● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ چهارم، شمارهٔ ۲، ص ۸۴-۷۶، ۱۳۷۶

مقالهٔ پژوهشی

ایجاد آسم تجربی در گربه

دکتر امین ا.. بهاءالدینی[۱]، دکتر غلامعباس دهقان[۲] و دکتر پ وکومار[۳]

خلاصه

برای ایجاد آسم تجربی، ۱۹ عدد گربه با محلول سفیدهٔ تخم‌مرغ (آلرژن) از طریق تزریقی و استنشاقی به صورت یک روز در میان و به مدت ٤ هفته، حساس گردیدند. در پایان این دوره و بعد از حصول اطمینان از حساس شدن، حیوان را بی‌هوش نموده و با انجام عمل جراحی، شریان و ورید رانی جهت تهیه نمونه خون شریانی و یا تزریق بعضی داروها کانول‌گذاری گردید. با عمل تراکئوستومی و لوله گذاریِ نای گربه علاوه بر پاشیدن آلرژن به داخل ریه، در صورت لزوم با استفاده از پمپ، تنفس حیوان نیز تحت کنترل قرار می‌گرفت. با بازکردن قفسهٔ سینه در فاصله دنده‌های ٥-٤ و وارد کردن کانول مخصوص در فضای جنب، تغییرات فشار و تعداد تنفس ثبت گردید. برای ایجاد آسم در زمان آزمایش از آلرژن به صورت اسپری استفاده شد و در خاتمه با تزریق محلول اشباع کلرور پتاسیم حیوان را کشته، ریه آن را جدا نموده و جهت تهیه برش‌های آسیب‌شناسی، در فرمالین ۱۰٪ نگهداری گردید. اعمال فوق در یک گروه ۹ تایی گربه (گروه شاهد) با استفاده از سرم فیزیولوژی به جای آلرژن تکرار گردید مشکل شدن عمل دم و بازدم و سطحی و سریع شدن تنفس همزمان با کاهش فشار اکسیژن خون شریانی در حیوانات گروه آزمون گویای این واقعیت است که در اثر تماس حیوان حساس شده با آلرژن، آسم تجربی ایجاد شده است. از نظر آسیب شناسی نیز، مشاهده التهاب و تنگی شدید نایژک‌ها، وجود تعداد زیادی ائوزینوفیل در پارانشیم ریه و لنفوسیت در مجاری و کیسه‌های هوایی گروه آزمون مؤید ایجاد آسم می‌باشد. بنابراین چنین نتیجه گیری می‌شود که با تزریق و استنشاق مداوم و همزمان محلول تازه سفیدهٔ تخم‌مرغ می‌توان در گربه آسم تجربی با واکنش‌های شدید آلرژیک ایجاد نمود و با به کارگیری روش‌های تحقیقاتی مناسب که انجام آنها در انسان غیر ممکن می‌باشد، اثرات آسم را بر سیستم‌های حیاتی بررسی نمود.

واژه‌های کلیدی: آسم تجربی، تنفس، سفیدهٔ تخم‌مرغ (آلرژن)، گربه

۱ـ استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ تهران

۲ـ دانشیار فیزیولوژی؛ ۳ـ دانشیار آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی فارس ـ شیراز

مقدمه

واکنش‌های ایمنوآلرژیک در موارد زیادی دستگاه تنفس و به خصوص مجاری هوایی را هدف قرار داده و اشکالاتی در تنفس ایجاد می‌کنند. در انسان و بعضی از گونه‌های پستانداران، پاسخ این واکنش‌ها به صورت برونشیت و آسم آلرژیک ظاهر می‌شود. این واکنش‌ها غالباً با واسطه IgE (immunogloboulin E) و با آزاد سازی میانجی‌های شیمیایی، مجاری هوایی را تنگ نموده و نفس کشیدن را مشکل می‌کند (۶,۷,۹,۱۲,۲۲). در عین حال در بعضی افراد و گونه‌های مشخصی از پستانداران، واکنش‌های آلرژیک به صورت‌هایی غیر از آسم (نظیر عوارض پوستی، چشمی و روده‌ای) ظاهر می‌شود که مورد نظر این تحقیق نمی‌باشد. عوامل فعال‌کنندهٔ عضلات صاف مجاری هوایی، که با واسطه IgE آزاد می‌شوند، متنوع می‌باشند و هیستامین از مهم‌ترین آنهاست که به عنوان عامل آسم‌زا در اکثر گونه‌های پستانداران معرفی شده است (۱۱,۱۲,۱۴,۱۵,۱۶,۱۹,۲۱).

برای مطالعه آسم، حیوانات مورد استفاده عمدتاً به دو گروه تقسیم می‌شوند. گروهی به صورت ژنتیکی آسمی هستند که تعدادشان اندک بوده، دسترسی به آنها سخت و نگهداری از آنها مشکل است. گروه دوم آنهایی هستند که با قرارگرفتن در معرض مواد خارجی خاص (آلرژن) همانند آنچه که در انسان اتفاق می‌افتد، به آسم آلرژیک یا اکتسابی، دچار می‌گردند. بدیهی است با توجه به محدودیت‌هایی که در زمینهٔ مطالعهٔ آسم در انسان وجود دارد، استفاده از مدل‌های حیوانی می‌تواند راه‌گشای کسب اطلاعات علمی در این مورد باشد. لذا با توجه به شباهت زیاد فیزیولوژی اندام‌های گربه با انسان (نظیر رفلکس‌های کنترل کننده سیستم‌های تنفسی، قلبی، عروقی)، ایجاد آسم تجربی در این حیوان می‌تواند الگویی جهت بررسی واکنش اندام‌های حیاتی بدن انسان در زمان آسم، که عمدتاً ناشناخته مانده‌اند، باشد. به همین دلیل در تحقیق حاضر سعی بر این است تا روش عملی ایجاد آسم آلرژیک در گربه مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش

الف) نگهداری حیوان

۲۸ عدد گربهٔ سالم از هر دو جنس، با میانگین وزنی ٤ کیلوگرم انتخاب و هر کدام به مدت سه تا چهار هفته در اتاق حیوانات نگهداری شدند و در مواردی از آنتی‌بیوتیک‌های تزریقی استفاده گردید تا با اطمینان از سلامت کامل آزمایش روی آنها انجام شود. آب و مواد غذایی در حد نیاز در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت.

ب) تهیه محلول سفیده تخم‌مرغ به عنوان آلرژن

۱۰ میلی‌لیتر سفیده تخم‌مرغ تازه به ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه گردید و به مدت ده دقیقه با همزن مافوق صوت خوب هم زده شد تا محلول یکنواختی به دست آید. سپس محلول با کمک کاغذ واتمن (شماره ۲٤) صاف و در یخچال نگهداری می‌گردید. در زمان لازم حجم مورد نیاز از آن تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم می‌شد و به شرح زیر مورد استفاده قرار می‌گرفت.

ج) ایجاد آسم تجربی و ثبت متغییرها

۱۹ عدد از گربه‌ها گروه آزمون طی چهار مرحله به شرح زیر برای انجام آزمایش آماده گردیدند.

۱ـ **ایجاد حساسیت** (allergic sensitization): طی چهار هفتهٔ متوالی و یک روز در میان از محلول تازه آماده شده آلرژن (یک میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی به گربه تزریق گردیده و به دنبال هر تزریق، درست در زمانی که حیوان عصبانی بود، به تدریج معادل همین حجم محلول به طرف بینی و دهان اسپری می‌گردید تا با آغشته نمودن هوای تنفسی به آن، واکنش‌های آلرژیکی در مجاری تنفسی فعال شوند. در پایان چهار هفته حساسیت به حدی می‌رسید که با استنشاق مقدار کمی آلرژن، آسم شدید در حیوان ظاهر می‌گردید.

۲ـ **آماده‌سازی حیوان**: پس از طی دوره حساسیت زایی، گربه را با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از نمبوتال و یورتان (به ترتیب ۱۵ و ۷۵ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش نموده (۵) و بلافاصله ورید و بعد از آن شریان ران چپ کانول‌گذاری گردید. از کانول شریانی جهت تهیه نمونه خون شریانی برای اندازه‌گیری گازهای خونی (P_{CO_2}, P_{O_2}) و pH، و از کانول ورید رانی در موارد لزوم برای تزریق محلول‌های خوراکی و دارویی استفاده گردید. بعد از تراکئوستومی و لوله گذاری نای و اتصال آن به پمپ تنفسی، قفسه سینه را در بین دنده‌های ٥-٤ با دقت و ظرافت زیاد شکافته و کانول مخصوصی وارد فضای جنب گردید. بعد از وارد کردن کانول و قرار دادن آن در محل دلخواه هوای وارد شده به داخل فضای جنب را به طور کامل تخلیه کرده و شکاف ایجاد شده را محکم بسته (air tight) و ارتباط حیوان با پمپ تنفسی قطع می‌گردید (۵). عملیات فوق به نحوی انجام می‌گرفت تا حیوان بتواند پس از جدا شدن از پمپ به طور طبیعی تنفس نماید. با کمک این کانول در طول آزمایش نوسانات فشار

فضای جنب ثبت گردید. در پایان اعمال جراحی، حیوان به مدت دو ساعت در حال استراحت باقی می‌ماند تا اثر استرس‌های ناشی از جراحی تقلیل یابد.

کانول‌های وارد شده در فضای جنب و شریان رانی توسط دو ترانسدیوسر (Statham transducer 23 db) به پولیگراف (Grass polygraph) وصل و در طول آزمایش، منحنی فعالیت‌های تنفسی و فشار شریانی بر روی دو کانال دستگاه ثبت گردید. با مشاهده دقیق تغییرات منحنی فشارخون شریانی، وضعیت حیوان، به خصوص نحوه عملکرد قلب و دستگاه گردش خون در زمان آزمایش مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. با این روش حیوانی که فشار خون شریانی آن شدیداً کاهش یافته و امکان اصلاح آن نیز در طول تحقیق وجود نداشت، از لیست حذف می‌گردید. برای اندازه‌گیری فشار اکسیژن (P_{aO_2})، دی اکسید کربن (P_{aCO_2}) و pH نمونه‌های خون شریانی (نیم میلی‌لیتر) از دستگاه اندازه‌گیری گازهای خونی (Radiometer blood gas analyzer BM2 ساخت دانمارک) استفاده گردید.

۳ـ ایجاد آسم آلرژیک: در شروع این مرحله از آزمایش لوله وارد شده در نای به دستگاهی قیف مانند وصل گردید تا گربه از هوای داخل آن تنفس کند. بعد از نمونه‌برداری از خون شریانی و ثبت پارامترهای تنفسی (مرحله کنترل)، نیم میلی‌لیتر آلرژن به داخل ورید تزریق نموده و به طور همزمان یک میلی‌لیتر آلرژن به ازاء هر کیلو وزن بدن از طریق دستگاه اسپری‌ساز به هوای تنفسی موجود در دستگاه قیف مانند اضافه و از این راه به ریه حیوان وارد گردید.

۴ـ تخفیف علایم آسم به کمک اسپری سالبوتامول : بعد از خاتمه مرحله سوم، با کمک اسپری سالبوتامول (سه پاف) علایم آسم ایجاد شده را تخفیف داده و به مدت ۲۰ دقیقه پاسخ سیستم تنفسی و گردش خون ثبت گردید. ده دقیقه بعد از مصرف سالبوتامول نمونه خون شریانی تهیه و تغییرات ایجاد شده در گازهای خونی ثبت گردید.

د) تهیه نمونه بافتی ریه جهت مطالعه آسیب‌شناسی

بعد از پایان مرحله چهارم با تزریق وریدی محلول اشباع کلرور پتاسیم حیوان مورد آزمایش را کشته و ریه از بدن خارج و در محلول ۱۰٪ فرمالین قرار داده می‌شد تا در زمان مناسب جهت تهیه مقاطع بافتی به آزمایشگاه آسیب‌شناسی انتقال داده شود. مقاطع بافتی با روش هماتوکسیلین ـ ائوزین رنگ‌آمیزی و مورد مشاهده میکروسکپی قرار گرفتند.

ه) گروه شاهد

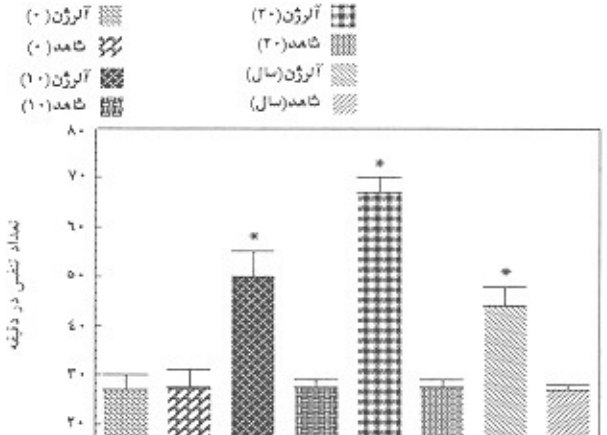
کلیه مراحل چهارگانه انجام شده روی حیوانات گروه آسمی، روی ۹ عدد گربه دیگر انجام گردید. منتهی در این گروه به جای استفاده از آلرژن، معادل حجمی آن از سرم فیزیولوژی استفاده شد و نتایج حاصل در محاسبات آماری به عنوان گروه شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

و) تجزیه و تحلیل آماری

مقادیر عددی ثبت شده از متغیرهای مورد اندازه گیری مربوط به گروه‌های آزمون و شاهد با استفاده از رایانه و برنامه آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در مواردی که ارزش عددی P کمتر از ۰/۰۵ بود میانگین نتایج به دست آمده با استفاده از تست دانکن گروه‌بندی و تفاوت بین آنها مشخص گردید. نمودارها میانگین و خطای معیار (mean±SE) مقادیر متغیرهای اندازه گیری شده را نشان می‌دهند.

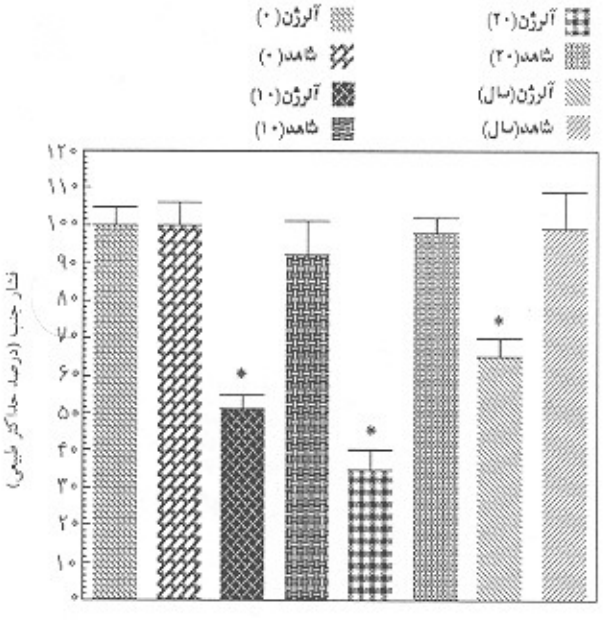
نتایج

نمودار ۱ تغییرات تعداد تنفس را در حالت آسم نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد.



نمودار ۱ : *تغییرات تعداد تنفس در دقیقه در حیوانات دو گروه. بیست دقیقه بعد از استفاده از آلرژن تعداد تنفس در گروه آزمون به ۲/۵ برابر طبیعی رسیده است. سالبوتامول افزایش تعداد تنفس را به نحو معنی‌داری کاهش داده است. در گروه شاهد در طول آزمایش تغییر معنی‌داری در تعداد تنفس ایجاد نشده است. شاهد= گروه شاهد، آلرژن= گروه آزمون. اعداد داخل پرانتز دقیقه آزمایش را نشان می‌دهند. سال= سالبوتامول دقیقه ۱۰، *= P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد، n=۱۹ در گروه آزمون و n=۹ در گروه شاهد.*

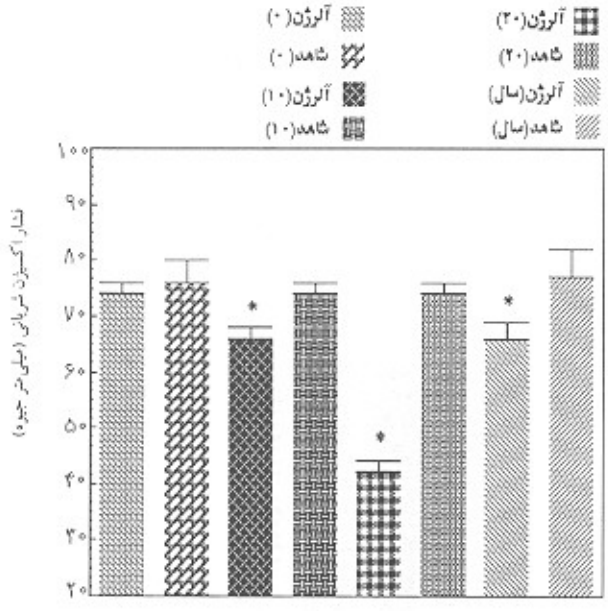
همان طور که مشاهده می‌شود تعداد تنفس در حالت آسم در دقیقه ۲۰ تقریباً تا ۲/۵ برابر حالت کنترل افزایش پیدا کرده است و با اینکه کاربرد سالبوتامول به میزان قابل ملاحظه‌ای تعداد تنفس را کاهش داده با این حال هنوز تعداد تنفس حدوداً ۱/۹ برابر میزان آن در گروه شاهد است.



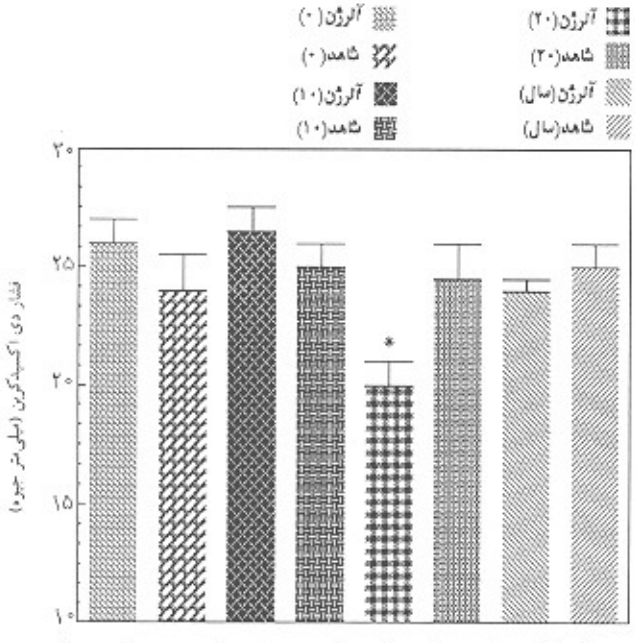
نمودار ۲ : *تغییرات فشار جنب برحسب درصد حداکثر مقدار اولیه در دو گروه. بیست دقیقه بعد از استفاده از آلرژن فشار داخل جنب به حدود ۱/۳ طبیعی کاهش یافته است و سالبوتامول به طور معنی‌داری این کاهش را جبران نموده است. بقیه زیرنویس شکل مطابق نمودار ۱ می‌باشد.*

در نمودار ۲ درصد تغییرات قدر مطلق فشار جنب از یک میانگین حدود ۵- میلی‌متر جیوه نشان داده شده که تا حدی می‌تواند تغییرات حجم تنفس را در طول آزمایش نسبت به گروه شاهد مشخص نماید. با توجه به نتایج به دست آمده، در دقیقه ۲۰ آسم فشار فضای جنب ٦٤٪ کاهش پیدا کرده است (مثبت‌تر شده) که این خود تأییدی بر سطحی شدن شدید تنفس (shallow breathing) می‌باشد. کاربرد سالبوتامول بیش از ۵۰٪ این کاهش را جبران نموده است.

نمودار ۳ تغییرات فشار اکسیژن خون شریانی را در گروه‌های شاهد و آسم آلرژیک نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود فشار اکسیژن در دقیقه ۲۰ آسم آلرژیک به حد خطرناکی (٤٥ میلی‌متر جیوه) کاهش پیدا کرده است. برگشت‌پذیری نسبی هیپوکسیمیای ناشی از آسم آلرژیک با تجویز سالبوتامول نیز مشخص گردیده است.



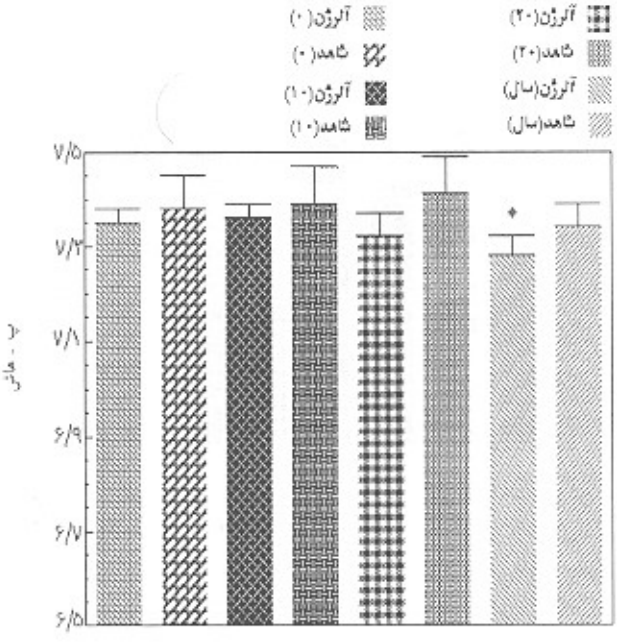
نمودار ۳ : *تغییرات فشار اکسیژن خون شریانی در حیوانات دو گروه. فشار اکسیژن شریانی ۲۰ دقیقه بعد از استفاده از آلرژن به مقدار زیادی کاهش یافته است. سالبوتامول این کاهش را به میزان معنی‌داری جبران نموده است. بقیه زیرنویس شکل مطابق نمودار ۱ می‌باشد.*



نمودار ۴ : *تغییرات فشار دی اکسید کربن خون شریانی در حیوانات دو گروه. میزان دی‌اکسید کربن خون شریانی در دقیقه ۲۰ بعد از استفاده از آلرژن به میزان معنی‌داری کاهش یافته است.این کاهش بعد از استفاده از سالبوتامول جبران شده است. بقیه زیرنویس شکل مطابق نمودار ۱ می‌باشد.*

نمودار ٤ تغییرات فشار دی اکسید کربن خون شریانی را نشان

می‌دهد. با توجه به نمودار مشاهده می‌شود که فشار دی‌اکسید کربن در حالت آسم نسبت به گروه شاهد حدود ۲۰٪ کاهش پیدا کرده است. تجویز سالبوتامول با اصلاح روند تنفس، فشار دی‌اکسیدکربن خون شریانی را به سطح آن در حالت سلامت نزدیک نموده است.

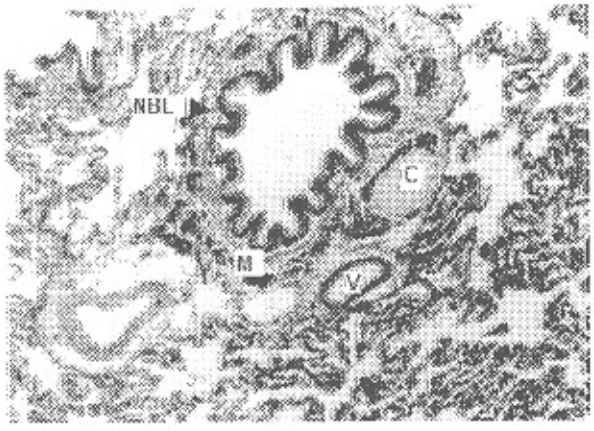


نمودار ۵ : *تغییرات پ ـ هاش (PH) خون شریانی در گربه‌های دو گروه. تغییرات پ ـ هاش در مقایسه با اکسیژن و دی‌اکسیدکربن خون شریانی از پایداری بیشتری برخوردار بوده است.* بقیه زیرنویس شکل مطابق نمودار ۱ می‌باشد.

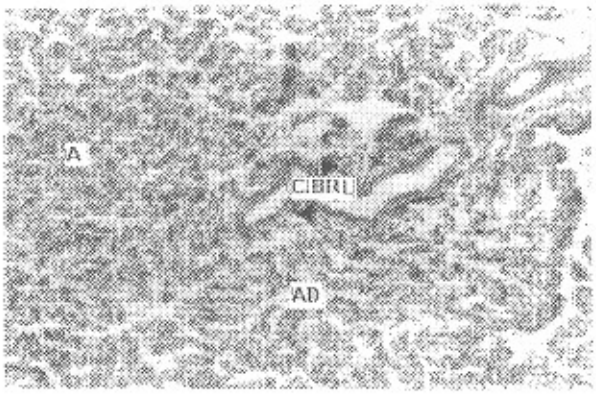
نمودار ۵ تغییرات pH خون شریانی را در حالت‌های مختلف در دو گروه آزمون و شاهد نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود به جز در زمان پس از تجویز سالبوتامول در گروه آسمی، میزان pH در سایر حالت‌ها نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است.

شکل ۱ نمونه عکس میکروسکپی تهیه شده از ریه یک گربه گروه شاهد و شکل‌های ۲ و ۳ مربوط به گروه آسمی می‌باشند.

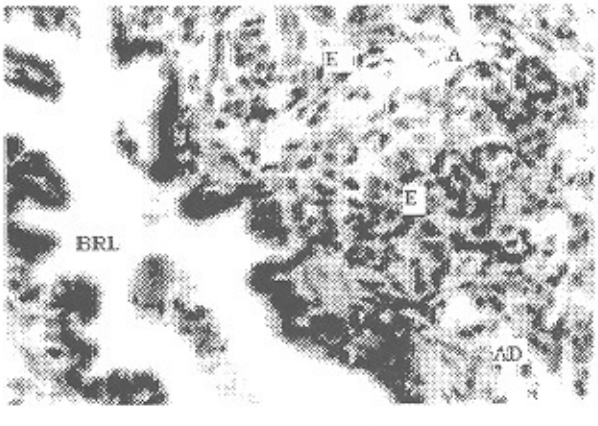
همان طور که مشاهده می‌شود در ریه سالم دیواره داخلی نایژک‌ها مشخص و قطر آنها زیاد می‌باشد، در حالی که در ریه گربه‌های آسمی علاوه بر تنگ شدن و تغییر شکل این مجاری، تعداد زیادی ائوزینوفیل و لنفوسیت در این مجاری و حبابچه‌ها وجود دارد (شکل‌های ۲ و ۳)، در حالی که هیچ‌گونه آثاری از آنها در ریه گروه شاهد (شکل ۱) دیده نمی‌شود.



شکل ۱ : *نایژک‌های طبیعی جدا شده از ریه گربه. C غضروف، M ماهیچه، NBL نایژک طبیعی، V عروق، بزرگنمایی ۳۲۰×*



شکل ۲ : *نایژک‌های کولاپس کرده در ریه گربه آسمی. BRL نایژک کولاپس کرده. AD مجرای حبابچه‌ای، A حبابچه (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین × ۱۶۰)*



شکل ۳ : *التهاب خفیف اطراف نایژک‌های گربه آسمی. BRL نایژک، AD مجرای حبابچه‌ای، A حبابچه و E ائوزینوفیل‌ها را نشان می‌دهد. (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین × ۳۰۰).*

بحث و نتیجه‌گیری

دلایل متنوعی برای انتخاب گربه در تحقیق حاضر به عنوان حیوان آزمایشگاهی و ارائه روش مناسب و عملی برای ایجاد آسم آلرژیک در آن وجود دارد که اهم آنها در زیر آورده شده است. با وجود تحقیقات وسیعی که در زمینهٔ فیزیولوژی دستگاه‌های مختلف بدن این حیوان وجود دارد هیچ‌گونه تحقیقی در زمینه آسم و تأثیر آن بر اندام‌های گربه انجام نشده است. مهم‌تر اینکه در بین گونه‌های پستانداران، شباهت بسیار زیادی بین گربه و انسان از نظر فیزیولوژی سیستم‌های تنفس، قلب و عروق و رفلکس‌های کنترل کنندهٔ آنها وجود دارد. از طرفی بر اساس منابع -علمی منتشر شده بیشترین اطلاعات فیزیولوژی مربوط به سیستم عصبی و رفلکس‌های مربوط به آن از تحقیقات انجام شده بر روی گربه به دست آمده است. لذا انجام این تحقیق می‌تواند اطلاعات پایه مناسبی در مورد اثرات آسم آلرژیک بر سیستم‌های حیاتی بدن انسان آشکار سازد.

به کارگیری روش حساسیت‌زایی جهت ایجاد آسم یک روش شناخته شده به خصوص در گونه‌های متعددی از پستانداران از جمله خوکچه هندی و سگ می‌باشد (۱,۳,٤,۷,۱۰,۱۷,۲۲). با این همه هر یک از این گونه‌ها به آنتی‌ژن ویژه‌ای حساسیت دارند (۲,٤,۹,۱۵,۲۳). اوالبومین (سفیده تخم‌مرغ) معمول‌ترین آنتی‌ژنی است که در این نوع تحقیقات مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده در خوکچه هندی به خوبی قادر است آسم آلرژیک ایجاد کند(۲,۸)، در حالی که واکنش‌های آلرژیک در موش صحرایی به صورت روده‌ای و در سگ به صورت چشمی ظاهر می‌گردد (٤,۲۰). در تحقیق حاضر برای اینکه واکنش‌های آلرژیک در سیستم تنفسی متمرکز شود همزمان با تزریق داخل صفاقی، آلرژن به صورت اسپری نیز همراه هوای تنفسی استفاده شده است.

همانطور که ملاحظه می‌شود نتایج عملکرد سیستم تنفسی و گازهای خونی گروه آزمون شباهت زیادی به علایم بالینی آسم در انسان دارد. لذا بررسی این نتایج از چند جنبه قابل توجه است. اولاً یکی از پیامدهای آسم آلرژیک افزایش مقاومت مجاری هوایی به دلیل انقباض عضلات صاف آنهاست که با تنگ کردن نایژک‌ها جابه جایی هوا را در ریه با مشکل مواجه می‌سازد (۱,۲۲). متأسفانه به دلیل محدودیت دستگاهی، اندازه‌گیری مستقیم مقاومت مجاری هوایی در این تحقیق میسر نگردید. به همین دلیل به جای اندازه‌گیری این متغیر مهم، همراه با بررسی علایم بالینی، از تغییرات تعداد تنفس و فشار فضای جنب به عنوان عوامل افتراقی تشخیصی آسم استفاده گردید. این متغیرها توسط محققین دیگر نیز در تحقیقات آسم آلرژیک در سگ، خوکچهٔ هندی و حتی آسم حاد در انسان مورد استفاده قرار گرفته است (۱,۳,۸,۹,۱۶,۲۳). افزایش شدید تعداد تنفس (۲/۵ برابر گروه شاهد، نمودار ۱)، کاهش شدید فشار فضای جنب (به ۳۶٪ میزان آن در گروه شاهد، نمودار ۲) همراه با ظاهر شدن هیپوکسیمیای شدید (P_{aO2}=٤۵mmHg، نمودار ۳) و هیپوکپنیا (نمودار ٤) از دلایل غیرقابل انکار بروز آسم حاد می‌باشند. با این همه به نظر می‌رسد تنگی مجاری هوایی با واسطه انقباض عضلات صاف، تنها دلیل ایجاد آسم نیست(۸)، زیرا در این صورت به کارگیری سالبوتامول می‌توانست عمده اختلالات ناشی از آسم ایجاد شده را جبران نماید که عملاً چنین نشد.

آسم مزمن در انسان علاوه بر هیپوکسیمیا معمولاً با هیپرکپنیا و اسیدوز تنفسی همراه است (۱۳). پس وجود هیپوکسیمیای شدید همراه با هیپوکپنیا و ثابت بودن pH خون شریانی را چگونه باید توجیه کرد؟ در پاسخ به این سؤال می‌توان گفت که اولاً آسم ایجاد شده از نوع حاد است و علائم آن با آسم مزمن تفاوت دارد. ثانیاً هیپوکسیمیای ایجاد شده در محدوده‌ایست که گیرنده‌های شیمیایی کاروتید را به شدت تحریک می‌کند (۵)، که در نتیجه با تحریک شدید مرکز تنفس افزایش تعداد تنفس را (نمودار ۱) به دنبال داشته است. ولی به دلیل غلبه اثرات تنگی مجاری هوایی (سطحی بودن تنفس) کمبود اکسیژن جبران نشده است. مؤید این موضوع اثر سالبوتامول بر پارامترهای اندازه گیری شده می‌باشد. این ماده همانند دیگر داروهای گشادکننده نایژک‌ها (۸,۱٤,۲۳) با کم‌کردن انقباض عضلات صاف نایژک‌ها، فقط تا حدی توانسته است اثرات تنگی مجاری هوایی را جبران کند (نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ و ٤). نتایج تحقیق حاضر در مورد تغییرات گازهای خونی با آنچه از تحقیقات دیگران در زمینهٔ آسم آلرژیک در سایر حیوانات از جمله خوکچهٔ هندی و سگ به دست آمده مطابقت دارد (٤,۱۱,۱۷). در مورد علل مشاهده هیپوکپنیا و طبیعی ماندن pH در گروه آزمایش یادآوری چند نکته الزامی است. اولاً همانطور که در انسان نیز مشاهده می‌شود آسم حاد به صورت تنفس سریع و کم عمق و به دلایل ناشناخته با هیپوکسمیای توأم با نرموکپنیا و بعضاً با هیپوکپنیا ظاهر می‌گردد (۱۸). در اینجا با توجه به وضعیت بافت‌شناسی نشان داده شده در شکل‌های ۲ و ۳ می‌توان یکی از دلایل اختلالات تبادل گازهای تنفسی موجود را به عدم تجانس تهویه به جریان خون ریوی (ventilation/perfusion inequality) نسبت داد. بدین معنی که در اثر التهاب و تنگی مجاری هوایی و اثر انقباضی هیپوکسیای حبابچه‌ای بر عروق ریه، تعداد زیادی از حبابچه‌ها

نمی‌توانند به طور مؤثر در مبادله ریوی شرکت نمایند. ثانیاً با افزایش تعداد تنفس، دفع دی اکسید کربن از حبابچه مناطقی که نسبت تهویه به جریان خون در آنها به دلیل ناهماهنگی و همچنین بالا بودن سرعت انتشار دی‌اکسید کربن نسبت به اکسیژن از بافت ریوی بالا است افزایش یافته و در نتیجه P_{aco_2} کاهش یافته است. این امر شاید بتواند دلیل موجهی بر عدم ظهور اسیدوز متابولیکی (طبیعی باقی ماندن pH خون شریانی، نمودار ۵) در گروه آزمون باشد. با این همه دخالت عوامل ناشناخته دیگر را در این پدیده نمی‌توان نادیده گرفت. شواهد آسیب‌شناسی به دست آمده از بافت ریه حیوانات گروه آزمون و مقایسه آنها با گروه شاهد (تصاویر شمارهٔ ۱ تا ۳) از جمله وجود چشمگیر تعداد زیاد ائوزینوفیل‌ها، نفوذ بالای لنفوسیت‌ها به درون مجاری هوایی و حبابچه‌ها همراه با التهاب و تنگی شدید نایژک‌ها، همانطور که محققین دیگر در سگ و خوکچه نیز نشان داده‌اند، (۷,۹,۱۰,۱۱,۱۲,۱۵) از دلایل غیر قابل انکار ایجاد آسم آلرژیک در گربه و پیچیده بودن عملکرد آن می‌باشند.

به طور خلاصه از نتایج فوق چنین استنباط می‌شود که ایجاد آسم تجربی با استفاده از روش حساسیت‌زایی در گربه نیز قابل اجرا است. به همین دلیل در آینده می‌توان از روش ارائه شده در گربه استفاده نموده و واکنش‌های سیستم قلب و عروق و اندام‌های حساس دیگر را در آسم آلرژیک بررسی نمود.

Summary

Induction of Experimental Allergic Asthma in Cat

A. Bahaedini, PhD[1]; Gh.A. Dehghani, PhD[2]; and P.V. Komar, MD[3]

1. Assistant Professor of Physiology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

2. Associate Professor of Physiology; 3. Associate Professor of Pathology, Fars University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran

19 cats were pre-sensitized to allergic asthma by receiving a concomitant spray and injection of ovalbumin (10% fresh egg-white in normal saline) every other days for four weeks. Then animals were anesthetized and left femoral artery cannulation perfromed to record atrerial pressure and take blood samples. Left femoral vein was cannulated to infuse nutritional fluids and drugs as needed. Trachea was intubated for artificial ventilation and induction of experimental asthma by exposing pulmonary airways to allergen. A small perforation was performed in the chest wall between the 4-5 ribs in the right side and a special cannula placed into the pleural space to make a record of respiratory rate and plural pressure. The chest then was closed airtight and the animal was left at rest for three hours. Experiment then started by spraying 1 ml/kg of allergen into the tracheal tube. At the end of the study the animal was killed by iv injection of saturated KCl, the lung extracted and saved in 10% formaldehyde solution for histopathological studies. Results of this study indicated that we could induce severe experimental asthma in the cat with clinical symptoms of severe hypoxemia, increased respiratory rate and shallow breathing (250% increase in rate and 64% decrease in pleural pressure as compared to control grroup, n=9, saline induced instead of allergen). Pathologic signs of asthma was also observed by seeing air way constriction, distorted shape and presence of eosinophil and lymphocytes in air ways and in pulmonary parenchyma. Therefore, it is concluded that with the above technique we could have induce allergic asthma in the cat.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1997; 4(2): 76-84

Key Words: *Induced allergic asthma, Respiration, Ovalbumin (Allergen), Cat*

References

1. Amdur MO and Mead J. Mechanics of respiration in unanesthetized guinea pig. *Am J Physiol* 1958; 192: 364-368.
2. Andersson P. Effects of inhibitors of anaphylactic mediators in two models of bronchial anaphylaxis in anaesthetized guinea pigs. *Br J Pharmacol* 1982; 301-307.
3. Brown PH, Ning AC, Greening AP, Mclean A and crompton GK. Peak inspiratory flow through Turbuhaler in acute asthma. *Eur Respir J* 1995; 8(11): 1940-1941.
4. Cohn MA, Baier H and Wanner A. Failure of hypoxic pulmonary vasoconstriction in the canine asthma model. *J Clin invest* 1978; 61(6): 1463-1970.
5. Dehghani GA and Bahaeddini A. Hypoxia and its influences on the respiratory system of spontaneously breathing cats. *Med J Irn* 1994; 8(1): 43-46.
6. Douglas JS, Dennis MW, Ridgway P and Bouhugs A. Airway dilatation and constriction in spontaneously breathing guinea pigs. *J pharmacol Exp Ther*, 1972; 180(1): 98-109.
7. Hedman SE and Andersson RG. The cyclic AMP system in the sensitized and desensitized guinea pig tracheal smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 1982; 83(1-2): 107-112.
8. Hutson PA, Holgate ST and Church MK. The effect of cromolyn sodium and albuterol on early and late phase bronchoconstriction and airway leukocyte infiltration after allergen challenge of non-anesthetized guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138(5): 1157-1163.
9. Hutson PA, Church MK, Clay TP, Miller P and Holgate ST. Early and late phase bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pig. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137(3): 548-557.
10. Iijima H, Ishii M, Yamauchi K *et al.* Bronchoalveolar lavage and histologic charactreization of late asthmatic response in guinea pig. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136(4): 922-929.
11. Karlsson JA, Zackrisson C and Erjefalt J. Effects of histamine and kcitic acid in guinea pigs with immediate and late bronchoconstriction responses to ascaris summ. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139(A): 463-470.
12. Kessler GF, Austin JH, Graf PD, Gamsu G and Gold WM. Airway constriction in experimental asthma in dogs: tantalum bronchnographic studies. *J Appl Physiol* 1973; 35(5): 703-708.
13. Mcfadden ER and Lyons HA. Arterial blood gas tension in bronchial asthma. *N Eng J Med* 1968; 278: 1027-1032.
14. Moan MJ and Fanta CH. Bronchodilator therapy in the management of acute asthma. *Compr Ther* 1995; 21(8): 421-427.
15. Patterson R, Mellies CJ, Kelly JF and Harris KE. Airway responses of dogs with ragweed and ascaris hypersensitivity. *Chest* 1974; 65(5): 488-492.
16. Piacentini GL, Martinati L, Mingoni S and Boner AL. Influence of allergen avoidance on the eosinophil phase of airway inflammation in children with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97(5): 1076-1084.
17. Rubinfeld AR, Wagner PD and West JB. Gas exchange during acute experimental canine asthma *Am Rev Respir Dis* 1978; 118(3): 525-536.
18. Rudolf M, Riordan JF, Grant BJ, Maberly DJ and Saunders KB. Arterial blood gas tensions in acute sever asthma. *Eur J Clin Invest* 1980; 10(1): 55-62.
19. Russel JA. Responses of isolated canine airways to electric stimulation and acetylcholine. *J Appl Physiol* 1978; 45(5): 690-698.
20. Sanyal RK and West GB. Anaphylactic Shock in the albino rat. *J Physyiol* (Lond) 1958; 142: 571-576.

21. Venge J, Lampinen M, Hakansson L, Rak S and Venge P. Identification of IL-5 and RANTS as the major eosinophil chemoattactants in the asthmatic Lung. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97(5): 1110-1115.
22. Wanner A, Mezey RJ, Reinhart ME and Eyre P. Antigen induced bronchospasm in concious sheep. *J Appl Physiol* 1979; 7(5): 917-922.
23. Zimmermann I, Walkenhorst W and Ulmer WT. The side of action of brochodilating drugs-stimulators on antigen induced bronchoconstriction. *Respiration* 1979; 38(2): 65-73.