

بررسی بی‌نظمی الگوی تنفس در مدل آسم موش صحرایی

سید مهدی اسلامی بهروزی^۱، احسان عارف^۱، سعید پژوهان^۱، محمد جوان^۱، محمد رضا رئوفی^{۱*}

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

چکیده:

آسم بیماری تنفسی مزمن رایجی است که با تنگ شدن برگشت‌پذیر راه‌های هوایی همراه می‌باشد. مطالعات انسانی نشان می‌دهند که در سیر بیماری آسم الگوی تنفس و پاسخ‌دهی مجاری هوایی تغییر می‌کند. هدف از انجام این مطالعه بررسی الگوی تنفس موش صحرایی در شرایط طبیعی و آسماتیک است. در این مطالعه حیوانات به دو گروه آسمی و سالم تقسیم شدند. برای آسمی کردن حیوانات از اووآلبومین و در گروه سالم از سالین استفاده شد. الگوی تنفس به وسیله بادی باکس پلتیسموگراف حیوانی ثبت شد. سپس تعداد تنفس، حجم تنفسی و فواصل بین تنفس جهت آنالیز در محیط نرم‌افزار MATLAB مورد بررسی قرار گرفت. برای تایید آسمی شدن، پاسخ‌دهی مجاری هوایی و التهاب ائوزینوفیلی بررسی شد. برای بررسی پاسخ‌دهی مجاری هوایی به متاکولین، حیوان بیهوش و تراکئوستومی شد. پس از فلج کردن عضله اسکلتی، حیوان به ونتیلاتور متصل شد. پاسخ‌دهی مجاری هوایی پس از استنشاق دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ mg/ml متاکولین با فاصله ۶ دقیقه بررسی شد. التهاب ائوزینوفیلی نیز با روش لاواژ مایع برونکوالوئولار (BAL) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ائوزینوفیل‌ها در نمونه‌های آسمی نسبت به گروه کنترل افزایش داشت ($P < 0/0001$). پاسخ‌دهی مجاری هوایی نسبت به متاکولین در گروه اووآلبومین در دوزهای ۴ mg/ml ($P < 0/01$) و ۸ mg/ml ($P < 0/0001$) نسبت به گروه سالین افزایش معناداری پیدا نمود. تعداد تنفس بین دو گروه هیچ تفاوت معناداری با هم نداشت. حجم تنفسی در گروه سالین نسبت به حالت پایه ($P < 0/01$) و گروه سالین ($P < 0/001$) کاهش معناداری نشان داد. بی‌نظمی فواصل بین تنفس در گروه اووآلبومین در مقایسه با پایه منظم‌تر گردید ($P < 0/05$). همچنین این فواصل در گروه اووآلبومین در مقایسه با گروه سالین ($P < 0/001$) نیز منظم‌تر شد. پیچیدگی الگوی تنفس در حیوانات آسمی کمتر بود. بنابراین در واقع می‌توان گفت، الگوی تنفس در این حیوانات منظم‌تر شده است که این تغییر می‌تواند ناشی از مکانیسم‌های مرکزی باشد.

واژگان کلیدی: آسم، حجم تنفسی، فواصل بین تنفس، الگوی تنفس، پاسخ‌دهی مجاری هوایی

* نویسنده مسئول:

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

مقدمه:

آسم بیماری تنفسی مزمن رایجی است که با تنگ شدن برگشت‌پذیر راه‌های هوایی همراه می‌باشد [۱]. طبق برآورد سازمان بهداشت جهانی، ۵۳۲ میلیون نفر در جهان به بیماری آسم مبتلا هستند که ۲۵۰-۳۴۵ هزار نفر سالانه در اثر این بیماری جان خود را از دست می‌دهند. بیشتر مبتلایان به آسم به درمان‌های رایج (گلوکوکورتیکوئیدها) بخوبی پاسخ می‌دهند ولی حدود ۱۰٪ افراد آسمی به این درمان پاسخ نمی‌دهند [۲، ۳]. یافتن مکانیسم‌های ایجاد آسم، می‌تواند نقش مهمی در کاهش شیوع و همچنین مرگ و میر ناشی از این بیماری داشته باشد.

مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نشان داده است که الگوی‌های بیولوژیکی دارای ساختار پیچیده^۱ هستند [۴]. بیشترین مطالعات انجام شده در این زمینه مربوط به بررسی دینامیک قلب است. هرچند ضربان قلب در افراد بیمار، مسن یا جوان ممکن است تفاوت چندانی نداشته باشد اما تغییرپذیری آن بین این گروه‌ها متفاوت است و هرچه پیچیدگی الگو کمتر شود نشان دهنده پیش‌آگهی بدتری است [۴-۶]. تنفس نیز یک پدیده پرپودیک است. با این حال، آنالیزهای عمیق‌تر نشان می‌دهد که تنفس دارای یک ریتم پیچیده است که در اثر تعامل ورودی‌های متعدد به مرکز تنفس در ساقه مغز ایجاد می‌شود. این ورودی‌ها از رستپورهای شیمیایی محیطی و مرکزی، رستپورهای دیواره قفسه سینه و ششی، آوران‌های واگ و مکانیسم‌های مرکزی غیرتنفسی منشا می‌گیرند [۷]. الگوی تنفس انسان دارای ساختاری پیچیده و نامنظم است [۴، ۵].

الگوی تنفس بیماران مبتلا به آسم دارای انتروپی^۲ کمتر نسبت به افراد سالم است. همچنین، در شرایط آسم کنترل نشده این اختلاف بیشتر افزایش می‌یابد [۸]. Veiga و همکاران گزارش کردند که میزان انتروپی الگوی جریان هوای تنفسی در بیماران آسمی بطور معناداری نسبت به افراد سالم کاهش یافته و این کاهش انتروپی با افزایش مقاومت مجاری هوایی و شدت آسم همبستگی دارد [۹]. در مطالعات رئوفی و همکاران نیز

که بر روی بیماران آسمی انجام شده بود، الگوی تنفس در شرایط آسماتیک دارای همبستگی فرکتالی^۳ کمتر، بی‌نظمی کمتر و طول خاطره بیشتر می‌باشد که در شرایطی که آسم کنترل نشده‌تر باشد، شرایط بدتر می‌شود [۱۰]. بنابراین پیدا کردن مکانیسم الگوی تنفس می‌تواند در درمان و تشخیص بیماری آسم نقش مهمی داشته باشد. با این حال، تاکنون مطالعه‌ای برای آنالیز الگوی تنفس در حیوانات انجام نشده است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی الگوی تنفس موش صحرایی در شرایط طبیعی و آسماتیک بود.

مواد و روش‌ها:

حیوانات مورد آزمایش در این مطالعه موش‌های صحرایی سفید نر، نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم بودند که از انستیتو پاستور کرج تهیه گردیدند. حیوانات پس از خریداری، به تعداد حداکثر ۴ سر در هر قفس که از جنس پلکسی گلاس شفاف بود، در خانه حیوانات گروه فیزیولوژی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس نگهداری می‌شدند. این قفس‌ها از شرکت صنایع رازی راد تهیه شده بودند. اتاق نگهداری دارای تجهیزات کنترل نور، تهویه، سیستم گرمایی و سرمایی و ثبت دمای بیشینه و کمینه بود. شرایط نوری حیوانات بطور ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت می‌شد (شروع روشنایی ساعت ۷ صبح). آب و غذا برای حیوانات بطور آزاد وجود داشت. رطوبت تابع شرایط رطوبتی هوای آزاد بود. پیش از شروع آزمایش‌ها زمان لازم برای سازش حیوانات با محیط آزمایشگاه رعایت گردید. کار با حیوانات بر اساس مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت.

حیوانات به دو گروه آسمی و سالم تقسیم شدند. برای آسمی شدن حیوانات از اووآلبومین (Ova)، هم به صورت استنشاقی و هم تزریقی استفاده شد. به این صورت که برای حساس شدن حیوان، در روز صفر و ۷ مقدار ۱۰۰ میلی گرم اووآلبومین به همراه ۲۰۰ mg Al(OH)₃ که به حجم کلی ۰/۵ ml سالین استریل ۰/۹٪ رسید، بصورت داخل صفاقی تزریق شد. برای القای آسم، حیوانات از روز ۱۴ تا ۲۸ یک روز در میان به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه پلاستیکی در معرض Ova

¹ Complex² Entropy³ Fractal

استنشاقی (w/v) ۱٪ در سالین و اندازه ذرات $5 \mu m$ قرار گرفتند (شکل ۱) [۱۱].

حیوانات در روز صفر (قبل از شروع تیمار کردن) و در روز بیست نهم (بعد از شروع تیمار کردن) پروتکل، به داخل بادی باکس پلتیسموگراف^۱ منتقل شدند و بعد از فاصله زمانی که به آرامش رسیدند سیکل‌های تنفسی آن‌ها برای آنالیز الگوی تنفسی به مدت ۲۰ دقیقه ثبت گردید. بوسیله بساط ثبت الگوی تنفس، دو پارامتر زیر ثبت شدند:

- ۱) تغییر جریان هوای داخل محفظه بادی باکس که براساس تنفس حیوان تغییر می‌کند
- ۲) میزان CO_2 داخل محفظه (جریان هوا را طوری تغییر می‌دهیم که میزان CO_2 داخل محفظه ثابت بماند).

داده‌های ثبت شده الگوی تنفس در محیط نرم‌افزار LabChart 7 ذخیره گردید و از آن خروجی برنامه MATLAB گرفته شد. سپس فایل خروجی در محیط نرم‌افزار MATLAB با کدی که در آزمایشگاه نوشته شده بود آنالیز گردید. نحوه محاسبه حجم تنفسی^۲ (RV) و فواصل بین تنفس^۳ (IBI) جهت آنالیز در محیط نرم‌افزار MATLAB بگونه‌ای بود که ابتدا قله امواج شناسایی و علامت‌گذاری شد. سپس سایر پارامترها مورد بررسی قرار گرفتند.

برای تایید آسمی شدن، پاسخ‌دهی مجاری هوایی و التهاب ائوزینوفیلی بررسی شد. جهت بررسی پاسخ‌دهی مجاری هوایی به متاکولین استنشاقی، حیوانات با Urethane $1/5g/kg$ ، طبق مطالعه Elmarzouki و همکاران [۱۲] به‌صورت درون صفاقی بیهوش شدند. سپس برشی طولی به اندازه ۲ سانتی‌متر در ناحیه گردن ایجاد کرده، پس از کنار زدن بافت‌های اطراف تراشه، با کانول $G14$ در حدود یک سانتی‌متر بالای کارینا تراکتوستومی انجام گردید. بلافاصله پس از تراکتوستومی، حیوان به ونتیلاتور وصل شد. برای بررسی پاسخ‌دهی مجاری هوایی از متاکولین به‌صورت استنشاقی استفاده گردید. حدود ۱۰ دقیقه اول برای پایدار شدن شرایط

حیوان در نظر گرفته شد. پاسخ‌دهی مجاری هوایی پس از استنشاق دوزهای $0.25, 0.5, 1, 2, 4$ و $8 mg/ml$ متاکولین با فاصله ۶ دقیقه از طریق دستگاه نبولایز بررسی گردید که از این ۶ دقیقه به مدت ۱ دقیقه دارو نبولایز شده و سپس ۵ دقیقه جهت ریکآوری اختصاص داده شد [۱۳]. خط زمانی تهویه و استنشاق متاکولین در شکل ۲ نمایش داده شده است. پاسخ‌دهی مجاری هوای پس از پایدار شدن حیوان در زمان ریکآوری از طریق دامنه فشار راه‌های هوایی اندازه‌گیری گردید. برای بررسی شرایط حیات حیوان، در طی ونتیلاسیون، همزمان ECG نیز از حیوان گرفته شد. آنگاه داده‌ها در محیط نرم‌افزار LabChart 7 ثبت گردیدند.

جهت بررسی التهاب ائوزینوفیلی نمونه‌ها از روش لاواژ مایع برونکوآلوئولار (BAL) استفاده شد. برای این کار پس از تراکتوستومی، از طریق کانول تراشه، $3 ml$ سالین استریل لاواژ شد. مایع لاواژ برونکوآلوئولار (BALF)^۴ به آرامی با یک سرنگ یکبار مصرف بعد از هر تزریق باز یافت می‌شد. مایع لاواژ شده برونکوآلوئولار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۵۷۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه در دستگاه سیتوسپین سانتریفوژ شده، بعد از آماده‌سازی، نمونه‌ها با روش May-Grunwald-Giemsa رنگ‌آمیزی و سپس در زیر میکروسکوپ تعداد ائوزینوفیل موجود نسبت به کل سلول‌ها شمارش شدند. جهت کمی کردن داده‌ها از هر گروه ۵ لام در نظر گرفته و از هر لام ۵ میدان دید به صورت تصادفی شمرده شد [۱۴].

داده‌ها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism 6 تحلیل و به‌صورت میانگین $\pm$ خطا از میانگین نشان داده شدند. برای بررسی الگوی تنفس و پاسخ‌دهی مجاری هوایی بین گروه‌ها از Two-way ANOVA - Ordinary و از آزمون Bonferroni برای post-hoc برای تعیین گروه‌های دارای اختلاف استفاده شد. برای بررسی التهاب ائوزینوفیلی مایع برونکوآلوئولار بین دو گروه سالم و آسمی از t-test استفاده شده و سطح معناداری P کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج:

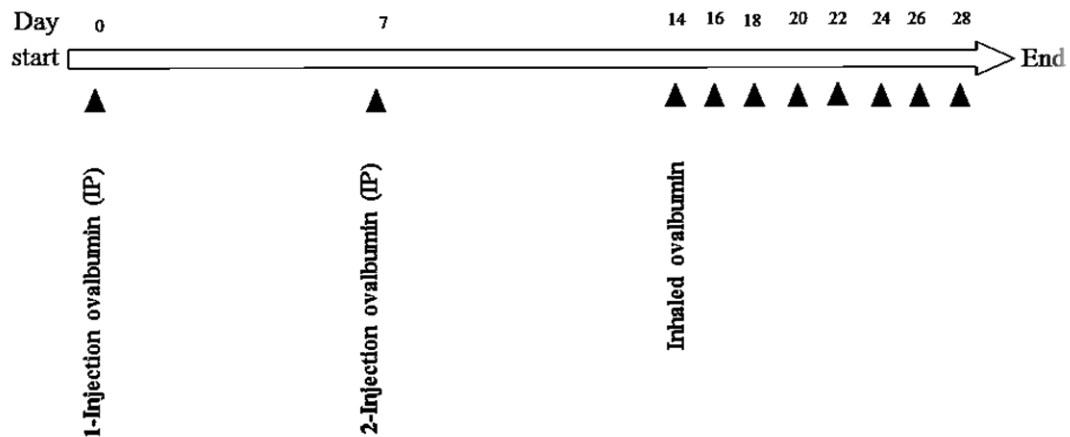
نتایج به‌دست آمده از لاواژ مایع برونکو آلوئولار (شکل ۳) نشان داد که تعداد ائوزینوفیل‌ها در نمونه‌های آسمی

^۱ Plethysmograph

^۲ Respiratory Volume

^۳ Inter-breath interval

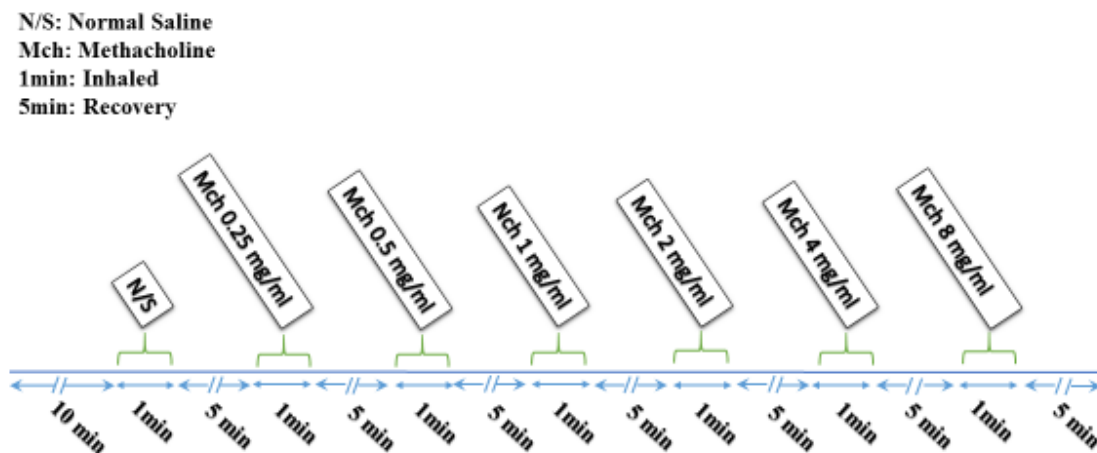
^۴ Bronchoalveolar average fluid



IP (Intraperitoneal) : 100 mg Ovalbumin+ 200mg $Al(OH)_3$ +Salin0.9%

Inhaled ovalbumin: Ovalbumin 1% w/v, Flow=5 Lit/min, Particle size=5 μ m

شکل ۱- پروتکل آسمی کردن حیوانات. برای القای آسم، حیوانات از روز ۱۴ تا ۲۸ یک روز در میان به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه پلاستیکی در معرض اووآلبومین استنشاقی (w/v) ۱٪ در سالین و اندازه ذرات ۵ μ m قرار می‌گرفتند.



شکل ۲- خط زمانی پاسخ‌دهی مجاری هوایی به متاکولین

می‌کند. با توجه به شکل، حجم تنفسی در گروه اووآلبومین در مقایسه با پایه کاهش معناداری داشته ($P < 0.01$) اما گروه سالین تفاوت معناداری با حال پایه نداشت. همچنین حجم تنفسی گروه اووآلبومین در مقایسه با گروه سالین ($P < 0.001$) کاهش معناداری داشته است (شکل ۶).

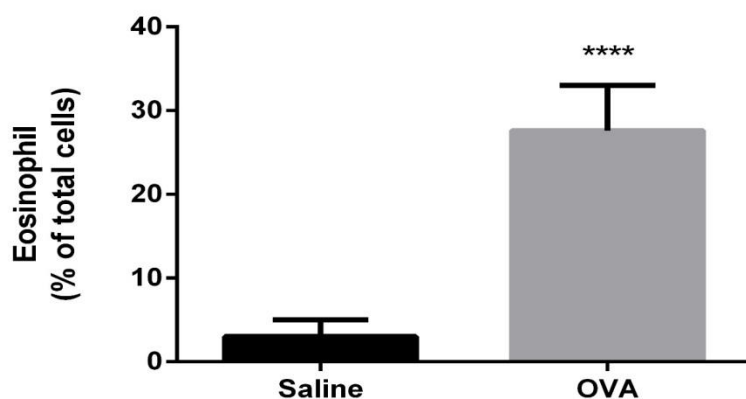
شکل ۷، مقایسه بی‌نظمی فواصل بین تنفس در دو گروه سالین و اووآلبومین برحسب درصد از پایه (روز صفر) و همچنین با یکدیگر را نشان می‌دهد. الگوی تنفس گروه اووآلبومین در مقایسه با پایه منظم‌تر شده است

نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است که این دلیلی بر تایید ایجاد آسم می‌باشد ($P < 0.001$).

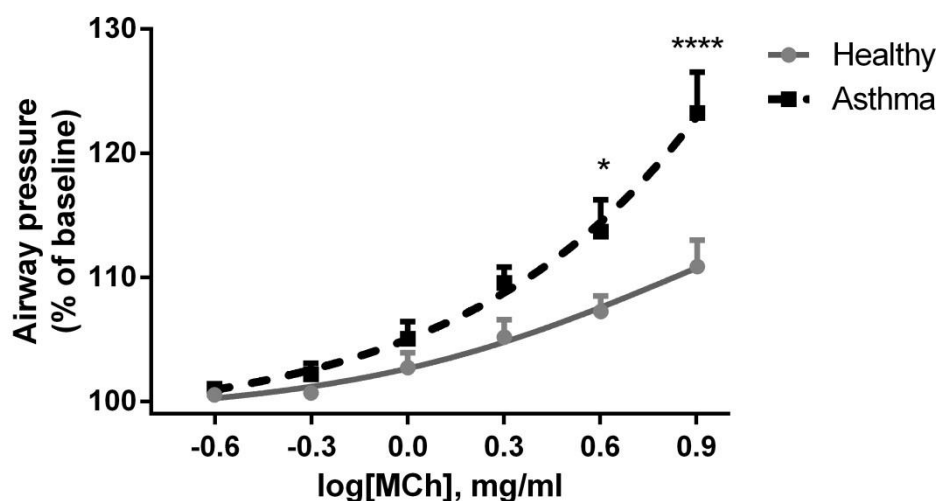
در بررسی پاسخ‌دهی مجاری هوایی نسبت به متاکولین، گروه اووآلبومین در دوزهای ۰/۶ و ۰/۹ ($P < 0.01$) و ۰/۰۰۱ ($P < 0.001$) نسبت به گروه سالین افزایش معناداری داشت (شکل ۴).

تعداد تنفس در دو گروه سالم و آسمی هیچ تفاوت معناداری نداشت (شکل ۵).

شکل ۶، حجم تنفسی در دو گروه سالین و اووآلبومین را با هم و نسبت به پایه (روز صفر) با یکدیگر مقایسه



شکل ۳- مقایسه درصد ائوزینوفیل در دو گروه کنترل (Saline) و آسمی (Ova). درصد ائوزینوفیل‌ها در گروه آسمی (OVA) نسبت به گروه کنترل (Saline) افزایش یافته است (n=6).
****: $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه سالین



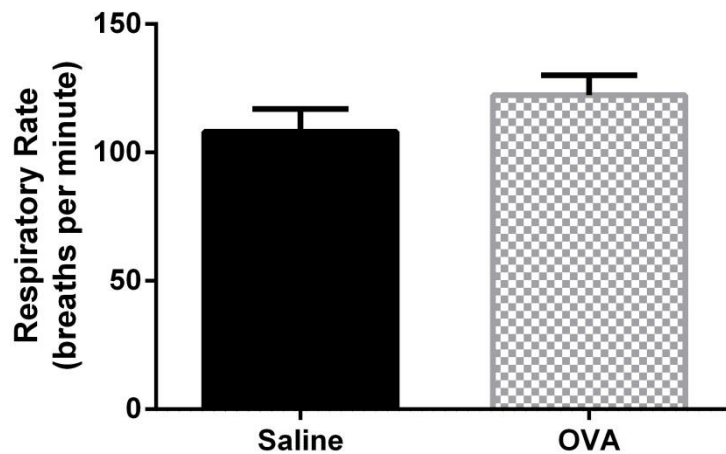
شکل ۴- مقایسه پاسخ‌دهی مجاری هوایی در دو گروه سالم (Saline) و آسمی (Ova) (n=6).
*: $P < 0.01$ در مقایسه با گروه سالین
****: $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه سالین

است که در اثر تعامل ورودی‌های متعدد به مرکز تنفس در ساقه مغز ایجاد می‌شود. این ورودی‌ها از رستپورهای شیمیایی محیطی و مرکزی، رستپورهای دیواره قفسه سینه و ششی، آوران‌های واگ و مکانیسم‌های مرکزی غیرتنفسی منشا می‌گیرند [۷]. ماهیت پیچیده‌ای که در اثر تعامل ورودی‌های متعدد با منشا داخلی و خارجی و

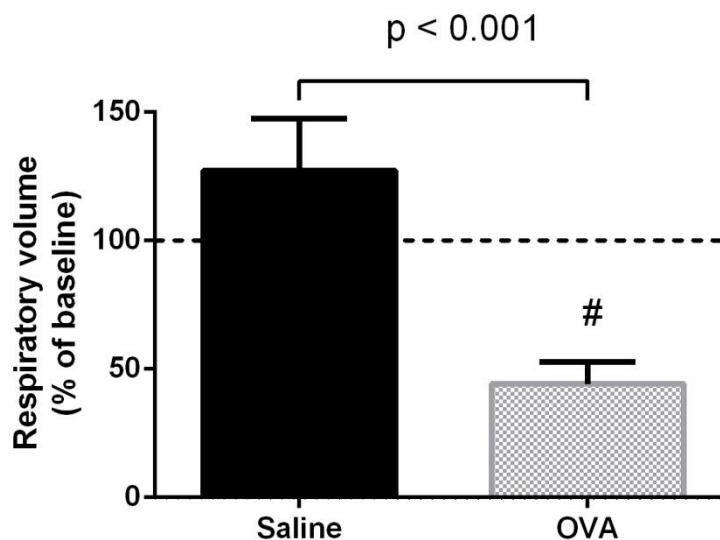
($P < 0.05$). همچنین الگوی تنفس گروه اووآلبومین در مقایسه با گروه سالین ($P < 0.001$) نیز منظم‌تر شده است (شکل ۷).

بحث:

تنفس یک پدیده پیچیده است. با این حال، آنالیزهای عمیق‌تر نشان می‌دهد که تنفس دارای یک ریتم پیچیده



شکل ۵ - مقایسه تعداد تنفس در دو گروه سالم (Saline) و آسمی (OVA). هیچ تفاوت معناداری بین دو گروه نیست ($P > 0.05$) ($n=6$).



شکل ۶ - حجم تنفسی در دو گروه سالیین و اووآلبومین برحسب درصدی از پایه ($n=6$).

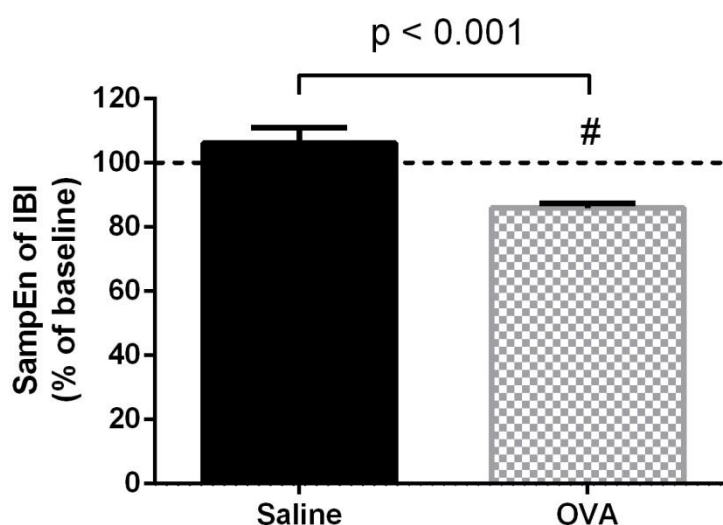
: $P < 0.01$ درمقایسه با پایه

گروه اووآلبومین ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه سالیین

برای تایید آسمی شدن حیوانات، التهاب ائوزینوفیلی و پاسخدهی مجاری هوایی بررسی شد. نتایج لاواژ مایع برونکوالئولار، حاکی از افزایش ائوزینوفیل در گروه اووآلبومین می‌باشد که موید آسمی شدن حیوانات این گروه است. بیماری آسم همراه با التهاب می‌باشد که با توجه به تغییرات التهابی ایجاد شده میزان ائوزینوفیل‌ها که مارکری از التهاب می‌باشد، افزایش می‌یابد [۲].

مسیرهای فیدبکی به وجود می‌آید، تمایل محققین برای استفاده از آنالیز دینامیک غیرخطی^۱ برای شناسایی الگوی تنفس را افزایش داده است. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که آسم باعث کاهش پیچیدگی الگوی تنفس در موش صحرایی می‌شود.

¹ Non-linear dynamics



شکل ۷ - بی‌نظمی فواصل بین تنفس در دو گروه سالین و اووآلبومین برحسب درصدی از پایه ($n=6$).

: $P < 0.05$ در مقایسه با پایه

$P < 0.001$ در مقایسه با گروه سالین

است و این کاهش انتروپی با افزایش مقاومت مجاری هوایی و شدت آسم همبستگی دارد. آن‌ها نتیجه گرفتند که پیچیدگی الگوی تنفس در بیماران آسمی کاهش می‌یابد و این مسئله می‌تواند باعث کاهش سازش‌پذیری سیستم تنفس در انجام برخی کارهای روزانه از جمله ورزش در این بیماران شود [۹].

مکانیسم‌های مختلفی برای تغییر الگوی تنفس می‌توان مطرح کرد. آسم معمولاً بعنوان بیماری التهاب مزمن راه هوایی تعریف می‌شود ولی برخی از تظاهرات آن می‌تواند نتیجه تعامل بین سیستم عصبی و سیستم ایمنی باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که واسطه‌های التهابی در نواحی مختلف ساقه مغز به خصوص NTS^۲ در افراد آسمی افزایش پیدا می‌کنند که این خود شاهدهی بر شکل‌پذیری عصبی در NTS در مدل حیوانی آسم است [۱۸]. همچنین مطالعه لین و همکاران که بر روی حیوانات آسماتیک انجام شد، نشان داد که با تغییر سیستم ایمنی و انتقال سیتوکین‌ها به سیستم اعصاب مرکزی، حساس شدن مرکزی ایجاد می‌شود [۱۸-۲۰]. بنابراین در شرایط آسماتیک تغییر در مرکز تنفس باعث ایجاد تغییراتی در الگوی تنفس می‌شود. عوامل دیگری

ناهنجاری اختصاصی آسم، واکنش‌دهی مفرط راه‌های هوایی^۱ (AHR) است. AHR توصیف کننده تنگی بیش از حد برونش در برابر عوامل استنشاقی است که بر راه‌های هوایی طبیعی اثری ندارند. میزان پاسخ‌دهی مجاری هوایی در گروه "آسماتیک" نسبت به گروه سالم، افزایش یافته بود. این عامل نشان دهنده افزایش حجم عضله صاف و تغییر ساختار ایجاد شده در آسم می‌باشد. میزان پاسخ‌دهی از مهم‌ترین شاخص‌های بیماری آسم می‌باشد [۱۵، ۱۶].

در این مطالعه، تعداد تنفس بین دو گروه هیچ تفاوت معناداری نداشت. حجم تنفسی در شرایط آسماتیک نسبت به شرایط طبیعی کمتر شده بود. این کاهش می‌تواند در نتیجه انسداد ایجاد شده در راه‌های هوایی موش‌های آسمی باشد. این خصوصیات با مطالعات انسانی نیز همخوانی دارد [۱۰، ۱۷]. آنالیز بی‌نظمی فواصل بین تنفس، نشان می‌دهد که الگوی تنفس در گروه آسماتیک نسبت به گروه کنترل منظم‌تر شده است. Veiga و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی بیماران مبتلا به آسم با شدت‌های مختلف و افراد سالم انجام دادند، گزارش کردند که میزان انتروپی الگوی جریان هوا در بیماران آسمی بطور معناداری نسبت به افراد سالم کاهش یافته

^۲ Nucleus tractus solitaire

^۱ Airway hyper-responsiveness

- 11) Vanacker NJ, Palmans E, Kips JC, Pauwels RA. Fluticasone inhibits but does not reverse allergen-induced structural airway changes. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001;163(3 Pt 1):674-679.
- 12) Elmarzouki H, Aboussaleh Y, Bitiktas S, et al. Effects of cold exposure on behavioral and electrophysiological parameters related with hippocampal function in rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2014;8:253.
- 13) Petak F, Hantos Z, Adamicza A, Asztalos T, Sly PD. Methacholine-induced bronchoconstriction in rats: effects of intravenous vs. aerosol delivery. *Journal of Applied Physiology*. 1997;82(5):1479-1487.
- 14) Thompson AB, Teschler H, Wang YM, Konietzko N, Costabel U. Preparation of bronchoalveolar lavage fluid with microscope slide smears. *European Respiratory Journal*. 1996;9(3):603-608.
- 15) Tliba O, Amrani Y, Panettieri RA, Jr. Is Airway Smooth Muscle the Missing Link Modulating Airway Inflammation in Asthma? *Chest Journal*. 2008;133(1):236-242.
- 16) Camoretti-Mercado B. Targeting the airway smooth muscle for asthma treatment. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2009;154(4):165-174.
- 17) Frey U, Brodbeck T, Majumdar A, et al. Risk of severe asthma episodes predicted from fluctuation analysis of airway function. *Nature*. 2005;438(7068):667-670.
- 18) Lin MJ, Lao XJ, Liu SM, Xu ZH, Zou WF. Leukemia inhibitory factor in the neuroimmune communication pathways in allergic asthma. *Neuroscience Letters*. 2014;563:22-27.
- 19) Chen SD, Wen ZH, Chang WK, et al. Acute effect of methylprednisolone on the brain in a rat model of allergic asthma. *Neuroscience Letters*. 2008;440(2):87-91.
- 20) Wrona D. Neural-immune interactions: an integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *Journal of Neuroimmunology*. 2006;172(1-2):38-58.
- 21) Dames KK, Lopes AJ, de Melo PL. Airflow pattern complexity during resting breathing in patients with COPD: effect of airway obstruction. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2014;192:39-47.
- 22) Venegas JG, Winkler T, Musch G, et al. Self-organized patchiness in asthma as a prelude to catastrophic shifts. *Nature*. 2005;434(7034):777-782.

همچون فاکتورهای سوپراپونتاین^۱، کمورسپتور^۲، تنگ شدن و افزایش مقاومت راه‌های هوایی نیز می‌تواند در تغییر الگوی تنفس در آسم دخیل باشند [۱۰، ۲۱، ۲۲].

پیچیدگی الگوی تنفس در آسم تغییر می‌کند که این می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی همچون التهاب، پلاستیسیته^۳، تغییر گازها و مکانیسم‌های مرکزی باشد. در مطالعات آینده می‌توان مکانیسم‌های دخیل در کاهش پیچیدگی الگوی تنفس را بررسی کرد.

منابع:

- 1) Fahy JV. Remodeling of the airway epithelium in asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001;164:S46-S51.
- 2) Fauci S, Longo S. Harrison's principles of internal medicine. 7th Ed. Philadelphia: McGraw-Hill, 2008, Chapter 248.
- 3) Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax Journal*. 2002;57(7):643-648.
- 4) Goldberger AL. Giles f. Filley lecture. Complex systems. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2006;3(6):467-471.
- 5) Goldberger AL, Amaral LA, Hausdorff JM, et al. Fractal dynamics in physiology: alterations with disease and aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99 Suppl 1:2466-2472.
- 6) Ivanov PC, Amaral LA, Goldberger AL, et al. Multifractality in human heartbeat dynamics. *Nature*. 1999;399(6735):461-465.
- 7) Criner GJ, D'Alonzo GE. Pulmonary pathophysiology. 5th ed. Madison, CT: Fence Creek; 1999. Chapter 2, Pulmonary diseases; P. 141-174
- 8) Shirazi AH, Raoufy MR, Ebadi H, et al. Quantifying Memory in Complex Physiological Time-Series. *PloS one Public Library of Science*. 2013;8(9):e72854.
- 9) Veiga J, Lopes AJ, Jansen JM, Melo PL. Airflow pattern complexity and airway obstruction in asthma. *Journal of Applied Physiology*. 2011;111(2):412-419.
- 10) Raoufy MR, Ghafari T, Darooei R, et al. Classification of Asthma Based on Nonlinear Analysis of Breathing Pattern. *PloS one Public Library of Science*. 2016;11(1):e0147976.

¹ Suprapontine

² Chemoreceptor

³ Plasticity

The Effect of Asthma on Complexity Breathing Pattern in Asthma Rat Model

Seyyed Mahdi Eslami-Behroozi¹, Ehsan Aref¹, Saeed Pazhoohan¹,
Mohammad Javan¹, Mohammad Reza Raoufy^{1*}

1) Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract:

Asthma is a common chronic respiratory disease with reversible narrowing of the airways. Human studies show that breathing pattern and airway hyper-responsiveness have been changed in the course of the asthma disease. So, this study aimed to assess breathing patterns in normal and asthmatic rats.

We assigned animals to one of two protocols: Saline and ovalbumin (asthmatic rats). Using body box plethysmography, animal respiration was recorded before and after each protocol. Then, respiratory rate, respiratory volume and inter-breath interval was quantified by non-linear analysis in MATLAB. To verify asthma, we evaluated hyper-responsiveness and bronchoalveolar lavage fluid after completion of the challenges. In order to evaluate hyper-responsiveness to methacholine, the animals were anesthetized and tracheostomy was done on them. Then the animals were connected to ventilator after their skeletal muscle were paralyzed. Hyper-responsiveness was measured at a distance of 6 minutes, after inhalation of doses of 0/25, 0/5, 1, 2, 4 and 8 mg/ml methacholine. Furthermore, bronchoalveolar lavage (BAL) fluid were used to study the eosinophilic inflammation.

The increased airway inflammation was found only in the allergen group ($p < 0.0001$). Compared with control group, airway responsiveness were significantly increased in asthmatic rats that received 4 mg/ml ($p < 0.01$) and 8 mg/ml ($p < 0.0001$) methacholine. Respiratory rate, was not significantly different between the two groups. The respiratory volume in ovalbumin group had significant decrease to baseline ($p < 0.01$) and Saline group ($p < 0.001$). The respiratory dynamics showed an increased regularity in asthmatic rats, compared to baseline ($p < 0.05$) and control group ($p < 0.001$).

The less complexity of the breathing pattern in asthmatic animals denotes that breathing pattern of asthmatic rats is more regular. This finding may be caused by central mechanisms.

Keywords: Asthma, Respiratory volume, Inter-breath interval, Breathing pattern, Airway hyperresponsiveness

* Corresponding Author:

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