



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Finns det daglig variation i resistans i de nedre luftvägarna hos häst?

Jari Kuusela

Uppsala

2009

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2010:45*

Finns det daglig variation i resistans i de nedre luftvägarna hos häst?

Jari Kuusela

Handledare: John Pringle, Institutionen för kliniska vetenskaper
Biträdande handledare: Miia Riihimäki, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator: Bernt Jones, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2009
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp

Nyckelord: häst, lungfunktionstest, lungor, forced oscillation technique, impulse oscillometry system, recurrent airway obstruction, inflammatory airway disease

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	1
FÖRKORTNINGAR.....	2
INLEDNING.....	2
Den biologiska klockan	2
Lungfunktionstest på häst	2
Forcerad oscillationsteknik – principen bakom	3
Forcerad oscillationsteknik på häst	5
Klinisk användning av FOM på häst	7
Respiratoriska systemets dygnsrytm	8
Studiens syfte	9
MATERIAL OCH METODER	10
Hästmaterial	10
Mätutrustning	10
Statistisk analys	10
RESULTAT	12
DISKUSSION	13
Resultat av studien.....	13
Svagheter i studien	14
Betydelse av studien	14
LITTERATURFÖRTECKNING	15

SAMMANFATTNING

Sedan decennier tillbaka anser forskningsvärlden att människor och djur har en biologisk klocka som styr en del fysiologiska mekanismer i kroppen. Bland annat har man påvisat att hos människa är lungfunktionen nedsatt på natten, vilket ger problem för många astmatiker i form av nattliga anfall av astma. På häst har några få studier gjorts tidigare avseende lungornas dygnsrytm och då har en daglig variation endast påvisats hos kroniskt och akut lungsjuka hästar. De studierna gjordes med en konventionell teknik som är invasiv och mindre sensitiv än tekniken som användes i den här studien. Studiens syfte var att undersöka om man kunde finna en variation i resistans i de nedre luftvägarna hos friska hästar vid en jämförelse mellan mätningar på morgonen och eftermiddagen. Resistansen i de nedre luftvägarna mättes hos 6 friska hästar morgon och eftermiddag med forcerad oscillationsteknik. För att minska påverkan från de övre luftvägarna fixerades hästarnas huvuden under försöken och ingen sedering gavs. Mätningar gjordes under 4-5 dagar i frekvensintervallet 1-5 Hz. En signifikant skillnad i resistans i de nedre luftvägarna kunde endast ses i frekvensen 4 Hz, då resistansen var högre på morgonen än på eftermiddagen. För att med säkerhet kunna fastställa om det finns en naturlig dygnsvariation i de nedre luftvägarna hos hästar skulle en mer omfattande studie krävas än vad som var möjligt inom ramen för denna studie.

SUMMARY

Among researchers it has been established since decades that humans and animals have an internal biological clock that controls certain physiological mechanisms. One example regarding humans is the impairment of lung function during the night, causing the phenomenon “nocturnal asthma” among asthmatics. Only a few studies concerning respiratory circadian rhythm in horses have been done previously and they showed a daily variation in horses with a chronic or an acute respiratory disease. The technique used in those studies was the conventional technique, which is invasive and less sensitive than the technique used in this study. The aim of this study was to investigate whether variation in resistance in the lower airways of healthy horses could be seen in a comparison between morning and afternoon measurements. The resistance of the lower airways was measured in 6 healthy horses in the morning and afternoon with forced oscillation technique. To reduce the influence of the upper airways the horses’ heads were fixed during the tests and they were given no sedation. Measurements were made during 4-5 days in the frequency range of 1-5 Hz. A significant diurnal variation in resistance of the lower airways was only found at the frequency of 4 Hz, manifested as an increased resistance in the morning compared to the afternoon. To be able to determine with certainty that there is a natural circadian rhythm in the lower airways in the horse, a more extensive study is required than was possible within the framework of this study.

FÖRKORTNINGAR

FOM = forced oscillation mechanics (forcerad oscillationsmekanik)

FOT = forced oscillation technique (forcerad oscillationsteknik)

IAD = inflammatory airway disease

IOS = impulse oscillometry system

Rrs = respiratorisk resistans

Xrs = respiratorisk reaktans

Zrs = respiratoriska systemets totala impedans

INLEDNING

Den biologiska klockan

På senare tid har mycket forskning gjorts i människans och djurets dygnsrytm avseende olika fysiologiska funktioner som hormoncirkulation, kroppstemperatur och hjärtfunktion (Rutter et al, 2002). Enligt en hypotes som presenteras av Mortola (2004) är den biologiska klockan som finns hos alla levande varelser en evolutionär anpassning till jordens rotation runt solen och därmed till dygnets variation i solljus. Studier av nattlig astma hos människor har lett till upptäckten att inte bara människor med astma, utan även friska människor uppvisar en dygnsrytm när det gäller lungfunktion (Mortola, 2004). Man har mätt utandningsvolym hos individer och konstaterat att den är lägst på natten och högst på dagen (Hetzel & Clark, 1980) och att detta fenomen kan ses både hos sovande och vakna individer (Spengler & Shea, 2000). Även hos djur har man sett att det respiratoriska systemet följer en dygnsrytm; Seifert et al (2002) visade i en undersökning utförd på råttor, som är ett nattaktivt djur, att lungventilationen är högre på natten än på dagen. Två studier har hittats som utförts på häst (Stadler & Deegen 1986; Jean et al, 1999) och då fann man en signifikant dygnsrytm endast hos de hästar som hade en kronisk lungsjukdom.

Lungfunktionstest på häst

Till skillnad från humanmedicinen har inte lungfunktionstester inom hästmedicinen blivit vedertagna när det gäller diagnostik av sjukdomar i luftvägarna. Några anledningar är att lungfunktionstester anpassade till hästar är dyra, klumpiga eller komplicerade och har därför mest använts i forskningssyfte (Marlin & Deaton, 2007; van Erck et al, 2004a). Den lungfunktionstesten som traditionellt använts till häst är en teknik som mäter transpulmonär tryck med hjälp av en ballong i esofagus (van Erck et al, 2004a). Med den tekniken kan exempelvis lungornas eftergivlighet (compliance) och resistans mätas (Hoffman, 2003).

På humansidan är forcerad utandningstest den mest använda tekniken för att detektera tidig stadie av lungsjukdom. På djur har denna teknik tidigare krävt sövning av djuret men på senare år har en metod utvecklats som kan utföras på vaken häst (Couëtil et al, 2000). Testet kräver ändå en sederad häst på grund av

dess invasivitet i och med att en trakealtub används för att kunna ventilerat lungorna mekaniskt.

Lungfunktionstester är användbara på flera sätt; till exempel som ett hjälpmedel vid att utvärdera den kliniska betydelsen av uppvisade respiratoriska störningar såsom hosta, ökad andningsfrekvens och näsflöde eller som ett diagnostiskt hjälpmedel till att finna orsaken till de respiratoriska störningarna (Hoffman, 2003). Lungfunktionstester kan även användas till att utvärdera hur bra behandlingen mot en lungsjukdom, tex recurrent airway obstruction (RAO), fungerar. Lungfunktionstest kan även vara användbart när det gäller att hitta orsaker till nedsatt prestation hos hästen.

Forcerad oscillationsteknik – principen bakom

En form av lungfunktionstest som har fördelar gentemot de två ovan beskrivna teknikerna är en teknik som bygger på forcerad oscillationsteknik. Den här tekniken är icke-invasiv, kräver ingen sedering och den går snabbt att utföra. Tekniken beskrevs första gången 1956 (DuBois et al). De och Otis et al (1956) beskrev andningssystemets mekaniska egenskaper och jämförde det med en elektrisk krets. Ellärans termer likställdes med termer anpassade till respirationsfysiologins mekanik enligt nedan (tabell 1).

Tabell 1. Analoga termer i mekaniska och elektriska system

Mekaniska			Elektriska		
Term	Symbol	Enhet	Term	Symbol	Enhet
Volym	V	liter	Laddning	Q	coulomb
Luftflöde	V/t	liter/sec	Ström	I	ampere
Luftryck	P	cm H ₂ O	Spänning	U	volt
Resistans	R	cm H ₂ O/l/sec	Resistans	R	ohm
Compliance (eftergivenhet)	C	l/cm H ₂ O	Kapacitans	C	farad
Inertans	M	cm H ₂ O/l/sec ²	Induktans	L	henry

För att underlätta analysen av det respiratoriska systemets mekaniska egenskaper använde DuBois et al sinusvågor skapade av en mekanisk pump. Genom att tillämpa sinusvågor kunde den matematiska analysen av tryck, volym, flödesderivatan och dess derivata (flödesaccelerationen) underlättas. Enligt ellärans Kirchhofs lagar kan resistans, compliance (kapacitans) och inertans (induktans) beräknas matematiskt med komplexa analyser eller vektordiagram. Med hjälp av dessa antaganden kan luftvägarnas mekaniska egenskaper analyseras genom att jämföra det uppmätta tryckets och luftflödets fasförskjutning till varandra. En närmare beskrivning av principerna bakom teorin och dess matematiska komplexitet kan studeras i de två ovannämnda studierna.

Inom humanmedicinen har användandet av en mekanisk pump, som ursprungligen beskrevs av DuBois et al, för att generera de oscillerande vågorna gått till att använda en högtalare som källa för vågorna (Hellinckx et al, 2001). På

häst finns två tekniker beskrivna som används idag; den ena är en FOT, som utvecklades av Young & Tesarowski och presenterades i en studie 1994 (Young & Tesarowski, 1994), där man har tryckluft som källa för vågorna. Den andra metoden kallas för Impulse Oscillometry System (IOS) där mycket korta signaler (impulser) av alla frekvenser mellan 0 och 100 Hz genereras från en högtalare (van Erck et al, 2004a). När det gäller FOT så skickas det oscillerande vågor i tidsintervaller efter varandra (ofta inom 1-5 Hz) medan med IOS skickas multifrekventa vågor, ofta i frekvensintervallet 0.1 – 50 Hz (Marlin & Deaton, 2007). För att göra texten mer lättbegriplig används i det här examensarbetet termen Forced Oscillation Mechanics (FOM) i fortsättningen i de delar av texten som beskriver både FOT och IOS.

Enkelt beskrivet mäter FOM det tryck och flöde, skapad av externa krafter, som uppstår vid nashålorna vid en given frekvens. Förhållandet mellan det flöde och tryck som uppstår betecknas som det respiratoriska systemets impedans (Z_{rs}), det vill säga det motstånd luften möter under dess färd in i luftvägarna och påverkas av det respiratoriska systemets totala mekaniska egenskaper. Dessa mekaniska egenskaper varierar beroende på frekvens vilket förstärks av sjukdom i luftvägarna (Pride, 1992). Ju mindre flödet är in i luftvägarna som skapas av de forcerande oscillerande vågorna, desto större blir impedansen (Hoffman & Mazan, 1999).

Z_{rs} delas i två komponenter; R_{rs} och X_{rs} . R_{rs} , som även kallas för den verkliga beståndsdel av Z_{rs} , står för resistansen (resistance) i det respiratoriska systemet och är summan av resistansen i luftvägar, lungor och bröstvägg (Pride, 1992). Detta beskriver de friktionella energiförlusterna av luftmolekyler som uppstår vid luftmolekylernas färd i luftvägarna (Hoffman & Mazan, 1999; MacLeod & Birch, 1992). R_{rs} är den komponenten av Z_{rs} där både flöde och tryck är i fas med varandra. Om man återkopplar detta till elläran så kan man jämföra det med att strömmen är i fas med spänningen (DuBois, 1956). När tryck och flöde är i fas med varandra är resistansen som lägst och detta kallas även för det respiratoriska systemets resonansfrekvens (f_{res}) vilket uppstår vid en given frekvens (Hoffman & Mazan, 1999; Young & Tesarowski, 1994). Resistansen ökar med ökat tryck, exempelvis vid obstruktion av luftvägar (Hoffman & Mazan, 1999).

Den delen av Z_{rs} där det finns en fasförskjutning mellan luftflöde och tryck betecknas som X_{rs} , vilket står för reaktans. Den här komponenten av Z_{rs} kallas ibland för den imaginära delen av impedansen och innefattar elastans och inertans. Elastansen beskriver det respiratoriska systemets förmåga att lagra energi (kapacitans), primärt i de perifera delarna av lungorna (Marlin & Deaton, 2007; Smith et al, 2005) och styrs av det tryck som krävs för ändring av volym (Pride, 1992; Oostveen et al, 2003). Vid exempelvis lungfibros krävs det en ökad tryck och detta manifesteras av att X_{rs} ökar i negativt värde eftersom fasförskjutningen mellan flöde och tryck har ett negativt tecken (luftflödet leder trycket). Detta innebär att X_{rs} har ett negativt värde när den är associerad med elastans och detta är mest påtagligt vid låga frekvenser (Smith et al, 2005).

Inertans beskriver den kraft som krävs för att accelerera en mängd luft, i huvudsak i de övre luftvägarna (Hoffman & Mazan, 1999). I detta fall följs luftflödet av trycket och X_{rs} innehar ett positivt värde. Inertans blir mer påtagligt vid ökad

frekvens (Oostveen et al, 2003). När det gäller klinisk användbarhet är analys av inertans till mindre nytta än analys av Rrs när det gäller att utvärdera störningar i de övre luftvägarna (Smith et al, 2005).

Inom humanmedicinen är FOM vedertaget, men inom hästdiagnostiken har det inte slagit igenom än, utan används främst inom forskningen.

En av de fördelar gentemot konventionella lungfunktionstester som FOM tillskrivs är att tekniken inte kräver någon prestation av patienten, förutom att den andas normalt. Young & Tesarowski visade i sin studie 1994 att FOT accepteras väl av hästar och van Erck et al (2004a) i sin tur att IOS accepteras väl av hästar. Andra fördelar med FOM är att testet är ickeinvasivt och kan göras utan sedering.

Forcerad oscillationsteknik på häst

Young & Hall (1989) var de första som presenterade en studie med oscillationstekniken som gjorts på hästar. De använde en apparat som var anpassad till hästar och som validerades med tester på människor och jämfördes med resultat från humanstudier. Källan till de oscillerande vågorna var ett par högtalare som skickade slumpmässiga ljudvågor enligt en metod som var utvecklad av Michaelson et al (1975). Tidigare hade analys av vågor utgjort ett komplext problem men Michaelson et al löste detta genom att använda sig av den tidens datorer som klarade av att tillämpa en snabb Fouriertransform (FFT) (en algoritm lämpad för frekvensanalys) för digital analys. Young & Hall utnyttjade i sin tur en än mer modern dator som kunde bearbeta signalerna utan att en FFT behövdes. De kom fram till i sin studie att metoden var otillräcklig för vuxna hästar eller frekvenser lägre än 3 hos ponnyer. Eftersom tekniken hade sina brister när det gällde hästar utvecklade Young & Tesarowski (1994) en apparat som hade tryckluft som källa för de oscillerande vågorna. Med hjälp av en pneumatisk ventil kunde tryckluften omvandlas till sinusvågor av önskad frekvens. Studien utfördes på 6 friska hästar där FOT jämfördes med konventionella lungfunktionstester. Studien visade att tekniken tolererades väl av hästar och framförallt att mätningar var möjliga att utföras på hästar i frekvenser ända ner till 1 Hz. Dock var tillförlitligheten bättre vid högre frekvenser. Resonansfrekvensen i studien var 2.4 Hz. Det jämfördes med en tidigare undersökning utförd på ponnyhästar (Art et al 1989) där resonansfrekvensen var 1.51 ± 0.11 Hz medan Young & Halls studie från 1989 kunde endast visa att resonansfrekvensen för ponnyhästarna i den undersökningen var <3 Hz. Young & Tesarowski påpekade att deras resultat var motstridiga mot Art et als eftersom enligt Stahl (1967) sjunker resonansfrekvensen med ökad kropps massa. Young & Tesarowski avslutade resonemanget med att det vore önskvärt att kunna mäta resonansfrekvensen eftersom det är en sensitiv indikator på obstruktiva lungsjukdomar på människor och skulle kunna vara så även på hästar. Rrs i studien från 1994 var högst vid 1 Hz, lägst vid 2 Hz och sen steg den något igen på 3 Hz.

Van Erck et al utförde en studie (2004a) med IOS på både friska hästar och hästar med framkallade kliniska astmaliknande symtom orsakade av inhalation av naturliga allergener. Studien, som utfördes i frekvensintervallet 5 - 35 Hz, visade att Rrs hos friska hästar steg från 5 Hz till 15 Hz för att sedan förbli relativt oförändrat i frekvensintervallet 20 - 35 Hz. I studien på de 6 hästarna med kliniska

tecken på astmaliknande symtom fann man att Rrs var högst vid den lägst mätta frekvensen 5 Hz. Rrs för dessa hästar var signifikant högre vid 5 Hz än för de friska hästarna. De gjorde slutsatsen att IOS är en effektiv metod för att finna nedsatt funktion i de nedre luftvägarna hos häst och att det karaktiseras av att Rrs vid 5 Hz är högre än vid 10 Hz. Liknande resultat visade Young et al studie från 1997. Studien gjordes med samma teknik som deras tidigare studie från 1994. Även här användes 6 hästar på vilka man orsakade ett kliniskt astmaanfall genom exponering av allergener. Mätningar gjordes på frekvenserna 1.5, 2.0, 3.0 och 5.0 Hz. Rrs var markant förhöjd vid 1.5 Hz för att därefter sjunka och vid 5 Hz närma sig nivåerna som mättes innan man utsatte hästarna för allergener. På liknande sätt sågs en markant sänkning av Xrs efter att hästarna utsatts för allergener. Även resonansfrekvensen blev högre hos dessa hästar. Sammantaget visar dessa båda studier (Young et al (1997) och van Erck et al (2004a)) att Rrs hos häst är förhöjd vid en nedre luftvägsobstruktion på de lägst mätta frekvenserna i respektive studie. Liknande korrelation ser man när det gäller Xrs i Young et al studie, dock med skillnaden att Xrs sjunker vid en nedre luftvägsobstruktion. Någon skillnad i Xrs sågs inte i van Erck et al studie, vilket kan ha berott på att den lägsta frekvensen som användes i studien var 5 Hz.

Utöver att titta på sjuka hästar gjorde van Erck et al (2004a) studier på hur resultaten av IOS påverkas av yttre faktorer som otät ansiktsmask, design på ansiktsmasken och huvudets position på hästen. Med ökat läckage blev Rrs mindre och Xrs högre. En liten sänkning av Rrs kunde ses med en mask med en lateral öppning (LOM) istället för en mask med en frontal öppning (FOM). Detta spekulerade textförfattarna i att det kunde bero på att impulserna skickades direkt till hästens nos med LOM. Rrs var signifikant högre vid frekvenserna 5-20 när mätningarna utfördes med böjt huvud.

I annan studie samma år tittade van Erck et al (2004b) på hur andningen påverkar resultaten av en IOS-undersökning. I studien ingick fem hästar som gavs en intravenös giva av det andningsstimulerande medlet lobeline hydrochloride. När hästarna var som mest påverkade av medlet och andningsfrekvensen var som högst, kunde en signifikant ökning av Rrs ses på frekvenserna 5 och 10 Hz. Man såg då även en signifikant minskning av Xrs på alla uppmätta frekvenser (5 – 35 Hz). Slutsatsen författarna gjorde var att vid hyperventilation måste ändringar i den respiratoriska mekanismen tas i beaktande vid utvärdering av resultaten från en IOS-undersökning.

Även om FOM är en icke-invasiv metod och kan utföras utan sedering kan det ibland vara nödvändigt att sedera hästen (Hoffman, 2003). Huruvida sedering påverkar resultaten av en IOS-undersökning studerades av Klein et al (2006). I studien ingick 11 unghästar vilka sederades med xylazin. De använda frekvenserna var 1, 5 och 10 Hz och en liten ökning av Rrs och en minskning av Xrs sågs efter sedering, skillnaderna var dock inte signifikanta. Vad som skiljde den här undersökningen från tidigare undersökningar var att forskargruppen hade lyckats separera analysen för in- respektive utandning med en speciell algoritm, samt att göra det möjligt att mäta frekvenser lägre än 5 Hz. Rrs och Xrs var signifikant förhöjt efter sedering vid inandning, något som enligt författarna skulle kunna förklaras av muskelavslappning i de övre luftvägarna. Att det skulle vara de övre luftvägarna som orsakar ändringarna i Rrs och Xrs baserade författarna på en

jämförelse av in- och utandning vid 10 Hz efter sedering och fann att resultaten var signifikant högre vid inandning än vid utandning efter sedering.

2006 gjorde van Erck et al en studie där de jämförde IOS med den konventionella tekniken (CRT) (den tidigare nämnda tekniken där en ballong i esofagus används). I studien ingick 6 friska hästar på vilka man orsakade en partiell övre luftvägsobstruktion (UAO), antingen genom att skapa en unilateral nasal obstruktion eller en vänstersidig laryngeal hemiplegi. Utöver det ingick 6 stycken hästar med kroniskt obstruktiv nedre luftvägssjukdom. Rrs för alla uppmätta frekvenser var signifikant förhöjda efter inducerad övre luftvägsobstruktion på alla uppmätta frekvenser (5-35 Hz), dock påverkades inte Xrs. Den konventionella lungfunktionstekniken (CRT) ansågs däremot inte vara sensitiv för övre luftvägsobstruktion.

De uppmätta värdena hos de kroniskt lungsjuka hästarna var inte signifikant skiljda från de friska hästarna, varken när det gällde CRT eller IOS. Efter att man orsakat en astmaliknande anfall så var Rrs vid 5 Hz signifikant förhöjd. Xrs var signifikant lägre vid 5 till 20 Hz jämfört med mätningar före inducerat anfall.

2009 gjorde Richard et al en studie där man använde sig av algoritmen som presenterats av Klein et al 2006 för att kunna utföra mätningar på frekvenser ner till 1 Hz. I studien ingick 34 hästar varav 19 konstaterades vara drabbade av IAD efter BAL-cytologi, resten av hästarna användes som kontroll. En signifikant ökning av Rrs gentemot kontrollgruppen sågs vid frekvenserna 1 – 7 Hz, däremot var resultaten för Xrs signifikant lägre på frekvenser från 5 Hz till 20 Hz. Liknande resultat presenterade Hoffman och Mazan i en artikel 1999. Mätningarna var utförda med FOT och signifikant förhöjda värden för Rrs sågs vid 1, 2 och 3 Hz. Dessa hästar skiljde sig dock från 2009 års studie i och med att hästarna visade kliniska tecken på lungsjukdom (hosta och träningsintolerans).

Klinisk användning av FOM på häst

Hoffman & Mazan (Hoffman & Mazan, 1999; Hoffman, 2003; Mazan & Hoffman, 2003) har tillsammans beskrivit bäst hur FOM kan användas i den kliniska praktiken på häst. De rekommenderar FOM som ett diagnostiskt hjälpmedel vid misstänkt nedsatt lungfunktion. Principen för tillvägagångssättet styrs av resultatet av FOM-testet; de rekommenderar att fokusera på den ”baslinje” som fås fram när man mäter på olika frekvenser. Hos en normal häst ses ingen frekvensberoende resistansvariation, vilket man kan se på en häst med nedsatt lungfunktion (Young et al, 1997). En förhöjning av Rrs vid låga frekvenser ger misstanke om sjukdom i de nedre luftvägarna. En höjning av Rrs på alla frekvenser ger misstanke om sjukdom i övre luftvägarna eller både övre och nedre luftvägarna (Hoffman, 2003).

Ett exempel de ger på tillvägagångssätt vid klinisk undersökning är följande; om Rrs är normal (≤ 1.0 cmH₂O/l/s (Hoffman & Mazan, 1999)) eller aningen ökad utförs vidare diagnostik med histaminprovokation. Om hästen lider av IAD (inflammatory airway disease) är den mycket mer känslig för histaminprovokation och resistansen fördubblas redan vid en liten histamingiva. På den friska hästen krävs en dos på minst 8 mg/ml histamin innan resistansen fördubblas (Mazan & Hoffman, 2003). Om hästen visar hyperreaktivitet går man vidare i diagnostiken med en BAL-undersökning (bronkoalveolar lavage). Om resistansen är måttligt

eller mycket ökad ger man hästen en giva med en bronkodilaterande medel. Om hästen svarar på detta går man även här vidare med en BAL-undersökning. Vid negativt svar på histaminprovokation eller bronkodilaterande giva minskas misstanken om luftvägsobstruktion (Hoffman & Mazan, 1999). De rekommenderar en mild sedering med Xylazin för att öka tillförlitligheten på den lägsta frekvensen (1 Hz) men påpekar vikten av att ha huvudet i en normal position med hjälp av stöd (Hoffman, 2003).

Respiratoriska systemets dygnsrytm

M R Hetzel skriver i sin artikel, *Pulmonary Clock* (1981) att nattliga astmaanfall har beskrivits hos människor sedan 300- eller 400-talet. I modern tid har det gjorts mycket forskning i ämnet och man har påvisat en koppling mellan nattlig astma och dygnsrytm (eng. circadian rhythm) i lungfunktionen hos människor (Sutherland 2005). Även hos friska människor har man sedan ett antal årtionden känt till att resistansen i de nedre luftvägarna varierar under dygnets timmar (Stephenson, 2007). I en stor studie av Hetzel & Clark (1980) där man flera gånger i dygnet utförde utandningstester på människor med astma (n = 56) och friska människor utan astma (n = 221) fann man att hos 65,6% (145/221) av de friska människorna kunde man påvisa en signifikant skillnad i dygnsrytm avseende lungornas funktion. Även hos de återstående 76 objekten kunde en variation i dygnsrytm ses, även om skillnaden inte var signifikant. Hos gruppen där en signifikans kunde påvisas var den maximala utandningshastigheten mellan dygnstimmarna 14-22. Hos den senare gruppen var det liknande mönster men med lite större koncentration av individer som hade maximal utandningshastighet mellan timmarna 14-16. Även astmapatienterna följde samma mönster, men med mycket större amplitud. Spengler & Shea kunde i en studie (2000) utförd på vuxna, friska människor visa att det finns en endogen orsak, som är oberoende av sömn, till lungornas dygnsrytm.

Forskning på djur visar att de också har en respiratorisk dygnsrytm. En studie utförd av Seifert & Mortola (2002) som gjordes på råttor visade att inandningsvolymen varierade under dygnet och att det följde kroppstemperaturens variation under dygnet. Eftersom råttan är ett nattdjur så är deras kroppstemperatur och aktivitetsnivå som högst under de nattliga och tidiga morgontimmarna. På samma sätt var inandningsvolymen som högst under dessa timmar. Dock gjordes slutsatsen att aktivitetsnivån inte påverkade den dagliga variationen i inandningsvolymen.

I en studie med IOS som utfördes på 10 friska kalvar (Reinhold et al 1998) undersöktes bland annat det respiratoriska systemets dygnsrytm. Mätningarna för denna undersökning gjordes under en dag med en timmes intervaller under fem timmar (kl. 9-14). Det sågs en minskning av Rrs på samtliga mätta frekvenser från 5 Hz till 35 Hz (sänkningen var signifikant på frekvenserna ≥ 15 Hz). Rrs var högst på morgonen och den sjönk under hela dagen, timme för timme. En signifikant ökning av Xrs sågs endast vid mätning med 5 Hz. Även en studie gjordes där man undersökte om det kunde ses en skillnad i resistans mellan olika dagar. Mätningar utfördes på elva kalvar under tre dagar på samma klockslag för att minska dygnsrytmens påverkan på mätningarna. Ingen signifikant skillnad

sågs mellan dag ett och dag tre. Enligt författarna stödde deras resultat tidigare utförda undersökningar avseende variation mellan dagar som utförts på kalvar.

Stadler & Deegen publicerade en studie 1986 där man undersökte dygnsvariation på olika parametrar avseende lungfunktion hos friska hästar och hästar med både subkliniska och kliniska lungsjukdomar. Studien utfördes med konventionell lungfunktionstest. Man undersökte hästarna varannan timme under 12 timmar (från klockan 7 till 19). I studien ingick 19 varmbloodhästar, två fullbloodhästar och tre ponnyhästar. Hästarna delades in i grupper beroende på deras kliniska status. Signifikant dagsrytm avseende resistans i luftvägarna sågs hos både den kliniskt och den subkliniskt sjuka gruppen. Resistansen var högre på morgonen (07:00) än på eftermiddagen (15:00). En ökning av resistansen sågs både klockan 09:00 och klockan 17:00, detta menade författarna av studien kunna bero på påslag av det kolinerga nervsystemet orsakat av fodergiva (08:00 och 15:30). Författarna efterlyste en studie utförd över hela dygnet för att se om det finns en liknande dygnsrytm hos häst som hos människa. Hos den friska gruppen kunde ingen dagsrytm påvisas. Dock ska tilläggas att den statistiska analysen gjordes med en oparad t-test, istället för parat t-test vilket skulle kunna tänkas vara mer kraftfull när det gäller att finna individuell variation. Jean et al gjorde också en undersökning (1999) där man tittade på eventuell daglig variation i lungfunktion hos hästar. Även i den här studien användes konventionell teknik och man gjorde mätningar med sex timmars intervaller under ett dygn. Resultaten stämde överens med Stadler & Deegens så tillvida att signifikant daglig variation kunde endast påvisas hos hästar med kronisk lungsjukdom.

Studiens syfte

Enligt vår kännedom har inga studier gjorts där man undersöker det respiratoriska systemets dygnsrytm på hästar med oscillationsteknik. Den här studiens syfte var att undersöka om det gick med hjälp av FOT påvisa en daglig variation i resistans i de nedre luftvägarna hos häst. Studien som Reinhold et al (1998) gjorde på kalvar med IOS visade att resistansen (R_{rs}) sjönk under dagen. Dock var den lägst använda frekvensen 5 Hz. Eftersom Youngs (1994, 1997) och van Ercks studier (2004a) indikerar att FOM är känsligare för att finna resistans i de nedre luftvägarna ju lägre frekvens som används ville vi utföra studien i frekvensintervallet 1-5 Hz. Att göra mätningar flera gånger, spridd över hela dygnet som man gjort i humanstudier var inte praktiskt möjligt i denna studie. Därför begränsades mätningarna till två stycken per dag, varav den ena så tidigt som möjligt på dagen och den andra så sent på eftermiddagen som möjligt.

MATERIAL OCH METODER

Hästmaterial

I studien ingick 6 stycken varmblodiga travhästar (5 ston och en valack) som var uppstallade på UDS, SLU, Ultuna. Hästarnas medelålder var $12,7 \pm 5,71$ år, medelvikten var $507,4 \pm 36,9$ kg. I studien ingick bara friska hästar utan kliniska tecken på sjukdomar i luftvägarna. Hästarna undersöktes med FOT två gånger per dag; på morgonen före klockan 09:00 och sent på eftermiddagen mellan klockan 15:00-16:30, under 4-5 dagar och resultaten sparades för analys. Hästarna stod i en spilta med huvudet fixerat under försöken, som varade upp till 5 minuter beroende på hur många tester man behövde göra per gång. Varken sedering eller några läkemedel användes under försöken. På vissa hästar användes bomull i öronen. Utöver dessa försök skiljde sig inte hästarnas rutiner från deras normala dagliga rutiner på UDS. Studien var godkänd av Uppsala djurförsöksetiska nämnd (C299/9).

Mätutrustning

Till försöket användes *EquineOsc Forced Oscillatory Mechanics System (EMMS, Hants UK GU35 9QF)*. En tryckluftslang från en luftkompressor kopplades till en maskin som omvandlade luftflödet till oscillerande sinusvågor med en pneumatisk klaff. Det oscillerande luftflödet fördes vidare till hästens luftvägar via en lufttät ansiktsmask (Aeromask, Trudell, Canada). Till ansiktsmasken kopplades en apparat som hade en sidoarm med en resistor som försäkrade om att det mesta av det oscillerande luftflödet gick till hästens luftvägar men som samtidigt tillät hästen att andas normalt. Den påkopplade apparaten hade närmast ansiktsmasken en tryckmätare och en flödesmätare. Mätningar utfördes på frekvenserna 1, 2, 3, 4 och 5 Hz i nämnda ordning. Testets tillförlitlighet bestämdes av ett coherence-värde för varje mätning. Coherence är ett mått på förhållandet mellan det oscillerande flödet och hästens andning vilket filteras bort. Ju lägre frekvens man mäter med, desto närmare kommer man hästens normala andningsfrekvens vilket gör att tillförlitligheten minskar (Young & Tesarowski, 1994). Därför accepterade man ett coherence-värde på 0,8 för 1 Hz medan för övriga frekvenser krävdes coherence-värde på minst 0,9. För att öka sannolikheten för att få tillförlitliga värden med den lägsta frekvensen sattes tidsintervallet för 1 Hz till 15 eller 16 sekunder medan det enligt rekommendation räcker med en lägre tidsintervall för de högre frekvenserna. Minst tre mätningar gjordes på varje frekvens, dock krävdes det att minst en mätning var godkänt för varje frekvens. Resultaten gjordes om digitalt och samlades i en bärbar dator som var kopplad till maskinen. Systemet kalibrerades dagligen varje morgon med hjälp av en 6 meter långt pvc-rör med en diameter på 5 cm, som kopplades till apparaten. Rörets impedans var kalkylerad enligt en teoretisk modell utförd av Franken et al (1981).

Statistisk analys

Resultaten analyserades statistiskt med en parat t-test. Analysen gjordes avseende variation förmiddag-eftermiddag på alla mätta frekvenser. Syftet var att se om det

fanns en daglig variation och om detta kunde ses på alla mätta frekvenser. Eftersom kravet var att det skulle finnas tillförlitlig data på alla mätta frekvenser minskade det antalet dagar som kunde inkluderas i denna del av analysen. För 4 hästar kunde endast en dag användas medan för de andra två hästarna kunde två dagar användas.

Medelvärdet räknades ut separat för varje frekvens och häst. En jämförelse av de godkända medelvärdena gjordes för varje frekvens både avseende Rrs och Xrs. Parat t-test valdes som statistisk metod eftersom medelvärdena avseende förmiddag respektive eftermiddag är kopplade till samma häst och dag, med signifikans $p < 0,05$. Testet räknar ut eventuell skillnad på mättningsresultaten och om det finns en statistiskt signifikant skillnad. Analysen gjordes med hjälp av statistikprogrammet Minitab.

RESULTAT

Resultaten sammanfattas i tabell 2.

Signifikant skillnad ($p \leq 0,05$) kunde påvisas för Rrs 4 Hz (högre på morgonen än på eftermiddagen) och Xrs 4 Hz (lägre på morgonen än på eftermiddagen) och nästan signifikant skillnad för Xrs 3 Hz ($p = 0,052$) och Rrs 5 Hz ($p = 0,057$). I övrigt kan man i tabellen se att alla medelvärden är högre på förmiddagen än på eftermiddagen när det gäller Rrs (utom vid 1 Hz), dock utan att vara statistiskt signifikant (förutom vid 4 Hz). När det gäller Xrs var alla medelvärden på förmiddagen lägre än på eftermiddagen (utom vid 1 Hz).

Tabell 2. Resultat avseende variation i respiratorisk impedans mellan förmiddag och eftermiddag, alla frekvenser.

Frekvens	Medelvärde (enhet: CmH ₂ O/l/s)			P-värde
	Förmiddag (sd) (n=8)	Eftermiddag (sd) (n=8)	Skillnad (sd)	
Rrs 1 Hz	0,8471 (0,1321)	0,8565 (0,2386)	-0,0094 (0,2458)	0,917
Rrs 2 Hz	0,956 (0,354)	0,783 (0,112)	0,173 (0,287)	0,132
Rrs 3 Hz	0,9227 (0,1796)	0,8197 (0,1194)	0,1030 (0,1776)	0,145
Rrs 4 Hz	1,0347 (0,1934)	0,9058 (0,1049)	0,1289 (0,1527)	0,048
Rrs 5 Hz	1,0691 (0,1843)	0,9522 (0,1347)	0,1169 (0,1456)	0,057
Xrs 1 Hz	-0,3693 (0,134)	-0,3861 (0,171)	0,0168 (0,1186)	0,700
Xrs 2 Hz	-0,0064 (0,079)	-0,0016 (0,062)	-0,0047 (0,0875)	0,883
Xrs 3 Hz	0,1442 (0,0590)	0,1763 (0,0480)	-0,0322 (0,0389)	0,052
Xrs 4 Hz	0,2523 (0,0449)	0,2947 (0,0534)	-0,0424 (0,0475)	0,040
Xrs 5 Hz	0,3795 (0,0969)	0,4150 (0,0759)	-0,0355 (0,0632)	0,156

Text med fetstil; signifikant skillnad ($p \leq 0,05$). Sd = standardavvikelse. n = antalet mättillfällen som inkluderats i analysen för förmiddag respektive eftermiddag.

DISKUSSION

Inför studien fanns en förväntan om att finna en daglig variation i respiratorisk resistans i de nedre luftvägarna i enlighet med studierna på människor, men även i enlighet med studien som utfördes av Reinhold et al (1998) på kalvar. Stadler & Deegens (1986) och Jean et als (1999) studier indikerade att hos friska hästar finns ingen daglig variation i resistans i luftvägarna men de studierna gjordes med den konventionella tekniken. Eftersom FOM är en mer sensitiv metod när det gäller att utvärdera lungfunktion (Klein et al, 2006; Hoffman, 2003) än den konventionella tekniken fanns en hypotes om att man med FOM kunde finna en daglig variation även på kliniskt friska hästar.

Resultat av studien

Den här studien kan inte påvisa någon daglig variation i respiratorisk resistans i de nedre luftvägarna hos häst, även om det enligt det parade t-testet påvisades en skillnad vid 4 Hz. Dock kan man i tabell 2 se att Rrs är högre på förmiddagen än på eftermiddagen på alla frekvenser (utom 1 Hz). Detta indikerar att det trots allt kan finnas en daglig normal variation i respiratorisk dygnsrytm även hos friska hästar. Stadler & Deegens (1986) och Jean et als (1999) studie visade ju att en sådan variation kunde ses hos hästar med en kronisk lungsjukdom. På humansidan där man gjort studier i en mycket större omfattning har man även konstaterat att den dagliga variationen är störst hos människor med nedsatt lungfunktion, exempelvis på grund av astma.

Resistansminskningen som ses under dagen är troligen orsakad av att resistansen i de nedre luftvägarna minskar snarare än att den skulle varit påverkat av de övre luftvägarna. För att minska påverkan från de övre luftvägarna var hästarnas huvuden fixerade i samma position i alla mätningar och de gavs ingen sedering. Både sedering (Klein et al, 2006) och en ofixerad huvudposition (van Erck et al, 2004a) kan ge ökad resistans i de övre luftvägarna. Dock måste det tilläggas att en signifikant ökning av Rrs på morgonen på de lägsta frekvenserna hade gett ännu mer stöd för att skillnaden i resistans skulle vara orsakad från de nedre luftvägarna. Utöver biologisk variation skulle en faktor som dålig stallmiljö kunna orsaka ökad resistans på morgonen, dock fanns inga tecken på hästarna i den här studien att de skulle vistas i en ogynnsam stallmiljö. Våra morgonmätningar gjordes efter att hästarna fått sitt morgonfoder. Stadler & Deegen (1986) misstänkte att mätningar efter utfodring kunde orsaka en ökad resistans i luftvägarna på grund av parasympatikus påverkan av nervsystemet. Även detta skulle kunna vara en orsak till att vi såg en minskning av resistans under dagen.

Av detta kan man klargöra att för att verkligen utreda om hästar har variation i lungfunktion i likhet med människor skulle en mer utförlig studie krävas, i en miljö som inte påverkar luftvägarna negativt, med mätningar utförda över hela dygnet så frekvent att en ökning i resistans orsakat av fodergiva kan bortses.

Svagheter i studien

Det var svårt att få tillförlitliga värden på de lägsta frekvenserna, speciellt 1 Hz. Detta har påpekats av Young med olika forskningsgrupper i de olika studier de publicerat om FOT (1994; 1997) och även av Hoffman (2003). Eftersom frekvenser under 3 Hz bäst beskriver mekaniken i de mest perifera delarna av lungorna (Mazan & Hoffman, 2003) var detta beklagligt. Något som även störde resultaten var att vissa hästar krävde en tids tillvänjning till testmetoden, vilket gjorde att antalet dagar med användbara resultat minskade hos dessa hästar. En del hästar visade sig vara känsliga för ljudet som uppstod när luftvågor skickades in i hästens luftvägar. Detta problem löstes genom att stoppa bomull i öronen på dessa hästar. En del hästar upplevdes mer stressade på morgonen än på eftermiddagen, troligen för att de vid tidpunkten för morgonmätningarna var vana att bli utsläppta till deras hagar. Den här störningen i deras morgonrutiner kan ha orsakat störningar i mätningarna.

Betydelse av studien

När det gäller att koppla resultaten i den här studien till hur FOT kan användas kliniskt, till exempel enligt Hoffman & Mazans (1999) rekommendationer, torde det inte påverka tillvägagångssättet i diagnostiken. Även om framtida studier skulle kunna visa att det verkligen existerar en daglig variation i resistans i de nedre luftvägarna hos friska häst är skillnaden enligt denna studie väldigt små. Framförallt är medelvärdena (se tabell 2) av Rrs på förmiddagen nära Hoffman & Mazans (1999) normalvärde på 1,0 CmH₂O/l/s. Dock kan den dagliga variationen vara en faktor att ta hänsyn till när man gör upprepade undersökningar på kliniskt lungsjuka hästar under en dag med FOT.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Art, T., Lekeux, P., Gustin, P., Desmecht, D., Amory, H., Paiva, M. (1989) Inertance of the respiratory system in ponies, *J Appl Phys.* 67 (2):534-40
- Couëtil, L.L., Rosenthal, F.S., Simpson, C.M. (2000) Forced expiration: a test for airflow obstruction in horses, *J Appl Physiol* 88:1870-1879
- DuBois, A.B., Brody, A.W., Lewis, D.H., Burgess, G.F. (Jr.). (1956) Oscillation mechanics of lung and chest in man, *J Appl Physiol* 8:587-594
- Franken, H., Clement, J., Cauberghs, M., Van de Woestijne, KP. (1981) Oscillating flow of a viscous compressible fluid through a rigid tube: A theoretical model, *IEEE Transactions on biomedical engineering* 28:416-420
- Hellinckx, J., Cauberghs M., De Boeck, K., Demedts M., (2001) Evaluation of impulse oscillation system: comparison with forced oscillation technique and body plethysmography, *Eur Respir J* 18(3):564-70
- Hetzel, M.R., T J Clark, T.J. (1980) Comparison of normal and asthmatic circadian rhythms in peak expiratory flow rate, *Thorax* 35:732-738
- Hetzel, M.R. (1981) The pulmonary clock, *Thorax* 36:481-468
- Hoffman, A.M. (2003) Clinical application of pulmonary function testing in horses. In: Lekeux P (ed): *Equine Respiratory Diseases*. Ithica, NY: International Veterinary Information Services
- Hoffman, A.M., Mazan, M.R. (1999) Programme of lung function testing horses suspected with small airway disease, *Equine Veterinary Education* 11:322-328
- Jean, D., Vrins, A., Lavoie, J.P. (1999) Monthly, daily, and circadian variations of measurements of pulmonary mechanics in horses with chronic obstructive pulmonary disease, *Am J Vet Res* 60 (11):1341-1346
- Klein, C., Smith, H.J., Reinhold, P. (2006) The use of impulse oscillometry for separate analysis of inspiratory and expiratory impedance parameters in horses: Effects of sedation with zylazine, *Res Vet Sci* 80:201-208
- MacLeod, D., Birch, M. (2001) Respiratory input impedance measurement: forced oscillation methods, *Med Biol Eng Comput* 39:505-516
- Marlin, D.J., Deaton, C.R. (2007) Pulmonary function testing. In: McGorum, B.C., Padraic, D.M., Robinson, E.N., Schumacher, J. (2007) *Equine respiratory and medicine surgery*, 211-234, Philadelphia: Elsevier
- Mazan, M.R., Hoffman, A.M. (2003) Clinical techniques for diagnosis of inflammatory airway disease in the horse, *Clinical Techniques in Equine Practice* 2:238-257
- Michaelson, E.D., Grassman, E.D., Peters, W.R. (1975) Pulmonary mechanics by spectral analysis of forced random noise, *J Clin Invest* 56:1210-1230

- Mortola, J.P. (2004) Breathing around the clock: an overview of the circadian pattern of respiration, *European J Appl Physiol* 91:119-129
- Oostveen, E., MacLeod, D., Lorino, H., Farre, R., Zantos, H., Desager, K., Marchal, F. (2003) The forced oscillation technique in clinical practice: methodology, recommendations and future developments, *European Respiratory Journal* 22:1026-1041
- Otis, A.B., McKerrow C.B., Bartlett, R.A., Mead, J., McIlroy, M.B., Selverstone, N.J., Radford, E.P. (1956) Mechanical factors in distribution of pulmonary ventilation, *J Appl Physiol* 8:427-443
- Pride, N.B. (1992) Forced oscillation techniques for measuring mechanical properties of the respiratory system, *Thorax* 47:317-320
- Reinhold, P., Smith, H.-J., Langenberg, A., Lekeux, P. (1998) Measurement of respiratory impedance in healthy calves using the impulse oscillation technique – physiological and methodological aspects, *The Veterinary Journal* 155:27-38
- Richard, E.A., Fortier, G.D., Denoix, J.-M., Art, T., Lekeux, P.M., van Erck, E. (2009) Influence of subclinical inflammatory airway disease on equine respiratory function evaluated by impulse oscillometry, *Equine Vet J* 41:384-389
- Rutter, J., Reick, M., McKnight, S.L. (2002) Metabolism and the control of circadian rhythms, *Annu Rev Biochem* 71:307–31
- Seifert, E.L., Mortola, J.P. (2002) The circadian pattern of breathing in conscious adult rats, *Respiratory Physiology* 129:297-305
- Smith, H., Reinhold, P., Goldman, M. (2005) Forced oscillation technique and impulse oscillometry, *European Respiratory Monthly* 31:72–105
- Spengler, C.M., Shea, S.A. (2000) Endogenous circadian rhythm of pulmonary function in healthy humans, *Am J Respir Crit Care Med* 162:1038-1046
- Stadler, P., Deegen, E. (1986) Diurnal variation of dynamic compliance, resistance and viscous work of breathing in normal horses and horses with lung disorders, *Equine Vet J* 18:171-178
- Stahl, W.R. (1967) Scaling of respiratory variables in mammals, *J Appl Physiol* 22:453-460
- Stephenson, R. (2007) Circadian rhythms and sleep-related breathing disorders, *Sleep Med* 8:681-687
- Sutherland, E.R. (2005) Nocturnal asthma, *J Allergy Clin Immunol* 116(6):1179-1186
- Van Erck, E., Votion, D., Art, T., Lekeux, P. (2004a) Measurement of respiratory function by impulse oscillometry in horses. *Equine Vet J* 36:21-28
- Van Erck, E., Votion, D., Kirschvink, N., Genicot, B., Lindsey, J., Art, T., Lekeux, P. (2004b) Influence of breathing pattern and lung inflation on impulse oscillometry measurements in horses, *Equine Vet J* 168:259-269

- Van Erck, E., Votion, D., Art, T., Lekeux, P. (2006) Qualitative and quantitative evaluation of equine respiratory mechanic by impulse oscillometry, *Equine Vet J* 38:52-58
- Young, S.S., Hall, L.W. (1989) A rapid, non-invasive method for measuring total respiratory impedance in the horse, *Equine Vet J* 21(2):99-105
- Young, S. S., Tesarowski, D. (1994) Respiratory mechanics of horses measured by conventional and forced oscillation techniques, *J Appl Physiol* 76 (6):2467-2472
- Young, S.S., Tesarowski, D., Viel, L. (1997) Frequency dependence of forced oscillatory respiratory mechanics in horses with heaves, *J Appl Physiol* 82:983-987