwu przeponowego przechodzą na stronę przeciwną [por. Cameron i wsp.–1983] i tam są pobudzone przez rdzeniowo-opuszkowe aksony neuronów przedruchowych. Ilustruje to rys 1.6 A zaczerpnięty z pracy Portera [1895].



Ryc. 1.6 Próba wyjaśnienia przyczyn obustronnej aktywności nerwów przeponowych pomimo jednostronnego przerwania pobudzających szlaków zstępujących.

A. Neurony po stronie cięcia pobudzone są przez dendryty jądra kontralateralnego (rys. z pracy Portera 1895)

B. Próba wyjaśnienia tego samego zjawiska przez F.L. Cohena – 1973. Autor zakłada, że oddechowe szlaki opuszkowo-rdzeniowe krzyżują się dwukrotnie – po raz pierwszy na poziomie opuszki, a następnie w sposób rozproszony na całej długości rdzenia szyjnego. Rysunek zawiera kilka nieścisłości. Późniejsze badania wykazały że: a) skrzyżowanie wdechowych szlaków zstępujących następuje głównie powyżej zasuwki, b) u kota na poziomie dolnej opuszki krzyżuje się ok. 70% oddechowych włókien opuszkowo-rdzeniowych ok. 30% włókien zstępuje ipsilateralnie do ciał komórek, c) nerw przeponowy u kota utworzony jest z gałęzi 4,5,6-tego nerwu rdzeniowego, d) skrzyżowanie następuje tylko na poziomie C4–C6 (zostało to m.in. wykazane w rozdziale 4.5).

Cohen (F. L.) [1973] uważał, że za skrzyżowane pobudzenie odpowiedzialne są rdzeniowo-opuszkowe aksony neuronów przedruchowych które przechodzą lub dają kolaterale na stronę przeciwną na całej długości rdzenia szyjnego. Pokazano to na rys. 1.6 B.

Model rozszczepionego pnia mózgu jest właściwym narzędziem badawczym do analizy znaczenia czynnościowego skrzyżowanych szlaków rdzeniowych. W szczególności umożliwia on (bez hemisekcji), zróżnicowanie kiedy i jaka część pobudzenia wdechowego dociera do jądra nerwu przeponowego z ipsilateralnej, a jaka z przeciwnej strony opuszki.

Różnicowanie takie jest możliwe, ponieważ desynchronizacja sprawia, że pobudzenie po stronie prawej i lewej dociera do jąder nerwu przeponowego w różnym czasie.

Neurony ruchowe przepony tak jak wszystkie inne neurony ruchowe¹⁹ są czynnie hamowane [Berger, 1979] w czasie swej fazy nieaktywnej, tj. podczas wydechu. Można przypuszczać, że podobnie jak szlaki wdechowe, również szlaki aktywne w czasie wydechu, odpowiedzialne za czynne hamowanie neuronów ruchowych przepony, krzyżują się na poziomie rdzenia i oddziałują na neurony kontralateralne.

Ponieważ przy nierozszczepionym pniu mózgu neurony ruchowe przepony nie generują w okresie wydechu potencjałów czynnościowych wykrycie hamowania synaptycznego wymaga wykonania rejestracji wewnątrzkomórkowych. Ponadto konieczne jest odwrócenie polaryzacji hamujących potencjałów postsynaptycznych poprzez podawanie jonów chloru do wnętrza komórki.

19. Z jedynym wyjątkiem motoneuronów mięśni otwierających żuchwę [Chandler i Goldberg - 1982]

Obserwacje tego typu są znacznie łatwiejsze, gdy neuron ruchowy jest aktywny. Można się spodziewać, że po rozszczepieniu pnia mózgu skrzyżowane hamowanie (ew. zjawisko dysfacylitacji), ze względu na desynchronizację rytmów, może wystąpić w czasie fazy aktywnej jednego z nerwów przeponowych. W efekcie powinno to wywołać zauważalny spadek częstości generowanych potencjałów czynnościowych.

Można się więc spodziewać, że analiza amplitudy i kształtu salwy wdechowej odpowie na pytanie, czy w trakcie jej trwania miało miejsce hamowanie ze strony przeciwnej.

2. CEL PRACY

Celem niniejszej pracy było zbadanie zmian jakie zachodzą w funkcjonowaniu kontrolera oddychania po rozszczepieniu pnia mózgu. Przedmiotem analizy był wzorzec oddechowy przed i po cięciach oraz niektóre odpowiedzi odruchowe.

Powyższy cel realizowano aby zebrać nowe dane dotyczących organizacji ośrodkowego kontrolera oddychania. W szczególności spodziewano się uzyskać dane o funkcjonalnej roli skrzyżowanych połączeń oddechowych pomiędzy rdzeniem przedłużonym, a jądrem nerwu przeponowego.

Badania podzielono na kilka etapów. Przesłanki, którymi kierowano się przy wyznaczaniu kolejnych etapów pracy i ich specyficzne cele zostaną w kolejności chronologicznej omówione w dalszej części tego rozdziału.

Wcześniejsze prace (omówione szczegółowo w rozdz. 1.4) bezspornie dowiodły, że u niektórych gatunków zwierząt możliwe jest wywołanie efektu desynchronizacji rytmów oddechowych oraz określiły zakres niezbędnych do tego cięć. Prace te nie zawierały danych ilościowych o wzorcu oddychania po rozszczepieniu pnia mózgu. Dokumentacja dotycząca aktywności nerwów oddechowych ograniczała się do ryciny przedstawiającej kilka asynchronicznych salw nerwu przeponowego.

"Pilotowa" (patrz rozdział 3.4) seria eksperymentów własnych wykazała, że otrzymanie spójnych pomiędzy sobą danych liczbowych jest faktycznie trudne. Uzyskiwano efekt desynchronizacji, jednak wyniki ilościowe różniły się znacznie w stosunku do wartości kontrolnych i pomiędzy zwierzętami. Wynikało to ze znacznych różnic w stanie zwierzęcia, po tak poważnym zabiegu chirurgicznym jakim jest rozszczepienie pnia mózgu. Dlatego zaistniała potrzeba:

- 1) opracowania takiej techniki wykonywania cięć, która zapewniałaby powtarzalność wyników.

CEL PRACY

W cytowanych w rozdziale 1.4 pracach nie podjęto próby ilościowego opisu parametrów wzorca oddechowego po desynchronizacji i porównania go z sytuacją kontrolną. Nie określono, jakiej liczby salw dotyczy desynchronizacja. Bez odpowiedzi pozostawało pytanie o stopień funkcjonalnego podobieństwa subkontrolera, w każdej z połówek pnia mózgu w stosunku do nienaruszonego kontrolera oddychania. W szczególności dotyczyło to problemu, czy przecięcie szlaków skrzyżowanych znosi odruchy oddechowe, czy może zniszczone włókna nie są istotnymi elementami łuków odruchowych. Rytmu określano mianem "niezależnych" jednak nie było to poparte badaniami mogącymi odpowiedzieć na pytanie, czy faktycznie rozdzielone subgeneratory nie oddziałują wzajemnie na rytm i amplitudę generowanych przez siebie aktywności.

W tej sytuacji należało:

- 2) określić parametry wzorca oddechowego po rozszczepieniu pnia mózgu;
- 3) porównać parametry wzorca oddechowego przed i po cięciach oraz zbadać, czy zachowane są odpowiedzi odruchowe z receptorów płuc i krtani;
- 4) przeanalizować aktywności nerwów oddechowych po przeciwnych stronach ciała, pod kątem wykazania wzajemnych oddziaływań pomiędzy stronami.

Analiza wykazała, że aktywności oddechowe po obu stronach ciała nie są niezależne. Stwierdzono zarówno wzajemny wpływ na amplitudę nerwów przeponowych, jak i na rytm ich aktywności. Oddziaływania pomiędzy stronami muszą mieć swój substrat neuronalny.

Wyniki te stały się podstawą do sformułowania hipotezy, zgodnie z którą:

amplituda i częstość oddychania modulowana jest przez szlaki oddechowe skrzyżowane na poziomie jąder nerwu przeponowego.

CEL PRACY

Weryfikacja tej hipotezy stała się wiodącym celem tej pracy. Użycie modelu rozszczepionego pnia mózgu do badań nad krzyżowaniem się szlaków oddechowych na poziomie rdzenia było szczególnie wskazane. Po przecięciu połączeń nadrdzeniowych substratem neuronalnym obustronnych oddziaływań mogły być **jedynie** włókna opuszkowo-rdzeniowe zstępujące w sposób nieskrzyżowany do poziomu rdzenia i tam dające skrzyżowane kolaterale lub przechodzące na stronę przeciwną. Z tego względu zbadanie oddziaływań pomiędzy stronami w preparacie rozszczepionego pnia mózgu było równoznaczne ze zbadaniem funkcjonalnej roli szlaków oddechowych skrzyżowanych na poziomie rdzenia. Przy tych badaniach wykorzystano unikalną własność modelu rozszczepionego pnia mózgu jaką jest desynchronizacja aktywności oddechowych po przeciwnych stronach ciała. Aktywacja nerwu przeponowego w czasie gdy ipsilateralny subgenerator znajdował się w fazie wydechu (co stwierdzano poprzez rejestrację aktywności nerwów czaszkowych) mogła pochodzić wyłącznie z subgeneratora po przeciwnej stronie i być "transmitowana" poprzez szlaki skrzyżowane na poziomie rdzenia. Podobnie hamowanie aktywności nerwu przeponowego w czasie gdy ipsilateralny subgenerator był w fazie wdechu mogło pochodzić wyłącznie ze strony przeciwnej.

Tą część przedstawionej hipotezy, która mówi o poziomie skrzyżowania szlaków odpowiedzialnych za obustronne oddziaływania pomiędzy subgeneratorami testowano używając metod blokad farmakologicznych i lezji.

W rozdziale 1.5 opisano kontrowersje na temat, czy istnieją różnice w organizacji kontrolera oddychania między kotem a królikiem wyrażające się w jakościowej różnicy w odpowiedzi na rozszczepienie pnia mózgu.

Aby rozstrzygnąć ten problem należało:

- 5) **sprawdzić czy i w jakich warunkach można uzyskać asynchroniczną aktywność nerwów przeponowych u kota.**

CEL PRACY

Wyniki badań preparatu rozszczepionego pnia mózgu były zgodne z modelem zakładającym, że każda z połówek pnia mózgu zawiera funkcjonalnie kompletny subkontroler oddychania. Poprawny model powinien dawać możliwość przewidywania pewnych odpowiedzi układu na bodźce. Jeżeli faktycznie istnieją dwa subkontrolery i dwa systemy przetwarzania bodźców aferentnych, to nawet przy zachowanych połączeniach skrzyżowanych powinna istnieć możliwość obserwacji choćby niewielkich różnic w odpowiedzi każdego z subgeneratorów. W piśmiennictwie brak tego rodzaju danych, dlatego aby sprawdzić i potwierdzić poprawność modelu, postawiono sobie za cel:

- 6) przetestowanie hipotezy, zgodnie z którą funkcjonalną konsekwencją podwojenia struktur generujących wzorzec oddychania jest częściowa niezależność regulacji amplitudy nerwów oddechowych po lewej i prawej stronie ciała.

Hipotezę testowano analizując symetrię odpowiedzi na jednostronne pobudzenie wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc.

 Niektóre wyniki przedstawiono wcześniej w formie publikacji i komunikatów zjazdowych.

1. JANCZEWSKI, W. A., KARCZEWSKI, W. A. (1984). Respiratory effects of pontine, medullary and spinal cord mid-line sections in the rabbit. *Respiration Physiology* 57: 293-305.
2. JANCZEWSKI, W. A., GRIEB, P. (1986). Naloxone enhances respiratory output in rabbits with various brainstem sections. *Bull. Europ. Physiopath. Resp. (Suppl. 8)* 22: 156.
3. JANCZEWSKI, W. A. (1986). Importance of respiratory pathways crossing the midline at cervical level for amplitude and rhythm of breathing. *Bull. Europ. Physiopath. Resp.* 22: 19.
4. JANCZEWSKI, W. A. (1987a). Dissociation of the bilateral respiratory rhythm generators converts apneusis into regular rhythmic breathing. *Acta Physiol. Pol. (Suppl. 30/3)* 38: 202.
5. JANCZEWSKI, W. A. (1987b). Respiratory rhythm and phrenic nerve amplitude is altered via pathways crossing the midline at cervical level in cats and rabbits. *Neuroscience* 22: 409.
6. JANCZEWSKI, W. A. (1988). Lateralized response of the hypoglossal, facial and phrenic nerves to lung inflation. *"Control of Breathing During Sleep and Anaesthesia" - Plenum Press.* : 187-192.
7. JANCZEWSKI, W. A. (1990). Ascending neural pathways crossed at the cervical level may modify rhythm and amplitude of breathing. *European Journal of Neuroscience (Suppl. 3)* : 193.
8. JANCZEWSKI, W. A., KARCZEWSKI, W. A. (1990). The role of neural connections crossed at the cervical level in determining rhythm and amplitude of respiration in cats and rabbits. *Respiration Physiology* 79: 163-176.

CEL PRACY

3. MATERIAŁ I METODA

3.1 Ogólne przygotowanie preparatu

Badania wykonano na 81 królikach i 28 kotach obu płci, o wadze – króliki 2.8 kg do 4.2 kg, koty – 3.1 kg do 3.9 kg.

Króliki znieczulano propanididem (Propanidid, Polfa) podanym dożylnie w dawce 35mg/kg masy ciała. U kotów do indukcji znieczulenia stosowano halotan w stężeniu 2–3% obj. U obu gatunków znieczulenie podtrzymywano halotanem w stężeniu 0.9% obj. Takie stężenie par halotanu jest minimalnym stężeniem anestetycznym (MAC) dla ludzi w grupie wiekowej od 3 do 30 lat. Średnie stężenie anestetyczne ED₅₀ wynosi ok. 1% obj. [źródło "Anestezjologia" pod red. B. Kamińskiego, str. 120–121.]. Stałość stężenia par halotanu zapewniało użycie dokładnie kalibrowanego parownika.

O wyborze narkozy halotanowej zdecydowała konieczność utrzymania stałego poziomu znieczulenia w eksperymentach trwających kilka godzin oraz powszechność jej użycia w klinice. Zastosowanie innej, bardziej typowej dla badań eksperymentalnych narkozy np. chloralozoy z uretanem lub barbituranów stwarzałoby konieczność podawania dawek uzupełniających. W praktyce oznacza to wysokie stężenie środka zaraz po wstrzyknięciu i coraz niższe w miarę jego metabolizowania. Problemu tego nie rozwiązuje zastosowanie stałej infuzji anestetyku, a to ze względu na zjawiska kumulacji i wahań tempa metabolizmu.

Preparatykę zaczynano od przecięcia skóry, powięzi i mięśni powierzchniowych szyi w linii środkowej, następnie rozsuwano mięśnie głębokie za pomocą pincety na tępo i wyosabniano tchawicę.

Do tchawicy wprowadzano rurkę tracheostomijną i po podaniu środka zwiotczającego łączono ją z respiratorem (Medipan 220).

Cewnikowano żyłę i tętnicę udową, Przez cewnik żylny uzupełniano płyny solą fizjologiczną lub 5% glukozą, podawano środek zwiotczający – bromek

pankuronium (Pavulon, Organon Oss N1) w dawce 0.3 mg/kg/h, podawano 8.4% roztwór dwuwęglanów sodu (Polfa), a także – w razie potrzeby we wlewie kroplowym środki presyjne: noradrenalinę (Levonor, Polfa) lub dopaminę 2–4 ug/min/kg mc. (Dopamin, Orion SF).

Poprzez cewnik umieszczony w tętnicy udowej pobierano próbki krwi do badań gazometrycznych – PaCO₂, PaO₂, pH, które wykonywano za pomocą aparatu Corning 171 lub Corning 174. Poza momentami gdy pobierano krew, cewnik tętniczy wypełniony był 0.1% roztworem heparyny (Polfa) w soli fizjologicznej i połączony z głowicą miernika ciśnienia krwi i rytmu serca MCK 4011S (prod. TEMED-Zabrze). Stałe monitorowanie wydolności układu sercowo naczyniowego było ważne ze względu na związane z użyciem halotanu ryzyko spadku ciśnienia tętniczego i zaburzeń rytmu serca. Ciśnienie krwi wynosiło średnio 100/75 mmHg u królików i 120/85 u kotów. Objętość oddechową, częstość respiratora i stopień wzbogacenia mieszanki oddechowej tlenem ustalano tak, aby ciśnienie parcjalne CO₂ i O₂ we krwi tętniczej utrzymywało się w granicach norm fizjologicznych. Normy przyjęto za Nicholls i Trenchard [1982] na poziomie PaO₂=94.78±6.37, PaCO₂= 30.79±2.94, pH= 7.413±0.048 przy pomiarze w temperaturze 37°C.

Biorąc pod uwagę, że normalna temperatura ciała królika mierzona w odbyticy wynosi 39.7±0.48°C (Nicholls i Trenchard – 1982) przedstawione wartości po korekcji temperaturowej są równe PaO₂=109.97±6.37, PaCO₂= 34.56 ±3.16, pH= 7.413±0.048 [por. Fink, Schoolman, 1963, Dejours i Lacaille, 1971, Nadeau, Colebatch, 1965]. Kwasicę metaboliczną w razie konieczności korygowano podawaniem roztworu dwuwęglanów. W sposób ciągły mierzono prężność dwutlenku węgla w powietrzu wydychanym (F_{ET} CO₂) za pomocą analizatora gazów firmy Jaeger.

Temperaturę ciała zwierzęcia mierzono w sposób ciągły czujnikiem umieszczonym w przelyku lub odbyticy i utrzymywano w granicach

37.0–38.0°C u kotów i 38.0–39.0°C u królików przy pomocy poduszki elektrycznej.

Średnio co godzinę zwiększano na kilka wdechów objętość oddechową dla poprawy wentylacji zapadniętych pęcherzyków płucnych (zwiększenia podatności płuc).

Starano się stosować wysoką częstość respiratora do (46/min) przy odpowiednio niskiej objętości oddechowej. Poprawiało to stabilność mechaniczną preparatu, zmniejszało fazowe pobudzenie z proprioreceptorów klatki piersiowej, a przede wszystkim zapobiegało fluktuacjom ciśnienia tętniczego krwi związanym ze zmniejszonym powrotem żylnym w trakcie silnej inflacji płuc dodatnim ciśnieniem.

3.2 Rejestracja aktywności nerwowej i stymulacja elektryczna nerwów

Wypreparowywano obustronnie kilka lub wszystkie z następujących nerwów: gałęzie C4 i osobno C5–6 nerwu przeponowego, gałęzie policzkowo-wargowe nerwu twarzowego (n. VII), nerwy krtaniowe górne i dolne, nerwy błędne (n. X). Nerwy odpreparowywano od otaczającej tkanki i przecinano jak najdalej w kierunku obwodowym, by zachować możliwie długi odcinek centralny. Ułatwiała to ułożenie nerwu na elektrodzie przy zmianie pozycji zwierzęcia. Aby zapobiec wysychaniu nerwu w trakcie wielogodzinnych rejestracji, wokół nerwów tworzone z przeciętych tkanek zbiornik wypełniony ciekłą parafiną.

Do rejestracji zbiorczej aktywności nerwów obwodowych używano srebrnych elektrod dwubiegunowych połączonych z wejściem różnicowym wzmacniacza WSB-4 lub Lemo-1 o impedancji wejściowej rzędu 10^9 ohma. Pasma przenoszenia wzmacniacza obejmowało zakres 0.1 – 5 kHz. Wzmocniony sygnał wyjściowy podlegał dwupołkowemu wyprostowaniu i integracji w układzie oporowo-pojemnościowym z upływem o stałej czasu 0.1 s lub 0.05 s.

Otrzymane sygnały wyjściowe rejestrowano na 8 kanałowym rejestratorze z piórem świetlnym firmy Honeywell, na 6 kanałowym rejestratorze z pisakami atramentowymi firmy Medipan lub za pomocą kamery oscyloskopowej OK-3 (firmy Medipan). Ponadto sygnały podawano na wejście konwertera analogowo-cyfrowego (Navo) i próbkowano z częstością 500–10000 Hz przy pomocy komputera IBM-AT ze specjalnie do tego celu napisanym oprogramowaniem.

W celu stymulacji elektrycznej nerw układano na dwubiegunowej elektrodzie platynowej i zanurzano w ciepłej ciekłej parafinie. Do drażnienia używano zestawu NL-300, NL-510, NL-800 firmy Digitimer z izolowaną optycznie jednostką prądową.

3.3 Przygotowanie preparatu rozszczepionego pnia mózgu.

Po tracheostomii i wypreparowaniu nerwów starannie zszywano mięśnie i skórę w miejscu cięcia i umieszczano zwierzę w aparacie stereotaktycznym. Następnie wykonywano kraniektomię poprzez wycięcie łuski kości potylicznej, przecinano oponę twardą i pajęczą oraz resekowano część mózdzku tak, aby odsłonić dno komory czwartej. Usuwano także część pierwszego kręgu szyjnego. Ponadto u 16 królików po rozwarstwieniu mięśni grzbietu w linii pośrodkowej ciała odsłaniano grzbietową powierzchnię rdzenia kręgowego w odcinku szyjnym.

Wyrostki i łuki kręgów szyjnych wycinano. Powierzchnię przecięcia kości zatykano woskiem. Pod kontrolą mikroskopu operacyjnego rozcinano za pomocą nożyczek mikrochirurgicznych oponę twardą odsłaniając powierzchnię grzbietową segmentów C1–C6 rdzenia kręgowego.

3.4 Cięcia pnia mózgu i rdzenia kręgowego.

Cięcia miały na celu chirurgiczne rozdzielenie połówek pnia mózgu lub rdzenia kręgowego. Wykonywano je w kierunku podłużnym w linii pośrodkowej od powierzchni grzbietowej pnia mózgu do podstawy czaszki. W 12 pierwszych eksperymentach starałem się stosować taką samą technikę cięcia jak Gromysz i Karczewski [1981a,b]. Do cięcia używałem fragmentu żyłki o zaokrąglonych brzegach o szerokości 1.6 mm umocowanego w uchwycie mikromanipulatora. Nóż opuszczany był pionowo w stosunku do grzbietowej powierzchni pnia mózgu. Zakres cięcia rozszerzano poprzez kolejne cięcia pionowe. Próba rozszerzenia cięcia poprzez podłużne przesuwanie zagłębionego ostrza prowadziła nieuchronnie do znacznego urazu tkanki nerwowej. Wobec konieczności wykonania kilku cięć wyniknął problem, w którym momencie należy zakończyć opuszczanie noża. Wyznaczanie głębokości cięcia na podstawie danych stereotaktycznych nie gwarantuje, że cięcie będzie kompletne. Jedyną pewną metodą wykonywania cięć przez całą grubość (tj. w kierunku brzuszno-grzbietowym) pnia mózgu polega na opuszczaniu noża, aż do momentu, gdy opiera się on o podstawę czaszki. Mankamentem użycia śruby mikrometrycznej jest fakt, że eksperymentator nie czuje, kiedy opuszczana żyłka dotyka do podstawy czaszki. Sygnałem, że nóż opiera się o kość jest jego lekkie ugięcie. Wygięcie to przemieszcza tkanki, a ponadto zwiększa nacisk czubka żyłki na naczynia krwionośne brzusznej części opuszki co grozi ich skaleczeniem.

W tej sytuacji konieczne stało się wprowadzenie modyfikacji do tradycyjnej metody cięcia. Zastosowałem przymocowywaną do stolika stereotaktycznego prowadnicę, która prowadziła nóż dokładnie w płaszczyźnie strzałkowej głównej. Po umieszczeniu noża w prowadnicy cięcia wykonywano ręcznie. Dzięki temu można było zakończyć cięcie, gdy nóż osiągał podstawę czaszki, jednak zanim się odkształcił. Użycie

przewodnicy dawało możliwość precyzyjnego podłużnego przesunięcia noża w już wcześniej przeciętej tkance. Eliminowało to "pozostawione" w czasie cięć niewielkie "mostki" tkanki łączące obie połówki.

Śladem innych badaczy (por. rozdział 1.4), aby nie skaleczyć tętnic odchodzących od tętnicy podstawnej (arteria basilaris), używano noża o tylko lekko zaostrej części czołowej oraz posuwano go bardzo wolno przy docinaniu brzusznej części pnia mózgu. Użycie takiego noża powodowało silne odkształcenia tkanki przy przecinaniu wyściółki (ependyma) pokrywającej dno komory czwartej. Aby rozwiązać ten problem, przed wykonaniem właściwych cięć nacinałem powierzchnię pnia mózgu w linii pośrodkowej na głębokość ok. 2.5 mm za pomocą ostrza nowej żyłki. Cięcia w linii pośrodkowej rdzenia szyjnego mające na celu rozseparowanie jąder nerwu przeponowego wykonywano identycznie jak cięcia pnia mózgu.

W pierwszych 12 eksperymentach spadki amplitud i zmiany częstości oddychania po cięciach różniły się znacznie w stosunku do wartości kontrolnych i pomiędzy zwierzętami. U 4 zwierząt wystąpiło krwawienie w obszarze cięcia, a następnie obrzęk mózgu. U 4 innych aktywności nerwów pozostały zsynchronizowane. Badanie histologiczne wykazało, że u tych zwierząt pozostawiono "małe mostki" tkanki w obrębie cięcia. Grupę tych 12 zwierząt pomimo, uzyskania w 8 wypadkach efektu desynchronizacji, wyłączono z analizy wyników, gdyż niespójność uzyskiwanych rezultatów była spowodowana błędami metodycznymi, a nie statystycznymi. Opisane wyżej modyfikacje techniki cięcia zwiększyły powtarzalność wyników.

Rozszczepienia pnia mózgu taką metodą dokonano u 55 królików i 16 kotów. U 8 zwierząt (11%) wystąpił obrzęk mózgu, ale nie wpłynęło to na aktywność oddechową.

Zakres cięcia mierzono względem arbitralnie przyjętego punktu zerowego. Ze względu na charakterystyczny kształt za punkt **zerowy przyjęto czubek dolnego kąta dołu równoległobocznego**, tj. miejsce gdzie przechodzi on

w kanał środkowy rdzenia przedłużonego. Kanał ten jest przedłużeniem kanału środkowego rdzenia kręgowego. Odległość punktów w milimetrach położonych dogłowo (rostralnie) od tego punktu zerowego oznaczana będzie w dalszej części tej pracy liczbą dodatnią. Odległość punktów położonych doogonowo (kaudalnie) – liczbą ujemną.

Odnosząc się do opisanego punktu zerowego będzie mowa o odległości względem zasuwki (obexu). Ponieważ, obex posiada swój wymiar rostralno-kaudalny²⁰ istnieje potrzeba uściślenia, która część obexu stanowi punkt odniesienia. Zgodnie z definicją przedstawioną wyżej za punkt zerowy przyjęto najbardziej kaudalną część zasuwki (podobne założenie przyjęto w pracy *Ellenbergera i wsp. –1990*).

Hemisekcje i transekcje pnia mózgu i rdzenia kręgowego wykonywano przecinając powierzchnię grzbietową pnia lub rdzenia za pomocą nożyczek mikrochirurgicznych z ostrymi końcami, a następnie wykonując cięcie za pomocą noża używanego do cięcia w linii pośrodkowej.

3.5 Rejestracje zewnątrzkomórkowe i blokady neuronów oddechowych po rozszczepieniu pnia mózgu.

U zwierząt z rozszczepionym pniem mózgu rejestrowano zewnątrzkomórkowo aktywności neuronów oddechowych w obrębie tzw. brzusznej grupy oddechowej. Penetrowano jądro przydwuznaczne (nucleus paraambigualis) i jądro zadwuznaczne (nucleus retroambigualis) na poziomie od 3 mm powyżej do 2 mm poniżej zasuwki. Neurony oddechowe koncentrowały się od 2.0 do 3.5 mm bocznie od linii pośrodkowej na głębokości 3.0–4.5 mm brzusznie od grzbietowej powierzchni opuszki, tj. od dna komory czwartej (patrz prace *Gromysza i Karczewskiego [1973, 1976 a, b]*, praca *Bystrzyckiej i wsp. [1971]* oraz atlasy stereotaktyczne królika –*Meessen i Olszewski*

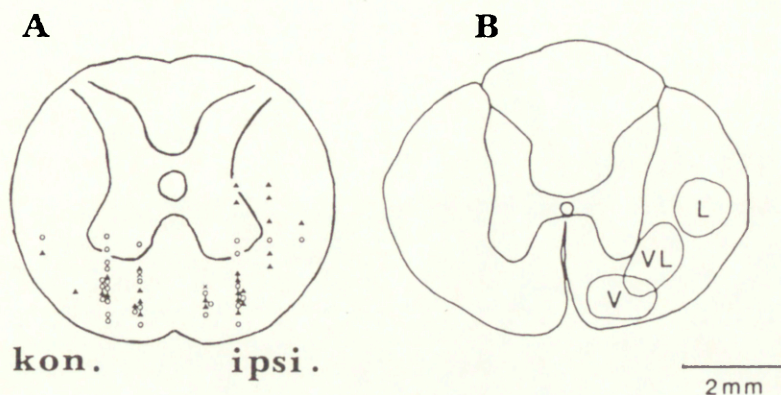
20. Zgodnie z mianownictwem anatomicznym obex nie jest punktem, ale pasmem istoty białej przykrywającej kąt dolny dołu równoległobocznego (wg. *A. Bochenek i M. Reicher "Anatomia Człowieka" tom 4, wydanie II. P.Z.W.L. 1981, str. 143*).

-1949, Shek, Wen i Wiśniewski [1986]). Wzorując się na wymienionych pracach położenie jąder oddechowych i miejsc penetracji mikroelektrodowych określano w stosunku do zasuwki jako punktu zerowego. Rejestracji dokonywano za pomocą mikroelektrod szklanych wypełnionych 3 molowym roztworem KCl z dodatkiem 2% barwnika (Pontamine Sky Blue, Du Pont). Używano mikromanipulatorów 303 i 352 firmy Narishige. Potencjał czubka mikroelektrody był wzmacniany i filtrowany (0.1–2 kHz) za pomocą wzmacniacza NL 105 i filtru NL 125 firmy Digitimer Ltd. Tłumienie wysokich częstotliwości pasma przenoszenia wzmacniacza deformowało proporcje kształtu potencjałów czynnościowych, ale ułatwiało ich zapis.

Jedną z uznanych metod krótkotrwałego blokowania przewodnictwa aksonalnego jest inaktywacja kanałów sodowych lidokainą [por. Sadowski – 1979, PWN wyd. II str 16]. W celu zablokowania aktywności grupy neuronów oddechowych mikroelektrodę wymieniano na mikropipetę wypełnioną 1% roztworem lidokainy (*Lignocainum HCl, Polfa*) zabarwionej na niebiesko barwnikiem Procion Blue (metodę tę wprowadził Gromysz i wsp.– 1980). Około 2 μ l roztworu wypychano z mikropipety za pomocą impulsu wysokiego ciśnienia. Efekty mikroblokady miały całkowicie po 25–35 min.

3.6 Hemisekcje, transekcje i blokady farmakologiczne na poziomie pnia mózgu i rdzenia kręgowego

U 20 królików i 6 kotów w ostatniej fazie eksperymentu wykonywano hemisekcje ew. transekcje pnia mózgu lub rdzenia kręgowego. Hemisekcję rdzenia poprzedzano blokadą farmakologiczną rejonu cięcia. W tym celu miejscowo podawano 1% lidokainę zabarwioną na niebiesko barwnikiem Procion Blue. Nastrzyknięcia wykonywano 10 μ l strzykawką Hamiltona w pięciu porcjach po 2 μ l. Lidokainę podawano w obrębie powrózków brzusznych i bocznych rdzenia kręgowego.



Ryc. 3.1 A/ Lokalizacja (u królika na poziomie C3) aksonów neuronów oddechowych zstępujących z vl-NTS do jąder nerwu przeponowego.

Ciała wszystkich komórek znajdowały się w vl-NTS po stronie prawej. Zstępujące aksony znaleziono zarówno po stronie ipsilateralnej / ipsi. / jak i kontralateralnej / kon. / w stosunku do położenia ciał komórek

Oznaczenia: kółko – aksony komórek wdechowych, trójkąt – aksony komórek wydechowych, krzyżyk – aksony komórek wdechowo-wydechowych (ryc. z pracy Jianga i wsp.–1987).

B/ Lokalizacja (u kota na poziomie C2) miejsc zawierających zgrupowania oddechowych aksonów opuszkowo-rdzeniowych neuronów brzusznej i grzbietowej grupy oddechowej.

Aksony znajdują się w powrózku bocznym (L) i brzuszno-bocznym (VL) aksony neuronów oddechowych występują w znikomej ilości (z pracy Specka – 1989).

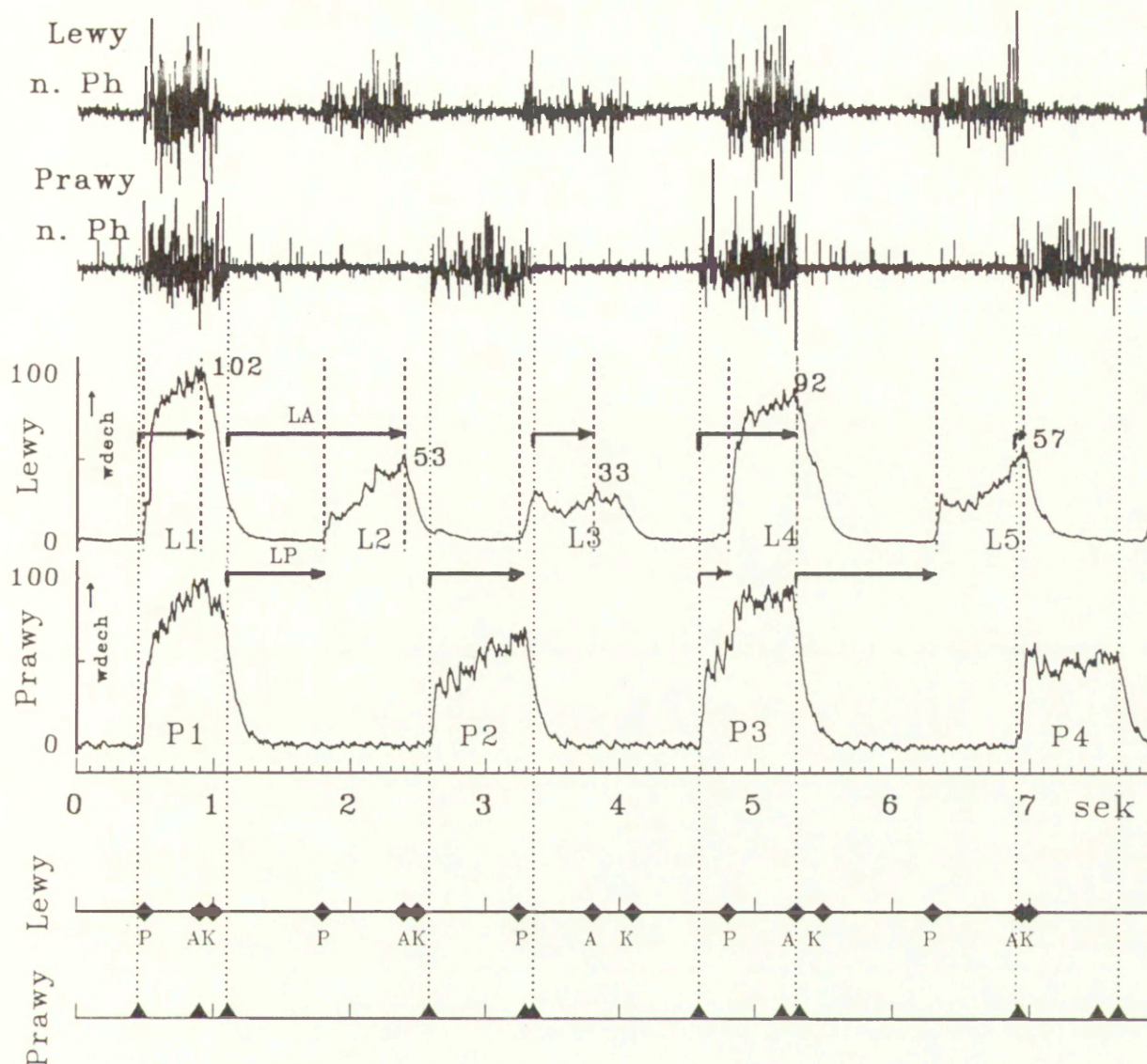
Zgodnie z danymi literaturowymi (patrz ryc. 3.1) tam właśnie przebiegają zstępujące pniowo-rdzeniowe szlaki, pobudzające i hamujące neurony oddechowe.

Dzięki blokadzie udawało się wyeliminować występujące przy cięciu (związane z mechanicznym urazem tkanki) pobudzenie, a następnie depresję aktywności neuronów oddechowych rdzenia. Po zarejestrowaniu efektów blokady wykonywano cięcia i powtarzano rejestracje. W sześciu

przypadkach po zaniku efektów blokady powtórzono ją, po czym wykonywano cięcie.

3.7. Analiza aktywności nerwów oddechowych

Za jeden cykl oddechowy uważa się wdech i następujący po nim wydech. W fazie wdechu powietrze przepływa do płuc. Fazy oddechowe można wyznaczać u spontanicznie oddychającego zwierzęcia badając np. kierunek przepływu powietrza, objętość klatki piersiowej, ciśnienie w drogach oddechowych. U zwierząt porażonych i sztucznie wentylowanych fazę aktywności ośrodkowego kontrolera oddychania wyznacza się w oparciu o neurogramy nerwu przeponowego. Początek wdechu charakteryzuje się gwałtownym wzrostem aktywności, która narasta, by osiągnąć maksimum w drugiej połowie wdechu. Amplituda sygnału zintegrowanego nerwu przeponowego jest liniowo skorelowana z objętością oddechową [Eldridge - 1971, -1975]. W czasie wydechu aktywność nerwu przeponowego zanika. Czasami tuż po zakończeniu wdechu obserwuje się krótkie (< 0.1 s) wyładowanie określane mianem aktywności powdechowej (*after discharge* i *post-inspiratory activity* patrz Ballantyne i Richter -1984). W celu wyznaczenia parametrów wzorca oddechowego mierzono czas wystąpienia początku wdechu, amplitudy i końca wdechu. Czasy te na rys. 3.2 oznaczono odpowiednio P, A, K. Czas początku następnego wdechu jest zarazem czasem końca wydechu. Ponadto mierzono amplitudę sygnału zintegrowanego - Amp. Na podstawie tych danych obliczano (patrz rys. 3.2) T_I - czas wdechu jako $K-P$ 2) T_E - czas wydechu jako $P-K$, długość cyklu jako $T_C = T_I + T_E$ oraz częstość oddychania jako $f=1/T_C$.



Ryc. 3. 2 Punkty kluczowe wzorca oddechowego. Punkty P, A, K to czas początku wdechu, czas wystąpienia maksymalnej wartości sygnału i czas końca wdechu. LA to latencje amplitud (zaznaczone powyżej salwy), LP –latencje początków wdechu (zaznaczone poniżej salwy). Od góry neurogram lewego i prawego nerwu przeponowego oraz wartości zintegrowane tych sygnałów. Tabela zawiera zestawienie mierzonych i obliczonych parametrów cyklu oddechowego dla powyższego przykładu (czasy z dokładnością do 0.1 sek)

Nr salwy	P	A	K	Amp	T_I	T_E	LP (s)	LP (%)	LA (s)	LA (%)
L1	0.5	0.9	1.0	102	1.0–0.5 =0.5	1.8–1.0 =0.8	—	—	0.9–0.5 =0.4	0.4/0.6 =67%
L2	1.8	2.4	2.5	53	2.5–1.8 =0.7	3.3–2.5 =0.8	1.8–1.1 =0.7	0.7/1.5 =47%	2.4–1.1 =1.3	1.3/1.5 =87%
L3	3.3	3.8	4.1	33	4.1–3.3 =0.8	4.8–4.1 =0.7	3.3–2.6 =0.7	0.7/0.8 =88%	3.8–3.4 =0.4	0.4/1.2 =33%
P1	0.5	0.9	1.1	99	1.1–0.5 =0.6	2.6–1.1 =0.5	—	—	0.9–0.5 =0.4	0.4/0.6 =67%
P2	2.6	3.3	3.4	70	3.4–2.6 =0.8	4.6–3.4 =1.2	2.6–2.5 =0.1	0.1/0.8 =13%	3.3–3.3 =0.0	0.0/0.8 =0%

Moment końca wydechu mierzono posługując się nieprzetworzonym sygnałem z nerwu przeponowego. Posługiwanie się sygnałem niezintegrowanym było konieczne, gdyż ze względu na czas rozładowywania się kondensatora w integratorze sygnał zintegrowany pozostawał większy od zera przez ponad 100 ms po zakończeniu się aktywności nerwu przeponowego.

Stała czasu integratora miała wartość 50 lub 100 ms. W przeciwieństwie do pomiaru czasu końca wdechu ustalono, że czas rozpoczęcia się wdechu można (bez większych błędów) wyznaczać z zapisu zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego. Pomiary czasu rozpoczęcia się wdechu wykonywane przy użyciu sygnału nieprzetworzonego i sygnału zintegrowanego nie różniły się o więcej niż 2 ms. W warunkach kontrolnych, (tj. przed cięciem) czas rozpoczęcia się oraz końca salwy wdechowej na prawym i lewym nerwie przeponowym nigdy (250 prób) nie różnił się o więcej niż 4 ms.

3.7.1 Analiza zależności pomiędzy aktywnością lewego i prawego nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu.

Po rozszczepieniu pnia mózgu ze względu na desynchronizację rytmów istotne znaczenie mają następujące pytania.

Z jaką latencją w stosunku do początku wdechu lub wydechu jednej strony rozpoczyna się wdech po stronie przeciwnej ?

Czy amplituda aktywności po jednej stronie zależy od latencji jej występowania w stosunku do momentu rozpoczęcia się wdechu/wydechu po stronie przeciwnej?

Stwierdzenie, że pewne wartości latencji występują częściej niż inne lub, że amplituda aktywności zależy od związków fazowych ze stroną przeciwną stanowiłoby dowód występowania oddziaływań pomiędzy stronami, pomimo rozszczepienia pnia mózgu. Sposób wyznaczania latencji objaśnia rysunek

3.2. W przypadku pomiaru latencji amplitudy (LA) mierzono czas wystąpienia amplitudy salwy, po czym na neurogramie strony przeciwnej znajdowano najbliższy poprzedzający moment zmiany fazy oddechowej. Różnica tych wartości dawała wartość LA. Po podzieleniu LA przez długość fazy strony przeciwnej znajdowano odpowiedź na pytanie w jakiej (procentowo) części fazy oddechowej po jednej stronie wystąpiła amplituda aktywności po stronie przeciwnej. Umożliwiło to korelowanie momentu wystąpienia amplitudy z jej wartością (patrz ryc. 4.8). Podobnie obliczano latencję (w sekundach i w procentach) czasów rozpoczynania się wdechu (LI) w stosunku do czasu zmiany fazy po stronie przeciwnej (patrz ryc. 3.2). Tak obliczone latencje służyły do wyznaczania prawdopodobieństwa rozpoczęcia się cyklu oddechowego w różnych momentach cyklu strony przeciwnej (por. ryc. 4.3A).

Obliczenie latencji czasu rozpoczęcia się wdechu umożliwia określenie co należy rozumieć pod słowem desynchronizacja aktywności oddechowych po przeciwnych stronach ciała.

W tej pracy uznawano rytmy za zdesynchronizowane jeżeli latencja LI dla co najmniej 25 z 50 kolejnych salw była różna od zera o więcej niż 5% średniej długości cyklu oddechowego.

Przed rozszczepieniem pnia mózgu wdech i wydech po obu stronach ciała rozpoczynał się zawsze jednocześnie dlatego latencje LI były równe 0.

Po rozszczepieniu pnia mózgu ze względu na oddziaływania pomiędzy stronami salwy oddechowe przybierały czasami bardzo nietypowe kształty. Zdarzało się, że zintegrowany sygnał osiągał maksymalną wartość w pierwszej połowie salwy (np. salwa P4 na ryc. 3.2). Pomimo tego ze względu na interpretację fizjologiczną za amplitudę salwy uważano największą wartość sygnału jaka wystąpiła w drugiej połowie salwy.

3.8 Metody wywoływania odruchów z płuc i krtani.

Aferenty płucne pobudzano poprzez trwającą kilka sekund inflację płuc. Inflację wywoływano zamykając na szczycie wdechu wylot rurki tracheostomijnej, albo łącząc wylot rurki ze źródłem stałego kalibrowanego dodatniego ciśnienia o wartości 5 do 15 cmH₂O.

Po dwustronnej wagotomii pobudzano wolno adaptujące się aferenty płucne poprzez stymulację nerwu błędnego impulsami prostokątnymi o czasie trwania 0.5 ms, częstości 80–100 Hz i sile 18–35 μ A.

Odruch ochronny krtani wywoływano stymulując dośrodkową część nerwu krtaniowego górnego prądem o częstości 80–100 Hz, sile 24–35 μ A (impulsy prostokątne o długości 0.4 ms).

Aby wywołać odruch na podciśnienie w krtani do przeciętej tchawicy oprócz rurki skierowanej w kierunku płuc (która służyła do wentylowania zwierzęcia) wkładano drugą rurkę w kierunku krtani. Tą rostralnie skierowaną rurkę łączono ze źródłem stałego kalibrowanego podciśnienia o zakresie -2 do -30 cmH₂O (-2.0 do -29.4 Pa). Jednocześnie w gardle zwierzęcia umieszczano cewnik z balonikiem. Napełnienie balonu powietrzem zamykało drogi oddechowe powyżej krtani, wywołując spadek ciśnienia poniżej miejsca okluzji.

3.9 Metodyka badań symetrii odpowiedzi nerwów twarzowych, podjęzykowych i przeponowych na jednostronny bodziec wagalny.

Do doświadczeń użyto dalszych 12 kotów i 14 królików w narkozie halotanowej. Wstępną preparatykę opisano w rozdziale 3.1 "Ogólne przygotowanie preparatu". Do rejestracji przygotowywano obustronnie n. VII, n. XII i nerwy przeponowe. Przecinano obustronnie nerwy krtaniowe dolne

i górne. Odpreparowywano oba nerwy błędne i obwiązywano je luźną pętlą nici chirurgicznych.

Celem doświadczeń było sprawdzenie czy jednostronne pobudzenie aferentów z wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc wywoła symetryczną odpowiedź nerwów oddechowych po obu stronach ciała. Lateralizację wejścia wagalnego uzyskiwano poprzez:

- blokadę farmakologiczną przewodnictwa nerwowego w jednym nerwie błędnym (wywołaną 1% lignokainą)
- jednostronną wagotomię
- stymulację elektryczną jednego nerwu błędnego (u zwierząt po obustronnej wagotomii)

Aferenty płucne pobudzano metodami opisanymi w poprzednim rozdziale.

3.9.1 Analiza symetrii odpowiedzi.

Porównywano zmiany aktywności każdej pary nerwów w czasie inflacji ew. stymulacji. W tym celu amplitudę zintegrowanej aktywności każdego z nerwów wyrażano jako procent aktywności kontrolnej. Dla zwierząt z zablokowanym lub przeciętym nerwem błędnym za kontrolę uważano średnią z 2–3 amplitud badanego nerwu w czasie, gdy objętość płuc była równa objętości końcowo–wydechowej. Dla zwierząt z obustronną wagotomią kontrolę stanowiły średnie z 2–3 amplitud tuż przed stymulacją.

Obliczenia przeprowadzano oddzielnie dla każdej strony ciała i odejmowano. Wynik odejmowania nazywano współczynnikiem asymetrii. Współczynnik obrazuje różnicę w sile odruchowego zahamowania aktywności wdechowej po stronie ipsilateralnej i przeciwnej do stymulowanego nerwu. Jeżeli odpowiedź na jednostronny bodziec była dokładnie symetryczna, to współczynnik asymetrii był równy 0%. Współczynnik asymetrii zależał między innymi od poziomu napędu chemicznego, dlatego obliczenia wykonano oddzielnie dla:

- a) niskiego i normalnego napędu chemicznego, tj. PaCO_2 w granicach 30–45 mmHg (4.0–6.0 kPa) u kotów, 20–35 mmHg (2.7–4.7 kPa) u królików przy $\text{PaO}_2 > 90$ mmHg (12.0 kPa);
- b) wysokiego napędu chemicznego, tj. PaCO_2 w granicach 45–65 mmHg (6.0–8.7 kPa) u kotów i 35–55 mmHg (4.7–7.3 kPa) u królików przy PaO_2 od 60 do 80 mmHg (8–10.7 kPa).

Ciśnienie w drogach oddechowych i parametry prądu każdorazowo dobierano tak, by otrzymać maksymalną wartość współczynnika asymetrii. Zwykle optymalne ciśnienie wynosiło 8–15 cmH_2O (7.8–14.7 Pa), a optymalny prąd był nieco większy od prądu progowego i wynosił 17–25 μA .

3.10 Badania histologiczne.

Po zakończeniu eksperymentów, w których wykonywano lezje, blokady lub rejestracje aktywności neuronów zwierzę perfundowano solą fizjologiczną, a następnie 8% roztworem formaliny.

Mózg wraz z rdzeniem kręgowym wyjmowano i utrwalano przez około 7 dni w roztworze formaliny (10%). Preparat płukano w wodzie destylowanej i cięto posługując się mikrotomem mrozeniowym na skrawki o grubości 50 lub 100 μm . Pod mikroskopem identyfikowano miejsce cięcia oraz miejsce podania barwnika.

Aby zrekonstruować rozległość cięcia ew. określić miejsce wykonania blokady farmakologicznej lub rejestracji, zaznaczone skrawki fotografowano i porównywano z najbliższymi im standardowymi przekrojami pnia mózgu [Meessen i Olszewski – 1949, Shek, Wen i Wiśniewski 1986].

4. WYNIKI

4.1 Warunki uzyskania desynchronizacji aktywności nerwów oddechowych u królika.

Langendorff i wsp. [1881] ustalili, że aby wywołać desynchronizację aktywności nerwów przeponowych po przeciwnych stronach ciała u królika należy wykonać cięcie od zasuwki do 2 mm rostralnie. *Gromysz i Karczewski* [1981b] stwierdzili, że minimalne cięcie musi być kompletne i o 2 mm dłuższe w kierunku dogłowym, tj. mieć zakres (0,+4).

W celu lokalizacji włókien skrzyżowanych odpowiedzialnych za synchronizację oddechową połówek pnia mózgu, wykonałem 7 eksperymentów na królikach po obustronnej wagoTomii. Cięcia przerywano natychmiast, gdy rytmy ulegały desynchronizacji. Badanie histologiczne umożliwiło precyzyjne określenie zakresu cięć. Były one równe: $(-0.5,+4.5)^{21}$, $(-1,+4.5)$, $(-1,+5)$, $(-0.5,+5.5)$, $(+0,+5.5)$, $(+0.5,+6)$, $(-1,+5.5)$. Daje to średnią wartość zakresu cięcia $(-0.5,+5)$.

W dalszych 48 eksperymentach na królikach, aby zapewnić możliwość porównania wyników wykonałem serię cięć, których łączna długość była u wszystkich zwierząt jednakowa i równa $(-4,+11)^{22}$. Zakres ten był znacznie dłuższy od wymaganego do wywołania desynchronizacji. Minimalny zakres cięć cząstkowych, po wykonaniu których następowała desynchronizacja ustalono na podstawie odczytów z mikromanipulatora. Zakres ten miał średnią wartość $(0,+5.5)$. W obu grupach zwierząt ($n=7+48$) cięcia

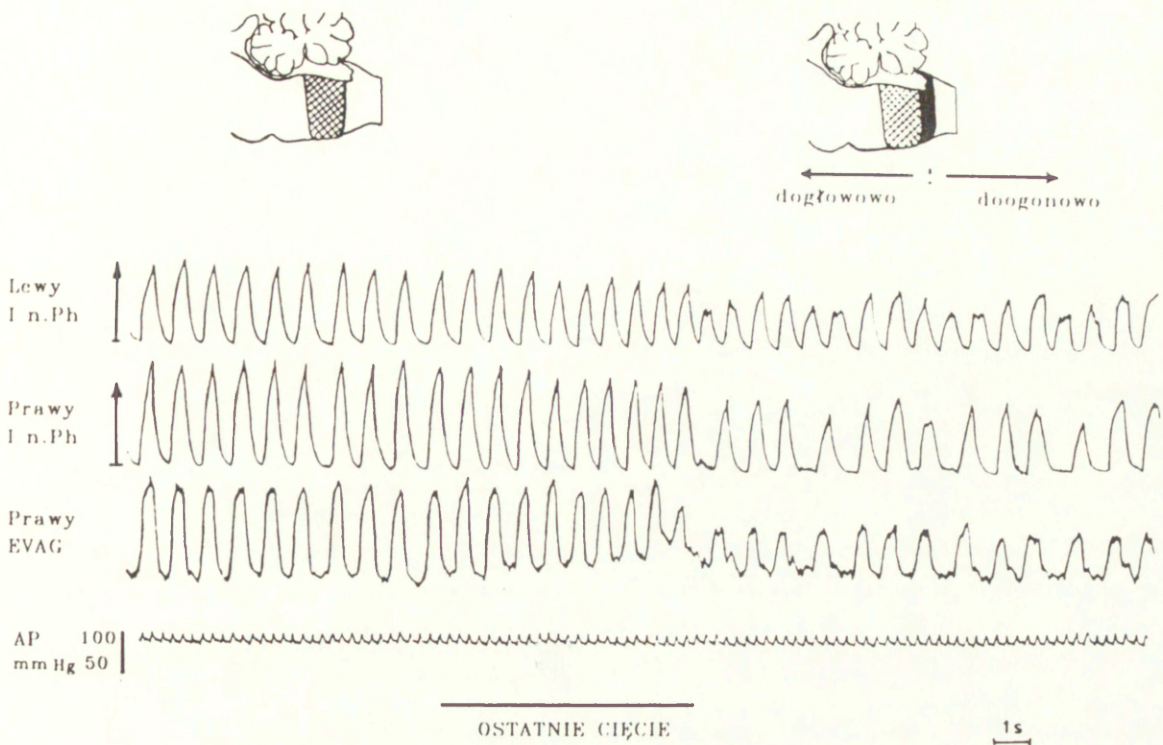
21. Konwencja zapisu wg. przypisu nr. 6 z rozdziału 1.4

22. U 8-miu z tej grupy królików w późniejszej fazie eksperymentu rozszerzono cięcie jeszcze dalej w kierunku rostralnym przecinając cały most i śródmózgowie. U czterech dalszych przecięto: most, śródmózgowie i międzymózgowie. Stwierdzono, że rozszczenie struktur położonych rostralnie od mostu nie wpływa znacząco na parametry rytmu oddechowego.

rozpoczynano na różnych poziomach pnia mózgu i rozszerzano w kierunku kaudalnym bądź rostralnym.

Stwierdzono, że uzyskanie desynchronizacji uwarunkowane jest przecięciem włókien skrzyżowanych na odcinku o długości 5–6 mm na poziomie od 0.5 mm poniżej obexu do połowy (w wymiarze rostralno-kaudalnym) jądra n. VII [por. Meessen i Olszewski 1949 ryc. 8 str. 25].

Zaobserwowano następującą prawidłowość. Największy spadek amplitudy nerwu przeponowego (rzędu 35%) i desynchronizacja następowała, gdy cięcie osiągało łączną długość ok. 5 mm. Natomiast pierwsze cięcia o rozległości ok. 3.5 mm niezależnie od miejsca ich wykonania nie wywoływały desynchronizacji i w mniejszym stopniu wpływały na aktywność nerwów oddechowych. Ten brak proporcji pomiędzy spadkiem amplitudy oraz narastaniem symptomów desynchronizacji, a rozległością cięcia zilustrowano na rycinie 4.1. Przedstawia ona zmiany wzorca oddechowego w trakcie rozszczepiania pnia mózgu. Cięcia wykonywano nożem o szerokości 1.6 mm. Nóż przesuwano w ten sposób by kolejne cięcia częściowo "nakładały się na siebie". Cięcia miały kolejno zakres (+5,+3.4), (+3.6,+2), (+2.6,+1), co dało łącznie zakres (+5,+1) (odpowiada to zakreślanemu polu na przekroju strzałkowym pnia mózgu na ryc. 4.1). Cięcie to o rozległości 4mm nie wywołało desynchronizacji, a spadek amplitudy był niewielki. Dopiero dalsze cięcie (+1.1,-0.5) (odpowiadające czarnemu polu na przekroju strzałkowym na ryc. 4.1) wywołało desynchronizację i znamieny spadek amplitudy wszystkich nerwów. Nie oznacza to, że włókna skrzyżowane na odcinku (+1.1,-0.5) mają szczególne własności. Chodzi raczej o to, że lokalizacja i łączny zakres cięcia osiągnęły wymagane minimum. Dowodzi tego fakt, że gdy u innego królika jako pierwsze wykonywano cięcie (+1.1,-0.5), to nie spowodowało ono żadnych efektów oddechowy. Desynchronizacja wystąpiła dopiero po dodatkowym cięciu (+5,+1).



Ryc. 4.1 Utrata synchronizacji pomiędzy aktywnością nerwów oddechowych po przeciwnych stronach ciała.

Zamiana aktywności synchronicznej na zdesynchronizowaną nastąpiła w wyniku rozszerzenia początkowego cięcia od 1 do 5 mm rostralnie względem zasuwki o dalsze 1.5 mm w kierunku kaudalnym. Na rycinie pokazano kolejno: zintegrowaną aktywność lewego (Lewy I n. Ph), prawego (Prawy I n. Ph) nerwu przeponowego oraz odśrodkową aktywność prawego nerwu błędnego (Prawy EVAG). Poniżej uwidoczniiono zapis ciśnienia tętniczego krwi oraz zaznaczono (kreska pozioma) moment, w którym wykonano ostatnie z serii cięć.

Lewa część rysunku pokazuje aktywność oddechową po cięciu od 1 mm do 5 mm powyżej zasuwki. Po takim cięciu nerwy po obu stronach pracują synchronicznie.

Środkowa część rysunku (OSTATNIE CIĘCIE) pokazuje moment rozszerzenia cięcia o dalsze 1.5 mm doogonowo. Tak rozszerzone cięcie przerywa większość wzajemnych sprzężeń między subgeneratorami połówkowymi i w efekcie generowane przez nie rytmy tracą synchronizację. Zwraca uwagę, że w wyniku ostatniego cięcia znacznie bardziej maleje eferentna aktywność nerwu błędnego (aż o 48%) niż aktywność salw synchronicznych lewego (25%) i prawego (33%) nerwu przeponowego.

Prawa część rysunku pokazuje asynchroniczną aktywność nerwów oddechowych. Znamienne jest, że amplituda eferentnej aktywności nerwu błędnego jest po cięciach stała, podczas gdy amplituda nerwów przeponowych zależy od wzajemnego stosunku faz oddechowych po lewej i prawej stronie pnia mózgu.

Nad zapisami aktywności nerwów, na przekrojach strzałkowych pnia mózgu uwidoczniiono cięcie (obszar kratkowany), którego zakres był niewystarczający do zdesynchronizowania rytmów, oraz kaudalne rozszerzenie tego cięcia (obszar czarny) powodujące desynchronizację.

Aby wywołać desynchronizację należało utrzymać odpowiednio wysoki poziom PaCO_2 . Po cięciach próg PaCO_2 , poniżej którego występował bezdech hiperwentylacyjny, podnosił się u królików z poziomu (średnio) 16 mmHg do poziomu 23–26 mmHg. Poziom PaCO_2 , poniżej którego zanikała aktywność nerwu przeponowego po jednej stronie zwykle różnił się o 1–3 mmHg (0.13–0.4 kPa) od poziomu po stronie przeciwnej.

4.2 Warunki uzyskania desynchronizacji aktywności nerwów oddechowych u kota.

U kotów przed przystąpieniem do cięć parametry wentylacji ustawiano tak, by PaCO_2 miało wartość ok. 45 mmHg (6.0 kPa) przy $\text{PaO}_2 > 90$ mmHg (12 kPa). Przed właściwymi cięciami (patrz "Metoda" rozdział 3.4) nacinano pień mózgu wzdłuż linii pośrodkowej na głębokość ok. 2.5 mm. To wstępne przecięcie wyściółki (ependymy) radykalnie zmniejszyło deformację tkanki w czasie późniejszych cięć przez całą grubość pnia mózgu. Kolejne cięcia wykonywano z odstępem kilkunastu minut.

Pomimo wykonania poprawnych technicznie cięć i podwyższonego napędu chemicznego rozszczepienie opuszki tylko u dwu z 16 kotów (12.5%) doprowadziło do desynchronizacji nerwów przeponowych bez zatrzymania aktywności oddechowej. U tych dwu kotów w trakcie cięć stwierdzono spadek aktywności nerwów przeponowych do 7% wartości kontrolnej, gdy cięcie osiągnęło zakres (0,+4mm). Aktywność tych nerwów pozostawała jednak synchroniczna. Dalsze rozszerzanie cięcia nie miało już wpływu na amplitudę nerwów przeponowych. Desynchronizacja wystąpiła gdy cięcie osiągnęło łączną długość 8 mm i zakres od 3 mm kaudalnie do 5 mm rostralnie od obexu (-3,+5).

U pozostałych kotów przecięcie struktur na odcinku od obexu do +4 mm rostralnie od obexu położonych dalej niż 2.5 mm brzusznie od dna komory czwartej powodowało zanik aktywności nerwów przeponowych, twarzowych i krtaniowych.

Po okresie 30–50 minut u 6–ciu ($6/14=43\%$) z tej grupy kotów nastąpił spontaniczny powrót najpierw tonicznej, a później fazowej aktywności rejestrowanych nerwów. U pozostałych 8 kotów, gdy po 50 minutach nie nastąpił powrót oddychania podano naloxon w dawce 0.4 mg/kg. U 5 kotów ($5/14=36\%$) spowodowało to powrót fazowej aktywności nerwów oddechowych. U trzech kotów ($3/14=21\%$) zanik oddychania okazał się nieodwracalny.

U wszystkich kotów amplituda aktywności nerwów oddechowych rejestrowanych po rozszczepieniu pnia mózgu nie przekroczyła 7% wartości kontrolnej. W tej sytuacji konieczne było zwiększenie napędu oddechowego poprzez dalsze podniesienie poziomu PaCO_2 i farmakologiczną stymulację oddychania (naloxon, doxapram). U wszystkich kotów cięcia poza odcinkiem od 0 do 4 mm rostralnie względem obexu nie miały wpływu na amplitudę nerwu przeponowego. Były jednak niezbędne do uzyskania desynchronizacji. Zakres minimalnego cięcia u kota wynosił (-3, +5mm). Nawet niewielki wzrost wentylacji i spadek PaCO_2 , poniżej 45 mmHg prowadził do zaniku aktywności nerwów oddechowych. Taki sam wpływ miało pogłębianie narkozy.

Poza różnicami w zakresie cięcia i poziomie PaCO_2 poniżej którego obserwowano bezdech hiperwentylacyjny, asynchroniczna aktywność nerwów oddechowych u kota była bardzo podobna do aktywności obserwowanej u królika.

4.3 Porównanie wzorca oddechowego przed i po rozszczepieniu pnia mózgu u królika.

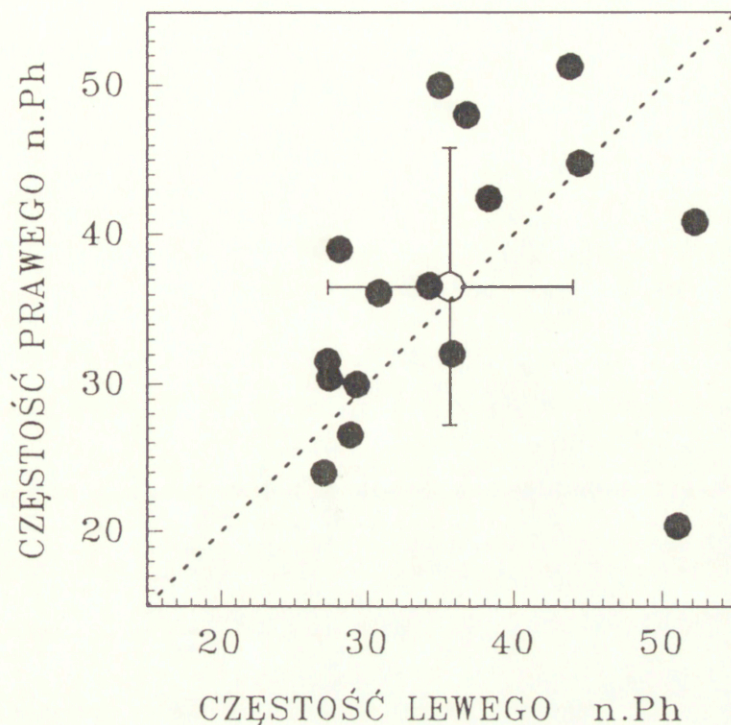
U 22 królików po obustronnej wagoTomii i przecięciu nerwów krtanio-
wych górnych przeanalizowano wzorec oddechowy po rozszczepieniu pnia
mózgu i porównano go z wzorcem przed cięciem. U 10 zwierząt czasy wde-
chu $/T_I/$ i wydechu $/T_E/$ zmierzono linijką bezpośrednio z neurogramów
nerwów przeponowych. U 12 zwierząt analizę przeprowadzono automaty-
cznie przy użyciu komputera IBM-AT ze specjalnie w tym celu napisanym
oprogramowaniem. Wyniki analizy automatycznej są reprezentatywne dla
całej grupy królików. W sposób zbiorczy przedstawia je ryc. 4.4.

Przed rozszczepieniem pnia mózgu analiza 250-ciu wdechów u 12 kró-
lików wykazała, że czas rozpoczęcia się salwy w lewym i prawym nerwie
przeponowym nie różnił się o więcej niż 4 ms.

Po cięciach ta precyzyjna synchronizacja czasów rozpoczęcia aktywno-
ści nerwów oddechowych po przeciwnych stronach ciała zanikała.
Częstość rytmu oddechowego (wyrażona liczbą salw nerwu przeponowego na
minutę) była różna po obu stronach (patrz ryc. 4.2). Dlatego można było
mówić o "stronie szybszej" i "stronie wolniejszej". Proporcje częstości
rytmu po stronie lewej i prawej były różne dla każdego zwierzęcia. Rzadko
zdarzało się (mniej niż u 10% zwierząt), by częstość jednej strony była więcej
niż dwukrotnie większa od częstości strony przeciwnej.

U zwiotczonych królików po obustronnej wagoTomii nigdy nie obser-
wowano, by częstość rytmu po jednej stronie była wielokrotnością rytmu po
stronie przeciwnej (np. 1:2, 1:3 etc.)

CZESTOŚĆ ODDYCHANIA PO STRONIE LEWEJ I PRAWEJ (liczba cykli/min)



Ryc. 4.2. Porównanie częstości oddychania mierzonej liczbą salw nerwu przeponowego w ciągu minuty po rozszczepieniu pnia mózgu u 16 królików. W ani jednym przypadku częstość rytmu po stronie lewej nie była dokładnie równa częstości po stronie prawej, niemniej w kilku wypadkach różnice te były niewielkie. Każdy punkt jest rezultatem jednego eksperymentu. Położenie na osi X wyznaczono jako liczbę cykli lewego nerwu przeponowego w ciągu minuty. Położenie na osi Y wyznaczono jako liczbę cykli prawego n.Ph w ciągu minuty. Odległość punktu od linii przerywanej jest tym większa im częstości po obu stronach bardziej się od siebie różnią. W ekstremalnym wypadku (punkt w prawym dolnym rogu) różnice częstości po obu stronach pozostawały w proporcji $20/51 \approx 1:2.5$.

Wobec różnicy częstości początek aktywności jednego nerwu mógł wystąpić w dowolnym momencie cyklu aktywności drugiego nerwu. Dla zobrazowania tego faktu konstruowano histogramy częstości rozpoczynania się wdechu po jednej stronie w określonym momencie cyklu strony przeciwnej. W celu wykonania histogramu zarówno wdech jak i wydech każdej ze stron dzielono na 10 równych części, tzw. klas histogramu (ang. histogram bins).

Następnie badano, ile salw po stronie przeciwnej rozpoczynało się w każdej klasie. Po podzieleniu przez liczbę wszystkich salw otrzymywano prawdopodobieństwo z jakim salwy po stronie przeciwnej rozpoczynały się w każdej z klas.

Rycina 4.3 A przedstawia przykład opisanego wyżej histogramu; pokazuje on kiedy, ile i jakiego typu salwy po stronie o szybszym rytmie rozpoczynały się w czasie wdechu i wydechu po stronie o wolniejszym rytmie.

Aby wyznaczyć gęstość prawdopodobieństwa pojawiania się salwy po stronie przeciwnej w danym momencie cyklu oddechowego, otrzymane wartości histogramu dzielono przez średnią długość klasy w sekundach i aproksymowano wielomianem 9-tego stopnia. W efekcie otrzymywano krzywą gęstości prawdopodobieństwa (*pole pod krzywą znormalizowane do jedności*) pokazaną na ryc. 4.3B.

Histogram dowodzi, że salwa wdechowa jednego nerwu może z niezerowym prawdopodobieństwem rozpocząć się w każdym fragmencie cyklu drugiego nerwu. Celowym stało się zatem podzielenie salw wdechowych na trzy grupy.

- **Grupe salw w przeciwfazie** tworzyły te salwy, które zaczynały się i kończyły w czasie trwania fazy wydechowej po przeciwnej stronie pnia mózgu. Salwom w przeciwfazie odpowiadają słupki puste na histogramie (ryc. 4.3 A). Słupki takie znajdują się w pierwszych sześciu klasach wydechu, mają one wysokość kolejno 5.4%, 6.8%, 4.1%, 4.1%, 7.5%, 4.1%. Oznacza to, że salwy w przeciwfazie rozpoczynały się w pierwszych 6/10 czasu wydechu i stanowiły łącznie 32% salw wdechowych po stronie o szybszym rytmie. Średnia liczba takich salw w grupie 12 królików (liczona łącznie dla obu stron) wyniosła $29.7 \pm 8.2\%$

▪ **Klase salw częściowo nakładających się** stanowiły salwy, które:

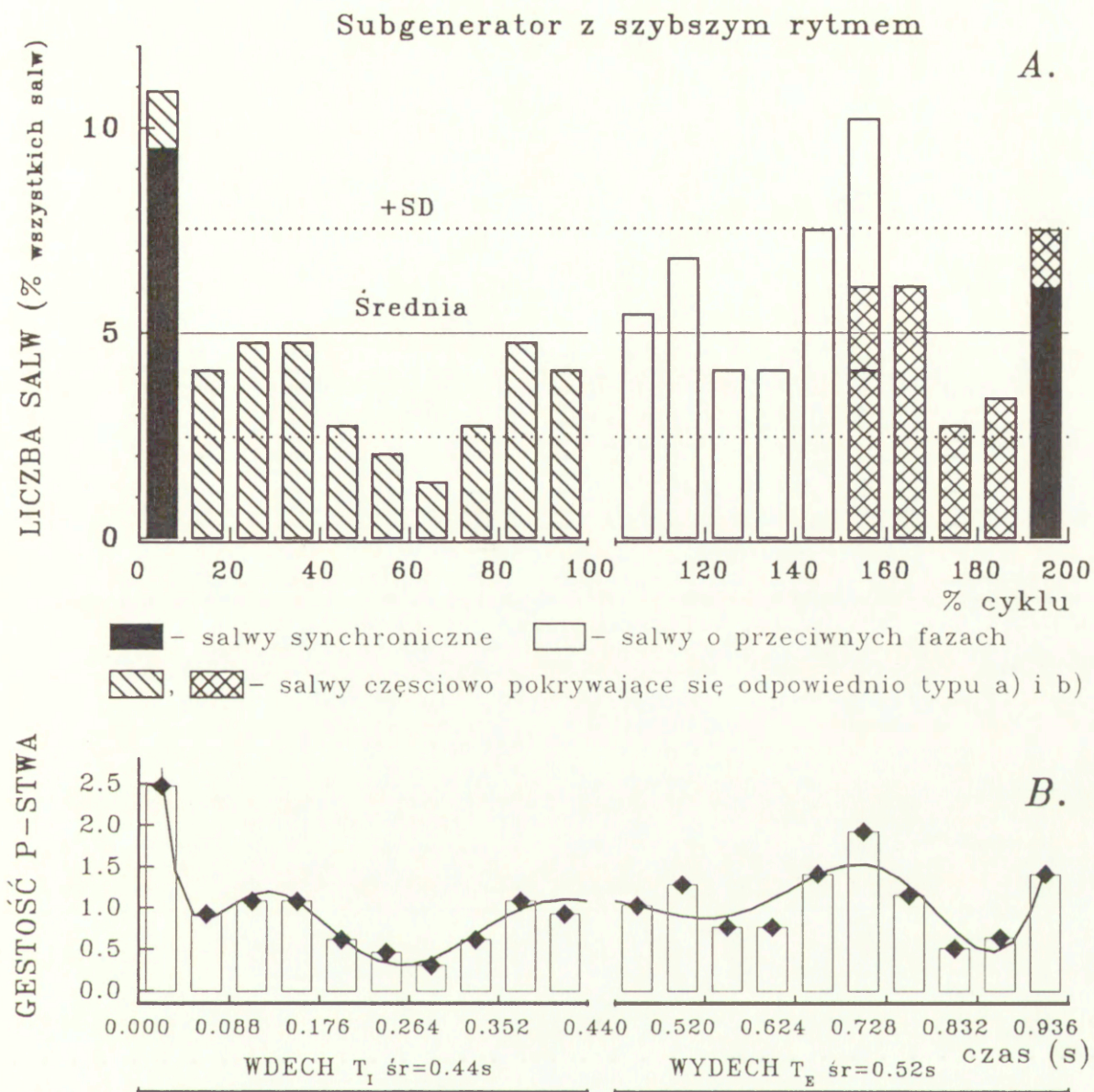
- a) rozpoczynały się w trakcie trwania wdechu, a kończyły w fazie wydechu po stronie przeciwnej;
- b) rozpoczynały się w trakcie trwania wydechu, a kończyły we wdechu.

Łącznie do klasy (a+b) zakwalifikowano u 12 królików $54.2 \pm 7.8\%$ wszystkich salw. W prezentowanym na rycinie 4.3A przykładzie salw typu a) było 32.6% (słupki zakreskowane skośnie). Salw typu b) było 19.7% (słupki zakreskowane skośnie na krzyż).

- **Salwami synchronicznymi** nazwano te, które rozpoczynały się praktycznie jednocześnie, tj. mniej niż 50 ms przed lub po początku salwy przeciwnego nerwu przeponowego. Stanowiły one średnio u 12-tu królików $16.1 \pm 8.0\%$ wszystkich salw. W prezentowanym przykładzie było ich 15.6% (słupki czarne).

Jeżeli salwy wdechowe występowały po obu stronach jednocześnie, to ich amplituda była największa i wynosiła średnio $47.5\% \pm 12.3\%$ wartości przed cięciami. Salwy o przeciwnych fazach miały amplitudę równą średnio $25.7 \pm 9\%$ wartości przed cięciami. Analiza parametrów rytmu oddechowego przeprowadzona łącznie dla lewej i prawej strony wykazała, że częstość oddychania spada z 54 ± 7 oddechów na min. do 35 oddechów na minutę, tj. do $66.4 \pm 14.3\%$ kontroli, a to głównie na skutek wydłużenia się wydechu od 0.65 ± 0.1 s do 1.27 ± 0.35 s, tj. do $198.9\% \pm 56\%$ (średnia \pm SD dla obu stron łącznie) wartości kontrolnej. Czas wdechu wydłużał się minimalnie – do $104.9\% \pm 17.2$ wartości kontrolnej, tj. od 0.49 ± 0.06 s do 0.51 ± 0.07 s.

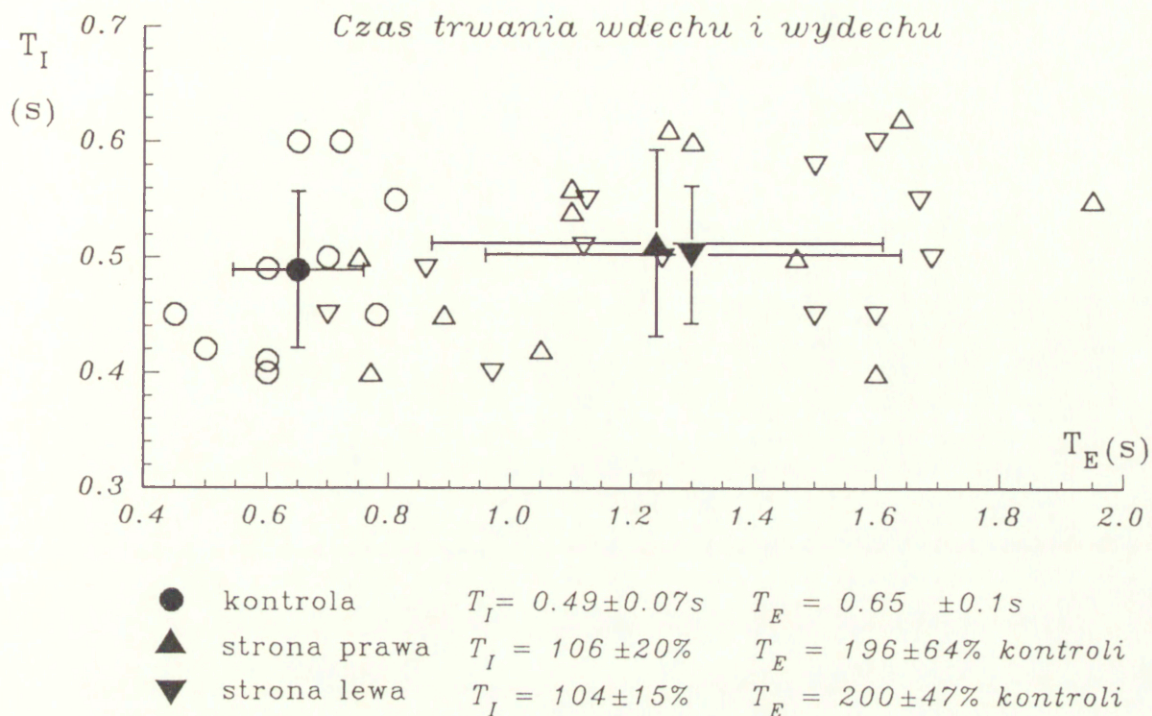
Zbiorcze zestawienie zmian wzorca oddechowego w wyniku rozszczepienia pnia mózgu u królików prezentuje ryc. 4.4.



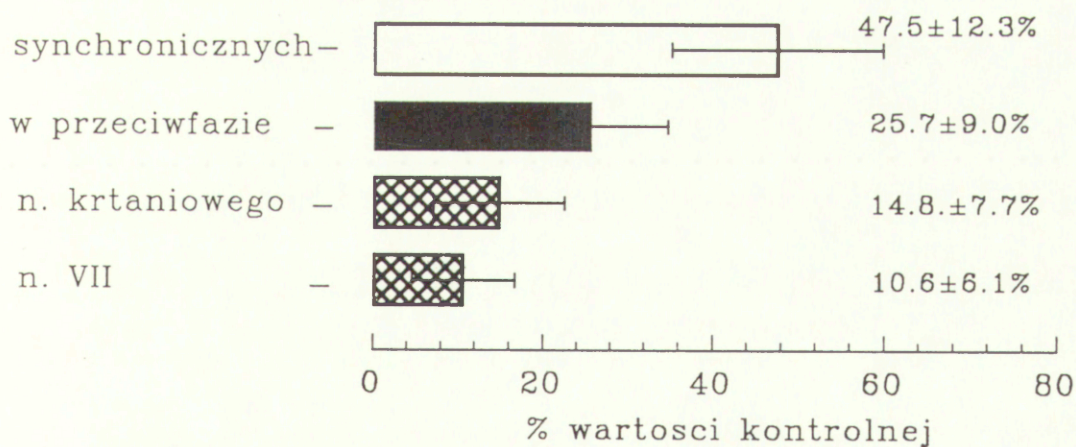
Ryc. 4.3A. Histogram prawdopodobieństwa pojawienia się salwy wdechowej nerwu przeponowego w określonej części cyklu strony przeciwnej. Pojedyncza klasa histogramu ma "długość" 10 % średniego czasu wdechu (od 0 do 100%) i wydechu (od 100 do 200%). Np. fakt, że czwarty od lewej słupek histogramu ma wysokość 4.8 należy interpretować, że w przedziale od 30% do 40% czasu trwania wdechu po jednej stronie rozpoczęło się 4.8% salw po stronie przeciwnej. Były to salwy częściowo nakładające się, które rozpoczęły się w czasie wdechu, a zakończyły w wydechu (słupek zakreskowany skośnie). Część czarna ostatniego słupka ma wysokość 6.1%. Oznacza to, że 6.1% wszystkich salw synchronicznych rozpoczęło się w czasie ostatnich 10% wydechu po stronie przeciwnej. Pomimo, że salwy te wyprzedzały moment rozpoczęcia się wdechu po stronie przeciwnej to, zostały uznane za synchroniczne, gdyż "wyprzedzenie" było mniejsze niż 50 ms.

Ryc. 4.3B Gęstość prawdopodobieństwa rozpoczęcia się salwy po stronie przeciwnej aproksymowana wielomianem 9 stopnia. Prawdopodobieństwo pojawienia się salwy w czasie od t_1 do t_2 jest równe całce oznaczonej po czasie od t_1 do t_2 . Pole pod krzywą dla całego cyklu jest równe jedności.

Parametry wzorca oddechowego po rozszczepieniu pnia mózgu



Amplituda salw wdechowych:



Ryc. 4.4. Porównanie parametrów wzorca oddechowego przed i po rozszczepieniu pnia mózgu u królików.

Wykres górny przedstawia czasy wdechu - T_I i wydechu - T_E u 12 królików w kontroli (otwarte kółka) i po rozszczepieniu pnia mózgu (otwarte trójkąty).

Wartości średnie z odchyleniem standardowym zaznaczone są za pomocą symboli wypełnionych.

Wykres dolny pokazuje amplitudy nerwów oddechowych po rozszczepieniu pnia mózgu wyrażone jako procent amplitud kontrolnych.

U 15 królików i 6 kotów po przecięciu nerwów błędnych na elektrodach położono ośrodkowe (*proksymalne*) części tych nerwów i rejestrowano ich aktywność jednocześnie z aktywnością nerwów przeponowych. Fazowa składowa aktywności nerwów błędnych pochodzi z włókien tworzących nerw krtaniowy zwrotny. Po cięciach u 8 królików (53%) i u 4 kotów (66%) nerwy pozostały aktywne fazowo. U pozostałych zwierząt aktywność fazowa zanikła na rzecz aktywności tonicznej. U 8 królików u których eferentna aktywność nerwów błędnych pozostała fazowa, składowa wdechowa²³ tej aktywności miała po cięciach wartość $14.8\% \pm 7.7$ wartości kontrolnej.

U 16 innych królików i 6 kotów rejestrowano aktywności nerwów twarzowych. U 8 królików i 3 kotów po cięciach aktywność tych nerwów pozostała fazowa, natomiast u pozostałych zwierząt stała się toniczna. Składowa wdechowa²³ aktywności nerwów twarzowych spadła do $10.6\% \pm 6.1$ wartości kontrolnej. Procentowy spadek amplitudy nerwów czaszkowych był u wszystkich królików większy niż spadek aktywności nerwów przeponowych.

U kotów spadek aktywności nerwów przeponowych i czaszkowych był podobny i wynosił od 93 do 98% wartości kontrolnej.

Przed cięciem amplituda komponenty wdechowej badanych nerwów czaszkowych była zawsze większa niż amplituda składowej wydechowej. W wyniku cięć u królików i kotów procentowy spadek składowej wdechowej nerwów czaszkowych, był większy, niż spadek składowej wydechowej. W efekcie tej dysproporcji pomiędzy redukcją komponenty wdechowej i wydechowej po cięciu u 5 królików i 2 kotów składowa wydechowa aktywności n. VII była po jednej lub obu stronach większa od składowej wdechowej.

U królików w okresie wydechu n.Ph nie wykazywał żadnej aktywności, natomiast u kotów, w okresie wydechu obserwowano aktywność toniczną.

23. Nerwy czaszkowe mają zwykle dwie składowe aktywności: wdechową, tj. jednoczesną z salwą nerwu przeponowego i wydechową, która pojawia się w czasie gdy nerw przeponowy nie jest aktywny (patrz też rozdział 1.5).

4.4 Odruchy oddechowe w preparacie rozszczepionego pnia mózgu.

Po ustaleniu, że subgeneratory w każdej z połówek pnia mózgu generują periodyczną aktywność w nerwach oddechowych, zadano pytanie, czy zachowują one właściwości funkcjonalne generatora nienaruszonego ?

Sprawdzano czy pomimo rozszczepienia pnia mózgu zachowane są następujące odruchy:

- a) inflacyjny odruch Breuera- Heringa,
- b) odruch ochronny krtani,
- c) odpowiedź na ujemne ciśnienie w krtani.

ad a) Badając efekty rozciągnięcia płuc (inflacji) w czasie wdechu i wydechu stwierdzono, że po rozszczepieniu pnia mózgu odpowiedź odruchowa na inflację płuc była jakościowo taka sama jak u zwierzęcia nienaruszonego (porównaj ryc. 4.5A z ryc. 4.5B).

Po jednostronnej wagoTomii odpowiedź obserwowano głównie lub wyłącznie po stronie zachowanego nerwu błędnego.

Zapisy przedstawione na ryc. 4.5A i B wykonano u tego samego królika po lewostronnej wagoTomii. Przed rozszczepieniem pnia mózgu odpowiedź była jednakowa po obu stronach. Po cięciach odpowiedź odruchowa wystąpiła wyłącznie po stronie prawej. Pomimo wykonania inflacji płuc takim samym ciśnieniem $10 \text{ cmH}_2\text{O}$ zatrzymanie oddychania po rozszczepieniu pnia mózgu trwało 3.9 raza dłużej niż przed cięciami.

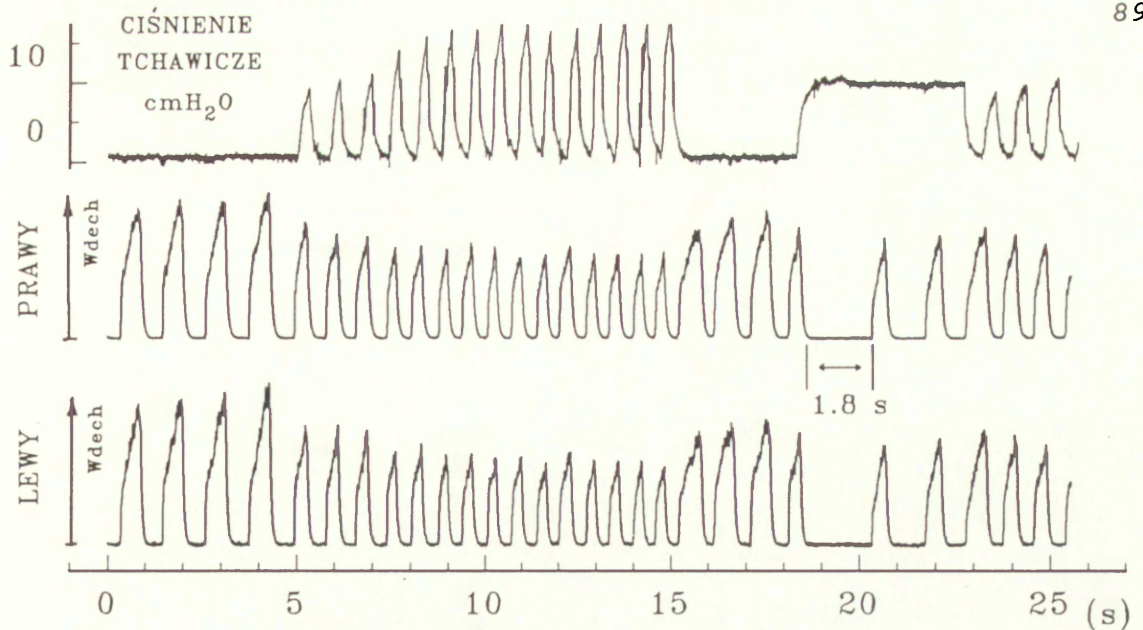
Takie kilkukrotne (2.1 - 4.7) wzmocnienie odpowiedzi było regułą i wystąpiło u wszystkich (n=12) badanych królików

ad b) Podrażnienie nabłonka krtani prowadzi do bezdechu. Odruch ten wywoływany jest zwykle dostaniem się płynów, pokarmów lub innych ciał obcych do krtani. W celach badawczych może być wywołany u człowieka i zwierząt poprzez stymulację elektryczną nerwu krtaniowego górnego. W wielu pracach (por. roz. 1.7 oraz Donnelly i Haddad - 1986, Lawson - 1981) pokazano, że u zwierząt jednostronna stymulacja wywołuje zahamowanie aktywności wdechowej we wszystkich nerwach oddechowych.

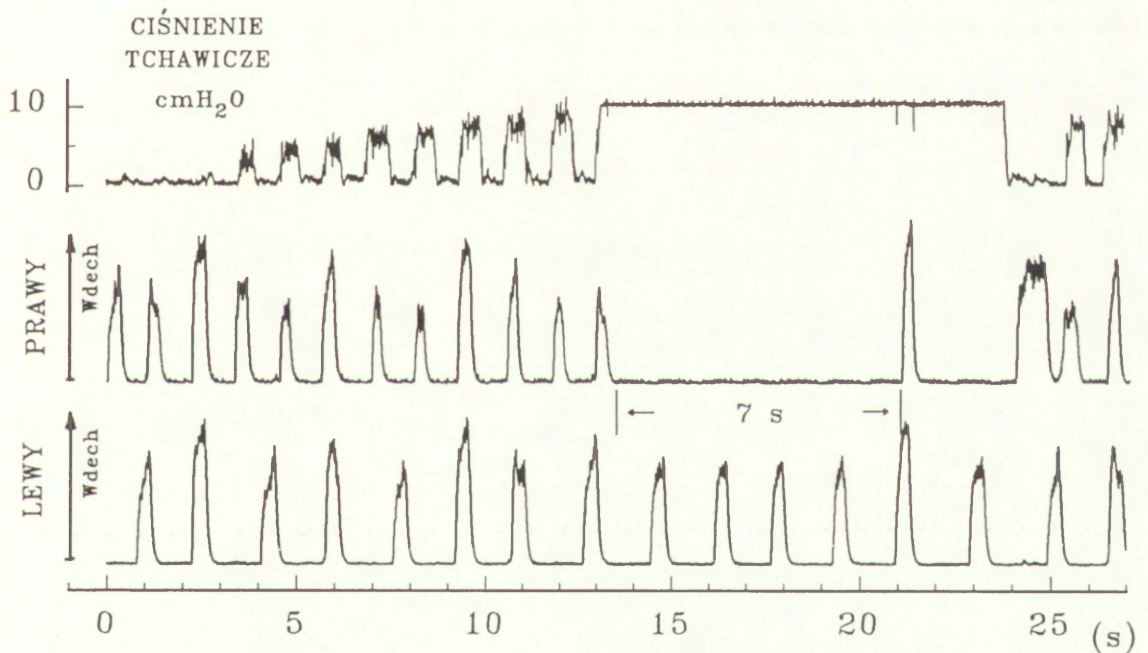
Rycina 4.6 przedstawia efekt jednostronnej stymulacji nerwu krtaniowego górnego po rozszczepieniu pnia mózgu u kota. Rycina pokazuje, że rozszczepienie pnia mózgu nie eliminuje odruchu ochronnego krtani. Po cięciu odruch występuje tylko po stronie ipsilateralnej.

ad c) Ujemne ciśnienie w obrębie krtani wywołuje na drodze odruchowej wydłużenie czasu T_1 i wzrost aktywności nerwów zaopatrujących mięśnie górnych dróg oddechowych [Mathew i wsp. -1984] w tym nerwu twarzowego (n. VII). Jednocześnie amplituda nerwu przeponowego nie zmienia się lub maleje o kilka procent. W kontroli odruch był obecny obustronnie pomimo jednostronnego przecięcia drogi aferentnej, tj. nerwu krtaniowego górnego. Po rozszczepieniu pnia mózgu odruch był nadal obecny, ale wyłącznie po stronie nienaruszonego nerwu krtaniowego.

A.



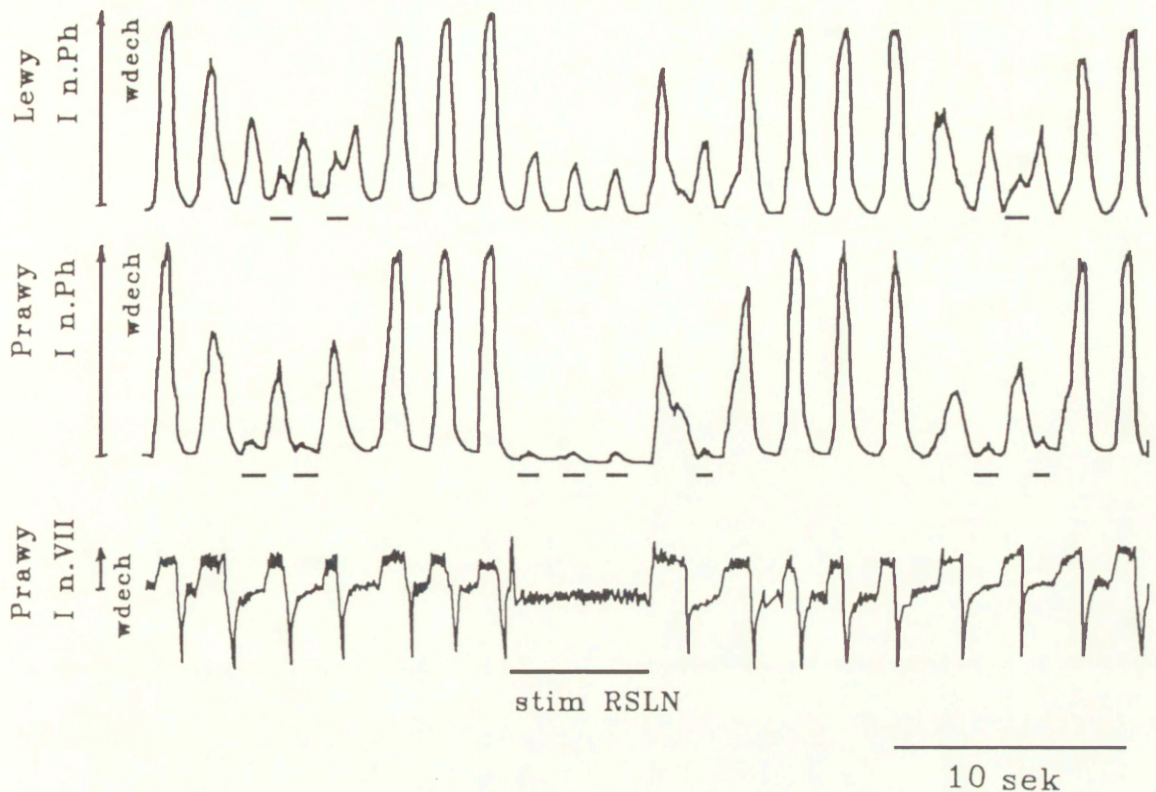
B.



Ryc. 4.5. Wpływ inflacyjnego odruchu Breuera–Heringa na aktywność prawego i lewego nerwu przeponowego u królika po lewostronnej wagotomii. Oba zapisy wykonano u tego samego zwierzęcia. Rozciągnięcie płuc wywołano poprzez połączenie tchawicy ze źródłem ciśnienia = 10 cmH₂O.

A) Przed rozszczepieniem pnia mózgu rozciągnięcie płuc zatrzymuje oddychanie na okres 1.8 sek. Odpowiedź po stronie przeciętego i nienaruszonego nerwu błędnego jest identyczna.

B) Efekt inflacji tym samym ciśnieniem po rozszczepieniu pnia mózgu. Tym razem oddychanie uległo zahamowaniu na okres 7 sekund, wyłącznie po stronie prawej. Na zapisach przedstawiono od góry: ciśnienie tchawicze, integrowaną aktywność prawego i lewego nerwu przeponowego. Kierunek osi pionowych (do góry) pokazuje kierunek wzrostu aktywności nerwu przeponowego, tj. wdechu.



Ryc.4.6. Aktywność lewego i prawego nerwu przeponowego oraz nerwu twarzowego u kota po rozszczepieniu pnia mózgu. (Cięcie od +10 do -4 mm względem obexu, narkoza halotanowa 0.9 vol%, $P_a\text{CO}_2 = 52$ mmHg, podano naloxon i.v. 0.4 mg/kg).

Salwy wdechowe po przeciwnych stronach ciała są zdesynchronizowane. Natomiast aktywności nerwów oddechowych (prawy nerw przeponowy i twarzowy) po tej samej stronie ciała są dokładnie synchroniczne.

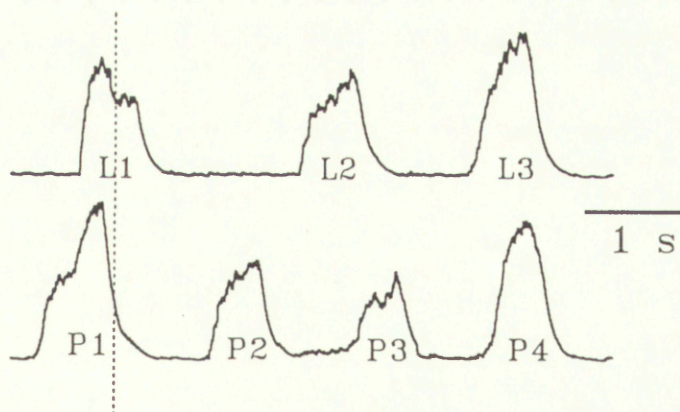
Stymulacja elektryczna (prawego) nerwu krtaniowego górnego (oznaczona stim RSLN) daje typowy efekt, tj. zatrzymanie oddychania. W odróżnieniu od zwierząt z nieprzeciętym pniem mózgu reakcja na bodziec dotyczy tylko strony ipsilateralnej (prawej). Dowodzi to, że cięcie w linii pośrodkowej nie narusza kluczowych elementów neuronalnych łuku odruchu ochronnego z krtani. Natomiast przerwaniu ulegają drogi przekazujące informację o pobudzeniu receptorów krtani na stronę przeciwną.

Pomimo, że stymulacja nerwu krtaniowego po stronie prawej zatrzymała generację rytmu oddechowego, na co wskazuje brak aktywności n. VII, na n. przeponowym widoczne są b. małe salwy dokładnie synchroniczne z aktywnością strony przeciwnej. Takie same niewielkie pobudzenia można zaobserwować (podkreślone) również, w czasie fazy wydechu przed i po stymulacji. Są to tzw. salwy skrzyżowane będące efektem skrzyżowanego pobudzenia jądra nerwu przeponowego przez włókna zstępujące po stronie przeciwnej i skrzyżowane na poziomie jąder n.Ph. (patrz rozdział.4.6)

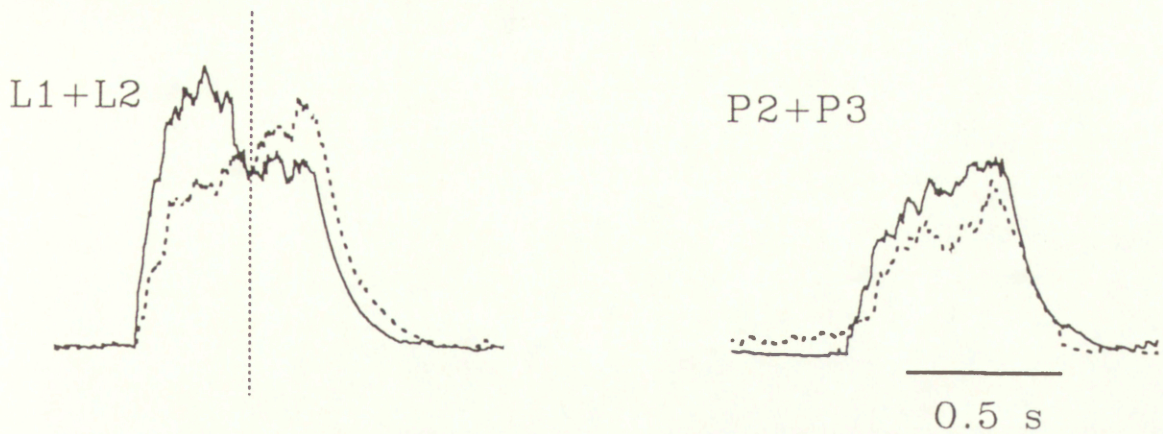
Na neurogramach aktywności nerwów przeponowych widoczne są jeszcze inne cechy wskazujące na występowanie (opisanych w rozdz. 4.5, 4.6, 4.7) oddziaływań pomiędzy stronami. Widoczny jest gwałtowny wzrost aktywności nerwów przeponowych w czasie, gdy oba te nerwy "odpalają" jednocześnie. W odróżnieniu od amplitudy nerwów przeponowych amplituda salw n. VII jest stała i niezależna od aktywności subkontrolera po stronie przeciwnej. Dowodzi to, że opisana wyżej wzajemna modulacja amplitud zachodzi wyłącznie na poziomie rdzenia szyjnego.

4.5 Fluktuacje amplitudy jako dowód sprzężenia między subgeneratorami rytmu oddechowego za pośrednictwem połączeń neuronalnych skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego.

Obok desynchronizacji najbardziej charakterystyczną cechą aktywności nerwów przeponowych jest zmienność z oddechu na oddech amplitudy salw wdechowych. Zjawisko to występowało u wszystkich zwierząt ze zdesynchronizowanymi rytmami. Ilustruje je rycina 4.7A. Salwa L3 jako synchroniczna z P4 ma wyraźnie większą amplitudę od salw L1, L2. Salwy P2, P3 mają niższe amplitudy od salw P1, P4, gdyż w całości zawierają się w okresie wydechu strony przeciwnej. Aktywność salwy P1 rozpoczyna się w okresie wydechu strony przeciwnej. Aktywność salwy P1 rozpoczyna się w czasie wydechu po stronie lewej i wolno narasta, z chwilą gdy po stronie przeciwnej (lewej) wydech zostaje przełączony na wdech, szybkość wzrostu aktywności wdechowej salwy P1 gwałtownie zwiększa się.



Ryc. 4. 7A. Zdesynchronizowane salwy po lewej (L1-L3) i prawej (P1-P4) stronie ciała.



Ryc. 4.7 B Porównanie różnych typów salw nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu.

Lewa część rysunku przedstawia nałożone na siebie salwy L1 (linia ciągła) i L2 (linia przerywana) z ryc. 4.7 A. Prawa część rysunku przedstawia nałożone na siebie salwy P2 (linia ciągła) i P3 (linia przerywana) z ryc. 4.7 A.

Dla salwy L1 sytuacja jest odwrotna. Aktywność nerwu przeponowego osiąga wysoką wartość w pierwszej połowie salwy, jednak z chwilą gdy po stronie przeciwnej rozpoczyna się wydech, gwałtownie maleje.

Efekty te można prześledzić nakładając na siebie salwy, tak jak to zrobiono w części B ryc. 4.7. Linia pionowa na rycinie 4.7B jest tą samą linią co na rycinie 4.7A. Postawiono ją w miejscu które odpowiada czasowi zakończenia się wdechu (salwy P1) po stronie przeciwnej. Na lewo od tej linii, tj. w okresie gdy po stronie prawej trwała salwa P1 aktywność salwy L2 (linia przerywana) była niższa od aktywności salwy L1 (linia ciągła). Tuż po zakończeniu się salwy P1, tj. na prawo od linii pionowej, aktywność salwy L1 spadła poniżej aktywności salwy L2. Salwa L2 jest salwą w przeciwfazie i rozpoczyna się i kończy w czasie wydechu strony przeciwnej i dlatego nie podlega pobudzającym wpływom ze strony przeciwnej. Można więc postawić pytanie dlaczego z chwilą gdy rozpoczyna się wydech po stronie przeciwnej aktywność, po stronie lewej nie spada do poziomu salwy L2, ale spada bardziej. Aby to wyjaśnić należy, założyć, że mamy do czynienia z aktywnym hamowaniem, którego źródłem jest subgenerator strony przeciwnej i które rozpoczyna się z chwilą zaniku salwy wdechowej.

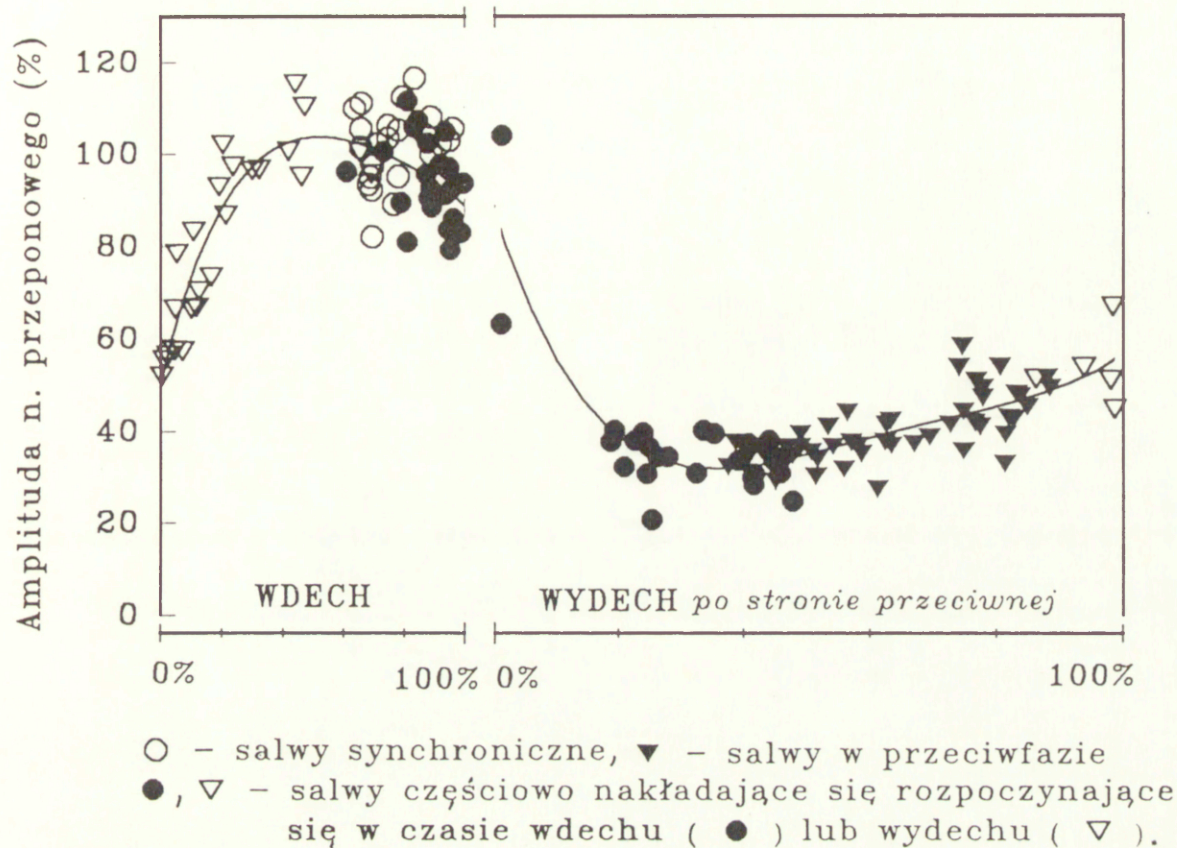
Po prawej stronie ryciny 4.7B pokazano nałożoną na salwę P2 salwę P3. Obie salwy są salwami w przeciwfazie i nie podlegają pobudzającym wpływom strony przeciwnej, powinny więc być równe. Tak jednak nie jest. Salwa P3 ma bardzo złożony kształt i jej aktywność "ulega załamaniu" w chwilę po zakończeniu się salwy L2.

Nie można tego inaczej wytłumaczyć jak poprzez wystąpienie aktywnego hamowania lub dysfacylitacji.

Opisane wyżej oddziaływania są interesujące, ponieważ zachodzą po przecięciu wszystkich szlaków skrzyżowanych, położonych rostralnie od C1. Opisana zmienność amplitudy n.Ph dowodzi, że oddziaływania propagowane poprzez połączenia neuronalne skrzyżowane na poziomie rdzenia kręgowego mogą w istotny sposób modyfikować poziom pobudzenia motoneuronów nerwu przeponowego. Przykład z ryciny 4.7 jest typowy dla zmian amplitudy n. Ph po rozszczepieniu pnia mózgu. Aktywność nerwu przeponowego po jednej stronie była ściśle związana z aktywnością n.Ph po drugiej stronie. Aktywność ta narastała szybko i osiągała wysoką amplitudę, gdy jednocześnie był aktywny n.Ph po stronie przeciwnej i wolno, gdy strona przeciwna znajdowała się w fazie wydechu. W efekcie salwy synchroniczne miały największą, a salwy o przeciwnych fazach najmniejszą amplitudę.

Salwy częściowo pokrywające się mogły osiągnąć tę samą amplitudę co salwy synchroniczne, jeżeli więcej niż 60% czasu trwania ich aktywności przypadało na okres wdechu po stronie przeciwnej. Jeżeli czas oddziaływania między salwami był krótszy, to miały one amplitudy o wartościach pośrednich między amplitudami salw synchronicznych i będących w przeciwnych fazach. Ilustruje to rycina 4.8. Na rycinie jako wielkość amplitudy równą 100% przyjęto średnią amplitudę salw synchronicznych.

Zależność amplitudy nerwu przeponowego od fazy cyklu oddechowego po przeciwnej stronie ciała.



Ryc. 4.8. Zależność amplitudy salwy nerwu przeponowego od czasu jej pojawienia się w ramach cyklu aktywności strony przeciwnej. Za 100% przyjęto średnią amplitudę salw synchronicznych. Dla odróżnienia typu salwy (której amplitudę badano) użyto czterech rodzajów oznaczeń punktów. Zależność funkcyjną między amplitudą, a czasem jej wystąpienia aproksymowano wielomianem 4 stopnia. Bezpośrednią konsekwencją oddziaływań pomiędzy stronami jest najwyższa amplituda salw synchronicznych oraz wysoka amplituda salw, dla których druga połowa wdechu jest jednocześnie z aktywnością strony przeciwnej.

Puste trójkąty oznaczają te salwy częściowo nakładające się, które rozpoczynają się w wydechu, a następnie przez pewien czas pokrywają się z wdechem strony przeciwnej (np. salwa P1 z ryc. 4.7A). Wykres pokazuje, że takie salwy mają niższe amplitudy od salw synchronicznych jeśli ich jednoczesna aktywność z salwą po stronie przeciwnej trwa krócej niż 40% czasu wdechu.

Najniższą amplitudę ca. 38% mają salwy, których szczyt aktywności przypada na sam początek wydechu strony przeciwnej. Zwraca uwagę fakt, że jeżeli szczytowa aktywność (amplituda) salwy osiągnięta jest w czasie wydechu po stronie przeciwnej to amplituda ta jest coraz wyższa wraz ze zbliżaniem się do końca wydechu. Ponieważ, po stronie przeciwnej brak w tym czasie jakiegokolwiek aktywności wdechowej dowodzi to, że neurony ruchowe poddane są aktywnemu hamowaniu bądź dysfacylitacji. Hamowanie to jest najsilniejsze w ciągu pierwszy 20% czasu trwania wydechu po stronie przeciwnej.

Salwy każdej grupy miały wyraźnie inny kształt. Salwy częściowo nakładające się miały nietypowe kształty, co wynikało z raptowego wzrostu szybkości narastania zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego w momencie rozpoczęcia się salwy wdechowej kontralateralnego n.Ph np. salwa L1 z ryc. 4.7A, B osiąga maksimum w pierwszej połowie wdechu.

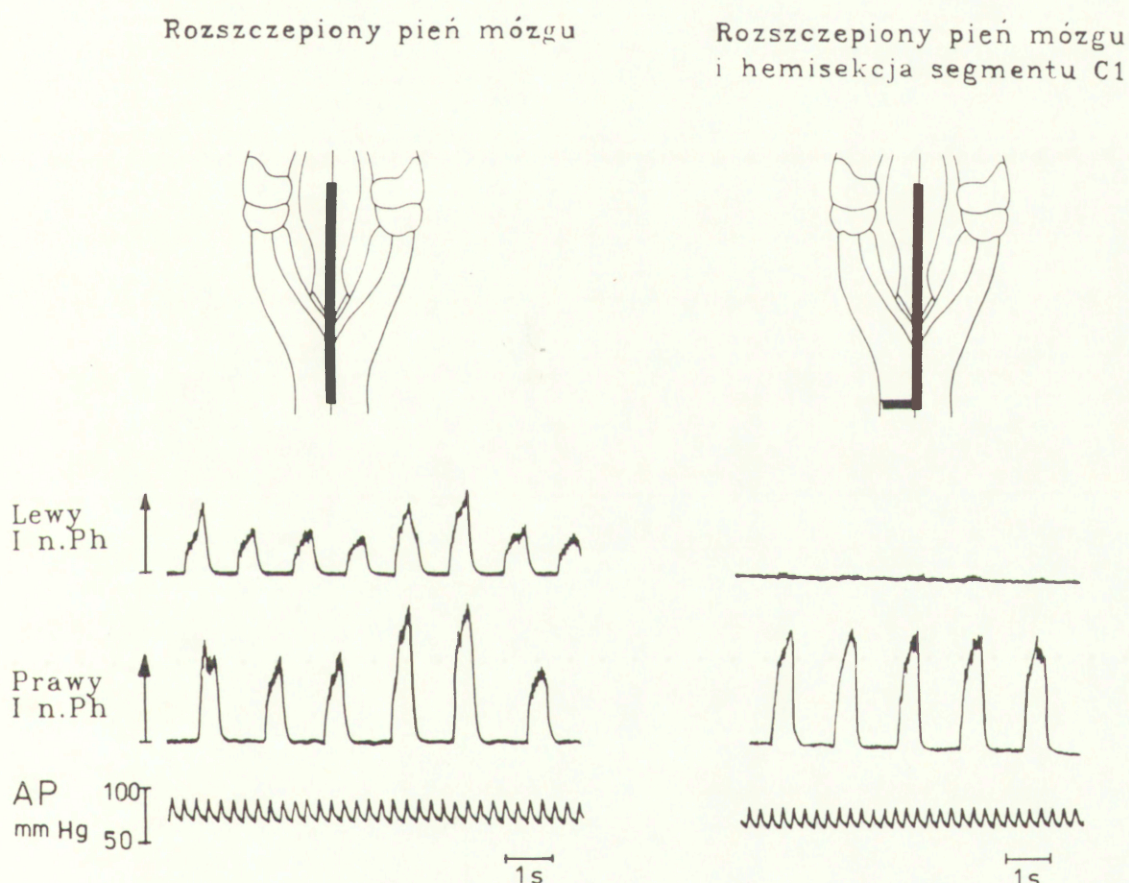
Salwy o przeciwnej fazie miały najmniejsze amplitudy. Pomimo, że ich szczyt aktywności przypadał w czasie, gdy po stronie przeciwnej nerw przeponowy nie był aktywny to salwy te miały zróżnicowane amplitudy. Jeżeli szczytowa aktywność salwy przypadła na początek wydechu strony przeciwnej, to amplituda miała najmniejszą wartość. W miarę trwania wydechu strony przeciwnej amplituda salw w przeciwfazie wzrastała, pokazuje to ryc. 4.8.

Podjąłem próbę wyjaśnienia mechanizmu powstawania fluktuacji amplitudy. Pierwsza seria eksperymentów miała odpowiedzieć na pytanie, czy fluktuacje amplitudy występują również w aktywności tych nerwów, których motoneurony nie są pobudzane przez szlaki rdzeniowe. Takimi nerwami są oddechowe nerwy czaszkowe, np. nerw podjęzykowy (n. XII) i nerw krtaniowy dolny. Zarówno tworzące je neurony ruchowe jak i pobudzające je neurony przedruchowe leżą blisko siebie na poziomie pnia mózgu. Analiza neurogramów nerwów krtaniowych i twarzowych wykazała, że ich amplitudy były stałe, tj. niezależne od wzajemnych stosunków faz między stronami.

Fakt, że zjawisko fluktuacji amplitudy dotyczyło tylko nerwów przeponowych oraz że wszystkie szlaki ponadrdzeniowe zostały przecięte, wskazywał na udział skrzyżowanych dróg rdzeniowych. Jeżeli tak, to jednostronne przerwanie przewodnictwa we wszystkich oddechowych szlakach pniowo-

rdzeniowych winno również jednostronnie wyeliminować aktywność w rdzeniowych włóknach skrzyżowanych.

Celem weryfikacji tej hipotezy u 12 królików i 6 kotów wykonano blokadę lignokainową lub hemisekcję brzuszno-boczną części rdzenia kręgowego na wysokości C1-C2. Efektem blokady albo hemisekcji (patrz ryc. 4.9) było wyeliminowanie aktywności ipsilateralnego nerwu przeponowego (czasami z wyjątkiem salw skrzyżowanych, patrz rozdział 4.6).



Ryc. 4.9. Wpływ lewostronnego przecięcia (hemisekcji) zstępujących dróg do neuronów ruchowych nerwu przeponowego na aktywność lewego (wyżej) i prawego nerwu przeponowego.

W efekcie cięcia aktywność uległa stabilizacji na poziomie pośrednim między salwami synchronicznymi i salwami o przeciwnych fazach.

Ponad neurogramami na schematach pnia mózgu (widok od strony grzbietowej) zaznaczono zakres wykonanych cięć. Schemat po stronie lewej rysunku przedstawia cięcie rozszczepiające pień mózgu. Schemat po stronie prawej rysunku przedstawia to cięcie i hemisekcję lewej strony segmentu C1.

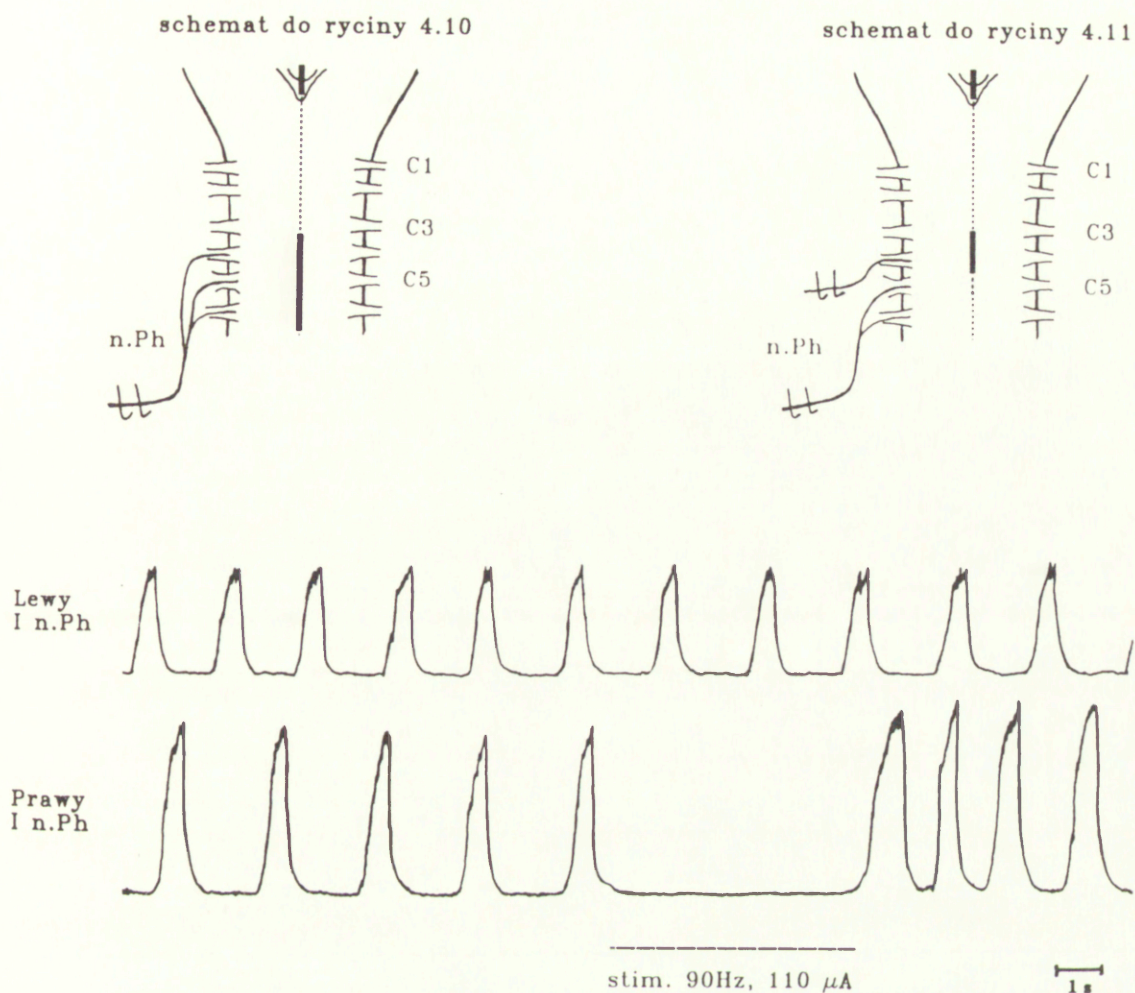
Po blokadzie farmakologicznej oddechowych szlaków opuszkowo-rdzeniowych lub po hemisekcji rdzenia szyjnego na wysokości C1 lub C2 (ryc. 4.9) wartość amplitudy nerwu przeponowego po stronie przeciwnej ulegała stabilizacji. Poziom na którym stabilizowała się amplituda był nieco wyższy niż amplituda salw w przeciwfazie, lecz niższy niż amplituda salw synchronicznych.

Podjęto próbę ustalenia, na jakim poziomie rdzenia informacja o aktywności jednej strony jest przekazywana na stronę przeciwną. U 4 królików przedłużono cięcie opuszki aż do 6-tego segmentu szyjnego. U wszystkich zwierząt spowodowało to zanik fluktuacji amplitudy.

Trzy dalsze eksperymenty wykazały, że do otrzymania takiego samego efektu nie jest konieczne cięcie całego rdzenia, a tylko segmentów C4, C5, C6. Pokazuje to ryc. 4.10.

Efekty rozszczepienia segmentów C4–C6 rdzenia zdecydowanie wskazują na udział włókien skrzyżowanych w zjawisku fluktuacji amplitudy. Jądro nerwu przeponowego u królika znajduje się w segmentach C4, C5, C6 [Ullach – 1978, Janczewski i wsp. – 1992]. Nerw przeponowy utworzony jest z trzech gałązek opuszczających rdzeń kręgowy wraz z czwartą, piątą i szóstą parą nerwów rdzeniowych.

Postawiono hipotezę, że możliwe jest selektywne wyeliminowanie zjawiska fluktuacji amplitudy w aktywności gałązki C4. Hipotezę oparto na założeniu, że neurony ruchowe których aksony tworzą gałązkę C4 nerwu przeponowego znajdują się głównie w segmencie C4 [Janczewski i wsp. – 1992] oraz, że skrzyżowanie włókien odpowiedzialnych za zjawisko fluktuacji amplitudy następuje na poziomie jądra nerwu przeponowego.

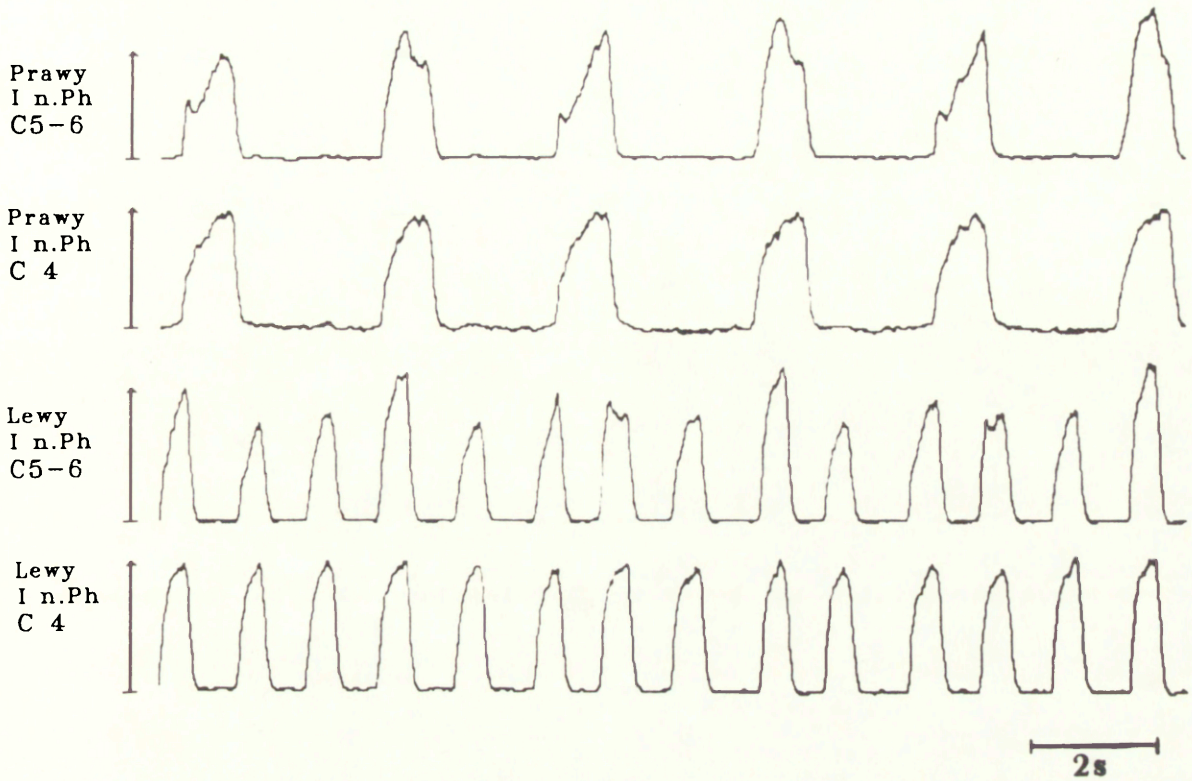


Ryc. 4.10. Zintegrowana aktywność lewego i prawego nerwu przeponowego (gałązki C5–C6) po rozszczepieniu opuszki i rozdzieleniu jąder n. Ph w segmentach C4–C6.

Amplituda salw synchronicznych jest taka sama jak amplituda salw o przeciwnych fazach. Taka równość amplitud n i g d y nie występuje w preparacie rozszczepionego pnia mózgu przed cięciami rdzenia. Co więcej, rozszczepienie rdzenia jest jedyną znaną metodą uzyskiwania równych amplitud nerwów przeponowych przy ich asynchronicznej aktywności.

Stymulacja prawego nerwu błędnego nie wpływa na amplitudę aktywności strony lewej, natomiast zatrzymuje aktywność wdechową po stronie ipsilateralnej. Jest to obraz istotnie różny (por. ryc. 4. 5) od obserwowanego przed rozszczepieniem segmentów C5–C6.

Ponad zapisami na schematach rdzenia kręgowego zaznaczono zakres cięcia wykonanego w obrębie rdzenia. Schemat po lewej stronie odnosi się do tej ryciny i przedstawia cięcie w linii pośrodkowej segmentów C4, C5, C6. Schemat po stronie prawej umieszczono celem porównania. Dotyczy on ryciny następnej, tj. 4.11 i przedstawia cięcie w obrębie segmentu C4.



Ryc. 4.11. Jednoczesne, obustronne zapisy aktywności gałązek C4 i C5-6 po rozszczepieniu pnia mózgu oraz cięciu w linii pośrodkowej segmentu C4 i górnej 1/3 segmentu C5. Takie cięcie rdzenia selektywnie eliminuje fluktuacje amplitudy w gałązkach C4.

Celem weryfikacji tej hipotezy przeprowadzono 6 eksperymentów, w których po rozszczepieniu pnia mózgu rejestrowano obustronnie aktywność gałązki²⁴ C4 i osobno gałązki C5-C6. Następnie wykonano dodatkowe cięcie rozszczepiające w linii pośrodkowej wyłącznie segment C4.

Rozszczepienie segmentu C4 wyeliminowało fluktuacje amplitudy gałązek C4 przy ich zachowaniu w aktywności gałęzi C5-C6 (jak pokazano na ryc. 4.11).

24. Nerw przeponowy u królika powstaje z połączenia włókien opuszczających rdzeń kręgowy wraz z 4-tym, 5-tym i 6-tym nerwem rdzeniowym. Włókna z korzonka C4 na odcinku kilku centymetrów biegną oddzielnie tworząc łatwy do odpreparowania nerw. Włókna z korzonków C5 i C6 wspólnie tworzą jeden nerw i ich rozdzielenie jest trudne. Dwa opisane nerwy przed wejściem do klatki piersiowej łączą się w jeden nerw.

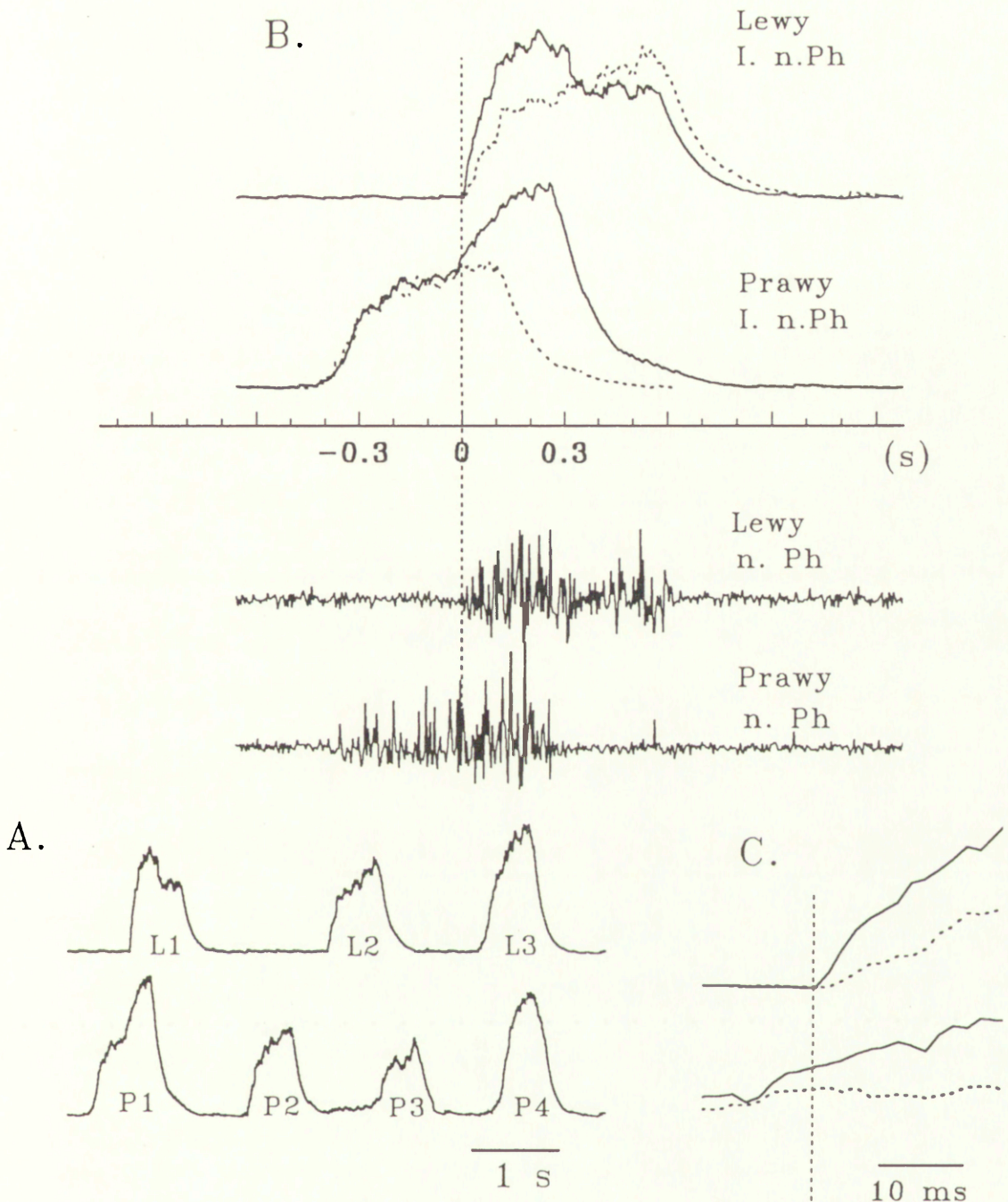
Otrzymane wyniki przekonują, że szlaki neuronalne odpowiedzialne za fluktuacje amplitudy krzyżują się w pobliżu (na tym samym poziomie) unerwianych motoneuronów. Wynik ten nie daje jednak odpowiedzi na pytanie, jakiego rodzaju skrzyżowane połączenia odpowiedzialne są za fluktuacje amplitudy.

Wśród wielu możliwości należy rozważyć hipotezę, że dodatkowe pobudzenie, które sprawia, że salwy synchroniczne mają największą amplitudę, dociera do przeciwnej strony rdzenia poprzez odgałęzienia aksonów, lub dendryty neuronów ruchowych przepony. Można założyć, że wypustki te przechodzą poprzez linię pośrodkową i pobudzają neurony strony przeciwnej bezpośrednio lub poprzez neuron pośredniczący.

Jeżeli dodatkowe pobudzenie jednej strony byłoby wtórne do pobudzenia jądra nerwu przeponowego strony przeciwnej, to ze względu na czas propagacji powinno ono wystąpić z pewnym opóźnieniem w stosunku do początku aktywności jądra.

Celem określenia wartości opóźnienia między początkiem salwy jednej strony, a momentem wzrostu aktywności strony przeciwnej przeanalizowano u 12 królików 250 salw częściowo pokrywających się.

Zaskakującym wynikiem było stwierdzenie, że nagły wzrost szybkości narastania aktywności salwy częściowo pokrywającej się w ani jednym wypadku nie był opóźniony, ale o 0 do 7ms wyprzedzał moment pojawienia się aktywności w nerwie kontralateralnym. Ilustruje to rycina nr 4.12.



Ryc. 4.12. Związki czasów i amplitud w salwach częściowo pokrywających się.

A) Zintegrowane neurogramy n. Ph po rozszczepieniu pnia mózgu. L1-L3 kolejne salwy po stronie lewej. P1- P4 kolejne salwy po stronie prawej.

B) Moment rozpoczęcia się salwy lewego nerwu przeponowego (L1) w trakcie trwania salwy nerwu po stronie prawej (P1). Celem porównania jak wyglądałaby salwa L1 gdyby nie była zmieniona na skutek oddziaływan z salwą P1, na salwę L1 (linia ciągła) nałożono wolną od takich oddziaływań salwę w przeciwfazie L2 (linia przerywana). Dla tych samych celów na salwę P1 (linia ciągła) nałożono salwę P2 (linia przerywana). Pod sygnałami zintegrowanymi przedstawiono sygnały niezintegrowane salw L1 i P1. Zarówno na sygnałach bezpośrednich jak i zintegrowanych widać, że raptowny wzrost aktywności prawego n. Ph następuje przed początkiem aktywności lewego nerw przeponowego.

C) Fragment zapisu z części B wykonany przy 25-krotnie szybszej podstawie czasu. Przy tej podstawie czasu widoczne jest, że moment rozpoczęcia się salwy L1 opóźniony jest w stosunku do momentu zmiany (wzrostu) aktywności salwy P1 o ok. 6 ms.

4.6 Pobudzenia skrzyżowane

U prawie 40% badanych zwierząt z rozszczepionym pniem mózgu w czasie gdy jeden z subgeneratorów znajdował się w fazie wydechu, tj. gdy nie należało oczekiwać aktywności ipsilateralnego n. Ph, obserwowano jego niewielkie pobudzenie. Miało ono charakter niskoczęstotliwościowej aktywności kilku włókien. Ze względu na znikomą amplitudę i krótki czas trwania takich wyładowań wyraźnie odróżniały się one od salw wdechowych zarówno typu synchronicznego, jak i salw w przeciwfazie (*patrz salwy podkreślone na ryc. 4.6 oraz wyładowania oznaczone strzałkami na ryc. 4.16*). Opisywane pobudzenia będą nazywane dalej pobudzeniami (lub salwami) skrzyżowanymi. Uzasadnieniem tej nazwy jest fakt, że pobudzenia skrzyżowane występują wyłącznie (tj. zawsze synchronicznie) w czasie, gdy n. Ph po stronie przeciwnej jest aktywny.

W czasie występowania takich pobudzeń ipsilaterany subgenerator był w fazie wydechu. Dowodził tego brak aktywności neuronów wdechowych w ipsilateralnej połowie opuszki oraz wdechowy charakter aktywności nerwu twarzowego (*patrz ryc. 4.16*). Z tych przyczyn salwy skrzyżowane nie mogły mieć swego źródła w aktywności neuronów przedruchowych ipsilateralnej opuszki.

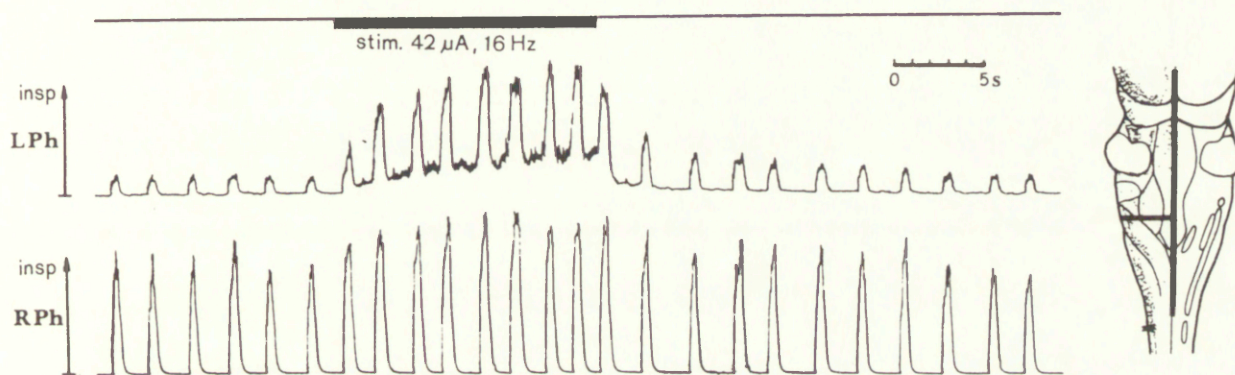
Jeżeli źródłem pobudzenia dla salw skrzyżowanych nie była ipsilateralna opuszka, to uzasadnionym wydaje się przyjęcie założenia, że salwy te były wynikiem pobudzenia neuronów ruchowych przepony wyłącznie przez neurony przedruchowe leżące po przeciwnej stronie pnia mózgu. Konsekwentnie należało założyć, że aksony (lub ich odgałęzienia) tych neuronów przedruchowych krzyżują się na poziomie odcinka szyjnego rdzenia kręgowego.

Hipotezę potwierdzono następującymi obserwacjami eksperymentalnymi.

- A) Pobudzenia skrzyżowane pojawiają się, gdy ipsilateralny subgenerator jest w fazie wydechu.
- B) Pobudzenia skrzyżowane pojawiają się dokładnie synchronicznie z aktywnością nerwu przeponowego po przeciwnej stronie rdzenia.
- C) Zatrzymanie aktywności oddechowej po jednej stronie pnia mózgu eliminowało pobudzenia skrzyżowane nerwu przeponowego po stronie przeciwnej. Ilustruje to ryc. 4.6 gdzie w wyniku stymulacji prawego nerwu krtaniowego górnego zatrzymano przełączanie faz po stronie prawej. W efekcie po lewej stronie salwy skrzyżowane zostały wyeliminowane. Po stronie stymulacji pomimo zatrzymania generacji rytmu obserwowano salwy skrzyżowane, podczas gdy inne typy salw zostały wyeliminowane.
- D) Hemisekcja na poziomie dolnej opuszki lub C1-C2 znosiła ipsilateralną aktywność nerwu przeponowego, ale salwy skrzyżowane pozostawały. Jeśli hemisekcję wykonywano rostralnie do jądra pasma samotnego, to stymulacja elektryczna nerwu błędnego wyraźnie zwiększała amplitudę pobudzeń skrzyżowanych po stronie ipsilateralnej, jak to pokazano na ryc. 4.13.

Na rycinie 4.13 pokazano obecność salw skrzyżowanych w preparacie rozszczepionego pnia mózgu po tej samej stronie, po której wykonano hemisekcję na poziomie 2.5 mm powyżej zasuwki. Zgodnie z wynikami zaprezentowanymi w rozdz. 4.8 minimalnym substratem neuronalnym koniecznym do generacji rytmu oddechowego są wszystkie struktury zawarte w połowie opuszki położone bardziej kaudalnie niż jądro n. VII (patrz też. Gromysz i Karczewski -1981a). Ponieważ na prezentowanym

przykładzie hemisekcję wykonano o więcej niż 2 mm kaudalnie od jądra n.VII, subgenerator po stronie hemisekcji nieodwracalnie stracił możliwość generacji rytmu. Obserwowane na ryc. 4.13 salwy po stronie ipsilateralnej do hemisekcji (lewej) muszą więc mieć swe źródło w aktywności strony prawej.



Ryc. 4.13. Salwy skrzyżowane w aktywności lewego nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu i hemisekcji lewej strony opuszki. Stymulacja lewego nerwu błędnego (16Hz) znamienne podnosi amplitudę salw skrzyżowanych. Sygnały od góry: znacznik stymulacji, zintegrowana aktywność lewego i prawego nerwu przeponowego.

Po prawej stronie ryciny znajduje się schemat opuszki (rdzenia przedłużonego) widzianej od strony grzbietowej. Na tym schemacie zaznaczono zakres wykonanych cięć.

4.7 Fluktuacje czasu trwania fazy wydechu i wdechu jako dowód sprzeżenia między subgeneratorami rytmu oddechowego za pośrednictwem połączeń neuronalnych skrzyżowanych na poziomie rdzenia szynego

Nawet przy pobieżnej analizie neurogramów nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu można było zauważyć dwie charakterystyczne cechy dotyczące rytmu oddychania (patrz ryc. 4.15, 4.16, 4.17).

- a) czas trwania wdechu $/T_I/$ i wydechu $/T_E/$ zmieniał się z cyklu na cykl.
- b) najdłuższe wydechy obserwowano wtedy, gdy w trakcie wydechu po jednej stronie pojawiała się salwa aktywności wdechowej po stronie przeciwnej.

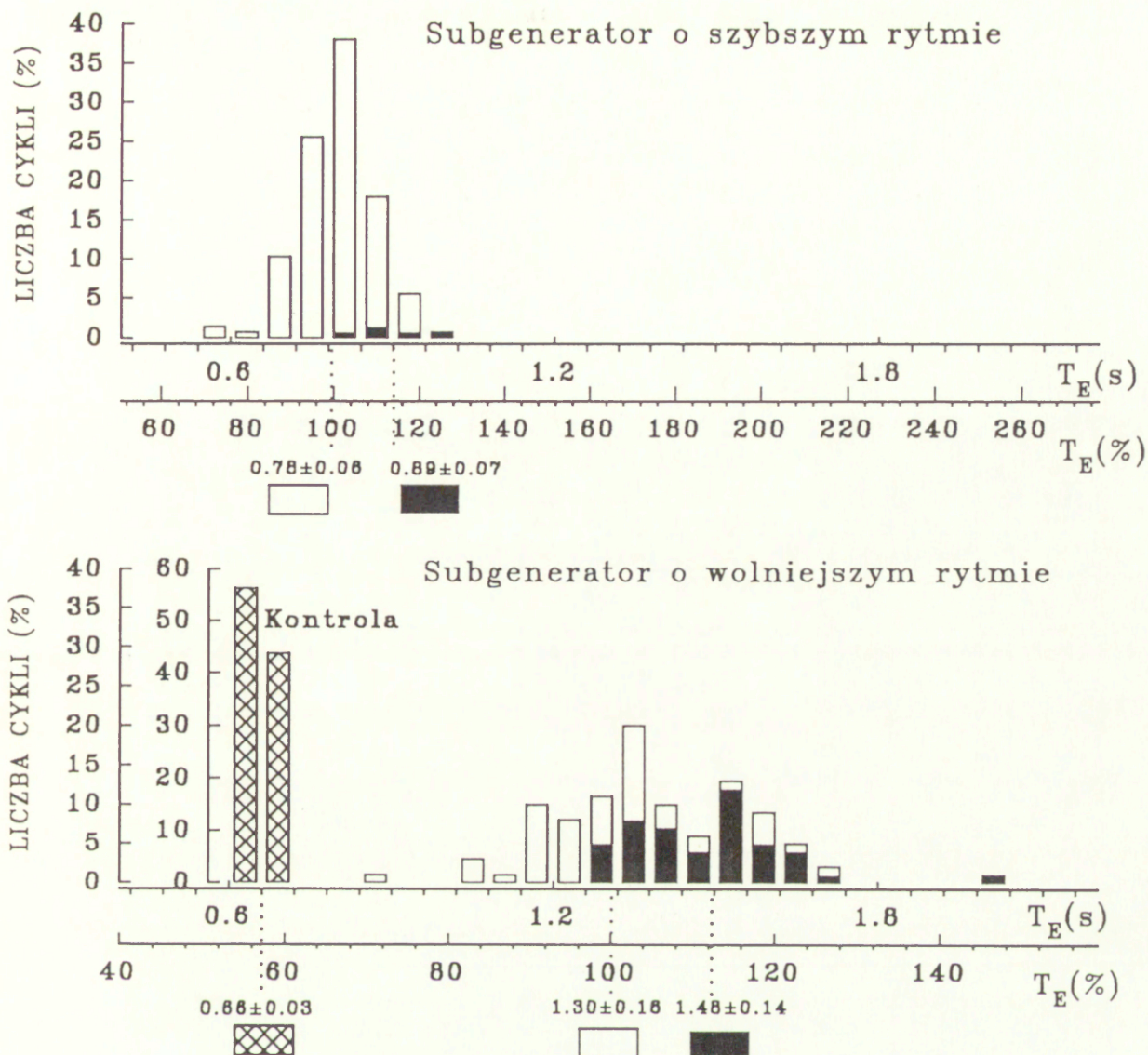
Taką zmienność (fluktuacje) cyklu obserwowano u wszystkich zwierząt. Statystyczną znamienność tej obserwacji testowano u 8 królików i 4 kotów. Przyjmując poziom istotności $p=0.05$, weryfikowano hipotezę (zerową H_0), że średnia z wartości T_E dla wydechów, w trakcie których po stronie przeciwnej występowała salwa w przeciwfazie jest równa średniej wartości T_E dla wszystkich pozostałych wydechów. Jako hipotezę alternatywną przyjęto, że średnia wartość T_E dla wydechów jednoczesnych z salwą w przeciwfazie jest większa. Liczebność porównywanych prób była zawsze większa niż 40.

Użyto testu C-Cochrana Coxa [patrz Sęk-1978]. Wyniki były zależne od tego czy analizę przeprowadzano dla strony o szybszym, czy wolniejszym rytmie. Dla strony o wolniejszym rytmie fluktuacje były zawsze wyraźniejsze i w oparciu o obliczony test we wszystkich wypadkach odrzucono hipotezę zerową.

Oznacza to, że z prawdopodobieństwem błędu mniejszym niż 0.05 można stwierdzić, że średnia wartość T_E dla wydechów jednoczesnych z salwą wdechową po stronie przeciwnej (tj. salwą w przeciwfazie) jest istotnie wyższa od średniej wartości T_E dla pozostałych wydechów. Po stronie szybszej pomimo, że średnie wartości T_E dla wydechów równoczesnych z salwami w przeciwfazie były nieco wyższe od pozostałych, to tylko w 3 wypadkach różnica średnich osiągnęła znamienność statystyczną. Fluktuacje czasów T_E wyraźnie widać na histogramach częstości występowania cyklu o długości (T_E) w przedziale czasu $t + \Delta T^{25}$.

Przykład takiego histogramu przedstawiono na ryc. 4.14. Wydechy jednoczesne z salwami w przeciwfazie zaznaczono kolorem czarnym. Występowanie fluktuacji T_E potwierdza fakt, że przed cięciem wszystkie czasy wydechu znajdowały się w przedziale od 0.6 do 0.72 s, tj. tylko w dwu klasach histogramu. Oznacza to, że wariancja T_E była niewielka, bo całe 100% czasów znajdowało się w przedziale $\pm 10\%$ wartości średniej. Po rozszczepieniu pnia mózgu wartości T_E były rozproszone w zakresie 20 klas histogramu dla prawego (wolniejszego) nerwu przeponowego i w 8-miu przedziałach dla nerwu o szybszym rytmie. W przedziale "wartość średnia $\pm 10\%$ " znajdowało się tylko 53% wartości T_E po stronie "wolniejszej" i 79% po stronie szybszej. Z kształtu histogramu (w szczególności po stronie wolniejszej) widać, że wartości T_E nie grupują się wokół jednej wartości średniej. Świadczy to, że zmiany wartości T_E nie są zjawiskiem przypadkowym.

25. Aby wykonać histogram każdy wydech, w zależności od czasu jego trwania, przyporządkowywano do jednej z klas histogramu. Klasy te miały następujące granice: $(0, 1 * \Delta T)$, $(1 * \Delta T, 2 * \Delta T)$, $(2 * \Delta T, 3 * \Delta T)$, ...etc. Ogólnie $(n * \Delta T, (n + 1) * \Delta T)$ (gdzie $n = 0, 1, 2, \dots$). Jeżeli pojawiał się wydech o długości mieszczącej się w którymś z przedziałów to do skumulowanej wartości w przedziale dodawano +1. Po zakończeniu badania histogram normalizowano, tj. wszystkie wartości dzielono przez całkowitą liczbę przeanalizowanych wydechów i mnożono przez 100%.



Ryc. 4.14. A) Histogram czasów trwania wydechu przed i po cięciu w linii pośrodkowej u królika (skala w sekundach).

W kontroli (słupki zakreskowane na krzyż) średni czas T_E zmieniał się w zakresie od 0.6 do 0.72 s i wynosił średnio 0.66s. Skala OY dla kontroli ma zakres 0-60% i znajduje się bezpośrednio na lewo od "słupków kontrolnych".

Po cięciu wartości T_E dla każdej ze stron grupowały się wokół dwu wartości średnich. Średnie o niższej wartości odpowiadały wydechom, w trakcie których po stronie przeciwnej nie wystąpiła salwa w przeciwfazie. Średnie te były w rozpatrywanym przykładzie równe 0.78s i 1.30s odpowiednio dla strony o szybszym i wolniejszym rytmie. Średnie dla wydechów równoczesnych z salwami w przeciwfazie były wyższe i równe 0.89s i 1.48s odpowiednio dla subgeneratora o krótszym i dłuższym cyklu. Czasy trwania tych wydechów, w trakcie których odbywał się wdech po stronie przeciwnej odpowiadają czarnym elementom słupka histogramu. Średni czas trwania takich wydechów był o 14.1% i 13.8% większy niż średni czas trwania pozostałych wydechów. Czarne słupki grupują się w prawej części histogramu, tj. w części odpowiadającej większym wartościom T_E .

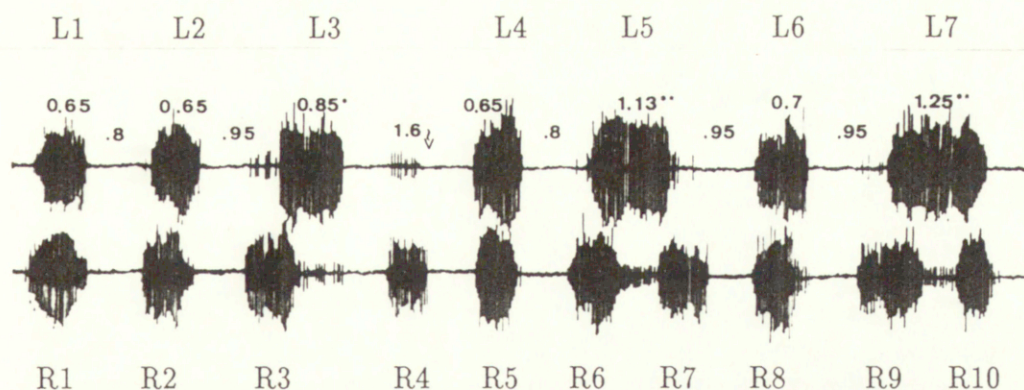
Pod skalą czasu (w sek) umieszczono skalę w procentach. Za 100% przyjęto średni czas wszystkich wydechów, w czasie których nie wystąpiła po stronie przeciwnej salwa w przeciwfazie.

Fakt, że kolumny wydechów zaznaczone kolorem czarnym grupują się po prawej (tj. odpowiadającej dłuższemu czasom T_E) stronie histogramu wskazuje²⁶, że jeśli w trakcie fazy wydechu pojawia się salwa wdechowa na przeciwnym nerwie przeponowym, to taki wydech jest przedłużony.

Takie wydechy w prezentowanym na ryc. 4.14. przykładzie były średnio o 14.1 % dłuższe dla nerwu o większej częstości i 13.8 % dla nerwu "wolniejszego". Te same liczby policzone jako średnie dla 11 królików wynosiły 7.9% i 19.4%. Potwierdza to, że wydechy równoczesne z wdechem na kontralateralnym nerwie przeponowym są dłuższe. Zjawisko wydłużania się T_E częściej osiągało znamienność statystyczną po stronie o wolniejszym rytmie. Zaobserwowano to zarówno u królików, jak i kotów.

Zmienność T_I badano w 20 eksperymentach. Fluktuacje T_I nie były tak wyraźne jak T_E . U 18 królików średnia wartość długości czasu trwania salw częściowo pokrywających się była wyższa od średniej długości pozostałych salw. U 8 królików różnice tych średnich osiągnęły znamienność statystyczną przy poziomie istotności $p=0.05$ (test C Cochra i Coxa).

26. Obserwację tę potwierdza test dla różnicy dwóch średnich w przypadku różnych wariacji. Po stronie o szybszym rytmie średnia wartość czasu trwania wydechów odpowiadających salwom w przeciwfazie miała wartość 0.89 ± 0.07 , natomiast dla pozostałych wydechów wartość 0.78 ± 0.06 . Przyjmując poziom istotności $\alpha=0.01$ testowano hipotezę o równości tych średnich. Wartość testu C Cochra i Coxa wyniosła $C=2.91$, natomiast wartość krytyczna testu C dla poziomu istotności $\alpha=0.01$ była równa $C_{0.01}=2.75$. Wobec faktu, że $C > C_{0.01}$ hipotezę o równości średnich odrzucono na rzecz hipotezy alternatywnej. Można więc twierdzić, że wydechy jednoczesne z salwami w przeciwfazie były wydłużone. Wyższą znamienność osiągnęła różnica takich samych średnich dla strony o wolniejszym rytmie. Miały one wartość 1.30 ± 0.16 i 1.48 ± 0.14 . Wartość testu C Cochra i Coxa wyniosła $C=5.82$, natomiast wartość krytyczna test C dla poziomu istotności $\alpha=0.01$ była równa $C_{0.01}=2.41$. Zachodziło $C > C_{0.01}$ co uprawniało do odrzucenia hipotezy o równości wartości średnich. Można zauważyć, że również dla poziomu istotności $\alpha=0.001$ hipotezę zerową należałoby odrzucić, co wskazuje, że różnica między porównywanymi średnimi arytmetycznymi była statystycznie bardzo istotna.



Ryc.4.15. Fluktuacje czasu trwania wdechu i wydechu w preparacie rozszczepionego pnia mózgu.

Kolejne salwy lewego (L1 – L7) i prawego (P1– P10) nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu u królika. U zwierząt spontanicznie oddychających salwom odpowiada skurcz połowy przepony. Zwracają uwagę skorelowane z aktywnością strony przeciwnej zmiany czasu trwania fazy wdechowej i wydechowej. Wydech pomiędzy salwami L3 i L4, w trakcie którego odbywał się wdech po stronie przeciwnej (salwa P4) jest przedłużony do 1.6s, podczas gdy inne wydechy trwały od 0.8 do 0.95 sek. Salwy częściowo nakładające się (L3, L5, L7, P3, P6, P9) były dłuższe od synchronicznych (L1, L2, L4, L6). Wydłużenie T_I było szczególnie wyraźne gdy salwa rozpoczynała się w drugiej połowie wdechu strony przeciwnej, trwała przez cały wydech i kończyła się w trakcie następnego wdechu. Przykładem tego są salwy L5 i L7 trwały one odpowiednio 1.13 i 1.25 s.

Wzrost T_I stawał się szczególnie widoczny, gdy salwa wdechowa wolniejszego nerwu przeponowego pokrywała dwie kolejne salwy nerwu szybkiego jak to pokazano na ryc. 4.15.

Tak przedłużone salwy szczególnie często obserwowano u kotów ze względu na porównywalne lub równe czasy T_I i T_E . U królików zwykle T_E było większe niż T_I i dlatego salwa wdechowa rzadko mogła wypełnić T_E i pokryć kolejne salwy wdechowe

Z kolei mimo że fluktuacje T_E występowały u obu gatunków, były jednak lepiej zaznaczone u królików.

Obserwacja, że rytm jednej strony zależy od rytmu strony przeciwnej była zaskakująca. Stanowi ona dowód, że zlokalizowane w pniu mózgu (a najprawdopodobniej w rostralnej części opuszki) generatory rytmu "komunikują" się ze sobą pomimo rozszczepienia pnia mózgu, lub jedno-

częściej podlegają bodźcom pochodzącym z jednego źródła. Fluktuacje długości faz występowały pomimo: zwiotczenia preparatu, przecięcia nerwów błędnych i krtaniowych górnych, okresowego wyłączenia respiratora. Nie eliminowało ich rostralne przedłużenie cięcia poprzez międzymózgowie, ani transekcja na poziomie C7. Te obserwacje wykluczyły możliwość, że fluktuacje faz są wynikiem rytmicznego pobudzania receptorów klatki piersiowej, krtani, czy też efektem połączeń nadrženiowych.

W tej sytuacji, aby wyjaśnić przyczyny fluktuacji założono, że istnieje skrzyżowana (na poziomie rdzenia) droga wstępująca od jąder nerwu przeponowego do opuszkowego kontrolera oddychania. Droga ta zamykałaby pętlę, której ramieniem zstępującym jest szlak opuszkowo-rdzeniowy uformowany z aksonów neuronów przedruchowych pobudzających nerwy ruchowe przepony. Przecięcie neuronalnych elementów skrzyżowanych łączących część zstępującą i wstępującą takiej pętli powinno wyeliminować fluktuacje faz.

Rzeczywiście stwierdzono, że wzajemne oddziaływania pomiędzy subgeneratorami po obu stronach pnia mózgu zanikły po dodatkowym cięciu w linii środkowej rdzenia szyjnego. Można się było tego spodziewać, gdyż takie dodatkowe cięcie przerywało wszystkie połączenia skrzyżowane pomiędzy subgeneratorami.

W celu znalezienia bezpośredniego dowodu na to, że generator rytmu oddechowego w jednej połowie pnia mózgu otrzymuje informację zwrotną z poziomu jąder nerwu przeponowego drugiej połowy przeprowadzono zewnętrzne rejestracje aktywności 60 neuronów wdechowych i 14 wydechowych w opuszce 6 królików z rozszczepionym pniem mózgu. Poszukiwano neuronów, które otrzymują wstępującą informację i dlatego

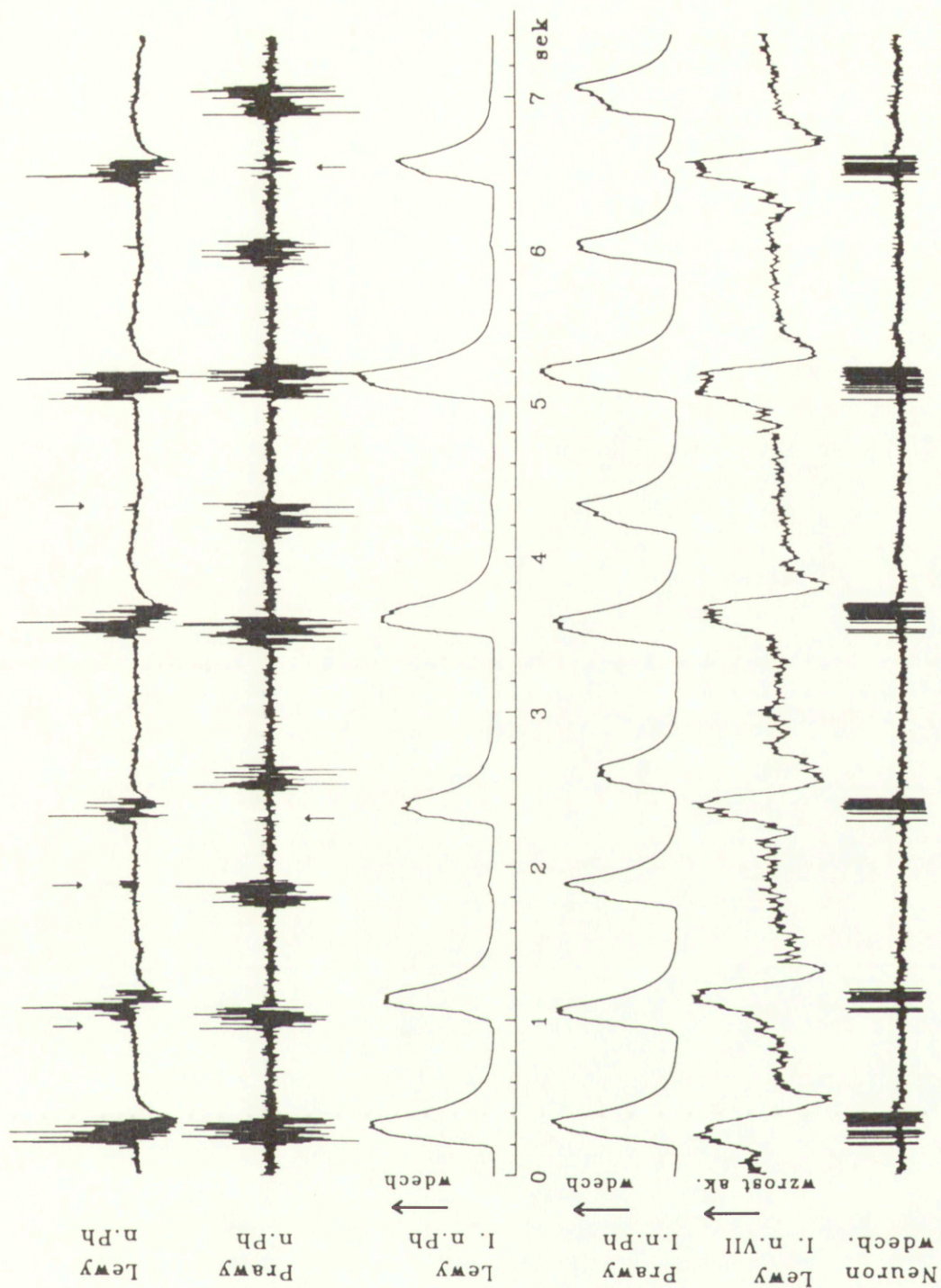
wykazują modulację w rytmie subgeneratora strony przeciwnej. Wobec braku wskazówek, gdzie znajdują się tego typu neurony, poszukiwano ich w obrębie tzw. brzusznej grupy oddechowej, w szczególności w jądrze przydwuznacznym (por. rozdz. 1.2). Z badań na kotach wiadomo, że jądro to (określane czasami jako rostralna część jądra zadwuznacznego) oprócz neuronów przedruchowych dla n. Ph zawiera szereg populacji interneuronów oddechowych (por. rozdz. 1.2 i ryc. 5.1). Neurony wydechowe rejestrowano z jądra zadwuznacznego.

Oprócz zamiaru znalezienia neuronów "odbierających sygnały" z poziomu rdzenia strony przeciwnej badania miały dwa inne cele.

- a) Sprawdzenie czy w trakcie "pobudzeń skrzyżowanych" są aktywne neurony przedruchowe dla motoneuronów n.Ph po stronie "pobudzenia skrzyżowanego". Neurony przedruchowe dla n. Ph u królika w 90% znajdują się w jądrze przydwuznacznym [Ellenberger i wsp.-1990].
- b) Sprawdzenie czy długość fazy wdechowej i wydechowej określona na podstawie aktywności wdechowych i wydechowych neuronów opuszki jest taka sama jak długość fazy określona na podstawie aktywności nerwu przeponowego. Miało to na celu potwierdzenie, że fluktuacje długości wdechu i wydechu nie są zjawiskiem lokalnym na poziomie rdzenia szyjnego i nie odbywają się na zasadzie zmiany poziomu pobudzenia tonicznego neuronów ruchowych przepony (ryc 1.4 pokazuje, że taki mechanizm jest możliwy).

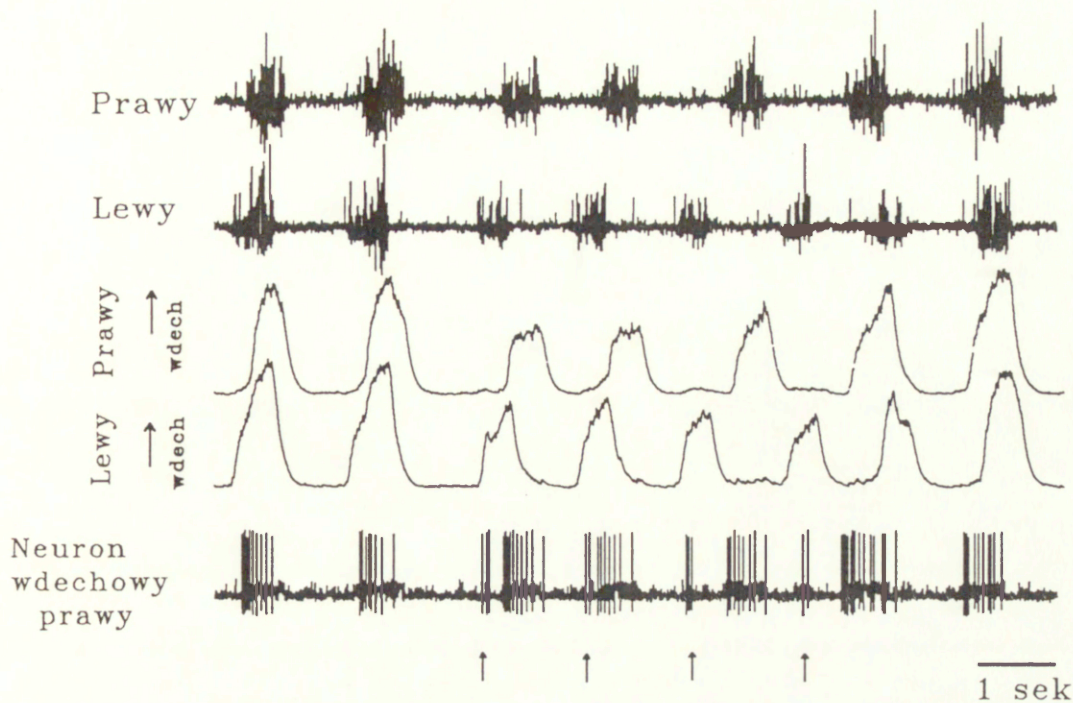
Aktywność 58 neuronów wdechowych odpowiadała wyładowaniom ipsilateralnego n.Ph i nie wykazywała cech wskazujących na kontakt synaptyczny ze stroną przeciwną. Wzorzec aktywności tych neuronów wskazywał, że były to neurony przedruchowe.

Neurony te nie były aktywne w czasie występowania salw skrzyżowanych. Obserwowano fluktuacje czasu trwania faz (patrz ryc. 4.16).



Ryc. 4.16 Aktywność neuronu wdechowego, nerwów przeponowych i nerwu VII w preparacie rozszczepionego pnia mózgu.

Aktywność neuronu wdechowego po lewej stronie opuszki oraz lewego nerwu przeponowego i twarzowego są ze sobą synchroniczne tak jak w warunkach kontrolnych. Wymienione sygnały są asynchroniczne w stosunku do prawego nerwu przeponowego. Zwracają uwagę zależne od wzajemnych związków fazowych fluktuacje amplitud n.Ph i stałość amplitudy n. VII. Rytm obu nerwów (a szczególnie tego o wolniejszym rytmie -lewego) jest nieregularny - występują fluktuacje fazy. W aktywności obu nerwów przeponowych widoczne są pobudzenia skrzyżowane.



Ryc. 4.17 Aktywność prawego i lewego nerwu przeponowego i prawego neuronu wczesnowdechowego po stronie prawej. Neuron pobudzany jest (generuje serię potencjałów czynnościowych) synchronicznie z aktywnością n.Ph po stronie prawej. Oprócz pobudzenia ze strony ipsilateralnej neuron otrzymuje również pobudzenia ze strony lewej (kontralateralnej). Dowodzi tego pojawianie się pojedynczych potencjałów czynnościowych (zaznaczonych strzałkami) jednocześnie z początkiem salw po stronie lewej. Na zapisach widoczne są uzależnione od aktywności strony przeciwnej fluktuacje czasu wydechu. Np. wydech pomiędzy salwami częściowo pokrywającymi się 1 i 2 po stronie prawej jest krótszy od wydechu pomiędzy salwami 2-gą i 3-cią oraz 4-tą i 5-tą po tej samej stronie.

Oprócz w/w znaleziono dwie komórki różniące się wzorcem aktywności. Były to neurony typu wczesnowdechowego, oprócz aktywności synchronicznej ze stroną ipsilateralną "odpalały" one kilka potencjałów czynnościowych, w pierwszej połowie wdechu strony przeciwnej, nawet wtedy gdy ipsilateralny generator był w fazie wydechu. Aktywność jednej z tych komórek pokazano na rycinie 4.17. Mimo znikomej liczby (ok. 3%) neuronów "sprzężonych" ze stroną przeciwną, fakt ich występowania potwierdził istnienie postulowanego szlaku rdzeniowo-opuszkowego. Nie można wyklu-

czyć, że większa liczba neuronów o modulowanej aktywności znajduje się w innych niż przebadane jądrach oddechowych.

Neurony wydechowe jądra zadwuznacznego miały typowy wzorec aktywności [Merrill 1970, 1974, 1979]. Wydechem wydłużonym w wyniku fluktuacji T_E odpowiadały dokładnie tak samo wydłużone okresy aktywności neuronów wydechowych. Wdechem wydłużonym w wyniku fluktuacji T_I odpowiadały odpowiednio wydłużone przerwy w aktywności neuronów wydechowych.

4.8 Minimalny substrat neuronalny niezbędny do generacji rytmu oddechowego.

Najstarszą techniką poszukiwania struktur niezbędnych do generacji rytmu oddechowego było izolowanie coraz mniejszych fragmentów ośrodkowego układu nerwowego i sprawdzanie czy zachowują one zdolność do generacji rytmu. Zwykle wykonywano szereg transekcji pnia mózgu, poczynając od mostu, na coraz bardziej kaudalnych poziomach. Taką techniką posłużyli się [Lumsden -1923a, b, Stella -1938a, b, Ngai i Wanga -1957, Hukuhara -1973, -1976, Sears -1977, Gromysz -1984, St. John i Bledsoe -1985].

Celem porównanie wyników z tymi, jakie w/w autorzy otrzymali na preparatach z nierozszczepionym pniem mózgu zastosowano tą samą technikę u 8 królików z całkowicie rozszczepionym pniem mózgu, u których aktywności nerwów przeponowych były asynchroniczne. Napęd chemiczny podniesiono poprzez redukcję częstości respiratora tak, by PaCO_2 mieściło się w granicach 45–55 mmHg (6.0–7.3 kPa). W celu utrzymania normalnego lub podwyższonego ciśnienia parcjalnego tlenu we krwi do powietrza (na wlocie respiratora) dodawano tlen.

Trzem z 8-miu królików już przed cięciami podano naloxon i stwierdzono, że najbardziej kaudalny poziom, na którym można wykonać transekcję nie eliminując aktywności nerwów przeponowych to poziom środkowej części jądra nerwu VII (patrz ryc. 4.17).

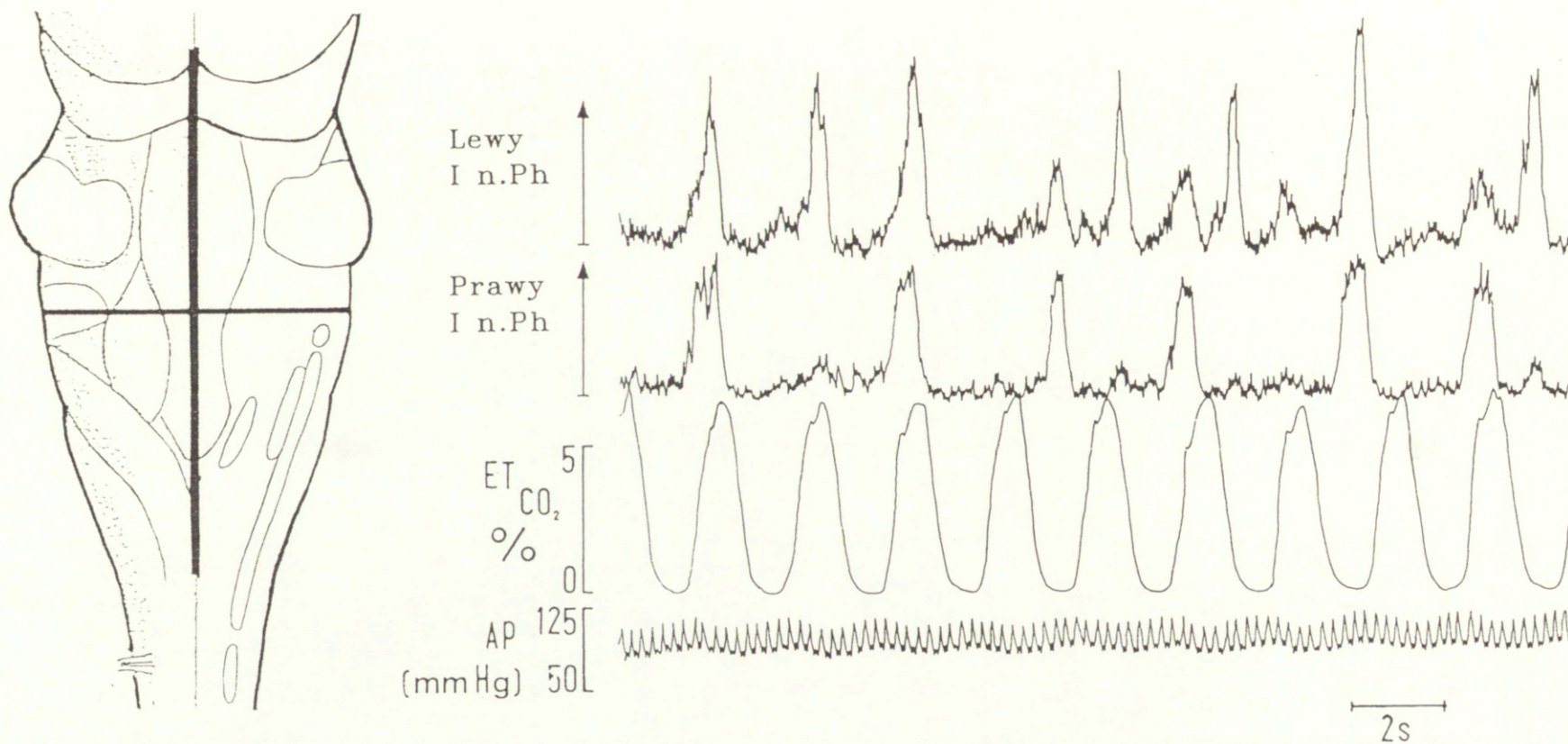
Pozostałym 5-ciu królikom nie podano naloxonu przed wykonaniem transekcji. U tych zwierząt aktywność nerwu przeponowego zanikła po wyżej opisanej transekcji.

Po zaniku aktywności n.Ph tym 5-ciu zwierzętom podano i.v naloxon w dawce 0.4mg/kg. U dwu królików spowodowało to powrót aktywności nerwów przeponowych. U trzech pozostałych zanik aktywności n.Ph okazał się nieodwracalny.

U wszystkich zwierząt transekcje wykonane na poziomie bardziej kaudalnym niż jądro nerwu VII prowadziły do nieodwracalnego wyeliminowania aktywności n. Ph. Przy silnej stymulacji farmakologicznej (doxapram, dopamina) i chemicznej (hiperkapnia) u 2 z 5 królików wystąpiło kilkanaście salw pobudzenia n. Ph. Pełna synchronizacja tych salw wskazywała, że nie były one generowane w rozszczepionej opuszce. Salwy te występowały nieregularnie i kształtem różniły się od salw oddechowych.

Powyższe dane dowiodły, że minimalny substrat neuronalny niezbędny do generacji rytmu oddechowego zawarty jest we fragmencie opuszki ograniczonym płaszczyzną strzałkową główną i płaszczyzną do niej prostopadłą położoną bezpośrednio kaudalnie od jądra nerwu VII.

Ciekawą obserwacją poczynioną przy okazji wykonywania opisanych eksperymentów było stwierdzenie (patrz Janczewski -1987a), że po transekcjach górnego mostu, w przeciwieństwie do zwierząt z nierozszczepionym pniem mózgu, nie występował wzorzec typu apneustycznego.



Ryc. 4.18 Generacja rytmu oddechowego w obrębie połowy opuszki odseparowanej od pnia mózgu.

Po całkowitym rozdzieleniu połówek pnia mózgu cięciem w płaszczyźnie strzałkowej głównej salwy wdychowe n. przeponowego uległy desynchronizacji. Transekcja na poziomie kaudalnej części jądra n. VII silnie zredukowała amplitudę nerwów przeponowych, ale nie wyeliminowała ich aktywności (przed transekcją podano i.v. 0.4mg/kg naloxonu). Zachowana aktywność n. przeponowych dowodzi, że struktury neuronalne odpowiedzialne za generację rytmu oddechowego znajdują się w każdej z połówek opuszki.

Na rycinie od góry pokazano; zintegrowaną aktywność lewego i prawego n. przeponowego (strzałka wskazuje kierunek wzrostu aktywności), stężenie dwutlenku węgla w powietrzu wydychanym ($ET\ CO_2$), ciśnienie tętnicze krwi (AP). Z lewej strony na schemacie pnia mózgu zaznaczono zakres wykonanych cięć.

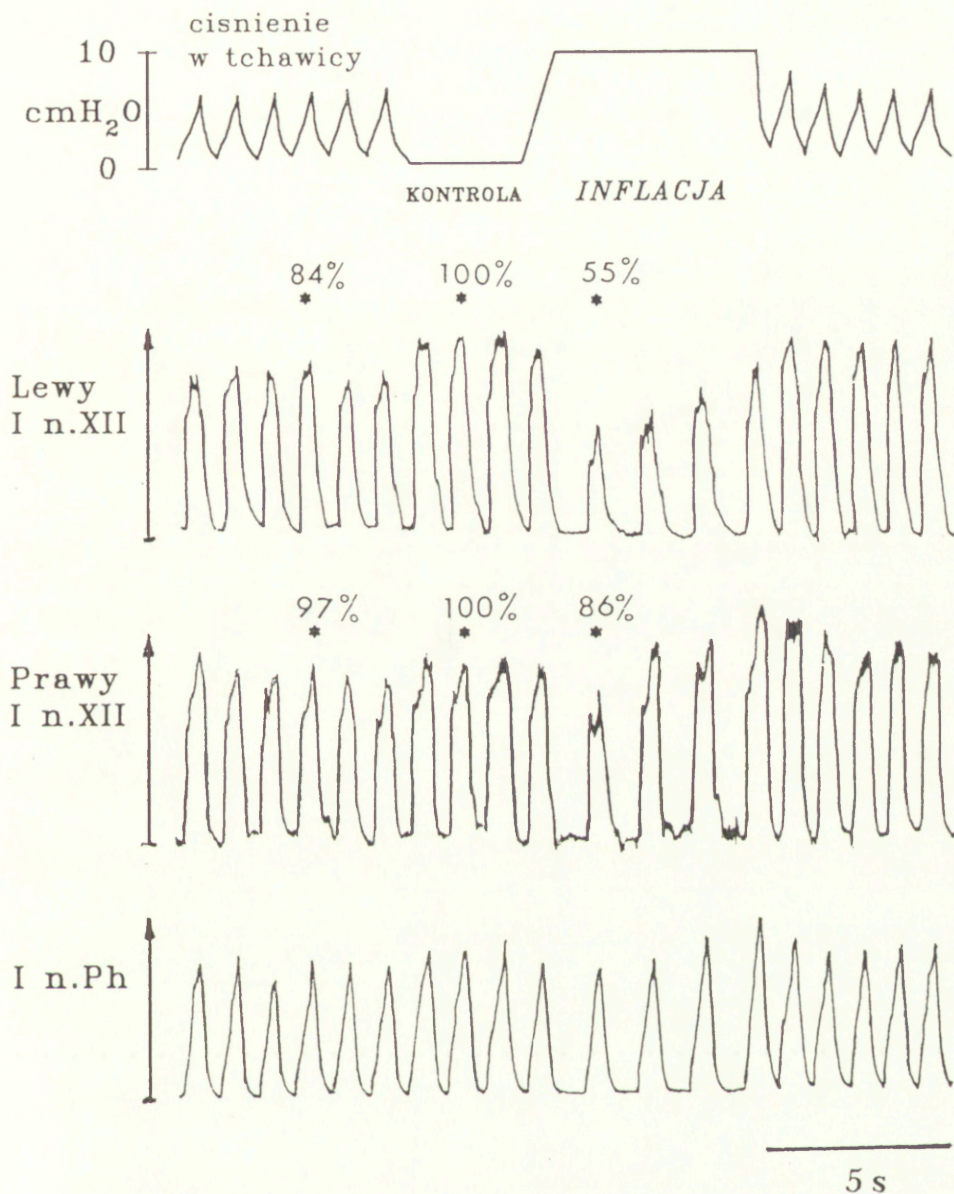
4.9 Funkcjonalne konsekwencje podwojenia struktur generujących rytm oddychania.

Wyniki przedstawione w poprzednich rozdziałach wskazują, że pień mózgu zawiera dwa funkcjonalnie kompletne generatory zdolne do niezależnej regulacji amplitudy i częstości oddychania. Jeżeli tak jest, to pewien (choćby niewielki) stopień niezależności "działania" tych generatorów powinien ujawniać się również u zwierząt, u których pień mózgu jest nienaruszony.

Piśmiennictwo jest bardzo bogate w prace, w których jednostronnie stymulowano oddechowe wejścia aferentne (np. nerw błędny, nerw krtaniowy górny, nerw językowo-gardłowy). W pracach tych jednak nigdy nie opisano wystąpienia asymetrycznej amplitudy nerwów oddechowych po lewej i prawej stronie ciała.

Może mieć to dwie przyczyny. Pierwszą może być fakt, że "z góry" założono, że (nieuśredniana) odpowiedź będzie symetryczna i dlatego nie badano jej zbyt dokładnie. Druga przyczyna może wynikać z faktu, że podwojona struktura kontrolera rytmu oddechowego nie ma w warunkach fizjologicznych żadnego znaczenia funkcjonalnego, a jej skutki uwidaczniają się jedynie po chirurgicznym rozseparowaniu połówek pnia mózgu lub po uszkodzeniu jednego z kontrolerów w wyniku urazu lub procesu chorobowego.

Wykazanie, że regulacja aktywności nerwów oddechowych po przeciwnych stronach ciała u zwierząt z nieprzeciętym pniem mózgu może być częściowo niezależna stanowiłoby dowód na istnienie dwu subkontrolerów oddychania. Dlatego podjęto próbę weryfikacji hipotezy, że istnieje pewien margines niezależności w kontroli mięśni oddechowych po lewej i prawej stronie ciała.



Ryc. 4.19. Asymetryczne zmiany aktywności nerwu podjęzykowego w wyniku inflacji płuc wykonanej po przecięciu jednego (lewego) nerwu błędnego u kota.

Zwraca uwagę, że wzrost ciśnienia w płucach do wartości 10 cmH_2O (INFLACJA) powoduje spadek amplitudy lewego n. XII do 55% wartości kontrolnej, natomiast amplituda prawego n. XII maleje do 86% kontroli. Jako kontrolną przyjęto amplitudę aktywności nerwów w czasie gdy różnica pomiędzy ciśnieniem atmosferycznym a ciśnieniem w drogach oddechowych była równa 0.

Wskaźnik asymetrii wynosi $86\% - 55\% = 31\%$. Od góry pokazano: ciśnienie w tchawicy, zintegrowane aktywności lewego i prawego nerwu podjęzykowego oraz zintegrowaną aktywność nerwu przeponowego.

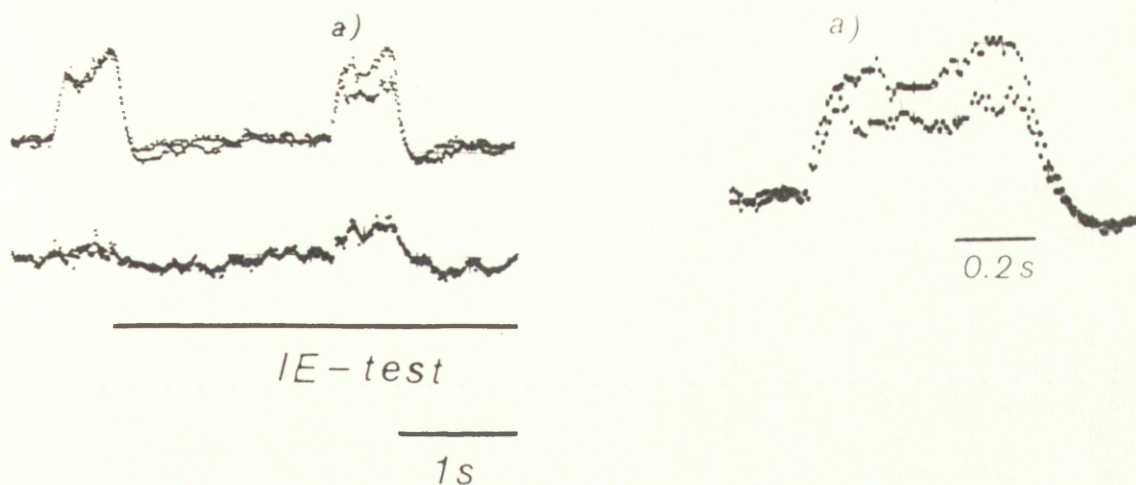
Weryfikując tą hipotezę założono, że sprzyjającą okolicznością dla ujawnienia ewentualnych różnic aktywności obu stron będzie zastosowanie jednostronnego bodźca.

Protokół doświadczalny polegał na porównywaniu odpowiedzi neuronów oddechowych – nerwu podjęzykowego (n. XII), nerwu twarzowego (n. VII), i nerwu przeponowego po przeciwnych stronach ciała na asymetryczny bodziec. Takim bodźcem było jednostronne pobudzenie aferentów z wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc.

Rycina 4.19 przedstawia typowy wynik eksperymentu. U kota wykonano inflację płuc stałym ciśnieniem o wartości 10 cmH₂O. Bodziec wagalny był wyłącznie prawostronny, ponieważ nerw błędny po stronie lewej został przecięty. Inflację utrzymywano przez okres trzech salw wdechowych. Amplitudę salw wdechowych w czasie inflacji (ew. stymulacji) obliczano oddzielnie po każdej stronie ciała jako procent amplitudy kontrolnej. Jako miarę asymetrii przyjęto różnicę procentową amplitudy nerwu ipsilateralnego i kontralateralnego i nazwano ją wskaźnikiem asymetrii.

U zwierząt po obustronnej wagotomii, inflację pozorowano poprzez jednostronną stymulację nerwu błędnego. Efekty takiej stymulacji u królika przedstawiono na ryc. 4.20 i 4.21. Zapisy aktywności nerwów po stronie lewej i prawej zostały nałożone na siebie, aby lepiej uwidocznić, że aktywności, które były dokładnie równe przed inflacją (stymulacją) w trakcie jej trwania stają się różne. Poniżej przedstawiono sygnał będący arytmetyczną różnicą zintegrowanej aktywności obu nerwów. W kontroli różnica oscyluje wokół zera, ale jest wyraźnie dodatnia w czasie stymulacji.

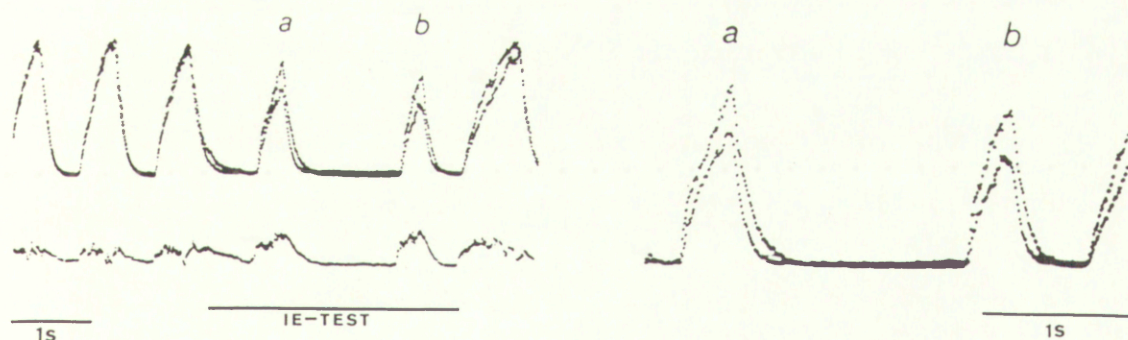
Wszystkie przedstawione przykłady pokazują, że jednostronna aktywacja aferentów z wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc powoduje asymetrię szybkości narastania aktywności wdechowej. W efekcie amplituda po stronie kontralateralnej do pobudzonego nerwu błędnego jest mniejsza. Jednocześnie nie stwierdzono żadnych różnic w czasie rozpoczęcia się i zakończenia wdechu.



Ryc. 4.20. Asymetria odpowiedzi nerwów twarzowych po lewej i prawej stronie ciała na jednostronną stymulację nerwu błędnego.

Górny zapis po lewej stronie przedstawia nałożone na siebie zintegrowane neurogramy aktywności lewego i prawego nerwu twarzowego. Zapis poniżej to różnica arytmetyczna sygnałów z zapisu górnego. Zwraca uwagę, że różnica oscyluje wokół zera przed stymulacją (pierwsza salwa) i jest wyraźnie dodatnia w czasie stymulacji (zaznaczonej jako IE-test).

Zapis po prawej stronie przedstawia drugą salwę z zapisu po stronie lewej sfotografowaną przy szybszej podstawie czasu.



Ryc. 4.21. Różnica w odpowiedzi lewego względem prawego nerwu przeponowego na jednostronną stymulację nerwu błędnego u królika.

Górny zapis po lewej stronie przedstawia nałożone zintegrowane sygnały obu nerwów przeponowych. Sygnał poniżej przedstawia różnicę arytmetyczną tych sygnałów. Zwraca uwagę, że różnica oscyluje wokół zera przed stymulacją (dwie pierwsze salwy) i jest wyraźnie dodatnia w czasie stymulacji (zaznaczonej jako IE-test) oraz w okresie pobudzenia po hamowaniu (rebound).

Zapis po prawej stronie jest fragmentem przebiegu ze strony lewej zarejestrowanym przy szybszej podstawie czasu.

Tabela 4.1. Wskaźniki asymetrii (średnia \pm SD w %)

	XIIN KOT	XIIN KRÓLIK	VIIN KOT	VIIN KRÓLIK	PhN KRÓLIK
NISKI NAPĘD CHEMICZNY	15.8 \pm 4.3	29.7 \pm 4.9	21.6 \pm 3.1	34.9 \pm 14.2	9.2 \pm 6.0
WYSOKI NAPĘD CHEMICZNY	9.8 \pm 6.0	19.8 \pm 4.9	13.3 \pm 5.2	22.9 \pm 12.3	nie badano

Wszystkie różnice między wysokim i niskim poziomem napędu chemicznego były statystycznie różne przy $p < 0.05$ (t-test).

Wartości wskaźników asymetrii zależały od poziomu napędu chemicznego i były też różne dla kotów i królików.

Tabela 4.1 przedstawia wskaźniki asymetrii obliczone w czasie 154 inflacji lub stymulacji. Ciśnienia parcjalne gazów oddechowych w krwi tętnicznej podano w rozdziale 3.9.1.

Wyniki tabeli 4.1 pokazują że:

- i) asymetria amplitudy w odpowiedzi nerwów XII, VII i przeponowego na jednostronny bodziec wagalny jest statystycznie znacznie większa przy małym napędzie chemicznym;
- ii) asymetria była lepiej widoczna u królików niż kotów
- iii) dla obu gatunków asymetria była lepiej widoczna dla nerwu VII niż nerwu podjęzykowego.

Należy dodać, że asymetria odpowiedzi nerwu przeponowego u królików była widoczna tylko przy niskim poziomie napędu chemicznego. Asymetria dla wszystkich nerwów zwiększała się przy pogłębianiu narkozy. Dlatego podawano propanidid w dawce 15 mg/kg lub ketaminę w dawce 1–2 mg/kg.

Propanidid był szczególnie dogodny, gdyż eliminował toniczną aktywność nerwów przeponowych często obserwowaną u królików w hipokapnii.

U kotów nawet w optymalnych warunkach asymetryczne odpowiedzi nerwów przeponowych obserwowano rzadko. U 3 z 8 kotów, gdy stymulowano elektrycznie lewy nerw błędny, zaobserwowano mniejszą amplitudę po stronie prawej, jednak stymulacja prawego nerwu dawała odpowiedź symetryczną.

5. DYSKUSJA

5.1 Rozszczepiony pień mózgu - wnioski ogólne

W obrębie centralnego układu nerwowego udaje się powiązać niektóre struktury anatomiczne z określonymi funkcjami organizmu. Wynikające z symetrii podwojenie struktur może oznaczać potencjalną zdolność do samodzielnego wypełniania, przez każdą z nich z osobna, funkcji przypisywanych obu strukturom łącznie. Spektakularnym przykładem są pacjenci z przeciętym spoidłem wielkim (*corpus callosum*) i spoidłem przednim (*commisura anterior*). W efekcie każda z półkul może (z całkowitym pominięciem drugiej półkuli) odpowiadać na bodźce [*Mayers i Sperry -1953, Sperry -1982, Gazzaniga -1970, LeDoux -1977*]. Znamienne jest to, że czasami struktury oddzielone od swych symetrycznych odpowiedników ujawniają poprzednio wyhamowywane własności funkcjonalne.

Przykładem jest całkowity zanik zdolności semantycznych (mowa i rozumienie słów) w wyniku uszkodzeń lewej półkuli oraz ujawnienie się tych umiejętności w odizolowanej prawej półkuli [*Sperry -1982*].

Podwojenie jądra skrzyżowania (*nuc. suprachiasmaticus*), które uważane jest za źródło rytmu dobowego [*Inouye i Kawamura -1979, Shibata i wsp. -1984*] sprawia, że niektóre rytmy dobowe ulegają desynchronizacji [*Folkard i wsp. -1984*]. Jednostronne zniszczenie jądra skrzyżowania znosi desynchronizację przy zachowanej rytmice dobowej [*Pickard i Turek -1982*]. W obu powyższych przykładach rozdzielanie symetrycznych części nie eliminowało ich zwykłych funkcji. Podobnie, częściowe rozdzielanie połówek pnia mózgu nie eliminuje rytmu oddechowego, lecz powoduje utratę synchronizacji pomiędzy stroną prawą i lewą [*Langendorff i wsp. -1881, Gromysz i Karczewski -*

1981a, b, -1982, Budzińska i Romaniuk - 1985]. Stanowi to dowód, że są co najmniej dwa generatory wzorca oddechowego. Mimo że najbardziej spektakularnym efektem cytowanych wyżej prac była desynchronizacja to, moim zdaniem najistotniejsze znaczenie ma fakt, że wykonane cięcia nie pozbawiły subgeneratorów zdolności generacji rytmu. Desynchronizacja jest zjawiskiem wtórnym, gdyż nie ma żadnego powodu, aby dwa oscylatory pozbawione zarówno połączeń sprzęgających, jak i jednoczesnych synchronizujących sygnałów zewnętrznych, pozostawały synchroniczne. Dlatego przy rozszerzaniu zakresu cięcia, jeżeli nie nastąpi zanik rytmu, wcześniej czy później musi dojść do desynchronizacji.

U małą i królików rozszczepienie pnia mózgu wywołuje desynchronizację aktywności nerwów przeponowych, podczas gdy u kotów takie samo cięcie prowadzi do zatrzymania oddychania. Problem różnic gatunkowych [Karczewski i Gromysz - 1982] był istotny ponieważ współczesna neurofizjologia oddychania opiera się głównie o wyniki otrzymane na kotach. Przystępując do badań na kotach w oparciu o dane literaturowe (por. rozdz. 1.4 i 1.5) założyłem, że zanik aktywności nerwów oddechowych po rozszczepieniu pnia mózgu u kota nie wynika z odmiennej struktury kontrolera oddychania, lecz ze zbyt niskiego poziomu tonicznego pobudzenia neuronów. Znamienne jest, że u kotów dla utrzymania fazowej aktywności nerwów przeponowych konieczny był już przed cięciami wyższy poziom napędu chemicznego ($\text{PaCO}_2 > 24 \text{ mmHg}$), niż u królików ($\text{PaCO}_2 > 16 \text{ mmHg}$), pomimo identycznych warunków eksperymentu. W oparciu o wyniki [Janczewski - 1987c], że w czasie hiperwentylacji najpierw całkowicie zanika fazowa aktywność motoneuronów n. XII, następnie n. VII, a dopiero na końcu aktywność n. Ph, proponuję przyjąć, że próg pobudzenia tonicznego niezbędnego do generacji rytmu jest różny od progów aktywacji

poszczególnych grup motoneuronów. Koncepcja ta zakłada, że istnieją dwa progowe poziomy aktywności tonicznej neuronów tworzących siatkowatego i neuronów oddechowych pnia mózgu. Poniżej pierwszego (wyższego) pewne grupy interneuronów pozostają aktywne fazowo, jednak ze względu na spadek poziomu napędu tonicznego pobudzenia te wywołują tylko podprogowe zmiany potencjału błonowego motoneuronów. Poniżej drugiego poziomu progowego zatrzymaniu ulega generacja rytmu oddechowego i neurony przestają być periodycznie aktywne. Jeżeli powyższe założenie jest poprawne, to kluczowe znaczenie dla otrzymania asynchronicznej aktywności n.Ph u kota ma utrzymanie po cięciach odpowiednio wysokiego poziomu aktywności tonicznej neuronów pnia mózgu.

Znanymi czynnikami wpływającymi na tę aktywność są: poziom napędu chemicznego, głębokość narkozy, stężenie endo- i egzogennych związków opiatowych, stymulacja farmakologiczna, czy też stymulacja elektryczna struktur aktywujących twór siatkowaty. Sukces w wywołaniu asynchronicznej aktywności nerwów przeponowych u kota (w tej pracy i w badaniach Eldridge i Paydarfar -1989) upatruję w utrzymaniu odpowiednio wysokiego poziomu wzbudzenia neuronów pnia mózgu. *Eldridge i Paydarfar [1989]* stosowali ciągłą stymulację elektryczną w obrębie śródmózgowia. *Janczewski i Grieb [1986]* przedstawili dowody, że jedną z przyczyn depresji oddychania po cięciach w obrębie pnia mózgu jest wydzielanie się endogennych opiatów. Opierając się na tej obserwacji założyłem, że udoskonalenie techniki cięcia zminimalizuje depresję oddychania wynikającą z wydzielania się substancji biologicznie czynnych.

Trudno precyzyjnie zdefiniować, czym z punktu widzenia wpływu na czynność tkanki nerwowej, różni się cięcie wykonane z wprawą od cięcia wykonanego nieumiejętnie. Można przypuszczać, że związane z cięciem

miażdżenie i deformacja komórek nerwowych prowadzi do uwolnienia w toksycznych ilościach substancji o charakterze neuroprzekaźników czy neuromodulatorów. Uszkodzenia w czasie cięć cienkich tętnic przesywających "arteria perforantes" prowadzi do wynaczynienia krwi. To z kolei (piśmiennictwo patrz praca przeglądowa Ryba i wsp. –1991) prowadzi do uwolnienia ok. 50 endogennych substancji, z których większość w stężeniach osiągniętych w surowicy krwi działa neurotoksycznie i naczyniokurcząco. Skurcz naczyń wywołany działaniem substancji wazoaktywnych lub mechanicznym uszkodzeniem ścian tętnic może prowadzić do ischemicznego uszkodzenia tkanki nerwowej leżącej w dorzeczu naczynia. Dlatego procesy wywołane ischemią (destrukcja błon komórkowych, rozpad neuronów na skutek wysokich stężeń potasu w przestrzeni zewnątrzkomórkowej i wysokich wewnątrzkomórkowych stężeń sodu i wapnia) mogą obejmować neurony odległe od miejsca cięcia. Trudne do zdefiniowania, ale niewątpliwie patogenne są efekty uszkodzenia w czasie cięć bariery krew-mózg. Badając po doświadczeniu preparat pnia mózgu, kilkakrotnie stwierdziłem, że po nieprawidłowo wykonanym cięciu na powierzchni brzusznej uformował się skrzep ściśle pokrywający struktury uważane za chemowrażliwe. Nie mogło to pozostać bez wpływu na chemorepcję centralną i stopień pobudzenia tworów siatkowatych. Powyżej przedstawione trudne do kontrolowania czynniki, mogą wyjaśnić, dlaczego, nawet gdy inne warunki eksperymentu były podobne, różni badacze donosili o różnym wpływie cięć na aktywność n. Ph u kota. Wpływ wydzielanych w czasie cięć substancji biologicznie czynnych potwierdzają obserwacje, że zatrzymana w czasie cięć aktywność nerwów przeponowych powracała spontanicznie po dłuższym czasie (nawet kilku godzin), pomimo że warunki eksperymentu nie ulegały widocznym zmianom. Proces ten mógł być przyspieszony poprzez podanie antagonisty

receptorów opiatowych naloxonu [Janczewski i Grieb -1987]. Oprócz opisanych wyżej uogólnionych skutków wykonywania cięć w obrębie pnia mózgu, obserwowałem efekty cięć specyficznie odnoszące się układu oddechowego. Spadek aktywności nerwów oddechowych u królików i kotów lub zanik rytmu u kotów obserwowałem po cięciach od 0 do +4 mm względem obexu. Cięcia w innych rejonach wywierały znacznie mniejszy wpływ na oddychanie. Biorąc pod uwagę, że obex nie jest precyzyjnie zdefiniowanym punktem, lecz obszarem²⁷, różnice rzędu 2 mm w lokalizacji cięć w pracach różnych autorów mogą wynikać z różnic w przyjętym punkcie odniesienia. W tej pracy za punkt zerowy przyjęto najbardziej kaudalną część zasuwki. Dlatego wyniki rozdziału 4.2 można uważać za zgodne z obserwacjami Salmoiraghiego i Burnsa [1960b] (patrz też Bainton i wsp. [1978], Bainton i Kirkwood [1979], St.John [1983]) którzy pokazali, że włókna skrzyżowane w okolicy zasuwki odgrywają zasadniczą rolę w pobudzaniu motoneuronów n.Ph u kota.

Asynchroniczna aktywność nerwów oddechowych u kota miała te same cechy, co aktywność u królika (fluktuacje T_I , T_E , fluktuacje amplitudy). Wyniki te wskazują, że różnice w organizacji kontrolera oddychania ujawnione poprzez rozszczepienie pnia mózgu mają charakter ilościowy, a nie jakościowy.

Rozszczepienie pnia mózgu u przebadanych gatunków nie eliminuje odruchów oddechowych z klatki piersiowej [Romaniuk i Budzińska - 1985] i krtani (patrz rozdz. 4.4). Zachowana jest również odpowiedź na bodźce chemiczne

27. Zasuwką (obexem) nazywa się pasmo istoty białej przykrywającej kąt dolny dołu równoległobocznego (wg. A. Bochenek i M. Reicher "Anatomia Człowieka" tom 4, wydanie II. P.Z.W.L. 1981.

Zasuwka to niewielki mostek w dolnym końcu stropu dołu równoległobocznego wg. Ilustrowanego Słownika Mianownictwa Anatomicznego - Feneis [1982], P.Z.W.L. wyd III.

[Karczewski 1983, Eldridge i Paydarfar -1989]. Obserwacje te prowadzą do wniosku, że każda połowa pnia mózgu jest funkcjonalnie kompletną i integralną całością. System połączeń skrzyżowanych pomiędzy połówkami pnia mózgu nie tworzy nowej jakości, ale umożliwia synchronizację, wzmacnia aktywność i zwiększa niezawodność obu części.

Oprócz generalnego wniosku, że na ośrodkowy układ nerwowy należy patrzeć jako na całość złożoną z dwu integralnych części sprzężonych w celu podnoszenia efektywności i niezawodności każdej z nich, analiza oddychania po rozszczepieniu pnia mózgu przyniosła szereg obserwacji szczegółowych. Umożliwiła także wyciągnięcie nowych wniosków w kwestii organizacji generatora rytmu oddechowego oraz roli połączeń skrzyżowanych w procesie tworzenia wzorca oddechowego.

5.2 Struktura i lokalizacja generatora rytmu oddechowego - wnioski z badań nad oddechowymi efektami rozszczepienia pnia mózgu.

Wynik z rozdziału 4.1 pokazują, że minimalne cięcie wywołujące desynchronizację u królika ma średni zakres (-0.5,+5). Taki zakres koniecznego cięcia nie jest zaskoczeniem, gdyż pokrywa się on z rostralno-kaudalnym zasięgiem najważniejszych jąder oddechowych (patrz ryc. 5.1 oraz rozdz. 1.2). We wcześniejszych pracach donoszono o krótszym minimalnym zakresie cięcia, tj. (0,+2) u Langendorffa i wsp. [1881] i (0,+4) u Gromysza i Karczewskiego [1981b]. Wyniki te różniły się zarówno pomiędzy sobą, jak i z wynikami uzyskanymi w tej pracy. Zakres (0,+4) jest jednak porównywalny z zakresem (-0.5, +5) jeżeli weźmie się pod uwagę, że ten drugi jest wartością

średnią, podczas gdy pierwszy odpowiada najkrótszemu cięciu w grupie 7 królików u których Gromysz i Karczewski [1981 a, b] wywołali desynchronizację rytmów nerwów przeponowych. U pozostałych 6-ciu królików z tej grupy cięcia były dłuższe (patrz rycina 3A w pracach Gromysza i Karczewskiego [1981 a, b]).

Precyzyjne porównywanie wyników jest utrudnione, ponieważ w poprzednich pracach nie wyjaśniono "od którego momentu" należy uważać rytmy za zdesynchronizowane. Czy wystarczyło sporadyczne pojawianie się salw asynchronicznych, czy może zjawisko to powinno mieć charakter długotrwały; tak jak to przyjęto w tej pracy (por. definicja w rozdz. 3.7.1). Faktycznie, przy jednostronnej stymulacji nerwu błędnego lub krtańniowego górnego obserwowałem pojedyncze asynchroniczne salwy po cięciu o zakresie 1–2 mm krótszym od (–0.5,+5).

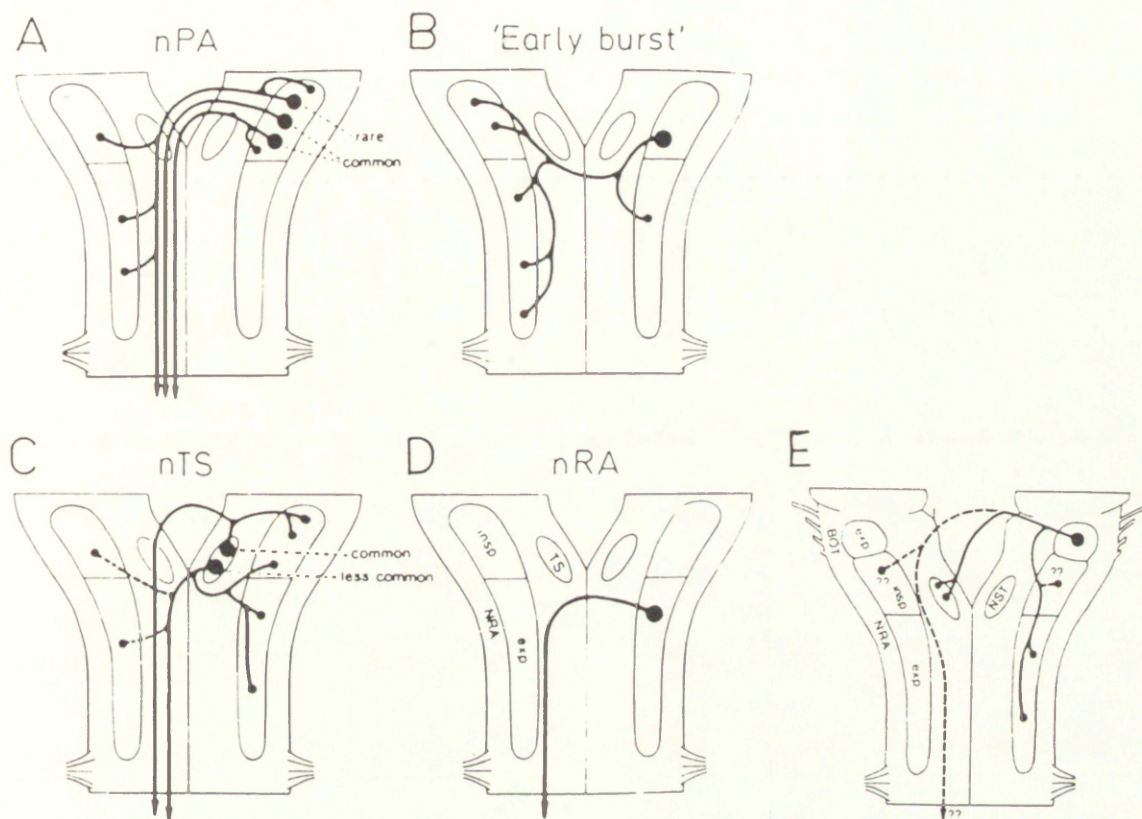
U królika prawie 50% włókien zstępujących z jednej połowy opuszki do rdzenia kręgowego krzyżuje się. Skrzyżowane włókna prawie w 100%-tach przekraczają linię środkową na odcinku (–1,+5) (będzie to szczegółowo omówienie w rozdz. 5.4.1, patrz też ryc. 5.1 A i C). Oznacza to, że cięcie wywołujące desynchronizację jednocześnie prawie całkowicie przerywa skrzyżowane włókna neuronów przedruchowych.

Gdyby włókna te krzyżowały się w innym miejscu i pozostawały nieprzecięte, to ze względu na ich liczebność prawie równą liczbie włókien nieskrzyżowanych, desynchronizacja aktywności n.Ph nie mogłaby się ujawnić nawet przy asynchronicznej aktywności subgeneratorów opuszkowych. Przy takim hipotetycznym założeniu, dla badacza rejestrującego wyłącznie aktywności nerwów przeponowych salwy pochodzące z lewej i prawej strony byłyby nierozróżnialne. Dopiero dodatkowa rejestracja aktywności nerwu czaszkowego lub aktywności

neuronu przedruchowego wykazałaby, że częstość salw nerwu przeponowego jest większa niż częstość salw generowanych w ipsilateralnej opuszce.

Rozwijając tą myśl można by założyć, że w warunkach fizjologicznych wdech inicjowany jest raz w jednej, raz w drugiej połowie pnia mózgu, jednak ze względu na skrzyżowany charakter połączeń neuronów przedruchowych z neuronami ruchowymi wywołuje to doskonale symetryczną aktywność nerwów oddechowych. Założenie takie byłoby jednak zbyt daleko idące. Możliwe, że proces zmiany fazy inicjowany jest raz w jednej raz w drugiej połowie pnia mózgu, jednak synchronizacja obu stron dokonuje się najprawdopodobniej za pośrednictwem interneuronów wyższego rzędu, niż neurony przedruchowe. Świadczy o tym fakt, że pozostawienie na odcinku (0, +4) nawet małego fragmentu nieprzeciętej tkanki nerwowej może zapobiec desynchronizacji (Gromysz i Karczewski - 1981b).

W świetle powyższych rozważań znamienne jest, że u kota, u którego znacznie większy procent włókien (>65%) krzyżuje się i skrzyżowane włókna są bardziej rozproszone (na odcinku (-4,+5), patrz Merrill -1971, 1974), cięcie wywołujące desynchronizację musi być o 3 mm dłuższe w kierunku kaudalnym (-3,+5) niż u królika. Współbrzmi to z wynikami pracy Merrilla [1971, 1974] (wykonanej metodą mapowania antydromowego), która pokazuje, że u kota (w odróżnieniu od królika) interneurony opuszkowe krzyżują się również poniżej obexu. Taki przebieg włókien potwierdzają wyniki uzyskane na szczurach. U szczura Ellenberger i Feldman [1988] stwierdzili używając metod histochemicznych, że aksony części neuronów z BGO kierują się grzbietowo i dośrodkowo od ciała komórki w stronę ipsilateralnego NTS-u, by przekroczyć linię pośrodkową poniżej zasuwki, brzusznie od kanału centralnego.



Ryc. 5.1. Schemat dotychczas wykrytych śróddopuszkowych i dordzeniowych projekcji aksonalnych neuronów oddechowych.

A i B) z jądra przydwuznacznego /nPA/

C) z grzbietowej grupy oddechowej / nTS /

D) z jądra zadwuznacznego /nRA/

E) z kompleksu Botzingera /BOT/.

Schemat pokazuje zdecydowaną przewagę projekcji skrzyżowanych. Zmodyfikowano wg. Merrill 1981.

Cięcie w linii pośrodkowej oprócz aksonów neuronów przedruchowych przecina aksony interneuronów, które dają projekcje skrzyżowane na poziomie pnia mózgu. W konsekwencji neurony oddechowe o skrzyżowanych aksonach tracą zdolność oddziaływania na kolejne neurony sieci.

Ponieważ po cięciu rytm oddechowy jest nadal generowany to znaczy, że takie neurony nie są istotnymi elementami generatora. Uwaga ta odnosi się do dużej grupy interneuronów zlokalizowanych w jądrze przydwuznacznym (patrz ryc. 5.1B) należącym do tzw. brzusznej grupy oddechowej (BGO), części neuronów kompleksu Botzingera [Lipski i Merrill - 1980] (patrz ryc. 5.1E), a także dających wewnątrzpuszkowe kolaterale neuronów przedruchowych BGO (ryc. 5.1A) i grzbietowej grupy oddechowej (patrz ryc. 5.1C). Powyższe rozumowanie, że neurony grzbietowej i brzusznej grupy oddechowej nie odgrywają istotnej roli w generacji rytmiki oddechowej jest zgodne z wynikami Specka i Feldmana [1982]. Badacze ci pokazali, że po wykonaniu wielokrotnych lezji i zniszczeniu neuronów obu grup, rytm oddychania nie został zakłócony. Podobnie, jednoczesna stymulacja neuronów obu grup nie prowadziła do przełączenia fazy oddechowej [Feldman i wsp. - 1984, Speck 1988].

Wzorem wielu autorów starałem się wyizolować najmniejszy fragment pnia mózgu, który zachowuje zdolność generacji rytmu oddechowego. Zastosowałem klasyczną technikę transekcji [por. Lumsden 1923 a,b, Stella 1938 a,b, Ngai i Wang -1957, Hukuhara -1973, -1976, Gromysz -1984] z zasadniczą modyfikacją polegającą na tym, że cięcia poprzeczne wykonywano po rozszczepieniu pnia mózgu. Wykonując serię transekcji pnia mózgu stwierdziłem, że oddzielenie opuszki od mostu cięciem na poziomie jądra n. VII

nie przerywa generacji oddychania. Wynik ten był analogiczny do obserwacji Ngai i Wanga [1957] oraz Hukuhary [1973, -1976].

Nowością było pokazanie, że dodatkowa lezja w linii środkowej nie tylko nie zatrzymuje generacji rytmu oddechowego, ale sprawia, że wzorzec oddychania staje się bardziej podobny do kontrolnego [Janczewski -1987a]. Warunkiem generacji rytmu oddechowego w oddzielonych od mostu i od strony przeciwnej połówkach opuszki było zachowanie odpowiednio wysokiego napędu tonicznego. Było to stosunkowo łatwe, gdyż obie połowy opuszki, pomimo cięć, zachowywały zdolność odpowiedzi na hipoksję i hiperkapnię.

Jedyną pracą, z którą można porównać te wyniki jest praca Gromysza i Karczewskiego -[1981a]. Badacze ci nie wykonywali transekcji, lecz hemisekcje pnia mózgu, niemniej hemisekcja ze względu na cięcie w linii pośrodkowej jest dla jednej ze stron porównywalna z transekcją. Gromysz i Karczewski [1981a] stwierdzili, że po rozszczepieniu pnia mózgu hemisekcja na poziomie od +6 do +8.5 mm powyżej obexu (ryc. 3A w w/w pracy) eliminowała aktywność nerwu przeponowego po stronie cięcia. Wynik ten jest odmienny od wyników z rozdziału 4.8, gdzie pokazano, że nie tylko transekcja, ale i cięcie dwa razy dłuższe – transekcja na w/w poziomie nie eliminuje rytmu oddechowego. Różnice w wynikach można prawdopodobnie wyjaśnić niższym poziomem napędu tonicznego w eksperymentach Gromysza i Karczewskiego [1981a]. Potwierdza to obserwacja tych autorów, że aktywność nerwów przeponowych można było stosunkowo łatwo wywołać ponownie stosując ciągłą stymulację elektryczną nerwu błędnego.

Łatwość, z jaką poprzez zmianę poziomu pobudzenia tonicznego opuszki można "włączać" i "wyłączać" generację rytmu oddechowego prowadzi do ogólniejszej refleksji, że czasami biegunowo różne interpretacje wyników mogą mieć swe przyczyny w niewielkich różnicach w warunkach eksperymentu. Niektóre czynniki wywołujące depresję oddychania, jak np. wydzielanie się opiatów endogennych w czasie preparatyki lub eksperymentu, są trudne do kontrolowania. Janczewski i Grieb [1986] uważają, że wyniki doświadczeń z lezjami w obrębie centralnego układu nerwowego są lepiej powtarzalne po podaniu naloxonu będącego "czystym" antagonistą receptorów opiatowych.

Opisana w rozdziale 4.8 obserwacja, że preparat połowy opuszki może przy odpowiednio dobranych warunkach doświadczalnych generować rytm typu eupnoe świadczy, iż struktury będące substratem neuronalnym generatora są parzyste i znajdują się w całości w każdej z połówek górnej opuszki.

Eksperymenty z transekcjami dowodzą, że struktury o zasadniczym znaczeniu dla generacji rytmu oddechowego znajdują się na poziomie bezpośrednio kaudalnym od jądra nerwu VII-ego. Do takiego wniosku prowadzi obserwacja, że po transekcjach wykonanych na poziomie środkowej i doogonowej części jądra n. VII rytm oddechowy może być generowany, podczas gdy po cięciach o 1–2 mm bardziej kaudalnych zdolność do generacji zostaje nieodwracalnie stracona.

Struktury znajdujące się bezpośrednio doogonowo od jądra n. VII to (w kolejności w kierunku kaudalnym): jądro zatrapezoidalne (patrz ryc. 1.2) położone brzusznie w stosunku do doogonowego końca jądra nerwu twarzowego [Smith i wsp. 1989, Connelly i wsp. -1988, -1990]; jądro zatwarzowe; górno-brzuszne jądro tworzącego siatkowatego położone brzusznie od jądra zatwarzowego [Onimaru i wsp. 1987, 1988, 1989]; kompleks

Bötzingera położony w pobliżu przyśrodkowo-brzuszej granicy jądra zatwarzowego; kompleks pre-Bötzingera [Smith i wsp. -1991] leżący brzuszo-bocznie w stosunku do jądra dwuznacznego i nieco doogonowo od jądra zatwarzowego.

Rezultaty eksperymentów z transekcjami potwierdzają, że któraś z wymienionych struktur odgrywa istotną rolę w rytmogenezie oddychania.

Jeżeli poprawna jest koncepcja, że rytmogeneza oddychania oparta jest o komórki rozrusznikowe zlokalizowane w kompleksie pre-Bötzingera (por. rozdz. 1.2 i 1.3 oraz Smith i wsp.- 1991) to desynchronizacja po rozszczepieniu pnia mózgu byłaby konsekwencją przerwania komunikacji między symetrycznie położonymi grupami komórek rozrusznikowych. Ciekawą obserwację w tym względzie zrobili Onimaru i wsp. [1989]. Pokazali oni, że w wyniku przerwania transmisji synaptycznej rytmy potencjalnych oddechowych komórek rozrusznikowych położonych po lewej i prawej stronie pnia mózgu ulegały desynchronizacji.

5.3 Przyczyny spadku amplitudy po cięciach w linii pośrodkowej pnia mózgu.

Rozszczepienie pnia mózgu prowadziło do znacznych redukcji amplitudy nerwów przeponowych. U kotów spadek wynosił więcej niż 93%, u królików średnio 52.5% dla salw synchronicznych i 74.3% dla salw w przeciwnych fazach. Najbardziej prawdopodobne przyczyny spadku amplitudy to:

- a) przerwanie połączeń między neuronami przedruchowymi i neuronami ruchowymi
- b) spadek tonicznego wzbudzenia neuronów pnia mózgu.

5.3.1 Przerwanie połączeń między neuronami przedruchowymi i neuronami ruchowymi.

Zgodnie z danymi literaturowymi (przedstawionymi dalej) u kota ponad 65%, a u królika ponad 44% zstępujących z pnia mózgu do rdzenia aksonów, które pobudzają jądra nerwu przeponowego krzyżuje się w obrębie dolnej opuszki. Miejsce skrzyżowania pokrywa się z zakresem cięć koniecznych do wywołania desynchronizacji. Dlatego za najważniejszą przyczynę spadku amplitudy nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu można uznać przerwanie części aksonów pobudzających jądro nerwu przeponowego. Aksony te są wypustkami komórek zlokalizowanych głównie w jądrze przydwuznacznym należącym do brzusznej grupy oddechowej /BGO/ oraz w mniejszej ilości w kompleksie jąder pasma samotnego /NTS/ (por. rozdz. 1.2 pkt 2). U królika jądra pasma samotnego zawierają ok. ośmiu razy, a u kota 2.3 raza mniej komórek przedruchowych dla jądra n.Ph niż jądro przydwuznaczne [Ellenberger i wsp.-1990, Onai i Miura -1986]. Neurony przedruchowe NTS-u, u kota są znacznie większe (średnio 20.2 do 40.7 μm) niż u królika (10-26 μm) [Gromysz i Karczewski - 1976a, Ellenberger i wsp.-1990]. Udział wymienionych jąder w pobudzaniu neuronów ruchowych przepony został udowodniony zarówno metodami histochemicznymi [Ellenberger i wsp.-1990, Onai i Miura,- 1986] jak i elektrofizjologicznymi [Berger -1977, Merrill - 1974, -1979]. Przekonującym dowodem jest obserwacja Specka i Feldmana [1982], że w miarę eliminowania neuronów vl-NTS-u i BGO amplituda n.Ph maleje.

Oprócz wymienionych wyżej głównych źródeł pobudzenia jąder nerwu przeponowego istnieją dwa inne, które mogą ew. wpływać na amplitudę

n.Ph. Są to: tzw. ośrodek pneumotaksyczny, tj. jądra okołoramieniowe mostu i jądro Kölliker–Fuse (NPB–KF), oraz tzw. grupa Aokiego, tj. grupa neuronów pośredniczących zlokalizowanych nieco bocznie od rogów brzusznych segmentów C1–C2 [Aoki 1982, Aoki i wsp. 1980, 1983 a i b, 1984, 1987, 1989]. Za pomocą metod histochemicznych stwierdzono występowanie przeważnie ipsilateralnych połączeń między NPB–KF, a jądrem n.Ph [Rikard–Bell i wsp. –1984, Portillo –1986, Ellenberger i wsp.– 1990]. Metody histochemiczne nie dają odpowiedzi na pytanie, czy i w jaki sposób te połączenia wpływają na amplitudę nerwu przeponowego. Brak również jednoznacznych danych na temat wpływu neuronów grupy Aokiego. Koncepcja Aokiego i wsp. (cyt. jw.), że neurony pośredniczące z segmentów C1 i C2 pobudzają jądro n.Ph nie znalazła potwierdzenia w badaniach Lipskiego i Duffina – [1986] oraz Kubina i Romaniuka – [1988].

Przytoczone wyżej dane dotyczące liczby skrzyżowanych aksonów oraz miejsca, w którym przekraczają one linię pośrodkową, są efektem analizy wyników eksperymentów wykonanych metodami elektrofizjologicznymi oraz histochemicznymi.

Berger i wsp. –[1983, –1984] po wewnątrzkomórkowym podaniu HRP prześledzili bieg aksonów neuronów przedruchowych zlokalizowanych w jądrze pasma samotnego (NTS) u kota. Stwierdzili oni, że wybarwione aksony kierują się brzusznie i dogłowowo od ciała komórki, po czym dośrodkowo i wreszcie przechodzą na drugą stronę opuszki powyżej ciał komórek, tj. między zasuwką i poziomem jądra zatwarzowego. Następnie opuszczają się do rdzenia kręgowego, biegnąc w powrózkach przednim i bocznym [Newsom–Davis i Plum 1972, Merrill 1979] i oddają odgałęzienia w bezpośredniej bliskości neuronów unerwiających przeponę, mięśnie

międzyżebrowe i mięśnie brzuszne [por. Rikard-Bell i wsp. 1984, 1985a – badania z użyciem do komórkowego transportu HRP]. Inni badacze potwierdzili, że u kota większość aksonów krzyżuje się na odcinku 0–4 mm powyżej zasuwki, a tylko nieliczne zstępują ipsilateralnie [Berger 1983, Lipski i Duffin –1985, Rikard-Bell i wsp. 1984, 1985a].

Największą liczbę ipsilateralnych aksonów neuronów przedruchowych zlokalizowanych w NTS-ie u kota– 25% szacuje Rikard-Bell i wsp. [1984, 1985a]. Inni autorzy uważają, że jest ich ok. 10–15% [Portillo i wsp. 1986]. Berger i wsp. [1984] zaobserwowali, że niedaleko od komórki niektóre aksony dzielą się na dwa, z których jeden zstępuje ipsilateralnie, a drugi po stronie przeciwnej. Istnieje możliwość, że właśnie tak rozdzielone aksony stanowią większość w puli aksonów ipsilateralnych. Przedstawione wyniki dotyczą prac na kotach.

Danych o połączeniach komórek brzuszno-bocznego jądra NTS z jądrem nerwu przeponowego u królika dostarczają tylko dwie publikacje. Jiang i wsp. [1987] wykonywali badania metodami elektrofizjologicznymi. Stwierdzili w brzuszno-bocznej części NTS-u dużą liczbę neuronów wydechowych (tj. 25% vs. 5% u kota por. Berger – 1977, Feldman i Cohan –1978) oraz większą niż u kota ilość aksonów nieskrzyżowanych. Było ich 37% (11/29) dla komórek wdechowych i 62% (17/27) dla neuronów wydechowych.

Ellenberger i wsp. [1990] podawali koniugat lektyny z peroksydazą chrzanową (ang. wheat germ conjugated horseradish peroxidase WGA-HRP) do jądra nerwu przeponowego u królika. Stwierdzili, że w obrębie kompleksu jąder pasma samotnego większość neuronów przedruchowych znajdowała się w podjądrze środkowym /im-NTS/, a nie jak u kota

w podjądrze brzuszno-bocznym. Ilość włókien nieskrzyżowanych z im-NTS oceniono na 54%, bez podania jednak poziomego skrzyżowania.

Neurony oddechowe BGO mające projekcje rdzeniowe zlokalizowane są powyżej zasuwki, nieco bocznie od jądra dwuznacznego, w tzw. jądrze przydwuznacznym. Ich aksony kierują się grzbietowo i dośrodkowo [Kreuter i wsp. 1977] i w większości krzyżują się przechodząc na przeciwną stronę opuszki dwiema drogami [Ellenberger i Feldman 1988 – badania na szczurach].

Pierwsza droga prowadzi grzbietowo i dośrodkowo od ciała komórki w stronę ipsilateralnego NTS-u, by przekroczyć linię pośrodkową poniżej zasuwki, brzusznie od kanału centralnego.

Druga grupa aksonów przekracza linię pośrodkową w górnej opuszce, nieco powyżej ciała komórek, a następnie zstępuje w kierunku rdzenia, biegnąc w okolicach kontralateralnej brzusznej grupy oddechowej.

Projekcja ipsilateralna przebiegała doogonowo w brzusznej grupie oddechowej, po czym bardziej przyśrodkowo między tą grupą a NTS-em. Wyniki Merrilla [1971, 1974] są podobne, wskazują jednak na bardziej rozproszony charakter skrzyżowania na odcinku -4 do +5 mm względem zasuwki. Merrill [1971, 1974, 1979, 1981] używając metod elektrofizjologicznych oszacował u kota ilość aksonów zstępujących ipsilateralnie do ciała komórki na mniej niż 10%. Natomiast badacze posługujący się metodami neuroanatomicznymi [Kalia 1977, Kuypers i Maisky 1977, Holstege i Kuypers 1982, Feldman i Speck 1983, Rikard-Bell i wsp. 1984, 1985a, Feldman i wsp.-1985] uważają, że pula aksonów ipsilateralnych z BGO do jąder nerwu przeponowego kota jest większa. Rikard-Bell i wsp. [1984, 1985a] używając metody transportu wstępnego HRP z jądra nerwu przeponowego i jąder nerwów międzyżebrowych, ocenili ich liczbę u kota na 35%.

Tabela 5.1 - KOT	i/c (% [*])	i+c(% [*])	i/c (% ^{**})
vl-NTS (GGO)	4.8/16.7	21.5	22/78
Para Amb, (BGO)	18.7/30.2	48.9	38/62
NRF (BötC)	3.8/6.0	9.8	39/61
Twór siatkowaty opuszki	8.7/2.9	11.6	75/25
Jądra szwu ^x	---	1.1	--
NPB-KF	0.3/0	0.3	100/0
Twór siatkowaty mostu	1.3/0.7	2.0	65/35
Inne	3.7/1.0	4.7	67/18
Razem		100%	

Tabela 5.2 - KRÓLIK	i/c (% [#])	i+c(% [#])	i/c (% ^{**})
int+vl-NTS (GGO)	4.2/ 3.6	7.8	54/46
Para Amb. (BGO)	35.6/28.3	63.9	56/44
NRF (BötC)	19.3/9.0	28.3	68/32
RAZEM	59.1/40.9	100%	

* za 100% przyjęto wszystkie wyznakowane komórki

** proporcje wyznakowanych komórek w danym jądrze między stroną ipsilateralną i kontralateralną.

za 100% przyjęto sumę wyznakowanych komórek w BGO + GGO + BötC łącznie po obu stronach opuszki

x nucleus raphe obscurus (ciemne) i pallidus (blade)

int-NTS przyśrodkowe podjądro kompleksu jąder pasma samotnego

vl-NTS brzuszno-boczne podjądro kompleksu jąder pasma samotnego

para Amb jądro przydwuznaczne

NRF jądro zatwarzowe

NPB-KF jądra okołoramieniowe mostu i jądro Kölliker Fuse

BGO, GGO, BötC patrz skróty str.9

i- strona ipsilateralna, c- strona kontralateralna w stosunku do jądra nerwu przeponowego do którego podano HRP.

Na przykład rząd pierwszy w tabeli 5.1 mówi, że 4.8% wszystkich wyznakowanych komórek znajdowało się w obrębie vl-NTS po stronie ipsilateralnej do podania HRP, a 16.7% po stronie przeciwnej. Po obu stronach łącznie w vl-NTS znajdowało się 21.5% wyznakowanych komórek. Iloraz tych wartości wyznacza proporcję, pomiędzy liczbami komórek w jednoimiennych jądrach po przeciwnych stronach pnia mózgu. Dla vl-NTS jest to 22 do 78.

U królika Ellenberger i wsp. [1990] oszacowali liczbę aksonów neuronów przedruchowych BGO, które zstępują do jądra nerwu przeponowego w sposób nieskrzyżowany na 56% (patrz wiersz drugi w tabeli 5.2). Ze względu na nieselektywny charakter tej metody, wybarwieniu mogły ulec obok włókien oddechowych także włókna biegnące do segmentów piersiowych oraz opuszkowo-rdzeniowe neurony nieoddechowe. Należy się więc liczyć z możliwością, że szacunki są zawyżone.

Oszacowania wykonane metodami elektrofizjologicznymi są zapewne zaniżone za względu na małą liczebność próby. Ze względu na wyrafinowaną technikę podania enzymu wiarygodne wydają się rezultaty badań wykonanych u kota przy użyciu metod histochemicznych przez Onai i Miura [1986]. Ich wyniki użyto do opracowania tabeli nr 5.1, są one zgodne z rezultatami Rikard-Bell i wsp. [1984, 1985a].

Mniejsza dojrzałość techniczna cechuje pracę Ellenbergera i wsp. [1990], jest to jednak jedyna praca wykonana na królikach i dlatego wyników użyto do opracowania tabeli 5.2. Z tabel wynika, że jeżeli by przyjąć, że aksony pobudzające jądro nerwu przeponowego znajdują się wyłącznie w BGO i GGO to, u kota 33.4%, a u królika 55.4% włókien zstępuje do rdzenia w sposób nieskrzyżowany.

5.3.2 Spadek tonicznego pobudzenia sieci neuronów oddechowych pnia mózgu.

Przerwanie połączeń między neuronami przedruchowymi i ruchowymi nie było jedynym efektem cięcia. Jak wynika z ryc. 5.1 część interneuronów kompleksu oddechowego została odcięta od wpływów strony przeciwnej.

Oprócz znacznego spadku tonicznej i fazowej aktywności rejestrowanych nerwów czaszkowych i n.Ph wystąpiły następujące symptomy spadku ogólnego tonicznego pobudzenia wszystkich neuronów pnia mózgu.

A) Po rozszczepieniu pnia mózgu kilkakrotnie wzrastała ilość penetracji zewnątrzkomórkowych konieczna do wykrycia fazowo lub nawet tylko tonicznie czynnego neuronu. W kontroli w tych samych rejonach łatwo znajdowano neurony oddechowe. Obserwacja ta była zgodna z doniesieniami innych autorów [Salmoiraghi i Burns -1960a,b, Salmoiraghi i Baumgarten -1961, Gromysz i Karczewski - 1984]. Interesujące dowody o związku pomiędzy poziomem pobudzenia tonicznego i fazowego przedstawili Salmoiraghi i Burns [1960b] i Burns i Salmoiraghi [1960]. Wykazali oni, że niektóre neurony rdzenia przedłużonego (opuszki), które w wyniku cięcia utraciły swą aktywność, zaczynały rytmicznie pracować po podniesieniu tonicznego wzbudzenia sieci za pomocą tonicznej elektrycznej stymulacji doogonowej części opuszki.

B) Depresja oddychania w odpowiedzi na podanie małych, dodatkowych dawek środków znieczulających była silniejsza po cięciu niż w kontroli. U sześciu królików wykazano, że podanie po cięciu ketaminy w dawce 5 mg/kg i.v. na kilka minut eliminowało aktywność n.Ph, podczas gdy przed cięciem ta sama dawka redukowała amplitudę n.Ph o mniej niż 10%.

Można wskazać dwie przyczyny spadku tonicznego pobudzenia sieci neuronów oddechowych pnia mózgu.

I) Pozbawienie neuronów jednej strony pnia mózgu pobudzenia z centralnych stref chemowrażliwych [Loeschcke - 1973, Mitchell i wsp.- 1963, Pokorski -1976, Schlaefke i wsp. -1970, -1975] i chemoreceptorów strony przeciwnej.

- II) Redukcja o połowę liczby elementów w sieci wzajemnie pobudzających się neuronów tworzących siatkowatego, co w efekcie musi prowadzić do spadku ich aktywności. Jeżeli przyjąć, że każdy z elementów sieci jest jednokrotnie połączony z każdym innym to po zredukowaniu liczby elementów sieci do połowy czterokrotnie spada liczba połączeń.

Koncepcja, że toniczna aktywność tworzącego siatkowatego stanowi "napęd", który kontroler oddychania przetwarza na aktywność fazową znalazła już szerokie uznanie (patrz rozdział 20.4.5 do 20.5.7, Traczyk i Trzebski tom II, -1990).

Proponuję znacznie rozszerzyć tę koncepcję i założyć co następuje.

Część neuronów tworzących siatkowatego, pomimo że wykazuje aktywność toniczną, stanowi integralny element sieci oddechowej. Neurony te są zaangażowane w procesy chemorecepcji. Ich zadaniem jest regulowanie amplitudy aktywności neuronów oddechowych w zależności od poziomu napędu chemicznego. W konsekwencji, wzrost aktywności motoneuronów jest wypadkową dwu równoległych procesów.

Pierwszy polega na wzroście częstości potencjałów czynnościowych propagowanych aksonami neuronów przedruchowych oraz na rekrutacji większej liczby takich neuronów.

Drugi na wzroście tonicznej aktywności neuronów tworzących siatkowatego tworzących synapsy z motoneuronami. Pobudzenie ze strony tworzącego siatkowatego przesuwając potencjał błonowy motoneuronów w kierunku potencjału progowego. Konsekwentnie, spadek poziomu tonicznego pobudzenia motoneuronów ze strony komórek tworzących siatkowatego powoduje przesunięcie ich potencjału błonowego w kierunku hiperpolaryzacji. Silnie redukuje to (por. rys. 1.4 z rozdz. 1.3) pobudliwość motoneuronu i ich odpowiedź na pobudzenie fazowe.

Liczba dowodów wspierających przedstawioną hipotezę jest niewielka, ponieważ z reguły przedmiotem zainteresowania badaczy są neurony aktywne w rytmie nerwów przeponowych. Przykładem, że toniczny charakter aktywności neuronów nie musi dyskwalifikować ich jako elementu sieci oddechowej są niektóre komórki NPB-KF. *Feldman i wsp.* [1976] pokazali, że komórki te przed wagoctomią były tonicznie aktywne, podczas gdy po wagoctomii ich aktywność stawała się fazowa. Zaproponowaną wyżej teorię popierają wyniki [*Onai i Miura -1985*] wskazujące, że 11.6% wszystkich neuronów dających projekcje do jądra n.Ph stanowią neurony tworzą siatkowatego. Fakt, że po podaniu HRP do jądra nerwu przeponowego wybarwieniu ulegają komórki tworzą siatkowatego opuszki (m.in. w jądrze wielkokomórkowym i jądrze olbrzymiokomórkowym) wskazuje, iż ich aksony zstępują do rdzenia. Badanie histologiczne nie mówi nic o funkcjonalnej roli tych połączeń, nie wyklucza jednak ich specyficznego udziału w regulacji amplitudy aktywności motoneuronów. O takiej roli części neuronów tworzą siatkowatego można wnioskować na podstawie ponad 85% spadku amplitudy nerwu krtaniowego i 89% spadku amplitudy n.VII u królików i ponad 93%-wego spadku amplitudy obu tych nerwów u kotów po rozszczepieniu pnia mózgu.

W odróżnieniu od nerwów przeponowych główną przyczyną spadku amplitudy nerwów czaszkowych nie mogło być przerwanie połączeń między neuronami przedruchowymi i ruchowymi. Ponieważ, więcej niż połowa takich połączeń leży po tej samej stronie pnia mózgu [*Kubin -1981, Bystrzycka i Nail -1983, Takada i wsp. -1984*].

Aby wyjaśnić przyczyny spadku aktywności w/w nerwów czaszkowych należy założyć, że wejście toniczne ma decydujący udział w kształtowaniu ich aktywności i że cięcie w linii pośrodkowej redukuje aktywność tworzą

siatkowatego. Pozostaje to w zgodzie z licznymi pracami pokazującymi, że wszystkie bodźce obniżające poziom aktywności tonicznej znacznie silniej redukują amplitudę nerwów czaszkowych niż n.Ph [Hwang i wsp. -1983, Haxhiu i wsp. -1984, -1986, -1987, van Lunteren i wsp. -1984].

O tym, że cięcie w linii pośrodkowej niszczy neurony tworzą siatkowatego przekonują wyniki Mancina [1969]. Stwierdził on, że po rozszczepieniu pnia mózgu zwyrodnieniem wstecznym spowodowanym przecięciem aksonów dotknięte były **głównie** neurony tworzą siatkowatego. Najwięcej zwyrodniałych komórek znaleziono w jądrze olbrzymiokomórkowym, mniej w jądrze przyolbrzymiokomórkowym i małokomórkowym.

Wielość elementów wpływających na aktywność motoneuronów n.Ph, a tym samym na amplitudę aktywności nerwu przeponowego sprawia, że trudno na podstawie spadku amplitudy nerwu przeponowego w wyniku rozszczepienia pnia mózgu wnioskować o liczbie nieprzeciętych, tj. nieskrzyżowanych włókien neuronów przedruchowych zstępujących do rdzenia. Amplituda aktywności nerwu przeponowego na pewno maleje wraz ze spadkiem liczby aksonów pobudzających jądro n.Ph. Jednak nie musi to być spadek proporcjonalny. Wynika to z wielu powodów, z których ważniejsze to: stały określony w wartościach bezwzględnych poziom pobudzenia, potrzebny wyłącznie po to, aby doprowadzić potencjał błonowy do wartości progowej, oraz nieliniowy związek między ilością aktywnych synaps pobudzających a częstością generowanych przez neuron potencjałów czynnościowych. Ponadto można przypuszczać, że proces przekazywania informacji z neuronów przedruchowych do ruchowych jest tak ważny dla funkcjonowania organizmu, że cechuje go duża redundancja. Założenie takie może wyjaśnić obserwację, że stopniowa redukcja liczby czynnych

włókien w czasie wykonywania kolejnych cięć najpierw nie wpływała na amplitudę n.Ph, a następnie niewielkie rozszerzenie cięcia gwałtownie ją zmniejszało. Dodatkową komplikacją przy ustalaniu związku między liczbą nieprzeciętych włókien, a amplitudą nerwów oddechowych jest diskutowany wcześniej w tym rozdziale wpływ pobudzenia tonicznego motoneuronu (patrz ryc. 1.4) na poziom aktywności fazowej.

Pamiętając o powyższych zastrzeżeniach oraz przedstawionych w poprzednim paragrafie szacunkach, że u królika 55.4%, a u kota 33.4% włókien neuronów przedruchowych zstępuje w sposób nieskrzyżowany, można wyciągnąć pewne wnioski. Ponad 93-procentowy, tj. większy niż należałoby oczekiwać spadek amplitudy n.Ph u kota, wskazuje na dużą i większą niż u królika redukcję poziomu pobudzenia tonicznego. Z kolei spadek do wartości 47.5% kontroli amplitudy n.Ph u królika wskazuje na mniejszą redukcję pobudzenia tonicznego i potwierdza wysoki procent włókien nieskrzyżowanych.

Większy niż dla nerwu przeponowego spadek amplitudy nerwu krtaniowego dolnego oraz n.VII wskazuje, że o amplitudzie aktywności nerwów górnych dróg oddechowych decyduje w pierwszej kolejności poziom wzbudzenia tworzącego siatkowatego.

5.3.3 Uszkodzenie neuronów w pobliżu cięcia.

Należy liczyć się z możliwością, że chirurgiczne rozdzielenie połówek pnia mózgu prowadzi do zniszczenia struktur w pobliżu linii pośrodkowej. Uszkodzenie może wynikać z urazu mechanicznego, a także z zaburzeń ukrwienia i kontaktu tkanki mózgowej z wynaczynioną krwią, a następnie

z produktami rozpadu elementów morfotycznych. Ze względu na wysokie stężenia wpływ neurotoksyczny mogą mieć również substancje neuroprzekaznikowe i jony zawarte w osoczu krwi.

Przerwane w wyniku cęcia naczynia kurczą się, co prowadzi do hemostazy, ale również do ischemii tkanki pozostającej w dorzeczu naczynia.

Ze względu na lokalizację, najbardziej narażone na zniszczenie są jądra szwu. Jądra te, będące częścią tworzywa siatkowatego [Bochenek i Reicher - 1988, t. IV, str. 167], ciągną się począwszy od opuszki aż do śródmózgowia, otaczając bezpośrednio szew. W obrębie cęcia o zakresie koniecznym do wywołania desynchronizacji, znajdują się jądro wielkie szwu (raphe magnus), jądro ciemne szwu (nucleus obscurus raphes), jądro blade szwu (nucleus pallidus raphes), w moście i śródmózgowiu znajdują się jądra pośredkowe (medianus) i grzbietowe (dorsalis) szwu. O powiązaniu jąder szwu z regulacją wzorca oddechowego świadczyć mogą ich projekcje w okolice jądra n.Ph [Holtman i wsp. - 1984a, 1984b, 1986, Zhan i wsp. 1989]. Ponadto stymulacja jądra ciemnego i jądra wielkiego szwu hamuje aktywność nerwu przeponowego. Natomiast stymulacja jądra bladego szwu pobudza aktywność n.Ph wywołując salwy nawet w czasie wydechu [Lalley 1984, 1986 a,b, Yen i Blum, 1984]. Przy równoczesnej stymulacji wszystkich jąder efektem "netto" jest hamowanie jądra nerwu przeponowego.

Globalne wnioski co do kierunku zmian oddychania w wyniku aktywacji lub zniszczenia jąder szwu można wyciągnąć wiedząc, że są to neurony w ponad 80% serotoninergetyczne [Bowker i wsp. - 1987, Bellinger i wsp. 1984] i badając efekty podania agonistów i antagonistów serotoniny. Podanie inhibitorów lub antagonistów serotoniny pobudza wentylację [Florez i wsp. - 1972, Olsen i wsp. - 1979, Lalley, 1986b]. Podanie agonistów lub prekursorów serotoniny [Lalley -1982, Mueller i wsp. -1982, Lundberg i wsp. -1980] tłumi

aktywność n.Ph i wentylację [*Armigo i Florez - 1974, Lambert i wsp.- 1978, Lundberg i wsp. -1980, McCrimmon i Lalley -1982*].

Jeżeli globalnym efektem pobudzenia jąder szwu jest depresja oddychania, to wydaje się uzasadnione odrzucenie hipotezy, że zniszczenie tych jąder może prowadzić do spadku aktywności nerwów oddechowych.

Zniszczenie neuronów położonych dalej od linii pośrodkowej jest mało prawdopodobne. Badania histologiczne nie wykazały mechanicznego uszkodzenia tkanki nerwowej w odległości większej niż 0.2 mm od linii cęcia. O prawidłowym funkcjonowaniu neuronów ruchowych nerwu XII świadczy "utrzymanie" się aktywności tego nerwu po cięciach [*Janczewski, dane nieopublikowane*].

O braku uszkodzeń w obrębie jądra pasma samotnego przekonuje obecność odruchów wagalnych (*por. rozdział 4.4*).

5.4 Rola szlaków skrzyżowanych na poziomie rdzenia szynowego w pobudzaniu jąder nerwu przeponowego.

Aktywność przepony ma kluczowe znaczenie dla utrzymania prawidłowej wentylacji, a w konsekwencji dla życia organizmu. Jest to jedną z wielu przyczyn, dla których podejmuje się badania nad przebiegiem i funkcjami szlaków oddziałujących na neurony ruchowe przepony.

Przy badaniu połączeń opuszkowo-rdzeniowych metodami histochemicznymi uzyskuje się informacje o przebiegu, ale nie o funkcji wyznakowanych szlaków. Substancję znakującą podaje się w rejony, gdzie występują neurony oddechowe, ale wybarwieniu mogą ulec również komórki

pełniące inne funkcje. Mapowanie metodami elektrofizjologicznymi identyfikuje przynależność neuronu do sieci oddechowej, ale nie określa jego roli funkcjonalnej. Ponadto ze względów technicznych wykonuje się je zwykle dla małej liczby włókien. Na przykład Merrill [1971, 1974] stwierdził, że niektóre aksony komórek BGO dają odgałęzienia, które przekraczają linię pośrodkową rdzenia i kierują się w stronę jądra n.Ph. Dane te pozwalają przypuszczać, że skrzyżowane włókna tworzą synapsy z neuronami ruchowymi przepony. Uzasadnione jest również przypuszczenie, że skoro są to włókna komórek aktywnych w czasie wdechu, to postulowane synapsy mają charakter pobudzeniowy. Nie można jednak zapominać, że wyniki mapowania będące podstawą tych przypuszczeń nie stanowią dowodu istnienia postulowanych synaps pobudzających. Nawet jeśli przyjmiemy to za pewnik, nie wiadomo, czy i jaką rolę pełnią one w kształtowaniu aktywności nerwu przeponowego. Podobnie stwierdzenie przez Cameron i wsp. [1983], że dendryty większości neuronów ruchowych przepony przekraczają linię środkową i kierują się do jądra nerwu przeponowego po stronie przeciwnej niewiele mówi o funkcjonalnym znaczeniu tych połączeń. Uwagi dotyczące skrzyżowanych połączeń pobudzających dotyczą również skrzyżowanych połączeń hamujących. Fedorko i Merrill [1984] stwierdzili, że neurony wydechowe kompleksu Botzingera prawie w 100%-tach dają projekcje rdzeniowe, po połowie na stronę ipsi- i kontralateralną. Można przypuszczać, że połączenia te tworzą synapsy hamujące na motoneuronach nerwu przeponowego. Zastosowanie modelu rozszczepionego pnia mózgu umożliwiło przypisanie połączeniom skrzyżowanym określonych funkcji fizjologicznych.

Obserwacja, że w czasie aktywności synchronicznej amplituda n.Ph była blisko dwukrotnie większa niż podczas aktywności w przeciwfazie

dowodła, że istotna część pobudzenia jądra n.Ph przekazywana jest połączeniami skrzyżowanymi. Ponieważ, te zmiany amplitudy obserwowano po rozdzieleniu połówek pnia mózgu, więc odpowiedzialne za nie skrzyżowanie szlaków neuronalnych zlokalizowane jest na poziomie rdzenia.

Substratem neuronalnym takiego skrzyżowanego pobudzenia mogą być;

- a) neurony przedruchowe o aksonach (lub ich odgałęzieniach) skrzyżowanych na poziomie rdzenia szyjnego,
- b) dendryty neuronów ruchowych przepony arboryzujące na stronę przeciwną,
- c) odgałęzienia aksonów neuronów ruchowych przepony.

ad a) Merrill [1971, 1974] mapując przebieg aksonów komórek oddechowych BGO stwierdził, że niektóre z nich dają odgałęzienia, które przekraczają linię środkową rdzenia i kierują się w stronę jądra n.Ph po stronie przeciwnej. Wyniki Merrilla [1971, 1974] nie wykluczały możliwości, że zamiast dawać kolaterale zstępujący akson już w opuszce dzieli się na dwie części biegnące po przeciwnych stronach rdzenia, tak jak to pokazał Berger i wsp. [1984].

ad b) Cameron i wsp. [1983] jako pierwsi podając wewnątrzkomórkowo HRP wykazali, że dendryty większości neuronów ruchowych przepony przekraczają linię środkową i kierują się do jądra nerwu przeponowego po stronie przeciwnej. Osiemdziesiąt osiem lat wcześniej Porter [1895] (por. ryc. 1.6A z rozdziału 1.9) postulował istnienie takich dendrytów i przypisywał im istotną rolę funkcjonalną.

Ad. c) Aksony neuronów ruchowych n.Ph posiadają odgałęzienia oddziałujące na pobliskie neurony w ramach tego samego jądra n.Ph [Webber i Pleschka - 1976, Goshgarian i Rafols - 1984, Lipski i wsp. - 1985, Khatib i wsp. 1986]. Odgałęzienia te mogą pobudzać komórki Renshawa [Renshaw, 1941], albo pobudzać inne neurony jądra n.Ph [Khatib, 1989]. Nie można wykluczyć, że odgałęzienia te przechodzą na stronę przeciwną.

Z trzech powyższych możliwości najbardziej prawdopodobne jest, że substratem neuronalnym fluktuacji amplitudy są szlaki opisane w pkt a). Wynika to z danych przedstawionych w rozdziale 4.5. Pokazano tam, że jeżeli w trakcie salwy wdechowej n.Ph po stronie prawej²⁸ rozpoczyna się salwa n.Ph po stronie lewej to po stronie prawej zawsze następuje gwałtowny przyrost aktywności. Analiza w/w sytuacji przy szybkiej podstawie czasu (patrz. ryc. 4.12) wykazała, że to dodatkowe pobudzenie po stronie prawej ujawnia się zawsze z a n i m neurony ruchowe i cały n.Ph po stronie lewej rozpoczynają swoją aktywność. Wyprzedzenie to ma średnią wartość 4 ms.

W tej sytuacji neurony ruchowe przepony (w tym ich dendryty i kolaterale aksonów) nie mogą być źródłem dodatkowego pobudzenia jądra n.Ph strony przeciwnej.

Na tej podstawie można odrzucić możliwości przedstawione w pkt b) i c). Należy przyjąć, że substratem neuronalnym dla zjawiska fluktuacji amplitudy jest ta część opuszkowo- rdzeniowych aksonów (lub ich kolaterali) neuronów przedruchowych, która krzyżuje się na poziomie rdzenia. Ponieważ włókna te są źródłem pobudzenia motoneuronów, pobudzenie dociera do ich zakończeń przed rozpoczęciem się aktywności n.Ph. Od momentu, gdy rozpoczyna się depolaryzacja neuronu do momentu, gdy potencjał błonowy osiągnie poziom progu i rozpoczyna się generacja potencjałów czynnościowych, upływa pewien czas. Generalnie przyjmuje się, że jest on tym krótszy, im pobudzany motoneuron jest mniejszy, a co się z tym wiąże ma wyższą rezystancję błony [Henneman i wsp. -1965], oraz im bardziej dodatni jest jego potencjał spoczynkowy. Dla

28. Tu i dalej stronę prawą wybrano dla ustalenia uwagi, identyczne rozumowanie może być przeprowadzone dla strony lewej.

neuronów ruchowych przepony (wg. *Bergera* [1979]), od chwili gdy zostają one pobudzone do momentu gdy ich potencjał błonowy podnosi się do poziomu potencjału progowego upływa średnio 4 ± 9 ms dla małych neuronów ruchowych (typu B). Dla większych neuronów –późnowdechowych typu A i A/B czas ten, w eksperymentach *Bergera* [1979], wynosił odpowiednio: 603 ± 222 ms lub 693 ± 76 ms.

Biorąc to pod uwagę można wyjaśnić, dlaczego aktywność czynnego nerwu przeponowego ulegała wzmocnieniu zanim rozpoczynała się salwa po stronie przeciwnej. Pobudzenie propagowane aksonami neuronów przedruchowych docierało prawie jednocześnie do jądra n.Ph po stronie ipsilateralnej i przeciwnej. Jego efekt ujawniał się natychmiast po tej stronie, po której n.Ph był już aktywny. Natomiast po stronie przeciwnej upływało kilka milisekund zanim potencjał błonowy zostawał doprowadzony od poziomu spoczynkowego do progowego.

Koncepcja zakładająca, że część oddziaływań pobudzających dociera do neuronów ruchowych przepony za pośrednictwem szlaków skrzyżowanych na poziomie rdzenia, tłumaczy, dlaczego po rozszczepieniu pnia mózgu salwy synchroniczne miały znacznie większą amplitudę niż salwy w przeciwfazie. Wyjaśnia również dlaczego, jeżeli w trakcie trwania salwy n.Ph rozpoczynała się salwa po drugiej stronie, to obserwowano gwałtowny wzrost aktywności salwy już trwającej.

Kontrkoncją byłoby założenie, że zjawisko nie "rozgrywa się na poziomie rdzenia", lecz na poziomie opuszki. Oznaczałoby to, że w czasie aktywności synchronicznej już neurony przedruchowe są silniej pobudzone i to zwiększone pobudzenie "transmitowane" jest do rdzenia. Wykonano szereg doświadczeń pokazujących, że ta ostatnia interpretacja jest błędna.

Po pierwsze: podczas badań mikroelektrodowych (patrz ryc 4.16 i 4.17) nie obserwowano wzrostu aktywności neuronów w rdzeniu przedłużonym w czasie gdy po stronie przeciwnej odbywał się wdech.

Po drugie: zauważono, że aktywność nerwów czaszkowych ma stałą amplitudę, która nie zależy od cyklu oddychania po stronie przeciwnej. Gdyby amplituda aktywności subgeneratorów podlegała fluktuacjom, musiałyby to wywołać fluktuacje aktywności wszystkich nerwów oddechowych, a nie tylko nerwów rdzeniowych.

Najważniejszy jednak dowód na to, że aktywność neuronów przedruchowych jest stała, a substratem neuronalnym fluktuacji amplitudy są struktury rdzeniowe, stanowią wyniki eksperymentów z cięciem w linii pośrodkowej rdzenia (patrz rycinia 4.11). Rejestrowano tam obustronnie aktywności gałęzi nerwu przeponowego "pochodzących" z segmentów C4 i C5/C6. Po rozszczepieniu segmentu C4 fluktuacje amplitudy gałązek C4 zostały wyeliminowane, podczas gdy utrzymywały się na gałęziach pochodzących z korzonków C4/5. Ponieważ pobudzenie obu gałęzi pochodzi z tej samej puli neuronów przedruchowych, amplituda gałęzi C4 nie mogłaby być stała gdyby pobudzenie to zmieniało swą amplitudę w zależności od aktywności strony przeciwnej. Fakt, że mielotomia rdzenia jest jedyną²⁹ metodą wyeliminowania fluktuacji amplitudy wskazuje, że

29. Fluktuacje amplitudy obserwowałem u wszystkich kotów i królików u których aktywność nerwów przeponowych była zdesynchronizowana (> 100 łącznie w tej i innych pracach). Przeanalizowałem również dokumentację autorów, którzy wcześniej badali preparat rozszczepionego pnia mózgu, ale nie zwrócili uwagi na zmienność amplitudy. Stwierdziłem, że na rycinie nr. 2 (z pracy Gromysz i Karczewski -1981b) pokazano trzy salwy po stronie lewej i prawej. Salwa druga (częściowo pokrywająca się) ma niższą amplitudę od salwy trzeciej synchronicznej. Potwierdza to występowanie fluktuacji amplitudy. Interpretacja w tym względzie danych przedstawionych w pozostałych pracach jest trudna. W pracy Gromysza i Karczewskiego 1981a na rycinie pokazane są wyłącznie salwy asynchroniczne i dlatego nie można porównać ich z salwą synchroniczną. Na oznaczonej jako 7 II rycinie z pracy Gromysza i Karczewskiego -1982 pokazane są salwy różnego rodzaju jednak brak sygnałów integrowanych uniemożliwia porównywanie ich amplitud. Zapisy przedstawione w pracy Langendorffa i wsp. -1881 (przede

jedyną przyczyną tego zjawiska jest aktywność szlaków skrzyżowanych na poziomie rdzenia.

Ponadto eksperymenty te dowiodły, że szlaki skrzyżowane odpowiedzialne za pobudzenie strony przeciwnej przekraczają linię pośrodkową w pobliżu motoneuronów, które unerwiają.

Koncepcja, że obok nieskrzyżowanych szlaków rdzeniowych w pobudzaniu jądra nerwu przeponowego biorą udział szlaki skrzyżowane na poziomie rdzenia *pozwalą* wyjaśnić powstawanie opisanych w rozdziale 4.6 pobudzeń skrzyżowanych. Nazwano tak niewielkie pobudzenia nerwu przeponowego dokładnie synchroniczne z aktywnością wdechową strony przeciwnej (*patrz wyładowania podkreślone na ryc. 4.8 oraz wyładowania oznaczone strzałkami na ryc. 4.16*). Należało rozstrzygnąć problem, czy *wyładowania* te są odmianą normalnej salwy wdechowej, tzn. ich źródłem są neurony przedruchowe po stronie ipsilateralnej, czy może wynikają one **wyłącznie** z pobudzenia n.Ph za pośrednictwem szlaków skrzyżowanych na poziomie rdzenia. Zebrano dowody wskazujące na poprawność tej drugiej interpretacji.

- 1) Neurony po stronie ipsilateralnej, których wzorzec aktywności wskazywał, że były to neurony przedruchowe nie były aktywne w czasie wyładowań skrzyżowanych.
- 2) Nerwy czaszkowe po stronie ipsilateralnej nie miały aktywności typu wdechowego w czasie salw skrzyżowanych.
- 3) Salwy skrzyżowane pojawiły się dokładnie synchronicznie z aktywnością nerwu przeponowego po przeciwnej stronie rdzenia.

wszystkim ryc. 1, ale również ryc. 3.i 4.) dają podstawy, by przypuszczać, że wystąpiły fluktuacje amplitudy, jednak technika rejestracji za pomocą bębneków Mareya utrudnia jednoznaczną interpretację zapisów.

- 4) Hemisekcja na poziomie dolnej opuszki lub C1–C2 znosiła ipsilateralną aktywność nerwu przeponowego, ale salwy skrzyżowane pozostawały.

Z przedstawionych wyżej powodów salwy skrzyżowane nie mogły mieć swego źródła w aktywności neuronów przedruchowych opuszki po stronie ipsilateralnej. Ich obecność można wyjaśnić przyjmując, że są one wynikiem pobudzenia neuronów ruchowych przepony wyłącznie przez neurony leżące po przeciwnej stronie pnia mózgu, których aksony (lub ich odgałęzienia) krzyżują się na poziomie odcinka szyjnego rdzenia kręgowego. Dużą wagę przywiązuję do obserwacji, że jeżeli hemisekcję wykonywano rostralnie do jądra pasma samotnego, to stymulacja elektryczna nerwu błędnego wyraźnie zwiększała amplitudy salw skrzyżowanych po stronie ipsilateralnej, jak to pokazano na ryc. 4.13. Po hemisekcji amplituda salw skrzyżowanych znacznie wzrastała również wtedy, gdy rdzeń pobudzano niespecyficycznie poprzez drażnienie mechaniczne. Dowodzi to, że o wypadkowej aktywności nerwu przeponowego decyduje nie tylko suma składników fazowych, ale także poziom pobudzenia tonicznego podnoszącego potencjał błonowy w kierunku potencjału progowego (por. ryc 1.4.).

W oparciu o aktywność w/w dróg skrzyżowanych można wyjaśnić, wcześniej trudne do zinterpretowania zjawiska, opisane przez innych autorów. Zjawiskiem takim jest tzw. "crossed phrenic phenomenon" [Lewis i Brookhart - 1951]. Zastanawiano się, dlaczego po jednostronnym wyeliminowaniu szlaków opuszkowo-rdzeniowych hemisekcją segmentu C1 lub C2, ipsilateralny nerw przeponowy pozostawał aktywny. Wiedząc, że na poziomie jądra nerwu przeponowego następuje skrzyżowanie zstępujących szlaków opuszkowo rdzeniowych oraz, że szlaki te są w stanie pobudzać jądro po stronie przeciwnej efekt ten staje się zrozumiały.

Pomimo, że przedstawione w tym rozdziale argumenty wskazują, że podstawowe znaczenie przy "przenoszeniu" pobudzeń skrzyżowanych mają opuszkowo-rdzeniowe aksony (lub ich kolaterale) skrzyżowane na poziomie jąder n.Ph. Nie należy wykluczać możliwości, że w określonych warunkach eksperymentalnych pewną rolę odgrywają czynniki omówione w pkt b) i c). Wskazują na to wyniki Viali i wsp. [1987]. Wykazali oni, że również w preparacie rdzeniowym salwy nerwy przeponowe mają nieco wyższe amplitudy, gdy są obustronnie synchroniczne.

Budzińska i Romaniuk [1985] stwierdzili, że fluktuacje amplitudy mogą, w preparacie rozszczepionego pnia mózgu, dotyczyć również innych (niż przeponowe) nerwów rdzeniowych. Mogą na to wskazywać zintegrowane elektromiogramy aktywności mięśni międzyżebrowych zewnętrznych (wdechowych) przedstawione na rycinie 5 i 6 w wyżej cytowanej pracy. Jednoznaczna interpretację tych zapisów pod względem fluktuacji amplitudy jest jednak utrudniona. Wynika to z faktu, że u badanych królików zachowane były *sprzeżenia* zwrotne z receptorów klatki piersiowej. Zwierzęta nie były porażone i oddychały całkowicie spontanicznie lub "ze wspomaganie". W efekcie, konsekwencją skurczu jednej połowy przepony musiało być pobudzenie receptorów klatki piersiowej po obu stronach.

5.5 Skrzyżowane hamowanie

W poprzednim rozdziale dyskutowano oddziaływania jakim poddane jest jądro nerwu przeponowego, gdy stronia przeciwna znajduje się w fazie wdechu.

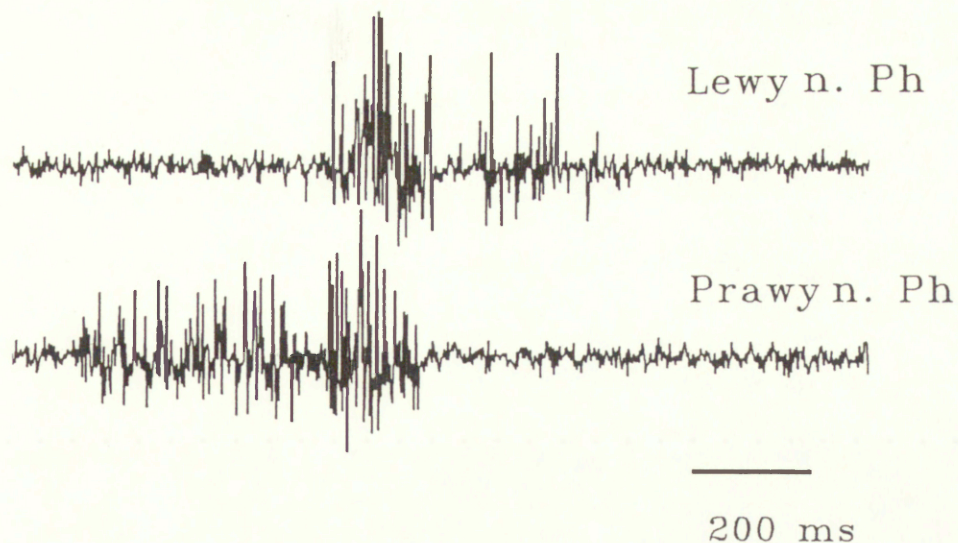
Zebrane dane wskazują, że wpływy każdego z subgeneratorów na aktywność nerwu przeponowego po stronie przeciwnej nie ograniczają się wyłącznie do okresu gdy subgenerator jest w fazie wdechu. Subgeneratory wpływają na aktywność strony przeciwnej również wtedy gdy są w fazie wydechu. Świadczy o tym szereg obserwacji.

A) Salwy w przeciwfazie, tj. takie które rozpoczynają się i kończą w czasie gdy po stronie przeciwnej trwa wydech mają zróżnicowane amplitudy. Amplituda salw w przeciwfazie jest tym większa im salwa rozpoczyna się bliżej końca wydechu po stronie przeciwnej (pokazuje to rycina 4.8).

Prawidłowość ta dotyczy również innych typów salw które osiągają maksymalną aktywność w okresie wydechu po stronie przeciwnej.

Gdyby przyjąć, że oddziaływania pomiędzy stronami ograniczają się do wpływów pobudzających w czasie wdechu, to wszystkie amplitudy salw, które wystąpiły w okresie wydechu po stronie przeciwnej (jako wolne od tych oddziaływań) powinny być równe.

B) Bardziej bezpośrednich dowodów występowania skrzyżowanych oddziaływań w okresie wydechu dostarczyła analiza (przy szybkiej podstawie czasu) salw częściowo pokrywających się. Przykład takich salw przedstawiono na rycinie 4.12 w rozdziale 4.5.



Ryc. 5.2 Aktywność lewego i prawego nerwu przeponowego po rozszczepieniu pnia mózgu. Salwy częściowo nakładające się. Objaśnienia w tekście.

Inny przykład prezentuje rycina 5.2. Przedstawia ona bezpośrednie (tj. niezintegrowane) sygnały z lewego i prawego nerwu przeponowego w trakcie wyładowań częściowo nakładających się. Zaraz po zakończeniu się wdechu po stronie prawej, widoczne jest całkowite zahamowanie aktywności po stronie przeciwnej (lewiej). O dużym znaczeniu funkcjonalnym prezentowanego na rycinie hamowania (ew. dysfacylitacji) świadczy fakt, że aktywność nerwu przeponowego po stronie lewej zostaje zatrzymana w drugiej połowie wdechu, a więc wtedy, gdy aktywność ta jest zwykle największa. Na przykładzie z ryciny 5.2 doszło do trwającego 0.1 sek całkowitego zahamowania aktywności nerwu przeponowego. W prawie 80%-tach przypadków nie dochodziło do całkowitego zaniku aktywności, lecz do znacznej jej redukcji. Typowy przykład pokazano na rycinie 4.12. Część B tej ryciny pokazuje, że zintegrowany sygnał aktywności nerwu lewego, tuż po zakończeniu aktywności po stronie prawej spada poniżej poziomu, jakiego można by oczekiwać pod nieobecność dodatkowego aktywnego hamowania.

C) Po blokadzie albo hemisekcji rdzenia aktywność nerwu przeponowego (po stronie przeciwnej do hemisekcji) spadała. W świetle dyskusji z poprzedniego rozdziału należało tego oczekiwać. Hemisekcja pozbawiała bowiem jądro nerwu przeponowego po stronie przeciwnej pobudzeń ze

strony tej części aksonów neuronów przedruchowych, które przekraczają linię pośrodkową na poziomie rdzenia. O dodatkowych hamujących oddziaływaniach w okresie wydechu nie świadczy zatem spadek amplitudy nerwu przeponowego, ale to, że spadek ten był mniejszy niż należało oczekiwać. Gdyby hemisekcja niszczyła wyłącznie szlaki pobudzające, to amplituda winna spaść do poziomu amplitudy salw, które "nie otrzymują" skrzyżowanego pobudzenia, tj. do poziomu salw w przeciwfazie. Tak się jednak nie działo. W wyniku hemisekcji amplituda stabilizowała się na poziomie o kilka procent wyższym (patrz ryc. 4.9). Dowodzi to, że przed hemisekcją salwy w przeciwfazie były hamowane (ew. podlegały dysfacylitacji). Hemisekcja (obok szlaków pobudzających) przerywała również wszystkie inne szlaki w tym szlaki hamujące i w efekcie amplituda malała o mniejszą wartość niż oczekiwano.

Trzy opisane wyżej obserwacje implikują pytanie na jakiej drodze subgenerator "będący" w fazie wydechu może oddziaływać na aktywność strony przeciwnej.

Należy przy tym podkreślić, że w rozpatrywanym modelu oddziaływania te są wybiórczo przekazywane szlakami skrzyżowanymi na poziomie jądra nerwu przeponowego.

Za depresję aktywności nerwu przeponowego w okresie gdy subgenerator po stronie przeciwnej znajduje się w fazie wydechu mogą być odpowiedzialne dwa zjawiska.

- 1) Aktywne hamowanie neuronów jądra nerwu przeponowego za pośrednictwem szlaków skrzyżowanych na poziomie rdzenia kręgowego.

- 2) Dysfacylitacji neuronów jądra nerwu przeponowego w okresie wydechu.

Aktywne hamowanie około 30-tu procent neuronów ruchowych przepony w okresie wydechu u kotów w umiarkowanej hiperkapnii zostało po raz pierwszy pokazane przez *Bergera* [1979]. Używał on technik wewnątrzkomórkowych. W celu pokazania aktywnego charakteru hamowania *Berger* [1979] hiperpolaryzował neurony do potencjału niższego niż potencjał równowagi dla jonów Cl^- . Badania wewnątrzkomórkowe zostały również przeprowadzone przez *Merrilla* i *Fedorko* [1984].

Pośrednich dowodów aktywnego hamowania u kotów dostarczył *Zieliński* i *Gebber* [1975].

Z pewnością hamowanie dotyczy tylko części motoneuronów. *Berger* [1979] oszacował ich liczbę na 32%, *Merrill* i *Fedorko* [1984] na 7 z 49, tj. 14.2%. *Gill* i *Kuno* [1963 a, b], w czasie rejestracji wewnątrzkomórkowych u kotów w normokapnii nie mogli znaleźć ani jednego aktywnie hamowanego neuronu.

Dyskusja nad warunkami wystąpienia aktywnego hamowania motoneuronów przepony pozostaje otwarta. Dane literaturowe są nieliczne³⁰ i dotyczą wyłącznie kotów.

30. Mała liczba prac "in vivo" i brak jednoznacznych danych dotyczące źródeł i charakterystyki aktywnego hamowania motoneuronów przepony wiąże się zapewne z dużymi trudnościami technicznymi przy wewnątrzkomórkowych penetracjach w obrębie jądra nerwu przeponowego. Wykazanie aktywnego charakteru hamowania wymaga dokomórkowego podania jonów Cl^- lub zastosowania prądu hiperpolaryzującego komórkę. Ponadto *Berger* [1979] zwrócił uwagę, że znacznie częściej dokonuje się penetracji komórek dużych niż małych. Utrudnia to interpretację uzyskanych wyników pod kątem własności jądra n.Ph jako całości. Stosowane metody badania aktywnej hiperpolaryzacji nie są w stanie dać jednoznacznej odpowiedzi czy faktycznie jej źródłem są oddziaływania synaptyczne, czy też wynika ona wyłącznie z reakcji neuronu na wcześniejsze pobudzenie. W badaniach "in vitro" pokazano, że po pobudzeniu może wystąpić długotrwała hiperpolaryzacja nawet przy przerwanej transmisji synaptycznej. *Janczewski* [1986] badając wewnątrzkomórkowo (w warunkach "in vitro") neurony należące do kompleksu *Botzingera* pokazał, że czas trwania takiej hiperpolaryzacji może wynosić kilka sekund i być proporcjonalny do siły bodźca. Hiperpolaryzacja o tych własnościach występowała

U królików badania nad aktywnym hamowaniem motoneuronów przepony metodami wewnątrzkomórkowymi nie były prowadzone. Dlatego istotne znaczenie mogą mieć przedstawione dane zebrane metodami pośrednimi.

W piśmiennictwie za jedyne³¹ wśród neuronów opuszki potencjalne źródło opisanego przez *Bergera* -1979 hamowania uważa się neurony kompleksu Bötzingera [*Lipski i Merrill* - 1980, *Merrill i wsp.* 1983, *Kalia i wsp.* 1979].

Fedorko i Merrill [1984] szacują, że neurony wydechowe kompleksu Bötzingera prawie w 100%-tach dają projekcje rdzeniowe, po połowie na stronę ipsi- i kontralateralną, ponad 13% neuronów daje projekcje obustronne. Autorzy nie precyzują, czy podział aksonu następuje na poziomie opuszki, czy w rdzeniu.

Merrill i Fedorko [1984] uważają, że oddziaływanie na neurony ruchowe nerwu przeponowego może mieć charakter monosynaptyczny. Neuroprzekaznikiem tej synapsy jest prawdopodobnie kwas gamma-aminomasłowy (GABA) [*Fedorko i wsp.*- 1987, *Zhan i wsp.*- 1989].

Na podstawie tych danych literaturowych można by przypuszczać, że zjawiska opisane wyżej w pkt A), B), są efektem aktywnego hamowania neuronów ruchowych przepony. Źródłem tego hamowania byłyby (przynajmniej w części) neurony kompleksu Bötzingera.

Przyjęcie powyższego wyjaśnienia jako jedynej przyczyny hamowania opisanego w pkt. C jest mało prawdopodobne. Wynika to z faktu, że

nawet wtedy gdy przerwano transmisję synaptyczną wymieniając w płynie perfuzyjnym jony Ca^{++} na jony Mg^{++} .

31. Druga duża grupa komórek wydechowych opuszki -jądro zadwuznaczne, daje projekcje wyłącznie do neuronów ruchowych mięśni międzyżebrowych [*Merrill* 1974], a więc nie może być źródłem hamowania jądra nerwu przeponowego zarówno na drodze mono- jak i wielosynaptycznej [*Merrill i Fedorko* -1984].

aktywność neuronów kompleksu Bötzingera jest mała na początku wydechu po czym narasta. Natomiast w preparacie rozszczepionego pnia mózgu obserwowano najsilniejsze hamowanie natychmiast po zakończeniu wdechu (pkt C).

Jest co prawda opisana przez Manabe i Enzure [1988] subpopulacja neuronów kompleksu Bötzingera o wczesno-wydechowym typie aktywności, jednak neurony te nie mają projekcji rdzeniowych.

Ponieważ nie można wyjaśnić obserwacji doświadczalnych przy założeniu, że jedynym źródłem hamowania neuronów ruchowych przepony jest kompleks Botzingera trzeba założyć hamowanie ze strony innego typu neuronów.

Atrakcyjnym³² wyjaśnieniem pochodzenia tego hamowania są oddziaływania ze strony tzw. neuronów powdechowych. Jak dotąd przyjmuje się, że interneurony tego typu hamują wyłącznie neurony opuszkowe, nie ma jednak podstaw, by wykluczyć, że niektóre z nich dają projekcje rdzeniowe. Czas w którym neurony powdechowe są aktywne i charakter tej aktywności ściśle odpowiada okresowi maksymalnego hamowania opisanego w punkcie C. Na możliwość udziału neuronów powdechowych w hamowaniu jądra nerwu przeponowego wskazują również dwie inne obserwacje.

- 1) Duża liczba połączeń dendrytycznych (*Rikard-Bell i Bystrzycka -1980, Ellenberger i wsp. -1990, Janczewski i wsp. -1992*) sprawia, że w ramach grupy neuronów tworzących jedną gałązkę, neurony wzajemnie pobudzają się i jest mało prawdopodobne, by mogły ulec jednoczesnej hiperpolaryzacji jedynie na skutek zaniku opuszkowych wpływów pobudzających.

32. Z punktu widzenia teorii generacji rytmu zaproponowanej przez Richter (patrz Richter -1982 i rozdział 1.3).

- 2) Tuż po osiągnięciu przez nerw przeponowy maksymalnej aktywności często obserwuje się trwający od ok. 5 do 27 ms całkowity zanik aktywności tego nerwu (por. ryc. 1C Richter -1982) po czym rozpoczyna się tzw. aktywność powdechowa.

Mając na względzie pkt 1) działanie krótkiego "impulsu hamującego" bezpośrednio na motoneurony lepiej wyjaśnia efekt opisany w pkt 2) niż założenie, że jest on wyłącznie wynikiem zahamowania aktywności neuronów przedruchowych.

Mniej prawdopodobną, ale również możliwą przyczyną opisanych zmian amplitudy nerwu przeponowego może być zjawisko dysfacylitacji³³. Założenie, że za zjawisko chwilowego zaniku aktywności nerwu przeponowego, które występuje tuż po wdechu po stronie przeciwnej odpowiedzialne są procesy dysfacylitacji prowadzi do nowej koncepcji oddziaływań na jądro nerwu przeponowego.

Koncepcja ta zakłada, że do aktywacji jądra nerwu przeponowego nie wystarczy pobudzenie ze strony neuronów przedruchowych, ale konieczne jest również pobudzenie ze strony neuronów tworzącego siatkowatego³⁴.

Tuż po zakończeniu wdechu w tzw. I-fazie wydechu aktywne są neurony powdechowe [Richter i wsp. -1987]. Neurony te hamują praktycznie wszystkie populacje neuronów oddechowych i neuronów tworzącego siatkowatego rdzenia przedłużonego. Możliwe, że właśnie to hamowanie neuronów tworzącego siatkowatego na drodze dysfacylitacji wywołuje zahamowanie aktywności nerwu przeponowego pokazane na rycinie 5.2.

33. O dysfacylitacji mówimy, gdy proces hamowania jest zjawiskiem wtórnym. Oznacza to, że hamowaniu nie jest poddany bezpośrednio badany neuron, ale inny neuron który go zwykle pobudza. Dobrym przykładem dysfacylitacji jest spadek aktywności współczulnych neuronów przedwojowych na skutek hamowania pobudzających je neuronów tzw. grupy C1 (więcej na ten temat patrz Traczyk i Trzebski tom I, -1989, str. 361-363).

34. O tym, że neurony tworzącego siatkowatego faktycznie "dają" monosynaptyczne projekcje do jądra nerwu przeponowego przekonuje praca Onai i Miura [1986]. Pokazali oni, że 11.6% wszystkich neuronów dających projekcje do tego jądra stanowią neurony tworzącego siatkowatego.

5.6 Integracja na neuronach ruchowych przepony wpływów pobudzających i hamujących ze strony neuronów opuszkowych - propozycja modelu.

Wobec faktów przedstawionych w dwu poprzednich rozdziałach można zaproponować model oddziaływań synaptycznych na neurony ruchowe przepony ze strony pobudzających i hamujących szlaków opuszkowo-rdzeniowych.

Model zakłada, że wypadkowa aktywność neuronu ruchowego zależy od czterech elementów.

- P_I , tj. pobudzenia ipsilateralnego. Źródłem tego pobudzenia są:
a) oddechowe neurony przedruchowe, które znajdują się w rdzeniu przedłużonym i których aksony nie krzyżują się na poziomie rdzenia;
b) neurony tworzącego siatkowatego o nieskrzyżowanych aksonach.
- P_S , tj. pobudzenia skrzyżowanego. Jego źródłem są: a) aksony (lub ich kolaterale) neuronów przedruchowych, które przekraczają linię pośrodkową rdzenia szyjnego; b) skrzyżowane na poziomie rdzenia aksony komórek tworzącego siatkowatego.
- H_I , tj. hamowania ipsilateralnego, którego źródłem są neurony opuszkowo-rdzeniowe o nieskrzyżowanych aksonach;
- H_S , tj. hamowania skrzyżowanego, którego źródłem są aksony lub ich kolaterale skrzyżowane w odcinku szyjnym rdzenia.

Model zakłada dalej, że wartości tych czterech elementów oddzielnie są z oddechu na oddech stałe, tzn. nie zależą od związków fazowych pomiędzy stronami. Od związków fazowych zależy natomiast sposób sumowania się tych elementów.

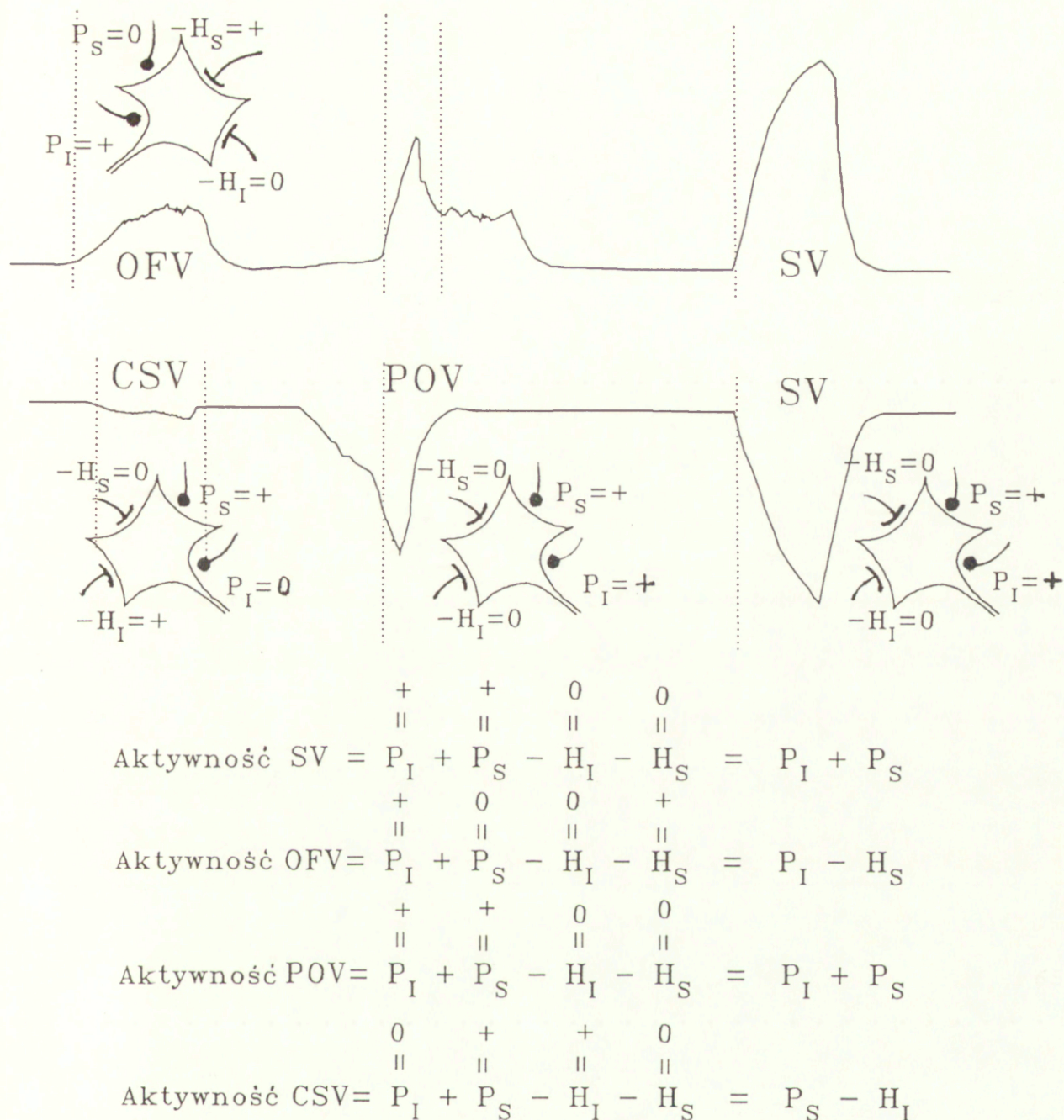
O przydatności zaproponowanego modelu świadczy fakt, że tłumaczy on zjawiska obserwowane w preparacie rozszczepionego pnia mózgu. Model wyjaśnia: fluktuacje amplitudy, występowanie salw skrzyżowanych, zanik fluktuacji amplitudy po hemisekcji na poziomie C1–C2 lub mielotomii w linii środkowej rdzenia.

Amplituda salw synchronicznych jest największa (patrz ryc. 5.3, 5.4), gdyż neurony ruchowe są pobudzane zarówno przez składową P_I jak i P_S , podczas gdy obie składowe hamujące są równe 0.

Podczas salw w przeciwfazie neurony po stronie będącej w fazie wdechu otrzymują pobudzenie ipsilateralne- P_I , ale nie dostają pobudzenia skrzyżowanego- P_S , są wolne od hamowania ipsilateralnego- H_I , ale oddziałuje na nie hamowanie ze strony kontralateralnej- H_S . W efekcie amplituda jest mała.

Dla salw częściowo nakładających się, które rozpoczynają się w czasie gdy po stronie przeciwnej trwa wdech, a kończą gdy po stronie przeciwnej trwa wydech można wyróżnić dwa okresy. Pierwszy okres trwa od momentu rozpoczęcia się salwy do momentu gdy po stronie przeciwnej skończy się wdech. W tym okresie motoneurony pobudzane są jednocześnie przez składowe P_I i P_S oraz nie są hamowane ponieważ $H_I = 0$ oraz $H_S = 0$. Drugi okres zaczyna się z chwilą rozpoczęcia się wydechu po stronie przeciwnej. Wtedy zanika składowa pobudzająca P_S i pojawia się składowa hamująca H_S . W efekcie amplituda nerwu przeponowego gwałtownie maleje.

Dla salw częściowo nakładających się które rozpoczynają się w okresie wydechu też wyraźnie widoczne są dwie fazy. W czasie trwania pierwszej z nich, w której strona przeciwna jest jeszcze w okresie wydechu aktywność nerwu przeponowego uwarunkowana jest ipsilateralnym pobudzeniem P_I



Rys. 5.3. Model oddziaływań synaptycznych na neurony ruchowe przepony wyjaśniający fluktuacje amplitudy.

Rycina przedstawia cztery typy salw aktywności nerwu przeponowego występujące w preparacie rozszczepionego pnia mózgu. Obok salw schematycznie zaznaczono neuron z dwiema synapsami pobudzającymi (P_I , P_S) i dwiema hamującymi ($-H_I$, $-H_S$).

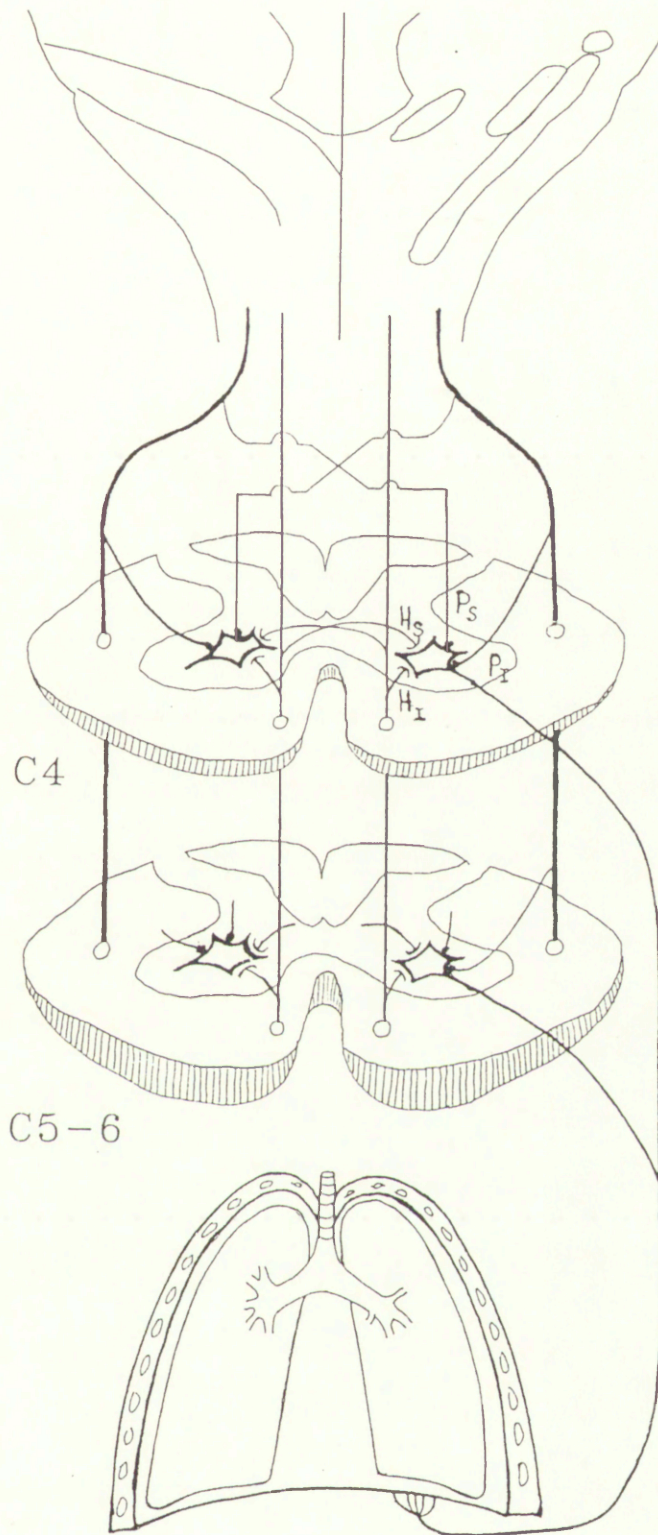
Oznaczenia:

SV- salwa synchroniczna, POV- salwa częściowo nakładająca się.

OFV- salwa w przeciwfazie, CSV - salwa skrzyżowana.

P_I , P_S - synapsy pobudzające tworzone przez opuszkowo-rdzeniowe wdychowe włókna odpowiednio, ipsilateralne i skrzyżowane na poziomie rdzenia szyjnego.

$-H_I$, $-H_S$ - synapsy hamujące opuszkowo-rdzeniowych oddechowych włókien odpowiednio, ipsilateralnych i skrzyżowanych.



Rys. 5.4. Schemat neuronów motorycznych przepony na poziomie C4, C5-6 z zaznaczonymi synapsami, których aktywacja prowadzi do zjawiska fluktuacji amplitudy.

Na przedstawionym schemacie aktywność neuronu ruchowego jest wypadkową wpływów pobudzających – ipsilateralnych i skrzyżowanych (P_I , P_S) oraz wpływów hamujących – ipsilateralnych i skrzyżowanych ($-H_I$, $-H_S$). Cały schemat z poziomu C4 powtarza się na poziomie C5-6. Dlatego mielotomia w linii pośrodkowej segmentu C4 selektywnie eliminuje fluktuacje amplitudy w gałęzi C4 przy zachowanych fluktuacjach w gałęzi C5-6.

Sumowanie się poszczególnych składowych (pobudzających i hamujących) w czasie różnego typu salw szczegółowo wyjaśnia rysunek poprzedni.

i skrzyżowanym hamowaniem H_{ξ} (składowe P_{ξ} i H_{\perp} są równe zero).

W chwili rozpoczęcia się wdechu, po stronie przeciwnej hamowanie skrzyżowane spada do zera, a dodatkowo neurony zaczynają być pobudzane przez P_s . W efekcie amplituda gwałtownie rośnie (szczegółowo wyjaśnia to ryc 5.3).

Z modelu wynika, że mielotomia w linii środkowej rdzenia eliminuje skrzyżowane pobudzenie (P_s) i hamowanie (H_s). W efekcie jądro nerwu przeponowego pobudzane jest wyłącznie przez składnik P_{\perp} . Jak podano wcześniej P_{\perp} jest to pobudzenie ze strony puli neuronów przedruchowych i neuronów tworzącego siatkowatego o aksonach, które nie krzyżują się na poziomie rdzenia szyjnego. Zgodnie z modelem wartość P_{\perp} jest z oddechu na oddech stała, więc po mielotomii wartość amplitudy nerwu przeponowego winna być stała.

Mielotomia rdzenia szyjnego dała dokładnie taki rezultat. Potwierdza to poprawność modelu.

Celem eksperymentów opisanych w rozdziale 4.5 i 4.6 nie było tylko stwierdzenie, że dochodzi do skrzyżowania włókien, ale również ustalenie poziomu tego skrzyżowania. Przewidywano, że następuje ono na poziomie jądra nerwu przeponowego. Jednak lokalizacja tego jądra u królika na podstawie danych literaturowych okazała się trudna.

U człowieka nerw przeponowy wyodrębnia się z czwartego nerwu rdzeniowego z gałęziami dodatkowymi C3, C5, u kota autorzy są zgodni, że jądro znajduje się w segmentach C4, C5, C6 [Webber i wsp.-1979], a nerw utworzony jest z gałęzi piątego, czwartego i szóstego nerwu rdzeniowego.

U królika, w oparciu o pracę Rikard-Bell i Bystrzyckiej [1980] wykonaną metodą znakowania peroksydazą chrzanową, można by sądzić, że

jądro nerwu przeponowego znajduje się w segmencie C3–C5 oraz, że gałęzie tworzące nerw pochodzą z C3, C4, C5. Inne wyniki otrzymał jednak Ullach [1978]. Używając metody degeneracji wstecznej zlokalizował on jądro nerwu przeponowego u królika na tym samym poziomie co u kota.

W nowszej pracy [Janczewski i wsp. –1992] analizując przebieg nerwu przeponowego u 12 królików stwierdzono, że główną gałęzią jest C5, a dodatkowymi C4, C6. Wsteczny transport HRP podanej na cały nerw prowadził do wybarwienia neuronów w segmentach C4, C5, i dogłowej 1/3 segmentu C6. Wyniki te były identyczne z rezultatami Ullacha [1978].

Stwierdzono, że zarówno u kota jak i królika zanik fluktuacji amplitudy następował po mielotomii w linii pośrodkowej segmentów C4, C5, C6 [Janczewski i Karczewski 1984, Janczewski 1987b, Eldridge i Paydarfar 1989, Janczewski i Karczewski 1990]. Potwierdziło to zarówno słuszność przyjętego modelu, jak i wyników własnych i Ullacha [1978].

Doświadczenia z mielotomią u królika dostarczyły ponadto dowodów, że neurony ruchowe, których aksony tworzą gałąź C4 nie są przemieszane z neuronami ruchowymi gałęzi C5 i C6. Wniosek ten można wyciągnąć na bazie obserwacji, że w preparacie rozszczepionego pnia mózgu dodatkowe cięcie w linii pośrodkowej segmentu C4 eliminuje fluktuacje aktywności gałęzi C4, podczas gdy pozostają one obecne w aktywności gałęzi C5/6. Gdyby motoneurony tych dwu gałęzi były przemieszane to nie można by selektywnie przeciąć połączeń skrzyżowanych prowadzących wyłącznie do motoneuronów tworzących gałąź C4.

Ponadto wiadomo (Rikard–Bell i Bystrzycka –1980, Ellenberger i wsp. –1990, Janczewski i wsp. –1992), że motoneurony leżące blisko siebie są powiązane siecią połączeń dendrytycznych i z tego powodu muszą mieć podobny wzorzec aktywności. Skoro w opisanych wyżej eksperymentach uzyskano

zróżnicowaną aktywność poszczególnych gałęzi to znaczy, że tworzące je motoneurony są przestrzennie rozdzielone.

Powyższy wniosek wyciągnięty na podstawie badań preparatu rozszczepionego pnia mózgu znalazł ostatnio potwierdzenie w pracy wykonanej metodami histochemicznymi. *Janczewski i wsp.* [1992] wykazali, że neurony ruchowe gałęzi C4 znajdują się wyłącznie w segmencie C4, a gałęzi C5 w segmencie C5. Zakres pokrywania się tych puli neuronalnych w wymiarze rostralno-kaudalnym był mniejszy niż 0.5 mm.

5.7 Fluktuacje czasu trwania wdechu i wydechu - hipoteza o wpływie informacji zwrotnej o aktywności motoneuronów przepony na częstość rytmu oddechowego.

W rozdziale 4.7 pokazano, że po rozszczepieniu pnia mózgu subgeneratory nie pracowały tak stabilnie jak w warunkach kontrolnych. Po cięciach kilkakrotnie wzrosła wartość odchylenia standardowego średniej długości wydechu. Dowodzi to, że zmniejszenie liczby elementów sieci destabilizuje jej pracę. Taka interpretacja pozostaje w zgodzie z obserwacją *Feldmana* [1987], że progresywnie ze wzrostem liczby zniszczonych przy pomocy mikrolezji komórek w obrębie GDO i BGO coraz większym fluktuacjom ulega długość cyklu oddechowego.

Najnowsze dane wskazują, że rytm oddychania generowany jest przez komórki rozrusznikowe [*Smith i wsp.* -1991]. Fluktuacje rytmu oddechowego po rozszczepieniu pnia mózgu wskazują, że komórki rozrusznikowe nie są w

stanie generować rytmu o precyzyjnie ustalonej częstotliwości i musi on być stabilizowany poprzez sieć oddechową.

Bardziej zaskakującą obserwacją, niż pojawienie się fluktuacji rytmu było stwierdzenie faktu, że w preparacie rozszczepionego pnia mózgu zmiany długości faz oddechowych – T_E i T_I nie były przypadkowe. Były one uzależnione od "wydarzeń" oddechowych po stronie przeciwnej. Czas wydechu – T_E wydłużał się, gdy w trakcie jego trwania po stronie przeciwnej pojawiała się salwa wdechowa [Janczewski – 1986, –1987b, Janczewski i Karczewski – 1990]. Fluktuacje czasu wdechu – T_I występowały u mniejszej liczby zwierząt niż fluktuacje T_E . Uwidaczniały się one w postaci przedłużania się salw częściowo nakładających się w stosunku do pozostałych typów salw. Czasami salwy wdechowe ulegały tak znacznemu wydłużeniu, że pokrywały dwie kolejne salwy strony przeciwnej.

Przy próbie wyjaśnienia powstawania fluktuacji T_E i T_I można założyć, że po rozszczepieniu pnia mózgu mamy do czynienia z dwoma oscylatorami o zbliżonej częstotliwości, których okres drgań ulega wahaniom. Poprzez analogię do mechanicznych układów drgających można przyjąć, że w takiej sytuacji nawet "słabe" oddziaływania pomiędzy oscylatorami mogą powodować wzajemne modyfikacje rytmu.

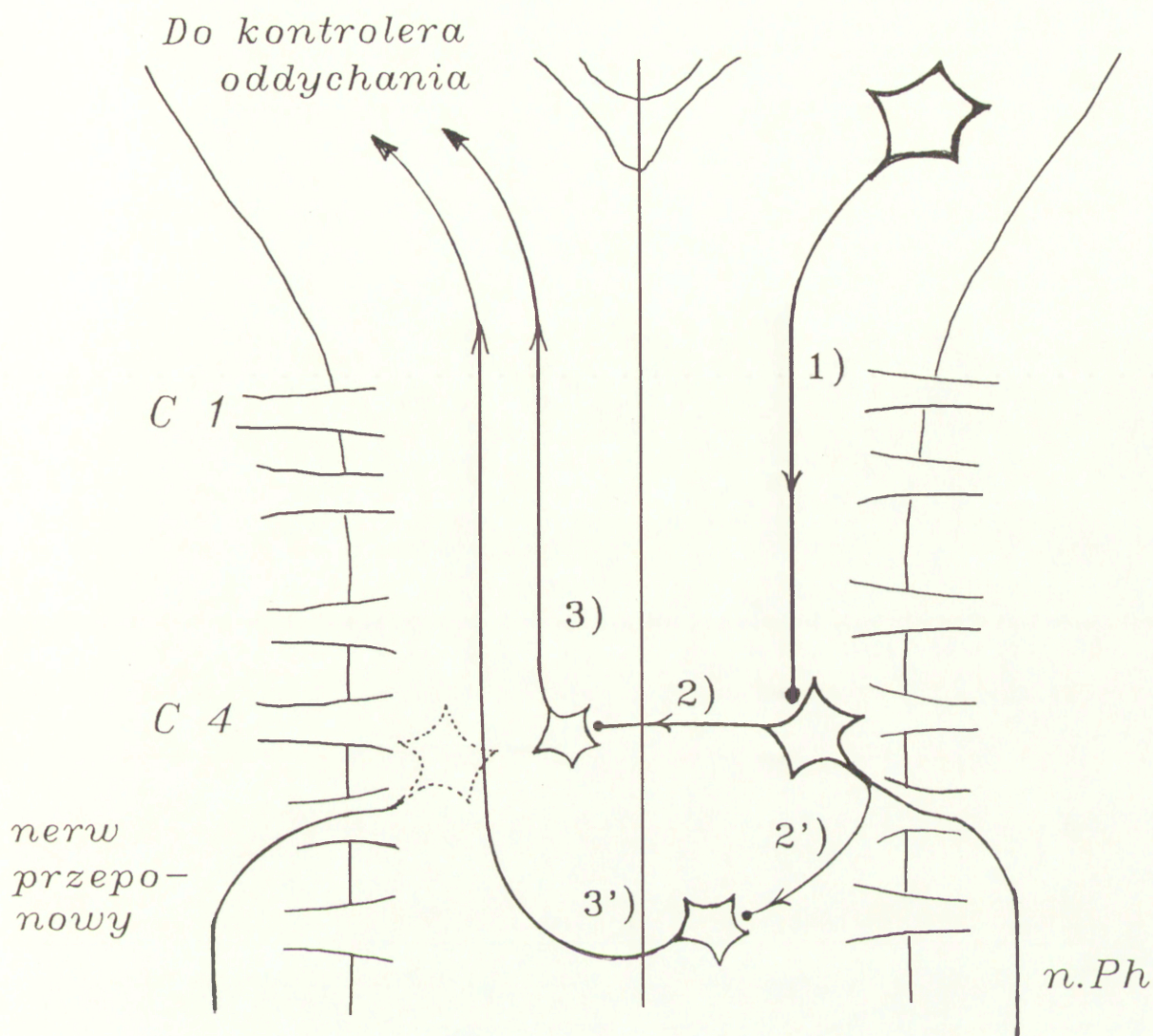
Ponieważ rytm oddechowy generowany jest w pniu mózgu, a lewa i prawa część pnia mózgu jest w preparacie rozszczepionego pnia mózgu chirurgicznie rozdzielona, jedyne miejsce, gdzie mogą odbywać się oddziaływania pomiędzy stronami, stanowi odcinek szyjny rdzenia kręgowego.

Aby wyjaśnić, jak jedna połowa "dowiaduje się" o rytmie drugiej, trzeba założyć istnienie skrzyżowanej drogi wstępującej z poziomu jądra nerwu przeponowego do opuszkowego subkontrolera oddychania po stronie przeciwnej. Postulowany przebieg takiej drogi pokazuje ryc. 5.5.

W wariacie A długie dendryty motoneuronów nerwu przeponowego przekraczają linię pośrodkową i pobudzają interneurony, których aksony wstępują do opuszki. Istnienie takich długich skrzyżowanych dendrytów wykazał [Cameron i wsp. -1983]. W wariacie B interneurony znajdują się po tej samej stronie rdzenia co motoneurony i otrzymują pobudzenia za pośrednictwem kolaterali aksonów (ew. dendrytów) motoneuronów. Interneurony (patrz ryc 5.5) dają skrzyżowane wstępujące aksony.

Za istnieniem postulowanej drogi przemawia fakt, że skorelowane fluktuacje rytmu nie były wynikiem rytmicznej aferencji ani z mechanoreceptorów płuc, ani mięśni międzyżebrowych. Sprawdzono, że efekt ten utrzymywał się u zwiotczonych zwierząt po wyłączeniu pompy, po obustronnej wagozomii i transekcji rdzenia na poziomie C7.

Bezpośrednim dowodem na sprzężenie zwrotne między neuronami oddechowymi rdzenia a opuszką było znalezienie w opuszce neuronów oddechowych modulowanych zgodnie z aktywnością strony przeciwnej (patrz rozdział 4.7). Bez desynchronizacji wykrycie informacji zwrotnej, nie będącej efektem pobudzenia receptorów, przekazywanej do znajdującego się w pniu mózgu generatora oddychania jest niemożliwe, ponieważ nie można rozróżnić, czy pobudzenie "idzie" bezpośrednio z generatora, czy też za pośrednictwem pętli rdzeniowej. Natomiast w preparacie rozszczepionego pnia mózgu, aby udowodnić istnienie pętli rdzeniowej łączącej dwie połowy pnia, wobec rozseparowania struktur ponadrdzeniowych wystarczy pokazać, że w jednej połowie neurony są modulowane w rytmie drugiej połowy. Neurony takie znaleziono w BGO na poziomie 0.5 mm i 0.9 mm powyżej zasuwki. W piśmiennictwie nie opisano dotychczas ani takich sprzężeń zwrotnych, ani możliwej lokalizacji w rdzeniu szlaków za nie odpowiedzialnych.



Rys. 5.5. Schemat połączeń neuronalnych odpowiedzialnych za skorelowane fluktuacje czasu T_E i T_I po rozszczepieniu pnia mózgu. Zależność długości fazy wdechowej i wydechowej od aktywności strony przeciwnej sugeruje istnienie połączeń skrzyżowanych pomiędzy stronami. Skorelowane z rytmem strony przeciwnej fluktuacje czasu trwania faz oddechowych nie zanikają po przedłużeniu cięcia opuszki poprzez most i śródmózgowie. Eliminuje je dopiero dodatkowe cięcie w linii pośrodkowej rdzenia szyjnego. Wskazuje to na istnienie pętli łączącej obie strony której zamknięcie znajduje się na poziomie rdzenia. Schemat prezentuje dwa warianty takiej hipotetycznej pętli. Elementami pierwszej są: 1) szlak opuszkowo-rdzeniowy (oznaczony 1), 2) długi skrzyżowany dendryt, 3) interneuron z aksonem wstępującym do opuszki. Elementami drugiej są: 1) szlak opuszkowo-rdzeniowy (oznaczony 1), 2') kolaterala n.Ph (ew. dendryt), 3') interneuron z aksonem wstępującym do opuszki skrzyżowanym na poziomie rdzenia.

Można przypuszczać, że tak jak niektóre inne wstępujące szlaki rdzeniowo-opuszkowe [Rossi i Brodal - 1956, Pomeranz, 1973] biegną one w brzuszno-bocznym powrózku rdzenia.

Speck [1988] oraz Gauthier i Monteau [1986] wykazali, że stymulacja elektryczna wyłącznie tego powrózka prowadzi do przedwczesnego wywołania wdechu. Speck [1988] podkreśla, że efekt ten nie jest rezultatem antydromowego pobudzenia komórek BGO lub GGO.

Koncepcja istnienia sprzężenia zwrotnego, gdzie źródłem sygnału zwrotnego jest aktywność neuronów ruchowych, a nie sygnał z receptorów zlokalizowanych w efektorze, jest nowa dla układu oddechowego. Co więcej, w odróżnieniu od innych mięśni szkieletowych nawet informacji zwrotnej z receptorów mięśni oddechowych przypisuje się drugorzędne znaczenie w sterowaniu ich aktywnością [Duron i wsp.- 1975, Folgering i wsp.- 1976]. Za priorytetowe źródło informacji zwrotnej dla integratora aktywności mięśni oddechowych uważa się wentylacyjny efekt aktywacji mięśni wyrażony: a) poziomem PaCO_2 i PaO_2 we krwi tętniczej; b) ciśnieniem w drogach oddechowych i stopniem rozciągnięcia płuc.

Tylko pozornie transmisja informacji z neuronów ruchowych z powrotem do ośrodków generujących jest funkcjonalnie bezzasadna. O jej potencjalnej celowości przekonuje obserwacja, że aktywność puli neuronów ruchowych nie jest repliką pobudzenia ze strony neuronów przedruchowych [Berger, 1979]. Ma to kilka przyczyn.

A) Neurony różnią się wielkością i własnościami błonowymi i dlatego są pobudzane [por. Henneman i wsp., 1965] w określonej sekwencji. Nie można też wykluczyć, że jądro n.Ph zawiera podgrupy neuronów pobudzanych wg. różnych wzorców [Berger -1977, Hilaire i wsp. - 1983 a,b,c]. Ponadto, dalsze przetwarzanie pobudzeń z opuszki odbywa się na poziomie jądra nerwu przeponowego poprzez system

odgałęzień aksonów neuronów ruchowych przepony [Webber i Pleschka 1976, Goshgarian i Rofols 1984, Lipski i wsp. 1985]. Neurony te oddziałują na siebie zarówno pobudzająco [Khatib i wsp., 1986, 1989], jak i hamująco [Hilaire i wsp.- 1983a, -1986, Lipski i wsp. 1985] za pośrednictwem komórek Renshawa [Renshaw, 1941].

- B) Informacja zwrotna o napięciu mięśni przepony pochodząca z jej wrzescion mięśniowych wobec znikomej liczby tych wrzescion [Duron i wsp.- 1975, -1978, Duron - 1981, Folgering i wsp.- 1976] ma małe znaczenie funkcjonalne.
- C) W czasie dowolnej regulacji oddychania, ośrodki korowe mogą bezpośrednio, tj. z pominięciem oddechowych ośrodków pnia mózgu [Colle i Massion - 1958, Planche - 1972, Bassal i Bianchi - 1981, Rikard-Bell i wsp.- 1985b, -1986, Lipski i wsp.- 1986, Gandevia i Rothwell - 1987, por. też Aminoff i Sears - 1971] oddziaływać na neurony ruchowe przepony.

W sytuacji gdy aktywność puli neuronów ruchowych może różnić się od aktywności opuszkowych neuronów przedruchowych, informacja zwrotna z poziomu jądra nerwu przeponowego do ośrodków pnia mózgu może mieć duże znaczenie funkcjonalne. Na możliwą rolę informacji zwrotnej, nie będącej efektem aktywacji receptorów, wskazują wyniki badań podobnego [Grillner - 1977, -1979, Feldman i Grillner - 1983] do układu oddechowego, układu lokomocyjnego. Badania Viali i Vidal [1978] na rdzeniowych, zwiotczonych kotach wskazują, że tego rodzaju informacja zwrotna wspomaga synchronizowanie się dwu generatorów ruchów lokomocyjnych: jednego na poziomie lędźwiowo-krzyżowym, a drugiego w odcinku szyjno-piersiowym. Sprzęganie się rytmów pokazano także dla generatora ruchów lokomocyjnych i oddechowych [Viala i wsp., 1979].

Długie pętle sprzężenia zwrotnego nie muszą ograniczać się do poziomu rdzenia. Arshavsky i wsp. [1988] i Orsal i wsp. [1988] zaobserwowali

modulację aktywności neuronów jądra czerwienego w rytmie aktywności zlokalizowanego w rdzeniu lędźwiowym generatora ruchów kończyny tylnej. Wobec zwiotczenia preparatu (tzw. fictive locomotion) modulacja ta musiała dotrzeć do poziomu śródmózgowia szlakami wstępującymi. Z kolei neurony jądra czerwienego wysyłają zstępujące aksony do kontralateralnego rdzenia lędźwiowego modulując napięcie zginaczy kończyn [Orlovsky - 1972].

5.8 Asymetria odpowiedzi na jednostronny bodziec wagalny jako dowód funkcjonalnego rozdzielania struktur przetwarzających informacje aferentna i kształtujących amplitudę nerwów oddechowych po lewej i prawej stronie ciała.

W rozdziale 4.1 wykazano, że ośrodki generujące i integrujące wzorzec oddechowy są podwojone. W związku z tym w rozdziale 4.9 testowano hipotezę, że każda z dwu struktur nawet w warunkach fizjologicznych może częściowo niezależnie sterować amplitudą nerwów oddechowych po jednej stronie ciała. Wykazano, że w efekcie jednostronnego pobudzenia aferentów z PSR³⁵ uzyskano większy spadek szybkości narastania aktywności i w konsekwencji większy spadek amplitudy nerwów oddechowych po stronie kontralateralnej do bodźca. Stopień asymetrii wzrastał przy obniżaniu napędu oddechowego, tj. obniżeniu PaCO₂ i pogłębianiu narkozy. Asymetria była słabo widoczna w aktywności nerwu przeponowego, natomiast dobrze w aktywności nerwów czaszkowych.

35. Wolno adaptujące się mechanoreceptory płuc (ang. slowly adapting pulmonary stretch receptors).

W każdych warunkach stopień asymetrii był większy u królików niż u kotów.

Różnic w amplitudzie stron nie da się wyjaśnić w oparciu o klasyczną teorię Breuera [1868] i Heringa [1868] rozszerzoną i matematycznie sformalizowaną przez Clarka i von Eulera [1972] oraz Bradleya i wsp. [1975].

Teoria ta zakłada, że pobudzenie PSR obniża ośrodkowy próg przełączania faz, ale do momentu osiągnięcia progu nie wpływa na aktywność nerwów oddechowych. W konsekwencji aferentacja z PSR nie wpływa na szybkość narastania aktywności wdechowej, a jej amplituda regulowana jest tylko przez skracanie lub wydłużanie czasu wdechu.

Uzyskana asymetria amplitud zaprzecza prawdziwości tej teorii gdyż przy jednoczesnym rozpoczęciu i zakończeniu wdechu po obu stronach ciała różnice amplitud nie powinny wystąpić.

Inne dane doświadczalne, wskazujące na konieczność modyfikacji modelu Bradleya i wsp. [1975] uzyskali Younes i wsp. [1978], Kubin i Lipski [1979], Baker i Remmers 1980 a,b, Kuno [1986]. Obserwacje te ugruntowały pogląd, że nerwy błędne mogą hamować aktywność nerwów oddechowych w sposób stopniowy ("graded inhibition" –Younes i wsp.– 1978), który nie musi prowadzić bezpośrednio do przełączania faz.

Asymetrię amplitud można wyjaśnić w oparciu o zjawisko stopniowego hamowania, zakładając, że po stronie ipsilateralnej jest ono mniejsze niż po stronie kontralateralnej.

Wyższy stopień asymetrii dla nerwów czaszkowych wskazuje, że stopniowe hamowanie jest dla tej grupy nerwów silniejsze [por. Kuno 1986]. Koresponduje to z obserwacjami van Lunterena i wsp. [1984], że wpływ nerwów błędnych na aktywność nerwów czaszkowych jest zawsze większy niż na aktywność nerwu przeponowego. Niski stopień asymetrii dla n.Ph

pozostaje w zgodzie z obserwacją o sumowaniu się pobudzenia z obu stron na poziomie rdzenia kręgowego. Integracja ta zaciera różnice w aktywności każdej ze stron z osobna. W świetle wyników wskazujących na większą ilość opuszkowych i rdzeniowych połączeń skrzyżowanych u kota niż u królika zrozumiąły jest większy stopień symetrii u kota.

W piśmiennictwie dotyczącym badań na zwierzętach brak innych doniesień o obustronnych różnicach zbiorczej aktywności oddechowej w odpowiedzi na bodziec. Nie musi to oznaczać braku takich asymetrii, lecz wynika raczej z nie podejmowania ukierunkowanych na jej wykrycie badań. Zwykle milcząco przyjmuje się, że odpowiedź będzie symetryczna.

Jedyną próbę ilościowego porównania symetrii odpowiedzi całego nerwu na jednostronny bodziec podjęli u psów Cross, Guz i Jones [1981]. Zastosowali oni niezależną wentylację obu płuc za pomocą dwu respiratorów. Stwierdzili, że ośrodkowa integracja aktywności wagalnej z lewego i prawego płuca nie jest prostym sumowaniem algebraicznym, lecz wskazuje na przetwarzanie informacji aferentnej przez dwa sprzężone integratory wzorca oddechowego.

Podobne efekty uzyskał u królików Karczewski i wsp. [1980a] stosując równoczesną elektryczną stymulację lewego i prawego n. błędnego prądami o różnych parametrach. Cross i wsp. [1981] nie wykryli asymetrii w odpowiedzi nerwów przeponowych u psów. W świetle wyników rozdz. 4.9 można to wyjaśnić zbyt dużym napędem chemicznym i za małym stopniem asymetrii bodźców wagalnych w użytym modelu doświadczalnym.

Bogatsza jest literatura dotycząca asymetrii wielokrotnie uśrednianej odpowiedzi nerwów oddechowych na pojedynczy bodziec. Stymulując nerw błędny Bruce i wsp. [1982] stwierdzili, że pobudzenie aferentów PSR wywołuje krótkolatencyjne (3–5 ms) pobudzenie n.Ph głównie po stronie

przeciwnej do stymulacji, po czym następuje obustronne wyhamowanie aktywności wdechowej trwające do 15–20 ms. Hamowanie, zdaniem autorów, nie jest konsekwencją uprzedniego pobudzenia, gdyż czasami przy użyciu prądu tylko nieco większego od progowego [Bruce i wsp.1982] następowało tylko obustronne hamowanie. Zdaniem autorów w/w publikacji hamowanie było obustronnie równe, jednak (moim zdaniem) analiza rysunków 1a, 2a, 5b, 6 a,b z ich pracy wskazuje, że było ono większe po stronie kontralateralnej. Berger i Mitchell [1976] po stymulacji gałęzi gardłowych nerwu językowo-gardłowego lub nerwu krtaniowego górnego obserwowali krótkolatencyjne pobudzenie na uśrednionej aktywności n.Ph, głównie po stronie przeciwnej do stymulacji. Po pobudzeniu następowało hamowanie. Na podstawie odpowiedzi na pojedynczy bodziec trudno wnioskować o wypadkowych zmianach aktywności w odpowiedzi na tężcową stymulację elektryczną lub bodziec fizjologiczny.

Taką odpowiedzią na stymulację o częstości 60 Hz nerwu błędnego lub krtaniowego górnego jest obustronne hamowanie n.Ph. Można się spodziewać, że u ludzi asymetrie w odpowiedzi na jednostronny bodziec mogą być większe niż u zwierząt. Sasaki i Buckwalter [1984] donoszą, że jednostronne pobudzenie nerwu krtaniowego górnego u ludzi wywołuje toniczne (skurcz krtani) pobudzenie włókien do mięśni przywodzących krtani wyłącznie po stronie bodźca.

Koncepcja asymetrycznej odpowiedzi na jednostronny bodziec nie jest sprzeczna z klasyczną nauką o odruchach. Sherrington [1947] zauważył, że u kotów, psów i królików jednostronne pobudzenie skóry pyska wywołuje silniejsze wyprostowanie wąsów po stronie bodźca. Podobnie odruchowe "cofnięcie brzucha" jest większe po tej stronie, po której pobudzamy skórę klatki piersiowej. Jednostronny bodziec może wywołać przeciwstawne

reakcje po obu stronach ciała. Na przykład w odpowiedzi na jednostronny bodziec nocyceptywny może nastąpić zgięcie podrażnionej kończyny dolnej przy jednoczesnym wyproście kończyny przeciwnej. Jeżeli podrażnimy jednocześnie obie kończyny, to ten tzw. skrzyżowany odruch prostowania nie wystąpi i obie kończyny zegną się.

Możliwość wystąpienia różnic w aktywności nerwów oddechowych po lewej i prawej stronie ciała pozostaje w zgodzie i potwierdza koncepcję istnienia dwu sprzężonych generatorów wzorca oddechowego. Gdyby bodźce z obu stron ciała przetwarzane były przez tę samą sieć, to odpowiedzi musiałyby być zawsze jednakowe, lub zawsze różnić się w taki sam sposób.

Istnieje konieczność przebadania odpowiedzi par różnych nerwów oddechowych na inne (niż stymulacja PSR) bodźce oddechowe. Na przykład wyniki Zapaty (*informacja ustna - 1989*) wskazują, że odpowiedź na stymulację kłębków szyjnych jest ilościowo różna dla takiego samego bodźca podanego po stronie lewej i prawej.

6. WNIOSKI

1. Pień mózgu zawiera dwa symetrycznie położone generatory i dwa symetryczne integratory wzorca oddechowego. Struktury te są sprzężone systemem połączeń skrzyżowanych, które synchronizują, wzmacniają i zwiększają niezawodność pracy każdej połowy.
2. Wszystkie elementy neuronalne oddechowych łuków odruchowych z płuc i krtani są podwójne i zawarte w całości w każdej z połówek pnia mózgu. Dowodzi tego występowanie tych odruchów w niezmięnionej formie po rozszczepieniu pnia mózgu.
3. Procesy integracyjne na poziomie rdzenia kręgowego (w znacznie większym niż dotychczas zakładano stopniu) wpływają na wzorzec oddychania.
 - a) Część zstępujących szlaków oddechowych krzyżuje się na poziomie rdzenia i w czasie wdechu pobudza jądro nerwu przeponowego po stronie przeciwnej, a w czasie wydechu je hamuje. Skrzyżowanie włókien następuje na poziomie jądra nerwu przeponowego.
 - b) Generator wzorca oddechowego otrzymuje informację zwrotną z poziomu jąder nerwu przeponowego. Sygnał zwrotny może modyfikować rytm oddychania.
4. Między kotem a królikiem nie ma różnic jakościowych w procesach generacji i integracji rytmu oddechowego. Występują natomiast bardzo istotne różnice ilościowe. Liczba i znaczenie funkcjonalne połączeń skrzyżowanych są większe u kota. W identycznych warunkach

WNIOSKI

eksperymentalnych kot wymaga wyższego napędu chemicznego dla osiągnięcia porównywalnej z królikiem wentylacji minutowej.

5. W warunkach fizjologicznych przy nienaruszonym pniu mózgu istnieje pewien margines niezależności w kontroli mięśni oddechowych po przeciwnych stronach ciała. Taki system "sterowania" sprzyja optymalizacji pracy aparatu oddechowego.

7. STRESZCZENIE

Celem niniejszej pracy było zbadanie zmian, jakie zachodzą w funkcjonowaniu kontrolera oddychania po rozszczepieniu pnia mózgu. Przedmiotem analizy był wzorzec oddechowy przed i po cięciach oraz niektóre odpowiedzi odruchowe.

W eksperymencie, w którym bada się wpływ cięcia w linii pośrodkowej pnia mózgu na aktywność nerwów przeponowych można otrzymać tylko dwa rezultaty:

- 1) zanik aktywności nerwu przeponowego, gdy sukcesywnie rozszerzane cięcie spowoduje zniszczenia istotnych elementów układu generującego rytm lub szlaków "transmitujących" pobudzenie do jądra nerwu przeponowego;
- 2) desynchronizację aktywności nerwów przeponowych; jeżeli wcześniej nie nastąpi zanik aktywności nerwów, to w momencie gdy cięcie osiągnie określoną długość, musi nastąpić desynchronizacja rytmów, ponieważ nie ma powodu aby dwa oscylatory pozbawione połączeń sprzęgających oraz jednoczesnych sygnałów zewnętrznych pozostawały synchroniczne.

U królika po chirurgicznym rozdzieleniu połówek opuszki aktywność lewej i prawej połowy przepony ulega desynchronizacji. Została to stwierdzone przez Langendorffa i wsp. [1880 i 1881]¹

Skoro rytm po stronie prawej jest inny niż po stronie lewej, to znaczy, że działają dwa generatory rytmu oddechowego².

Jeżeli desynchronizacja następuje po cięciu na odcinku pomiędzy zasuwką a doogonową częścią jądra nerwu VII³, to znaczy, że na tym

1. Prace te są zwykle cytowane jako pierwsze doniesienia o desynchronizacji rytmów (patrz np. monografie C. von Eulera -1986 (str.7) oraz J. Feldmana -1986 (str.472)). Jednak z cytowań zamieszczonych w pracy Langendorffa i wsp. można przypuszczać, że zjawisko to zostało opisane wcześniej.

2. Wniosek taki wyciągnęli m. in. Schiff -1959, Gromysz i Karczewski -1981 a,b.

3. Taką rozległość minimalnego cięcia (ok.4 mm) konieczną do uzyskania desynchronizacji wyznaczyli Gromysz i Karczewski -1981 a,b. Zdaniem Langendorffa i wsp. 1880, -1881 minimalne cięcie miało długość ok. 2 mm.

odcinku następuje skrzyżowanie szlaków odpowiedzialnych za synchronizację.

Ze względu na szereg unikalnych cech jakie posiada preparat rozszczepionego pnia mózgu⁴ podjęto jego bardziej szczegółowe badania. Oczekiwano, że badania te dostarczą nowych informacji dotyczących organizacji ośrodkowego kontrolera oddychania. W szczególności spodziewano się uzyskać dane o funkcjonalnej roli skrzyżowanych połączeń oddechowych pomiędzy rdzeniem przedłużonym a jądrem nerwu przeponowego.

Badania wykonano na 81 królikach i 28 kotach w narkozie halotanowej. Zwierzęta były zwiotczone i sztucznie wentylowane. Nerwy błędne i nerwy krtaniowe górne obustronnie przecięto (z wyjątkiem grupy zwierząt, u których badano inflacyjny odruch Breuera-Heringa i odruchy krtaniowe).

Wypreparowywano obustronnie kilka lub wszystkie z następujących nerwów: gałęzie C4 i osobno C5-6 nerwu przeponowego, gałęzie policzkowo-wargowe nerwu twarzowego (n. VII), nerwy podjęzykowe (n. XII), nerwy krtaniowe górne i dolne, nerwy błędne (n. X).

Aktywności w/w nerwów rejestrowano na papierze światłoczułym, a także przy użyciu zestawu komputerowego wyposażonego w przetwornik analogowo-cyfrowy.

Badania podzielono na kilka etapów, z których każdy miał swój specyficzny cel.

Wcześniejsze prace nie podejmowały próby ilościowej oceny zmian wzorca oddechowego wywołanych rozszczepieniem pnia mózgu. "Pilotowa" seria eksperymentów⁵ wykazała, że otrzymanie spójnych danych liczbowych jest faktycznie trudne. Uzyskiwano efekt desynchronizacji, jednak wyniki różniły się znacznie w stosunku do wartości kontrolnych jak również występowały znamienne różnice pomiędzy zwierzętami. Wynikało

4. Ta nazwa modelu doświadczalnego (ang. "split brain stem preparation"), w którym stopniowo rozdziela się opuszkę i most za pomocą (wykonywanych fragmentem żyłki) cięć w linii pośrodkowej została wprowadzona przez Salmoiraghiego i Burnsa [1960b].

5. Patrz rozdział 3.4.

STRESZCZENIE

to ze znacznych różnic w stanie zwierzęcia, po tak poważnym zabiegu chirurgicznym jakim jest rozszczepienie pnia mózgu. Dlatego zaistniała potrzeba aby:

- 1) **opracować technikę wykonywania cięć zapewniającą powtarzalność wyników.**

Ten cel szczegółowy zrealizowano poprzez wprowadzenie modyfikacji do tradycyjnej metody cięcia. Resekowano mózdzek. Przed wykonaniem właściwego cięcia nacinano wyściółkę komory czwartej fragmentem ostrej żyłki. Do wykonania właściwych cięć skonstruowano specjalną prowadnicę przymocowywaną do stolika stereotaktycznego, która prowadziła nóż dokładnie w płaszczyźnie strzałkowej głównej. Po umieszczeniu noża w prowadnicy cięcia wykonywano ręcznie. Dzięki temu można było zakończyć cięcie, gdy nóż osiągał podstawę czaszki, jednak zanim się odkształcił i spowodował przemieszczenie tkanki nerwowej.

Wcześniejsze prace nie zawierały żadnych danych ilościowych o wzorcu oddychania po rozszczepieniu pnia mózgu. Dokumentacja w tym względzie ograniczała się do ryciny przedstawiającej kilka asynchronicznych salw nerwu przeponowego. Dlatego postanowiono:

- 2) **określić parametry wzorca oddechowego po rozszczepieniu pnia mózgu i porównać je z parametrami kontrolnymi.**

Stwierdzono, że w wyniku rozszczepienia pnia mózgu amplituda dla salw synchronicznych spadła do $47.5 \pm 12.3\%$ wartości kontrolnej, a dla salw w przeciwnych fazach do $25.7 \pm 9.0\%$ kontroli. Dla salw wdechowych nerwów: krtaniowego i twarzowego amplituda została zredukowana odpowiednio do $14.8 \pm 7.7\%$ i $10.6 \pm 6.1\%$ wartości kontrolnej.

Po cięciach u żadnego z badanych zwierząt częstości rytmu po przeciwnych stronach nie były dokładnie równe. Dlatego można było mówić o stronie z szybszym i wolniejszym rytmem. Przyjmując za 100% średnią wartość częstości rytmu po stronie wolniejszej częstość po stronie szybszej mieściła się w granicach od 102% do 211%, średnio $130.4 \pm 14.3\%$

S T R E S Z C Z E N I E

Analiza parametrów rytmu oddechowego przeprowadzona łącznie dla lewej i prawej strony wykazała, że po cięciach częstość oddychania spada od 54 ± 7 oddechów na minutę do 35 oddechów na minutę, tj. do $66.4 \pm 14.3\%$ kontroli, a to głównie na skutek wydłużenia się wydechu od 0.65 ± 0.1 s do 1.27 ± 0.35 s, tj. do $198.9\% \pm 56\%$ wartości kontrolnej. Czas wdechu nie uległ istotnej zmianie – wzrósł do $104.9 \pm 17.2\%$ wartości kontrolnej od (0.49 ± 0.06 s do 0.51 ± 0.07 s).

Interesującym problemem jest stopień funkcjonalnego podobieństwa kontrolera rozszczepionego i nienaruszonego. W szczególności wyraża się to w pytaniu, czy przecięcie szlaków skrzyżowanych znosi odruchy oddechowe, czy może zniszczone włókna nie są istotnymi elementami łuków odruchowych. Szukano odpowiedzi na pytanie,

3) czy zachowane są odpowiedzi odruchowe z receptorów płuc i krtani.

Stwierdzono, że rozszczepienie pnia mózgu nie znosiło odpowiedzi odruchowej na inflację płuc. Zasadnicza różnica polegała na tym, że po jednostronnej wagoTomii przed cięciami odpowiedź była obustronna, natomiast po cięciach odpowiedź obserwowano głównie lub wyłącznie po stronie zachowanego nerwu błędnego. Siła odpowiedzi odruchowej wyrażona czasem, w trakcie którego oddychanie ulegało zatrzymaniu, wzrastała.

Odruchy krtaniowe badano przy zachowanym jednym nerwie krtaniowym górnym (drugi nerw był przecięty).

Stwierdzono, że rozszczepienie pnia mózgu nie eliminuje odruchu ochronnego krtani. Odruch ten był zachowany wyłącznie po stronie nieprzeciętego nerwu krtaniowego.

Po rozszczepieniu pnia mózgu jednostronnie zachowany był również odruch na ujemne ciśnienie w obrębie krtani.

Istotnym problemem jest znalezienie odpowiedzi na pytanie czy po rozszczepieniu pnia mózgu rozdzielone subgeneratory oddziałują na siebie. W poprzednich pracach wyrażano pogląd, że są one niezależne⁶ lub

6. Rijlant -1937

"względnie niezależne". Opinie te nie były jednak poparte badaniami ilościowymi. Należało zatem:

- 4) przeanalizować aktywności nerwów oddechowych po przeciwnych stronach ciała, pod kątem wykazania wzajemnych oddziaływań pomiędzy stronami.

Stwierdzono, że zarówno amplituda jak rytm salw nerwów przeponowych po jednej stronie uzależnione są od aktywności subgeneratora po stronie przeciwnej.

Amplituda nerwów przeponowych po rozszczępieniu pnia mózgu zmieniała się z cyklu na cykl i była wyraźnie zależna od stosunków faz cyklu oddechowego po obu stronach ciała. Rozpoczęcie aktywności jednego nerwu przeponowego w trakcie trwania aktywnej fazy drugiego nerwu powodowało gwałtowny wzrost aktywności obu nerwów. W efekcie amplituda salw synchronicznych była o 46% wyższa ($p < 0.001$ t-test) od amplitudy salw o przeciwnych fazach. Zaobserwowano, że opisane fluktuacje amplitudy występowały jedynie w aktywności nerwów rdzeniowych, ale nie czaszkowych.

Oprócz wzajemnego wpływu na amplitudę nerwów przeponowych obserwowano również oddziaływania pomiędzy subgeneratorami prowadzące do wzajemnej modulacji rytmów. Czas trwania wdechu i wydechu był skorelowany z wydarzeniami oddechowymi po stronie przeciwnej. Czas wydechu - T_E statystycznie znamienne wydłużał się, gdy w trakcie jego trwania po stronie przeciwnej pojawiała się salwa wdechowa. Fluktuacje rytmu występowały pomimo zwiotczenia zwierzęcia, przecięcia nerwów błędnych i krtaniowych górnych, okresowego wyłączenia respiratora. Nie eliminowało ich rostralne przedłużenie cięcia poprzez międzymózgowie, ani transekcja na poziomie C7. Te obserwacje wykluczyły możliwość, że fluktuacje faz są wynikiem rytmicznego pobudzania receptorów klatki piersiowej, krtani, czy też efektem połączeń nadrženiowych.

Opisana wyżej zmienność amplitudy i rytmu dowodziła, że subgeneratory wzajemnie na siebie oddziałują.

S T R E S Z C Z E N I E

Obserwacje te implikują pytanie jakimi drogami subgeneratory "komunikują" się, skoro połączenia pomiędzy nimi na poziome pnia mózgu są przecięte.

Oddziaływania pomiędzy stronami muszą mieć swój substrat neuronalny. Zbadanie funkcji szlaków odpowiedzialnych za opisane wyżej oddziaływania ma bardziej uniwersalny charakter niż tylko w odniesieniu do preparatu rozszczepionego pnia mózgu. Jeżeli szlaki te determinują wzorzec oddechowy po rozszczepieniu pnia mózgu, to również kształtują go w warunkach fizjologicznych. Z uwagi na te argumenty zbadanie oddziaływań pomiędzy subgeneratorami uznano za priorytetowy cel tej pracy.

- 5) Testowano hipotezę, zgodnie z którą: amplituda i częstość oddychania modulowana jest przez szlaki oddechowe skrzyżowane na poziomie jąder nerwu przeponowego. W szczególności postulowano, że część zstępujących szlaków oddechowych krzyżuje się na poziomie jąder nerwu przeponowego powodując dodatkowe pobudzenie jądra po stronie przeciwnej w czasie wdechu i hamowanie w czasie wydechu.

Generalna metoda eksperymentalnego testowania tej hipotezy polegała na badaniu zmian amplitudy nerwu przeponowego po jednej stronie ciała, wynikłych z przecinania na różnych poziomach szlaków oddechowych zstępujących po stronie przeciwnej.

Hipotezę przyjęto ponieważ stwierdzono, że:

jednostronne przerwanie na poziomie C2 (za pomocą blokady lub hemisekcji) szlaków oddechowych zstępujących z opuszki do rdzenia kręgowego natychmiast stabilizowało poziom aktywności nerwu przeponowego po stronie przeciwnej. Amplituda ustalała się na poziomie nieco wyższym niż amplitudy salw w przeciwnych fazach, lecz niższym niż amplitudy salw synchronicznych. Ten sam efekt miało cięcie w linii pośrodkowej na poziomie C3-C6 rdzenia kręgowego.

Tą część hipotezy, która precyzowała poziom skrzyżowania na wysokości jąder nerwu przeponowego udowodniono pokazując, że cięcie w linii pośrodkowej rdzenia na wysokości C4 selektywnie znosiło fluktuacje amplitudy w gałązce C4 nerwu przeponowego, podczas gdy były one

STRESZCZENIE

zachowane w gałązce C5–C6. Rozszerzenie cięcia na segmenty C5 i C6 zносиło fluktuacje w gałązkach C5 i C6.

Opierając się na tych obserwacjach zaproponowano model w którym amplituda aktywności nerwu przeponowego jest wypadkową czterech składowych:

- 1) Pobudzenia ipsilateralnego, którego źródłem są szlaki opuszkowo-rdzeniowe o nieskrzyżowanych na poziomie rdzenia aksonach.
- 2) Pobudzenia skrzyżowanego, którego źródłem są kolaterale lub aksony przekraczające linię pośrodkową rdzenia szyjnego na poziomie jąder nerwu przeponowego.
- 3) Hamowania ipsilateralnego, którego źródłem są neurony opuszkowo-rdzeniowe o nieskrzyżowanych na poziomie rdzenia aksonach.
- 4) Hamowania skrzyżowanego, którego źródłem są aksony lub ich kolaterale skrzyżowane w odcinku szyjnym rdzenia.

Model pokazuje, że wysoka aktywność jąder nerwu przeponowego w czasie synchronicznej pracy jest wynikiem sumowania się wpływów 1) i 2) przy braku hamowania 3) i 4). Aktywność salw w przeciwfazie jest nie tylko pozbawiona składowej 2), ale i pomniejszona na skutek hamującego działania składowej 4).

Zaproponowano również wyjaśnienie zjawiska zależnych od aktywności strony przeciwnej fluktuacji rytmu subgeneratorów. Ponieważ rytm oddechowy generowany jest w pniu mózgu, to wobec jego rozszczepienia, aby wyjaśnić jak jedna połowa "dowiaduje się" o rytmie drugiej należało założyć istnienie pętli będącej sprzężeniem zwrotnym z poziomu rdzenia do połowy pnia mózgu po stronie przeciwnej.

Substratem neuronalnym takiej pętli może być długi dendryt motoneuronu nerwu przeponowego, który przekracza linię pośrodkową i pobudza interneurony, których aksony wstępują do opuszki. Drugą możliwą realizacją postulowanej pętli jest interneuron, który znajduje się po tej samej stronie rdzenia co motoneurony i otrzymuje pobudzenia za pośrednictwem kolaterali aksonów (ew. dendrytów) motoneuronów. Interneuron ten daje skrzyżowany wstępujący akson, który wpływa na rytm subgeneratora po stronie przeciwnej.

S T R E S Z C Z E N I E

Bezpośrednim dowodem na istnienie takiego sprzężenia zwrotnego między neuronami oddechowymi rdzenia a opuszką było znalezienie w opuszce neuronów oddechowych o aktywności modulowanej zgodnie z aktywnością strony przeciwnej.

W związku z rozszczepieniem pnia mózgu u królika i małpy zaistniał problem różnic między efektami cięcia u tych gatunków a kotem. U królika i małpy cięcia wywoływały desynchronizację natomiast u kota zanik aktywności nerwów przeponowych⁷. Wyjaśnienie co leży u podstaw tych różnic było tym istotniejsze, że współczesna neurofizjologia oddychania opiera się głównie o wyniki otrzymane na kotach. Aby rozstrzygnąć ten problem, należało:

- 6) **sprawdzić czy i w jakich warunkach można uzyskać asynchroniczną aktywność nerwów przeponowych u kota.**

Stwierdzono, że różnice w organizacji kontrolera oddychania u kota w stosunku do innych gatunków mają charakter ilościowy a nie jakościowy. Po dobraniu odpowiednich warunków eksperymentu obserwowano u kota asynchroniczną aktywność nerwów przeponowych.

Biorąc to pod uwagę można powiedzieć, że desynchronizację nerwów przeponowych można wywołać u wszystkich pięciu przebadanych gatunków⁸. Uprawnia to do wyciągnięcia wniosku, że na ośrodkowy kontroler oddychania należy patrzeć jak na całość złożoną z dwu integralnych części⁹.

Wyniki badań preparatu rozszczepionego pnia mózgu były zgodne z modelem zakładającym, że każda z połówek pnia mózgu zawiera funkcjonalnie kompletny subkontroler oddychania. Poprawny model powinien dawać możliwość przewidywania pewnych odpowiedzi układu na bodźce. Jeżeli faktycznie istnieją dwa subkontrolery i dwa systemy przetwarzania bodźców aferentnych, to nawet przy zachowanych połączeniach

7. Karczewski i Gromysz – 1982.

8. U królika: – Langendorff i wsp. –1880, –1881, Rijlant –1937, Gromysz i Karczewski – 1981 a,b. U minoga Kawasaki –1979. U psa Kreidel –1899, Gromysz i wsp. –1986. U małpy Gromysz i Karczewski –1982. U kota Janczewski –1987b, Eldridge i Paydarfar –1989, Janczewski i Karczewski –1990.

9. Podobny wniosek wyciągnęli Gromysz i Karczewski –1981b.

skrzyżowanych powinna istnieć możliwość obserwacji choćby niewielkich różnic w odpowiedzi każdego z subgeneratorów. W piśmiennictwie brak tego rodzaju danych, dlatego aby sprawdzić i potwierdzić poprawność modelu, postawiono sobie za cel:

- 7) **przetestowanie hipotezy, zgodnie z którą funkcjonalną konsekwencją podwojenia struktur generujących wzorzec oddychania jest częściowa niezależność regulacji amplitudy nerwów oddechowych po lewej i prawej stronie ciała.**

Weryfikując hipotezę założono, że sprzyjającą okolicznością dla ujawnienia ewentualnych różnic aktywności obu stron będzie zastosowanie asymetrycznego bodźca. Protokół doświadczalny polegał na porównywaniu odpowiedzi neuronów oddechowych – n. XII, n. VII i nerwu przeponowego po obu stronach ciała na jednostronne pobudzenie aferentów z wolno adaptujących się mechanoreceptorów płuc.

Badania wykazały, że amplituda odpowiedzi po stronie bodźca różniła się od amplitudy odpowiedzi po stronie przeciwnej. Daje to podstawę aby przypuszczać, że w warunkach fizjologicznych przy nienaruszonym pniu mózgu istnieje pewien margines niezależności w kontroli mięśni oddechowych po przeciwnych stronach ciała. Taki system "sterowania" sprzyjałby optymalizacji pracy aparatu oddechowego.

S T R E S Z C Z E N I E

8. PIŚMIENNICTWO

1. ADRIAN E. D. (1933). Afferent impulses in the vagus and their effect on respiration. J. Physiol. (London) 79: 332-358.
2. ALEXANDER, C. (1966). Diaphragm movements and the diagnosis of diaphragmatic paralysis. Clin. Radiol. 17: 79-83.
3. AMINOFF, M. J., SEARS, T. A. (1971). Spinal integration of segmental cortical and breathing inputs to thoracic respiratory motoneurons. J. Physiol. (London) 215: 557-575.
4. AOKI, M., MORI, S., KAWAHARA, K., WATANABE, H., EBATA, N. (1980). Generation of spontaneous respiratory rhythm in high spinal cats. Brain Res. 202: 51-63.
5. AOKI, M. (1982). Respiratory related neuron activities in the cervical cord of the cat. In: Proceedings of the International Symposium: Central Neural Production of Periodic Respiratory Movements. Eds. J.L. Feldman and J. Berger, Northwestern University, Department of Physiology, Chicago : p.155-156.
6. AOKI, M., KASABA, T., KUROSAWA, Y. (1983a). Respiratory neuron activities in the upper cervical cord of the cat (Abstract). In: Reflex Organization of the Spinal Cord and its Descending Control, 22-26 August. Canabera, Australia.
7. AOKI, M., KASABA, T., KUROSAWA, Y. (1983b). Properties of respiratory neurons in the upper cervical cord of the cat. Neurosci. Lett. (Suppl.) 13: 59.
8. AOKI, M., KASABA, T., KUROSAWA, T., OHTSUKA, K., SATOMI, H. (1984). The projection of cervical respiratory neurons to the phrenic nucleus in the cat. Neurosci. Lett. (Suppl.) 17: S49.
9. AOKI, M., FUJITO, Y., KUROSAWA, Y., KAWASAKI, H., KOSAKA, I. (1987). Descending inputs to the upper cervical inspiratory neurons from the medullary respiratory neurons and the raphe nuclei in the cat. Respiratory Muscles and Their Neuro-motor Control, Alan R. Liss, Inc. : 73-82.
10. AOKI, M., FUJITO, Y., KOSAKA, I., KOBAYASHI, N. (1989). Supraspinal descending control of propriospinal respiratory neurons in the cat. In: Respiratory Control: Modelling Perspective, Swanson G.D. and Grodins F.S.(eds), Plenum Press .
11. ARMIGO, A. A., FLOREZ, J. (1974). The influence of increased brain 5-hydroxytryptamine upon the respiratory activity of cats. Neuropharmacology 13: 977-980.
12. ARSHAVSKY, Y. I., ORLOVSKY, G. N., PERRET, C. (1988). Activity of rubrospinal neurons during locomotion and scratching in the cat. Behavioral Brain Res. 28: 193-199.
13. BAINTON, C. R., KIRKWOOD, P. A., SEARS, T. A. (1978). On the transmission of the stimulating effects of carbon dioxide to the muscles of respiration. J. Physiol. (London) 280: 249-272.
14. BAINTON, C. R., KIRKWOOD, P. A. (1979). The effect of carbon dioxide on the tonic and the rhythmic discharges of expiratory bulbospinal neurones. J. Physiol. (London) 296: 291-314.
15. BAKER, J. P., JR., REMMERS, J. E. (1980a). Characteristics of sustained graded inspiratory inhibition by phasic lung volume changes. J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol. 48: 302-307.
16. BAKER, J. P., JR., REMMERS, J. E. (1980b). Temporal correlation of graded reversible inspiratory inhibition with discharge patterns of late inspiratory neurons located in the dorsal respiratory group in cats. Brain Res. 200: 331-340.
17. BALLANTYNE, D., RICHTER, D. W. (1984). Post-synaptic inhibition of bulbar inspiratory neurones in the cat. J. Physiol. (London) 384: 67-87.
18. BARILLOT, J. C., BIANCHI, A. L., GOFAN, P. (1984). Laryngeal respiratory motoneurons: morphology and electrophysiological evidence of separate sites for excitatory and inhibitory synaptic inputs. Neurosci. Lett. 47: 107-112.
19. BASSAL, M., BIANCHI, A. L. (1981). Effets de la stimulation des structures nerveuses centrales sur les activités respiratoires efferents chez le chat. I. Responses a la stimulation corticale. J. Physiol. (Paris) 77: 741-757.
20. BATSEL, H. L. (1965). Some functional properties of bulbar respiratory units. Experiment. Neurol. 11: 341-366.
21. BAUMGARTEN, R., VON, KANZOW, E. (1958). The interaction of two types of inspiratory neurons in the region of the tractus solitarius of the cat. Arch. Ital. Biol. 96: 361-373.

22. BELLINGER, D. L., ANDERSON, W. J., BELLINGER, P. L., FELTEN, D. L. (1984). Catecholamine innervation of cervical dendrite bundles: possible phrenic nucleus innervation. Brain Res. 13: 701-707.
23. BERGER, A. J., MITCHELL, R. A. (1976). Lateralized phrenic nerve responses to stimulating respiratory afferents in the cat. Am. J. Physiol. 230: 1314-1320.
24. BERGER, A. J. (1977). Dorsal respiratory group neurons in the medulla of the cat: spinal projections, responses to lung inflation and superior laryngeal nerve stimulation. Brain Res. 135: 231-254.
25. BERGER, A. J. (1979). Phrenic motoneurons in the cat: subpopulations and nature of respiratory drive potentials. J. Neurophysiol. 42: 76-90.
26. BERGER, A. J., AVERILL, D. B., CAMERON, W. E. (1983). Morphology of physiologically distinct inspiratory neurons in the ventrolateral nucleus of the tractus solitarius (v-NTS) studied by utilizing intracellular injection of HRP. Soc. Neurosci. Abstr. 9: 362.
27. BERGER, A. J., AVERILL, D. B., CAMERON, W. E. (1984). Morphology of inspiratory neurons located in the ventrolateral nucleus of the tractus solitarius of the cat. J. Comp. Neurol. 224: 60-70.
28. BERTRAND, F., HUGELIN, A. (1971). Respiratory synchronizing function of nucleus parabrachialis medialis: pneumotaxic mechanisms. J. Neurophysiol. 34: 189-207.
29. BERTRAND, F., HUGELIN, A., VIBERT, J. F. (1973). Quantitative study of anatomical distribution of respiration related neurons in the pons. Exp. Brain Res. 16: 383-399.
30. BERTRAND, F., HUGELIN, A., VIBERT, J. F. (1974). A stereologic model of pneumotaxic oscillator based on spatial and temporal distributions of neuronal bursts. J. Neurophysiol. 37: 91-107.
31. BIANCHI, A. L. (1971). Localisation et etude des neurones respiratoires bulbaires. Mise en jeu antidromique par stimulation spinale ou vagale. J. Physiol. (Paris) 63: 5-40.
32. BIANCHI, A. L., BARILLOT, J. C. (1982). Respiratory neurons in the region of the retrofacial nucleus: pontile, medullary, spinal and vagal projections. Neurosci. Lett. 31: 277-282.
33. BISCOE, T. J., SAMPSON, S. R. (1970). An analysis of the inhibition of phrenic motoneurons which occurs on stimulation of some animal nerve afferents. J. Physiol. (London). 209: 375-393.
34. BOCHENEK, A., REICHER, M. (1981). Anatomia Człowieka wyd. 2 tom IV - "Układ Nerwowy Ośrodkowy". P.Z.W.L.
35. BORGDORFF, P. (1975). Respiratory fluctuations in pupil size. Am. J. Physiol. 228: 1094-1102.
36. BOWKER, R. M., REDDY, V. K., FUNG, S. J., JULIE, Y. H. C., BARNES, C. D. (1987). Serotonergic and non-serotonergic raphe neurons projecting to the feline lumbar and cervical spinal cord: a quantitative horseradish peroxidase - immunocytochemical study. Neurosci. Lett. 75: 31-37.
37. BOYD, T. E., MAASKE, C. A. (1939). Vagal inhibition of inspiration, and accompanying changes of respiratory rhythm. J. Neurophysiol. 2: 533-542.
38. BRADLEY, G. W., EULER, C. VON, MARTTILA, I., ROOS, B. (1974). Transient and steady state effects of CO₂ on mechanisms determining rate and depth of breathing. Acta Physiol. Scand. 92: 341-350.
39. BRADLEY, G. W., EULER, C. VON, MARTTILA, I., ROOS, B. (1975). A model of the central and reflex inhibition of inspiration in the cat. Biol. Cybern. 19: 105-116.
40. BRAMBLE, D. M., CARRIER, D. R. (1983). Running and breathing in mammals. Science 219: 251-256.
41. BREUER, J. (1868). Die Selbststeuerung der Atmung durch den Nervus vagus. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien Abt. 2 58: 909-937.
42. BREUER, J. (1970). Self-steering of respiration through the nervus vagus. In: Hering-Breuer Centenary Symposium. Ed. R. Porter, London : 365-394.
43. BRODAL, A. (1969). Neurological anatomy in relation to clinical medicine. London, N.Y. Oxford University Press .
44. BRODIE, D. A., BORISON, H. L. (1957). Evidence for a medullary inspiratory pacemaker. Functional concept of central regulation of respiration. Am. J. Physiol. 188: 347-354.

45. BRUCE, E. N., EULER, C. VON, ROMANIUK, J. R., YAMASHIRO, S. M. (1982). Bilateral reflex effects on phrenic nerve activity in response to single-shock vagal stimulation. Acta Physiol. Scand. 116: 351-362.
46. BUDZIŃSKA, K., ROMANIUK, J. R. (1985). Effects of midsagittal lesion of the rabbit medulla. I. Respiratory motoneuronal outputs. Bull. Eur. Physioth. Respir. 21: 491-498.
47. BUDZIŃSKA, K., EULER VON, C., KAO, F., PANTALEO, T. (1985a). Effects of graded focal cold block in rostral areas of the medulla. Acta Physiol. Scand. 124: 329-340.
48. BUDZIŃSKA, K., EULER VON, C., KAO, F., PANTALEO, T., YAMAMOTO, Y. (1985b). Release of expiratory muscle activity by graded focal cold block in the medulla. Acta Physiol. Scand. 124: 341-351.
49. BUNN, J. C., MEAD, I. (1971). Control of ventilation during speech. J. Appl. Physiol. 31: 870-872.
50. BURNS, B. D., SALMOIRAGHI, G. C. (1960). Repetitive firing of respiratory neurones during their burst activity. J. Neurophysiol. 23: 27-46.
51. BYSTRZYCKA, E., GROMYSZ, H., HUSZCZUK, A. (1971). Functional organization of the brain stem respiratory neurones. Acta Physiol. Pol. (Suppl. 2) 22/3: 379-395.
52. BYSTRZYCKA, E., GROMYSZ, H., HUSZCZUK, A. (1972). Studies on the Hering-Breuer inflation and deflation reflexes in rabbits. Acta Physiol. Pol. 23/4: 617-632.
53. BYSTRZYCKA, E., HUSZCZUK, A. (1973). Studies on the central effects of Hering-Breuer reflexes. Acta Neurobiol. Exp. 33: 263-273.
54. BYSTRZYCKA, E. (1980). Afferent projections to the dorsal and ventral respiratory nuclei in the medulla oblongata of the cat studied by the horseradish peroxidase technique. Brain Res. 185: 59-66.
55. BYSTRZYCKA, E. K., NAIL, B. S. (1983). The source of the respiratory drive to nasolabialis motoneurons in the rabbit: a HRP study. Brain Res. 266: 183-191.
56. CAMERON, W. E., AVERILL, D. B., BERGER, A. J. (1983). Morphology of cat phrenic motoneurons as revealed by intracellular injection of horseradish peroxidase. J. Comp. Neurology 219: 70-80.
57. CHANDLER, S. H., GOLDBERG, L. J. (1982). Intracellular analysis of synaptic mechanisms controlling spontaneous and cortically induced rhythmic jaw movements in the guinea pig. J. Neurophysiol. 48: 126-138.
58. CIRIELLO, J., HRYCYSHYN, A. W., CALARESU, F. R. (1981). Glossopharyngeal and vagal afferent projections to the brain stem of the cat: a horseradish peroxidase study. J. Auton. Nerv. Syst. 4: 63-79.
59. CLARK, F. J., EULER, C. VON (1972). On the regulation of depth and rate of breathing. J. Physiol. (London) 222: 267-295.
60. COGLIANESE, C. J., PEISS, C. N., WURSTER, R. D. (1977). Rhythmic phrenic nerve activity and respiratory activity in spinal dogs. Respir. Physiol. 29: 247-254.
61. COHEN, M. I. (1971). Switching of the respiratory phases and evoked phrenic responses produced by rostral pontine electrical stimulation. J. Physiol. (London) 217: 133-158.
62. COHEN, F. L. (1973). Effects of various lesions on crossed and uncrossed descending inspiratory pathways in the cervical spinal cord of the cat. J. Neurosurg. 39: 589-595.
63. COLLE, J., MASSION, J. (1958). Effet de la stimulation du cortex moteur sur l'activite electrique des nerfs phreniques et medians. Arch. Int. Physiol. Biochem. 66: 496-514.
64. CONNELLY, C. A., ELLENBERGER, H. H., FELDMAN, J. L. (1988). Retrotrapezoid-nucleus: a novel cell group exhibiting respiratory activity in cat (Abstract). FASEB J. 2: A509.
65. CONNELLY, C. A., ELLENBERGER, H. E., FELDMAN, J. L. (1990). Respiratory activity in the retrotrapezoid nucleus in cat. Am. J. Physiol.: Lung Cellular and Molecular Physiology 258: 69-96.
66. CROSS, B. A., GUZ, A., JONES, P. W. (1981). The summation of left and right lung volume information in the control of breathing in dogs. J. Physiol. (London) 321: 449-467.
67. CULVER, G. A., RAHN, H. (1952). Reflex respiratory stimulation by chest compression in the dog. Am. J. Physiol. 168: 686-693.
68. DAVIS, H. L., FOWLER, W. S., LAMBERT, E. H. (1956). Effect of volume and rate of inflation and deflation on transpulmonary pressure and response of pulmonary stretch receptors. Am. J. Physiol. 187: 558-566.

69. DAVIS, P. J., NAIL, B. S. (1984). On the location and size of laryngeal motoneurons in the cat and rabbit. J. comp. Neurol. 230: 13-32.
70. DEJOURS, P., LACAISSE, A. (1971). Le pH et les pressions partielles de l'oxygene et du gaz carbonique chez le chat normal et éveillé. J. Physiol. (Paris) 63: 87-90.
71. DELLOW, P. G., LUND, J. P. (1971). Evidence for central timing of rhythmic mastication. J. Physiol. (London) 215: 1-13.
72. DONNELLY, D. F., HADDAD, G. G. (1986). Respiratory changes induced by prolonged laryngeal stimulation in awake piglets. J. Appl. Physiol. 61: 1018-1024.
73. DURON, B., JUNG-CAILLOL, M. C., MARLOT, D. (1975). Effets des distensions etagees de l'oesophage thoracique sur l'activite spontanee du diaphragme chez le chat et le lapin. C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D. 281: 1863-1866.
74. DURON, B., JUNG-CAILLOL, M. C., MORLOT, D. (1978). Myelinated nerve fibre supply and muscle spindles in the respiratory muscles of cat: quantitative study. Anat. Embriol. 152: 171-192.
75. DURON, B. (1981). Intercostal and diaphragmatic muscle endings and afferents. In: Ling Biology in Health and Disease. Regulation of Breathing. Ed. by T. F. Hornbein. New York: Dekker. pt. I, chapt. 7 17: p.473-540.
76. ELDRIDGE, F. L. (1971). Relationship between phrenic nerve activity and ventilation. Am. J. Physiol. 221: 535-543.
77. ELDRIDGE, F. L. (1975). Relationship between respiratory nerve and muscle activity and muscle force output. J. Appl. Physiol. 39: 567-574.
78. ELDRIDGE, F. L., PAYDARFAR, D. (1989). Desynchronized respiratory rhythms and their interactions in cats with split brain stems. J. Physiol. (London) 410: 513-932.
79. ELLENBERGER, H. H., FELDMAN, J. L. (1988). Monosynaptic transmission of respiratory drive to phrenic motoneurons from brainstem bulbospinal neurons in rats. J. Comp. Neurol. 269: 47-57.
80. ELLENBERGER, H. H., VERA, P. L., HASELTON, J. R., HASELTON, C. L., SCHNEIDERMAN, N. (1990). Brainstem projections to the phrenic nucleus: an anterograde and retrograde HRP study in rabbits. Brain Res. Bull. 24/2: 163-174.
81. EULER, C. VON (1972). Time-dependent changes in responsiveness to inflations and deflations of the lungs during inspiration and expiration; their significance for the control of depth and rate of breathing. Arch. Fisiol. (Suppl.) 69: 424-432.
82. EULER, C. VON, HAYWARD, J. J., MARTTILA, I., WYMAN, R. J. (1973a). Respiratory neurones of the ventrolateral nucleus of the solitary tract of cat: vagal input, spinal connections and morphological identification. Brain Res. 61: 1-22.
83. EULER, C. VON, HAYWARD, J. N., MARTTILA, I., WYMAN, R. J. (1973b). The spinal connections of the inspiratory neurones of the ventrolateral nucleus of the cat's tractus solitarius. Brain Res. 61: 23-33.
84. EULER, C. VON, TRIPPENBACH (1976). Excitability changes of the inspiratory "off-switch" mechanism tested by electrical stimulation in nucleus parabrachialis in the cat. Acta Physiol. Scand. 97: 174-188.
85. EULER, C. VON (1977). The functional organization of the respiratory phase-switching mechanisms. Federation Proc. 36: 2375-2380.
86. EULER, C., VON (1983). On the central pattern generator for the basic breathing rhythmicity. J. Appl. Physiol. 55: 1647-1659.
87. EULER, C., VON (1986). Brain stem mechanisms for generation and control of breathing pattern. In Handbook of Physiology, Section: The Nervous System, Volume 2: Control of Breathing. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc.: 1-67.
88. FEDORKO, L., MERRILL, E. G. (1984). Axonal projections from the rostral expiratory neurones of the Botzinger complex to medulla and spinal cord in the cat. J. Physiol. (London) 350: 487-496.
89. FEDORKO, L., CONNELLY, C. A., REMMERS, J. E. (1987). Neurotransmitters mediating synaptic inhibition of phrenic motoneurons. In: Respiratory Muscles and Their Neuromotor Control. (eds. Sieck, G.C., Gandevia, S.C., and Cameron, W.E.). Alan R. Liss, Inc., New York : 167-173.
90. FELDMAN, J. L., COHEN, M. I., WOLOTSKY, P. (1976). Phasic pulmonary afferent activity drastically alters the respiratory modulation of neurons in the rostral pontine pneumotaxic center. In: Respiratory Centres and Afferent Systems. ed. B. Duron. Paris : INSERM, 1976. : 95-105.

91. FELDMAN, J. L., COHEN, M. I. (1978). Relation between expiratory duration and rostral medullary expiratory neuronal discharge. Brain Res. 141: 172-178.
92. FELDMAN, J. L., GRILLNER, S. (1983). Control of vertebrate respiration and locomotion: A brief account. Physiologist 26: 310-316.
93. FELDMAN, J. L., SPECK, D. F. (1983). Interactions among inspiratory neurons in dorsal and ventral respiratory groups in cat medulla. J. Neurophysiol. 49: 472-490.
94. FELDMAN, J. L., MCCRIMON, D. R., SPECK, D. F. (1984). Effect of synchronous activation of medullary inspiratory bulbo-spinal neurones on phrenic nerve discharge in cat. J. Physiol. (London) 347: 241-254.
95. FELDMAN, J. L., LOEWY, A. D., SPECK, D. F. (1985). Projections from the ventral respiratory group to phrenic and intercostal motoneurons in cat: an autoradiographic study. J. Neurosci. 8: 1993-2000.
96. FELDMAN, J. L. (1986). Neurophysiology of breathing in mammals. In Handbook of Physiology, Section: The Nervous System, Volume 4: Intrinsic Regulatory Systems of the Brain. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc.: 463-524.
97. FELDMAN, J. L. (1987). Emergent properties of neural mechanisms controlling breathing in mammals. in: "Respiratory muscles and their neuromotor control, Alan R. Liss, Inc.: 3-8.
98. FELDMAN, J. L., ELLENBERGER, H. H. (1988). Central coordination of respiratory and cardiovascular control in mammals. Ann. Rev. Physiol. 50: 593-606.
99. FENEIS (1991). Ilustrowany Słownik Mianownictwa Anatomicznego P.Z.W.L. wyd. III.
100. FINK, B., SCHOOLMAN, A. (1963). Arterial blood acid-base balance in unrestrained waking cats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112: 328-330.
101. FLEIGER, S. (1971). Ośrodki nerwu krtaniowego przedniego i tylnego oraz ich udział w unerwieniu krtani. Pol. Arch. Wet. 14: 467-474.
102. FLOREZ, J., DELGADO, G., ARONIJO, J. A. (1972). Adrenergic and serotonergic mechanisms in morphine induced respiratory depression. Psychopharmacologia 24: 258-274.
103. FOLGERING, H. T., SMOLDERS, F. D., BERNARDS, J. A. (1976). The role of fusimotor system with respect to the contribution of the diaphragm and the intercostal muscles to the respiratory tidal volume. Pfluegers Arch. 366: 107-114.
104. FOLKARD, S., MINORS, D. S., WATERHOUSE, J. M. (1984). Is there more than one circadian clock in humans? Evidence from fractional desynchronization studies. J. Physiol. Lond. 357: 341-356.
105. FURSTENBERG, A. C., MAGIELSKI, J. E. (1955). A motor pattern in the nucleus ambiguus. Its clinical significance. Ann. Otol. Rhinol. Lar. 64: 788-793.
106. GACEK, R. R. (1975). Localization of laryngeal motor nerves in the kitten. Laryngoscope 85: 1841-1861.
107. GAHWILER, B. H., DREIFUSS, J. J. (1979). Phasically firing neurons in long-term cultures of the rat hypothalamic supraoptical area: pacemaker and follower cells. Brain Research 177: 95-103.
108. GANDEVIA, S. C., McCLOSKEY, D. I., POTTER, E. K. (1987a). Inhibition of baroreceptor and chemoreceptor reflexes on heart rate during the respiratory cycle. J. Physiol. (London) 276: 369-381.
109. GANDEVIA, S. C., McCLOSKEY, D. I., POTTER, E. K. (1987b). Reflex bradycardia occurring in response to diving, nasopharyngeal stimulation and ocular pressure, and its modification by respiration and swallowing. J. Physiol. (London) 276: 383-394.
110. GANDEVIA, S. C., ROTHWELL, J. C. (1987). Activation of the human diaphragm from the motor cortex. J. Physiol. (London) 384: 109-118.
111. GAUTHIER, P., MONTENAU, R. (1986). Respiratory resetting induced by activation of inspiratory bulbo-spinal neurons. Respir. Physiol. 65: 155-168.
112. GAZZANIGA, M. S. (1970). The Bisected Brain. New York, Appleton-Country Crofts. .
113. GILL, P. K., KUNO, M. (1963a). Excitatory and inhibitory actions of phrenic motoneurons. J. Physiol. (London) 168: 274-289.
114. GILL, P. K., KUNO, M. (1963b). Properties of phrenic motoneurons. J. Physiol. (London) 168: 257-73.

115. GOOTMAN, P. M., FELDMAN, J. L., COHEN, M. J. (1980). Pulmonary afferent influences on respiratory modulation of sympathetic discharge. In Central Interaction between Respir. and Cardiovascular Control Systems. Koepchen et al. (eds). Springer-Verlag, N.Y. : 171-179.
116. GOSHGARIAN, H. G., RAFOLS, J. A. (1984). The ultrastructure and synaptic architecture of phrenic motor neurons in the spinal cord of adult rat. J. Neurocytol. 13: 85-109.
117. GRILLNER, O. (1977). On the neural control of movement - a comparison of different basic rhythmic behaviors. In: Functions and Formation of Neural Systems: Report of the Dahlem Workshop on Function and Formation of Neural Systems. Ed. by G.S. Sent. Berlin:Dahlem. (Life Sci.Res.Rep.) 6: p.197-224.
118. GRILLNER, S. (1979). Analogies between pattern generation in locomotion and breathing. In: Central nervous control mechanisms in breathing. Ed. C.von Euler, H.Lagercrantz, Pergamon Press : 307-310.
119. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1973). Responses of respiratory neurons of the rabbit to some excitatory and inhibitory stimuli. Acta Neurobiol. Exp. 33: 245-261.
120. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1976a). Respiratory neurons of the ventral respiratory nucleus of the rabbit and their vagal connections. Acta Neurobiol. Exp. : 581-592.
121. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1976b). Responses of the brain stem respiratory neurones to stimulation of the vagal input. INSERM 59: 117-128.
122. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A., NASŁOŃSKA, E., RUSZCZYK, K., SROCZYŃSKA, K. (1980). The effects of brainstem transection on respiratory activity in the rabbit. Acta Neurobiol. Exp. 40: 507-514.
123. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1981a). The effects of brainstem transection on respiratory activity in the rabbit. Acta Neurobiol. Exp. 41: 225-235.
124. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1981b). Respiratory activity generated by a split brainstem preparation of the rabbit. Acta Neurobiol. Exp. 41: 237-242.
125. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1982). Phrenic motoneurone activity in split-brainstem cats and monkeys. Respir. Physiol. 50: 51-61.
126. GROMYSZ, H. (1984). The effect of pontine or bulbar transection on the respiratory pattern in the rabbit. Acta Neurobiol. Exp. 44: 239-247.
127. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1984). The split-respiratory centre in the cat: responses to hypercapnia. Respir. Physiol. 57: 225-233.
128. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A., KUKWA, A., RYBA, M., ZALEWSKI, W. (1986). Split-respiratory centre in dog. Acta Physiol. Pol. 37: 4-5.
129. GROMYSZ, H., KUKWA, A., JERNAJCZYK, U., KARCZEWSKI, W. A. (1988). Trigeminal nerve, breathing and sleep apnea In: Control of Breathing During Sleep and Anesthesia. Eds. Karczewski i wsp., Plenum Press, New-York-London. : 183-186.
130. GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1990). Motor nucleus of the V-th nerve and the control of breathing (Breuer-Hering reflexes and apneustic breathing). Acta Physiol. Pol. 41: 4-6.
131. GROTEK, A., ROMANIUK, J. R., RYBA, M. (1975). Relation between pulmonary stretch receptors activity and transpulmonary pressure. IRCS Med. Sci. 3: 12.
132. GUTH, L. (1976). Functional plasticity in the respiratory pathway of the mammalian spinal cord. Exp. Neurol. 51: 414-420.
133. HARDING, R., TITCHEN, D. A. (1981). Oesophageal and diaphragmatic activity during sucking in lambs. J. Physiol. (London) 321: 317-329.
134. HAST, M. H. (1977). Mechanical properties of the vocal fold muscle. Arch. Otorhinolaryngol. : 29-53.
135. HAXHIU, M. A., LUNTEREN, E. VAN, MITRA, J., ET AL. (1984). Responses to chemical stimulation of upper airway muscles and diaphragm in awake cats. J. Appl. Physiol. 56: 397.
136. HAXHIU, M. A., LUNTEREN, E. VAN, PRABHAKAR, N., BRUCE, N. E., CHERNIACK, N. S. (1986). Responses of hypoglossal and phrenic nerves to decreased respiratory drives in cats. Respiration 50: 130-138.
137. HAXHIU, M. A., LUNTEREN, E. VAN, MITRA, J., CHERNIACK, N. S. (1987). Comparison of the response of diaphragm and upper airway dilating muscle activity in sleeping cats. Respir. Physiol. 70: 183-193.

138. HENNEMAN, E., SOMJEN, G., CARPENTER, D. O. (1965). Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *J. Neurophysiol.* 28: 560-580.
139. HERING, E. (1868). Die Selbststeuerung der Atmung durch den Nervus vagus. *Sitzungsber. Akad. Wiss. Wein Abt. 2* 57: 672-677.
140. HERING, E. (1970). Self-steering of respiration through the nervus vagus. In: *Hering-Breuer Centenary Symposium*. Ed. R. Porter, London. : 359-364.
141. HILAIRE, G., KHATIB, M., MONTEAU, R. (1983a). Spontaneous respiratory activity of phrenic and intercostal Renshaw cells. *Neurosci. Lett.* 43: 97-101.
142. HILAIRE, G., GAUTHIER, P., MONTEAU, R. (1983b). Central respiratory drive and recruitment order of phrenic and inspiratory laryngeal motoneurons. *Respir. Physiol.* 51: 341-359.
143. HILAIRE, G., KHATIB, M., MONTEAU, R. (1983c). Respiratory activity of renshaw cell and recurrent inhibition on phrenic and intercostal motoneurons. *Neurosci. Lett. Suppl.* 14: S165.
144. HILAIRE, G., KHATIB, M., MONTEAU, R. (1986). Central drive on Renshaw cells coupled with phrenic motoneurons. *Brain Res.* 376: 133-139.
145. HOLSTEGE, G., KUYPERS, H.G.J.M. (1982). The anatomy of brainstem pathways to the spinal cord in cat. A labelled amino acid tracing study. In: *Anatomy of Descending Pathways to the Spinal Cord*. *Prog. Brain Res.* Eds. H.G.J.M. Kuypers and G. F. Martin. Elsevier, Amsterdam. 57: p.145-175.
146. HOLTMAN, J. R., JR., NORMAN, W. P., SKIRBOLL, L., DRETCHEN, K.L., CUELLO, C., VISSER, J.T. (1984a). Evidence for 5-hydroxytryptamine, substance P and thyrotropin-releasing hormone in neurons innervating the phrenic motor nucleus. *J. Neurosci.* 4: 1064-1071.
147. HOLTMAN, J. R., JR., NORMAN, W. P., GILLIS, R. A. (1984b). Projection from the raphe nuclei to the phrenic motor nucleus in the cat. *Neurosci. Lett.* 44: 105-111.
148. HOLTMAN, J. R., DICK, T. E., BERGER, A. J. (1986). Involvement of serotonin in the excitation of phrenic motoneurons evoked by stimulation of raphe obscurus. *J. Neurosci.* 6/4: 1185-1193.
149. HUKUHARA, T. JR. (1973). Neuronal organization of the central respiratory mechanisms in the brainstem of the cat. *Acta Neurobiol. Exp.* 33: 219-224.
150. HUKUHARA, T. JR. (1976). Functional organization of brain stem respiratory neurons and its modulation induced by afferents. In: *Coll. Inst. Nat'l. Sane Res. Med.* ed: Duron, E. INSERM Paris 59: 49-52.
151. HWANG, J., ST. JOHN, W.M., BARTLETT, D., JR. (1983). Respiratory-related hypoglossal nerve activity: influence of anesthetics. *J. Appl. Physiol.* 55: 785.
152. IKARI, T., SASAKI, C. T. (1980). Glottic closure reflex: central mechanism. *Ann. Otol. Rhinol. Lar.* 89: 220-224.
153. INOUE, S.-I., KAWAMURA, H. (1979). Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5962-5966.
154. ISCOE, S., FELDMAN, J. L., COHEN, M. I. (1979). Properties of inspiratory termination by superior laryngeal and vagal stimulation. *Respir. Physiol.* 36: 353-366.
155. JANCZEWSKI, W. A., KARCZEWSKI, W. A. (1984). Respiratory effects of pontine, medullary and spinal cord mid-line sections in the rabbit. *Respir. Physiol.* 57: 293-305.
156. JANCZEWSKI, W. A., GRIEB, P. (1986). Naloxone enhances respiratory output in rabbits with various brainstem sections. *Bull. Europ. Physiopath. Resp. (Suppl. 8)* 22: 156.
157. JANCZEWSKI, W. A. (1986a). Importance of respiratory pathways crossing the midline at the cervical level for amplitude and rhythm of breathing. *Bull. Europ. Physiopath. Resp. (Suppl. 8)* 22: 19.
158. JANCZEWSKI, W. A. (1986b). Properties of nucleus retrofacialis neurons in guinea pig brainstem preparation. *Neuroscience Letters (Suppl. 26)*: 576.
159. JANCZEWSKI, W. A. (1987a). Dissociation of the bilateral respiratory rhythm generators converts apneusis into regular rhythmic breathing. *Acta Physiol. Pol. (Suppl. 30/3)* 38: 202.
160. JANCZEWSKI, W. A. (1987b). Respiratory rhythm and phrenic nerve amplitude is altered via pathways crossing the midline at cervical level in cats and rabbits. *Neuroscience (Suppl.)* 22: 409.

161. JANCZEWSKI, W. A. (1987c). Comparative study of the activity of nerves supplying upper respiratory muscles in rabbits and cats. Bull. Europ. Physiopath. Resp. (Suppl. 12) : 358.
162. JANCZEWSKI, W. A., KARCZEWSKI, W. A. (1990). The role of neural connections crossed at the cervical level in determining rhythm and amplitude of respiration in cats and rabbits. Respir. Physiol. 79: 163-176.
163. JANCZEWSKI, W. A., KOSMAL, A., GLOGOWSKA, M. (1992). Localization of the motoneurons forming C4 and C5-C6 phrenic roots: a horseradish peroxidase study in the rabbit. przygotowane do druku.
164. JIANG, C., GAO, L., SHEN, E., WEI, J. Y. (1986). Respiration related neurons in the region of the nucleus tractus solitarius of the rabbit. Brain Res. 377: 190-193.
165. JIANG, C., WU, Z.-H., SHEN, E. (1987). Antidromic mapping of descending axons of respiratory bulbospinal neurons in the nucleus tractus solitarius of the rabbit. Brain Res. 413: 189-192.
166. KAHN, N., WANG, S. C. (1965). Descending respiratory pathways in the medulla oblongata of the cat. Am. J. Physiol. 209: 599-603.
167. KALIA, M. (1977). Neuroanatomical organization of the respiratory centers. Federation Proc. 36: 2405-2411.
168. KALIA, M., FELDMAN, J. L., COHEN, M. I. (1979). Afferent projections to the inspiratory neuronal region of the ventrolateral nucleus of the tractus solitarius in the cat. Brain Res. 171: 135-141.
169. KALIA, M., MESULAM, M. M. (1980a). Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat. I. The cervical vagus and nodose ganglion. J. comp. Neurol. 193: 435-465.
170. KALIA, M., MESULAM, M. M. (1980b). Brain stem projections to sensory and motor components of the vagus complex in the cat. II. Laryngeal, tracheobronchial, pulmonary, cardiac and gastrointestinal branches. J. comp. Neurol. 193: 467-508.
171. KALIA, M. (1981a). Neurohistochemical methods in tracing central respiratory mechanisms. Federation Proc. 40: 2365-2371.
172. KALIA, M. P. (1981b). Anatomical organization of central respiratory neurons. A. Rev. Physiol. 43: 105-120.
173. KAMIŃSKI, B. (ED.) (1981). Anestezjologia- podręcznik dla studentów medycyny. wyd. IV. P.Z.W.L.
174. KARCZEWSKI, W. A., NASŁONSKA, E., ROMANIUK, J. R. (1980a). Respiratory response to stimulation of vagal afferent fibres in rabbits. Acta Neurobiol. Exp. 40: 543-562.
175. KARCZEWSKI, W. A., NASŁONSKA, E., ROMANIUK, J. R. (1980b). Inspiratory facilitatory and inhibitory vagal influences during apnea in rabbits. Acta Neurobiol. Exp. 40: 575-592.
176. KARCZEWSKI, W. A., GROMYSZ, H. (1982). The significance of species differences in respiratory neurophysiology - the split - brain stem preparation. Experientia 38: 826.
177. KARCZEWSKI, W. A. (1983). Control of breathing revisited. Bull. Eur. Physiopathol. Respir. 19: 571-774.
178. KAWAHARA, K., KUMAGAI, S., NAKAZONO, Y., MIYAMATO, Y. (1989). Coupling between respiratory and stepping rhythms during locomotion in decerebrate cats. J. Appl. Physiol. 67/1: 110-115.
179. KAWASAKI, R. (1979). Breathing rhythm generation in the adult lamprey *Entosphenus japonicus*. Jpn. J. Physiol. 29: 327-338.
180. KHATIB, M., HILAIRE, G., MONTENAU, R. (1986). Excitatory interactions between phrenic motoneurons in the cat. Exp. Brain Res. 62: 273-280.
181. KHATIB, M., HILAIRE, G., MONTENAU, R. (1989). Excitatory interactions between phrenic motoneurons: intracellular study in the cat. Exp. Brain Res. 74: 131-138.
182. KICZKA, K. (1968). Wymykanie oddechu. Rocznik A. M. Białystok (supl.) 21.
183. KNOX, C. K. (1979). Reflex and central mechanisms controlling expiratory duration. In: Central Nervous Control Mechanisms in Breathing. Ed. by C.von Euler and H.Lagercrantz. Oxford, UK: Pergamon (Wenner Ctr. Int. Symp. Ser.). 32: p.203-216.
184. KOEPCHEN, H. P. (1983). Respiratory and cardiovascular "centres" functional entirety or separate structures? In: Central Neurone Environment and the Control System of Breathing and Circulation, ed. M.E. Schlaefke, H.P.Koepchen and W.R. See. Berlin: Springer-Verlag : p.221-237.

185. KRAUTER, F., RICHTER, D. W., CAMERER, H., SENEKOWITSCH, R. (1977). Morphological and electrical description of medullary respiratory neurons of the cat. Pfluegers Arch 372: 7-16.
186. KREIDL, A. (1899). Ueber das athmungscentrum. Pfluegers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere 74: 181-192.
187. KUBIN, L., LIPSKI, J. (1979). Properties of reversible graded inhibition of phrenic nerve activity by pulmonary afferents. Acta Physiol. Pol. 30: 571-579.
188. KUBIN, L. (1981). Respiratory input to laryngeal motoneurons (Abstract). (Eur. Neurosci. Congr., 5th, Liege, 1981). Neurosci. Lett. Suppl. 7: S208.
189. KUBIN, L. (1983). Rola przyśrodkowych struktur dolnej części rdzenia przedłużonego w odruch z chemoreceptorów tętniczych i w rytmogenezie oddychania. Praca doktorska wykonana w Zakładzie Fiziologii Człowieka A.M. w Warszawie. .
190. KUBIN, L., LIPSKI, J., TRZEBSKI, A. (1987). Respiratory rhythmicity in a split medulla preparation of the cat. Experimental Neurology 96: 720-726.
191. KUBIN, L., ROMANIUK, R. (1988). Propriospinal inspiratory neurons in the upper cervical spinal cord of the rabbit: location and efferent spinal projections. Proc. of the Inter. Symposium "Control of Breathing During Sleep and Anaesthesia" - Plenum Press. : 197-201.
192. KUNO, S. T. (1986). Inhibition of inspiratory upper airway motoneuron activity by phasic volume feedback. J. Appl. Physiol. 60: 1373-1380.
193. KUYPERS, H.G.J.M., MAISKY, V. A. (1977). Funicular trajectories of descending brain stem pathways in cat. Brain Res. 136: 159-165.
194. LALLEY, P. M. (1982). Inhibition of phrenic and sympathetic vasomotor neurons in cats by the serotonin analog 5-methoxy-N, N-dimethyltryptamine. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 220: 39-48.
195. LALLEY, P. M. (1984). Influence of caudal raphe complex on phrenic motoneurons. In: Neurogenesis of Central Respiratory Rhythm. ed. Bianchi, A.L., Denavit-Saubie, M. Lancaster, M.T.P. Press Limited : 99-102.
196. LALLEY, P. M. (1986a). Responses of phrenic motoneurons of the cat to stimulation of medullary raphe nuclei. J. Physiol. (London) 380: 349-371.
197. LALLEY, P. M. (1986b). Serotonergic and non-serotonergic responses of phrenic motoneurons to raphe stimulation in the cat. J. Physiol. (London) 380: 373-385.
198. LAMBERT, G. A., FRIEDMAN, E., BUCHWEITZ, E., GERSHON, S. (1978). Involvement of 5-hydroxytryptamine in the central control respiration, blood pressure and heart rate in the anesthetized rat. Neuropharmacology 17: 807-813.
199. LANGENDORFF, O. (1879). Uber das Atmungscentrum. Centralbl. Med. Wiss. 17: 913-915.
200. LANGENDORFF, O., NITSCHMANN, R. (1880). Studien Uber die Innervation der Athembewegungen. I. Mitteilung. Uber die spinalen Centren der Athmung. Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt. : 518-549.
201. LANGENDORFF, O., NITSCHMANN, R., WITZACK, H. (1881). Studien Uber die Innervation der Athembewegungen. II. Mitteilung. Uber ungleichzeitige Thatigkeit beider Zwerchfellshalften. Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt. Abt.: 78-81.
202. LARRABEE, M. G., HODES, R. (1948). Cyclic changes in the respiratory centers revealed by the effects of afferent impulses. Am. J. Physiol. 155: 147-164.
203. LAWN, A. M. (1966). The localization, in the nucleus ambiguus of the rabbit of the cells of origin of motor nerve fibres in the glossopharyngeal nerve and various branches of the vagus nerve by means of retrograde degeneration. J. comp. Neurol. 127: 293-306.
204. LAWSON, E. E. (1981). Prolonged central respiratory inhibition following reflex-induced apnea. J. Appl. Physiol. 50/4: 874-879.
205. LEDOUX, J., WILSON, D. H., GAZZANIGA, M. S. (1977). Manipulospacial aspects of cerebral lateralization: Clues to the origin of lateralization. Neuropsychologia 15: 743-753.
206. LEGENDRE, P., MCKENZIE, J. S., DUPONY, B., VINCENT, J. D. (1985). Evidence for bursting pacemaker neurones in cultured spinal cord cells. Neuroscience 16/4: 753-767.
207. LEVITZKY, M. G. (1981). Chapter 9. The control of breathing. In: Pulmonary Physiology, McGraw-Hill Book Company : 168-189.
208. LEWIS, L. J., BROOKHART, J. M. (1951). Significance of the crossed phrenic phenomenon. Am. J. Physiol. 166: 241-254.

209. LIPSKI, J., MERRILL, E. G. (1980). Electrophysiological demonstration of the projection from expiratory neurones in rostral medulla to contralateral dorsal respiratory group. Brain Res. 197: 521-524.
210. LIPSKI, J., FYFFE, R. E., JODKOWSKI, J. (1985). Recurrent inhibition of cat phrenic motoneurons. J. Neurosci. 5: 1545-1555.
211. LIPSKI, J., DUFFIN, J. (1985). Monosynaptic excitation of thoracic inspiratory motoneurons by inspiratory neurons of the nucleus tractus solitarius in the cat. Proceedings of the Australian Physiological and Pharmacological Society 16/2: 246.
212. LIPSKI, J., DUFFIN, J. (1986). An electrophysiological investigation of propriospinal inspiratory neurons in the upper cervical cord of the cat. Exp. Brain Res. 61: 625-637.
213. LIPSKI, J. A., BEKTAS, A., PORTER, R. (1986). Short latency inputs to phrenic motoneurons from the sensorimotor cortex in the cat. Exp. Brain Res. 61: 280-290.
214. LOESCHCKE, H. H. (1973). Respiratory chemosensitivity in the medulla oblongata. Acta Neurobiol. Exp. (Suppl.) 33: 97-112.
215. LOEWY, A. D., BURTON, H. (1978). Nuclei of the solitary tract: efferent projections to the lower brain stem and spinal cord of the cat. J. Comp. Neurol. 181: 421-449.
216. LUMSDEN, T. (1923a). The regulation of respiration. Part. I. J. Physiol. (London) 58: 81-91.
217. LUMSDEN, T. (1923b). Observations on the respiratory centres. J. Physiol. (London) 57: 354-367.
218. LUNDBERG, D., MUELLER, R. A., BREESE, G. R. (1980). An evaluation of the mechanisms by which serotonergic activation depresses respiration. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 212: 397-424.
219. LUSCHEI, E. S., GOLDBERG, L. J. (1982). Neural mechanisms of mandibular control: mastication and voluntary biting. In Handbook of Physiology, Section 1: The Nervous System, Volume II, V. Brooks, ed. Am Physiol. Soc., Bethesda, Md : 1237-1274.
220. MANABE, M., EZURE, K. (1988). Decrementing expiratory neurons of the Botzinger complex. Exp. Brain Res. 72: 159-166.
221. MANCIA, M. (1969). Electrophysiological and behavioral changes owing to splitting of the brainstem in cats. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 27: 487-502.
222. MASSION, J., MEULDERS, M., COLLE, J. (1960). Function posturale des muscles respiratoires. Arch. Int. Physiol. Biochim. 68: 314-326.
223. MASSION, J. (1976). Postural function of respiratory muscles. In: Respiratory Centres and Afferent Systems, ed. B. Duron. Paris: INSERM 59: 175-181.
224. MATHEW, O. P., ABU-OSAB, Y. K., THACH, B. T. (1982). Influence of upper airway negative pressure on genioglossus muscle respiratory activity. J. Appl Physiol. 52: 438-444.
225. MAYERS, R. E., SPERRY, R. W. (1953). Interocular transfer of visual form discrimination habit in cats after section of the optic chiasm and corpus callosum. Anat. Rec. 175: 351-352.
226. MCCRIMMON, D. R., LALLEY, P. M. (1982). Inhibition of respiratory neural discharges by clonidine and 5-hydroxytryptophan. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 222: 771-777.
227. MEESEN, H., OLSZEWSKI, J. (1949). Cytoarchitektonischer Atlas des Rautenhirns des Kaninchens. A cytoarchitectonic atlas of the rhombencephalon of the rabbit. wyd. Karger i Basel.
228. MEAD, J. (1960). Control of respiratory frequency. J. Appl. Physiol. 15: 325-336.
229. MENDELSON, M. (1971). Oscillator neurons in crustacean ganglia. Science 171: 1170-1173.
230. MERRILL, E. G. (1970). The lateral respiratory neurons of the medulla: their associations with nucleus ambiguus, nucleus retroambigualis, the spinal accessory nucleus and the spinal cord. Brain Res. 24: 11-28.
231. MERRILL, E. G. (1971). The descending pathways from the lateral respiratory neurons in cats. J. Physiol. (London) 218: 82P-83P.
232. MERRILL, E. G. (1974). Finding a respiratory function for the medullary respiratory neurons. In: Essays on the Nervous System, ed. by R. Bellairs and E.G. Gray. Oxford, UK: Clarendon : p.451-486.

233. MERRILL, E. G. (1979). Is there reciprocal inhibition between medullary inspiratory and expiratory neurones? In: Central Nervous Control Mechanisms in Breathing. Ed. by C. von Euler and H. Lagercrantz. Oxford, UK: Pergamon (Wenner-Gren Ctr. Int. Symp. Ser.) 32: p.239-254.
234. MERRILL, E. G. (1981). Where are the real respiratory neurones?. Federation Proc. 40: 2389-2394.
235. MERRILL, E. G., LIPSKI, J., KUBIN, L., FEDORKO, L. (1983). Origin of the expiratory inhibition of nucleus tractus solitarius inspiratory neurones. Brain Res. 263: 43-50.
236. MERRILL, E. G., FEDORKO, L. (1984). Monosynaptic inhibition of phrenic motoneurons: a long descending projection from Botzinger neurones. J. Neurosci. 4: 2350-2353.
237. MILIC-EMILI, G., PETIT, J. M. (1960). Mechanical efficiency of breathing. J. Appl. Physiol. 15: 359-362.
238. MILLER, A. J. (1982). Deglutition. Physiol. Rev. 62: 129-184.
239. MILLER, A. D., TAN, L. K., SUZUKI, I. (1987). Control of abdominal and expiratory intercostal muscle activity during vomiting: Role of ventral respiratory group expiratory group expiratory neurones. J. of Neurophysiol. 57: 1854-1866.
240. MITCHELL, R. A., LOESCHCKE, H. H., MASSION, W. H., SEVERINGHAUS, J. W. (1963). Respiratory responses mediated through superficial chemosensitive areas on the medulla. J. Appl. Physiol. 18: 523-533.
241. MITCHELL, R. A., BERGER, A. J. (1975). Neural regulation of respiration. Am. Rev. Respir. Dis. 111: 206-224.
242. MORTOLA, J. P., FISHER, J. T., SMITH, J. B., FOX, G. S., WEEKS, S., WILLS, D. (1982). Onset of respiration in infants delivered by cesarean section. J. Appl. Physiol. 52: 716-724.
243. MUELLER, R. A., LUNDBERG, D. B. A., BREESE, G. R., HEDNER, J., HEDNER, T., JONASON, J. (1982). The neuropharmacology of respiratory control. Pharmacological Reviews 34: 255-285.
244. NADEAU, R. A., COLEBATCH, H. J. H. (1965). Normal respiratory and circulatory values in the cat. J. Appl. Physiol. 20: 836-838.
245. NEWSOM DAVIS, J., PLUM, F. (1972). Separation of descending spinal pathways to respiratory motoneurons. Exp. Neurol. 34: 78-94.
246. NGAI, S. H., WANG, S. C. (1957). Organization of central respiratory mechanisms in the brainstem of the cat: localization by stimulation and destruction. Am. J. Physiol. 190: 343-349.
247. NICHOLLS, A. J., TRENCHARD, D. (1982). Arterial pH, PCO₂ and PO₂; normal values in the conscious rabbit. J. Physiol. (London) : 95P.
248. OLSEN, E. B., DEMPSEY, J. A., MCCROMMON, D. R. (1979). Serotonin and the control of ventilation in awake rats. J. of Clin. Invest. 64: 689-693.
249. ONAI, T., MIURA, M. (1986). Projections of supraspinal structures to the phrenic motor nucleus in cats studied by a horseradish peroxidase microinjection method. J. Auton. Nerv. Syst. 16: 61-77.
250. ONIMARU, H., HOMMA, I. (1987). Respiratory rhythm generator neurones in medulla of brainstem-spinal preparation from newborn rat. Brain Res. 403: 380-384.
251. ONIMARU, H., ARATA, A., HOMMA, I. (1987). Localization of respiratory rhythm-generating neurones in the medulla of brainstem-spinal cord preparations from newborn rats. Neurosci. Lett. 78: 151-155.
252. ONIMARU, H., ARATA, A., HOMMA, I. (1988). Primary respiratory rhythm generator in the medulla of brainstem - spinal cord preparation from newborn rat. Brain Res. 445: 314-324.
253. ONIMARU, H., ARATA, A., HOMMA, I. (1989). Firing properties of respiratory rhythm generating neurones in the absence of synaptic transmission in rat medulla in vitro. Exp. Brain Res. 76: 530-536.
254. OREM, J., MONTPLAISIR, J., DEMENT, W. C. (1974). Changes in the activity of respiratory neurones during sleep. J. Brain Research. 82: 309-315.
255. OREM, J. (1980). Medullary respiratory neuron activity: relationship to tonic and phasic REM sleep. J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol. 48: 54-65.
256. OREM, J., OSARIO, I., BROOKS, E., DICK, T. (1985). Activity of respiratory neurones during NREM sleep. J. Neurophysiol. 54/5: 1144-1155.

257. ORLOVSKY, G. N. (1972). The effect of different descending systems on flexor and extensor activity during locomotion. Brain Res. 40: 359-371.
258. ORSAL, D., PERRET, C., CABELGUEN, J. M. (1988). Comparison between ventral spinocerebellar and rubrospinal activities during locomotion in the cat. Behavioral Brain Research 28: 159-162.
259. OTIS, A. B., FENN, W. O., RAHN, H. (1950). Mechanisms of breathing in man. J. Appl. Physiol. 2: 592-607.
260. PALISSES, R., PERSEGOL, L., VIALA, D., VIALA, G. (1988). Reflex modulation of phrenic activity through hind limb passive motion in decorticate and spinal rabbit preparation. Neuroscience, No. 2. 24: 719-728.
261. PEARCE, R. A., STORNETTA, R. L., GUYENET, P. G. (1989). Retrotrapezoid nucleus in the rat. Neurosci. Letters 101: 138-142.
262. PHILLIPSON, E. A., MCCLEAN, P. A., SULLIVAN, C. E., ZAMEL, N. (1978). Interaction of metabolic and behavioral respiratory control during hypercapnia and speech. Am. Rev. Respir. Dis. 117: 903-909.
263. PICKARD, G. E., TUREK, F. W. (1982). Splitting of the circadian rhythm of activity is abolished by unilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei. Science 215: 1119-1121.
264. PLANCHE, D. (1972). Effects de la stimulation du cortex cerebral sur l'activite du nerf phrenique. J. Physiol. (Paris) 64: 31-56.
265. POKORSKI, M. (1976). Neurophysiological studies on central chemosensor in medullary ventrolateral areas. Am. J. Physiol 230: 1288-1295.
266. POMERANZ, B. (1973). Specific nociceptive fibers projecting from spinal cord neurons to the brain: a possible pathway for pain. Brain Res. 50: 447-451.
267. PORTER, W. T. (1895). The Path of the respiratory impulse from the bulb to the phrenic nuclei. J. Physiol. (London) 17: 455-485.
268. PORTILLO, F., PASARO, R., DELGADO-GARCIA, J.M. (1986). Spinal projections of brainstem respiratory related neurons in the cat as revealed by retrograde fluorescent markers. Revista Espanola de Fisiologia 42/4: 483-488.
269. PRESSMAN, J. J., KELEMEN, G. (1955). Physiology of the larynx. Physiol. Rev. 55: 506-554.
270. RENSCHAW, B. (1941). Influence of discharge of motoneurons upon excitation of neighboring motoneurons. J. Neurophysiol. 4: 167-183.
271. RICHTER, D. W. (1982). Generation and maintenance of the respiratory rhythm. J. exp. Biol. 100: 93-107.
272. RICHTER, D. W., BALLANTYNE, D., REMMERS, J.E. (1986). How is the respiratory rhythm generated? A model. NIPS 1: 109-112.
273. RICHTER, D. W., BALLANTYNE, D., REMMERS, J., E. (1987). The differential organization of medullary post-inspiratory activities. Pflugers Arch. 410: 420-427.
274. RIJLANT, P. (1937). Localization of the respiratory centre. J. Physiol. (London) 90: 43-45P.
275. RIKARD-BELL, G. C., BYSTRZYCKA, E. K. (1980). Localization of phrenic motor nucleus in the cat and rabbit studied with horseradish peroxidase. Brain Res. 194: 479-483.
276. RIKARD-BELL, G. C., BYSTRZYCKA, E. K., NAIL, B. S. (1984). Brainstem projections to the phrenic nucleus: an HRP study in the cat. Brain Res. Bull. 12: 469-477.
277. RIKARD-BELL, G. C., BYSTRZYCKA, E. K., NAIL, B. S. (1985a). The identification of brainstem neurones projecting to thoracic respiratory motoneurons in the cat as demonstrated by retrograde transport of HRP. Brain Res. Bull. 14: 25-37.
278. RIKARD-BELL, G. C., BYSTRZYCKA, E. K., NAIL, B. S. (1985b). Cells of origin of corticospinal projections to phrenic and thoracic respiratory motoneurons in the cat as shown by retrograde transport of HRP. Brain Res. Bull. 14: 39-47.
279. RIKARD-BELL, G. C., TORK, I., BYSTRZYCKA, E. (1986). Distribution of corticospinal motor fibres within the cervical spinal cord with special reference to the phrenic nucleus: a WGA-HRP anterograde transport study in the cat. Brain Res. 379: 75-83.
280. ROMANIUK, J. R., BUDZIŃSKA, K. (1985). Effects of midsagittal lesion of the rabbit medulla. II. Vagal modulation of respiratory activity after midsagittal lesion of medulla in rabbit. Bull. Eur. Physiopath. Resp. 21: 499-505.
281. ROSENBAUM, H., RENSCHAW, B. (1949). Descending respiratory pathways in the cervical spinal cord. Am. J. Physiol. 157: 468-476.

282. ROSS, C. A., RUGGIERO, D. A., REIS, D. J. (1985). Projections from the nucleus tractus solitarii to the rostral ventrolateral medulla. J.Comp. Neurol. 228: 511-534.
283. ROSSI, G. F., BRODAL, A. (1956). Spinal afferents to the trigeminal sensory nuclei and the nucleus of the solitary tract. Confin. Neurol. 16: 321-332.
284. RUSSELL, D. F., HARTLINE, D. K. (1982). Slow active potentials and bursting motor patterns in pyloric network of the lonster. Panulirus interrupts. J. Neurophysiol. 48: 914-937.
285. RYBA, M., M. (1991). Skurcz tętnic wewnętrznych, czy zespół skurczu w przebiegu pęknięcia tętniaka mózgu. Neurochirurgia 25/3: 371-377.
286. SADOWSKI, J. C. (1979). Neurofizjologia eksperymentalna. P.W.N. wydanie II
287. SALMOIRAGHI, G. C., BURNS, B. D. (1960a). Localization and patterns of discharge of respiratory neurones in brain-stem of cat. J. Neurophysiol. 23: 2-13.
288. SALMOIRAGHI, G. C., BURNS, D. B. (1960b). Notes on mechanism of rhythmic respiration. J. Neurophysiol. 23: 14-26.
289. SALMOIRAGHI, G. C., BAUMGARTEN, R. VON (1961). Intracellular potentials from respiratory neurones in brain-stem of cat and mechanism of rhythmic respiration. J. Neurophysiol. 24: 203-218.
290. SARIS, D., READ, E. A., SCOTT, J. C. (1948). Observations on the thoracic wall respiratory reflex. Federation Proc. 7: 108.
291. SASAKI, C. T., SUZUKI, M. (1976). Laryngeal reflexes in cat, dog and man. Arch. Otolaryngol. 102: 400-402.
292. SASAKI, C. T., BUCKWALTER, J. (1984). Laryngeal function. Am. J. Otolaryngol. 5: 281-291.
293. SĘK, S. (1978). Zastosowania metod statystycznych w badaniach klinicznych i eksperymentalnych. wyd. C.M.K.P.-Warszawa.
294. SCHIFF, J. M. (1958-1959). Lehrbuch der Physiologie des Menschen. I. Muskel- und Nervenphysiologie. Lehr, West Germany: Schauenburg.
295. SCHLAEFKE, M. E., SEE, W. R., LOESCHCKE, H. H. (1970). Ventilatory response to alternations of H⁺ ion concentration in small areas of the ventral medullary surface. Respir. Physiol. 10: 198-212.
296. SCHLAEFKE, M. E., POKORSKI, M., SEE, W. R., PRILL, R. K., LOESCHCKE, H. H. (1975). Chemosensitive neurons on the ventral medullary surface. Bull. Physiol. Pathol. Respir. 11: 277-284.
297. SEARS, T. A. (1965). The respiratory motoneurone. Integration at spinal segmental level. W materiałach Symposium on Breathlessness, ed Howell, J. and Campbell, E. J. M., Oxford: Blackwell. : 156-166.
298. SEARS, T. A. (1966). Pathways of supra-spinal origin regulating the activity of respiratory motoneurons. W Muscular Afferent and Motor Control (Nobel Symp. I) ed. Granit, R. Stockholm : Almqvist and Wiksell. : 187-196.
299. SEARS, T. A. (1977). The respiratory motoneuron and apneusis. Federation Proc. 36: 2412-2420.
300. SELIGMAN, A. M., DAVIES, W. A. (1941). The effect of some drugs on the crossed phrenic phenomenon. Am. J. Physiol. 134: 102-106.
301. SHEK, J. W., WEN, G. Y., WISNEWSKI, H. M. (1986). Atlas of the rabbit brain and spinal cord. Basel; New York: Karger.
302. SHERRINGTON, CH. (1947). The integrative action of the nervous system. New Haven Yale University Press.
303. SHIBATA, S., LIOU, S. Y., UEKI, S., OOMURA, Y. (1984). Influence of environmental light-dark cycle and enucleation on activity of suprachiasmatic neurons in slice preparations. Brain Res. 302: 75-81.
304. SIGMUND, L., RIGAMONTI, D., NAYLEN, E. (1981). Long-term functional restoration of paralyzed hemidiaphragm in the dog. Exp. Neurol. 72: 531-543
305. SMITH, J. C., FELDMAN, J. L. (1986). Role of chloride-dependent synaptic inhibition in respiratory pattern generation. Studies in an in vitro mammalian brainstem-spinal cord preparation. Fed. Proc. 45: 518.
306. SMITH, J. C., FELDMAN, J. L. (1987). In vitro brainstem-spinal cord preparations for study of motor systems for mammalian respiration and locomotion. J. Neurosci. Meth. 21: 321-333.

307. SMITH, J. C., MORRISON, D. E., ELLENBERGER, H. H., OTTO, M. R., FELDMAN, J. L. (1989). Brainstem projections to the major respiratory neuron populations in medulla of the cat. *J. Comp. Neurol.* 281: 61-96.
308. SMITH, J. C., ELLENBERGER, H. H., BALLANYI, K., RICHTER, D. W., FELDMAN, J. L. (1991). Pre-Botzinger Complex: A brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 254: 725-729.
309. SPECK, D. F., FELDMAN, J. L. (1982). The effect of microstimulation and microlesions in the ventral and dorsal respiratory groups in medulla of cat. *J. Neurosci.* 2: 744-757.
310. SPECK, D. F. (1988). Respiratory resetting induced by spinal cord stimulation in the cat. *J. Appl. Physiol.* 65/4: 1572-1578.
311. SPERRY, R. (1982). Some effects of disconnecting the cerebral hemispheres. *Science* 217: 1223-1226.
312. ST. JOHN, W. M., BARTLETT, D., JR., KNUTH, K. V., HWANG, J.-C. (1981). Brain stem genesis of automatic ventilatory patterns independent of spinal mechanisms. *J. Appl. Physiol.* 51: 204-210.
313. ST. JOHN, W. M. (1982). Independent bilateral sites for ventilatory neurogenesis. *W materiałach symposium "Central Neural Production of Periodic Respiratory Movements, Lake Bluff Illinois. : 167-168.*
314. ST. JOHN, W. M. (1983). Independent brain stem sites for ventilatory neurogenesis. *J. Appl. Physiol.* 55: 433-439.
315. ST. JOHN, W. M., BLEDSOE, T. A. (1985). Genesis of rhythmic respiratory activity in pons independent of medulla. *J. Appl. Physiol.* 59: 684-690.
316. STELLA, G. (1938a). On the mechanism of production, and the physiological significance of "apneusis". *J. Physiol. (London)* 93: 10-23.
317. STELLA, G. (1938b). The dependence of the activity of the "apneustic centre" on the carbon dioxide of the arterial blood. *J. Physiol. (London)* 93: 263-275.
318. SUTTON, D., TAYLOR, E. M., LINDEMAN, R. C. (1978). Prolonged apnea in infant monkeys resulting from stimulation of superior laryngeal nerve. *Pediatrics* 61: 519-527.
319. SUZUE T. (1984). Respiratory rhythm generation in the in vitro brain stem-spinal cord preparation of the neonatal rat. *J. Physiol. (London)* 354: 173-183.
320. SYLWANOWICZ, W. (1974). *Anatomia Człowieka wyd. II PZWL.*
321. TABER, E. (1961). The cytoarchitecture of the brainstem of the cat. Brain stem nuclei of cat. *J. Comp. Neurol.* 116: 27-52.
322. TAKADA, M., ITOH, K., YASUI, Y., MITANI, A., NOMURA, S., MIZUNO, N. (1984). Distribution of premotor neurons for the hypoglossal nucleus in the cat. *Neuroscience Letters, Elsevier Sci. Publ., Ireland Ltd.* 52: 141-146.
323. TRACZYK, W. Z., TRZEBSKI, A. (EDS.) (1989, 1990). *Fizjologia Człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej. tom I i II, wyd.II. P.Z.W.L. .*
324. TRENCHARD, D. (1977). Role of pulmonary stretch receptors during breathing in rabbits, cats, and dogs. *Respir. Physiol.* 29: 231-246.
325. ULLAH, M. (1978). Localization of the phrenic nucleus in the spinal cord of the rabbit. *J. Anat.* 125: 377-386.
326. VAN LUNTEREN, E., STROHL, K. P., PARKER, D. M., BRUCE, E. N., VAN DE GRAAFF (1984). Phasic volume-related feedback on upper airway muscle activity. *J. Appl. Physiol.* 56/3: 730-736.
327. VIALA, D., VIDAL, C. (1978). Evidence for distinct spinal locomotion generators supplying respectively fore- and hindlimbs in the rabbit. *Brain Res.* 155: 182-186.
328. VIALA, D., VIDAL, C., FRETON, E. (1979). Coordinated rhythmic bursting in respiratory and locomotor muscle nerves in the spinal rabbit. *Neurosci. Lett.* 11: 155-159.
329. VIALA, D., FRETON, E. (1983). Evidence for respiratory and locomotor pattern generators in the rabbit cervico-thoracic cord and for their interactions. *Exp. Brain Res.* 49: 247-256.
330. VIALA, D., VIALA, G., PERSEGOL, L., PALISSES, R. (1987). Changeover from alternate to synchronous bilateral pattern of the phrenic bursts entrained by fictive locomotion in the spinal rabbit preparation. *Neurosci. Lett.* 78: 318-322.
331. WADE, O. L. (1954). Movements of the thoracic cage and diaphragm in respiration. *J. Physiol. (London)* 124: 193-212.
332. WADE, O. L., GILSON, J. G. (1951). The effect of posture on diaphragmatic movements and vital capacity in normal subjects with a note on spirometry as an aid in determining radiological chest volumes. *Thorax* 6: 103-126.

333. WEBBER, Ch. L. (JR.), PLESCHKA, K. (1976). Structural and functional characteristics of individual phrenic motoneurons. Pflugers Archives 364: 113-121.
334. WEBBER, Ch. L. (JR.), PLESCHKA, K. (1983). Lack of evidence for spinal cord oscillators for breathing in decerebrate rabbits with high cervical cord cold blockade. Federation Proc. 42: 332.
335. WEBBER, Ch. L., WURSTER, R. D., CHUNG, J. M. (1979). Cat phrenic nucleus architecture as revealed by horseradish peroxidase mapping. Exp. Brain Res. 35: 395-406.
336. WINNING, A. J., WIDDICOMBE, J. G. (1976). The effect of lung reflexes on the pattern of breathing in cats. Respir. Physiol. 27: 253-266.
337. WYKE, B. D., KIRCHNER, J. A. (1977). Neurology of the larynx. Scientific foundations of Otolaryngology. Eds. Hinchcliffe i Harrison, London, Heinemann. : 546-574.
338. YAMASHIRO, S. M., DAUBENSPECK, T. N., LAURITSEN, T. N., GRODINS, F. S. (1975). Total work rate of breathing optimization in CO₂ inhalation and exercise. J. Appl. Physiol. 38: 702-709.
339. YEN, C., BLUM, P. S. (1984). Response properties and functional organization of neurons in midline region of medullary reticular formation of cats. J. of Neurophysiol. 52: 961-979.
340. YOSHIDA, Y., MIYAZAKI, T., HIRANO, M., SHIN, T., TOTOKI, T., KANASEKI, T. (1980). Localization of motoneurons supplying the circo pharyngeal muscle in the cat studied by means of the horseradish peroxidase method. Neurosci. Lett. 18: 1-4.
341. YOSHIDA, Y., MITSUMASU, T., HIRANO, M., KANASEKI, T. (1985). Somatotopic representation of the laryngeal motoneurons in the medulla of monkeys. Acta Otolaryngol. (Stockh) 100: 299-303.
342. YOUNES, M. K., REMMERS, J. E., BAKER, J. (1978). Characteristics of inspiratory inhibition by phasic volume feedback in cats. J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol. 45: 80-86.
343. ZHAN, W. Z., ELLENBERGER, H. H., FELDMAN, J. L. (1989). Monoaminergic and GABA-ergic terminations in phrenic nucleus of rat identified by immunohistochemical labelling. J. Neurosci. 31: 105-113.
344. ZIELIŃSKI, A. T., GEBBER, G. L. (1975). Basis for late expiratory spinal inhibition of phrenic nerve discharge. Am. J. Physiol. 2: 1690-1694.

8.1 INDEKS CYTOWANYCH AUTORÓW

	str.
1.	ADRIAN, E. D. (1933) 44
2.	ALEXANDER, C. (1966) 48
3.	AMINOFF, M. J., SEARS, T. A. (1971) 174
4.	AOKI, M. i wsp. (1980) 41, 42, 136
5.	AOKI, M. (1982) 136
6.	AOKI, M. i wsp. (1983a) 136
7.	AOKI, M. i wsp. (1983b) 136
8.	AOKI, M. i wsp. (1984) 136
9.	AOKI, M. i wsp. (1987) 136
10.	AOKI, M. i wsp. (1989) 136
11.	ARMIGO, A. A., FLOREZ, J. (1974) 147
12.	ARSHAVSKY, Y. I. i wsp. (1988) 174
13.	BAINTON, C. R. i wsp. (1978) 33, 126
14.	BAINTON, C. R., KIRKWOOD, P. A. (1979) 33, 126
15.	BAKER, J. P., JR., REMMERS, J. E. (1980a) 176
16.	BAKER, J. P., JR., REMMERS, J. E. (1980b) 176
17.	BALLANTYNE, D., RICHTER, D. W. (1984) 20, 68
18.	BARILLOT, J. C. i wsp. (1984) 14
19.	BASSAL, M., BIANCHI, A. L. (1981) 174
20.	BATSEL, H. L. (1965) 12
21.	BAUMGARTEN, R., VON, KANZOW, E. (1958) 12
22.	BELLINGER, D. L. i wsp. (1984) 146
23.	BERGER, A. J., MITCHELL, R. A. (1976) 178
24.	BERGER, A. J. (1977) 12, 135, 137, 173
25.	BERGER, A. J. (1979) 53, 151, 159, 160, 173
26.	BERGER, A. J. i wsp. (1983) 136, 137
27.	BERGER, A. i wsp., (1984) 136, 137, 149
28.	BERTRAND, F., HUGELIN, A. (1971) 14
29.	BERTRAND, F. i wsp. (1973) 14
30.	BERTRAND, F. i wsp. (1974) 14
31.	BIANCHI, A. L. (1971) 12
32.	BIANCHI, A. L., BARILLOT, J. C. (1982) 12, 14
33.	BISCOE, T. J., SAMPSON, S. R. (1970) 45
34.	BOCHENEK, A., REICHER, M. (1981) 43, 47, 65, 126, 146
35.	BORGENDORFF, P. (1975) 11
36.	BOWKER, R. i wsp. (1987) 146
37.	BOYD, T. E., MAASKE, C. A. (1939) 21
38.	BRADLEY, G. W. i wsp. (1974) 26
39.	BRADLEY, G. W. i wsp. (1975) 19, 176
40.	BRAMBLE, D. M., CARRIER, D. R. (1983) 10
41.	BREUER, J. (1868) 44, 176
42.	BREUER, J. (1970) 44, 176
43.	BRODAL, A. (1969) 14
44.	BRODIE, D. A., BORISON, H. L. (1957) 18
45.	BRUCE, E. N. i wsp. (1982) 177
46.	BUDZIŃSKA, K., ROMANIUK, J. R. (1985) 123, 155
47.	BUDZIŃSKA, K. i wsp. (1985a) 17
48.	BUDZIŃSKA, K. i wsp. (1985b) 17
49.	BUNN, J. C., MEAD, I. (1971) 10
50.	BURNS, B. D., SALMOIRAGHI, G. C. (1960) 21, 29, 141
51.	BYSTRZYCKA, i wsp. (1971) 66
52.	BYSTRZYCKA, E. i wsp. (1972) 44
53.	BYSTRZYCKA, E., HUSZCZUK, A. (1973) 44
54.	BYSTRZYCKA, E. (1980) 14
55.	BYSTRZYCKA, E. K., NAIL, B. S. (1983) 11, 25, 40, 143
56.	CAMERON, W. E. i wsp. (1983) 52, 148, 149, 171
57.	CHANDLER, S. H., GOLDBERG, L. J. (1982) 53
58.	CIRIELLO, J. i wsp. (1981) 14
59.	CLARK, F. J., EULER, C. VON (1972) 21, 26, 176
60.	COGLIANESE, C. J. i wsp., (1977) 41
61.	COHEN, M. I. (1971) 14
62.	COHEN, F. L. (1973) 52, 53
63.	COLLE, J., MASSION, J. (1958) 174
64.	CONNELLY, C. A. i wsp. (1988) 15, 133
65.	CONNELLY, C. A. i wsp. (1990) 15, 16, 133
66.	CROSS, B. A. i wsp. 50, 177
67.	CULVER, G. A., RAHN, H. (1952) 50
68.	DAVIS, H. L. i wsp. (1956) 44
69.	DAVIS, P. J., NAIL, B. S. (1984) 14
70.	DEJOURS, P., LACAISSÉ, A. (1971) 60

71.	DELLOW, P. G., LUND, J. P. (1971)	42
72.	DONNELLY, D. F., HADDAD, G. G. (1986)	45, 88
73.	DURON, B. i wsp. (1975)	173, 174
74.	DURON, B. i wsp. (1978)	174
75.	DURON, B. (1981)	174
76.	ELDRIDGE, F. L. (1971)	42, 68
77.	ELDRIDGE, F. L. (1975)	42, 68
78.	ELDRIDGE, F. L., PAYDARFAR, D. (1989)	124, 127, 168
79.	ELLENBERGER, H. H., FELDMAN, J. L. (1988)	129, 138
80.	ELLENBERGER, H. H. i wsp. (1990)	12, 65, 111, 135, 135, 136, 137, 140, 161, 168
81.	EULER, C. VON (1972)	21
82.	EULER, C. i wsp. (1973a)	12
83.	EULER, C. i wsp. (1973b)	12
84.	EULER, C. VON, TRIPPENBACH (1976)	21
85.	EULER, C. VON (1977)	19
86.	EULER, C. VON (1983)	12
87.	EULER, C. VON (1986)	28, 182
88.	FEDORKO, L., MERRILL, E. G. (1984)	148, 160
89.	FEDORKO, L. i wsp. (1987)	160
90.	FELDMAN, J. L. (1976)	143
91.	FELDMAN, J. L., COHEN, M. I. (1978)	12, 137
92.	FELDMAN, J. L., GRILLNER, S. (1983)	10, 11, 174
93.	FELDMAN, J. L., SPECK, D. F. (1983)	12, 138
94.	FELDMAN, J. L. i wsp. (1984)	131
95.	FELDMAN, J. L. i wsp. (1985)	138
96.	FELDMAN, J. L. (1986)	13, 25, 28, 182
97.	FELDMAN, J. L. (1987)	169
98.	FELDMAN, J. L., i wsp. (1988)	10, 11
99.	FENEIS (1991)	43
100.	FINK, B., SCHOOLMAN, A. (1963)	60
101.	FLEIGER, S. (1971)	38
102.	FLOREZ, J. i wsp. (1972)	146
103.	FOLGERING, H. T. i wsp. (1976)	173, 174
104.	FOLKARD, S. i wsp. (1984)	122
105.	FURSTENBERG, A. C., MAGIELSKI, J. E. (1955)	14, 38
106.	GACEK, R. R. (1975)	14
107.	GAHWILER, B. H., DREIFUSS, J. J. (1979)	18
108.	GANDEVIA, S. C. i wsp. (1987a)	11
109.	GANDEVIA, S. C. i wsp. (1987b)	11
110.	GANDEVIA, S. C., ROTHWELL, J. C. (1987)	174
111.	GAUTHIER, P., MONTENAU, R. (1986)	173
112.	GAZZANIGA, M. S. (1970)	122
113.	GILL, P. K., KUNO, M. (1963a)	159
114.	GILL, P. K., KUNO, M. (1963b)	159
115.	GOOTMAN, P. M. i wsp. (1980)	11
116.	GOSHGARIAN, H. G., RAFOLS, J. A. (1984)	149, 174
117.	GRILLNER, O. (1977)	174
118.	GRILLNER, S. (1979)	174
119.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1973)	65
120.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1976a)	65, 135
121.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1976b)	65
122.	GROMYSZ, H. i wsp. (1980)	66
123.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1981a)	34, 63, 122, 128, 132, 182, 103,
124.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1981b)	34, 37, 42, 48, 63, 122, 75 127, 128, 129, 152, 182
125.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1982)	35, 36, 37, 122
126.	GROMYSZ, H. (1984)	131, 114
127.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1984)	36, 65, 141
128.	GROMYSZ, H. i wsp. (1986)	36, 37
129.	GROMYSZ, H. i wsp. (1988)	17
130.	GROMYSZ, H., KARCZEWSKI, W. A. (1990)	17
131.	GROTEK, A., ROMANIUK, J. R., RYBA, M. (1975)	44
132.	GUTH, L. (1976)	52
133.	HARDING, R., TITCHEN, D. A. (1981)	10
134.	HAST, M. H. (1977)	45
135.	HAXHIU, M. A. i wsp. (1984)	144
136.	HAXHIU, M. A. i wsp. (1986)	144
137.	HAXHIU, M. A. i wsp. (1987)	144
138.	HENNEMAN, E., SOMJEN, G., CARPENTER, D. O. (1965)	150, 173
139.	HERING, E. (1868)	44, 176
140.	HERING, E. (1970)	44, 176

141.	HILAIRE, G. i wsp. (1983a)	173, 174
142.	HILAIRE, G. i wsp. (1983b)	173
143.	HILAIRE, G., KHATIB, M., MONTEAU, R. (1983c)	173
144.	HILAIRE, G., KHATIB, M., MONTENAU, R. (1986)	174
145.	HOLSTEGE, G., KUYPERS, H.G.J.M. (1982)	138
146.	HOLTMAN, J. R., JR. i wsp. (1984a)	146
147.	HOLTMAN, J. R. i wsp. (1984b)	146
148.	HOLTMAN, J. R., DICK, T. E., BERGER, A. J. (1986)	146
149.	HUKUHARA, T. JR. (1973)	22, 131, 132, 114
150.	HUKUHARA, T. JR. (1976)	22, 114, 131, 132
151.	HWANG, J., ST. JOHN, W. M., BARTLETT, D., JR. (1983)	144
152.	IKARI, T., SASAKI, C. T. (1980)	45
153.	INOUE, S.-I., KAWAMURA, H. (1979)	122
154.	ISCOE, S., FELDMAN, J. L., COHEN, M. I. (1979)	45
155.	JANCZEWSKI, W. A., KARCZEWSKI, W. A. (1984)	168
156.	JANCZEWSKI, W. A., GRIEB, P. (1986)	124, 126, 133
157.	JANCZEWSKI, W. A. (1986a)	170
158.	JANCZEWSKI, W. A. (1986b)	159
159.	JANCZEWSKI, W. A. (1987a)	132, 115
160.	JANCZEWSKI, W. A. (1987b)	168
161.	JANCZEWSKI, W. A. (1987c)	23
162.	JANCZEWSKI, W. A., KARCZEWSKI, W. A. (1990)	168, 170
163.	JANCZEWSKI, W. A., KOSMAL, A., GLOGOWSKA, M. (1992)	161, 168, 169, 97
164.	JIANG, C., GAO, L., SHEN, E., WEI, J. Y. (1986)	12, 137
165.	JIANG, C., WU, Z.-H., SHEN, E. (1987)	67
166.	KAHN, N., WANG, S. C. (1965)	32
167.	KALIA, M. (1977)	138
168.	KALIA, M., FELDMAN, J. L., COHEN, M. I. (1979)	14, 160
169.	KALIA, M., MESULAM, M. M. (1980a)	14
170.	KALIA, M., MESULAM, M. M. (1980b)	14
171.	KALIA, M. (1981a)	12
172.	KALIA, M. P. (1981b)	12
173.	KAMINSKI, B. (ED.)	59
174.	KARCZEWSKI, W. A. i wsp. (1980a)	44, 45, 177
175.	KARCZEWSKI, W. A. i wsp. (1980b)	44, 45
176.	KARCZEWSKI, W. A., GROMYSZ, H. (1982)	39, 123, 189
177.	KARCZEWSKI, W. A. (1983)	127
178.	KAWAHARA, K., KUMAGAI, S., NAKAZONO, Y., MIYAMATO, Y. (1989)	11
179.	KAWASAKI, R. (1979)	34, 37
180.	KHATIB, M., HILAIRE, G., MONTENAU, R. (1986)	149, 174
181.	KHATIB, M., HILAIRE, G., MONTEAU, R. (1989)	149, 174
182.	KICZKA, K. (1968)	44
183.	KNOX, C. K. (1979)	21
184.	KOEPCHEN, H. P. (1983)	10
185.	KRAUTER, F. (1977)	138
186.	KREIDL, A. (1899)	28, 36, 37
187.	KUBIN, L., LIPSKI, J. (1979)	176
188.	KUBIN, L. (1981)	38, 143
189.	KUBIN, L. (1983)	37, 38
190.	KUBIN, L., LIPSKI, J., TRZEBSKI, A. (1987)	28, 37, 38, 39
191.	KUBIN, L., ROMANIUK, R. (1988)	136
192.	KUNO, S. T. (1986)	176
193.	KUYPERS, H.G.J.M., MAISKY, V. A. (1977)	138
194.	LALLEY, P. M. (1982)	146
195.	LALLEY, P. M. (1984)	146
196.	LALLEY, P. M. (1986a)	146
197.	LALLEY, P. M. (1986b)	146, 146
198.	LAMBERT, G. A. i wsp. (1978)	147
199.	LANGENDORFF, O. (1879)	28
200.	LANGENDORFF, O., NITSCHMANN, R. (1880)	28, 182
201.	LANGENDORFF, O., NITSCHMANN, R., WITZACK, H. (1881)	28, 37, 122, 127, 182, 75
202.	LARRABEE, M. G., HODES, R. (1948)	21
203.	LAWN, A. M. (1966)	14
204.	LAWSON, E. E. (1981)	45, 88
205.	LEDOUX, J., WILSON, D. H., GAZZANIGA, M. S. (1977)	122
206.	LEGENDRE, P., MCKENZIE, J. S., DUPONY, B., VINCENT, J. D. (1985)	18
207.	LEVITZKY, M. G. (1981)	24
208.	LEWIS, L. J., BROOKHART, J. M. (1951)	51, 154
209.	LIPSKI, J., MERRILL, E. G. (1980)	14, 131, 160
210.	LIPSKI, J., FYFFE, R. E., JODKOWSKI, J. (1985)	149, 174
211.	LIPSKI, J., DUFFIN, J. (1985)	137
212.	LIPSKI, J., DUFFIN, J. (1986)	136
213.	LIPSKI, J. A., BEKTAS, A., PORTER, R. (1986)	174
214.	LOESCHCKE, H. H. (1973)	141

215.	LOEWY, A. D., BURTON, H. (1978)	12
216.	LUMSDEN, T. (1923a)	131, 114
217.	LUMSDEN, T. (1923b)	114, 131
218.	LUNDBERG, D., MUELLER, R. A., BREESE, G. R. (1980)	146, 147
219.	LUSCHEL, E. S., GOLDBERG, L. J. (1982)	10
220.	MANABE, M., EZURE, K. (1988)	14, 161
221.	MANCIA, M. (1969)	32, 33, 144
222.	MASSION, J., MEULDERS, M., COLLE, J. (1960)	10
223.	MASSION, J. (1976)	10
224.	MATHEW, O. P., ABU-OSAB, Y. K., THACH, B. T. (1982)	46, 88
225.	MAYERS, R. E., SPERRY, R. W. (1953)	122
226.	MCCRIMMON, D. R., LALLEY, P. M. (1982)	147
227.	MEESSEN, H., OLSZEWSKI, J. (1949)	17, 66, 74, 76
228.	MEAD, J. (1960)	51
229.	MENDELSON, M. (1971)	18
230.	MERRILL, E. G. (1970)	12, 114
231.	MERRILL, E. G. (1971)	129, 138, 148, 149
232.	MERRILL, E. G. (1974)	12, 114, 129, 135, 138, 148, 149, 160
233.	MERRILL, E. G. (1979)	12, 114, 135, 136, 138
234.	MERRILL, E. G. (1981)	12, 130, 138
235.	MERRILL, E. G., LIPSKI, J., KUBIN, L., FEDORKO, L. (1983)	160
236.	MERRILL, E. G., FEDORKO, L. (1984)	14, 159, 159, 160
237.	MILIC-EMILI, G., PETIT, J. M. (1960)	51
238.	MILLER, A. J. (1982)	10
239.	MILLER, A. D., TAN, L. K., SUZUKI, I. (1987)	10
240.	MITCHELL, R. A. i wsp. (1963)	141
241.	MITCHELL, R. A., BERGER, A. J. (1975)	17
242.	MORTOLA, J. P. i wsp. (1982)	22
243.	MUELLER, R. A. i wsp. (1982)	146
244.	NADEAU, R. A., COLEBATCH, H. J. H. (1965)	60
245.	NEWSOM DAVIS, J., PLUM, F. (1972)	136
246.	NGAI, S. H., WANG, S. C. (1957)	131, 132, 114
247.	NICHOLLS, A. J., TRENCHARD, D. (1982)	60
248.	OLSEN, E. B., DEMPSEY, J. A., MCCROMMON, D. R. (1979)	146
249.	ONAI, T., MIURA, M. (1986)	135, 140, 143, 162
250.	ONIMARU, H., HOMMA, I. (1987)	15
251.	ONIMARU, H., ARATA, A., HOMMA, I. (1987)	14, 15, 18, 133
252.	ONIMARU, H., ARATA, A., HOMMA, I. (1988)	14, 15, 18, 133
253.	ONIMARU, H., ARATA, A., HOMMA, I. (1989)	14, 15, 18, 19, 133, 134
254.	OREM, J., MONTPLAISIR, J., DEMENT, W. C. (1974)	23
255.	OREM, J. (1980)	22
256.	OREM, J., OSARIO, I., BROOKS, E., DICK, T. (1985)	23
257.	ORLOVSKY, G. N. (1972)	175
258.	ORSAL, D., PERRET, C., CABELGUEN, J. M. (1988)	174
259.	OTIS, A., B., FENN, W. O., RAHN, H. (1950)	51
260.	PALISSES, i wsp. (1988)	11
261.	PEARCE, R. A., STORNETTA, R. L., GUYENET, P. G. (1989)	15
262.	PHILLIPSON, E. A. i wsp. (1978)	10
263.	PICKARD, G. E., TUREK, F. W. (1982)	122
264.	PLANCHE, D. (1972)	174
265.	POKORSKI, M. (1976)	141
266.	POMERANZ, B. (1973)	173
267.	PORTER, W. T. (1895)	52, 149
268.	PORTILLO, F. i wsp. (1986)	136, 137
269.	PRESSMAN, J. J., KELEMEN, G. (1955)	45
270.	RENSHAW, B. (1941)	149, 174
271.	RICHTER, D. W. (1982)	19, 161, 162
272.	RICHTER, D. W., BALLANTYNE, D., REMMERS, J. E. (1986)	19
273.	RICHTER, D. W., BALLANTYNE, D., REMMERS, J., E. (1987)	20, 162
274.	RIJLANT, P. (1937)	28, 29, 37
275.	RIKARD-BELL, G. C., BYSTRZYCKA, E. K. (1980)	161, 167, 168
276.	RIKARD-BELL, G. C. i wsp. (1984)	136, 137, 137, 138, 140
277.	RIKARD-BELL, G. C. i wsp. (1985a)	187, 137, 138, 140
278.	RIKARD-BELL, G. C. i wsp. (1985b)	174
279.	RIKARD-BELL, G. C., TORC, I., BYSTRZYCKA, E. (1986)	174
280.	ROMANIUK, J. R., BUDZIŃSKA, K. (1985)	126
281.	ROSENBAUM, H., RENSCHAW, B (1949)	51
282.	ROSS, C. A. i wsp. (1985)	15
283.	ROSSI, G. F., BRODAL, A. (1956)	173
284.	RUSSELL, D. F., HARTLINE, D. K. (1982)	18
285.	RYBA, M. i wsp. (1991)	125
286.	SADOWSKI, J. C. (1979)	66
287.	SALMOIRAGHI, G. C., BURNS, B. D. (1960a)	29, 141
288.	SALMOIRAGHI, G. C., BURNS, D. B. (1960b)	29, 30, 31, 32, 36, 126, 141, 183

289.	SALMOIRAGHI, G. C., BAUMGARTEN, R. VON (1961)	141
290.	SARIS, D., READ, E. A., SCOTT, J. C. (1948)	51
291.	SASAKI, C. T., SUZUKI, M. (1976)	39, 45
292.	SASAKI, C. T., BUCKWALTER, J. (1984)	45, 48, 178
293.	SEK, S. (1978)	105
294.	SCHIFF, J. M. (1958-1959)	182
295.	SCHLAEFKE, M. E. i wsp. (1970)	141
296.	SCHLAEFKE, M. E. i wsp. (1975)	141
297.	SEARS, T. A. (1965)	24, 25
298.	SEARS, T. A. (1966)	33
299.	SEARS, T. A. (1977)	114
300.	SELIGMAN, A. M., DAVIES, W. A. (1941)	51
301.	SHEK, J. W. i wsp. (1986)	66, 74
302.	SHERRINGTON, CH. (1947)	178
303.	SHIBATA, S. i wsp. (1984)	122
304.	SIGMUND, L. i wsp. (1981)	52
305.	SMITH, J. C., FELDMAN, J. L. (1986)	22
306.	SMITH, J. C., FELDMAN, J. L. (1987)	22
307.	SMITH, J. C. i wsp. (1989)	15, 17, 133
308.	SMITH, J. C. i wsp. (1991)	14, 15, 19, 134, 169
309.	SPECK, D. F., FELDMAN, J. L. (1982)	131, 135
310.	SPECK, D. F. (1988)	67, 131, 173
311.	SPERRY, R. (1982)	122
312.	ST. JOHN, W. M. i wsp. (1981)	41
313.	ST. JOHN, W. M. (1982)	37
314.	ST. JOHN, W. M. (1983)	38, 126
315.	ST. JOHN, W. M., BLEDSOE, T. A. (1985)	41, 114
316.	STELLA, G. (1938a)	131, 114
317.	STELLA, G. (1938b)	114, 131
318.	SUTTON, D. wsp.	45
319.	SUZUE T. (1984)	18
320.	SYLWANOWICZ, W. (1974)	49
321.	TABER, E. (1961)	14, 17, 25
322.	TAKADA, M. i wsp. (1984)	11, 25, 143
323.	TRACZYK, W. Z., TRZEBSKI, A. (EDS.)	19, 22, 142, 162
324.	TRENCHARD, D. (1977)	44
325.	ULLAH, M. (1978)	168, 97
326.	VAN LUNTEREN, E. i wsp. (1984)	144, 176
327.	VIALA, D., VIDAL, C. (1978)	41, 42, 174
328.	VIALA, D. i wsp. (1979)	41, 42, 174
329.	VIALA, D., FRETON, E. (1983)	41, 42
330.	VIALA, D. i wsp. (1987)	155
331.	WADE, O. L. (1954)	49
332.	WADE, O. L., GILSON, J. G. (1951)	50
333.	WEBBER, Ch. L. (JR.)	149, 174
334.	WEBBER, Ch. L. (JR.), PLESCHKA, K. (1983)	41
335.	WEBBER, Ch. L. i wsp. (1979)	167
336.	WINNING, A. J., WIDDICOMBE, J. G. (1976)	44
337.	WYKE, B. D., KIRCHNER, J. A. (1977)	38
338.	YAMASHIRO, S. M. i wsp. (1975)	44
339.	YEN, C., BLUM, P. S. (1984)	146
340.	YOSHIDA, Y. i wsp. (1980)	14
341.	YOSHIDA, Y. i wsp. (1985)	14
342.	YOUNES, M. K. i wsp. (1978)	176
343.	ZHAN, W. Z., ELLENBERGER, H. H., FELDMAN, J. L. (1989)	146, 160
344.	ZIELINSKI, A. T., GEBBER, G. L. (1975)	159