مقاله اصلی

نفس، سال ۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸، صفحات ۱۶ تا ۲۱

بررسی اثر اعمال جریان هوا در بینی بر فعالیت قشر پیش‌پیشانی در موش‌های صحرایی

سپیده قزوینه[۱]، علیرضا سلیمی[۲]، سید جواد میرنجفی‌زاده[۱]، محمدرضا رئوفی[۱*]

۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲) مرکز تحقیقات بیماری‌های مزمن تنفسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده:

شواهدی وجود دارد که تحریک پیاز بویایی (OB) در طی تنفس از طریق بینی باعث ایجاد نوساناتی هماهنگ با تنفس در مناطق گسترده‌ای از نواحی نئوکورتکس و ساب‌کورتیکال می‌شود. اما اثر اعمال جریان هوا در بینی بر نوسانات قشر پیش‌پیشانی میانی (mPFC) به عنوان ناحیه‌ای مهم در پردازش اطلاعات مغزی بررسی نشده است. در این مطالعه پتانسیل میدانی موضعی نواحی OB و mPFC در دو گروه موش صحرایی تحت تهویه مکانیکی با/بدون اعمال جریان هوای بینی (با فرکانس ۱ Hz) ثبت و آنالیز شد. اعمال جریان هوا در بینی باعث تحریک قشر پیش‌پیشانی و افزایش توان فرکانس ۱ Hz در این ناحیه شد. در نتیجه ما پیشنهاد می‌کنیم که اعمال جریان هوا در بینی می‌تواند به عنوان روشی غیر تهاجمی برای تحریک ناحیه mPFC معرفی شود و فعالیت الکتریکی این ناحیه را افزایش دهد.

واژگان کلیدی: پیاز بویایی، قشر پیش‌پیشانی، تنفس از راه بینی، جریان هوا در بینی، پتانسیل میدانی موضعی

* **نویسنده مسئول:**

دکتر محمدرضا رئوفی، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، پل نصر، بزرگراه جلال آل احمد، تهران، ایران، پست الکترونیک: raoufy@modares.ac.ir

مقدمه:

تنفس از طریق بینی نوساناتی مرتبط با سیکل تنفس در ناحیه‌ی پیاز بویایی ایجاد می‌کند [۱]. گیرنده‌های حسی پیاز بویایی در بینی علاوه بر تحریک شیمیایی ناشی از مولکول‌های بو، به تحریک مکانیکی ناشی از جریان هوا نیز پاسخ می‌دهد. در طی سیکل تنفسی، متناسب با شدت جریان هوا پیاز بویایی نیز تحریک می‌شود [۲]. قشر بویایی (قشر پیریفرم[۱]) مستقیما از پیاز بویایی ورودی دریافت می‌کند و از آنجا به نواحی مختلف مغز از جمله آمیگدال[۲]، قشر انتورینال[۳] و قشر پیش‌پیشانی (mPFC)[۴] سیناپس می‌دهد [۳]. نوسانات ناشی از تنفس اخیرا در ناحیه mPFC نیز در موش‌های در حالت بی‌حرکت و فعالیت مشاهده شده‌اند که آنها را نوسانات قشر پیش‌پیشانی ناشی از تنفس (PRR)[۵] نامیده‌اند. این نوسانات به پردازش اطلاعات ورودی به پیش‌پیشانی کمک می‌کنند [۴]. به عنوان مثال ثبت پتانسیل میدانی موضعی (LFP)[۶] از دو ناحیه OB[۷] و mPFC در حالت های بی‌حرکت و جستو نشان داد که پیک توان فرکانسی نوسانات مرتبط با تنفس در ناحیه mPFC متناسب با میزان تنفس تغییر و با افزایش تعداد تنفس توان فرکانسی به صورت همزمان با تنفس افزایش پیدا می‌کند [۵]. در مطالعه‌ای اخیرا نشان داده شده است که تنفس از طریق بینی در زمان دم باعث افزایش توان فرکانس‌های مختلف در نواحی هیپوکمپ[۸]، آمیگدال و قشر پیریفرم در انسان می‌شود. در حالی که در شرایط تنفس از طریق دهان، توان فرکانس‌های مختلف در نواحی فوق کاهش می‌یابد و تفاوتی بین دم و بازدم وجود ندارد [۶]. همچنین شواهدی وجود دارند که نشان می دهند در شرایط بالبکتومی[۹] یا زمانی که تنفس بجای بینی از دهان انجام می‌شود، نوسانات ناشی از تنفس در نواحی مختلف مغز کاهش پیدا می‌کنند [۴].

همچنین در مطالعات دیگر مشاهده کرده‌اند که بین سیکل تنفس و نوسانات گاما در بازه فرکانسی (۷۰-۱۲۰ هرتز) در دو ناحیه OB و mPFC همبستگی وجود دارد [۵]. با این حال اثر اعمال جریان هوا در بینی بر نوسانات قشر پیش‌پیشانی میانی (mPFC) به عنوان ناحیه‌ای مهم در پردازش اطلاعات مغزی بررسی نشده است. در این مطالعه پتانسیل میدانی موضعی نواحی OB و mPFC در دو گروه موش صحرایی تحت تهویه مکانیکی با/بدون اعمال جریان هوای بینی (با فرکانس ۱ Hz) ثبت و آنالیز شد.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم (تهیه از انستیتو پاستور کرج) استفاده کرده‌ایم. حیوانات پس از خریداری به تعداد ۶ سر در هر قفس از جنس پلکسی گلاس شفاف در خانه حیوانات گروه فیزیولوژی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس نگهداری شده‌اند. در اتاق نگهداری نور، تهویه، سیستم گرمایی و سرمایی کنترل و ثبت دمای بیشینه و کمینه انجام شد. شرایط نوری حیوانات بطور ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت شد (شروع روشنایی ساعت ۷ صبح). آب و غذا بطور آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد. رطوبت تابع شرایط رطوبتی هوای آزاد است. پیش از شروع آزمایشات زمان لازم برای سازش حیوانات با محیط آزمایشگاه رعایت شد. کار با حیوانات بر اساس مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

روند انجام مطالعه:

حیوانات در ۲ گروه قرار گرفتند:

- گروه MV: حیوانات تحت تهویه مکانیکی بدون اعمال جریان هوا در بینی؛
- گروه MV/N: حیوانات تحت تهویه مکانیکی با اعمال جریان هوا در بینی (فرکانس ۱ Hz).

برای ایجاد بیهوشی حیوانات از داروی استنشاقی ایزوفلوران (۴٪) و برای حفظ بیهوشی ایزوفلوران (۱/۵٪) استفاده شد. در مدت بیهوشی حیوانات روی پد گرمایی قرار گرفته و دمای بدن آنها در محدوده (۳۷±۰/۵) حفظ

[1] Piriform cortex
[2] Amygdala
[3] Entorhinal
[4] Medial prefrontal cortex
[5] Prefrontal respiration rhythm
[6] Local field potential
[7] Olfactory bulb
[8] Hippocampus
[9] Bulbectomy

شده است. همچنین به فاصله هر ۴۵ دقیقه به اندازه ۴/۱ ml/Kg نرمال سالین به صورت زیرجلدی برای جلوگیری از دهیدراتاسیون به حیوانات تزریق می‌شد. طی بیهوشی درصد اکسیژن شریانی توسط پالس اکسیمتر کنترل شد.

برای انجام اینتوباسیون، حیوانات با زاویه ۴۵ درجه روی سطح شیب‌دار قرار گرفته، به کمک تابش نور روی گردن دید کافی از تارهای صوتی ایجاد شده و اینتوباسیون انجام گردید. برای انجام این کار از آنژیوکت G۱۴ استفاده شد. به این صورت که آنژیوکت را به اندازه ۳ میلی‌متر داخل تراشه حیوان وارد کرده سپس قسمت فلزی آن را خارج می‌کنیم و قسمت پلاستیکی در نای باقی می‌ماند.

حیوانات با حجم جاری ۱ ml/۱۰۰g و نرخ تنفس ۶۰ breaths/min تحت تهویه مکانیکی با دستگاه ونتیلاتور حیوانی (Harvard Apparatus, Holliston, MA) قرار گرفته اند. برای اعمال جریان هوا در بینی از پمپ هوا که با واسطه شیر برقی به طور همزمان با سیکل تنفسی ونتیلاتور با نرخ ۶۰ بار در دقیقه (۱ Hz) قطع و وصل می‌شد استفاده شد. حیوانات همه گروه‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شده و در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفته اند. از الکترود استیل ضد زنگ با روکش تفلون با قطر ۱۲۷ میکرومتر (A-M systems, USA) استفاده شد. الکترودها به صورت عمقی در نواحی OB (پیاز بویایی)، mPFC (قشر پیش‌پیشانی میانی) قرار داده شدند. پس از ۱۰ روز که دوره بهبود حیوانات به اتمام رسید، حیوانات همه گروه‌ها بجز گروه کنترل مطابق توضیحات ذکر شده بیهوشی، اینتوباسیون، تهویه مکانیکی و جریان هوا در بینی برای مدت ۲ ساعت اعمال شد و همزمان پتانسیل میدانی موضعی OB و mPFC ثبت گردید. سیگنال‌ها با نرخ نمونه‌برداری ۱ kHz و در محیط متلب (BIODAC-ESR18622, TRITA WaveGram Co., Tehran, Iran) ثبت شد.

روش آنالیز آماری:

برای مقایسه‌ی تغییرات توان در طول فرکانس‌ها (power spectrum analysis) از کد pwelch تحت برنامه متلب استفاده شد. همچنین بررسی تغییرات توان در طول زمان ثبت توسط آنالیز زمان-فرکانسی (time-frequency analysis) به وسیله کد spectogram انجام شد. برای مقایسه نتایج از آزمون آماری Two-way ANOVA استفاده شد. سطح معناداری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

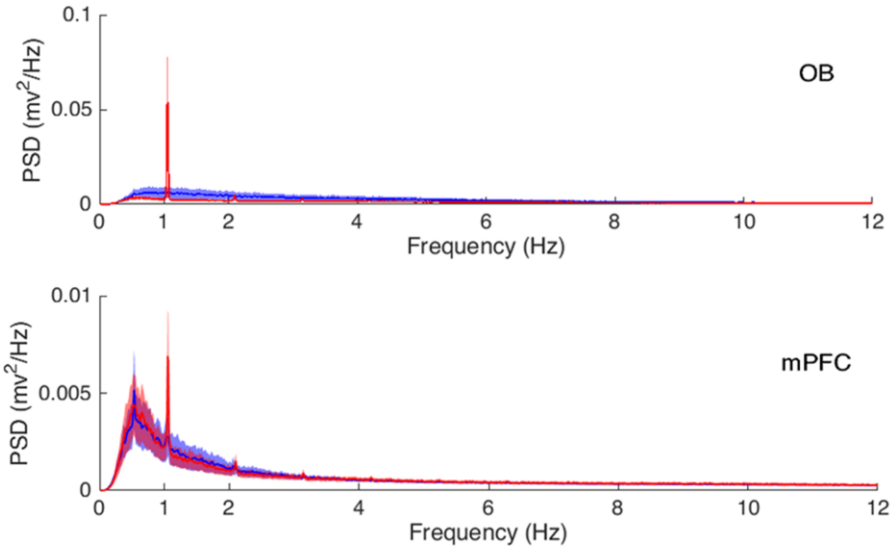
نتایج ما نشان داد که اعمال جریان هوا در بینی با فرکانس ۱ Hz باعث افزایش توان فرکانسی در هر دو ناحیه‌ی OB و mPFC شد (شکل ۱).

همچنین آنالیزهای زمان-فرکانسی در مدت ۲ ساعت بیهوشی در دو گروه نشان داد که توان فرکانسی در گروهی که تحت تهویه مکانیکی به همراه اعمال جریان هوا بوده‌اند، در تمام مدت بیهوشی در فرکانس ۱ Hz بالا و در گروهی که تنها تهویه مکانیکی گرفته‌اند پایین بوده است.

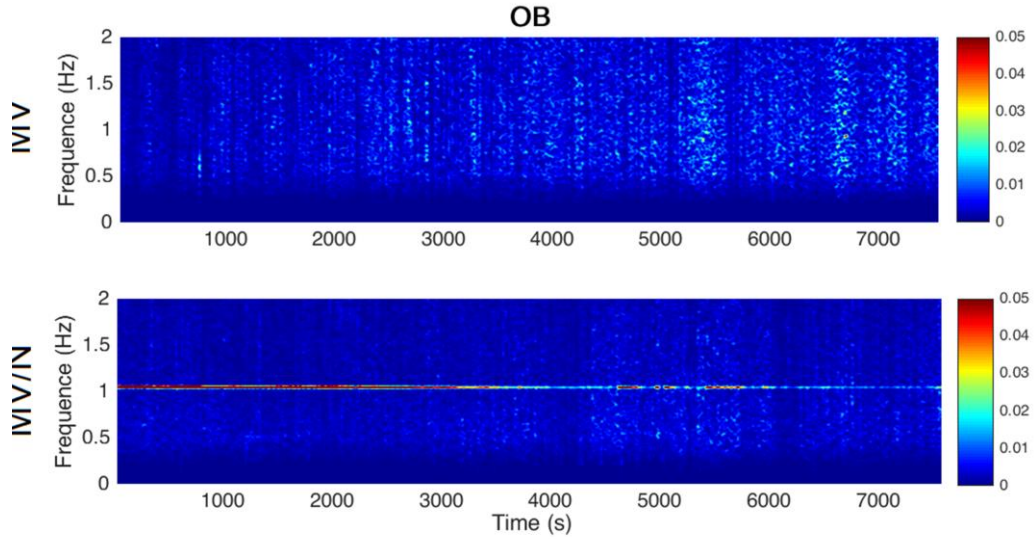
همچنین مقایسه آماری بین دو گروه و در هر دو ناحیه OB و mPFC نشان داد که توان فرکانسی در محدوده فرکانسی ۱ Hz در ناحیه‌ی OB در گروه تهویه مکانیکی به همراه جریان هوای بینی بطور معناداری ($P<۰/۰۰۱$) بیشتر از گروه تحت تهویه مکانیکی بود. در بررسی‌های آماری توان فرکانسی در ناحیه mPFC نیز مشاهده شد که توان فرکانسی در محدوده فرکانسی ۱ Hz در ناحیه ی mPFC در گروه تهویه مکانیکی به همراه جریان هوای بینی به طور معناداری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از گروه تحت تهویه مکانیکی بود.

بحث:

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تنفس از طریق بینی در زمان دم باعث افزایش توان فرکانس‌های مختلف در نواحی هیپوکمپ، آمیگدال و قشر پیریفرم در انسان می شود [۷]، بنابراین ما در این مطالعه اثر اعمال جریان هوا در بینی را بر پتانسیل‌های میدانی موضعی قشر پیش پیشانی در موش‌های صحرایی تحت تهویه مکانیکی بررسی کردیم. مطالعات قبلی در موش‌های تحت تراکئوستومی نشان داد که ریتم‌های مرتبط با تنفس در ناحیه هیپوکمپ کاهش پیدا کرده بود. اما زمانی که هوا داخل بینی این رت‌ها فرستاده شد نوسانات ناشی از تنفس در هیپوکمپ بهبود پیدا کرد [۸،۹]، این در حالی است که تغییرات نوسانی در ناحیه پیش‌پیشانی که از نظر

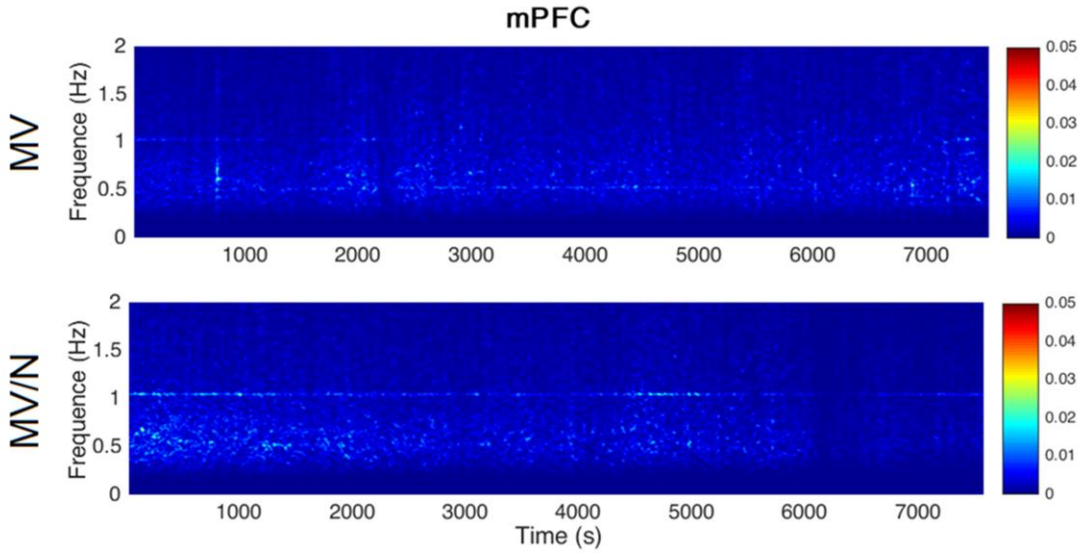


شکل ۱ - آنالیز توان-فرکانسی در دو گروه تهویه مکانیکی (آبی) و تهویه مکانیکی همراه با اعمال جریان هوا بینی (قرمز). اعمال جریان هوا در بینی باعث افزایش توان فرکانسی در ۱ هرتز در هر دو ناحیه OB و mPFC شده است.

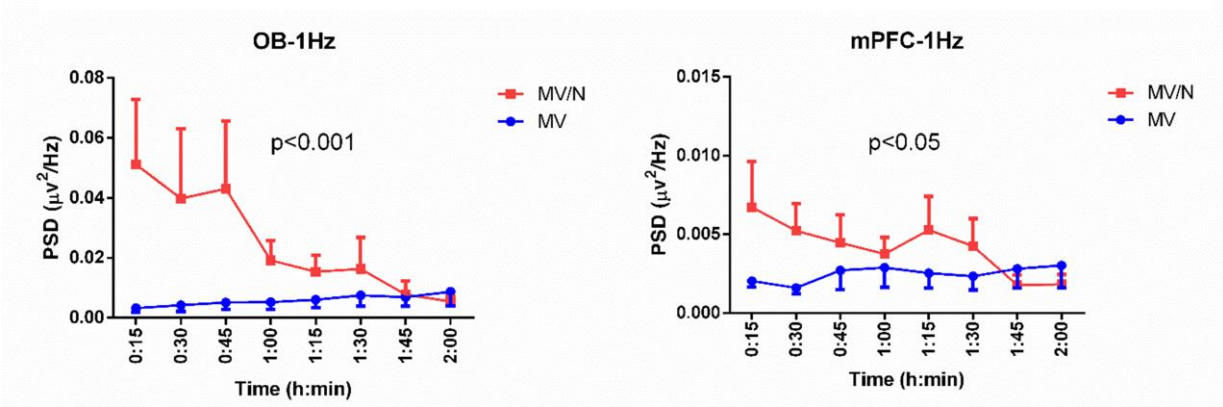


شکل ۲ - آنالیز زمان-فرکانسی در دو گروه تهویه مکانیک (MV) و تهویه مکانیکی همراه با اعمال جریان هوا بینی (MV/N) در ناحیه OB. اعمال جریان هوا باعث ایجاد پیک توان فرکانسی در تمام مدت ثبت در گروه تهویه مکانیکی همراه اعمال جریان هوا در ناحیه OB شده است.

آناتومیکی با ناحیه‌ی OB در ارتباط است بررسی نشده بود. در همین راستا نتایج ما نشان داد که به دنبال اعمال جریان هوای بینی با فرکانس Hz ۱، توان فرکانسی در هر دو ناحیه OB و mPFC در این فرکانس افزایش پیدا کرد (شکل۱). مطالعات قبلی بر روی موش‌های بیهوش شده با کتامین-زایلازین نشان دادند که در شرایط تراکئوستومی نوسانات آهسته ناشی از تنفس در قشر پیریفرم کاهش می‌یابد [۱۰].



شکل۳- آنالیز زمان-فرکانسی در دو گروه تهویه مکانیکی (MV) و تهویه مکانیکی همراه با اعمال جریان هوا بینی (MV/N) در ناحیه mPFC. اعمال جریان هوا باعث ایجاد پیک توان فرکانسی در تمام مدت ثبت در گروه تهویه مکانیکی همراه اعمال جریان هوا در ناحیه mPFC شده است.



شکل ۴ - مقایسه آماری توان‌های فرکانسی ۱ Hz در دو ناحیه OB وmPFC . توان فرکانسی در هر دو ناحیه OB و mPFC در گروهی که تحت تهویه مکانیکی به همراه اعمال جریان هوا بوده‌اند در طول ثبت بیشتر از گروه تهویه مکانیکی بوده است.

همچنین مطالعه‌ای نشان داد که در زمان بی‌حرکتی در حین تست TST[1] پیک توان فرکانسی LFP ثبت شده از ناحیه mPFC با پیک توان فرکانسی تنفس همزمان است و LFPهای ناحیه‌ی mPFC همبستگی بالایی با تنفس از طریق بینی دارد [۴]. در همین راستا نتایج ما نشان داد در شرایطی که حیوان بیهوش است و تنفس از راه بینی ندارد نوسانات پتاسیل‌های میدانی موضعی در دامنه فرکانسی ۰ تا ۲ Hz در کمترین مقدار خود هستند. اما به دنبال اعمال جریان هوا در بینی با فرکانس ۱ Hz افزایش توان فرکانسی در هر دو ناحیه mPFC و OB مشاهده شد (شکل ۲ و ۳). همچنین در مطالعه ای که Biskamp و همکارانش انجام دادند به صورت دو طرفه پیاز بویایی را از بین بردند و مشاهده کردند توان PRRها کاهش پیدا کرد در حالیکه توان فرکانس‌های دیگر مثل تتا و گاما تغییری نکرد [۴]. در مطالعه‌ای دیگر

[1] Tail suspension test

نشان داده شد که به دنبال ایجاد ترس و رفتار بی‌حرکتی ناشی از ترس موش‌ها با فرکانس ۴ Hz تنفس می‌کنند که این فرکانس با نوسانت ۴ Hz در ناحیه پره‌لیمبیک قشر پیش پیشانی همبستگی دارد و بیانگر ارتباط آناتومیکی ناحیه اپیتلیوم بویایی و قشر پیش‌پیشانی است. همچنین مشاهده کردند به دنبال تخریب اپیتلیوم بویایی نوسانات ۴ Hz در PFC از بین می‌رود [۱۱]. در همین راستا در مطالعه ما مشاهده گردید که به دنبال بیهوشی و اینتوباسیون و نبود جریان هوا در بینی، توان فرکانسی در هر دو ناحیه OB و mPFC درتمام مدت ثبت کمتر بوده است. اما با تحریک مکانیکی حفره بینی با جریان هوا، توان فرکانسی در هر دو ناحیه افزایش پیدا کرد که این افزایش توان در ابتدای دوره اعمال جریان هوا در هر دو ناحیه بیشتر بوده و به مرور زمان کمتر شده است (شکل۴). این نتایج هم راستا با مطالعه‌ای است که به دنبال تحرک اپیتلیوم بویایی به وسیله بوهای مختلف (در شرایط بی‌هوشی با یورتان)، مشاهده شد که توان فرکانس‌های مختلف در نواحی OB, PFC و هیپوکمپ تغییر پیدا می‌نماید [۱۲].

نتیجه گیری:

مطالعه ما نشان داد که ارتباط عملکردی موثری بین ناحیه اپیتلیوم بینی و قشر پیش‌پیشانی وجود دارد و با اعمال جریان هوا در بینی می‌توان نوساناتی در همان فرکانس در قشر پیش‌پیشانی به وجود آورد و به این صورت قشر پیش‌پیشانی را تحریک کرد.

این روش می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های درمانی تهاجمی مانند tDCS[1] و rTMS[2] باشد، تا با اعمال جریان هوا در بینی، به جای تحریکات الکتریکی یا مغناطیسی مغز، اختلالات مربوط به ناحیه پیش‌پیشانی مثل اختلالات شناختی را کاهش داد و به این صورت کیفیت زندگی را در افراد با مشکلات مغزی مرتبط با این ناحیه بهبود بخشید.

منابع:

1) Adrian ED. Olfactory reactions in the brain of the hedgehog. The Journal of Physiology. 1942; 100(4):459–473.
2) Grosmaitre X, Santarelli LC, Tan J, Luo M, Ma M. Dual functions of mammalian olfactory sensory neurons as odor detectors and mechanical sensors. Nature Neuroscience. 2007; 10(3):348–354.
3) Jia H, Pustovyy OM, Waggoner P, et al. Functional MRI of the olfactory system in conscious dogs. PLoS ONE. 2014; 9(1):e86362.
4) Biskamp J, Bartos M, Sauer J-F. Organization of prefrontal network activity by respiration-related oscillations. Scientific Report. 2017; 7:45508.
5) Zhong W, Ciatipis M, Wolfenstetter T, et al. Selective entrainment of gamma subbands by different slow network oscillations. PNAS. 2017; 114(17):4519–4524.
6) Zelano C, Jiang H, Zhou G, et al. Nasal respiration entrains human limbic oscillations and modulates cognitive function. The Journal of Neuroscience. 2016; 36(49):12448–12467.
7) Wu R, Liu Y, Wang L, Li B, Xu F. Activity patterns elicited by airflow in the olfactory bulb and their possible functions. The Journal of Neuroscience. 2017; 37(44):10700–10711.
8) Nguyen Chi V, Müller C, Wolfenstetter T, et al. Hippocampal respiration-driven rhythm distinct from theta oscillations in awake mice. The Journal of Neuroscience. 2016; 36(1):162–177.
9) Lockmann ALV, Laplagne DA, Leão RN, Tort ABL. A respiration-coupled rhythm in the rat hippocampus independent of theta and slow oscillations. The Journal of Neuroscience. 2016; 36(19):5338–5352.
10) Yanovsky Y, Ciatipis M, Draguhn A, Tort ABL, Brankačk J. Slow oscillations in the mouse hippocampus entrained by nasal respiration. The Journal of Neuroscience. 2014; 34(17):5949–5964.
11) Moberly AH, Schreck M, Bhattarai JP, Zweifel LS, Luo W, Ma M. Olfactory inputs modulate respiration-related rhythmic activity in the prefrontal cortex and freezing behavior. Nature Communications. 2018; 9(1):1528.
12) Kum J, Kim JW, Braubach O, et al. Neural dynamics of olfactory perception: low- and high-frequency modulations of local field potential spectra in mice revealed by an oddball stimulus. Frontiers in Neuroscience. 2019; 13:478.

[1] Transcranial direct current stimulation

[2] Repetitive transcranial magnetic stimulation

Nafas, Vol. 6, No. 2, Summer 2019, Pages: 16-21

Original Article

Evaluating the Effect of Applying Nasal Airflow on Medial Prefrontal Cortex in Rats

Sepideh Ghazvineh[1], Alireza Salimi[2], Javad Mirnajafi-Zadeh[1], Mohammad Reza Raoufy[1*]

1) Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2) Chronic Respiratory Diseases Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract:
There are evidences that olfactory bulb (OB) activity during nasal breathing continuously generates respiration-coupled oscillations in widespread neocortical and subcortical regions. Nasal breathing creates oscillations associated with the breathing cycle in the olfactory bulb, which are transmitted to primary areas of the olfactory system such as the piriform cortex. Recently these respiratory related oscillations have been reported in the medial prefrontal cortex (mPFC) region too. However, it has not been investigated that whether applying nasal airflow in the absence of nasal breathing may cause these oscillations in the mPFC region or not. In this study we applied airflow in nostrils rats and recorded OB and mPFC local field potential (LFP). We observed that applying nasal airflow can stimulate mPFC and this method can introduce as a non-invasive method to stimulate the mPFC region and increase the electrical activity of this area.

Keywords:
Olfactory bulb, Medial prefrontal cortex, Nasal breathing, Nasal airflow, Local field potential

* **Corresponding Author:**
Mohammad Reza Raoufy, MD PhD. Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Email: raoufy@modares.ac.ir