

**SOLUNUMSAL UZUN SÜRELİ FASILİTASYONUN SİNYAL MEKANİZMALARI
SIGNALLING MECHANISMS OF VENTILATORY LONG TERM FACILITATION**

K. Erdem BAŞARAN¹, Sacide YILDIZ¹, Sami AYDOĞAN¹

¹ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı

ÖZET

Aralıklı hipoksi, solunumsal motor çıktı cevabının genliğinde kalıcı bir artış olarak bilinen uzun süreli fasilitasyona (LTF) neden olur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar solunumsal plastisiteye sebep olan hücre içi sinyal yollarını ve bununla ilgili deneysel modeller üzerinde odaklanmıştır. LTF aralıklı hipoksi sonrasında oluşurken, sürekli hipoksi ile oluşmaz. Birçok hücre içi sinyal yollarının solunumsal LTF'e sebep olabileceği aydınlatılmıştır. Bu yollar temel olarak serotonin bağımlı Gq ('Q' yolağı) ve serotonin bağımsız Gs ('S' yolağı) olarak ifade edilen metabolik protein çifti reseptörlerini aktive eder. LTF oluşumuna neden olan yolların biyolojik önemi henüz kesin olarak bilinmemektedir. Bu derlemede LTF oluşumuna neden olan sinyal yollarını ve bu yollar arasındaki etkileşimler tartışılmıştır. Bu mekanizmaları veya etkileşimleri anlamak, solunum yetmezliği ve diğer motor fonksiyon bozuklukları olan hastaların tedavisinde yeni yöntemlerin gelişmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Aralıklı hipoksi, plastisite, uzun süreli fasilitasyon (LTF), solunum, sinyal yollarını

GİRİŞ

Yaşam boyunca merkezi sinir sistemi (MSS), solunum kaslarının kontraksiyonunu ve solunum aktivasyonunu tetikleyen sürekli ritmik bir motor sinir çıktısı üretir. Bu kritik homeostatik davranışı yöneten nöral ağ solunumsal motor sinir çıktısını değiştiren çevresel veya vücut içerisindeki değişikliklere uyum sağlamak için önemli bir elastik özellik gösterir. Kısa zaman aralıklarında solunumun kontrol sistemi öncelikli olarak duysal reseptörlerin negatif geri bildirim sistemi üzerinden kontrol edilir (1). Solunumu kontrol eden sistemin tek başına negatif geri bildirim ile kontrolü sağlansa da, solunum ritminin oluşumu ve aktivasyonuna uygun olmayan refleksler nedenleriyle bu kontrol sistemi bozulabilir (2). Solunum yetmezliği gibi durumlarda bu negatif kontrol sistemlerinin bozulmasıyla oluşan solunumdaki düzensizliklerin dengelenmesinde vücut yeterli kadar başarılı olamamaktadır. Solunum aktivasyonunda bu başarısızlıkların tekrarlanması, sürekli veya kalıcı olması, solunumu kontrol eden nöral sistemin

ABSTRACT

Intermittent hypoxia elicits long term facilitation (LTF) known as a persistent augmentation of respiratory motor output. Considerable recent progress has been made toward an understanding of the mechanisms of this potentially model of respiratory plasticity. LTF is elicited by intermittent but not sustained hypoxia. Multiple intracellular pathways have been elucidated that are capable of giving rise to respiratory LTF. They mainly activate the metabolic receptors coupled to Gq ('Q' pathway) and Gs ('S' pathway) proteins. The biological significance of multiple pathways to LTF is still not clearly known. This review will discuss the possibility that interactions between pathways confer properties to LTF, including pattern sensitivity. Understanding these mechanisms and their interactions may enable us to understand plasticity as a treatment for patients with ventilatory impairment or other motor deficits.

Key words: Intermittent hypoxia, plasticity, long term facilitation (LTF), respiration, signal pathways

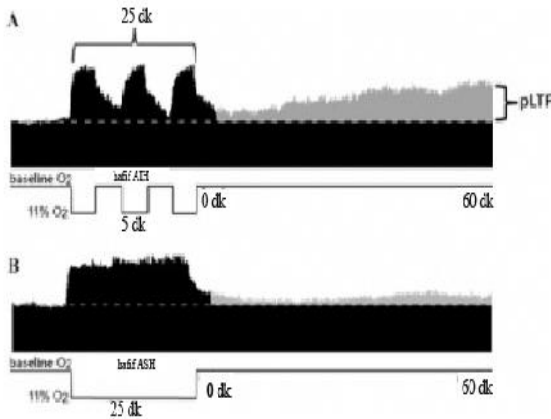
davranışındaki değişikliğe karşı bir plastisite oluşturmaktadır. Bu nedenle solunumun kontrol sisteminin de dâhil olduğu sinir sisteminin plastisite özelliği homeostatik düzenlemeyi tetikleyen nöral sistemin kilit bir özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Solunumun kontrolünde yer alan plastisite, merkezi ve periferel kemoreseptörlerde (3), solunum kaslarının aktivasyonunu sağlayan spinal kord (4) ve beyin sapı (5) seviyelerinde tanımlanmıştır.

Öncelikle solunum davranışının plastisitesine neden olan ve aralıklı hipoksi (AH) tarafından indüklenen uzun süreli fasilitasyon (LTF) oluşumu, deney hayvanlarında ve insanlar üzerindeki deneysel modellerle anlatılmıştır. Bunun ardından ise aynı fizyolojik uyarana (hipoksi) karşı oluşan plastisitenin farklı moleküler ve hücre içi sinyal yollarının nasıl oluştuğu açıklanarak, cinsiyet, yaş ve genetik faktörlerin bu durumu nasıl etkilediği üzerinde durulmuştur.

Corresponding Author: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN
Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD, Kayseri
Email: aydogans@erciyes.edu.tr
Tel: 0352 207 66 66-23202

Akut Aralıklı Hipokside Deneysel LTF Oluşum Modelleri

Solunumsal plastisitenin en iyi bilinen modeli, aralıklı hipoksiye akut olarak maruz kalınmasının ardından hipoksiye karşı solunumun yanıtı olarak frenik motor sinir çıktısının genliğinin uzun bir süre (>1 saat) içerisindeki artışıdır. Bu artış frenik uzun süreli fasilitasyon (pLTF) olarak ifade edilir. Akut aralıklı hipoksi (AAH) klasik olarak arteriyel parsiyel oksijen basıncının (P_{aO_2}) 35-45 mmHg aralığında olan bir durumunu yansıtır (6,7). Aralıklı hipoksi, solunumun nöral kontrolündeki plastisitenin özgül serotonin (5-HT) bağımlı mekanizmanın aktivasyonuna neden olur (8). Bugüne kadar yapılan çalışmalar MSS'de oluşan plastisitenin, sürekli hipoksi ile değil, aralıklı hipoksi ile oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca güncel çalışmalarda aralıklı hipoksinin dakikalardan günlere kadar değişen farklı zaman süreçlerinde indüklediği plastisiteye neden olan iki ayrı formunu ele alınmıştır. Bunlardan ilki; üç ile on kez arasında değişen hipoksi epizodlarına maruz kalınmasının sonucu olarak hipoksik uyarılara karşı frenik motor sinir çıktı cevabının uzun süreli fasilitasyonudur. İkincisi ise; kronik aralıklı hipoksinin (KAH) bir sonucu olarak frenik sinir genliğindeki artımdır. Bu iki aralıklı hipoksi modelinde, zaman süreçleri ve gen transkripsiyonu gereksinimleri farklı olsa da aynı hipoksik epizotların başlatılması ile gerçekleşmektedir (9,10). Şekil 1A'da anestezi altındaki sıçanlarda üç kısa hipoksi epizotunu takiben frenik LTF oluşumu şematize edilmiştir (6,10). Bu modele göre AAH'yi takiben, son hipoksik epizotdan 60 dakika sonra frenik sinir genliğinde kalıcı bir artış olup pLTF, bu uzun süreli artışı ifade etmek için kullanılır. pLTF oluşumuna Şekil 1B' de gösterildiği üzere akut sürekli hipoksinin (ASH) toplamda aynı süre içerisindeki tek bir periyodu ile değil, aralıklı hipoksi periyotlarının neden olduğu görülmektedir (7). Zaman bağımlı bu çalışmalara ek olarak beşer dakikalık hipoksi epizotlarının 30'ar dakikalık aralıklarla uygulanmasıyla oluşturulan bir deney modelinde ise LTF oluşumunun uyarılmadığı gözlemlenmiştir (11).



Şekil 1. Frenik uzun süreli fasilitasyonun oluşumunda kullanılan hipoksi modellerinin duyarlılığı gösterilmiştir. pLTF hafif şiddetteki akut aralıklı hipoksi sonrası oluşurken akut sürekli hipoksi ile oluşmaz. (A) Akut aralıklı hipoksi nöbetlerinden 60 dakika sonra frenik sinir genliğinde artma olur. (B) Aynı süredeki akut sürekli hipoksi nöbetini takip eden 60. dakikada frenik sinir genliğinde çok az bir artma olur. Bu da LTF oluşumunun aralıklı hipoksi ile indüklendiğini göstermektedir (12).

LTF oluşumunu göstermek için yapılan ilk deneysel çalışmalardan biri Millhorn ve ark. (13) anestezi altında, vagotomize, paralize ve yapay olarak ventilasyonu sağlanmış kedilerde yaptıkları çalışmadır. Bu çalışma epizodik karotid sinus sinir (CSN) stimülasyonunun frenik motor sinir çıktısının genliğinin uyarılara cevabında uzun bir süreç içerisinde artmaya neden olduğunu göstermiştir. Bu konu hakkında daha sonra yapılan bir çalışmada ise aynı koşullar altındaki sıçanlarda (10) tekrarlayan CSN stimülasyonunun pLTF oluşumuna neden olduğu ve kedilerde (14) inspiratuar interkostal sinirde LTF oluşumu gösterilmiştir. Fakat bu çalışmalarda kullanılan deneysel modellerin protokolleri yüksek frekansta (25Hz) CSN stimülasyonunu gerektirmiştir. Bu olay hipoksi boyunca karotid afferent sinir deşarj frekanslarının fizyolojik sınır aralığının çok üzerinde olması anlamına gelmektedir (15). Bu yüzden LTF oluşumunu uyarmak için deney modeli olarak aralıklı hipoksinin kullanılması fizyolojik olarak daha anlamlıdır.

Kısaca LTF oluşumu; aralıklı hipoksiye maruz kalındıktan sonra motor çıktı cevabının kalıcı artışı ile karakterize edilir ve LTF aralıklı hipoksi sonrası normal koşullara dönüşmesini takiben en az 60 dakikalık bir süreden sonra kademeli ve kalıcı olarak artar (16). AAH tarafından artırılan tonik ve düzenlenen solunumsal aktivitenin her ikisi de sempatik sinir sistemi içerisinde LTF oluşumuna neden olmaktadır (17). Mitchell ve ark. (6) üç kez, beşer dakikalık hiperoksik aralarla bölünmüş (solunan havadaki oksijen fraksiyonu; $F_{iO_2}=0.50$), beşer dakikalık hipoksik epizotlar ile indüklenen, vagotomize, paralize ve yapay olarak solunumu sağlanmış sıçanlarda çalışmışlar ve aralıklı hipoksik nöbetleri uyaran olarak kullanarak pLTF ve hipoglossal LTF oluşumunu ilk defa rapor etmişlerdir. AAH tarafından uyarılan solunumsal LTF (vLTF) ise bilinci açık, spontan nefes alan, serbestçe hareket eden hayvanlarda pletismografi ile dakikada yaptıkları ventilasyonları ölçülerek çalışılmıştır. Bu durumda da frenik ve hipoglossal LTF oluşumlarının toplamı gösteren vLTF'in de AAH tarafından uyarıldığı gözlemlenmiştir (18). Bugüne kadar vLTF oluşumu köpekler (19), keçiler (20), ördekler (21), tavşanlar (22), sıçanlar (23) ve fareler (24) üzerinde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bütün bu veriler birlikte ele alındığında spesifik zamansal bir model ile aralıklı hipoksi tarafından indüklenen pLTF ve vLTF oluşumu için zorunlu olduğu görülmüştür.

İnsanlarda solunumun motor aktivitesinde LTF oluşumunu incelemek için yapılan ilk çalışmalarda, sağlıklı insanlarda on kez ikişer dakikalık izokapnik hipoksi periyotları (arteriyel oksijen saturasyonu; % 80-84) arasına iki dakikalık normoksik koşullarda (inspire edilen oksijen fraksiyonu; $F_{iO_2}=0.21$) toparlanma süresi (veya reoksijenizasyon süresi) koyarak uyanık, bilinci yerinde sağlıklı gönüllülerde LTF oluşumu tanımlanmıştır (25,26). Buna benzer çalışmalarda kullanılan protokol ile dakikadaki ventilasyonla eş zamanlı olarak diyafragmatik aktivite veya genioglossus kas aktivitesi gözlemlenmiş ve LTF oluşumu görülmemiş ve de hipoksi süresinin (dört dakika) artması da LTF oluşumuna neden olmamıştır (27,28). Bu bulguların aksine solunumsal LTF oluşumu uyuyan insanlarda, özellikle horlayan ve uyku boyunca inspiratuar hava akımı sınırlaması bulunan hastalarda kanıtlanmıştır (29,30). Ayrıca obst-

rüktif uyku apnesi (OSA) olan kişilerde de LTF oluşumu gözlenmiştir (31). Mateika ve ark. (28) ise yaptıkları çeşitli araştırmalarda normal insanlarda solunumsal LTF oluşumunun AAH'yi takiben düşük plazma karbondioksit seviyesi ile sınırlandırıldığını göstermişlerdir. Karbondioksit basıncının yaklaşık 5 mmHg üzerine çıkmasıyla oluşan hiperkapni durumunda, sağlıklı erkek ve kadınlarda, ayrıca bu bireyler arasında uyku apnesi olanlarda, solunumsal LTF hem ventilasyonda hem de genioglossus kas aktivitesinde oluşmuştur (32-34). Solunumun hipoksiye verdiği cevap hipoksik uyarımın modeline bağlıdır. Bu cevap, nörotransmitter salınımının artışı gibi sinaptik aktiveyi geçici olarak değiştiren kısa zamanlı etkilerle veya solunum kontrol ağındaki reseptör modifikasyonu ve yeni protein sentezi gibi uzun zamanlı etkilerle değişmektedir (35). Bu durum solunumun kontrol sistemi içerisinde nöroplastisiteye örnek olarak gösterilmektedir (1). Özellikle LTF oluşumunu çözmeye yönelik son yıllarda yapılan çalışmalar birden fazla sinyal yolağının ventilasyondaki aynı değişikliklere sebep olabileceğini anlatmaktadır. Farklı mekanizmaların türlere göre farklı zamanlarda aktive olduğu veya ortadan kalktığı, hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (36). Değişen koşullara solunumun nasıl adapte olduğunun açıklanması ve belli bir zaman aralığında hipoksi süresinin tanımlanması plastisite oluşumuyla ilgili sinyal yolları konusundaki belirsizlikleri açıklığa kavuşturacaktır (37).

2. LTF Oluşumundaki Sinyal Mekanizmaları

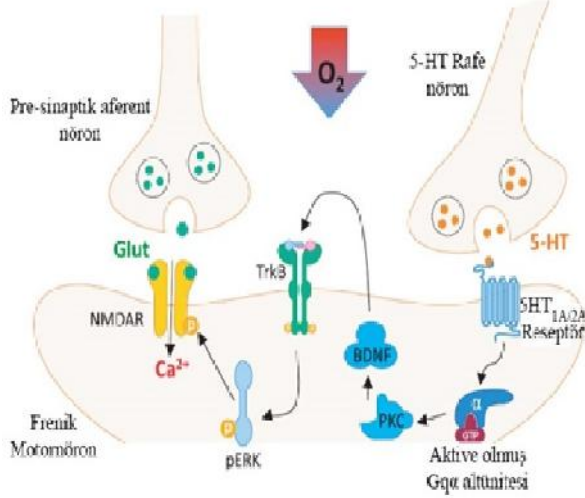
2.1. Serotonine Bağımlı LTF Mekanizması

Uyanık ve anestezi altındaki değişik hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda LTF, hem bazal ventilasyondaki artma hem de frenik sinir aktivitesi gelişiminin artması olarak gözlenmiştir (9,21,24,38). Solunumsal LTF (vLTF) oluşumu uyku-uyanıklık durumlarına, türlere ve hipoksiyi indükleyen protokollere bağlıdır (36,39). Yapılan çalışmalar vLTF oluşumunun genioglossal, hipoglossal ve interkostal motor cevapları ile frenik sinir cevabının oluşturduğu toplam plastisiteyi düşündürmektedir (14,39,40). LTF' e sebep olan nörokimyasal mekanizmayla ilgili çalışmalarının çoğu anestezi altındaki deneysel hayvan modelleri kullanarak LTF oluşumuna odaklanmıştır. LTF oluşumu ile ilgili araştırmalarda ilk olarak serotonin bağımlı mekanizma bildirilmiştir (41). Bugüne kadar serotonin tip 2 reseptör (5-HT₂R) aktivasyonunun aralıklı hipoksi sonrasında değil, aralıklı hipoksi boyunca solunumsal LTF ve frenik LTF için primer sinyal mekanizması olduğu düşünülmüştür (42-44). Deneysel kanıtlar, genel 5-HT₂R antagonisti olan metiserjid (6) veya spesifik 5-HT₂R antagonisti olan ketanserin (45-47) kullanıldığında, 5-HT₂R blokajı oluşturularak, aralıklı hipoksi tarafından indüklenen frenik LTF veya CSN stimülasyonunu önlediğini göstermiştir. Aynı zamanda serotonin biyosentezini sınırlamak için kullanılan triptofan hidroksilaz inhibitörü (paraklorofenilalanin) ve serotonerjik nörotoksin (5,7-dihidroksitriptamin) uygulanması ile de LTF oluşumu azaltılmıştır. LTF için 5-HT₂ reseptörü üzerinden moleküler sinyal yolağı modeli Şekil 2'de gösterilmiştir.

Serotonin bağımlı bu sinyal yolağının aktivasyonu için öncelikle aralıklı hipoksi, frenik sinir motor nöronlarının yakınında 5-HT salgılanmasını sağlayan medulla üzerindeki serotonerjik rafe nükleus nöronlarını aktive eder. Ayrıca karotid sinus siniri elektriksel olarak stimüle edildiğinde (48) 5-HT salınımı ölçülerek hipoksi ile birlikte oluştuğuna dair de güçlü kanıtlar bulunmaktadır (49-53). Daha sonra 5-HT, yeni protein sentezini başlatmak için protein kinazları ve glutamaterjik nörotransmisyonu arttırmak için sinyal mekanizmasının çeşitli alt sinyal yolağını aktive eder (46,54,55). Muhtemelen bu olay diğer glutamaterjik sistemlerde tanımlandığı gibi presinaptik girdinin sensitivitesini yükseltmek için glutamat reseptörlerinin, postsinaptik membrana eklenmesini ve/veya fosforillenmesini de içerir (56-58). 5-HT₂R'lerinin epizodik aktivasyonları, spinal kord içerisindeki frenik motor nöronların yakınında beyinden salgılanan nörotrofik faktörün (BDNF) sentezine yol açar. Bunu destekleyen kanıtlar, tek bir intratekal BDNF enjeksiyonu uygulamasının hipoksik bir stimulus olmadan LTF oluşumunu indüklediğini göstermiştir. Ayrıca BDNF translyasyonunun ve protein sentezinin RNA interferaz ile bloklanması gibi uygulamalarla hipoksi tarafından indüklenen LTF' i ortadan kaldırdığı ileri sürülmüştür (54). BDNF uyarılması, yüksek afiniteli BDNF reseptörü olan tirozin kinazları (TrkB; tropomiyozin reseptör kinaz B) aktive eder ve bu da ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlar olan MAP kinaz 1 ve 2'nin (ERK1/2) aktive olmasıyla sonuçlanır (54,59,60). ERK1/2 diğer sistemlerde glutamaterjik reseptör fosforilasyonunu ve/veya postsinaptik membrandaki reseptör yoğunluğunu düzenler ve bu da muhtemelen frenik LTF oluşumu ile sonuçlanır (46,47,61). Aralıklı hipoksiye maruz kalınması LTF oluşumunu indüklemek için gerekli olmasına rağmen çok miktarda tek BDNF enjeksiyonu, LTF' i aktive etmesi için yeterli olması da ilginç bir durumdur. Sürekli hipoksinin başlaması LTF oluşumunu indüklemek için yetersiz olduğu gibi, aralıklı hipoksinin ilk nöbeti ile BDNF seviyesindeki artış da LTF oluşumu için yetersizdir. Fakat çok sayıda hipoksik kısa nöbetin BDNF yapımını arttırması bu durumdan farklı olarak LTF oluşumuna nasıl neden olduğu halen bilinmemektedir.

Akut aralıklı hipoksi durumundan farklı olarak kronik aralıklı hipoksi ile artan frenik LTF, hipoksik stimulus ile hem yükselmiş karotid organ kemoreseptör cevabını (duyusal LTF), hem de solunumsal hipoksik cevaba MSS'nin veriminin artmasını içerir (62). Kronik aralıklı hipoksi, LTF oluşum yolağına aracılık eden yeni protein sentezine ve frenik LTF'in artmasını indükler (47,62). Kronik aralıklı hipoksi sonrası oluşan frenik LTF oluşumu da akut aralıklı hipokside olduğu gibi 5-HT₂R' lerinin aktivasyonuna bağlıdır. Fakat kronik aralıklı hipokside frenik LTF'deki artış akut aralıklı hipoksi ile kıyaslandığında 5-HTR'lerinin farklı alt tiplerinin merkezi (karotid organ ile kıyaslı) etkisiyle oluştuğu görülmektedir. Bu bulgu LTF oluşumunun birçok mekanizma ile düzenlendiğinin kanıtıdır (47). LTF oluşum mekanizması solunumsal motor nöronlar üzerindeki sinapslarda henüz kesin olarak ispat edilememiştir ve hücresel eksitabilite, internöronlar veya glia hücreleri üzerindeki değişimlerin potansiyel rolleri de tam olarak anlaşılmamıştır.

Şekil 2. Aralıklı hipoksi ile karotid organ stimülasyonu nöromodülatör rafe nöronlarından, 5-HT tip 1A ve 2A' ya bağlanacak olan 5-HT salgılar. 5-HT Gq sinyali kaskadını protein kinaz C (PKC)' yi



aktivasyonu ve beyinden salgılanan nörotrofik faktör (BDNF) indüklemek için aktive eder. BDNF, fosfo ekstraselüler sinyal düzenleyici (pERK) aktive etmek için tirozin kinaz reseptörüne (TrkB) bağlanır. pERK, postsinaptik nöronlardaki glutamaterjik N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDARs) fosforilize eder ve presinaptik glutamat salınımını duyarlılığını artırır (37).

2.2. Serotoninden Bağımsız LTF Mekanizmaları

LTF oluşumunun indüklemesi ile ilgili serotoninden bağımsız mekanizmalar da ileri sürülmüştür. Yapılan bir araştırmada α_1 -adrenerjik reseptörlerinin aktivasyonu frenik LTF' i, ERK'lar yerine protein kinaz B (PKB veya Akt) aracılığıyla olan bir yolak üzerinden de indükleyebildiği saptanmıştır (63,64).

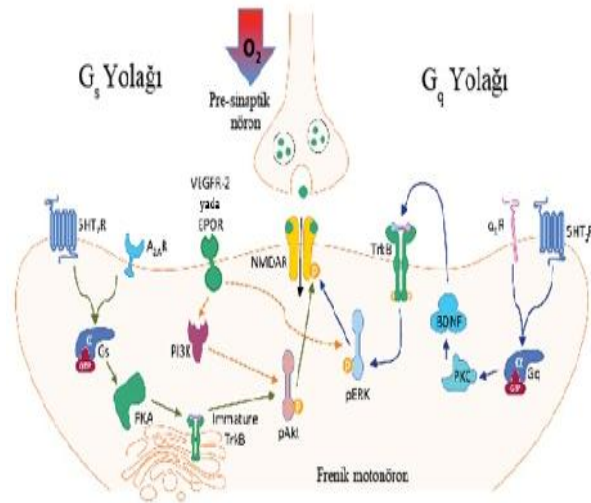
İlginc olarak α_1 -adrenerjik ve 5-HT reseptörlerinin her ikisinin de G proteinleri sınıfından olan ve fosfolipaz C'nin (65) aktivasyonu ile bağlantılı metabotropik reseptör çifti Gq-proteinlerine bağlanmaktadır. Bu iki tip reseptörün ortak bir yolakta birleşmekte ve LTF oluşumuna beraber yer almaktadır. Yukarıda da tanımlanan serotoninden bağımsız bu mekanizmanın yolağı "Q" yolağı olarak adlandırılmıştır (66).

Ayrıca adenosin tip 2A (A_{2A}R) (67,68) ve serotonin tip 7 (5-HT₇) (67,69) reseptörleri aracılığı ile frenik LTF oluşumuna duyarlı olan bir başka sinyal yolağı daha tanımlanmıştır. A_{2A}R' leri, metabotropik reseptör çifti Gs proteinine bağlantılı olduğu için bu yolak "S" yolağı olarak adlandırılmıştır ve Gs proteininin aktivasyonu, adenilat siklaz, siklik adenosin monofosfat (siklik AMP) ve protein kinaz A'yı (PKA) aktive etmektedir (66). Gs yolağını kullanan ve aynı zamanda frenik LTF oluşumunu indükleyen 5-HT₇ reseptörlerinin incelenmesi Gs sinyalinin daha yaygın bir role sahip olduğunu göstermiştir (69). Kronik aralıklı hipoksi ile birlikte frenik LTF' de artmanın gözlenmesi 5-HT₇ reseptörlerinin kilit bir rol oynadığını göstermektedir. S yolağı, BDNF sentezinden bağımsız olarak endoplazmik retikulumdan yeni sentezlenmiş tirozin kinaz reseptörü B (iTrkB) aktivasyonunu içerir. Bu yolak ERK'lerin aktivasyonuna gerek kalmadan Şekil 2'de gösterildiği üzere PI3K

(fosfatidil inositol 3-kinaz)/Akt aktivasyonu sayesinde ilerler. A_{2A}R ile indüklenen frenik LTF oluşumu otodimerize, oto-fosforilize ve frenik motor nöronlara sinyal sağlayan yeni iTrkB izoformlarının sentezlemesini gerektirir. Intraselüler iTrkB aktive olduğunda PI3 kinaz aktivasyonu Akt fosforilasyonunu artırarak LTF oluşumuna neden olur (67).

Hipoksinin merkezi sinir sistemi içerisinde nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden adenosin trifosfat (ATP), adenosin ve/veya adenin nükleotid salınımını da indüklediğini gösteren çalışmaların yanında (70-73) adenosin salınımını azalttığı da rapor edilmiştir (74,75). Ekstraselüler ATP' nin arttığını bildiren çalışmalarda, ATP'nin ektonükleotidazlarla adenosine dönüştüğü ve ekstraselüler adenosin konsantrasyonu artırdığı rapor edilmiştir (76). Bu durumda şiddetli hipoksiye (PaO₂= 25-30 mmHg) maruz kalınması potansiyel olarak nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden daha çok ATP/adenosin salınımını arttıracığı için, plastisite oluşumunda serotonin bağımlı LTF yolağı yerine adenosin bağımlı mekanizma kullanılmaktadır. Solunum hipoksiye verdiği cevap için bu iki G protein mekanizmasının fizyolojik önemi, farklı seviyelerdeki hipoksinin farklı yollar üzerinden LTF oluşumunu indüklemesidir. Daha şiddetli hipoksi epizodlarının (PaO₂=25-30 mmHg) tercihen S yolağını indüklediği ve buna karşın orta şiddetli hipoksi epizodlarının ise (PaO₂= 45-55 mmHg) Q yolağını indüklediği gösterilmiştir (Şekil 3) (77).

Şekil 3. Gq yolağı (mavi oklar) Şekil 2'de anlatılmıştır. Fakat aynı zamanda bu yolak α_1 -adrenerjik reseptörleri (α_1R) ve Gs yolağından daha az şiddetli hipokside aktive olabilir. Gs yolağı (yeşil oklar) adenosin tip 2A reseptörleri (A_{2A}R) veya serotonin tip 7 (5-



HT₇) reseptörlerinin aktivasyonu ile indüklenir. Gs sinyali, protein kinaz A (PKA)' yı aktive ederek immature TrkB (iTrkB) stimüle eder ve fosfo-protein kinaz B (pAkt) modüle edilmesini sağlar. Diğer sistemler glutamaterjik N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDARs) fosforilize eder ve presinaptik glutamat salınımını duyarlılığını artırır. Buna ek yollar (sarı oklar) vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) veya eritropoietin reseptörü (EPOR) ile aktive olan fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) ve pAkt ve belki de pERK üzerinden LTF oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (37).

S ve Q yolları aralıklı hipoksi ile aynı anda başlatılabilir fakat birbirlerine sınırlama eğilimi göstererek sadece bir yolak LTF oluşumunu ve artmasını sağlar (66,68). Bu etkileşim solunum dışında diğer sistemler içerisinde iyi tanımlanmış çapraz cevaplı inhibisyon mekanizmaları üzerinden birbirlerine müdahale eden Gs ve Gq proteinlerine özgüdür (78). LTF'nin dışında Q ve S yolları, her iki duysal ve motor sisteme aracılık eden çeşitli solunum ve solunum dışı devreler için önemli modülatörlerdir. Orneğin Gs yolağı; sempatik yolla kalp hızının ve kardiyak *pacemaker* hücrelerinin vagal sinir beta-adrenerjik girdilerinin düzenlenmesinde (79), REM uykusu boyunca solunumun kontrolünün baskılanmasında (80), ağrı ve motor kontrolde önemli bir rol oynayan inhibitör glisin reseptörlerinin duyarlılığı gibi birçok süreçten sorumludur (81,82). Benzer olarak motor kontrolün koordinasyonu içerisinde, purkinje hücre sinyaline Q yolağı ve diğer G protein reseptörleri arasındaki etkileşim aracılık ederken (83) Q yolağı genç ratların beyin sapında solunumun kontrolü için solunum ritminin oluşumundan sorumludur (84). Bu yüzden LTF içindeki bu yolların rollerinin anlaşılması için diğer alanlardaki çalışmaların sonuçlarına ihtiyaç olacaktır.

N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri de LTF oluşumunu indüklemek ve oluşumuna aracılık etmek için gereklidir. Solunum aktivasyon enerjisinin sinaptik transmisyonu için premotor nöronlardan major solunum motor nöronlarına kadar (frenik, hipoglossal ve interkostal) hepsi nörotransmitter olarak glutamat kullanır ve NMDA ile non-NMDA reseptörlerine aracılık etmektedir (85). NMDA reseptör antagonisti MK-801 mikroenjeksiyonla uygulanması(frenik motor nükleus bölgesine) AAH ile indüklenen frenik LTF oluşumunu engellemiştir (86). Bu çalışmaya ek olarak uyanık ratlarda AAH tarafından indüklenen vLTF'e non-NMDA değil de, NMDA iyonotropik glutamat reseptörlerinin LTF'nin hem formasyonunu ve hem de korunmasını sağlamak için gerekli olduğu gösterilmiştir (87).

LTF oluşumunda iki farklı büyüme/trofik faktörü olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) (88) ve eritropoietin (EPO) de yer almaktadır (89). Bu iki molekül aracılı sinyal mekanizmalarının aktivasyonu ERK ve Akt sinyallerinin etkileşimi ile gerçekleşmektedir (88-91). VEGF ve EPO reseptörlerinin sentezine yol açan hipoksiye duyarlı genler uzun zaman süreçlerinde frenik motor sinirin plastisitesini mümkün kılabilir. Orneğin kronik aralıklı hipoksi veya kronik sürekli hipoksi boyunca frenik motor sinir aktivitesinin fasilitasyonunda VEGF ve EPO'nun rol oynadığı görülmektedir (88,89).

2.3. Solunumsal LTF Oluşumu üzerine yaş, cinsiyet ve kalıtımın etkisi

Cinsiyet ve yaş aynı zamanda LTF oluşumunu etkiler. AAH'ye maruz bırakılmış uyanık, pletismografi içerisinde serbest olarak hareket eden bir aylık erkek sıçanlarda iki aylık erkek sıçanlara göre daha yüksek vLTF seviyesi saptanmıştır (92). Altı aylık sıçanlarla yapılan bir başka çalışmada ise, vLTF'nin daha düşük seviyelere indiği gözlemlenmiştir (93). Hem hipoglossal, hem de frenik sinir LTF oluşumunda, erkeklerde yaş ile birlikte

azalmakta fakat orta yaşlı erkek sıçanlarda (13 aylık) hipoglossal LTF'nin tam olarak oluşmadığı ve bu azalmanın hipoglossala karşın frenik sinir aktivitesinde daha kalıcı olduğu görülmüştür (93). Gonadektomi, frenik ve hipoglossal LTF'yi azalttığından dolayı normal testosteron seviyesinin solunumsal LTF (özellikle hipoglossal LTF) için çok önemli olduğu varsayılmaktadır (94). Bu etkinin testosteronun aromataz enzimi tarafından östrojene çevrilmesiyle mümkün olabileceğini düşündürmektedir (95,96). Buna karşılık, üç aylık dişi sıçanlarda LTF seviyesi düşük olmasına rağmen diöstrüs boyunca altı ayda en yüksek seviyesine ulaşır (97). Fakat 5-HT seviyesinin yükselmesiyle ve yaşlanmayla birlikte tekrar azalır (98). Bu nedenle, üreme sisteminde cinsiyet hormonlarının sabit platoya ulaştığında, dişi sıçanlarda solunumsal LTF'nin yaş ile daha güçlü olduğu görülmektedir. Serotonerjik fonksiyon üzerine östrojenin düzenleyici etkileri nedeniyle solunumsal LTF oluşumunda hem seksüel dimorfizm, hem de yaşa bağlı değişimler rol oynayabilmektedir (99). Türler arasındaki farklılıkların da LTF oluşumu üzerinde etkisi olduğuna dair farklı çalışmalar vardır. Lewis sıçanlarda en yüksek seviye ve Brown Norway cinsi sıçanlarda en düşük seviye ile melez sıçan suşları arasında frenik sinir genişliğinde farklılıklar vardır (100,101). Bundan dolayı LTF oluşumunun genetik türler arasında bile farklı olabilmektedir. Bu büyük ihtimalle ventral spinal korda 5-HT2A reseptör mRNA sentezlenmesi ve protein seviyeleri ile ilişkilidir (100). Hatta Sprague-Dawley sıçanların alt suşları (verici/koloni) arasında AAH i takiben hipoglossal LTF'nin genişliğinde önemli değişiklikler görülmüştür (102). Yapılan bu çalışmalar LTF oluşumu için genetik faktörlere bağlı olarak farklı protein ekspresyonları arasında kompleks bir ilişki olduğunu işaret etmektedir.

Sonuç

Son yıllarda yapılan çalışmalar aralıklı hipoksiyi takiben solunumsal motor aktivitede LTF oluşumunun fizyolojik ekspresyonu ile ilgili çeşitli yolların olduğunu göstermektedir. Bu nörokimyasal olaylar ventilasyonun hipoksiye cevapta belli zaman aralıklarında oluşan mekanizmaları açıklamada yetersiz olmaktadır. Aralıklı hipoksinin çeşitli modelleri ile Q yolağı ve S yolağının duyarlılık farkının ortaya çıkarılması gerekmektedir. Solunumsal motor nükleusta oluşan nöronal plastisitesinin başlatılmasında ve düzenlenmesinde serotonin kilit bir rol oynamaktadır. Fakat son zamanda yapılan çalışmalar serotoninden bağımsız LTF oluşabileceğini de göstermektedir. Uyku bozuklukları gibi klinik problemlerin açıklığa kavuşması için, aralıklı hipoksi ile LTF in oluşumunun ventilasyonu stabilize edip etmeyeceğinin araştırılması ve bireysel farklılıklar ile LTF'nin ventilasyon, solunum yolu kasları ve ventilasyon eşiği üzerine olan etkilerinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Sonuç olarak plastisite ile ilgili bugüne kadar saptanan tüm bilgi ve hücre içi mekanizmalar solunum yetmezliği, omurilik zedelenmesi ve motor nöron hastalıkları gibi çeşitli klinik sorunlarda tedavi edici yeni yöntemlerin gelişmesine ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Mitchell GS, Johnson SM. Neuroplasticity in respiratory motor control. *J Appl Physiol* 2003; 94: 358-374.
2. Doyle JC, Csete M. Architecture, constraints, and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011; 108: 15624-15630.
3. Prabhakar NR. Sensory plasticity of the carotid body: role of reactive oxygen species and physiological significance. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2011; 178: 375-380.
4. Dale-Nagle EA, Hoffman MS, MacFarlane PM, et al. Spinal plasticity following intermittent hypoxia: implications for spinal injury. *Annals N Y Acad Sci* 2010; 1198: 252-259.
5. Morris KF, Baekey DM, Nuding SC, et al. Invited review: neural network plasticity in respiratory control. *Journal of Applied Physiology* 2003; 94: 1242-1252.
6. Bach KB, Mitchell GS. Hypoxia-induced long-term facilitation of respiratory activity is serotonin dependent. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 1996; 104: 251-260.
7. Baker TL, Mitchell GS. Episodic but not continuous hypoxia elicits long-term facilitation of phrenic motor output in rats. *J Physiol* 2000; 529: 215-219.
8. McCrimmon DR, Dekin MS, Mitchell GS. Glutamate, GABA, and serotonin in ventilatory control. In: Dempsey JA, Pack AI (eds), *Lung Biology in Health and Disease. Regulation of Breathing: Central Nervous System*, New York: Marcel Dekker, 1995; 79: 51-218.
9. Fuller DD, Bach KB, Baker TL, et al. Long term facilitation of phrenic motor output. *Respiratory Physiology* 2000; 121: 135-146.
10. Hayashi F, Coles SK, Bach KB, et al. Time-dependent phrenic nerve responses to carotid afferent activation: intact vs. decerebellate rate. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 1993; 265: 811-819.
11. Bach KB, Kinkead R, Mitchell GS. Post-hypoxia frequency decline in rats: sensitivity to repeated hypoxia and alpha2-adrenoreceptor antagonism. *Brain Res.* 1999; 817: 25-33.
12. Devinnay MJ, Huxtable AG, Nichols NL, et al. Hypoxia-induced phrenic long-term facilitation: emergent properties. *Ann NY Acad Sci* 2013; 1279: 143-153.
13. Millhorn DE, Eldridge FL, Waldrop TG. Prolonged stimulation of respiration by a new central neural mechanism. *Respiratory Physiology* 1980; 41: 87-103.
14. Fregosi RF, Mitchell GS. Long-term facilitation of inspiratory intercostal nerve activity following carotid sinus nerve stimulation in cats. *J Physiol* 1994; 477: 469-479.
15. Marshall JM. Peripheral chemoreceptors and cardiovascular regulation. *Physiol Rev* 1994; 74: 543-594.
16. Mitchell GS, Baker TL, Nanda SA, et al. Invited review: Intermittent hypoxia and respiratory plasticity. *Journal of Applied Physiology* 2001; 90: 2466-2475.
17. Xing T, Pilowsky PM. Acute intermittent hypoxia in rat in vivo elicits a robust increase in tonic sympathetic nerve activity that is independent of respiratory drive. *J Physiol* 2010; 588: 3075-3088.
18. McGuire M, Zhang Y, White DP, et al. Effect of hypoxic episode number and severity on ventilatory long-term facilitation in awake rats. *Journal of Applied Physiology* 2002; 93: 2155-2161.
19. Cao KY, Zwillich CW, Berthon-Jones M, et al. Increased normoxic ventilation induced by repetitive hypoxia in conscious dogs. *Journal of Applied Physiology* 1992; 73: 2083-2088.
20. Turner DL, Mitchell GS. Long-term facilitation of ventilation following repeated hypoxic episodes in awake goats. *J Physiol* 1997; 499: 543-550.
21. Mitchell GS, Powell FL, Hopkins SR, et al. Time domains of the hypoxic ventilatory response in awake ducks: episodic and continuous hypoxia. *Respiratory Physiology* 2001; 124: 117-128.
22. Sokolowska B, Pokorski M. Ventilatory augmentation by acute intermittent hypoxia in the rabbit. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 341-347.
23. Olson Jr EB, Bohne CJ, Dwinell MR, et al. Ventilatory long-term facilitation in unanesthetized rats. *Journal of Applied Physiology* 2001; 91: 709-716.
24. Terada J, Nakamura A, Zhang W, et al. Ventilatory long-term facilitation in mice can be observed during both sleep and wake periods and depends on orexin. *Journal of Applied Physiology* 2008; 104: 499-507.
25. McEvoy RD, Popovic RM, Saunders NA, et al. Effects of sustained and repetitive isocapnic hypoxia on ventilation and genioglossal and diaphragmatic EMGs. *Journal of Applied Physiology* 1996; 81: 866-875.
26. Jordan AS, Catcheside PG, O'Donoghue FJ, et al. Long-term facilitation of ventilation is not present during wakefulness in healthy men or women. *Journal of Applied Physiology* 2002; 93: 2129-2136.
27. Morelli C, Badr MS, Mateika JH. Ventilatory responses to carbon dioxide at low and high levels of oxygen are elevated after episodic hypoxia in men compared with women. *Journal of Applied Physiology* 2004; 97: 1673-1680.
28. Mateika JH, Mendello C, Obeid D, Badr MS. Peripheral chemoreflex responsiveness is increased at elevated levels of carbon dioxide after episodic hypoxia in awake humans. *Journal of Applied Physiology* 2004; 96: 1197-1205.
29. Babcock M, Shkoukani M, Aboubakr SE, et al. Determinants of long-term facilitation in humans during NREM sleep. *Journal of Applied Physiology* 2003; 94: 53-59.
30. Babcock MA, Badr MS. Long-term facilitation of ventilation in humans during NREM sleep. *Sleep* 1998; 21: 709-716.
31. Aboubakr SE, Taylor A, Ford R, et al. Long-term facilitation in obstructive sleep apnea patients during NREM sleep. *Journal of Applied Physiology* 2001; 91: 2751-2757.

32. Harris DP, Balasubramaniam A, Badr MS, et al. Long-term facilitation of ventilation and genioglossus muscle activity is evident in the presence of elevated levels of carbon dioxide in awake humans. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2006; 291: 1111-1119.
33. Wadhwa H, Gradinaru C, Gates GJ, et al. Impact of intermittent hypoxia on long-term facilitation of minute ventilation and heart rate variability in men and women: Do sex differences exist? *Journal of Applied Physiology* 2008; 104: 1625-1633.
34. Lee DS, Badr MS, Mateika JH. Progressive augmentation and ventilatory long-term facilitation are enhanced in sleep apnoea patients and are mitigated by antioxidant administration. *J Physiol* 2009; 587: 5451-5467.
35. Powell FL, Milsom WK, Mitchell GS. Time domains of the hypoxic ventilatory response. *Respiratory Physiol* 1998; 112: 123-134.
36. Mitchell GS, Terada J. Should we standardize protocols and preparations used to study respiratory plasticity? *Respiratory Physiology & Neurobiol* 2011; 177: 93-97.
37. Pamerter ME, Powell FL. Signalling mechanisms of long term facilitation of breathing with intermittent hypoxia. *F1000 Prime Rep* 2013; 5: 23-31.
38. Morris KF, Gozal D. Persistent respiratory changes following intermittent hypoxic stimulation in cats and human beings *Respiratory Physiol & Neurobiol* 2004; 140: 1-8.
39. Mateika JH, Sandhu KS. Experimental protocols and preparations to study respiratory long term facilitation *Respiratory Physiol & Neurobiol* 2011; 176: 1-11.
40. McKay LC, Janczewski WA, Feldman JL. Episodic hypoxia evokes long-term facilitation of genioglossus muscle activity in neonatal rats. *J Physiol* 2004; 557: 13-18.
41. Dwinell MR, Janssen PL, Bisgard GE. Lack of long-term facilitation of ventilation after exposure to hypoxia in goats. *Respiratory Physiol* 1997; 108: 1-9.
42. Baker-Herman TL, Mitchell GS. Phrenic long-term facilitation requires spinal serotonin receptor activation and protein synthesis. *J Neurosci* 2002; 22: 6239-6246.
43. Fuller DD, Zabka AG, Baker TL, Mitchell GS. Phrenic long-term facilitation requires 5-HT receptor activation during but not following episodic hypoxia. *Journal of Applied Physiology* 2001; 90: 2001-2006.
44. Baker TL, Fuller DD, Zabka AG, Mitchell GS. Respiratory plasticity: Differential actions of continuous and episodic hypoxia and hypercapnia. *Respiratory Physiol* 2001; 129: 25-35.
45. Zhang Y, McGuire M, White DP, Ling L. Serotonin receptor subtypes involved in vagus nerve stimulation-induced phrenic long-term facilitation in rats. *Neurosci Lett* 2004; 363: 108-111.
46. McGuire M, Zhang Y, White DP, et al. Serotonin receptor subtypes required for ventilatory long-term facilitation and its enhancement after chronic intermittent hypoxia in awake rats. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2004; 286: 334-341.
47. Ling L, Fuller DD, Bach KB, et al. Chronic intermittent hypoxia elicits serotonin-dependent plasticity in the central neural control of breathing. *J Neurosci* 2001; 21: 5381-5388.
48. Brodin E, Linderoth B, Gojny M, et al. In vivo release of serotonin in cat dorsal vagal complex and cervical ventral horn induced by electrical stimulation of the medullary raphe nuclei. *Brain Res* 1990; 535: 227-236.
49. Morris KF, Arata A, Shannon R, et al. Inspiratory drive and phase duration during carotid chemoreceptor stimulation in the cat: medullary neurone correlations. *J Physiol* 1996; 491: 241-259.
50. Richter DW, Schmidt-Garcon P, Pierrefiche O, et al. Neurotransmitters and neuromodulators controlling the hypoxic respiratory response in anaesthetized cats. *J Physiol* 1999; 514: 567-578.
51. Kinkead R, Bach KB, Johnson SM, et al. Plasticity in respiratory motor control: intermittent hypoxia and hypercapnia activate opposing serotonergic and noradrenergic modulatory systems. *Comparative Biochemistry and Physiol Part A: Molecular & Integrative Physiol* 2001; 130: 207-218.
52. Erickson JT, Millhorn DE. Hypoxia and electrical stimulation of the carotid sinus nerve induce Fos-like immunoreactivity within catecholaminergic and serotonergic neurons of the rat brainstem. *J Comp Neurol* 1994; 348: 161-182.
53. Erickson JT, Millhorn DE. Fos-like protein is induced in neurons of the medulla oblongata after stimulation of the carotid sinus nerve in awake and anesthetized rats. *Brain Res* 1991; 567: 11-24.
54. Baker-Herman TL, Fuller DD, Bavis RW, et al. BDNF is necessary and sufficient for spinal respiratory plasticity following intermittent hypoxia. *Nature Neuroscience* 2004; 7: 48-55.
55. Feldman JL, Mitchell GS, Nattie EE. Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 239-266.
56. Sanchez-Perez A, Llansola M, Cauli O, et al. Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. II. Signaling pathways and physiological modulators regulating NMDA receptor function. *Cerebellum* 2005; 4: 162-170.
57. Llansola M, Sanchez-Perez A, Cauli O, et al. Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. 1. Properties of the NMDA receptor that modulate its function. *Cerebellum* 2005; 4: 154-161.
58. Lisman J, Raghavachari S. A unified model of the presynaptic and postsynaptic changes during LTP at CA1 synapses. *Sci STKE* 2006; 356: 5-11.
59. Wilkerson JE, Mitchell GS. Daily intermittent hypoxia augments spinal BDNF levels, ERK phosphorylation and respiratory long-term facilitation. *Exp Neurol* 2009; 217: 116-123.
60. Kishino A, Nakayama C. Enhancement of BDNF and activated-ERK immunoreactivity in spinal motor neurons after peripheral administration of BDNF. *Brain Res* 2003; 964: 56-66.
61. Roskoski R Jr. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacol Res* 2012; 66: 105-

- 143.
62. Peng YJ, Prabhakar NR. Effect of two paradigms of chronic intermittent hypoxia on carotid body sensory activity. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1236-1242.
 63. Neverova NV, Saywell SA, Nashold LJ, et al. Episodic stimulation of alpha1-adrenoreceptors induces protein kinase C-dependent persistent changes in motoneuronal excitability. *J Neurosci* 2007; 27: 4435-4442.
 64. Hoffman MS, Nichols NL, Macfarlane PM, et al. Phrenic longterm facilitation after acute intermittent hypoxia requires spinal ERK activation but not TrkB synthesis. *Journal of Applied Physiology* 2012; 113:1184-1193.
 65. Bockaert J, Claeysen S, Becamel C, et al. Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. *Cell Tissue Res* 2006; 326: 553-572.
 66. Dale-Nagle EA, Hoffman MS, MacFarlane PM, et al. Multiple pathways to long-lasting phrenic motor facilitation. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2010; 669: 225-230.
 67. Golder FJ, Ranganathan L, Satriotomo I, et al. Spinal adenosine A2a receptor activation elicits long-lasting phrenic motor facilitation. *J Neurosci* 2008; 28: 2033-2042.
 68. Hoffman MS, Golder FJ, Mahamed S, et al. Spinal adenosine A2(A) receptor inhibition enhances phrenic long term facilitation following acute intermittent hypoxia. *J Physiol* 2010; 588: 255-266.
 69. Hoffman MS, Mitchell GS. Spinal 5-HT7 receptor activation induces long-lasting phrenic motor facilitation. *J Physiol* 2011; 589: 1397-1407.
 70. Gourine AV, Llaudet E, Dale N, et al. Release of ATP in the ventral medulla during hypoxia in rats: Role in hypoxic ventilatory response. *J Neurosci* 2005; 25: 1211-1218.
 71. Martín ED, Fernández M, Perea G, et al. Adenosine released by astrocytes contributes to hypoxia-induced modulation of synaptic transmission. *Glia* 2007; 55: 36-45.
 72. Phillis JW, O'Regan MH, Perkins LM. Adenosine 5'-triphosphate release from the normoxic and hypoxic in vivo rat cerebral cortex. *Neurosci Lett* 1993; 151: 94-96.
 73. Wallman-Johansson A, Fredholm BB. Release of adenosine and other purines from hippocampal slices stimulated electrically or by hypoxia/hypoglycemia. Effect of chlormethiazole. *Life Sci* 1994; 55: 721-728.
 74. Dale N, Pearson T, Frenguelli BG. Direct measurement of adenosine release during hypoxia in the CA1 region of the rat hippocampal slice. *J Physiol* 2000; 526: 143-155.
 75. Frenguelli BG, Llaudet E, Dale N. High-resolution real-time recording with microelectrode biosensors reveals novel aspects of adenosine release during hypoxia in rat hippocampal slices. *J Neurochem* 2003; 86: 1506-1515.
 76. Parkinson FE, Xiong W, Zamzow CR. Astrocytes and neurons: Different roles in regulating adenosine levels. *Neurol Res* 2005; 27: 153-160.
 77. Nichols NL, Dale EA, Mitchell GS. Severe acute intermittent hypoxia elicits phrenic long-term facilitation by a novel adenosine-dependent mechanism. *Journal of Applied Physiology* 2012; 112: 1678-1688.
 78. Roy AA, Nunn C, Ming H, et al. Up regulation of endogenous RGS2 mediates cross-desensitization between Gs and Gq signaling in osteoblasts. *J Biol Chem* 2006; 281: 32684-32693.
 79. Yatani A, Okabe K, Codina J, et al. Heart rate regulation by G proteins acting on the cardiac pacemaker channel. *Science* 1990; 249: 1163-1166.
 80. Shuman SL, Capece ML, Baghdoyan HA, et al. Pertussis toxin-sensitive G proteins mediate carbachol-induced REM sleep and respiratory depression. *Am J Physiol* 1995; 269: 308-317.
 81. Yevenes GE, Moraga-Cid G, RomoX, et al. Activated G protein alpha s subunits increase the ethanol sensitivity of human glycine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 339: 386-393.
 82. Yevenes GE, Peoples RW, Tapia JC, et al. Modulation of glycine-activated ion channel function by G-protein betagamma subunits. *Nature Neurosci* 2003; 6: 819-824.
 83. Hartmann J, Blum R, Kovalchuk Y, et al. Distinct roles of Galpha(q) and Galpha11 for Purkinje cell signaling and motor behavior. *J Neurosci* 2004; 24: 5119-5130.
 84. Niebert M, Vogelgesang S, Koch UR, et al. Expression and function of serotonin 2A and 2B receptors in the mammalian respiratory network. *PLoS One* 2011; 6: e21395.
 85. McCrimmon DR, Smith JC, Feldman JL. Involvement of excitatory amino acids in neurotransmission of inspiratory drive to spinal respiratory motoneurons. *J Neurosci* 1989; 9: 1910-1921.
 86. McGuire M, Zhang Y, White DP, Ling L. Phrenic long-term facilitation requires NMDA receptors in the phrenic motonucleus in rats. *J Physiol* 2005; 567: 599-611.
 87. McGuire M, Liu C, Cao Y, et al. Formation and maintenance of ventilatory long-term facilitation require NMDA but not non-NMDA receptors in awake rats. *J Appl Physiol* 2008; 105: 942-950.
 88. Dale-Nagle EA, Satriotomo I, Mitchell GS. Spinal vascular endothelial growth factor induces phrenic motor facilitation via extracellular signal-regulated kinase and Akt signaling. *J Neurosci* 2011; 31: 7682-7690.
 89. Dale EA, Satriotomo I, Mitchell GS. Cervical spinal erythropoietin induces phrenic motor facilitation via extracellular signal-regulated protein kinase and Akt signaling. *J Neurosci* 2012; 32: 5973-5983.
 90. Dale EA, Mitchell GS. Spinal vascular endothelial growth factor (VEGF) and erythropoietin (EPO) induced phrenic motor facilitation after repetitive acute intermittent hypoxia. *Respiratory Physiol & Neurobiology* 2013; 185: 481-488.
 91. Satriotomo I, Dale EA, Dahlberg JM, et al. Repetitive acute intermittent hypoxia increases expression of proteins associated with plasticity in the phrenic motor nucleus. *Exp Neurol* 2012; 237: 103-115.
 92. McGuire M, Ling L. Ventilatory long-term facilitation is greater in 1- vs. 2-mo-old awake rats. *J Appl Physiol*

- siol 2005; 98: 1195-1201.
93. Zabka AG, Behan M, Mitchell GS. Long term facilitation of respiratory motor output decreases with age in male rats. *J Physiol* 2001; 531: 509-514.
94. Zabka AG, Mitchell GS, Behan M. Ageing and gonadectomy have similar effects on hypoglossal long-term facilitation in male Fischer rats. *J Physiol* 2005; 563: 557-568.
95. Nelson NR, Bird IM, Behan M. Testosterone restores respiratory long term facilitation in old male rats by an aromatase-dependent mechanism. *J Physiol* 2011; 589: 409-421.
96. Zabka AG, Mitchell GS, Behan M. Conversion from testosterone to oestradiol is required to modulate respiratory long-term facilitation in male rats. *J Physiol* 2006; 576: 903-912.
97. Zabka AG, Behan M, Mitchell GS. Time-dependent hypoxic respiratory responses in female rats are influenced by age and by the estrus cycle. *Journal of Applied Physiology* 2001; 91: 2831-2838.
98. Zabka AG, Mitchell GS, Olson EB, et al. Chronic intermittent hypoxia enhances respiratory long-term facilitation in geriatric female rats *Journal of Applied Physiology* 2003; 95: 2614-2623.
99. Behan M, Zabka AG, Mitchell GS. Age and gender effects on serotonin-dependent plasticity in respiratory motor control. *Respiratory Physiol & Neurobiol* 2002; 131: 65-77.
100. Baker-Herman TL, Bavis RW, Dahlberg JM, et al. Differential expression of respiratory long-term facilitation among inbred rat strains. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2010; 170: 260-267.
101. Nakamura A, Olson EB, Terada J, et al. Sleep state dependence of ventilatory long-term facilitation following acute intermittent hypoxia in Lewis rats. *J Appl Physiol* 2010; 109: 323-331.
102. Fuller DD, Baker TL, Behan M, et al. Expression of hypoglossal long-term facilitation differs between substrains of Sprague-Dawley rat. *Physiological Genomics* 2001; 4: 175-181.