



Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ιατρική Σχολή

Τομέας Παθολογίας

Α Κλινική Εντατικής Θεραπείας

Διευθυντής: Καθηγητής Ζακυνθινός Σπύρος

Διδακτορική Διατριβή

Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου.

Γιαννακοπούλου Χαρούλα Ελένη

Πνευμονολόγος-Φυματιολόγος

**Επιβλέπων Καθηγητής:
Καθηγητής Βασιλακόπουλος Ι. Θεόδωρος**

Αύγουστος 2019

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

Ημερομηνία αιτήσεως υποψηφίου: 06-02-2008

Ημερομηνία ορισμού 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 15-04-2008

Μέλη της 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

κκ. Καθηγητής Ρούσσος Χαράλαμπος
Καθηγητής Βασιλακόπουλος Ι. Θεόδωρος (επιβλέπων)
Καθηγητής Ορφανός Στυλιανός

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 16-10-2008

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής: 16- 07-2019

Ημερομηνία υποστήριξης διδακτορικής διατριβής: 19-08-2019

Πρόεδρος της Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Σφηκάκης Πέτρος

Μέλη της 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

κ.κ Καθηγητής Ρούσσος Χαράλαμπος
Καθηγητής Βασιλακόπουλος Ι. Θεόδωρος
Καθηγητής Ορφανός Στυλιανός
Αναπληρωτής καθηγητής Βασιλακόπουλος Π. Θεόδωρος
Αναπληρωτής καθηγητής Λουκίδης Στυλιανός
Αναπληρωτής καθηγητής Μπακάκος Πέτρος
Αναπληρωτής καθηγητής Τσαγκάρης Ηρακλής

Βαθμός διδακτορικής διατριβής: ΑΡΙΣΤΑ

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

Στην κόρη μου Άννα,

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διδακτορική διατριβή με τίτλο «Εκτίμηση του ρόλου των κυτταροκινών στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου» εκπονήθηκε στο Πειραματικό Χειρουργείο του ΠΓΝ «ο Ευαγγελισμός» στο Κέντρο Μελέτης Εντατικής και Επείγουσας Ιατρικής «Γεώργιος Λίβανος» και στο Κέντρο Εφαρμοσμένης Βιοϊατρικής Εκπαίδευσης και Έρευνας «Μαριάνθης Σίμου».

Η διατριβή πραγματοποιήθηκε με την επίβλεψη και την αμέριστη υποστήριξη των μελών της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, κκ. Χαράλαμπο Ρούσσο, Θεόδωρο Ι. Βασιλακόπουλο και Στυλιανό Ορφανό. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω εγκάρδια τους καθηγητές μου για την ανεκτίμητη και καθοριστική συνεισφορά τους καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής.

Επιστημονικός υπεύθυνος του έργου ήταν ο καθηγητής κ. Θεόδωρος Ι. Βασιλακόπουλος, τον οποίο ευχαριστώ ιδιαίτερα για την ευκαιρία που μου παρείχε να εργαστώ σε ένα περιβάλλον υψηλής επιστημονικής κατάρτισης και για την πολύτιμη συνεισφορά του στην εξέλιξη μου ως ιατρό και ερευνητή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τους συνεργάτες των εργαστηρίων του ιδρύματος «Θώραξ» για την ανεκτίμητη συμπαράσταση τους.

Η ολοκλήρωση του παρόντος ερευνητικού έργου υποστηρίχθηκε οικονομικά από τη χρηματοδότηση του ιδρύματος «Θώραξ», της ελληνικής φαρμακευτικής βιομηχανίας ELPEN και της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας στα πλαίσια βραβείου ερευνητικής υποτροφίας, στους εκπροσώπους των ανωτέρω θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου.

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

"Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην πανάκεια και σ' όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί μου τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας. Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τ' αδέρφια μου και να τους διάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σ' αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για ν' αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά ν' αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σ' όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είτε ν' απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά".

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

I. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνοματεπώνυμο: Χαρούλα-Ελένη Γιαννακοπούλου

Τόπος γέννησης: Καλαμάτα Μεσσηνίας

Ημερομηνία γέννησης: 26 Νοεμβρίου, 1983

Εθνικότητα: Ελληνική

Γλώσσες: Ελληνικά, Αγγλικά, Γαλλικά

Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμη, 1 παιδί

Ηλεκτρονική διεύθυνση: harilenag@yahoo.gr

II. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Απολυτήριο Λυκείου: 1ο Ενιαίο Λύκειο Καλαμάτας (2001), Βαθμός Απολυτηρίου: 19,3

Πτυχίο: Ιατρικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών (αποφοίτηση Αύγουστος 2007),
Βαθμός Πτυχίου: Λίαν Καλώς

Διδακτορική διατριβή - Υποψήφια Διδάκτωρ: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Α΄ Κλινική Εντατικής Θεραπείας, Νοσοκομείο «Ο Ευαγγελισμός»,
Θέμα: «Εκτίμηση του ρόλου των κυτταροκινών στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση
βαρομετρικού πληθυσμογράφου» (ημερομηνία έγκρισης: 16/10/2008)
Επιβλέπων Καθηγητής: Καθηγητής Θεόδωρος Ι. Βασιλακόπουλος

Λήψη Ιατρικής Ειδικότητας: Πνευμονολογίας- Φυματιολογίας (17/03/2017)

Μεταπτυχιακό Ογκολογίας Θώρακος: “ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ: Σύγχρονη Κλινικοεργαστηριακή
Προσέγγιση & Έρευνα”, Ογκολογική Μονάδα Γ΄ Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, Ιατρικής Σχολής
Αθηνών, Γενικό Νοσοκομείο Νοσημάτων Θώρακος «Η Σωτηρία», (εγγραφή 09/2017)

Ξένες γλώσσες: Αγγλικά-First Certificate in English
Γαλλικά-Delf A1,A2,A3,A4

Λογισμικά Προγράμματα Υπολογιστή: Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint), Statistica, SPSS,
Sigma Plot, Adobe Photoshop

III. ΑΔΕΙΕΣ ΑΣΚΗΣΕΩΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ

Ιατρού, Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών (2007)

IV. ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

1. Ετήσιες υποτροφίες εκ του Υπουργείου Παιδείας κατά την διάρκεια της φοίτησης στην Ιατρική Σχολή επί τρία (3) συναπτά έτη
-Ερευνητική υποτροφία από την Ελληνική Πνευμονολογική Εταιρεία για την εργασία με τίτλο “TNF-α and IL-10 differentially affect the respiratory controller during resistive breathing” (2012)
2. Υποτροφία διδακτορικής διατριβής από την Ελληνική Πνευμονολογική Εταιρεία (2013)

V. ΒΡΑΒΕΙΑ

1. Βραβείο εργασίας με τίτλο « Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση του βαρομετρικού πληθυσμογράφου» στα πλαίσια του 21^{ου} Πανελληνίου Πνευμονολογικού Συνεδρίου (2012)
2. 1^ο Βραβείο καλύτερης εργασίας με τίτλο «Ο επαγόμενος μέσω αντιστάσεων στην αναπνοή TNF-α καταστέλλει το κέντρο της αναπνοής δια του καρωτιδικού σωματίου και του πνευμονογαστρικού νεύρου», στα πλαίσια του 23ου Πανελληνίου Πνευμονολογικού Συνεδρίου (2014)

VI. ΑΠΑΣΧΟΛΗΣΗ

-Οκτώβριος 2007-Μάρτιος 2010:

Επιστημονικός συνεργάτης α. Κέντρου Μελέτης Ύπνου της Α΄ Κλινικής Εντατικής Θεραπείας του Ευαγγελισμού β. Εργαστηρίου Λειτουργικού ελέγχου της αναπνοής της Α΄ Κλινικής Εντατικής Θεραπείας του Ευαγγελισμού (σπιρομέτρηση προ και μετά βρογχοδιαστολής, έλεγχος διαχύσεως, καμπύλη ροής όγκου, μέτρηση στατικών όγκων με την μέθοδο single breath και rebreathing, βρογχική πρόκληση, μέτρηση λειτουργικότητας εισπνευστικών και εκπνευστικών μυών) γ. Ιατρείου Διακοπής Καπνίσματος της Α΄ Κλινικής Εντατικής Θεραπείας του Ευαγγελισμού δ. Κλινικές μελέτες Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός»

-Μάρτιος 2010-Μάρτιος 2011 :

Εκπλήρωση υπηρεσίας υπαίθρου στο Γενικό Νοσοκομείο Καλαμάτας και στο Περιφερειακό Ιατρείο Αβραμιού/Κέντρο Υγείας Μεσσήνης του Ν.Μεσσηνίας

- Ιούνιος 2012-Δεκέμβριος 2016:

06/2012-10/2012, Μονάδα Κυστικής Ύψωσης, 10^η Πνευμονολογική Κλινική ΝΝΘΑ «Σωτηρία»
10/2012-09/2014, Φυματιολογία-Πνευμονολογία στην Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του ΝΝΘΑ «Σωτηρία»
09/2014-09/2015, Παθολογική Κλινική ΝΝΘΑ «Σωτηρία», Διευθυντής Πεφάνης Α.
09/2015-11/2015, Φυματιολογία-Πνευμονολογία στην Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του ΝΝΘΑ «Σωτηρία»
11/2015-05/2016, ΜΕΘ Πανεπιστημιακής Πνευμ/κής Κλινικής, ΝΝΘΑ «Σωτηρία»
05/2016-12/2016, Φυματιολογία-Πνευμονολογία στην Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του ΝΝΘΑ «Σωτηρία»

-Δεκέμβριος 2016 έως 17 Σεπτεμβρίου 2017:

Λήψη Ιατρικής Ειδικότητας-Πνευμονολογίας Φυματιολογίας στην Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του ΝΝΘΑ «Σωτηρία» (κλινική και ερευνητική ενασχόληση με καρκίνο πνεύμονα, αποφρακτικά νοσήματα, διάμεσες πνευμονοπάθειες, βρογχοσκοπικό εργαστήριο, μελέτη ύπνου)

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

-18 Σεπτεμβρίου 2017 έως 17 Σεπτεμβρίου 2018: Συνεργάτης ιατρός στο Νοσοκομείο Υγεία του Δρ. Αργύρη Αθανάσιου, Παθολόγου-Ογκολόγου, Καθηγητή Πανεπιστημίου Τόμας Τζέφερσον. Η.Π.Α., Clinical trials Sub-investigator: BMS Checkmate 651

-17 Ιανουαρίου έως σήμερα: Ιδιώτης Πνευμονολόγος (Φωσκόλου 26, Ζάκυνθος)

VII. ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ ΧΡΟΝΟΣ

Αθλητισμός, μουσική, ταξίδια, ιστιοπλοΐα

VIII. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Διεθνή Περιοδικά

1. Gianniou N, Katsaounou P, Dima E, **Giannakopoulou CE**, Kardara M, Saltagianni V, Trigidou R, Kokkini A, Bakakos P, Markozannes E, Litsiou E, Tsakatikas A, Papadopoulos C, Roussos C, Koulouris N, Rovina N. [“Prolonged occupational exposure leads to allergic airway sensitization and chronic airway and systemic inflammation in professional firefighters.”](#) Respir Med. 2016 Sep;118:7-14. doi: 10.1016/j.rmed.2016.07.006. Epub 2016 Jul 13
2. Gianniou N, **Giannakopoulou C**, Dima E, Kardara M, Katsaounou P, Tsakatikas A, Roussos C, Koulouris N, Rovina N. [“Acute effects of smoke exposure on airway and systemic inflammation in forest firefighters.”](#) J Asthma Allergy. 2018 Apr 23;11:81-88. doi: 10.2147/JAA.S136417. eCollection 2018
3. Toumpanakis D, Vassilakopoulou V, Mizi E, Chatzianastasiou A, Loverdos K, Vraila I, Perlikos F, Tsoukalas D, **Giannakopoulou CE**, Sotiriou A, Dettoraki M, Karavana V, Vassilakopoulos T. [“p38 Inhibition Ameliorates Inspiratory Resistive Breathing-Induced Pulmonary Inflammation.”](#) Inflammation. 2018 Oct;41(5):1873-1887. doi: 10.1007/s10753-018-0831-6
4. **Giannakopoulou CE**, Sotiriou A, Dettoraki M, Yang M, Perlikos F, Toumpanakis D, Prezerakos G, Koutsourelakis I, Kastis GA, Vassilakopoulou V, Mizi E, Papalois A, Greer JJ, Vassilakopoulos T. [“Regulation of breathing pattern by IL-10.”](#) Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2019 Jul 1;317(1):R190-R202. doi: 10.1152/ajpregu.00065.2019. Epub 2019 May 15

Ελληνικά περιοδικά

1. **Γιαννακοπούλου Χαρούλα-Ελένη**, Βασιλακόπουλος Θεόδωρος «Η σημασία της υπεδιάτασης για ασθενείς με ΧΑΠ» The Doctor (27) 2017 Oct

IX. ΟΜΙΛΙΕΣ

Η σπιρομέτρηση και τα μυστικά της, «Βαδίζοντας σε νέες λύσεις με επίκεντρο τον ασθενή». Επιστημονική εκδήλωση, Ναύπλιο, 10/03/2018

X. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

1. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E : “Quality of Sleep in Obstructive Sleep Apnea (OSA) patients”. (oral) 2nd European Congress of the International Neuropsychiatric Association (INA), Athens, Greece 16-19 October 2008
2. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E : “Psychopathology and Health-Related Quality of Life in Obstructive Sleep Apnea (OSA) patients”. (oral) 2nd European Congress of the International Neuropsychiatric Association (INA), Athens, Greece 16-19 October 2008
3. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E : “Sexual Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea (OSA) patients”. (oral) 2nd European Congress of the International Neuropsychiatric Association (INA), Athens, Greece 16-19 October 2008
4. Christidi F, Economou NT, H.Giannakopoulou, Vagiakis E: “Neuropsychological Profile in Patients with Obstructive Sleep Apnea (OSA)” 2nd European Congress of the International Neuropsychiatric Association (INA), Athens, Greece 16-19 October 2008
5. Christidi F, Economou NT, H.Giannakopoulou, Vagiakis E, Soldatos CR: “Cognitive profile in patients with obstructive sleep apnea syndrome: a preliminary report”. World Psychiatric Association (WPA), Florence-Italy, April 1-4, 2009
6. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Soldatos CR: “Psychopathology and Quality of Life in Obstructive Sleep Apnea (OSA) patients”. World Psychiatric Association (WPA), Florence-Italy, April 1-4 2009
7. Christidi F, Economou NT, H.Giannakopoulou, Vagiakis E: “Subtle impairment of higher-order control processes in patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome: preliminary findings” 13th State of the Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care 2-4/04/2009 Athens
8. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E: “Sexual Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea (OSA) Patients” 13th State of the Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care 2-4/04/2009 Athens
9. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E: “Psychopathology and health-related quality of life in Obstructive Sleep Apnea (OSA) patients” 13th State of the Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care 2-4/04/2009 Athens
10. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E: “Quality of sleep in Obstructive Sleep Apnea (OSA) patients” 13th State of the Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care 2-4/04/2009 Athens
11. P. Bakakos¹, N. Gianniou², E. Dima¹, C. Giannakopoulou, V. Saltagianni³, R. Trigidou⁴, E. Markozannes¹, C. Papadopoulos⁵, N. Rovina “Respiratory symptoms, bronchial inflammation, atopy, and bronchial hyperreactivity in professional firefighters” 13th State of the Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care 2-4/04/2009 Athens
12. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E : “Ο ύπνος και οι μεταβολές του σε ασθενείς με Σύνδρομο Απνοιών Ύπνου (ΣΑΥ) προ και μετά θεραπεία με CPAP” 23ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελλήνων Νευρολόγων 14-17/05/2009
13. Economou NT, Paparrigopoulos TJ, H.Giannakopoulou, Vagiakis E: “Ψυχοπαθολογία και ποιότητα ζωής σε ασθενείς με Σύνδρομο Απνοιών Ύπνου (ΣΑΥ) προ και μετά θεραπεία με CPAP” 23ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελλήνων Νευρολόγων 14-17/05/2009

14. Christidi F, Economou NT, H.Giannakopoulou, Vagiakis E,D.Vasilopoulos:“Ασθενείς με Σύνδρομο Αποφρακτικής Άπνοιας στον Ύπνο: Νευροψυχολογικές ενδείξεις εξασθένησης του ρυθμού αποτελεσματικής εποπτείας της επιτελικής συμπεριφοράς” 23ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελλήνων Νευρολόγων 14-17/05/2009
15. P. Bakakos, N. Gianniou, E. Dima, C. Giannakopoulou, V. Saltagianni, R. Trigidou, E. Markozannes, C. Papadopoulos, N. Rovina “Respiratory symptoms, bronchial inflammation, atopy, and bronchial hyperreactivity in professional firefighters” (ERS 2009)
16. Tsaprouni L., Giannakopoulou X.E., Saltagianni V., Roussos C., Zakynthinos S., Katsaounou P. “Reduced histone deacetylase activity in induced sputum of healthy smokers is recovering after smoking cessation and inflammatory biomarker levels are reduced”. (ERS 2009)
17. C.Giannakopoulou, M.Dettoraki, A.Sotiriou, C.Roussos, T.Vassilakopoulos “Interleukin 10 affects the control of breathing”. (ATS 2010)
18. L.Tsaprouni et al. “Inflammatory Mediators Levels In Sputum Supernatant Of Normal Smokers And COPD Patients Are Reduced after Smoking Cessation”. (ATS 2010)
19. I.Nikoloutsou et al. “Smoking Cessation and Changes In Basic Metabolism And Body Weight” (ATS 2010)
20. A.Sotiriou,M.Dettoraki,C-E.Giannakopoulou,G.Kastis,D.Parthenis,C.Roussos and T.Vassilakopoulos: Interleukin 6 (IL-6) affects the control of breathing before and after application of respiratory load in mice (14th State of the art 2010)
21. Maria Dettoraki, Adamantia Sotiriou, Charilena Giannakopoulou, Charis Roussos, Theodoros Vassilakopoulos: TNF-A affects the control of breathing in resistive loaded mice (14th State of the art 2010)
22. C.Giannakopoulou, M.Dettoraki, A.Sotiriou, C.Roussos, T.Vassilakopoulos “Interleukin 10 affects the control of breathing”. (14th State of the art 2010)
23. S. Kolokytha, L. Tsaprouni, V. Saltagianni, I. Nikoloutsou, C. Giannakopoulou, Asimakos A., Katsaounou P. Inflammatory mediators levels in sputum supernatant of normal smokers and COPD patients are reduced after smoking cessation. (15th State of the art 2011)
24. M.Kardara, E.Dima, H.Giannakopoulou, S.Vakali, C.Roussos, N.Koulouris, N.Rovina Inflammasome activity in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (ERS 2012)
25. C.Giannakopoulou, M.Dettoraki, A.Sotiriou, T.Vassilakopoulos Interleukin-10 affects the pattern of breathing (ATS 2013)
26. E. Dima, M. Kardara, H. Giannakopoulou, Ch. Roussos, N.G. Koulouris, and N. Rovina Altered inflammasome activity in bacterial acute exacerbations of COPD (ERS 2013)
27. Φ. Περλικός κ.ά «Παθοφυσιολογικές μεταβολές στις αναπνευστικές παραμέτρους του ελέγχου της αναπνοής από την απευαισθητοποίηση του καρωτιδικού σωματίου πριν και μετά τραχειακή περίδεση σε μοντέλο ποντικίου» (22ο Πανελλήνιο Πνευμ/κό Συνέδριο 2013)
28. Φ. Περλικός κ.ά « Παθοφυσιολογικές μεταβολές στις αναπνευστικές παραμέτρους του ελέγχου της αναπνοής από διατομή των οπισθίων ριζών της αυχενικής μοίρας του νωτίαιου μυελού πριν και μετά τραχειακή περίδεση σε μοντέλο ποντικίου» (22ο Πανελλήνιο Πνευμ/κό Συνέδριο 2013)
29. Φ. Περλικός κ.ά «Παθοφυσιολογικές μεταβολές στις αναπνευστικές παραμέτρους του ελέγχου της αναπνοής από την ετερόπλευρη διατομή του πνευμονογαστρικού πριν και μετά τραχειακή περίδεση σε μοντέλο ποντικίου» (22ο Πανελλήνιο Πνευμ/κό Συνέδριο 2013)
30. Φ. Περλικός κ.ά «Ο επαγόμενος μέσω της αναπνοής μέσω αντιστάσεων TNF-α καταστέλλει το κέντρο της αναπνοής μέσω του καρωτιδικού σωματίου και του πνευμονογαστρικού νεύρου» (23ο Πανελλήνιο Πνευμ/κό Συνέδριο 2014)
31. F.Perlikos et al. “TNF-α Induced By Resistive Breathing Downregulates Respiratory Controller

Response To Hypercapnic And Hypoxic Stimuli In Mice Via The Carotid Body And The Vagus Nerve” (ATS 2015)

32. C.Giannakopoulou et al “Expression of Interleukin-18 and Interleukin-18 receptor mRNA in lung tissue samples from NSCLC patients”. (ERS 2015)

33. Χ. Γιαννακοπούλου κ.ά «Η έκφραση της IL-18 σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονος» (26^ο Πανελλήνιο Πνευμ/κό Συνέδριο 2017)

34. C.Giannakopoulou et al “IL-10 affects the control of breathing” (ERS 2018)

35. F.Perlikos, et al. “Unilateral Cervical Vagotomy in Mice Undergoing Resistive Breathing Upregulates the Pattern of Breathing Responses to Hypercapnic and Hypoxic Stimuli” (ATS 2019)

XI. ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ-ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 10^ο Πανελλήνιο συνέδριο Εντατικής Θεραπείας, 14-16/10/2005

2. 10^ο Διατομεακό Μεταπτυχιακό Σεμινάριο «Αναπνευστική ανεπάρκεια απεικόνιση και θεραπεία», 11-13/11/2005

3. Ημερίδα «Ελάχιστα επεμβατικές τεχνικές-Κλασική Χειρουργική», 15/04/2005

4. 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο εσωτερικής Παθολογίας, 30/10-3/11/2006

5. «Θεραπευτικές εξελίξεις 2006», 15/04/2006

6. 3^ο Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο Παιδιατρικής «Ημέρες Παιδιατρικής Ενημέρωσης», 3-4/02/2007

7. 40^η Παιδιατρική Θεραπευτική Ενημέρωση, 14-15/04/2007

8. Μετεκπαιδευτικό μάθημα «Μικροδιηθητικό καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας», 11/05/2007

9. 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροσκοπικής Χειρουργικής, 5-7/07/2007

10. European Respiratory Society (ERS) “Spirometry training”, Amsterdam 15-17/11/2007

11. 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, 6-9/12/2007

12. Masterscope CT, AM2+ and ECG module site training operated by Pfizer & Viasys health care clinical services, 31/01/2008

13. Investigator training program workshop, 21-23/03/2008

14. 12th State-of-the-Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases , Critical Care, Emergency Medicine & Nursing Care, 11-13/04/2008

15. 34^ο Πανελλήνιο Ιατρικό συνέδριο, 20-24/05/2008

16. 3ημερο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο «Πολυπνογραφία από την θεωρία στην πράξη» το οποίο οργανώθηκε από το Κέντρο Μελέτης Ύπνου «Ο Ευαγγελισμός», την Ομάδα Εργασίας της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας και Sleep Disorder Center University Hospital Guy's and St Thomas London UK 12-14/06/08

17. 13^ο Διατομεακό Μεταπτυχιακό Σεμινάριο στην Πνευμονολογία, 24-25/10/2008

18. Συσκευές υποβοήθησης-Γέφυρες ζωής, 20-21/03/2009

19. 13th State of the Art in Pulmonology, 2-4/04/2009

20. Σεμινάριο Άσθματος Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας, 04/2009

21. 1^ο Σεμινάριο Διακοπής Καπνίσματος, 05/2009

22. American Thoracic Society Congress , San Diego 05/2009

23. European Respiratory Society (ERS) Congress, Vienna 12-16/09/2009

24. Εκπαιδευτικό σεμινάριο στα πλαίσια Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης Επαγγελματιών Υγείας για την Οργάνωση Ιατρείων Διακοπής Καπνίσματος, 10/2009

25. 14th State of the Art in Pulmonology, 22-24/04/2010

26. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, 24-27/11/2011

27. Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο στη ΧΑΠ, 19-20/11/2022

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

28. 2^ο Μεταπτυχιακό Σεμινάριο στην Ακτινολογία Θώρακος, 9-11/03/2012
29. 4^ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο στον Μηχανικό Αερισμό, 6-8/04/2012
30. 20^ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο με θέμα: «Η Παθολογία την Πνευμονολογία», 12-13/05/2012
31. «Αρχές βιοστατιστικής στην Πνευμονολογία», 16/06/2012
32. «Εισαγωγή στη Στατιστική Ανάλυση Βιο-ιατρικών Δεδομένων με Πρακτική Εφαρμογή σε Η/Υ», 29/06-1/07/2012
33. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, 18-21/10/2012
34. Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο στην Οξεοβασική Ισορροπία 17-18/11/2012 ΝΝΘΑ Σωτηρία
35. ERS “IPF and Sleep:Common Pathways and implications in therapy”, 5/12/13
36. 22^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο 5-7/12/2013
37. ERS school course “Medical Thoracoscopy”, Alexandroupolis 20-22/10/2014
38. 23^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο 5-8/11/2014
39. Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο στη ΧΑΠ, 17-18/01/2015
40. «Οι διαταραχές του Ύπνου στην Καθημερινή Ιατρική Πράξη», 05/15
41. ERS school course “Smoking Cessation using innovative techniques”, Athens, 2-4/07/15
42. European Respiratory Society (ERS) International Congress, Amsterdam 26-30/09/2015
43. ERS school course “Interventional bronchoscopy”, Athens 15-17/10/2015
44. 24^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο 26-29/11/2015
45. Κλινικό φροντιστήριο φυματίωσης, 26/11/2015
46. Best of WCLC (Lung Cancer), 14/11/2016 Athens
47. 4th Lung Cancer Network “From the bench to the bedside” 15-16/01/2016, Athens
48. Αιμοδυναμική παρακολούθηση και υποστήριξη του βαρέως πάσχοντος: από τη φυσιολογία στην κλινική πράξη, 1-3/04/2016, ΜΕΘ Α' Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής
49. Σεμινάριο Διαμέσων Πνευμονοπαθειών, 4/2016, Αθήνα
50. 25^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, 23-26/06/2016
51. Breathing 2017, 28-29/04/2017 in Athens
52. 5^ο Σεμινάριο για Διάχυτες Πνευμονοπάθειες, Αθήνα 6-7/05/2017
53. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Οι διαταραχές του ύπνου στην καθημερινή ιατρική πράξη», 12-13/05/2017
54. European Respiratory Society International Congress, Milan 10-13/09/2017
55. 8ο Πανελλήνιο Παιδοπνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 20-22/10/2017
56. 27^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, 9-12/11/2017
57. 11ο Συνέδριο Ογκολογίας «Νεότερες εξελίξεις στον Καρκίνο του Πνεύμονα: Από την έρευνα στην κλινική εφαρμογή», Αθήνα 8-9/12/2017
58. 5th Lung Cancer Network, Athens 18-20/01/2018
59. 27^ο Έτος Ημέρες Παθολογίας, Αθήνα 15-17/03/2018
60. European Respiratory Society (ERS) “Thoracic Imaging”, Barcelona 25-27/10/2018
61. European Respiratory Society (ERS) “Respiratory Update”, London 2/11/2018
62. 4^ο Σεμινάριο Θωρακικού Υπερήχου, 13/12/2018
63. 27^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, 13-16/12/2018
64. ERS “Advances in precision medicine in COPD & ILD”, 21/02/2019

Περιεχόμενα

1.Εισαγωγή.....	15
1.1 Η ιντερλευκίνη 10 (IL-10).....	15
1.2 Βιολογικές δράσεις της IL-10.....	15
1.2.1 Μεταγωγή σήματος.....	17
1.2.2 Συστηματική και τοπική οξεία φλεγμονή.....	19
1.2.3 IL-10 και λοιμώξεις.....	21
1.2.3.1 Η ειδική απάντηση του ανοσοποιητικού στην ενδοκυττάρια μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή πρωτόζωα.....	21
1.2.4 IL-10 και αλλεργία.....	24
1.2.5 Η IL-10 παράγει υποληθυσμούς ρυθμιστικών T κυττάρων διαφορετικούς από τα Th1 και Th2 κύτταρα.....	26
1.2.6 Παράγοντες που επάγουν την παραγωγή IL-10 και συνθήκες κάτω από τις οποίες η IL-10 δρα σαν ρυθμιστικό μόριο in vivo.....	27
1.3 Κλινικές εφαρμογές.....	29
1.4 Έλεγχος της αναπνοής.....	33
1.4.1 Υποδοχείς.....	35
1.4.1.1 Νευρικοί υποδοχείς.....	35
1.4.1.2 Περιφερικοί αρτηριακοί χημειούποδοχείς.....	35
1.4.1.3 Κεντρικοί χημειούποδοχείς.....	39
1.4.1.4 Ενδοπνευμονικοί υποδοχείς.....	41
1.4.1.5 Θωρακικό τοίχωμα και μϋικοί μηχανούποδοχείς.....	44
1.4.1.6 Άλλοι υποδοχείς.....	46
1.4.2 Αναπνευστικά κέντρα.....	46
1.4.3 Εκτελεστικά συστήματα.....	48
1.5 Κυτταροκίνες και κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ).....	49
1.5.1 Οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους στον εγκέφαλο.....	52
1.5.2 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυτταροκινών και ΚΝΣ.....	54
1.5.3 Η δράση των περιφερικών κυτταροκινών στο ΚΝΣ.....	54

1.5.4	Η δράση των κυτταροκινών που προέρχονται από το ΚΝΣ.....	55
1.5.5	Η ισορροπία μεταξύ των κυτταροκινών και οι νευρομεταβιβαστές.....	57
1.5.6	Ο ρόλος των κυτταροκινών στην νευρωνική επιβίωση και στη νευροεκφύλιση.....	58
1.5.7	Ο ρόλος των κυτταροκινών στον πυρετό.....	59
1.6	Η ανοσολογική απάντηση σε συνθήκες εργώδους αναπνοής.....	62
1.6.1	Η προέλευση των επαγόμενων κυτταροκινών από την εργώδη αναπνοή.....	67
1.6.2	Το ερεθισματογωγό σήμα.....	67
1.6.3	Τοπικές και συστηματικές επιπτώσεις.....	67
1.6.3.1	Τοπικές επιπτώσεις.....	67
1.6.3.2	Συστηματικές επιπτώσεις.....	69
2.	Σκοπός-Υπόθεση.....	78
3.	Μεθοδολογία.....	78
3.1	Πληθυσμός της μελέτης.....	78
3.2	Περίδεση της τραχείας.....	78
3.3	Αναπνευστική λειτουργία-Πληθυσμογράφος.....	81
3.4	Επίπεδα ιντερλευκίνης-10 στον ορό.....	84
3.5	Άμεση διέγερση του αναπνευστικού κέντρου.....	84
3.6	Στατιστική ανάλυση.....	85
4.	Αποτελέσματα.....	87
4.1	Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10.....	87
4.2	Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μετά από περίδεση της τραχείας.....	93
4.3	Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μια ημέρα μετά από περίδεση της τραχείας.....	100
4.4	Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μια εβδομάδα μετά από περίδεση της τραχείας.....	106
4.5	Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, δυο εβδομάδες μετά από περίδεση της τραχείας.....	112

4.6 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μια ημέρα και μια εβδομάδα μετά από περίδεση της τραχείας σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου.....	118
4.7 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά ανασυνδυασμένη IL-10 και επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά PBS.....	123
4.8 Επίπεδα ιντερλευκίνης-10 στον ορό.....	129
4.9 Άμεση διέγερση του συμπλέγματος preBöttinger και του υπογλωσσίου νεύρου.....	129
4.10 Πληθυσμογραφικές τιμές CO ₂ σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου.....	130
4.11 Σύγκριση αναπνεόμενου όγκου μεταξύ επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10 και επίμυων με πλήρη έκφραση IL-10.....	132
5.Συζήτηση.....	134
Παραπομπές.....	147
Περίληψη.....	173

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η ιντερλευκίνη 10 (IL-10)

Η ιντερλευκίνη 10 (IL-10) ανήκει στην κατηγορία των 2α ελικοειδών κυτταροκινών στην οποία συμπεριλαμβάνονται οι IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 (Mda-7), IL-26, οι ιντερφερόνες (IFN-α, -β, -ε, -κ, -ω, -δ, -τ και -γ) και μόρια σαν τις ιντερφερόνες (λιμιτίνη, IL-28A, IL28-B και IL-29). Η αλληλεπίδραση αυτών των κυτταροκινών με τους ειδικούς υποδοχείς τους, προάγει ένα ευρύ φάσμα σημάτων που επ[15]άγουν κυτταρικούς αντικούς μηχανισμούς, ρυθμίζουν απαντήσεις στην φλεγμονή, αναστέλλουν ή ενεργοποιούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προάγουν ή αναστέλλουν την απόπτωση και επηρεάζουν αρκετούς ανοσοποιητικούς μηχανισμούς.

Η IL-10 είχε αρχικά χαρακτηριστεί ως ανασταλτικός παράγοντας σύνθεσης κυτταροκινών (CSIF) (Fiorentino DF et al.1989) προερχόμενος από τα con A- υποκινούμενα Th2 κύτταρα (conA=concanavalin A λεκτίνη,δεσμευτική πρωτεΐνη), ο οποίος εμπόδιζε την παραγωγή κυτταροκινών όπως οι IL-2, TNF-α, IFN-γ και GM-CSF από τα Th1 κύτταρα αλλά όχι από τα Th2, ως απάντηση στα αντιγόνα που παρουσιάζονταν από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Αμέσως μετά από αυτήν την αναφορά βρέθηκε ότι η IL-10 προάγει επίσης τα κύτταρα τύπου B όπως το λέμφωμα τύπου B (O'Garra et al.1990) ενώ ένα ομόλογο της IL-10, το BCRF1 ανακαλύφθηκε στο γένωμα του ιού Epstein-Barr (Moore KW et al.1990). Μετά από αυτήν την ανακάλυψη προτάθηκε ότι η IL-10 και το ικό της ομόλογο παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος επιτρέποντας τον πολλαπλασιασμό του λεμφώματος και την επιβίωση του ιού. Στην πορεία η συσχέτιση των κυτταροκινών με νόσους του ανοσοποιητικού αυξανόταν συνεχώς με αποτέλεσμα το ενδιαφέρον για την IL-10 να αυξάνεται αλματωδώς.

1.2 Οι βιολογικές δράσεις της IL-10

Η IL-10 είναι υπεύθυνη για ένα πλήθος δραστηριοτήτων όταν προσδένεται στον κυτταρικό της υποδοχέα. Αρχικά υπήρχε η πεποίθηση ότι η αναστολή της παραγωγής διαφόρων κυτταροκινών οφειλόταν σε αναστολή της αντιγονοπαρουσιαστικής της χωρητικότητας στα μακροφάγα (Ding L et al.1992) και στα δενδριτικά κύτταρα (Fiorentino DF et al.1991, Macatonia SE et al. 1993, Enk AH et

al.1993, Peugeot-Navarro J et al.1994). Λοιπές ανακαλύψεις αποκάλυψαν ότι η IL-10 παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στο να μπλοκάρει την παραγωγή κυτταροκινών (Fiorentino DF et al. 1991), την έκφραση διεγερμένων μορίων συμπεριλαμβανομένων των CD-80, CD-86, MHC Τάξης II (Ding L et al. 1993, Willems F et al. 1994) και την έκκριση χημειοκινών (Jinquan T et al. 1993, Kasama T et al. 1994). Επίσης, τροποποιεί την έκφραση του υποδοχέα των χημειοκινών (Sozzani S et al. 1998, Takayam T et al. 2001) και αυξάνει την έκφραση και την αναπαραγωγή της συνδεόμενης β2-ιντεγκρίνης (π.χ. ICAM-1) (Willems F et al. 1994, Dokka S et al. 2001). Έτσι περιορίζεται το μέγεθος της ενεργοποίησης και της απελευθέρωσης κυτταροκινών από τα κύτταρα τύπου T κατά την διάρκεια μιας συγκεκριμένης απάντησης του ανοσοποιητικού.

Η IL-10 αναστέλλει μερικώς την επαγωγή δραστηριοτήτων που υποκινούνται από άλλες κυτταροκίνες και κυρίως από τις IFN-γ, IL-2, TNF-α και IL-4. Εκτός του ότι επηρεάζει τις απαντήσεις των κυττάρων τύπου T, η IL-10 φαίνεται ότι προωθεί την ανάπτυξη των κυττάρων τύπου B1 (Ishida H et al. 1992), αυξάνει την επιβίωση των B κυττάρων, των T κυττάρων και των καρκινικών κυττάρων (Levy Y et al. 1994, Cohen SB et al. 1997) και παραδόξως επάγει την απόπτωση των B κυττάρων στην χρόνια λευχαιμία (Fluckiger AC et al. 1994). Αναφέρεται ότι η IL-10 προωθεί την δραστηριότητα και των NK κυττάρων (Gai G et al. 1999). Η αρχική λειτουργία της IL-10 ωστόσο είναι να περιορίσει το μέγεθος της ανοσοποιητικής απάντησης, όπως ποντίκια με έλλειψη IL-10 παρουσιάζουν εντεροκολίτιδα και άλλα συμπτώματα της νόσου του Crohn (Kuhn R et al. 1993). Επίσης, ποντίκια με έλλειψη IL-10 λόγω απώλειας του γονιδίου έχουν αυξημένες Th1 απαντήσεις (Yang X et al. 1999) και επομένως αυξημένη κάθαρση στη βακτηριακή (Murray PJ et al. 1999, Sewnath ME et al. 2001), στην μυκητιασική (Vazquez-Torres A et al. 1999) και στην τοξοπλάσμική μόλυνση (Gazzinelli RT et al. 1996). Αυτά τα ποντίκια ωστόσο παρουσιάζουν αυξημένες ασθματικές (Tournoy KG et al. 2000) και αλλεργικές απαντήσεις (Berg DJ et al.1995, Grunig G et al. 1997). Τα αποτελέσματα μιας επιπλέον μελέτης έδειξαν ότι η IL-10 προωθεί την διαφοροποίηση των CD11c CD45RB δένδριτικών κυττάρων γεγονός που οδηγεί στην διαφοροποίηση των ρυθμιστικών κυττάρων τύπου I in vitro και in vivo (Wakkach A. et al.2003). Με αυτή την παρατήρηση θα μπορούσε να εξηγηθεί η ανοσοκατασταλτική δράση της IL-10.

1.2.1 Μεταγωγή σήματος

Η δράση του συμπλέγματος της IL-10 με τους υποδοχείς της έχει σαν αποτέλεσμα όχι μόνο την αναστολή της σύνθεσης γονιδίων των κυτταροκινών αλλά επίσης εμποδίζει την επαγωγή των βιολογικών δραστηριοτήτων των κυτταροκινών πάνω στα κύτταρα στόχους.

Το σύμπλεγμα της IL-10 με τους υποδοχείς της αποτελείται από 4 διαμεμβρανικά πολυπεπίδια : 2 αλυσίδες από IL-10R1 που συγκρατούν την σύνδεση και 2 αλυσίδες από IL-10R2 που μεσολαβούν στην μεταγωγή του σήματος. Το γονίδιο Jak1 είναι προσδεμένο με τον υποδοχέα IL-10R1. Αυτή η σύνδεση διαμεσολαβείται από την πεπτιδική αλληλουχία SVLLFKK που βρίσκεται στην κατάληξη -NH₂ της ενδοκυτταρικής περιοχής του IL-10R1 μαζί με την FERM περιοχή του Jak1 (Usacheva A et al. 2002 J. Immunol., Usacheva A et al. 2002 J Biol. Chem.). Το Tyk2 συσχετίζεται με την αλυσίδα του IL-10R2 (Kotenko SV. et al. 1996). Με την ενεργοποίηση του συμπλέγματος των υποδοχέων της IL-10 από την IL-10, τα Jak1 και Tyk2 (Findbloom DS et al. 1995) ενεργοποιούνται με σταυρωτή φωσφορυλίωση από 2 τυροσίνες στην ενδοκυττάρια περιοχή του IL-10R1 (Weber-Nordt RM et al. 1996). Οι παραπάνω φωσφορυλιωμένες τυροσίνες (στα αμινοξέα 427 και 477) διαμεσολαβούν την άμεση αλληλεπίδραση του Stat3 με το σύμπλεγμα υποδοχέων της IL-10. Εν συνεχεία, ακολουθεί φωσφορυλίωση των Stat3, Stat1 και Stat5 από τα Jak1 και Tyk2, ενώ ομοδιμερή και ετεροδιμερή από αυτές τις πρωτείνες τύπου Stat (Wehinger J et al. 1996) μετατοπίζονται στον πυρήνα για να οδηγήσουν στην μεταγραφή των ανταποκρινόμενων Stat3 γονιδίων. Ανάμεσα στα γονίδια που ενεργοποιούνται από την IL-10 είναι και τα SOCS-1 και SOCS-3 (Ding Y et al.2003). Το SOCS-1 είναι γνωστό ότι αποτελεί τον μεγαλύτερο αναστολέα των IFN- γ , IL-10 και IL-4 (Ding Y et al.2003, Alexander WS et al. 1999, Naka T et al. 2001) ενώ η επαγωγή του SOCS-3 από την IL-10 εμποδίζει πολλές πτυχές της σηματοδότης του gp130 που προέρχεται από την IL-6 (Niemand C et al. 2003). Η επαγωγή του SOCS και η επακόλουθη αναστολή των υποδοχέων των κυτταροκινών μεσολαβεί σε πολλές αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες της IL-10. Η λοιπή αντιφλεγμονώδης δράση της IL-10 θα μπορούσε να εξηγηθεί από την ικανότητα της να σταθεροποιεί το I κ Ba στο κυτταρόπλασμα (Shames BD et al. 1998) και έτσι να εμποδίζει την LPS επαγόμενη ενεργοποίηση του NF-KB (Wang P et al. 1995) μέσω αναστολής της I κ B κινάσης (Schottelius AJ et al. 1999) η οποία, μετά από φωσφορυλίωση του NF-KB αναστολέα I κ Ba επάγει την πρωτεόλυση του I κ Ba και την απελευθέρωση του NF-KB. Ο μηχανισμός με τον οποίο η IL-10 αναστέλλει την δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνών μελετάται σε καρκινικά κύτταρα. Η IL-10

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

επάγει την τυροσινική φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση ενός μεταγραφικού παράγοντα που ονομάζεται IL-10 E1 (Wang M et al. 2003), ο οποίος είναι στρατολογημένος στο σύμπλεγμα των υποδοχέων στα σημεία της τυροσινικής φωσφορυλίωσης και πιθανώς να ενεργοποιείται από τις Jak κινάσες. (Stearns ME et al. 2003). Ο IL-10 E1 προσδένεται στο γονίδιο του αναστολέα των μεταλλοπρωτεασών και οδηγεί στην μεταγραφή του. Κατά συνέπεια, υπάρχουν διάφοροι τύποι μεταγραφικών παραγόντων που ενεργοποιούνται από την IL-10 ακολουθώντας την έννοια της πολλαπλής σηματοδότησης μονοπατιών που επάγεται από την IL-10. Κάποια από αυτά τα μονοπάτια έχουν σαν σκοπό να εμποδίσουν ορισμένες δραστηριότητες της IL-10 ενώ κάποια άλλα προωθούν άλλες δραστηριότητες. Η παραπάνω παρατήρηση φαίνεται στην σηματοδότηση της IFN- γ όπου διαφορετικά υποσύνολα δραστηριοτήτων παρατηρούνται σε απάντηση της IFN- γ , όταν το Stat1 δεν παρουσιάζεται στα κύτταρα (Shuai K et al. 1992, Ramana CV et al. 2000, Ramana CV et al. 2001, Gil MP et al. 2001) ή δεν ενεργοποιείται από την IFN- γ (Ramana CV et al. 2001). Με βάση τα παραπάνω, μια περιοχή στην ενδοκυττάρια κατάληξη -COOH η οποία περιλαμβάνει ένα λειτουργικά σημαντικό υπόλειμα σερίνης και δεν εμπλέκεται στην στρατολόγηση του Stat-3 απαιτείται για τις αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες της IL-10 (Riley JK et al. 1999). Η διαγραφή αυτής της περιοχής δεν επηρεάζει την φωσφορυλίωση του Stat-3 αλλά εμποδίζει κάποιες αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες. Ωστόσο, το Stat-3 απαιτείται να φωσφορυλιωθεί για να πραγματοποιηθούν οι αντιφλεγμονώδεις δράσεις της IL-10.

Η IL-10 είναι γνωστό ότι απελευθερώνεται από τα ρυθμιστικά T κύτταρα. Έρευνες έχουν δείξει ότι όπως υπάρχουν υποπληθυσμοί T κυττάρων που εκκρίνουν συγκεκριμένες κατηγορίες κυτταροκινών, έτσι υπάρχουν διάφοροι υποπληθυσμοί ρυθμιστικών $\alpha\beta$ T κυττάρων (Levings MK et al. 2002) που απελευθερώνουν IL-10 και χρησιμεύουν στον σχηματισμό μιας ανοσοκατασταλτικής χωρητικότητας. Τα CD4+CD25+ T ρυθμιστικά κύτταρα είναι καθιερωμένα ως πηγές IL-10 και η συσχέτιση τους με την IL-10 φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική ρύθμιση. Επίσης η IL-10 προέρχεται από τα $\gamma\delta$ T κύτταρα, ένα πληθυσμό T κυττάρων που ανευρίσκεται σε περιοχές του σώματος με χλωρίδα όπως το έντερο, το κόλον, ο στοματικός και ρινικός φραγμός, ο πνεύμονας και η μήτρα. Αναμφίβολα, η IL-10 προερχόμενη από τις παραπάνω πηγές ρυθμίζει την διατήρηση της ανοσολογικής ομοιόστασης σε αυτούς τους ιστούς. Πράγματι, η IL-10 που απελευθερώνεται από τα $\gamma\delta$ T κύτταρα είναι απαιτούμενο συστατικό για την αναστολή της ανοσολογικής απάντησης σε πλήθος καταστάσεων όπως η διατήρηση της κήσης (Nagaeva et al. 2002), η νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα (Kleer IM et al. 2003), η μεταμόσχευση καρδιάς (Hara M et al. 2001) και η επιβίωση ενάντια στον καρκίνο (Ke Y et al. 2003).

Έχει καθιερωθεί ότι η ανοσολογική απάντηση στις γυναίκες τείνει να είναι Th2-προσανατολιζόμενη σε αντίθεση με τους άντρες που είναι Th1 (Seymour BW et al. 2002, Wilder RL 1998). Τα κορτικοστεροειδή αναγνωρίζονται ως ρυθμιστές της ανοσολογικής λειτουργίας ενώ είναι ευρέως γνωστό ότι εμφανίζουν ανοσοκατασταλτικές δράσεις. Είναι γεγονός ότι τα στεροειδή επηρεάζουν το γονίδιο της κυτταροκίνης που μεταγράφεται και υψηλά επίπεδα τεστοστερόνης αυξάνουν την σύνθεση της IL-10 από τα T κύτταρα (Datal M et al. 1997, Liva SM et al. 2001). Έτσι, η τεστοστερόνη και η διυδροτεστοστερόνη, χρησιμοποιούμενες σε κλινικές μελέτες με σκοπό την καταστολή αυτοάνοσων ασθενειών, πιθανόν να παρουσιάζουν τις δράσεις τους μέσω της IL-10 με σκοπό να αποδυναμώσουν και να μετατοπίσουν το ανοσολογικό σύστημα προς την χυμική ανοσία στους άνδρες.

1.2.2 Συστηματική και τοπική οξεία φλεγμονή

Μια συστηματική φλεγμονώδης απάντηση μπορεί να ακολουθήσει τη σηψαιμία ή την ενδοτοξιναιμία όπως συμβαίνει μετά από μη λοιμώδη συμβάντα όπως το σοβαρό τραύμα, το έγκαυμα ή βλάβες ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Ένας καταρράκτης γεγονότων που περιλαμβάνει προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, κυκλοφορία κυττάρων, εξαγγείωση, παραγωγή μεσολαβητών, πήξη, ινωδόλυση και αλλαγές στις αιμοδυναμικές παραμέτρους και στην μικροαγγειακή διαπερατότητα μπορεί να οδηγήσει τελικά σε διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC), πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι το σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδης απάντησης (SIRS), το οποίο περιλαμβάνει παραγωγή TNF και IL-1 μπορεί να ακολουθηθεί από μια κατάσταση ανοσοκαταστολής ή ανοσοπαράλυσης (Volk HD et al. 1996).

Ο TNF και η IL-1 παίζουν κεντρικό ρόλο στην κινητοποίηση και διάδοση αυτών των γεγονότων από την στιγμή που η χορήγηση τους μπορεί να μιμηθεί και να αναστείλει την παραγωγή τους καθώς και να προλάβει καθώς και να βελτιώσει την φλεγμονώδη απάντηση. Η ανασταλτική δράση της IL-10 στην παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών και στη φυσιολογία των αυτόνομων κυτταρικών τύπων θα μπορούσε να έχει ισχυρές αντιφλεγμονώδεις δράσεις in vivo. Πράγματι, έχει παρατηρηθεί ένας προστατευτικός ρόλος της IL-10 στην ενδοτοξιναιμία. Η IL-10 έσωσε ποντίκια τύπου Balb/c από τοξικό shock επαγόμενο από LPS, γεγονός που συσχετίστηκε με μειωμένα επίπεδα TNF στον ορό (Howard M et al. 1993). Αναστολή της παραγωγής του TNF σε πειραματική ενδοτοξιναιμία παρατηρήθηκε επίσης μετά

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

από χορήγηση IL-10 σε μπαμπούνους και σε ανθρώπους (van der Poll T et al. 1997, Rajkrt D et al. 1997). Η πρωτεΐνη IL-10 και η ενδοτραχειακή μεταφορά του IL-10 γονιδίου προστάτευσαν ποντίκια από θανατηφόρα ενδοπεριτοναϊκή πρόκληση ενδοτοξίνης και επιπλέον μείωσε τα πνευμονικά επίπεδα του TNF και την ουδετεροφιλική διήθηση που ακολουθεί την πρόκληση με LPS (Rogy MA et al. 1995). Η χορήγηση ενδοτοξίνης επάγει την παραγωγή IL-10 σε ποντίκια, χιμπατζήδες, μπαμπούνους και ανθρώπους (Rajkrt D et al. 1997, Durez P et al. 1993, van der Poll T et al. 1994, Jansen PM et al. 1996). Η ενδογενής παραγωγή IL-10 παρέχει σημαντική προστασία από τις επιβλαβείς επιδράσεις της πρόκλησης με ενδοτοξίνη και προκαλεί την μείωση των επιπέδων των TNF, IFN- γ και MIP-2 (Standiford TJ et al. 1995) καθώς και ρυθμίζει αιμοδυναμικές παραμέτρους, αλληλεπιδράσεις λευκοκυττάρων, ενδοθηλιακών κυττάρων και την μικροαγγειακή διαπερατότητα (Hickey MJ et al. 1998). Ο προστατευτικός ρόλος της IL-10 παρουσιάζεται και στις παρακάτω μελέτες όπου ποντίκια IL-10 knock out (IL-10^{-/-}) και ποντίκια μάρτυρες (wild type) λάμβαναν από την στιγμή που γέννηθηκαν θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα anti-IL-10, τα ποντίκια με IL-10^{-/-} θανατώθηκαν με 20 φορές μικρότερη δόση LPS σε σύγκριση με τα ποντίκια μάρτυρες (Ishida H et al. 1993).

Τα αποτελέσματα της IL-10 έχουν επίσης αξιολογηθεί και σε μοντέλα σήψης λόγω μόλυνσης με ζωντανούς μικροοργανισμούς. Σε ένα μοντέλο σηπτικής περιτονίτιδος στο οποίο ποντίκια υποβλήθηκαν σε απολίνωση του τυφλού και παρακέντηση, η ενδογενής IL-10 ήταν προστατευτική και τα νεογέννητα ποντίκια απέφυγαν το κίνδυνο θανατηφόρου μόλυνσης με Β στρεπτόκοκκο (Kato T et al. 1995). Επιπλέον η IL-10 εμπόδισε την θνησιμότητα εξαιτίας επαγόμενου shock από SEB το οποίο εξαρτάται από την παραγωγή IL-2 και IFN- γ από κύτταρα τύπου T (Florqum S et al. 1994, Bean AGD et al. 1993).

Η παραγωγή IL-10 στον άνθρωπο κατά την διάρκεια της σηψαιμίας και του σηπτικού shock έχει συσχετισθεί με την ένταση της φλεγμονώδους απάντησης, τη σοβαρότητα της βλάβης και την έκβαση της κλινικής εικόνας (Marchant A. et al 1995, Neidhardt R et al. 1997). Η παραπάνω παρατήρηση ήταν ιδιαίτερα εμφανής σε ασθενείς που υπέφεραν από σηπτικό shock σχετιζόμενο με μόλυνση από μηνιγγιτιδόκοκκο (Lehmann AK et al. 1995). Παρομοίως, η IL-10 έχει παρουσιάσει προστατευτικές επιδράσεις σε διάφορα πειραματικά μοντέλα τοπικής φλεγμονής όπως η παγκρεατίτιδα (Van Laethem JL et al. 1995), η ραγοειδίτιδα (Okada AA et al. 1998), η κερατίτιδα (Tumpey TM et al. 1994), η ηπατίτιδα (Arai T et al. 1995), η περιτονίτιδα (van der Poll et al. 1995), η πνευμονική βλάβη (Steinhauser ML et al.

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

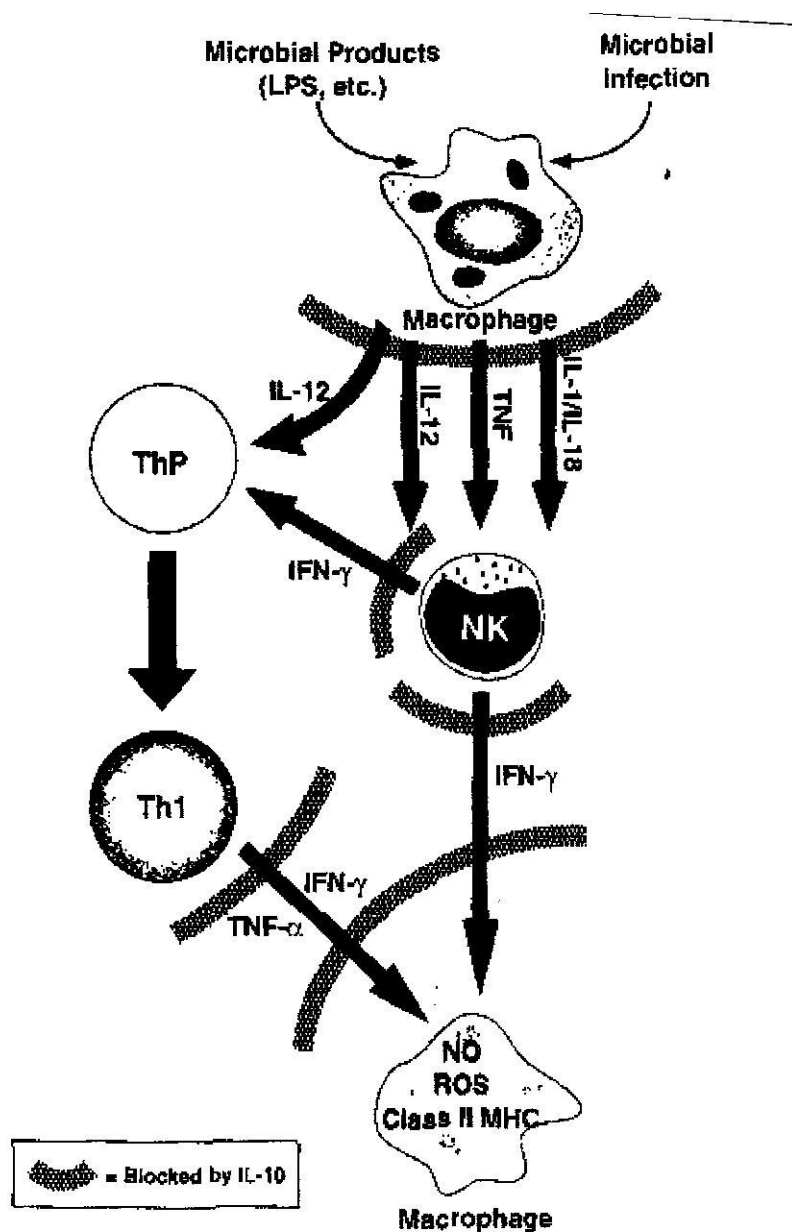
1999 ,Mulligan MS et al 1997) και η βλάβη της σπονδυλικής στήλης ή του εγκεφάλου (Belheal JR et al. 1999).

1.2.3 IL-10 και λοιμώξεις

Η πρόκληση που αντιμετωπίζει το ανοσοποιητικό σύστημα από μία μολυσματική απειλή είναι να ανταποκριθεί με ικανοποιητική ένταση και διάρκεια με σκοπό τον έλεγχο και τον περιορισμό της φλεγμονής, ενώ μειώνει την μη ειδική βλάβη του προσβεβλημένου ιστού. Ο κεντρικός ρόλος της IL-10 είναι να επιφέρει μια ισορροπία μεταξύ παθολογίας και προστασίας. Πράγματι στο φαινότυπο των IL-10^{-/-} ποντικών παρουσιάζεται ότι είναι η πιο σημαντική από όλες τις λειτουργίες της.

1.2.3.1 Η ειδική απάντηση του ανοσοποιητικού στην ενδοκυττάρια μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή πρωτόζωα

Πολλές από τις φλεγμονώδεις απαντήσεις ενεργοποιούνται από μολυσματικούς μικροοργανισμούς και ρυθμίζονται από την IL-10 (Εικόνα 1).



ΕΙΚΟΝΑ 1

Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου της IL-10 στον έλεγχο της φλεγμονώδους απάντησης στην μολυσματική νόσο (Moore KW et al. 2001).

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

Organism	Enhanced disease susceptibility when IL-10 increased by:		Enhanced disease resistance when IL-10 decreased by:	
	Method	Result	Method	Result
Bacteria				
<i>Listeria monocytogenes</i>	rIL-10	Yes	Anti-IL-10	Yes
	IL-10 TG	Yes	IL-10 KO	Yes
	induced IL-10	Yes	—	—
<i>Salmonella choleraesuis</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	rIL-10	Yes	Anti-IL-10	Yes
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
<i>Borellia burgdorferi</i>	—	—	IL-10 KO	Yes
<i>Chlamydia trachomatis</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
			IL-10 KO	Yes

Mycobacteria

<i>Mycobacterium avium</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
<i>M. tuberculosis</i>	—	—	IL-10 KO	No
<i>M. bovis BCG</i>	IL-10 TG	Yes	IL-10 KO	Yes

Fungi

<i>Candida albicans</i>	rIL-10	Yes	Anti-IL-10	Yes
	—	—	IL-10 KO	Yes
<i>Cryptococcus neoformans</i>	—	—	IL-10 KO	Yes
<i>Coccidioides immitis</i>	—	—	IL-10 KO	Yes
<i>Aspergillus fumigatus</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
	—	—	IL-10 KO	Yes

Protozoa

<i>Leishmania major</i>	rIL-10	No	Anti-IL-10	No
	IL-10 TG	Yes/No	IL-10 KO	Yes
<i>Trypanosoma cruzi</i>	rIL-10	Yes	Anti-IL-10	Yes
	—	—	IL-10 KO	Yes
<i>Trypanosoma congolense</i>	—	—	Anti-IL-10	Yes
<i>Toxoplasma gondii</i>	—	—	IL-10 KO	Yes (acid mice)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Τα χαμηλά επίπεδα IL-10 αυξάνουν την αντίσταση ενώ τα υψηλά επίπεδα αυξάνουν την ευαισθησία στα ενδοκυττάρια παθογόνα πειραματικών μοντέλων ποντικών (Moore KW et al. 2001).

Ο συνολικός ρόλος της IL-10 στα πειραματικά μοντέλα ζώων (κυρίως στα ποντίκια) με μολυσματικές ασθένειες έχει προσδιοριστεί με αύξηση ή μείωση της IL-10. Η αύξηση της IL-10 προέρχεται από χορήγηση ενέσιμης ανασυνδυασμένης IL-10 ή με την χρήση διαγονιδιακών ζώων ενώ η μείωση είναι αποτέλεσμα χορήγησης anti- IL-10 αντισωμάτων ή χρήσης IL-10^{-/-} ποντικών. Σκοπός των πειραμάτων αυτών είναι να παραχθούν ποντίκια με λίγη, καθόλου ή με υψηλά επίπεδα IL-10, ώστε να μελετηθεί το μέγιστο εύρος της δράσης της IL-10 στις μολύνσεις.

Τα αποτελέσματα της IL-10 σε μολύνσεις από βακτήρια, μύκητες και πρωτόζωα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Παρά τις διάφορες παραλλαγές στο είδος της αγωγής ανά πειραματικό μοντέλο είναι σαφές ότι η αντίσταση στην μόλυνση μπορεί εύκολα να επιτευχθεί με μείωση των επιπέδων της IL-10. Έτσι ακόμα και κανονικά επίπεδα IL-10 τείνουν να μειώσουν την αποτελεσματικότητα της ανοσολογικής απάντησης στα περισσότερα παθογόνα.

1.2.4 IL-10 και αλλεργία

Η διήθηση των αεραγωγών από φλεγμονώδη κύτταρα, ιδιαίτερα ηωσινόφιλα, βασεόφιλα και μαστοκύτταρα και η παραγωγή IgE, παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην παθολογία του άσθματος και άλλων αλλεργικών ασθενειών (Umetsu D et al. 1999). Τα κύτταρα τύπου Th2 εκκρίνουν IL-4, IL-5 και IL-13 και επάγουν, παρατείνουν, ενισχύουν την αλλεργική απάντηση μέσω αύξησης της παραγωγής IgE και στρατολόγησης, ανάπτυξης και διαφοροποίησης των ηωσινοφίλων και των μαστοκυττάρων. Όλα τα παραπάνω προκαλούν άμεσα υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών (Sher A et al. 1992, Robinson DS et al. 1992). Θεραπείες για το άσθμα επικεντρώνονται στην εξάλειψη των ηωσινοφίλων, των λεμφοκυττάρων και της IgE ή ανταγωνίζονται άμεσα την παθολογικά επαγωγή μεσολαβητών όπως η ισταμίνη και τα λευκοτριένια (Umetsu D et al. 1999).

Έχει προταθεί ότι οι Th2 μεσολαβούμενες αλλεργικές ασθένειες όπως το άσθμα έχουν σαν αποτέλεσμα την ανεπάρκεια παραγωγής Th1 κυτταροκινών (Umetsu DT et al. 1999). Ωστόσο, τα ειδικά στη αλλεργία

Th1 κύτταρα δεν προέχουν στους πνεύμονες φυσιολογικών, μη ασθματικών ατόμων, προτείνοντας άλλους μηχανισμούς για ρύθμιση της απάντησης στα αλλεργιογόνα.

Αρχικά ο ρόλος της IL-10 στον έλεγχο των ανοσολογικών απαντήσεων στα αλλεργιογόνα είχε αναγνωριστεί από μελέτες ως η αναστολή της επιβίωσης και της παραγωγής κυτταροκινών από τα ηωσινόφιλα μετά από διέγερση με LPS (Takanashi S et al. 1994). Αργότερα φάνηκε ότι η IL-10 μπορούσε ωστόσο να αναστείλει την παραγωγή κυτταροκινών όπως ο TNF και η IL-6 από διεγερμένα μαστοκύτταρα (Marshall JS et al. 1996). Οι παραπάνω in vitro παρατηρήσεις επιβεβαιώνονται και από in vivo μελέτες στις οποίες μία μόνο δόση ενδορρινικής IL-10 ταυτόχρονα με αντιγονική πρόκληση σε προηγουμένως ευαισθητοποιημένα ποντίκια ανέστειλλε την ουδετεροφιλία και την ηωσινοφιλία των αεραγωγών καθώς και την παραγωγή TNF που επάγονταν από την αντιγονική πρόκληση (Zuany-Amorin C et al. 1995).

Η έκφραση της IL-10 κατόπιν γονιδιακής μεταφοράς στους πνεύμονες ποντικών παρατηρήθηκε ότι αναστέλλει επίσης την ευαισθητοποίηση του βλεννογόνου στην οβαλβουμίνη (OVA) στο πλαίσιο της ρινικής χορήγησης μιας ρέπλικας με έλλειψη του αδενοϊού που μεταφέρει το GM-CSF γονίδιο (Ad/GM-CSF), (Stampfli MR et al. 1999). Συμμεταφορά από το γονίδιο της IL-10 (Ad/IL-10) αναστέλλει το σημασμένο Th2 προφίλ κυτταροκινών και την ηωσινοφιλία που παρατηρείται, μειώνει τον αριθμό των μονοπύρηνων κυττάρων, των ουδετεροφίλων και των ηωσινοφίλων στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ενώ ελαττώνει και τα ειδικά αντιγονικά επίπεδα IgE. Οι παραπάνω δράσεις δεν μεσολαβούνταν από IFN- γ , υποδεικνύοντας έτσι ότι δεν εμπεριέχεται στροφή από Th2 σε Th1. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η IL-10 προκαλεί μείωση της φλεγμονής και της υπεραντιδραστικότητας των αεραγωγών μετά από έκθεση σε σκόνη σιτηρών (Quinn TJ et al. 2000). Αντιθέτως, άλλες μελέτες έδειξαν ότι παρόλο η IL-10 μπορεί όντως να αναστείλει την πνευμονική φλεγμονώδη απάντηση, μπορεί ακόμα σε κάποιες περιπτώσεις να αυξήσει την υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών στα ευαισθητοποιημένα ποντίκια στα αλλεργιογόνα και στην πραγματικότητα φαίνεται να απαιτείται υπεραπαντητικότητα των αεραγωγών (Makela MJ et al. 2000, van Scott MR et al. 2000). Αυτή η διαφορά μπορεί να αντικατοπτρίζει την χρονική στιγμή της χορήγησης IL-10 σχετικά με την ευαισθητοποίηση στα αλλεργιογόνα και/ή τον χρόνο μετά την χορήγηση IL-10 όπου τα ποντίκια εξετάστηκαν.

Σαν συνέπεια του ρόλου της IL-10 στην αλλεργική φλεγμονή είναι η παρατήρηση ότι σημαντικά μικρότερη IL-10 ανευρίσκεται στους πνεύμονες των ασθματικών ασθενών (Borish L 1998, John M et al. 1998). Έτσι, η παραγωγή IL-10 στους πνεύμονες μη ασθματικών ασθενών μπορεί να παίζει ρόλο στον περιορισμό της παθολογικής επαγωγής φλεγμονωδών Th2 απαντήσεων. Ο ρόλος της ενδογενούς IL-10 στον έλεγχο των Th2 απαντήσεων αποδεικνύεται επίσης και σε χειμαιρικό μοντέλο αλλεργικής βρογχοπνευμονικής ασπεργίλλωσης (Grunig G et al. 1997). Πνευμονικά κύτταρα και βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα προερχόμενα από IL-10^{-/-} ποντίκια μετά από επαναλαμβανόμενη εισπνοή με *Aspergillus fumigatus* παρήγαγαν υψηλά επίπεδα IL-4, IL-5 και IFN-γ. Ενώ, διαγονιδιακά ποντίκια με έλλειψη της IL-10 (IL-10^{-/-}) παρουσίαζαν υπερβολική φλεγμονή των αεραγωγών σε σχέση με ποντίκια (wild type) μάρτυρες (Grunig G et al. 1997).

1.2.5 Η IL-10 παράγει υποπληθυσμούς ρυθμιστικών T κυττάρων διαφορετικούς από τα Th1 και Th2 κύτταρα

Ποικίλες μελέτες υποστηρίζουν ό,τι υπάρχουν υποπληθυσμοί ρυθμιστικών T κύτταρων διαφορετικοί από αυτούς των Th1 και Th2 κύτταρων. Έχουν περιγραφεί ρυθμιστικά CD4⁺ T κύτταρα τα οποία αναστέλλουν μεσολαβούμενες απαντήσεις ανοσοποιητικού και /ή φλεγμονώδεις νόσους (Seddon B et al. 2000, Shevach EM et al. 2000). Αυτοί οι πληθυσμοί ρυθμιστικών κυττάρων έχουν απομονωθεί κάτω από διαφορετικές συνθήκες και παρουσιάζουν διαφορετικό προφίλ κυτταροκινών. Δεν είναι ακόμα βέβαιο πότε εκφράζονται ένα ή περισσότερα διαφορετικά υποσύνολα CD4⁺ T κυττάρων ικανά να ρυθμίσουν Th1 και Th2 μεσολαβούμενες απαντήσεις. Πολλοί από τους πληθυσμούς είναι ετερογενείς και οι μοριακοί μηχανισμοί για την παραγωγή τους και την πλήρη δραστική λειτουργία τους δεν έχουν ακόμα καθοριστεί πλήρως.

Τα CD45Rb low CD4⁺ T κύτταρα περιέχουν έναν ρυθμιστικό μηχανισμό ο οποίος μπορεί να αναστείλει τα CD45Rb high CD4⁺ T κύτταρα που μεσολαβούν στην κολίτιδα. Αυτή η καταστολή της κολίτιδας αναστέλεται από τα anti-TGFβ και/ή anti-IL-10R1 mAbs (Asseman C et al. 1999), προτάσσοντας ένα ρόλο και για τις δύο κυτταροκίνες στον έλεγχο της βλεννογονικής φλεγμονής. Ο ρόλος του TGFβ έχει επίσης αποδειχθεί για έναν αριθμό T ρυθμιστικών πληθυσμών, περιλαμβανομένων των Th3 και T ρυθμιστικών I κυττάρων (Tr1) και αφορά την αναστολή των αυτοάνοσων νόσων, της φλεγμονής του εντέρου, και/ή του πολλαπλασιασμού των ειδικών αντιγονικών T κυττάρων (Groux H et al. 1999, Seddon

B et al 2000). Οι Asseman C et al. 1999 εμπλέκουν τον TGFβ και την IL-10 ως βασικούς παράγοντες στην ικανότητα των CD45Rb low κυττάρων να αναστέλλουν τα CD45RB high CD4⁺ T κύτταρα που μεσολαβούν στην κολίτιδα.

Η σχέση των δύο αυτών κυτταροκινών με την παθολογία της φλεγμονής δεν έχει αποσαφηνιστεί. Είναι απίθανο η IL-10 να σχετίζεται με την παραγωγή του TGFβ επειδή τα διαγονιδιακά ποντίκια με έλλειψη της IL-10 (IL-10^{-/-}) εμφανίζουν την παθολογία της φλεγμονής μόνο στο έντερο (Kuhn R et al. 1993) ενώ τα ποντίκια TGFβ^{-/-} αναπτύσσουν φλεγμονώδεις ασθένειες από πολλαπλά όργανα (Shull MM. et al. 1992). Ωστόσο, ο TGFβ επάγει την παραγωγή της IL-10 από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC), (Maeda H et al. 1995) προτείνοντας έτσι ότι αυτά τα μόρια μπορεί να δρουν συνεργικά για να επιρρεάσουν την ανάπτυξη και την λειτουργία των ρυθμιστικών T κυττάρων τα οποία ευνοούνται από χρόνιο ερεθισμό επί παρουσίας IL-10 (Groux H et al.1999). Αυτά τα κύτταρα θυμούνται τα CD4⁺ κύτταρα που είχαν απομονωθεί προηγουμένως από το περιφερικό αίμα σε ανασυνταχθέντες ασθενείς με σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (SCID) , στους οποίους τα υψηλά επίπεδα IL-10 σχετίζονται με επιτυχή αλλογενή μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων (Bacchetta R et al. 1994). Κατά πόσο η IL-10 επάγει την ανάπτυξη των κυττάρων που την παράγουν μέσω ενεργοποίησης των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APC) ή εμμέσως των T κυττάρων, δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί. Ωστόσο, με βάση (α) ότι η IL-10 έχει ανασταλτικές δράσεις στην λειτουργία των δενδριτικών κυττάρων (DC) και των μακροφάγων και (β) ότι η δράση της IL-10 στα DC επάγει την ανοχή (Steinbrink K et al. 1999), η δράση της IL-10 στα APC είναι μάλλον αναμενόμενη. Πρόσθετες μελέτες είναι απαραίτητες για να αποσαφηνιστούν οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και λειτουργία των T ρυθμιστικών κυττάρων καθώς και οι αντίστοιχοι ρόλοι των IL-10, TGFβ και άλλων μεσολαβητών.

1.2.6 Παράγοντες που επάγουν την παραγωγή IL-10 και συνθήκες κάτω από τις οποίες η IL-10 δρα σαν ρυθμιστικό μόριο in vivo

Η θεραπεία με χορήγηση αντιγόνων η οποία έχει προταθεί με σκοπό την ανεργία, ελαττωμένη αντίδραση στον αντιγονικό ερεθισμό in vivo αναφέρεται ότι κινητοποιεί την παραγωγή IL-10. Για παράδειγμα τα ειδικά CD4⁺ T κύτταρα της αιμοσυγκολλητίνης (HA) της ινφλουέντζας κατέστησαν ανενεργά in vivo, σε ποντίκια που εξέφραζαν HA υπό τον έλεγχο του I γ x υποστηρικτή ο οποίος παράγει 100 φορές υψηλότερα επίπεδα IL-10 από τα ουδέτερα ή προσφάτως ενεργά T κύτταρα (Buer J et al. 1998). Αυτά τα ανενεργά

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

HA ειδικά T κύτταρα παρουσίαζαν μια διαταραγμένη ικανότητα να προκαλούν διαβήτη *in vivo* σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ουδέτερα όταν μεταφέρονταν μέσα σε ανοσοκατεσταλμένους αποδέκτες που εξέφραζαν HA υπό τον έλεγχο του υποστηρικτή ινσουλίνης (Buer J et al. 1998). Παρόμοιες ανακαλύψεις πραγματοποιήθηκαν με τα CD8⁺ T κύτταρα ,ειδικά για το ανδρικό αντιγόνο H-Y, τα οποία κατέστησαν ανενεργά *in vivo* (Tanchol C et al. 1998). Αυτά τα T κύτταρα δεν πολλαπλασιάζονταν ούτε κινητοποιούσαν ασβέστιο για την ενεργοποίηση τους και αποτύγχαναν να εκφράσουν IL-2 ή IL-2R αλλά μπορούσαν να εκκρίνουν IL-10 και επιβίωναν για εκτεταμένες περιόδους *in vivo*. Ένας δυναμικός ρόλος της IL-10 στην ανοχή παρουσιάστηκε επίσης σε ένα μοντέλο που περιελάμβανε πολλαπλές ενέσεις super-αντιγόνου A (SEA) σε TCR-Vβ διαγονιδιακά ποντίκια. Η παραγωγή IL-10 ανιχνεύθηκε μετά την δεύτερη ένεση με SEA και μετά την τρίτη κυριάρχησε η απάντηση (Sundstedt A et al. 1997). Συγχρόνηση μονοκλωνικού αντισώματος IL-10 (anti-IL-10 Mab) με SEA προλαμβάνει την καταστολή των *in vivo* IFN γ , TNF και IL-4 απαντήσεων αλλά δεν έχει δράση στην παραγωγή IL-2. Αυτή η επανειλημμένη χορήγηση super-αντιγόνου η οποία παράγει ένα ρυθμιστικό πληθυσμό από CD4⁺ T κύτταρα προτάθηκε από ειδικούς που χρησιμοποίησαν ένα ιικό super-αντιγόνο (Pariernik M et al. 1998) που ενεργοποιούσε ένα πληθυσμό από CD25⁺CD4⁺ T κύτταρα ανθεκτικά στην κλωνική διαγραφή και ο οποίος παρήγαγε υψηλά ποσά IL-10. Αυτά τα κύτταρα ήταν εξαρτημένα από την IL-2 και δεν μπορούσαν να επαχθούν σε διαγονιδιακά ζώα με έλλειψη της IL-2 (IL-2^{-/-}), (Pariernik M et al. 1998).

Οι απαντήσεις του ανοσοποιητικού σε αντιγόνα στον οφθαλμό ρυθμίζονται από το οφθαλμικό περιβάλλον και μπορούν να επάγουν συστηματικές μεταβολές στην απάντηση του ανοσοποιητικού αναφερόμενες ως ανοσοποιητική απόκλιση (Streilein JW et al 1997). Ο οφθαλμός από μόνος του συμβάλλει στην ανοσοποιητική απόκλιση μέσω ανοσορυθμιστικών μορίων που βρίσκονται στο υδάτινο υγρό και/ή εκφράζονται στα οφθαλμικά κύτταρα. Όταν τα T κύτταρα συναντούν το αντιγόνο στον οφθαλμό γίνονται ανενεργά, υφίστανται απόπτωση και/ή εκκρίνουν κυτταροκίνες όπως ο TGF β ο οποίος καταστέλλει μεταγενέστερες φλεγμονώδεις απαντήσεις, έτσι αποφεύγεται η φλεγμονώδη βλάβη. Η απόπτωση των φλεγμονωδών κυττάρων απαιτείται για την επαγωγή της ανοσοποιητικής απόκλισης μέσω αντιγονικής παρουσίασης στον οφθαλμό (Gao Y et al. 1998). Έτσι, η Fas-μεσολαβούμενη απόπτωση (Fas είναι ένας υποδοχέας στην επιφάνεια ενός μεγάλου αριθμού κυττάρων που σηματοδοτεί την απόπτωση) των λεμφοειδών κυττάρων συνοδεύεται από γρήγορη παραγωγή IL-10 και μεταγενέστερη αναστολή της APC λειτουργίας και των Th2 απαντήσεων (Gao Y et al. 1998). Λαμβάνοντας υπ όψιν ότι τα αποπτωτικά κύτταρα από τα ζώα μάρτυρες (wild type) «τροφοδοτούνται» *in vitro* από APC και

προωθούν την Th2 ανάπτυξη μέσω παραγωγής IL-4 και IL-10, τα κύτταρα που ανήκουν στα IL-10/-ποντίκια ευνοούν την Th1 ανάπτυξη. Ωστόσο, η ανοσοποιητική απόκλιση θα μπορούσε να επαχθεί στα IL-10^{-/-} ποντίκια όταν τα αποπτωτικά κύτταρα που περιέχουν IL-10 παρουσιάζονται στον οφθαλμό.

Μελέτη απέδειξε τη σχέση μεταξύ της βλάβης στο DNA που συμβαίνει στα αποπτωτικά κύτταρα και της παραγωγής IL-10 (Nishigori C et al. 1996). Η επαγωγή της έκφρασης της IL-10 συνδέθηκε με τον σχηματισμό του διμερούς πυριμιδίνης στα κερατοκύτταρα στο UV-εκτεθειμένο δέρμα. Επιπλέον, η IL-10 μεσολαβεί σε κάποιες από τις κατασταλτικές δράσεις της UV-ακτινοβολίας στα εμπλεκόμενα κύτταρα ανοσίας (Rivas JM et al. 1992). Η UV επαγόμενη απόπτωση είναι Fas- μεσολαβούμενη προκαλώντας μια συσχέτιση μεταξύ Fas-μεσολαβούμενου θανάτου και παραγωγής IL-10. Η παραπάνω συσχέτιση ενδυναμώνεται από την ανίχνευση εκφραζόμενης IL-10 σε μονοκύτταρα που επάγεται από την έκθεση σε UV-ακτινοβολούμενου αποπτωτικού PBL (peripheral blood lymphocyte),(Voll RE et al. 1997).

Εν κατακλείδι, οι παρατηρήσεις που παρουσιάστηκαν υποδεικνύουν έναν αντιφλεγμονώδη μηχανισμό απόπτωσης μεσολαβούμενο από την IL-10, ο οποίος χρησιμεύει στον έλεγχο δυνητικά επιβλαβών ανοσοποιητικών απαντήσεων.

1.3 Κλινικές εφαρμογές

Η IL-10 έχει θεωρηθεί ελκυστικά υποψήφιο μόριο για θεραπευτική χρήση λόγω των ισχυρά ανοσοτροποποιητικών δραστηριοτήτων του *in vitro* και των αποδεδειγμένων αποτελεσμάτων του σε ζωικά μοντέλα οξείας και χρόνιας φλεγμονής, αυτοανοσίας, καρκίνου και μολυσματικών ασθενειών. Κλινικές μελέτες Φάσης I και II ερευνούν την ασφάλεια, την ανοχή, την φαρμακοκινητική, την φαρμακοδυναμική καθώς και ανοσολογικά, αιματολογικά αποτελέσματα μονήρους ή πολλαπλών δόσεων IL-10 χορηγούμενων ενδολεβίως (*iv*) ή δια της υποδόριας (*sc*) οδού σε διάφορους πληθυσμούς υγιών εθελοντών και ασθενών (Huhn RD et al. 1997). Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι η IL-10 είναι καλά ανεκτή χωρίς ανεπιθύμητες ενέργειες σε δόσεις μέχρι και 25 μg/kg, με μέτρια έως σοβαρά συμπτώματα γρίπης να παρατηρούνται σε δόσεις μέχρι 100 μg/kg.

Η *in vivo* χορήγηση IL-10 ανέστειλε την *ex vivo* LPS επαγόμενη παραγωγή IL-6, IL-1 και TNF σε δοκιμασίες με κύτταρα ολικού αίματος καθώς και μείωσε τις πολλαπλασιαστικές απαντήσεις και την

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

παραγωγή IFN γ που ακολουθείτο από PHA (phytohemagglutinin A) ερεθισμό από PBMC (peripheral blood mononuclear cells), υποδεικνύοντας ότι η IL-10 διατηρεί ανοσοδιαφοροποιητικές δραστηριότητες όταν χορηγείται in vivo. Οι δόσεις χορηγήθηκαν με σκοπό να έχουν σαν αποτέλεσμα το 50% της μέγιστης αναστολής (IC50) της παραγωγής του TNF και της IL-1 β και το μέγιστο μέρος της αναστολής (Imax) υποδεικνύοντας ότι η IL-10 αναστέλλει την παραγωγή των προφλεγμονωδών μεσολαβητών in vivo σε δόσεις παρόμοιες με αυτές που χρησιμοποιήθηκαν σε in vitro πειράματα (Radwanski E et al. 1998).

Μονήρης ενδοφλέβιες (iv) ή υποδόριες (sc) δόσεις IL-10 είχαν ως αποτέλεσμα παροδικές δόσοεξαρτώμενες αλλαγές στους πληθυσμούς λευκοκυττάρων, συμπεριλαμβάνοντας αλλαγές στον ολικό αριθμό λευκοκυττάρων και στα ουδετερόφιλα. Μείωση παρατηρήθηκε στον αριθμό των CD3-CD4- και CD3+CD8+ λεμφοκυττάρων με συνοδό αύξηση του ποσοστού των CD14+HLA-DR+ μονοκυττάρων. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν, μετά από μία ενδοφλέβια μονήρη δόση IL-10 σε υγιείς εθελοντές, παροδικές μειώσεις στα επίπεδα του εκφραζόμενου CDIIa (LFaI) στα CD3+T κύτταρα, οι οποίες μπορεί να οφείλονται στην κυκλοφορία των λεμφοκυττάρων και μείωση στα επίπεδα του εκφραζόμενου HLA-DR στα CD14+ μονοκύτταρα, αλλά όχι στα CD20+B κύτταρα (Fucks AC et al. 1996). Η καταστολή της έκφρασης του HLA-DR στα μονοκύτταρα αλλά όχι στα B κύτταρα συσχετίζεται καλώς με τις in vitro επιδράσεις της IL-10 και συνδυάζεται με την αναστολή της αντιγονικής παρουσίας.

Εκτός από την παροδική ουδετεροφιλία, λεμφοκυττοπενία και μονοκυττάρωση, μια καθυστερημένη μείωση στον αριθμό των αιμοπεταλίων παρατηρήθηκε μετά από μια μονήρη υποδόρια έγχυση IL-10 (Huhn RD et al. 1997). Μειώσεις στον αριθμό των αιμοπεταλίων αναφέρθηκαν επίσης μετά από σχήματα πολλαπλής δόσης σε μια αναλογία ασθενών οι οποίοι λάμβαναν δόσεις των 10-20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Keystone E et al. 1998). Ο αριθμός των αιμοπεταλίων άγγιξε τα χαμηλότερα επίπεδα του 20-50% της αρχικής του τιμής στην έβδομη (7) ημέρα της θεραπείας αλλά δεν επιτεύχθηκαν κλινικά τα επιθυμητά επίπεδα, έτσι είτε σταθεροποιήθηκαν είτε επέστρεψαν στα φυσιολογικά κατά την διάρκεια ή μετά την παύση της θεραπείας με IL-10.

Επειδή αρκετές από τις δυναμικές ενδείξεις της IL-10 αφορούν χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις για τις οποίες η αντιμετώπιση με στεροειδή είναι μια αποδεκτή θεραπεία, οι αλληλεπιδράσεις της IL-10 με διάφορα φάρμακα μελετούνται. Μονήρης δόσεις IL-10 είχαν σαν αποτέλεσμα στατιστικά σημαντικές αλλά κλινικά μη σημαντικές αυξήσεις της τάξεως του 20 % σε περιοχή που περιείχε για 24 ώρες πλάσμα

με κοτιζόλη με βάση την καμπύλη συγκέντρωσης στον ορό με το χρόνο (AUC) . Ωστόσο, συγχορήγηση IL-10 με πρεδνιζολόνη δεν είχε σαν αποτέλεσμα φαρμακοκινητικές αλλαγές σε κανένα φάρμακο και έδειξε απαντήσεις που ήταν ίδιες ή μεγαλύτερες από τα αποτελέσματα που παράγονταν συγκριτικά με πιο ισχυρούς δρώντες αντιπροσώπους (Chakraborty A et al 1999). Επιπλέον, η χορήγηση IL-10 δεν μετέβαλλε σημαντικά το κυτόχρωμα P450 (CYP) που μεσολαβεί στον μεταβολισμό των φαρμάκων όπως χαρακτηρίζεται από τις δράσεις των CYP1A2, CYP2C9 και CYP2D6, ενώ παρατηρήθηκε 12% μείωση του CYP3A που μεσολαβεί στον βιομετασχηματισμό (Gorski JC et al. 2000).

Οι φαρμακοκινητικοί παράμετροι που αφορούν την κάθαρση της IL-10 αποσαφηνίστηκαν μέσω i.v. ή s.c. χορήγησης δόσεων από 0,1 έως 100 μg/kg. Ακολουθώντας την i.v. χορήγηση τα επίπεδα IL-10 στον ορό αρχικά μειώθηκαν γρήγορα όπως ήταν αναμενόμενο αλλά απέδωσαν μια λιγότερο απότομη τελική φάση με χρόνο ημιζωής ($t_{1/2}$) 2-3 ώρες. Οι μέσοι εκθετικοί παράμετροι (μέγιστη συγκέντρωση στον ορό, C_{max} και AUC) σχετίζονταν γραμμικά με την δοσολογία με αποτέλεσμα η IL-10 να απομένει στο αγγειακό διαμέρισμα. Η κάθαρση της ανθρωπείου ανασυνδυασμένης IL-10 (h IL-10) έγινε κυρίως στα νεφρά όπως ήταν ενδεδειγμένο από τον αυξημένο χρόνο ημιζωής και την μέγιστη συγκέντρωση στον ορό IL-10 σε ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια. Η χορήγηση IL-10 δεν προκάλεσε ανεπιθύμητες ενέργειες σε αυτόν τον πληθυσμό ασθενών (Andersen SR et al. 1999). Υποδόρια χορήγηση IL-10 οδήγησε στην αργή απορρόφηση της IL-10 από την δομημένη αποθήκευση στο σημείο της έγχυσης το οποίο είχε σαν αποτέλεσμα να προσεγγίσει την C_{max} στις 2-6,5 ώρες μετά την ένεση. Η πιο αργή απορρόφηση της IL-10 μετά από υποδόρια έγχυση έναντι της ενδοφλέβιας οδήγησε σε παρατεταμένη αλλά χαμηλότερη AUC με μέσο τελικό χρόνο ημιζωής τις 2,7-4,5 ώρες με αποτέλεσμα μια παρατεταμένη ανοσοκατασταλτική δράση. Οι μέσοι εκθετικοί παράμετροι ήταν επίσης γραμμικοί σε σχέση με την δοσολογία (Radwanski E et al. 1998). Παραγωγή ουδετεροποιημένων αντισωμάτων δεν παρατηρήθηκε σε καμία από τις μελέτες.

Η IL-10 χορηγούμενη i.v. στη δόση των 25 μg/kg ανέστειλε τις LPS επαγόμενες αυξήσεις της θερμοκρασίας και την απελευθέρωση των TNF, IL -6, IL -8 και IL -1RA σε υγιείς ανθρώπους εθελοντές, όταν δόθηκε 2 λεπτά πριν αλλά όχι 1 ώρα μετά από την ενδοτοξίνη (Pajkrt D et al. 1997). Η παραπάνω χορήγηση IL-10 μείωσε επίσης την επαγόμενη από την ενδοτοξίνη συσσώρευση των πολυμορφοπύρηνων στους πνεύμονες, την αποικοδόμηση των πολυμορφοπύρηνων, τα επίπεδα κορτιζόλης, την ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος, την αναστολή της ινωδόλυσης, την ενεργοποίηση του συστήματος πήξης

και την αναστολή της έκφρασης των CC χημειοκινών Mir1α, Mir1β και MCP1 (Pajkrt D et al. 1997, Olszyna DP et al. 2000). Με καθυστέρηση μιας ώρας στη χορήγηση IL-10 μειώθηκε η παραγωγή IL-6 και Mir1β, τα επίπεδα κορτιζόλης, η αναστολή της ινωδόλυσης και η ενεργοποίηση του συστήματος πήξεως, με την ένδειξη ότι ο χρόνος χορήγησης της IL-10 είναι σημαντικός για την πλήρη αντιφλεγμονώδη ενεργοποίηση κατά την διάρκεια της πειραματικής ενδοτοξιναιμίας. Ωστόσο, η IL-10 απέτυχε να μεταβάλλει την προφλεγμονώδη παραγωγή κυτταροκινών ή τις φυσιολογικές αλλαγές που σχετίζονται με την Jarisch-Herxheimer αντίδραση, μια οξεία συστηματική φλεγμονώδη απάντηση που ακολουθεί την αντιβιοτική θεραπεία της λοίμωξης από *Borrelia recurrentis* (Cooper PJ et al. 2000). Επί προσθέτως, ερευνήθηκαν οι δράσεις της IL-10 στην συστηματική παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού που έλαβαν OKT3 σαν εισαγωγική θεραπεία (Wissing KM et al. 1997).

Η IL-10 μελετήθηκε σε συγκεκριμένους πληθυσμούς ασθενών συμπεριλαμβανομένων αυτών με νόσο του Crohn, ρευματοειδή αρθρίτιδα, ψωρίαση και ασθενών που υποφέρουν από χρόνια ηπατίτιδα C. Χορήγηση IL-10 7 ημέρες i.v. μείωσε το σκορ του δείκτη ενεργοποίησης της νόσου του Crohn (CDAI) σε ασθενείς με νόσο του Crohn ανθιστάμενη στα στεροειδή ενώ έδειξε κλινικά ωφέλη σε ασφαλή και αποτελεσματική μελέτη μεγαλύτερης διάρκειας 28 ημερών σε ασθενείς με χρόνια ενεργό νόσου του Crohn (CACD), (van Deventer SJ et al. 1997). Ομοίως, μια τάση προς καλύτερη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια παρατηρήθηκε όταν η IL-10 χορηγήθηκε για 28 ημέρες σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (Papadakis KA et al. 2000). Η νόσος του Crohn και η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι ετερογενείς ασθένειες και η IL-10 μόνη ή σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες όπως χαμηλή δόση στεροειδών ή θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα anti-TNF (anti-TNF Mab), (Maini RN et al 2000, Papadakis KA et al. 2000) μπορεί να ωφελούν ένα σημαντικό πληθυσμό ασθενών.

Μια ανοικτή κλινική μελέτη φάσης II σε δέκα ασθενείς με ψωρίαση έδειξε ότι η υποδόρια έγχυση IL-10 για επτά εβδομάδες ήταν καλά ανεκτή και αποτελεσματική ενώ σημαντικές μειώσεις της ψωριασικής περιοχής και του δείκτη σοβαρότητας παρατηρήθηκαν στους 9/10 ασθενείς (Asadullah K et al. 1999). Η IL-10 σε αυτήν την ασθένεια η οποία χαρακτηρίζεται από Th1 μεσολαβούμενη IFN γ παραγωγή φαίνεται ότι δρά στα μονοκύτταρα και στα κύτταρα τύπου T αντί στα κερατινοκύτταρα (Seiferi M et al. 2000).

Ακολούθησαν μελέτες για την χρήση της IL-10 για να περιορίσουν την παθολογία που σχετίζεται με την χρόνια ηπατίτιδα C (HCV), (McHutchison JG et al. 1999). Η IL-10 χορηγήθηκε υποδορίως σε δόση 4 ή 8 μg/kg για 28 ή 90 ημέρες σε ασθενείς που δεν είχαν λάβει καμία θεραπεία ή δεν είχαν απαντήσει στην θεραπεία που βασίζεται στην ιντερφερόνη. Η IL-10 επέφερε στα φυσιολογικά τα επίπεδα της αμινοτρανσφεράσης αλανίνης (δείκτης ηπατικής φλεγμονής), βελτίωσε την ηπατική ιστολογία και μείωσε την ηπατική ίνωση σε περισσότερους από τους μισούς ασθενείς που έλαβαν την θεραπεία. Ωστόσο, η IL-10 δεν μείωσε τα επίπεδα του HCV RNA στον ορό, επιδεικνύοντας ότι δεν επηρεάζει το ιικό φορτίο αλλά αντιθέτως μείωσε την επαγομένη παθολογία από το παθόγονο όπως αναφέραμε προηγουμένως. Το ασφαλές προφίλ και οι βιολογικές δραστηριότητες της IL-10 προτείνουν την πιθανή χρήση της ως θεραπεία ενώ τα αποτελέσματα από διάφορες πρώιμες κλινικές μελέτες είναι ενθαρρυντικά. Δεν είναι εύκολο να προβλέψεις ποια συνθήκη θα ωφεληθεί περισσότερο από την θεραπεία με IL-10, αλλά οι IL-10-cIL-10 ή nIL-10 μόνες ή με συνδυασμό με άλλους παράγοντες είναι σημαντικά υποσχόμενες.

Η IL-10 είναι μια πλειοτροπική κυτταροκίνη η οποία ρυθμίζει μια ποικιλία λειτουργιών των αιμοποιητικών κυττάρων. Η κύρια καθημερινή δράση της φαίνεται να είναι ο περιορισμός και ο τελικός τερματισμός των φλεγμονωδών απαντήσεων μέσω της ικανότητας της να διευκολύνει την εξάλειψη των μολυσματικών οργανισμών με την μικρότερη ζημιά στους ιστούς ξενιστές. Επί προσθέτως, η IL-10 παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοχή του ανοσοποιητικού, στην ανάπτυξη των κυττάρων τύπου T και των δενδριτικών κυττάρων και στην αύξηση, διαφοροποίηση των κυττάρων τύπου B. Πρώιμες κλινικές μελέτες πρότειναν ότι η IL-10 έχει ένα ασφαλές προφίλ και πιθανή χρησιμότητα στην θεραπεία αυτοάνοσων και φλεγμονωδών νόσων. Επίσης, οι ανταγωνιστές IL-10 όπως τα anti-IL-10 ή τα anti-IL-10R μονοκλωνικά αντισώματα (Mabs) πιθανόν να βρουν εφαρμογή στην θεραπεία του συστηματικού ερυθρεμάτους λύκου και ενός σημαντικού αριθμού μολυσματικών ασθενειών.

1.4 Έλεγχος της αναπνοής

Το σύστημα ελέγχου της αναπνοής αποτελείται από ένα σύμπλεγμα αλληλεπιδράσεων που περιλαμβάνει τα αναπνευστικά κέντρα τα οποία τροφοδοτούν με σήματα το κεντρικό ελεγκτικό μηχανισμό ο οποίος εν συνεχεία προωθεί τα μηνύματα στους αναπνευστικούς μύες.

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

Τα κύρια μέρη του συστήματος ελέγχου της αναπνοής είναι: οι νευρικοί υποδοχείς, τα αναπνευστικά κέντρα και τα εκτελεστικά συστήματα (Πίνακας 2, Εικόνα 2).

ΑΝΑΠΝΟΗ

αναπνευστικά κέντρα (γέφυρα, προμήκης μυελός και άλλα τμήματα του εγκεφάλου)



αισθητήρες

(χημειούποδοχείς
ενδοπνευμονικοί
και άλλοι υποδοχείς)



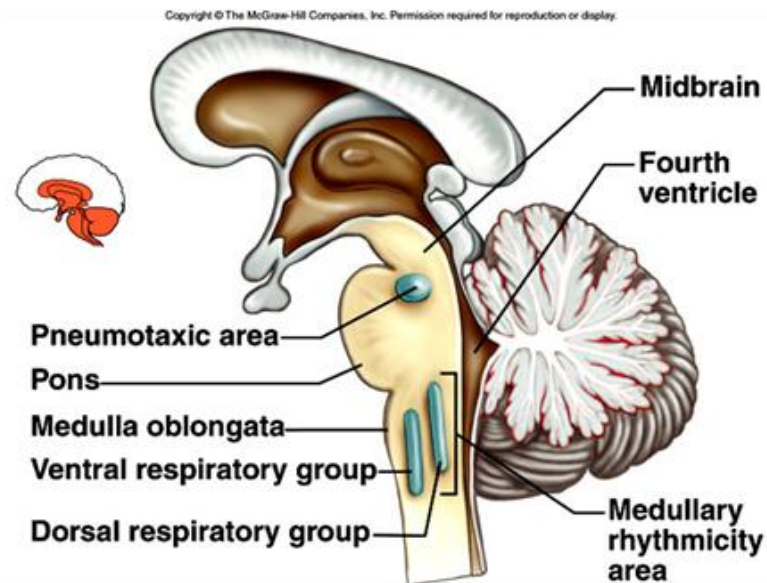
τελεστές

(αναπνευστικοί μύες)



ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Σχήμα του μηχανισμού ελέγχου του αναπνευστικού συστήματος. Πληροφορίες από τους περιφερικούς αισθητήρες τροφοδοτούν το κεντρικό ελεγκτικό μηχανισμό, ο οποίος ενεργοποιεί τους εκτελεστικούς μύες.



ΕΙΚΟΝΑ 2

Στον προμήκη μυελό εδράζεται το κυρίως αναπνευστικό κέντρο το οποίο αποτελείται από το έσω ραχιαίο τμήμα (dorsal respiratory group, DRG), στην περιοχή του πυρήνα της μονήρους δεσμίδας και στο έξω κοιλιακό τμήμα (ventral respiratory group, VRG), αντίστοιχα προς το μεικτό κοιλιακό πυρήνα του πνευμονογαστρικού. Στο ουραίο τμήμα της γέφυρας (pons) βρίσκεται το απνευστικό κέντρο. Στο κεφαλικό ραχιαίο μέρος της γέφυρας βρίσκεται το πνευμοταξικό κέντρο (pneumotaxic area).

1.4.1 Υποδοχείς

1.4.1.1 Νευρικοί υποδοχείς

Η προσαγωγός οδός στο κεντρικό νευρικό σύστημα γίνεται μέσω τεσσάρων ειδών νευρικών υποδοχέων: τους περιφερικούς αρτηριακούς χημειούποδοχείς, τους κεντρικούς χημειούποδοχείς, τους ενδοπνευμονικούς υποδοχείς και τους μηχανικούς υποδοχείς του θωρακικού τοιχώματος και των μυών .

1.4.1.2 Περιφερικοί αρτηριακοί χημειούποδοχείς

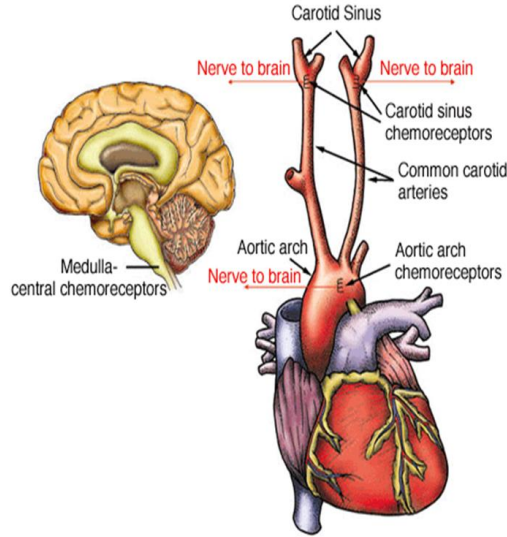
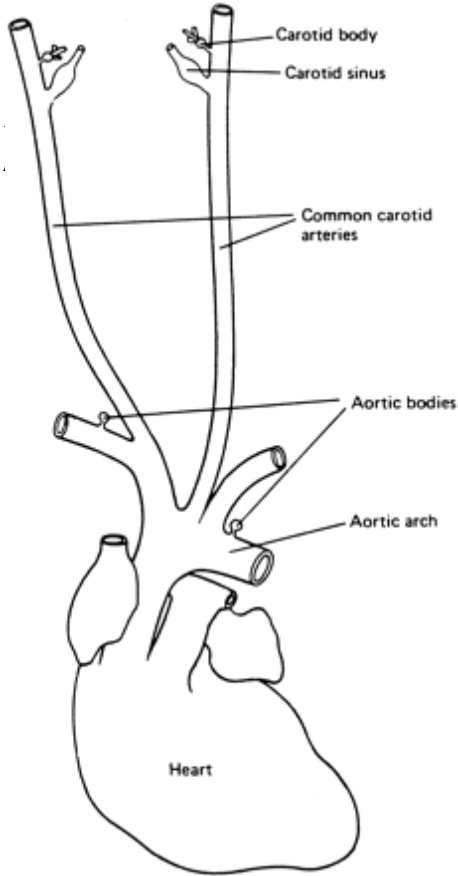
Οι περιφερικοί αρτηριακοί χημειούποδοχείς αποτελούνται από τα καρωτιδικά και τα αορτικά σωματίδια. Η σημασία των αορτικών σωματίων στους ανθρώπους είναι δύσκολο να εκτιμηθεί αλλά θεωρείται αμελητέα. Τα καρωτιδικά σωματίδια κατέχουν τον κυρίαρχο ρόλο ανάμεσα στους περιφερικούς

χημειούποδοχείς. Τοποθετούνται στη συμβολή έσω και έξω καρωτίδας, με διαστάσεις 1.5x2.0x3.7 mm και βάρος 10,6-12,6 mg (Ganong WF et al. 1993, McDonald D et al.1981), (Εικόνα 3). Αιματώνονται από κλάδους της έξω καρωτίδος και νευρώνονται αισθητικά από το γλωσσοφαρυγγικό νεύρο.

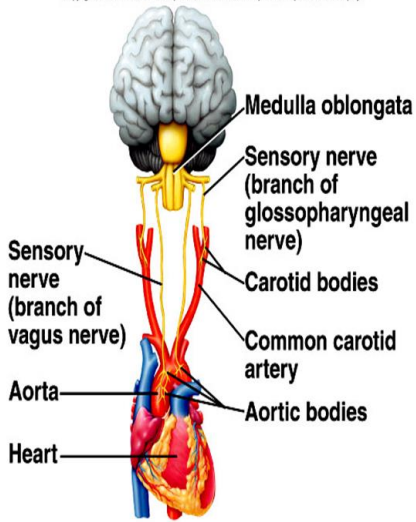
Τα καρωτιδικά σωματίδια αποτελούνται από δύο τύπους κυττάρων: τα επιθηλοειδή (glomus cells, type I) και τα νευρογλοιακά (sheath cells, type II), (Εικόνα 4). Και οι δύο τύποι κυττάρων νευρώνονται από το νεύρο του καρωτιδικού κόλπου, το οποίο περιέχει παρασυμπαθητικές και συμπαθητικές ίνες με προσαγωγές (αισθητικές) και απαγωγές (κινητικές) νευρικές απολήξεις. Οι προσαγωγές ίνες καταλήγουν στο καρωτιδικό σωματίδιο. Υπάρχει επίσης και η αμύελη νεύρωση των νευρογλοιακών κυττάρων. Οι απαγωγές ίνες ρυθμίζουν την αιματική ροή του καρωτιδικού σωματίου (McDonald D et al.1981) . Το καρωτιδικό σωματίδιο εμφανίζει πλούσια παροχή αίματος (2 λίτρα/λεπτό/100g). Επομένως, το ποσοστό του οξυγόνου που προσλαμβάνουν είναι μικρό με αποτέλεσμα η αιμάτωσή τους να μην επηρεάζεται από καταστάσεις που μεταβάλλουν την ποσότητα της αιμοσφαιρίνης (π.χ.αναιμία), (Ganong WF et al. 1993). Η P_{aO_2} είναι το κύριο ερέθισμα των καρωτιδικών σωματίων. Ως εκ τούτου, οι χημειούποδοχείς αυτοί δεν διεγείρονται από καταστάσεις που επηρεάζουν την περιεκτικότητα του αρτηριακού οξυγόνου αλλά δεν μεταβάλλουν την P_{aO_2} (αναιμία, δηλητηρίαση από CO),(Ganong WF et al. 1993). Σε αυτό οφείλεται το γεγονός ότι η δηλητηρίαση από CO δεν συνοδεύεται από σημεία και συμπτώματα διέγερσης της αναπνοής όπως δύσπνοια ή υποαερισμός.

Εκτός από την P_{aO_2} , τα καρωτιδικά σωματίδια απαντούν και σε αλλαγές των ιόντων υδρογόνου στο πλάσμα. Η ένταση της διέγερσης εξαρτάται από την βαθμίδα της υποξαιμίας ή της οξέωσης. Η αύξηση του αερισμού που παρατηρείται σε τιμές $P_{aO_2} < 70$ mmHg οφείλεται κυρίως σε αύξηση του αναπνεόμενου όγκου και λιγότερο της αναπνευστικής συχνότητας (Εικόνα 5), (Gonzales C et al. 1992). Στα θηλαστικά τα καρωτιδικά σωματίδια είναι υπεύθυνα για το 90% της αναπνευστικής απάντησης στην υποξαιμία, για το υπόλοιπο 10% ευθύνονται τα αορτικά σωματίδια. Τα καρωτιδικά σωματίδια είναι επίσης υπεύθυνα για το 20-50% της απάντησης στην αρτηριακή υπερκαπνία και οξέωση, με το υπόλοιπο 50-80% να καθορίζεται από τους κεντρικούς χημειούποδοχείς.

ο ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση

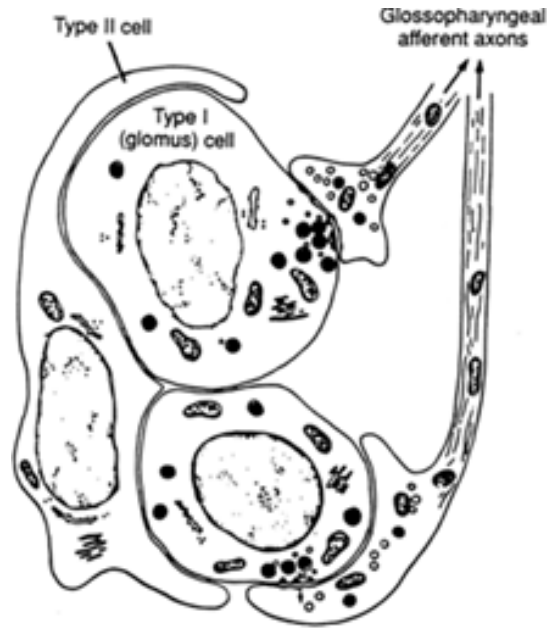


Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



ΕΙΚΟΝΑ 3

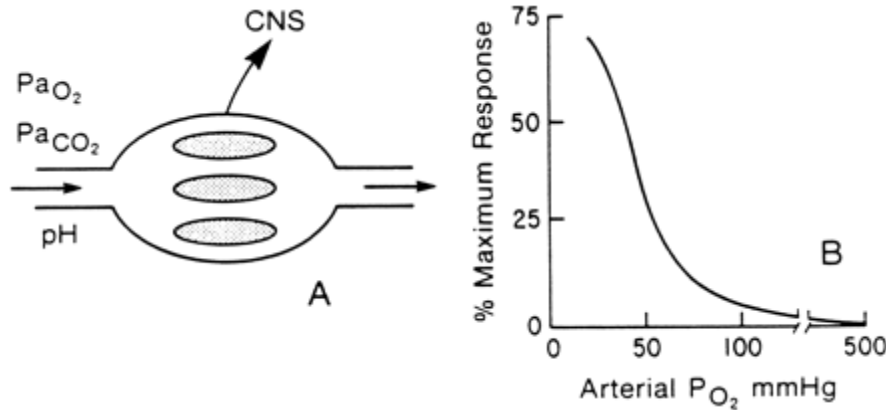
Η τοποθεσία των καρωτιδικών (carotid body) και αορτικών σωμάτων (aortic bodies) σε σειρά με τις κοινές καρωτιδικές αρτηρίες (common carotid arteries) και το αορτικό τόξο (aortic arch).



ΕΙΚΟΝΑ 4

Το καρωτιδικό σώμα αποτελείται από δύο διαφορετικούς τύπους κυττάρων. Τα κύτταρα τύπου I (glomus cells) περιέχουν κατεχολαμίνες (νορεπινεφρίνη και ντοπαμίνη). Όταν εκτεθούν σε υποξία απελευθερώνουν αποθηκευμένους νευρομεταβιβαστές οι οποίοι ερεθίζουν τις κυπελλοειδείς απολήξεις των ιών της κοιλότητας του καρωτιδικού νεύρου (Hering's nerve) στο γλωσσοφαρυγγικό νεύρο.

Τα τύπου νευρογλοιακά ελυτροειδή κύτταρα (τύπου II) περιβάλλουν τα κύτταρα τύπου I και πιθανόν να έχουν υποστηρικτικό ρόλο.



ΕΙΚΟΝΑ 5

A: το καρωτιδικό σώμα ανταποκρίνεται σε αλλαγές των PO_2 , PCO_2 και pH στο αρτηριακό αίμα. Ώσεις μεταφέρονται στο ΚΝΣ της κοιλότητας του καρωτιδικού νεύρου (Hering's nerve).

B: η ποσοστιαία μέγιστη απάντηση της συχνότητας πυροδότησης του καρωτιδικού νεύρου σε σχέση με το αρτηριακό PO_2 . Σημειώστε ότι η μέγιστη απάντηση επέρχεται όταν $PO_2 < 50$ mmHg και ότι η σχέση δεν είναι γραμμική.

1.4.1.3 Κεντρικοί χημειούποδοχείς

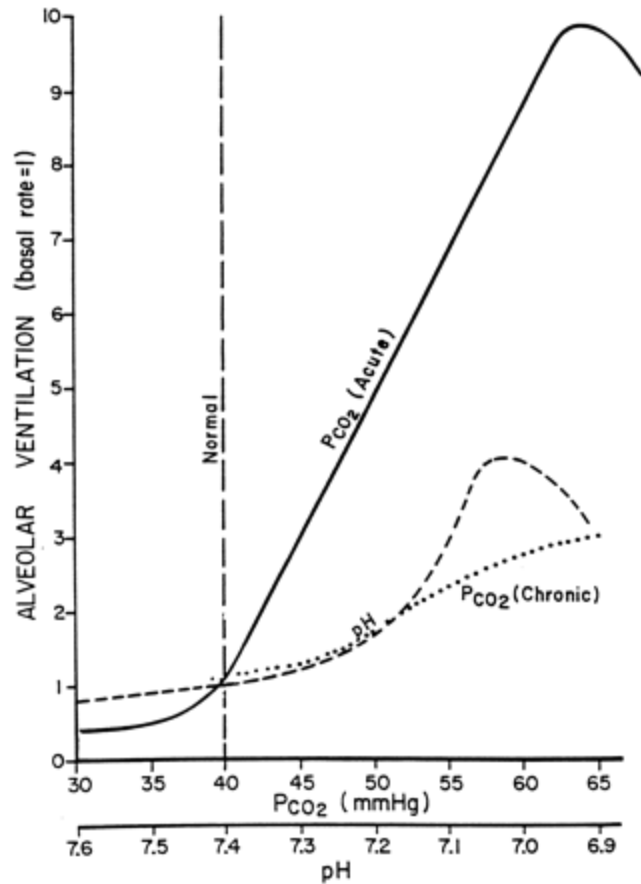
Το γεγονός ότι αναπνευστική απάντηση στο προστιθέμενο CO_2 εξακολουθεί να υφίσταται στα πειραματόζωα παρά την απονεύρωση των περιφερικών χημειούποδοχέων δημιουργεί την υπόθεση ότι υπάρχουν χημειούποδοχείς στον εγκέφαλο οι οποίοι είναι ευαίσθητοι στο CO_2 ή στα ιόντα υδρογόνου (Bruce EN et al. 1987). Παρόλο που δεν έχουν καθοριστεί ανατομικά συγκεκριμένοι χημειούποδοχείς, αποτελέσματα από πειράματα που συμπεριλαμβάνουν την τοπική εφαρμογή χημικού, ηλεκτρικού ή θερμικού ερεθίσματος ή την εκτομή νευρικού ιστού οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι κεντρικοί χημειούποδοχείς βρίσκονται στην κοιλιακή έξω επιφάνεια του προμήκη μυελού, σε βαθύτερες περιοχές πλησίον του πυρήνα της μονήρους δεσμίδος και πλησίον του μέλανα τόπου (Bruce EN et al. 1987). Ο ερεθισμός αυτών των υποδοχέων αυξάνει και το μέγεθος της αύξησης και την ένταση του εισπνευστικού σήματος τύπου «ράμπας», ως εκ τούτου και την συχνότητα του αναπνευστικού ρυθμού (Guyton AC et al. 1982). Το εισπνευστικό σήμα τύπου «ράμπας» είναι ένα νευρικό ερέθισμα που μεταδίδεται στους αναπνευστικούς μύες σαν μια αδύναμη έκρηξη δυναμικών ενεργειών και αυξάνεται σταθερά με έναν τρόπο τύπου «ράμπας» (vonEuler C et al. 1983). Φυσιολογικά, αυτοί οι κεντρικοί χημειούποδοχείς απαντούν πρωτίστως στις αλληλεπιδράσεις με τα ιόντα υδρογόνου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) και

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

στο διάμεσο υγρό του μυελού. Η συμβολή των κεντρικών χημειοϋποδοχέων στον αερισμό εξαρτάται από τους παράγοντες που μεταβάλλουν την ροή των ιόντων υδρογόνου στις παρακείμενες περιοχές τους προκαλώντας αλλαγές στο ενδοκυττάριο pH τους. Επίσης, η διέγερση τους αυξάνει τις ώσεις του αναπνευστικού κέντρου, συνιστώντας ότι αντιδρούν σε αλλαγές του προμηκικού pH μέσω μιας παλίνδρομης αγκύλης. Η ευαισθησία των οξέων μεταβολών του pH απαιτεί την παρουσία της καρβονικής ανυδράσης.

Τα ιόντα υδρογόνου εισέρχονται και εξέρχονται από το ENY και το εξοκυττάριο υγρό σε περιοχές πλησίον των κεντρικών χημειοϋποδοχέων ως αποτέλεσμα διάλυσης του CO₂ στο πλάσμα. Το CO₂ διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και μετατρέπεται σε H₂CO₃ το οποίο στη συνέχεια διασπάται σε H⁺ και HCO₃⁻. Αυτό προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης H⁺ στο ENY και στο διάμεσο υγρό παράλληλα με την αύξηση της PaCO₂. Η αύξηση των H⁺ διεγείρει την αναπνοή μέσω άμεσης δράσης στους χημειοϋποδοχείς. Σε αντίθεση, πτώση της PaCO₂ ή των H⁺ προκαλεί καταστολή του αερισμού (Bledsoe SW et al. 1981).

Η αναπνευστική απάντηση στην υπερκαπνία χωρίζεται σε δύο φάσεις: μια αρχική ταχεία φάση (εντός δευτερολέπτων) λόγω της οξινοποίησης του εγκεφαλονωτιαίου pH και μια βραδεία φάση (εντός λεπτών) λόγω της αύξησης των H⁺ στο διάμεσο υγρό. Σε σχέση με το CO₂ τα H⁺ διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό με αργό ρυθμό με αποτέλεσμα οι αλλαγές στο pH να οδηγούν σε βραδύτερες και μικρότερες αλλαγές στον αερισμό (Εικόνα 6), (Sant' Ambrogio G et al. 1987). Οι αλλαγές στην PaCO₂ έχουν οξεία επίδραση στον αερισμό αλλά δεν τον επηρεάζουν χρονίως κι αυτό λόγω της αντιρρόπησης μέσω της νεφρικής λειτουργίας και της επόμενης κατακράτησης HCO₃⁻ τα οποία διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και διαχέονται στο ENY. Εκεί ενώνονται με τα H⁺ λόγω της αυξημένης PaCO₂ με αποτέλεσμα την αρνητική επίδραση στον αερισμό (Bledsoe SW et al. 1981).



ΕΙΚΟΝΑ 6

Αποτελέσματα της αύξησης του αρτηριακού PCO_2 , η οξεία αλλαγή (συνεχόμενη γραμμή) και η χρονία αλλαγή (γραμμή με τελείες), σε σχέση με τον ρυθμό του κυψελιδικού αερισμού. Η δεύτερη συντεταγμένη δείχνει την σχέση του μειωμένου pH (γραμμή με παύλες) με τον κυψελιδικό αερισμό. Σημειώστε ότι μια οξεία αλλαγή στο PCO_2 έχει μεγαλύτερη επίδραση στο κυψελιδικό αερισμό από ότι μια χρονία αλλαγή.

1.4.1.4 Ενδοπνευμονικοί υποδοχείς

Οι ενδοπνευμονικοί υποδοχείς εδράζονται στους αεραγωγούς και στο πνευμονικό παρέγχυμα ενώ η νεύρωση τους καθορίζεται από το πνευμονογαστρικό όπου εμμύελες ίνες νευρώνουν τους υποδοχείς στους αεραγωγούς και αμύελες ίνες C αυτούς στο πνευμονικό παρέγχυμα (Sant' Ambrogio G et al. 1987, Berger AJ et al. 1977). Οι υποδοχείς στους αεραγωγούς υποδιαιρούνται στους αργά προσαρμόσιμους

υποδοχείς (SARs) και στους γρήγορα προσαρμόσιμους υποδοχείς (RARs). Οι υποδοχείς στο πνευμονικό παρέγχυμα λέγονται J-υποδοχείς (παρατριχοειδικοί) .

Οι υποδοχείς SARs βρίσκονται στις λείες μυικές ίνες των αεραγωγών και είναι υπεύθυνοι για το αντανακλαστικό Hering-Breuer στα ζώα. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων προκαλεί επίσης χαλάρωση των λείων μυικών ινών του τραχειοβρογχικού δέντρου με αποτέλεσμα να διαστέλλονται οι αεραγωγοί. Το αντανακλαστικό Hering-Breuer αφορά την παράταση του χρόνου εκπνοής και την μείωση της αναπνευστικής συχνότητας ως απάντηση στην πνευμονική διάταση (Berger AJ et al. 1977, Trippebach T et al. 1994). Στους ανθρώπους το ανατανακλαστικό Hering-Breuer είναι δηλωτικό του αναπνεόμενου όγκου (VT) > 3L και φαίνεται να παίζει ένα προστατευτικό ρόλο προλαμβάνοντας την υπερβολική πνευμονική διάταση (Guyton AC et al. 1996, Trippebach T et al. 1994) Οι SARs συμμετέχουν στην ρύθμιση του αερισμού παρατείνοντας την εισπνοή σε συνθήκες όπου μειώνεται η πνευμονική διάταση όπως η απόφραξη των αεραγωγών ή η μειωμένη ενδοτικότητα του θωρακικού τοιχώματος και ως εκ τούτου επιτρέπουν να επιτευχθεί φυσιολογικός αναπνεόμενος όγκος. Αντιστρόφως, σε συνθήκες όπου παρατείνεται η εκπνοή η πνευμονική συστολή είναι αργή, η αυξημένη SAR δραστηριότητα αυξάνει την δύναμη της συσταλτικότητας των εκπνευστικών μυών και παρατείνει τον χρόνο εκπνοής. Τα παραπάνω έχουν σαν αποτέλεσμα να προλαμβάνεται η αύξηση στον τελο-εκπνευστικό όγκο, έτσι μειώνοντας το μήκος ανάπαυσης των εισπνευστικών μυών τους επιτρέπεται να λειτουργούν με τον πιο επωφελή τρόπο με βάση την καμπύλη μήκους-τάσης τους (Dodd DS et al. 1984).

Οι υποδοχείς RARs βρίσκονται ανάμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών και είναι ερεθιστικοί υποδοχείς, αποκρινόμενοι σε επιβλαβή ερεθίσματα όπως η σκόνη, ο καπνός του τσιγάρου και η ισταμίνη. Είναι συγκεντρωμένοι στην τραχεία και στον κύριο βρόγχο και θεωρούνται επίσης υποδοχείς βήχα (Sant' Ambrogio G et al. 1987). Οι RARs νευρώνονται από ίνες μυελίνης και έχουν πιο γρήγορο ρυθμό προσαρμοστικότητας από τους SARs. Κατά την διάρκεια της ήρεμης αναπνοής, η εκφόρτιση τους είναι ανεξάρτητη από τις φάσεις της εισπνοής και της εκπνοής και επομένως οι υποδοχείς αυτοί δεν φαίνονται να έχουν σημαντική επίδραση στην αναπνοή κατά την ανάπαυση (Sampson SR et al. 1975). Ωστόσο, μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι ερεθίζονται από συνθήκες όπου αυξάνεται η αντίσταση των αεραγωγών και μειώνεται η πνευμονική ενδοτικότητα. Έτσι, η πιο σημαντική λειτουργία τους πιθανόν να είναι η ανίχνευση παθοφυσιολογικών αλλαγών στους αεραγωγούς. Οι RARs φαίνεται επίσης ότι είναι υπεύθυνοι για την αυξημένη αναπνοή και τους αναστεναγμούς που συμβαίνουν σποραδικά κατά την

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

διάρκεια της ήρεμης αναπνοής και βοηθούν στην αποφυγή ατελεκτασιών (Sant' Ambrogio G et al. 1982). Οι υποδοχείς αυτοί μπορεί να έχουν σημασία κατά την δύσπνοια, την βρογχοσύσπαση και τον τύπο της γρήγορης και ρηχής αναπνοής που παρατηρείται στο άσθμα (Manning HL et al. 1995).

Οι πνευμονικοί υποδοχείς του παρεγχύματος νευρώνονται από τις αμύελες ίνες C του πνευμονογαστρικού νεύρου. Ονομάζονται παρατριχοειδικοί υποδοχείς (υποδοχείς J) λόγω της τοποθεσίας τους δίπλα στα τριχοειδή του κυψελιδικού τοιχώματος. Στα ζώα, οι υποδοχείς αυτοί απαντώνται στην υπερδιάταση των πνευμόνων, στην παρουσία χημικών στην πνευμονική κυκλοφορία ενώ μπορεί να σχετίζονται με την αίσθηση της δύσπνοιας σε συνθήκες που προκαλούν διάμεση υπεραϊμία (π.χ.καρδιακή ανεπάρκεια), (Tripfenbach T et al. 1994, Paintal AS et al. 1970). Ο ερεθισμός των C ινών μπορεί να σχετίζεται με τον τύπο της γρήγορης και ρηχής αναπνοής, την βρογχοσύσπαση και τις αυξημένες εκκρίσεις των αεραγωγών.

Η αθροιστική επιρροή των πνευμονικών υποδοχέων που νευρώνονται από το πνευμονογαστρικό νεύρο στον αερισμό έχει διαπιστωθεί φράσσοντας ή διακόπτοντας τις οδούς του πνευμονογαστρικού στα ζώα. Αυτή η επέμβαση παράγει μειωμένη αναπνευστική απάντηση σε υπερκαπνικό και υποξαιμικό ερέθισμα σε ενσυνείδητους σκύλους στην ηρεμία και μειωμένη αναπνευστική συχνότητα κατά την άσκηση (Phillipson EA et al. 1970). Ο μηχανισμός της γρήγορης και ρηχής αναπνοής και του υπεραερισμού που παρουσιάζεται κατά την διάρκεια της κρίσης άσθματος έχει επίσης μελετηθεί σε σκύλους πριν και μετά από βαγοτομή. Παρόλο που η βαγοτομή δεν έχει καμία επίδραση στον βασικό τύπο της αναπνοής, πειραματική βρογχοσύσπαση μετά την βαγοτομή δεν παράγει την χαρακτηριστική αύξηση στον αναπνευστικό ρυθμό και στον αερισμό όπως παρατηρείται σε σκύλους και ανθρώπους με άθικτο πνευμονογαστρικό, προτείνοντας έτσι ότι ο τύπος της γρήγορης και ρηχής αναπνοής ως απάντηση στην βρογχοσύσπαση μεσολαβείται από μονοπάτια που καθορίζονται από το πνευμονογαστρικό (Cotton DJ et al. 1977, Adams JM et al. 1988). Μια άλλη μελέτη σε αναισθητοποιημένους σκύλους παρουσίασε ότι η γρήγορη και ρηχή αναπνοή που απαντάται στο σοβαρό εισπνευστικό εργώδες φορτίο αναστέλλεται μετά από αμφίπλευρη βαγκετομή (Adams JM et al. 1988). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν σε οριοθετημένα πειράματα στον άνθρωπο (Guz A et al. 1970).

Πάνω από όλα, αυτές οι μελέτες προτείνουν ότι ο παθολογικός τύπος αναπνοής που συνοδεύει διάφορες ασθένειες (π.χ. άσθμα, πνευμονία, καρδιακή ανεπάρκεια και πνευμονική θρομβοεμβολή) στους

ανθρώπους μπορεί να σχετίζεται πρωτίστως με τον ερεθισμό των πνευμονικών υποδοχέων παρά με διαταραχές στους πνευμονικούς μηχανισμούς ή στα αέρια του αρτηριακού αίματος.

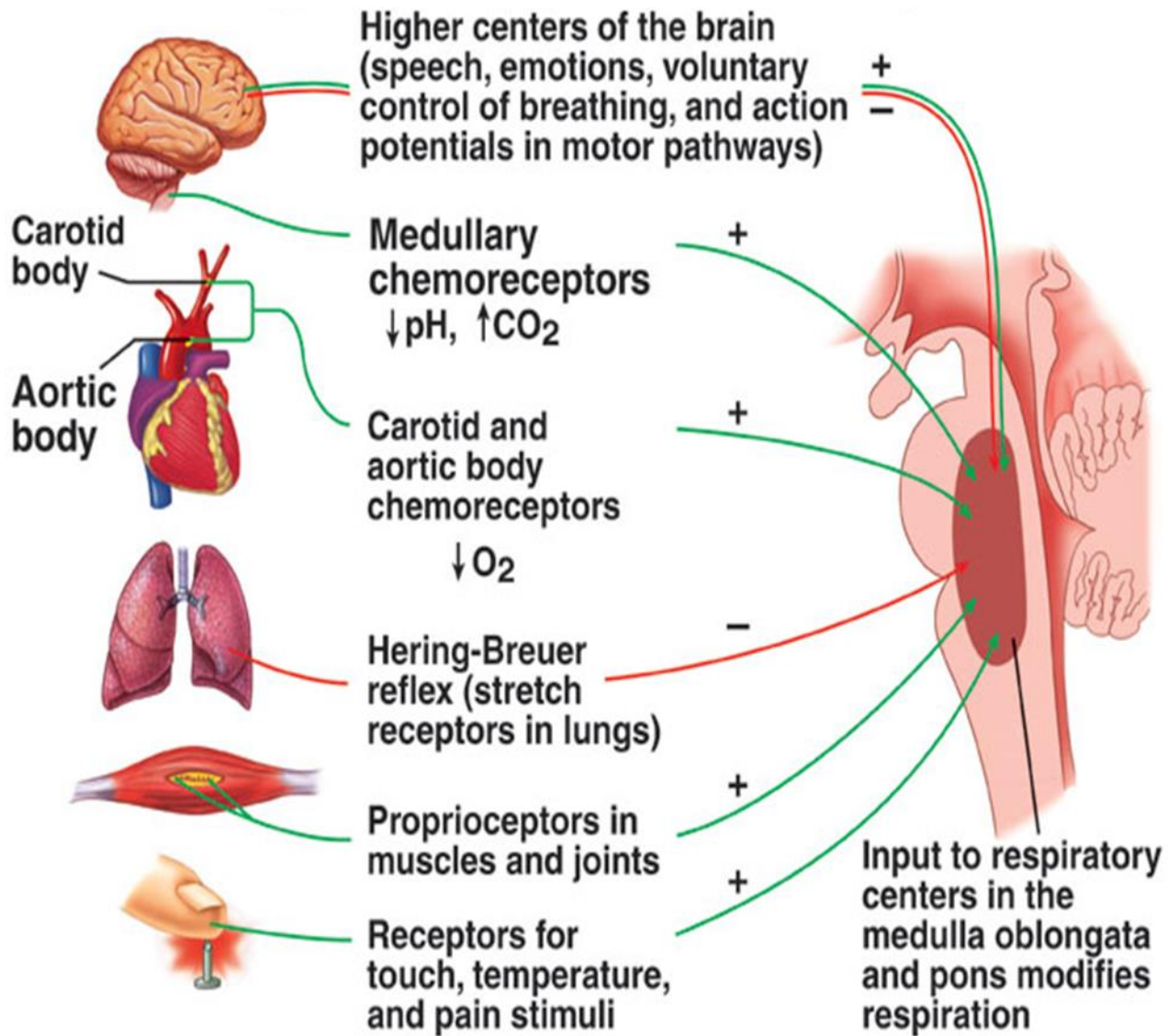
1.4.1.5 Θωρακικό τοίχωμα και μυϊκοί μηχανοϋποδοχείς

Οι μηχανοϋποδοχείς είναι αισθητήρες που απαντούν σε αλλαγές του μήκους, της τάσης ή της κίνησης. Οι κύριοι μηχανοϋποδοχείς στο θώρακα είναι οι απολήξεις των μυϊκών ατράκτων, των τενόντων των αναπνευστικών μυών και οι ιδιοϋποδοχείς της άρθρωσης (Εικόνα 7). Οι μυϊκές άτρακτοι επηρεάζονται κυρίως από αλλαγές στο μήκος και είναι υπεύθυνοι για το αντανακλαστικό της σύσπασης των σκελετικών μυών ως απάντηση στην διάταση. Κεντρομόλες πληροφορίες από αυτούς τους υποδοχείς μεταφέρονται στις πρόσθιες στήλες του σπονδυλωτού δικτυωτού μονοπατιού και τερματίζουν στην περιοχή των αναπνευστικών κέντρων στον προμήκη μυελό (Mitchell RA et al. 1981). Κεντρομόλοι μυϊκοί υποδοχείς συμμετέχουν στο επίπεδο και την ώρα της αναπνευστικής δραστηριότητας (Duron B et al. 1981). Αυτοί οι υποδοχείς πιθανόν να παίζουν επίσης ρόλο στην αύξηση του αερισμού που παρατηρείται κατά την διάρκεια των αρχικών σταδίων της άσκησης.

Οι τένοντες αντιλαμβάνονται αλλαγές στην δύναμη της σύσπασης που προέρχεται από τους αναπνευστικούς μύες. Οι υποδοχείς των τενόντων συμμετέχουν στην παρακολούθηση της δύναμης της μυϊκής σύσπασης και έχουν ανασταλτικό αποτέλεσμα στην εισπνοή. Μπορεί επίσης να παίζουν ρόλο στο συντονισμό της σύσπασης των αναπνευστικών μυών κατά την διάρκεια της αναπνοής στην ηρεμία ή στο αναπνευστικό φορτίο (Duron B et al. 1981).

Οι ιδιοϋποδοχείς της άρθρωσης αντιλαμβάνονται τον βαθμό της κίνησης του θωρακικού τοιχώματος και μπορεί επίσης να επηρεάζουν το επίπεδο και την ώρα της αναπνευστικής δραστηριότητας. Κεντρομόλες ίνες από τους ιδιοϋποδοχείς προβάλλουν στους κινητικούς νευρώνες του φρενικού και επηρεάζουν τον εναρκτήριο ρυθμό τους. Επίσης υπερέχουν στους αναπνευστικούς νευρώνες του μυελού στο ραχιαίο αναπνευστικό τμήμα και στον οπίθιο μεικτό πυρήνα, όπου επηρεάζουν την ώρα της εισπνοής και της εκπνοής (Duron B et al. 1981).

Αυτοί οι μηχανοϋποδοχείς μπορεί επίσης να παίζουν ρόλο στην αίσθηση της δύσπνοιας όταν το αναπνευστικό φορτίο αυξάνεται αδέξια από τον μηχανισμό μήκους-τάσης (Manning HL et al. 1995).



ΕΙΚΟΝΑ 7

Οι κύριοι μηχανοϋποδοχείς στο θώρακα είναι οι απολήξεις των μυικών ατράκτων, των τενόντων των αναπνευστικών μυών και οι ιδιοϋποδοχείς της άρθρωσης. Κεντρομόλες πληροφορίες από αυτούς τους υποδοχείς μεταφέρονται στις πρόσθιες στήλες του σπονδυλωτού δικτυωτού μονοπατιού και τερματίζουν στην περιοχή των αναπνευστικών κέντρων στον προμήκη μυελό.

1.4.1.6 Άλλοι υποδοχείς

Υποδοχείς ερεθιστικών μηνυμάτων υπάρχουν στη μύτη, το ρινοφάρυγγα, το λάρυγγα και την τραχεία και η διέγερση τους προκαλεί παταμό, βήχα, βρογχόσπασμο και λαρυγγόσπασμο. Οι αρτηριακοί τασεοϋποδοχείς που βρίσκονται στον αορτικό μηνοειδή κόλπο μπορούν να τροποποιήσουν αντανακλαστικά τον αερισμό ανάλογα με τις μεταβολές της αρτηριακής πίεσης. Οι υποδοχείς του πόνου και της θερμοκρασίας μπορούν επίσης να επηρεάσουν τον αερισμό.

1.4.2 Αναπνευστικά κέντρα

Η λειτουργία των αναπνευστικών κέντρων, περιοχών του κεντρικού νευρικού συστήματος (Εικόνα 8), αφορά την πρόκληση, τη διατήρηση και το συντονισμό της ρυθμικής εναλλαγής των συστολών και χαλάσεων των αναπνευστικών μυών. Εκτενείς πειραματικές μελέτες σε ζώα (κυρίως σε γάτες και αρουραίους) οδήγησαν στην ανάπτυξη μιας αρκετά ολοκληρωμένης θεωρίας για τον τρόπο λειτουργίας των αναπνευστικών κέντρων. Παρόλο που οι γενικές γραμμές της θεωρίας αυτής ισχύουν, καινούργια δεδομένα έρχονται συνεχώς να προσθέσουν στοιχεία στην κατανόηση της ρύθμισης της αναπνοής ή ακόμη και να αμφισβητήσουν πτυχές της ήδη καθιερωμένης θεωρίας.

Το σύνολο των κέντρων που ρυθμίζουν την αυτόνομη αναπνοή βρίσκεται στην γεφυροπρομηκική περιοχή. Στον προμήκη μυελό εδράζεται το κυρίως αναπνευστικό κέντρο το οποίο αποτελείται από το έσω ραχιαίο τμήμα (dorsal respiratory group, DRG), στην περιοχή του πυρήνα της μονήρους δεσμίδας και στο έξω κοιλιακό τμήμα (ventral respiratory group, VRG), αντίστοιχα προς το μεικτό κοιλιακό πυρήνα του πνευμονογαστρικού. Οι νευρώνες του DRG είναι σημαντικοί στην ανάλυση ερεθισμάτων από τις προσαγωγές σπλαχνικές ίνες των ανώτερων αεραγωγών, των ενδοαρτηριακών χημειοϋποδοχέων και του πνευμονικού παρεγχύματος μέσω της 5^{ης}, 9^{ης} και 10^{ης} εγκεφαλικής συζυγίας (Berger AJ et al. 1977). Η κοιλιακή περιοχή του προμήκη αποτελείται από εισπνευστικούς και εκπνευστικούς νευρώνες που νευρώνουν τους αντίστοιχους μυς μέσω του φρενικού νεύρου και των μεσοπλεύριων και κοιλιακών νεύρων (Berger AJ et al. 1977). Διέγερση της ραχιαίας περιοχής οδηγεί σε εισπνοή κυρίως διαφραγματικού τύπου, ενώ η διέγερση της κοιλιακής περιοχής οδηγεί σε σύσπαση των επικουρικών εισπνευστικών μυών και των έξω μεσοπλεύριων. Σε μερική αλληλοϋπερκάλυψη με το κατώτερο τμήμα

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

της κοιλιακής περιοχής βρίσκεται η κύρια ομάδα εκπνευστικών νευρώνων, διέγερση των οποίων προκαλεί σύσπαση των έσω μεσοπλεύριων και άλλων εκπνευστικών μυών. Στο ουραίο τμήμα της γέφυρας βρίσκεται το απνευστικό κέντρο. Η λειτουργία του φαίνεται να είναι ο τερματισμός της αναπνευστικής φάσης (Berger AJ et al. 1977). Στο κεφαλικό ραχιαίο μέρος της γέφυρας βρίσκεται το πνευμοταξικό κέντρο, το οποίο μπορεί να καταστείλει το απνευστικό κέντρο και να διατηρήσει έτσι τη ρυθμικότητα της αναπνοής μέσω ώσεων στο εισπνευστικό κέντρο. Με τον τρόπο αυτό το πνευμοταξικό κέντρο μπορεί να διαφοροποιεί την αναπνευστική απάντηση σε διάφορα ερεθίσματα όπως η υπερκαπνία, η υποξία και η πνευμονική διάταση και έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διάρκειας εισπνοής (Mitchell RA et al. 1981, Berger AJ et al. 1977). Το πνευμοταξικό κέντρο αποτελείται από το παραβραχιακό πυρήνα (nucleus parabrachialis) και τον πυρήνα Kölliker-Fuse. Σημαντική λειτουργία επιτελεί το σύμπλεγμα preBötzinger, οι νευρώνες του οποίου βρίσκονται ανάμεσα στον πλάγιο δικτυωτό και στο μεικτό κοιλιακό πυρήνα του πνευμονογαστρικού (Smith JC et al 1991, Smith JC et al 1990, Rekling JC & Feldman JL 1998). Το σύμπλεγμα αυτό λειτουργεί ως «βηματοδότης» και συμβάλλει στη ρυθμικότητα της αναπνοής (Del Negro et al. 2002).

Νεότερα δεδομένα για τη δράση των κέντρων αυτών αποτελούν η διαδικασία τριών φάσεων στο έργο της αναπνοής (εισπνοή, μετα-εισπνοή και εκπνοή) σε αντιδιαστολή με τις δύο φάσεις που αναφέρονται (εισπνοή, εκπνοή) καθώς και η μετονομασία του απνευστικού και πνευμοταξικού κέντρου σε κεντρικό ρυθμιστή του τύπου της αναπνοής (central pattern generator or central rhythm generator, CPG), (Feldman JL et al. 2003, Onimaru H & Homma I 2003).

Οι λειτουργίες των δύο εκπνευστικών φάσεων διαφέρουν, με την μετα-εισπνευστική φάση να ρυθμίζει την δράση των μυών των αεραγωγών, με σκοπό την εκπνευστική αντίσταση στη ροή, που έχει σαν αποτέλεσμα την παράταση της διάτασης των πνευμόνων, γεγονός που επιτρέπει την καλύτερη ανταλλαγή των αερίων (Paton JF & Dutschmann M 2002). Ενώ η εκπνευστική φάση εξασφαλίζει ότι η εισπνοή δεν λειτουργεί ακατάλληλα.

Εκτός όμως από τις περιοχές αυτές του προμήκη και άλλες εγκεφαλικές περιοχές συμμετέχουν στη ρύθμιση της αναπνοής. Οι περιοχές αυτές βρίσκονται στο φλοιό του εγκεφάλου, στον υποθάλαμο, στο μεσεγκέφαλο και είναι υπεύθυνες για την κατά βούληση αναπνοή. Ο εγκεφαλικός φλοιός επηρεάζει τη

ρύθμιση της αναπνοής ή μπορεί να παρακάμπτει το κέντρο της αναπνοής προκειμένου να διεκπεραιώσει και άλλες αναπνευστικές λειτουργίες όπως είναι ο βήχας και η ομιλία (Mithoeffer JC et al. 1964).

1.4.3 Εκτελεστικά συστήματα

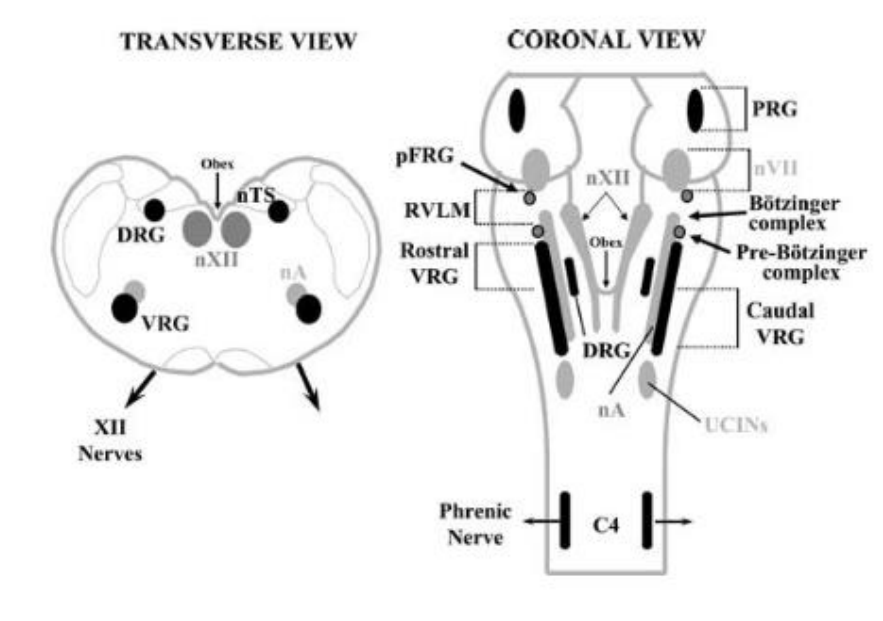
Τα εκτελεστικά συστήματα αποτελούνται από τις οδούς και τους μύες που συμμετέχουν στην πρακτική εκτέλεση της εισπνοής και της εκπνοής. Οι νωτιαίες οδοί συνδέουν τα αναπνευστικά κέντρα στον εγκέφαλο και στο νωτιαίο μυελό με τους αναπνευστικούς μύες και διαιρούνται σε κατερχόμενες και ανερχόμενες οδούς.

Τα κατερχόμενα μονοπάτια συνδέουν τα DRG και VRG με τις πλαγιοκοιλιακές στήλες του νωτιαίου μυελού, τα φρενικά νεύρα και τους μεσοπλεύριους και κοιλιακούς αναπνευστικούς μύες. Αυτά τα μονοπάτια είναι χρήσιμα για την αναστολή των εκπνευστικών μυών κατά την διάρκεια της εισπνοής και για την αναστολή των εισπνευστικών μυών κατά την διάρκεια της εκπνοής ώστε να εμποδίσουν την σύσπαση αντίθετων μυών την ίδια στιγμή (Berger AJ et al. 1977).

Οι ανερχόμενες οδοί συνδέουν τους αναπνευστικούς μύες στα υψηλότερα επίπεδα του εγκεφαλικού στελέχους. Βλάβη των ανερχόμενων νωτιαίων οδών (π.χ. ακολουθούμενη από αμφίπλευρη διαδερμική εγκεφαλική χορδοτομή ή από πρόσθιες νωτιαίες εγχειρήσεις) μπορεί να οδηγήσει σε αναπνευστική δυσλειτουργία με την μορφή της άπνοιας κατά την διάρκεια του ύπνου που ανατρέπεται με διέγερση. Η παραπάνω κατάσταση μπορεί να προκληθεί λόγω βλάβης των ανερχόμενων νωτιαιοδικτυωτών ινών ή ελάττωσης της λειτουργίας του εγκεφαλικού δικτυωτού σχηματισμού και έχει σαν αποτέλεσμα μια γενική καταστολή της αναπνοής (Berger AJ et al. 1977).

Οι αναπνευστικοί μύες αποτελούνται από το διάφραγμα και τους μεσοπλεύριους, κοιλιακούς και επικουρικούς μύες της αναπνοής. Το διάφραγμα είναι υπεύθυνο την μεγαλύτερη ποσότητα (75%) αέρα που κινείται κατά την διάρκεια της εισπνοής, ενώ οι μεσοπλεύριοι, κοιλιακοί και επικουρικοί μύες (στερνοκλειδομαστοειδής και άλλοι μύες του λαιμού) είναι υπεύθυνοι για το υπόλοιπο (Ganong WF et al. 1993). Η εισπνοή στην ηρεμία είναι ενεργητική και η εκπνοή παθητική σε ασθενείς με φυσιολογικούς πνεύμονες. Κατά την διάρκεια της άσκησης ή σε ασθενείς με απόφραξη των αεραγωγών, η εισπνοή και η

εκπνοή γίνονται ενεργητικές με εκπνευστική σύσπαση από το κοιλιακό τοίχωμα και τους έσω μεσοπλεύριους μύες (West JB et al. 1990).



ΕΙΚΟΝΑ 8

Σχηματική παρουσίαση της τοποθεσίας των βασικών ομάδων των αναπνευστικών νευρώνων στον εγκέφαλο και στον νωτιαίο μυελό των θηλαστικών. Η εγκάρσια τομή στα αριστερά είναι κατά προσέγγιση στο οβελιαίο επίπεδο της μετωπίας εικόνας στα δεξιά (Duffin J. et al. 2004).

Συντμήσεις: nA, nucleus ambiguus/ μεικτός πυρήνας; nVII, facial nucleus/ πυρήνας του προσωπικού; Nxii, hypoglossal nucleus/ υπογλώσσιος πυρήνας; nTS, nucleus of the solitary tract/ πυρήνας της μονήρου δεσμίδας; DRG, dorsal respiratory group/ ραχιαία αναπνευστική ομάδα; PRG, pontine respiratory group/ γεφυρική αναπνευστική ομάδα; RVLML, rostral ventrolateral medulla/ ραμφοειδής πλαγιοκοιλιακός μυελός; pFRG, para-facial respiratory group/ παρα-προσωπική αναπνευστική ομάδα; VRG, ventral respiratory group/ πρόσθια αναπνευστική ομάδα και C4, αντίστοιχο τμήμα του νωτιαίου μυελού

1.5 Κυτταροκίνες και κεντρικό νευρικό σύστημα

Οι κυτταροκίνες είναι πλειοτροπικές πρωτεΐνες με ευρύ φάσμα λειτουργιών που παίζουν σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία των κυττάρων μεταξύ τους και στη κυτταρική δραστηριότητα. Λειτουργικά οι κυτταροκίνες ταξινομούνται στις προφλεγμονώδεις (τύπος Th1- ερεθισματοαγωγές) και αντιφλεγμονώδεις (τύπος Th2- ανασταλτικές) ανάλογα με το τελικό αποτέλεσμα των δράσεων τους στο ανοσοποιητικό

σύστημα (Mosmann T.R. et al. 1986). Ωστόσο, οι κυτταροκίνες συμμετέχουν όχι μόνο στο ανοσοποιητικό σύστημα αλλά και σε ποικιλία φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένων αυτών που σχετίζονται με το περιφερικό (PNS) και το κεντρικό νευρικό σύστημα (CNS), για αυτό και καλούνται ταυτόχρονα ανοσορυθμιστές και διαμορφωτές των νευρικών λειτουργιών και της επιβίωσης των νευρώνων (νευροδιαμορφωτές). Από την άλλη πλευρά, η παραγωγή κυτταροκινών είναι υπό τον τονικό έλεγχο της περιφέρειας και του κεντρικού νευρικού συστήματος και η ισορροπία των κυτταροκινών μπορεί να διαμορφωθεί από τη λειτουργία των νευροδιαβιβαστών που απελευθερώνονται από μη συναπτικές κίρσοειδείς ανευρύνσεις (del Rey A et al. 1981, Elenkov IJ et al. 2000).

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανοσοποιητικού συστήματος και κεντρικού νευρικού συστήματος είναι αμφίδρομες. Κυτταροκίνες και άλλα προϊόντα των ανοσοποιητικών κυττάρων μπορούν να διαμορφώσουν την λειτουργία, την διαφοροποίηση και την επιβίωση των κυττάρων των νευρώνων, ενώ η απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών και νευροπεπτιδίων παίζει κεντρικό ρόλο στην επιρροή του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους ουσιαστικά εκφράζονται και δρουν στους νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος, σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, αλλά η υπερέκφραση των κυτταροκινών στον εγκέφαλο είναι σημαντικός παράγοντας στην παθογένεση νευροτοξικών και νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Κατά συνέπεια, είναι δεκτό ότι η περιφερική και η κεντρική κατηγορία κυτταροκινών προσεγγίζονται βαθμιαία και οι λειτουργίες τους δρουν συνεργικά ή αναστέλλουν η μία την άλλη. Ωστόσο θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψιν ότι κατά προσωρινά διαστήματα ρυθμίζονται διαφορετικά.

Οι κυτταροκίνες μπορούν να ασκήσουν τις δράσεις τους στο κεντρικό νευρικό σύστημα άμεσα ή έμμεσα (Besedovsky HO et al. 1991, Breder CD et al. 1988, Plata-Salaman CR et al. 1988). Άμεση δράση σημαίνει ότι οι κυτταροκίνες παρουσιάζονται στον εγκέφαλο, μέσα και/ή γύρω από διάφορα νευρωνικά κύτταρα, ενώ δευτερεύοντα αποτελέσματα της δράσης των κυτταροκινών σε άλλους στόχους αποτελούν τα έμμεσα μονοπάτια.

Οι διάφορες κυτταροκίνες που επηρεάζουν έμμεσα το ΚΝΣ έχουν δύο πιθανές πηγές προέλευσης:

1. Οι κυτταροκίνες που προέρχονται από τα περιφερικά ανοσολογικά όργανα και διαπερνούν τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό (blood-brain barrier; BBB). Ερεθισμός του περιφερικού

ανοσοποιητικού συστήματος στέλνει σήματα στον εγκέφαλο με τοπικό και συστηματικό τρόπο. Οι κυτταροκίνες φτάνουν στον εγκέφαλο άμεσα μέσω περιοχών με έλλειψη BBB που βρίσκονται στα περικολιακά όργανα (Watkins LR et al. 1995) σε φυσιολογικές συνθήκες. Αυτό αποδείχτηκε με την παρουσία συγκεκριμένης ποσότητας ανθρώπινης ανασυνδυασμένης IL-1α στο φλοιό ποντικίου μετά από υποδόρια έγχυση χωρίς αύξηση στα επίπεδα της IL-1α του ποντικίου (Banks WA et al. 1997). Υπάρχει επίσης αναφορά για ενεργητική, ειδική μεταφορά κυτταροκινών διαμέσω του BBB (Banks WA et al. 1997, Banks WA et al. 1991) .

2. Οι κυτταροκίνες που προέρχονται από τα κύτταρα των νευρώνων μέσα στο ΚΝΣ. Είναι αποδεκτό ότι διάφορες κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους παράγονται από διάφορους τύπους κυττάρων στο ΚΝΣ σε φυσιολογικές και παθολογικές συνθήκες. Αναφέρεται ότι οι κυτταροκίνες που παράγονται από νευρώνες και γλοιακά κύτταρα στον εγκέφαλο θα μπορούσαν να συμμετέχουν στο αυτόνομο, νευροενδοκρινικό, μεταβολικό και συμπεριφορικό σύστημα καθώς και να απαντούν στην λοίμωξη, φλεγμονή, ισχαιμία και σε διάφορες εγκεφαλικές βλάβες (Breder CD et al. 1994, Woiciechowsky C et al 1998).

Νευροδιαβιβαστές απελευθερώνονται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (ΣΝΣ) εξυπηρετώντας την αμφίδρομη επικοινωνία μεταξύ νευρικού και ανοσοποιητικού συστήματος. Επειδή τα πρωτεύοντα και δευτερεύοντα ανοσολογικά όργανα συνδέονται δύσκολα με το ΣΝΣ, στα όργανα αυτά οι μεταγαγγλιακές νοραδρενεργικές ίνες απελευθερώνουν νοραδρεναλίνη (NA) ως τον βασικό νευρομεταβιβαστή, κυρίως συναπτικά (Hasko G et al. 1995, Vizi ES et al. 1995) . Συμπερασματικά, η νοραδρεναλίνη (NA) μπορεί να φτάσει τα στοχοποιημένα ανοσολογικά κύτταρα στις πιο απομακρυσμένες περιοχές με διάχυση. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών από τις απολήξεις των νευρώνων είναι υπό τον έλεγχο αρνητικής (ή θετικής) παλινδρόμησης της απελευθέρωσης τους, ενώ η αποτελεσματική αλλαγή στο επίπεδο των νευροδιαβιβαστών στον εξωκυττάριο χώρο συνεισφέρει στο τελικό ανοσοδιαμορφωτικό αποτέλεσμα (Hasko G et al. 1995, Vizi ES et al. 1995).

Η άμεση ανοσοδιαμορφωτική δράση των νευρομεταβιβαστών, κυρίως της NA, έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης ποικίλων ομάδων τις προηγούμενες δεκαετίες (Besedovsky HO et al. 1979, Hasko G et al. 1998, Szelenyi J et al. 2000, Vizi ES 1998). Από την στιγμή που ερεθίζεται το ανοσοποιητικό σύστημα με λοιμώξεις και άλλες παθολογικές καταστάσεις διεγείρει την δραστηριοποίηση του ΣΝΣ, τα

αυξανόμενα επίπεδα των ειδικών νευροδιαβιβαστών του οποίου είναι ικανά να ρυθμίσουν την παραγωγή των κυτταροκινών και έχουν παθοφυσιολογική σημασία (Besedovsky H et al.1986, Pastores SM et al. 1996, Straub RH et al. 1998, Vizi ES 1998, Woiciechowsky C et al. 1998) .

1.5.1 Οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους στον εγκέφαλο

Η πρώτη αναφορά της παρουσίας των λειτουργικών κυτταροκινών και των υποδοχέων τους στον εγκέφαλο έγινε από τους Breder και Plata-Salaman, οι οποίοι απέδειξαν την βιολογική δράση και ανοσοαντιδραστικότητα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1β και TNF-α στο ΚΝΣ (Breder CD et al. 1988, Plata-Salaman CR et al. 1988). Μετά τα πειράματα αυτά, όπου ζώα εκτέθεικαν σε λοιμώξεις ή διάφορες άλλες εγκεφαλικές βλάβες, δημιουργήθηκε η απορία εάν οι κυτταροκίνες εκφράζονται στον εγκέφαλο μόνο σε παθολογικές καταστάσεις ή και σε απουσία παθοφυσιολογικών μηχανισμών. Υπάρχουν αναφορές όπου αποδεικνύουν την ιδιοσυστατική έκφραση μεγάλου αριθμού Th1 και Th2 κυτταροκινών και των λειτουργικών τους υποδοχέων σε φυσιολογικό εγκέφαλο ενήλικα (Πίνακας 3). Μελέτες δείχνουν ότι ακόμα και στις περιπτώσεις όπου η έκφραση μιας κυτταροκίνης παρατηρείται πρωτίστως μετά από ισχαιμία υπάρχει επίσης πολύ χαμηλή έκφραση της κυτταροκίνης σε φυσιολογικό εγκέφαλο, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί μόνο με την πολύ ευαίσθητη τεχνική της RT-PCR (Yu AC et al. 2000). Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες παράγονται σε μια προπρωτεϊνική μορφή και εξελίσσονται μετατρέπομενες σε ένζυμα πριν προσδεθούν στους υποδοχείς τους. Έτσι, η παρουσία του μετατρεπτικού ενζύμου της IL-1 (ICE) στον εγκέφαλο τρωκτικών υποστηρίζει την παραγωγή της λειτουργικά ενεργής IL-1 (Laye S et al 1996, Quan N et al. 1996).

ΟΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ

TABLE 1
CYTOKINES AND THEIR RECEPTORS KNOWN TO BE EXPRESSED IN THE BRAIN

Cytokines		Cell-types			
Name	Type	Neurons	Astrocytes	Oligodendrocytes	Microglia
IL-1	Th1	C; R	C; R	C; R	C
IL-2	Th1	C; R	ND	R	R
IL-3	Th1≈Th2	C; R	C; R	R	R
IL-4	Th2	ND	R	R	R
IL-5	Th2	C; R	C; R	ND	C; R
IL-6	Th1≈Th2	C; R	C; R	ND	C; R
IL-7	ND	ND	R	R	R
IL-8	ND	R	C; R	ND	R
IL-9	Th2	ND	R	ND	ND
IL-10	Th2	C; R	ND	ND	C; R
IL-11	ND	C	ND	ND	ND
IL-12	Th1	ND	ND	ND	C
IL-13	Th2	ND	ND	ND	ND
IL-14	Th2	ND	ND	ND	ND
IL-15	Th1	C	ND	ND	C
IL-16	Th1	ND	ND	ND	ND
IL-17	Th1	ND	ND	ND	ND
IL-18	Th1	ND	ND	ND	ND
TNF-α	Th1	R	C; R	R	C; R
IFN-γ	Th1		C; R		R
TGF-β	Th2		C; R	C; R	C; R
GM-CSF	ND	R	C; R	R	R
M-CSF	ND	ND	C	R	C; R

C, cytokine; R, receptor; ND, no data; Th1≈Th2, the dominance is depending on the cell type and on the conditions; an observation that, although in a less explicit form, is possibly valid for many more cases too.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3

C: κυτταροκίνη R: υποδοχέας ND: χωρίς στοιχεία

Th1≈Th2: η επικράτηση εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο και τις συνθήκες (Szelényi J. et al. 2001)

1.5.2 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυτταροκινών και ΚΝΣ

Οι κυτταροκίνες αλληλεπιδρούν με το ΚΝΣ με πολυάριθμους τρόπους γεγονός που δείνει σημασία στην προέλευση των μεσολαβητών, από τα περιφερικά ανοσο-αρμόδια κύτταρα ή παραγωγή στο ΚΝΣ. Γενικώς είναι αποδεκτό ότι η περιφερική και η κεντρική κατηγορία κυτταροκινών προσεγγίζονται βαθμιαία και οι λειτουργίες τους δρουν συνεργικά ή αναστέλλουν η μία την άλλη, ωστόσο θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψιν ότι κατά προσωρινά διαστήματα ρυθμίζονται διαφορετικά.

1.5.3 Η δράση των περιφερικών κυτταροκινών στο ΚΝΣ

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα οι κυτταροκίνες μπορούν να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό είτε από περιοχές με διάκενα ή μέσω ενεργής μεταφοράς (Banks WA et al 1997, Watkins LR et al. 1995). Οι περιφερικές κυτταροκίνες που φτάνουν στο ΚΝΣ μπορούν να δράσουν εκεί άμεσα. Οι κυτταροκίνες έμμεσα συμμετέχουν στη διέγερση ποικίλων λειτουργιών του ΚΝΣ συμπεριλαμβανομένων των νευροενδοκρινικών απαντήσεων, των συμπεριφορικών τύπων, του πυρετού και του ύπνου. Αυτές οι δράσεις ενισχύονται σε περιπτώσεις όπου τα επίπεδα των περιφερικών κυτταροκινών αυξάνονται, για παράδειγμα στη συστηματική φλεγμονή. Μετά από περιφερική επαγωγή με LPS, το mRNA του TNF- α αρχικά επάγεται από τα περιαγγειακά κύτταρα, τα μηνιγγικά κύτταρα και τους νευρώνες σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου. Οι παραπάνω παρατηρήσεις υποδεικνύουν ότι οι περιφερικές κυτταροκίνες μπορούν να προκαλέσουν την σύνθεση των κυτταροκινών στον εγκέφαλο. Η παρουσία του TNF- α και της - β στο ΚΝΣ έχει σαν αποτέλεσμα χαρακτηριστικά υπναγωγά, ληθαργικά, πυρετογόνα και ανορεκτικά αποτελέσματα, συμπεραίνοντας ότι οι κυτταροκίνες εμπλέκονται άμεσα στις επαγόμενες επιπλοκές από το ΚΝΣ που σχετίζονται με την σήψη (Dunn AJ et al. 1998).

Η δράση των κυτταροκινών απελευθερώνει από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των φλεβών αγγελιοφόρους που εκπροσωπούν μια έμμεσο οδό δράσης στο ΚΝΣ. Δευτερεύοντες αγγελιοφόροι, όπως το NO και τα προστανοειδή, που συντίθενται από ένζυμα (π.χ. iNOS και κυκλοοξυγενάση COX-2), των οποίων η μεταγραφή επάγεται ή ενισχύεται από προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η IL-1, φτάνουν στο ΚΝΣ εύκολα. Έτσι, οι κυκλοφορούσες κυτταροκίνες μπορούν να επηρεάσουν το ΚΝΣ έμμεσα μέσω της δράσης τους στο ενδοθήλιο για να παράγουν για παράδειγμα περισσότερη IL -1 οδηγώντας σε ενίσχυση του σήματος (Hashimoto M et al. 1991, Wong ML et al. 1995). Για παράδειγμα ένα IL-1-μεσολαβούμενο

σήμα μπορεί να μορφομετατραπεί από τη ροή του αίματος στους νευρώνες χωρίς να απαιτείται να διαπεράσει τον BBB. Περιφερική χορήγηση κυτταροκινών μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει γονίδια που εμπλέκονται στην ρύθμιση της μεταγραφής κυτταροκινών στον εγκέφαλο. Έχει δειχθεί ότι η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση IL-1 ενεργοποιεί το ρυθμιστικό γονίδιο της μεταγραφής *fos* σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου, με το οποίο αποδεικνύεται ο ρόλος των εγκεφαλικών νοραδρενεργικών συστημάτων (Swiergiel AH et al. 1996).

Το περιφερικό νευρικό σύστημα νευρώνει τους περιφερικούς ιστούς, έτσι μπορεί να στείλει μηνύματα στον εγκέφαλο μέσω των περιφερικών νευρών επίσης. Η οδός του πνευμονογαστρικού είναι ένας από τους καλύτερα γνωστούς τρόπους, με τον οποίο οι κυτταροκίνες μπορούν να επηρεάσουν τον εγκέφαλο. Περιφερικές κυτταροκίνες διεγείρουν τον υποθάλαμο να απελευθερώσει κορτικοτροπίνη (CRH) και την υπόφυση αδρενοκορτικοτροπίνη (ACTH). Η απελευθερώμενη CRH διεγείρει την έκκριση της ACTH από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Η υποθαλαμική αργινίνη βασοπρεσσίνη (AVP) μπορεί να δράσει ως ένας συνδιεγερτικός παράγοντας και να αυξήσει περαιτέρω την έκκριση της ACTH. Η υποφυσιακή ACTH δρά στα επινεφρίδια για την απελευθέρωση γλυκοκορτικοειδών τα οποία κατευνάζουν την φλεγμονή (Dunn AJ et al. 1992, Palamarchouk VS et al. 2000, Straub RH et al. 1998). Παρόλο που είναι ευρέως αποδεκτό ότι γενικά η ανοσολογική δράση των γλυκοκορτικοειδών είναι ανοσοκατευναστική, θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν ελαττώνουν ομοιόμορφα την παραγωγή όλων των κυτταροκινών. Οι *ex vivo* μελέτες του Human έδειξαν την ικανότητα των κυττάρων της γλοίας να παράγουν μια ποικιλία κυτταροκινών με διαφορετικές δράσεις, μεταξύ αυτών και μέλη της οικογένειας IL-1, IL-6, IFN- α , TNF- α και TGF- β (DeRijk R et al 1997). Ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια που εξαρτάται από τον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος λειτουργεί ως μια αγκύλη αντίθετης ρύθμισης της ανάστροφης παλινδρόμησης μεταξύ του ΚΝΣ και του ανοσοποιητικού συστήματος επιτυγχάνοντας την ρύθμιση των ανοσολογικών απαντήσεων υπό φυσιολογικές συνθήκες.

1.5.4 Η δράση των κυτταροκινών που προέρχονται από το ΚΝΣ

Η ιδιοσυστατική έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν μια ποικιλία κυτταροκινών με τους υποδοχείς τους, επιδεικνύει ότι κάποιες κυτταροκίνες μπορεί να συμβάλλουν στη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου. Η ύπαρξη των κυτταρικών υποδοχέων καθιστά τα νευρικά κύτταρα ευαίσθητα στις κυτταροκίνες ακόμα και σε πολύ χαμηλά επίπεδα (Wong ML et al. 1996, Wong ML et al. 1994).

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, σε αντίθεση με την περιφέρεια, τα γονίδια που κωδικοποιούν κυτταροκίνες όπως οι IL-1ra, IL-10 και IL-13, όπου μειώνουν τη βιοδραστικότητα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, εκφράζονται σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα στον εγκέφαλο, από ότι για παράδειγμα η IL-1β. Η χαμηλή ή ακόμα και η ανύπαρκτη έκφραση κυτταροκινών μπορεί να αυξηθεί μετά από ειδικό φυσιολογικό ερεθισμό. Ακόμα και τα γονίδια που κωδικοποιούν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες εκφράζονται σε κάποιες περιοχές σε φυσιολογικό εγκέφαλο ενηλίκου. Αναφέρεται συμμετοχή μελών της οικογένειας των φλεγμονωδών κυτταροκινών στον έλεγχο νευρικών λειτουργιών όπως ο ύπνος (Kueger JM et al. 1995), η τροφή (Plata-Salaman CR et al. 1998), η ωορρηξία (Cannon JG et al. 1985) και η άσκηση (Pedersen BK et al. 1998). Αλληλεπιδράσεις παρατηρούνται επίσης, μεταξύ του TNF-α και του σηματοδοτούμενου μόριου της λεπτίνης, όπου συνδέει τα επίπεδα λίπους του σώματος με τον εγκεφαλικό έλεγχο της διατροφικής συμπεριφοράς (Flynn MC et al. 1998).

Οι κυτταροκίνες που παράγονται στο ΚΝΣ μπορούν να επηρεάσουν την συγκέντρωση, την μάθηση όπως επίσης και την μνήμη. Η συμμετοχή των φλεγμονωδών κυτταροκινών στις νευρωνικές λειτουργίες σημαίνει ότι αυτές οι κυτταροκίνες κατέχουν έναν σημαντικό ρόλο στην ολολήρωση φυσιολογικών αυτόνομων απαντήσεων.

Τροποποιημένη έκφραση διαφόρων κυτταροκινών στον εγκέφαλο παρατηρείται σε ποικιλία διαταραχών του ΚΝΣ, όπως στη νόσο του Alzheimer (Bauer J et al. 1991), στη σκλήρυνση κατά πλάκας (Merrill J et al. 1992), σε ιογενείς ή βακτηριακές λοιμώξεις (Campbell IL et al. 1994, Waage A et al. 1989), σε ισχαιμία (Yu AC et al. 2000), σε εγκεφαλικό επεισόδιο (Klein BD et al. 2000) και σε διάφορες μορφές εγκεφαλοπαθειών (Campbell JL et al. 1994, Campbell JL et al. 1998). Η απάντηση κυτταροκινών στον εγκέφαλο ήταν το αποτέλεσμα της αύξησης της παραγωγής TNF-α κατά 2-4 φορές στον υποθάλαμο αρουραίων προκαλούμενη από συστηματική χορήγηση χαμηλών δόσεων ενδοτοξίνης (LPS), (Sacoccio C et al. 1998). Οι κυτταροκίνες θα μπορούσαν να προκαλέσουν μια εξ'ολοκλήρου πυρετογόνο απάντηση *in vivo*, η οποία θα μπορούσε να ελεγχθεί με θεραπεία IL-1ra.

In vivo μελέτες χρησιμοποιούν διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία οι κυτταροκίνες είναι στοχευμένες στον εγκέφαλο, εκφράζοντας έτσι ότι η υπερέκφραση κυτταροκινών στον εγκέφαλο αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα στην παθογένεση νευροτοξικών και νευροεκφυλιστικών διαταραχών στο ΚΝΣ (Campbell JL et al. 1998).

1.5.5 Η ισορροπία μεταξύ των κυτταροκινών και οι νευρομεταβιβαστές

Η αλληλεπίδραση μεταξύ του νευρικού συστήματος και του ανοσοποιητικού συστήματος συμπεριλαμβάνει τον αμοιβαίο έλεγχο των δραστηριοτήτων τους. Υπάρχουν αξιόλογες μαρτυρίες ότι οι διαβιβαστές απελευθερώνονται από τις απολήξεις των αξόνων, χωρίς η σύναψη να παίζει σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία όχι μόνο μεταξύ των νευρώνων αλλά και μεταξύ των νευρικών απολήξεων και των ανοσολογικών κυττάρων επίσης (Vizi ES 1984, Vizi ES 1998, Vizi ES 2000). Επειδή τα ανοσολογικά κύτταρα είναι εξοπλισμένα με νευρομεταβιβαστές και υποδοχείς νευροπεπτιδίων, μεσολαβητές όπως το NA και άλλες μονοαμίνες, νουκλεοσίδια, ακετυλεχολίνη, ενδορφίνες, εγκεφαλίνες, ουσία P, σωματοστατίνη, VIP, κ.ά. είναι ικανά να ελέξουν την απάντηση των κυτταροκινών σε συγκεκριμένο ερέθισμα. Οι υποδοχείς που απελευθερώνονται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (ΣΝΣ) μπορούν να φτάσουν τα κύτταρα στόχους τους (λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, κοκκιοκύτταρα, φονικά κύτταρα και άλλα κύτταρα που είναι ικανά να παράγουν κυτταροκίνες) με διάφορους τρόπους :

1. μέσω συναπτικής μεταβίβασης, όπου οι νευροδιαβιβαστές δρουν απέναντι από τη συναπτική σχισμή πάνω στα μετασυναπτικά κύτταρα
2. μη συναπτικά, κυρίως μέσω διάχυσης από τις γειτονικές νευρικές απολήξεις στο κύτταρο στόχο που βρίσκεται σε πιο απομακρυσμένες περιοχές (Elenkov IJ et al. 2000, Vizi ES 1984, Vizi ES 1998, Vizi ES 2000, Vizi ES et al. 1995).

Όσο αφορά τα ανοσολογικά κύτταρα ο κύριος τρόπος μεταβίβασης είναι η συστηματική και μη συναπτική, διότι και τα πρωτεύοντα ανοσολογικά όργανα (θύμος και μυελός των οστών) αλλά και οι δευτερεύοντες λεμφοειδείς ιστοί (σπλήνας, λεμφαδένες, έντερο και βλενογόνοι που σχετίζονται με λεμφοειδή ιστό) νευρώνονται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (ΣΝΣ).

Είναι γνωστό ότι η ανοσολογική δραστηριότητα διεγείρει το ΣΝΣ να απελευθερώσει νευροδιαβιβαστές NA, αδρεναλίνη και ντοπαμίνη (Akiyoshi M et al. 1990, Besedovsky H et al. 1975, Dunn AJ et al. 1992, Hall RC et al. 1971, Shimizu N et al. 1994). Η απελευθέρωση κατεχολαμινών που οφείλεται στην ανοσοδιέγερση σχετίζεται με την απελευθέρωση ATP και αδενοσίνης ως συν-διαβιβαστές. Από την

στιγμή που τα ανοσολογικά κύτταρα εξοπλίζονται με τους P1 και P2 πουρινοϋποδοχείς (Buell G et al. 1996, Surprenant A et al. 1996), η επαγόμενη από τις ενδοτοξίνες παραγωγή κυτταροκινών βρίσκεται υπό τον πουρινεργικό έλεγχο (Ferrari D et al. 1997, Hasko G et al. 1998, Sperlagh B et al. 1998).

Η μεταβίβαση των αντιγόνων από το ανοσολογικό σύστημα στο ΚΝΣ οφείλεται κυρίως στους μεσολαβητές που παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα (π.χ. κυτταροκίνες, μεταβολίτες του αραχιδονικού, ενεργό οξυγόνο, χημειοκίνες, κ.ά.). Μεταξύ των κυτταροκινών υπάχει μια μεγάλη βάση δεδομένων που αφορά τις διαφορετικές δράσεις των IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- γ και MIP-1 α όταν διεγείρουν τον ερεθισμό του ΚΝΣ και του ΣΝΣ με σκοπό την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών (Besedovsky H et al. 1986, Besedovsky HO et al. 1996, Davatellis G et al. 1989, Orange JS et al. 1995). Οι MohanKumar et al. παρουσίασαν τις IL-1 β -επαγόμενες αλλαγές στη συγκέντρωση μονοαμινών στον υποθαλαμικό πυρήνα (MohanKumar SM et al. 1998).

Από την στιγμή που οι νευροδιαβιβαστές φτάσουν στα κύτταρα στόχους καταλαμβάνουν τους ειδικούς υποδοχείς και ξεκινά η μεταγωγή του σήματος που ρυθμίζει την παραγωγή κυτταροκινών από το κύτταρο. Υπάρχουν αξιόλογες μελέτες που υποστηρίζουν ότι στην παραπάνω ρυθμιστική δράση, το cAMP παίζει έναν από τους ρόλους κλειδί (Bourne HR et al. 1974, Kambayashi T et al. 1995, Vizi ES 1998, Watson J 1975). Έτσι, η δράση των νευροδιαβιβαστών που διεγείρουν ή αναστέλλουν την αδενυλική-κυκλάση αλλάζει το προφίλ των κυτταροκινών στο σύστημα.

1.5.6 Ο ρόλος των κυτταροκινών στην νευρωνική επιβίωση και στην νευροεκφύλιση

Όπως είναι ευρέως γνωστό, οι νευροτοξικοί και οι νευροπροστατευτικοί μηχανισμοί σχετίζονται με την ισορροπία μεταξύ των προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών. Η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών έχει σαν αποτέλεσμα σημαντικές αλλαγές στους νευρώνες πολύ πριν την απόπτωση. Λειτουργικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι το έναυσμα λειτουργίας των αποπτωτικών μηχανισμών στον εγκέφαλο είναι η εγκεφαλική βλάβη. Μέλη της οικογένειας των αναστολέων απόπτωσης bcl-2 αυξάνονται στον εγκέφαλο με σκοπό να περιορίσουν τον βαθμό του κυτταρικού θανάτου, ενώ η υπερέκφραση των κασπασών (όπως η ICE ή η κασπάση 8) ενδυναμώνει την απόπτωση. Η πορεία της νευροεκφύλισης σχετίζεται στενά με την μετακίνηση της ισορροπίας των κυτταροκινών προς την πλευρά των προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-1 και ο TNF- α μη λαμβάνοντας υπόψιν το

γεγονός ότι αυτές παράγονται στο ΚΝΣ ή ότι έχουν συστηματική προέλευση. Από την άλλη πλευρά, οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στο ΚΝΣ διατηρούν την ομοιόσταση και προστατεύουν την κυτταρική βιωσιμότητα αναστέλλοντας τις φλεγμονώδεις απαντήσεις (Feuerstein GZ et al. 1998, Rothwell NJ et al. 1999). Η ύπαρξη ενός ανασταλτικού διασταυρούμενου ελεγκτικού μηχανισμού μεταξύ των δύο ομάδων κυτταροκινών, ο οποίος μειώνει την σύνθεση της μιας και της άλλης (Εικόνα 9), έχει σαν αποτέλεσμα την σταθεροποίηση της ισορροπίας μεταξύ των νευροεκφυλιστικών και νευροπροστατευτικών λειτουργιών.

1.5.7 Ο ρόλος των κυτταροκινών στον πυρετό

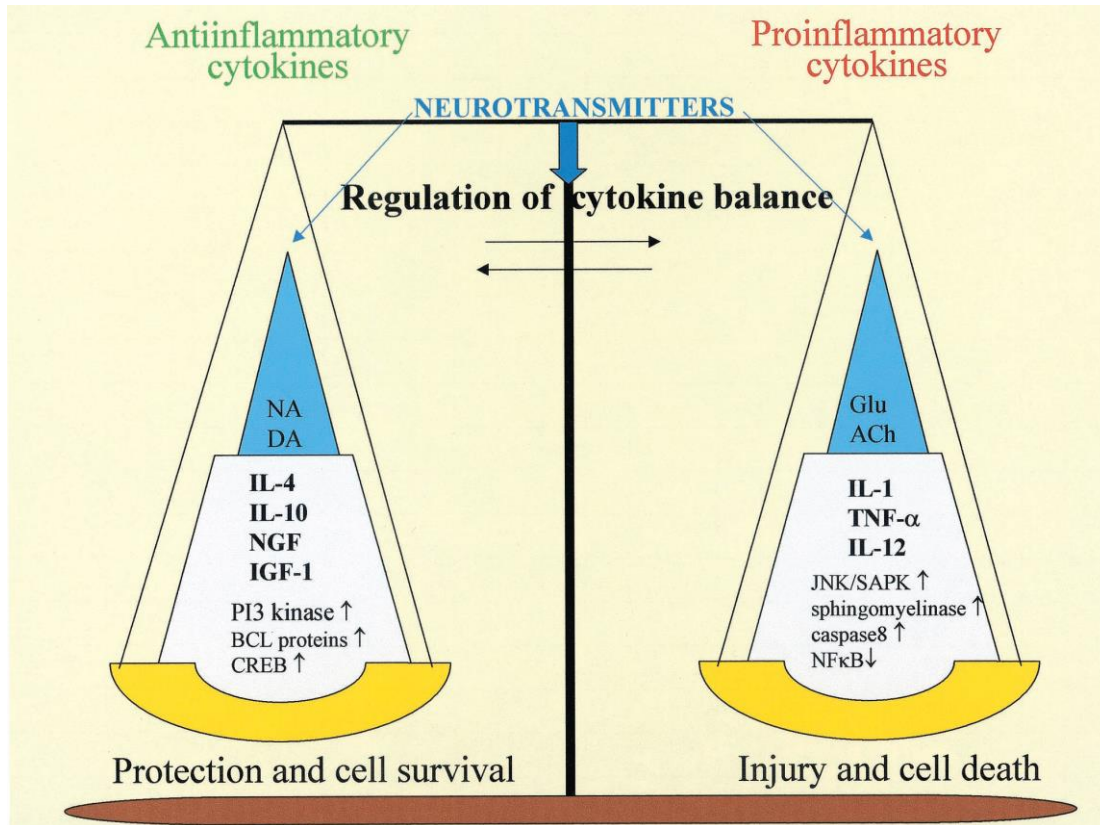
Ο πυρετός είναι ένα από τα συμπτώματα του αμυντικού μηχανισμού κατά των ξενιστών σε διάφορα παθολογικά ερεθίσματα όπως η λοίμωξη, ο τραυματισμός και η φλεγμονή. Όταν εξωγενή πυρετογόνα εισβάλλουν στον οργανισμό, ο πυρετός προκαλείται μέσω της ενεργοποίησης διαφόρων κυττάρων με μυελοειδή πρόελευση και ακολούθως απελευθερώνονται ενδογενή πυρετογόνα μεταξύ των οποίων προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, προσταγλανδίνες και ελεύθερες ρίζες. Η χορήγηση προφλεγμονωδών κυτταροκινών θα μπορούσε να προκαλέσει πυρετική απάντηση εξαρτώμενη από την περιοχή και την δόση της χορήγησης. Το παραπάνω έχει κλινική σημασία επειδή η ανοσοθεραπεία με κυτταροκίνες, η οποία επάγει τον καταρράκτη κυτταροκινών και την αλληλεπίδραση μεταξύ κυτταροκινών σχετίζεται επίσης με τον πυρετό.

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών υποστηρίζει ότι και η περιφερική και η εγκεφαλική εντόπιση των IL-1 και TNF-α συμμετέχουν άμεσα στην πυρετογόνο απάντηση στην φλεγμονή (Cartmell T et al. 2000, Luheshi GN et al. 1997, Nadeau S et al. 2000). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι στην περιφέρεια η IL-1 και ο TNF-α επάγουν την αυξημένη παραγωγή της IL-6 που αποτελεί την κύρια ενδογενή πυρετογόνα ουσία (Luheshi GN et al. 1997) . Με βάση μελέτες φυσιολογίας και νευροανατομίας έχει προταθεί ότι η IL-6 επάγει τον πυρετό σηματοδοτώντας θερμορυθμιστικούς νευρώνες στην πρόσθια υποθαλαμική περιοχή μέσω προσταγλανδινω-εξαρτώμενων μονοπατιών (Rivest S et al. 2000).

Η θερμορύθμιση βρίσκεται υπό τον άμεσο έλεγχο του ΚΝΣ, συγκεκριμένα από ειδικές περιοχές στον υποθάλαμο, όπου συμμετέχουν σεροτονινεργικά, αδρενεργικά και πιθανόν χολινεργικά μονοπάτια. In vivo πειράματα σε κουνέλια αποκάλυψαν ότι η θερμορύθμιση απαιτεί άθικτο συμπαθητικό νευρικό

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

σύστημα και μπορεί να ελεγχθεί από διάφορους ανταγωνιστές αδρενεργικών υποδοχέων (Bencsics A et al. 1995, Ohashi K et al. 1997).



ΕΙΚΟΝΑ 9

Ρυθμιστικοί παράγοντες της ισορροπίας των κυτταροκινών που επηρεάζουν τις λειτουργίες του ΚΝΣ. Σε φυσιολογικό, υγιή εγκέφαλο η έκφραση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών είναι χαμηλή και η ομοιόσταση διατηρείται από την αντιρρυθμιστική δράση των αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών. Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες επιβίωσης είναι ο ινσουλινο-αυξητικός παράγοντας 1 (IGF-1) insuline-like growth factor 1 ο οποίος αποκαθιστά και φωσφορυλιώνει τα κατάλοιπα τυροσίνης από διάφορα κυτοσολικά μόρια και έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της φωσφατυδιλ-ινοσιτολ-3-κινάσης (PI3 κινάση). Ο υποδοχέας του IGF-1 ενεργοποιεί επίσης την μιτογено-ενεργοποιούμενη κινάση (mitogen-activated kinase) και την έκφραση μεταγραφικών ρυθμιστικών γονιδίων όπως το Fos και το Jun. Οι παραπάνω ρυθμιστικές δράσεις επάγουν περαιτέρω μηχανισμούς σηματοδότησης οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο στα ελεγκτικά κύτταρα της ανάπτυξης, της διαφοροποίησης και της επιβίωσης. Η αύξηση της σύνθεσης του νευρικού αυξητικού παράγοντα (NGF) έχει επίσης νευροπροστατευτική δράση. Νευροδιαβιβαστές οι οποίοι αυξάνουν τα επίπεδα του ενδοκυττάριου Camp, τη φωσφορυλίωση του CREB και την ενεργοποίηση της οικογένειας του αντι-αποπτωτικού BCL-2 γονιδίου μετακινεί την

ισορροπία επίσης στην κατεύθυνση της προστασίας και της επιβίωσης. Η φλεγμονή, η ισχαιμία ή άλλες εγκεφαλικές βλάβες αυξάνουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και μεσολαβητών όπως το NO και άλλες ελεύθερες ρίζες. Σε αυτές τις παθολογικές καταστάσεις το σήμα SOSS διακόπτεται με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των στρες-ενεργοποιούμενων πρωτεϊνών κινασών (JNK/SAPK) και των αποπτωτικών κασπασών (Szelényi J. et al. 2001).

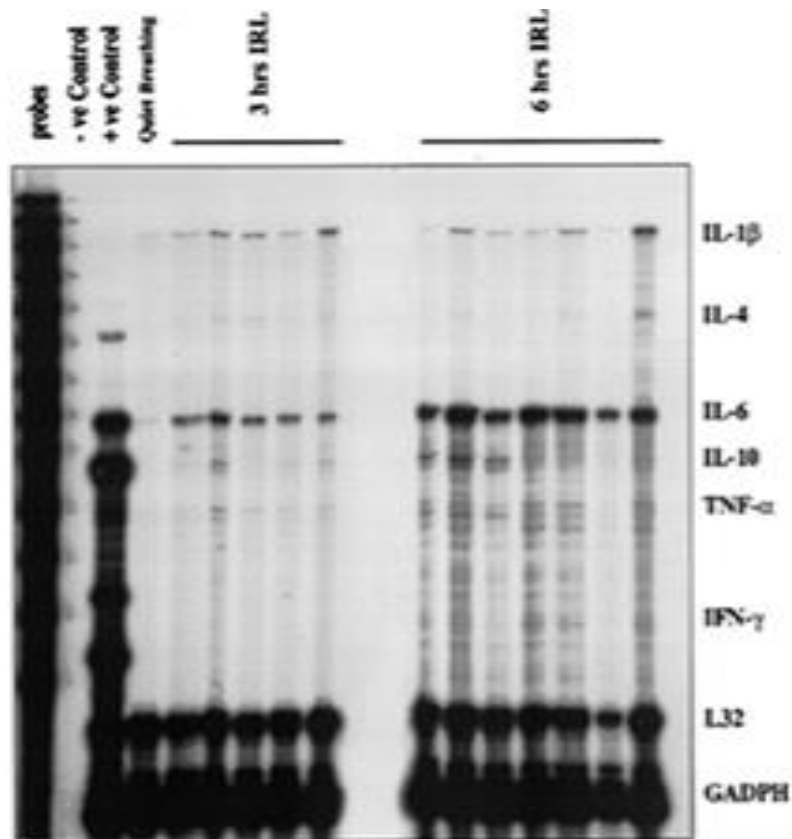
1.6 Η ανοσολογική απάντηση σε συνθήκες εργώδους αναπνοής

Η εργώδης αναπνοή (αναπνοή μέσα από αντιστάσεις) είναι παθοφυσιολογικό χαρακτηριστικό των πιο συχνών αναπνευστικών παθήσεων όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) και το άσθμα που συχνά καταλήγουν σε αναπνευστική ανεπάρκεια με αυξημένη θνητότητα και θνησιμότητα. Και οι δυο παράπανω νόσοι χαρακτηρίζονται από φλεγμονή των αεραγωγών (διαφορετικοί φαινότυποι) με αποτέλεσμα την απόφραξη των αεραγωγών. Κατά την διάρκεια των παροξύνσεων, η αυξημένη φλεγμονή οδηγεί σε έντονη βρογχοσύσπαση, απόφραξη και ακολούθως εργώδη αναπνοή. Κατά την εργώδη αναπνοή οι αναπνευστικοί μύες πρέπει να συσπώνται δυναμικά για να εκπτύξουν τον πνεύμονα με αποτέλεσμα την ανάπτυξη αρνητικής ενδοθωρακικής πίεσης. Η σύσπαση των αναπνευστικών μυών και η αρνητική ενδοθωρακική πίεση προκαλούν έντονο μηχανικό στρες στον πνεύμονα και το διάφραγμα.

Όταν το έργο της αναπνοής αυξάνεται η εισπνοή υπό αντιστάσεις έχει σαν αποτέλεσμα αρχικά τη διαφραγματική κόπωση (Roussos CS et al.1977) και ακολούθως το τραυματισμό του διαφράγματος (Reid WD et al. 2000, Orozco-Levi M et al. 2001). Η δυναμική άσκηση με τη μορφή του μαραθονίου ή του τρεξίματος σε κυλιόμενο τάπητα οδηγεί σε αύξηση των κυκλοφορούντων κυτταροκινών στον πλάσμα όπως του TNF-α και του υποδοχέα του, της IL-1β, του ανταγωνιστή υποδοχέα της IL-1, της IL-10, της IL-8 και της φλεγμονώδους πρωτεΐνης-1 των μακροφάγων (Pedersen BK et al. 2000). Έκτος από τις κυτταροκίνες η εργώδης αναπνοή επάγει επίσης την στραταλόγηση και ενεργοποίηση λεμφοκυτταρικών υποδοχέων όπως τα T-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα και τα φυσικά κύτταρα φονείς (Katsaounou P et al. 2001).

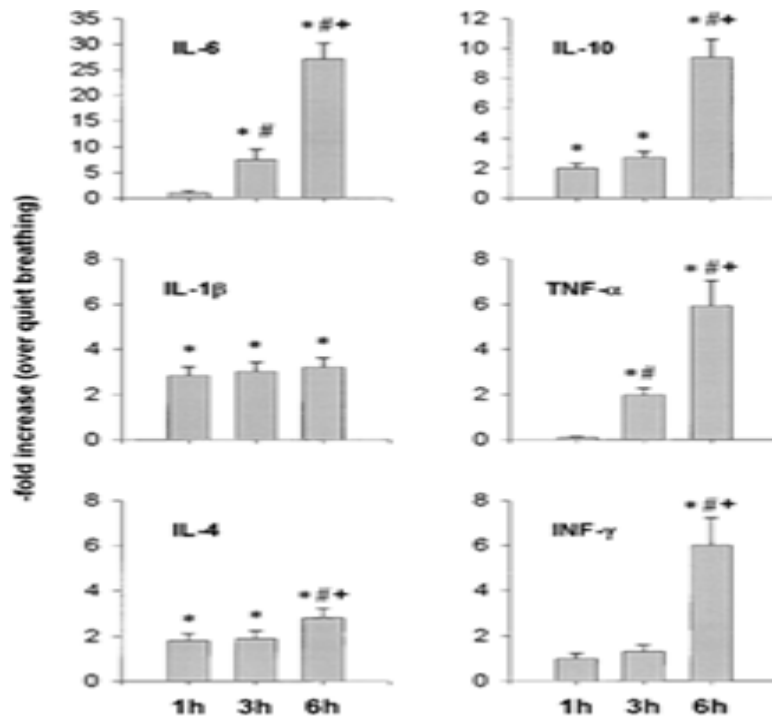
Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

Είναι γνωστό ότι η εργώδης αναπνοή διεγείρει την αύξηση των κυτταροκινών: στο πλάσμα (Vassilakopoulos T et al. 2002), στο διάφραγμα (Vassilakopoulos T et al. 2004), (Εικόνα 11, Εικόνα 12) και στον πνευμονικό ιστό (Τουμπρανάκης D et al. 2010). Ο μηχανισμός με τον οποίο οι κυτταροκίνες δρουν στο κέντρο της αναπνοής κατά την εργώδη αναπνοή είναι υπό διερεύνηση.



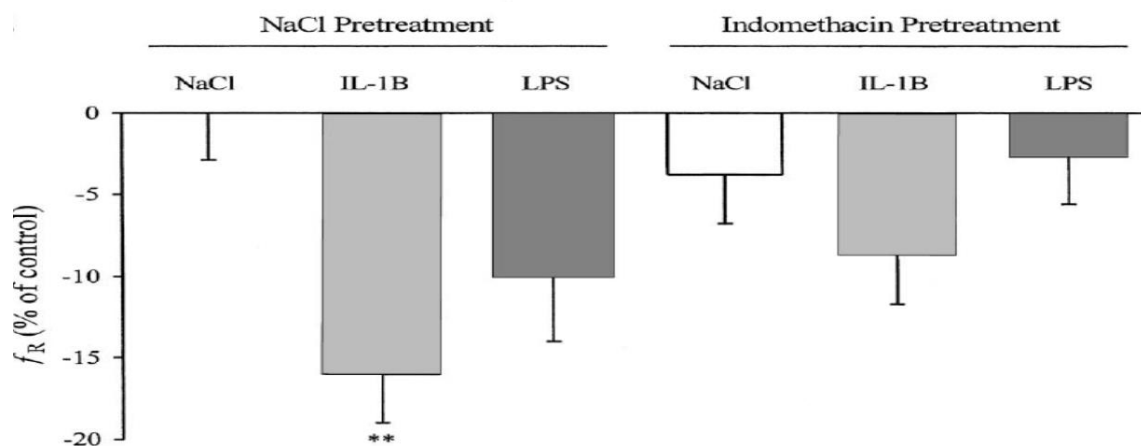
ΕΙΚΟΝΑ 11

Autoradiograph of RNAase protection assay σε δείγματα διαφράγματος 3 και 6 ώρες μετά από εφαρμογή εισπνευστικού εργώδους φορτίου. Στις γραμμές 1-3 απεικονίζονται αντίστοιχα το probe, το αρνητικό και το θετικό control. Στη γραμμή 4 απεικονίζεται το διάφραγμα από αρουραίο που αναπνέει ήρεμα. Σε κάθε γραμμή χρησιμοποιήθηκαν 10 μ g RNA. IRL: εισπνευστικό εργώδες φορτίο

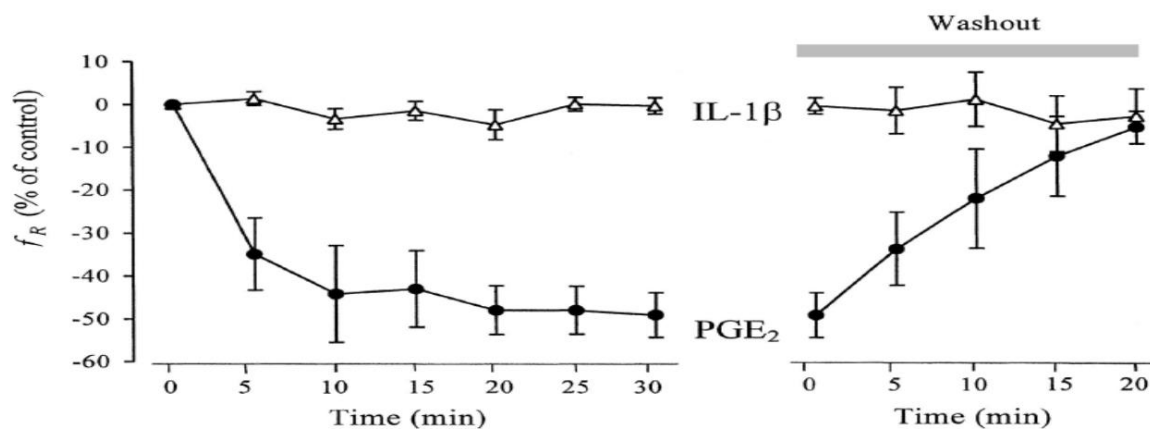


ΕΙΚΟΝΑ 12 Παρουσιάζεται η έκφραση διαφόρων κυτταροκινών στο διάφραγμα μετά από εφαρμογή εισπνευστικού εργώδους φορτίου.

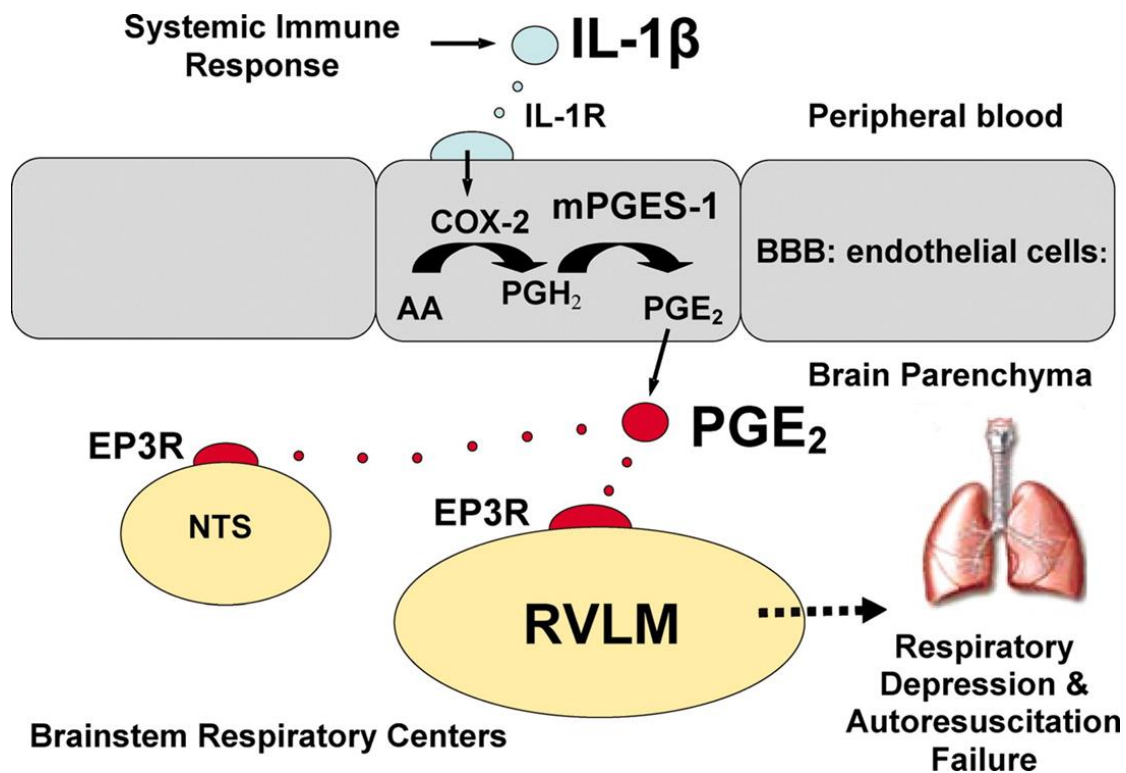
Η IL-1β είναι η μόνη κυτταροκίνη της οποίας ο ρόλος στον έλεγχο της αναπνοής είναι γνωστός. Η IL-1β καταστέλλει τον αερισμό μέσω ενός μηχανισμού διαμεσολαβούμενου από την προσταγλανδίνη E₂ (PGE₂), (Olsson A et al. 2003), (Εικόνα 13, 14, 15), (Hofstetter AO et al. 2005, Hofstetter AO et al. 2007).



ΕΙΚΟΝΑ 13 Παρουσιάζονται οι δράσεις των IL-1 β , LPS και της ινδομεθακίνης στην επαναφορά μετά από υποξική άπνοια. Τα ζώα στα οποία χορηγήθηκε IL-1 β και LPS κατέληξαν πιο γρήγορα από τα control ζώα και από αυτά που έλαβαν μόνο ινδομεθακίνη.



ΕΙΚΟΝΑ 14 Απεικονίζονται οι δράσεις των IL-1 β και PGE $_2$ στον έλεγχο του αναπνευστικού ρυθμού. Παρατηρούμε ότι ενώ η IL-1 β δεν επηρεάζει την αναπνευστική συχνότητα, η PGE $_2$ αντιστρόφως καταστέλλει την αναπνευστική συχνότητα.



ΕΙΚΟΝΑ 15

Σχήμα της επαγόμενης από την IL-1β αναπνευστικής καταστολής μέσω του μονοπατιού που μεσολαβείται από την PGE₂ κατά την διάρκεια συμθηκών υποξίας. Κατά την διάρκεια μιας ανοσολογικής απάντησης, η προφλεγμονώδης κυτταροκίνη IL-1β απλευθερώνεται στο περιφερικό αίμα και συνδέεται στον υποδοχέα της (IL-1R) που βρίσκεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB). Η ενεργοποίηση του IL-1R επάγει την σύνθεση του PGH₂ από το αραχιδονικό οξύ (AA) μέσω της COX-2 και της σύνθεσης της PGE₂ από τον PGH₂ μέσω των mPGES-1 ενζύμων. Η PGE₂ απελευθερώνεται στο εγκεφαλικό παρέγχυμα και ενώνεται στον EP3R που εδράζεται στις περιοχές του αναπνευστικού ελέγχου στο στέλεχος, NTS και RVLM.

1.6.1 Η πρόελευση των επαγόμενων κυτταροκινών από την εργώδη αναπνοή

Η ακριβής πηγή των επαγόμενων κυτταροκινών από την εργώδη αναπνοή δεν είναι γνωστή. Τα μονοκύτταρα του αίματος είναι μια βασική αλλά όχι μοναδική πηγή των ανοσοφλεγμονωδών μεσολαβητών (van Furth R. et al. 1998). Οι σκελετικοί μύες συμμετέχουν επίσης στην επαγωγή διαφόρων κυτταροκινών κατά την εισπνοή υπό αντιστάσεις όπως ο TNF- α , η IL-1 β και η IL-6 (Keller C et al. 2001) με το διάφραγμα να κατέχει σημαντική θέση (Vassilakopoulos T et al. 2004, Oh-ishi S et al. 1997).

1.6.2 Το ερεθισματογωγό σήμα

Το ερέθισμα που ενεργοποιεί την παραγωγή κυτταροκινών σε συνθήκες εργώδους αναπνοής δεν είναι γνωστό. Η εργώδης αναπνοή αυξάνει την παραγωγή των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια (reactive oxygen species: ROS) κατά την δραστηριότητα των αναπνευστικών μυών (Reid MB et al. 2001). Έτσι, το οξειδωτικό στρες θεωρείται ένα ισχυρό ερέθισμα για την επαγόμενη από την εργώδη αναπνοή απάντηση της IL-1 β και του TNF- α (Vassilakopoulos et al. 2002) αλλά όχι το μοναδικό.

1.6.3 Τοπικές και συστηματικές επιπτώσεις

Η επαγόμενη αύξηση των κυτταροκινών κατά την εργώδη αναπνοή έχει τοπικές και συστηματικές επιπτώσεις.

1.6.3.1 Τοπικές επιπτώσεις

Μυϊκή βλάβη: Η αναπνοή υπό αντιστάσεις έχει σαν αποτέλεσμα τον τραυματισμό του διαφραγμάτος (Reid WD et al. 2000, Orozco-Levi M et al. 2001, Jiang TX et al. 2001). Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί δεν είναι πλήρως γνωστοί, φαίνεται όμως ότι συμμετέχουν τα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως οι καλπαϊνες (Reid WD et al. 2000) και τα ROS (Jiang TX et al. 2001). Αναφέρεται ότι η ενδοδιαφραγματική επαγωγή των κυτταροκινών θα μπορούσε να μεσολαβεί στην διαδικασία την διαφραγματικής βλάβης (Vassilakopoulos T et al. 2004). Είναι γνωστό ότι κυτταροκίνες όπως η IL-1 β αυξάνουν την έκφραση μοριών προσκόλλησης στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και αυξάνουν την διαενδοθηλιακή

μετανάστευση από αιματογενώς μεταφερόμενα φλεγμονώδη κύτταρα (Cannon JG et al. 1998). Αρχικά αυτή η διαδικασία θα μπορούσε να στρατολογήσει ουδετερόφιλα και αργότερα μονοκύτταρα μέσα στους μύες και να μεσολαβήσει στο τραυματισμό. Αυτή η απάντηση μοιάζει με τη την επαγόμενη από την άσκηση ενδομυϊκή έκφραση της IL-1 και ουδετεροφιλική διείσδυση που σχετίζεται με την μυϊκή βλάβη σε ανθρώπους (Fielding RA et al. 1993). Επιπλέον κυτταροκίνες όπως ο TNF- α μπορούν να αυξήσουν το οξειδωτικό στρες με έναν παρακρινή τρόπο (Reid MB et al. 2001) που οδηγεί σε μυϊκή βλάβη (Jiang TX et al. 2001). Έχει αναφερθεί αυξημένο οξειδωτικό στρες στο διάφραγμα ακόμα και τρεις ημέρες μετά το εργώδες φορτίο (Jiang TX et al. 2001), το οποίο δεν μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη μυϊκή δραστηριότητα της παρούσας στιγμής. Οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς των κυτταροκινών αυξάνονται στους μύες σε διάφορες μορφές μυϊκής βλάβης και μυϊκές παθήσεις όπως οι πολυνευροπάθειες και μυοπάθειες (De Letter MA et al. 2000). Ωστόσο, η απάντηση των κυτταροκινών δεν είναι μόνο καταστροφική. Στην πραγματικότητα δεν επάγονται μόνο οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως οι IL-1 β , TNF- α και IFN- γ αλλά αυξάνονται επίσης (Vassilakopoulos T et al. 2004) και οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως οι IL-4, IL-10 και IL-6, συμπεραίνοντας ότι κάποιες από αυτές τις κυτταροκίνες ελέγχουν την τοπική φλεγμονή (Xing Z et al. 1998).

Μυϊκή αναγέννηση: Οι κυτταροκίνες συμμετέχουν επίσης στην μυϊκή επαναφορά μετά τον τραυματισμό. Οι TNF- α , IL-6 και IL-1 β (De Letter MA et al. 2000, Kami K et al 1998, Kurek JB et al 1996, Cannon JG et al. 1989) καθώς και οι υποδοχείς τους (Kami K et al 2000) ανευρίσκονται αυξημένοι στους σκελετικούς μύες μετά την μυϊκή βλάβη. Αυτές οι κυτταροκίνες αυξάνουν την πρωτεολυτική μετακίνηση των κατεστραμμένων πρωτεϊνών (Llovera M et al. 1998, Tsujinaka T et al. 1997) και κυττάρων μέσω της στρατολόγησης και ενεργοποίησης των φαγοκυττάρων. Ο TNF- α ενεργοποιεί επίσης δορυφόρα κύτταρα να εισέλθουν στον κυτταρικό κύκλο από την κατάσταση ηρεμίας και να πολλαπλασιαστούν (Li YP et al. 2003). Τα δορυφόρα κύτταρα είναι κύτταρα σε ηρεμία εμβρυονικής προέλευσης τα οποία εδρεύουν στους μύες και μετατρέπονται σε μυοκύτταρα είτε κατά την διάρκεια της φυσιολογικής ανάπτυξης του μύος είτε κατά τον τραυματισμό του μύος για την αντικατάσταση των κατεστραμμένων μυοκυττάρων (Hawke TJ et al. 1996).

Μυϊκή σύσπαση: Οι κυτταροκίνες θα μπορούσε να επηρεάζουν την συσπαστικότητα του διαφραγμάτος. Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι ο TNF- α βλάπτει in vitro την συσπαστικότητα των διαφραγματικών μυϊκών ινών (Wilcox P et al. 1996, Reid MB et al. 2002). Σε διαφραγμάτα ποντικών η

καρδιακή υπερέκφραση του TNF-α και τα υψηλά κυκλοφορούντα επίπεδα έδειξαν δυσλειτουργία του διαφραγμάτος να συσπαστεί (Li X et al. 2000) και η χορήγηση TNF-α ενδοφλεβίως κατέστειλε την *in vivo* συσπαστικότητα του διαφράγματος σε σκύλους (Wilcox PG et al. 1994). Ο μηχανισμός με τον οποίο ο TNF-α καταστέλει την διαφραγματική σύσπαση δεν είναι γνωστός. Η ενδοδιαφραγματική έκφραση κυτταροκινών και ιδίως του TNF-α με τη συνοδό καταστολή της συσπαστικότητας θα μπορούσε να συμμετέχει στην κόπωση των περιφερικών μυών που παρατηρείται μετά την εφαρμογή εργώδους φορτίου (Roussos CS et al. 1977). Η ενδοδιαφραγματική έκφραση των κυτταροκινών και ιδίως του TNF-α θα μπορούσε να εξηγήσει το ό,τι η πτώση της δύναμης που παρατηρείται μετά την εφαρμογή εργώδους φορτίου είναι αναλογικά μεγαλύτερη από την διαπιστούμενη μυϊκή βλάβη (Jiang TX et al. 1998). Όταν η πτώση της δύναμης είναι 30% ο βαθμός της βλάβης είναι 9%, που σημαίνει ότι κατά την μυϊκή βλάβη συμμετέχουν και άλλοι παράγοντες στην καταστολή της συσπαστικότητας του διαφράγματος (Jiang TX et al. 1998).

1.6.3.2 Συστηματικές επιπτώσεις

Οι κυτταροκίνες παράγονται από το διάφραγμα στα πλαίσια της εργώδους αναπνοής και εισέρχονται στην κυκλοφορία, έτσι εξηγείται η κυττοκιναιμία που παρατηρείται σε φυσιολογικούς ανθρώπους μετά την εφαρμογή εργώδους φορτίου. Σε νόσους με υψηλό διαφραγματικό φορτίο όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών στο πλάσμα (Vernooy JH et al. 2002, Eid AA et al. 2001, Godoy I et al. 2003, Koechlin C et al. 2004). Παρόλο που οι κυτταροκίνες έχουν αποδοθεί στην φλεγμονή των κατώτερων αεραγωγών που χαρακτηρίζει την ΧΑΠ, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν διαφορετική πρόελευση των κυτταροκινών στα επαγόμενα πτύελα και στο πλάσμα (Vernooy JH et al. 2002), προτείνοντας ό,τι η κυττοκιναιμία του πλάσματος που παρατηρείται στη ΧΑΠ δεν οφείλεται σε υπερπαραγωγή των φλεγμονωδών μεσολαβητών από το τοπικό πνευμονικό τμήμα. Η ιντερλευκίνη-6 αυξάνεται στο πλάσμα κατά την διάρκεια μιας παρόξυνσης ΧΑΠ (Wedzicha JA et al. 2000), με αποτέλεσμα να αυξάνεται περαιτέρω το φορτίο που αντιμετωπίζουν οι αναπνευστικοί μύες. Επίσης οι ασθενείς με ΧΑΠ παρουσιάζουν αύξηση του TNF-α στο πλάσμα σαν απάντηση στην άσκηση που δεν σχετίζεται με αύξηση του TNF-α από του ασκούμενους μύες του ποδός, αφού δεν παρατηρείται καμία αύξηση των επιπέδων του TNF-α mRNA σε αντίστοιχες βιοψίες μυών (Rabinovich RA et al. 2003). Μια ενδιαφέρουσα εξήγηση είναι ότι ο TNF-α θα μπορούσε να προέρχεται από δυναμική σύσπαση των αναπνευστικών μυών σε ασθενείς με ΧΑΠ κατά την διάρκεια της άσκησης.

Τα αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα της IL-6 και του TNF-α έχουν διαπιστωθεί επίσης σε ασθενείς με υπνική άπνοια (Vgontzas AN et al. 2000, Roytblat L et al. 2000, Yokoe T et al. 2003, Alberti A et al. 2003), γεγονός που δεν μπορούσε να εξηγηθεί από την παχυσαρκία αφού παχύσαρκοι ασθενείς με παρόμοιο δείκτη σώματος είχαν χαμηλότερες τιμές κυτταροκινών. Μια πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι ότι οι κυτταροκίνες παράγονται στο διάφραγμα, δευτερευόντως στις δυναμικές συσπάσεις που επάγονται από την απόφραξη των ανωτέρων αεραγωγών κατά την διάρκεια των απνοιών και των υποπνοιών. Σύμφωνα με τα παραπάνω μια σημαντική αύξηση του TNF- α και μικρότερη (μη στατιστικά σημαντική) αύξηση της IL-6 παρατηρήθηκε κατά την διάρκεια του ύπνου μετά το πρώτο επεισόδιο αποφρακτικής άπνοιας (Alberti A et al. 2003). Η υποξαιμία που αναπτύσσεται κατά την διάρκεια του ύπνου, δευτερευόντως στις άπνοιες και υπόπνοιες, θα μπορούσε να προκαλεί επίσης την αύξηση των κυτταροκινών στο πλάσμα (Alberti A et al. 2003). Έχει δειχθεί ότι η δράση της άσκησης και της υποξαιμίας είναι αθροιστική στην αύξηση των επιπέδων της IL-6 στο πλάσμα (Klausen T et al. 1997). Στα πλαίσια υποστήριξης του ρόλου της δυναμικής σύσπασης των αναπνευστικών μυών και της υποξαιμίας ως αιτιών αύξησης των κυτταροκινών στην υπνική άπνοια, η θεραπεία με εφαρμογή συνεχούς θετικής πίεσης, η οποία εμποδίζει της άπνοιες-υπόπνοιες με την επακόλουθη διαφραγματική σύσπαση και τα επεισόδια υποξαιμίας, έχει σαν αποτέλεσμα την σημαντική μείωση των επιπέδων της IL-6 στο πλάσμα (Yokoe T et al. 2003).

Επιπλέον, μια μη αναμενόμενη *ex vivo* παραγωγή του TNF-α παρατηρείται σε ασθενείς με υπνική άπνοια (Entzian P et al. 1996) και η νυχτερινή αύξηση της *ex vivo* παραγωγής TNF-α από τα μονοπύρρηνα κύτταρα του αίματος που ενεργοποιείται *in vitro* με λιποπολυσακχαρίδη (ενδοτοξίνη) ανευρίσκεται μειωμένη. Αυτό το πρότυπο είναι πανομοιότυπο με ότι συμβαίνει σε φυσιολογικούς ανθρώπους κατά την διάρκεια της άσκησης, όπου ενώ οι κυτταροκίνες του πλάσματος αυξάνονται και τα μονοπύρρηνα κύτταρα του αίματος ενεργοποιούνται *in vitro*, η *ex vivo* παραγωγή των κυτταροκινών από αυτά τα κύτταρα μειώνεται μετά την άσκηση (Drenth JP et al. 1995). Σε ασθενείς με υπνική άπνοια οι κυτταροκίνες του πλάσματος αυξάνονται κατά την διάρκεια της νύχτας, ενώ η παραγωγή των κυτταροκινών από τα μονοπύρρηνα κύτταρα του αίματος που ενεργοποιούνται *in vitro* μειώνεται (Entzian P et al. 1996), υποθέτοντας ότι η ανοσολογική απάντηση κατά την διάρκεια της υπνικής άπνοιας θα μπορούσε να αποδοθεί στους αναπνευστικούς μύες λόγω των επαναλαμβανόμενων επεισοδίων απνοιών-υποπνοιών. Περισσότερες μελέτες απαιτούνται για την επιβεβαίωση αυτών των πιθανοτήτων.

Οι κυκλοφορούσες κυτταροκίνες που επάγονται κατά την εργώδη αναπνοή θα μπορούσαν να έχουν διάφορες λειτουργίες, όπως:

1. Δράση στο μεταβολισμό και στην αντοχή: Η σημαντικά μεγαλύτερη επαγωγή της IL-6 στο διάφραγμα, δευτερευόντως στην εργώδη αναπνοή συνάδη στο συμπέρασμα ότι θα μπορούσε να σχετίζεται με τη φυσιολογική μυϊκή σηματοδότηση και όχι μόνο με την φλεγμονώδη διαδικασία της επανόρθωσης που ακολουθεί τον μυϊκό τραυματισμό (Pedersen BK et al. 2001). Η διαφραγματική σύσπαση οδηγεί σε εξάντληση του γλυκαγόνου (Ciuffo R. et al. 2001) και αύξηση της παραγωγής της IL-6 από τους σκελετικούς μύες (Keller C et al. 2001 , Wedzicha JA et al. 2000). Η IL-6 ως ορμόνη με γλυκορρυθμιστικό ρόλο ενεργοποιεί την ηπατική έκκριση γλυκόζης όταν οι αποθήκες γλυκαγόνου προσεγγίσουν χαμηλά επίπεδα στους συσπόμενους μύες με σκοπό να διατηρηθεί η ομοιόσταση της γλυκόζης και οι αποθήκες γλυκόζης στους μύες (Pedersen BK et al. 2001). Η IL-6 επίσης ενεργοποιεί την λιπόλυση και την λιπώδη οξειδωση (van Hall G et al. 2003) γεγονός που αυξάνει την ενέργεια που χρειάζονται οι αναπνευστικοί μύες. Η υπερπαραγωγή της IL-6 θα μπορούσε να απαιτείται για την προστασία της αντοχής των αναπνευστικών μυών σε συνθήκες αυξημένου αναπνευστικού φορτίου. Ακολούθως με τα παραπάνω, διαγονιδιακοί επίμυες με έλλειψη της IL-6 (IL-6^{-/-}) παρουσιάζουν μειωμένη αντοχή στην άσκηση συγκριτικά με τους φυσιολογικούς επίμυες, γεγονός που σημαίνει ότι η ενδογενής παραγωγή IL-6 είναι απαραίτητη για την διατήρηση της αντοχής στην άσκηση (Falldt J et al. 2004). Η IL-6 θα μπορούσε να χρησιμεύσει στη μείωση στη μείωση της επαγωγής του TNF- α , δευτερευόντως στην άσκηση (Starkie R et al. 2003), με αποτέλεσμα την μείωση της διαφραγματικής συσπαστικότητας. Έτσι, η μεγαλύτερη επαγωγή της IL-6 μέσα στο διάφραγμα θα μπορούσε να εκπροσωπεί μια προσαρμοστική απάντηση στην αυξημένη διαφραγματική αντοχή και συσπαστικότητα κατά την διάρκεια του εργώδους φορτίου.

2. Καχεξία: Οι κυτταροκίνες θα μπορούσε να ευθύνονται για την καχεξία που παρατηρείται σε κάποιους ασθενείς με ΧΑΠ (63-65). Είναι γεγονός, ότι ο μειωμένος δείκτης κρεατινίνης ως προς το ύψος (έναν έμμεσος δείκτης μέτρησης την μάζας των σκελετικών μυών) σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα των IL-6 και TNF- α καθώς και των υποδοχέων τους (Eid AA et al. 2001, Reid MB et al. 2001, Debigate R et al. 2001).

3. Ύπνος: Οι κυτταροκίνες που απελευθερώνονται από το διάφραγμα θα μπορούσαν να έχουν δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Ο TNF-α και η IL-1β επηρεάζουν τον ύπνο σε υγιείς και πάσχοντες (Krueger JM et al. 2001).

4. Διέγερση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων: Οι κυτταροκίνες και ιδίως η IL-1β και η IL-6 θεωρούνται πολύ ισχυροί διεγέρτες του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) (Chrousos GP et al. 1995, Watabane T et al. 1994, Mastorakos G et al. 1993), παρουσιάζοντας σημαντική συνέργεια (Turnbull AV et al 1999). Ταυτόχρονα ενεργοποιείται η έκκριση της κορτικοτροπίνης από τους μικροκυτταρικούς νευρώνες που εδράζονται στον παρακοιλιακό πυρήνα, ο οποίος είναι ο κύριος εκκριταγωγός της προ-οπιομελανορτίνης (POMC) από την υποφυσιακή κορτικοτροπίνη (Chrousos GP et al. 1995, Turnbull AV et al. 1999). Η προ-οπιομελανοκορτίνη υποβάλλεται σε μετα-μεταφραστική τροποποίηση για την παραγωγή της αδενοκορτικοτροπίνης (ACTH) και της β-ενδορφίνης και ακολούθως εκκρίνονται και οι δυο ταυτόχρονα από την υπόφυση. Είναι γνωστό, ότι οι κυτταροκίνες TNF-α, IL-6 και IL-1 παρουσιάζουν σημαντική συνεργεία στην απελευθέρωση ACTH (Perlstein RS et al. 1993). Η IL-6 παίζει θεμελιώδη ρόλο στη διέγερση του άξονα HPA αλλά απαιτείται επίσης η συμμετοχή και η αλληλεπίδραση με την IL-1 και τον TNF-α (Turnbull AV et al. 1999). Η εργώδης αναπνοή που επάγει τις κυτταροκίνες του πλάσματος ενεργοποιεί τον HPA άξονα με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα επίπεδα των κυκλοφορούντων β-ενδορφινών και ACTH (Vassilakopoulos T et al. 1999).

Υπάρχουν δυο εναλλακτικές, αλλά όχι μοναδικές εξηγήσεις για τον μηχανισμό ενεργοποίησης του HPA άξονα, δευτερευόντως της εργώδους αναπνοής. Πρώτον, θα μπορούσε να οφείλεται στα αυξημένα επίπεδα των κυκλοφορούντων προφλεγμονωδών κυτταροκινών που επάγονται από την εργώδη αναπνοή. Αυτή η θέση στηρίζεται στο γεγονός ότι οι πρώτα εκκρίνονται οι κυτταροκίνες και ακολουθεί η έκκριση των β-ενδορφινών και της ACTH. Επιπλέον, η αύξηση της IL-6 συσχετίζεται ισχυρά με την αύξηση των β-ενδορφινών και της ACTH, θέτοντας την IL-6 ως αιτιολογικό παράγοντα για την διέγερση του HPA άξονα, δευτερευόντως στην εργώδη αναπνοή. Ο δεύτερος μηχανισμός εξήγησης των αυξημένων επιπέδων β-ενδορφινών και ACTH θέτει ως υπεύθυνη την διέγερση των μικρών προσαγωγών νευρικών ινών (τύποι III και IV). Είναι γνωστό ότι οι μικρής διαμέτρου προσαγωγές ίνες του φρενικού νεύρου διεγείρονται από μεταβολές του διαφραγμάτος λόγω έντονων συσπάσεων και ακολούθως επάγουν σήμα σε διάφορα επίπεδα στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Hussain SN et al. 1990). Επομένως, πιθανόν η δυναμική εισπνευστική εργώδης αναπνοή προκαλεί έκκριση των β-ενδορφινών και της ACTH δευτερευόντως στην ενεργοποίηση των μικρών προσαγωγών νευρικών ινών εντός των αναπνευστικών

μυών (Watanabe T et al. 1994). Μια άλλη εξήγηση είναι η ενδοδιαφραγματική παραγωγή των κυτταροκινών, λόγω της ικανότητας των κυτταροκινών να διεγείρουν τις μικρές προσαγωγές ίνες και να οδηγούν στην αύξηση της ACTH (Watanabe T et al. 1994, Turnbull AV et al. 1999).

Η απάντηση της ACTH θα μπορούσε να εκπροσωπεί μια προσπάθεια του οργανισμού να μειώσει την βλάβη των αναπνευστικών μυών μέσω της παραγωγής γλυκοκορτικοειδών από τα επινεφρίδια, γεγονός που καταστέλλει τα γονίδια φλεγμονής και επάγει την έκφραση των πρωτεϊνών οξείας φάσης από το ήπαρ που συμπεριφέρονται ως αντιπρωτεάσες (Chrousos GP et al. 1995).

5. Έλεγχος της αναπνοής: Οι κυτταροκίνες που εκκρίνονται από το διάφραγμα θα μπορούσαν να επηρεάζουν τον έλεγχο της αναπνοής. Είναι γνωστό ότι η χορήγηση μεγάλων δόσεων IL-1β (Graff GR et al. 1999) και ενδοτοξίνης εξωγενώς που οδηγούν σε απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (Preas HL et al. 2001) διεγείρουν το αναπνευστικό κέντρο. Ωστόσο, η δράση των ενδογενώς παραγόμενων κυτταροκινών θα μπορούσε να είναι διαφορετική. Αυτό θα μπορούσε να είναι είτε μια άμεση δράση του αναπνευστικού κέντρου είτε έμμεση δράση μεσολαβούμενη από την παραγωγή των β-ενδορφινών, αν και οι δύο παραπάνω μηχανισμοί θα μπορούσαν να συνυπάρχουν. Αντιστοίχως, ποντίκια που πάσχουν από μυϊκή δυστροφία έχουν μειωμένη αναπνευστική απάντηση κατά την υπερκαπνία (7% CO₂) σε σχέση με φυσιολογικά ποντίκια (Gosselin LE et al. 2003). Η έλλειψη του TNF-α βελτιώνει την αναπνευστική απάντηση στην υπερκαπνία κάτι που σημαίνει ότι η ενδογενής παραγωγή του TNF-α καταστέλλει το αναπνευστικό κέντρο (Gosselin LE et al. 2003).

Η έμμεση δράση θα μπορούσε να μεσολαβείται από την απελευθέρωση β-ενδορφινών η οποία μειώνει την δραστηριότητα των αναπνευστικών μυών και αλλάζει το πρότυπο της αναπνοής, η οποία γίνεται γρήγορη και ρηχή. Αυτός είναι πιθανότατα ένας τρόπος του αναπνευστικού κέντρου να μειώσει τις δυναμικές συσπάσεις των αναπνευστικών μυών και την ακόλουθη μυϊκή βλάβη, μέσω της πτώσης του αναπνεόμενου όγκου κατά την αύξηση της αναπνευστικής συχνότητας (Scardella AT et al. 1995). Το παραπάνω επιβεβαιώνεται και με μελέτες σε ζώα (Petrozzino JJ et al. 1992, Petrozzino JJ et al. 1993, Scardella AT et al. 1989, Scardella AT et al. 1986). Είναι αποδεδειγμένο ότι το εργώδες φορτίο έχει σαν αποτέλεσμα μια προοδευτική μείωση του αναπνεόμενου όγκου η οποία αντιστέφεται μερικώς με την χορήγηση ενός ανταγωνιστή οπιοειδών, την ναλοξόνη (Scardella AT et al. 1995, Scardella AT et al. 1989).

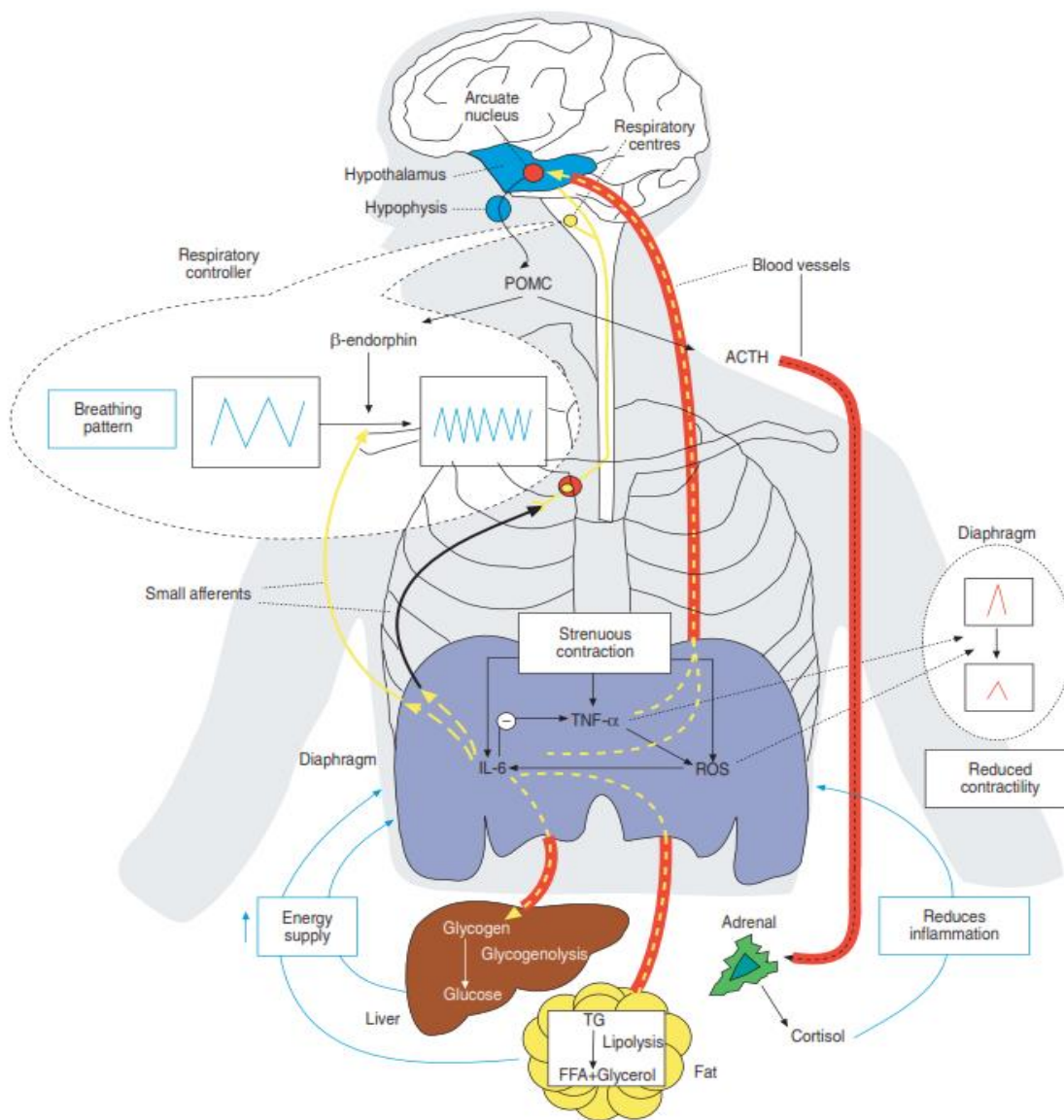
Παρατηρείται επίσης μια αύξηση των β-ενδορφινών στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (Scardella AT et al. 1989).

Στους ανθρώπους παρατηρείται μια αύξηση των επιπέδων των β-ενδορφινών στο πλάσμα δευτερευόντως της εργώδους αναπνοής (Vassilakopoulos T et al. 1999, Wanke T et al. 1993). Έχει παρατηρηθεί επίσης ότι η ναλοξόνη θα μπορούσε να αποκαταστήσει το αντισταθμιστικό ερέθισμα που παρατηρείται σε συνθήκες εργώδους αναπνοής σε ασθενείς με ΧΑΠ που απουσιάζει (Santiago TV et al. 1981). Σε 14 ασθενείς με ΧΑΠ, αλλά χωρίς αναπνευστική ανεπάρκεια και σε 8 υγιείς, ο αερισμός, οι μηχανικές λειτουργίες, η ευαισθησία του αναπνευστικού στο διοξείδιο του άνθρακα και η αύξηση της αναπνευστικής απάντησης που προκαλεί αύξηση στην εργώδη αναπνοή, μετρήθηκαν πριν και μετά την χορήγηση ναλοξόνης. Πριν την χορήγηση ναλοξόνης η εργώδης αναπνοή οδήγησε σε αύξηση του αναπνευστικού φορτίου σε όλους τους υγιείς αλλά οι 7 στους 14 ασθενείς με ΧΑΠ δεν παρουσίασαν απάντηση. Μετά την λήψη ναλοξόνης οι 7 αυτοί ασθενείς εμφάνισαν απάντηση (Santiago TV et al. 1981). Εξάλλου σε ασθματικούς ασθενείς όπου μετά την πρόκληση με μεταχολίνη επάγονται σοβαρές μειώσεις στον δυναμικά εκπνεόμενο όγκο στο πρώτο δευτερόλεπτο η προχορήγηση ναλοξόνης έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της πίεσης σύγκλεισης και της μέσης εισπνευστικής ροής (δύο μετρήσεις του αναπνευστικού ερεθίσματος) όταν συγκρίνονται με προχορήγηση φυσιολογικού ορού (Bellofiore S et al. 1990). Σύμφωνα με τα παραπάνω διαπιστώνουμε ότι κατά την διάρκεια του επαγόμενου εργώδους φορτίου που παρατηρείται κατά την πρόκληση με μεταχολίνη οι β-ενδορφίνες καταστέλλουν το ερέθισμα από το αναπνευστικό κέντρο στους αναπνευστικούς μύες, το οποίο αυξάνεται μετά την χορήγηση ναλοξόνης.

Έτσι οι β-ενδορφίνες φαίνεται ότι προστατεύουν την αναπνευστική αντλία από την εξάντληση μειώνοντας την δύσπνοια και καθυστερώντας την επέλευση της κόπωσης των αναπνευστικών μυών. Ωστόσο θα μπορούσε να έχει σαν αποτέλεσμα τον υποαερισμό και την ανάπτυξη της υπερκαπνίας.

Η εικόνα 10 (Vassilakopoulos T et al. 2004) παρουσιάζει την προέλευση και τις λειτουργικές συνέπειες των επαγόμενων κυτταροκινών από την εργώδη αναπνοή. Η αναπνοή υπό αντιστάσεις έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη οξειδωτικού στρες και την επαγωγή κυτταροκινών από το διάφραγμα δευτερευόντως στην αυξημένη μυϊκή δραστηριότητα. Το οξειδωτικό στρες αποτελεί ισχυρή διέγερση της επαγωγής των κυτταροκινών. Ο TNF-α επιτείνει την σύσπαση του διαφράγματος και συμβάλλει στην

ανάπτυξη της μυϊκής καχεξίας. Η IL-6 επάγει την έκφραση του TNF-α δευτερευόντως στην δυναμική διαφραγματική σύσπαση. Επίσης η IL-6 κινητοποιεί την γλυκόζη από το ήπαρ και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα από τον λιπώδη ιστό, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η παρεχόμενη ενέργεια στους δυναμικά συσπώμενους αναπνευστικούς μύες. Ταυτόχρονα οι κυτταροκίνες ενεργοποιούν τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων είτε αιματογενώς είτε μέσω διέγερσης των μικρών προσαγωγών νευρικών ινών, οδηγώντας σε παραγωγή αδρενοκορτικοτροπίνης και β-ενδορφινών. Η έκκριση της αδρενοκορτικοτροπίνης θα μπορούσε να αποτελεί μια προσπάθεια του οργανισμού να μειώσει την βλάβη των αναπνευστικών μυών μέσω της παραγωγής γλυκοκορτικοειδών από τα επινεφρίδια και την επαγωγή των πρωτεϊνών οξειίας φάσης. Τέλος, η έκκριση των β-ενδορφινών μειώνει την ενεργοποίηση των αναπνευστικών μυών και αλλάζει το πρότυπο της αναπνοής, η οποία γίνεται πιο γρήγορη και ρηχή, πιθανόν σε μια προσπάθεια του οργανισμού να μειώσει και/ή να προφυλάξει τους αναπνευστικούς μύες από περαιτέρω βλάβη.



ΕΙΚΟΝΑ 10

Περιγραφή της προέλευσης και των λειτουργικών συνεπειών των επαγόμενων κατά την εργώδη αναπνοή κυτταροκινών. Η αναπνοή υπό αντιστάσεις οδηγεί στην παραγωγή οξειδωτικού στρες και την επαγωγή κυτταροκινών στο διάφραγμα, δευτερευόντως στην αύξηση της μυϊκής ενεργοποίησης. Το οξειδωτικό στρες είναι ένας ισχυρός ερεθισμός για την επαγωγή των κυτταροκινών. Ο TNF- α προάγει την σύσπαση του διαφράγματος κα έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη μυϊκής καχεξίας. Η IL-6 προωθεί την έκφραση του TNF- α , δευτερευόντως στην έντονη διαφραγματική σύσπαση. Η IL-6 ενεργοποιεί την απελευθέρωση γλυκόζης από το ήπαρ και ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) από το λιπώδη ιστό, γεγονός που αυξάνει την ενέργεια που αποδίδεται στους αναπνευστικούς μύες. Παράλληλα, οι κυτταροκίνες εμεργοποιούν τον

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης- επινεφριδίων είτε αιματογενώς είτε μέσω της ενεργοποίησης των μικρών προσαγωγών νευρικών ινών, οδηγώντας σε παραγωγή ACTH και β-ενδορφινών. Η απάντηση της ACTH θα μπορούσε να είναι μια προσπάθεια του οργανισμού να μειώσει την βλάβη των αναπνευστικών μυών μέσω της παραγωγής γλυκορτικοειδών από τα επινεφρίδια και της επαγωγής των πρωτεϊνών οξείας φάσης. Η απάντηση των β-ενδορφινών θα μπορούσε να μειώσει την ενεργοποίηση των αναπνευστικών μυών και να αλλάξει το πρότυπο της αναπνοής η οποία γίνεται γρήγορη και ρηχή, πιθανόν σε μια προσπάθεια να μειώσει ή να προφυλάξει τους αναπνευστικούς μύες από περαιτέρω βλάβη (Vassilakopoulos T et al. 2004) .

POMC:pro-opiomelaninocrtin, ROS: reactive oxygen species, TG:triglycerides

2. Σκοπός-Υπόθεση

Σκοπός μας είναι να διερευνήσουμε τον ρόλο της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής. Ως εκ τούτου τέθηκε η υπόθεση ότι η IL-10 (αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη) αυξάνει τον αερισμό, σε αντίθεση με την IL-1β (προφλεγμονώδης κυτταροκίνη) που καταστέλλει τον αερισμό.

3. Μεθοδολογία

3.1 Πληθυσμός της μελέτης

A. 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες (Ινστιτούτο Παστέρ), ηλικίας 8-10 εβδομάδων με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}, ομάδα ελέγχου-control group) και 10 αρσενικοί αντίστοιχης ηλικίας, C57BL/6J-IL-10^{tm1Cgn} (Stock# JR2251, Jackson Laboratories) διαγονιδιακοί επίμυες με εξάλειψη του γονιδίου της IL-10 (IL-10^{-/-}, IL-10 knock-out).

B. 10 επίμυες με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}) και 10 επίμυες με έλλειψη έκφρασης της IL-10 (IL-10^{-/-}) που υπέστησαν εργώδη αναπνοή μέσω περιίδεσης της τραχείας.

Γ. 10 επίμυες με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}) στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά (i.p.), 30 λεπτά πριν την αναπνευστική διέγερση ανασυνδυασμένη χιμαιρική IL-10 (rIL-10) σε δόση 10μg (Kahlke et al. 2002) και 10 επίμυες IL-10^{+/+} στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά (i.p.), 30 λεπτά πριν την αναπνευστική διέγερση ίση ποσότητα PBS.

Δ. 8 νεογνά αρουραίων (0-4 ημέρων, Wistar rats) από τα οποία απομονώθηκε το εγκεφαλικό στελέχος και ο νωτιαίος μυελός και ελήφθησαν τομές που περιελάμβαναν το σύμπλεγμα preBötzing, το ραμφοειδές κοιλιακό αναπνευστικό τμήμα, τους περισσότερους από τους κινητικούς πυρήνες του υπογλώσσου νεύρου (XII) και τις ραμφοειδείς XII νευρικές ρίζες. Ακολούθησε μικροέγχυση IL-10 στις δόσεις 10 και 30 ng ml⁻¹.

3.2 Περιίδεση της τραχείας

Η ομάδα μας ανέπτυξε ένα πειραματικό μοντέλο εργώδους αναπνοής μέσω περιίδεσης της τράχειας (tracheal banding) αυξάνοντας τόσο τις εισπνευστικές όσο και τις εκπνευστικές αντιστάσεις μέσω περιίδεσης της τραχείας, πετυχαίνοντας απόφραξη των αεραγωγών κατά 50% της αρχικής επιφάνειας (μοντέλο άσθμα-ΧΑΠ).

Έπειτα από χειρουργική τομή κατά τη μέση γραμμή στον τράχηλο του ποντικιού στο ύψος περίπου της κροταφογναθικής άρθρωσης και διάνοιξης των υποκειμένων μυϊκών στοιβάδων, αναγνωρίζεται η εξωθωρακική μοίρα της τραχείας, η οποία εν συνεχεία εκτίθεται και καθαρίζεται από συμφυόμενους ιστούς. Με τη βοήθεια ενός βαθμονομημένου διαβήτη-παχύμετρο (caliper gauge) μετριέται η εξωτερική διάμετρος της τραχείας και με βάση αυτήν υπολογίζεται μία νέα διάμετρος τέτοια ώστε η αντίστοιχη νέα επιφάνεια διατομής να ισούται με το μισό της αρχικής. Για να περιοριστεί η διάμετρος της τραχείας στη νέα μικρότερη τιμή, αποστειρωμένη νάλιον μπάντα μήκους ίσου με τη νέα επιδιωκόμενη διάμετρο συρράπτεται γύρω από την τραχεία. Το επιτυχημένο tracheal banding γίνεται εμφανές από τις έντονες αναπνευστικές κινήσεις που αναπτύσσει το ζώο αμέσως μόλις συρραφεί η μπάντα, ως αποτέλεσμα της αύξησης του έργου της αναπνοής (Εικόνα 16, Εικόνα 17).

Υπολογισμοί περίδεσης της τραχείας (tracheal banding)

Εμβαδό Κύκλου: πr^2 Περίμετρος Κύκλου: $2\pi r$

Στένωση της τραχείας κατά 50%

Ακτίνα πριν : r

Ακτίνα μετά : r'

*Εμβαδό τραχείας μετά = Εμβαδό τραχείας πριν / 2

$$\pi r'^2 = \pi r^2 / 2 \quad r'^2 = r^2 / 2 \quad r' = \sqrt{r^2 / 2} \quad r' = r / \sqrt{2}$$

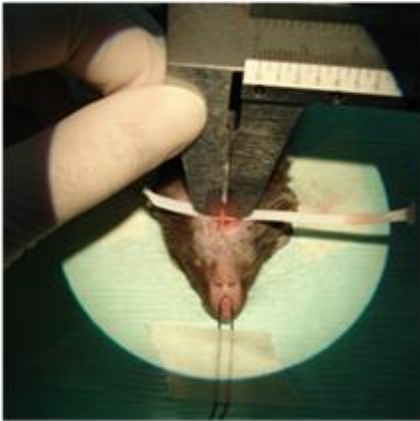
Μήκος ταινίας που θα χρησιμοποιήσουμε = Νέα Περίμετρος Τραχείας = $2\pi r' = 6.28 r / \sqrt{2} = 4.44 r = 4.44 d / 2 = 2.22 d$

Η sham-operation περιλαμβάνει τα ίδια αρχικά βήματα, αλλά ολοκληρώνεται με την αναγνώριση και τον καθαρισμό της τραχείας, χωρίς την τοποθέτηση περιτραχειακής μπάντας.

Όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις εκτελέστηκαν με την καθοδήγηση χειρουργικού μικροσκοπίου υπό αναισθησία με ενδοπεριτοναϊκώς χορηγούμενο διάλυμα κεταμίνης (90mg/kg) και ξυλαζίνης (10mg/kg). Συμπληρωματικές δόσεις αναισθησίας χορηγήθηκαν κατά τη διάρκεια της επέμβασης όταν το ζώο απέσυρε το οπίσθιο άκρο κατόπιν τσιμπήματος του άκρου ποδός. Μετά την ολοκλήρωση της επέμβασης, ακολούθησε ανάνηψη με ταυτόχρονη χορήγηση 100% O₂ και το ζώο επέστρεψε στο κλουβί του, ενώ τρεις ώρες μετά τοποθετήθηκε στο βαρομετρικό πλυσμογράφο για τη μέτρηση των αναπνευστικών παραμέτρων.

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

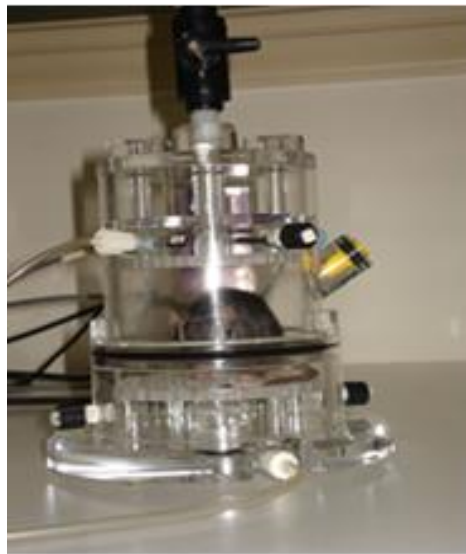
Όλες οι πειραματικές διαδικασίες εγκρίθηκαν από την κτηνιατρική υπηρεσία της Νομαρχίας Αθηνών και την Επιτροπή Βιοηθικής του νοσοκομείου Ευαγγελισμός. Η φροντίδα και ο χειρισμός των ζώων ακολούθησε την ισχύουσα Ευρωπαϊκή Οδηγία για τον πειραματισμό σε ζώα.



ΕΙΚΟΝΑ 16 Περίδεση τραχείας



ΕΙΚΟΝΑ 17 Περίδεση τραχείας



ΕΙΚΟΝΑ 18 Ολόσωμος πληθυσμογράφος.



ΕΙΚΟΝΑ 19 Καταγραφή αναπνευστικών παραμέτρων με τη χρήση ολόσωμου πληθυσμογράφου.

3.3. Αναπνευστική Λειτουργία- Πληθυσμογράφος

Η μέτρηση των αναπνευστικών παραμέτρων έγινε με τη βοήθεια ολόσωμου πληθυσμογράφου (PLY3211 Buxco Electronics, Sharon, CT), (Εικόνα 18, Εικόνα 19) η λειτουργία του οποίου βασίζεται στη βαρομετρική μέθοδο που εισήγαγαν οι Drorbaugh και Fenn (Drorbaugh και Fenn 1995) και τροποποίησαν οι Bartlett και Tenney. Η μέθοδος αυτή βασίζεται με τη σειρά της στη φυσική αρχή ότι οι μεταβολές της πίεσης στο εσωτερικό ενός κλειστού θαλάμου που περιέχει ένα ζώο που αναπνέει προέρχονται από δύο πηγές: την αποσυμπίεση του εισπνεόμενου αέρα καθώς αυτός διαχέεται εντός του τραχειοβρογχικού δέντρου και τη θέρμανση και την εφύγρανση του εισπνεόμενου αέρα καθώς αυτός μετακινείται από το περιβάλλον μέσα στο σώμα του ζώου. Η πρώτη πηγή συσχετίζεται με τις μηχανικές ιδιότητες του πνεύμονα, ενώ η δεύτερη με τον αναπνεόμενο όγκο. Δεδομένου ότι δεν αναμένεται ιδιαίτερη μεταβολή της πνευμονικής μηχανικής στην παρούσα μελέτη (π.χ. βρογχόσπασμος), το στοιχείο της αποσυμπίεσης θεωρείται μη σημαντικό, και έτσι ο αναπνεόμενος όγκος μπορεί να εκτιμηθεί αξιόπιστα από τις μεταβολές της πίεσης που παράγονται από τη θέρμανση και την εφύγρανση του εισπνεόμενου αέρα. Η πληθυσμογραφία είναι ευρέως αποδεκτή ως έγκυρη μέθοδος για τη μέτρηση των αλλαγών στο πρότυπο της αναπνοής και παρουσιάζει το βασικό πλεονέκτημα της δυνατότητας εκτίμησης του αερισμού σε μη αναισθητοποιημένα, μη περιορισμένα μικρά ζώα.

Ο ολόσωμος πληθυσμογράφος του εργαστηρίου μας (PLY3211 Buxco Electronics, Sharon, CT) αποτελείται από 2 πειραματικούς θαλάμους από Plexiglas (δίνοντας μας τη δυνατότητα να μελετάμε 2

ποντίκια συγχρόνως), καθένας εκ των οποίων αποτελείται με τη σειρά του από 2 ενωμένους μεταξύ τους θαλάμους (Εικόνα 20). Ο ένας εξ αυτών είναι ο θάλαμος εξέτασης, εντός του οποίου τοποθετείται το ποντίκι (μη αναισθητοποιημένο και μη περιορισμένο) και ο άλλος είναι ο θάλαμος αναφοράς. Σκοπός της παρουσίας του είναι η εξάλειψη της επίδρασης των μεταβολών της πίεσης του εξωτερικού περιβάλλοντος στις πιέσεις που ανιχνεύονται εντός του θαλάμου εξέτασης. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της καταγραφής της αναπνευστικής δραστηριότητας με βάση τη μεταβολή της σχετικής διαφοράς πίεσης ανάμεσα στο θάλαμο εξέτασης και στο θάλαμο αναφοράς, η οποία μετριέται με έναν αισθητήρα διαφορικής πίεσης (TRD 5700, Buxco Electronics) συνδεδεμένο ανάμεσα στους δύο θαλάμους. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων μας, ο θάλαμος εξέτασης ελάμβανε σταθερή ροή αέρα (1L/min) μέσω ενός bias flow regulator (PLY 1020, Buxco Electronics), ώστε να εμποδίζεται η αύξηση του CO₂ εντός του θαλάμου λόγω επανεισπνοής. Κατά την διάρκεια της αναπνοής οι μεταβολές της πίεσης εντός του θαλάμου μετατρέπονταν σε σήμα πίεσης με ακόλουθη ενίσχυση (MAX II, Buxco Electronics) και ψηφιοποίηση (Buxco Biosystems XA software). Η θερμοκρασία και η υγρασία καταγράφονταν καθόλη τη διάρκεια της πληθυσμογραφίας μέσω αντίστοιχων probes συνδεδεμένων στο θάλαμο. Ταυτόχρονα υπήρχε συνεχής καταγραφή των συγκεντρώσεων O₂ και CO₂ εντός του θαλάμου μέσω κατάλληλου αναλυτή αερίων (GAS 0100, Gas Analyzer, Buxco Electronics). Οι ενδεικνυόμενες βαθμονομήσεις γίνονταν καθημερινά πριν από κάθε μέτρηση.

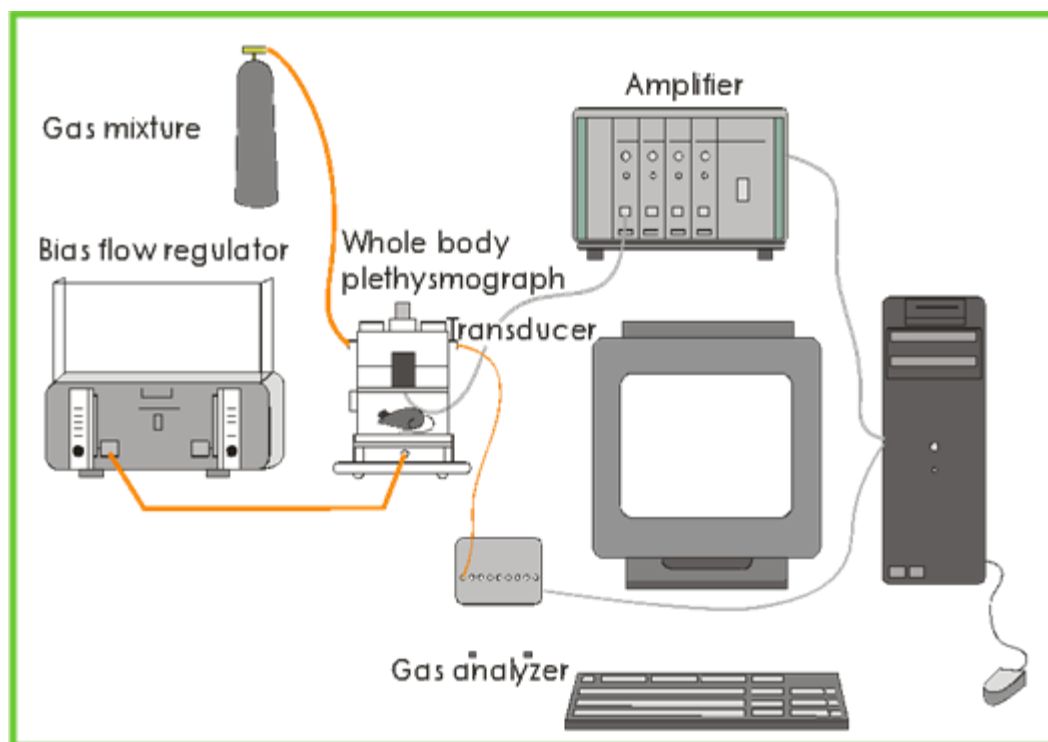
Από τον πληθυσμογράφο καταγράφονταν ανά αναπνοή (per breath) και αποθηκεύονταν στη μνήμη υπολογιστή με τη βοήθεια του προαναφερθέντος data acquisition system (Buxco Biosystems XA software) οι εξής αναπνευστικές παράμετροι: αναπνευστική συχνότητα (respiratory rate, RR ή F), αναπνεόμενος όγκος (tidal volume, V_t), κατά λεπτόν αερισμός (minute ventilation, V_e), εισπνευστικός χρόνος (inspiratory time, T_i) και εκπνευστικός χρόνος (expiratory time, T_e), όπου ο ολικός χρόνος αναπνοής είναι το άθροισμα του T_i και του T_e (T_{tot}=T_i+T_e). Με βάση τις παράνω παραμέτρους υπολογίζονταν επίσης ανά αναπνοή οι εξής σχέσεις T_i/T_{tot} (duty cycle), η μέση εισπνευστική ροή (V_t/T_i) και το F/VT που πρόκειται για δείκτη της γρήγορης και ρηχής αναπνοής (Milic-Emili J et al. 1976, Nava S et al. 1994). Ειδικός αλγόριθμος εφαρμόστηκε ως ρουτίνα κατά την breath by breath επεξεργασία των παραπάνω μεταβλητών, ώστε artifacts σχετιζόμενα με την κίνηση του ζώου εντός του θαλάμου να αποκλείονται με εγκυρότητα από την ανάλυση των δεδομένων (Pagliardini S et al. 2012, Jacky JP 1980, Hamelmann E et al. 1997, Gayraud J et al. 2007, Epstein MA et al. 1978, Bissonnette JM and Knopp SJ 2001, Bates JH and Irvin CG 2003, Adler A et al. 2004, Irvin CG and Bates JH 2003, Tankersley CG 1993., Tankersley CG et al 2000).

Η μέτρηση των αναπνευστικών παραμέτρων έγινε σε 7 διαφορετικές συνθήκες ως προς το αναπνεόμενο μείγμα αέρα: αέρας δωματίου (room air baseline), υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υποκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂),

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

νορμοκαπνική υποξία (3% CO₂-10% O₂-87% N₂). Η σειρά εφαρμογής των μειγμάτων ήταν πάντα η προαναφερθείσα για όλα τα ζώα και η ροή χορήγησης ήταν πάντα σταθερή και ίση με 1,5 lt/min. Η baseline μέτρηση διαρκούσε συνολικά 15' και άρχιζε αμέσως μετά από περίοδο εγκλιματισμού διάρκειας 1 ώρας. Ακολουθούσε η διαδοχική εφαρμογή των μειγμάτων (20' έκαστη) με 20λεπτες περιόδους ανάρρωσης (recovery) να έπονται κάθε μείγματος. Η αναπνευστική συχνότητα, ο αναπνεόμενος όγκος, ο χρόνος εισπνοής και ο χρόνος εκπνοής καταγράφονταν κάθε 5 δευτερόλεπτα (Εικόνα 21). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές των τελευταίων 15 λεπτών προκειμένου να έχει σταθεροποιηθεί η αναπνευστική απόκριση του πειραματόζωου στο εισπνεόμενο μείγμα.

Μετά το τέλος κάθε πειράματος, τα ποντίκια θυσιάζονταν με συνδυασμένη διατομή της κάτω κοίλης φλέβας και της κοιλιακής αορτής υπό βαθειά αναισθησία με ενδοπεριτοναϊκώς εγχέομενο διάλυμα κεταμίνης (100mg/kg) και ξυλαζίνης (10 mg/kg).



EIKONA 20

gas mixture: αέριο μείγμα, gas analyzer: αναλυτής αερίων, bias flow regulator: ρυθμιστής ροής, transducer: μετατροπέας πίεσης, amplifier: ενισχυτής

3.4 Επίπεδα ιντερλευκίνης 10 στον ορό

Τα επίπεδα της IL-10 στον ορό υπολογίστηκαν με Elisa (Duoset: R&D Systems, Minneapolis, MN) στο τέλος του πρωτοκόλλου στους επίμυες με πλήρη έκφραση IL-10 (IL-10^{+/+}) και στους επίμυες που έγινε έγχυση ανασυνδυασμένης IL-10 ενδοπεριτοναϊκά (rIL-10, i.p.).

3.5 Άμεση διέγερση του αναπνευστικού κέντρου

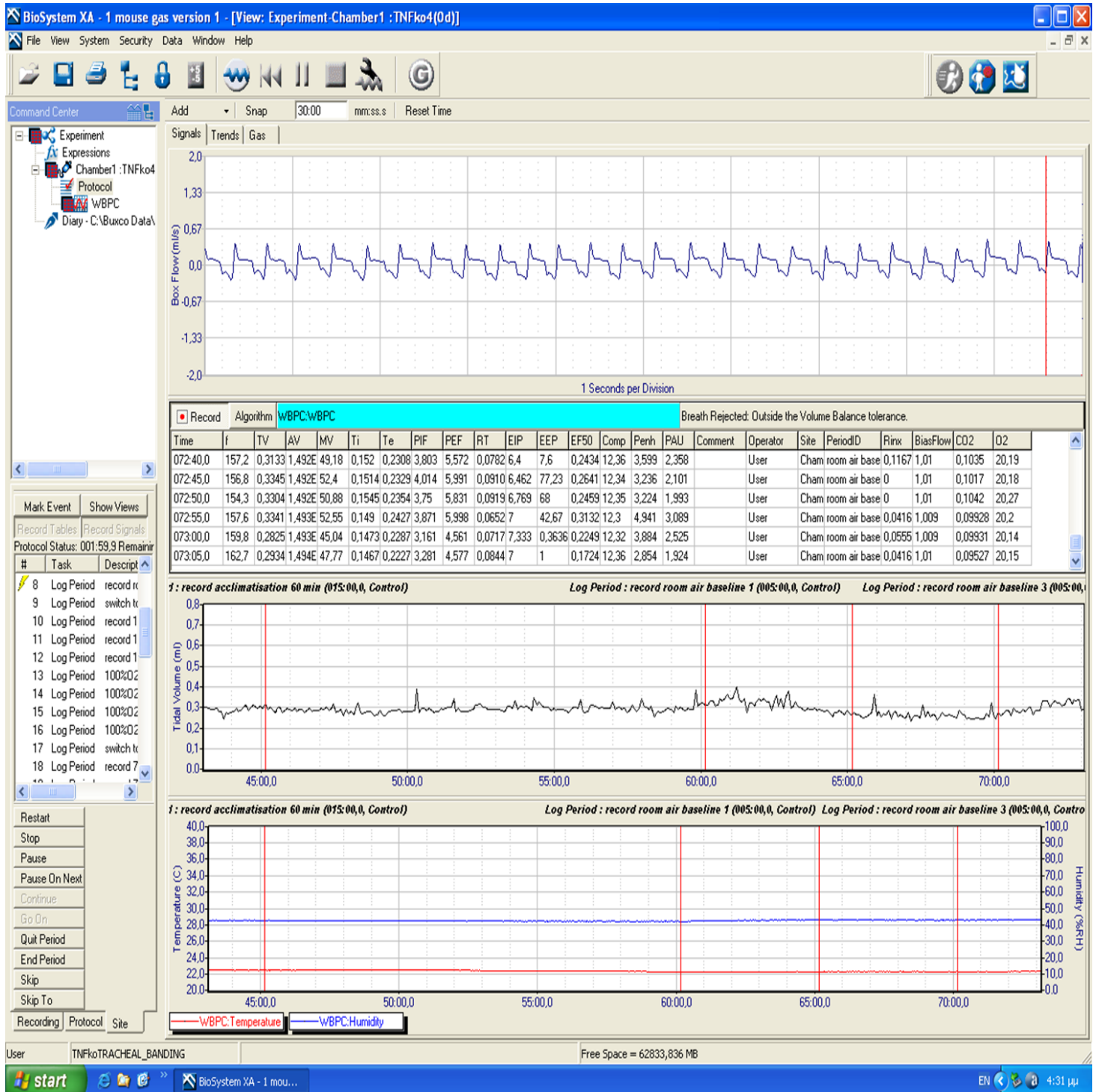
Ρυθμικά ενεργές τομές του προμήκους μυελού ελήφθησαν από νεογνά αρουραίων (0-4 ημέρων, Wistar rats). Οι αρουραίοι αναισθητοποιήθηκαν μέσω εισπνοής αιθέρα ή ισοφλουρανίου και απεγκεφαλίστηκαν. Το εγκεφαλικό στέλεχος και ο νωτιαίος μυελός τοποθετήθηκαν σε σταθερή επιφάνεια, ελήφθησαν σειριακές τομές 100-200μm μέσω μικροτόμου (Pelco-101, Ted Pella, CA, USA, or Leica VT1000S, Nussloch, Germany) και σηματοδοτήθηκαν ώστε να ταυτοποιηθούν οι ανατομικές περιοχές. Μια μονήρης τομή 650 μm ελήφθη μετά τη συμπαγή διαίρεση του μικτού πυρήνα (cNA) ο οποίος δεν ήταν πλέον ορατός, ενώ οι τρεις κατώτεροι ελαιώδεις πυρήνες (ο κύριος κατώτερος ελαιώδης πυρήνας, ο ραχιαίος πυρήνας και ο μέσος-κατώτερος πυρήνας) ήταν ορατοί και διακριτοί. Η μονήρης αυτή τομή περιελάμβανε το σύμπλεγμα preBötzinger, το ραμφοειδές κοιλιακό αναπνευστικό τμήμα, τους περισσότερους από τους κινητικούς πυρήνες του υπογλώσσιου νεύρου (XII) και τις ραμφοειδείς XII νευρικές ρίζες. Οι τομές τοποθετήθηκαν σε γυάλινη πλάκα 500μl στο μικροσκόπιο (Zeiss Axioscope II FS or Olympus B51) και σταθεροποιήθηκαν στη θέση αυτή μέσω πλατινένιου σύρματος. Ακολούθησε συνεχής έγχυση στις τομές ENY το οποίο αεριζόταν με 5% CO₂–95% O₂ και ανακυκλωνόταν με ροή 2 ml min⁻¹. Η εισπνευστική δραστηριότητα που παράχθηκε από την παρασκευή των τομών καταγράφηκε από τα άκρα των νευρικών ριζών του υπογλώσσιου νεύρου XII με τη χρήση γυάλινων ηλεκτροδίων αναρρόφησης (A-M Systems, Carlsborg, WA, USA). Τα σήματα ενισχύθηκαν (5000×), διωλίστηκαν, επιδιορθώθηκαν, ολοκληρώθηκαν (τ = 25 ms) και καταγράφησαν σε βιντεοταινία μέσω κωδικοποίησης του παλμού (Vetter 3000A, sampling rate = 10 kHz) ή σε έναν υπολογιστή μέσω Digidata 1322 A/D board (sampling rate = 2 kHz, Axon Instruments, Union City, CA, USA). Το λιγότερο 30 λεπτά πριν από την έναρξη της συλλογής των δεδομένων, η συγκέντρωση του K⁺ στο ENY αυξήθηκε από 3 σε 9mM. Η αύξηση του K⁺ δεν είναι υποχρεωτική συνθήκη για την παραγωγή του ρυθμού. Ωστόσο, οι στόχοι της μελέτης αυτής επιτεύχθηκαν καλύτερα με την χρήση τομών που παράγουν σταθερά εισπνευστικά σχετιζόμενο ρυθμό για όσο το δυνατόν περισσότερο. Ακολούθως τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με 9mM K⁺. Ακολούθησε μικροέγχυση IL-10 (10-30 ng ml⁻¹, n=8) με πιπέττες 3-4.5 M στην επιφάνεια τις κάθε τομής. Η μικροέγχυση (~10 p.s.i.) έγινε από προγραμματισμένο ρυθμιστή (Master-8, AMPI Instruments, Jerusalem, Israel). Οι καταγραφές πραγματοποιήθηκαν υπό CCD

camera και η οθόνη προσαρμόστηκε είτε σε Zeiss Axioscope II FS είτε σε Olympus B51 μικροσκόπιο (ICD-47; Ikegami, Tokyo, Japan). Τα σήματα ακολούθως αποθηκεύτηκαν και αναλύθηκαν με Axograph και Clampfit software (Axon Instruments),

3.6 Στατιστική ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της two-way (ομάδα επίμυων-είδος μείγματος) analysis of variance (ANOVA-MANOVA) με LSD test για post hoc συγκρίσεις. Η τιμή $p < 0.05$ έγινε δεκτή για να ορίζει την στατιστική σημαντικότητα. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερό σφάλμα μέσης τιμής (SEM).

Διακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»



ΕΙΚΟΝΑ 21

Η αναπνευστική συχνότητα (f), ο αναπνεόμενος όγκος (VT), ο χρόνος εισπνοής (Ti) και ο χρόνος εκπνοής (Te) καταγράφονται κάθε 5 δευτερόλεπτα.

4. Αποτελέσματα

4.1 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10

Τοποθετήθηκαν στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με σκοπό την καταγραφή των αναπνευστικών τους παραμέτρων: 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες, ηλικίας 8-10 εβδομάδων (control group) και 10 αρσενικοί, αντίστοιχης ηλικίας C57BL/6J διαγονιδιακοί επίμυες (IL-10 knock out) οι οποίοι είχαν αδρανοποιημένη πλήρως τη λειτουργία του υπεύθυνου γονιδίου για την σύνθεση της IL-10.

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 1).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η αναπνευστική συχνότητα (RR) ήταν 202±6,7 στους control επίμυες vs 302±5,3 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

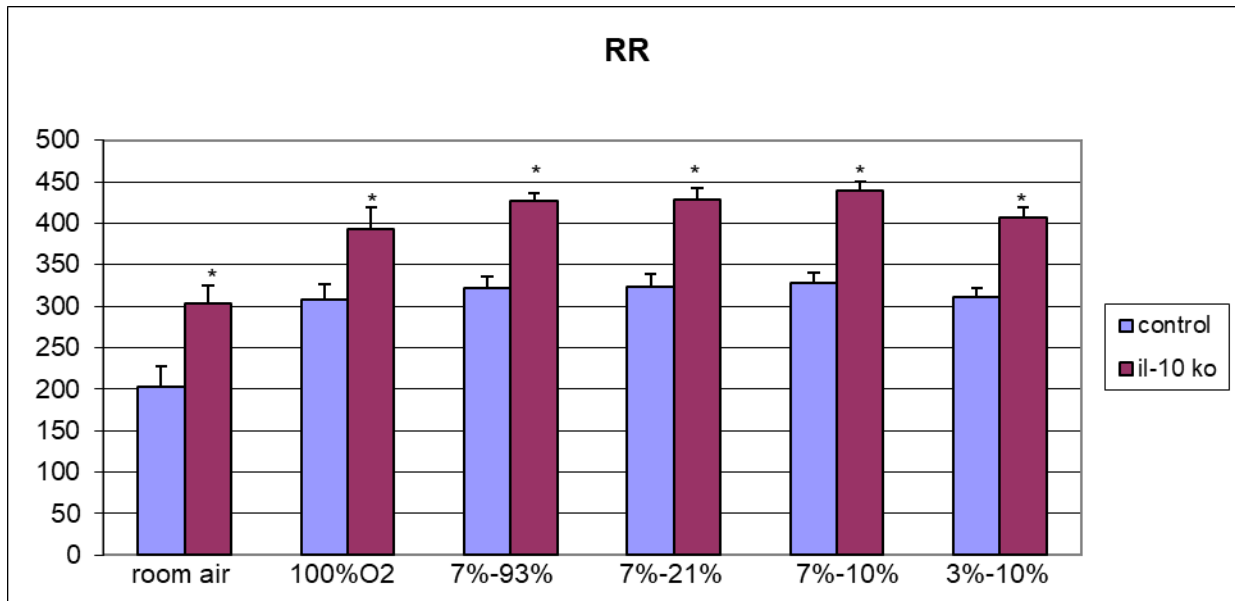
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) η RR ήταν 307±24,6 στους control επίμυες vs 393±24,1 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) η RR ήταν 321±11,1 στους control επίμυες vs 426±10,4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) η RR ήταν 322±13,9 στους control επίμυες vs 428±12 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) η RR ήταν 327±10,9 στους control επίμυες vs 438±9,4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) η RR ήταν 310±4,5 στους control επίμυες vs 406±15,1 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 1

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμυες (Γράφημα 2).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο αναπνεόμενος όγκος (VT) ήταν $0,25 \pm 0,002$ στους control επίμυες vs $0,16 \pm 0,001$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

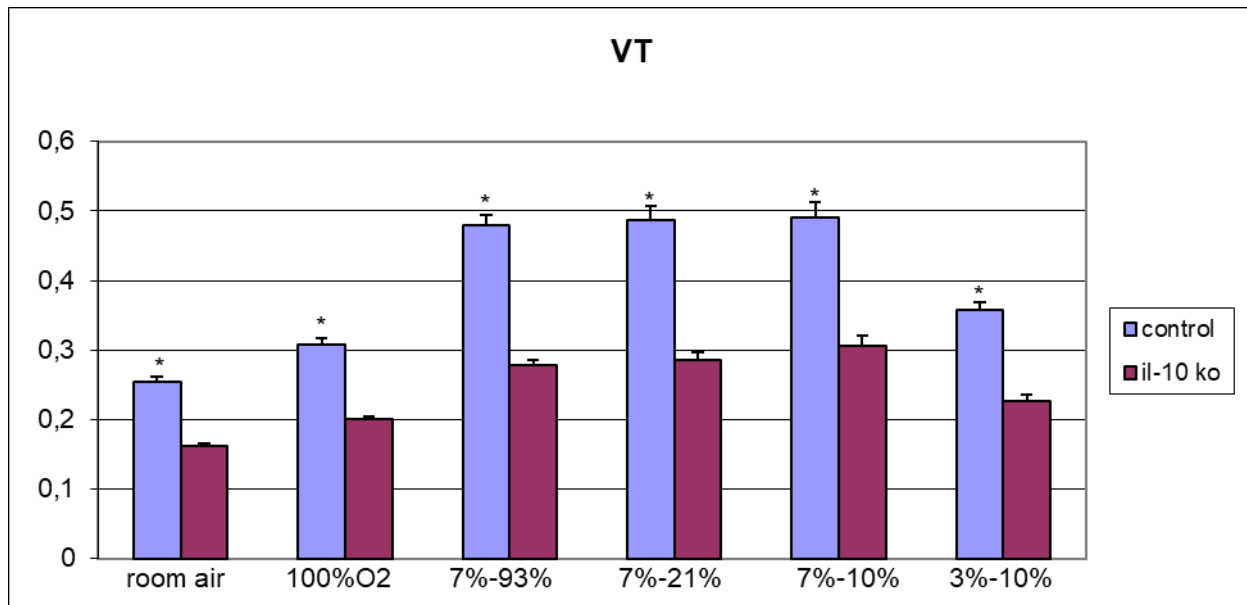
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VT ήταν $0,3 \pm 0,005$ στους control επίμυες vs $0,2 \pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VT ήταν $0,47 \pm 0,01$ στους control επίμυες vs $0,27 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VT ήταν $0,48 \pm 0,007$ στους control επίμυες vs $0,28 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VT ήταν $0,49 \pm 0,02$ στους control επίμυες vs $0,3 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VT ήταν $0,35 \pm 0,02$ στους control επίμυες vs $0,22 \pm 0,005$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 2

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) και υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμνες (Γράφημα 3).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο κατά λεπτόν αερισμός (VE) ήταν 51±1,9 στους controls επίμνες vs 48±0,9 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

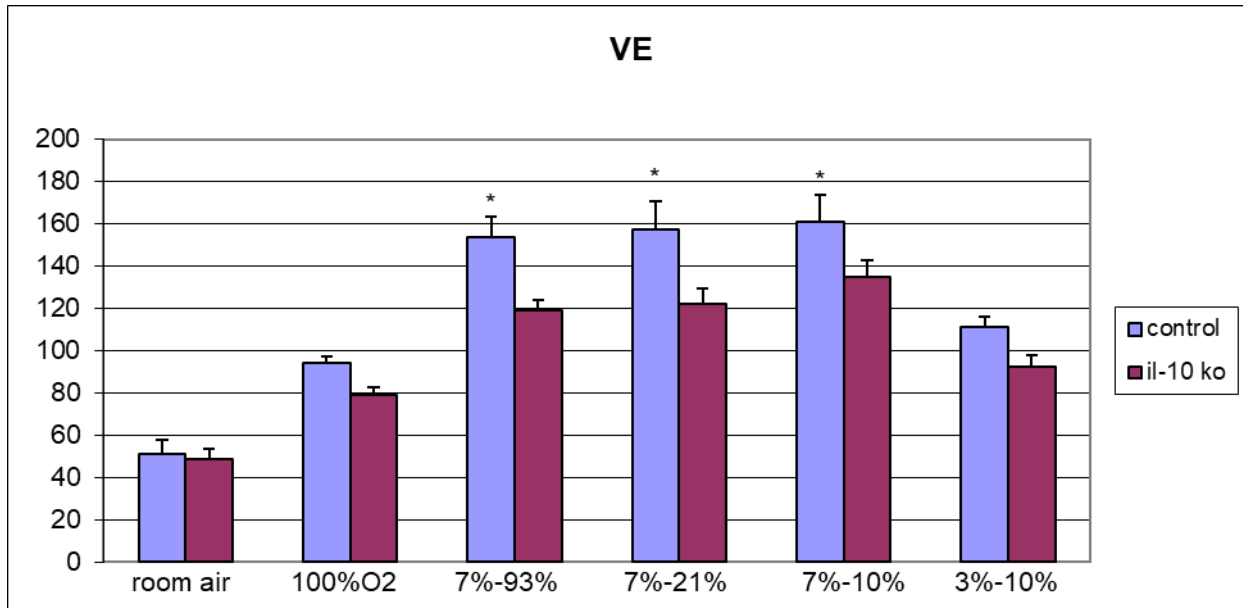
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VE ήταν 94±8,1 στους controls επίμνες vs 78±4,7 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VE ήταν 153±8,3 στους controls επίμνες vs 119±5,3 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VE ήταν 157±9,1 στους controls επίμνες vs 122±5,4 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VE ήταν 160±11,4 στους controls επίμνες vs 134±7,6 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VE ήταν 110±7 στους controls επίμνες vs 92±4,2 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.



Γράφημα 3

Κατά τον υπολογισμό της σχέσης T_i/T_{tot} διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες room air baseline και υπεροξίας (100% O₂) οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμνες σε σχέση με τους control επίμνες (Γράφημα 4).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η σχέση T_i/T_{tot} ήταν $0,3 \pm 0,01$ στους controls επίμνες vs $0,34 \pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

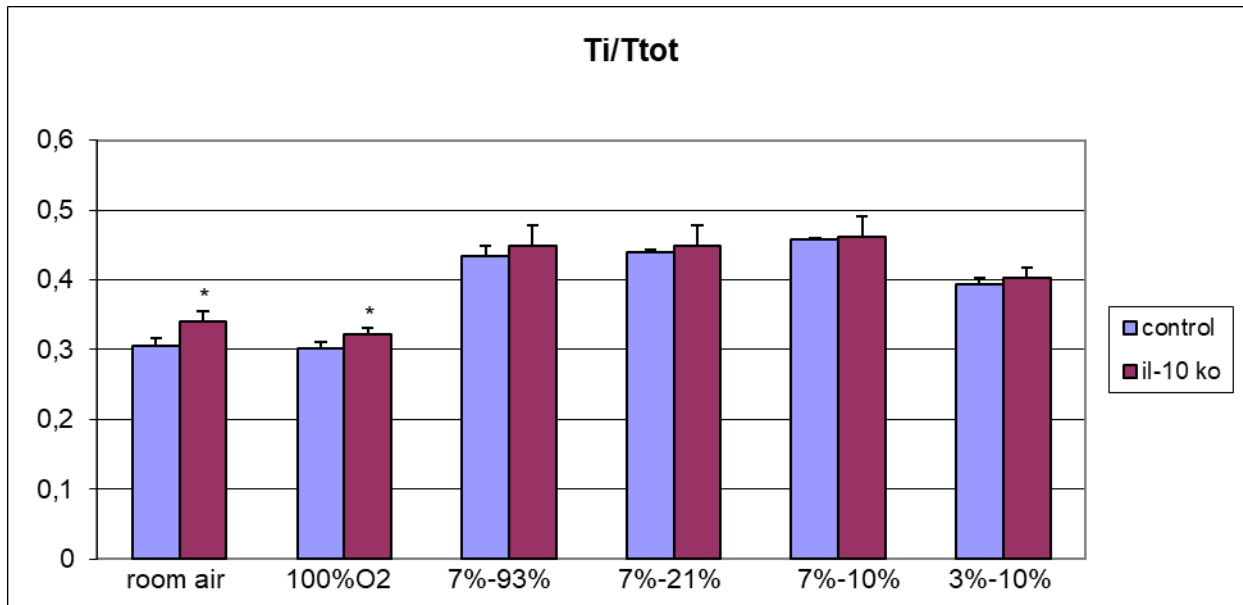
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,3 \pm 0,009$ στους controls επίμνες vs $0,32 \pm 0,008$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,43 \pm 0,004$ στους controls επίμνες vs $0,44 \pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,44 \pm 0,003$ στους controls επίμνες vs $0,44 \pm 0,004$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,45 \pm 0,002$ στους controls επίμνες vs $0,46 \pm 0,002$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,39 \pm 0,005$ στους controls επίμνες vs $0,4 \pm 0,006$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 4

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες {υπεροξίας (100% O₂), υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμυες (Γράφημα 5).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η μέση εισπνευστικής ροή (VT/Ti) ήταν $2,8 \pm 0,12$ στους controls επίμυες vs $2,39 \pm 0,04$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

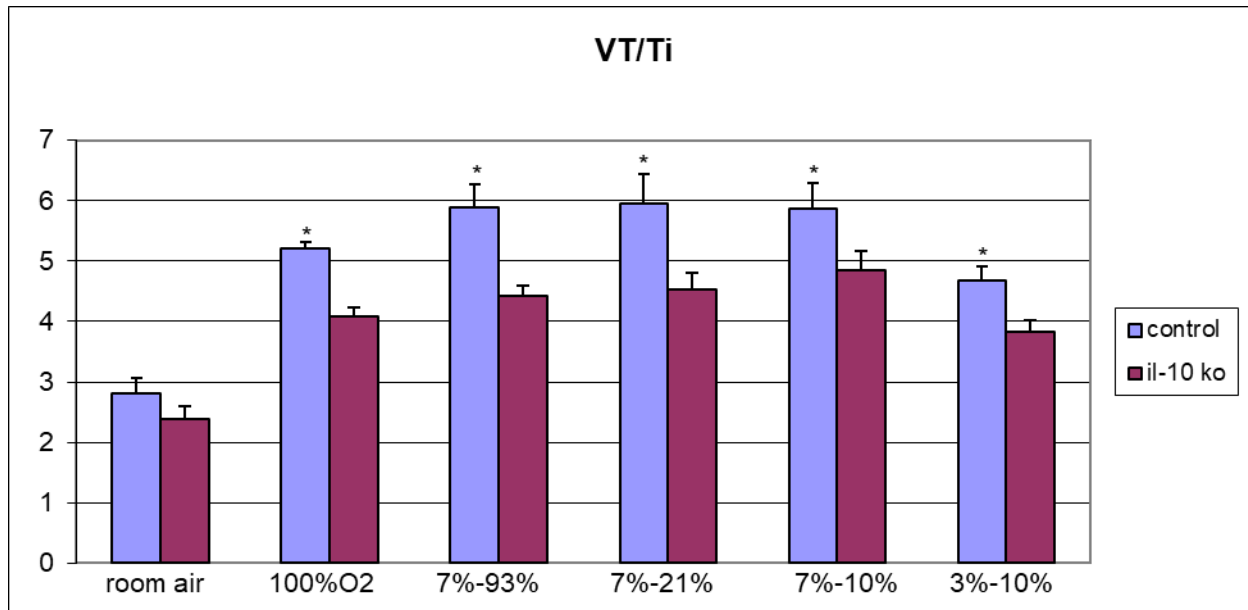
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το VT/Ti ήταν $5,2 \pm 0,4$ στους controls επίμυες vs $4,08 \pm 0,18$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το VT/Ti ήταν $5,8 \pm 0,31$ στους controls επίμυες vs $4,4 \pm 0,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το VT/Ti ήταν $5,9 \pm 0,32$ στους controls επίμυες vs $4,5 \pm 0,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το VT/Ti ήταν $5,8 \pm 0,38$ στους controls επίμυες vs $4,8 \pm 0,27$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το VT/Ti ήταν $4,6 \pm 0,28$ στους controls επίμυες vs $3,8 \pm 0,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 5

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT), (Nava S et al. 2004) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 6).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο δείκτης F/VT ήταν 796 ± 24 στους controls επίμυες vs 1876 ± 44 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

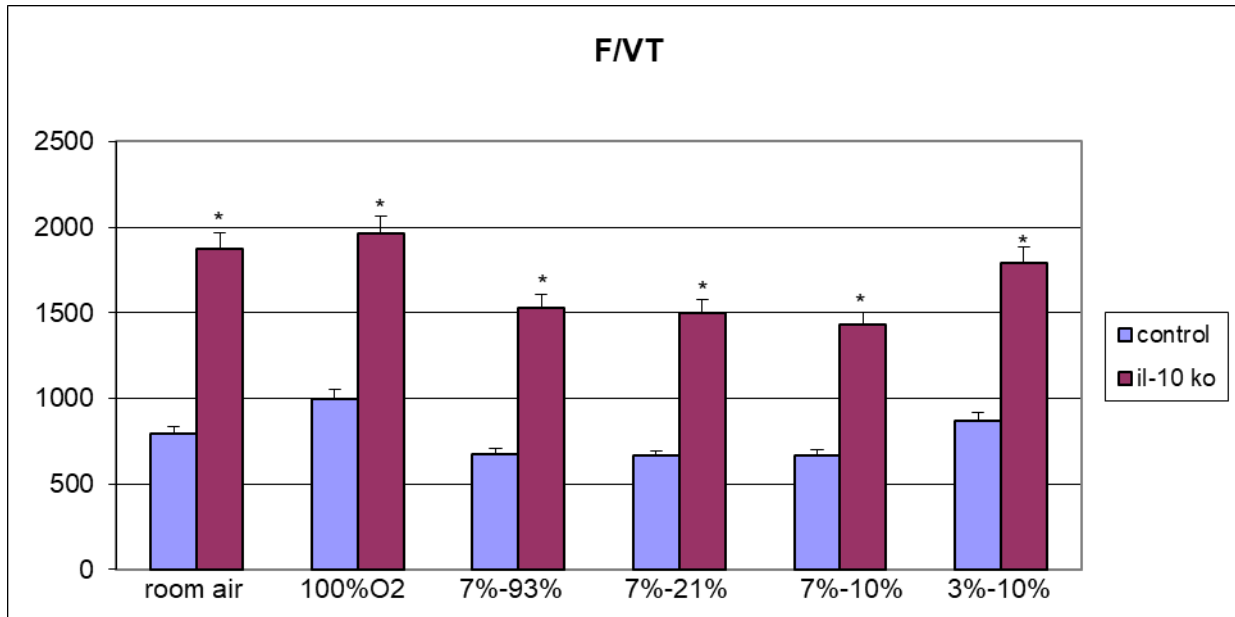
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο F/VT ήταν 999 ± 81 στους controls επίμυες vs 1964 ± 131 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο F/VT ήταν 671 ± 23 στους controls επίμυες vs 1528 ± 59 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο F/VT ήταν 662 ± 22 στους controls επίμυες vs 1499 ± 61 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο F/VT ήταν 667 ± 19 στους controls επίμυες vs 1431 ± 48 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο F/VT ήταν 870 ± 49 στους controls επίμυες vs 1791 ± 74 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 6

4.2 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μετά από περιίδεση της τραχείας

Τοποθετήθηκαν στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με σκοπό την καταγραφή των αναπνευστικών τους παραμέτρων μετά την εφαρμογή περιίδεσης της τραχείας: 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες, ηλικίας 8-10 εβδομάδων (control group) και 10 αρσενικοί αντίστοιχης ηλικίας C57BL/6J διαγονιδιακοί επίμυες (IL-10 knock out) οι οποίοι είχαν αδρανοποιημένη πλήρως τη λειτουργία του υπεύθυνου γονιδίου για την σύνθεση της IL-10.

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 7).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η αναπνευστική συχνότητα (RR) ήταν $164 \pm 1,9$ στους control επίμνες vs $228 \pm 5,3$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

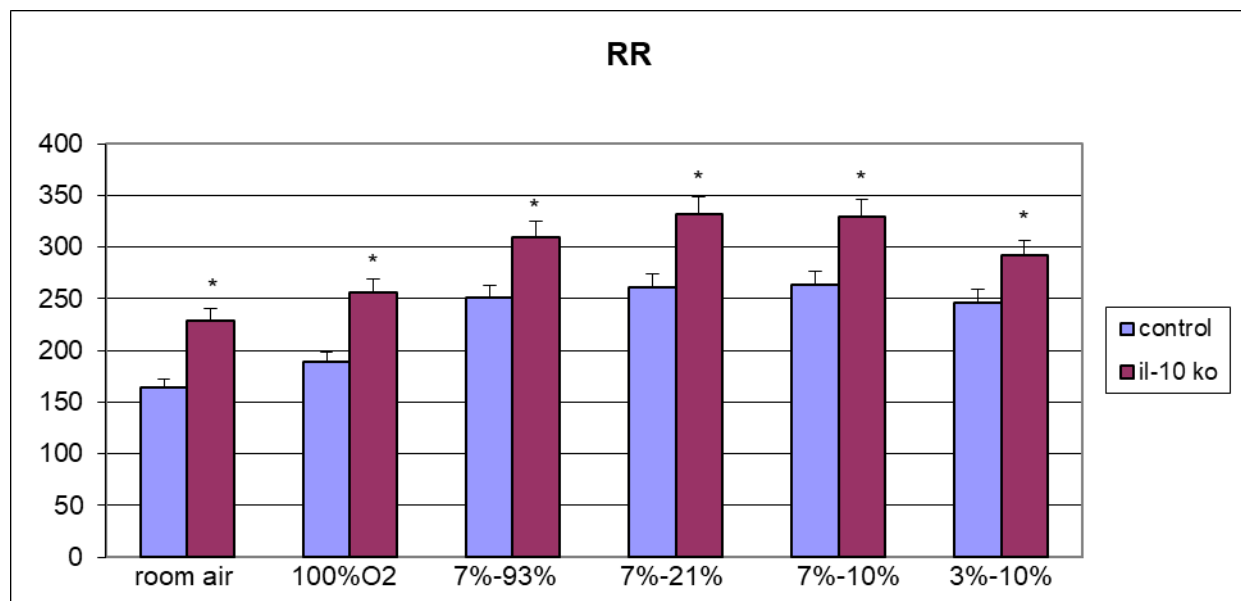
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) η RR ήταν $189 \pm 3,5$ στους control επίμνες vs $256 \pm 8,4$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) η RR ήταν $250 \pm 4,5$ στους control επίμνες vs $310 \pm 8,5$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) η RR ήταν $261 \pm 5,6$ στους control επίμνες vs 331 ± 13 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) η RR ήταν $263 \pm 4,6$ στους control επίμνες vs $330 \pm 16,2$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) η RR ήταν 246 ± 5 στους control επίμνες vs $292 \pm 5,9$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 7

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3%

CO₂-87% N₂)} υπερερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμνες (Γράφημα 8).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο αναπνεόμενος όγκος (VT) ήταν $0,25 \pm 0,005$ στους control επίμνες vs $0,17 \pm 0,007$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

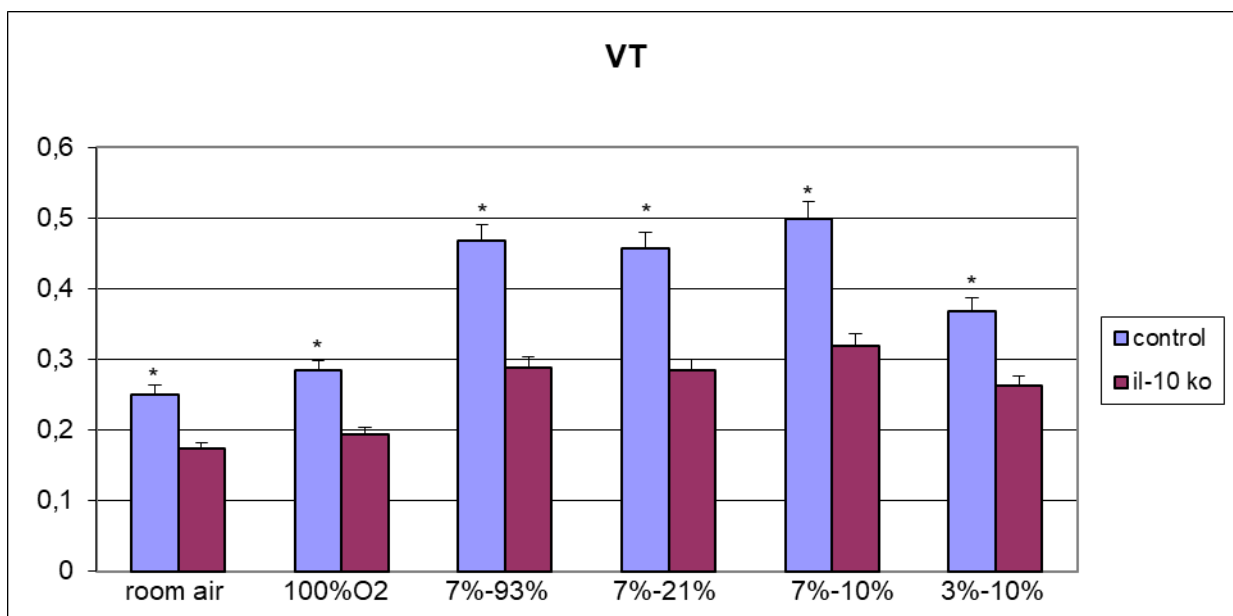
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VT ήταν $0,28 \pm 0,009$ στους control επίμνες vs $0,19 \pm 0,008$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VT ήταν $0,47 \pm 0,004$ στους control επίμνες vs $0,29 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VT ήταν $0,46 \pm 0,005$ στους control επίμνες vs $0,28 \pm 0,008$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VT ήταν $0,49 \pm 0,01$ στους control επίμνες vs $0,32 \pm 0,07$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VT ήταν $0,36 \pm 0,005$ στους control επίμνες vs $0,26 \pm 0,012$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 8

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) και υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) οι τιμές

υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμυες (Γράφημα 9).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο κατά λεπτόν αερισμός (VE) ήταν $41 \pm 1,15$ στους controls επίμυες vs $39 \pm 2,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

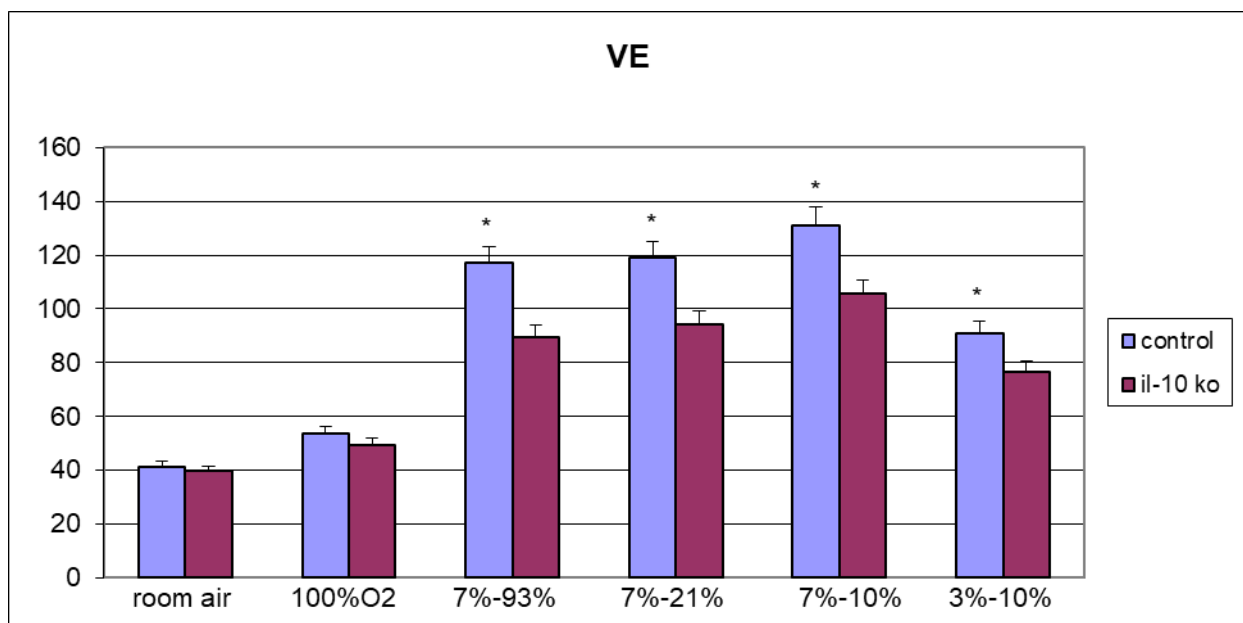
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VE ήταν $54 \pm 1,9$ στους controls επίμυες vs 49 ± 3 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VE ήταν 117 ± 3 στους controls επίμυες vs $89 \pm 3,7$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VE ήταν $119 \pm 3,5$ στους controls επίμυες vs $94 \pm 5,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VE ήταν $131 \pm 2,5$ στους controls επίμυες vs $105 \pm 6,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VE ήταν $91 \pm 1,3$ στους controls επίμυες vs $76 \pm 2,5$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 9

Κατά τον υπολογισμό της σχέσης T_i/T_{tot} διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 10).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η σχέση Ti/T_{tot} ήταν $0,36 \pm 0,004$ στους controls επίμνες vs $0,35 \pm 0,005$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

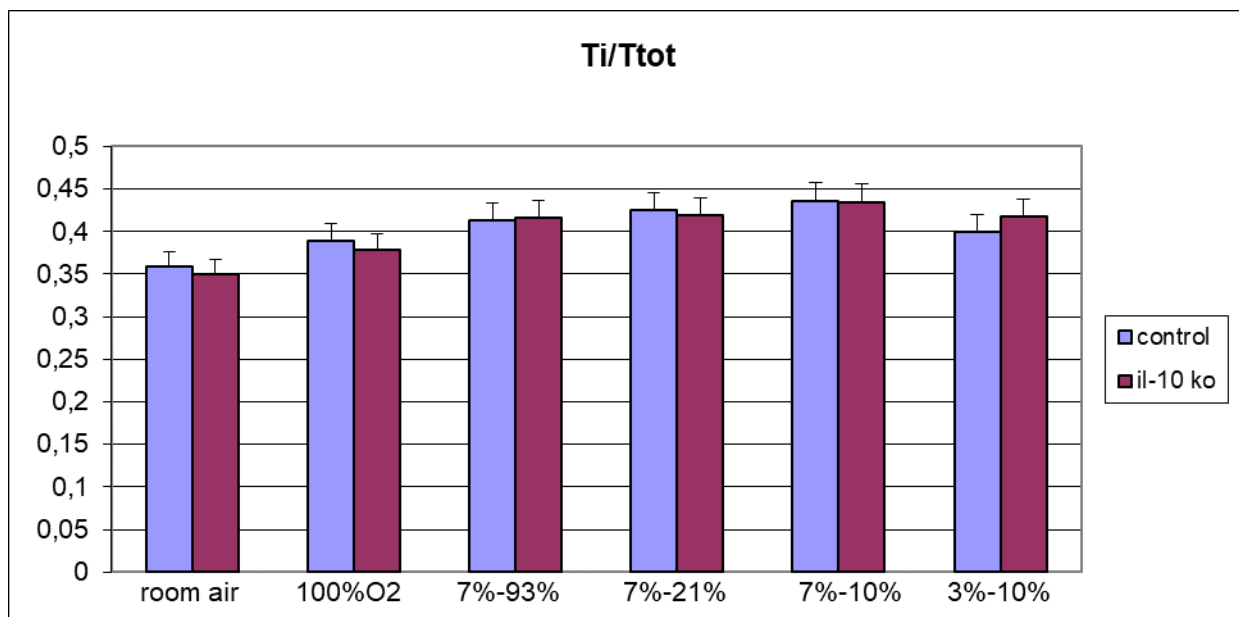
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,39 \pm 0,005$ στους controls επίμνες vs $0,38 \pm 0,007$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,41 \pm 0,004$ στους controls επίμνες vs $0,41 \pm 0,004$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,42 \pm 0,004$ στους controls επίμνες vs $0,42 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,44 \pm 0,004$ στους controls επίμνες vs $0,43 \pm 0,007$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

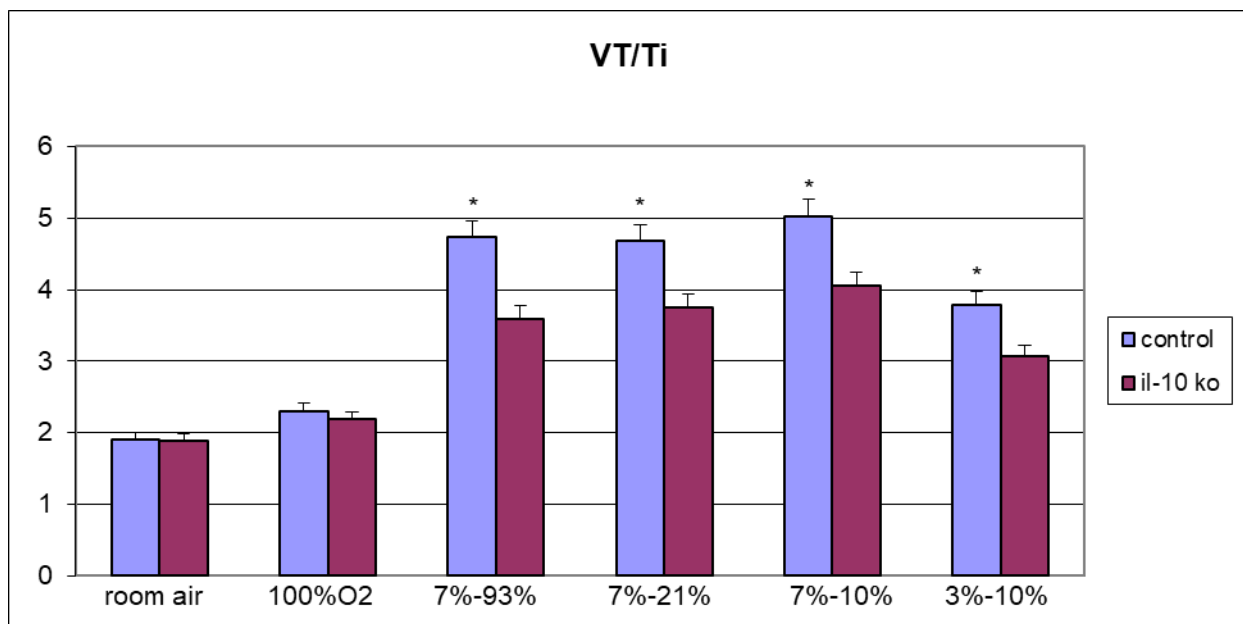
vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,4 \pm 0,005$ στους controls επίμνες vs $0,41 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 10

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) και υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμνες (Γράφημα 11).

- Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η μέση εισπνευστική ροή (VT/Ti) ήταν $1,9 \pm 0,005$ στους controls επίμυες vs $1,8 \pm 0,08$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.
- ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το VT/Ti ήταν $2,3 \pm 0,08$ στους controls επίμυες vs $2,18 \pm 0,12$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.
- iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το VT/Ti ήταν $4,7 \pm 0,13$ στους controls επίμυες vs $3,5 \pm 0,15$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.
- iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το VT/Ti ήταν $4,7 \pm 0,13$ στους controls επίμυες vs $3,7 \pm 0,2$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.
- v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το VT/Ti ήταν $5 \pm 0,12$ στους controls επίμυες vs $4 \pm 0,21$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.
- vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το VT/Ti ήταν $3,8 \pm 0,1$ στους controls επίμυες vs $3 \pm 0,13$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 11

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT), διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 12).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο δείκτης F/VT ήταν 657 ± 14 στους controls επίμυες vs 1329 ± 6 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

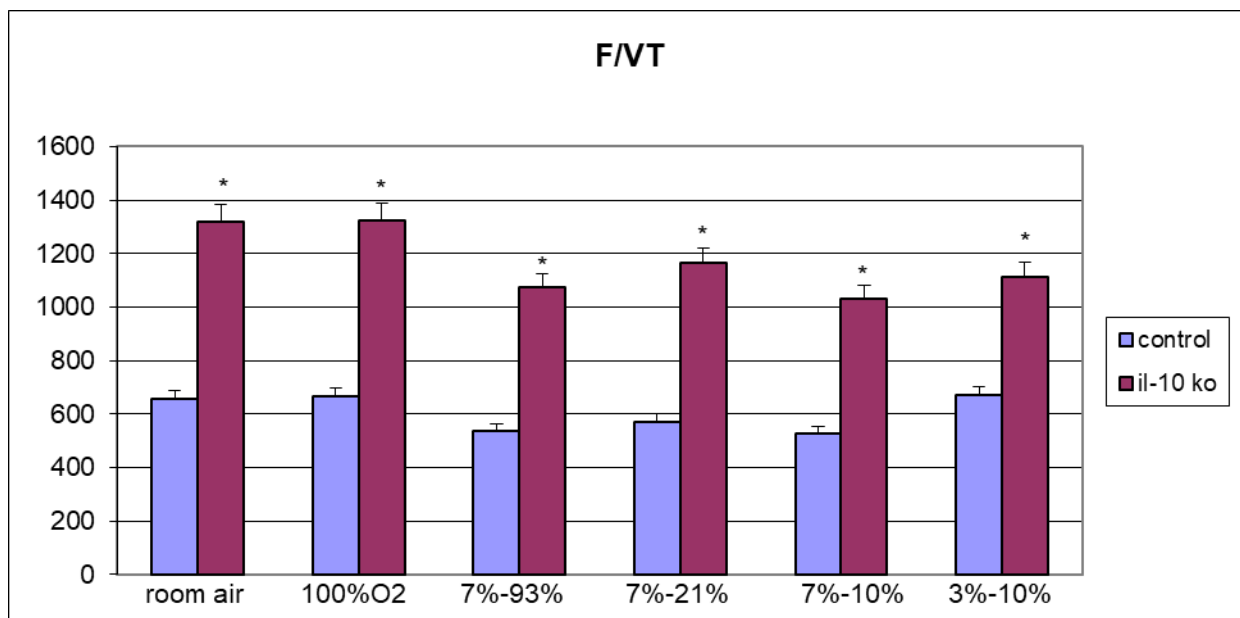
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο F/VT ήταν 668 ± 5 στους controls επίμυες vs 1330 ± 9 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο F/VT ήταν 536 ± 6 στους controls επίμυες vs 1077 ± 9 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο F/VT ήταν 570 ± 10 στους controls επίμυες vs 1166 ± 11 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο F/VT ήταν 530 ± 16 στους controls επίμυες vs 1032 ± 9 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο F/VT ήταν 671 ± 11 στους controls επίμυες vs 1125 ± 8 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 12

4.3 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μια ημέρα μετά από περιίδεση της τραχείας

Τοποθετήθηκαν στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με σκοπό την καταγραφή των αναπνευστικών τους παραμέτρων, μια ημέρα μετά την εφαρμογή περιίδεσης της τραχείας: 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες, ηλικίας 8-10 εβδομάδων (control group) και 10 αρσενικοί αντίστοιχης ηλικίας C57BL/6J διαγονιδιακοί επίμυες (IL-10 knock out) οι οποίοι είχαν αδρανοποιημένη πλήρως τη λειτουργία του υπεύθυνου γονιδίου για την σύνθεση της IL-10.

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 13).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η αναπνευστική συχνότητα (RR) ήταν 173±4 στους control επίμυες vs 264±7 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

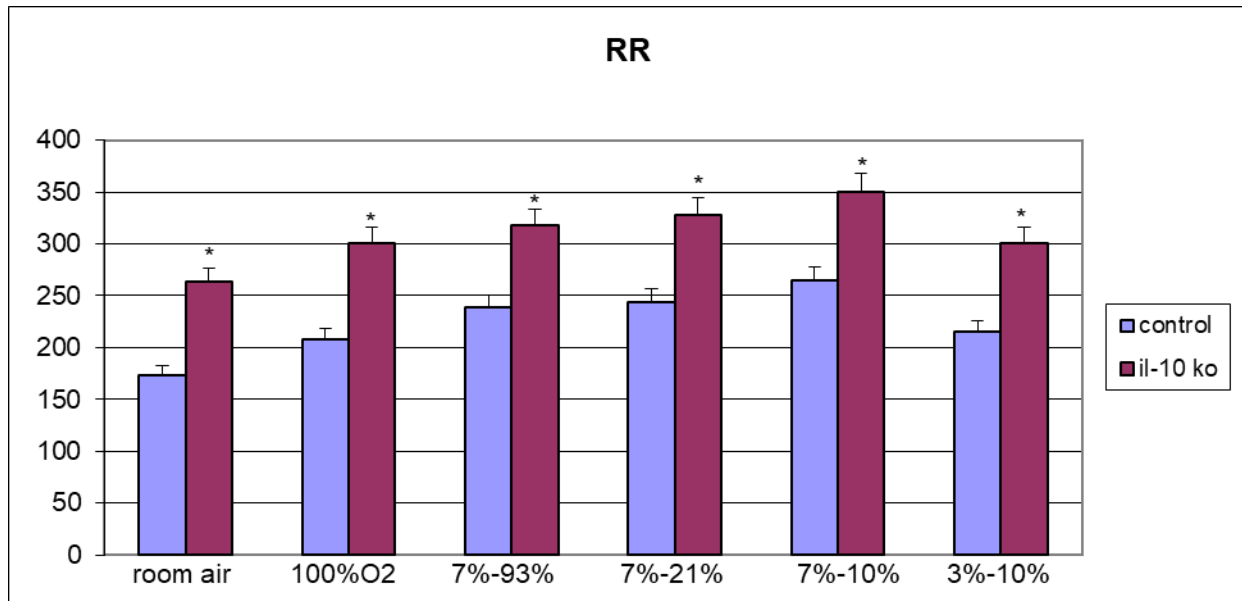
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) η RR ήταν 208±5 στους control επίμυες vs 300±5 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) η RR ήταν 239±2 στους control επίμυες vs 317±6 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) η RR ήταν 244±3 στους control επίμυες vs 328±10 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) η RR ήταν 264±4 στους control επίμυες vs 350±6 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) η RR ήταν 215±7 στους control επίμυες vs 301±2 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 13

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμυες (Γράφημα 14).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο αναπνεόμενος όγκος (VT) ήταν $0,32 \pm 0,009$ στους control επίμυες vs $0,2 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

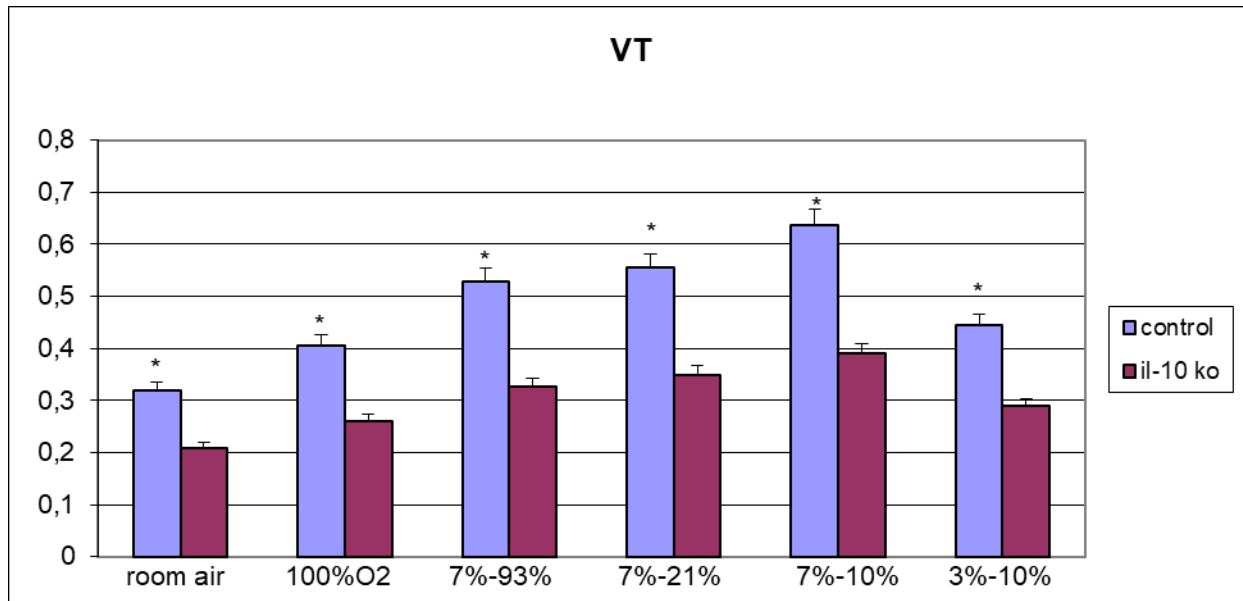
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VT ήταν $0,4 \pm 0,01$ στους control επίμυες vs $0,26 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VT ήταν $0,52 \pm 0,01$ στους control επίμυες vs $0,32 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VT ήταν $0,55 \pm 0,02$ στους control επίμυες vs $0,34 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VT ήταν $0,63 \pm 0,02$ στους control επίμυες vs $0,38 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VT ήταν $0,44 \pm 0,001$ στους control επίμυες vs $0,28 \pm 0,002$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 14

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) και υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμυες (Γράφημα 15).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο κατά λεπτόν αερισμός (VE) ήταν 55±2 στους controls επίμυες vs 54±3 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

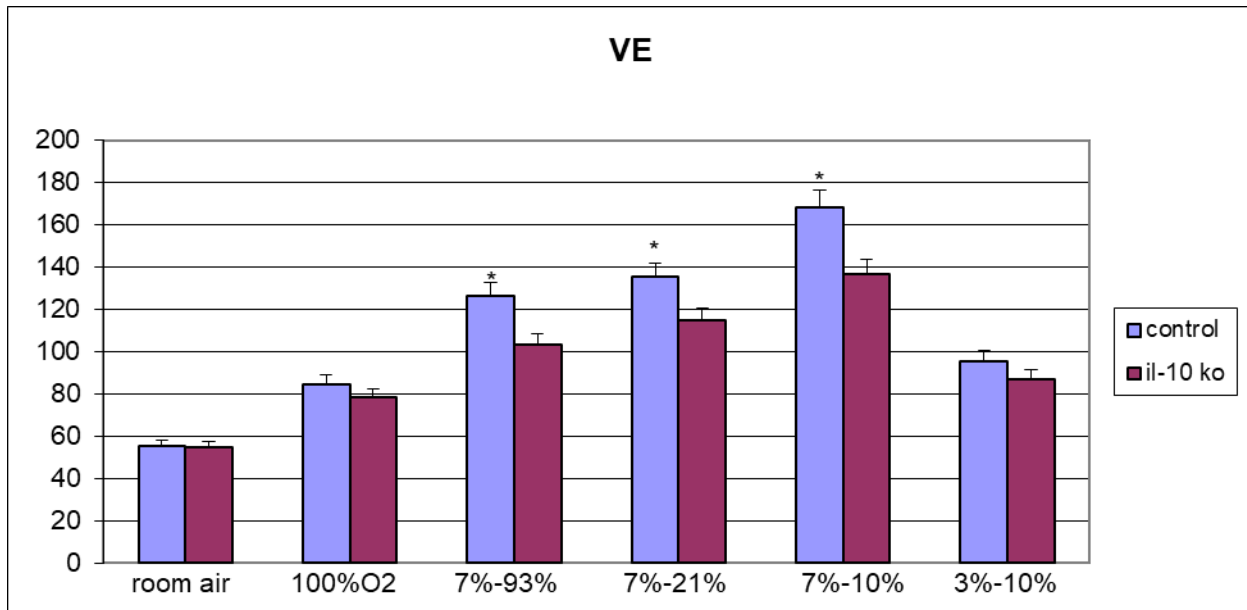
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VE ήταν 84±3 στους controls επίμυες vs 78±2 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VE ήταν 126±3 στους controls επίμυες vs 103±3 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VE ήταν 135±5 στους controls επίμυες vs 114±4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VE ήταν 168±6 στους controls επίμυες vs 136±4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VE ήταν 95±3 στους controls επίμυες vs 86±2 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.



Γράφημα 15

Κατά τον υπολογισμό της σχέσης Ti/T_{tot} διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 16).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η σχέση Ti/T_{tot} ήταν $0,34 \pm 0,002$ στους controls επίμυες vs $0,34 \pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

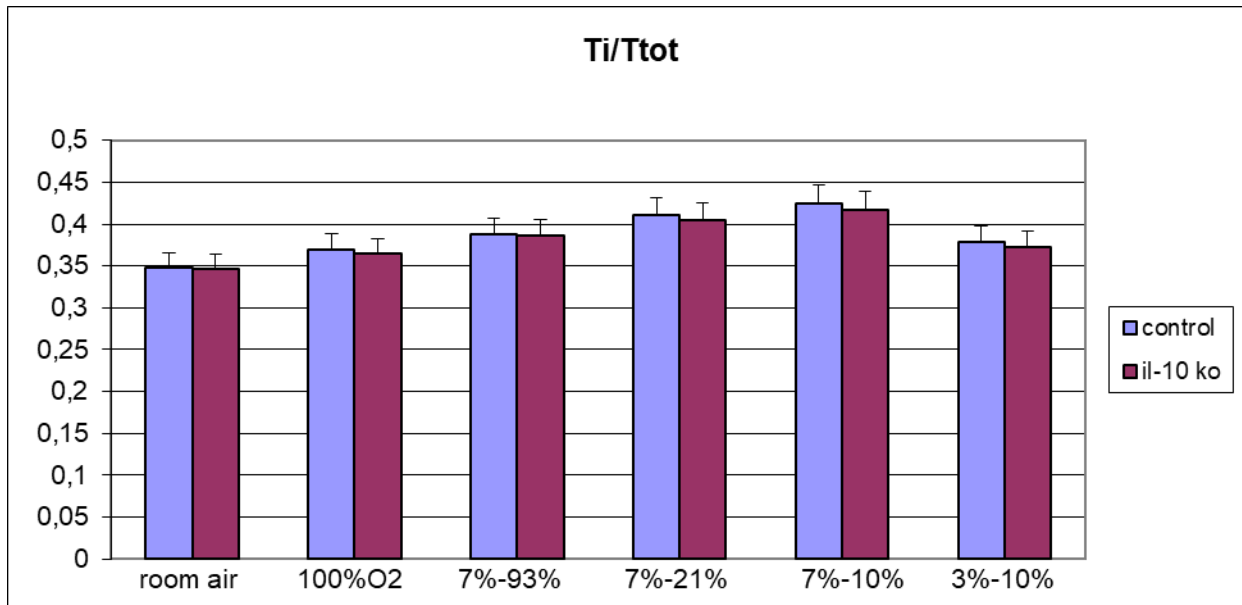
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,36 \pm 0,001$ στους controls επίμυες vs $0,36 \pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,38 \pm 0,002$ στους controls επίμυες vs $0,38 \pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,41 \pm 0,002$ στους controls επίμυες vs $0,4 \pm 0,007$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,42 \pm 0,002$ στους controls επίμυες vs $0,41 \pm 0,008$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το Ti/T_{tot} ήταν $0,37 \pm 0,002$ στους controls επίμυες vs $0,37 \pm 0,06$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 16

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) και υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμνες (Γράφημα 17).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η μέση εισπνευστική ροή (VT/Ti) ήταν $2,6 \pm 0,09$ στους controls επίμνες vs $2,6 \pm 0,16$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

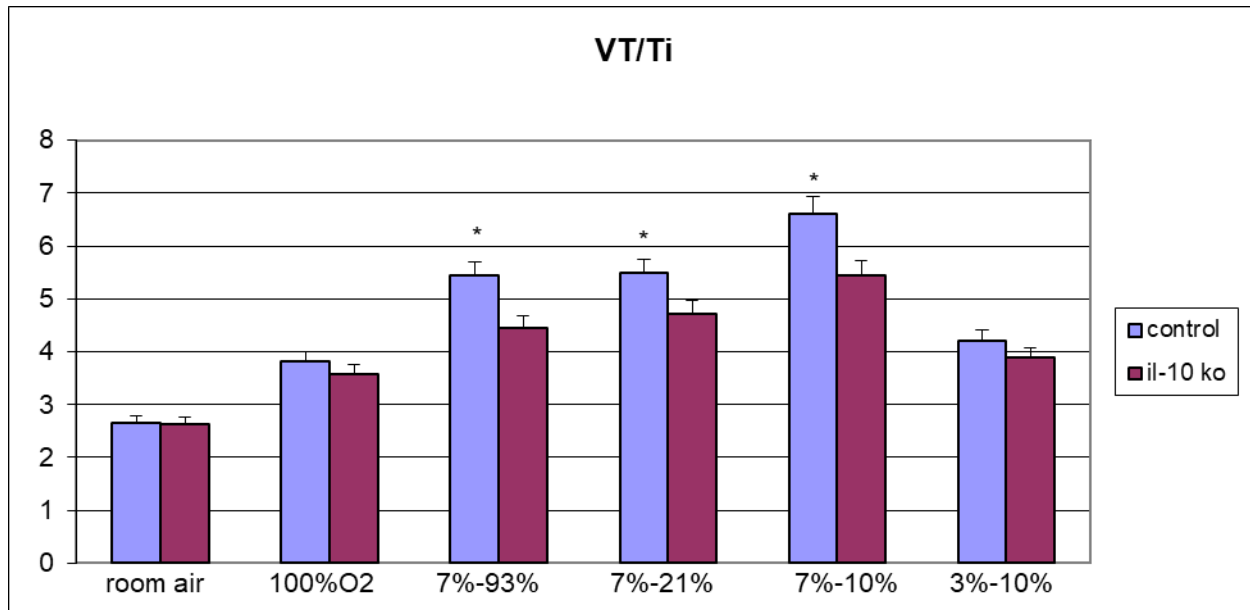
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το VT/Ti ήταν $3,8 \pm 0,14$ στους controls επίμνες vs $3,5 \pm 0,09$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το VT/Ti ήταν $5,4 \pm 0,17$ στους controls επίμνες vs $4,4 \pm 0,13$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το VT/Ti ήταν $5,4 \pm 0,22$ στους controls επίμνες vs $4,7 \pm 0,09$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το VT/Ti ήταν $6,6 \pm 0,26$ στους controls επίμνες vs $5,4 \pm 0,14$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το VT/Ti ήταν $4,2 \pm 0,14$ στους controls επίμνες vs $3,8 \pm 0,06$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 17

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT), διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 18).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο δείκτης F/VT ήταν 547±21 στους controls επίμυες vs 1274±49 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

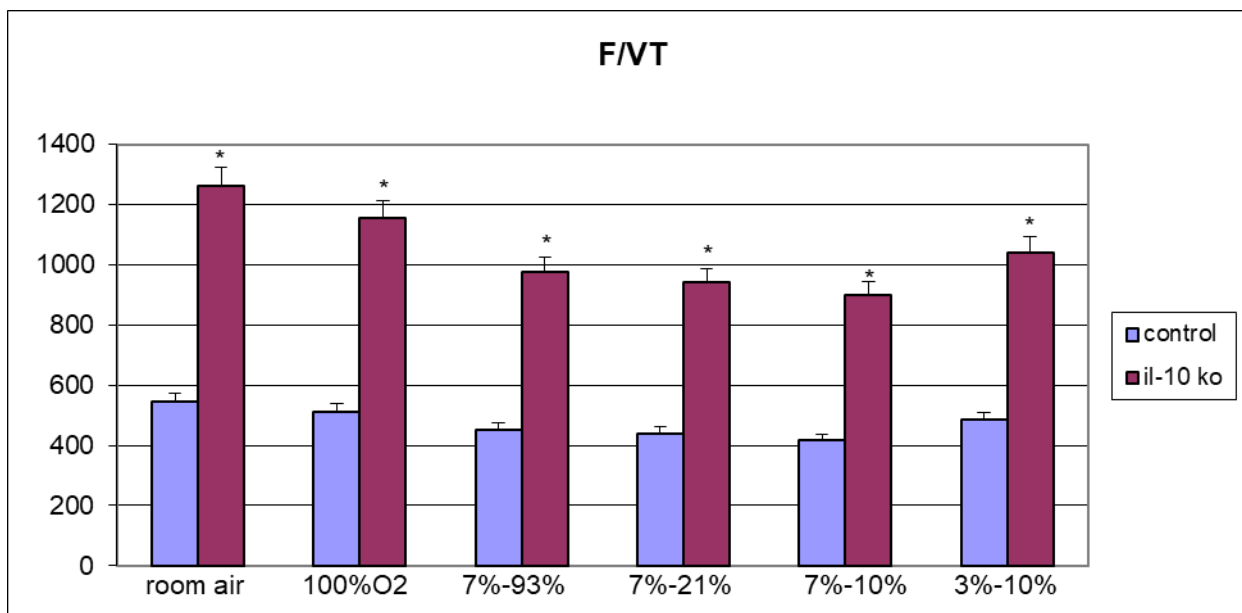
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο F/VT ήταν 514±14 στους controls επίμυες vs 1162±60 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο F/VT ήταν 454±11 στους controls επίμυες vs 980±41 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο F/VT ήταν 444±16 στους controls επίμυες vs 945±48 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο F/VT ήταν 419±15 στους controls επίμυες vs 902±26 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο F/VT ήταν 485±14 στους controls επίμυες vs 1042±8 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 18

4.4 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μια εβδομάδα μετά από περιίδεση της τραχείας

Τοποθετήθηκαν στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με σκοπό την καταγραφή των αναπνευστικών τους παραμέτρων, μια εβδομάδα μετά την εφαρμογή περιίδεσης της τραχείας: 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες, ηλικίας 8-10 εβδομάδων (control group) και 10 αρσενικοί αντίστοιχης ηλικίας C57BL/6J διαγονιδιακοί επίμυες (IL-10 knock out) οι οποίοι είχαν αδρανοποιημένη πλήρως τη λειτουργία του υπεύθυνου γονιδίου για την σύνθεση της IL-10.

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 19).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η αναπνευστική συχνότητα (RR) ήταν $193 \pm 3,9$ στους control επίμνες vs $260 \pm 2,9$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

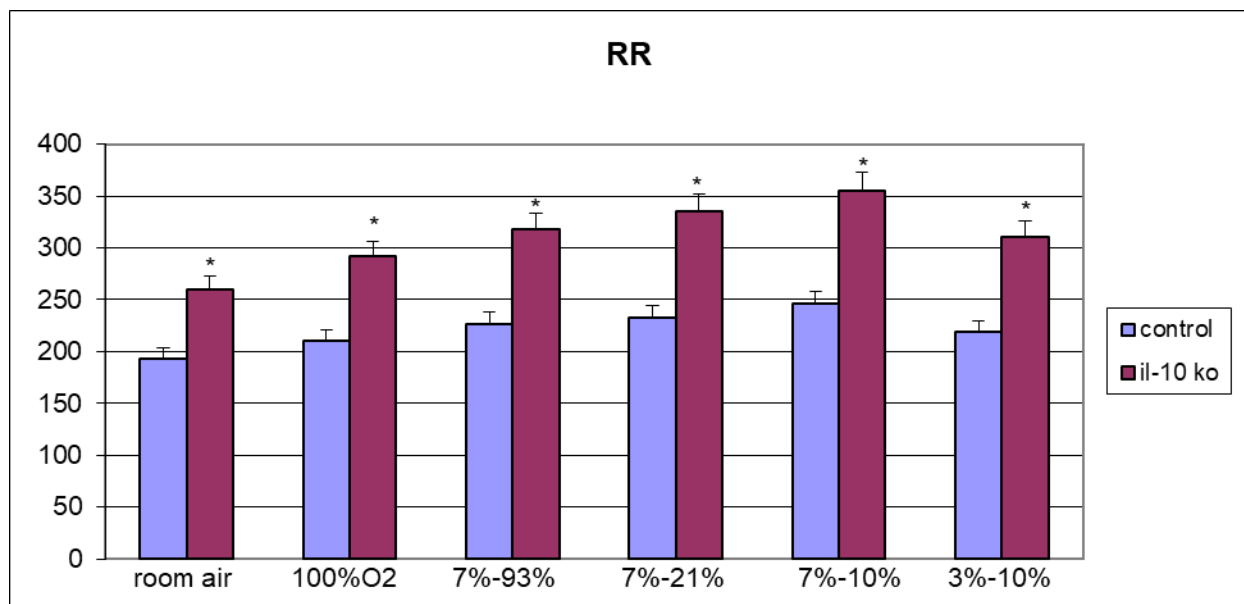
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) η RR ήταν $210 \pm 2,9$ στους control επίμνες vs $292 \pm 2,1$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) η RR ήταν $226 \pm 1,5$ στους control επίμνες vs $318 \pm 3,4$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) η RR ήταν 233 ± 1 στους control επίμνες vs $334 \pm 4,5$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) η RR ήταν $245 \pm 1,4$ στους control επίμνες vs $355 \pm 3,6$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) η RR ήταν $219 \pm 1,6$ στους control επίμνες vs $310 \pm 1,8$ στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 19

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμνες (Γράφημα 20).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο αναπνεόμενος όγκος (VT) ήταν $0,32 \pm 0,002$ στους control επίμυες vs $0,21 \pm 0,002$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

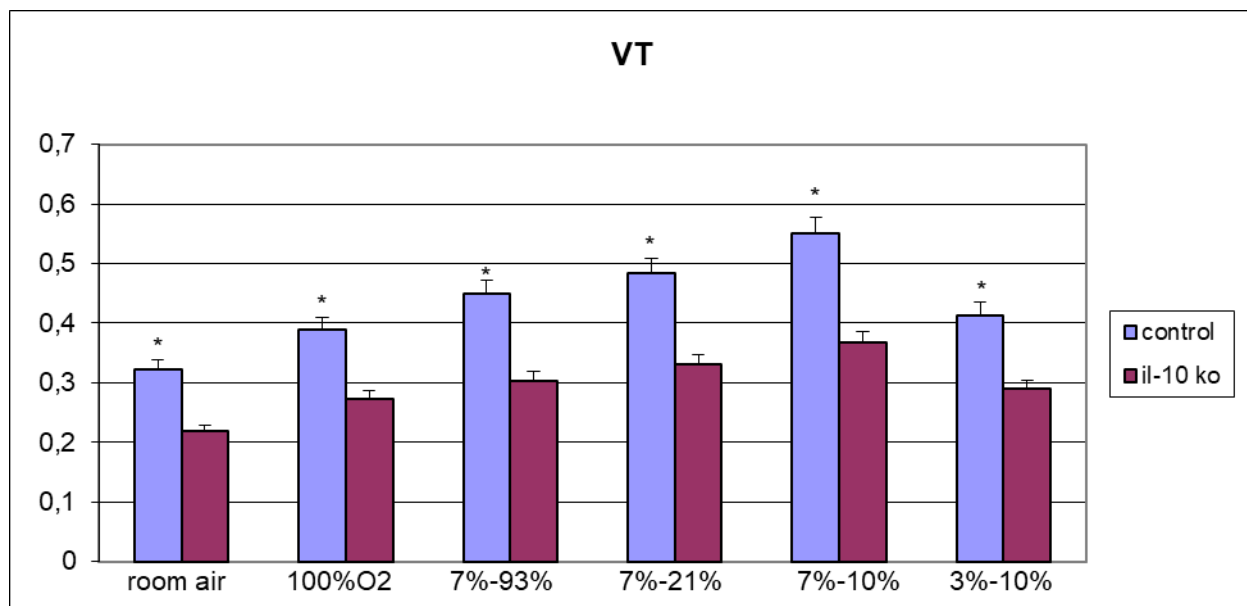
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VT ήταν $0,38 \pm 0,004$ στους control επίμυες vs $0,27 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VT ήταν $0,44 \pm 0,008$ στους control επίμυες vs $0,3 \pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VT ήταν $0,48 \pm 0,002$ στους control επίμυες vs $0,33 \pm 0,014$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VT ήταν $0,55 \pm 0,01$ στους control επίμυες vs $0,36 \pm 0,008$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VT ήταν $0,41 \pm 0,003$ στους control επίμυες vs $0,28 \pm 0,009$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 20

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 21).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο κατά λεπτόν αερισμός (VE) ήταν $62 \pm 1,4$ στους controls επίμυες vs $56 \pm 0,7$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

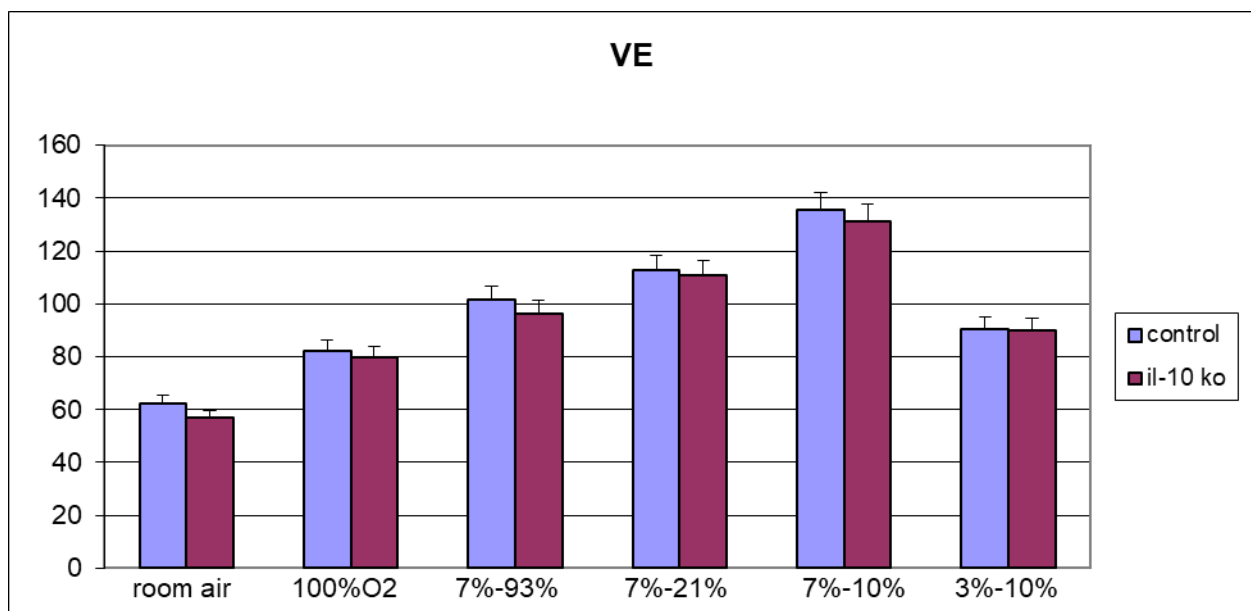
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VE ήταν 82±1 στους controls επίμυες vs 79±3,9 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VE ήταν 101±1,7 στους controls επίμυες vs 96±5,2 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VE ήταν 113±0,9 στους controls επίμυες vs 111±5,5 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VE ήταν 135±4,3 στους controls επίμυες vs 131±3,5 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VE ήταν 90±1,1 στους controls επίμυες vs 89±0,7 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.



Γράφημα 21

Κατά τον υπολογισμό της σχέσης Ti/Ttot διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 22).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η σχέση Ti/Ttot ήταν 0,36±0,008 στους controls επίμυες vs 0,37±0,005 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

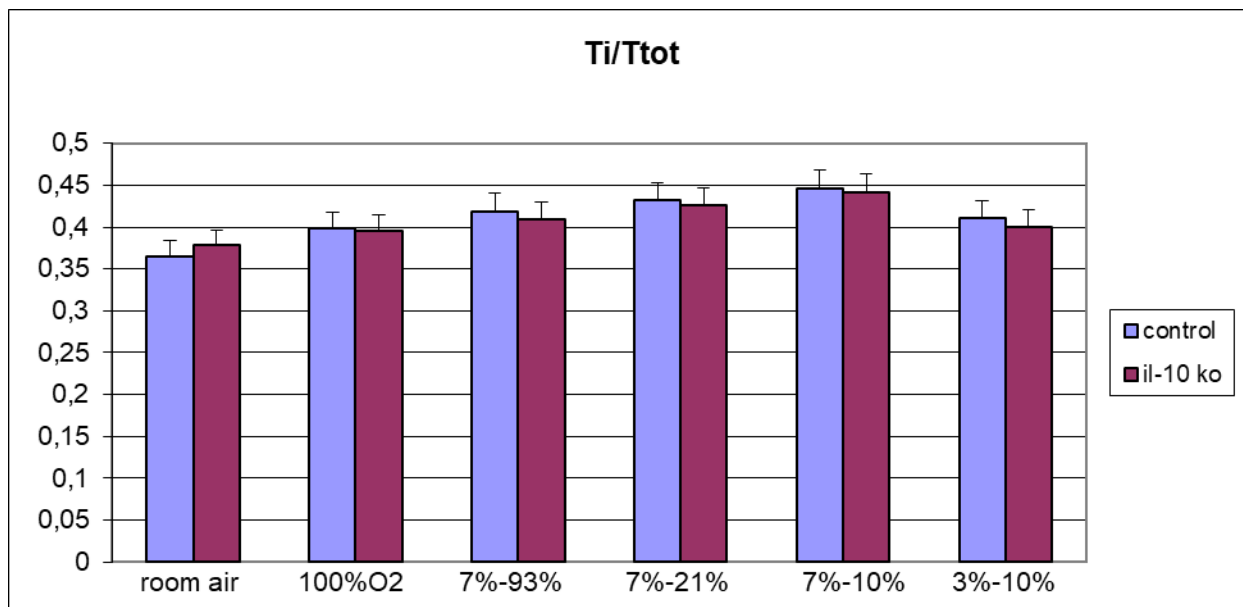
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το Ti/Ttot ήταν 0,39±0,007 στους controls επίμυες vs 0,39±0,008 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το Ti/Ttot ήταν 0,41±0,005 στους controls επίμυες vs 0,4±0,006 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το Ti/Ttot ήταν 0,43±0,005 στους controls επίμυες vs 0,42±0,004 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το Ti/Ttot ήταν 0,44±0,006 στους controls επίμυες vs 0,44±0,004 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το Ti/Ttot ήταν 0,41±0,006 στους controls επίμυες vs 0,4±0,008 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.



Γράφημα 22

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 23).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η μέση εισπνευστικής ροή (VT/Ti) ήταν 2,8±0,07 στους controls επίμυες vs 2,5±0,05 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

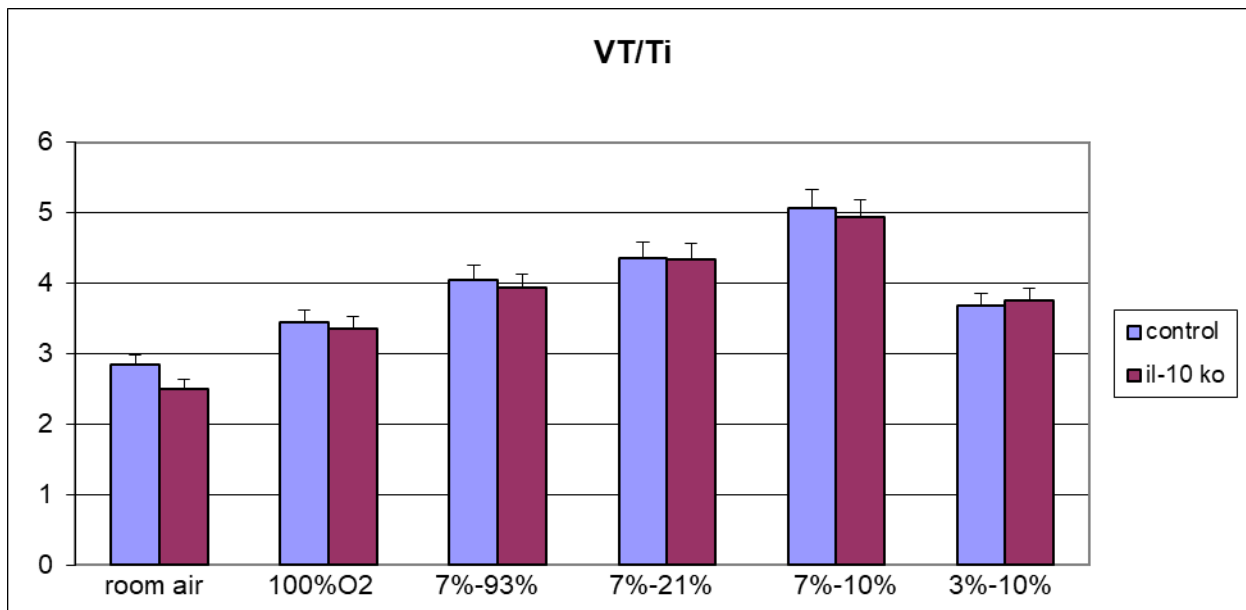
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το VT/Ti ήταν 3,4±0,05 στους controls επίμυες vs 3,3±0,15 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το VT/Ti ήταν 4±0,07 στους controls επίμυες vs 3,9±0,19 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το VT/Ti ήταν 4,3±0,02 στους controls επίμυες vs 4,3±0,17 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το VT/Ti ήταν 5±0,15 στους controls επίμυες vs 4,9±0,11 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το VT/Ti ήταν 3,6±0,04 στους controls επίμυες vs 3,7±0,09 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.



Γράφημα 23

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT), διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 24).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο δείκτης F/VT ήταν 598±12 στους controls επίμυες vs 1190±25 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

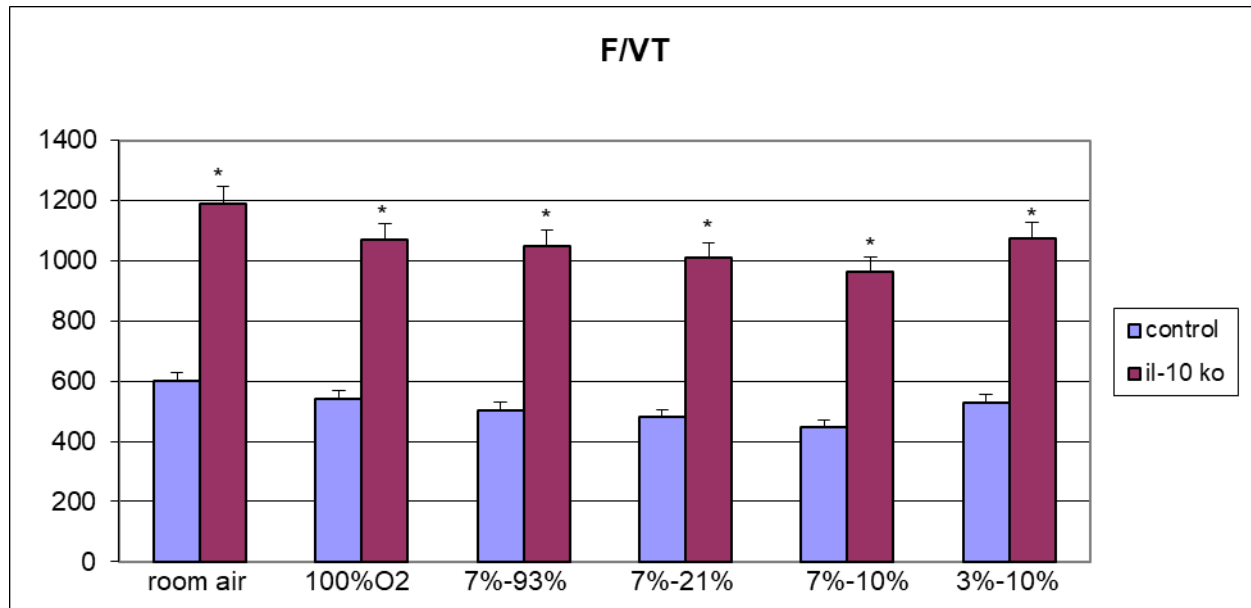
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο F/VT ήταν 541±11 στους controls επίμυες vs 1078±49 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο F/VT ήταν 505±10 στους controls επίμυες vs 1060±58 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο F/VT ήταν 481±3 στους controls επίμυες vs 1017±43 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο F/VT ήταν 449±13 στους controls επίμυες vs 966±24 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο F/VT ήταν 529±5 στους controls επίμυες vs 1073±6 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 24

4.5 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, δύο εβδομάδες μετά από περίδεση της τραχείας

Τοποθετήθηκαν στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με σκοπό την καταγραφή των αναπνευστικών τους παραμέτρων, δυο εβδομάδες μετά την εφαρμογή περίδεσης της τραχείας: 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες, ηλικίας 8-10 εβδομάδων (control group) και 10 αρσενικοί αντίστοιχης ηλικίας C57BL/6J διαγονιδιακοί επίμυες (IL-10 knock out) οι οποίοι είχαν αδρανοποιημένη πλήρως τη λειτουργία του υπεύθυνου γονιδίου για την σύνθεση της IL-10.

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική

υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 25).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η αναπνευστική συχνότητα (RR) ήταν 196±3 στους control επίμυες vs 283±4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

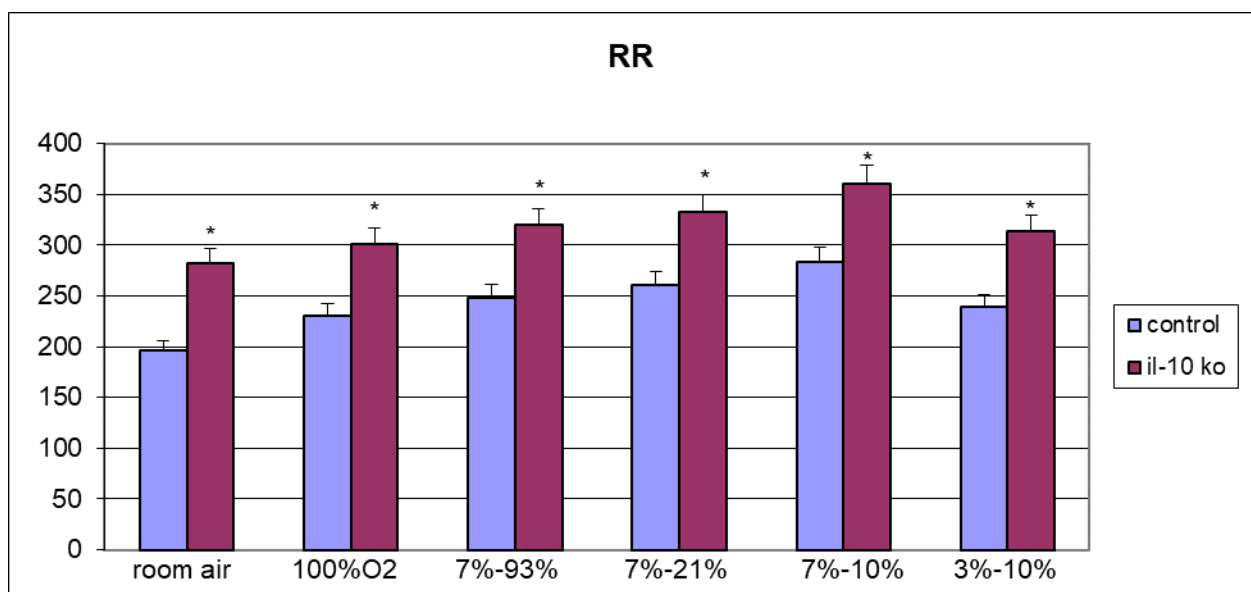
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) η RR ήταν 230±2 στους control επίμυες vs 301±4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) η RR ήταν 248±2 στους control επίμυες vs 320±2 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) η RR ήταν 260±4 στους control επίμυες vs 333±4 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) η RR ήταν 283±4 στους control επίμυες vs 360±2 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) η RR ήταν 239±2 στους control επίμυες vs 313±1 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 25

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21%

O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμυες (Γράφημα 26).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο αναπνεόμενος όγκος (VT) ήταν $0,3\pm 0,001$ στους control επίμυες vs $0,21\pm 0,01$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p<0,05$.

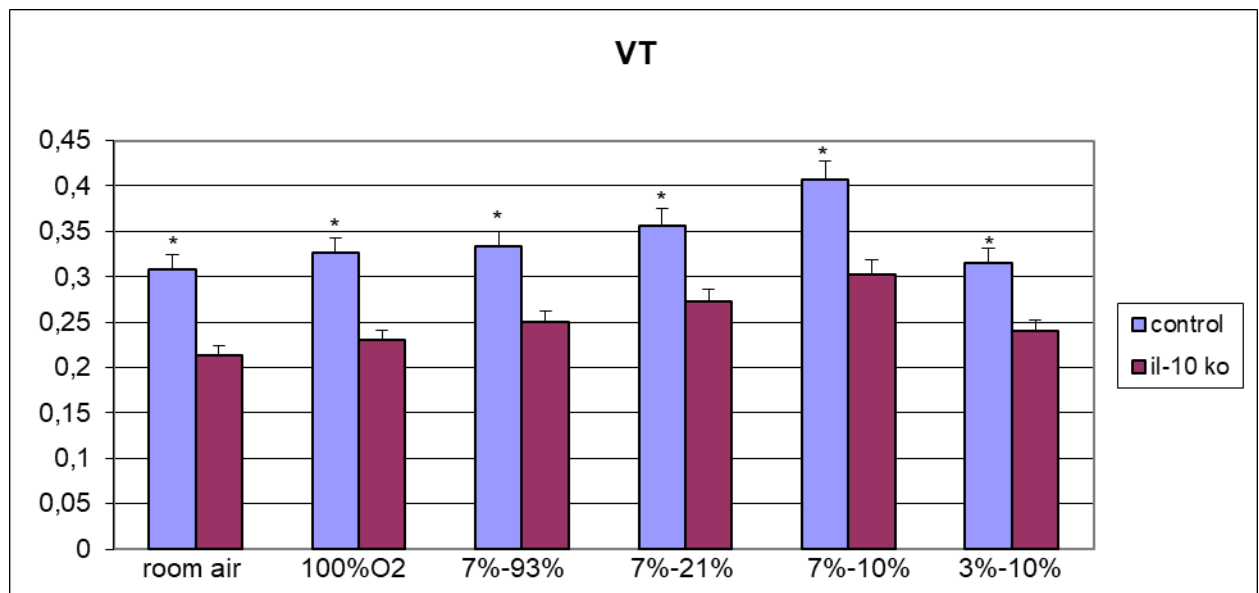
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VT ήταν $0,32\pm 0,003$ στους control επίμυες vs $0,23\pm 0,007$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p<0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VT ήταν $0,33\pm 0,006$ στους control επίμυες vs $0,25\pm 0,004$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p<0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VT ήταν $0,35\pm 0,008$ στους control επίμυες vs $0,27\pm 0,003$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p<0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VT ήταν $0,4\pm 0,02$ στους control επίμυες vs $0,3\pm 0,005$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p<0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VT ήταν $0,31\pm 0,004$ στους control επίμυες vs $0,24\pm 0,002$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p<0,05$.



Γράφημα 26

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 27).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο κατά λεπτόν αερισμός (VE) ήταν $60 \pm 1,1$ στους controls επίμυες vs $60 \pm 3,6$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

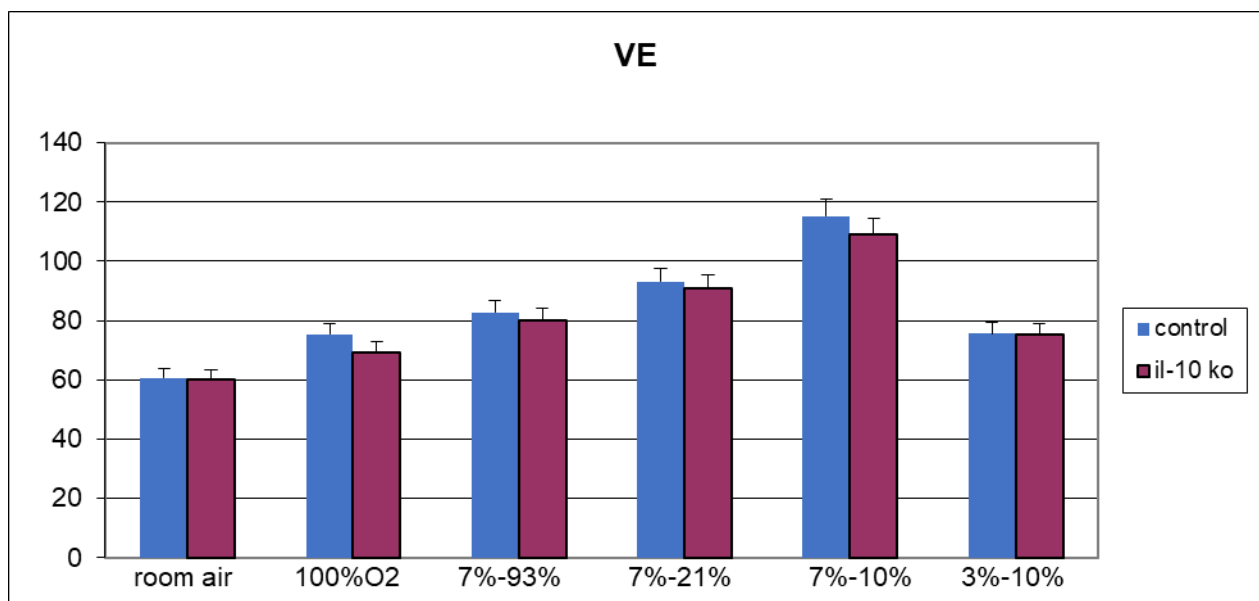
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VE ήταν $75 \pm 0,6$ στους controls επίμυες vs $69 \pm 2,9$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VE ήταν $82 \pm 1,4$ στους controls επίμυες vs $80 \pm 1,9$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VE ήταν $93 \pm 2,8$ στους controls επίμυες vs $91 \pm 2,1$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VE ήταν $115 \pm 4,8$ στους controls επίμυες vs $109 \pm 2,7$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VE ήταν 75 ± 1 στους controls επίμυες vs $75 \pm 1,1$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 27

Κατά τον υπολογισμό της σχέσης T_i/T_{tot} διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των knock-out IL-10 επίμυων (Γράφημα 28).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η σχέση T_i/T_{tot} ήταν $0,36 \pm 0,005$ στους controls επίμυες vs $0,36 \pm 0,004$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

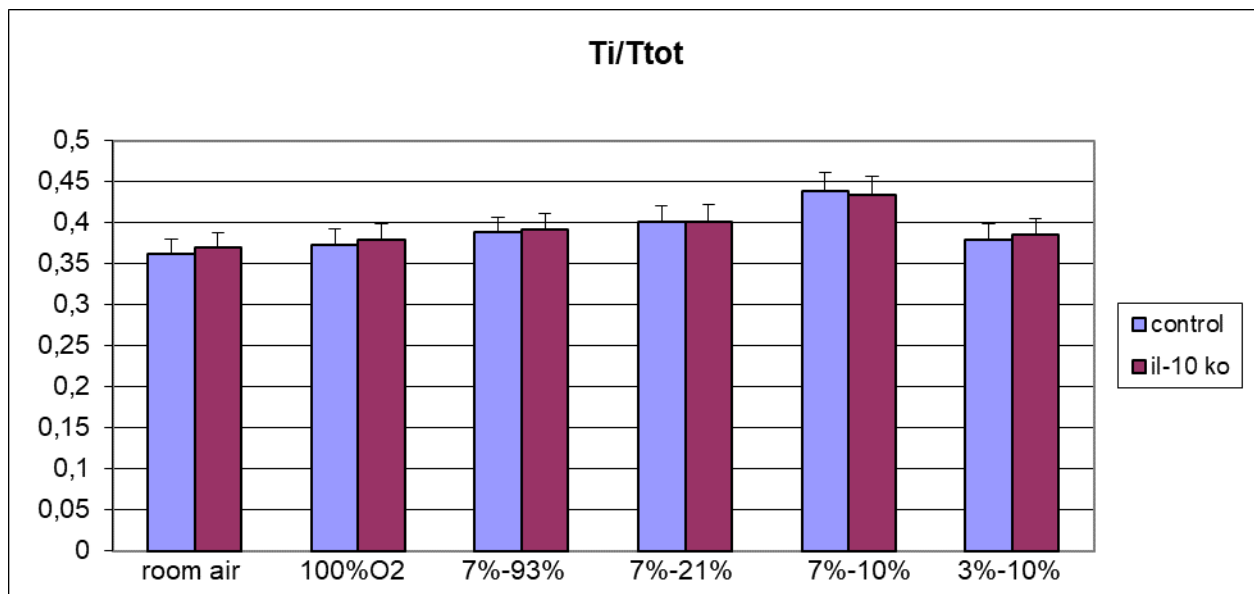
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,37 \pm 0,002$ στους controls επίμυες vs $0,37 \pm 0,001$ στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το Ti/Ttot ήταν 0,38±0,003 στους controls επίμνες vs 0,39±0,004 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το Ti/Ttot ήταν 0,4±0,003 στους controls επίμνες vs 0,4±0,003 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το Ti/Ttot ήταν 0,43±0,004 στους controls επίμνες vs 0,43±0,004 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το Ti/Ttot ήταν 0,37±0,001 στους controls επίμνες vs 0,38±0,003 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.



Γράφημα 28

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπεροξίας (100% O₂) οι τιμές υπερερεύσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους knock-out IL-10 επίμνες (Γράφημα 29).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η μέση εισπνευστική ροή (VT/Ti) ήταν 2,8±0,05 στους controls επίμνες vs 2,7±0,14 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

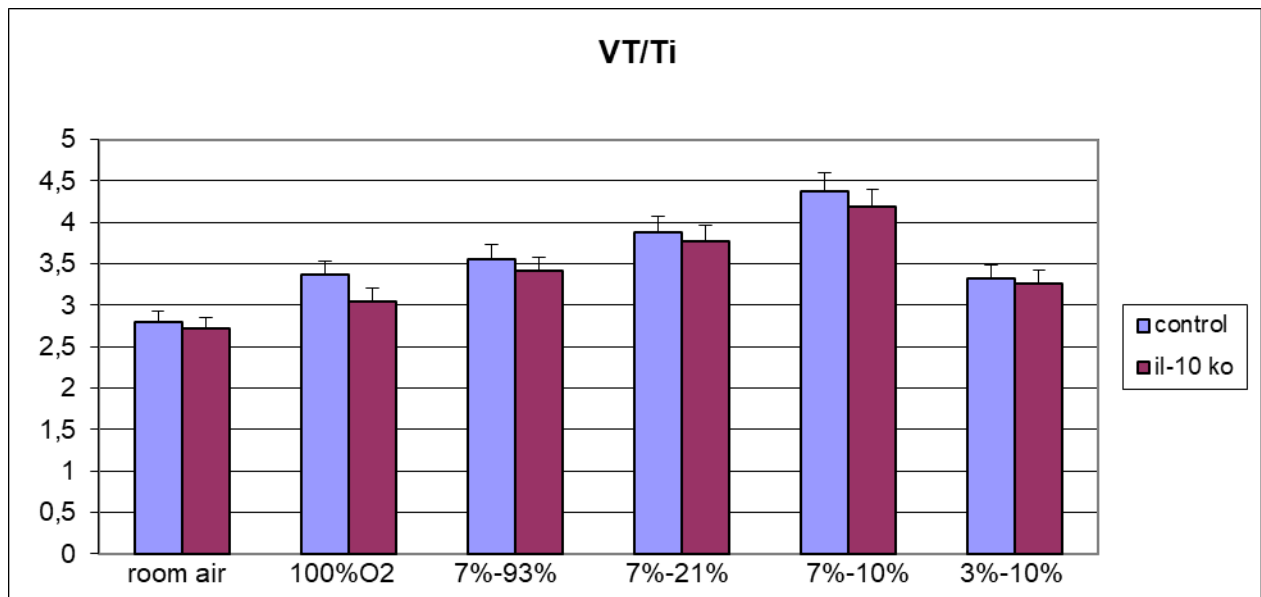
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το VT/Ti ήταν 3,3±0,02 στους controls επίμνες vs 3±0,14 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το VT/Ti ήταν 3,5±0,06 στους controls επίμνες vs 3,4±0,07 στους knock-out IL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το VT/Ti ήταν 3,8±0,09 στους controls επίμυες vs 3,7±0,09 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το VT/Ti ήταν 4,3±0,15 στους controls επίμυες vs 4,1±0,12 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το VT/Ti ήταν 3,3±0,03 στους controls επίμυες vs 3,2±0,06 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p>0,05.



Γράφημα 29

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT), διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους knock-out IL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 30).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο δείκτης F/VT ήταν 635±12 στους controls επίμυες vs 1335±19 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

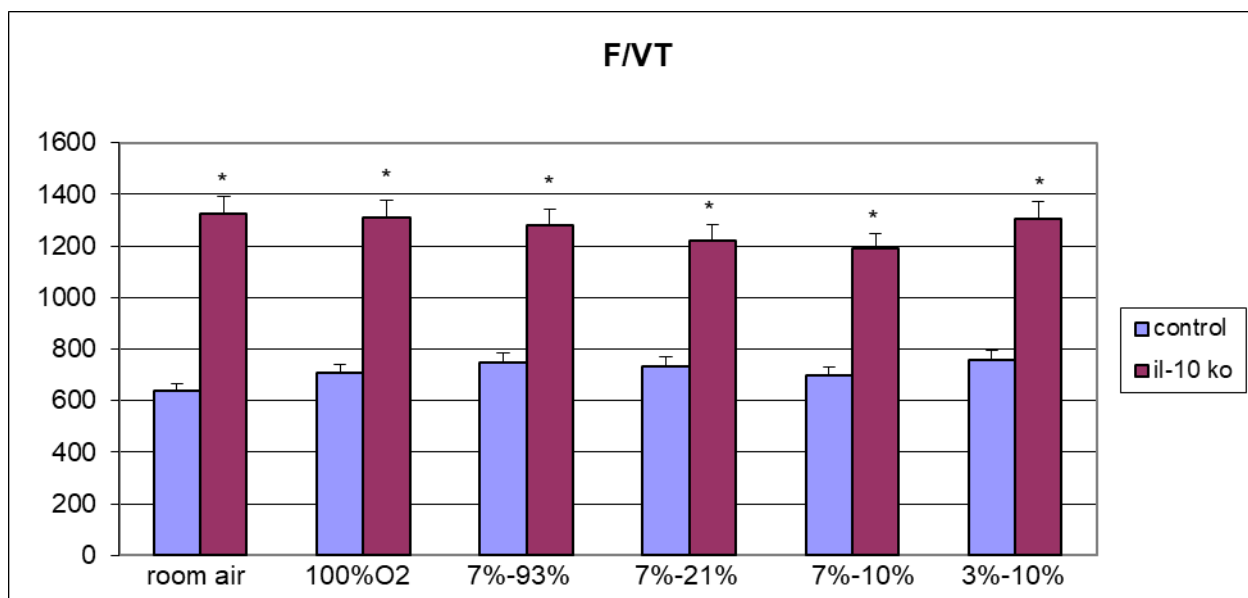
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο F/VT ήταν 706±14 στους controls επίμυες vs 1311±18 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο F/VT ήταν 748±18 στους controls επίμυες vs 1281±21 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο F/VT ήταν 734±20 στους controls επίμυες vs 1220±17 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο F/VT ήταν 708±13 στους controls επίμυες vs 1190±19 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

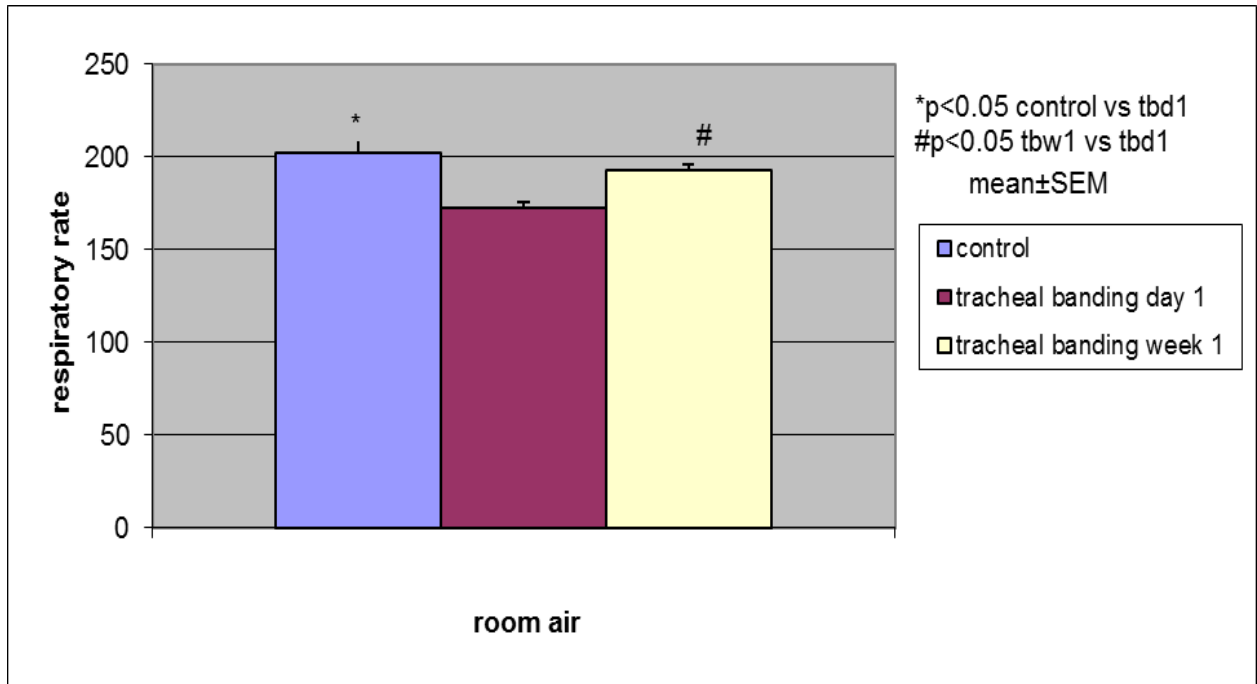
vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο F/VT ήταν 760±16 στους controls επίμυες vs 1304±22 στους knock-out IL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 30

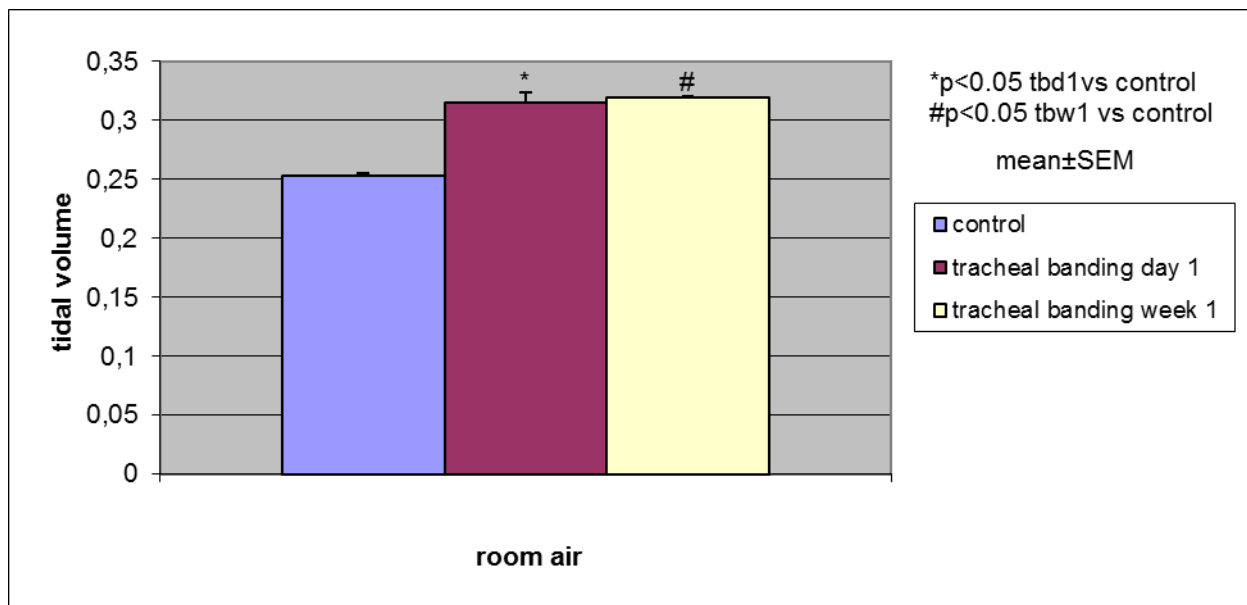
4.6 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 και επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10, μια ημέρα και μια εβδομάδα μετά από περιίδεση της τραχείας σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική πτώση μια ημέρα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση 172±3 vs 201±6 με p<0,05 και στατιστικά σημαντική αύξηση μια εβδομάδα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με μια ημέρα μετά την περιίδεση 192±3 vs 172±3 με p<0,05 (Γράφημα 31).



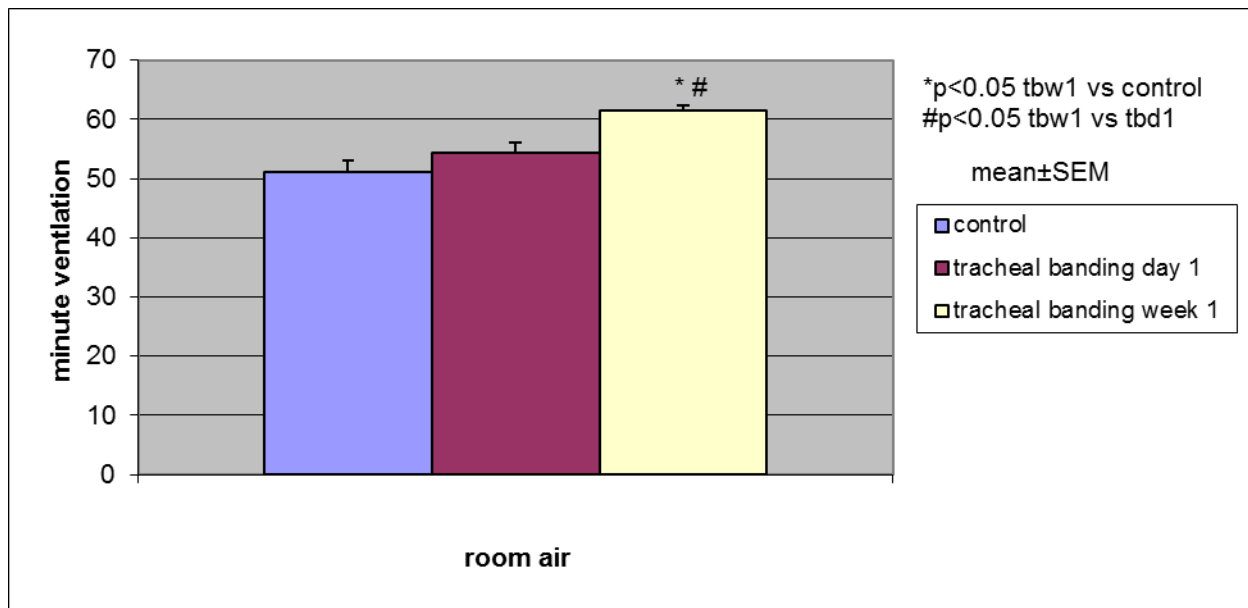
Γράφημα 31

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση μια ημέρα μετά την περιδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιδεση $0,315 \pm 0,008$ vs $0,25 \pm 0,002$ με $p < 0,05$ η οποία παραμένει στατιστικά σημαντική μια εβδομάδα μετά την περιδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιδεση $0,319 \pm 0,006$ vs $0,25 \pm 0,002$ με $p < 0,05$ (Γράφημα 32).



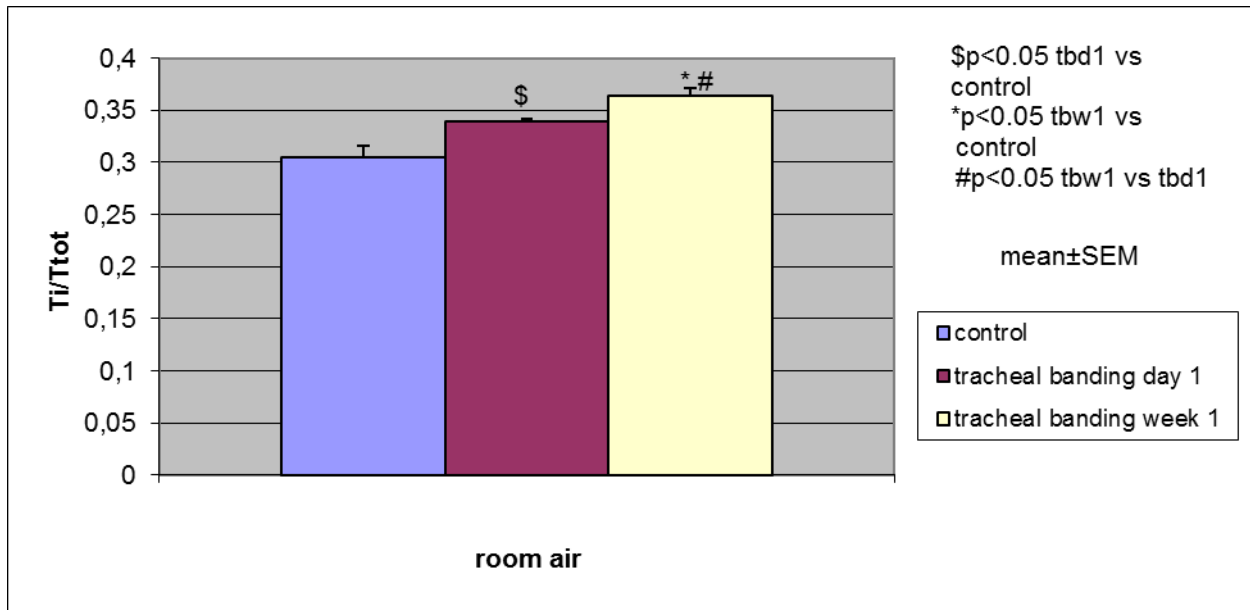
Γράφημα 32

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μια ημέρα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση $54 \pm 1,6$ vs $51 \pm 1,9$ με $p > 0,05$ ενώ διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση μια εβδομάδα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση $62 \pm 0,98$ vs $51 \pm 1,9$ με $p < 0,05$ και σε σχέση με μια ημέρα μετά την περιίδεση της τραχείας $62 \pm 0,98$ vs $54 \pm 1,6$ με $p < 0,05$ (Γράφημα 33).



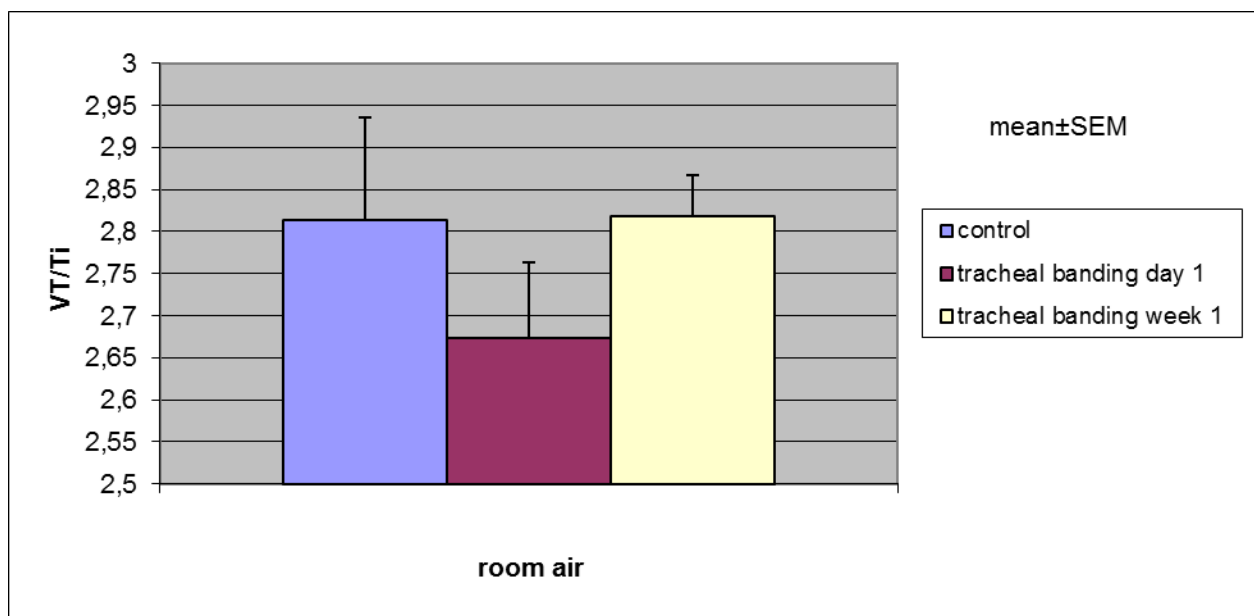
Γράφημα 33

Κατά την μέτρηση της σχέσης T_i/T_{tot} διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση μια ημέρα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση $0,33 \pm 0,002$ vs $0,3 \pm 0,01$ με $p < 0,05$ η οποία παραμένει στατιστικά σημαντική μια εβδομάδα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση $0,36 \pm 0,006$ vs $0,3 \pm 0,01$ με $p < 0,05$ ενώ είναι επίσης στατιστικά σημαντικά αυξημένη σε σχέση και με μια ημέρα μετά την περιίδεση της τραχείας $0,36 \pm 0,006$ vs $0,33 \pm 0,002$ $p < 0,05$ (Γράφημα 34).



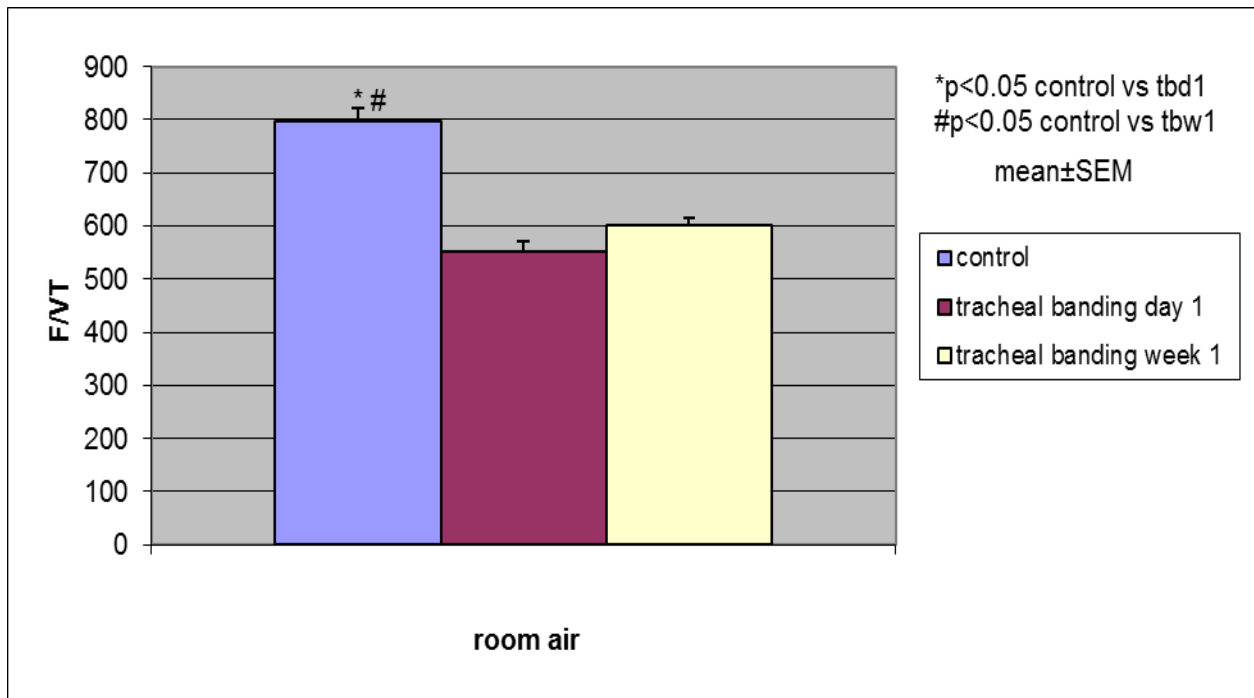
Γράφημα 34

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μια ημέρα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση $2,76 \pm 0,09$ vs $2,81 \pm 0,12$ με $p > 0,05$ ούτε μια εβδομάδα μετά την περιίδεση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιίδεση $2,81 \pm 0,04$ vs $2,81 \pm 0,12$ με $p > 0,05$ (Γράφημα 34).



Γράφημα 35

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT) διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική πτώση μια ημέρα μετά την περιδέρση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιδέρση 551 ± 19 vs 797 ± 24 με $p < 0,05$ η οποία παραμένει στατιστικά σημαντική μια εβδομάδα μετά την περιδέρση της τραχείας σε σχέση με πριν την περιδέρση 602 ± 11 vs 797 ± 24 με $p < 0,05$ (Γράφημα 36).



Γράφημα 36

4.7 Σύγκριση αναπνευστικών παραμέτρων μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά ανασυνδυασμένη IL-10 και επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά PBS

Τοποθετήθηκαν στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με σκοπό την καταγραφή των αναπνευστικών τους παραμέτρων: 10 αρσενικοί C57BL/6 επίμυες, ηλικίας 8-10 εβδομάδων στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά (i.p.), 30 λεπτά πριν την αναπνευστική διέγερση ανασυνδυασμένη χιμαιρική IL-10 (rIL-10) σε δόση 10μg (Kahlke et al. 2002) και 10 αρσενικοί αντίστοιχης ηλικίας C57BL/6 στους οποίους χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά (i.p.), 30 λεπτά πριν την αναπνευστική διέγερση PBS (control group).

Κατά την μέτρηση της αναπνευστικής συχνότητας (RR) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμυες σε σχέση με τους επίμυες που έγινε ενδοπεριτοναϊκή έγχυση rIL-10 (Γράφημα 37).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η αναπνευστική συχνότητα (RR) ήταν 296±5 στους control επίμυες vs 208±8 στους rIL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

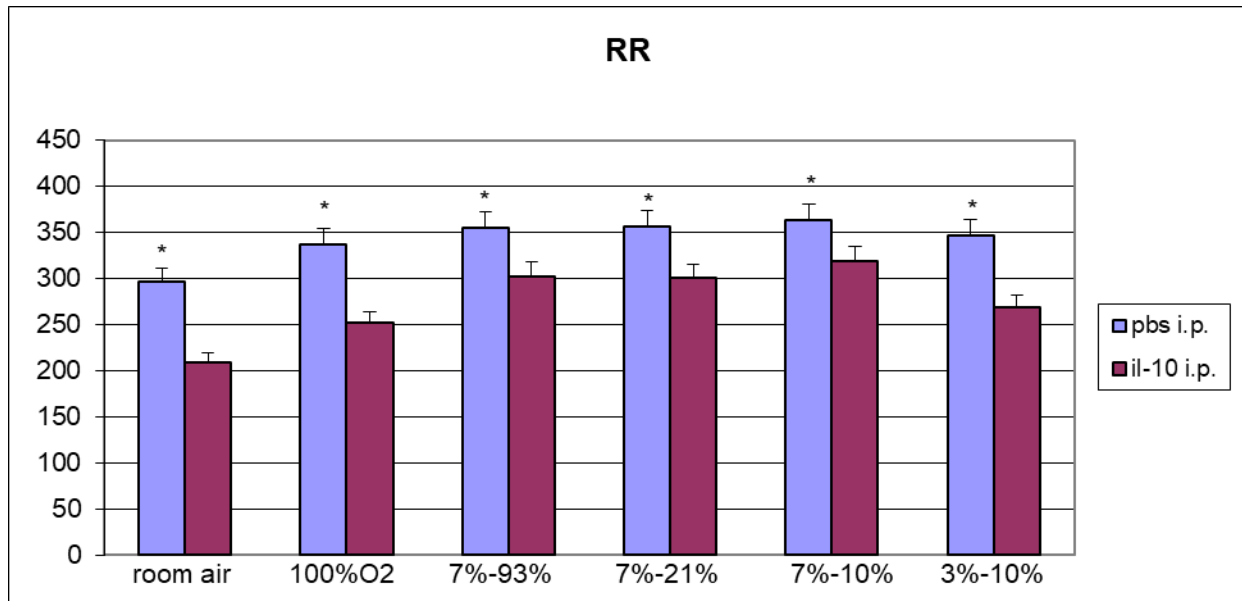
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) η RR ήταν 337±5 στους control επίμυες vs 251±14 στους rIL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) η RR ήταν 355±9 στους control επίμυες vs 302±7 στους rIL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) η RR ήταν 356±12 στους control επίμυες vs 300±5 στους rIL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) η RR ήταν 363±9 στους control επίμυες vs 318±9 στους rIL-10 επίμυες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) η RR ήταν 346±7 στους control επίμυες vs 268±6 στους rIL-10 επίμυες, όπου p<0,05.



Γράφημα 37

Κατά την μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερερούσαν στατιστικά σημαντικά στους rIL-10 επίμυες σε σχέση με τους control επίμυες (Γράφημα 38).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο αναπνεόμενος όγκος (VT) ήταν $0,15 \pm 0,004$ στους control επίμυες vs $0,28 \pm 0,012$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

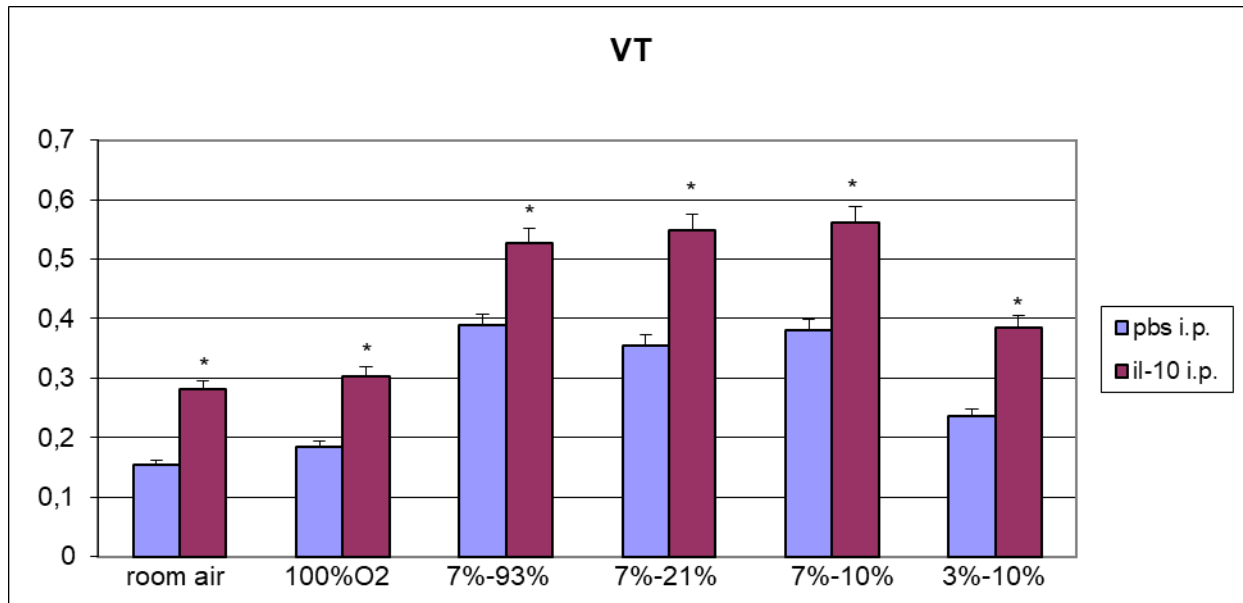
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VT ήταν $0,18 \pm 0,003$ στους control επίμυες vs $0,3 \pm 0,008$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VT ήταν $0,38 \pm 0,014$ στους control επίμυες vs $0,52 \pm 0,01$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VT ήταν $0,35 \pm 0,017$ στους control επίμυες vs $0,54 \pm 0,014$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VT ήταν $0,38 \pm 0,017$ στους control επίμυες vs $0,56 \pm 0,013$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VT ήταν $0,23 \pm 0,009$ στους control επίμυες vs $0,38 \pm 0,02$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 38

Κατά την μέτρηση του κατά λεπτόν αερισμού (VE) διαπιστώθηκε ότι μόνο σε συνθήκες υπερκαπνικής υπεροξίας (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνικής νορμοξίας (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) και υπερκαπνικής υποξίας (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) οι τιμές υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους rIL-10 επίμνες σε σχέση με τους control επίμνες (Γράφημα 39).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο κατά λεπτόν αερισμός (VE) ήταν 45±0,9 στους controls επίμνες vs 59±3,8 στους rIL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

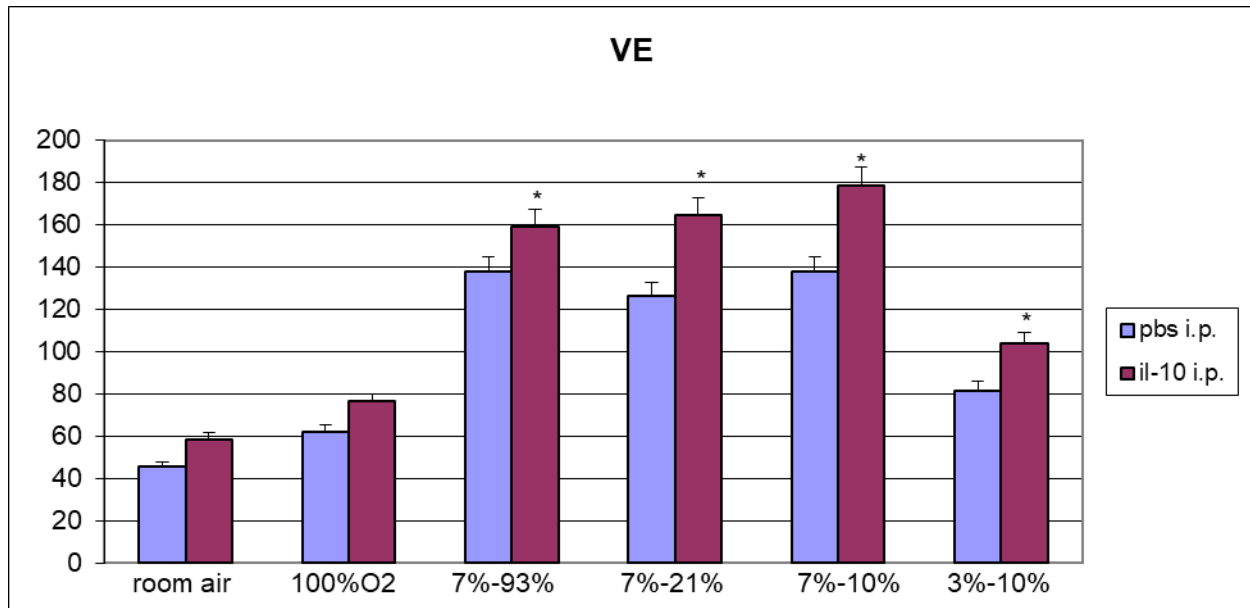
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο VE ήταν 62±1,8 στους controls επίμνες vs 77±5,7 στους rIL-10 επίμνες, όπου p>0,05.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο VE ήταν 137±3,9 στους controls επίμνες vs 159±4,7 στους rIL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο VE ήταν 126±8,6 στους controls επίμνες vs 164±5,6 στους rIL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο VE ήταν 138±8,2 στους controls επίμνες vs 179±8,2 στους rIL-10 επίμνες, όπου p<0,05.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο VE ήταν 81±3,9 στους controls επίμνες vs 103±7,2 στους rIL-10 επίμνες, όπου p<0,05.



Γράφημα 39

Κατά τον υπολογισμό της σχέσης T_i/T_{tot} διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των τιμών των control επίμυων και των rIL-10 επίμυων (Γράφημα 40).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η σχέση T_i/T_{tot} ήταν $0,33 \pm 0,009$ στους controls επίμυες vs $0,32 \pm 0,01$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

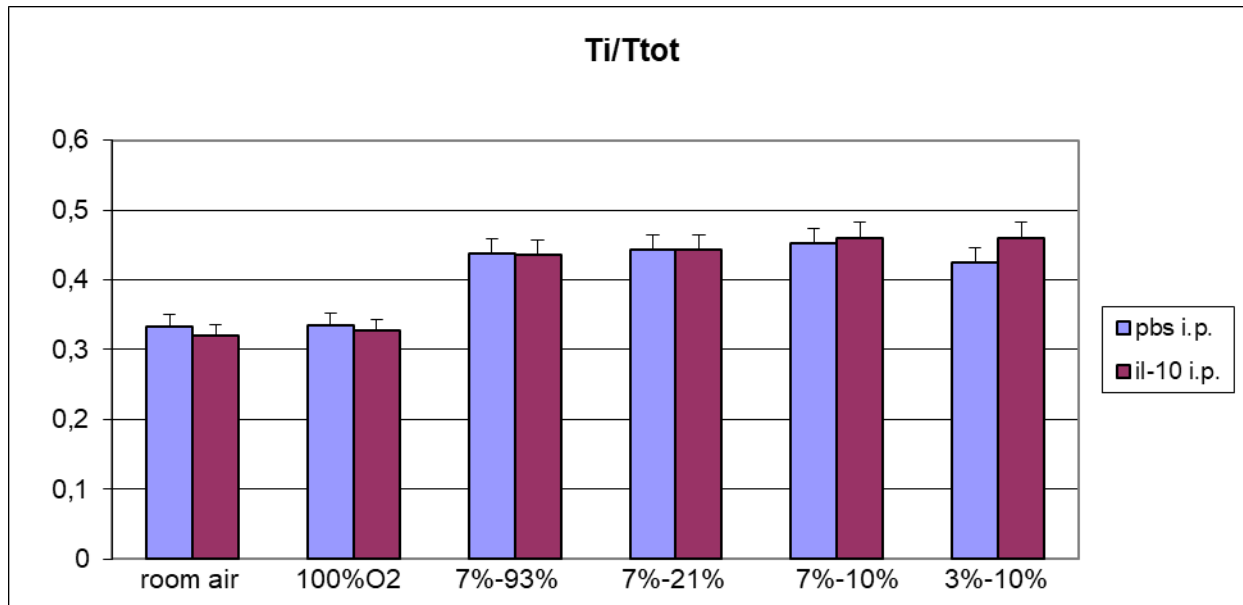
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,33 \pm 0,004$ στους controls επίμυες vs $0,32 \pm 0,007$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,43 \pm 0,003$ στους controls επίμυες vs $0,43 \pm 0,003$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,44 \pm 0,004$ στους controls επίμυες vs $0,44 \pm 0,001$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,45 \pm 0,004$ στους controls επίμυες vs $0,45 \pm 0,004$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το T_i/T_{tot} ήταν $0,42 \pm 0,01$ στους controls επίμυες vs $0,43 \pm 0,005$ στους rIL-10 επίμυες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 40

Κατά την μέτρηση της μέσης εισπνευστικής ροής (VT/Ti) διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους rIL-10 επίμνες σε σχέση με τους control επίμνες (Γράφημα 41).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline η μέση εισπνευστικής ροή (VT/Ti) ήταν $2,2 \pm 0,07$ στους controls επίμνες vs $3,1 \pm 0,24$ στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

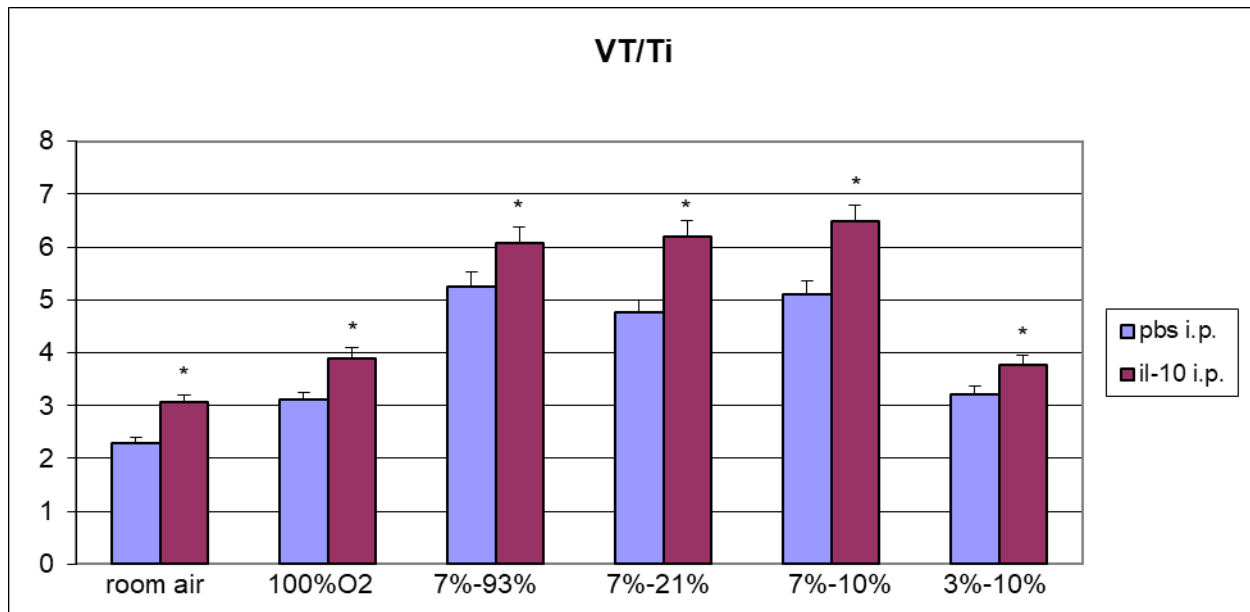
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) το VT/Ti ήταν $3,1 \pm 0,1$ στους controls επίμνες vs $3,9 \pm 0,32$ στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) το VT/Ti ήταν $5,2 \pm 0,16$ στους controls επίμνες vs $6 \pm 0,2$ στους rIL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) το VT/Ti ήταν $4,7 \pm 0,31$ στους controls επίμνες vs $6,2 \pm 0,21$ στους rIL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) το VT/Ti ήταν $5 \pm 0,26$ στους controls επίμνες vs $6,5 \pm 0,31$ στους rIL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) το VT/Ti ήταν $3,2 \pm 0,15$ στους controls επίμνες vs $3,9 \pm 0,27$ στους rIL-10 επίμνες, όπου $p > 0,05$.



Γράφημα 41

Κατά τον υπολογισμό του δείκτη γρήγορης και ρηχής αναπνοής (F/VT), διαπιστώθηκε ότι οι τιμές σε όλες τις συνθήκες {room air baseline, υπεροξία (100% O₂), υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂), υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂), υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂)} υπερτερούσαν στατιστικά σημαντικά στους control επίμνες σε σχέση με τους rIL-10 επίμνες (Γράφημα 42).

Συγκεκριμένα: i) στο room air baseline ο δείκτης F/VT ήταν 1931 ± 25 στους controls επίμνες vs 747 ± 33 στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

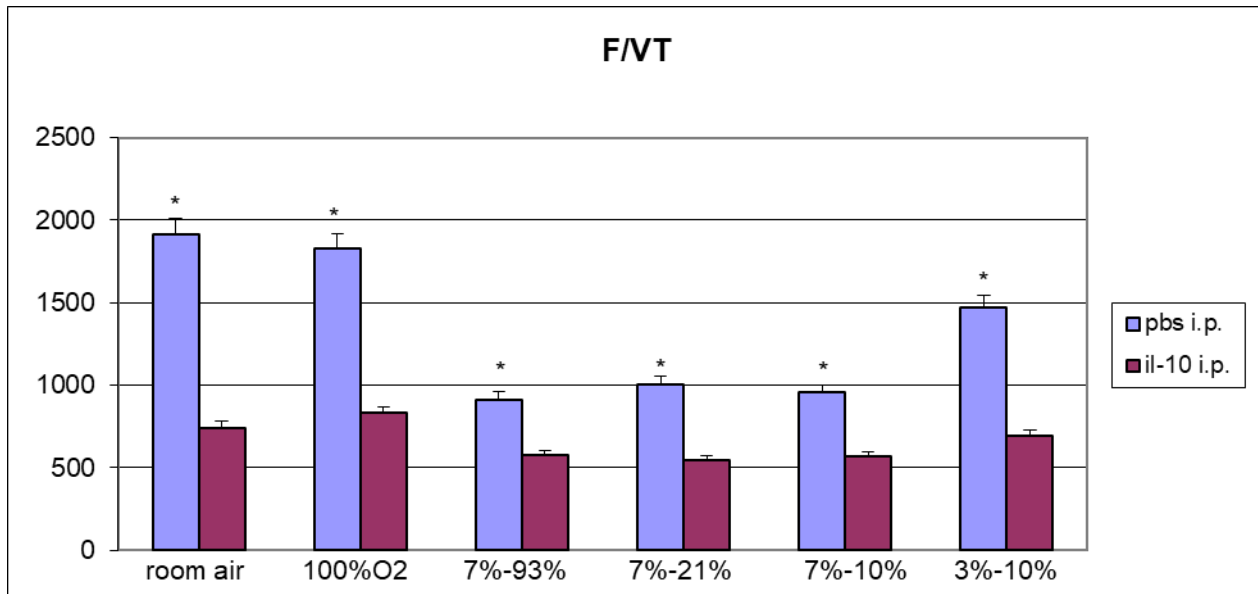
ii) Στην υπεροξία (100% O₂) ο F/VT ήταν 1831 ± 32 στους controls επίμνες vs 825 ± 33 στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iii) Στην υπερκαπνική υπεροξία (93% O₂-7% CO₂) ο F/VT ήταν 925 ± 15 στους controls επίμνες vs 577 ± 21 στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

iv) Στην υπερκαπνική νορμοξία (21% O₂-7% CO₂-72% N₂) ο F/VT ήταν 1018 ± 27 στους controls επίμνες vs 551 ± 19 στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

v) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-7% CO₂-83% N₂) ο F/VT ήταν 967 ± 19 στους controls επίμνες vs 570 ± 16 στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.

vi) Στην υπερκαπνική υποξία (10% O₂-3% CO₂-87% N₂) ο F/VT ήταν 1482 ± 35 στους controls επίμνες vs 717 ± 29 στους rIL-10 επίμνες, όπου $p < 0,05$.



Γράφημα 42

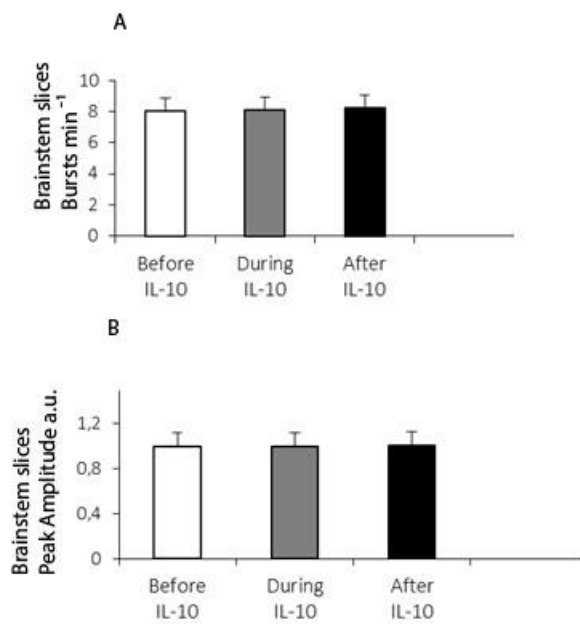
4.8 Επίπεδα ιντερλευκίνης 10 στον ορό

Ο μέσος χρόνος ημίσειας ζωής της ανασυνδρασμένης IL-10 (rIL-10) είναι 4 ώρες (Huhn RD et al. 1996, Kumar A et al. 2005). Μετά το πέρας των αναπνευστικών διεγέρσεων στο βαρομετρικό πληθυσμογράφο με τα ποικίλα αέρια μείγματα διαπιστώθηκε αύξηση των επιπέδων της IL-10 στον ορό (ELISA) στους επίμυες που έλαβαν ανασυνδρασμένη IL-10 (rIL-10) σε σύγκριση με τους επίμυες που είχαν πλήρη έκφραση της IL-10 και δεν υπεβλήθησαν σε καμία παρέμβαση ($1264 \text{ pg ml}^{-1} \pm 112$ vs $164 \text{ pg ml}^{-1} \pm 13$, mean \pm SEM, n=10 per group).

4.9 Άμεση διέγερση του συμπλέγματος preBötzinger και του υπογλωσσίου νεύρου

Χρησιμοποιήθηκαν 8 νεογνά αρουραίων (0-4 ημέρων, Wistar rats) από τα οποία απομονώθηκε το εγκεφαλικό στελέχος, ο νωτιαίος μυελός και ελήφθησαν τομές που περιελάμβαναν το σύμπλεγμα preBötzinger, το ραμφοειδές κοιλιακό αναπνευστικό τμήμα, τους περισσότερους από τους κινητικούς πυρήνες του υπογλωσσίου νεύρου XII και τις ραμφοειδείς XII νευρικές ρίζες. Ακολούθησε μικροέγχυση IL-10 (σε δόσεις 10 και 30 ng ml⁻¹) στα ρυθμικά ενεργοποιημένα τμήματα των μυελωδών αναπνευστικών

κέντρων, όπου δεν διαπιστώθηκαν αλλαγές στην ρυθμικότητα ή στην μέγιστη σηματοδότηση του υπογλωσσίου νεύρου (XII), ακόμα και στην μέγιστη δόση χορήγησης IL-10 (30 ng ml⁻¹), (Γράφημα 43).



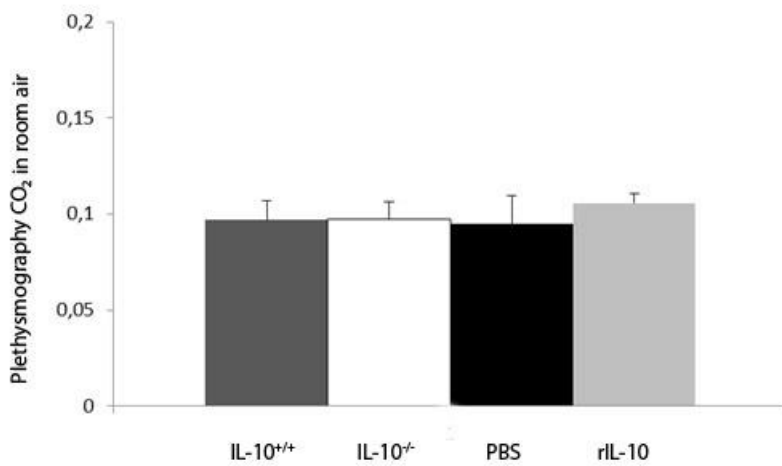
Γράφημα 43

4.10 Πληθυσμογραφικές τιμές CO₂ σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου

Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις πληθυσμογραφικές τιμές του CO₂ σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου μεταξύ επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}, n=10) και των επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}, knockout, n=10), καθώς μεταξύ των επίμυων

Διδακτορική Διατριβή «Εκτίμηση του ρόλου της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής με την χρήση βαρομετρικού πληθυσμογράφου»

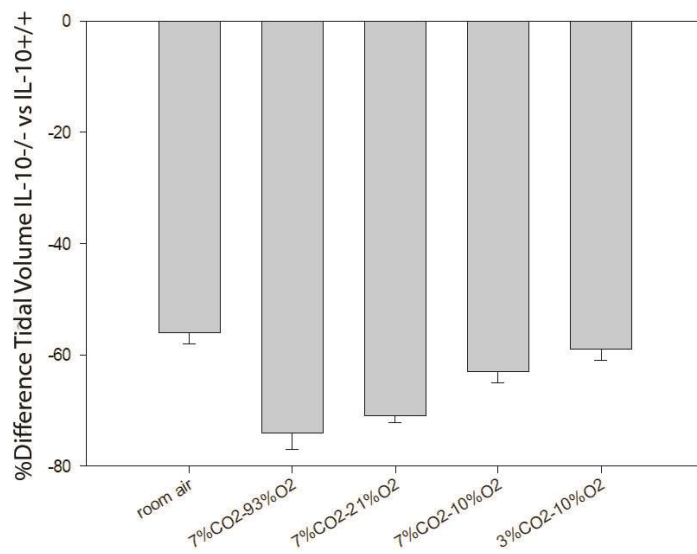
που χορηγήθηκε PBS (n=10) έναντι των επίμυων που έλαβαν ανασυνδυασμένη IL-10 (rIL-10, n=10). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερό σφάλμα μέσης τιμής (SEM).



Γράφημα 44

4.11 Σύγκριση αναπνεόμενου όγκου μεταξύ επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10 και πλήρη έκφραση IL-10

Οι διαφορές που παρατηρήσαμε στον αναπνεόμενο όγκο μεταξύ των επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}, n=10) και των επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}, knockout, n=10) ήταν μεταξύ 56% και 74%, ανάλογα με το αέριο μείγμα που χορηγήθηκε. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± σταθερό σφάλμα μέσης τιμής (SEM).



Γράφημα 45

5. Συζήτηση

Η ερευνητική εργασία της ομάδος μας αφορά την πρώτη μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί όσο αφορά τις επιδράσεις της ιντερλευκίνης 10 (IL-10) στον έλεγχο της αναπνοής. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι η IL-10 μειώνει την αναπνευστική συχνότητα (RR) και αυξάνει τον αναπνεόμενο όγκο (VT), τον αερισμό (VE) έχοντας ως αποτέλεσμα πιο αργή και μεγαλύτερου βάθους αναπνοή. Επιπλέον, η IL-10 επιτείνει την αναπνοή μέσω αύξησης της μέσης εισπνευστικής ροής χωρίς να επηρεάζει την διάρκεια της εισπνοής και εκπνοής (σταθερός αναπνευστικός κύκλος). Τα παραπάνω ευρήματα διαπιστώθηκαν σε σταθερές συνθήκες καθώς και σε συνθήκες αναπνοής υπό αντιστάσεις μετά από περίδεση της τραχείας. Ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης μας είναι το γεγονός ότι η επίδραση της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής παρατηρήθηκε σε όλες τις διαφορετικές συνθήκες αέριων μειγμάτων νορμοξίας, υπερκαπνίας και υποξίας. Με βάση τα παραπάνω θεωρούμε ότι η δράση της IL-10 είναι ανεξάρτητη της επίδρασης της υπερκαπνίας και της υποξίας στο αναπνευστικό κέντρο. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να διερευνηθούν οι πιθανοί νευρομεσολαβητές ή τα νευρωνικά μονοπάτια που μεσολαβούν στη δημιουργία του φαινομένου αυτού. Η χορήγηση ανασυνδυασμένης IL-10 σε φυσιολογικά ποντίκια είχε το ακριβώς αντίθετο αποτέλεσμα στο πρότυπο της αναπνοής σε σύγκριση με τα ποντίκια που είχαν έλλειψη της IL-10 (knockout). Στηριζόμενοι στα παραπάνω ευρήματα προτείνουμε ότι οι διαφορές που ανευρέθησαν μεταξύ των φυσιολογικών ποντικίων (ομάδα ελέγχου) και των ποντικίων με έλλειψη IL-10 (knockout) δεν οφείλονταν σε άλλους παράγοντες που θα μπορούσαν να ασκούν επίδραση στα γενετικώς τροποποιημένα ποντίκια αλλά είναι αποτέλεσμα της αυτής καθ' εαυτής έλλειψης IL-10.

Η IL-10 είναι μια σημαντική ανοσορρυθμιστική κυτταροκίνη με αντιφλεγμονώδης ιδιότητες (Couper KN et al. 2008, Moore KW et al. 2001). Η έκφραση της IL-10 στο ΚΝΣ είναι γνωστό ότι αυξάνεται σε ποικιλία νευροφλεγμονωδών και παθολογικών καταστάσεων (Gonzalez P et al. 2009, Hulshof S et al. 2002, Kamm K et al. 2006, Zhai QH et al. 1997). Ο IL-10ra είναι ένας από τους υποδοχείς της IL-10 με λειτουργία ανασταλτικού παράγοντα της σύνθεσης των κυτταροκινών, γνωστός για την σημαντική συμμετοχή του στην νευρωνική ανάπτυξη και νευροπροφύλαξη καθώς και για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του (Zhou Z et al. 2009). Υπάρχουν πολλοί πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων η IL-10 επιδρά στον έλεγχο της αναπνοής.

Κεντρική Δράση: Υποδοχείς της IL-10 έχουν ανευρεθεί σε περιοχές του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) που σχετίζονται με την αναπνοή όπως ο πυρήνας της μονήρους δεσμίδας (NTS) και ο υποθάλαμος. Η έκφραση των υποδοχέων της IL-10 έχει περιγραφεί στους νευρώνες, την μικρογλοία, τα αστροκύτταρα και τα ολιγοδενδροκύτταρα σε σταθερές συνθήκες καθώς και μετά από τραυματισμό υποδεικνύοντας ένα πιθανόν ευρύ φάσμα δράσεων της κυτταροκίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Kamm K et al. 2006,

Olsson A et al. 2003, Vassilakopoulos T et al. 2004). Η κυκλοφορούσα IL-10 μπορεί να εισέλθει στον εγκέφαλο μέσω ενεργητικού μηχανισμού ή μέσω περιοχών του εγκεφάλου με απουσία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, όπως τα περικοιλιακά όργανα, σε επαφή με την υπόφυση και τα μυελώδη αναπνευστικά κέντρα (Kastin AJ et al. 2003). Έτσι, ένας πιθανός μη αποδεδειγμένος ακόμα μηχανισμός δράσης της IL-10 θα μπορούσε να είναι η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων.

Υποθέσαμε ότι η IL-10 θα μπορούσε να επηρεάσει ακόμα και την βηματοδοτική περιοχή του συμπλέγματος preBotzinger. Ωστόσο, όταν χορηγήθηκε IL-10 in vitro σε ρυθμικά ενεργοποιημένα τμήματα των μυελωδών αναπνευστικών κέντρων δεν παρατηρήσαμε αλλαγές στην ρυθμικότητα ή στην μέγιστη σηματοδότηση του υπογλωσσίου νεύρου (XII). Απο το παραπάνω εύρημα θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι η IL-10 δεν επιδρά άμεσα στο σύμπλεγμα preBotzinger. Παρόλο αυτά θα πρέπει να είμαστε επιφυλακτικοί πριν βγάλουμε συμπεράσματα διότι η IL-10 στο παραπάνω πείραμα χορηγήθηκε μέσω εφαρμογής λουτρού και πιθανόν να διαχύθηκε ευρέως στους ιστούς και να προσδέθηκε στους υποδοχείς διαφόρων κυτταρικών νευρώνων (αναπνευστικών και μη αναπνευστικών). Οι επιδράσεις της IL-10 σε αυτές τις διαφορετικές περιοχές θα μπορούσαν να διεγείρουν και ταυτόχρονα να αναστέλλουν η μια την άλλη, χωρίς να παράγεται τελικό αποτέλεσμα. Ωστόσο, αυτό δεν φαίνεται τόσο πιθανό επειδή οι αντίθετες δράσεις θα έπρεπε να ξεκινούν την ίδια στιγμή, να έχουν παρόμοια διάρκεια και να τερματίζουν επίσης στον ίδιο χρόνο. Εναλλακτικά, μια απλούστερη εξήγηση θα μπορούσε να είναι ότι δεν υπάρχουν λειτουργικοί υποδοχείς στην μυελώδη μοίρα των νεογέννητων αρουραίων που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη μας. Εάν πράγματι οι υποδοχείς αυτοί ανευρίσκονται σε ενήλικα ζώα δεν είναι μέχρι στιγμής γνωστό.

Περιφερική δράση: Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός δράσης για την δράση της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής θα μπορούσε να είναι η διέγερση των περιφερικών προσαγωγών ινών που εισέρχονται στο αναπνευστικό κέντρο.

Υποδοχείς της IL-10 (IL-10R) έχουν ανευρεθεί στα καρωτιδικά σωματίδια των περιφερικών χημειούποδοχέων (Kahlin J et al. 2014). Η IL-10 ενεργοποιεί τα καρωτιδικά σωματίδια και ακολούθως εξέρχονται από το καρωτιδικό νεύρο (κλάδος του γλωσσοφαρυγγικού νεύρου) προσαγωγές ίνες προς τον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας (NTS) επιδρώντας στο αναπνευστικό κέντρο. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι τα καρωτιδικά σωματίδια έχουν υποδοχείς για ποικίλες κυτταροκίνες όπως ο TNF-α (Fernandez R et al. 2008), η IL-1β (Shu HF et al. 2007) και η IL-6 (Wang X et al. 2006) και η διέγερση τους με διαφορετική κυτταροκίνη έχει σαν αποτέλεσμα διαφορετικού βαθμού ενεργοποίηση του καρωτιδικού νεύρου (Fan J et al. 2009, Fernandez R et al. 2008, Shu HF et al. 2007).

Το πνευμονογαστρικό νεύρο είναι ένας άλλος πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου οι κυτταροκίνες θα μπορούσαν να επηρεάσουν τον εγκέφαλο (Tracey KJ et al. 2010). Αλγοϋποδοχείς του πνευμονογαστρικού στον πνεύμονα ενεργοποιούνται από κυτταροκίνες όπως ο TNF- α (Li HF et al. 2009) και η IL-1 β (Yu J et al. 2007), συνεπώς υποδοχείς από αυτές τις κυτταροκίνες εδράζονται στους αλγοϋποδοχείς. Ο πνεύμονας έχει ευρεία έκφραση IL-10 υποδοχέων στο επιθήλιο, στα αγγεία και στην κυψελιδική μεμβράνη (Hocke AC et al. 2006). Ακολουθώς, υποθέτουμε ότι υποδοχείς της IL-10 εδράζονται στους πνευμονικούς αλγοϋποδοχείς, οι οποίοι μεταφέρουν πληροφορίες στο αναπνευστικό κέντρο.

Υποδοχείς της IL-10 ανευρίσκονται επίσης στα σωματίδια των ριζών των ραχιαίων γαγγλίων των σωματικών νεύρων (Schafers M et al. 2003), και στις μικρές προσαγωγές ίνες (αλγοϋποδοχείς) των σκελετικών μυών (Alvarez P et al. 2017). Τα νεύρα που νευρώνουν τους αναπνευστικούς μύες είναι σωματικά νεύρα. Συνεπώς, η διέγερση των μικρών προσαγωγών ινών του φρενικού νεύρου που νευρώνει το διάφραγμα συμμετέχει στη ρύθμιση του τρόπου αναπνοής (Hussain SN et al. 1990, Jammes Y et al. 1986, Roussos et al. 2003).

Οι κυτταροκίνες είναι γνωστό ότι διεγείρουν τις μικρές προσαγωγές ίνες. Αντιστοίχως, η IL-6 διεγείρει τις (μικρές προσαγωγές) αισθητικές ίνες από την νεύρωση της άρθρωσης του γόνατος προκαλώντας μηχανικό ερεθισμό (Brenn D et al. 2007). Η IL-10 απελευθερώνεται μέσω επαναλαμβανόμενων ωθήσεων άσκησης μέσω της γαστροκνημίας αμβλύνοντας τον μυϊκό πόνο που επάγεται από την εκτεταμένη άσκηση μέσω ενεργοποίησης των IL-10 υποδοχέων στους αλγοϋποδοχείς (μικρές προσαγωγές ίνες) που νευρώνουν τον γαστροκνήμιο μυ (Alvarez P et al. 2017). Κατόπιν τούτου υποθέτουμε ότι η IL-10 θα μπορούσε να ενεργοποιεί τις μικρές προσαγωγές ίνες που προέρχονται από το διάφραγμα μέσω του φρενικού νεύρου ή από τα μεσοπλεύρια νεύρα και έτσι να επιδρά στον έλεγχο της αναπνοής. Όταν οι μικρές προσαγωγές ίνες διεγείρονται ρυθμίζουν την απόδοση του αναπνευστικού κέντρου (Hussain SN et al. 1990, Jammes Y et al. 1986). Περισσότερες μελέτες απαιτούνται για να διευκύνουν τον μηχανισμό δράσης της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής.

Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση της μελέτης μας είναι ότι η επίδραση της IL-10 στο πρότυπο της αναπνοής είναι σταθερή ανεξάρτητα των διαφορετικών αέριων μειγμάτων που εξετάστηκαν όπως νορμοξία, υπερκαπνία και υποξία σε κανονικές συνθήκες και σε συνθήκες αναπνοής υπό αντιστάσεις με περιίδεση της τραχείας. Η παραπάνω παρατήρηση δημιουργεί το συμπέρασμα ότι η δράση της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής είναι ανεξάρτητη από την δράση της υπερκαπνίας, υποξίας και της αναπνοής υπό αντιστάσεις.

Απαιτείται περισσότερη έρευνα για να μελετηθούν οι διάφοροι νευρομεσολαβητές ή τα διάφορα νευρωνικά μονοπάτια που συμμετέχουν στο παραπάνω φαινόμενο.

Η αναπνοή υπό αντιστάσεις είναι χαρακτηριστικό των κύριων αποφρακτικών αναπνευστικών νοσημάτων όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) και το άσθμα (Vassilakopoulos T et al. 2016). Κατά την διάρκεια των σοβαρών παροξύνσεων, τα παραπάνω νοσήματα συχνά οδηγούν σε αναπνευστική ανεπάρκεια με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. Στη ΧΑΠ, η φλεγμονή των αεραγωγών οδηγεί σε στένωση των αεραγωγών μέσω ποικίλων μηχανισμών όπως η υπερέκκριση βλέννης (Zuo L et al. 2011), η υπερπλασία των κυπελλοειδών κυττάρων, το οίδημα του βλεννογόνου, η παραγωγή των κυτταροκινών και η φλεγμονή, καταστροφή των κυψελίδων (εμφύσημα) οδηγώντας σε απώλεια της ελαστικής δύναμης επαναφοράς των περιφερικών αεραγωγών και βρογχόσπασμο (Hogg JC et al. 2009, Barnes PJ et al. 2000). Κατά την παρόξυνση της ΧΑΠ, αιτιολογικοί παράγοντες όπως οι λοιμώξεις και περιβαλλοντολογικά αίτια με κύριο την ατμοσφαιρική ρύπανση (Ni L et al. 2015), οδηγούν σε αύξηση της φλεγμονής γεγονός που επιδεινώνει το υποβλεννογόνο οίδημα των αεραγωγών και μέσω απελευθέρωσης μεσολαβητών προκαλείται σύσπαση των λείων μυϊκών ινών και ακολούθως βρογχοσύσπαση, αύξηση της αντίστασης των αεραγωγών. Η παραπάνω αλληλουχία γεγονότων συχνά συνυπάρχει στην υπερκαπνική ή/και υποξαιμική αναπνευστική ανεπάρκεια μέσω αδιευκρίνιστων μηχανισμών.

Κατά την διάρκεια της αναπνοής υπό αντιστάσεις οι εισπνευστικοί μύες συσπώνται δυναμικά για να εκπύξουν τον πνεύμονα έχοντας ως αποτέλεσμα μεγάλες αρνητικές ενδοθωρακικές πιέσεις κατά την διάρκεια της εισπνοής. Οι δυναμικές μυϊκές συσπάσεις και οι μεγάλες αρνητικές ενδοθωρακικές πιέσεις οδηγούν σε μηχανικό στρες στα κύτταρα του διαφράγματος και του πνεύμονα. Το μηχανικό στρες θα μπορούσε να οδηγήσει σε τραυματισμό του πνεύμονα και του διαφράγματος είτε μέσω άμεσων αποσχιστικών δυνάμεων (West JB et al. 2000) είτε μέσω μεταστροφής της μηχανικής δύναμης σε ενδοκυττάριο καταρράκτη της φλεγμονής (Jalouk DF et al. 2009), όπως το οξειδωτικό στρες (Zuo L. et al. 2012). Είναι εύλογο, ότι η βρογχοσύσπαση μπορεί να τραυματίσει τον πνεύμονα και το διάφραγμα ακόμα και επί απουσίας φλεγμονής των αεραγωγών σε έδαφος φυσιολογικού πνεύμονα, όπως σε οξεία απόφραξη των άνω αεραγωγών που μπορεί να καταλήξει σε πνευμονικό οίδημα. Επίσης, εύκολα μπορούμε να θεωρήσουμε ότι επί παρουσίας υποκείμενης φλεγμονής στη ΧΑΠ, η αύξηση της βρογχοσύσπασης θα μπορούσε από μόνη της να τραυματίσει την περιφέρεια του πνεύμονα και το διάφραγμα, όπως στην περίπτωση της παρόξυνσης ΧΑΠ που απαιτείται νοσηλεία.

Η ομάδα μας για μεγάλο χρονικό διάστημα έχει ως κύριο αντικείμενο έρευνας τα αποτελέσματα της αναπνοής υπό αντιστάσεις σε συνθήκες οξείας απόφραξης των αεραγωγών στον πνεύμονα και στο

διάφραγμα. Τα τελευταία 15 χρόνια έχουμε αναπτύξει ένα πειραματικό μοντέλο αναπνοής υπό αντιστάσεις σε υγιής ενήλικες και πειραματόζωα (Vassilakopoulos T et al. 2004, Vassilakopoulos T et al. 2002). Το μοντέλο αυτό αποτελείται από εξωτερικές αντιστάσεις κατάλληλου μεγέθους στο εισπνευστικό σκέλος μέσω μιας βαλβίδας δύο δρόμων που στο εκπνευστικό σκέλος δεν προκαλεί αντίσταση. Σκοπός μας ήταν να περιγράψουμε τα αποτελέσματα του μηχανικού στρες μέσω της αυξημένης εισπνοής υπό αντιστάσεις όπως στην περίπτωση της υποκείμενης φλεγμονής των αεραγωγών που παρατηρείται στη ΧΑΠ. Σειρές μελετών έχουν πραγματοποιηθεί με χρήση εισπνευστικής αντίστασης ώστε ο αναπνεόμενος πίεση κατά την διάρκεια της εισπνοής να είναι στο 50% της μέγιστης τιμής ($P_i/P_{i\max}=0.5$), (Toumpanakis T et al. 2010, Toumpanakis T et al. 2015). Τα πιο σημαντικά ευρήματα από αυτές τις μελέτες είναι ότι σε πνεύμονα υγιούς αρουραίου η εισπνοή υπό αντιστάσεις αυξάνει την διαπερατότητα της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης αναδιαμορφώνοντας τους μηχανισμούς του αναπνευστικού συστήματος, εκτρέποντας την καμπύλη πίεσης-όγκου προς τα κάτω και δεξιά (όπως επί μειωμένης έκπτυξης του πνεύμονα) και επάγοντας την φλεγμονή στον πνεύμονα μέσω των μεσοκυττάρων μεταλλοπρωτεϊνών με αποτέλεσμα τον οξύ τραυματισμό του πνεύμονα και την αναπνευστική ανεπάρκεια (Toumpanakis T et al. 2010, Toumpanakis T et al. 2015). Τα παραπάνω αποτελέσματα αυξάνουν την πιθανότητα η βρογχοσύσπαση κατά την διάρκεια των σοβαρών παροξύνσεων της ΧΑΠ να καταλήξει σε οξύ τραυματισμό του πνεύμονα και αναπνευστική +ανεπάρκεια. Η μειωμένη έκπτυξη του πνεύμονα καταλήγει σε δύσπνοια. Επιπλέον, η βρογχοσύσπαση σε συνθήκες αναπνοής υπό αντιστάσεις αυξάνει την παραγωγή μεσοκυττάρων μεταλλοπρωτεϊνών (κυρίως MMP-9 και MMP-12) στον πνευμονικό ιστό με συνέπεια την καταστροφή του πνευμονικού παρεγχύματος όπως συμβαίνει στο εμφύσημα με την απώλεια των λειτουργικών αναπνευστικών μονάδων (Toumpanakis T et al. 2015). Κατόπιν τούτου, πιθανόν εξηγείται η παρατήρηση ότι οι ασθενείς με συχνές παροξύνσεις ΧΑΠ παρουσιάζουν πιο γρήγορη απώλεια της αναπνευστικής τους λειτουργίας με το πέρασμα του χρόνου. Για παράδειγμα, σε κάθε παρόξυνση η βρογχοσύσπαση θα μπορούσε να προκαλέσει ενεργοποίηση των MMP-μεταλλοπρωτεϊνών οδηγώντας σε κυψελιδική καταστροφή και απώλεια της αναπνευστικής λειτουργίας (Donaldson GC et al. 2002, Makris D et al. 2007). Ωστόσο, τα ακριβή σηματοδοτικά μονοπάτια που μεσολαβούν στην αναπνοή υπό αντιστάσεις και στον επαγόμενο τραυματισμό του πνεύμονα δεν είναι ευρέως γνωστά. Πρόσφατα αποτελέσματα της ομάδας μας δείχνουν ότι αμέσως μετά την έναρξη της αναπνοής υπό αντιστάσεις αισθητήρες μηχανικού στρες, όπως η Src-κινάση (Han B et al. 2004), ενεργοποιούνται στον πνευμονικό ιστό (Toumpanakis D et al. 2015), γεγονός που ακολουθείται από ERK ενεργοποίηση (Toumpanakis D et al. 2010). Ενδιαφέρον προκαλεί ότι η αναστολή της Src-κινάσης προφυλάσσει μερικώς από τον επαγόμενο τραυματισμό του πνευμονικού παρεγχύματος κατά την εισπνοή υπό αντιστάσεις (Toumpanakis D et al. 2015). Το φορτίο που χρησιμοποιήθηκε στις μελέτες μας επιλέχθηκε με βάση συλλογή δεδομένων από παροξύνσεις ΧΑΠ. Το πραγματικό φορτίο των αναπνευστικών μυών κατά τις σοβαρές παροξύνσεις ΧΑΠ δεν είναι γνωστό, διότι είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν

παθοφυσιολογικές μελέτες σε τμήμα επειγόντων περιστατικών. Έτσι, μόνο έμμεσοι υπολογισμοί μπορούν να γίνουν. Σε ασθενείς με σοβαρή ΧΑΠ και υπερκαπνία η μέση εισπνευστική/μέγιστη εισπνευστική πίεση ήταν 0.27 ± 0.15 (Begin P et al. 1991). Ομοίως, μια ομάδα Ιταλών ερευνητών υπολόγισε τιμές μέσης υπεζωκοτικής/μέγιστης υπεζωκοτικής πίεσης = 0.35 σε ασθενείς με σοβαρή ΧΑΠ, αλλά μικρότερες τιμές υπερκαπνίας από τους προηγούμενους (Duganti R et al. 1995). Θα μπορούσαμε να σκεφτούμε ότι οι παραπάνω τιμές αναμένονταν υψηλότερες κατά την διάρκεια της παρόξυνσης λόγω επιδείνωσης των μηχανισμών του αναπνευστικού συστήματος. Συγκεκριμένα, η αυξημένη βρογχοσύσπαση καθυστερεί την έκπτυξη του πνεύμονα οδηγώντας σε δυναμική υπερδιάταση, γεγονός που ελαττώνει την δύναμη των αναπνευστικών μυών στην παραγωγή πίεσης.

Ένα καλό μοντέλο παροξύνσεων ΧΑΠ που μιμείται τα παθοφυσιολογικά χαρακτηριστικά, είναι ασθενείς με ΧΑΠ που χρειάζονται μηχανικό αερισμό ή βρίσκονται σε κατάσταση απογαλακτισμού και έχουν παρόμοια φορτία αναπνευστικών μυών με ασθενείς σε σοβαρή παρόξυνση ΧΑΠ. Σε αυτή την περίπτωση επιτρέπονται μετρήσεις φυσιολογίας επειδή ο ασθενής βρίσκεται σε περιβάλλον εντατικής θεραπείας. Σε ασθενείς με παρόξυνση ΧΑΠ, το φορτίο των αναπνευστικών μυών είναι παρόμοιο με αυτό που επιλέξαμε για τις μελέτες που διεξήγαγε η ομάδα μας σε πειραματόζωα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μας στους ασθενείς με ΧΑΠ που απαιτούν επεμβατικό αερισμό, η μέγιστη εισπνευστική πίεση ήταν 0.62 ± 0.15 (η μέγιστη εισπνευστική πίεση είναι το άθροισμα της ελαστικής πίεσης και της πίεσης υπό αντιστάσεις που απαιτείται για τον παρεχόμενο αναπνεύσιμο όγκο), (Zakynthinos SG et al. 1995). Σε ασθενείς με ΧΑΠ που απέτυχαν να απογαλακτιστούν από τον μηχανικό αερισμό ο λόγος υπεζωκοτικής πίεσης προς μέγιστη υπεζωκοτική πίεση ήταν 0.62 (εύρος 0.42-0.85), (Purro A et al. 2000). Ομοίως, η ομάδα μας έδειξε ότι οι ασθενείς με ΧΑΠ που απέτυχαν να απογαλακτιστούν από τον μηχανικό αερισμό είχαν λόγο μέσης εισπνευστικής πίεσης προς μέγιστη εισπνευστική πίεση 0.49 ± 0.09 , (Vassilakopoulos T et al. 1998). Οι Vitacca κ.ά (Vitacca M et al. 2001), έδειξαν τιμή διαφραγματικής πίεσης προς μέγιστη διαφραγματική πίεση 0.58 μετά από αποτυχημένη προσπάθεια απογαλακτισμού. Έτσι, η επιλογή του φορτίου στα ζώα του πειραματικού μας μοντέλου με εισπνευστικές πιέσεις στο 50% των μέγιστων εισπνευστικών πιέσεων είναι μέσα στο εύρος των σοβαρών παροξύνσεων ΧΑΠ. Ως τώρα είναι άγνωστο εάν οι εισπνευστικές πιέσεις που οδηγούν σε φορτία μικρότερα του 50% των μέγιστων εισπνευστικών πιέσεων μπορούν να προκαλέσουν τραυματισμό και φλεγμονή καθώς και ποιο είναι το μικρότερο τραυματικό φορτίο.

Θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η μεμονωμένη εισπνοή υπό αντιστάσεις δεν παρατηρείται στην πραγματικότητα, μιας και ανεξάρτητα από το που εδράζεται η περιοχή της βρογχοσύσπασης εντός των αεραγωγών, οι εισπνευστικές και εκπνευστικές αντιστάσεις είναι αυξημένες συγχρόνως. Εάν η βρογχοσύσπαση είναι ενδοθωρακική, η εκπνευστική αντίσταση εξαιτίας της θετικής ενδοθωρακικής πίεσης

κατά την διάρκεια της εκπνοής έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση της διαμέτρου των αεραγωγών, ενώ η αρνητική ενδοθωρακική πίεση κατά την διάρκεια της εισπνοής οδηγεί σε διαστολή των αεραγωγών. Το παραπάνω πρότυπο παρατηρείται συνήθως σε ασθενείς με ΧΑΠ και άσθμα. Εάν η βρογχοσύσπαση είναι εξωθωρακική συμβαίνει το αντίστροφο, η εισπνοή μειώνει ενώ η εκπνοή αυξάνει την επιφάνεια των αεραγωγών, όπως παρατηρείται σε ασθενείς με απόφραξη των ανώτερων αεραγωγών. Για να έχουμε ένα μοντέλο με ταυτόχρονες εισπνευστικές και εκπνευστικές αντιστάσεις, ώστε να μιμούμαστε καλύτερα τις παροξύνσεις ΧΑΠ, αναπτύξαμε ένα ζωικό μοντέλο αναπνοής υπό αντιστάσεις μέσω της στένωσης της τραχείας με ειδική ταινία (Glynos C et al. 2015). Η αναπνοή υπό αντιστάσεις σε ένα υγιές ποντίκι αυξάνει την διαπερατότητα της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης του πνεύμονα, επηρεάζοντας την μηχανική του αναπνευστικού συστήματος, επάγοντας την φλεγμονή στον πνεύμονα οδηγώντας σε οξύ τραυματισμό, όπως στο μοντέλο της εισπνευστικής αναπνοής υπό αντιστάσεις στους αρουραίους (Glynos C et al. 2015). Οι Willms και Shure (Willms D. et al. 1988) πρότειναν ότι η παρουσία εκπνευστικής αντίστασης με την συνοδό υπερδιάταση λόγω αυξημένου τελοεκπνευστικού όγκου και η ενδογενής θετική τελοεκπνευστική πίεση αντιτίθεται κατά την διάρκεια της εκπνοής στις μεγάλες αρνητικές ταλαντεύσεις της ενδοθωρακικής πίεσης που αναπτύσσονται κατά την εισπνοή και οδηγούν σε πνευμονικό οίδημα. Στο δικό μας μοντέλο σε ποντίκια, η παρουσία εκπνευστικής αντίστασης έναντι της εισπνευστικής αντίστασης δεν προφυλάσσει από τον τραυματισμό του πνευμονικού παρεγχύματος (Glynos C et al. 2015). Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι η αναπνοή υπό αντιστάσεις σε ποντίκια ρυθμίζει προς τα κάτω την έκφραση της διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης στον πνεύμονα (Glynos C et al. 2015). Η ενεργοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης ακόμα και μετά μπορεί να αναστρέψει σημαντικά την βλάβη που έχει προκληθεί (Glynos C et al. 2015). Η παραπάνω παρατήρηση θα μπορούσε να αποτελέσει μια νέα θεραπευτική κατηγορία στις αποφρακτικές νόσους των αεραγωγών. Σε προηγούμενες μελέτες μας φαίνεται ότι η παραγωγή της γουανυλικής κυκλάσης μειώνεται στην χρόνια έκθεση στον καπνό του τσιγάρου σε μελέτες που έγιναν σε ποντίκια με μοντέλο ΧΑΠ καθώς και στους πνεύμονες ασθενών με ΧΑΠ (Glynos C et al. 2013). Ωστόσο, ακόμα και αυτό το μοντέλο περίδεσης της τραχείας σε ποντίκια δεν μπορεί να μιμηθεί με ακρίβεια τις παροξύνσεις ΧΑΠ, μιας και η περίδεση της τραχείας προκαλεί εξωθωρακική βρογχοσύσπαση, ενώ οι παροξύνσεις ΧΑΠ έχουν σαν αποτέλεσμα ενδοθωρακική απόφραξη. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν δεδομένα που να αναφέρονται στις επιδράσεις των εκπνευστικών αντιστάσεων σε υγιή πνεύμονα. Η υπερδιάταση θα μπορούσε να παράγει μια φλεγμονώδη διαδικασία μέσω εκτεταμένης παραμόρφωσης των πνευμονικών κυττάρων (Agusti A et al. 2006). Ωστόσο, αυτή η υπόθεση δεν έχει ακόμα εξετασθεί πειραματικά. Επιπλέον, αποτελέσματα της αυξημένης εκπνευστικής αντίστασης στον υγιή πνεύμονα δεν έχουν δημοσιευτεί ως τώρα.

Οι Loverdos κ.ά. (Loverdos K et al. 2016) εφάρμοσαν μια σειρά εισπνευστικών αντιστάσεων σε διάφορα μεγέθη και διαπίστωσαν ότι ο τραυματισμός ξεκινά να αναπτύσσεται όταν το εισπνευστικό φορτίο είναι στο

30% της μέγιστης εισπνευστικής πίεσης. Παρόμοια φορτία υπάρχουν ακόμα και σε ασθενείς με σοβαρή ΧΑΠ χωρίς παρόξυνση. Θα μπορούσε επίσης να παρατηρηθεί και σε ασθενείς με λιγότερο σοβαρή ΧΑΠ όταν η παρόξυνση οδηγεί σε βρογχοσύσπαση. Οι Loverdos κ.ά. (Loverdos K et al. 2016) έδειξαν ότι η εκπνευστική αντίσταση (πάνω από το 70% της μέγιστης εκπνευστικής πίεσης) μπορεί επίσης να προκαλέσει φλεγμονή μέσω της εξαρτημένης από το φορτίο εισροής ουδετεροφίλων και αύξησης των κυτταροκινών. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα μακροφάγα μειώθηκαν σε παραγωγή, γεγονός διαφορετικό από αυτό που συνήθως παρατηρείται σε άλλα μοντέλα με εισπνευστική αναπνοή υπό αντιστάσεις και περίδεση της τραχείας (Loverdos K et al. 2016). Η μηχανική του πνεύμονα δεν επηρεάστηκε (σε αντίθεση με άλλα μοντέλα) ενώ αυξήθηκαν τα επίπεδα των πρωτεϊνών στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα μόνο στο μέγιστο φορτίο του 70%, πιθανόν λόγω πνευμονικού οιδήματος αυξημένης διαπερατότητας. Ο συνδυασμός εισπνευστικής και εκπνευστικής αναπνοής υπό αντιστάσεις, με το εκπνευστικό φορτίο να είναι μεγαλύτερο από το εισπνευστικό μιμούμενη την ενδοκυττάρια απόφραξη που παρατηρείται σε ασθενείς με παρόξυνση ΧΑΠ, έχει σαν αποτέλεσμα δοσοεξαρτώμενο τραυματισμό και φλεγμονή του πνεύμονα (Loverdos K et al. 2016). Έτσι, με το πειραματικό μοντέλο αναπνοής υπό αντιστάσεις μέσω περίδεσης της τραχείας σε ποντίκια, η παρουσία εκπνευστικής αντίστασης δεν προφυλάσσει από τον τραυματισμό του πνεύμονα και την φλεγμονή που επάγεται από την αναπνοή υπό αντιστάσεις, ενώ μπορεί να προκαλέσει μέχρι και αύξηση αυτής. Οι παραπάνω μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε ζώα με φυσιολογικό πνεύμονα (Toumpanakis D et al. 2010, Toumpanakis D et al. 2015, Glynos C et al. 2015, Loverdos K et al. 2016), ενώ θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα των επιδράσεων της βρογχοσύσπασης υπό συνθήκες αναπνοής υπό αντιστάσεις σε πνεύμονα πειραματοζώων με υποκείμενη φλεγμονή (όπως συμβαίνει σε ασθενείς με ΧΑΠ). Με βάση τα παραπάνω υποθέτουμε ότι μια παρόμοια ή ακόμα και αυξημένη απάντηση υπάρχει στον πνεύμονα ασθενών με ΧΑΠ, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί οι σοβαρές παροξύνσεις ΧΑΠ οδηγούν σε αναπνευστική ανεπάρκεια που συχνά απαιτεί μη επεμβατικό ή ακόμα και επεμβατικό μηχανικό αερισμό.

Σε υγιείς ανθρώπους, η εισπνοή υπό αντιστάσεις οδηγεί σε αύξηση στο πλάσμα του TNF-α, της IL-1β και της IL-6 (Vassilakopoulos et al. 2002) και ενεργοποίηση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων οδηγώντας μέσω παραγωγής προ-οπιομελανοκορτίνης και απελευθέρωση αδρενοκορτικοτροπίνης, β-ενδορφίνης (Vassilakopoulos et al. 1999). Οι β-ενδορφίνες είναι ενδογενή οπιοειδή που επηρεάζουν τον έλεγχο της αναπνοής με αποτέλεσμα ο ρυθμός της αναπνοής να γίνεται πιο αργός (Scardella AT et al. 1989) με κίνδυνο ανάπτυξης υπερκαπνικής αναπνευστικής ανεπάρκειας, κατάσταση που παρατηρείται συχνά σε παροξύνσεις ΧΑΠ (Vassilakopoulos et al. 2004). Πρόσφατα αποτελέσματα του εργαστηρίου μας δείχνουν ότι η εισπνευστική αντίσταση αυξάνει την έκφραση της IL-6 στα επαγόμενα πτύελα φυσιολογικών εθελοντών. Η αύξηση των κυτταροκινών στο πλάσμα που ανιχνεύεται σε ανθρώπους μετά από αναπνοή υπό

αντιστάσεις δεν προέρχεται από τα μονοκύτταρα (Vassilakopoulos et al. 2002). Μια πιθανή πηγή προέλευσης των παραπάνω κυτταροκινών σε συνθήκες αναπνοής υπό αντιστάσεις είναι ο ανθρώπινος πνεύμονας (Toumpanakis D et al. 2010, Toumpanakis D et al. 2015, Glynos C et al. 2015, Loverdos K et al. 2016). Μια άλλη πηγή είναι οι δυναμικά συνεσπαμμένοι αναπνευστικοί μύες. Στο διάφραγμα αρουραίων, η εισπνευστική αντίσταση ενεργοποιεί την MAPK και τον NF-κΒ για την απελευθέρωση κυτταροκινών (Vassilakopoulos et al. 2004, Sigala I. et al. 2011). Οι κυτταροκίνες παράγονται από τα μυοκύτταρα που βρίσκονται υπό τον έλεγχο του οξειδωτικού στρες και του νιτρικού οξειδίου (Vassilakopoulos et al. 2004, Sigala I. et al. 2011, Sigala I. et al. 2012). Και πράγματι, ενώ σε φυσιολογικές συνθήκες ανευρίσκονται στους σκελετικούς μύες, συμπεριλαμβανομένου του διαφράγματος χαμηλά επίπεδα δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), υπό συνθήκες στρες όπως η δυναμική σύσπαση, η υποξία και το θερμικό στρες, τα επίπεδα του ROS αυξάνονται σημαντικά (Zuo et al. 2015). Οι Casadevall κ.ά. έδειξαν ότι σε ασθενείς με σταθερή ΧΑΠ οι μεσοπλεύριοι μύες εκφράζουν κυτταροκίνες. Δεδομένα από μελέτες που δεν ακόμα δημοσιευτεί δείχνουν ότι οι κυτταροκίνες αυξάνονται στο διάφραγμα ασθενών με ΧΑΠ σταδίου III και IV. Όσο αφορά ασθενείς με ΧΑΠ, λίγα στοιχεία υπάρχουν για να στηρίξουν την πιθανή τραυματική επίδραση της αναπνοής υπό αντιστάσεις στον πνεύμονα. Η ομάδα μας πρόσφατα εξέτασε την υπόθεση ότι οι αναπνευστικοί μύες και/ή ο μηχανικά καταπονημένος πνεύμονας που φλεγμαίνει συμβάλλουν στην αύξηση των κυτταροκινών στο πλάσμα σε ασθενείς με σοβαρές οξείες παροξύνσεις ΧΑΠ. Οι Hillas κ.ά. (Hillas G et al. 2016) μελέτησαν 30 ασθενείς με σοβαρές παροξύνσεις ΧΑΠ, που οδήγησαν σε ενδοτραχειακή διασωλήνωση και μηχανικό αερισμό (ομάδα παρέμβασης). Οι ασθενείς με οξεία παρόξυνση ΧΑΠ έλαβαν τα ίδια φάρμακα με τους διασωληνωμένους ασθενείς αλλά δεν διασωληνώθηκαν (ομάδα ελέγχου 1) ενώ οι ασθενείς με ΧΑΠ υπό σταθερές συνθήκες διασωληνώθηκαν και υποβλήθηκαν σε μηχανικό αερισμό για προγραμματισμένο χειρουργείο (ομάδα ελέγχου 2). Η εφαρμογή μηχανικού αερισμού σε ασθενείς με παρόξυνση ΧΑΠ, που είχε σαν αποτέλεσμα ενδοτραχειακή διασωλήνωση, οδήγησε σε μείωση των κυκλοφορούντων επιπέδων IL-6, IL-10, εοταζίνης και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα στο πλάσμα μέσα σε 30 λεπτά με 6 ώρες (Hillas G et al. 2016). Τα παραπάνω ευρήματα προτείνουν ότι οι αναπνευστικοί μύες και ιδίως το συσπώμενο διάφραγμα και/ή ο μηχανικά στρεσαρισμένος φλεγμονώδης πνεύμονας έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων των κυτταροκινών κατά την διάρκεια της παρόξυνσης. Η βελτίωση του μηχανικού στρες με την εφαρμογή του μηχανικού αερισμού που εκφόρτισε το διάφραγμα και ανακούφισε από τις μεγάλες αρνητικές ταλαντεύσεις της ενδοθωρακικής πίεσης που καταπονούσαν και τραυμάτιζαν τον πνεύμονα, οδήγησε στην μείωση των επιπέδων των κυτταροκινών (με δεδομένο ότι οι κυτταροκίνες δεν αυξήθηκαν στην οξεία παρόξυνση ασθενών με ΧΑΠ που αντιμετωπίστηκαν μόνο με φάρμακα και όχι με μηχανικό αερισμό). Τα αποτελέσματα αυτά πιθανόν να μας παρέχουν μηχανικά δεδομένα των ωφέλιμων επιδράσεων του μη επεμβατικού μηχανικού αερισμού κατά την διάρκεια των σοβαρών παροξύνσεων ΧΑΠ.

Με βάση τα ανωτέρω μπορούμε να θεωρήσουμε ότι η βρογχοσύσπαση κατά την διάρκεια της αναπνοής υπό αντιστάσεις μπορεί από μόνη της να προκαλέσει τραυματισμό του πνεύμονα και του διαφράγματος ακόμα και επί απουσίας υποκείμενης φλεγμονής των αεραγωγών (υγής πνεύμονας). Σε πνεύμονα με υποκείμενη φλεγμονή η βρογχοσύσπαση λόγω αναπνοής υπό αντιστάσεις θα μπορούσε να διατηρήσει τον τραυματισμό το πνεύμονα στην περιφέρεια και να οδηγήσει σε αναπνευστική ανεπάρκεια.

Είναι γνωστό ότι τα τρωκτικά μεταβάλλουν τον ρυθμό μεταβολισμό τους, τον μεταβολισμό του λιπώδους ιστού τους και την κεντρική θερμοκρασία τους ως απάντηση σε διάφορες συνθήκες όπως είναι η υποξία (Madden CJ et al. 2005, Morgan BJ et al. 2014, Mortola JP et al. 2013). Παρόλο που η υποξική έκθεση στη μελέτη μας ήταν μικρή σε διάρκεια (20 λεπτά), θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα μας, μιας και δεν ακολούθησε διόρθωση για την παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα (Mortola JP et al. 2013). Ωστόσο, το παραπάνω αναγνωρίζεται ως ένα συστηματικό λάθος το οποίο όμως συνυπάρχει σε όλες τις ομάδες ζώων και άρα δεν μπορεί να επηρεάσει το τελικό αποτέλεσμα των δράσεων της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής. Επίσης, περισσότερα υποξικά μείγματα απαιτούνται για την πλήρη περιγραφή της υποξικής αναπνευστικής απάντησης (Mortola JP et al. 2013), αλλά στόχος της μελέτης μας δεν είναι να περιγράψουμε την πλήρη απάντηση στην υποξία. Στην μελέτη μας παρουσιάσαμε την διαφορά στην αναπνευστική απάντηση μεταξύ ποντικών με πλήρη έκφραση της IL-10 (ομάδα ελέγχου) σε σύγκριση με ποντίκια που είχαν έλλειψη της έκφρασης IL-10 σε συνθήκες υπεροξικής υπερκαπνίας (7%CO₂-93%O₂), νορμοξικής υπερκαπνίας (7%CO₂-21%O₂), υποξικής υπερκαπνίας (7%CO₂-10%O₂) και υποξικής νορμοκαπνίας (3%CO₂-10%O₂). Η παραπάνω διαφορά στην απόκριση μελετήθηκε συνεχόμενα σε όλα τα αέρια μείγματα που δοκιμάστηκαν. Ως εκ τούτου, η σύγκριση μεταξύ των ποντικών με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}) και των ποντικών με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}) είναι αποδεκτή.

Θα μπορούσαμε να υποστηρίξουμε ότι η IL-10 επηρεάζει τον βασικό μεταβολισμό και επιδρά στην αναπνοή δευτερευόντως στο ερέθισμα διατήρησης της ομοιοστασίας του CO₂. Παρόλο αυτά, δεν παρατηρήσαμε διαφοροποιήσεις στις πληθυσμογραφικές τιμές του CO₂ σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου μεταξύ των φυσιολογικών ποντικών (IL-10^{+/+}) και των ποντικών με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}), καθώς μεταξύ των ποντικών που χορηγήθηκε PBS έναντι των ποντικών που έλαβαν ανασυνδρασμένη IL-10 (rIL-10), (Γράφημα 44). Επιπλέον, σε όλα τα υπερκαπνικά μείγματα όπου ο βασικός μεταβολισμός δεν μπορεί να υπολογιστεί μιας και η εξωγενής χορήγηση CO₂ απέχει σημαντικά από την ενδογενή παραγωγή CO₂, παρατηρήσαμε στατιστικά σημαντικά αλλαγές στις αναπνευστικές παραμέτρους. Οι επίμυες στους οποίους χορηγήθηκε PBS ανέπτυξαν σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου μεγαλύτερη αναπνευστική συχνότητα και μικρότερο αναπνεόμενο όγκο συγκριτικά με τους επίμυες με

πλήρη έκφραση IL-10 (IL-10^{+/+}) στους οποίους δεν πραγματοποιήθηκε καμία ένεση. Το PBS είναι αποδεκτή ουσία για χορήγηση σε πειραματόζωα (University of Athens, Animal Care Committee 2014), αλλά η ενδοπεριτοναϊκή ένεση είναι μια στρεσογόνο διαδικασία (Stuart SA et al. 2015) που θα μπορούσε να εξηγήσει την διαφορετική αναπνευστική απάντηση μεταξύ επίμυων (IL-10^{+/+}) στους οποίους χορηγήθηκε PBS και αυτών που δεν έγινε καμία παρέμβαση. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η ενδοπεριτοναϊκή ένεση PBS είναι κατάλληλη μέθοδος σύγκρισης για τα πειραματόζωα που έλαβαν ανασυνδυασμένη IL-10 (rIL-10) ενδοπεριτοναϊκώς (i.p.). Ένα επιπλέον ερώτημα είναι εάν η έλλειψη IL-10 (IL-10^{-/-}, knockout ποντίκια) ή η χορήγηση ανασυνδυασμένης IL-10 (rIL-10) θα μπορούσαν να επηρεάσουν την κεντρική θερμοκρασία των ζώων. Η αύξηση της κεντρικής θερμοκρασίας θα μπορούσε να επηρεάσει τον αναπνεόμενο όγκο (VT) επειδή στον ολόσωμο πληθυσμογράφο το σήμα της πίεσης που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του αναπνεόμενου όγκου (VT) εξαρτάται από την διαφορά πίεσης μεταξύ δωματίου και κυψελίδας. Ωστόσο, η επίδραση της κεντρικής θερμοκρασίας στις συνήθεις συνθήκες εργαστηρίου είναι μικρή. Συγκεκριμένα, για θερμοκρασία δωματίου 24 βαθμών Κελσίου και ένα ζώο θερμοκρασίας 37 βαθμών, η αύξηση της θερμοκρασίας δωματίου κατά ένα βαθμό μπορεί να προκαλέσει υπερεκτίμηση του αναπνεόμενου όγκου κατά 7%, ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας σώματος μπορεί να οδηγήσει σε ισοδύναμη υποεκτίμηση (Mortola JP et al. 1998, Εικόνα 2). Η μείωση της θερμοκρασίας δωματίου θα ελάττωνε την υπερ/υποεκτίμηση σε λιγότερο από 7%. Στο εργαστήριό μας η θερμοκρασία δωματίου ήταν 21 βαθμούς Κελσίου λόγω των σταθερών ελεγχόμενων συνθηκών. Έτσι, ο βαθμός της υποεκτίμησης σε περίπτωση πυρετού θα ήταν μικρότερος από 7%. Η μικρή επίδραση της θερμοκρασίας των ζώων στην μέτρηση του αναπνεόμενου όγκου (VT) είναι ο λόγος όπου οι εμπορικά διαθέσιμοι ολόσωμοι πληθυσμογράφοι, όπως της BUXCO που διαθέτουμε στο εργαστήριό μας, δεν περιλαμβάνουν την μέτρηση της θερμοκρασίας σώματος των ζώων στο προγραμματισμό τους, αλλά την θεωρούν σταθερή (<https://www.datasci.com/products/buxco-respiratory-products/finepointe-whole-body-plethysmography>).

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαφορές που παρατηρήσαμε στον αναπνεόμενο όγκο μεταξύ των επίμυων με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}), των επίμυων με έλλειψη IL-10 (IL-10^{-/-}, knockout) ήταν 70-80% (Γράφημα 45). Ακόμα και εάν τα IL-10 knockout ποντίκια που χρησιμοποιήσαμε στην μελέτη μας είχαν πυρετό, το σφάλμα που υπολογίστηκε στον αναπνεόμενο όγκο θα είχε σαν αποτέλεσμα μικρότερες τιμές αναπνεόμενου όγκου από αυτές που υπολογίσαμε. Με βάση τα παραπάνω, δεν διαπιστώνεται σφάλμα στις μετρήσεις του αναπνεόμενου όγκου (VT) που θα μπορούσε να επηρεάσει την διάρκεια και τις αλλαγές που παρατηρήσαμε μεταξύ των διαφορετικών ομάδων επίμυων που έλαβαν μέρος στη μελέτη. Επιπλέον, δεν έχει διαπιστωθεί αλλαγή στην κεντρική θερμοκρασία των επίμυων με έλλειψη της IL-10 (IL-10 knockout) υπό φυσιολογικές συνθήκες (Toth LA et al. 2001, Leon LR et al. 1999) και υπό συνθήκες γρίπης (Toth LA

et al. 2001), συμπεραίνοντας ότι η IL-10 δεν επηρεάζει την κεντρική θερμοκρασία και τις μετρήσεις του αναπνεόμενου όγκου στο πείραμα μας.

Το επόμενο ερώτημα που πρέπει να απαντηθεί είναι κατά πόσο οι επίμυες με έλλειψη IL-10 (IL-10 knockout) ανέπτυξαν χρόνια εντεροκολίτιδα, γεγονός που θα μπορούσε να επηρεάσει το πρότυπο της αναπνοής. Κατά την διάρκεια της μελέτης μας τα ζώα που συμπεριλήφθηκαν δεν εμφάνισαν κανένα κλινικό σύμπτωμα φλεγμονής όπως διάρροια, περιπρωκτικό έλκος, εντερική αιμορραγία ή πρόπτωση ορθού (Berg DJ et al. 1993). Το είδος των ποντικών που επιλέχτηκαν από το Jackson Laboratory, C57BL/6-IL-10^{tm1Cgn} (stock#JR2250) είχε την μικρότερη πιθανότητα εντερικής φλεγμονής (Berg DJ et al. 1996). Τα πειραματοζώα του εργαστηρίου μας διατηρούνται υπό συγκεκριμένες συνθήκες απουσίας ανάπτυξης παθογόνων με το κίνδυνο ανάπτυξης μόνο τοπικής φλεγμονής (Ian J et al. 1993). Οι επίμυες τοποθετήθηκαν στον πληθυσμογράφο μια εβδομάδα πριν από τα κύρια πειράματα για εγκλιματισμό, χωρίς να παρουσιάσουν απώλεια βάρους. Η θερμοκρασία εντός του δωματίου παρέμεινε σταθερή κατά την εβδομάδα αυτή χωρίς να παρατηρηθούν διαφορές στη θερμοκρασία μεταξύ των ποντικών με πλήρη έκφραση IL-10 (IL-10^{+/+}) και αυτών χωρίς έκφραση IL-10 (IL-10^{-/-}). Είναι γνωστό ότι οποιαδήποτε αύξηση στη θερμοκρασία εντός του ολόσωμου πληθυσμογράφου επηρεάζεται κυρίως από την βασική θερμοκρασία των πειραματοζώων (Xu WH 2011). Σύμφωνα με τα παραπάνω μπορούμε να αποκλείσουμε την πιθανότητα η βασική φλεγμονή να αποτέλεσε παράγοντα επιρροής των διαφορών που μετρήθηκαν στην αναπνευστική συχνότητα και τον αναπνεόμενο όγκο μεταξύ των ποντικών με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL10^{+/+}) και χωρίς έκφραση IL-10 (IL-10^{-/-}).

Επιλέξαμε να χορηγήσουμε ανασυνδυσασμένη IL-10 (rIL-10) σε ποντίκια με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}) και όχι σε αυτά με έλλειψη (IL-10^{-/-}). Η επιλογή αυτή έγινε διότι τα ποντίκια χωρίς έκφραση IL-10 (IL-10 knockout) συχνά αυξάνουν την έκφραση άλλων κυτταροκινών (Agnello D et al. 2000) με πιθανή επιρροή στα αποτελέσματα από την χορήγηση της ανασυνδυσασμένης IL-10 (rIL-10). Αντιθέτως, τα ποντίκια με πλήρη έκφραση IL-10 δεν παρουσιάζουν επίδραση στην έκφραση άλλων κυτταροκινών και έτσι τα αποτελέσματα από την χορήγηση της ανασυνδυσασμένης IL-10 είναι όσο πιο ανεπηρέαστα γίνεται. Η χορήγηση της ανασυνδυσασμένης IL-10 (rIL-10) σε ποντίκια με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}) είχε αντίθετα αποτελέσματα στο πρότυπο της αναπνοής σε σύγκριση με ποντίκια με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}). Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι διαφορές μεταξύ των ποντικών με πλήρη έκφραση IL-10 και αυτών χωρίς έκφραση IL-10 δεν οφείλονται σε άγνωστους παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάζουν την έκφραση γενετικά τροποποιημένων ζώων (IL-10^{-/-}) αλλά οφείλονται στην καθαυτή παρουσία και αντιστοίχως έλλειψη της IL-10.

Τα υψηλά επίπεδα IL-10 που ανιχνεύσαμε στον όρο ποντικών μετά την χορήγηση ανασυνδυασμένης IL-10 (rIL-10) μας οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η αύξηση της IL-10 ήταν ο κύριος παράγοντας που επηρέασε το κέντρο της αναπνοής. Στηριζόμενοι όμως στο γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις IL-10 που ανιχνεύσαμε στον ορό επίμυων μετά την ενδοπεριτοναϊκή έγχυση IL-10, είναι παρόμοιες με τις συγκεντρώσεις των επίμυων με πλήρη έκφραση IL-10 (ομάδα ελέγχου), δεν μπορούμε να είμαστε σίγουροι ότι η επίδραση της IL-10 στο κέντρο της αναπνοής θα παρατηρείται εξίσου σε όλο το φυσιολογικό εύρος των τιμών της IL-10. Απαιτούνται νέες μελέτες με χορήγηση IL-10 σε ένα ευρύ φάσμα δόσεων ώστε να ξεκαθαριστεί το παραπάνω ζήτημα. Εν τέλει, να σημειώσουμε ότι στα πειράματα συμμετείχαν αρσενικοί επίμυες με σκοπό να αποκλείσουμε την πιθανότητα της ορμονικής επίδρασης στον έλεγχο της αναπνοής.

Η IL-10 αυξάνεται σε ποικιλία νοσημάτων όπως ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η σήψη σε επίπεδα όμοια με αυτά που ανευρέθησαν στην μελέτη μας (Iorente L et al. 2000, Yang PT et al. 2004, Patel P et al. 2019, Wunder C et al. 2004, Mosevoll KA et al. 2018, Zhao HQ et al. 2015). Η σήψη είναι γνωστό ότι επηρεάζει τον έλεγχο της αναπνοής. Αναμένεται να επιβεβαιωθεί αν όντως η IL-10 είναι πράγματι υπεύθυνη για τις μεταβολές που παρατηρήθηκαν στο πρότυπο της αναπνοής. Σε ασθενείς με ΧΑΠ παρατηρούνται μειωμένα επίπεδα IL-10 στο πλάσμα, με μεγαλύτερη επιδείνωση στα βαρύτερα σπυρομετρικά στάδια κατά την σταδιοποίηση της GOLD (Jiang S et al. 2018). Γνωρίζοντας ότι τα προχωρημένα στάδια ΧΑΠ συνδυάζονται συχνά με αναπνευστική ανεπάρκεια προφανώς λόγω επίδρασης στο κέντρο της αναπνοής, μένει να αποσαφηνιστεί εάν η μείωση των επιπέδων της IL-10 στο πλάσμα σχετίζεται με την ανάπτυξη αναπνευστικής ανεπάρκειας. Η IL-10 υπερεκφράζεται επίσης στο διάφραγμα (Sigala I et al. 2012, Vassilakopoulos T et al. 2004) και στον πνεύμονα (Toumpanakis D et al. 2010), δευτερευόντως στην αναπνοή υπό αντιστάσεις, παθοφυσιολογικό φαινόμενο που παρατηρείται κυρίως σε αποφρακτικά νοσήματα όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, το άσθμα, και η απόφραξη των ανώτερων αεραγωγών ειδικά υπό συνθήκες παρόξυνσης (Vassilakopoulos T et al. 2016). Η τοπική παραγωγή IL-10 στο αναπνευστικό σύστημα κατά την διάρκεια παροξύνσεων αποφρακτικών νοσημάτων σε περιοχές που εδράζονται οι προσαγωγές ίνες του πνευμονογαστρικού και φρενικού νεύρου, θα μπορούσε να είναι ο μηχανισμός αποστολής των ερεθισματογωγών σημάτων στο ρυθμιστικό κέντρο της αναπνοής, οδηγώντας σε αλλαγές στο πρότυπο της αναπνοής.

Συμπερασματικά, η μελέτη μας αφορά την πρώτη προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης της IL-10 στο κέντρο της αναπνοής. Το πιο σημαντικό εύρημα είναι ότι η IL-10 πιθανόν να αυξάνει το ερέθισμα της αναπνοής με αποτέλεσμα να παράγει αργό και βαθύ πρότυπο αναπνοής χωρίς να τροποποιεί τον λόγο εισπνοής προς εκπνοή.

ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

- Adams JM, Farkas GA, Rochester DF. Vagal afferents, diaphragm fatigue, and inspiratory resistance in anesthetized dogs. *J Appl Physiol* (1985). 1988 Jun;64(6):2279-86
- Adler A, Cieslewicz G, Irvin CG. Unrestrained plethysmography is an unreliable measure of airway responsiveness in BALB/c and C57BL/6 mice. *J Appl Physiol* (1985). 2004 Jul;97(1):286-92
- Agnello D, Villa P, and Ghezzi P. Increased tumor necrosis factor and interleukin-6 production in the central nervous system of interleukin-10-deficient mice. *Brain Res* 2000 869: 241-243
- Agusti A, Soriano JB. Dynamic hyperinflation and pulmonary inflammation: a potentially relevant relationship? *Eur Respir Rev*. 2006; 15:68–71
- Akiyoshi M, Shimizu Y, Saito M. Interleukin-1 increases norepinephrine turnover in the spleen and lung in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990 Dec 31;173(3):1266-70
- Alberti A, Sarchielli P, Gallinella E, Floridi A, Floridi A, Mazzotta G, Gallai V. Plasma cytokine levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome: a preliminary study. *J Sleep Res*. 2003 Dec;12(4):305-11
- Alvarez P, Bogen O, Green PG, and Levine JD. Nociceptor interleukin 10 receptor 1 is critical for muscle analgesia induced by repeated bouts of eccentric exercise in the rat. *Pain* 2017 158: 1481-1488
- Alexander WS, Starr R, Fenner JE, Scott CL, Handman E, Sprigg NS, Corbin JE, Cornish AL, Darwiche R, Owczarek CM, Kay TW, Nicola NA, Hertzog PJ, Metcalf D, Hilton DJ. 1999. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon gamma signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell*. 98:597-608
- Andersen SR, Lambrecht LJ, Swan SK, Cutler DL, Radwanski E, Affrime MB, Garaud JJ. Disposition of recombinant human interleukin-10 in subjects with various degrees of renal function. *J Clin Pharmacol*. 1999 Oct;39(10):1015-20
- Arai T, Hiromatsu K, Kobayashi N, Takano M, Ishida H, Nimura Y, Yoshikai Y. IL-10 is involved in the protective effect of dibutyryl cyclic adenosine monophosphate on endotoxin-induced inflammatory liver injury. *J Immunol*. 1995 ;155(12):5743-9
- Asseman C, Mauze S, Leach MW, Coffman RL, Powrie F. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med*. 1999 Oct 4;190(7):995-1004
- Bacchetta R, Bigler M, Touraine JL, Parkman R, Tovo PA, Abrams J, de Waal Malefyt R, de Vries JE, Roncarolo MG. High levels of interleukin 10 production in vivo are associated with tolerance in SCID patients transplanted with HLA mismatched hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 1994 Feb 1;179(2):493-502
- Banks WA, Kastin AJ. Relative contributions of peripheral and central sources to levels of IL-1 alpha in the cerebral cortex of mice: assessment with species-specific enzyme immunoassays. *J Neuroimmunol*. 1997 Oct;79(1):22-8.

Banks WA, Ortiz L, Plotkin SR, Kastin AJ. Human interleukin (IL) 1 alpha, murine IL-1 alpha and murine IL-1 beta are transported from blood to brain in the mouse by a shared saturable mechanism. *J Pharmacol Exp Ther.* 1991 Dec;259(3):988-96

Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2000;343:269–280

Bates JH, Irvin CG. Measuring lung function in mice: the phenotyping uncertainty principle. *J Appl Physiol* (1985). 2003 Apr;94(4):1297-306

Bauer J, Strauss S, Volk B, Berger M. IL-6-mediated events in Alzheimer's disease pathology. *Immunol Today.* 1991 Nov;12(11):422

Begin P, Grassino A. Inspiratory muscle dysfunction and chronic hypercapnia in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143:905–912

Bellofiore S, Di Maria GU, Privitera S, Sapienza S, Milic-Emili J, Mistretta A. Endogenous opioids modulate the increase in ventilatory output and dyspnea during severe acute bronchoconstriction. *Am Rev Respir Dis.* 1990 Oct;142(4):812-6

Bencsics A, Elenkov IJ, Vizi ES. alpha 2-, alpha 2A-, alpha 2B/2C-Adrenoceptor subtype antagonists prevent lipopolysaccharide-induced fever response in rabbits. *Brain Res.* 1995 Dec 24;705(1-2):302-6

Berg DJ, Davidson N, Kuhn R, Muller W, Menon S, Holland G, Thompson-Snipes L, Leach MW, and Rennick D. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4(+) TH1-like responses. *J Clin Invest* 1996 98: 1010-1020

Berg DJ, Leach MW, Kühn R, Rajewsky K, Müller W, Davidson NJ, Rennick D. 1995. Interleukin 10 but not interleukin 4 is a natural suppressant of cutaneous inflammatory responses. *J Exp Med.*182:99-108

Berger AJ. Dorsal respiratory group neurons in the medulla of cat: spinal projections, responses to lung inflation and superior laryngeal nerve stimulation. *Brain Res.* 1977 Oct 28;135(2):231-54

Besedovsky H, del Rey A, Sorkin E, Dinarello CA. Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science.* 1986 Aug 8;233(4764):652-4

Besedovsky H, Sorkin E, Keller M, Müller J. Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1975 Nov;150(2):466-70

Besedovsky HO, del Rey A, Sorkin E, Da Prada M, Keller HH. Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. *Cell Immunol.* 1979 Dec;48(2):346-55

Besedovsky HO, del Rey A. Feed-back interactions between immunological cells and the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Neth J Med.* 1991 ;39:274-80

Besedovsky HO, del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev.* 1996 Feb;17(1):64-102

Besedovsky HO1, del Rey A, Klusman I, Furukawa H, Monge Arditi G, Kabiersch A. Cytokines as modulators of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;40:613-8

- Bethea JR, Nagashima H, Acosta MC, Briceno C, Gomez F, Marcillo AE, Loor K, Green J, Dietrich WD. Systemically administered interleukin-10 reduces tumor necrosis factor-alpha production and significantly improves functional recovery following traumatic spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma*. 1999 16(10):851-63
- Bissonnette JM, Knopp SJ. Developmental changes in the hypoxic ventilatory response in C57BL/6 mice. *Respir Physiol*. 2001 Nov 1;128(2):179-86
- Bledsoe SW, Eng DY, Hornbein TF. Evidence of active regulation of cerebrospinal fluid acid-base balance. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1981 Aug;51(2):369-75.
- Borish L. IL-10: evolving concepts. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 Mar;101(3):293-7
- Bourne HR, Lichtenstein LM, Melmon KL, Henney CS, Weinstein Y, Shearer GM. Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. *Science*. 1974 Apr 5;184(4132):19-28
- Breder CD, Dinarello CA, Saper CB. Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science*. 1988 Apr 15;240(4850):321-4
- Breder CD, Hazuka C, Ghayur T, Klug C, Huginin M, Yasuda K, Teng M, Saper CB. Regional induction of tumor necrosis factor alpha expression in the mouse brain after systemic lipopolysaccharide administration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Nov 22;91(24):11393-7
- Brenn D, Richter F, and Schaible HG. Sensitization of unmyelinated sensory fibers of the joint nerve to mechanical stimuli by interleukin-6 in the rat: an inflammatory mechanism of joint pain. *Arthritis Rheum* 2007 56: 351-359
- Bruce EN, Cherniack NS. Central chemoreceptors. *J Appl Physiol* (1985). 1987 Feb;62(2):389-402.
- Buell G, Collo G, Rassendren F. P2X receptors: an emerging channel family. *Eur J Neurosci*. 1996 Oct;8(10):2221-8
- Buer J, Lanoue A, Franzke A, Garcia C, von Boehmer H, Sarukhan A. Interleukin 10 secretion and impaired effector function of major histocompatibility complex class II-restricted T cells anergized in vivo. *J Exp Med*. 1998 Jan 19;187(2):177-83
- Cai G, Kastelein RA, Hunter CA. 1999. IL-10 enhances NK cell proliferation, cytotoxicity and production of IFN-gamma when combined with IL-18. *Eur J Immunol*. 29:2658-65
- Campbell IL, Eddleston M, Kemper P, Oldstone MB, Hobbs MV. Activation of cerebral cytokine gene expression and its correlation with onset of reactive astrocyte and acute-phase response gene expression in scrapie. *J Virol*. 1994 Apr;68(4):2383-7
- Campbell IL, Hobbs MV, Kemper P, Oldstone MB. Cerebral expression of multiple cytokine genes in mice with lymphocytic choriomeningitis. *J Immunol*. 1994 Jan 15;152(2):716-23
- Campbell IL, Stalder AK, Akwa Y, Pagenstecher A, Asensio VC. Transgenic models to study the actions of cytokines in the central nervous system. *Neuroimmunomodulation*. 1998 May-Aug;5(3-4):126-35
- Cannon JG, Dinarello CA. Increased plasma interleukin-1 activity in women after ovulation. *Science*. 1985 Mar 8;227(4691):1247-9

- Cannon JG, Fielding RA, Fiatarone MA, Orencole SF, Dinarello CA, Evans WJ. Increased interleukin 1 beta in human skeletal muscle after exercise. *Am J Physiol.* 1989 Aug;257(2 Pt 2):R451-5
- Cannon JG, St Pierre BA. Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury. *Mol Cell Biochem.* 1998 Feb;179(1-2):159-67
- Casadevall C, Coronell C, Ramirez-Sarmiento AL, et al. Upregulation of pro-inflammatory cytokines in the intercostal muscles of COPD patients. *Eur Respir J.* 2007;30:701–707
- Chakraborty A, Blum RA, Mis SM, Cutler DL, Jusko WJ. Pharmacokinetic and adrenal interactions of IL-10 and prednisone in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 1999 Jun;39(6):624-35
- Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med.* 1995 May 18;332(20):1351-62
- Ciufo R, Dimarco A, Stofan D, Nethery D, Supinski G. Dichloroacetate reduces diaphragmatic lactate formation but impairs respiratory performance. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Nov 1;164(9):1669-74
- Cohen SB, Crawley JB, Kahan MC, Feldmann M, Foxwell BM. 1997. Interleukin-10 rescues T cells from apoptotic cell death: association with an upregulation of Bcl-2. *Immunology.* 92:1-5
- Cooper PJ, Fekade D, Remick DG, Grint P, Wherry J, Griffin GE. Recombinant human interleukin-10 fails to alter proinflammatory cytokine production or physiologic changes associated with the Jarisch-Herxheimer reaction. *J Infect Dis.* 2000 Jan;181(1):203-9
- Cotton DJ, Bleecker ER, Fischer SP, Graf PD, Gold WM, Nadel JA. Rapid, shallow breathing after *Ascaris suum* antigen inhalation: role of vagus nerves. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1977 Jan;42(1):101-6
- Couper KN, Blount DG, and Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008 180: 5771-5777
- Dalal M, Kim S, Voskuhl RR. Testosterone therapy ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and induces a T helper 2 bias in the autoantigen-specific T lymphocyte response. *J Immunol.* 1997 Jul 1;159(1):3-6
- Davatelis G, Wolpe SD, Sherry B, Dayer JM, Chicheportiche R, Cerami A. Macrophage inflammatory protein-1: a prostaglandin-independent endogenous pyrogen. *Science.* 1989 Feb 24;243:1066-8
- de Kleer IM, Kamphuis SM, Rijkers GT, Scholtens L, Gordon G, De Jager W, Häfner R, van de Zee R, van Eden W, Kuis W, Prakken BJ. The spontaneous remission of juvenile idiopathic arthritis is characterized by CD30+ T cells directed to human heat-shock protein 60 capable of producing the regulatory cytokine interleukin-10. *Arthritis Rheum.* 2003 Jul;48(7):2001-10
- De Letter MA, van Doorn PA, Savelkoul HF, Laman JD, Schmitz PI, Op de Coul AA, Visser LH, Kros JM, Teepen JL, van der Meché FG. Critical illness polyneuropathy and myopathy (CIPNM): evidence for local immune activation by cytokine-expression in the muscle tissue. *J Neuroimmunol.* 2000 Jul 1;106(1-2):206-13
- Debigaré R, Côté CH, Maltais F. Peripheral muscle wasting in chronic obstructive pulmonary disease. Clinical relevance and mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Nov 1;164(9):1712-7

- Del Negro CA, Morgado-Valle C, Feldman JL. Respiratory rhythm: an emergent network property? *Neuron*. 2002 May 30;34(5):821-30
- del Rey A, Besedovsky HO, Sorkin E, da Prada M, Arrenbrecht S. Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system, II. *Cell Immunol*. 1981 Sep 15;63(2):329-34
- DeRijk R, Michelson D, Karp B, Petrides J, Galliven E, Deuster P, Paciotti G, Gold PW, Sternberg EM. Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulate interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, and tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) production in humans: high sensitivity of TNF alpha and resistance of IL-6. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Jul;82(7):2182-91
- Ding L, Linsley PS, Huang LY, Gremain RN, Shevach EM. 1993. IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. *J. Immunol*. 151:1224-34
- Ding L, Shevach EM. 1992. IL-10 inhibits mitogen-induced T cell proliferation by selectively inhibiting macrophage costimulatory function. *J. Immunol*. 148:133-39
- Ding Y, Chen D, Tarcsafalvi A, Su R, Qin L, Bromberg JS. 2003. Suppressor of cytokine signaling 1 inhibits IL-10-mediated immune responses. *J Immunol*. 170:1383-91
- Dodd DS, Brancatisano T, Engel LA. Chest wall mechanics during exercise in patients with severe chronic air-flow obstruction. *Am Rev Respir Dis*. 1984 Jan;129(1):33-8
- Dokka S, Shi X, Leonard S, Wang L, Castranova V, Rojanasakul Y. 2001. Interleukin-10-mediated inhibition of free radical generation in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 280:L1196-202
- Donaldson GC, Seemungal TA, Bhowmik A, Wedzicha JA. Relation- ship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2002;57:847–852
- Drenth JP, Van Uum SH, Van Deuren M, Pesman GJ, Van der Ven-Jongekrijg J, Van der Meer JW. Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL-1 beta production. *J Appl Physiol (1985)*. 1995 Nov;79(5):1497-503
- Drorbaugh JE, Fenn WO. A barometric method for measuring ventilation in newborn infants. *Pediatrics*. 1955 Jul;16(1):81-7
- Duffin J. Functional organization of respiratory neurones: a brief review of current questions and speculations *Exp Physiol*. 2004 Sep;89(5):517-29
- Dunn AJ. Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992 Jun;261(3):964-9
- Dunn AJ1, Swiergiel AH. The role of cytokines in infection-related behavior. *Ann N Y Acad Sci*. 1998 May 1;840:577-85
- Duranti R, Misuri G, Gorini M, et al. Mechanical loading and control of breathing in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1995;50:127–133

- Durez P, Abramowicz D, Gérard C, Van Mechelen M, Amraoui Z, Dubois C, Leo O, Velu T, Goldman M. In vivo induction of interleukin 10 by anti-CD3 monoclonal antibody or bacterial lipopolysaccharide: differential modulation by cyclosporin A. *J Exp Med.* 1993 Feb 1;177(2):551-5
- Duron B, Marlot D. Postnatal development of the discharge pattern of phrenic motor units in the kitten. *Respir Physiol.* 1981 Nov;46(2):125-36
- Eid AA, Ionescu AA, Nixon LS, Lewis-Jenkins V, Matthews SB, Griffiths TL, Shale DJ. Inflammatory response and body composition in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Oct 15;164(8 Pt 1):1414-8
- Elenkov IJ, Chrousos GP, Wilder RL. Neuroendocrine regulation of IL-12 and TNF-alpha/IL-10 balance. Clinical implications. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;917:94-105
- Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve-an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev.* 2000 Dec;52(4):595-638
- Entzian P, Linnemann K, Schlaak M, Zabel P. Obstructive sleep apnea syndrome and circadian rhythms of hormones and cytokines. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 Mar;153(3):1080-6
- Epstein MA, Epstein RA. A theoretical analysis of the barometric method for measurement of tidal volume. *Respir Physiol.* 1978 Jan;32(1):105-20
- Fäldt J, Wernstedt I, Fitzgerald SM, Wallenius K, Bergström G, Jansson JO. Reduced exercise endurance in interleukin-6-deficient mice. *Endocrinology.* 2004 Jun;145(6):2680-6. Epub 2004 Feb 26
- Fan J, Zhang B, Shu HF, Zhang XY, Wang X, Kuang F, Liu L, Peng ZW, Wu R, Zhou Z, and Wang BR. Interleukin-6 increases intracellular Ca²⁺ concentration and induces catecholamine secretion in rat carotid body glomus cells. *J Neurosci Res* 2009 87: 2757-2762
- Feldman JL, Mitchell GS, Nattie EE. Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annu Rev Neurosci.* 2003;26:239-66. Epub 2003 Feb 13
- Feldman JL, Smith JC, Ellenberger HH, Connelly CA, Liu GS, Greer JJ, Lindsay AD, Otto MR. Neurogenesis of respiratory rhythm and pattern: emerging concepts. *Am J Physiol.* 1990 Nov;259(5 Pt 2):R879-86
- Fernandez R, Gonzalez S, Rey S, Cortes PP, Maisey KR, Reyes EP, Larrain C, and Zapata P. Lipopolysaccharide-induced carotid body inflammation in cats: functional manifestations, histopathology and involvement of tumour necrosis factor-alpha. *Exp Physiol* 2008 93: 892-907
- Ferrari D, Chiozzi P, Falzoni S, Hanau S, Di Virgilio F. Purinergic modulation of interleukin-1 beta release from microglial cells stimulated with bacterial endotoxin. *J Exp Med.* 1997 Feb 3;185(3):579-82
- Feuerstein GZ, Wang X, Barone FC. The role of cytokines in the neuropathology of stroke and neurotrauma. *Neuroimmunomodulation.* 1998 May-Aug;5(3-4):143-59
- Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1993 Jul;265(1 Pt 2):R166-72

- Finbloom DS, Winestock KD. 1995. IL-10 induces the tyrosine phosphorylation of tyk2 and Jak1 and the differential assembly of STAT1 alpha and STAT3 complexes in human T cells and monocytes. *J Immunol.* 155:1079-90
- Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mossmann TR, Howard M, et al. 1991. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J. Immunol.* 150:3755-65
- Fiorentino DF, Bond MW, Mossmann TR. 1989. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J. Exp. Med.* 170:2081-95
- Fluckiger AC, Durand I, Banchereau J. 1994. Interleukin 10 induces apoptotic cell death of B-chronic lymphocytic leukemia cells. *J Exp Med.* 179:91-9
- Flynn MC, Scott TR, Pritchard TC, Plata-Salamán CR. Mode of action of OB protein (leptin) on feeding. *Am J Physiol.* 1998 Jul;275(1 Pt 2):R174-9
- Fuchs AC, Granowitz EV, Shapiro L, Vannier E, Lonnemann G, Angel JB, Kennedy JS, Rabson AR, Radwanski E, Afrime MB, Cutler DL, Grint PC, Dinarello CA. Clinical, hematologic, and immunologic effects of interleukin-10 in humans. *J Clin Immunol.* 1996 Sep;16(5):291-303
- Ganong WF. Blood, pituitary, and brain renin-angiotensin systems and regulation of secretion of anterior pituitary gland. *Front Neuroendocrinol.* 1993 Jul;14(3):233-49
- Gayraud J, Matecki S, Hnia K, Mornet D, Prefaut C, Mercier J, Michel A, Ramonatxo M. Ventilation during air breathing and in response to hypercapnia in 5 and 16-month-old mdx and C57 mice. *J Muscle Res Cell Motil.* 2007;28(1):29-37
- Gazzinelli RT, Wysocka M, Hieny S, Scharon-Kersten T, Cheever A, Kühn R, Müller W, Trinchieri G, Sher A. 1996. In the absence of endogenous IL-10, mice acutely infected with *Toxoplasma gondii* succumb to a lethal immune response dependent on CD4+ T cells and accompanied by overproduction of IL-12, IFN-gamma and TNF-alpha. *J Immunol.* 157:798-805
- Gil MP, Bohn E, O'Guin AK, Ramana CV, Levine B, Stark GR, Virgin HW, Schreiber RD. Biologic consequences of Stat1-independent IFN signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Jun 5;98(12):6680-5
- Glynos C, Dupont LL, Vassilakopoulos T, et al. The role of soluble guanylyl cyclase in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188:789-799
- Glynos C, Toumpanakis D, Loverdos K, et al. Guanylyl cyclase activation reverses resistive breathing-induced lung injury and inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2015;52:762-771
- Godoy I, Campana AO, Geraldo RR, Padovani CR, Paiva SA. Cytokines and dietary energy restriction in stable chronic obstructive pulmonary disease patients. *Eur Respir J.* 2003 Dec;22(6):920-5
- Gonzales C, Lin RC, Chesselet MF. Relative sparing of GABAergic interneurons in the striatum of gerbils with ischemia-induced lesions. *Neurosci Lett.* 1992 Jan 20;135(1):53-8
- Gonzalez P, Burgaya F, Acarin L, Peluffo H, Castellano B, and Gonzalez B. Interleukin-10 and interleukin-10 receptor-I are upregulated in glial cells after an excitotoxic injury to the postnatal rat brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 68: 391-403, 2009

- Gorski JC, Hall SD, Becker P, Affrime MB, Cutler DL, Haehner-Daniels B. In vivo effects of interleukin-10 on human cytochrome P450 activity. *Clin Pharmacol Ther.* 2000 Jan;67(1):32-43
- Gosselin LE, Barkley JE, Spencer MJ, McCormick KM, Farkas GA. Ventilatory dysfunction in mdx mice: impact of tumor necrosis factor-alpha deletion. *Muscle Nerve.* 2003 Sep;28(3):336-43
- Graff GR, Gozal D. Cardiorespiratory responses to interleukin-1beta in adult rats: role of nitric oxide, eicosanoids and glucocorticoids. *Arch Physiol Biochem.* 1999 Apr;107(2):97-112
- Groux H, Cottrez F, Rouleau M, Mauze S, Antonenko S, Hurst S, McNeil T, Bigler M, Roncarolo MG, Coffman RL. A transgenic model to analyze the immunoregulatory role of IL-10 secreted by antigen-presenting cells. *J Immunol.* 1999 Feb 1;162(3):1723-9
- Grünig G, Corry DB, Leach MW, Seymour BW, Kurup VP, Rennick DM. Interleukin-10 is a natural suppressor of cytokine production and inflammation in a murine model of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Exp Med.* 1997 Mar 17;185(6):1089-99
- Guz A, Trenchard D. Role of non-myelinated vagal afferent fibres from the lungs in the tachypnoeic response to pulmonary micro-embolism in the rabbit. *J Physiol.* 1970 Sep;210(1):63P-64P.
- Hall JE, Guyton AC, Brands MW. Pressure-volume regulation in hypertension. *Kidney Int Suppl.* 1996 Jun;55:S35-41
- Hall RC, Hodge RL. Vasoactive hormones in endotoxin shock: a comparative study in cats and dogs. *J Physiol.* 1971 Feb;213(1):69-84
- Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, Gelfand EW. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Sep;156:766-75
- Han B, Bai XH, Lodyga M, et al. Conversion of mechanical force into biochemical signaling. *J Biol Chem.* 2004;279:54793-54801
- Hara M, Kingsley CI, Niimi M, Read S, Turvey SE, Bushell AR, Morris PJ, Powrie F, Wood KJ. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo. *J Immunol.* 2001 Mar 15;166(6):3789-96.
- Hashimoto M. Characterization and mechanism of fever induction by interleukin-1 beta. *Pflugers Arch.* 1991 Dec;419(6):616-21
- Haskó G, Elenkov IJ, Vizi ES. Presynaptic receptors involved in the modulation of release of noradrenaline from the sympathetic nerve terminals of the rat thymus. *Immunol Lett.* 1995 Jul-Aug;47(1-2):133-7
- Haskó G, Szabó C. Regulation of cytokine and chemokine production by transmitters and co-transmitters of the autonomic nervous system. *Biochem Pharmacol.* 1998 Nov 1;56(9):1079-87
- Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* (1985). 2001 Aug;91(2):534-51

Hickey MJ, Issekutz AC, Reinhardt PH, Fedorak RN, Kubes P. Endogenous interleukin-10 regulates hemodynamic parameters, leukocyte-endothelial cell interactions, and microvascular permeability during endotoxemia. *Circ Res.* 1998 Nov 30;83(11):1124-31

Hillas G, Perlikos F, Toumpanakis D, et al. Controlled mechanical ventilation attenuates the systemic inflammation of severe chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193:696–698

Hocke AC, Ermert M, Althoff A, Brell B, N'Guessan PD, Suttorp N, and Ermert L. Regulation of interleukin IL-4, IL-13, IL-10, and their downstream components in lipopolysaccharide-exposed rat lungs. Comparison of the constitutive expression between rats and humans. *Cytokine* 2006 33: 199-211

Hofstetter AO, Herlenius E. Interleukin-1beta depresses hypoxic gasping and autoresuscitation in neonatal DBA/11acJ mice. *Respir Physiol Neurobiol.* 2005 Apr 15;146(2-3):135-46

Hofstetter AO, Saha S, Siljehav V, Jakobsson PJ, Herlenius E. The induced prostaglandin E2 pathway is a key regulator of the respiratory response to infection and hypoxia in neonates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Jun 5;104(23):9894-9

Hogg JC, Timens W. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Pathol.* 2009;4:435–459

Howard M, Grimaldi JC, Bazan JF, Lund FE, Santos-Argumedo L, Parkhouse RM, Walseth TF, Lee HC. Formation and hydrolysis of cyclic ADP-ribose catalyzed by lymphocyte antigen CD38. *Science.* 1993 Nov 12;262(5136):1056-9

Huhn RD, Radwanski E, Gallo J, Affrime MB, Sabo R, Gonyo G, Monge A, Cutler DL. Pharmacodynamics of subcutaneous recombinant human interleukin-10 in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 1997 Aug;62(2):171-80

Huhn RD, Radwanski E, O'Connell SM, Sturgill MG, Clarke L, Cody RP, Affrime MB, and Cutler DL. Pharmacokinetics and immunomodulatory properties of intravenously administered recombinant human interleukin-10 in healthy volunteers. *Blood* 1996 87: 699-705

Hulshof S, Montagne L, De Groot CJ, and Van Der Valk P. Cellular localization and expression patterns of interleukin-10, interleukin-4, and their receptors in multiple sclerosis lesions. *Glia* 38: 24-35, 2002

Hussain SN, Magder S, Chatillon A, Roussos C. Chemical activation of thin-fiber phrenic afferents: respiratory responses. *J Appl Physiol* (1985). 1990 Sep;69(3):1002-11

Ian J. Bristol BA, Michael Mahler, D.V.M., Edward H. Leiter. Interleukin-10 gene targeted mutation

lorente L, Richaud-Patin Y, Garcia-Padilla C, Claret E, Jakez-Ocampo J, Cardiel MH, Alcocer-Varela J, Grangeot-Keros L, Alarcon-Segovia D, Wijdenes J, Galanaud P, and Emilie D. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000 43: 1790-1800

Irvin CG, Bates JH. Measuring the lung function in the mouse: the challenge of size. *Respir Res.* 2003;4:4

- Ishida H, Hastings R, Kearney J, Howard M. 1992. Continuous anti-interleukin 10 antibody administration depletes mice of Ly-1 B cells but not conventional B cells. *J Exp Med*. 175:1213-20
- Ishida H, Shinohara H, Amabe Y, Tojo H, Nagata T, Wakano Y. Effects of interleukin 1 beta, tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta on group II phospholipase A2 activity in rat gingival fibroblasts. *J Periodontal Res*. 1993 Nov;28(6 Pt 2):517-20
- J Cartmell T, Poole S, Turnbull AV, Rothwell NJ, Luheshi GN. Circulating interleukin-6 mediates the febrile response to localised inflammation in rats. *Physiol*. 2000 Aug 1;526 Pt 3:653-61
- Jaalouk DE, Lammerding J. Mechanotransduction gone awry. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;10:63–73
- Jacky JP. Barometric measurement of tidal volume: effects of pattern and nasal temperature. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1980 Aug;49:319-25
- Jammes Y, Buchler B, Delpierre S, Rasidakis A, Grimaud C, and Roussos C. Phrenic afferents and their role in inspiratory control. *J Appl Physiol* 1986 60: 854-860
- Jansen PM van der Pouw Kraan TC, de Jong IW, van Mierlo G, Wijdenes J, Chang AA, Aarden LA, Taylor FB Jr, Hack CE. Release of interleukin-12 in experimental Escherichia coli septic shock in baboons: relation to plasma levels of interleukin-10 and interferon-gamma. *Blood*. 1996 Jun 15;87(12):5144-51
- Jiang S, Shan F, Zhang Y, Jiang L, and Cheng Z. Increased serum IL-17 and decreased serum IL-10 and IL-35 levels correlate with the progression of COPD. *International Journal of COPD* 2018: 2843-2494
- Jiang TX, Reid WD, Road JD. Delayed diaphragm injury and diaphragm force production. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Mar;157(3 Pt 1):736-42
- Jiang TX, Reid WD, Road JD. Free radical scavengers and diaphragm injury following inspiratory resistive loading. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Oct 1;164(7):1288-94
- Jinguan T, Larsen CG, Gesser B, Matsushima K, Thestrup-Pedersen K. 1993. Human IL-10 is a chemoattractant for CD8+ T lymphocyte migration. *J. Immunol*. 151:4545-51
- John M, Lim S, Seybold J, Jose P, Robichaud A, O'Connor B, Barnes PJ, Chung KF. Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1alpha, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon-gamma release from alveolar macrophages in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jan;157(1):256-62
- Kahlin J, Mkrtchian S, Ebberyd A, Hammarstedt-Nordenvall L, Nordlander B, Yoshitake T, Kehr J, Prabhakar N, Poellinger L, Fagerlund MJ, and Eriksson LI. The human carotid body releases acetylcholine, ATP and cytokines during hypoxia. *Exp Physiol* 2014 99: 1089-1098
- Kahlke V, Dohm C, Mees T, Brötzmann K, Schreiber S, Schröder J. Early interleukin-10 treatment improves survival and enhances immune function only in males after hemorrhage and subsequent sepsis. *Shock*. 2002 Jul;18(1):24-8
- Kambayashi T, Jacob CO, Zhou D, Mazurek N, Fong M, Strassmann G. Cyclic nucleotide phosphodiesterase type IV participates in the regulation of IL-10 and in the subsequent inhibition of TNF-alpha and IL-6 release by endotoxin-stimulated macrophages. *J Immunol*. 1995 Nov 15;155(10):4909-16

- Kami K, Senba E. Localization of leukemia inhibitory factor and interleukin-6 messenger ribonucleic acids in regenerating rat skeletal muscle. *Muscle Nerve*. 1998 Jun;21(6):819-22
- Kamm K, Vanderkolk W, Lawrence C, Jonker M, and Davis AT. The effect of traumatic brain injury upon the concentration and expression of interleukin-1beta and interleukin-10 in the rat. *J Trauma* 2006 60: 152-157
- Kasama T, Strieter RM, Lukacs NW, Burdick MD, Kunkel SL. 1994. Regulation of neutrophil-derived chemokine expression by IL-10. *J. Immunol*. 152:3559-69
- Kastin AJ, Akerstrom V, and Pan W. Interleukin-10 as a CNS therapeutic: the obstacle of the blood-brain/blood-spinal cord barrier. *Brain Res Mol Brain Res* 2003 114: 168-171
- Katsaounou P, Karatza MH, Kollintza A, et al. The immune response to strenuous resistive brathing (abstract). *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: A621
- Ke Y, Kapp LM, Kapp JA. Inhibition of tumor rejection by gammadelta T cells and IL-10. *Cell Immunol*. 2003 Feb;221(2):107-14
- Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK, Neufer PD. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J*. 2001 Dec;15(14):2748-50. Epub 2001 Oct 29
- Keystone E, Wherry J, Grint P. IL-10 as a therapeutic strategy in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 1998 ;24(3):629-39
- Klausen T, Olsen NV, Poulsen TD, Richalet JP, Pedersen BK. Hypoxemia increases serum interleukin-6 in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1997;76(5):480-2
- Klein BD, White HS, Callahan KS. Cytokine and intracellular signaling regulation of tissue factor expression in astrocytes. *Neurochem Int*.2000 36:441-9
- Koechlin C, Couillard A, Cristol JP, Chanez P, Hayot M, Le Gallais D, Préfaut C. Does systemic inflammation trigger local exercise-induced oxidative stress in COPD? *Eur Respir J*. 2004 Apr;23(4):538-44
- Kotenko SV, Izotova LS, Pollack BP, Muthukumaran G, Pauku K, Silvennoinen O, Ihle JN, Pestka S. 1996. Other kinases can substitute for Jak2 in signal transduction by interferon-gamma. *J Biol Chem*. 271:17174-82
- Kreuzer F, Tenney SM, Mithoefer JC, Remmers J. Alveolar-arterial oxygen gradient in Andean native at high altitude. *J Appl Physiol*. 1964 Jan;19:13-6
- Krueger JM, Obál F Jr, Kapás L, Fang J. Brain organization and sleep function. *Behav Brain Res*. 1995 Jul-Aug;69(1-2):177-85
- Krueger JM, Obál FJ, Fang J, Kubota T, Taishi P. The role of cytokines in physiological sleep regulation. *Ann N Y Acad Sci*. 2001 Mar;933:211-21
- Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*. 1993 Oct 22;75(2):263-74

Kumar A, Zanotti S, Bunnell G, Habet K, Anel R, Neumann A, Cheang M, Dinarello CA, Cutler D, and Parrillo JE. Interleukin-10 blunts the human inflammatory response to lipopolysaccharide without affecting the cardiovascular response. *Crit Care Med* 2005 33: 331-340

Kurek JB, Nouri S, Kannourakis G, Murphy M, Austin L. Leukemia inhibitory factor and interleukin-6 are produced by diseased and regenerating skeletal muscle. *Muscle Nerve*. 1996 Oct;19(10):1291-301

Layé S, Goujon E, Combe C, VanHoy R, Kelley KW, Parnet P, Dantzer R. Effects of lipopolysaccharide and glucocorticoids on expression of interleukin-1 beta converting enzyme in the pituitary and brain of mice. *J Neuroimmunol*. 1996 Aug;68(1-2):61-6

Lehmann AK, Halstensen A, Sørnes S, Røkke O, Waage A. High levels of interleukin 10 in serum are associated with fatality in meningococcal disease. *Infect Immun*. 1995 Jun;63(6):2109-12

Leon LR, Kozak W, Rudolph K, and Kluger MJ. An antipyretic role for interleukin-10 in LPS fever in mice. *Am J Physiol* 1999 276: R81-89

Levings MK, Sangregorio R, Sartirana C, Moschin AL, Battaglia M, Orban PC, Roncarolo MG. Human CD25+CD4+ T suppressor cell clones produce transforming growth factor beta, but not interleukin 10, and are distinct from type 1 T regulatory cells. *J Exp Med*. 2002 Nov 18;196(10):1335-46

Levy Y, Brouet JC. 1994. Interleukin-10 prevents spontaneous death of germinal center B cells by induction of the bcl-2 protein. *J Clin Invest*. 93:424-8.

Li HF, and Yu J. Airway chemosensitive receptors in vagus nerve perform neuro-immune interaction for lung-brain communication. *Adv Exp Med Biol* 2009 648: 421-426

Li X, Moody MR, Engel D, Walker S, Clubb FJ Jr, Sivasubramanian N, Mann DL, Reid MB. Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha causes oxidative stress and contractile dysfunction in mouse diaphragm. *Circulation*. 2000 Oct 3;102(14):1690-6

Li YP, Lecker SH, Chen Y, Waddell ID, Goldberg AL, Reid MB. TNF-alpha increases ubiquitin-conjugating activity in skeletal muscle by up-regulating UbcH2/E220k. *FASEB J*. 2003 Jun;17(9):1048-57

Liva SM, Voskuhl RR. Testosterone acts directly on CD4+ T lymphocytes to increase IL-10 production. *J Immunol*. 2001 Aug 15;167(4):2060-7

Llovera M, Carbó N, López-Soriano J, García-Martínez C, Busquets S, Alvarez B, Agell N, Costelli P, López-Soriano FJ, Celada A, Argilés JM. Different cytokines modulate ubiquitin gene expression in rat skeletal muscle. *Cancer Lett*. 1998 Nov 13;133(1):83-7

Loverdos K, Toumpanakis D, Litsiou E, et al. The differential effects of inspiratory, expiratory, and combined resistive breathing on healthy lung. *Int J COPD*. 2016;11(1):1623–1638

Luheshi GN, Stefferl A, Turnbull AV, Dascombe MJ, Brouwer S, Hopkins SJ, Rothwell NJ Febrile response to tissue inflammation involves both peripheral and brain IL-1 and TNF-alpha in the rat. *Am J Physiol*. 1997 Mar;272(3 Pt 2):R862-8

Macatonia SE, Doherty TM, Knight SC, O'Garra A. 1993. Differential effect of IL-10 on dendritic cell-induced T cell proliferation and IFN- γ production. *J. Immunol*. 150:3755-65

- Maeda H, Kuwahara H, Ichimura Y, Ohtsuki M, Kurakata S, Shiraishi A. TGF-beta enhances macrophage ability to produce IL-10 in normal and tumor-bearing mice. *J Immunol.* 1995 Nov 15;155(10):4926-32
- Maini RN, Taylor PC. Anti-cytokine therapy for rheumatoid arthritis. *Annu Rev Med.* 2000;51:207-29
- Mäkelä MJ, Kanehiro A, Borish L, Dakhama A, Loader J, Joetham A, Xing Z, Jordana M, Larsen GL, Gelfand EW. IL-10 is necessary for the expression of airway hyperresponsiveness but not pulmonary inflammation after allergic sensitization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 May 23;97(11):6007-12
- Madden CJ, and Morrison SF. Hypoxic activation of arterial chemoreceptors inhibits sympathetic outflow to brown adipose tissue in rats. *J Physiol* 2005 566: 559-573
- Makris D, Moschandreas J, Damianaki A, et al. Exacerbations and lung function decline in COPD: new insights in current and ex-smokers. *Respir Med.* 2007;101:1305–1312
- Manning HL, Molinary EJ, Leiter JC. Effect of inspiratory flow rate on respiratory sensation and pattern of breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995 Mar;151(3 Pt 1):751-7
- Manning HL, Basner R, Ringler J, Rand C, Fencl V, Weinberger SE, Weiss JW, Schwartzstein RM. Effect of chest wall vibration on breathlessness in normal subjects. *J Appl Physiol* (1985). 1991 Jul;71(1):175-81
- Marchant A1, Alegre ML, Hakim A, Piérard G, Marécaux G, Friedman G, De Groote D, Kahn RJ, Vincent JL, Goldman M. Clinical and biological significance of interleukin-10 plasma levels in patients with septic shock. *J Clin Immunol.* 1995 Sep;15(5):266-73
- Marshall JS, Leal-Berumen I, Nielsen L, Glibetic M, Jordana M. Interleukin (IL)-10 inhibits long-term IL-6 production but not preformed mediator release from rat peritoneal mast cells. *J Clin Invest.* 1996 Feb 15;97(4):1122-8
- Mastorakos G, Chrousos GP, Weber JS. Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993 Dec;77(6):1690-4
- McDonald DM, Mitchell RA. The neural pathway involved in "efferent inhibition" of chemoreceptors in the cat carotid body. *J Comp Neurol.* 1981 Sep 20;201(3):457-76
- McHutchison JG, Giannelli G, Nyberg L, Blatt LM, Waite K, Mischkot P, Pianko S, Conrad A, Grint P. A pilot study of daily subcutaneous interleukin-10 in patients with chronic hepatitis C infection. *J Interferon Cytokine Res.* 1999 Nov;19(11):1265-70
- Merrill JE. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines in multiple sclerosis and central nervous system acquired immunodeficiency syndrome. *J Immunother* (1991). 1992 Oct;12(3):167-70
- Milic-Emili J, Grunstein MM. Drive and timing components of ventilation. *Chest.* 1976 Jul;70(1 Suppl): 131-3
- MohanKumar SM1, MohanKumar PS, Quadri SK. Specificity of interleukin-1beta-induced changes in monoamine concentrations in hypothalamic nuclei: blockade by interleukin-1 receptor antagonist. *Brain Res Bull.* 1998 Sep 1;47(1):29-34

- Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:683-765
- Moore KW, Vieira P, Fiorentino DF, Troustine ML, Khan TA, Mosmann TR. 1990. Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to the Epstein-Barr virus gene BCRF1. *Science* 248:1230-34
- Morgan BJ, Adrian R, Bates ML, Dopp JM, and Dempsey JA. Quantifying hypoxia-induced chemoreceptor sensitivity in the awake rodent. *J Appl Physiol* (1985)2014 117: 816-824
- Mortola JP, and Frappell PB. Measurements of air ventilation in small vertebrates. *Respir Physiol Neurobiol* 2013 186: 197-205
- Mortola JP, and Frappell PB. On the barometric method for measurements of ventilation, and its use in small animals. *Can J Physiol Pharmacol* 1998 76: 937-944
- Mosevoll KA, Skrede S, Markussen DL, Fanebust HR, Flaatten HK, Assmus J, Reikvam H, and Bruserud O. Inflammatory Mediator Profiles Differ in Sepsis Patients with and Without Bacteremia. *Front Immunol* 2018 9: 691
- Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 1986 Apr 1;136(7):2348-57
- Mulligan MS, Warner RL, Foreback JL, Shanley TP, Ward PA. Protective effects of IL-4, IL-10, IL-12, and IL-13 in IgG immune complex-induced lung injury: role of endogenous IL-12. *J Immunol.* 1997 Oct 1;159(7):3483-9
- Murray PJ, Young RA. 1999. Increased antimycobacterial immunity in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun.* 67:3087-95
- Nadeau S, Rivest S. Role of microglial-derived tumor necrosis factor in mediating CD14 transcription and nuclear factor kappa B activity in the brain during endotoxemia. *J Neurosci.* 2000 May 1;20(9):3456-68
- Nagaeva O, Jonsson L, Mincheva-Nilsson L. Dominant IL-10 and TGF-beta mRNA expression in gammadeltaT cells of human early pregnancy decidua suggests immunoregulatory potential. *Am J Reprod Immunol.* 2002 Jul;48(1):9-17
- Naka T, Tsutsui H, Fujimoto M, Kawazoe Y, Kohzaki H, Morita Y, Nakagawa R, Narazaki M, Adachi K, Yoshimoto T, Nakanishi K, Kishimoto T. SOCS-1/SSI-1-deficient NKT cells participate in severe hepatitis through dysregulated cross-talk inhibition of IFN-gamma and IL-4 signaling in vivo. *Immunity.* 2001 May;14(5):535-45
- Nava S, Zanotti E, Rubini F. Weaning and outcome from mechanical ventilation. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1994 Dec;49(6):530-2
- Neidhardt R, Keel M, Steckholzer U, Safret A, Ungethuem U, Trentz O, Ertel W. Relationship of interleukin-10 plasma levels to severity of injury and clinical outcome in injured patients. *J Trauma.* 1997 May;42(5):863-70; discussion 870-1
- Ni L, Chuang CC, Zuo L. Fine particulate matter in acute exacerbation of COPD. *Front Physiol.* 2015;6:294

- Niemand C, Nimmesgern A, Haan S, Fischer P, Schaper F, Rossaint R, Heinrich PC, Müller-Newen G. Activation of STAT3 by IL-6 and IL-10 in primary human macrophages is differentially modulated by suppressor of cytokine signaling 3. *J Immunol.* 2003 Mar 15;170(6):3263-72
- Nishigori C, Yarosh DB, Ullrich SE, Vink AA, Bucana CD, Roza L, Kripke ML. Evidence that DNA damage triggers interleukin 10 cytokine production in UV-irradiated murine keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 17;93(19):10354-9
- O'Garra A, Stapleton G, Dhar V, Pearce M, Schummacher J, et. al. 1990. Production of cytokines by mouse B cells: B lymphomas and normal B cells produce interleukin 10. *Int. Immunol.* 2:821-32
- Ohashi K, Saigusa T. Sympathetic nervous responses during cytokine-induced fever in conscious rabbits. *Pflugers Arch.* 1997 Apr;433(6):691-8
- Oh-ishi S, Kizaki T, Ookawara T, Sakurai T, Izawa T, Nagata N, Ohno H. Endurance training improves the resistance of rat diaphragm to exercise-induced oxidative stress. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Nov;156(5):1579-85
- Okada AA, Keino H, Suzuki J, Sakai J, Usui M, Mizuguchi J. Kinetics of intraocular cytokines in the suppression of experimental autoimmune uveoretinitis by type I IFN. *Int Immunol.* 1998 Dec;10(12):1917-22
- Olsson A, Kayhan G, Lagercrantz H, Herlenius E. IL-1 beta depresses respiration and anoxic survival via a prostaglandin-dependent pathway in neonatal rats. *Pediatr Res.* 2003 Sep;54(3):326-31
- Olszyna DP, Pajkrt D, Lauw FN, van Deventer SJ, van Der Poll T. Interleukin 10 inhibits the release of CC chemokines during human endotoxemia. *J Infect Dis.* 2000 Feb;181(2):613-20
- Onimaru H, Homma I. A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. *J Neurosci.* 2003 Feb 15;23(4):1478-86
- Orange JS, Salazar-Mather TP, Opal SM, Spencer RL, Miller AH, McEwen BS, Biron CA. Mechanism of interleukin 12-mediated toxicities during experimental viral infections: role of tumor necrosis factor and glucocorticoids. *J Exp Med.* 1995 Mar 1;181(3):901-14
- Orozco-Levi M, Lloreta J, Minguella J, Serrano S, Broquetas JM, Gea J. Injury of the human diaphragm associated with exertion and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Nov 1;164(9):1734-9
- Pagliardini S, Greer JJ, Funk GD, Dickson CT. State-dependent modulation of breathing in urethane-anesthetized rats. *J Neurosci.* 2012 Aug 15;32(33):11259-70
- Paintal AS., Dickinson CJ. Stimulation of type-J pulmonary receptors in the cat by carbon dioxide. *Clin Sci.* 1970 May;38(5):33P
- Pajkrt D, Manten A, van der Poll T, Tiel-van Buul MM, Jansen J, Wouter ten Cate J, van Deventer SJ. Modulation of cytokine release and neutrophil function by granulocyte colony-stimulating factor during endotoxemia in humans. *Blood.* 1997 Aug 15;90(4):1415-24
- Palamarchouk VS, Zhang J, Zhou G, Swiergiel AH, Dunn AJ. Hippocampal norepinephrine-like voltammetric responses following infusion of corticotropin-releasing factor into the locus coeruleus. *Brain Res Bull.* 2000 Mar 1;51(4):319-26

- Papadakis KA, Targan SR. Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annu Rev Med.* 2000;51:289-98
- Papiernik M, de Moraes ML, Pontoux C, Vasseur F, Pénit C. Regulatory CD4 T cells: expression of IL-2R alpha chain, resistance to clonal deletion and IL-2 dependency. *Int Immunol.* 1998 Apr;10(4):371-8
- Pastores SM, Hasko G, Vizi ES, Kvetan V. Cytokine production and its manipulation by vasoactive drugs. *New Horiz.* 1996 May;4(2):252-64
- Patel P, Walborn A, Rondina M, Fareed J, and Hoppensteadt D. Markers of Inflammation and Infection in Sepsis and Disseminated Intravascular Coagulation. *Clin Appl Thromb Hemost* 2019 25: 1076029619843338
- Paton JF, Dutschmann M. Central control of upper airway resistance regulating respiratory airflow in mammals. *J Anat.* 2002 Oct;201(4):319-23
- Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev.* 2000 Jul;80(3):1055-81.
- Pedersen BK, Ostrowski K, Rohde T, Bruunsgaard H. The cytokine response to strenuous exercise. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998 May;76(5):505-11
- Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol.* 2001 Oct 15;536(Pt 2):329-37
- Perguet-Navarro J, Moulon C, Caux C, Dalbiez-Gauthier C, Banchereau J, Schmitt D. 1994. Interleukin-10 inhibits the primary allogeneic T cell response to human epidermal Langerhans cells. *Eur. J. Immunol.* 24:884-91
- Perlstein RS, Whitnall MH, Abrams JS, Mougey EH, Neta R. Synergistic roles of interleukin-6, interleukin-1, and tumor necrosis factor in the adrenocorticotropin response to bacterial lipopolysaccharide in vivo. *Endocrinology.* 1993 Mar;132(3):946-52
- Pestka S, Krause CD, Sarkar D, Walter MR, Shi Y, Fisher PB. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:929-79
- Petrozzino JJ, Scardella AT, Edelman NH, Santiago TV. Respiratory muscle acidosis stimulates endogenous opioids during inspiratory loading. *Am Rev Respir Dis.* 1993 Mar;147(3):607-15
- Petrozzino JJ, Scardella AT, Santiago TV, Edelman NH. Dichloroacetate blocks endogenous opioid effects during inspiratory flow-resistive loading. *J Appl Physiol* (1985). 1992 Feb;72(2):590-6
- Phillipson EA, Hickey RF, Bainton CR, Nadel JA. Effect of vagal blockade on regulation of breathing in conscious dogs. *J Appl Physiol.* 1970 Oct;29(4):475-9
- Plata-Salamán CR1, Oomura Y, Kai Y. Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta: suppression of food intake by direct action in the central nervous system. *Brain Res.* 1988 May 10;448(1):106-14.
- Preas HL 2nd, Jubran A, Vandivier RW, Reda D, Godin PJ, Banks SM, Tobin MJ, Suffredini AF. Effect of endotoxin on ventilation and breath variability: role of cyclooxygenase pathway. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Aug 15;164(4):620-6

- Purro A, Appendini L, De GA, et al. Physiologic determinants of ventilator dependence in long-term mechanically ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:1115–1123
- Quan N, Zhang Z, Emery M, Bonsall R, Weiss JM. Detection of interleukin-1 bioactivity in various brain regions of normal healthy rats. *Neuroimmunomodulation.* 1996 Jan-Feb;3(1):47-55.
- Quinn TJ, Taylor S, Wohlford-Lenane CL, Schwartz DA. IL-10 reduces grain dust-induced airway inflammation and airway hyperreactivity. *J Appl Physiol* (1985). 2000 Jan;88(1):173-9
- Rabinovich RA, Figueras M, Ardite E, Carbó N, Troosters T, Filella X, Barberà JA, Fernandez-Checa JC, Argilés JM, Roca J. Increased tumour necrosis factor-alpha plasma levels during moderate-intensity exercise in COPD patients. *Eur Respir J.* 2003 May;21(5):789-94
- Radwanski E, Chakraborty A, Van Wart S, Huhn RD, Cutler DL, Affrime MB, Jusko WJ. Pharmacokinetics and leukocyte responses of recombinant human interleukin-10. *Pharm Res.* 1998 Dec;15(12):1895-901
- Ramana CV, Gil MP, Han Y, Ransohoff RM, Schreiber RD, Stark GR. Stat1-independent regulation of gene expression in response to IFN-gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Jun 5;98(12):6674-9
- Ramana CV, Grammatikakis N, Chernov M, Nguyen H, Goh KC, Williams BR, Stark GR. Regulation of c-myc expression by IFN-gamma through Stat1-dependent and -independent pathways. *EMBO J.* 2000 Jan 17;19(2):263-72
- Reid MB, Lännergren J, Westerblad H. Respiratory and limb muscle weakness induced by tumor necrosis factor-alpha: involvement of muscle myofilaments. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Aug 15;166(4):479-84
- Reid MB, Li YP. Tumor necrosis factor-alpha and muscle wasting: a cellular perspective. *Respir Res.* 2001;2(5):269-72. Epub 2001 Jul 12
- Reid MB. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* (1985). 2001 Feb;90(2):724-31
- Reid WD, Belcastro AN. Time course of diaphragm injury and calpain activity during resistive loading. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Nov;162(5):1801-6
- Rekling JC, Feldman JL. PreBötzinger complex and pacemaker neurons: hypothesized site and kernel for respiratory rhythm generation. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:385-405
- Riley JK, Takeda K, Akira S, Schreiber RD. Interleukin-10 receptor signaling through the JAK-STAT pathway. Requirement for two distinct receptor-derived signals for anti-inflammatory action. *J Biol Chem.* 1999 Jun 4;274(23):16513-21
- Rivas JM, Ullrich SE. The role of IL-4, IL-10, and TNF-alpha in the immune suppression induced by ultraviolet radiation. *J Leukoc Biol.* 1994 Dec;56(6):769-75
- Rivest S, Lacroix S, Vallières L, Nadeau S, Zhang J, Laflamme N. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med.* 2000 Jan;223(1):22-38

- Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med.* 1992 Jan 30;326(5):298-304
- Rogy MA, Auffenberg T, Espat NJ, Philip R, Remick D, Wollenberg GK, Copeland EM 3rd, Moldawer LL. Human tumor necrosis factor receptor (p55) and interleukin 10 gene transfer in the mouse reduces mortality to lethal endotoxemia and also attenuates local inflammatory responses. *J Exp Med.* 1995 Jun 1;181(6):2289-93
- Rothwell NJ. Annual review prize lecture cytokines - killers in the brain? *J Physiol.* 1999 Jan 1;514 (Pt 1):3-17
- Roussos C, and Koutsoukou A. Respiratory failure. *Eur Respir J Suppl* 2003 47: 3s-14s
- Roussos CS, Macklem PT. Diaphragmatic fatigue in man. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1977 Aug;43(2):189-97
- Roytblat L, Rachinsky M, Fisher A, Greemberg L, Shapira Y, Douvdevani A, Gelman S. Raised interleukin-6 levels in obese patients. *Obes Res.* 2000 Dec;8(9):673-5.
- Sacoccio C, Dornand J, Barbanel G. Differential regulation of brain and plasma TNFalpha produced after endotoxin shock. *Neuroreport.* 1998 Jan 26;9(2):309-13
- Sampson SR, Nicolaysen G, Jaffe RA. Influence of centrifugal sinus nerve activity on carotid body catecholamines: microphotometric analysis of formaldehyde-induced fluorescence. *Brain Res.* 1975 Mar 7;85(3):437-46
- Sant'Ambrogio G. Nervous receptors of the tracheobronchial tree. *Annu Rev Physiol.* 1987;49:611-27
- Santiago TV, Remolina C, Scoles V 3rd, Edelman NH. Endorphins and the control of breathing. Ability of naloxone to restore flow-resistive load compensation in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 1981 14;304(20):1190-5
- Scardella AT, Eldeman NH. Central fatigue in respiratory control. In: Charis Roussos, ed. *The thorax.* New York, Marcel Dekker Inc., 1995; pp.1007-25
- Scardella AT, Parisi RA, Phair DK, Santiago TV, Edelman NH. The role of endogenous opioids in the ventilatory response to acute flow-resistive loads. *Am Rev Respir Dis.* 1986 Jan;133(1):26-31
- Scardella AT, Santiago TV, Edelman NH. Naloxone alters the early response to an inspiratory flow-resistive load. *J Appl Physiol* (1985). 1989 Nov;67(5):1747-53
- Schafers M, Geis C, Svensson CI, Luo ZD, and Sommer C. Selective increase of tumour necrosis factor-alpha in injured and spared myelinated primary afferents after chronic constrictive injury of rat sciatic nerve. *Eur J Neurosci* 2003 17: 791-804
- Schottelius AJ, Mayo MW, Sartor RB, Baldwin AS Jr. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kappaB kinase activity and nuclear factor kappaB DNA binding. *J Biol Chem.* 1999 Nov 5;274(45):31868-74
- Seddon B. The physiological role of regulatory T cells in the prevention of autoimmunity: generation, specificity and mode of action. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2000;48(5):339-45

Sewnath ME, Olszyna DP, Birjmohun R, ten Kate FJ, Gouma DJ, van Der Poll T. 2001. IL-10-deficient mice demonstrate multiple organ failure and increased mortality during *Escherichia coli* peritonitis despite an accelerated bacterial clearance. *J Immunol.* 166:6323-31

Seymour BW1, Friebertshauer KE, Peake JL, Pinkerton KE, Coffman RL, Gershwin LJ. Gender differences in the allergic response of mice neonatally exposed to environmental tobacco smoke. *Dev Immunol.* 2002 Mar;9(1):47-54

Shames BD, Selzman CH, Meldrum DR, Pulido EJ, Barton HA, Meng X, Harken AH, McIntyre RC Jr. Interleukin-10 stabilizes inhibitory kappaB-alpha in human monocytes. *Shock.* 1998 Dec;10(6):389-94

Shevach EM. Regulatory T cells in autoimmunity. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:423-49

Shimizu N, Hori T, Nakane H. An interleukin-1 beta-induced noradrenaline release in the spleen is mediated by brain corticotropin-releasing factor: an in vivo microdialysis study in conscious rats. *Brain Behav Immun.* 1994 Mar;8(1):14-23

Shu HF, Wang BR, Wang SR, Yao W, Huang HP, Zhou Z, Wang X, Fan J, Wang T, and Ju G. IL-1beta inhibits IK and increases $[Ca^{2+}]_i$ in the carotid body glomus cells and increases carotid sinus nerve firings in the rat. *Eur J Neurosci* 2007 25: 3638-3647

Shuai K, Schindler C, Prezioso VR, Darnell JE Jr. Activation of transcription by IFN-gamma: tyrosine phosphorylation of a 91-kD DNA binding protein. *Science.* 1992 Dec 11;258(5089):1808-12

Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, Allen R, Sidman C, Proetzel G, Calvin D, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992 Oct 22;359(6397):693-9

Sigala I, Zacharatos P, Toumpanakis D, et al. MAPKs and NF-kappaB differentially regulate cytokine expression in the diaphragm in response to resistive breathing: the role of oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011;300:R1152–R1162

Sigala I, Zacharatos P, Boulia S, et al. Nitric oxide regulates cytokine induction in the diaphragm in response to inspiratory resistive breathing. *J Appl Physiol (1985).* 2012;113:1594–1603

Smith JC, Greer JJ, Liu GS, Feldman JL. Neural mechanisms generating respiratory pattern in mammalian brain stem-spinal cord in vitro. I. Spatiotemporal patterns of motor and medullary neuron activity. *J Neurophysiol.* 1990 Oct;64(4):1149-69

Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL. Pre-Bötzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science.* 1991 Nov 1;254(5032):726-9.

Sozzani S, Ghezzi S, Iannolo G, Luini W, Borsatti A, Polentarutti N, Sica A, Locati M, Mackay C, Wells TN, Biswas P, Vicenzi E, Poli G, Mantovani A. 1998. Interleukin 10 increases CCR5 expression and HIV infection in human monocytes. *J Exp Med.* 187:439-44

Sperlágh B, Haskó G, Németh Z, Vizi ES. ATP released by LPS increases nitric oxide production in raw 264.7 macrophage cell line via P2Z/P2X7 receptors. *Neurochem Int.* 1998 Sep;33(3):209-15

Stämpfli MR, Cwiartka M, Gajewska BU, Alvarez D, Ritz SA, Inman MD, Xing Z, Jordana M. Interleukin-10 gene transfer to the airway regulates allergic mucosal sensitization in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1999 Nov;21(5):586-96

- Standiford TJ1, Strieter RM, Lukacs NW, Kunkel SL. Neutralization of IL-10 increases lethality in endotoxemia. Cooperative effects of macrophage inflammatory protein-2 and tumor necrosis factor. *J Immunol.* 1995 Aug 15;155(4):2222-9
- Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J.* 2003 May;17(8):884-6
- Stearns ME, Hu Y, Wang M. IL-10 signaling via IL-10E1 is dependent on tyrosine phosphorylation in the IL-10R alpha chain in human primary prostate cancer cell lines. *Oncogene.* 2003 Jun 12;22(24):3781-91
- Steinbrink K, Jonuleit H, Müller G, Schuler G, Knop J, Enk AH. Interleukin-10-treated human dendritic cells induce a melanoma-antigen-specific anergy in CD8(+) T cells resulting in a failure to lyse tumor cells. *Blood.* 1999 Mar 1;93(5):1634-42
- Steinhauser ML, Hogaboam CM, Kunkel SL, Lukacs NW, Strieter RM, Standiford TJ. IL-10 is a major mediator of sepsis-induced impairment in lung antibacterial host defense. *J Immunol.* 1999 Jan 1;162(1):392-9
- Straub RH, Westermann J, Schölmerich J, Falk W. Dialogue between the CNS and the immune system in lymphoid organs. *Immunol Today.* 1998 ;19(9):409-13
- Streilein JW, Okamoto S, Hara Y, Kosiewicz M, Ksander B. Blood-borne signals that induce anterior chamber-associated immune deviation after intracameral injection of antigen. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997 ;38(11):2245-54
- Stuart SA, and Robinson ES. Reducing the stress of drug administration: implications for the 3Rs. *Sci Rep* 2015 5: 14288
- Sundstedt A, Höiden I, Rosendahl A, Kalland T, van Rooijen N, Dohlsten M. Immunoregulatory role of IL-10 during superantigen-induced hyporesponsiveness in vivo. *J Immunol.* 1997 Jan 1;158(1):180-6
- Surprenant A, Rassendren F, Kawashima E, North RA, Buell G. The cytolytic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). *Science.* 1996 May 3;272(5262):735-8
- Swiergiel AH, Dunn AJ, Stone EA. The role of cerebral noradrenergic systems in the Fos response to interleukin-1. *Brain Res Bull.* 1996;41(1):61-4
- Szelényi J. Cytokines and the central nervous system. *Brain Res Bull.* 2001 Mar 1;54(4):329-38
- Szelényi J1, Kiss JP, Vizi ES. Differential involvement of sympathetic nervous system and immune system in the modulation of TNF-alpha production by alpha2- and beta-adrenoceptors in mice. *J Neuroimmunol.* 2000 Feb 1;103(1):34-40
- Takayama T, Morelli AE, Onai N, Hirao M, Matsushima K, Tahara H, Thomson AW. 2001. Mammalian and viral IL-10 enhance C-C chemokine receptor 5 but down-regulate C-C chemokine receptor 7 expression by myeloid dendritic cells: impact on chemotactic responses and in vivo homing ability. *J Immunol.* 166:7136-43
- Tankersley CG, Elston RC, Schnell AH. Genetic determinants of acute hypoxic ventilation: patterns of inheritance in mice. *J Appl Physiol* (1985). 2000 Jun;88(6):2310-8

- Tankersley CG, Fitzgerald RS, Mitzner WA, Kleeberger SR. Hypercapnic ventilatory responses in mice differentially susceptible to acute ozone exposure. *J Appl Physiol* (1985). 1993 Dec;75(6):2613-9
- Toth LA, and Opp MR. Cytokine- and microbially induced sleep responses of interleukin-10 deficient mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001 280: R1806-1814
- Toumpanakis D, Kastis GA, Zacharatos P, Sigala I, Michailidou T, Kouvela M, Glynos C, Divangahi M, Roussos C, Theocharis SE, Vassilakopoulos T. Inspiratory resistive breathing induces acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Nov 1;182(9):1129-36
- Toumpanakis D, Noussia O, Sigala I, et al. Inspiratory resistive breathing induces MMP-9 and MMP-12 expression in the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;308:L683–L692
- Toumpanakis D, Zacharatos P, Michailidou T, Tsoukalas G, Vassilakopoulos T. The role of Src kinase in inspiratory resistive breathing-induced pulmonary inflammation. *Thorax*. 2015;70:A39
- Tournoy KG, Kips JC, Pauwels RA. 2000. Endogenous interleukin-10 suppresses allergen-induced airway inflammation and nonspecific airway responsiveness. *Clin Exp Allergy*. 30:775-83
- Tracey KJ. Understanding immunity requires more than immunology. *Nat Immunol* 2010 11: 561-564
- Trippenbach T. Pulmonary reflexes and control of breathing during development. *Biol Neonate*. 1994;65(3-4):205-10
- Tsujinaka T, Kishibuchi M, Yano M, Morimoto T, Ebisui C, Fujita J, Ogawa A, Shiozaki H, Kominami E, Monden M. Involvement of interleukin-6 in activation of lysosomal cathepsin and atrophy of muscle fibers induced by intramuscular injection of turpentine oil in mice. *J Biochem*. 1997 Sep;122(3):595-600
- Tumpey TM, Elnor VM, Chen SH, Oakes JE, Lausch RN. Interleukin-10 treatment can suppress stromal keratitis induced by herpes simplex virus type 1. *J Immunol*. 1994 Sep 1;153(5):2258-65
- Turnbull AV, Rivier CL. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev*. 1999 ;79(1):1-71
- Umetsu DT, DeKruyff RH. Interleukin-10: The missing link in asthma regulation? *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999 Nov;21(5):562-3
- Usacheva A, Kotenko S, Witte MM, Colamonici OR. 2002. Two distinct domains within the N-terminal region of Janus kinase 1 interact with cytokine receptors. *J Immunol*. 169:1302-8
- Usacheva A, Sandoval R, Domanski P, Kotenko SV, Nelms K, Goldsmith MA, Colamonici OR. 2002. Contribution of the Box 1 and Box 2 motifs of cytokine receptors to Jak1 association and activation. *J Biol Chem*. 277:48220-6
- van der Poll T, Jansen J, Levi M, ten Cate H, ten Cate JW, van Deventer SJ. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med*. 1994 Nov 1;180(5):1985-8
- Van der Poll T, Lowry SF. Epinephrine inhibits endotoxin-induced IL-1 beta production: roles of tumor necrosis factor-alpha and IL-10. *Am J Physiol*. 1997 Dec;273(6 Pt 2):R1885-90
- van Deventer SJ. Immunology in medical practice. IV. Inflammatory bowel diseases: pathogenic starting points for specific therapy. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 1997 Oct 11;141(41):1956-9

van Furth R. Human monocytes and cytokines. *Res Immunol.* 1998 Sep-Oct;149(7-8):719-20

van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Møller K, Saltin B, Febbraio MA, Pedersen BK. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 ;88(7):3005-10.

Van Laethem JL, Marchant A, Delvaux A, Goldman M, Robberecht P, Velu T, Devière J. Interleukin 10 prevents necrosis in murine experimental acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 1995 Jun;108(6):1917-22

van Scott MR, Justice JP, Bradfield JF, Enright E, Sigounas A, Sur S. IL-10 reduces Th2 cytokine production and eosinophilia but augments airway reactivity in allergic mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Apr;278(4):L667-74

Vassilakopoulos T, Divangahi M, Rallis G, Kishta O, Petrof B, Comtois A, Hussain SN. Differential cytokine gene expression in the diaphragm in response to strenuous resistive breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 Jul 15;170(2):154-61. Epub 2004 Apr 29

Vassilakopoulos T, Roussos C, and Zakyntinos S. The immune response to resistive breathing. *Eur Respir J* 2004 24: 1033-1043

Vassilakopoulos T and Toumpanakis D. Can resistive breathing injure the lung? Implications for COPD exacerbations. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 11: 2377-2384, 2016

Vassilakopoulos T, Zakyntinos S, Roussos C. Strenuous resistive breathing induces proinflammatory cytokines and stimulates the HPA axis in humans. *Am J Physiol.* 1999 Oct;277(4 Pt 2):R1013-9

Vassilakopoulos T, Zakyntinos S, Roussos C. The tension-time index and the frequency/tidal volume ratio are the major pathophysiologic determinants of weaning failure and success. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:378–385

Vazquez-Torres A, Jones-Carson J, Wagner RD, Warner T, Balish E. 1999. Early resistance of interleukin-10 knockout mice to acute systemic candidiasis. *Infect Immun.* 67:670-4

Vernooy JH, Küçükaycan M, Jacobs JA, Chavannes NH, Buurman WA, Dentener MA, Wouters EF. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: soluble tumor necrosis factor receptors are increased in sputum. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Nov 1;166(9):1218-24

Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, Hopper K, Lotsikas A, Lin HM, Kales A, Chrousos GP. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Mar;85(3):1151-8

Vitacca M, Ambrosino N, Clini E, et al. Physiological response to pressure support ventilation delivered before and after extubation in patients not capable of totally spontaneous autonomous breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:638–641

Vizi ES, Kiss JP. Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus.* 1998;8(6):566-607

Vizi ES, Orsó E, Osipenko ON, Haskó G, Elenkov IJ. Neurochemical, electrophysiological and immunocytochemical evidence for a noradrenergic link between the sympathetic nervous system and thymocytes. *Neuroscience.* 1995 Oct;68(4):1263-76

- Vizi ES. Physiological role of cytoplasmic and non-synaptic release of transmitter. *Neurochem Int.* 1984;6(4):435-40
- Vizi ES. Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in the central nervous system. *Pharmacol Rev.* 2000 Mar;52(1):63-89
- Volk HD, Reinke P, Krausch D, Zuckermann H, Asadullah K, Müller JM, Döcke WD, Kox WJ. Monocyte deactivation--rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. *Intensive Care Med.* 1996 Oct;22 Suppl 4:S474-81
- Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature.* 1997 27;390(6658):350-1.
- von Euler C. On the central pattern generator for the basic breathing rhythmicity. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1983 Dec;55(6):1647-59.
- Waage A, Halstensen A, Shalaby R, Brandtzaeg P, Kierulf P, Espevik T. Local production of tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and interleukin 6 in meningococcal meningitis. Relation to the inflammatory response. *J Exp Med.* 1989 Dec 1;170(6):1859-67
- Wakkach A, Fournier N, Brun V, Breitmayer JP, Cottrez F, Groux H. 2003. Characterization of dendritic cells that induce tolerance and T regulatory 1 cell differentiation in vivo. *Immunity.* 18:605-17.
- Wang M, Hu Y, Stearns ME. A novel IL-10 signalling mechanism regulates TIMP-1 expression in human prostate tumour cells. *Br J Cancer.* 2003 88(10):1605-14
- Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J Biol Chem.* 1995 270(16):9558-63
- Wang X, Zhang XJ, Xu Z, Li X, Li GL, Ju G, and Wang BR. Morphological evidence for existence of IL-6 receptor alpha in the glomus cells of rat carotid body. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2006 288: 292-296
- Wanke T, Lahrman H, Auinger M, Merkle M, Formanek D, Ogris E, Irsigler K, Zwick H. Endogenous opioid system during inspiratory loading in patients with type I diabetes. *Am Rev Respir Dis.* 1993 Nov;148(5):1335-40.
- Watanabe T, Morimoto A, Tan N, Makisumi T, Shimada SG, Nakamori T, Murakami N. ACTH response induced in capsaicin-desensitized rats by intravenous injection of interleukin-1 or prostaglandin E. *J Physiol.* 1994 Feb 15;475(1):139-45
- Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. *Life Sci.* 1995;57(11):1011-26
- Watson J. The influence of intracellular levels of cyclic nucleotides on cell proliferation and the induction of antibody synthesis. *J Exp Med.* 1975 Jan 1;141(1):97-111
- Weber-Nordt RM, Riley JK, Greenlund AC, Moore KW, Darnell JE, Schreiber RD. 1996. Stat3 recruitment by two distinct ligand-induced, tyrosine-phosphorylated docking sites in the interleukin-10 receptor intracellular domain. *J Biol Chem.* 271:27954-61

- Wedzicha JA, Seemungal TA, MacCallum PK, Paul EA, Donaldson GC, Bhowmik A, Jeffries DJ, Meade TW. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease are accompanied by elevations of plasma fibrinogen and serum IL-6 levels. *Thromb Haemost.* 2000 Aug;84(2):210-5
- Wedzicha JA, Seemungal TA, MacCallum PK, Paul EA, Donaldson GC, Bhowmik A, Jeffries DJ, Meade TW. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease are accompanied by elevations of plasma fibrinogen and serum IL-6 levels. *Thromb Haemost.* 2000 Aug;84(2):210-5
- Wehinger J, Gouilleux F, Groner B, Finke J, Mertelsmann R, Weber-Nordt RM. 1996. IL-10 induces DNA binding activity of three STAT proteins (Stat1, Stat3, and Stat5) and their distinct combinatorial assembly in the promoters of selected genes. *FEBS Lett.* 394:365-70
- West JB. Limiting factors for exercise at extreme altitudes. *Clin Physiol.* 1990 May;10(3):265-72
- West JB. Tolerance to severe hypoxia: lessons from Mt. Everest. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.* 1990;94:18-23
- West JB. Invited review: pulmonary capillary stress failure. *J Appl Physiol* (1985). 2000;89:2483–2489
- Wilcox P, Milliken C, Bressler B. High-dose tumor necrosis factor alpha produces an impairment of hamster diaphragm contractility. Attenuation with a prostaglandin inhibitor. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 May;153(5):1611-5
- Wilcox PG, Wakai Y, Walley KR, Cooper DJ, Road J. Tumor necrosis factor alpha decreases in vivo diaphragm contractility in dogs. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 Nov;150(5 Pt 1):1368-73
- Wilder RL. Hormones, pregnancy, and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 May 1;45-50
- Willms D, Shure D. Pulmonary edema due to upper airway obstruction in adults. *Chest.* 1988;94:1090–1092
- Willems F, Marchant A, Delville JP, Gerard C, Delvaux A, et al. 1994. Interleukin-10 inhibits B7 and intercellular adhesion molecule-1 expression on human monocytes. *Eur. J. Immunol.* 24:1007-9
- Wissing KM, Morelon E, Legendre C, De Pauw L, LeBeaut A, Grint P, Maniscalki M, Ickx B, Vereerstraeten P, Chatenoud L, Kreis H, Goldman M, Abramowicz D. A pilot trial of recombinant human interleukin-10 in kidney transplant recipients receiving OKT3 induction therapy. *Transplantation.* 1997 Oct 15;64(7):999-1006.
- Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Eberhardt B, Platzer C, Schöning B, Glöckner F, Lanksch WR, Volk HD, Döcke WD. Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med.* 1998 Jul;4(7):808-13
- Wong ML, Bongiorno PB, al-Shekhlee A, Esposito A, Khatri P, Licinio J. IL-1 beta, IL-1 receptor type I and iNOS gene expression in rat brain vasculature and perivascular areas. *Neuroreport.* 1996 Nov 4;7(15-17):2445-8
- Wong ML, Bongiorno PB, Gold PW, Licinio J. Localization of interleukin-1 beta converting enzyme mRNA in rat brain vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin-1 system are constitutively expressed in brain blood vessels. Pathophysiological implications. *Neuroimmunomodulation.* 1995 May-Jun;2(3):141-8

Wong ML, Licinio J. Localization of stem cell factor mRNA in adult rat hippocampus. *Neuroimmunomodulation*. 1994 May-Jun;1(3):181-7

Wunder C, Eichelbröner O, and Roewer N. Are IL-6, IL-10 and PCT plasma concentrations reliable for outcome prediction in severe sepsis? A comparison with APACHE III and SAPS II. *Inflammation Research* 2004 53: 158-163

Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest*. 1998 Jan 15;101(2):311-20

Xu WH. [Effects of mice body temperature on pressure inside plethysmograph]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2011 40: 315-320

Yang PT, Kasai H, Zhao LJ, Xiao WG, Tanabe F, and Ito M. Increased CCR4 expression on circulating CD4(+) T cells in ankylosing spondylitis, rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 2004 138: 342-347

Yang X, Gartner J, Zhu L, Wang S, Brunham RC. 1999. IL-10 gene knockout mice show enhanced Th1-like protective immunity and absent granuloma formation following *Chlamydia trachomatis* lung infection. *J Immunol*. 162:1010-7

Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H, Oda N, Minoguchi H, Yoshino G, Hirano T, Adachi M. Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. *Circulation*. 2003 Mar 4;107(8):1129-34

Yu AC, Lau LT. Expression of interleukin-1 alpha, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 genes in astrocytes under ischemic injury. *Neurochem Int*. 2000 Apr;36(4-5):369-77

Yu J, Lin S, Zhang J, Otmishi P, and Guardiola JJ. Airway nociceptors activated by pro-inflammatory cytokines. *Respir Physiol Neurobiol* 2007;156: 116-119

Zakynthinos SG, Vassilakopoulos T, Roussos C. The load of inspiratory muscles in patients needing mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152:1248–1255

Zhai QH, Futrell N, and Chen FJ. Gene expression of IL-10 in relationship to TNF-alpha, IL-1beta and IL-2 in the rat brain following middle cerebral artery occlusion. *J Neurol Sci* 1997 152: 119-124

Zhao HQ, Li WM, Lu ZQ, Sheng ZY, and Yao YM. The growing spectrum of anti-inflammatory interleukins and their potential roles in the development of sepsis. *J Interferon Cytokine Res* 2015 35: 242-251

Zhou Z, Peng X, Insolera R, Fink DJ, and Mata M. IL-10 promotes neuronal survival following spinal cord injury. *Exp Neurol* 2009 220: 183-190

Zuany-Amorim C, Hailé S, Leduc D, Dumarey C, Huerre M, Vargaftig BB, Pretolani M. Interleukin-10 inhibits antigen-induced cellular recruitment into the airways of sensitized mice. *J Clin Invest*. 1995 Jun;95(6):2644-51

Zuo L, Best TM, Roberts WJ, Diaz PT, Wagner PD. Characterization of reactive oxygen species in diaphragm. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015; 213:700–710

Zuo L, Hallman AH, Yousif MK, Chien MT. Oxidative stress, respiratory muscle dysfunction, and potential therapeutics in chronic obstructive pulmonary disease. *Front Biol.* 2012;7:506–513

Zuo L, Nogueira L, Hogan MC. Effect of pulmonary TNF- α overexpression on mouse isolated skeletal muscle function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011;301:R1025–R1031

Περίληψη

Εισαγωγή

Οι κυτταροκίνες είναι πρωτεΐνες που παράγονται από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και από ποικιλία άλλων κυττάρων που αλληλεπιδρούν με το κεντρικό νευρικό σύστημα. Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη 1β συμμετέχουν στον έλεγχο της αναπνοής. Η ιντερλευκίνη 10 (IL-10) είναι μια αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη με αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα σε διάφορα νοσήματα. Ο ρόλος της ιντερλευκίνης 10 στον έλεγχο της αναπνοής δεν είναι γνωστός. Υποδοχείς της ιντερλευκίνης 10 έχουν ανευρεθεί σε περιοχές του εγκεφάλου που εδράζονται τα κέντρα της αναπνοής.

Σκοπός

Σκοπός της μελέτης είναι να διευκρινίσει την επίδραση της αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης ιντερλευκίνης 10 στο κέντρο της αναπνοής.

Μεθοδολογία

Μελετήθηκαν επίμυες με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}, n=10) και επίμυες με πλήρη έκφραση IL-10 (IL-10^{+/+}, n=10) που εκτέθηκαν στα παρακάτω αέρια μείγματα: υπεροξική υπερκαπνία 7%CO₂-93%O₂, νορμοξική υπερκαπνία 7%CO₂-21%O₂-72%N₂, υποξική υπερκαπνία 7%CO₂-10%O₂-83%N₂ και υποξική νορμοκαπνία 3%CO₂-10%O₂-87%N₂. Η αναπνευστική λειτουργία μετρήθηκε με τη χρήση ολόσωμου πληθυσμογράφου. Ανασυνδυασμένη χιμαιρική IL-10 (rIL-10 10μg kg⁻¹) χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκώς στους επίμυες με πλήρη έκφραση της IL-10 (n=10), 30 λεπτά πριν την έκθεση στα αέρια μείγματα. Επίσης, χορηγήθηκε IL-10 σε νεογνικές τομές της μυελώδους μοίρας του κεντρικού νευρικού συστήματος (10-30 ng/ml, n=8).

Αποτελέσματα

Οι επίμυες με έλλειψη έκφρασης IL-10 (IL-10^{-/-}) παρουσιάζουν αυξημένη αναπνευστική συχνότητα και μειωμένο αναπνεόμενο όγκο σε σύγκριση με τους επίμυες με πλήρη έκφραση της IL-10 (IL-10^{+/+}) σε συνθήκες αναπνοής αέρα δωματίου καθώς και σε όλα τα αέρια μείγματα που δοκιμάστηκαν. Επίσης, σε όλα τα αέρια μείγματα ο αερισμός των επίμυων με έλλειψη έκφρασης IL-10 ήταν μικρότερος από τον αερισμό

των επίμυων με πλήρη έκφραση IL-10. Ο δείκτης γρήγορης και αβαθούς αναπνοής (F/VT) ήταν μεγαλύτερος στους επίμυες με έλλειψη έκφρασης IL-10 συγκριτικά με τους επίμυες με πλήρη έκφραση IL-10 σε όλα τα εισπνεόμενα μείγματα. Η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση ανασυνδυασμένης IL-10 (rIL-10) είχε ως αποτέλεσμα μείωση της αναπνευστικής συχνότητας και αύξηση του αναπνεόμενου όγκου σε αέρα δωματίου καθώς και όλα τα αέρια μείγματα. Η χορήγηση IL-10 σε τομές ρυθμικά ενεργής μυελώδους μοίρας κεντρικού νευρικού συστήματος, νεογνικών αρουραίων δεν είχε καμία επίδραση στη ρυθμικότητα και στην ενίσχυση της εκφόρτισης του υπογλωσσίου νεύρου.

Συμπέρασμα

Πρόκειται για την πρώτη μελέτη που διερευνά την δράση της IL-10 στον έλεγχο της αναπνοής. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μας, η IL-10 μειώνει την αναπνευστική συχνότητα ενώ αυξάνει τον αναπνεόμενο όγκο και τον αερισμό επάγοντας αργό και βαθύ πρότυπο αναπνοής. Τέλος, η IL-10 αυξάνει το αναπνευστικό ερέθισμα χωρίς να επηρεάζει την διάρκεια της εισπνοής και εκπνοής.

ABSTRACT

Introduction

Cytokines are molecules usually produced by immune cells but also by a variety of other cells which can communicate with the central nervous system. Pro-inflammatory cytokines like interleukin-1 β affect the control of breathing. Interleukin 10 (IL-10) is a cytokine with anti-inflammatory properties upregulated in the plasma in many disease states. The role of IL-10 on the control of breathing is unknown. IL-10 receptors have been identified in the brain stem where the respiratory centers are located.

Purpose

Our aim is to determine the effect of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 on the control of breathing.

Methods

IL-10 knock-out mice (IL-10^{-/-}, n=10) and wild type mice (IL-10^{+/+}, n=10) were exposed to the following test gases: hyperoxic hypercapnia 7%CO₂-93%O₂, normoxic hypercapnia 7%CO₂-21%O₂-72%N₂, hypoxic hypercapnia 7%CO₂-10%O₂-83%N₂ and hypoxic normocapnia 3%CO₂-10%O₂-87%N₂. The ventilatory function was assessed using whole body plethysmography. Recombinant mouse IL-10 (rIL-10 10 μ g kg⁻¹) was administered intraperitoneally to wild type mice (n=10) 30 min before the onset of gas challenge. IL-10 was administered in neonatal medullary slices (10-30 ng/ml, n=8).

Results

We found that IL-10^{-/-} mice exhibited consistently increased frequency and reduced tidal volume compared to IL-10^{+/+} mice during room air breathing and in all test gases (by 23.62% to 33.2%, P<0.05 and -36.23% to -41.69%, P<0.05, respectively). In all inspired gases the minute ventilation of IL-10^{-/-} mice was lower than IL-10^{+/+} (by -15.67% to -22.74%, P<0.05). The rapid shallow breathing index was higher in IL-10^{-/-} mice compared to IL-10^{+/+} mice in all inspired gases (by 50.25% to 57.5%, P<0.05). The intraperitoneal injection of rIL-10 caused reduction of the respiratory rate and augmentation of the tidal volume in room air and also in all inspired gases (by -12.22% to -29.53%, and 32.18% to 45.11%, P<0.05, respectively). IL-10 administration in neonatal rat (n=8) in vitro rhythmically-active medullary slice preparations did not affect either rhythmicity or peak amplitude of hypoglossal nerve discharge.

Conclusion

This is the first study of the effects of IL-10 on the control of breathing. We found that IL-10 decreases the respiratory rate and increases the tidal volume and minute ventilation resulting in a slower and deeper pattern of breathing. IL-10 augments the respiratory drive without altering the relative durations of inspiration and expiration.