



Mecanismos centrales de la generación del ritmo respiratorio

Central mechanisms for respiratory rhythm generation

Luis Beltran-Parrazal^{1,2}, Roberto Meza-Andrade¹,
Fabio García-García³, Rebeca Toledo^{1,2}
Jorge Manzo^{1,2}, Consuelo Morgado-Valle^{1,2}

RESUMEN

El sistema respiratorio de los mamíferos produce diferentes tipos de patrones ventilatorios que responden al estado general del individuo. ¿Dónde se genera la actividad eléctrica que controla los músculos involucrados en la respiración? Actualmente, es aceptado que la respiración es generada por una red neuronal localizada en el tallo cerebral ventrolateral. Dicha región es conocida como el Complejo preBötzinger (preBötC). Los mecanismos de generación de la actividad rítmica del preBötC no se conocen del todo. El objetivo de esta revisión es proporcionar un panorama general del conocimiento existente de los mecanismos neuronales de la generación del ritmo respiratorio.

PALABRAS CLAVE: Respiración, Complejo preBötzinger, Ritmo respiratorio

ABSTRACT

The mammalian respiratory system produces different types of ventilatory patterns according to the general state of the individual. Where is generated the electrical activity that control the muscles involved in breathing? It is now accepted that a neural network located in the ventrolateral brainstem generates breathing. This region is known as preBötzinger Complex (preBötC). The mechanisms for generating rhythmic activity in the preBötC are not fully known. The aim of this review is to provide an overview of the existing knowledge of the neural mechanisms for respiratory rhythm generation.

KEYWORDS: Breathing, PreBötzinger Complex, Respiratory Rhythm

¹Centro de Investigaciones Cerebrales. Dirección General de Investigaciones.

²Facultad de Medicina Xalapa.

³Instituto de Ciencias de la Salud.
Universidad Veracruzana

Correspondencia:

Dra. Consuelo Morgado-Valle

Centro de Investigaciones Cerebrales. Dirección General de Investigaciones.
Universidad Veracruzana

Av. Luis Castelazo s/n Col. Industrial Animas, C.P. 91190

Email: comorgado@uv.mx

Tel: +52(228) 841 8900 Ext 13611

INTRODUCCION

La respiración es un fenómeno fisiológico generalizado entre los vertebrados cuya función principal es el intercambio gaseoso entre el individuo y el medio circundante. La respiración de los mamíferos es rítmica, continua y permanente durante la vida. Al ser esencial para garantizar la vida, la respiración es un proceso robusto y estable ^{1,2}.

El sistema respiratorio de los mamíferos manifiesta diferentes tipos de patrones ventilatorios que responden al estado general del individuo ³. La respiración normal, o eupnea, es el patrón predominante. Si bien, la respiración es un proceso autónomo, puede ser controlada y regulada voluntariamente durante la postura, la locomoción y otros actos sensorio motores ⁴. El control voluntario de la respiración ocurre en la corteza cerebral, mientras que su generación y control automático radica en el tallo cerebral. Las señales eferentes del núcleo generador del ritmo respiratorio son distribuidas por interneuronas y motoneuronas a través de vías en el tallo cerebral, hacia motoneuronas craneales, y motoneuronas mediante vías en la médula espinal ventrolateral ⁴. Con el paso del tiempo, se ha descartado que estructuras cerebrales como el puente, que contribuyen a mantener el ritmo respiratorio sean indispensables para su generación, y se ha propuesto, la existencia de un “generador central del patrón respiratorio” ⁵. Actualmente, es aceptado que la respiración es generada por una red neuronal localizada en el tallo cerebral ventrolateral. Dicha región es conocida como el Complejo preBötzing (preBötC) ⁴.

Desde el descubrimiento del preBötC los investigadores han tratado de describir su estructura y funcionamiento. Varios grupos de investigación han estudiado el núcleo del preBötC bajo condiciones no fisiológicas, desarrollando modelos de estudio in vitro de la apnea, hipotermia, hipercapnia, entre otros. Estos estudios tienen un doble propósito: 1) entender la génesis de las patologías respiratorias, y 2) comprender la estructura y función del preBötC que permitan entender las propiedades celulares, modulación, y conectividad en un estado fisiológico normal. La manipulación farmacológica in vitro del ritmo respiratorio ha motivado a los neurocientíficos a realizar experimentos in vivo, donde se han confirmado los hallazgos realizados in vitro.

Esta revisión tiene como propósito proporcionar un panorama general del conocimiento existente de los mecanismos neuronales de la generación del ritmo respiratorio.

El Complejo preBötzing

En 1991, Smith y colaboradores describieron una región en el tallo cerebral, específicamente en el bulbo ventrolateral, que contiene neuronas respiratorias. Esta estructura recibió el nombre de complejo preBötzing ⁶ (preBötC).

El preBötC, es una columna bilateral simétrica; cada uno de sus lados muestra una actividad rítmica independiente, pero se comunican bidireccionalmente con fuertes conexiones sinápticas que sincronizan la actividad de ambos lados ^{7, 8, 5}. El papel del preBötC en la generación del ritmo respiratorio ha sido comprobado in vivo en roedores adultos mediante manipulaciones farmacológicas que inducen la disminución de la actividad neuronal y por lo tanto la frecuencia del ritmo, o en casos extremos la eliminación rítmica de la actividad respiratoria ⁶.

Si bien el objetivo último de los investigadores que estudian el preBötC es explicar la generación del ritmo respiratorio en mamíferos intactos, en particular en humanos en la salud y la enfermedad, los experimentos necesarios para estudiar los mecanismos básicos celulares o del circuito, son imposibles de realizar en condiciones in vivo. Existen preparaciones biológicas reducidas donde se ha intentado preservar la mayoría de las estructuras neuroanatómicas, con la finalidad de que estas se asemejen a las condiciones in vivo (por ejemplo, ⁷⁻⁹). Sin embargo, las manipulaciones farmacológicas y los registros electrofisiológicos no pueden ser realizadas en dichas preparaciones, debido a las limitaciones físicas que impiden el acceso a las neuronas respiratorias del preBötC. Las propiedades celulares de las neuronas inspiratorias del preBötC y de las redes que estas forman, son estudiadas en una preparación altamente reducida. Esta consiste en una rebanada transversal del tallo cerebral de 500 micras de grosor, que contiene el preBötC y genera una salida motora respiratoria (Fig. 1) ⁴. En esta rebanada se han identificado las propiedades marcapaso de las neuronas y el papel que distintas corrientes iónicas juegan en la generación de la actividad rítmica ¹⁰⁻¹⁵. Los estudios in vitro han sido la base para una serie de experimentos en animales intactos en donde se ha corroborado que el preBötC es esencial para la generación del ritmo respiratorio ².

Las neuronas respiratorias del preBötC expresan el receptor a neurokinina-1 (rNK1). Esta propiedad molecular permite identificar a la población de neuronas respiratorias del preBötC como un núcleo neuronal bien definido en el tallo cerebral de la rata ¹⁶. Aprovechando esta característica común entre las neuronas del preBötC, se diseñó un protocolo de lesión cerebral en donde se micro-inyecta intracerebralmente en el complejo preBötC una molécula tóxica compuesta de saporina (inhibidor ribosomal, es decir, de la síntesis de proteínas), acoplada a Substancia P (ligando natural del rNK1). Cuando esta molécula se une al rNK1, el complejo receptor-toxina es endocitado por las neuronas respiratorias, inhibiendo la síntesis de proteínas e induciendo muerte neuronal. Con esta técnica se ha logrado eliminar hasta el 75% de la población neuronal que expresa el rNK1, provocando un patrón de respiración

irregular que afecta la homeostasis de los gases en sangre en la rata ⁶. Además, se ha encontrado que lesiones bilaterales menos severas, o unilaterales del preBötC utilizando esta técnica, pueden producir apnea central del sueño sin afectar significativamente la respiración en el estado de vigilia ⁶.

Los mecanismos de la actividad oscilatoria del preBötC no se conocen del todo, especialmente los responsables de la generación de la actividad rítmica. Si las propiedades fundamentales para la generación del ritmo están en todas las neuronas que constituyen el preBötC o sólo en una subpoblación, es algo que aún se desconoce. Se cree que algunas propiedades biofísicas de la membrana citoplasmática de las neuronas del preBötC, podrían estar implicadas de forma significativa en la generación del ritmo respiratorio.

La rebanada transversal de tallo cerebral como modelo experimental

El modelo experimental de la rebanada de tallo cerebral fue desarrollado en 19914 con el objetivo de aislar la unidad mínima funcional del ritmo respiratorio, y en respuesta a la hipótesis que dicha unidad yace en el Grupo Respiratorio Ventral (GRV), en el tallo cerebral. A partir de una preparación in vitro llamada en bloc que contiene el tallo cerebral y la médula espinal de ratas neonatas, se hicieron cortes sucesivos en dirección rostro-caudal o caudo-rostral de 50 a 75 micras de espesor mientras se monitoreaba electrofisiológicamente la salida motora del nervio frénico. Se encontró una región localizada entre un punto rostral con respecto al óbex (la región extrema rostral del cuarto ventrículo) y caudal respecto al núcleo facial. Esta zona, de aproximadamente 350 micras de longitud, es capaz de generar una salida motora aún en ausencia del resto de las estructuras que forman el tallo cerebral (Figs. 1 y 2). Fue así como se aisló el preBötC en una rebanada transversal de tallo cerebral de entre 350 y 600 micras de grosor. Esta rebanada no sólo contiene el preBötC, sino también motoneuronas respiratorias del núcleo del nervio hipogloso (nervio craneal XII), del que se registra la salida motora del ritmo generado por las neuronas del preBötC ⁶. Esta preparación aísla el circuito funcional que genera el ritmo respiratorio, lo que facilita su estudio in vitro.

El desarrollo de la rebanada de tallo cerebral ha permitido investigar la neuromodulación postnatal del nervio hipogloso ¹⁷, la respuesta a la hipoxia en neuronas del núcleo generador in vitro ¹⁸, y los efectos de la nicotina sobre la regulación del ritmo respiratorio ¹⁹. Además, rebanadas de ratones transgénicos para los genes *Mecp2* o *Phox2B* sirven como modelos experimentales para estudiar las alteraciones centrales de la respiración en el síndrome de Rett y en el síndrome congénito de hipoventilación central, respectivamente ²⁰

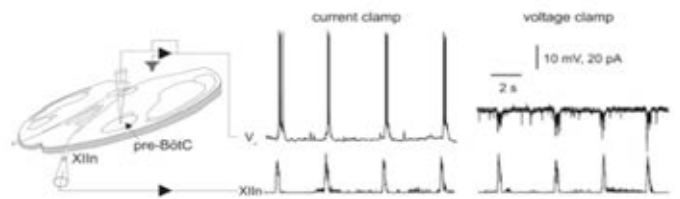


Figura 1. Modelo para el estudio in vitro de la ritmogénesis respiratoria: rebanada transversal de tallo cerebral. Esta preparación contiene el núcleo generador del ritmo: el complejo preBötzinger (preBötC) y una salida motora en fase (nervio XII). Se pueden registrar neuronas inspiratorias en fijación de corriente o fijación de voltaje y la salida motora.

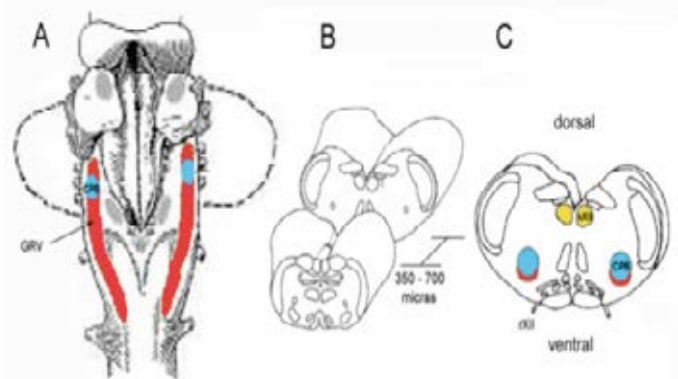


Figura 2. A Vista dorsal del tallo cerebral con el cerebelo removido hacia los costados. Se muestra la extensión del Grupo Respiratorio Ventral (zona roja) y el nivel aproximado en que se encuentra el preBötC (zona azul). B Vista caudo-rostral del tallo cerebral. La zona removida en el centro corresponde a la rebanada que contiene al preBötC y se muestra a la derecha. C Vista caudal de la rebanada de tallo cerebral. La zona amarilla en el extremo dorsal corresponde al núcleo del nervio hipogloso (nXII). Se muestran también las raíces del nervio hipogloso (rXII) en el extremo ventral; el preBötC y la orientación relativa del GRV. (Adaptada de 38 (A) y de 39, 40(B y C))

Neurotransmisión en el preBötC.

La neurotransmisión excitatoria en el preBötC es principalmente glutamatergica. La activación de receptores tipo AMPA (llamados así porque unen 2-amino-3-(5-metil-3-oxo-1,2-oxazol-4-il) ácido propanoico) es esencial para la génesis del ritmo respiratorio in vitro. La micro-inyección en el preBötC de CNQX (6-ciano-7-nitroquinoxaline-2,3-diona), un antagonista del receptor AMPA/kainato, reduce la frecuencia y bloquea las oscilaciones respiratorias de las motoneuronas del nervio hipogloso ²¹. La aplicación del antagonista NBQX (2,3-dihidro-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo quinoxaline-2,3-diona) elimina la actividad rítmica del preBötC ²². En otros estudios in vitro, la aplicación de MK-801, un antagonista específico del receptor tipo NMDA (llamado así porque une N-Metil-D-aspartato, NMDA) no provoca

ningún efecto sobre el ritmo respiratorio²¹⁻²³. Sin embargo, en estudios realizados *in vivo* se ha visto que la activación de receptores tipo NMDA y AMPA es importante para la generación del ritmo, pues su bloqueo farmacológico tiene efectos aditivos sobre la actividad de las neuronas inspiratorias²⁴.

Los receptores tipo NMDA son dependientes de voltaje; el canal iónico se encuentra normalmente bloqueado por Mg²⁺, que se liga fuertemente al canal e inhibe su permeabilidad. Cuando la membrana es despolarizada y existe glutamato en la sinapsis, el Mg²⁺ es removido y el canal iónico se abre. El Ca²⁺ es el principal ion que fluye por los receptores tipo NMDA, en contraste con el resto de los receptores glutamatérgicos ionotrópicos, en donde el principal ion es Na⁺. La respuesta excitatoria postsináptica provocada por la activación de los receptores tipo AMPA precede, y facilita la activación de los receptores tipo NMDA, a través del cambio de voltaje necesario en la membrana.

Es importante destacar que el preBötC es una red neuronal compleja que se encuentra regulada por múltiples neuromoduladores, y neurotransmisores como serotonina, somatostatina, Substancia P, y ATP (adenosina trifosfato) entre otros²⁵⁻²⁸. Estos neuromoduladores no participan en la generación del ritmo, pero influyen sobre la frecuencia que este despliega.

Mecanismos de generación del ritmo respiratorio

Desde el descubrimiento del preBötC, han surgido numerosas hipótesis que intentan explicar la generación del ritmo respiratorio. Se sabe que el preBötC contiene neuronas marcapaso con propiedades dependientes de voltaje¹³ y no dependientes de voltaje²⁹. La actividad marcapaso dependiente de voltaje depende de la corriente persistente de sodio (INaP). Mientras que las neuronas marcapasos no dependientes de voltaje dependen una corriente catiónica inespecífica activada por Ca²⁺ (ICAN). Estas dos corrientes parecen jugar un papel importante en la generación de ritmos en otros sistemas neuronales. Sin embargo, un estudio reciente muestra que la aplicación de los bloqueadores de las corrientes de la INaP e ICAN (riluzole y ácido flufenámico, respectivamente), en rebanas de tallo cerebral conteniendo el preBötC, provocan la desaparición del ritmo respiratorio. Sin embargo, la aplicación del agonista glutamatérgico AMPA o del neuropéptido Substancia P a estas rebanadas se restaura el ritmo respiratorio³⁰. Este resultado cuestiona la hipótesis que propone a las neuronas marcapaso como una población indispensable para generar el ritmo respiratorio.^{13, 29}

La fase inspiratoria del ciclo respiratorio *in vitro* se caracteriza por una ráfaga sincrónica de potenciales de acción, montados sobre una despolarización de 10 a 20 mV y 0.3 a 0.8s

de duración, llamada comando inspiratorio (Fig. 1). En 15, 31 En neuronas inspiratorias sin capacidad marcapaso, parte el origen del comando inspiratorio es atribuido a las corrientes generadas por la activación del receptor glutamatérgico tipo AMPA. Recientemente se ha sugerido que los canales TRPM4, (canales catiónicos no selectivos activados por Ca²⁺), podría contribuir a la generación del comando inspiratorio,¹⁴ pero aun no existen evidencias biofísicas claras que soporten esta hipótesis.

Se ha propuesto que la ICAN pudiera contribuir a la generación del comando inspiratorio, para lo cual esta debería responder de forma obligatoria a cambios transitorios de la concentración de Ca²⁺ citoplasmático, y ser activada antes del tren de potenciales de acción montados sobre el comando inspiratorio que caracterizan la actividad inspiratoria. Sin embargo, el aumento de Ca²⁺ intracelular durante la inspiración ocurre después de la iniciación del comando inspiratorio, como consecuencia de la activación de canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje debida a los potenciales de acción³¹. El flujo de Ca²⁺ que se da antes y durante los potenciales de acción y el comando respiratorio, ha sido monitoreado y cuantificado mediante técnicas de fluorescencia solo en el soma de las neuronas inspiratorias, por lo que la contribución de la liberación de Ca²⁺ de pozas intracelulares en dendritas para activar la ICAN aun no puede ser descartada.

Algunos estudios sugieren que la generación normal del patrón respiratorio resulta de la interacción compleja entre las propiedades emergentes de la red acoplada simétricamente e intrínsecamente por neuronas marcapaso^{2, 13, 29, 30}. También se ha sugerido que las neuronas marcapaso juegan un papel importante en la amplificación e iniciación del ritmo respiratorio, mientras que los mecanismos sinápticos son críticos para su sincronización y propagación³⁷.

En resumen, hasta ahora no se ha logrado identificar una propiedad específica de las neuronas inspiratorias a la cual pueda atribuirse la generación del ritmo respiratorio. Actualmente se piensa que la generación del ritmo respiratorio es una propiedad “emergente”, es decir que es resultado de la conectividad de todas las neuronas que conforman el preBötC, y no depende de un tipo neuronal con características intrínsecas específicas^{13, 30, 32}.

Además, otros mecanismos como la regulación de Ca²⁺ intracelular y la señalización de Ca²⁺ mediada por el retículo endoplásmico, no han sido estudiados de forma extensa, aunque podrían ser muy útiles para entender el fenómeno de la generación del ritmo respiratorio.

Relevancia de estudio de la generación del ritmo respiratorio

El ritmo respiratorio debe ser constante, confiable e infalible para mantener adecuadamente el intercambio gaseoso en

vertebrados. En el ser humano, algunos síndromes presentan irregularidades en el patrón respiratorio como el síndrome de hipoventilación central congénita, llamado maldición de Ondina, el síndrome de Rett, y posiblemente la muerte de cuna 33-36. A pesar de la importancia clínica de la regularidad del ritmo generado por el preBötC, existe poca información acerca de los mecanismos-críticos para generar y regular el ritmo respiratorio.

CONCLUSIONES

La evidencia experimental indica que el preBötC es esencial para la generación del ritmo respiratorio. Sin embargo, también se ha reconocido que es tan sólo una parte de un sistema más complejo y extenso que requiere mayor estudio. La hipótesis que proponen a las neuronas marcapaso como las responsables de la generación del ritmo respiratorio, es vagamente sustentada por evidencias experimentales. Actualmente la mayoría de los estudios apoyan la idea que la generación del ritmo respiratorio es una propiedad emergente del circuito neuronal que se encuentra en el preBötC. Un mayor número de estudios se requieren para encontrar una respuesta contundente.

La comprensión de ¿cómo es generado el ritmo respiratorio?, ¿cómo se modula la plasticidad del circuito? y ¿cuáles son las propiedades de quimiosensibilidad del núcleo preBötC? ayudará a identificar la etiología de enfermedades como la apnea del sueño, la maldición de Ondina. Además, también contribuirá a diseñar nuevas estrategias terapéuticas para tratar enfermedades que causan insuficiencia respiratoria de forma indirecta como el síndrome de Rett, lesiones del tallo cerebral o médula espinal, hiperventilación y ansiedad.

BIBLIOGRAFIA

- Hilaire G, Pasaro R. Genesis and control of the respiratory rhythm in adult mammals. *News Physiol Sci*. 2003;18:23-28
- Feldman JL, Del Negro CA. Looking for inspiration: New perspectives on respiratory rhythm. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7:232-242
- Lieske SP, Thoby-Brisson M, Telgkamp P, Ramirez JM. Reconfiguration of the neural network controlling multiple breathing patterns: Eupnea, sighs and gasps [see comment]. *Nat Neurosci*. 2000;3:600-607
- Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL. Pre-Botzinger Complex: A brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*. 1991;254:726-729
- McCrimmon DR, Ramirez JM, Alford S, Zuperku EJ. Unraveling the mechanism for respiratory rhythm generation. *Bioessays*. 2000;22:6-9
- Gray PA, Janczewski WA, Mellen N, McCrimmon DR, Feldman JL. Normal breathing requires preBotzinger Complex neurokinin-1 receptor-expressing neurons. *Nat Neurosci*. 2001;4:927-930
- Hayashi F, Jiang C, Lipski J. Intracellular recording from respiratory neurons in the perfused 'in situ' rat brain. *J Neurosci Methods*. 1991;36:63-70
- Paton JF, St-John WM. Long-term intracellular recordings of respiratory neuronal activities in situ during eupnea, gasping and blockade of synaptic transmission. *J Neurosci Methods*. 2005;147:138-145
- St-John WM, Rudkin AH, Harris MR, Leiter JC, Paton JF. Maintenance of eupnea and gasping following alterations in potassium ion concentration of perfusates of in situ rat preparation. *J Neurosci Methods*. 2005;142:125-129
- 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;259:R879-886
- Johnson SM, Smith JC, Funk GD, Feldman JL. Pacemaker behavior of respiratory neurons in medullary slices from neonatal rat. *J Neurophysiol*. 1994;72:2598-2608
- Rekling JC, Feldman JL. PreBotzinger Complex and pacemaker neurons: Hypothesized site and kernel for respiratory rhythm generation. *Annu Rev Physiol*. 1998;60:385-405
- Del Negro CA, Morgado-Valle C, Feldman JL. Respiratory rhythm: An emergent network property? *Neuron*. 2002;34:821-830
- Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, Del Negro CA. Inspiratory bursts in the preBotzinger Complex depend on a calcium-activated non-specific cation current linked to glutamate receptors in neonatal mice. *J Physiol*. 2007;582:113-125
- Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, Del Negro CA. Role of persistent sodium current in mouse preBotzinger Complex neurons and respiratory rhythm generation. *J Physiol*. 2007;580:485-496
- Gray PA, Rekling JC, Bocchiaro CM, Feldman JL. Modulation of respiratory frequency by peptidergic input to rhythmogenic neurons in the preBotzinger Complex. *Science*. 1999;286:1566-1568
- Funk GD, Smith JC, Feldman JL. Development of thyrotropin-releasing hormone and norepinephrine potentiation of inspiratory-related hypoglossal motoneuron discharge in neonatal and juvenile mice in vitro. *J Neurophysiol*. 1994;72:2538-2541
- Ramirez JM, Quellmalz UJ, Wilken B, Richter DW. The hypoxic response of neurons within the in vitro mammalian respiratory network. *J Physiol*. 1998;507 (Pt 2):571-582
- Shao XM, Feldman JL. Pharmacology of nicotinic receptors in preBotzinger Complex that mediate modulation of respiratory pattern. *J Neurophysiol*. 2002;88:1851-1858
- Gaultier C, Gallego J. Neural control of breathing: Insights from genetic mouse models. *J Appl Physiol*. 2008;104:1522-1530
- Funk GD, Smith JC, Feldman JL. Generation and transmission of respiratory oscillations in medullary slices: Role of excitatory amino acids. *J Neurophysiol*. 1993;70:1497-1515
- Morgado-Valle C, Feldman JL. NMDA receptors in prebotzinger complex neurons can drive respiratory rhythm independent of ampa receptors. *J Physiol*. 2007;582:359-368
- Greer JJ, Smith JC, Feldman JL. Role of excitatory amino acids in the generation and transmission of respiratory drive in neonatal rat. *J Physiol*. 1991;437:727-749
- Pierrefiche O, Schmid K, Foutz AS, Denavit-Saubie M. Endogenous activation of NMDA and non-NMDA glutamate receptors on respiratory neurons in cat medulla. *Neuropharmacology*. 1991;30:429-440
- Pena F, Ramirez JM. Endogenous activation of serotonin-2a receptors is required for respiratory rhythm generation in vitro. *J Neurosci*. 2002;22:11055-11064
- Morgado-Valle C, Feldman JL. Depletion of Substance P and glutamate by capsaicin blocks respiratory rhythm in neonatal rat in vitro. *J Physiol*. 2004;555:783-792
- Llona I, Eugenin J. Central actions of somatostatin in the generation and control of breathing. *Biol Res*. 2005;38:347-352
- Huxtable AG, Zwicker JD, Poon BY, Pagliardini S, Vrouwe SQ, Greer JJ, Funk GD. Tripartite purinergic modulation of central respiratory networks during perinatal development: The influence of atp, ectonucleotidases, and atp metabolites. *J Neurosci*. 2009;29:14713-

- 14725
29. Pena F, Parkis MA, Tryba AK, Ramirez JM. Differential contribution of pacemaker properties to the generation of respiratory rhythms during normoxia and hypoxia. *Neuron*. 2004;43:105-117
 30. Del Negro CA, Morgado-Valle C, Hayes JA, Mackay DD, Pace RW, Crowder EA, Feldman JL. Sodium and calcium current-mediated pacemaker neurons and respiratory rhythm generation. *J Neurosci*. 2005;25:446-453
 31. Morgado-Valle C, Beltran-Parrazal L, DiFranco M, Vergara JL, Feldman JL. Somatic Ca²⁺ transients do not contribute to inspiratory drive in preBotzinger Complex neurons. *J Physiol*. 2008;586:4531-4540
 32. Smith JC, Butera RJ, Koshiya N, Del Negro C, Wilson CG, Johnson SM. Respiratory rhythm generation in neonatal and adult mammals: The hybrid pacemaker-network model. *Respir Physiol*. 2000;122:131-147
 33. Issa FG, Porostocky S. Effect of sleep on changes in breathing pattern accompanying sigh breaths. *Respir Physiol*. 1993;93:175-187
 34. Carley DW, Trbovic SM, Radulovacki M. Diazepam suppresses sleep apneas in rats. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;157:917-920
 35. Viemari JC, Roux JC, Tryba AK, Saywell V, Burnet H, Pena F, Zanella S, Beventut M, Barthelemy-Requin M, Herzing LB, Moncla A, Mancini J, Ramirez JM, Villard L, Hilaire G. Mecp2 deficiency disrupts norepinephrine and respiratory systems in mice. *J Neurosci*. 2005;25:11521-11530
 36. Hunt CE, Corwin MJ, Lister G, Weese-Mayer DE, Ward SL, Tinsley LR, Neuman MR, Willinger M, Ramanathan R, Rybin D. Precursors of cardiorespiratory events in infants detected by home memory monitor. *Pediatric pulmonology*. 2008;43:87-98
 37. Ramirez JM, Tryba AK, Pena F. Pacemaker neurons and neuronal networks: An integrative view. *Current opinion in neurobiology*. 2004;14:665-674
 38. Richter DW, Spyer KM. Studying rhythmogenesis of breathing: Comparison of in vivo and in vitro models. *Trends in neurosciences*. 2001;24:464-472
 39. Ramirez JM, Telgkamp P, Elsen FP, Quellmalz UJ, Richter DW. Respiratory rhythm generation in mammals: Synaptic and membrane properties. *Respir Physiol*. 1997;110:71-85
 40. Ramirez JM, Quellmalz UJ, Wilken B. Developmental changes in the hypoxic response of the hypoglossus respiratory motor output in vitro. *J Neurophysiol*. 1997;78:383-392