

Réponse bronchomotrice aux variations de volume pulmonaire : description mécanismes, mise en place d'un modèle expérimental et applications à l'exploration fonctionnelle de l'enfant asthmatique

Cyril Schweitzer

▶ **To cite this version:**

Cyril Schweitzer. Réponse bronchomotrice aux variations de volume pulmonaire : description mécanismes, mise en place d'un modèle expérimental et applications à l'exploration fonctionnelle de l'enfant asthmatique. Médecine humaine et pathologie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2004. Français. NNT : 2004NAN11302 . tel-01748041

HAL Id: tel-01748041
https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748041

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

Thèse

Pour obtenir le grade de

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1

Spécialité: Bioingénierie

Présentée et soutenue publiquement
Le 21 Septembre 2004

par

SCHWEITZER Cyril
Né le 12 Mars 1971 à Algrange - France

Réponse bronchomotrice aux variations de volume pulmonaire: description, mécanismes, mise en place d'un modèle expérimental et applications à l'exploration fonctionnelle de l'enfant asthmatique.

Président du Jury: Mme Claude GAULTIER

Rapporteurs : Mr Christophe DELACOURT
Mme Francine DUCHARME

Directeur de thèse: Mr François MARCHAL

Examinateurs de la thèse : Mr Jean-Pierre CRANCE
Mr Régis MATRAN
Mr Pierre MONIN
Mr François MARCHAL
Mr Christophe DELACOURT

Remerciements

"L'important n'est pas ce qu'on fait de nous, mais ce que nous faisons nous-même de ce que l'on fait de nous", JP. Sartre

A tous ceux qui ont contribué à cet ouvrage et à tous ceux qui ont pu en souffrir. Qu'ils soient tous remerciés quelque ait été leur contribution.....

A Monsieur le Pr François MARCHAL, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour avoir dirigé avec une grande disponibilité les trois années de réalisation de ce Doctorat. Nous lui exprimons notre profond respect et notre reconnaissance.

A Monsieur le Pr Christophe DELACOURT, Professeur de Pédiatrie, Praticien Hospitalier, pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail. Nous sommes honorés de l'intérêt qu'il a porté pour ces études.

A Madame le Pr Francine DUCHARME, Professeur de Pédiatrie, pour avoir accepté la charge du rapport de ce travail depuis l'autre côté de l'atlantique. Nous la remercions de l'intérêt porté à ce travail.

A Monsieur le Pr Jean-Pierre CRANCE, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour son accueil au Laboratoire de Physiologie. Nous lui exprimons notre respectueuse considération.

A Madame le Pr Claude GAULTIER, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour avoir accepté l'invitation à juger cette thèse. Nous lui exprimons notre profond respect.

A Monsieur le Pr Régis MATRAN, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour avoir accepté l'invitation à juger cette thèse. Nous lui exprimons notre profond respect.

A Monsieur le Pr Pierre MONIN, Professeur de Pédiatrie, Praticien Hospitalier, pour avoir accepté de juger ce travail. Nous lui exprimons notre gratitude.

A Monsieur le Dr René PESLIN, ancien Directeur de Recherche INSERM, et à Mr Claude DUVIVIER, ancien Ingénieur INSERM, pour leur assistance technique et informatique. Nous leur témoignons notre reconnaissance pour leur disponibilité.

Au personnel du Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques de l'Hôpital d'Enfants de Nancy: Mesdames Françoise BEBON, Claude CHONE, Francine FORTIN, Agnès GASCARD, Odile LACOMME, Sylvie MELINE et Marianne MOUGIN.
Nous les remercions pour leur assistance technique et leur exprimons toute notre sympathie.

Au personnel du Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Nancy: Madame Noëlle BERTIN, Monsieur Jérôme BEYREND, Monsieur Bernard CHALON, Mademoiselle Christelle CREUSAT, Mr Gérard COLIN, Monsieur Bruno DEMOULIN, Madame Anne-Laure LEBLANC, Madame Françoise LORRAIN et Madame Elisabeth GERHARDT.
Nous leur exprimons à tous notre profonde gratitude.

Principales abréviations utilisées

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

BN: brown Norway

C: compliance

CPT: capacité pulmonaire totale

CVF: capacité vitale forcée

DEM: débit expiratoire maximal

DEMM: débit expiratoire maximal médian

ΔP: variation de pression

ΔV: variation de volume

dp/dt: vitesse de modification de la pression

E: élastance

ES: erreur standard

φrs: phase de l'impédance respiratoire

G: conductance

HRB: hyperréactivité bronchique

I: inertance

IP: inspiration profonde

OIE: obstruction induite par l'effort

Pao: pression à l'orifice des voies aériennes

P_B: pression barométrique

PC50: concentration à l'origine de l'augmentation de la résistance ($PC50_{Rrsi}$) ou de la diminution de la réactance ($PC50_{Xrsi}$) de 50%

Pm: pression à la bouche

Prs: pression transthoraco-pulmonaire

Pw: pression à la paroi thoracique

R: résistance

Raw: résistance des voies aériennes

Rrs: résistance thoraco-pulmonaire, Rrsi: à l'inspiration, Rrse: à l'expiration

V: volume

V': débit, V'ao: débit à l'orifice des voies aériennes, V'rs: débit à l'issue du sytème thoraco-pulmonaire, V'w: débit mesuré à la paroi.

V'': accélération du volume

VEMS: volume expiré maximun en 1 seconde

VGT: volume gazeux thoracique

V_T: volume courant

VR: volume résiduel

ω: fréquence angulaire

Xrs: réactance thoraco-pulmonaire, Xrsi: à l'inspiration, Xrse: à l'expiration

Zrs: impédance thoraco-pulmonaire, Zrs,in: impedance d'entrée, Zrs,tr: impédance de tranfert

Table des matières

SCD - UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

Introduction *12*

Etat de la question *18*

1 Inspiration profonde et exploration fonctionnelle *19*

1.1 Données actuelles **19**

1.2 Technique d'exploration **21**

1.3 La théorie de l'hystérésis relatif **24**

2 Déterminants physiologiques de l'impédance respiratoire *28*

2.1 Les divisions bronchiques **28**

2.2 Les trois éléments **29**

2.2.1 L'élément élastique 29

2.2.2 L'élément résistif 30

2.2.3 L'élément inertiel 30

2.3 Caractéristiques de la résistance **31**

2.3.1 Localisation de la résistance du système respiratoire 31

2.3.2 Relation résistance débit 31

2.3.3 Relation résistance volume 34

2.3.4 Modélisation des variations de Rrs 36

3 Mesure des résistances par oscillations forcées *36*

3.1 Généralités **36**

3.2 Définition de l'impédance **37**

3.2.1 Impédance: définition 37

3.2.2 Cas d'un signal sinusoïdal 37

3.2.3 Variante de l'impédance 40

Etudes chez l'enfant *43*

1 Matériel et Méthodes *44*

1.1 Sujets de l'étude **44**

1.1.1 Caractéristiques générales 44

1.1.2 Etude 1: Patients asthmatiques spontanément obstructifs 44

1.1.3 Etude 2: provocation bronchique par la méthacholine 46

1.1.4 Etude 3: provocation bronchique par l'exercice 47

1.2 Mesure de Zrs **48**

1.3 Spirométrie 51

1.4 Protocoles 51
1.4.1 Test de provocation bronchique 51
1.4.2 Test de réversibilité 52

1.5 Analyse des données 52
1.5.1 Paramètres retenus 52
1.5.2 Analyse statistique 54

2 Résultats ***55***

2.1 Caractéristiques anthropométriques 55

2.2 Caractéristiques de l'obstruction 55
2.2.1 Valeurs absolues 55
2.2.2 Valeurs relatives 59

2.3 Réponse bronchomotrice à l'IP 59
2.3.1 Dans les conditions de base 59
2.3.2 Lors d'une obstruction 61
2.3.3 Après bronchodilatateur 67

2.4 Analyse synthétique des effets de l'IP sur les 3 études 70
2.4.1 Effet de l'IP sur l'indice R-IP 70
2.4.2 Relation entre l'indice R-IP et le degré d'obstruction 71

3 Discussion ***73***

3.1 Méthodologie de l'étude du tonus bronchomoteur par les oscillations forcées 73

3.2 Origine des variations du tonus bronchomoteur induits par l'IP 78
3.2.1 Les hypothèses mécaniques 79
3.2.2 Les autres hypothèses 82

Effets de l'inspiration profonde chez le rat ***85***

1 Matériel et méthodes ***86***

1.1 Préparation des animaux 86

1.2 Mesures d'impédance respiratoire 87

1.3 Protocole de mesure 88

1.4 Analyse des données 89

2 Résultats ***92***

2.1 Mécanique thoraco-pulmonaire 92
2.1.1 A l'état de base 92
2.1.2 Réponse à la méthacholine 92
2.1.3 Effet des IP sur le tonus bronchomoteur 95
2.1.4 Différence inspiration-expiration 97

2.2 Scores histologiques 99

SCD-UHP - NANCY
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

3 Discussion..... 100

Conclusion..... 106

Références..... 109

Publications..... 122

1 Marchal F, Schweitzer C, and Moreau-Colson C. Respiratory impedance response to a deep inhalation in children with history of cough or asthma. Pediatr Pulmonol 33: 411-418, 2002.

2 Schweitzer C, Moreau-Colson C, and Marchal F. Respiratory impedance response to a deep inhalation in asthmatic children with spontaneous airway obstruction. Eur Respir J 19: 1020-1025, 2002.

3 Marchal F, Schweitzer C, and Khallouf S. Respiratory conductance response to a deep inhalation in children with exercise-induced bronchoconstriction. Respir Med 97: 921-927, 2003.

4 Schweitzer C, Chone C, and Marchal F. Influence of data filtering on reliability of respiratory impedance and derived parameters in children. Pediatr Pulmonol 36: 502-508, 2003.

5 Marchal F, Schweitzer C, Demoulin B, Choné C and Peslin R. Filtering artefacts in measurements of forced oscillation respiratory impedance in young children. Physiol. Meas 25: 1153-1166, 2004.

Introduction

SCD-UHP - NANCY
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

L'asthme constitue à l'heure actuelle la pathologie respiratoire chronique la plus fréquente chez l'enfant. Sa prévalence en France atteint 8 à 10% de la population et dépasse les 20% dans certains pays anglo-saxons de l'hémisphère sud [89]. Cette incidence dans les pays industrialisés est en augmentation régulière [144]. L'origine de cette augmentation est multifactorielle. De nombreux facteurs dont l'importance exacte reste à déterminer sont évoqués. Citons de façon non exhaustive les infections respiratoires précoces en particulier à VRS [127], la prématurité [143, 152], la précocité de la vie en collectivité [99, 137], le tabagisme passif [92, 138], la pollution atmosphérique croissante et l'urbanisation de notre mode de vie [65, 84]. S'y associe la théorie hygiéniste qui explique les déséquilibres immunologiques en faveur du développement des allergies (balance Th1-Th2) [124, 185]. Des manifestations cliniques peu spécifiques, comme la toux chronique ou la toux à l'effort peuvent constituer chez l'enfant l'expression d'un asthme à forme fruste [1, 6]. L'exploration fonctionnelle respiratoire de base et l'exploration de la bronchomotricité lors d'un test de provocation prennent alors tout leur intérêt pour établir le diagnostic. Chez le jeune enfant les explorations sont beaucoup plus complexes que chez l'adulte les mesures spirométriques s'avérant peu fiables jusqu'à l'âge scolaire [118, 119, 121]. C'est à cet effet que se sont développées les méthodes de mesure de la résistance thoraco-pulmonaire (Rrs) par la technique des oscillations forcées ou la technique des interruptions de débit [119].

L'hyperréactivité bronchique (HRB) est généralement incluse dans les définitions et dans le phénotype de l'asthme mais les deux termes ne sont pas synonymes [17, 104]. L'American Thoracic Society a défini l'asthme en 1962 [2] par 1) une obstruction bronchique labile, réversible spontanément ou après utilisation de broncho-dilatateur et 2) une réponse exagérée de la trachée et des bronches à des stimuli variés. L' HRB est définie par une réponse, à un stimulus bronchoconstricteur plus rapide et/ou plus intense que la normale. Elle est donc une réponse objective à un test de provocation bronchique. L' HRB peut souvent précéder de 3 à 4 ans, l'apparition des symptômes cliniques de l'asthme [85]. Son origine est complexe. Elle est liée à la fois à des facteurs génétiques [4, 29], à des facteurs environnementaux comme les infections respiratoires virales [219], à l'exposition aux allergènes [134] ou au tabagisme [182] ainsi qu'à d'autres facteurs intrinsèques comme le reflux gastro-œsophagien [90, 200]. Pour le clinicien, l'HRB doit être considérée comme un outil diagnostique de l'asthme [214]. Lorsque les symptômes sont frustes (toux nocturne, sifflements, dyspnée d'effort ou simple présence d'une rhinorrhée perannuelle ...) la recherche

d'une HRB permet alors d'orienter le diagnostic [104]. La plupart des agents utilisés pour sa recherche sont aspécifiques [201]. Les provocations par allergènes spécifiques sont exceptionnellement utilisées car dangereuses. Elles nécessitent des mesures de sécurité rigoureuses [209]. Les méthodes aspécifiques sont classées en provocations directes et indirectes. Certains agents comme l'histamine et la méthacholine agissent de façon prédominante sur le muscle lisse bronchique [208]. La méthacholine est un analogue stable de l'acétylcholine. Elle est souvent préférée à l'histamine dont les effets sont similaires mais qui provoque parfois quelques réactions indésirables retardées [91].

Les autres stimuli agissent indirectement par stimulation réflexe ou par l'intermédiaire de médiateurs cellulaires [208]. Il s'agit d'une part des provocations physiologiques par un test d'exercice, par hyperventilation d'air froid et sec ou par aérosols de sérum salé non isotoniques [30], et d'autre part des provocations chimiques par différentes cytokines comme l'adénosine 5'-monophosphate, les bradykinines ou les leucotriènes. Les tests de course, d'hyperventilation ou les nébulisations agissent en modifiant l'environnement osmotique à la surface des voies aériennes en provoquant une "déshydratation" et/ou un refroidissement à la surface de l'épithélium. Il s'en suit alors une libération de médiateurs par les mastocytes [69].

Néanmoins l'existence d'une HRB ne permet pas d'affirmer formellement l'asthme [31]. L'association entre HRB et asthme n'est pas systématique comme le montrent certaines études de cohortes. Celle de Salome [189] en Australie révèle l'existence d'une HRB chez 7% des enfants considérés cliniquement comme non-asthmatiques et l'absence d'HRB chez 6% des enfants diagnostiqués asthmatiques. D'autres cohortes révélaient des proportions différentes, selon la technique et/ou le seuil utilisé pour le test de provocation [152]. L'utilisation de l'IP dans une optique pronostique ou afin d'évaluer l'efficacité d'un traitement est plus discutée [209, 215]. Si l'hyperréactivité des voies aériennes n'est pas synonyme d'asthme, elle n'est pas non plus synonyme de bronchoconstriction. Les études anatomiques réalisées chez des asthmatiques ont retrouvé à la fois l'augmentation des cellules de l'inflammation (éosinophiles et mastocytes), l'hyperplasie des cellules à mucus, l'épaississement des membranes basales ainsi que l'hyperplasie et l'hypertrophie du muscle lisse bronchique. L'HRB est le fruit de l'interaction de nombreux mécanismes [1, 24, 128]. L'inflammation chronique des voies aériennes, la congestion de la paroi bronchique est fréquemment associée à l'HRB [176]. De même la présence de cellules de l'inflammation dans les crachats des patients atteints d'HRB est significativement plus importante. Cependant la présence de ces cellules n'est pas

quantitativement liée aux paramètres de la fonction respiratoire, argumentant le fait que l'HRB n'est pas uniquement liée à l'inflammation [100, 175]. Associée à ces processus inflammatoires, l'hyperplasie des cellules à mucus provoque une obstruction muqueuse intra-luminale qui vient amplifier l'obstruction des voies aériennes [93]. D'autres phénomènes inflammatoires (rapport CD4/CD8) sont associés à des réactions fibrosantes dans la paroi des voies aériennes [100, 179].

Lors de l'exploration il est nécessaire de mesurer un paramètre qui permettra d'évaluer au mieux l'obstruction des voies aériennes et si possible l'obstruction des voies aériennes basses. La méthode la plus usitée chez l'adulte et l'enfant capable de coopérer est la mesure des débits lors d'une manœuvre d'expiration forcée. Il existe maintenant des dispositifs disponibles dans le commerce réalisant de façon simple et fiable l'exploration de la fonction respiratoire chez le patient asthmatique par la mesure des paramètres de l'expiration forcée: volume expiratoire maximum en 1s (VEMS), capacité vitale forcée (CVF), débits dit maximaux à 25, 50 et 75% de la CVF (DEM 25, 50 et 75) et le débit expiratoire maximal médian (DEMM).

Les voies aériennes sont au sein du parenchyme pulmonaire dans une position d'équilibre dynamique. Leur parois faites de zones cartilagineuses pour les plus grosses et de fibres musculaires lisses possèdent une tendance naturelle à se collaber jusqu'à une limite liée à leur constitution. Pour les petites voies aériennes peu cartilagineuses un collapsus complet est théoriquement possible après contraction des fibres musculaires lisses [58]. Les voies aériennes sont maintenues ouvertes par la traction du parenchyme pulmonaire qui exerce une force de rappel. Cette force de rappel est générée à la fois par les propriétés élastiques du parenchyme pulmonaire (en fonction du volume pulmonaire) et par la pression pleurale (habituellement négative). Entre l'alvéole pulmonaire et l'orifice des voies aériennes il existe une différence de pression ΔP génératrice du débit ventilatoire. Lors d'une expiration forcée la pression pleurale devient positive sous l'action des muscles respiratoires. Il s'exerce alors une force de fermeture sur les voies aériennes intra-thoraciques et certaines peuvent se fermer jusqu'au collapsus. Si ΔP diminue graduellement entre l'alvéole et l'orifice des voies aériennes, il existe au niveau des voies aériennes une zone où les pressions s'équilibrent [111, 130]. Distalement par rapport à ce point les voies aériennes voient leur calibre limité et cette

limitation du débit expiratoire issu de la compression dynamique des bronches reflète la résistance des voies aériennes intra-thoraciques d'amont [229]. Cette technique présente l'avantage de mesurer des débits très représentatifs de l'obstruction des voies aériennes inférieures du fait de l'origine des limitations de débit, mais aussi grâce à l'existence d'une ouverture maximale de la glotte lors d'une expiration forcée [32], au moins dans sa partie dite non-dépendante de l'effort.

Malheureusement cette manœuvre n'est pas réalisée de façon reproductible par l'enfant avant l'âge de 6 à 7 ans [119]. C'est pourquoi d'autres techniques d'exploration de la fonction respiratoire, comme la technique des oscillations forcées, ont été développées pour l'exploration de la fonction respiratoire chez les enfants à l'âge préscolaire. Elle ne nécessitent aucune collaboration active de la part de l'enfant et permettent l'exploration de la fonction respiratoire dès l'âge de 4 ans, parfois même avant. Parmi ces techniques la méthode des oscillations forcées fut tout particulièrement étudiée à Nancy dans l'unité INSERM n°14 [46, 118, 162, 168, 171]. Son utilisation a été validée chez l'enfant d'âge pré-scolaire lors de l'exploration fonctionnelle programmée [37, 38] ainsi qu'en cas de crise [43, 44].

Néanmoins aucune méthode actuellement utilisée de façon courante en exploration fonctionnelle adulte ou pédiatrique ne permet d'explorer spécifiquement les 3 composantes de l'obstruction du patient asthmatique à savoir l'œdème, la bronchoconstriction et l'encombrement bronchique. L'évaluation de la composante inflammatoire est approchée par la mesure du monoxyde d'azote dans l'air expiré, mais son utilisation n'est pas encore validée en pratique courante chez le jeune enfant [113, 202, 211]. Chez l'adulte une technique basée sur l'évolution du tonus bronchomoteur au décours d'une inspiration profonde (IP) a été proposée par de nombreux auteurs [22, 23, 25, 51, 56, 150, 159, 218, 224]. Elle est basée sur la mesure des débits au cours d'une manœuvre d'expiration forcée et est donc irréalisable chez l'enfant d'âge scolaire et pré-scolaire.

Il existe peu d'études pédiatriques [133] et les modèles expérimentaux in vivo, sur animal entier, sont encore peu nombreux [21, 71, 82, 83]. C'est pourquoi nous proposons d'étudier la réponse bronchomotrice aux variations de volume pulmonaire chez l'enfant asthmatique par une technique basée sur les oscillations forcées. Trois situations différentes seront envisagées. Dans la deuxième partie du travail nous proposons la mise en place d'un modèle d'étude expérimental des effets de l'IP sur le tonus bronchomoteur chez le rat.

Objectifs

1) Caractériser la variation du tonus bronchomoteur au décours d'une IP chez l'enfant dans 3 situations d'obstruction bronchique de degré équivalentes mais différentes par nature.

- Obstruction spontanée chez l'asthmatique
- Obstruction induite par la méthacholine
- Obstruction induite par l'exercice

2) Mise en place d'un modèle animal permettant l'étude des mécanismes à l'origine des variations de tonus bronchomoteur au décours d'une IP.

Etat de la question

1 Inspiration profonde et exploration fonctionnelle

1.1 Données actuelles

Dès 1859 Salter [190] observait qu'une IP permettait de lever le bronchospasme de patients atteints de crise d'asthme modérée, mais que la même manœuvre ne permettait pas à un asthmatique sévère de retrouver une respiration "normale". Il s'agissait de la première description du phénomène. L'effet de l'IP était décrit de façon purement clinique "à l'oreille" et dans une optique très "thérapeutique". En 1961, Nadel et Tierney [136] reportait l'effet bronchodilatateur de l'IP chez l'homme après exposition à un agent bronchoconstricteur (histamine et méthacholine). Pour l'interprétation des résultats, les auteurs évoquaient des modifications du tonus musculaire lisse et l'implication de réflexes bronchomoteurs à point de départ bronchique. Dès lors l'effet des IP sur le tonus bronchomoteur a été un sujet récurrent d'étude chez l'humain adulte. La méthode la plus fréquemment utilisée, les courbes débit-volume partielles, est détaillée au chapitre 1.2. Certaines études ont utilisé les mesures pléthysmographiques de conductance spécifiques [23, 50, 151].

Les effets de l'IP se résumer ainsi: *chez le sujet sain ou l'asthmatique dont la fonction respiratoire de base est normale la réalisation d'IP permet de lever transitoirement une bronchoconstriction aiguë induite, mais elle ne permet pas de lever une bronchoconstriction spontanée de même ampleur chez un patient asthmatique en crise.*

Dans les conditions de base chez le sujet normal [23, 50, 158, 161, 226] ou chez le sujet simplement atopique [51], l'IP ne cause pas de modification importante du calibre bronchique. Après IP il peut exister une discrète bronchodilatation ou aucune modification. Sujets sains et sujets asthmatiques à la fonction respiratoire normale ne peuvent pas être distingués sur leur seule réponse au décours d'une IP [161]. Lors de l'induction d'une obstruction par la méthacholine ou l'histamine, le sujet non-asthmatique présente au décours de l'IP une bronchodilatation d'autant plus importante que l'obstruction induite est importante [23, 97,

148]. Chez les sujets adultes, la bronchodilatation est maximale dans les premières secondes après IP puis diminue progressivement selon une constante de temps indépendante du degré d'HRB des sujets [151]. L'état initial est généralement retrouvé dans la première minute après l'IP, la diminution étant liée à la re-contraction du muscle lisse bronchique [159]. L'effet bronchodilatateur est largement atténué chez le patient asthmatique [51, 226]. Skloot [203] montrait que d'empêcher les soupirs lors de tests de provocation bronchique permettait de mettre en évidence une HRB chez le sujet normal d'une façon similaire à celle des sujets asthmatiques. Une fois la bronchoconstriction installée l'hyperréactivité persistait malgré la réalisation d'IP. Par contre la prohibition de ces IP chez l'asthmatique n'entraînait pas de sur-augmentation de la réactivité bronchique. D'où les conclusions de cette étude que l'origine de l'asthme puisse provenir majoritairement d'une déficience du muscle lisse bronchique de l'asthmatique à se relaxer à la suite d'IP, in-vivo suite aux soupirs spontanés. Cette conclusion, un peu extrême, fut ensuite relativisée par une étude similaire de Burns [24] qui mettait en évidence une diminution plus importante des débits expirés chez les asthmatiques par rapport aux sujets contrôles. L'autre point important des études ayant comparé l'effet de l'IP chez des sujets asthmatiques et des sujets contrôles au cours de tests de provocation bronchique est l'existence d'une augmentation plus importante du gaz piégé chez les sujets asthmatiques que chez les sujets contrôles [24] et sa diminution importante après IP chez les sujets sains (84 % vs 21% [226]). Cette différence est expliquée par la capacité des sujets sains à ré-ouvrir des territoires bronchiolaires suite à une IP et à limiter ainsi les phénomènes de limitation de débit à l'origine de l'augmentation du volume résiduel [160]. Chez le sujet présentant une obstruction spontanée (bronchite chronique ou asthme) l'IP est annoncée comme génératrice d'une bronchoconstriction. Chez les patients asthmatiques adultes, la bronchoconstriction est d'autant plus sévère que l'obstruction est importante au départ, le VEMS initial étant négativement corrélé avec l'indice qui caractérise la réponse au soupir (indice M/P expliqué au 1.2) [103]. L'étude de Lim [103] montrait que lorsqu'une bronchoconstriction est induite (inhalation d'air froid ou un aérosol d'histamine) chez des asthmatiques modérés pour atteindre un niveau d'obstruction similaire à un groupe de patients asthmatiques spontanés (VEMS à environ 40% de la théorique), les sujets induits présentent alors une réponse en bronchodilatation après une IP. L'hétérogénéité de la ventilation des deux groupes, estimée par la courbe d'expiration de l'azote était pourtant similaire dans les deux groupes et ne pouvait donc pas expliquer la différence constatée des rapports M/P. Chez les patients asthmatiques, l'inhalation d'un bronchodilatateur à dose thérapeutique permet alors retrouver la situation d'un sujet sain ou d'un sujet à la fonction ventilatoire peu altérée [68, 224].

La notion d'effet bronchoprotecteur de l'IP s'associe depuis peu à la notion d'effet bronchodilatateur. La bronchoprotection résulte des constats de Skloot et al [203] concernant l'absence d'effet curatif d'une IP sur une obstruction induite par la méthacholine chez les sujets sains en l'absence d'IP. Pour clarifier cette situation, Kapsali et al [96] proposaient un protocole où les sujets sains et asthmatiques étaient exposés à une dose unique mais efficace de méthacholine avec ou sans réalisation d'une série d'IP 3 min avant les mesures spirométriques. Les IP étaient prohibées pendant 20 min. L'effet préventif des IP sur l'HRB était manifeste. Il faut noter que cette étude permet de relativiser celle de Burns et Gibson [24] qui s'opposait aux conclusions de Skloot, puisque l'étude de Burns et Gibson rapportait des mesures de spirométrie réalisés seulement 4 min après une IP.

1.2 Technique d'exploration

La technique de référence utilisée chez l'adulte pour étudier l'effet d'une IP sur le tonus bronchomoteur est basée sur la réalisation d'expirations forcées successives, d'abord partielles (P) puis maximales (M) [11, 158]. La figure 1 en explique le principe. Le rapport des débits expiratoires respectifs (V'p et V'm) mesurés à volume équivalent habituellement entre 25 et 50% de la capacité vitale forcée (CVF), appelé rapport M/P permet d'évaluer l'effet d'une IP sur les débits expiratoires et donc sur le calibre des voies aériennes. Pour que l'acquisition soit réalisée de façon satisfaisante il convient de demander au sujet de réaliser en premier lieu une expiration après une inspiration sous-maximale (entre 50 et 70% de la CVF) puis une inspiration maximale jusqu'à la capacité pulmonaire totale (CPT) suivie d'une deuxième expiration forcée. M/P sera supérieur à 1 si l'IP tend à avoir un effet bronchodilatateur, alors qu'il sera inférieur à 1 en cas d'effet bronchoconstricteur.

Cette technique est difficilement applicable au domaine pédiatrique. Il est difficile d'obtenir la réalisation de manœuvres d'expiration forcée chez des enfants d'âge préscolaire et la réalisation complète et satisfaisante de la séquence nécessaire à mesurer le rapport M/P

est difficile chez l'enfant d'âge scolaire. Lorsque cela est possible grâce à la patience des techniciennes travaillant au laboratoire, il est malheureusement quasi-impossible d'obtenir la répétition de la manœuvre de façon fiable tout au long d'un test de provocation bronchique.

C'est pourquoi la technique des oscillations forcée présente une alternative intéressante pour l'étude des variations du tonus bronchomoteur au cours du temps. Il s'agit de la seule technique d'exploration fonctionnelle respiratoire autorisant l'acquisition de multiples valeurs de Rrs au cours du temps en ventilation spontanée [42, 118, 165]. C'est par exemple la technique de choix utilisée pour décrire les variations de Rrs au cours du cycle respiratoire [167]. Par ailleurs les oscillations sinusoïdales de la pression transpulmonaire induites par la technique n'induisent pas de modification du tonus bronchomoteur [169].

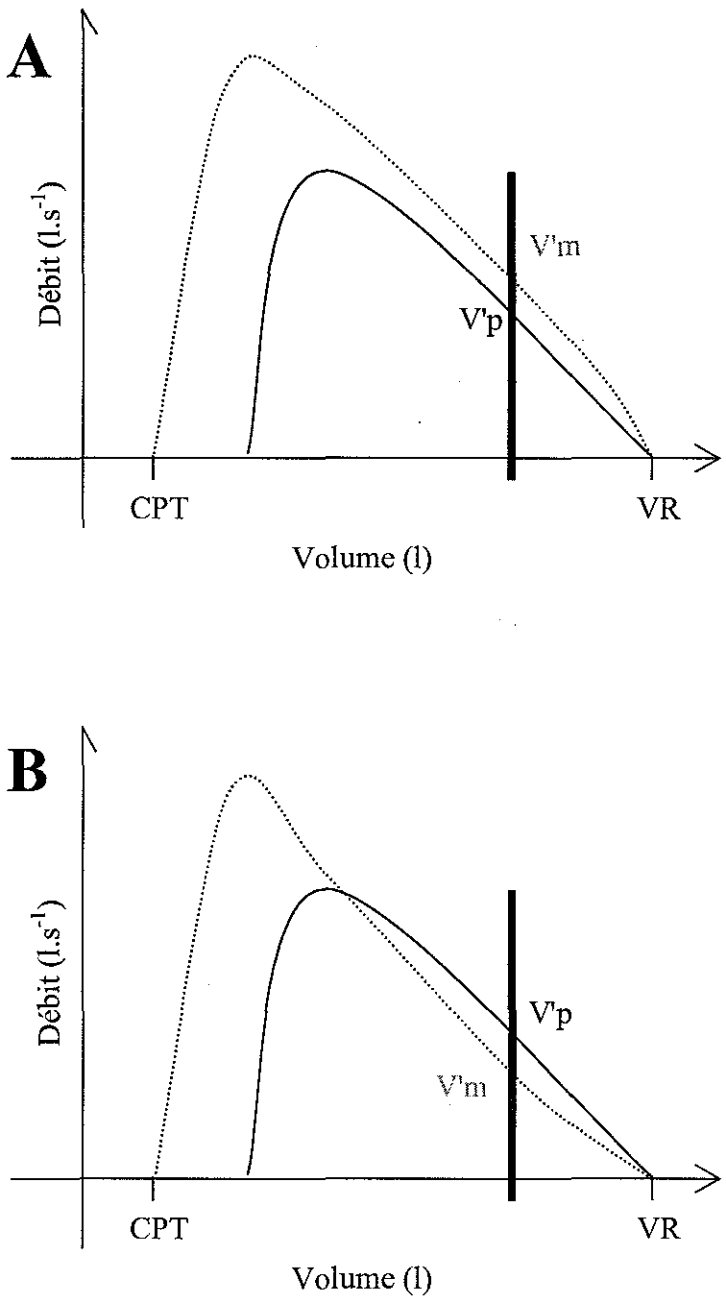


Figure 1: Courbes débit-volume partielles (trait plein) et maximales (trait pointillé). Les débits V'm et V'p sont mesurés à volume équivalent (ici environ 30% de la CVF). La partie supérieure illustre l'existence d'une bronchodilatation (V'm>V'p) induite par l'inspiration profonde et la partie inférieure l'existence d'une bronchoconstriction (V'm<V'p). VR: volume résiduel; CPT: capacité pulmonaire totale; CVF: capacité vitale forcée.

1.3 La théorie de l'hystérésis relatif

La principale hypothèse développée par les auteurs ayant étudié les variations du tonus bronchomoteur au décours d'une IP est une hypothèse basée sur la mécanique ventilatoire. Il s'agit de la théorie de l'hystérésis relatif entre les voies aériennes et le parenchyme pulmonaire développée en 1968 par Froeb et Mead [60]. L'hystérésis est par définition l'apparition d'un retard de l'effet sur la cause observé lors de l'excitation d'un matériau [60, 64]. Appliqué au système respiratoire il exprime l'élasticité imparfaite du système qui ne présente pas la même relation pression/volume entre l'inspiration et l'expiration. Cette élasticité fût explorée par les physiologistes au début du 20ème siècle [220]. Von Neergard mettait en évidence en décrivant la relation pression/volume du poumon canin l'existence d'une différence entre la courbe inspiratoire et la courbe expiratoire (fig 2). A volume équivalent la pression poumon isolé est supérieure à l'inspiration qu'à l'expiration (fig 2). Cette différence traduit à la fois la perte de charge nécessaire à l'ouverture des voies aériennes, et donc une dissipation d'énergie dans le système lors de l'inspiration, et la limitation du collapsus des voies aériennes lors de l'expiration. Ce phénomène d'hystérésis disparaît quasi complètement lors du lavage des voies aériennes par du sérum physiologique. L'existence du surfactant pulmonaire l'explique en grande partie [153].

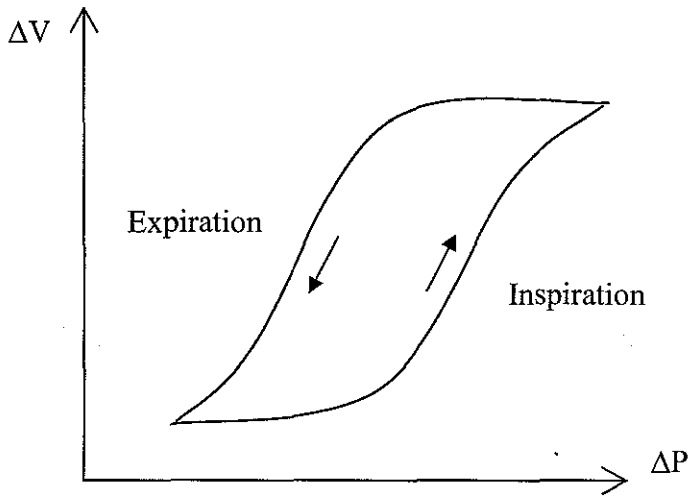


Figure 2: illustration du phénomène d'hystérésis sur la relation pression/volume (ΔP/ΔV) du système thoraco-pulmonaire. A pression égale le volume pulmonaire est plus élevé à l'expiration qu'à l'inspiration.

Le poumon est l'association de 2 structures élastiques [228] à l'origine embryologique différente. Les voies aériennes d'une part, le parenchyme pulmonaire de l'autre. La relation pression/volume du système présenté sur la figure 3 résulte de l'interaction dynamique des 2 structures. Les voies aériennes et le parenchyme pulmonaire sont interdépendantes. Le calibre des voies aériennes conductrices est maintenu par la traction du parenchyme pulmonaire sur la face externe de celles-ci, sous l'effet de l'élasticité pulmonaire et de la pression pleurale. Lorsqu'un sujet ventilant spontanément réalise une IP, il s'exerce une traction par les structures élastiques parenchymateuses au niveau de l'interface entre les voies aériennes et le parenchyme pulmonaire. Les voies aériennes et le parenchyme pulmonaire sont ainsi soumis à l'application d'une contrainte, ils se déforment puis retrouvent leur position d'équilibre élastique selon une dynamique propre qui varie selon les propriétés élastiques respectives.

Plusieurs cas de figure peuvent se présenter:

- Lorsque les 2 composantes ont le même hystérésis leur courbes pression/volume respectives sont superposables (fig 3A) et le retour à la position d'équilibre élastique, ou à tout autre volume après une IP, ne s'accompagne d'aucune modification du calibre des voies aériennes.

- Si l'hystérésis des voies aériennes est plus important que celui du parenchyme pulmonaire (fig 3B), le retour au volume d'équilibre des voies aériennes sera retardé par rapport au retour à la position d'équilibre du parenchyme. La conséquence en sera une augmentation relative du volume représenté par les voies aériennes par rapport au volume du parenchyme pulmonaire. Cela se traduit par une bronchodilatation au décours de l'IP et une baisse de Rrs. Cette situation est celle habituellement retrouvée chez le sujet normal, bien qu'elle soit faible et souvent non-significative [60, 158].
- La dernière situation est celle où l'hystérésis des voies aériennes est diminuée par rapport à celui du parenchyme pulmonaire (fig 3C). Dans ce cas les voies aériennes vont retrouver leur position d'équilibre avant le parenchyme dont le volume relatif restera proportionnellement supérieur au volume des voies aériennes. Cette situation induit une bronchoconstriction au décours d'une IP.

Ces mécanismes sont relatifs. Une bronchodilation peut être mise en évidence aussi bien en cas d'augmentation de hystérésis des voies aériennes que de diminution de celui du parenchyme pulmonaire. De la même façon après modification similaire de hystérésis des voies aériennes et du parenchyme pulmonaire il n'y aura pas d'incidence sur les effets bronchomoteurs de l'IP.

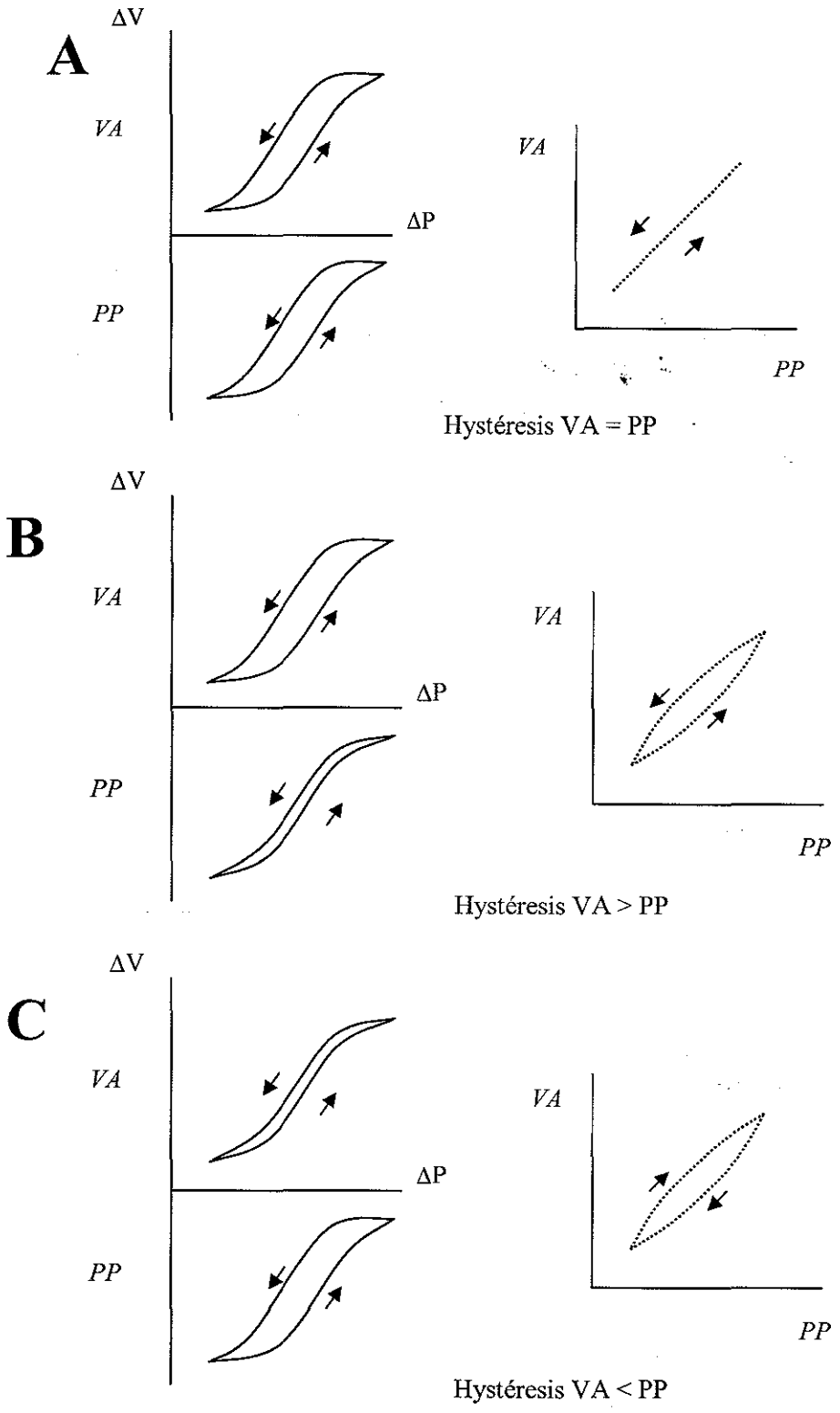


Figure 3: Illustration schématique des modifications relatives entre le volume des voies aériennes (VA) et le volume du parenchyme pulmonaire (PP). En A, B et C sont illustrées à gauche les relations pression/volume (ΔP/ΔV) des voies aériennes et du parenchyme pulmonaire à l'inspiration et à l'expiration. Les variations relatives en terme de volume sont reportées à droite.

2 Déterminants physiologiques de l'impédance respiratoire

Le système respiratoire est un assemblage de plusieurs éléments fluides et solides composant un système élastique imparfait. Il se déforme sous l'action d'une contrainte constituée par une différence de pression ΔP, générée par les muscles respiratoires en ventilation spontanée. La déformation du système se traduit par des variations de volume V, de débit V' ou d'accélération V'' à l'intérieur du système respiratoire.

Pour simplifier la description du système, ou d'une de ses parties, il est utile de le diviser en une association de trois éléments simples décrivant chacun un type de réponse à la contrainte. On parle alors des éléments élastiques (E), résistifs (R) et inertiels (I). L'équation du mouvement du système thoraco-pulmonaire peut s'écrire:

$$\Delta P = E.V + R.V' + I.V'' \qquad (1).$$

2.1 Les divisions bronchiques

Les voies aériennes inférieures d'étendent depuis la glotte jusqu'au sacs alvéolaires. Ces voies aériennes sont une succession de divisions dichotomiques, où chaque branche se divise en branches de plus petit diamètre. Les voies aériennes peuvent donc être décrites comme un arbre [225] qui comporte 23 générations bronchiques depuis la trachée (niveau 0) jusqu'au sacs alvéolaires (niveau 23). Le nombre de sacs alvéolaires est ainsi estimé à 2^{16} soit 8388608. Les branches issues de la division, ont souvent des diamètres ou des longueur différentes (fig 4), mais la règle générale veut que le diamètre des branches filles soit toujours plus petit que le diamètre de la branche originale. Le diamètre cumulé des voies aériennes augmente ainsi régulièrement à partir de la $4^{ème}$ génération d'une section de 2,54 cm^2 à une section de 7530 cm^2 [225].

Les échanges gazeux ont lieu majoritairement au niveau des sacs alvéolaires mais débutent dès le niveau 15 (bronchioles transitionnelles) qui constituent la frontière entre les voies aériennes conductrices et les voies aériennes respiratoires (fig 4).

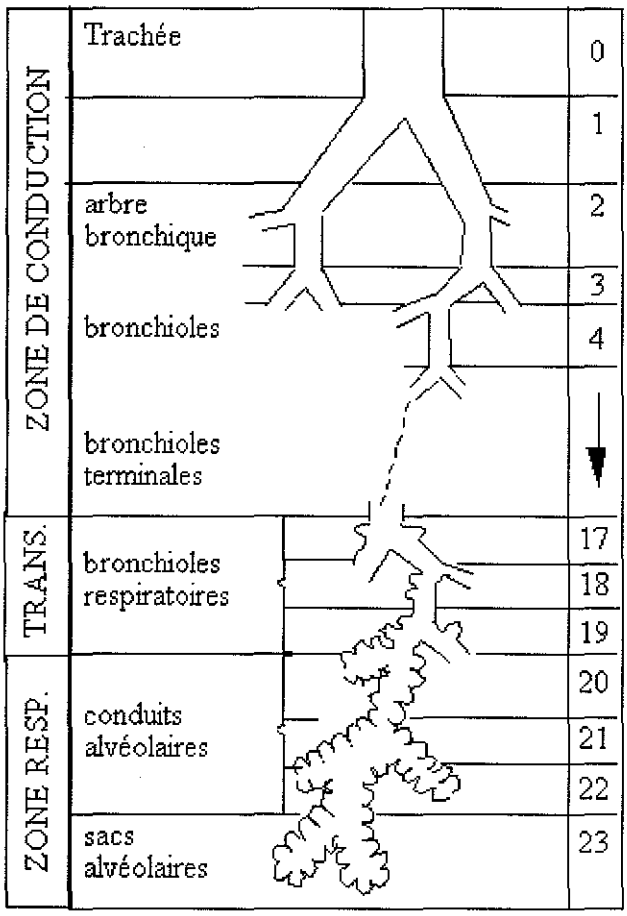


Figure 4: Organisation le l'arbre aérien humain de la trachée aux sac alvéolaires [225].

2.2 *Les trois éléments*

2.2.1 L'élément élastique

Il caractérise la propriété d'un corps à revenir à sa position initiale après déformation. L'élément élastique caractérise l'énergie potentielle que le système est capable d'emmagasiner, puis de restituer lorsqu'on lui applique une différence de pression ΔP. L'élastance E et son

inverse la compliance C caractérisent la façon dont un corps se déforme du volume ΔV sous l'action de la contrainte ΔP.

Si le système élastique est idéal la relation est linéaire. Elle s'écrit:

$$E = \Delta P / \Delta V \quad (2)$$

et $$C = \Delta V / \Delta P \quad (3)$$

2.2.2 L'élément résistif

L'élément résistif décrit la propriété d'un corps à s'opposer à l'écoulement d'un fluide par l'existence de forces de frottement. Il caractérise la relation entre la contrainte (ou perte de charge) ΔP et le débit V'. Son inverse est la conductance G.

Lorsque l'écoulement est laminaire, la relation s'écrit :

$$R = \Delta P / V' \quad (4)$$

et $$G = V' / \Delta P \quad (5)$$

Les caractéristiques de la résistance, élément principal étudié par les explorations fonctionnelles respiratoires sont développées au chapitre 2.2.

2.2.3 L'élément inertiel

Il décrit la relation entre la contrainte ΔP et l'accélération qui en résulte V". L'élément inertiel représente l'énergie cinétique nécessaire pour augmenter le débit dans le système. L'inertance I est définie par:

$$I = \Delta P / V'' \quad (6)$$

2.3 *Caractéristiques de la résistance*

2.3.1 Localisation de la résistance du système respiratoire

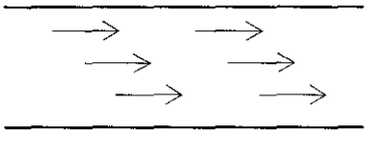
Rrs est issue des forces de friction qui caractérisent le déplacement de chaque partie ou de la totalité du système respiratoire. Chacune des parties du système est à l'origine de résistances: les voies aériennes, le tissu pulmonaire et la paroi thoracique [41]. La méthode des oscillations forcées que nous décrivons ultérieurement, mesure Rrs c'est à dire la résistance de l'ensemble des parties du système énoncées ci-dessus [42, 116]. D'autres méthodes d'exploration fonctionnelle mesurent des paramètres différents. Par exemple la pléthysmographie ne mesure que la résistance des voies aériennes (Raw) [36, 121].

2.3.2 Relation résistance débit

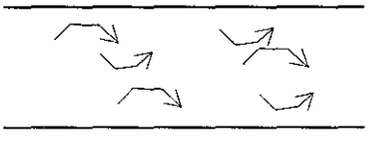
L'écoulement de l'air dans les voies aériennes suit les principes généraux de la rhéologie des fluides. La résistance est conditionnée par le régime d'écoulement du fluide.

Deux régimes d'écoulement des fluides existent :

L'écoulement laminaire: le mouvement des particules est régulier et ordonné;



L'écoulement turbulent: le déplacement des particules est irrégulier avec des fluctuations aléatoires de leurs vitesses qui se superposent au mouvement global du fluide.



En 1883, le physicien Osbourne Reynolds observait l'écoulement des fluides dans un conduit cylindrique [183]. Ses travaux sur la dynamique des fluides ont permis de définir le nombre de Reynolds $\Re$:

$$\Re = (\rho \,.\, v \,.\, d) / \mu \qquad (7)$$

v = vitesse moyenne (m/s) $\qquad$ ρ = densité du fluide (kg/l)

d = diamètre du tube (m) $\qquad$ μ = viscosité dynamique (P)

Si une apromination du débit moyen V' est faite par le produit de v et de la section du tube $[\pi.(d/2)^2]$, l'expression 7 devient :

$$\Re = 4 \,.\, (\rho \,.\, V') / (\pi \,.\, \mu \,.\, d) \qquad (8)$$

V' = débit moyen (m^3/s)

L'écoulement est laminaire si $\Re < 2\,300$, il est turbulent au-delà de 4000.

Dans les voies aériennes conductrices et les voies aériennes supérieures, la section est large mais le débit et la vitesse d'écoulement sont élevés. Au fur et à mesure des divisions bronchiques, la section cumulée augmente et le flux se répartit dans chacune des divisions. Le régime d'écoulement est turbulent au niveau de la glotte où le calibre est réduit [112]. Ensuite, l'écoulement devient laminaire en fonction du débit ventilatoire. Par exemple à un débit de 0,5 $l.s^{-1}$ le flux est laminaire dès le niveau des bronches souches, par contre à un débit de 2 $l.s^{-1}$ $\Re$ est au dessus du niveau critique jusqu'à la $4^{ème}$ génération. Il est usuel de considérer le flux turbulent dans la trachée et les voies aériennes les plus larges et laminaire au-delà [155].

Lorsque l'écoulement est laminaire, la résistance est donnée par la loi de Poiseuille [178]. Cette loi exprime la relation entre la résistance (R), la viscosité du gaz (μ), la longueur (l), le rayon du tube (r) et un terme constant égal à 8 :

$$R = \Delta P / V' = 8 \mu l / \pi r^4 \qquad (9)$$

Lorsque l'écoulement devient turbulent la perte de charge n'est plus proportionnelle au débit. L'allure de la relation $\Delta P/V'$ devient alinéaire et la perte de charge augmente de façon disproportionnée par rapport au débit.

Rohrer en 1915 [186], caractérisait la relation de la pression au débit dans le système respiratoire par l'équation:

$$\Delta P = k_1 . V' + k_2 . V'^2 \qquad (10)$$

Le terme $k_1 . V'$ représente l'écoulement laminaire, qui existe dans les petites voies aériennes. Le terme $k_2 . V'^2$ représente l'écoulement turbulent qui existe dans les grosses voies aériennes.

La résistance des voies aériennes peut donc s'exprimer par :

$$R = \Delta P/V' = k_1 . V'/ V' + k_2 . V'^2 / V'$$

$$R = k_1 + k_2 . |V'| \qquad (11)$$

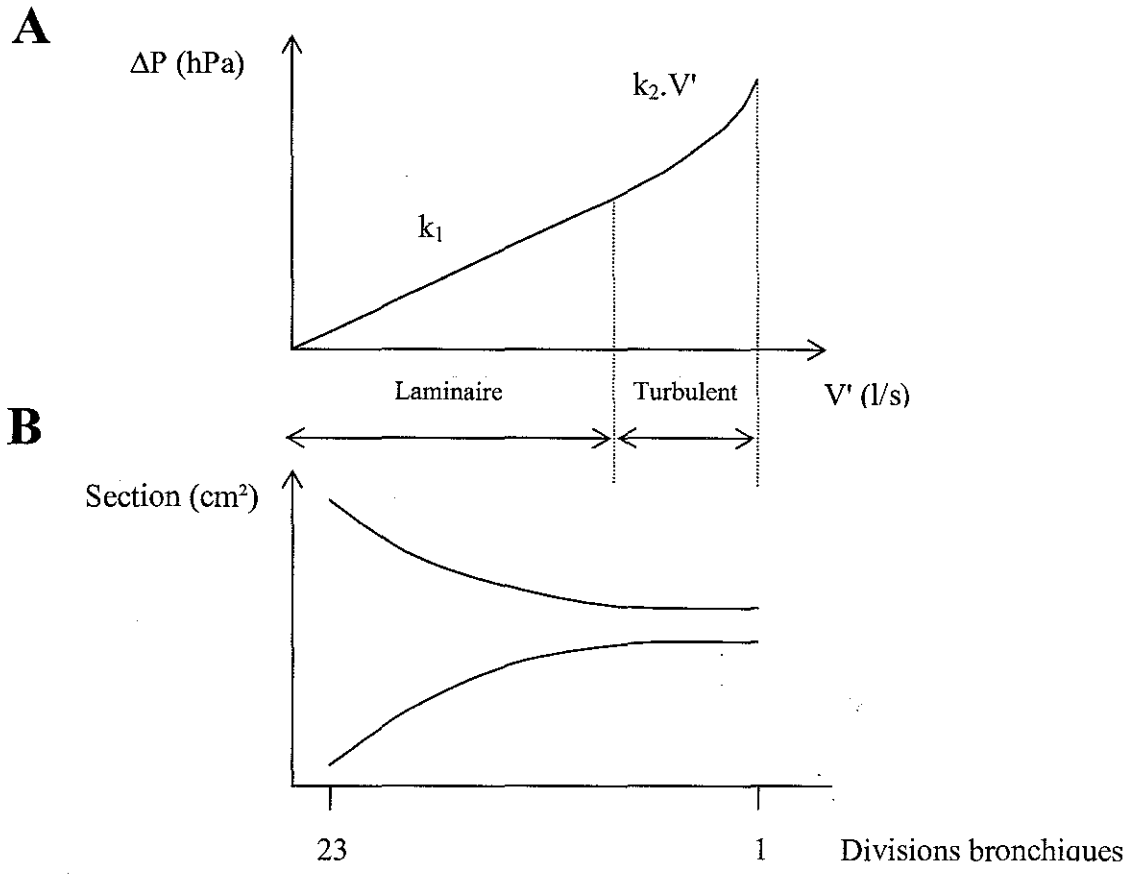


Figure 5: illustration schématique de la relation pression-débit au niveau du système respiratoire. La partie A illustre l'équation de Rohrer, $\Delta P = k_1 . V' + k_2 . V'^2$, où ΔP est la perte de charge dans le système et V' le débit du gaz dans le système. La partie B illustre de façon parallèle la surface cumulée de l'arbre aérien en fonction du niveau des divisions bronchiques.

2.3.3 Relation résistance volume

Briscoe et DuBois mettaient en évidence ce phénomène en 1958 [19] en décrivant par pléthysmographie chez des sujets d'âges différents, l'aspect de la relation liant la conductance des voies aériennes au volume gazeux thoracique (VGT). Cette relation apparaissait linéaire G = K . VGT. Cette relation fut retrouvée par d'autres auteurs [15]. Elle est illustrée par la figure 6.

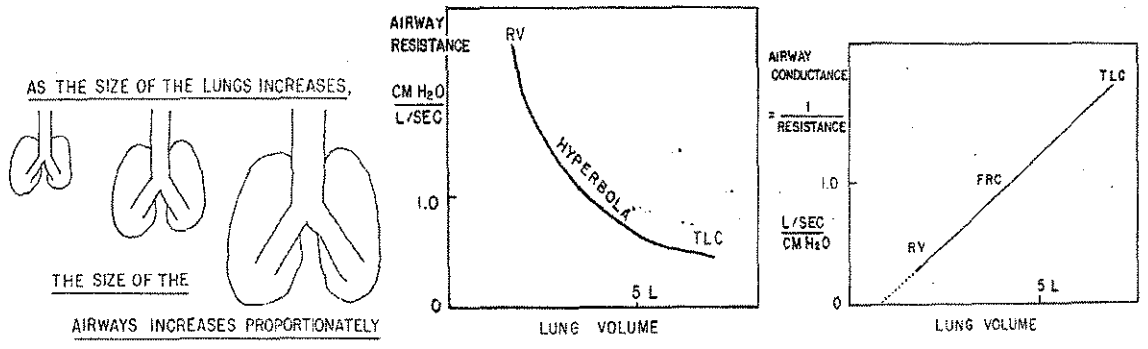


Figure 6: relation conductance des voies aériennes au volume gazeux thoracique [19]. "As the size of the lung increases, the size of the airways increases proportionately" (*lorsque la taille des poumons augmente, la taille des voies aériennes augmente de façon proportionnelle).*

Cette relation est liée aux interactions entre le parenchyme pulmonaire et les voies aériennes. Les voies aériennes sont élastiques. Il s'insère sur leur face externe les fibres élastiques du parenchyme pulmonaire. Lorsque la distension thoracique est importante (lors d'une IP) les voies aériennes s'ouvrent par l'intermédiaire de la traction du parenchyme sur l'interface qui l'associe aux voies aériennes intra-thoraciques. A l'inverse en fin d'expiration les voies aériennes se rétrécissent parfois jusqu'à fermeture. Comme la géométrie des voies aériennes conditionne le régime d'écoulement, et donc ΔP, la valeur de Rrs varie donc selon le volume pulmonaire [86].

L'utilisation des oscillations à fréquence élevée permet de décrire les variations de Rrs lors du cycle respiratoire. Rrs est faible au début de l'inspiration augmente vers un maximum au milieu de la phase inspiratoire (lorsque le débit est le plus important) puis diminue à une valeur proche de la valeur initiale en fin d'inspiration. Des variations similaires sont observées lors de l'expiration [167]. Par pléthysmographie, l'augmentation de Raw est particulièrement nette à bas volume pulmonaire lorsque les voies aériennes sont comprimées, c'est-à-dire à la fin de l'expiration [210].

2.3.4 Modélisation des variations de Rrs

La relation de Rohrer (Eq 10) est la base classique de l'analyse de la variation de Rrs avec le débit [186]. Cependant le modèle de résistance proposé ne comporte pas de terme individualisé reflétant la variation de la résistance avec le volume pulmonaire.

En 1992, Peslin [171] proposait de compléter le modèle d'analyse par un troisième terme k_3 représentant la dépendance habituellement négative de la résistance vis-à-vis du volume:

$$R = k_1 + k_2 . |V'| + k_3 . V \qquad (12)$$

Dans cette étude, Rrs était mesurée par oscillations forcées, seule méthode permettant de déterminer un nombre important de valeurs de Rrs au cours du cycle respiratoire. Les trois coefficients étaient déterminés par régression linéaire multiple.

3 Mesure des résistances par oscillations forcées

3.1 Généralités

Décrite en 1956 par DuBois [42], la méthode des oscillations forcées permet de mesurer un grand nombre de paramètres de la mécanique ventilatoire. Son intérêt est lié à la possibilité de la mettre en place de manière non invasive chez l'homme et à son caractère passif, qui lui procure un intérêt considérable dans l'exploration fonctionnelle de l'enfant peu coopérant, en particulier à l'age pré-scolaire. Il s'agit également de la seule technique capable de déterminer lors du cycle respiratoire de multiples valeurs caractérisant la mécanique thoraco-pulmonaire au cours du temps. Le nombre de valeurs déterminées dépend de la fréquence d'excitation du signal initial.

La technique consiste à appliquer au système respiratoire des variations périodiques de pression à l'aide d'un générateur externe et à étudier la relation pression/débit qui résulte des déformations induites [165]. La variation périodique de pression qui peut être appliquée au système respiratoire est un signal sinusoïdal (Prs) généré par un haut-parleur. La méthode suppose un comportement linéaire du système respiratoire pour ces faibles déformations. Ainsi le débit (V'rs) qui résulte du signal Prs est également sinusoïdal et de même fréquence. En pratique la variation sinusoïdale de pression appliquée au système respiratoire doit être au moins 10 fois supérieure à la fréquence respiratoire du sujet [146]. Cela permet de l'identifier par rapport au bruit.

3.2 Définition de l'impédance

3.2.1 Impédance: définition

La relation pression/débit représente la difficulté opposée par le système thoraco-pulmonaire au déplacement de l'air. Cette difficulté est plus large que la simple résistance, car des éléments élastiques et inertiels y participent. C'est pourquoi on définit l'impédance mécanique Zrs par :

$$Zrs = Prs / V'rs \qquad (13)$$

3.2.2 Cas d'un signal sinusoïdal

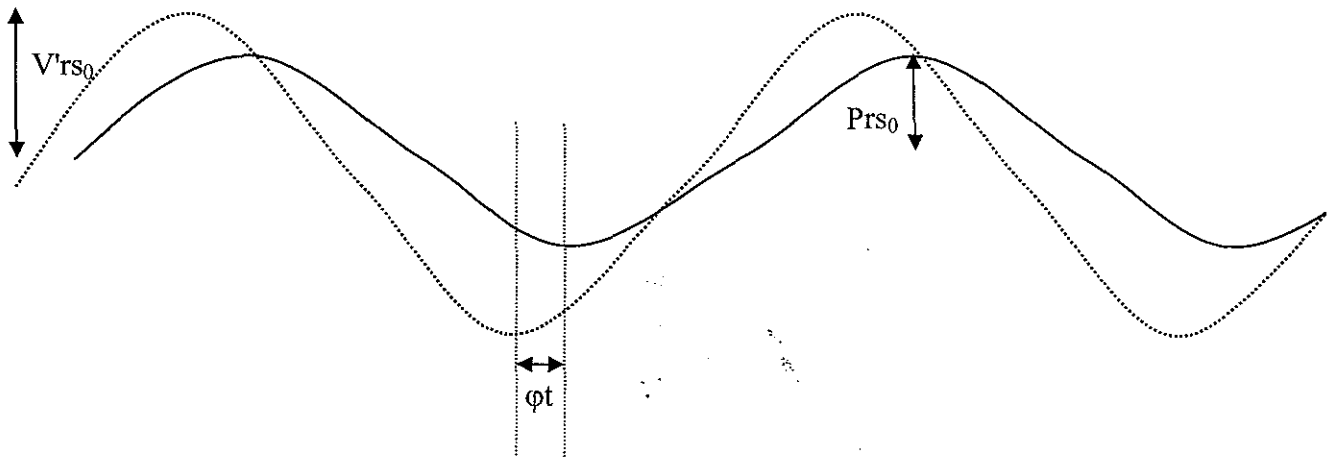
Un signal sinusoïdal est défini par une fréquence f, exprimée en cycles par seconde ou Hertz (Hz). La vitesse angulaire ω de la sinusoïde est définie par $\omega=2\pi f$.

Les signaux de Prs et V'rs, sont sinusoïdaux de même fréquence angulaire ω, mais sont déphasés dans le temps de l'angle φrs. On peut écrire, si l'on admet le débit comme référence de phase :

$$Prs = Prs_0 . \sin(\omega t+\varphi rs) \qquad (14)$$

et

$$V'rs = V'rs_0 . \sin \omega t \qquad (15)$$



Prs —— et V'rs ·····

Grâce aux fonctions trigonométriques et aux nombres complexes on peut écrire successivement :

$$Zrs = |Zrs_0|.(\cos\varphi rs + j.\sin\varphi rs) \qquad (16)$$

avec $j=\sqrt{-1}$

L'impédance se caractérise par :

- son module : $|Zrs_0| = Prs_0 / V'rs_0$,
- son argument correspondant au déphasage φrs.

Elle peut se décomposer en deux parties :

- La partie en phase avec le débit, partie réelle de Zrs, correspond à la résistance Rrs:

$$Rrs = |Zrs|.\cos\varphi rs \qquad (17)$$

Ce terme représente l'élément lié à la perte de charge par friction décrit plus haut.

- La partie en quadrature, partie imaginaire de Zrs, correspond à la réactance Xrs:

$$Xrs = | Zrs |.\sin \varphi rs \qquad (18)$$

Elle représente les éléments qui s'opposent au débit en rapport avec l'élasticité et l'inertie du système thoraco-pulmonaire.

A partir de Rrs et Xrs, le retour au module d'impédance | Zrs | et au déphasage φrs est facile grâce aux formules :

$$| Zrs | = (Rrs^2 + Xrs^2)^{1/2} \qquad (19)$$

et

$$\varphi rs = \text{arctg} (Xrs / Rrs) \qquad (20)$$

Dans le cas de signaux sinusoïdaux de débit et de pression, la méthode de choix pour calculer le module d'impédance | Zrs | et le déphasage φrs est la détermination des premiers coefficients de Fourier des deux signaux, selon la méthode [132] :

$$A_P = \frac{1}{\pi} . \int_0^T P(t).\sin\omega t.dt \qquad B_P = \frac{1}{\pi} . \int_0^T P(t).\cos\omega t.dt \qquad (21)$$

$$A_{V'} = \frac{1}{\pi} . \int_0^T V'(t).\sin\omega t.dt \qquad B_{V'} = \frac{1}{\pi} . \int_0^T V'(t).\cos\omega t.dt \qquad (22)$$

$$| Zrs | = [(A_P^2 + B_P^2)] / [(A_{V'}^2 + B_{V'}^2)]^{1/2} \qquad (23)$$

$$\varphi rs = \text{arctg} (B_P / A_P) - \text{arctg} (B_{V'} / A_{V'}) \qquad (24)$$

3.2.3 Variante de l'impédance

3.2.3.1 Impédance d'entrée et de transfert

Le signal de pression peut être appliqué en deux points du système: l'orifice des voies aériennes (Pao) ou la paroi thoracique (Pw). Le débit peut également être mesuré à l'orifice des voies aériennes (V'ao) ou à la paroi (V'w).

Dans la technique la plus simple, dite impédance d'entrée (Zrs,in), les variations de pression sont appliquées à la bouche et la mesure des signaux de pression et de débit qui en résultent sont réalisés au même niveau.

$$Zrs,in = Pao / V'ao \qquad (25)$$

L'alternative à la détermination de Zrs,in est la détermination de l'impédance de transfert (Zrs,tr) obtenue de deux manières. Soit en appliquant les variations de pression à l'orifice des voies aériennes et en mesurant le débit ainsi généré au niveau péri-thoracique, soit en faisant varier la pression autour de la paroi thoracique et en mesurant le débit ainsi provoqué à l'orifice des voies aériennes.

$$Zrs,tr = Pao / V'w = Pw / V'ao \qquad (26)$$

3.2.3.2 Variante de l'impédance d'entrée

Dans l'approche standard, la mesure de l'impédance d'entrée (Zrs,sg) se fait en appliquant à la bouche un signal sinusoïdal de pression Pm et en recueillant le signal de débit V'm au même endroit grâce à un pneumotachographe. L'impédance des parois des voies aériennes extra-thoraciques Zuaw, traversées par le débit V'uaw, se retrouve alors comme sur la figure 7 en parallèle avec l'impédance thoraco-pulmonaire Zrs. Zuaw et Zrs sont soumises à la même différence de pression $Pm-P_B$, où P_B est la pression barométrique.

La paroi des voies aériennes supérieures constitue un shunt qui s'exprime par la vibration des joues. Cet artéfact est à l'origine d'une erreur dans l'estimation de Rrs et de Xrs [72]. L'erreur est d'autant plus importante que la résistance des voies aériennes intra-thoracique est élevée [164].

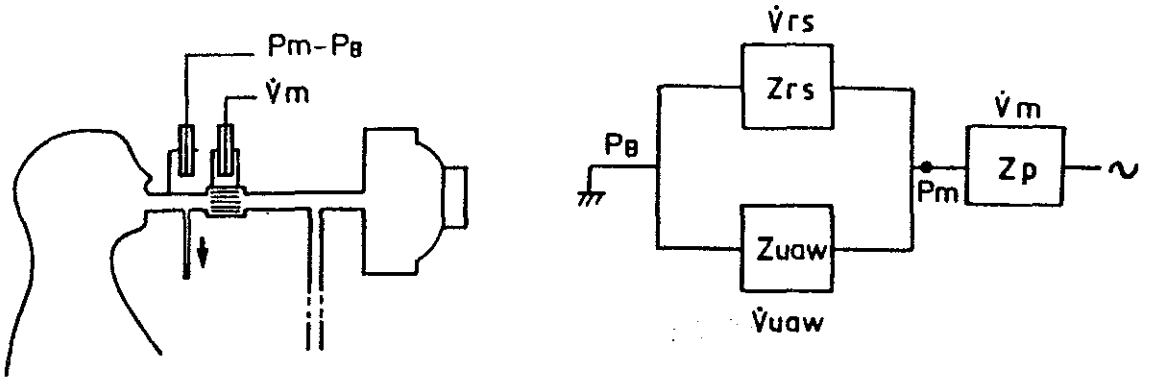


Figure 7 : Mesure de l'impédance d'entrée selon la méthode standard. Zp: impédance du pneumotachographe; P_B: pression barométrique; Pm: pression à la bouche; V'm: débit mesuré par le pneumotachographe.

L'impédance mesurée à la bouche est donnée par :

$$Zrs,sg = (Zrs.Zuaw) / (Zrs + Zuaw) \qquad (27)$$

Afin de résoudre ce problème il a été proposé d'appliquer le signal sinusoïdal de pression dans un heaume placé autour de la tête [163]. Cette technique permet de diminuer la vibration des joues car le signal sinusoïdal de pression s'applique de part et d'autre de la paroi des joues. La méthode est représentée sur la figure 8. Dans cette situation, le pneumotachographe, d'impédance faible (Zp), est en parallèle avec la paroi des voies aériennes supérieures.

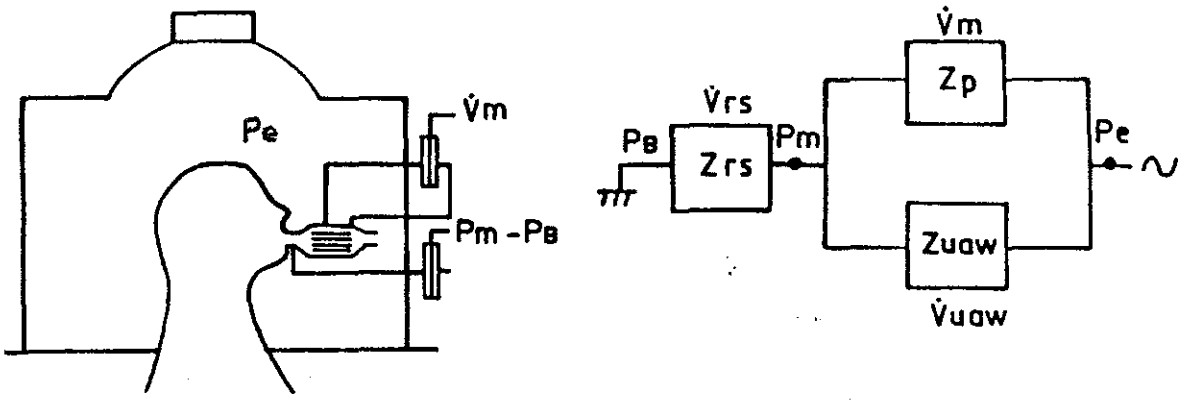


Figure 8 : Mesure de l'impédance d'entrée selon la méthode du heaume.

L'impédance mesurée avec heaume (Zrs,hg) est alors donnée par :

$$Zrs, hg = Zrs [1+ (Zp/Zuaw)] \quad (28)$$

Le facteur d'erreur concernant Zrs est lié au rapport Zp/Zuaw. L'erreur est d'autant plus faible que l'impédance du pneumotachographe est plus petite par rapport à Zuaw.

Etudes chez l'enfant

1 Matériel et Méthodes

1.1 Sujets de l'étude

1.1.1 Caractéristiques générales

Les patients étudiés lors des trois études suivantes ont été adressés au Service d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques de l'Hôpital d'Enfants de Nancy par leur médecin référent. Les explorations pratiquées étaient programmées dans le cadre du diagnostic initial, du suivi d'un asthme ou de la recherche d'une HRB. Tous les sujets avaient interrompu leurs traitements β2-agonistes au moins 12 heures avant l'examen. Les tests de provocation étaient réalisés en l'absence de tout symptôme respiratoire depuis au moins 4 semaines (méthacholine) et au moins 2 semaines (test d'exercice) avant l'examen.

Les mesures étaient réalisées dans les conditions de base, lors de chacune des étapes des tests de provocation et après bronchodilatateur. Zrs était enregistrée lors de 2 périodes de 30 à 50 s chacune, en appliquant autour de la tête de l'enfant une pression sinusoïdale de fréquence 12 Hz. Durant la première période le sujet respirait calmement. Au début de la seconde période, après quelques cycles respiratoires spontanés, il était demandé à l'enfant de réaliser une IP, dont le volume devait être d'au moins le double du volume courant. Après la détermination de Zrs, il était réalisé une expiration forcée.

Avant toute provocation bronchique par la méthacholine ou un test de course libre, un formulaire de consentement éclairé était lu et accepté par le ou les parents présents lors de l'examen.

1.1.2 Etude 1: Patients asthmatiques spontanément obstructifs

La population étudiée comporte 21 enfants asthmatiques (13 garçons) âgés de 5 à 15 ans. Onze sujets étaient sous corticoïdes inhalés. Deux sous-groupes ont été constitués en fonction de l'importance de l'obstruction.

L'obstruction des voies aériennes était discrète pour les patients du groupe A, qui comporte 12 enfants dont le VEMS était supérieur à 75% de la valeur attendue. Elle était

sévère chez les patients du groupe B, qui comportait 9 enfants dont le VEMS était inférieur à 70% de la valeur théorique. Les caractéristiques anthropométriques et l'âge des patients étaient similaires dans les 2 groupes (tableau I).

Tableau I : Caractéristiques individuelles des patients de l'étude 1.

Groupe A : Obstruction discrète (n = 12)

Patient	Sexe (G/F)	Age (ans)	Taille (m)	VEMS (% pred)	CVF (% pred)	DEMM (% pred)	Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)	Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)
ke	G	5,0	1,06	92	111	48	15,5	0,46
hu	G	9,0	1,33	89	110	54	9,1	0,74
so	G	7,0	1,35	79	94	44	8,7	1,82
th	G	9,0	1,48	80	84	70	7,4	1,78
ze	F	8,5	1,27	87	96	53	12,7	-0,04
ro	G	12,5	1,48	86	88	73	5,3	0,89
od	G	12,0	1,49	87	101	55	7,7	1,56
se	F	7,0	1,27	79	103	34	12,5	1,44
do	F	7,0	1,09	94	106	50	12,0	0,76
mu	F	7,0	1,23	84	98	40	23,4	-2,92
vo	F	14,5	1,56	82	107	41	6,7	0,97
un	G	11,0	1,42	85	96	58	12,7	1,06
Moyenne		9,1	1,34	85	99	51	11,1	0,71
ES		0,8	0,05	1,4	2,4	3,4	1,4	0,4

Groupe B : Obstruction modérée à sévère (n = 9)

Patient	Sexe (G/F)	Age (ans)	Taille (m)	VEMS (% pred)	CVF (% pred)	DEMM (% pred)	Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)	Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)
co	F	6,0	1,21	66	61	57	9,0	0,24
po	G	15,0	1,70	65	89	32	8,4	0,32
ma	F	11,5	1,42	34	64	12	13,8	-0,07
ma	G	8,5	1,26	47	82	17	23,0	-4,93
ma	G	6,5	1,19	66	91	29	13,2	-0,4
go	G	7,0	1,25	66	86	28	19,4	-3,37
de	G	9,0	1,33	70	98	31	13,6	0,97
da	F	15,0	1,67	39	63	3	6,5	0,64
gl	G	5,5	1,12	70	125	24	18,2	NR
Moyenne		8,8	1,35	58,1	84	25,9	13,9	-0,83
ES		1,5	0,07	4,7	6,8	5,1	1,8	0,8

1.1.3 Etude 2: provocation bronchique par la méthacholine

Dix-huit enfants (6 garçons) âgés de 4,5 à 12,5 ans ont été étudiés. Onze présentaient un diagnostic initial de toux chronique et 7 un diagnostic clinique d'asthme. La valeur de Rrsi de chacun des sujets était normale compte tenu de la taille [125]. Chez les 14 sujets pour lesquels la détermination du VEMS a été possible, il était compris entre 90 et 125% de la valeur théorique (107 ± 3 %).

Tableau II : Caractéristiques individuelles des patients de l'étude 2.

Patient	Sexe (G/F)	Age (ans)	Taille (m)	VEMS (% pred)	CVF (% pred)	DEMM (% pred)	Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)	Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)
vi	F	6,0	1,21	119	111	107	11,4	-0,59
ma	F	5,5	1,08	125	129	85	12,0	1,84
he	G	6,0	1,17	119	110	175	8,5	1,69
ro	F	8,0	1,26	95	95	77	12,3	0,58
st	F	4,5	1,16	ND	ND	ND	11,7	1,73
pe	G	9,0	1,36	113	128	79	11,2	1,90
kr	F	5,0	1,08	ND	ND	ND	8,5	1,38
al	F	5,5	1,20	ND	ND	ND	10,9	1,27
bi	F	5,0	1,23	104	107	82	11,1	0,96
bo	F	9,0	1,36	99	106	73	11,5	1,50
go	F	9,0	1,45	93	92	77	5,5	1,89
bo	G	12,5	1,54	90	94	71	8,5	2,29
ad	F	8,5	1,21	110	106	99	7,8	0,56
gr	F	6,5	1,14	108	110	89	8,8	1,85
da	F	5,0	1,14	ND	ND	ND	6,2	1,12
re	G	8,0	1,27	111	107	96	6,7	0,80
be	G	6,0	1,14	118	110	116	7,5	2,10
ma	G	12,0	1,53	95	103	75	3,9	1,43
Moyenne		7,2	1,25	107	108	92,9	9,1	1,4
ES		0,6	0,03	3,0	2,9	7,3	0,59	0,17

1.1.4 Etude 3: provocation bronchique par l'exercice

Pour cette étude, 15 enfants (11 garçons) asthmatiques à l'exercice ont été explorés. Ils avaient entre 5 et 16 ans. La réalisation d'une manœuvre d'expiration forcée reproductible a été possible pour 14 des 15 sujets. Les valeurs de base du VEMS et de la CVF étaient supérieures ou égales à 75% de la valeur théorique, respectivement 107 ± 12 % et 98 ± 13 %. Pour le dernier sujet la valeur de Rrs était considérée comme normale [125].

Tableau III : Caractéristiques individuelles des patients de l'étude n° 3.

Patient	Sexe (G/F)	Age (ans)	Taille (m)	VEMS (% pred)	CVF (% pred)	DEMM (% pred)	Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)	Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)
al	G	7,0	1,21	113	120	86	12,6	0,32
au	G	11,0	1,37	91	115	51	8,2	1,16
de	F	11,5	1,50	92	96	75	7,5	0,94
du	G	5,0	1,15	ND	ND	ND	8,5	1,14
es	G	9,0	1,34	103	110	85	9,4	1,34
ha	G	6,0	1,30	119	125	91	8,0	1,26
le	G	9,0	1,36	104	108	84	7,8	1,12
ma	G	13,5	1,56	99	114	70	7,6	1,52
ma2	F	16,0	1,64	118	120	107	5,5	1,93
pe	G	10,5	1,35	93	105	64	8,0	1,60
ro	G	12,5	1,48	86	88	73	5,3	0,89
sa	G	9,0	1,37	105	116	69	7,8	1,31
se	F	7,0	1,27	79	104	34	12,5	1,44
vo	F	7,5	1,35	91	90	84	7,5	1,10
ze	G	11,5	1,55	81	92	48	8,0	1,48
Moyenne		9,7	1,39	98	107	73	8,3	1,24
ES		0,8	0,04	3,4	3,2	5,1	0,5	0,10

1.2 Mesure de Zrs

Les 3 études menées chez l'enfant ont utilisé le même dispositif de mesure de Zrs par oscillations forcées. Il s'agit de l'appareil PULMOSFOR ®, développé et breveté par l'unité INSERM U14 de Nancy [46], puis distribué par la SEFAM® (Vandœuvre lès Nancy, France) sous licence INSERM. Ce système possède les caractéristiques recommandées pour l'exploration fonctionnelle pédiatrique par oscillations forcées [45, 146]. Il est utilisé en pratique quotidienne au Laboratoire d'Exploration Fonctionnelle Pédiatrique de l'Hôpital

d'Enfants de Nancy depuis plusieurs années. Le logiciel d'exploitation initial a été réécrit et l'informatique mise à jour. L'appareil se compose de trois parties :

Une partie physique comprenant

Un générateur de pression sinusoïdal: haut-parleur Audax HD30P45 (diamètre 30 cm, puissance 90W).

Un capteur de pression différentiel: Micro 176PC14HD2, Honeywell ± 35 hPa, Scarborough, Ontario, Canada.

Un capteur de débit: pneumotachographe de Fleisch n°1, Metabo, Hepalinges, Suisse, relié à un capteur de pression identique au précédent.

Un heaume en plexiglas transparent d'un volume de 35 litres à l'intérieur duquel l'enfant place sa tête et dans lequel est appliqué le signal de pression sinusoïdal. Un collier en mousse est placé au niveau du cou afin de minimiser les fuites.

Les capteurs de pression sont solidarisés sur un bloc de plomb afin de minimiser les vibrations et les capteurs de pression présentent l'un part rapport à l'autre à la fréquence d'excitation de 32 Hz une variation de gain inférieure à 1 % et un déphasage inférieur à 2°; le taux de réjection de mode commun de ces capteurs est supérieur à 60 dB à 30 Hz. Le pneumotachographe possède une constante de temps de 2,1 ms prise en compte dans les calculs.

Une partie électronique

Elle est l'interface entre le système de gestion informatique des données et la partie physique du système. Elle comprend un circuit permettant de générer le signal d'excitation du haut-parleur à partir de l'ordinateur, ainsi qu'un circuit permettant le recueil puis la numérisation des signaux de pression et de débit. Ces 2 circuits comportent principalement une carte de conversion digital-analogique / analogique-digital (ADDA 12 bits, 25µs, 8 voies différentielles, 16 voies unipolaires, Digimétrie PC Lab), située à l'intérieur de l'ordinateur. Sur le circuit d'excitation du haut-parleur, se trouve un filtre passe-bande (1 à 40 Hz) puis un amplificateur de puissance de 100 W (Apex PA51). Les signaux de pression et de débit issus

des capteurs de pression différentielle sont filtrés grâce à des filtres analogiques passe-bas (coupure à 40 Hz, Motorola MF4 CN).

Une partie informatique

Organisé autour d'un ordinateur PC compatible (Compaq Deskpro EP/SB, Pentium II 266 MHz) dans lequel se trouve la carte de conversion ADDA. L'ordinateur est doté d'un écran couleur 15 pouces (Philips) pour la visualisation des signaux durant l'acquisition et d'une imprimante (HP, Deskjet 840 C) pour l'impression des résultats.

Le logiciel d'exploitation, issu du logiciel initialement commercialisé avec le PULMOSFOR® est écrit en TURBO PASCAL IV. Il a été largement modifié afin de permettre la relecture et le traitement des fichiers et l'analyse des effets de l'IP.

Il permet ainsi :

- De générer un signal sinusoïdal de pression par le déplacement de la membrane du haut-parleur.
- D'acquérir et de numériser les signaux de pression et de débit recueillis par les capteurs. Quelle que soit la fréquence d'excitation, le programme recueille pour chacun des signaux 8 à 16 points par sinusoïde selon la durée de l'acquisition. Le nombre de points recueillis en une seconde varie donc avec la fréquence d'excitation. Les signaux sont visualisés en temps réel sur l'écran de l'ordinateur afin de juger leur qualité.
- D'éliminer par un algorithme mathématique la composante basse fréquence de la respiration spontanée du sujet.

Le programme calcule pour chaque sinusoïde, la valeur des parties réelles et imaginaires de Zrs (c'est à dire Rrs et Xrs). Pour Rrs les valeurs sont déterminées à l'inspiration (Rrsi) et à l'expiration (Rrse). Le programme calcule également le volume courant du sujet par intégration numérique du débit instantané. Rrsi, Rrse, Xrs, volume courant et débit constituent les colonnes d'un fichier informatique résolu dans le temps où chaque sinusoïde est représentée par une ligne.

1.3 Spirométrie

La mesure du VEMS et de la CVF a été réalisée par une technicienne du Service d'Exploration Fonctionnelles Pédiatriques à l'aide d'un spiromètre informatisé (Masterscope Erich Jaeger Gmbh, Wuertzburg, Allemagne).

La manœuvre d'expiration forcée était réalisée jusqu'à 5 fois de manière à obtenir la meilleure courbe débit-volume possible. La courbe retenue présentait la plus haute valeur VEMS+CVF ainsi qu'un aspect régulier avec un pic de débit précoce suivi d'une décroissance progressive tout au long de l'expiration [180].

Les valeurs du VEMS, de la CVF et du DEMM étaient exprimées en valeur absolues et en pourcentage de la valeur théorique [98].

1.4 Protocoles

1.4.1 Test de provocation bronchique

1.4.1.1 Provocation bronchique par la méthacholine

La bronchoconstriction était obtenue à l'aide de chlorure d'acétyl-β-méthyl-choline commercialisé sous le nom de chlorure de méthacholine (Laboratoire Allerbio, Varennes, Argonne, France). L'agent pharmacologique était administré, en doses cumulatives à l'aide d'un nébuliseur APS Pro (Erich Jaeger GmbH, Würzburg, Allemagne), selon le schéma suivant : 50, 100, 200, 400, 800 puis 1200 µg. La délivrance de chaque dose était déclenchée par l'inspiration du sujet. Le test était interrompu lorsque Rrs avait augmenté d'au moins 50% par rapport à sa valeur initiale. La PDRrs50 correspondait à la dose permettant d'augmenter Rrs de 50%. Elle était calculée par interpolation à 221 ± 34 µg (36 à 600µg).

1.4.1.2 Provocation bronchique par l'exercice

Ce test consistait en une course libre réalisée à l'extérieur. Il était demandé à l'enfant de courir à son rythme durant 6 min ou jusqu'à perception de symptômes de dyspnée,

d'oppression thoracique ou de toux. Une mesure du VEMS et de Zrs était réalisée en condition de base et 5 min après la fin de l'exercice.

Une réponse positive au test de provocation était identifiée par une réduction du VEMS ≥ 15% ou, lorsque l'enfant était incapable de coopérer à la mesure du VEMS, par une augmentation de 50% de Rrs.

1.4.2 Test de réversibilité

L'étude de réversibilité était réalisée après les mesures de base (étude n°1) ou après test de provocation à l'aide de 2 bouffées de salbutamol (Ventoline ® spray 100 µg), pour les études n° 1 et 3, ou à l'aide de bronchodual ® (Boehringer Ingelheim, Paris, France) contenant un mélange hydrobromide de fénotérol (50 µg) et bromide d'ipatroprium (20 µg) pour l'étude n° 2. Les bronchodilatateurs étaient administrés à l'aide d'une chambre non-électrostatique (Nes-Spacer®, AstraZeneca, Lund, Suède) permettant de synchroniser la délivrance du produit à l'inspiration de l'enfant. Après inspiration complète, il était demandé à l'enfant de retenir son souffle durant 5 s. L'inhalation était réalisée une deuxième fois après quelques secondes de ventilation calme. Zrs et VEMS étaient de nouveau déterminés après 10 min.

1.5 Analyse des données

1.5.1 Paramètres retenus

Le tonus bronchomoteur était évalué par des paramètres issus de la mesure de Zrs à savoir Rrs à l'inspiration (Rrsi) et Xrs sur l'ensemble du cycle respiratoire lors d'une première acquisition dépourvue d'IP, ainsi que sur les paramètres de la spirométrie VEMS, CVF et DEMM. Ces paramètres permettaient de juger de la positivité des tests de provocation et de la réversibilité de l'obstruction après bronchodilatateur.

Rrsi et Xrs étaient ensuite utilisés pour évaluer l'effet d'une IP sur le tonus bronchomoteur. Pour les 3 études, Rrsi et Xrs ont été déterminés sur le même enregistrement avant et après réalisation d'une IP. Pour cela les signaux de débit et de volume étaient d'abord visualisés afin de vérifier leur régularité. Les tracés qui présentaient des épisodes de fermeture

de glotte repérés par une interruption rapide du débit ventilatoire ou des soupirs spontanés du patient étaient éliminés. De même les tracés où l'augmentation du volume courant lors de l'IP n'étaient pas d'au moins le double du volume courant à l'état de base étaient éliminés de l'étude. Pour chacune des trois études, les valeurs issues de Zrs étaient déterminées sur 3 cycles respiratoires avant l'IP (pré-IP) puis sur 3 cycles respiratoires après l'IP (post-IP). Les cycles étaient repérés et sélectionnés par inspection visuelle des signaux de débit et de volume. Le premier cycle ventilatoire situé immédiatement après l'IP était rejeté lorsque l'amplitude du volume courant était insuffisante. La figure 9 illustre les zones utilisées pour ce calcul. Un indice de réversibilité R-IP basé sur la différence des valeurs avant et après IP était calculé pour Rrsi dans chacune des conditions étudiées. Afin de standardiser son calcul il était normalisé par la valeur de Rrsi après bronchodilatateur et avant IP (Rrsi bd). Soit:

$$\text{R-IP} = [\text{Rrsi (pré-IP)} - \text{Rrsi (post-IP)}] / (\text{Rrsi bd}) \qquad (29)$$

R-IP est un indice relatif qui traduit une bronchodilatation lorsqu'il est positif et une bronchoconstriction lorsqu'il est négatif. L'amplitude de la variation de Rrs est rapportée à la valeur estimée la plus proche du tonus bronchomoteur, à savoir Rrsi bd.

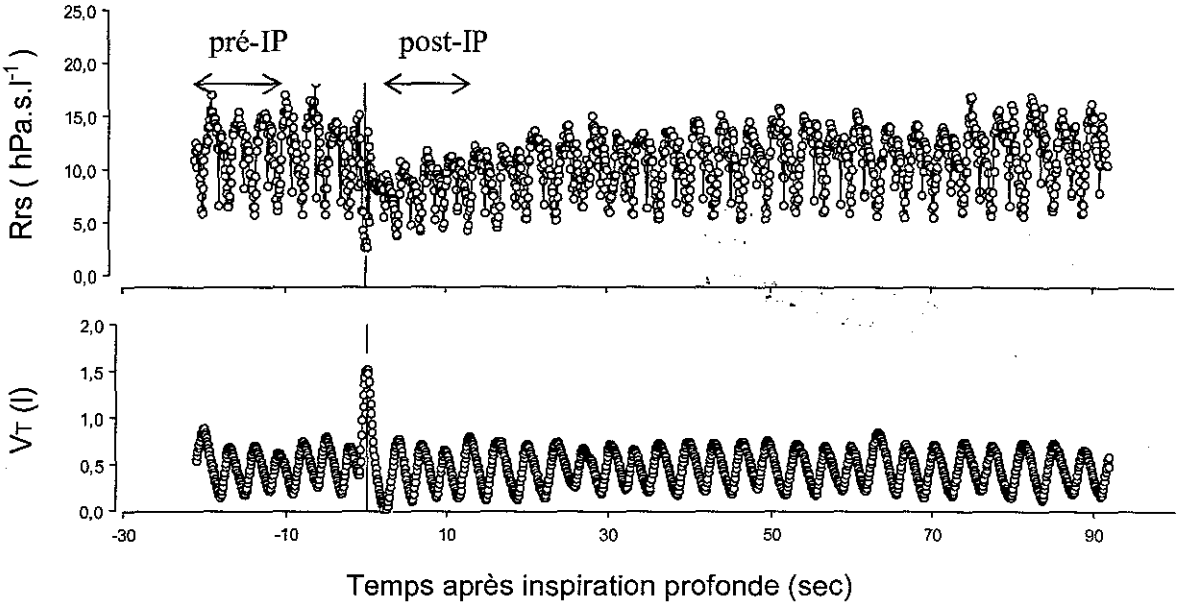


Figure 9 : Zones utilisées pour la détermination des paramètres de la mécanique thoraco-pulmonaire. pré-IP: valeurs avant inspiration profonde, post-IP: valeurs après inspiration profonde. Patient présentant une obstruction induite par l'effort.

Les coefficients k_1, k_2 et k_3 de l'équation 12 ont ensuite été déterminés par régression linéaire multiple uniquement à l'inspiration, sur les périodes pré-IP et post-IP. Les coefficients rapportés sont les coefficients inspiratoires avant et après IP.

1.5.2 Analyse statistique

Afin de juger de l'interaction entre le degré et la nature d'une obstruction bronchique et l'existence d'IP une analyse de variance a été réalisée. Un test t a ensuite été utilisé afin préciser les différences significatives entre les conditions pré et post IP. Une régression linéaire a été réalisée pour préciser la relation entre le degré d'obstruction bronchique et l'indice R-IP.

Toutes les valeurs moyennes sont présentées en tant que moyenne ± ES.

2 Résultats

2.1 Caractéristiques anthropométriques

L'âge des patients était similaire entre les groupes étudiés, excepté un âge discrètement plus élevé pour les patients de l'étude 3. Les âges moyens étaient de 9,1 ± 0,8 pour les patients de l'étude 1, groupe A, 8,8 ± 1,5 pour les patients de l'étude 1, groupe B, 7,3 ± 0,6 pour les patients de l'étude 2 et 9,7 ± 0,8 ($p<0,03$) pour les patients de l'étude 3.

Les données concernant la taille des patients étaient similaires avec une taille discrètement supérieure pour les patients de l'étude 3. Respectivement la taille des patients était de 133 ± 5 cm, 135 ± 7 cm, 125 ± 3cm et 139 ± 3 cm ($p<0,02$).

2.2 Caractéristiques de l'obstruction

2.2.1 Valeurs absolues

Les patients des trois études présentaient tous une augmentation significative du VEMS et du DEMM, ainsi qu'une diminution significative de Rrsi entre la condition d'obstruction et après bronchodilatation (tableau IV, VI et VII). La CVF augmentait également pour tous les groupes étudiés après bronchodilatateur, cependant cette augmentation n'était pas significative pour le groupe B de l'étude 1 (tableau V). Enfin Xrs augmentait entre la condition d'obstruction et la bronchodilatation pour tous les groupes, mais cette n'augmentation n'était pas significative pour les patients du groupe A de l'étude 1. Ce groupe est le seul à avoir une valeur positive de Xrs lors de la condition d'obstruction (tableau VIII).

Dans l'étude 1, les patients du groupe des asthmatiques sévères présentaient un DEMM significativement diminués par rapport aux patients du groupe A (tableau VI). Seule la diminution du DEMM persistait après bronchodilatateur (tableau VI).

Lors des mesures de base faites lors des études 2 et 3, Rrsi était plus élevée par rapport à sa valeur après bronchodilatateur (tableau VII)

Tableau IV: VEMS (l) chez les patients des 3 études dans les conditions de Base, lors de l'obstruction maximum spontanée ou induite et après bronchodilatateur.

	Etude 1				Etude 2		Etude 3	
	n	Groupe A	n	Groupe B	n		n	
Base					14	1,80 ± 0,12 #	14	2,13 ± 0,17
Obstruction	12	1,63 ± 0,14 *	9	1,12 ± 1,18 *§	13	1,38 ± 0,10 *°	14	1,53 ± 0,14 *°
Bronchodilatation	12	1,93 ± 0,17	9	1,59 ± 0,27	13	1,79 ± 0,12	14	2,20 ± 0,15

° $p < 0,001$ Obstruction versus Base
\# $p < 0,05$ Base versus Bronchodilatateur
* $p < 0,003$ Obstruction versus Bronchodilatation
§ $p < 0,04$ Groupe B versus Groupe A

Tableau V: CVF (l) chez les patients des 3 études dans les conditions de Base, lors de l'obstruction maximum spontanée ou induite et après bronchodilatateur.

	Etude 1				Etude 2		Etude 3	
	n	Groupe A	n	Groupe B	n		n	
Base					14	2,03 ± 0,17 #	14	2,13 ± 0,17
Obstruction	12	2,12 ± 0,19 *	9	1,83 ± 0,30	13	1,83 ± 0,17 *°	14	1,53 ± 0,14 *°
Bronchodilatation	12	2,24 ± 0,21	9	2,17 ± 0,40	13	2,00 ± 0,17	14	2,20 ± 0,15

° $p < 0,001$ Obstruction versus Base
\# $p < 0,005$ Base versus Bronchodilatateur
* $p < 0,005$ Obstruction versus Bronchodilatation
§ $p < 0,04$ Groupe B versus Groupe A

Tableau VI: DEMM ($l.s^{-1}$) chez les patients des 3 études dans les conditions de Base, lors de l'obstruction maximum spontanée ou induite et après bronchodilatateur.

	Etude 1				Etude 2		Etude 3	
	n	Groupe A	n	Groupe B	n		n	
Base					14	1,97 ± 0,10	14	1,93 ± 0,20
Obstruction	12	1,25 ± 0,14 *	9	0,59 ± 0,13 *§	13	1,04 ± 0,08 *°	14	1,02 ± 0,12 *°
Bronchodilatation	12	1,91 ± 0,19	9	1,13 ± 0,21 §	13	2,06 ± 0,12	14	2,12 ± 0,17

° p < 0,001 Obstruction versus Base
# p < 0,005 Base versus Bronchodilatateur
* p < 0,005 Obstruction versus Bronchodilatation
§ p < 0,01 Groupe B versus Groupe A

Tableau VII: Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$) chez les patients des 3 études dans les conditions de Base, lors de l'obstruction maximum spontanée ou induite et après bronchodilatateur.

	Etude 1				Etude 2		Etude 3	
	n	Groupe A	n	Groupe B	n		n	
Base					18	9,1 ± 0,6 #	15	8,3 ± 0,5 #
Obstruction	12	10,5 ± 1,2 *	9	12,5 ± 1,6 *	18	15,4 ± 0,8 *°	15	13,8 ± 1,0 *°
Bronchodilatation	12	5,9 ± 0,6	9	6,8 ± 1,0	18	7,6 ± 0,6	15	5,9 ± 0,4

° p < 0,001 Obstruction versus Base
# p < 0,001 Base versus Bronchodilatateur
* p < 0,001 Obstruction versus Bronchodilatation
§ p < 0,001 Groupe B versus Groupe A

Tableau VIII: Xrs ($hPa.s.l^{-1}$) chez les patients des 3 études dans les conditions de Base, lors de l'obstruction maximum spontanée ou induite et après bronchodilatateur.

	Etude 1				Etude 2		Etude 3	
	n	Groupe A	n	Groupe B	n		n	
Base					18	1,4 ± 0,2	15	1,2 ± 0,1
Obstruction	12	0,7 ± 0,4	8	-0,8 ± 0,8 *	18	-1,1 ± 0,4*°	15	-1,1 ± 0,9 *°
Bronchodilatation	12	1,4 ± 0,1	8	0,7 ± 0,2	18	1,5 ± 0,1	15	1,4 ± 0,1

° $p < 0,02$ Obstruction versus Base
\# $p < 0,001$ Base versus Bronchodilatateur
* $p < 0,05$ Obstruction versus Bronchodilatation
§ $p < 0,001$ Groupe B versus Groupe A

2.2.2 Valeurs relatives

Lors de l'obstruction maximale les valeurs du VEMS et de la CVF exprimés en pourcentage de la valeur théorique étaient similaires entre les 3 études. Le VEMS était déterminé respectivement lors des études 1, 2 et 3 à 73,7 ± 3,7 %, 79,3 ± 3,9 % et 70,5 ± 3,9 % (p=0,31), la CVF à 93,0 ± 3,6 %, 92,6 ± 3,7 % et 90,0 ± 4,6 % (p=0,85).

Il n'existait pas non plus de différence entre les valeurs de Rrsi, exprimées en pourcentage de la valeur théorique lors de l'obstruction. A avoir 197,4 ± 14,0 %, 220,1 ± 15,7 % et 252,4 ± 20,2 % (p=0,07).

2.3 Réponse bronchomotrice à l'IP

2.3.1 Dans les conditions de base

Ces données de base concernent les patients étudiés avant un test de provocation bronchique par la méthacholine (étude 2) ou l'exercice (étude 3). Une IP exploitable a été obtenue à la base chez 15 sujets lors de l'étude 2 et chez 12 sujets lors de l'étude 3.

L'effet de l'IP sur le tonus bronchomoteur de base était discret. Il existait une diminution très modérée de Rrsi pour les patients de l'étude 2 ($p<0,03$ mais seulement 0,4 $hPa.s.l^{-1}$) et aucune modification de Rrsi pour les patients de l'étude 3 (tableau IX).

Tableau IX : Résistance thoraco-pulmonaire en inspiration (Rrsi), dans les conditions de base lors des études 2 et 3, avant et après inspiration profonde (respectivement pré et post-IP).

		Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)	
	n	pré-IP	post-IP
Etude 2	15	8,7 ± 0,8	8,3 ± 0,8 ¶
Etude 3	12	6,9 ± 0,5	7,0 ± 0,6

¶ $p < 0,03$ versus pré-IP

L'effet de l'IP sur les coefficients de l'équation 12 dans les conditions de base est rapporté dans les tableaux X a, b et c. L'IP ne modifie pas les coefficients k_1, k_2 et k_3 dans les conditions de base pour les patients des 2 études.

Tableau Xa : Coefficient k_1 en inspiration ($hPa.s.l^{-1}$) dans les conditions de base, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

		k_1 inspiration	
	n	pré-IP	post-IP
Etude 2	15	5,8 ± 0,6	5,4 ± 0,7
Etude 3	12	4,8 ± 0,6	5,0 ± 0,7

Tableau Xb : Coefficient k_2 en inspiration ($hPa.s^2.l^{-2}$) dans les conditions de base, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

		k_2 inspiration	
	n	pré-IP	post-IP
Etude 2	15	10,3 ± 1,2	11,8 ± 1,6
Etude 3	12	8,1 ± 1,9	8,4 ± 0,8

Tableau Xc : Coefficient k_3 en inspiration ($hPa.s.l^{-2}$) dans les conditions de base, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

		k_3 inspiration	
	n	pré-IP	post-IP
Etude 2	15	-3,6 ± 0,8	-2,9 ± 1,5
Etude 3	12	-3,1 ± 0,8	-2,7 ± 0,7

Dans les conditions de base il n'existait aucun effet significatif de l'IP sur Xrs pour les deux groupes de patients (tableau XI).

Tableau XI : Réactance moyenne (Xrs) dans les conditions de base avant et après inspiration profonde (respectivement pré et post-IP).

		Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)	
	n	pré-IP	post-IP
Etude 2	15	1,4 ± 0,3	1,5 ± 0,2
Etude 3	12	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1

2.3.2 Lors d'une obstruction

Les données concernant l'obstruction ont pu être exploitées chez tous les sujets de l'étude 1, hormis pour le calcul des coefficients où seuls 11 patients du groupe A et 8 patients du groupe B ont pu être exploités de façon satisfaisante. Les données obtenues lors d'une obstruction induite étaient exploitables chez les 18 sujets exposés à la méthacholine et chez les 15 sujets présentant une obstruction induite par l'exercice (OIE). La réponse bronchomotrice à l'IP variait suivant la nature et la gravité de l'obstruction.

Lors d'une l'obstruction spontanée (étude 1), les patients à l'obstruction modérée (groupe A), présentaient une diminution de Rrsi après IP de 10,5 ± 1,2 à 9,0 ± 0,9 $hPa.s.l^{-1}$ ($p<0,01$). Un exemple d'enregistrement est présenté sur la figure 10. Les patients du second groupe présentaient une élévation discrète et non significative de Rrsi induite par l'IP, de 12,5 ± 1,6 à 13,0 ± 1,9 $hPa.s.l^{-1}$ ($p=0,37$). La valeur Rrsi post-IP des enfants du groupe B est cependant significativement augmentée par rapport à la valeur de Rrsi post-IP dans le groupe A ($p<0,05$, tableau XII) alors que les valeurs pré-IP n'était pas significativement différentes ($p=0,30$, tableau VII). L'enregistrement d'un patient du groupe B est illustré par la figure 11. A l'inverse il existe une diminution franche de Rrsi après obstruction induite par méthacholine ($p<0,001$, tableau XII) ou par l'exercice ($p<0,001$, tableau XII). Un exemple représentatif des variations de Zrs après méthacholine est donné par la figure 12 et des variations de Zrs en cas d'OIE est donné par la figure 13.

Tableau XII : Résistance inspiratoire (Rrsi) lors d'une obstruction spontanée modérée (étude 1, groupe A) ou sévère (étude 1, groupe B), d'une obstruction induite par la méthacholine (étude 2) ou par l'exercice (étude 3). Valeurs avant et après inspiration profonde (respectivement pré et post-IP).

	Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	10,5 ± 1,2	9,0 ± 0,9 ¶
Etude 1, Groupe B	9	12,5 ± 1,6	13,0 ± 1,9 §
Etude 2	18	15,3 ± 0,9	12,7 ± 0,8¶
Etude 3	15	12,6 ± 0,9	10,7 ± 0,8¶

¶ $p < 0,03$ versus pré-IP

§ $p < 0,05$ versus groupe A

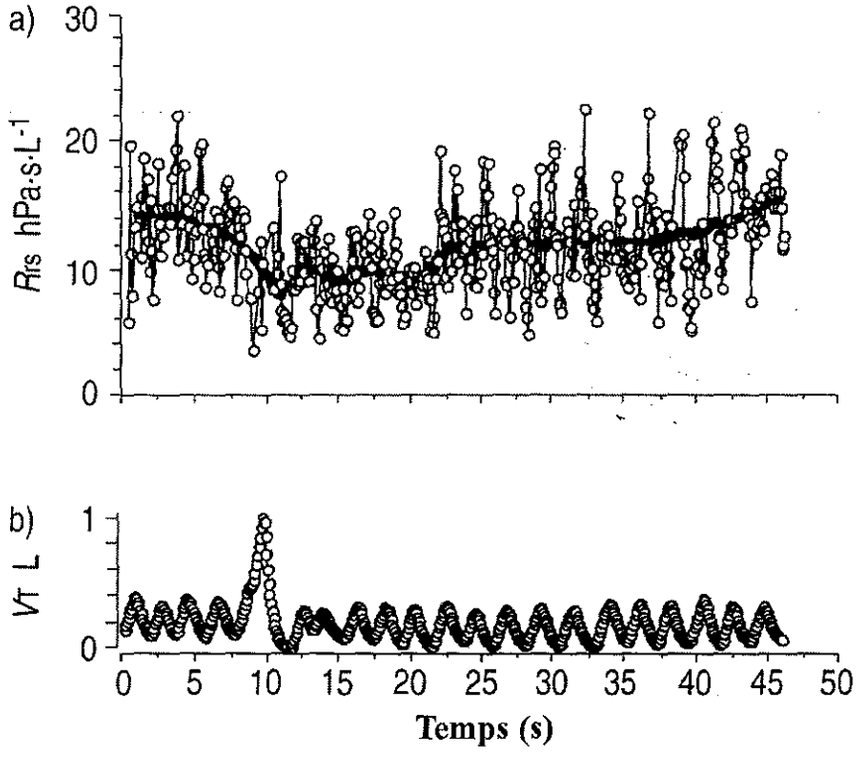


Figure 10: Rrs (tracé supérieur) et volume courant (V_T, tracé inférieur) au cours du temps chez un patient asthmatique modéré (VEMS à 87% de la valeur théorique) lors d'un enregistrement marqué par la réalisation d'une inspiration profonde. Chaque point de la partie supérieure représente un cycle d'oscillation, les différents points sont liés par une ligne continue qui représente les variations instantanées de Rrs au cours du cycle ventilatoire. La ligne continue grasse surajoutée correspond aux variations moyennes de Rrs au cours du temps et met en évidence l'effet bronchodilatateur transitoire de l'inspiration profonde.

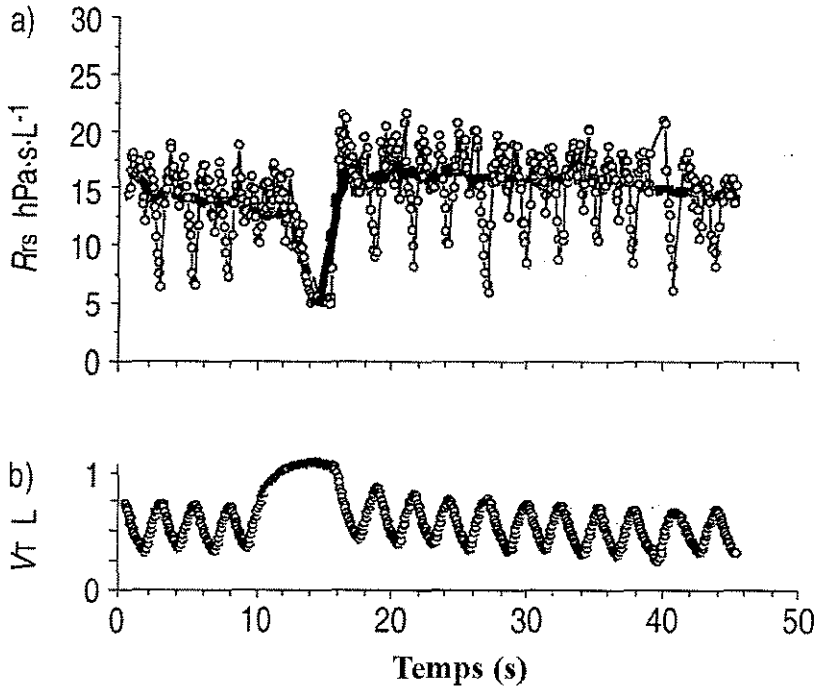


Figure 11: Rrs (tracé supérieur) et volume courant (V_T, tracé inférieur) au cours du temps chez un patient asthmatique grave (VEMS à 34% de la valeur théorique) lors d'un enregistrement marqué par la réalisation d'une inspiration profonde. Chaque point de la partie supérieure représente un cycle d'oscillation, les différents points sont liés par une ligne continue qui représente les variations instantanées de Rrs au cours du cycle ventilatoire. La ligne continue grasse surajoutée correspond aux variations moyennes de Rrs au cours du temps et met en évidence l'effet bronchoconstricteur post- inspiration profonde.

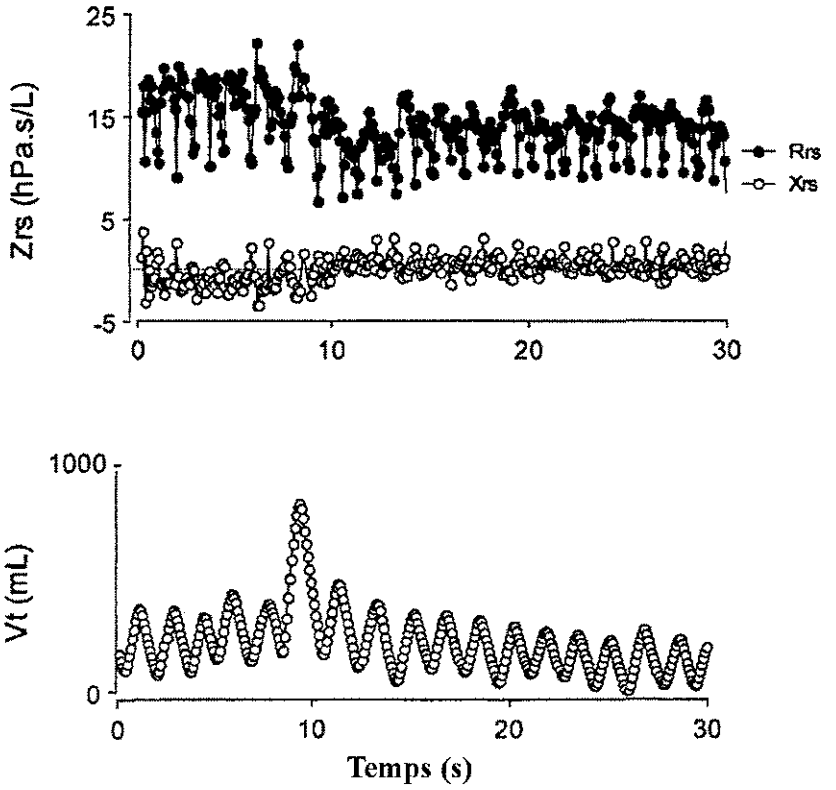


Figure 12: Impédance du système respiratoire (Zrs), en partie supérieure, décomposée en ses parties réelles (Rrs) et imaginaires (Xrs) et volume courant (Vt) en partie inférieure, résolus dans le temps. Illustration de l'effet bronchodilatateur d'une inspiration profonde après inhalation de méthacholine.

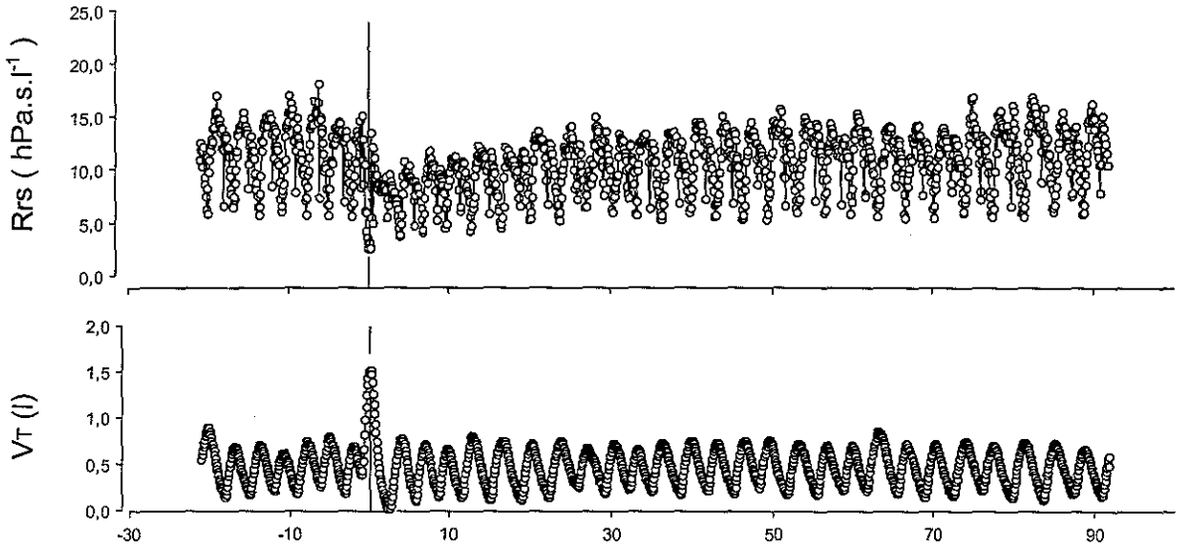


Figure 13 : Résistance du système respiratoire (Rrs), en partie supérieure, résolue dans le temps et associée à la représentation du volume courant (V_T) en partie inférieure. Illustration de l'effet bronchodilatateur d'une inspiration profonde en cas d'obstruction induite par l'effort.

Les variations des coefficients de l'équation 12 après IP sont rapportés dans les tableaux XIII a, b et c. L'IP ne provoque une diminution du coefficient k_1 pour tous les groupes étudiés. Néanmoins cette diminution n'est significative qu'en cas d'obstruction induite par la méthacholine ou l'exercice ($p<0,001$ et $p<0,01$). Le coefficient k_2 augmente significativement après IP dans le groupe des patients spontanément très obstructifs ($p<0,02$). Cette augmentation de k_2 est concomitante de l'augmentation non significative de Rrsi rapportée au tableau XII. Dans tous les autres groupes k_2 n'est pas modifié par l'IP. Il tend à diminuer. Le coefficient k_3 augmente significativement (moins négatif) après IP pour les asthmatiques modérément obstructifs ($p<0,04$) et en cas d'obstruction induite par la méthacholine ($p<0,006$). Il augmente également mais de façon non significative en cas d'OIE ($p=0,09$). En cas d'obstruction spontanée importante le coefficient k_3 n'est pas modifié ($p=0,63$) et tend à augmenter.

Tableau XIIIa : Coefficient k_1 en inspiration ($hPa.s.l^{-1}$) lors d'une obstruction spontanée ou induite, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

	k_1 inspiration		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	11	6,7 ± 1,4	5,8 ± 0,9
Etude 1, Groupe B	8	8,0 ± 0,9	7,2 ± 0,6
Etude 2	18	11,8 ± 0,9	9,1 ± 0,7 ¶
Etude 3	15	9,4 ± 1,4	7,4 ± 1,2 ¶

¶ p <0,01 vs pré-IP

Tableau XIIIb : Coefficient k_2 en inspiration ($hPa.s^2.l^{-2}$) lors d'une obstruction spontanée ou induite, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

	k_2 inspiration		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	11	13,6 ± 2,1	11,2 ± 1,2
Etude 1, Groupe B	8	15,0 ± 3,9	19,6 ± 4,5 ¶
Etude 2	18	18,5 ± 1,4	16,4 ± 1,7
Etude 3	15	13,7 ± 1,9	13,3 ± 2,1

¶ p < 0,02 vs pré-IP

Tableau XIIIc : Coefficient k_3 en inspiration ($hPa.s.l^{-2}$) lors d'une obstruction spontanée ou induite, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

	k_3 inspiration		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	11	-6,4 ± 1,6	-4,6 ± 1,2 ¶
Etude 1, Groupe B	8	-8,1 ± 1,5	-8,5 ± 1,3
Etude 2	18	-11,0 ± 1,2	-7,6 ± 0,9 ¶
Etude 3	15	-8,4 ± 1,8	-6,6 ± 1,5

¶ p<0,04 vs pré-IP

Lors de la présence d'une obstruction bronchique Xrs augmentait significativement après IP uniquement en cas d'obstruction induite par la méthacholine de -1,2 ± 0,5 à 0,2 ± 0,3 $hPa.s.l^{-1}$ ($p<0,001$). L'augmentation de Xrs mise en évidence après IP en cas d'OIE n'était pas significative ($p=0,24$, tableau XIV). En cas d'obstruction spontanée il n'existait pas de modification de Xrs induite par l'IP quelque soit le niveau de l'obstruction bronchique (tableau XIV). Xrs demeurait significativement plus basse dans le groupe B par rapport au groupe A après IP ($p<0,05$).

Tableau XIV : Réactance moyenne (Xrs) lors d'une obstruction spontanée modérée (étude 1, groupe A) ou sévère (étude 1, groupe B), d'une obstruction induite par la méthacholine (étude 2) ou par l'exercice (étude 3). Données avant et après inspiration profonde (respectivement pré et post-IP).

		Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)	
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	0,8 ± 0,4	1,1 ± 0,2
Etude 1, Groupe B	9	-1,0 ± 0,6 §	-0,9 ± 0,8 §
Etude 2	18	-1,2 ± 0,5	0,2 ± 0,3 ¶
Etude 3	15	-1,3 ± 0,9	-0,5 ± 0,9

¶ $p < 0,001$ versus pré-IP § $p < 0,05$ versus groupe A

2.3.3 Après bronchodilatateur

Une IP exploitable a été obtenue chez tous les patients de l'étude 1, chez les 18 patients de l'étude 2 et chez 14 patients pour l'étude 3. Pour le calcul des coefficients de l'équation 12, l'un des sujets du groupe B n'était pas exploitable.

Après administration d'un bronchodilatateur, l'IP ne modifiait Rrsi dans aucun des groupes étudiés (tableau XV).

Tableau XV : Résistance inspiratoire (Rrsi) chez les patients des 3 études après administration d'un bronchodilatateur, avant et après inspiration profonde (respectivement pré et post-IP).

	Rrsi ($hPa.s.l^{-1}$)		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	5,9 ± 0,6	5,7 ± 0,6
Etude 1, Groupe B	9	6,8 ± 1,0	7,0 ± 1,1
Etude 2	18	7,2 ± 0,7	7,3 ± 0,7
Etude 3	14	5,4 ± 0,3	5,2 ± 0,3

L'effet de l'IP sur les coefficients de l'équation 12 après bronchodilatateur est rapporté dans les tableaux XVI a, b et c. Après bronchodilatateur, l'IP ne provoque aucune modification des 3 coefficients quelque soit le groupe de patients étudié.

Tableau XVIa : Coefficient k_1 en inspiration ($hPa.s.l^{-1}$) après bronchodilatateur, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

	k_1 inspiration		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	3,6 ± 0,5	3,7 ± 0,6
Etude 1, Groupe B	8	3,6 ± 0,5	2,9 ± 0,5
Etude 2	18	4,7 ± 0,5	4,6 ± 0,4
Etude 3	14	2,7 ± 0,2	3,0 ± 0,3

Tableau XVIb : Coefficient k_2 en inspiration ($hPa.s^2.l^{-2}$) après bronchodilatateur, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

	k_2 inspiration		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	7,2 ± 1,0	7,1 ± 1,0
Etude 1, Groupe B	8	8,1 ± 2,1	8,1 ± 1,9
Etude 2	18	8,5 ± 0,9	10,6 ± 1,9
Etude 3	14	7,3 ± 0,9	6,3 ± 0,8

Tableau XVIc : Coefficient k_3 en inspiration ($hPa.s.l^{-2}$) après bronchodilatateur, avant (pré-IP) et après (post-IP) inspiration profonde.

	k_3 inspiration		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	-2,3 ± 0,7	-4,8 ± 1,4
Etude 1, Groupe B	8	-3,8 ± 1,3	-0,4 ± 1,4
Etude 2	18	-2,5 ± 0,6	-2,2 ± 0,5
Etude 3	14	-1,1 ± 0,6	-1,0 ± 0,5

Après bronchodilatateur (salbutamol ou bronchodual ®) il n'existait pas d'effet significatif de l'IP sur Xrs quelque soit le groupe de patients concerné (tableau XVII). Similairement à la condition d'obstruction maximale, Xrs était significativement diminuée avant et après IP chez les patients présentant une obstruction spontanée sévère par rapport aux patients asthmatiques modérés ($p<0,05$, tableau XVII).

Tableau XVII : Réactance moyenne (Xrs) après inhalation d'un bronchodilatateur. Données avant et après inspiration profonde (respectivement pré et post-IP).

	Xrs ($hPa.s.l^{-1}$)		
	n	pré-IP	post-IP
Etude 1, Groupe A	12	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1
Etude 1, Groupe B	9	0,8 ± 0,2 §	0,7 ± 0,3 §
Etude 2	18	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,1
Etude 3	14	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1

§ p < 0, 05 versus groupe A

2.4 Analyse synthétique des effets de l'IP sur les 3 études

2.4.1 Effet de l'IP sur l'indice R-IP

Dans les conditions de base l'indice R-IP n'était pas différent entre les patients de l'étude 2 et ceux de l'étude 3. Les valeurs étaient respectivement de 8,1 ± 3,0 % et 2,7 ± 6,9 % (p=0,26).

Dans les conditions d'obstruction spontanée ou induite, R-IP est significativement augmenté par rapport à la condition bronchodilatateur (Anova p<0,0001). Néanmoins l'analyse post-hoc par le test PLSD de Fisher met en évidence une différence de réaction au décours de l'IP du groupe des patients présentant une obstruction spontanée sévère (p<0,03). Ce groupe de patients diffère des 3 autres groupes en présentant un indice R-IP modérément négatif à -2,4 ± 7,6 % (augmentation de Rrsi). Les autres sujets présentent un indice positif, témoin d'une bronchodilatation post-IP à 22,9 ± 6,9 %, 39,1 ± 5,6 % et 40,6 ± 8,6 % respectivement pour les patients du groupe A, les patients exposés à la méthacholine et les patients présentant une OIE. Les indices de ces 3 groupes ne sont pas différents.

Après bronchodilatateur les indices ne diffèrent pas entre les 4 groupes étudiés (p=0,80).

Les données sont rapportées sur la figure 14.

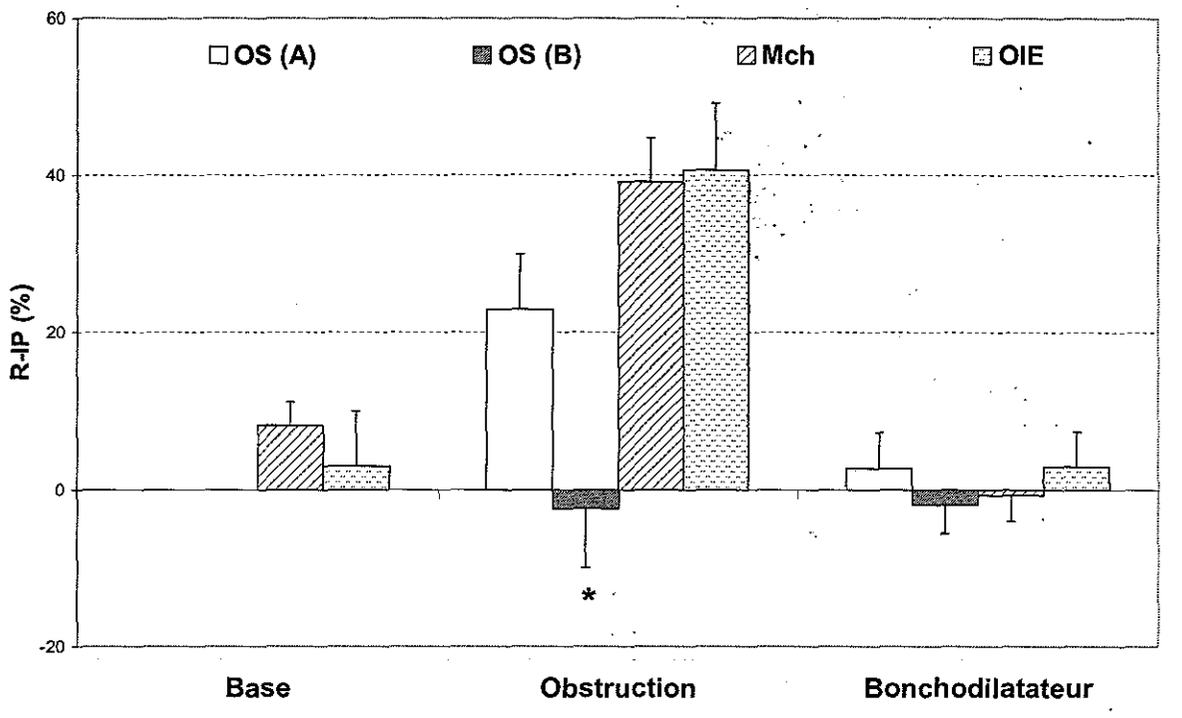


Figure 14: Indice de réversibilité après inspiration profonde (R-IP) lors des conditions de base, après obstruction spontanée ou induite et après bronchodilatateur. 4 groupes sont considérés pour l'analyse: les obstructifs spontanés modérés (OS(A)), les obstructifs spontanés sévères (OS(B)), les patients chez qui l'obstruction est induite par la méthacholine (Mch) et par l'effort (OIE). La condition obstruction diffère de la condition bronchodilatateur (Anova, p<0,0001) et dans cette condition le groupe OS(B) est différent des 3 autres (p<0,03). Il n'y a pas de différence dans les conditions de base et après bronchodilatateur.

2.4.2 Relation entre l'indice R-IP et le degré d'obstruction

Les données combinées de l'indice R-IP et de la spirométrie lors de la situation d'obstruction maximale étaient disponibles chez 48 patients (respectivement 21, 13 et 14 sujets pour les études 1, 2 et 3).

Toutes natures d'obstruction confondues, il existait une relation positive entre la valeur du VEMS, exprimée en pourcentage de la valeur théorique (VEMSm) et l'indice R-IP (p<0,01, figure 15).

En fonction de la nature de l'obstruction, la relation était significative pour les patients de l'étude 1 avec R-IP = 0,70*VEMSm –39,5 ($p<0,04$), mais la régression n'était pas significative sur pour les patients de l'étude 2 et de l'étude 3. Respectivement les équations de régression étaient R-IP = 0,95*VEMSm –37,6 ($p=0,10$) et R-IP = 0,67*VEMSm – 8,5 ($p=0,31$). Lorsque les patients des 2 études où l'obstruction était induite étaient réunis la régression s'écrivait R-IP = 0,68*VEMSm –12,7 ($p=0,10$).

Cette relation commune aux trois situations d'obstruction exprime le fait que l'obstruction soit d'autant plus réversible que le VEMS est proche de la normalité. Néanmoins l'indice R-IP n'est négatif que pour les patients spontanément obstructifs à l'obstruction sévère. Dans les deux cas d'obstruction induite R-IP reste positif.

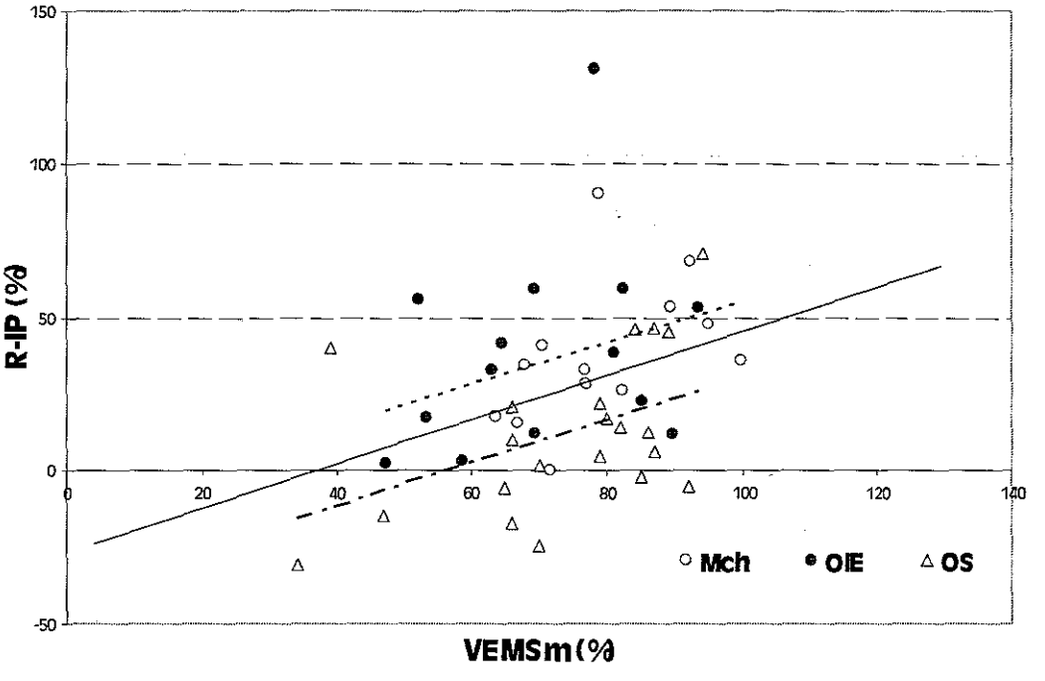


Figure 15: Indice de réversibilité de l'obstruction au décours de l'inspiration profonde (R-IP) selon le degré d'obstruction bronchique évalué par le VEMS en pourcentage de la valeur théorique (VEMSm). La ligne continue représente la corrélation entre R-IP et VEMSm sur l'ensemble de la population ($p<0,01$). La ligne pointillée et la ligne tirets-pointillés représentent respectivement la relation pour les patients chez qui l'obstruction a été induite par la méthacholine (Mch) ou l'exercice (OIE) et les patients spontanément obstructifs (OS).

L'indice R-IP, le VEMSm et le DEMMm (DEMMm lors de l'obstruction maximale) sont similaires chez les patients des études 2 et 3 permettant leur regroupement en un groupe

de patients à l'obstruction induite par rapport à l'obstruction spontanée des patients de l'étude 1. Les valeurs de R-IP, VEMSm et DEMMm sont respectivement de 38,6 ± 9,0 % et 37,8 ± 6,5 % (p = 0,95), 70,5 ± 3,9 % et 79,3 ± 3,2 % (p = 0,10) et 47,9 ± 5,1 % et 38,3 ± 3,2 % (p = 0,12). L'analyse groupée des patients à l'obstruction induite par rapport aux patients à l'obstruction spontanée met en évidence une réversibilité plus importante de l'obstruction chez les patients à l'obstruction induite pour un degré d'obstruction similaire. L'indice R-IP était respectivement évalué à 38,2 ± 5,5 % et 12,1 ± 5,7 % (p<0,002) alors que VEMSm et le DEMMm étaient similaires chez les patients à l'obstruction spontanée et les patients à l'obstruction induite, à savoir 74,7 ± 2,7 % et 73,7 ± 3,7 % (p=0,81) et 42,9 ± 3,1 % et 40,6 ± 4,0 % (p = 0,64).

3 Discussion

3.1 Méthodologie de l'étude du tonus bronchomoteur par les oscillations forcées

La méthode de détermination de Zrs par oscillations forcées utilisée pour chacune des études précédentes est particulièrement adaptée. En effet, la méthode usuelle des boucles débit-volume partielles et maximales utilisée par la plupart des études chez l'adulte [11, 24, 51, 68, 96, 103, 156, 159, 198, 203, 218, 224, 226] présente certains inconvénients. Tout d'abord, elle est peu applicable chez le jeune enfant en raisons de la difficulté de réaliser la manœuvre [119]. Ensuite elle ne permet qu'une description ponctuelle du tonus bronchomoteur. La méthode des oscillations forcées utilisée selon le mode mono-fréquentiel permet à l'inverse de décrire Zrs sur un grand nombre de cycles respiratoires spontanés mais aussi lors de la ventilation assistée [66, 169, 217]. La mécanique thoraco-pulmonaire peut ainsi être décrite avant, pendant et après une IP sans aucune coopération active. Par ailleurs, et contrairement aux manœuvres d'expiration forcées, les oscillations de pression appliquées aux voies respiratoires sont connues pour ne pas modifier le tonus bronchomoteur dans la gamme d'amplitude de pression utilisée (entre 0,1 – 0,3 kPa) [169].

Il existe néanmoins des inconvénients à la méthodologie. Il existe des artéfacts liés à la paroi des voies aériennes supérieures et aux fermetures de glottes dont s'affranchissent les mesures spirométriques. En effet lors de la manœuvre d'expiration forcée la glotte est largement ouverte et il n'existe pas de limitation de débit à ce niveau [18, 130, 229]. Lors de la mesure de Zrs par oscillations forcées l'impédance des voies aériennes supérieures est mesurée simultanément à celle des voies aériennes basses. Il existe des artéfacts liés à cette détermination simultanée.

En premier lieu l'artéfact dit "des voies aériennes supérieures". La gamme d'oscillation utilisée devant être significativement supérieure à la fréquence ventilatoire spontanée (un rapport de 1 à 10) il est nécessaire d'utiliser pour l'exploration fonctionnelle pédiatrique une fréquence d'excitation élevée [146]. Les études précédemment réalisées par notre équipe ont révélé un bon compromis pour une fréquence d'excitation de 12 Hz quand à la description et la reproductibilité de Rrs et Xrs [16, 125]. Il résulte néanmoins de l'utilisation de fréquences élevées une augmentation de l'artéfact "des voies aériennes supérieures" lié majoritairement à la vibration des joues [163, 166, 170]. Cet artéfact est particulièrement important chez l'enfant chez lequel l'impédance des voies aériennes supérieures est proche des valeurs adultes alors que Zrs est plus élevé. Le débit à l'origine des vibrations va alors gagner préférentiellement les voies aériennes supérieures très compliantes sans pénétrer les voies aériennes basses. Il s'en suit habituellement une sous-estimation de Rrs. Ceci est particulièrement vrai chez les enfants les plus jeunes et les sujets présentant une obstruction car Zrs est plus élevé [27]. Il existe une façon simple de minimiser cet artéfact. Il s'agit de tenir les joues avec les mains, ce qui permet de doubler leur impédance [132]. Pour nos études nous avons minimisé l'artéfact grâce à l'utilisation de la technique du heaume [163] expliquée au chapitre 3.2.3.2 disponible sur l'appareil Pulmosfor®.

Les fermetures de glotte constituent le second artéfact issu des voies aériennes supérieures lors de la ventilation spontanée. Deux types de perturbations existent, d'une part des épisodes de fermeture de glotte et d'autre part des phénomènes de limitation du débit expiratoire.

Les épisodes de fermeture de glotte se manifestent par des variations subites de Rrs accompagnée d'interruption du débit ventilatoire. Rrs augmente ou diminue parfois très largement au-delà du domaine habituel (souvent au-delà de 50 ou 100 $hPa.s.l^{-1}$) sans relation aux variations physiologiques. Ces épisodes correspondent à des fermetures réflexes de la glotte en particulier lorsque l'enfant déglutit. Les variations subites de Rrs modifient

sensiblement la valeur moyenne de Rrs et Xrs sur un enregistrement de quelques dizaines de secondes mais surtout perturbent de façon importante la modélisation des variations de Rrs avec le débit et le volume. L'écart des données au modèle crée par régression linéaire est majoré de façon importante par les données aberrantes de Rrs [197]. Le filtrage de ces artéfacts a fait l'objet de la mise au point d'un algorithme informatique de filtrage des signaux [197]. Il s'est avéré que le meilleur compromis pour éliminer les épisodes de fermeture de glotte et ainsi de réduire l'écart des données au modèle de variation de Rrs, tout en préservant les variations physiologiques de Rrs avec le débit et le volume (k_2 et k_3), est un filtre statistique éliminant les valeurs de Zrs en dehors de l'intervalle de confiance de 99% à la moyenne de Zrs. Cette exclusion statistique à 3 déviations standard est répétée 3 fois de suite. Les procédures utilisant un niveau de filtre plus élevé diminuent la valeur absolue des coefficients k_2 et k_3 au profit de k_1. Les figures 16a et 16b en donnent un exemple dans des conditions de base et après méthacholine.

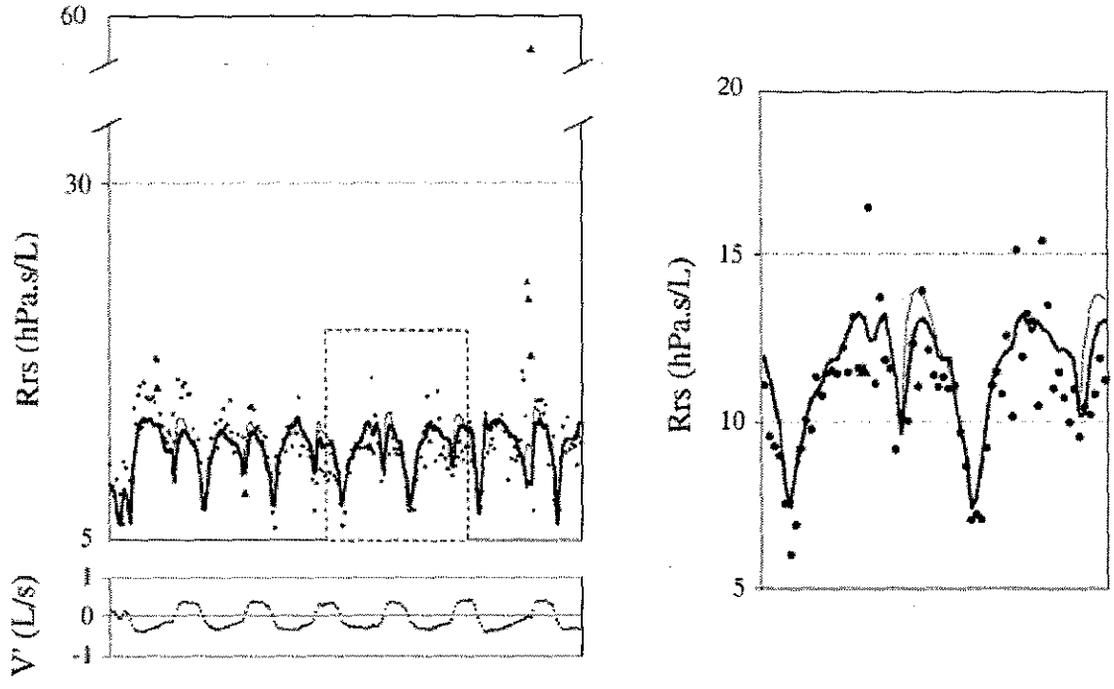


Figure 16a: Résistance du système respiratoire (Rrs) et débit ventilatoire (V') en ventilation spontanée dans les conditions de base. Les triangles représentent les données éliminées par le filtre statistique à 3 déviations standard retenu. Les lignes continues grasses et fines représentent respectivement la description des variations de Rrs selon le modèle décrit par l'équation 12, avec ou sans filtre à 3 déviations standard.

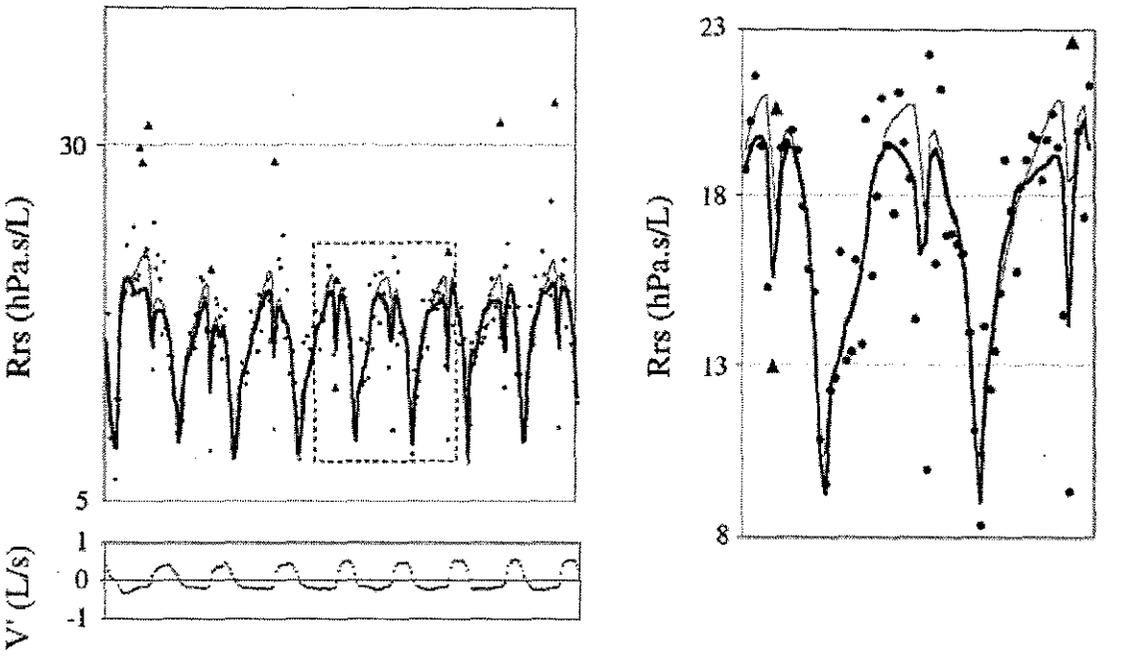


Figure 16b: Résistance du système respiratoire (Rrs) et débit ventilatoire (V') en ventilation spontanée après inhalation de méthacholine. Les symboles utilisés sont similaires à ceux de la figure 16a.

Cette technique de filtrage donne de bons résultats dans les conditions de base et après bronchoconstriction, néanmoins elle est, par nature, peu adaptée à la mise en évidence de variations physiologiques subites et importantes de Rrs qu'elle peut effacer des fichiers. Son utilisation pour étudier les variations de Rrs après IP peut s'avérer délicate et nécessite un contrôle visuel des fichiers avant calcul des différents paramètres. Une technique basée sur la forme du signal de débit a été récemment développée [122] et permettra pour des études ultérieures d'éliminer les artéfacts liés aux fermeture de la glotte tout en respectant les variations physiologiques de Rrs et les variations de Rrs liées à la réalisation d'IP.

En ventilation spontanée, la résistance des voies aériennes supérieures varie au cours du cycle respiratoire [167], selon le degré de bronchoconstriction [20, 207], ainsi qu'en réponse à certaines manœuvres comme une IP [199]. Lors d'un cycle respiratoire normal, la glotte s'ouvre un peu avant le début de l'inspiration sous l'effet des muscles dilatateurs et se rétrécit au cours de l'expiration [8, 18, 81]. Ces mouvements diminuent la résistance des voies aériennes supérieures à l'inspiration et exercent un frein à l'expiration qui permet de prévenir le collapsus des voies aériennes de fin d'expiration. La réduction de la filière glottique entraîne une augmentation de Rrse. Ce phénomène est fréquemment rapporté [16, 28, 66, 145,

171, 217]. Parallèlement Higgenbottam montre que lors de tests de provocation à l'histamine [81], un réflexe dont les mécanismes ne sont pas identifiés provoque une réduction du calibre de la glotte en inspiration et en expiration en relation au degré de bronchoconstriction. Dans le même domaine England montre chez 6 sujets normaux [49] que lors d'une respiration calme ou du halètement, la bronchoconstriction provoquée par l'histamine ou la méthacholine s'accompagne d'une diminution du diamètre de la glotte manifeste en expiration. Cette augmentation paradoxale des résistances laryngées pourrait ainsi contribuer au maintien d'une hyper-inflation qui minimise la réduction du diamètre des voies aériennes inférieures lors d'une bronchoconstriction. Elle mime une variation de Rrs avec le volume [67]. Ainsi, les voies aériennes supérieures offrent des conditions d'écoulement très différentes à l'inspiration et à l'expiration, justifiant le calcul de deux jeux de coefficients lors de la modélisation de Rrs et explique pourquoi notre intérêt s'est porté lors de ces études sur la valeur inspiratoire de Rrs et des coefficients, plus représentatifs de l'obstruction des voies aériennes inférieures que Rrse.

Même si la détermination de Rrs à partir de mesures d'impédance à fréquence élevée reflète mieux les résistances des voies aériennes basses [75, 146], la participation obligatoire des voies aériennes supérieures à la détermination de Rrs pose la question de l'origine exacte des variations de Rrs après IP. Le calcul des coefficients de l'équation 12 apporte à ce sujet des éclaircissements. L'intérêt réside dans la possibilité de distinguer les effets de l'IP sur les composantes laminaires (k_1), turbulentes (k_2) et lié au volume (k_3) de Rrs. Les composantes k_1 et k_3 sont réputées être plus spécifiques des voies aériennes intra-thoraciques [105, 120] alors que la composante k_2 est plus représentative des voies aériennes où l'écoulement est turbulent, à savoir la glotte et les grosses voies aériennes [186]. Le coefficient k_2 n'est modifié significativement par l'IP que pour les patients présentant une obstruction spontanée sévère. Dans ce groupe il augmente alors qu'il présente une tendance à diminuer dans les autres groupes. Cette augmentation est cohérente avec les données de Sekizawa [199] qui retrouvait au décours de l'IP une augmentation des résistances laryngées lors de la présence d'une bronchoconstriction sévère chez des patients asthmatiques adultes et une diminution des résistances laryngées dans un groupe de patients asthmatiques modérés. Néanmoins les auteurs mettent en évidence une augmentation des résistances laryngées au décours d'une IP en cas l'obstruction induite par la méthacholine alors que dans cette condition de l'étude 2, le coefficient k_2 n'est pas modifié.

Une augmentation significative du calibre glottique (zone des turbulences les plus importantes) au décours d'une l'IP aurait engendré une diminution de k_2 au minimum similaire à la diminution de k_1. Cette composante laminaire diminue pour les études 2 et 3, reflétant une augmentation du calibre des voies aériennes basses. Le coefficient k_3 qui augmente pour les obstructifs modérés et en cas d'obstruction induite par la méthacholine témoigne d'une implication des voies aériennes intra-thoraciques dans la réponse à l'IP. Les variations de Rrs avec le volume courant au cours de la ventilation sont en effet représentatives de la mécanique des voies aériennes dont le calibre est modifié lors du cycle ventilatoire, à savoir les voies aériennes intra-thoraciques conductrices. Cela est particulièrement vrai en inspiration, car la réduction du calibre de la glotte en expiration parallèle au volume courant peut simuler une dépendance vis-à-vis du volume. Certains modèles ont même tenté de considérer un grand nombre de coefficients k_2 au cours de l'expiration, chacun correspondant à un diamètre glottique [8] pour corriger cet artéfact. D'autres études mesurant simultanément la résistance des voies aériennes supérieures et inférieures ont pu montrer que la dépendance artéfactuelle au volume de Rrs issu des mouvements de la glotte était négligeable à l'inspiration [105]. Dans la même étude les auteurs ont révélé que la réactance des voies aériennes supérieures n'était pas modifiée de façon significative lors de la provocation par la méthacholine. Les modifications de Rrs et Xrs induites par l'IP doivent donc être attribuées à des modifications du calibre des voies aériennes intra-thoraciques, bronchodilatation ou bronchoconstriction.

3.2 Origine des variations du tonus bronchomoteur induits par l'IP

Il est intéressant de relever que les IP ont été réalisées à des degrés d'obstruction bronchique similaires lors des 3 études. Malgré cette similitude des niveaux de Rrsi il existe une différence fondamentale de réaction au décours d'une IP entre l'étude 1 et les études 2 et 3. Dans le cas des enfants spontanément obstructifs la réaction à l'IP est une bronchoconstriction (pour le groupe des enfants les plus obstructifs) alors que l'IP est suivie d'une bronchodilatation significative lors des obstructions induites. De même l'IP entraîne une bronchodilatation lors d'une obstruction spontanée modérée. Plusieurs hypothèses peuvent alors être évoquées pour expliquer ces différences qui ont trait à la nature même de l'obstruction.

3.2.1 Les hypothèses mécaniques

Chez le nourrisson, les tests de provocation par la méthacholine utilisant afin de déterminer des débits expirés 3 hyperinflations (par applications successives d'une pression positive de 20 cm H_2O) déterminent la même HRB que les tests réalisés à la CRF [77, 78]. Cette observation vient en opposition à la notion de bronchoprotection décrite chez l'adulte [198, 203]. Cette absence d'effet de l'IP sur le tonus bronchomoteur chez les nourrissons évoque la possibilité que chez le nourrisson, et peut être chez l'enfant, l'effet d'une IP sur le tonus bronchomoteur peut être atténuée. Il pourrait être atténué du fait de l'augmentation simultanée de l'hystérésis des voies aériennes, d'un petit nombre d'alvéoles, limitant ainsi les forces de traction sur les parois bronchiques et/ou d'un développement encore insuffisant du tissus élastique pulmonaire [41]. Ces caractéristiques expliquent par ailleurs que le poumon néonatal présente, à l'inverse de la cage thoracique, une compliance basse [52, 53, 117, 135].

Les études que nous présentons dans ce travail, ainsi qu'une étude antérieure par Milanese [133] mettent en évidence qu'à la période pré-scolaire et scolaire les enfants présentent le même type de réponse à l'IP que les adultes.

3.2.1.1 L'hystérésis relatif

La méthacholine comme le carbachol, analogues stables de l'acétyl-choline sont à l'origine d'une bronchoconstriction par stimulation des récepteurs muscariniques [10]. Au niveau du poumon humain ces récepteurs sont de trois types M1, M2 et M3 [34]. Les récepteurs impliqués dans la réponse sont différents selon la voie d'administration de la méthacholine, en perfusion intraveineuse (récepteurs M3) ou en aérosol (récepteurs M1) [174]. La contraction du muscle lisse bronchique sous l'effet du carbachol entraîne une augmentation de l'hystérésis des voies aériennes lié à la modification de l'hystérésis du muscle lisse bronchique [196]. En accord avec la théorie de Froeb et Mead [60], il peut alors exister une bronchodilatation au décours d'une IP. Néanmoins cette augmentation de l'hystérésis des voies aériennes doit alors être isolée ou du moins ne pas être compensée par une

augmentation similaire de l'hystérésis du parenchyme pulmonaire. Cette augmentation d'hystérésis du parenchyme peut se manifester à la suite d'une contraction des tissus, d'une perte d'élasticité, d'une hyperinflation pulmonaire ou de l'apparition d'une inhomogénéité au sein du parenchyme pulmonaire. Pellegrino et coll [160] mettaient en évidence que l'inhalation complémentaire d'histamine après inhalation de méthacholine, n'entraînait pas de bronchoconstriction supplémentaire, mais faisait disparaître la bronchodilatation au décours de l'IP. Cet effet était rapporté à une augmentation de l'hystérésis du parenchyme pulmonaire, hystérésis qui augmente précocement après l'inhalation d'histamine [76]. Il est décrit un effet de la méthacholine et de l'histamine sur le parenchyme pulmonaire [107, 187, 213]. Cet effet est médié en grande partie par les récepteurs M1 [205] retrouvés sur les parois alvéolaires [115]. La baisse de Xrs lors d'un test de provocation bronchique est entre autre attribué à ce phénomène [16]. La contribution relative du parenchyme pulmonaire à la résistance pulmonaire est variable selon les auteurs et les techniques utilisées pour leur détermination. Elle pourrait constituer de 2 à 40% de la résistance pulmonaire chez l'homme dans des conditions de base selon les études et les techniques utilisées [7, 88, 95, 97, 126, 212]. L'augmentation de Rrs au cours d'un test de provocation par la méthacholine est lié à l'augmentation de la résistance des voies aériennes [95] mais aussi pour certains à l'augmentation de la résistance tissulaire sous l'effet de la méthacholine [173]. A 12 Hz la contribution de la résistance tissulaire à Rrs est cependant faible [74, 75, 172]. Il est probable que l'hystérésis du parenchyme pulmonaire ne soit que faiblement augmenté lors du test de provocation par la méthacholine.

L'origine évoquée de la bronchoconstriction induite par l'exercice est celle d'une action combinée du refroidissement des voies aériennes et de leur dessiccation suite à l'augmentation de la ventilation lors de l'exercice. Refroidissement et dessiccation aboutissent d'une part à des phénomènes réflexes de contraction des fibres musculaires lisses et d'autre part à une libération de médiateurs à action bronchoconstrictrice, dont les leucotriènes, par les cellules inflammatoires [3, 26, 94, 201]. Il existe peu de données dans la littérature concernant les modifications relatives de l'hystérésis des voies aériennes et du parenchyme pulmonaire dans le contexte d'un asthme à l'exercice. De même l'effet d'une IP au décours d'une OIE n'a pas été rapporté antérieurement. L'effet bronchodilatateur de l'IP dans l'OIE plaide pour un mécanisme similaire à celui d'une obstruction induite par la méthacholine à savoir une augmentation de l'hystérésis des voies aériennes non équilibrée par l'augmentation simultanée de l'hystérésis du parenchyme pulmonaire.

Alors que les deux situations précédentes d'obstruction aiguë étaient caractérisées par l'existence d'une bronchodilatation au décours d'une IP, la situation de l'obstruction chronique présentée par les patients de l'étude n°1 s'avère radicalement différente. Seuls les patients du groupe A présentent une bronchodilatation significative. Rrsi n'est pas modifiée dans le groupe B et l'inverse les enfants tendent à présenter une bronchoconstriction. Pour que l'hypothèse de l'hystérésis relatif se vérifie dans notre population pédiatrique il conviendrait donc que l'hystérésis accru des voies aériennes soit, dans la situation d'une obstruction chronique, compensé par un accroissement de l'hystérésis du parenchyme pulmonaire. Ceci se retrouve dans le cas d'une hyperinflation [157] ou peut être lié à la contraction des voies aériennes les plus distales [23] ou à l'inhomogénéité des territoires alvéolaires.

L'existence d'un hystérésis parenchymateux relativement plus élevée chez les sujets les plus jeunes, et éventuellement chez les nourrissons n'est cependant pas à écarter. Les sujets présentés par Milanese [133] étaient tous d'âge pré-scolaire alors que les sujets de l'étude n°2 étaient des enfants d'âge scolaire et pré-scolaire. Ils présentaient une bronchodilatation après méthacholine, mais également une bronchoconstriction modérée après inhalation d'un bronchodilatateur. Nos sujets ne présentaient aucune bronchoconstriction après bronchodilatateur, laissant ouverte l'idée de l'existence d'un hystérésis parenchymateux plus élevé chez les sujets les plus jeunes.

3.2.1.2 L'interdépendance parenchyme-voies aériennes

Certains ont évoqué la possibilité d'une modification des propriétés de l'interface entre voies aériennes et parenchyme pulmonaire pour expliquer les différences de réaction au décours d'une IP entre une obstruction aiguë induite et une obstruction chronique spontanée [110, 158]. Dans le cas extrême où l'interdépendance serait nulle, une IP n'aurait alors aucun effet de traction sur les voies aériennes et Rrs ne serrait pas modifié au décours d'une IP. Cette hypothèse pourrait expliquer l'absence de modification du tonus bronchomoteur après IP chez les nouveau-nés retrouvé par Hayden [77] par analogie à la diminution de l'interdépendance parenchyme-voies aériennes mise en évidence entre animaux adultes et animaux âgés [140]. Cette diminution de l'interdépendance peut également expliquer l'absence de modification des facteurs k_1 et k_3 après IP chez les patients du groupe B de l'étude 1. Néanmoins la diminution de l'interaction expliquerait mal la bronchoconstriction mise en évidence dans l'étude n°1 et

après bronchodilatateur par Milanese [133]. De plus une diminution de Rrs évidente durant l'IP sur la figure 11, témoigne de l'existence réelle d'une traction du parenchyme sur son interface avec les voies aériennes.

3.2.2 Les autres hypothèses

Les phénomènes bronchomoteurs au décours d'une IP, présentent une constante de temps de plusieures secondes (voir fig 11, 12 et 13). Nous n'avons pas établi avec précision la demi-vie des variations de Rrs. Elles semblent durer, similairement aux études chez l'adulte entre 10 et 15 secondes, parfois jusqu'à une minute [151, 159]. Ces réponses prolongées, ainsi que l'effet bronchoprotecteur des IP ne peuvent pas être expliquées uniquement par la mécanique.

Des réflexes d'origine vagale sont impliqués dans le contrôle du tonus bronchomoteur. Chez les patients asthmatiques adultes l'inhalation d'atropine conduit à une diminution de la bronchoconstriction induite par l'IP [68]. La bronchoconstriction n'est cependant pas abolie par l'atropine dans le cadre l'une exposition allergénique [51]. Hida [80] insistait plutôt sur le rôle bronchodilatateur des réflexes chez le sujet normal et bronchoconstricteur chez le patient asthmatique, après avoir anesthésié les récepteurs pulmonaires par inhalation de lignocaine. En effet les récepteurs à adaptation lente sont réputés avoir une action bronchodilatatrice [222]. La décharge de ces récepteurs est conditionnée par la pression transpulmonaire mais aussi par la vitesse d'augmentation de cette pression (dp/dt) chez l'animal adulte ou immature [192-194]. Or Hida [80] retrouvait effectivement un effet bronchodilatateur plus important d'une IP rapide, que d'une IP lente, en accord avec une décharge accrue des récepteurs à adaptation lente. Similairement chez l'asthmatique une IP rapide provoque une bronchoconstriction plus importante qu'une IP lente, en accord avec une décharge accrue des récepteurs à adaptation rapide, qui ne sont sensibles qu'au dp/dt [54, 194] et dont l'action est réputée bronchodilatatrice [222]. Il n'existe pas d'étude pédiatrique similaire, néanmoins l'action de certains réflexes d'origine pulmonaire est réputée plus puissante chez l'enfant et le nouveau-né que chez l'adulte. Il s'agit par exemple du réflexe de Hering-Breuer [79], très puissant chez le nouveau-né [35, 117] et dont le bras afférent est constitué par les récepteurs à adaptation lente. Par analogie avec ce réflexe, les réflexes bronchomoteurs d'origine vagale

pourraient jouer un rôle plus important sur les réponses bronchomotrices à l'IP chez l'enfant que chez l'adulte.

Chez l'asthmatique, l'existence d'une inflammation péribronchique [1, 30, 100, 128, 176, 179, 211] laisse supposer une activité accrue des récepteurs irritants et des fibres C [101]. Or ces fibres sont à l'origine de réflexes vagaux bronchoconstricteurs [55, 184]. L'implication de la mise en jeu de ces réflexes dans la réaction bronchoconstrictrice de l'adulte ou de l'enfant asthmatique n'est pas établie.

Le rôle de médiateurs locaux potentiellement à l'origine d'une relaxation du muscle lisse, et donc d'une bronchodilatation, comme les produits de la cyclo-oxygénase ou le monoxyde d'azote n'est pas établi. Ces médiateurs sont libérés suite à une distension des voies aériennes [9, 61-63]. Fairshter [50] ne retrouvait pas de modification de réponse à l'IP chez des adultes sains après inhibition de la cyclo-oxygénase. Le monoxyde d'azote est un neuromédiateur du système nerveux non-adrénergique et non-cholinergique dont l'activité physiologique est bronchodilatatrice [181]. Il n'existe aucune donnée pédiatrique.

Fredberg et al proposent une théorie, malheureusement encore incomplète [57]. Il s'agit d'une hypothèse basée sur la micromécanique de la cellule musculaire lisse [87] confirmée par des mesures expérimentales. Les auteurs mettent en évidence qu'un hystérésis important est lié à l'existence de liaisons à renouvellement rapide entre les filaments d'actine et de myosine, alors que l'existence de liaisons à renouvellement lent avec phénomène de loquet se traduit par un hystérésis plus bas. Le muscle lisse d'un patient asthmatique présente des liaisons actine-myosine à renouvellement lent. Ils présentent un muscle "gelé" [56, 58]. Fredberg conclu alors que les réponses bronchoconstrictives des patients asthmatiques ne sont pas surprenantes, les muscles lisses des voies aériennes possédant un hystérésis bas. Par contre il laisse la question ouverte concernant les mécanismes de l'obstruction induite en disant "Comment le muscle lisse des sujets sains et des asthmatiques modérés chez qui une obstruction maximum a été induite évite-t-il le phénomène de loquet?".

Les singularités de la réponse des voies aériennes au décours de l'IP en fonction de la nature de l'obstruction des voies aériennes permettent d'envisager l'utilisation de l'IP pour explorer les mécanismes de l'obstruction en routine chez l'enfant asthmatique [59]. La standardisation de la méthode est cependant nécessaire avant un usage quotidien. Une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la réponse des voies aériennes à l'IP est également nécessaire avant de passer à cette nouvelle étape. C'est pourquoi dans la seconde partie de notre travail nous proposons un modèle animal permettant l'étude des effets de l'IP in-vivo sur animal anesthésié. Ce modèle utilise le rat Brown Norway (BN), connu pour sa particularité à développer des sensibilisations allergiques et les oscillations forcées sur le mode mono-fréquentiel.

Effets de l'inspiration profonde chez le rat

1 Matériel et méthodes

1.1 Préparation des animaux

Trente et un rats (205-208g) de la souche BN ont été répartis en 2 groupes, l'un comportant des animaux sensibilisés par l'ovalbumine (Ova), l'autre des animaux témoins (Ctr). Le premier groupe était constitué de 15 rats (239 ± 5 g) et le second de 16 (245 ± 5 g). Les animaux du groupe Ova étaient sensibilisés à l'ovalbumine à l'aide de 3 injections intra-péritonéales d'un mélange de 1 mg d'ovalbumine (Sigma, St Louis, MO, USA) avec 3,5 mg d'hydroxyde d'aluminium dilués dans 1 ml de sérum salé à 9‰. Au jour de la première injection (J0), les rats étaient âgés de 5 semaines. Les injections suivantes étaient réalisées à J5 et J21. Le jour précédent la mesure (J28), les animaux du groupe Ova étaient exposés à un aérosol de 4 mg d'ovalbumine, ceux du groupe Ctr à un aérosol de sérum salé à 9‰.

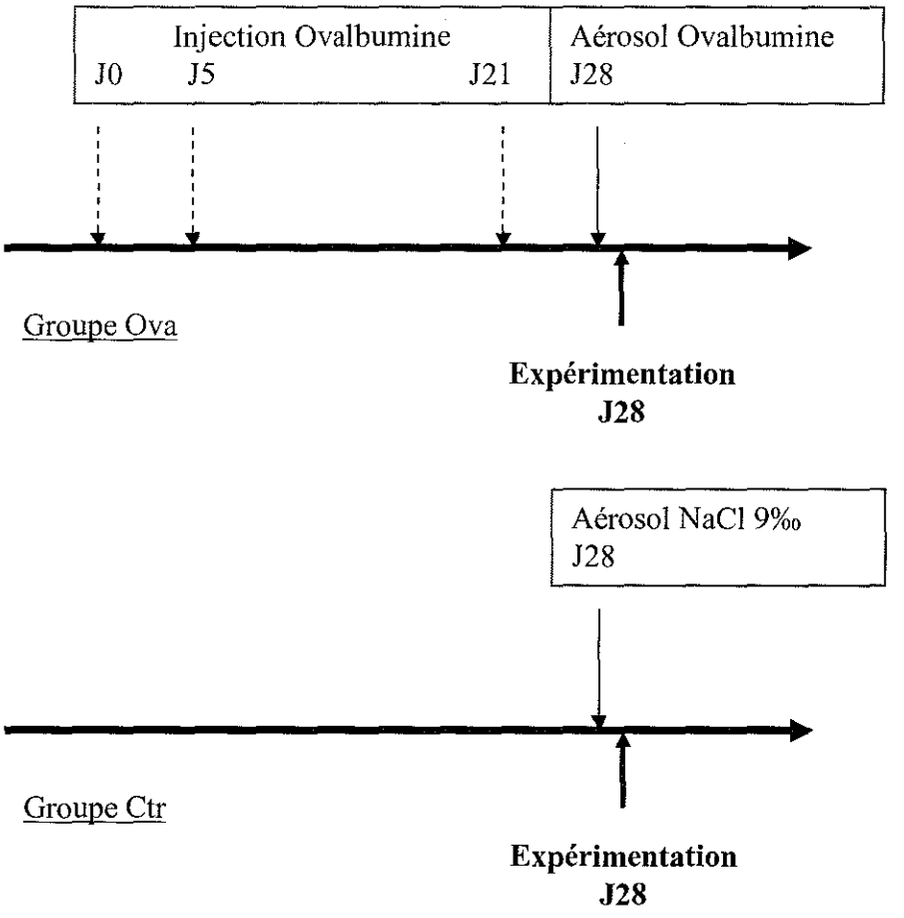


Figure 17: Représentation schématique du protocole expérimental.

Les rats étaient anesthésiés par une injection intra-péritonéale d'uréthane (1,3 $g.kg^{-1}$, Fluka, Bluchs, Suisse). Ils étaient couchés sur le dos après endormissement et trachéostomisés à l'aide d'une canule en acier fabriquée pour la procédure (longueur 26mm, diamètre interne 2mm). La résistance de la canule était de 21,4 $hPa.s^{-1}.l^{-1}$, la réactance de 15,1 $hPa.s^{-1}.l^{-1}$. Le choix de l'acier permettait un alésage maximum afin d'obtenir un diamètre interne aussi important que possible par rapport au diamètre de la trachée et diminuer ainsi au maximum la résistance de la canule. Les rats étaient connectés à un respirateur pour petits animaux (Harvard, Rodent Ventilator, Model 683) ajusté à une fréquence respiratoire de 80 $c.min^{-1}$ et à un volume courant de 10 $ml.kg^{-1}$. Ils étaient alors paralysés par une injection intra-péritonéale de bromure de pancuronium (Pavulon®, Organon SA, Eragny sur Epte, France). Le tuyau expiratoire du respirateur était immergé afin d'exercer une pression positive expiratoire de 1 cm d'eau. Sur ce circuit expiratoire une vanne à 3 voies permettait la réalisation des IP. Au niveau de la voie inspiratoire un raccord en Y connecté à une cuve de nébulisation pneumatique (Intersugical) permettait de réaliser des aérosols de méthacholine ou de sérum salé.

1.2 Mesures d'impédance respiratoire

Les mesures de Zrs étaient réalisées par la méthode des oscillations forcées. La source d'oscillation était un haut-parleur (ZR4009A, Bouyer, Montauban, France) connecté à au circuit inspiratoire du respirateur. L'impédance du haut-parleur était suffisamment élevée pour résister aux pics de pression générés par le respirateur et ne pas interférer avec la ventilation des animaux. La pression transrespiratoire était mesurée au niveau proximal de la canule de trachéostomie à l'aide d'un capteur de pression différentiel (± 35 hPa, Micro 176PC14HD2, Honeywell, Scarborough, Ontario, Canada). Le débit ventilatoire était mesuré à l'aide d'un pneumotachographe de Fleisch n°00 placé à l'issue de la canule de trachéostomie et connecté à un capteur de pression différentiel identique au précédent. Le pneumotachographe était chauffé à 37°C afin d'éviter la condensation. Les capteurs de pression présentaient une variation d'amplitude inférieure à 1% et un déphasage inférieur à 2° jusqu'à 32Hz. Le taux de réjection en mode commun du pneumotachographe était de 60 dB à 30Hz. Un signal d'oscillation sinusoïdal à 20 Hz était utilisé pour la mesure. Il était généré par un ordinateur IBM compatible (DSoft Informatique, Richarmenil, France) équipé avec une carte de conversion analogique-numérique 12 bits (PC-Lab, digimétrie, Perpignan, France). Les

signaux de pression et débit étaient filtrés par un filtre passe bas à 32Hz, puis numérisés à la fréquence de 320 Hz.

Le même ordinateur utilisé pour générer la sinusoïde d'excitation était utilisé pour l'analyse des données. Les signaux étaient analysés cycle à cycle, générant donc 20 mesures de Zrs par seconde. En premier lieu la composante liée à la ventilation des animaux était éliminée [46], puis les coefficients de Fourier des signaux étaient calculés et combinés pour obtenir Rrs et Xrs [132]. Au final les données étaient corrigées pour la constante de temps du pneumotachographe (2,1 ms) et pour l'impédance de la canule de trachéostomie. Un nouvel algorithme décrit récemment [122] fut utilisé pour obtenir des données exemptes d'artéfacts [123]. Les valeurs aberrantes étaient exclues sur la base de la distorsion du signal par rapport à la sinusoïde d'excitation initiale. Après filtrage les données étaient enregistrées sur le disque dur de l'ordinateur en fichier texte résolu dans le temps.

1.3 Protocole de mesure

L'acquisition de la mécanique ventilatoire était réalisée pour chaque rat durant 300 s dans les conditions de base (Base), après aérosol de sérum salé à 9‰ (NaCl) et après inhalation de doses croissantes de méthacholine (Laboratoire Allerbio, Varennes, Argonne, France). La méthacholine était diluée dans du sérum salé isotonique et administrée durant 5 min à concentrations croissantes de 5, 10 et 20 $mg.l^{-1}$ (respectivement Mch 5, 10 et 20). La condition NaCl était prise comme référence du test de provocation.

Les groupes Ova et Ctr étaient sous-divisés en 2. Un sous-groupe de rats était exposé lors de la mesure à 2 IP espacées d'environs 100 s (groupes $Ctr_{(IP)}$ et $Ova_{(IP)}$) et l'autre non (groupes $Ctr_{(0)}$ et $Ova_{(0)}$). Les IP étaient réalisées en clampant la ligne expiratoire du respirateur durant plusieurs cycles ventilatoires afin d'atteindre une pression trachéale d'environs 30hPa. A la fin des mesures les animaux étaient euthanasiés par une surdose de pentobarbital (Pentothal, Ceva Santé Animale, Libourne, France). Le thorax était alors ouvert par une section sternale et les poumons extraits pour l'analyse histologique.

1.4 Analyse des données

Mécanique respiratoire - Seules deux valeurs de Rrs et Xrs par cycle ventilatoire furent conservées pour l'analyse, l'une à l'inspiration (Rrsi et Xrsi), l'autre à l'expiration (Rrse et Xrse). Pour cela les variations de Zrs avec le débit furent éliminées en ne considérant que les valeurs dites à "débit nul", c'est à dire à en fin d'inspiration et d'expiration. Les variations de Rrs avec le débit sont donc éliminées pour l'analyse, alors que les variations avec le volume sont conservées.

Sur chaque enregistrement 4 zones différentes étaient définies "manuellement" afin de juger l'effet des IP (fig 18). Chaque zone incluait une dizaine de cycles respiratoires pour la détermination des valeurs moyennes de Rrs et Xrs. Z1 définissait la zone préalable à la première IP, Z2 la zone juste après la première IP en éliminant toujours le cycle situé immédiatement après l'IP. Z3 et Z4 représentaient les valeurs similaires avant et après la seconde IP. Pour les groupes de rats témoins les zones étaient choisies à des intervalles de temps similaires aux enregistrements avec IP. L'effet de l'IP sur le tonus bronchomoteur était évalué à partir des rapports de Rrs et Xrs entre les différentes zones. $Rrsi_{2/1}$ et $Xrsi_{2/1}$ estimaient l'effet de la première IP, $Rrsi_{4/2}$ et $Xrsi_{4/2}$ estimaient l'effet de la seconde.

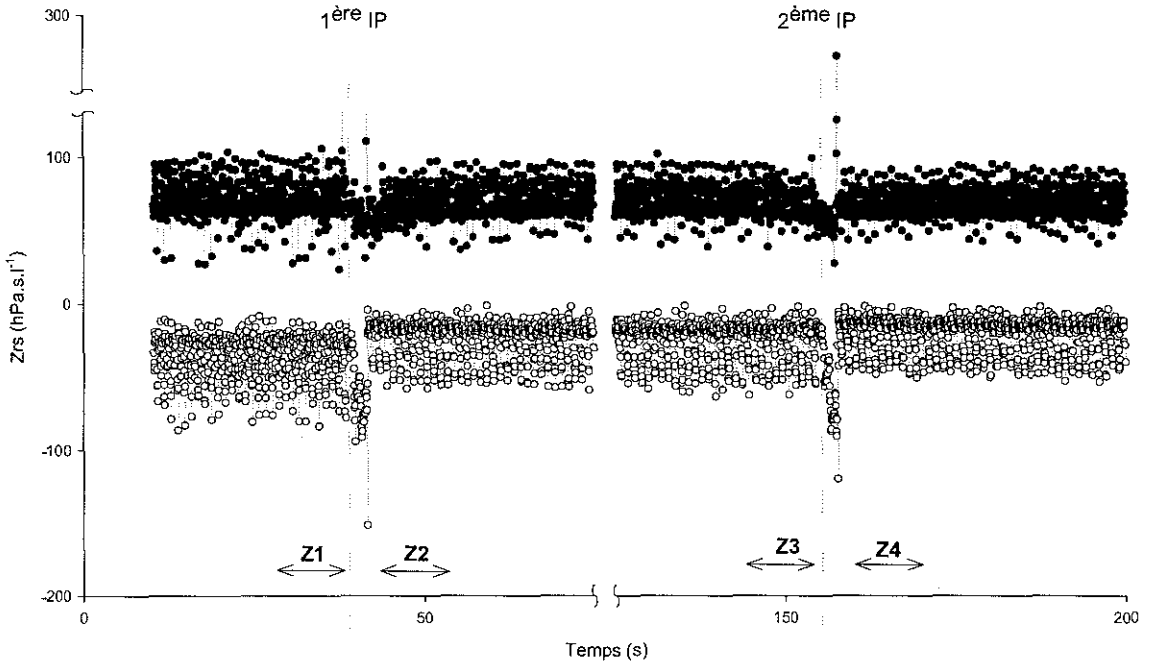


Figure 18: Enregistrement de l'impédance thoraco-pulmonaire (Zrs) dans les conditions de base avec réalisation de 2 inspirations profondes (IP). Les zones de mesures Z1, Z2, Z3 et Z4 illustrent les périodes durant lesquelles les valeurs moyennes de Rrs (points noirs) et Xrs (points blancs) ont été calculées afin d'étudier le tonus bronchomoteur et les effets de l'IP sur ce tonus.

Les valeurs inspiratoires étaient utilisées en premier lieu pour estimer la mécanique thoraco-pulmonaire. Les valeurs expiratoires n'étaient utilisées que pour le calcul des différences inspiration-expiration. La concentration de méthacholine nécessaire à augmenter Rrsi de 50% et à diminuer Xrsi de 50% ($PC50_{Rrsi}$ et $PC50_{Xrsi}$) était obtenue par extrapolation de la courbe dose-réponse obtenue lors du test de provocation. La différence inspiration-expiration concernant Rrs et Xrs était calculée pour chacun des groupes de rats et dans chacune des conditions du test de provocation. Elles étaient appelées respectivement ΔRrs (Rrsi-Rrse) et ΔXrs (Xrsi-Xrse).

Histologie - Une analyse histologique était réalisée selon un score inspiré d'une description précédente [5]. Chacun des items suivants étaient estimés entre 0 et 3 par le même opérateur: œdème alvéolaire, atélectasies, intégrité de l'épithélium, infiltration cellulaire

(proximale et distale), infiltration granulocytaire, lymphoïde, éosinophilique et mastocytaire. Un score global pour chaque animal était obtenu en additionnant les scores des différents items.

Analyse statistique – La réponse au test de provocation par la méthacholine était estimée par une analyse de variance avec mesures répétées selon les différentes conditions du test de provocation. Les groupes Ova et Ctr constituaient une variable groupe. Les différences individuelles étaient identifiées par un test t. Une analyse de variance était utilisée pour l'étude des scores histologiques. Toutes les valeurs moyennes sont présentées en tant que moyenne ± ES.

2 Résultats

2.1 Mécanique thoraco-pulmonaire

2.1.1 A l'état de base

Dans la condition de base, en Z1, il n'existait pas de différentes entre les groupes Ova et Ctr. Respectivement Rrsi était estimée à 55,2 ± 3,2 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$ et 51,4 ± 2,5 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$ (p=0,86) et Xrsi à - 28,8 ± 3,2 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$ et - 27,3 ± 2,0 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$ (p=0,82).

Après provocation par le NaCl à 9‰, Rrsi augmentait significativement (Anova p<0,01) à 60,3 ± 4,2 (n=16) pour le groupe Ova et à 59,9 ± 3,3 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$ (n=14) pour le groupe Ctr. Xrsi n'était pas modifiée de façon significative dans la condition NaCl (Anova p=0,33). Pour les groupes Ova et Ctr, Xrsi était de - 28,7 ± 3,6 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$ et de - 23,6 ± 2,8 $hPas.l^{-1}.s^{-1}$.

2.1.2 Réponse à la méthacholine

Rrsi augmentait de NaCl à Mch20 (Anova p<0,001), respectivement pour les groupes $Ctr_{(0)}$, $Ctr_{(IP)}$, $Ova_{(0)}$, et $Ova_{(IP)}$ de 41,2 ± 15,3 % (n=5), 57,0 ± 11,9 % (n=6), 61,5 ± 18,4 % (n=4) et 31,7 ± 10,5 % (n=8). Xrsi diminuait (plus négatif) pour les animaux chez lesquels les IP n'avaient pas été réalisées, respectivement pour les groupes $Ctr_{(0)}$ et $Ova_{(0)}$ de -91,5 ± 21,2 % et -125,7 ± 38,4 %, mais ne se modifiait pas de façon significative dans les groupes où des IP avaient été réalisées ($Ctr_{(IP)}$ -30,2 ± 9,3 % et $Ova_{(IP)}$ -11,3 ± 8,4 %). Globalement l'effet des IP était significatif sur Xrsi (Anova p<0,001) (fig 19, partie B). L'augmentation de Rrsi n'était ni altéré par la sensibilisation des rats (Anova p=0,44), ni par la réalisation d'IP (Anova p=0,59) (fig 19, partie A). Il n'existait pas de différence pour Xrsi entre les animaux sensibilisés et non-sensibilisés (Anova p=0,69).

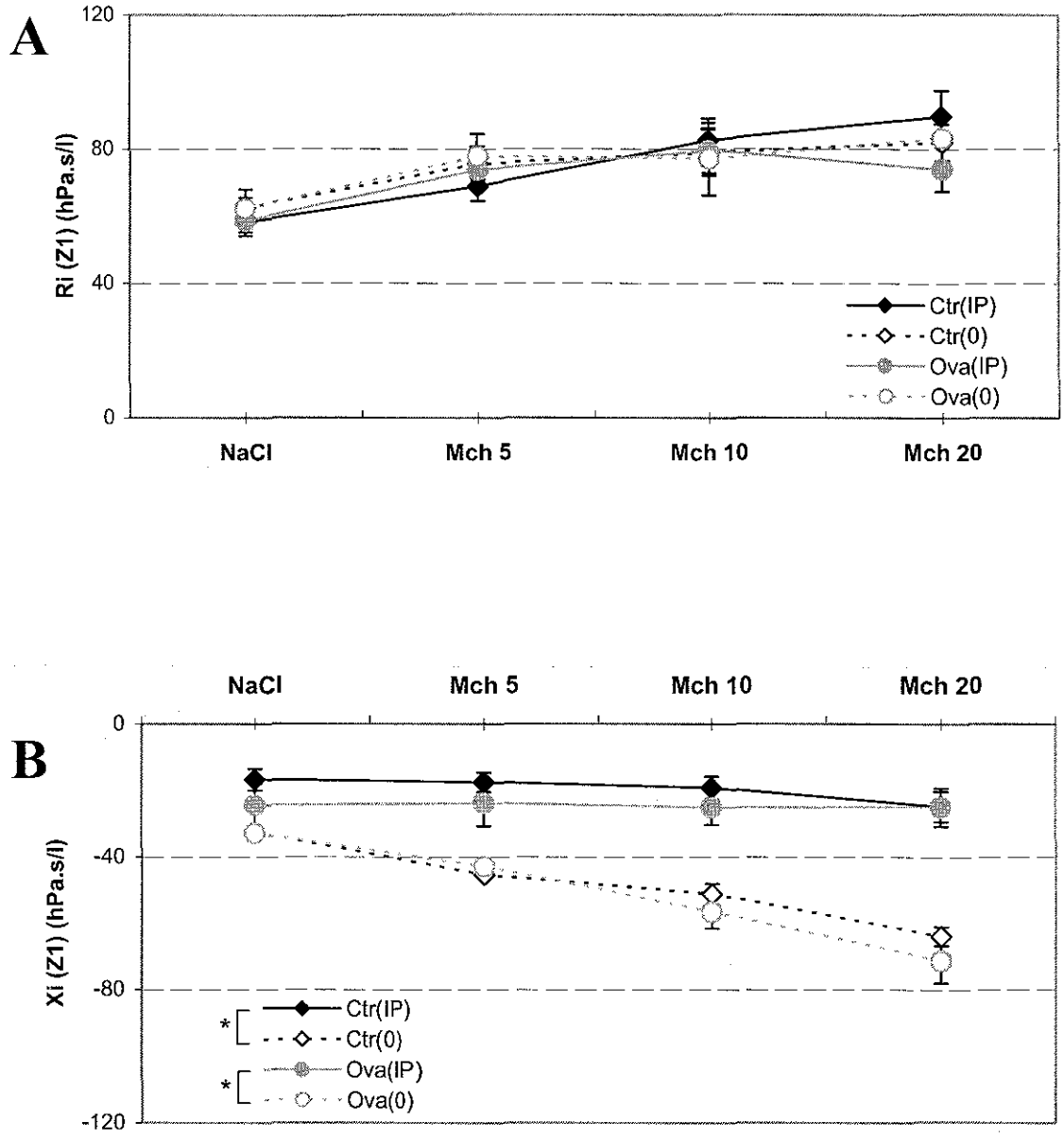


Figure 19: Courbe dose-réponse de la résistance thoraco-pulmonaire inspiratoire (Rrsi, partie A) et de la réactance thoraco-pulmonaire inspiratoire (Xrsi, partie B) lors du test de provocation par la méthacholine. $Ctr_{(0)}$ et $Ova_{(0)}$: groupe des animaux témoins et sensibilisés sans d'inspiration profonde; $Ctr_{(IP)}$ et $Ova_{(IP)}$: groupe des animaux témoins et sensibilisés avec d'inspiration profonde. * $p < 0,001$.

$PC50_{Rrsi}$ et $PC50_{Xrsi}$ n'étaient pas différents entre les groupes $Ctr_{(IP)}$ et $Ova_{(IP)}$ (p=0,58 et p=0,15). De même il n'existait pas de différence entre les groupes $Ctr_{(0)}$ et $Ova_{(0)}$ (p=0,69 et p=0,49). Néanmoins, l'analyse de variance révélait une diminution significative de la

réactivité bronchique à la méthacholine par l'IP (fig 20). $PC50_{Xrsi}$ était significativement diminuée ($p<0,02$) alors qu'il n'existait pas de différence concernant $PC50_{Rrsi}$ ($p=0,38$). Cet effet de l'IP était lié à une diminution importante de $PC50_{Xrsi}$ entre les groupes $Ova_{(0)}$ et $Ova_{(IP)}$ (fig 20, $p<0,01$).

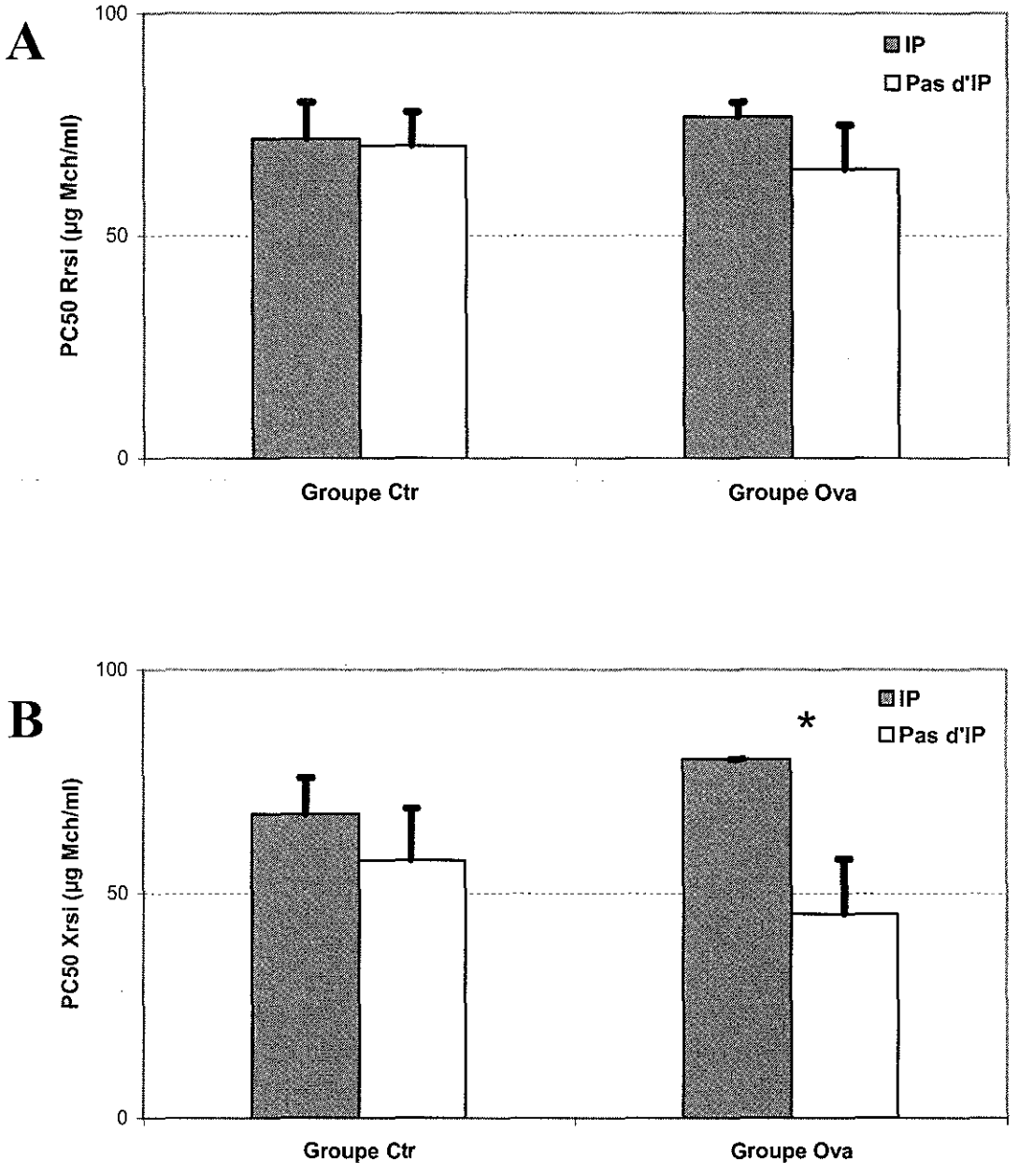


Figure 20: Concentration de méthacholine nécessaire à l'augmentation de 50% de la résistance thoraco-pulmonaire inspiratoire ($PC50_{Rrsi}$, partie A) et à la diminution de 50% de la réactance thoraco-pulmonaire inspiratoire ($PC50_{Xrsi}$, partie B). Abréviations similaires à la figure 19. * $p<0,01$.

2.1.3 Effet des IP sur le tonus bronchomoteur

Au décours de la première IP, Rrsi diminuait modérément ($Rrsi_{2/1}$<1) pour Mch10 et Mch20 (p<0,04 et p<0,003). Aucune différence n'était mise en évidence entre les groupes Ova et Ctr (Anova, p=0,60). La seconde IP n'était suivie par aucune modification significative de Rrsi (Anova, p=0,31). Les données sont illustrées sur la figure 21.

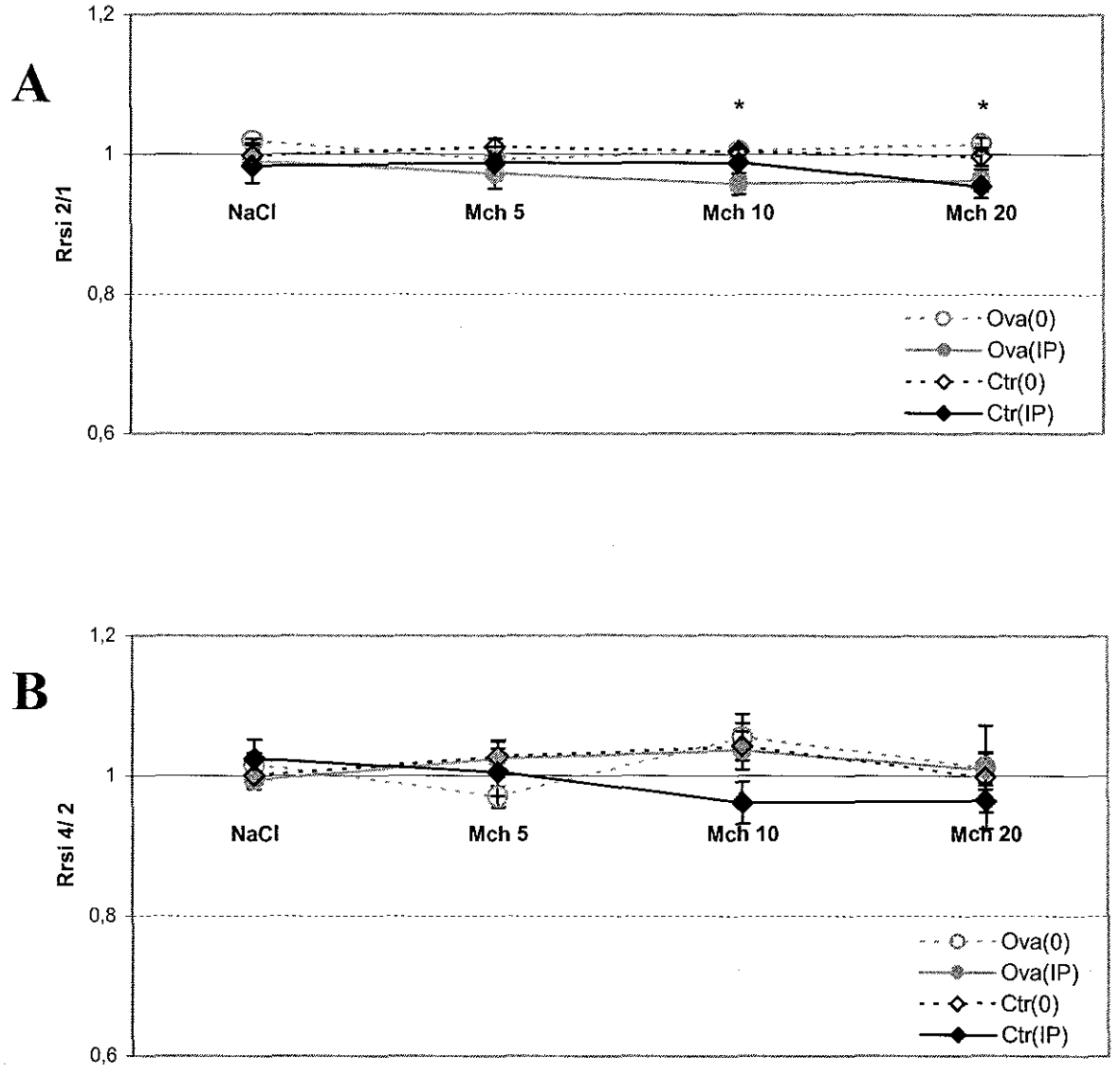


Figure 21: Rapport des résistances thoraco-pulmonaire inspiratoire (Rrsi) mesurées avant et après la première inspiration profonde ($Rrsi_{2/1}$, partie A) puis après la seconde inspiration profonde ($Rrsi_{4/2}$, partie B) lors du test de provocation bronchique par la méthacholine. Abréviations similaires à la fig 19. * p<0,05.

Il existait a contrario une augmentation significative de Xrsi ($p<0,001$) au décours de la première IP (Xrsi(Z2) moins négatif que Xrsi(Z1)) dans toutes les conditions du test à la méthacholine (fig 22). Après la seconde IP, Xrsi diminuait modérément mais significativement dans les groupes $Ctr_{(IP)}$ et $Ova_{(IP)}$ pour les conditions Mch5, Mch10 et Mch20 ($p<0,003$). Il n'existait pas de différence entre les groupes Ova et Ctr.

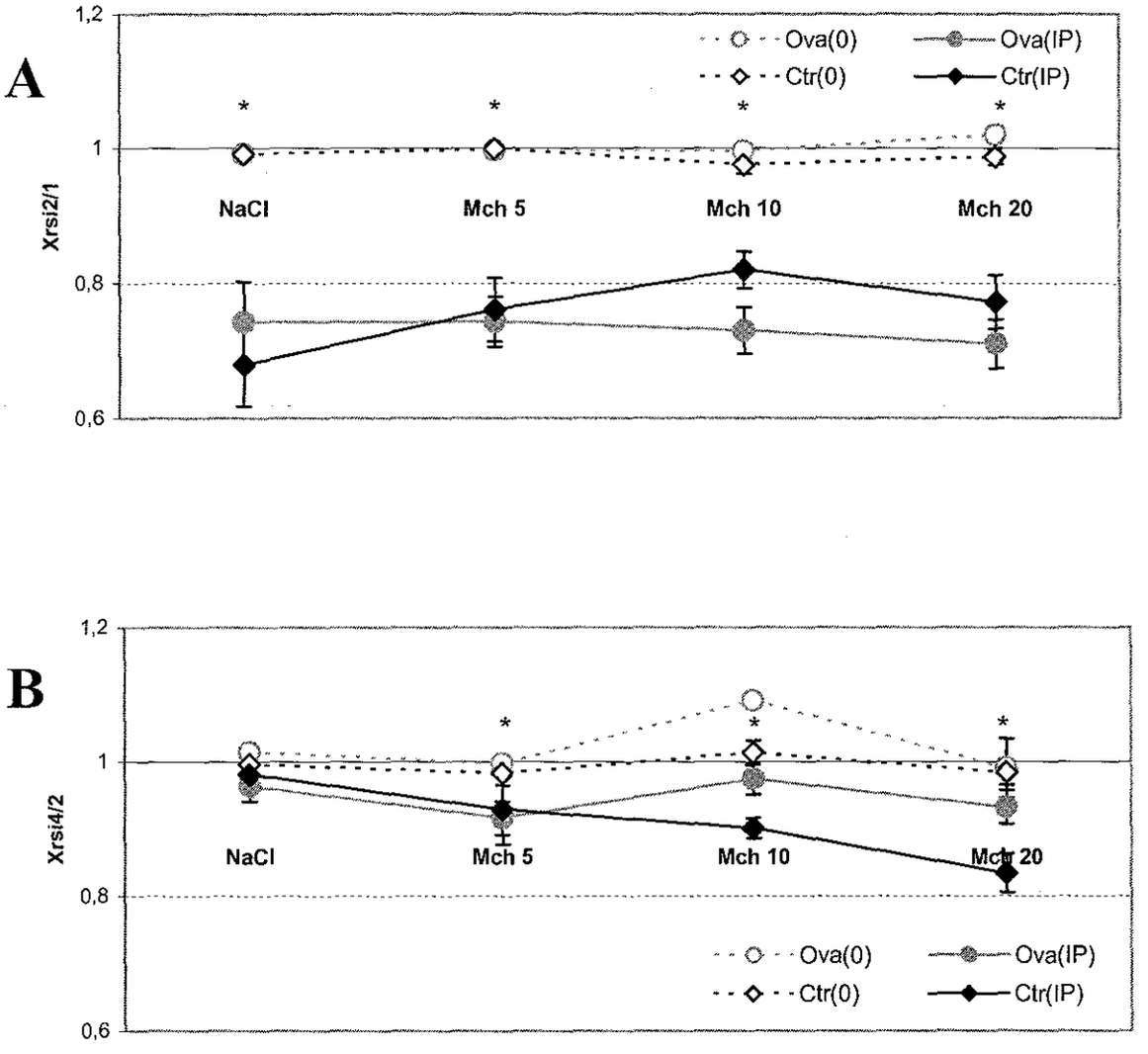


Figure 22: Rapport des réactances thoraco-pulmonaire inspiratoire (Xrsi) mesurées avant et après la première inspiration profonde ($Xrsi_{2/1}$) puis après la seconde inspiration profonde ($Xrsi_{2/4}$) lors du test de provocation bronchique par la méthacholine. Abréviations similaires à la fig 19. * $p<0,003$.

2.1.4 Différence inspiration-expiration

Dans la condition Base Rrsi était toujours inférieur à Rrse, alors que Xrsi et Xrse n'étaient pas différents (tableau XVIII). Dans la condition NaCl et durant le test à la méthacholine, ΔRrs demeurait négatif et ne se modifiait pas significativement dans les groupes $Ctr_{(IP)}$ et $Ova_{(IP)}$. A contrario, il devenait positif à l'issu du test de provocation dans les groupes $Ctr_{(0)}$ et $Ova_{(0)}$ (fig 23, Anova $p<0,001$). ΔXrs demeurait constant et proche de zéro lors du test de provocation dans les groupes $Ctr_{(IP)}$ et $Ova_{(IP)}$ alors que ΔXrs diminuait significativement dans les groupes $Ctr_{(0)}$ et $Ova_{(0)}$ (fig 24, Anova $p<0,03$).

Les modifications de ΔRrs et ΔXrs n'était pas significativement différentes entre les groupes Ova et Ctr (Anova $p=0,245$ et $p=0,285$ respectivement).

Tableau XVIII: Résistance et réactance thoraco-pulmonaire à l'inspiration (Rrsi, Xrsi) et à l'expiration (Rrse, Xrse) dans les groupes d'animaux témoins avec et sans inspirations profondes ($Ctr_{(0)}$ et $Ctr_{(IP)}$) et dans les groupes d'animaux sensibilisés avec et sans inspirations profondes ($Ova_{(0)}$ et $Ova_{(IP)}$).

	Rrsi	Rrse	p	Xrsi	Xrse	p
$Ctr_{(IP)}$	52,0 ± 4,0	58,0 ± 4,2	< 0,001	-25,3 ± 3,2	-25,0 ± 1,7	0,90
$Ova_{(IP)}$	55,1 ± 3,4	58,7 ± 2,8	< 0,03	-27,8 ± 6,4	-24,2 ± 1,6	0,51
$Ctr_{(0)}$	50,7 ± 3,1	56,5 ± 2,6	< 0,01	-29,5 ± 2,1	-29,3 ± 1,5	0,87
$Ova_{(0)}$	55,3 ± 5,8	60,4 ± 6,5	< 0,01	-28,6 ± 1,7	-25,6 ± 1,9	0,07

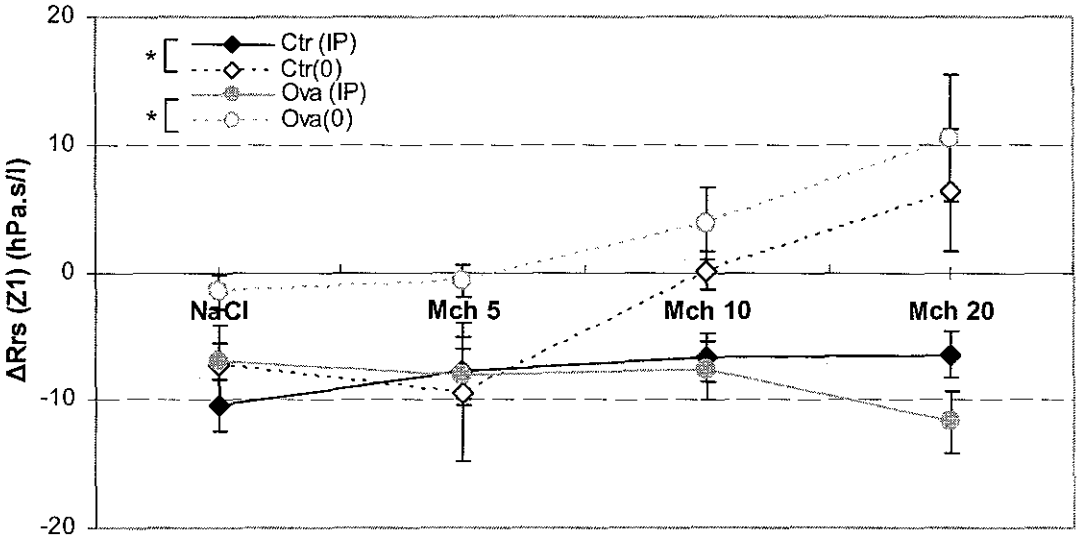


Figure 23: Différence entre la résistance thoraco-pulmonaire inspiratoire et expiratoire (ΔRrs) dans les différentes conditions du test de provocation. * p<0,001.

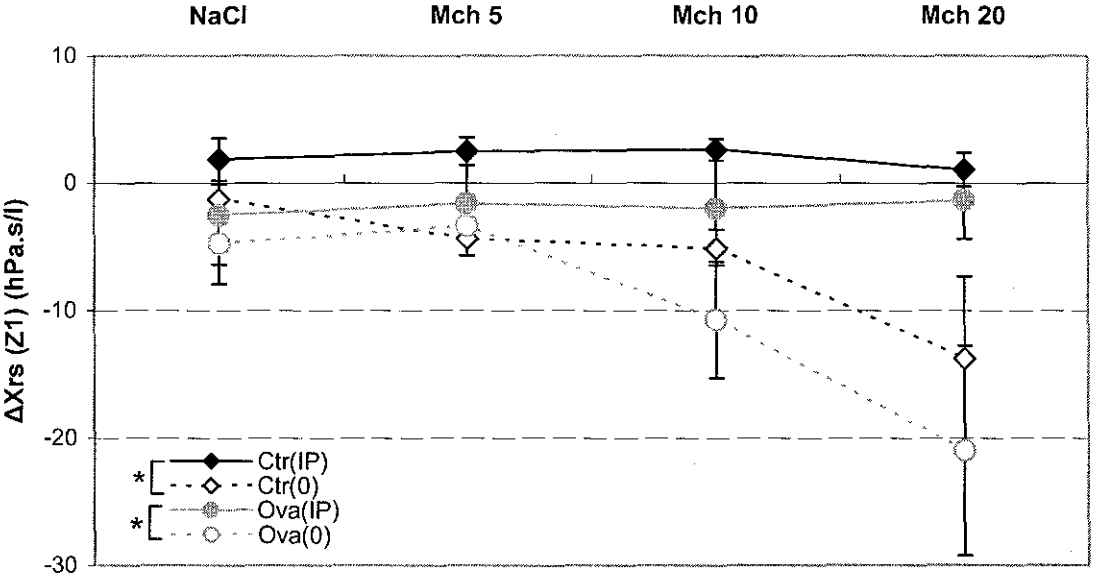


Figure 24: Différence entre la réactance thoraco-pulmonaire inspiratoire et expiratoire (ΔXrs) dans les différentes conditions du test de provocation. * p<0,03.

En Z2 et Z4, l'IP présentait les mêmes effets sur ΔRrs et ΔXrs qu'en Z1. En Z2, depuis la condition NaCl à la condition Mch 20 ΔRrs augmentait de 12,4 ± 4,1 et 13,1 ± 4,7 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(0)}$ et $Ctr_{(0)}$ et variait de -3,1 ± 1,4 et 3,7 ± 2,2 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(IP)}$ et $Ctr_{(IP)}$. ΔXrs diminuait de -21,1 ± 11,5 et -12,8 ± 5,9 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(0)}$ et $Ctr_{(0)}$ et variait peu de 1,6 ± 2,4 et -2,3 ± 2,0 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(IP)}$ et $Ctr_{(IP)}$. En Z4, ΔRrs augmentait de 14,9 ± 4,8 et 13,9 ± 3,0 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(0)}$ et $Ctr_{(0)}$ et variait de -3,9 ± 1,2 et 7,4 ± 4,2 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(IP)}$ et $Ctr_{(IP)}$ et ΔXrs diminuait de -22,4 ± 11,8 et -13,6 ± 5,1 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(0)}$ et $Ctr_{(0)}$ et variait de 1,7 ± 1,7 et -0,6 ± 0,9 hPa.s.l^{-1} dans les groupes $Ova_{(IP)}$ et $Ctr_{(IP)}$.

L'analyse de variance avec mesures répétées mettait en évidence un effet significatif de l'IP sur ΔRrs et sur ΔXrs en Z2 et en Z4 ($p<0,001$), similairement à la zone Z1, sans effet remarquable de la sensibilisation des animaux.

2.2 *Scores histologiques*

Le score global des animaux sensibilisés était supérieur au score des animaux non sensibilisés. Ces scores moyens étaient respectivement évalués à 8,7 ± 0,7 et 6,3 ± 0,8 ($p<0,03$). La différence était principalement liée aux atélectasies et à l'infiltration éosinophilique de l'interstitium péribronchique (fig 25).

Il n'existait aucune différence significative de score entre les animaux chez qui des IP avaient été réalisées et les autres (Anova p=0,69).

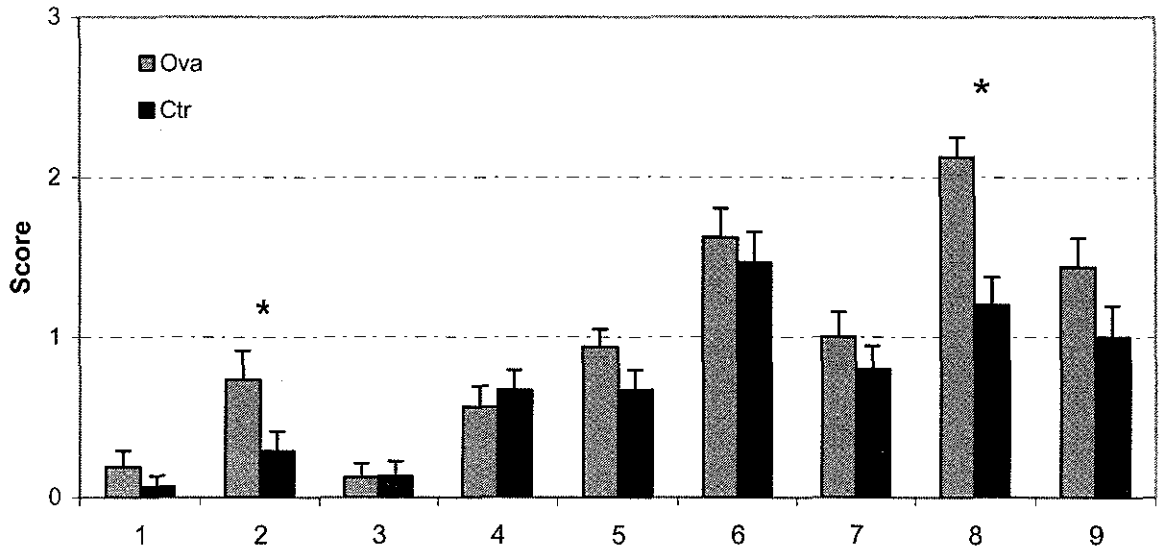


Figure 25: Items du score d'évaluation de l'inflammation péri-bronchique (* $p<0,05$). 1:œdème alvéolaire, 2:atélectasies, 3: intégrité de l'épithélium, 4: infiltration cellulaire (proximale), 5: infiltration cellulaire (distale), 6: neutrophiles, 7: lymphocytes, 8: éosinophiles, 9: mastocytes.

3 Discussion

Cette partie expérimentale du travail met en évidence une diminution de la réactivité bronchique liée à la présence d'IP chez le rat BN. Cette caractéristique est essentiellement mise en évidence sur les variations de Xrs du fait de la participation importante de Xrs aux mesures de Zrs chez cette espèce. A notre surprise la sensibilisation préalable des animaux par l'ovalbumine modifiait peu la réactivité bronchique malgré la présence de remaniements histologiques confirmés par l'étude anatomopathologique. Les effets de l'IP étaient nettement supérieurs aux modifications induites par la sensibilisation des animaux, néanmoins l'effet bronchoprotecteur de l'IP était plus important dans le groupe Ova que dans le groupe Ctr.

La première description de rat BN sensibilisé par l'ovalbumine concernait la production des immunoglobulines E spécifiques. La souche était remarquée pour sa capacité à produire un taux élevé d'immunoglobulines spécifiques en réponse à l'injection d'ovalbumine [154].

C'est pourquoi elle fut utilisée pour la production d'un modèle d'HRB d'origine allergique. Dans la présente étude, il n'existe pas de différence concernant les mesures de base de mécanique thoraco-pulmonaire entre les animaux des groupes Ctr et Ova. Cette observation a précédemment été rapportée par Sapienza [195]. Il mettait en évidence qu'après exposition des BN à des aérosols d'ovalbumine, la modification histologique la plus importante est l'augmentation de la quantité de muscle lisse au niveau de la paroi des voies aériennes conductrices [195]. Le calibre de ces voies n'en est pas significativement modifié, expliquant la valeur normale de Rrs chez les animaux exposés à l'ovalbumine.

Nos animaux n'ont été exposés qu'une seule fois à l'ovalbumine alors que d'autres [141, 195] ont réalisé 3 expositions. Nous ne pensons pas que ce point porte à conséquence car le protocole à une exposition a déjà été utilisé avec succès chez le rat BN [48] et qu'il suffisait à induire une inflammation et des modification de structure des voies aériennes selon l'analyse post-mortem de nos animaux. Cette inflammation présentait un caractère éosinophile majeur lié à la nature allergique du stimulus utilisé et une infiltration mastocytaire à un moindre degré. L'autre différence importante était liée à la présence d'atélectasies en nombre plus important dans le groupe des animaux sensibilisés. Ces modifications sont superposables aux descriptions antérieures [141]. Le score des animaux du groupe Ctr n'est cependant pas nul et est même similaire pour de nombreux items aux animaux du groupe Ova. Les conditions d'élevage de notre animalerie sont peut-être à incriminer. En effet, la souche BN est connue pour sa particulière susceptibilité au infections virales liée à une clairance virale peu efficace [206]. L'élevage des animaux dans des animaleries stériles pourrait permettre de réduire l'inflammation des voies aériennes du groupe Ctr [73] et ainsi permettre de mieux révéler l'HRB du groupe Ova. Aucune différence histologique n'a été mise en évidence entre les animaux où une IP a été réalisée et les animaux non exposés à l'IP.

La réactivité du modèle à un test de provocation spécifique par l'ovalbumine est établie [13, 47, 139, 141]. L'augmentation des hétérogénéités de ventilation, en particulier au niveau des générations bronchiques les plus distales, participe à cette réponse marquée chez le rat BN par une baisse de la compliance dynamique [191]. La sensibilité à la méthacholine est plus inconstante. Nagase et Sapienza objectivait l'existence d'une réactivité accrue des rats sensibilisés par l'ovalbumine à la méthacholine [141, 195], alors que la sensibilisation en elle même ne modifiait pas la réactivité bronchique à la méthacholine dans une autre étude [14]. Lors des premières études le développement d'une HRB non-spécifique était retrouvée comme une caractéristique de la réponse allergique précoce qui suit l'exposition des animaux

à l'ovalbumine. Cependant le modèle possède une large variation interindividuelle de réactivité à la méthacholine avant comme après sensibilisation par l'ovalbumine [223]. Similairement la PD_{50Rrsi} que nous rapportons présente une variation interindividuelle assez importante, comme l'ont déjà rapporté des descriptions antérieures [14, 223, 227].

Chez nos animaux la réactivité bronchique est équivalente dans les groupes $Ova_{(IP)}$ et $Ctr_{(IP)}$. Par contre elle augmente dans les groupes où l'IP est prohibée. Pour le groupe $Ctr_{(0)}$, il existe une discrète diminution de $PC50_{Xrsi}$ par rapport à la valeur équivalente du groupe $Ctr_{(IP)}$. La diminution devient significative pour les animaux du groupe Ova. Il s'y ajoute une diminution non significative de $PC50_{Rrsi}$. Ceci traduit donc un effet bronchoprotecteur de l'IP plus marqué chez les animaux sensibilisés que chez les animaux témoins. A la différence des études menées chez l'homme asthmatique, où dès l'apparition d'une HRB l'effet bronchoprotecteur de l'IP est perdu [198], l'IP apparaît donc essentielle à la bronchoprotection chez les animaux du groupe Ova.

Le test de provocation bronchique se manifestait surtout par une baisse de Xrsi plus marquée que l'augmentation de Rrsi. Xrsi a déjà été proposée pour refléter la réponse à un test de provocation bronchique chez l'enfant [16]. Xrs est en effet très spécifique de la réponse des voies aériennes intra-thoraciques alors que Rrs demeure un paramètre plus sensible. La baisse de Xrs après inhalation de méthacholine, peut s'expliquer par la répartition des effets de la méthacholine entre les voies aériennes et le parenchyme pulmonaire dont rend compte l'utilisation de modèles comme celui d'Otis [149] ou de Mead [129].

Selon le modèle de Mead (fig 26), lors d'un test de provocation par la méthacholine en aérosol la résistance périphérique augmente par le jeu de la contraction des voies aériennes périphériques et de l'augmentation de la résistance tissulaire [95, 173, 221]. La compliance dynamique globale du système se déporte alors vers compliance des voies aériennes centrales. Cette compliance est plus faible que celle du poumon périphérique, il en résulte une baisse globale de la compliance et donc de Xrs. Xrs ne diminuant pas chez nos animaux exposés à des IP. L'origine de la bronchoprotection résultant des IP peut être liée à la limitation de la fermeture des territoires périphériques et donc à l'absence d'augmentation de Rp lors du test de provocation. L'effet seul de la méthacholine sur le parenchyme pulmonaire, avec baisse de la compliance du parenchyme pulmonaire peut se traduire par les mêmes effets. Nagase [139] décrivait sur un modèle similaire une augmentation de Rrs majoritairement lié à une augmentation de la résistance tissulaire, plus qu'une augmentation de Raw. L'auteur cependant ne rapportait pas de données concernant la compliance thoraco-pulmonaire lors de

l'exposition à la méthacholine. La compliance diminuait de façon significative après aérosol d'ovalbumine.

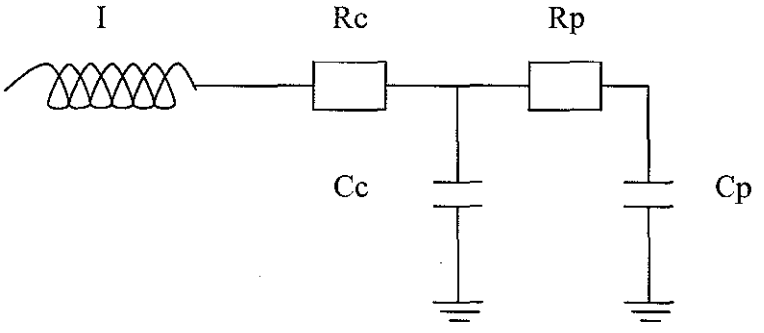


Figure 26: Modèle de Mead (d'après [129]). Le modèle de Mead comprend deux parties principales, une impédance centrale représentée par une inertance (I) et une résistance (Rc) et une partie périphérique représentée par une résistance (Rp) et une compliance (Cp). Les deux parties sont séparées par la compliance (Cc) des voies aériennes centrales intra-thoraciques.

Le modèle d'Otis (fig 27) permet d'interpréter la baisse de Xrs par l'augmentation de l'inhomogénéité pulmonaire. Lorsque la résistance augmente de façon non symétrique entre les deux compartiments parallèles, la compliance dynamique du système se déporte vers la compliance la plus faible.

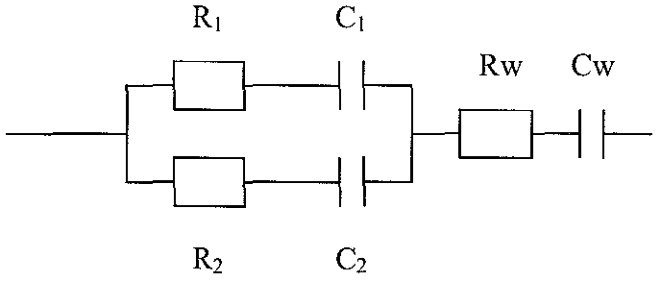


Figure 27: Modèle d'Otis (d'après[149]). Il comporte deux compartiments en parallèle, tous deux caractérisés par une résistance (R_1 et R_2) et une compliance (C_1 et C_2). Ces deux compartiments sont en série avec la paroi thoracique, elle-même caractérisée par une résistance (Rw) et une compliance propre (Cw).

L'effet bronchodilatateur de l'IP se manifeste essentiellement par une augmentation de Xrsi qui se rapproche de 0. La diminution de Rrsi aux doses les plus importantes de méthacholine est plus modeste. La seconde IP, n'entraîne aucune modification de Rrsi, mais est comme la première à l'origine d'une augmentation de Xrsi pour les 3 concentrations de méthacholine. La souche BN est connue pour des propriétés mécaniques particulières. Parmi plusieures espèces (ACI, Lewis, Wistar-Furth et Buffalo) les BN ont les résistances les plus basses [173, 223]. Par ailleurs Xrs apparaît plus importante chez les rats BN que chez les rats Sprague Dawley. A 20 Hz Xrs est proche de 0 chez cette dernière espèce [82, 173].

L'effet bronchodilatateur de l'IP dans notre modèle semble plus lié au rétablissement de l'homogénéité ventilatoire qu'à des modifications importantes du rapport hystérésis entre le parenchyme et les voies aériennes. Cette implication majeure de l'inhomogénéité dans la réponse à la méthacholine et à l'IP fait la particularité de notre modèle.

Nous avons estimé la mécanique thoraco-pulmonaire par la technique des oscillations forcées selon le mode mono-fréquentiel. Des études préalables dont certaines utilisaient la technique des oscillations forcées ont estimé la mécanique thoraco-pulmonaire du rat avec des valeurs proches de nos résultats [70]. Cependant les oscillations ont jusqu'alors été appliquées selon la technique multi-fréquentielle [33, 82, 204], le signal excitateur étant appliqué lors d'arrêts de la ventilation mécanique, lors d'apnées. L'intérêt de notre méthode réside dans la possibilité de déterminer Rrs et Xrs au cours de la ventilation mécanique (éventuellement lors de la ventilation spontanée) sans interruption de la ventilation et donc sans modification du volume pulmonaire autre que le volume courant et les IP réalisées pour l'expérimentation. La technique ne nécessite pas de modification systématique du volume pulmonaire ("volume history") [40, 97, 106]. De plus les oscillations forcées sont reconnues pour ne pas modifier le tonus bronchomoteur [169].

L'utilisation d'un signal excitateur à 20 Hz permet de déterminer Zrs 20 fois par seconde et de décrire les variations de Rrs lors de la ventilation en utilisant un modèle de régression linéaire multiple pour décrire les variations de Rrs avec le débit et le volume. Pour cette étude une technique originale de détermination de la mécanique thoraco-pulmonaire au cours du temps a été utilisée. Seuls les points déterminés aux transitions inspiration/expiration ont été conservés, effaçant les variations de Zrs avec le débit mais reflétant malgré tout les variations avec le volume et en particulier les différences inspiration/expiration.

Dans des conditions de base Rrsi est retrouvée de façon récurrente inférieure à Rrse [41, 66, 145, 167, 171]. Cette différence serait la conséquence de la baisse de Raw avec le volume pulmonaire [19]. Lors de l'existence d'une limitation de débit, il est habituel de retrouver une absence de modification ou une diminution de ΔRrs [66, 145, 216, 217]. L'augmentation de ΔRrs observée ici suggère un autre mécanisme. Aux fréquences qu'acquisition élevées, 20Hz pour cette étude, la résistance tissulaire intervient peu dans la mesure de base de Rrs. Par exemple chez le lapin elle ne participe plus à Rrs au-delà de 4 Hz [213]. Cependant la participation tissulaire à Rrs augmente lors de l'inhalation de métacholine [173], surtout lorsqu'elle est administrée en aérosol [142]. Cette composante est proportionnellement plus importante à haut volume [147, 187], c'est-à-dire en fin d'inspiration, à l'inverse des variations de Raw. Comme notre étude ne porte que sur les valeurs à débit nul, c'est-à-dire à l'inspiration maximum ΔRrs augmente car Rrsi augmente plus que Rrse ce qui au premier abord apparaissait paradoxal. Il existe également un paradoxe apparent concernant la baisse de ΔXrs. Lors de l'existence d'une limitation de débit [39, 145, 216, 217] il est inconstant de retrouver une diminution de ΔRrs, mais il existe toujours une diminution importante de Xrse et de ΔXrs. Une seconde fois il faut relativiser ces résultats à la méthode utilisée. Xrs varie en effet avec le débit, Xrs étant très négatif durant la phase expiratoire [39, 147]. Par contre les valeurs de fin d'expiration et de fin d'inspiration que nous avons utilisé sont proches et plus élevées que les valeurs les plus négatives. Notre méthode met donc en évidence une limitation de débit par une diminution de ΔXrs.

Les oscillations forcées utilisées en mode mono-fréquence, constituent donc une technique de choix pour l'étude des effets de l'IP sur le tonus bronchomoteur. Elles permettent la mise en évidence des modifications de la résistance thoraco-pulmonaire mais également des propriétés viscoélastiques qui constituent pour modèle du rat BN rendu allergique à l'ovalbumine l'essentiel de la réponse à la méthacholine et à l'IP.

Conclusion

Aucune technique d'exploration fonctionnelle ne permet d'explorer spécifiquement la composante inflammatoire ou la composante bronchomotrice d'une obstruction des voies aériennes. Le titrage du NO exhalé ou l'étude des condensas sont des pistes intéressantes en cours de développement [114, 131, 188, 211]. L'étude des variations du tonus bronchomoteur au décours d'une IP peut constituer un outil intéressant pour l'exploration fonctionnelle respiratoire car elle fournit des renseignements sur la nature et la gravité d'une obstruction des voies aériennes. Pliss [177] retrouvait chez des asthmatiques adultes une relation significative entre l'inflammation bronchique évaluée dans le lavage broncho-alvéolaire et l'effet de l'IP sur le tonus bronchomoteur. D'autres études ont établi le retour de l'effet bronchodilatateur chez les sujets asthmatiques après traitement par corticoïdes inhalés [12, 102].

Dans la première partie du travail, l'existence de phénomènes bronchomoteurs dont l'aspect diffère avec la nature de l'obstruction a été mise en évidence chez l'enfant. L'IP est à l'origine d'une réponse variable selon le degré d'obstruction chez l'enfant asthmatique spontanément obstructif, alors que elle est à l'origine d'une bronchodilatation lorsque l'obstruction est induite par inhalation de méthacholine ou par l'exercice. La perte de la bronchodilatation après IP paraît donc caractériser une obstruction à la fois spontanée et sévère. Les modifications observées des coefficients k_1 et k_3, indiquent que la réversibilité de l'obstruction induite est majoritairement liée à une augmentation du calibre des voies aériennes intra-thoraciques. Lors d'une obstruction spontanée sévère, cette dilatation des voies aériennes intra-thoraciques disparaît et il s'y associe une augmentation du coefficient k_2. Par ailleurs la réversibilité par l'IP de l'obstruction aiguë induite apparaît inversement proportionnelle à son importance. L'ensemble de ces modifications suggèrent un rôle important de l'hystérésis relatif parenchyme-voies aériennes dans les effets de l'IP. En effet la bronchodilatation survient essentiellement lorsque l'hystérésis de la paroi des voies aériennes est élevé alors que la bronchoconstriction survient dans une situation différente, lorsqu'il existe une augmentation de l'hystérésis du parenchyme pulmonaire, c'est à dire dans les situations d'hyperinflation pulmonaire et/ou d'inhomogénéité.

La deuxième partie du travail met en évidence l'importance de l'inhomogénéité dans la réponse à l'IP. Dans notre modèle du rat BN, l'IP agit essentiellement sur l'hétérogénéité de la fermeture des voies aériennes et apparaît comme le principal objet de la réponse à l'IP. L'IP apparaît également comme le facteur principal qui détermine le degré d'hyperréactivité bronchique chez les animaux sensibilisés par l'ovalbumine. L'importance de l'hétérogénéité a

précédemment été évoquée [82, 108, 109], mais elle revêt chez le rat BN une importance majeure, peut être à cause de certaines caractéristiques de sa mécanique thoraco-pulmonaire. L'IP est essentielle pour à ré-ouvrir, de façon homogène, des territoires fermés sous l'action de la méthacholine. Le rapport de l'hystérésis des voies aériennes et du parenchyme pulmonaire apparaît dans le modèle présenté comme un mécanisme moins important que dans d'autres espèces, dont l'homme.

Les mécanismes à l'origine des variations du tonus bronchomoteur au décours de l'IP sont donc incomplètement connus. Afin de pouvoir utiliser les effets de l'IP pour d'exploration fonctionnelle, une meilleure compréhension des mécanismes est nécessaire. L'implication des phénomènes réflexes d'origine pulmonaire est mal connue. Une seule étude s'est attachée à l'implication de ces réflexes [80]. Comme certains réflexes broncho-pulmonaires sont modifiés de façon importante lors du développement, à l'exemple du réflexe de Hering-Breuer dont l'intensité est majorée en période néonatale [35], ils pourraient revêtir une importance cruciale dans le domaine pédiatrique. D'autres hypothèses physiopathologiques sont également évoquées mais aucune n'est établie avec certitude. La mise en place de modèles animaux permettra de mieux identifier les mécanismes à la base des modifications de tonus bronchomoteur au décours de l'IP [198].

SCD-UHP - NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

Références

SCD-UHP - NANCY 1 BIBLIOTHÈQUE MÉDECINE

1. **Alvarez MJ, Olaguibel JM, Garcia BE, Rodriquez A, Tabar AI, and Urbiola E.** Airway inflammation in asthma and perennial allergic rhinitis. Relationship with nonspecific bronchial responsiveness and maximal airway narrowing. *Allergy* 55: 355-362, 2000.
2. **American Thoracic Society.** Chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. *Am Rev Respir Dis* 85: 762-768, 1962.
3. **Anderson SD and Daviskas E.** The mechanism of exercise-induced asthma is .... *J Allergy Clin Immunol* 106: 453-459, 2000.
4. **Asher MI, Pattemore PK, Harrison AC, Mitchell EA, Rea HH, Stewart AW, and Woolcock AJ.** International comparison of the prevalence of asthma symptoms and bronchial hyperresponsiveness. *Am Rev Respir Dis* 138: 524-529, 1988.
5. **Assa'ad AH, Ballard ET, Sebastian KD, Loven DP, Boivin GP, and Lierl MB.** Effect of superoxide dismutase on a rabbit model of chronic allergic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 80: 215-224, 1998.
6. **Aubier M and Cockcroft DW.** [Bronchial hyperreactivity other than that seen in asthma]. *Rev Mal Respir* 11: 179-187, 1994.
7. **Bachofen H.** Lung tissue resistance and pulmonary hysteresis. *J Appl Physiol* 24: 296-301, 1968.
8. **Baier H, Wanner A, Zarzecki S, and Sackner MA.** Relationships among glottis opening, respiratory flow, and upper airway resistance in humans. *J Appl Physiol* 43: 603-611, 1977.
9. **Bannenberg GL and Gustafsson LE.** Stretch-induced stimulation of lower airway nitric oxide formation in the guinea-pig: inhibition by gadolinium chloride. *Pharmacol Toxicol* 81: 13-18, 1997.
10. **Barnes PJ.** Muscarinic receptor subtypes in airways. *Eur Respir J* 6: 328-331, 1993.
11. **Barnes PJ, Gribbin HR, Osmanliev D, and Pride NB.** Partial flow-volume curves to measure bronchodilator dos-response curves in normal humans. *J Appl Physiol* 50: 1193-1197, 1981.
12. **Bel EH, Timmers MC, Hermans J, Dijkman JH, and Sterk PJ.** The long-term effects of nedocromil sodium and beclomethasone dipropionate on bronchial responsiveness to methacholine in nonatopic asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 141: 21-28, 1990.
13. **Bellofiore S, Di Maria GU, and Martin JG.** Changes in upper and lower airway resistance after inhalation of antigen in sensitized rats. *Am Rev Respir Dis* 136: 363-368, 1987.
14. **Bellofiore S and Martin JG.** Antigen challenge of sensitized rats increases airway responsiveness to methacholine. *J Appl Physiol* 65: 1642-1646, 1988.
15. **Blide RW, Kerr HD, and Spicer WS, Jr.** Measurement of Upper and Lower Airway Resistance and Conductance in Man. *J Appl Physiol* 19: 1059-1069, 1964.
16. **Bouaziz N, Beyaert C, Gauthier R, Monin P, Peslin R, and Marchal F.** Respiratory system reactance as an indicator of the intrathoracic airway response to methacholine in children. *Pediatr Pulmonol* 22: 7-13, 1996.
17. **Boulet LP and Denjean A.** [Non-allergenic bronchial hyperreactivity. Measurement methods and reproducibility]. *Rev Mal Respir* 11: 171-178, 1994.
18. **Brancatisano T, Dodd D, and Engel LA.** Factors influencing glottic dimensions during forced expiration. *J Appl Physiol* 55: 1825-1829, 1983.
19. **Briscoe W and DuBois A.** The relationship between airway resistance, airway conductance and lung volume in subjects of different age and body size. *J Clin Invest* 37: 1279-1285, 1958.

20. **Brown IG, Zamel N, and Hoffstein V.** Pharyngeal and glottic changes following methacholine challenge in normal subjects. *Bull Eur Physiopathol Respir* 22: 251-256, 1986.
21. **Brown RH and Mitzner W.** Airway response to deep inspiration: role of inflation pressure. *J Appl Physiol* 91: 2574-2578, 2001.
22. **Brusasco V, Pellegrino R, Violante B, and Crimi E.** Relationship between quasi-static pulmonary hysteresis and maximal airway narrowing in humans. *J Appl Physiol* 72: 2075-2080, 1992.
23. **Burns CB, Taylor WR, and Ingram RH, Jr.** Effects of deep inhalation in asthma: relative airway and parenchymal hysteresis. *J Appl Physiol* 59: 1590-1596, 1985.
24. **Burns GP and Gibson GJ.** Airway hyperresponsiveness in asthma. Not just a problem of smooth muscle relaxation with inspiration. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 203-206, 1998.
25. **Burns GP and Gibson GJ.** The apparent response of airway function to deep inspiration depends on the method of assessment. *Respir Med* 95: 251-257, 2001.
26. **Carlsen KH and Carlsen KC.** Exercise-induced asthma. *Paediatr Respir Rev* 3: 154-160, 2002.
27. **Cauberghs M and Van de Woestijne KP.** Effect of upper airway shunt and series properties on respiratory impedance measurements. *J Appl Physiol* 66: 2274-2279, 1989.
28. **Cauberghs M and Van de Woestijne KP.** Changes of respiratory input impedance during breathing in humans. *J Appl Physiol* 73: 2355-2362, 1992.
29. **Child F, Lenney W, Clayton S, Davies S, Jones PW, Strange RC, and Fryer AA.** Correction of bronchial challenge data for age and size may affect the results of genetic association studies in children. *Pediatr Allergy Immunol* 14: 193-200, 2003.
30. **Choi IS, Hong SN, Lee YK, Koh YI, Jang AS, and Lee HC.** Asthmatic airway inflammation is more closely related to airway hyperresponsiveness to hypertonic saline than to methacholine. *Korean J Intern Med* 18: 83-88, 2003.
31. **Chowgule RV, Shetye VM, Parmar JR, Bhosale AM, Khandagale MR, Phalnitkar SV, and Gupta PC.** Prevalence of respiratory symptoms, bronchial hyperreactivity, and asthma in a megacity. Results of the European community respiratory health survey in Mumbai (Bombay). *Am J Respir Crit Care Med* 158: 547-554, 1998.
32. **Clement J, Stanescu DC, and van de Woestijne KP.** Glottis opening and effort-dependent part of the isovolume pressure-flow curves. *J Appl Physiol* 34: 18-22, 1973.
33. **Collins RA, Sly PD, Turner DJ, Herbert C, and Kumar RK.** Site of inflammation influences site of hyperresponsiveness in experimental asthma. *Respir Physiol Neurobiol* 139: 51-61, 2003.
34. **Coulson FR and Fryer AD.** Muscarinic acetylcholine receptors and airway diseases. *Pharmacol Ther* 98: 59-69, 2003.
35. **Cross KW, Klaus M, Tooley WH, and Weisser K.** The response of the new-born baby to inflation of the lungs. *J Physiol* 151: 551-565, 1960.
36. **Dab I and Alexander F.** A simplified approach to the measurement of specific airway resistance. *Pediatr Res* 10: 998-999, 1976.
37. **Delacourt C, Lorino H, Fuhrman C, Herve-Guillot M, Reinert P, Harf A, and Housset B.** Comparison of the forced oscillation technique and the interrupter technique for assessing airway obstruction and its reversibility in children. *Am J Respir Crit Care Med* 164: 965-972, 2001.
38. **Delacourt C, Lorino H, Herve-Guillot M, Reinert P, Harf A, and Housset B.** Use of the forced oscillation technique to assess airway obstruction and reversibility in children. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 730-736, 2000.

39. **Dellaca RL, Santus P, Aliverti A, Stevenson N, Centanni S, Macklem PT, Pedotti A, and Calverley PM.** Detection of expiratory flow limitation in COPD using the forced oscillation technique. *Eur Respir J* 23: 232-240, 2004.
40. **Drazen JM, Loring SH, Jackson AC, Snapper JR, and Ingram RH, Jr.** Effects of volume history on airway changes induced by histamine or vagal stimulation. *J Appl Physiol* 47: 657-665, 1979.
41. **DuBois A.** Resistance to breathing. *In: Handbook of Physiology, Respiration I, Fenn WO, Rahn H eds* 16: 451-462, 1964.
42. **Dubois AB, Brody AW, Lewis DH, and Burgess BF, Jr.** Oscillation mechanics of lungs and chest in man. *J Appl Physiol* 8: 587-594, 1956.
43. **Ducharme FM and Davis GM.** Measurement of respiratory resistance in the emergency department: feasibility in young children with acute asthma. *Chest* 111: 1519-1525, 1997.
44. **Ducharme FM and Davis GM.** Respiratory resistance in the emergency department: a reproducible and responsive measure of asthma severity. *Chest* 113: 1566-1572, 1998.
45. **Duvivier C, Peslin R, and Hannhart B.** [Technics for measuring pressure, flow and volume in respiratory function tests]. *Rev Mal Respir* 3: 449-456, 1986.
46. **Duvivier C, Peslin R, Wendling F, Felicia Da Silva J, Gremillet F, Gallina C, and Navajas D.** Mesure de l'impédance thoraco-pulmonaire par oscillations forcées. Présentation d'un appareil. *Innov Tech Biol Med* 11: 381-399, 1990.
47. **Eidelman DH, Bellofiore S, and Martin JG.** Late airway responses to antigen challenge in sensitized inbred rats. *Am Rev Respir Dis* 137: 1033-1037, 1988.
48. **Elwood W, Barnes PJ, and Chung KF.** Airway hyperresponsiveness is associated with inflammatory cell infiltration in allergic brown-Norway rats. *Int Arch Allergy Immunol* 99: 91-97, 1992.
49. **England SJ, Ho V, and Zamel N.** Laryngeal constriction in normal humans during experimentally induced bronchoconstriction. *J Appl Physiol* 58: 352-356, 1985.
50. **Fairshter RD.** Airway hysteresis in normal subjects and individuals with chronic airflow obstruction. *J Appl Physiol* 58: 1505-1510, 1985.
51. **Fish JE, Ankin MG, Kelly JF, and Peterman VI.** Regulation of bronchomotor tone by lung inflation in asthmatic and nonasthmatic subjects. *J Appl Physiol* 50: 1079-1086, 1981.
52. **Fisher JT and Mortola JP.** Statics of the respiratory system in newborn mammals. *Respir Physiol* 41: 155-172, 1980.
53. **Fisher JT and Mortola JP.** Statics of the respiratory system and growth: an experimental and allometric approach. *Am J Physiol* 241: R336-341, 1981.
54. **Fisher JT and Sant'Ambrogio G.** Location and discharge properties of respiratory vagal afferents in the newborn dog. *Respir Physiol* 50: 209-220, 1982.
55. **Fisher JT and Sant'Ambrogio G.** Airway and lung receptors and their reflex effects in the newborn. *Pediatr Pulmonol* 1: 112-126, 1985.
56. **Fredberg JJ, Inouye DS, Mijailovich SM, and Butler JP.** Perturbed equilibrium of myosin binding in airway smooth muscle and its implications in bronchospasm. *Am J Respir Crit Care Med* 159: 959-967, 1999.
57. **Fredberg JJ, Jones KA, Nathan M, Raboudi S, Prakash YS, Shore SA, Butler JP, and Sieck GC.** Friction in airway smooth muscle: mechanism, latch, and implications in asthma. *J Appl Physiol* 81: 2703-2712, 1996.
58. **Fredberg JJ and Shore SA.** The unbearable lightness of breathing. *J Appl Physiol* 86: 3-4, 1999.
59. **Frey U.** Effects of deep inhalations on bronchial reactivity in pediatric asthma. *Pediatr Pulmonol* 33: 409-410, 2002.

60. **Froeb HF and Mead J.** Relative hysteresis of the dead space and lung in vivo. *J Appl Physiol* 25: 244-248, 1968.
61. **Gao Y and Vanhoutte PM.** Attenuation of contractions to acetylcholine in canine bronchi by an endogenous nitric oxide-like substance. *Br J Pharmacol* 109: 887-891, 1993.
62. **Gao Y and Vanhoutte PM.** Products of cyclooxygenase mediate the responses of the guinea pig trachea to hydrogen peroxide. *J Appl Physiol* 74: 2105-2111, 1993.
63. **Gao Y and Vanhoutte PM.** Responsiveness of the guinea pig trachea to stretch: role of the epithelium and cyclooxygenase products. *J Appl Physiol* 75: 2112-2116, 1993.
64. **Garnier M and Delamare V.** *Dictionnaire des termes de médecine.* Paris: Maloine, 1989.
65. **Garty BZ, Kosman E, Ganor E, Berger V, Garty L, Wietzen T, Waisman Y, Mimouni M, and Waisel Y.** Emergency room visits of asthmatic children, relation to air pollution, weather, and airborne allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol* 81: 563-570, 1998.
66. **Gauthier R, Beyaert C, Feillet F, Peslin R, Monin P, and Marchal F.** Respiratory oscillation mechanics in infants with bronchiolitis during mechanical ventilation. *Pediatr Pulmonol* 25: 18-31, 1998.
67. **Gautier H, Remmers JE, and Bartlett D, Jr.** Control of the duration of expiration. *Respir Physiol* 18: 205-221, 1973.
68. **Gayrard P, Orehek J, Grimaud C, and J CH.** Bronchoconstrictor effects of a deep inspiration in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 111: 433-439, 1975.
69. **Godfrey S.** Series: Assessment of Inflammation. Bronchial hyper-responsiveness in children. *Paediatr Respir Rev* 1: 148-155, 2000.
70. **Gomes RF, Shen X, Ramchandani R, Tepper RS, and Bates JH.** Comparative respiratory system mechanics in rodents. *J Appl Physiol* 89: 908-916, 2000.
71. **Gunst SJ, Shen X, Ramchandani R, and Tepper RS.** Bronchoprotective and bronchodilatory effects of deep inspiration in rabbits subjected to bronchial challenge. *J Appl Physiol* 91: 2511-2516, 2001.
72. **Habib RH and Jackson AC.** Total respiratory input impedance with the upper airway wall shunt minimized. *J Appl Physiol* 74: 1045-1055, 1993.
73. **Haczku A, Moqbel R, Elwood W, Sun J, Kay AB, Barnes PJ, and Chung KF.** Effects of prolonged repeated exposure to ovalbumin in sensitized brown Norway rats. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 23-27, 1994.
74. **Hantos Z, Adamicza A, Govaerts E, and Daroczy B.** Mechanical impedances of lungs and chest wall in the cat. *J Appl Physiol* 73: 427-433, 1992.
75. **Hantos Z, Daroczy B, Suki B, Nagy S, and Fredberg JJ.** Input impedance and peripheral inhomogeneity of dog lungs. *J Appl Physiol* 72: 168-178, 1992.
76. **Hantos Z, Petak F, Adamicza A, Daroczy B, and Fredberg JJ.** Differential responses of global airway, terminal airway, and tissue impedances to histamine. *J Appl Physiol* 79: 1440-1448, 1995.
77. **Hayden MJ, Devadason SG, Sly PD, Wildhaber JH, and LeSouef PN.** Methacholine responsiveness using the raised volume forced expiration technique in infants. *Am J Respir Crit Care Med* 155: 1670-1675, 1997.
78. **Hayden MJ, Sly PD, Devadason SG, Gurrin LC, Wildhaber JH, and LeSouef PN.** Influence of driving pressure on raised-volume forced expiration in infants. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 1876-1883, 1997.
79. **Hering E and Breuer J.** Die Selbsteuerung der Athmung durch den Nervus vagus. Vienne: Sitzungsbericht der kaiserlichen Akademie de Wissenschaften in Wien, 1868, p. 57(pt52): 672-677.

80. **Hida W, Arai M, Shindoh C, Liu YN, Sasaki H, and Takishima T.** Effect of inspiratory flow rate on bronchomotor tone in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 39: 86-92, 1984.
81. **Higenbottam T and Payne J.** Glottis narrowing in lung disease. *Am Rev Respir Dis* 125: 746-750, 1982.
82. **Hirai T and Bates JH.** Effects of deep inspiration on bronchoconstriction in the rat. *Respir Physiol* 127: 201-215, 2001.
83. **Hirai T, McKeown KA, Gomes RF, and Bates JH.** Effects of lung volume on lung and chest wall mechanics in rats. *J Appl Physiol* 86: 16-21, 1999.
84. **Hirsch T, Weiland SK, von Mutius E, Safeca AF, Grafe H, Csaplovics E, Duhme H, Keil U, and Leupold W.** Inner city air pollution and respiratory health and atopy in children. *Eur Respir J* 14: 669-677, 1999.
85. **Hopp RJ, Townley RG, Biven RE, Bewtra AK, and Nair NM.** The presence of airway reactivity before the development of asthma. *Am Rev Respir Dis* 141: 2-8, 1990.
86. **Hoppin FG, Jr., Green M, and Morgan MS.** Relationship of central and peripheral airway resistance to lung volume in dogs. *J Appl Physiol* 44: 728-737, 1978.
87. **Huxley AF.** Muscle structure and theories of contraction. *Prog Biophys Biophys Chem* 7: 255-318, 1957.
88. **Ingenito EP, Davison B, and Fredberg JJ.** Tissue resistance in the guinea pig at baseline and during methacholine constriction. *J Appl Physiol* 75: 2541-2548, 1993.
89. **ISAAC.** Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* 351: 1225-1232, 1998.
90. **Ishikawa T, Sekizawa SI, Sant'Ambrogio FB, and Sant'Ambrogio G.** Larynx vs. esophagus as reflexogenic sites for acid-induced bronchoconstriction in dogs. *J Appl Physiol* 86: 1226-1230, 1999.
91. **James A and Ryan G.** Testing airway responsiveness using inhaled methacholine or histamine. *Respirology* 2: 97-105, 1997.
92. **James AL, Pare PD, and Hogg JC.** Effects of lung volume, bronchoconstriction, and cigarette smoke on morphometric airway dimensions. *J Appl Physiol* 64: 913-919, 1988.
93. **James AL, Pare PD, and Hogg JC.** The mechanics of airway narrowing in asthma. *Am Rev Respir Dis* 139: 242-246, 1989.
94. **Joos GF, O'Connor B, Anderson SD, Chung F, Cockcroft DW, Dahlen B, DiMaria G, Foresi A, Hargreave FE, Holgate ST, Inman M, Lotvall J, Magnussen H, Polosa R, Postma DS, and Riedler J.** Indirect airway challenges. *Eur Respir J* 21: 1050-1068, 2003.
95. **Kaczka DW, Ingenito EP, Suki B, and Lutchen KR.** Partitioning airway and lung tissue resistances in humans: effects of bronchoconstriction. *J Appl Physiol* 82: 1531-1541, 1997.
96. **Kapsali T, Permutt S, Laube B, Scichilone N, and Togias A.** Potent bronchoprotective effect of deep inspiration and its absence in asthma. *J Appl Physiol* 89: 711-720, 2000.
97. **Kariya ST, Thompson LM, Ingenito EP, and Ingram RH, Jr.** Effects of lung volume, volume history, and methacholine on lung tissue viscance. *J Appl Physiol* 66: 977-982, 1989.
98. **Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, and Burrows B.** Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 127: 725-734, 1983.
99. **Koopman LP, Smit HA, Heijnen ML, Wijga A, van Strien RT, Kerkhof M, Gerritsen J, Brunekreef B, de Jongste JC, and Neijens HJ.** Respiratory infections in

infants: interaction of parental allergy, child care, and siblings-- The PIAMA study. *Pediatrics* 108: 943-948, 2001.

100. **Laprise C, Laviolette M, Boutet M, and Boulet LP.** Asymptomatic airway hyperresponsiveness: relationships with airway inflammation and remodelling. *Eur Respir J* 14: 63-73, 1999.
101. **Lee LY and Gu Q.** Mechanisms of bronchopulmonary C-fiber hypersensitivity induced by cationic proteins. *Pulm Pharmacol Ther* 16: 15-22, 2003.
102. **Lim TK, Ang SM, Rossing TH, Ingenito EP, and Ingram RH, Jr.** The effects of deep inhalation on maximal expiratory flow during intensive treatment of spontaneous asthmatic episodes. *Am Rev Respir Dis* 140: 340-343, 1989.
103. **Lim TK, Pride NB, and Ingram RH, Jr.** Effects of volume history during spontaneous and acutely induced air-flow obstruction in asthma. *Am Rev Respir Dis* 135: 591-596, 1987.
104. **Lockhart A and Malo JL.** [Bronchial hyperreactivity. Definitions and history]. *Rev Mal Respir* 11: 85-92, 1994.
105. **Loos N, Peslin R, and Marchal F.** Respiratory and upper airways impedance responses to methacholine inhalation in spontaneously breathing cats. *Eur Respir J* 15: 1001-1008, 2000.
106. **Ludwig MS, Dreshaj I, Solway J, Munoz A, and Ingram RH, Jr.** Partitioning of pulmonary resistance during constriction in the dog: effects of volume history. *J Appl Physiol* 62: 807-815, 1987.
107. **Ludwig MS, Robatto FM, Sly PD, Browman M, Bates JH, and Romero PV.** Histamine-induced constriction of canine peripheral lung: an airway or tissue response? *J Appl Physiol* 71: 287-293, 1991.
108. **Lutchen KR, Greenstein JL, and Suki B.** How inhomogeneities and airway walls affect frequency dependence and separation of airway and tissue properties. *J Appl Physiol* 80: 1696-1707, 1996.
109. **Lutchen KR, Hantos Z, Petak F, Adamicza A, and Suki B.** Airway inhomogeneities contribute to apparent lung tissue mechanics during constriction. *J Appl Physiol* 80: 1841-1849, 1996.
110. **Macklem PT.** A theoretical analysis of the effect of airway smooth muscle load on airway narrowing. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 83-89, 1996.
111. **Macklem PT and Mead J.** The physiological basis of common pulmonary function tests. *Arch Environ Health* 14: 5-9, 1967.
112. **Macklem PT and Mead J.** Resistance of central and peripheral airways measured by a retrograde catheter. *J Appl Physiol* 22: 395-401, 1967.
113. **Mahut B, Delacourt C, Zerah-Lancner F, De Blic J, Harf A, and Delclaux C.** Increase in alveolar nitric oxide in the presence of symptoms in childhood asthma. *Chest* 125: 1012-1018, 2004.
114. **Mahut B, Delclaux C, Tillie-Leblond I, Gosset P, Delacourt C, Zerah-Lancner F, Harf A, and de Blic J.** Both inflammation and remodeling influence nitric oxide output in children with refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 113: 252-256, 2004.
115. **Mak JC, Baraniuk JN, and Barnes PJ.** Localization of muscarinic receptor subtype mRNAs in human lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7: 344-348, 1992.
116. **Marchal F, Bouaziz N, Baeyert C, Gallina C, Duvivier C, and Peslin R.** Separation of airway and tissue properties by transfer respiratory impedance and thoracic gas volume in reversible airway obstruction. *Eur Respir J* 9: 253-261, 1996.
117. **Marchal F and Crance JP.** Measurement of ventilatory system compliance in infants and young children. *Respir Physiol* 68: 311-318, 1987.

118. **Marchal F and Loos N.** Respiratory oscillation mechanics in infants and preschool children. *Eur Respir Mon;* 5: 58-87, 1997.
119. **Marchal F and Loos N.** Lung function testing in preschool children. *Pediatr Pulmonol Suppl* 18: 21-23, 1999.
120. **Marchal F, Loos N, Monin P, and Peslin R.** Methacholine-induced volume dependence of respiratory resistance in preschool children. *Eur Respir J* 14: 1167-1174, 1999.
121. **Marchal F, Loos N, Schweitzer C, and Gauthier R.** [Several aspects of respiratory function testing in children]. *Rev Mal Respir* 17: 67-75, 2000.
122. **Marchal F, Schweitzer C, Choné C, Demoulin B, and Peslin R.** Filtering artifacts in measurements of forced oscillation respiratory impedance in young children. *Physiol Meas* 25: 1-14, 2004.
123. **Marchal F, Schweitzer C, Choné C, Demoulin B, and Peslin R.** Filtering artifacts in measurements of forced oscillation respiratory impedance in young children. *Physiol Meas*, Soumis.
124. **Maziak W.** The Th1-Th2 paradigm and asthma: how far should we go? *J Asthma* 40: 201-205, 2003.
125. **Mazurek H, Willim G, Marchal F, Haluszka J, and Tomalak W.** Input respiratory impedance measured by head generator in preschool children. *Pediatr Pulmonol* 30: 47-55, 2000.
126. **Mc Ilroy MB, Mead J, Selverstone NJ, and Radford EP.** Measurement of lung tissue viscous resistance using gases of equal kinematic viscosity. *J Appl Physiol* 7: 485-490, 1955.
127. **McConnochie KM and Roghmann KJ.** Bronchiolitis as a possible cause of wheezing in childhood: new evidence. *Pediatrics* 74: 1-10, 1984.
128. **McDowell KM.** Pathophysiology of asthma. *Respir Care Clin N Am* 6: 15-26, 2000.
129. **Mead J.** Contribution of compliance of airways to frequency-dependent behavior of lungs. *J Appl Physiol* 26: 670-673, 1969.
130. **Mead J, Turner JM, Macklem PT, and Little JB.** Significance of the relationship between lung recoil and maximum expiratory flow. *J Appl Physiol* 22: 95-108, 1967.
131. **Meyts I, Proesmans M, and De Boeck K.** Exhaled nitric oxide corresponds with office evaluation of asthma control. *Pediatr Pulmonol* 36: 283-289, 2003.
132. **Michaelson ED, Grassman ED, and Peters WR.** Pulmonary mechanics by spectral analysis of forced random noise. *J Clin Invest* 56: 1210-1230, 1975.
133. **Milanese M, Mondino C, Tosca M, Canonica GW, and Brusasco V.** Modulation of airway caliber by deep inhalation in children. *J Appl Physiol* 88: 1259-1264, 2000.
134. **Mochizuki H, Shigeta M, Tokuyama K, and Morikawa A.** Difference in airway reactivity in children with atopic vs nonatopic asthma. *Chest* 116: 619-624, 1999.
135. **Mortola JP, Fisher JT, Smith B, Fox G, and Weeks S.** Dynamics of breathing in infants. *J Appl Physiol* 52: 1209-1215, 1982.
136. **Nadel J and Tierney D.** Effect of a previous deep inspiration on airway resistance in man. *J Appl Physiol* 58: 1505-1510, 1961.
137. **Nafstad P, Hagen JA, Oie L, Magnus P, and Jaakkola JJ.** Day care centers and respiratory health. *Pediatrics* 103: 753-758, 1999.
138. **Nafstad P, Kongerud J, Botten G, Hagen JA, and Jaakkola JJ.** The role of passive smoking in the development of bronchial obstruction during the first 2 years of life. *Epidemiology* 8: 293-297, 1997.
139. **Nagase T, Dallaire MJ, and Ludwig MS.** Airway and tissue responses during hyperpnea-induced constriction in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 1342-1347, 1994.

140. **Nagase T, Fukuchi Y, Teramoto S, Matsuse T, and Orimo H.** Mechanical interdependence in relation to age: effects of lung volume on airway resistance in rats. *J Appl Physiol* 77: 1172-1177, 1994.
141. **Nagase T, Moretto A, Dallaire MJ, Eidelman DH, Martin JG, and Ludwig MS.** Airway and tissue responses to antigen challenge in sensitized brown Norway rats. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 218-226, 1994.
142. **Nagase T, Moretto A, and Ludwig MS.** Airway and tissue behavior during induced constriction in rats: intravenous vs. aerosol administration. *J Appl Physiol* 76: 830-838, 1994.
143. **Nikolajev K, Heinonen K, Koskela H, Korppi M, Lansimies E, and Jokela V.** Determinants of bronchial responsiveness at school age in prematurely born children. *Pediatr Pulmonol* 28: 408-413, 1999.
144. **Nystad W, Magnus P, and Gulsvik A.** Increasing risk of asthma without other atopic diseases in school children: a repeated cross-sectional study after 13 years. *Eur J Epidemiol* 14: 247-252, 1998.
145. **Officer TM, Pellegrino R, Brusasco V, and Rodarte JR.** Measurement of pulmonary resistance and dynamic compliance with airway obstruction. *J Appl Physiol* 85: 1982-1988, 1998.
146. **Oostveen E, MacLeod D, Lorino H, Farre R, Hantos Z, Desager K, and Marchal F.** The forced oscillation technique in clinical practice: methodology, recommendations and future developments. *Eur Respir J* 22: 1026-1041, 2003.
147. **Oostveen E, Peslin R, Gallina C, and Zwart A.** Flow and volume dependence of respiratory mechanical properties studied by forced oscillation. *J Appl Physiol* 67: 2212-2218, 1989.
148. **Orehek J, Nicoli MM, Delpierre S, and Beaupre A.** Influence of the previous deep inspiration on the spirometric measurement of provoked bronchoconstriction in asthma. *Am Rev Respir Dis* 123: 269-272, 1981.
149. **Otis AB, McKerrow CB, Bartlett RA, Mead J, McIlroy MB, Selver-Stone NJ, and Radford EP, Jr.** Mechanical factors in distribution of pulmonary ventilation. *J Appl Physiol* 8: 427-443, 1956.
150. **Pacini F, Filippelli M, Duranti R, Rosi E, Romagnoli I, Grazzini M, Stendardi L, Misuri G, and Scano G.** Reduction in bronchodilation following a deep inhalation is poorly related to airway inflammation in asthma. *Eur Respir J* 14: 1055-1060, 1999.
151. **Parham WM, Shepard RH, Norman PS, and Fish JE.** Analysis of time course and magnitude of lung inflation effects on airway tone: relation to airway reactivity. *Am Rev Respir Dis* 128: 240-245, 1983.
152. **Pattemore PK and Holgate ST.** Bronchial hyperresponsiveness and its relationship to asthma in childhood. *Clin Exp Allergy* 23: 886-900, 1993.
153. **Pattle RE.** Properties, function and origin of the alveolar lining layer. *Nature* 175: 1125-1126, 1955.
154. **Pauwels RH, Bazin H, Plateau B, and van der Straeten M.** The influence of antigen dose on IgE production in different rat strains. *Immunology* 36: 151-157, 1979.
155. **Pedley TJ.** Dynamics of gas flow and pressure-flow relationships. In: *The Lung: Scientific Foundations*, edited by Weibel ER. New York: Raven Press, Ltd, 1991, p. 995-1010.
156. **Pellegrino R and Brusasco V.** Lung volumes and expiratory flow during bronchoconstriction in asthma. *Monaldi Arch Chest Dis* 49: 439-443, 1994.
157. **Pellegrino R and Brusasco V.** On the causes of lung hyperinflation during bronchoconstriction. *Eur Respir J* 10: 468-475, 1997.

158. **Pellegrino R, Sterk PJ, Sont JK, and Brusasco V.** Assessing the effect of deep inhalation on airway calibre: a novel approach to lung function in bronchial asthma and COPD. *Eur Respir J* 12: 1219-1227, 1998.
159. **Pellegrino R, Violante B, Crimi E, and Brusasco V.** Time course and calcium dependence of sustained bronchoconstriction induced by deep inhalation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 144: 1262-1266, 1991.
160. **Pellegrino R, Violante B, Crimi E, and Brusasco V.** Effects of aerosol methacholine and histamine on airways and lung parenchyma in healthy humans. *J Appl Physiol* 74: 2681-2686, 1993.
161. **Pellegrino R, Violante B, Selleri R, and Brusasco V.** Changes in residual volume during induced bronchoconstriction in healthy and asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 363-368, 1994.
162. **Peslin R.** Methods for measuring total respiratory impedance by forced oscillations. *Bull Eur Physiopathol Respir* 22: 621-631, 1986.
163. **Peslin R, Duvivier C, Didelon J, and Gallina C.** Respiratory impedance measured with head generator to minimize upper airway shunt. *J Appl Physiol* 59: 1790-1795, 1985.
164. **Peslin R, Duvivier C, and Jardin P.** Upper airway walls impedance measured with head plethysmograph. *J Appl Physiol* 57: 596-600, 1984.
165. **Peslin R and Fredberg JJ.** Oscillation mechanics of the respiratory system. *In: Handbook of Physiology, The respiratory system III*: 145-177, 1986.
166. **Peslin R, Gallina C, Teculescu D, and Pham QT.** Respiratory input and transfer impedances in children 9-13 years old. *Bull Eur Physiopathol Respir* 23: 107-112, 1987.
167. **Peslin R, Hixon T, and Mead J.** [Variations of thoraco-pulmonary resistance during the respiratory cycle studied by the oscillation method]. *Bull Physiopathol Respir (Nancy)* 7: 173-188, 1971.
168. **Peslin R, Marchal F, Loos N, Duvivier C, Ying Y, and Gallina C.** Evaluation of a modified head generator for respiratory impedance measurment. *Eur Respir Rev* 1: 140-145, 1991.
169. **Peslin R, Saunier C, Gallina C, and Duvivier C.** Small-amplitude pressure oscillations do not modify respiratory mechanics in rabbits. *J Appl Physiol* 76: 1011-1013, 1994.
170. **Peslin R, Teculescu D, Locuty J, Gallina C, and Duvivier C.** Normal values of total respiratory impedance with the head generator technique. *Eur Respir Rev* 4: 138-142, 1994.
171. **Peslin R, Ying Y, Gallina C, and Duvivier C.** Within-breath variations of forced oscillation resistance in healthy subjects. *Eur Respir J* 5: 86-92, 1992.
172. **Petak F, Babik B, Asztalos T, Hall GL, Deak ZI, Sly PD, and Hantos Z.** Airway and tissue mechanics in anesthetized paralyzed children. *Pediatr Pulmonol* 35: 169-176, 2003.
173. **Petak F, Hantos Z, Adamicza A, Asztalos T, and Sly PD.** Methacholine-induced bronchoconstriction in rats: effects of intravenous vs. aerosol delivery. *J Appl Physiol* 82: 1479-1487, 1997.
174. **Petak F, Hayden MJ, Hantos Z, and Sly PD.** Volume dependence of respiratory impedance in infants. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 1172-1177, 1997.
175. **Phillips GD, Ng WH, Church MK, and Holgate ST.** The response of plasma histamine to bronchoprovocation with methacholine, adenosine 5'-monophosphate, and allergen in atopic nonasthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 141: 9-13, 1990.

176. **Pin I, Radford S, Kolendowicz R, Jennings B, Denburg JA, Hargreave FE, and Dolovich J.** Airway inflammation in symptomatic and asymptomatic children with methacholine hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 6: 1249-1256, 1993.
177. **Pliss LB, Ingenito EP, and Ingram RH, Jr.** Responsiveness, inflammation, and effects of deep breaths on obstruction in mild asthma. *J Appl Physiol* 66: 2298-2304, 1989.
178. **Poiseuille JLM.** Recherches expérimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de très petit diamètre. *CR Acad Sci* 11: 961-967, 1041-1048, 1840.
179. **Polosa R.** Bronchial hyperresponsiveness and airway inflammatory markers in nonasthmatics with allergic rhinitis. *Eur Respir J* 16: 793, 2000.
180. **Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, and Yernault JC.** Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J Suppl* 16: 5-40, 1993.
181. **Rand MJ and Li CG.** Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: nature of transmitter and mechanism of transmission. *Annu Rev Physiol* 57: 659-682, 1995.
182. **Rasmussen F, Siersted HC, Lambrechtsen J, Hansen HS, and Hansen NC.** Impact of airway lability, atopy, and tobacco smoking on the development of asthma-like symptoms in asymptomatic teenagers. *Chest* 117: 1330-1335, 2000.
183. **Reynolds O.** An experimental investigation of the circumstances which determine whether the motion of water shall be direst or sinuous and the law of resistance in the parallel channels. *Phil Trans Roy Soc London* 174 III: 935, 1883.
184. **Roberts AM, Kaufman MP, Baker DG, Brown JK, Coleridge HM, and Coleridge JC.** Reflex tracheal contraction induced by stimulation of bronchial C-fibers in dogs. *J Appl Physiol* 51: 485-493, 1981.
185. **Robinson DS.** The Th1 and Th2 concept in atopic allergic disease. *Chem Immunol* 78: 50-61, 2000.
186. **Rohrer F.** Der Strömungswiderstand in der menschlichen Atemwegen und der Einfluss der unregelmässigen Verzweigung des Bronchialsystems auf den Atmungsverlauf verschiedenen Lungenbezirken. *Arch Ges Physiol* 162: 225-299, 1915.
187. **Romero PV and Ludwig MS.** Maximal methacholine-induced constriction in rabbit lung: interactions between airways and tissue? *J Appl Physiol* 70: 1044-1050, 1991.
188. **Rosias PP, Dompeling E, Dentener MA, Pennings HJ, Hendriks HJ, Van Iersel MP, and Jobsis Q.** Childhood asthma: Exhaled markers of airway inflammation, asthma control score, and lung function tests. *Pediatr Pulmonol* 38: 107-114, 2004.
189. **Salome CM, Peat JK, Britton WJ, and Woolcock AJ.** Bronchial hyperresponsiveness in two populations of Australian schoolchildren. I. Relation to respiratory symptoms and diagnosed asthma. *Clin Allergy* 17: 271-281, 1987.
190. **Salter HH.** On asthma: its pathology and treatment. *J Churchill (London)*: 24-60, 1859.
191. **Sanchez-Cifuentes MV, Rubio ML, Ortega M, Peces-Barba G, Paiva M, Verbanck S, and Mangado NG.** Lung function and ventilation inhomogeneity in rat lungs after allergen challenge. *J Appl Physiol* 88: 821-826, 2000.
192. **Sant'Ambrogio FB, Fisher JT, and Sant'Ambrogio G.** Adaptation of airway stretch receptors in newborn and adult dogs. *Respir Physiol* 52: 361-369, 1983.
193. **Sant'Ambrogio FB, Sant'Ambrogio G, and Fisher JT.** Lung mechanics and activity of slowly adapting airway stretch receptors. *Eur Respir J* 1: 685-690, 1988.
194. **Sant'Ambrogio G.** Information arising from the tracheobronchial tree of mammals. *Physiol Rev* 62: 531-569, 1982.
195. **Sapienza S, Du T, Eidelman DH, Wang NS, and Martin JG.** Structural changes in the airways of sensitized brown Norway rats after antigen challenge. *Am Rev Respir Dis* 144: 423-427, 1991.

196. **Sasaki H and Hoppin FG, Jr.** Hysteresis of contracted airway smooth muscle. *J Appl Physiol* 47: 1251-1262, 1979.
197. **Schweitzer C, Chone C, and Marchal F.** Influence of data filtering on reliability of respiratory impedance and derived parameters in children. *Pediatr Pulmonol* 36: 502-508, 2003.
198. **Scichilone N, Kapsali T, Permutt S, and Togias A.** Deep inspiration-induced bronchoprotection is stronger than bronchodilation. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 910-916, 2000.
199. **Sekizawa K, Yanai M, Sasaki H, and Takishima T.** Effect of a previous voluntary deep breath on laryngeal resistance in normal and asthmatic subjects. *J Appl Physiol* 63: 1406-1412, 1987.
200. **Sekizawa S, Ishikawa T, Sant'Ambrogio FB, and Sant'Ambrogio G.** Vagal esophageal receptors in anesthetized dogs: mechanical and chemical responsiveness. *J Appl Physiol* 86: 1231-1235, 1999.
201. **Shapiro GG.** Bronchoprovocation in children. *Pediatrician* 18: 269-279, 1991.
202. **Sippel JM, Holden WE, Tilles SA, O'Hollaren M, Cook J, Thukkani N, Priest J, Nelson B, and Osborne ML.** Exhaled nitric oxide levels correlate with measures of disease control in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106: 645-650, 2000.
203. **Skloot G, Permutt S, and Togias A.** Airway hyperresponsiveness in asthma: a problem of limited smooth muscle relaxation with inspiration. *J Clin Invest* 96: 2393-2403, 1995.
204. **Sly PD, Collins RA, Thamrin C, Turner DJ, and Hantos Z.** Volume dependence of airway and tissue impedances in mice. *J Appl Physiol* 94: 1460-1466, 2003.
205. **Sly PD, Willet KE, Kano S, Lanteri CJ, and Wale J.** Pirenzepine blunts the pulmonary parenchymal response to inhaled methacholine. *Pulm Pharmacol* 8: 123-129, 1995.
206. **Sorden SD and Castleman WL.** Virus-induced increases in airway mast cells in brown Norway rats are associated with enhanced pulmonary viral replication and persisting lymphocytic infiltration. *Exp Lung Res* 21: 197-213, 1995.
207. **Stanescu DC, Clement J, Pattijn J, and van de Woestijne KP.** Glottis opening and airway resistance. *J Appl Physiol* 32: 460-466, 1972.
208. **Sterk PJ.** Bronchial hyperresponsiveness: definition and terminology. *Pediatr Allergy Immunol* 7: 7-9, 1996.
209. **Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, Juniper EF, and Malo JL.** Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J Suppl* 16: 53-83, 1993.
210. **Stocks J, Marchal F, Kraemer R, Gutkowski P, Yishay EB, and Godfrey S.** Pletysmographic assessement of functional residual capacity and airway resistance. *In: Infant Respiratory Function Testing Liss: ed Wiley-Liss*: 191-240, 1996.
211. **Strunk RC, Szefler SJ, Phillips BR, Zeiger RS, Chinchilli VM, Larsen G, Hodgdon K, Morgan W, Sorkness CA, and Lemanske RF, Jr.** Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 112: 883-892, 2003.
212. **Suki B, Peslin R, Duvivier C, and Farre R.** Lung impedance in healthy humans measured by forced oscillations from 0.01 to 0.1 Hz. *J Appl Physiol* 67: 1623-1629, 1989.

SCD-UHP - NANCY
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

213. **Tepper R, Sato J, Suki B, Martin JG, and Bates JH.** Low-frequency pulmonary impedance in rabbits and its response to inhaled methacholine. *J Appl Physiol* 73: 290-295, 1992.
214. **Toelle BG, Peat JK, Salome CM, Mellis CM, and Woolcock AJ.** Toward a definition of asthma for epidemiology. *Am Rev Respir Dis* 146: 633-637, 1992.
215. **Toelle BG, Peat JK, van den Berg RH, Dermand J, and Woolcock AJ.** Comparison of three definitions of asthma: a longitudinal perspective. *J Asthma* 34: 161-167, 1997.
216. **Vassiliou M, Peslin R, Saunier C, and Duvivier C.** Expiratory flow limitation during mechanical ventilation detected by the forced oscillation method. *Eur Respir J* 9: 779-786, 1996.
217. **Vassiliou M, Saunier C, Duvivier C, Behrakis P, and Peslin R.** Volume dependence of respiratory system resistance during artificial ventilation in rabbits. *Intensive Care Med* 27: 898-904, 2001.
218. **Violante B, Pellegrino R, Crimi E, and Brusasco V.** Increase in airway responsiveness and effect of deep inhalation on airway caliber in allergen-induced asthma. Relationship to the late-phase response. *Am Rev Respir Dis* 146: 127-131, 1992.
219. **von Mutius E, Illi S, Hirsch T, Leupold W, Keil U, and Weiland SK.** Frequency of infections and risk of asthma, atopy and airway hyperresponsiveness in children. *Eur Respir J* 14: 4-11, 1999.
220. **von Neergard K.** Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik: Die retraktionskrat der Lunge, Abhangig von der Oberflächensprannung in den Alveolen. *Z Gesamte Exp Med* 66: 373-394, 1929.
221. **Wagner EM and Jacoby DB.** Methacholine causes reflex bronchoconstriction. *J Appl Physiol* 86: 294-297, 1999.
222. **Waldron MA and Fisher JT.** Neural control of airway smoth muscle in the newborn. In: *Developemental Neurobiology of Breathing*, edited by Haddad G and Farber JP. New York: Marcel Dekker, 1991, p. 483-518.
223. **Wang CG, DiMaria G, Bates JH, Guttmann RD, and Martin JG.** Methacholine-induced airway reactivity of inbred rats. *J Appl Physiol* 61: 2180-2185, 1986.
224. **Wang YT, Thompson LM, Ingenito EP, and Ingram RH, Jr.** Effects of increasing doses of beta-agonists on airway and parenchymal hysteresis. *J Appl Physiol* 68: 363-368, 1990.
225. **Weibel ER.** Design of airways and blood vessels considered as branching trees. In: *The Lung: Scientific Foundations*, edited by Weibel ER. New York: Raven Press, Ltd, 1991, p. 711-720.
226. **Wheatley JR, Pare PD, and Engel LA.** Reversibility of induced bronchoconstriction by deep inspiration in asthmatic and normal subjects. *Eur Respir J* 2: 331-339, 1989.
227. **Xu LJ, Sapienza S, Du T, Waserman S, and Martin JG.** Comparison of upper and lower airway responses of two sensitized rat strains to inhaled antigen. *J Appl Physiol* 73: 1608-1613, 1992.
228. **Yuan H, Kononov S, Cavalcante FS, Lutchen KR, Ingenito EP, and Suki B.** Effects of collagenase and elastase on the mechanical properties of lung tissue strips. *J Appl Physiol* 89: 3-14, 2000.
229. **Zach MS.** The physiology of forced expiration. *Paediatr Respir Rev* 1: 36-39, 2000.

Publications

1 Marchal F, Schweitzer C, and Moreau-Colson C. Respiratory impedance response to a deep inhalation in children with history of cough or asthma. Pediatr Pulmonol 33: 411-418, 2002.

2 Schweitzer C, Moreau-Colson C, and Marchal F. Respiratory impedance response to a deep inhalation in asthmatic children with spontaneous airway obstruction. Eur Respir J 19: 1020-1025, 2002.

3 Marchal F, Schweitzer C, and Khallouf S. Respiratory conductance response to a deep inhalation in children with exercise-induced bronchoconstriction. Respir Med 97: 921-927, 2003.

4 Schweitzer C, Chone C, and Marchal F. Influence of data filtering on reliability of respiratory impedance and derived parameters in children. Pediatr Pulmonol 36: 502-508, 2003.

5 Marchal F, Schweitzer C, Demoulin B, Choné C and Peslin R. Filtering artefacts in measurements of forced oscillation respiratory impedance in young children. Physiol. Meas 25: 1153-1166, 2004.

SCD-UHP · NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

Pediatric Pulmonology 33:411–418 (2002)

Original Articles

Respiratory Impedance Response to a Deep Inhalation in Children With History of Cough or Asthma

François Marchal, MD,* Cyril Schweitzer, MD, and Catherine Moreau-Colson, MD

Summary. The aim of this study was to describe the change in respiratory impedance induced by a deep inhalation (DI) in children who developed a positive response to inhalation of methacholine (Mch). Eighteen children aged 4.5–12.5 years, presenting with chronic cough or doctor-diagnosed asthma, were studied at baseline after inhalation of Mch and after inhalation of a bronchodilator. Respiratory resistance (Rrs) and reactance (Xrs) were measured by the forced oscillation technique, varying transrespiratory pressure at 12 Hz around the head. The tidal flow (V′) and volume (V) dependence of Rrs before and after the DI was characterized according to the equation $Rrs = K1 + K2 \cdot |V'| + K3 \cdot V$.

DI induced no significant change at baseline or after inhalation of a bonchodilator. During Mch challenge, Rrs and K1 were significantly lower, and K3 and Xrs significantly less negative after DI than before, during both inspiration and expiration; there was no change in K2.

We conclude that DI results in a decrease in Rrs in children with induced bronchoconstriction. The associated changes in Xrs, K1, and K3, and lack of decrease in K2, suggest that dilatation of airways occurs at the bronchial level, with little contribution of the upper airways or of a change in breathing patterns. **Pediatr Pulmonol. 2002; 33:411–418.** © 2002 Wiley-Liss, Inc.

Key words: methacholine; asthma; airway obstruction; airway responsiveness; airway-lung parenchyma hysteresis; flow dependence of resistance; volume dependence of resistance; respiratory resistance in inspiration and expiration; bronchial challenge; cough.

INTRODUCTION

With an increasing incidence of early childhood asthma, a number of lung function tests have been developed to characterize the degree of airway obstruction, hyperreactivity, and response to treatment. Measurement of respiratory system resistance (Rrs) has several advantages in monitoring airway dimensions in the young child. It does not require active cooperation and is completely noninvasive. On the other hand, Rrs explores the whole airway tree, including the extrathoracic component, constriction of which may be associated with acute asthma or methacholine (Mch)-induced bronchoconstriction.[1–5] Thus, lung function parameters that more specifically point towards intrathoracic airway narrowing would improve the interpretation of Rrs measurement. Rrs may easily be obtained by the forced oscillation technique, which also measures respiratory reactance (Xrs). Depending on the excitation frequency, the latter may reflect phenomena related to tissue viscoelasticity, inhomogeneous behavior of the respiratory system, and/or gas acceleration in the airways. In addition, detailed interpretation of respiratory impedance (Zrs) may be provided by modeling of data in the frequency domain[6] and/or by time course analysis.[7]

The interdependence between intrathoracic airways and lung parenchyma may be altered in the presence of bronchoconstriction, and may be reflected in the respiratory response to a deep inhalation (DI). Although different airway responses to a DI are described,

© 2002 Wiley-Liss, Inc.

Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre, France.

Grant sponsor: Equipe d'Accueil 346, "Interactions des systèmes de régulation respiratoire chez l'adulte et l'enfant."

*Correspondence to: François Marchal, M.D., Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, Avenue de la Forêt de Haye, F-54505 Vandoeuvre les Nancy, France. E-mail: f.marchal@chu-nancy.fr

Received 5 June 2001; Accepted 25 January 2002.

DOI 10.1002/ppul.10093
Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

bronchodilation usually occurs during Mch challenge in normal adults or asthmatic adults with normal lung function,[8–10] while bronchoconstriction may also occur in patients with severe spontaneous airway obstruction.[10] Testing the effect of a DI may therefore help to characterize airway obstruction.

In contrast with the numerous studies on the effects of a DI on bronchial tone performed in adults,[11] few data are available in children. The bronchodilatory effects of a DI were recently demonstrated in young children with recurrent wheezing during Mch challenge.[12] The degree of airway obstruction and reversibility was demonstrated by the monitoring of respiratory impedance (Zrs), derived from fast Fourier transforms of multiple frequency data obtained over 16 sec. Since the bronchomotor effects of a DI were reported to decay rapidly during the first minute in adults,[13] it may be of interest to narrow the analysis to the first few breaths after DI. The temporal resolution may be increased using a conventional Fourier analysis of single-frequency Zrs data. Furthermore, because the excitation frequency is much larger than the breathing frequency, the within-breath variations of Rrs may be described using multiple linear regression analysis of Rrs vs. tidal flow (V') and volume (V).[7] An estimate of resistance at FRC and "zero" flow, i.e., independent of the breathing pattern, is thus provided. This index is potentially useful, since V and V' are important contributors to Rrs in children,[14] and the breathing pattern may change after a DI. The physiological basis of the interpretation of parameters calculated from such regression analysis was provided by experimental studies in animals, where upper airways and respiratory impedances were measured separately. The volume dependence of Rrs during inspiration could thus be taken as an indicator of the interdependence between conducting airways and lung parenchyma, while the flow dependence of Rrs was found, to some extent, to reflect the contribution of the upper airways.[15]

The aim of this study was to document the effects of a DI on Zrs and on the within-breath variations of Rrs in children undergoing Mch challenge.

ABBREVIATIONS

BL	Baseline
DI	Deep inhalation
FEV_1	Forced expiratory volume in 1 sec
FRC	Functional residual capacity
K1	Respiratory resistance at 0 flow and FRC
K2	Flow dependence of resistance
K3	Volume dependence of resistance
Mch	Methacholine
$PDRrs_{50}$	Provocation dose eliciting 50% increase in respiratory resistance
Post-DI	After deep inhalation
Pre-DI	Before deep inhalation
RDI	Reversibility of inspiratory resistance by deep inhalation
Rrs	Respiratory system resistance
SD	Standard deviation
SEM	Standard error of the mean
V'	Flow
V	Volume
Xrs	Respiratory reactance
Zrs	Respiratory impedance

MATERIALS AND METHODS

Patients

The 18 children (6 boys) included in this study were referred to the laboratory for lung function testing and Mch challenge. Age ranged from 4.5–12.5 years (mean ± SEM = 7.3 ± 0.6 years). Eleven subjects presented with chronic cough and 7 with doctor-diagnosed asthma. All had been free of respiratory symptoms for at least 4 weeks, and had abstained from short-acting bronchodilator therapy for at least 12 hr prior to the study. Baseline Rrs was within the 95% confidence interval predicted from height.[16] FEV_1 measured at baseline in 14 children ranged from 90–125% of predicted values[17] (mean ± SEM = 107 ± 3% predicted). The parents were encouraged to attend the testing, and informed consent was obtained prior to Mch challenge.

Measurement of Zrs

The apparatus for the measurement of Zrs (Pulmosfor®, SEFAM, France) was described in detail previously,[18] except for slight modifications in the software to allow for more convenient use and improved handling of data. Briefly, the input pressure was delivered by a loudspeaker, enclosed in a canopy around the subject's head (head generator technique). Pressure differences and hence flow across the upper airway wall were thus significantly reduced. A data acquisition period lasted 30–50 sec, during which sinusoidal pressure was applied at 12 Hz. The child wore a nose clip and breathed through a mouthpiece connected to a Fleisch no. 1 pneumotachograph (Metabo, Hepalinges, Switzerland) attached to a differential pressure transducer (Micro 176PC14HD2, Honeywell ± 35 hPa, Scarborough, Ontario, Canada). The common mode rejection ratio of the flow channel was >60 dB at the frequency of interest. The input pressure was measured with an identical transducer, matched to the first within 1% of amplitude and 2° of phase up to 32 Hz. Pressure and flow signals were low-pass filtered at 32 Hz, using analog filters and digitized at a sampling rate of 192 Hz. The breathing component in the signals was eliminated using a fourth-order Butterworth high-pass filter with a corner frequency of 6 Hz. The signals were analyzed for each oscillation cycle, providing 12 measurements per sec. The Fourier coefficients of pressure and flow at 12 Hz were computed and combined to obtain Rrs and Xrs. A correction was

applied for the 2.1-msec time constant of the pneumotachograph. The noisy data were finally eliminated by filtering out Zrs values falling outside the 99% confidence interval, i.e., lower or higher than the mean ± 3 SD. The procedure was repeated 3 times. After each acquisition, time courses of tidal flow and volume, Rrs, and Xrs were displayed on the computer screen. Recordings showing markedly irregular breathing patterns or evidence of glottic closure were discarded. The latter was evidenced by transient interruption of respiratory flow.

Drug Administration

Mch chloride (Laboratoire Allerbio, Varennes, Argonne, France) was administered with an APS Nebulizer system (375III, Erich Jaeger GmbH, Würzburg, Germany) at the following cumulative doses: 50, 100, 200, 400, 800, and 1,200 μg. The nebulizer was flow-controlled and actuated by the subject's inspiration.

The test was discontinued when Rrs had increased 50% from baseline or more. The child then inhaled 2 puffs of Bronchodual® (Boehringer Ingelheim France, Paris, France) a mixture of fenoterol hydrobromide (50-μg/dose) and ipratropium bromide (20-μg/dose), delivered through an inhalation chamber (Nespacer, Astra France, Monts, France).

Protocol and Data Analysis

Following each Mch administration, the child was checked for occurrence of chest tightness, cough, wheeze or decreased breath sounds. At baseline, 2 min after the end of each Mch administration, and 10 min after inhalation of Bronchodual®, a data acquisition period was initiated, during which the overall mean Rrs was calculated to evaluate the degree of airway obstruction. At baseline, during peak response to Mch, and after Bronchodual® inhalation, a second data acquisition period was carried out, during which the child was asked to take a deep breath. The data were retained when the corresponding DI volume was at least twice as large as the average tidal volume. Three respiratory cycles were analyzed before (pre-DI) and 3 after DI (post-DI). The visual inspection of flow and volume tracings allowed to select breathing cycles, usually skipping the first breath immediately after the DI. For both pre-DI and post-DI epochs, the mean Rrs and Xrs were calculated. Rrs was further divided into inspiration and expiration, and a multiple linear regression analysis was applied to describe flow (V') and volume (V) dependence, using:

$$\mathrm{Rrs} = \mathrm{K1} + \mathrm{K2} \cdot |V'| + \mathrm{K3} \cdot V \qquad (1)$$

where K1 is the resistance at zero flow and at constant-end expiratory volume, and K2 and K3 respectively characterize flow and volume dependence of Rrs.[14] The statistical significance of the analysis was assessed from the F ratio of the regression, and the data were retained when the corresponding P value was lower than 0.05.

In order to compare different degrees of airway obstruction, an index of the reversibility of inspiratory Rrs by DI (RDI) during Mch challenge was calculated from the fraction of the expected maximum reversibility with reference to baseline (BL), as suggested previously:[8,12]

$$\mathrm{RDI} = \left[1/\mathrm{Rrs}_{\mathrm{post\text{-}DI(Mch)}} - 1/\mathrm{Rrs}_{\mathrm{pre\text{-}DI(Mch)}}\right] / \left[1/\mathrm{Rrs}_{\mathrm{post\text{-}DI(BL)}} - 1/\mathrm{Rrs}_{\mathrm{pre\text{-}DI(Mch)}}\right] \qquad (2)$$

The significance of the observed effects was established using an analysis of variance (ANOVA) for repeated measurements. $P < 0.05$ defined statistical significance. Data are expressed as mean ± SEM.

RESULTS

The positive response to Mch was shown by the significant increase in Rrs, from 9.1 ± 0.6 hPa·sec/L to 15.4 ± 0.8 hPa·sec/L ($P < 0.0001$) at a provocation dose eliciting a 50% increase in repsiratory resistance ($PDRrs_{50}$) ranging from 36–600 μg (mean ± SEM = 221 ± 34 μg). It is worth noting that during inhalation of the last Mch dose, cough occurred in all but four subjects. Bronchodual® reversed bronchoconstriction in all subjects, and Rrs fell below baseline (7.5 ± 0.6 hPa.s/L, $P = 0.0002$ vs. control).

A DI was obtained in 15 children at baseline, and in all after Mch and Bronchodual® inhalation. Figure 1 illustrates the typical effect of a DI on Zrs after Mch had been administered. There is a clear decrease in Rrs and an increase (less negative) in Xrs. Analysis of the group data showed that, at baseline, the DI induced no significant change in Rrs (Fig. 2) or Xrs (Fig. 3). In contrast, changes in Rrs and Xrs induced by DI were highly statistically significant after Mch challenge, both in inspiration and expiration, where Rrs was decreased significantly ($P < 0.0001$, Fig. 2) and Xrs was increased, thus becoming less negative after the DI than before ($P < 0.0001$, Fig. 3).

The RDI was quite variable among subjects, and was found to range from 0–0.539 (0.270 ± 0.041); the intersubject coefficient of variation was 59%. The lowest values were observed in the 2 oldest subjects. Boys tended to have lower RDI (0.118 ± 0.094) compared to girls (0.307 ± 0.040), but the trend was not significant ($P = 0.2$). There was no relationship between RDI and medical history; children with chronic cough (0.316 ± 0.177) had a similar RDI to those with doctor-diagnosed asthma (0.201 ± 0.045, $P = 0.2$). In order to test whether the magnitude of bronchial responsiveness affected the

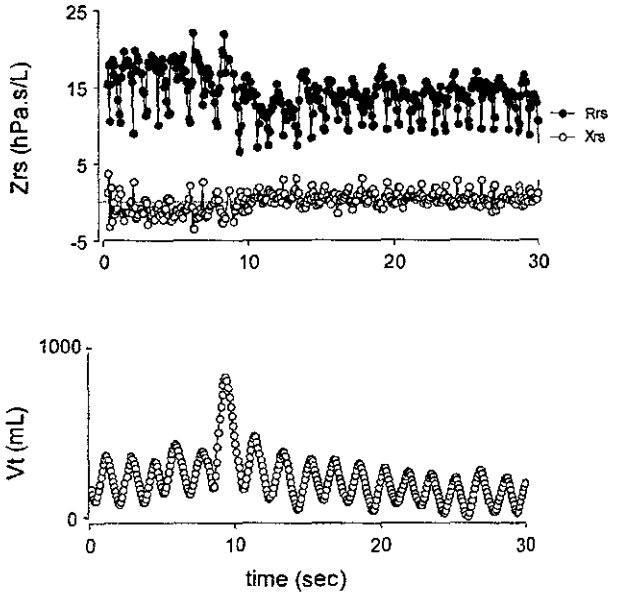


Fig. 1. Representative tracings of respiratory impedance (Zrs): resistance (Rrs) and reactance (Xrs) (top) and tidal volume (bottom), illustrating effect of a deep inhalation (DI) after methacholine inhalation. Within-breath fluctuations of Rrs are related to change in instantaneous flow and, to a lesser extent, volume. DI is associated with a substantial decrease in Rrs, while Xrs becomes less negative.

response to DI, the relationship between $PDRrs_{50}$ and RDI was studied (Fig. 4). A significant positive correlation was found, taking either $PDRrs_{50}$ ($P < 0.01$) or its log transform ($P < 0.05$). Also, when separating subjects according to their level of responsiveness, it was found that those with $PDRrs_{50} < 200$ μg had significantly lower RDI (0.179 ± 0.035, $n = 9$) than those with $PDRrs_{50} > 200$ μg (0.407 ± 0.052, $n = 6$, $P < 0.001$).

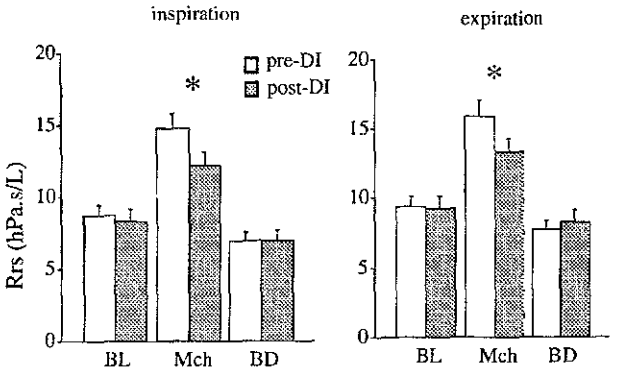


Fig. 2. Respiratory resistance (Rrs) during inspiration and expiration before (pre-DI) and after a deep inhalation (post-DI) at baseline (BL), after methacholine (Mch) and after bronchodilator (BD). The decrease in Rrs induced by DI after Mch is significant during both inspiration and expiration (*$P < 0.0001$).

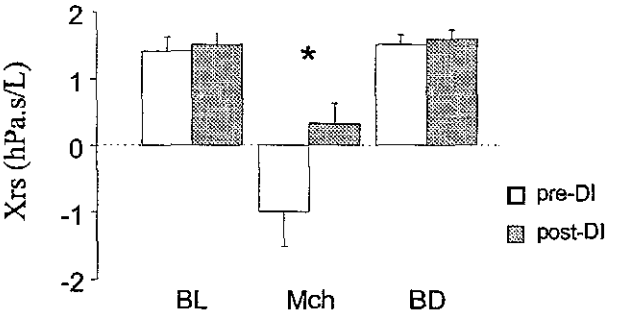


Fig. 3. Respiratory reactance (Xrs) before (pre-DI) and after a deep inhalation (post-DI) at baseline (BL), after methacholine (Mch), and after bronchodilator (BD). The decrease in absolute value of Xrs after a DI is significant after Mch (*$P < 0.0001$). There is no significant change at baseline or after bronchodilator.

Statistical significance of results of the regression analysis (Eq. 1) was demonstrated in all subjects. At baseline, and similar to the findings for Rrs, the DI induced little change in any of the coefficients of Eq. 1 (Tables 1–3). After Mch, the decrease in Rrs was associated with a decrease in K1 ($P < 0.0001$ in inspiration and $P = 0.001$ on expiration, Table 1), while K2 was not significantly altered. There was a significant decrease in the absolute value of K3 (Table 3) that was also more pronounced during inspiration ($P < 0.006$) than expiration ($P = 0.03$).

No significant change was induced by the DI after Bronchodual® inhalation. The statistical analysis showed that once the bronchodilator was administered, DI had no significant effect on either Zrs (Figs. 2 and 3) or any of the parameters in Eq. 1 (Tables 1–3).

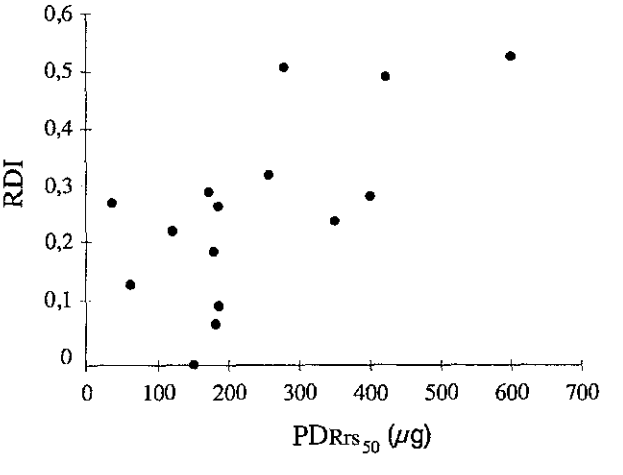


Fig. 4. Index of reversibility of airway obstruction by deep inhalation (RDI, Eq. 2) is plotted against $PDRrs_{50}$. A significant positive relationship is observed with $PDRrs_{50}$ ($P < 0.01$) or its log transform ($P = 0.05$), indicating that degree of reversibility by DI is inversely proportional to degree of airway responsiveness.

TABLE 1—Respiratory Resistance at Zero Flow and Functional Residual Capacity, Calculated as Coefficient K1 of Eq. 1 (hPa·sec/L) Before (Pre-DI) and After Deep Inhalation (Post-DI)[1]

		Inspiration		Expiration	
Condition	n	Pre-DI	Post-DI	Pre-DI	Post-DI
Baseline	15	5.8 ± 0.6	5.4 ± 0.7	6.2 ± 0.6	4.8 ± 1.3
Methacholine	18	11.8 ± 0.9	9.1 ± 0.7*	12.3 ± 1.1	10.1 ± 0.8**
Bronchodilation	18	4.7 ± 0.5	4.6 ± 0.4	4.4 ± 0.8	5.0 ± 0.5

[1]Mean ± SEM. DI, deep inhalation.
*$P < 0.0001$ vs. pre-DI.
**$P = 0.001$ vs. pre-DI.

DISCUSSION

The major finding in this study is that a DI is associated with a decrease in Rrs in children with Mch-induced airway obstruction, a finding similar to that by Milanese et al.[12] In addition, the current data offer a description of the time course of change in Rrs and Xrs after DI, and further indicate that the decrease in Rrs may be interpreted as a bronchodilation following a large inspiration. Of particular interest is the observation that the decrease in Rrs after DI is reflected in the resistance at zero flow and constant volume and in its volume dependence, and is also associated with a less negative Xrs.

Methodological Issues

A majority of studies on the bronchomotor effects of a DI in adult patients were based on the comparison of successive partial and maximal forced expiratory flows. This technique has the advantage of establishing a standard volume history; it describes the effect during 2 consecutive expirations. A meaningful interpretation of such data, however, requires good reproducibility of forced expiratory maneuvers. The technique is therefore well-suited to adult subjects, but may be less reliable in children, in whom measurements during tidal breathing are favored. Airway or respiratory resistance may be measured during a variable period of time after the DI, but may miss the effect on the first breath following the DI. In this study, the time-dependent variability of Rrs was minimized by measuring over a short period before and after a DI.

A particular problem with measurements of respiratory mechanics at high frequency in young children is related to the relatively low ratio of upper airway wall-to-respiratory impedance, which indicates significant proximal shunting of flow, particularly in the presence of airway obstruction.[19] This may lead to underestimation of both Rrs[20] and its physiological within-breath variation.[21] Upper airway wall motion was minimized here by varying pressure around the head rather than directly at the mouth.[22]

Origin of Changes Induced by DI

Changes in resistance derived from Zrs measurements at high frequency are usually assumed to reflect an alteration in airway caliber. It may be questioned which part of the airways accounts for the observed decrease. A change in glottic aperture has been demonstrated in response to a number of respiratory maneuvers.[23–25] Had the upper airways played a significant role in the response to DI, a decrease in K2 (which reflects turbulent flow regimen) would have been expected to parallel the decrease in K1. This was not the case. While there was a highly significant decrease in K1, which characterizes laminar flow, K2 did not change significantly. The change in laryngeal resistance induced by DI has been reported to depend on the degree of relaxation of the lower airways, i.e., laryngeal resistance decreases in subjects with normal

TABLE 2—Flow Dependence of Respiratory Resistance Calculated as Coefficient K2 of Eq. 1 (hPa·sec^2/L^2) Before (Pre-DI) and After Deep Inhalation (Post-DI)[1]

		Inspiration		Expiration	
Condition	n	Pre-DI	Post-DI	Pre-DI	Post-DI
Baseline	15	10.3 ± 1.2	11.7 ± 1.6	16.4 ± 1.9	20.6 ± 4.8
Methacholine	18	18.5 ± 1.4	16.4 ± 1.7	27.5 ± 3.7	22.9 ± 2.4
Bronchodilation	18	8.5 ± 0.9	10.6 ± 1.9	16.3 ± 2.8	18.8 ± 4.1

[1]Mean ± SEM. DI, deep inhalation.

TABLE 3— Volume Dependence of Respiratory Resistance Calculated as Coefficient K3 of Eq. 1 (hPa·sec/L^2) Before (Pre-DI) and After Deep Inhalation (Post-DI)[1]

		Inspiration		Expiration	
Condition	n	Pre-DI	Post-DI	Pre-DI	Post-DI
Baseline	15	−3.6 ± 0.8	−2.9 ± 1.5	−5.4 ± 1.6	−7.8 ± 2.5
Methacholine	18	−11.0 ± 1.2	−7.6 ± 0.9*	−14.6 ± 2.7	−9.2 ± 1.6**
Bronchodilation	18	−2.5 ± 0.6	−2.2 ± 0.5	−1.7 ± 1.9	−4.9 ± 1.4

[1]Mean ± SEM. DI, deep inhalation.
*$P = 0.006$ vs. pre-DI.
**$P = 0.03$ vs. pre-DI.

lung function and increases in the presence of bronchoconstriction.[25] This could have minimized the decrease in Rrs in the present study and accounted for some of the variability of the induced change in Rrs.

Several clues point toward the involvement of intrathoracic airways in the decrease in Rrs induced by DI. The decrease in volume dependence of Rrs was consistent with smaller changes in airways cross-sectional area, with stretching/unstretching of the airways during tidal breathing. This was particularly true during inspiration, when K3 was more significantly altered after the DI than during expiration. Interestingly, simultaneous measurements of respiratory-system and upper airway impedance in the cat have shown that the volume dependence of respiratory resistance was only little influenced by the upper airways during inspiration. In the same experimental study, upper airway reactance was also not affected by Mch.[15] The less negative Xrs observed after DI could thus be attributed to a mechanism occurring at the level of the intrathoracic airways, and is consistent with the decrease in resonant frequency reported after a DI in young children undergoing Mch challenge.[12]

The change in Rrs after DI observed in the present study may thus be attributed in major part to a bronchodilation. According to Froeb and Mead, this response to change in volume-history depends on the relative hysteresis of conducting airways and lung parenchyma.[26] When airway hysteresis dominates, a large inspiration results in the subsequent increase in bronchial diameter. This is expected to occur after Mch challenge, since the bronchi become markedly hysteretic during smooth muscle contraction.[27] Thus, bronchodilation is the usual volume-history response observed during Mch-induced airways obstruction in normal adult subjects or in asthmatic adults with normal baseline lung function.[8–10] DI-induced bronchodilation was also recently reported in young children with a history of recurrent wheezing when challenged with Mch.[12] Our group data after Mch challenge showed similar results. The wide RDI range indicates that the degree of bronchial relaxation was quite variable among children. The corresponding intersubject variation coefficient was 59%, and compared well with that calculated from the data of Milanese et al. (54% in girls, and 110% in boys).[12] Also consistent with the latter study was the fact that boys tended to have less bronchodilation than girls in response to the DI performed after Mch challenge. The difference did not reach statistical significance, probably because of the large intersubject variability and the comparatively small number of boys. Compared with Milanese et al.,[12] mean RDI appeared to be lower in our study, e.g., 0.307 vs. 0.720 in girls, while age (mean ± SD) appeared to be larger (7.3 ± 2.4 years vs. 5.6 ± 1.1 years), with the lowest RDI occurring in the oldest 2 children. On the other hand, in infants undergoing Mch challenge, the degree of Mch-induced bronchoconstriction (as judged from forced expiration parameters) was not found to be altered after artificially raising lung volume.[28] Thus, it is currently not known whether the characteristics of the Rrs response to lung inflation change with growth of the respiratory system. Another possible explanation to the difference in intensity of the responses between the two studies in children may be related to the change in breathing pattern and volume history during Mch administration. The flow-controlled system used in our study required a minimal inspiratory flow to trigger the nebulizer, in contrast to Milanese et al.,[12] where Mch appeard to have been administered continuously during tidal breathing.[12] In addition, most children in our study exhibited episodes of cough which triggered spontaneous deep breaths during inhalation. The return to pre-DI bronchomotor tone, as assessed from the change in specific airway conductance[13] or pulmonary resistance,[29] has been shown to occur within 1–2 min after DI in adults. Since 2–3 min elapsed before Zrs was measured, we believe that the contribution of this factor may have been marginal. However, DIs performed before inhalation of Mch have the potential to alter the degree of resulting Mch-induced bronchoconstriction in nonasthmatic subjects.[30] It is thus possible that the conditions of our challenge test may have affected the degree of induced bronchoconstriction. Diagnosis at presentation was not associated with a

particular pattern of response to DI. This could mean that some subjects with chronic cough had asthma.[31] Finally, the correlation between RDI and $PDRrs_{50}$ indicates that the degree of airway responsiveness may be important: children with strong airway hyperresponsiveness appear to have a smaller response to DI. These results compare well with the data from Parhan et al. in adult subjects.[13] In their study, the specific airway conductance response to DI during Mch challenge was found significantly larger in subjects showing FEV_1 response $<20\%$ compared to those with significant bronchial hyperresponsiveness, as defined by a FEV_1 response $>20\%$.

An increase in parenchymal hysteresis may oppose the bronchodilatory effect of DI and may result from lung tissue constriction or lung hyperinflation and loss of elastic recoil. In contrast to spontaneous bronchoconstriction in asthmatics, peripheral airway constriction is unlikely to be induced by Mch inhalation.[32] On the other hand, lung volume might well have been altered in the present study, since both Mch inhalation and DI are able to raise functional residual capacity.[32] However, we lack a systematic assessment of these changes, so that the contribution of such mechanisms could not be evaluated directly. Nonetheless, Xrs was significantly less negative after DI. This could have been the result of some degree of reversal of mechanical inhomogeneity, and/or reopening of alveolar units and hence increased volume. Given the highly statistically significant decrease in Rrs after DI, it is reasonable to assume that, as a group, the children in this study had an average change in parenchymal hysteresis that was small compared to that of the airway wall. Nonetheless, this effect could certainly have contributed to the variability of RDI among subjects.

So far, our findings have been interpreted on the basis of a change in airway caliber, although transrespiratory rather than alveolar pressure was measured. The mechanical properties of the chest wall and lung tissues are best characterized at low frequencies,[33,34] and are therefore expected to have only mild impact on Rrs above a few Herz. It is nonetheless possible that in our study where Rrs was measured at 12 Hz, the contribution of lung tissues could have been larger than in the 12–16-Hz range used by Milanese et al.[12] Furthermore, tissue resistance may also be affected by lung inflation,[33] and this contribution is expected to be frequency-dependent.

Finally, we did not demonstrate a significant effect of DI at baseline, while Milanese et al.[12] described an increase in Rrs following DI as well as after salbutamol inhalation. Although baseline FEV_1 in our subjects was in all instances $\geq 90\%$ predicted Rrs was found to fall significantly below baseline after Bronchodual inhalation, suggesting that subjects in our study might have had some basal airway obstruction. If this is correct, the constrictor response to DI expected from normal airways may not have been expressed. On the other hand, we found no significant increase in Rrs induced by DT after bronchodilator administration. Thus the reasons for the difference in responses to DI between the two studies remain unclear.

We conclude that the effect of a DI may be demonstrated in the time course of Rrs in children showing a positive airway response to Mch inhalation. The decrease in Rrs after DI may be interpreted as a result of bronchodilation, because the changes involve 1) a decrease in respiratory system resistance at FRC and zero flow, 2) volume dependence of Rrs, and 3) less negative values of Xrs. It is speculated that, because the pattern of Rrs responses to DI is related to the magnitude of airway responsiveness, it could be helpful to separate asthmatic from nonasthmatic children showing a positive response to airway challenge.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to R. Peslin, M.D., for valuable help with signal analysis and fruitful discussion, C. Choné, G. Colin, and S. Méline for technical assistance, and N. Bertin and C. Creusat for secretarial assistance.

REFERENCES

1. Brown IG, Zamel N, Hoffstein V. Pharyngeal and glottis changes following methacholine challenge in normal subjects. Bull Eur Physiopathol Respir 1986;22:251–256.
2. Collett PW, Brancatisano T, Engel LA. Changes in the glottic aperture during bronchial asthma. Am Rev Respir Dis 1983; 128:719–723.
3. England SJ, Ho V, Zamel N. Laryngeal constriction in normal humans during experimentally induced bronchoconstriction. J Appl Physiol 1985;58:352–356.
4. Higgenbottam T. Narrowing of glottis opening in humans associated with experimentally induced bronchoconstriction. J Appl Physiol 1980;49:403–407.
5. Shindoh C, Sekizawa K, Hida W, Sasaki H, Takishima T. Upper airway response during bronchoprovocation and asthma attack. Am Rev Respir Dis 1985;132:671–678.
6. Black KR, Suki B, Madwed JB, Jackson AC. Airway resistance and tissue elastance from input or transfer impedance in bronchoconstricted monkeys. J Appl Physiol 2001;90:571–578.
7. Peslin R, Ying Y, Gallina C, Duvivier C. Within-breath variations of forced oscillation resistance in healthy subjects. Eur Respir J 1992;5:86–92.
8. Wheatley JR, Paré PD, Engel LA. Reversibility of induced bronchoconstriction by deep inspiration in asthmatic and normal subjects. Eur Respir J 1989;2:331–339.
9. Burns CB, Taylor WR, Ingram RH. Effects of deep inhalation in asthma: relative airway and parenchymal hysteresis. J Appl Physiol 1985;59:1590–1596.
10. Lim TK, Pride NB, Ingram RH. Effects of volume history during spontaneous and acutely induced air-flow obstruction in asthma. Am Rev Respir Dis 1987;135:591–596.
11. Pellegrino R, Sterk PJ, Sont JK, Brusasco V. Assessing the effect of deep inhalation on airway calibre: a novel approach to lung function in bronchial asthma and COPD. Eur Respir J 1998;12: 1219–1227.

12. Milanese M, Mondino C, Tosca M, Canonica GW, Brusasco V. Modulation of airway caliber by deep inhalation in children. J Appl Physiol 2000;88:1259–1264.
13. Parhan WM, Shepard RH, Norman PS, Fish JE. Analysis of time course and magnitude of lung inflation effects on airway tone: relation to airway reactivity. Am Rev Respir Dis 1983;128:240–245.
14. Marchal F, Loos N, Monin P, Peslin R. Methacholine-induced volume dependence of respiratory resistance in preschool children. Eur Respir J 1999;14:1167—1174.
15. Loos N, Peslin R, Marchal F. Respiratory and upper airways impedance responses to methacholine inhalation in spontaneously breathing cats. Eur Respir J 2000;15:1001–1008.
16. Mazurek H, Willim G, Marchal F, Haluszka J, Tomalak W. Input respiratory impedance measured by head generator in preschool children. Pediatr Pulmonol 2000;30:47–55.
17. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. Am Rev Respir Dis 1983;127:725–734.
18. Peslin R, Marchal F, Duvivier C, Ying Y, Gallina C. Evaluation of a modified head generator for respiratory impedance measurement. Eur Respir Rev 1991;1:140–145.
19. Cauberghs M, van de Woestijne KP. Effect of upper airway shunt and series properties on respiratory impedance measurements. J Appl Physiol 1989;66:2274–2279.
20. Marchal F, Mazurek H, Habib M, Duvivier C, Derelle J, Peslin R. Input respiratory impedance to estimate airway hyperreactivity in children: standard method versus head generator. Eur Respir J 1994;7:601–607.
21. Cauberghs M, van de Woestijne KP. Changes of respiratory input impedance during breathing in humans. J Appl Physiol 1992;73: 2355–2362.
22. Peslin R, Duvivier C, Didelon J, Gallina C. Respiratory impedance measured with head generator to minimize upper airway shunt. J Appl Physiol 1985;59:1790–1795.
23. Stanescu DC, Pattijn J, Clément J, van de Woestijne KP. Glottis opening and airway resistance. J Appl Physiol 1972;32:460–466.
24. Clément J, Stanescu DC, van de Woestijne KP. Glottis opening and effort-dependent part of the isovolume pressure-flow curves. J Appl Physiol 1973;34:18–22.
25. Sekizawa K, Yanal M, Sasaki H, Takishima T. Effect of a previous voluntary deep breath on laryngeal resistance in normal and asthmatic subjects. J Appl Physiol 1987;63:1406–1412.
26. Froeb HF, Mead J. Relative hysteresis of the dead space and lung in vivo. J Appl Physiol 1968;25:244–248.
27. Sasaki H, Hoppin FG. Hysteresis of contracted airway smooth muscle. J Appl Physiol 1979;47:1251–1262.
28. Hayden MJ, Devadason SG, Sly PD, Wildhaber JH, Lesouëf PN. Methacholine responsiveness using the raised volume forced expiration technique in infants. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155:1670–1675.
29. Pellegrino R, Wilson O, Jenouri G, Rodarte JR. Lung mechanics during induced bronchoconstriction. J Appl Physiol 1996;81: 964–975.
30. Kapsali T, Permutt S, Laube B, Scichilone N, Togias A. Potent bronchoprotective effect of deep inspiration and its absence in asthma. J Appl Physiol 2000;89:711–720.
31. Chang AB. Cough, cough receptors, and asthma in children. Pediatr Pulmonol 1999;28:59–70.
32. Pellegrino R, Brusasco V. On the causes of lung hyperinflation during bronchoconstriction. Eur Respir J 1997;10:468–475.
33. Ludwig MS, Dreshaj I, Solway J, Munoz A, Ingram RH. Partitioning of pulmonary resistance during constriction in the dog: effects of volume history. J Appl Physiol 1987;62:807–815.
34. Hantos Z, Adamicza A, Govaerts E, Daroczy B. Mechanical impedances of lungs and chest wall in the cat. J Appl Physiol 1992;73:427–433.

Eur Respir J 2002; 19: 1020–1025
DOI: 10.1183/09031936.02.00992001
Printed in UK – all rights reserved

Copyright ©ERS Journals Ltd 2002
European Respiratory Journal
ISSN 0903-1936

Respiratory impedance response to a deep inhalation in asthmatic children with spontaneous airway obstruction

C. Schweitzer, C. Moreau-Colson, F. Marchal

Respiratory impedance response to a deep inhalation in asthmatic children with spontaneous airway obstruction. C. Schweitzer, C. Moreau-Colson, F. Marchal. ©ERS Journals Ltd 2002.

ABSTRACT: The aim of the study was to determine whether the bronchomotor effect of a deep inhalation (DI) may be detected during tidal breathing in asthmatic children with spontaneous airway obstruction (AO).

Two groups of children aged 5–15 yrs were studied. AO was mild in group 1 (n=12, forced expiratory volume in one second (FEV1) ≥75% predicted) and moderate-to-severe in group 2 (n=9, FEV1 ≤70% pred). The forced oscillation technique at 12 Hz using a head generator allowed the determination of respiratory resistance in inspiration (R_{rsi}) and expiration (R_{rse}) before and after DI, at baseline and after salbutamol.

At baseline, R_{rsi} but not R_{rse} was found to decrease significantly after DI in group 1 but not in group 2. The change induced by DI was significantly different in group 1 (-1.5±0.5 hPa·s·L^{-1}) compared to group 2 (0.5±0.5 hPa·s·L^{-1}) and exhibited significant negative correlation to FEV1 % pred. After salbutamol, DI had no effect.

In conclusion, asthmatic children show a bronchomotor response to deep inhalation that depends on the degree of airway obstruction. The effect is more readily demonstrated in inspiration than in expiration.

Eur Respir J 2002; 19: 1020–1025.

Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre, France.

Correspondence: F. Marchal, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, Avenue de la Forêt de Haye, F-54505, Vandoeuvre les Nancy, France.
Fax: 33 383592726
E-mail: f.marchal@chu-nancy.fr

Keywords: Asthma, deep inhalation, forced oscillation technique, head generator, paediatric lung function, respiratory resistance and reactance

Received: July 6 2001
Accepted after revision January 12 2002

This study was supported by EA 3450 "Interactions des systèmes de régulation respiratoire chez l'adulte et l'enfant".

The effect of deep inhalation (DI) may be of particular relevance to the study of respiratory function in subjects with diseased airways, as it may provide indications relative to the mechanisms of airway obstruction (AO) [1, 2]. The consequence of DI on airway mechanics appears to be determined mainly by the hysteresis of conducting airways relative to that of lung tissues [3]. Hysteresis is the looping on the transmural pressure-volume relationship, a mechanical characteristic of structures with imperfect elasticity. According to FROEB and MEAD [3], bronchodilation will occur after DI if bronchial hysteresis prevails. Airway smooth muscle tone is a major determinant of the effect of a DI and acute bronchoconstriction has been shown to increase bronchial hysteresis [4]. Thus, normal subjects or asthmatics with normal lung function challenged with methacholine, usually bronchodilate, in response to DI [5]. Conversely, asthmatics with spontaneous airway obstruction may show more complex mechanical changes. As a result of various factors such as airway or lung inflammation, airway closure and/or constriction of small airways, parenchymal hysteresis may prevail over airway hysteresis [1]. These patients therefore frequently demonstrate a bronchoconstrictor response to DI [1, 2].

In contrast to the large number of studies on the effects of volume history on lung mechanics in adult subjects [6, 7], little data are available in children. In adults, the effect is usually assessed from successive partial and maximal forced expirations. The skill required to perform this manoeuvre frequently precludes its use in children. An alternative is the forced oscillation technique, which can be used to measure the respiratory resistance (R_{rs}) during tidal breathing. The bronchodilatory effect of DI has thus been demonstrated in children challenged with methacholine [8, 9]. Symptomatic asthma may be responsible for a different respiratory response to DI, but this hypothesis has received little attention in children. The aim of this study was to describe the effect of a DI on respiratory impedance in asthmatic children with spontaneous AO.

Material and methods

Patients

Twenty-one asthmatic children (13 males) aged 5–15 yrs, referred to the laboratory for lung function testing, were included in the study on the basis of a spontaneous AO. The subjects were separated into two groups according to the severity of AO. Group 1 included twelve children with mild AO, *i.e.* baseline forced expiratory volume in one second (FEV1) was

$\geqslant$75% predicted [10]. Five of them were on inhaled steroids. Group 2 included nine children with moderate-to-severe AO, *i.e.* their baseline FEV1 was $\geqslant$70% pred. Five subjects were on inhaled steroids. β-Agonist medications were discontinued $\geqslant$12 h prior to the measurements. The two groups had similar anthropometric characteristics. Baseline FEV1 and maximum midexpiratory flow (MMEF) were obviously significantly larger in group 1 than in group 2 ($p<0.001$, table 1).

Measurement of respiratory impedance

The apparatus for the measurement of respiratory impedance (Z_{rs}) (Pulmosfor, SEFAM, Vandoeuvre les Nancy, France) has been described in detail previously [11], except for significant modification of the software for more convenient use and improved handling of data. Briefly, the input pressure was delivered by a loud-speaker around the subject's head enclosed in a canopy (head generator technique). Pressure difference and hence flow across the upper airway wall were thus significantly reduced. An acquisition period lasted 30–50 s during which sinusoidal pressure was applied at 12 Hz. The children wore nose clips and breathed through a mouthpiece connected to a Fleisch no 1 pneumotachograph (Metabo, Hepalinges, Switzerland) attached to a differential pressure transducer (Micro 176PC14HD2, Honeywell±35 hPa; Scarborough, Ontario, Canada). The common mode rejection ratio of the flow channel was >60 dB at 12 Hz. The input pressure was measured with an identical transducer, matched to the first within 1% of amplitude and 2° of phase $\leqslant$32 Hz. Pressure and flow signals were low-pass filtered at 32 Hz using analog filters and digitized at a sampling rate of 192 Hz. The breathing component in the signals was eliminated using a 4th order Butterworth high-pass filter with a corner frequency of 6 Hz. The signals were analysed oscillation cycle per oscillation cycle providing 12 measurements per second. Fourier coefficients of pressure and flow at 12 Hz were computed and combined to obtain R_{rs} and respiratory reactance (X_{rs}). A correction was applied for the 2.1 ms time constant of the pneumotachograph. Noisy data were finally eliminated by filtering out Z_{rs} values lying outside the 99% confidence interval, *i.e.* lower or higher than the mean±3SD. The procedure was repeated 3 times. After each acquisition, time courses of tidal flow and volume, R_{rs} and X_{rs} were displayed on the computer screen. Recordings showing marked irregular breathing or evidence of glottic closure were discarded.

Measurement of forced expiratory volume in one second

FEV1 was measured using an electronic flow meter (Masterscope Erich Jaeger GmbH, Würtzburg, Germany). Forced expiratory manoeuvres were repeated up to five times and the flow/volume curve with the highest sum forced vital capacity+ FEV1 was retained. In order to avoid change in volume history immediately prior to studying the effect of DI, measurements of FEV1 were, in all instances, obtained following Z_{rs}.

Drug administration

Reversibility of AO was induced by administering two puffs of salbutamol (Ventoline®, 100 μg·puff^{-1}) through a nonelectrostatic inhalation chamber (Nes-Spacer, AstraZeneca, Lund, Sweden). The drug delivery system was triggered while the child started to inhale slowly from the chamber. The subject was then asked to hold their breath for 5 s at end inspiration. Normal breathing was resumed for a few seconds and the second puff was delivered in the same manner. Z_{rs} and FEV1 measurements were repeated 10 min thereafter.

Data analysis

At baseline and after salbutamol, a first acquisition period was obtained. A second acquisition followed immediately, during which the child was asked to take a deep breath. The data were retained when the corresponding volume was at least twice as large as average tidal volume. Three respiratory cycles were analysed before (preDI) and three after DI (postDI). The visual inspection of flow and volume tracings allowed the selection of breathing cycles, usually skipping the first breath immediately after the DI. On both preDI and postDI epochs, mean R_{rs} was calculated in inspiration (R_{rsi}) and expiration (R_{rse}) as well as mean X_{rs} for the whole respiratory cycle. The magnitude of the Rrs response to DI was expressed by the difference between post and preDI R_{rsi} (ΔR_{rsi}).

To assess the effects of degree of airway obstruction, DI and bronchodilation, an analysis of variance (ANOVA) design with two repetitions (DI and salbutamol) and one factor (FEV1 $\leqslant$70% or $\geqslant$75%) was used. When a F ratio indicated a significant effect, a paired t-test was used to locate the difference more precisely. Standard linear regression analysis was used to evaluate the relationship between degree of airway obstruction and change in R_{rsi} induced by DI.

Table 1.–Characteristics of children with mild (group 1) and moderate-to-severe (group 2) airway obstruction

Group	Subjects	Sex M:F	Age yrs	Height m	FEV1 % pred	MMEF % pred
1	12	7:5	9.1±0.8	1.34±0.05	85±1	52±3
2	9	6:3	8.8±1.5	1.35±0.07	58±5***	26±5***

Data are presented as mean±SEM. FEV1: forced expiratory volume in one second; M: male; F: female; MMEF: maximum midexpiratory flow. ***: $p<0.01$ *versus* corresponding value in group 1.

A p-value <0.05 was used to define statistical significance. Data are expressed as mean±SEM.

Results

ANOVA showed that: 1) R_{rsi}, R_{rse} and X_{rs} were all significantly altered by salbutamol ($p<0.002$), 2) X_{rs} was significantly different between patient groups ($p=0.005$) and 3) significant interaction on R_{rsi} was demonstrated for patient groups (*i.e.* degree of AO), DI and salbutamol ($p<0.04$).

At baseline, there was no significant difference in R_{rsi} or R_{rse} between group 1 and 2 (table 2 and 3), while X_{rs} was significantly lower in group 2 than in group 1 ($p<0.02$, table 4). Patterns of response to DI are illustrated in figures 1 and 2. Recordings were taken from one patient in each group. The DI induced a significant decrease in R_{rsi} in group 1 ($p=0.01$, table 2), while the change in R_{rse} did not reach statistical significance ($p=0.08$, table 3). There was no significant change in X_{rs} (table 4). In group 2, neither R_{rsi}, R_{rse} nor X_{rs} were significantly different before and after DI (table 2–4). Interestingly, it was also found that, in contrast with the preDI value, postDI R_{rsi} was significantly lower in group 1 than in group 2 ($p=0.05$, table 2).

Table 2.–Respiratory resistance in inspiration (R_{rsi}) in children with mild (group 1) and moderate-to-severe (group 2) airway obstruction before (pre) and after (post) deep inhalation (DI)

Group	Subjects n	R_{rsi} hPa·s·L^{-1}	
		Baseline	Salbutamol
1	12		
preDI		10.5±1.2	5.9±0.6***
postDI		9.0±0.9#	5.7±0.6***
2	9		
preDI		12.5±1.6	6.8±1.0***
postDI		13.0±1.9¶	7.0±1.1***

Data are presented as mean±SEM. ***: $p<0.001$ *versus* corresponding baseline; #: $p=0.01$ *versus* preDI; ¶: $p=0.05$ *versus* group 1.

Table 3.–Respiratory resistance in expiration (R_{rse}) in children with mild (group 1) and moderate-to-severe (group 2) airway obstruction before (pre) and after (post) deep inhalation (DI)

Group	Subjects n	R_{rse} hPa·s·L^{-1}	
		Baseline	Salbutamol
1	12		
preDI		12.2±1.7	7.2±0.8#
postDI		10.7±1.3	7.1±0.9#
2	9		
preDI		14.3±1.8	8.6±1.2#
postDI		14.5±2.1	8.4±1.2#

Data are presented as mean±SEM. #: $p<0.005$ *versus* corresponding baseline.

Table 4.–Respiratory reactance (X_{rs}) in children with mild (group 1) and moderate-to-severe (group 2) airway obstruction before (pre) and after (post) deep inhalation (DI)

Group	Subjects n	X_{rs} hPa·s·L^{-1}	
		Baseline	Salbutamol
1	12		
preDI		0.8±0.4	1.4±0.1
postDI		1.1±0.2	1.5±0.1
2	9		
preDI		-1.0±0.6¶	0.8±0.2#,¶
postDI		-0.9±0.8¶	0.7±0.3#,¶

Data are presented as mean±SEM. #: $p<0.03$ *versus* corresponding baseline; ¶: $p<0.02$ *versus* group 1.

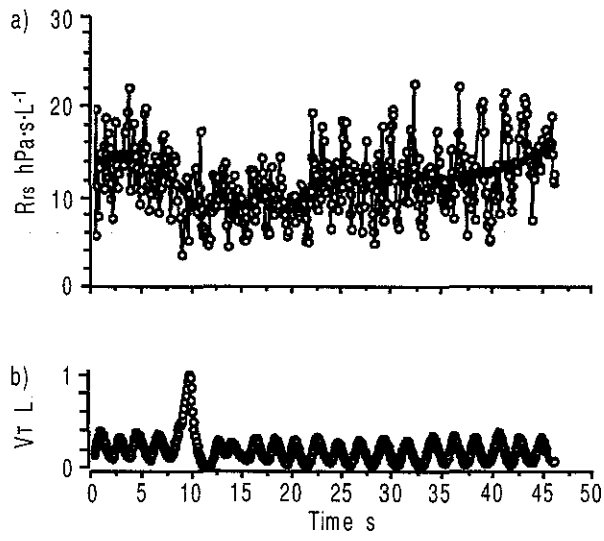


Fig. 1.–Time course of a) respiratory resistance (R_{rs}) and b) tidal volume (V_T) during a deep inhalation (DI) in an asthmatic child with mild airway obstruction (baseline forced expiratory volume in one second 87% pred). Each dot on the R_{rs} plot corresponds to one oscillation cycle. Most of the instantaneous variations of R_{rs} are related to respiratory flow. The continuous line corresponds to the smoothed data and shows that DI is associated with a transient drop in R_{rs} which then returns progressively back to baseline within 30 s.

ΔR_{rsi} was found to be significantly different between groups *i.e.* negative in group 1 (-1.5±0.5 hPa·s·L^{-1}) but not in group 2 (0.5±0.5 hPa·s·L^{-1}, $p=0.02$). Studying the relationship between the degree of AO and the response to DI during AO disclosed a significant correlation between FEV_1 % pred and ΔR_{rsi} ($p=0.02$, fig 3). A similar relationship was found between ΔR_{rsi} and MMEF % pred ($p=0.06$), but this did not reach statistical significance.

After salbutamol, FEV_1 increased significantly, from 1.6±0.1 L to 1.9±0.2 L in group 1 ($p<0.001$) and from 1.1±0.2 L to 1.6±0.3 L in group 2 ($p<0.004$). In both groups, R_{rsi} and R_{rse} decreased significantly ($p<0.005$), while X_{rs} did not change in group 1 ($p=0.1$) and increased in group 2 ($p=0.03$)

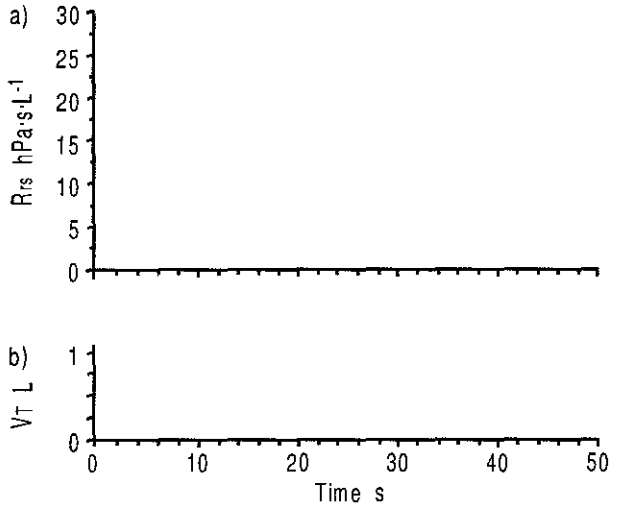


Fig. 2.–Time course of a) respiratory resistance (R_{rs}) and b) tidal volume (V_T) during a deep inhalation (DI) in an asthmatic child with severe airway obstruction (baseline forced expiratory volume in one second 34% pred). The deep inhalation is followed by an increase in R_{rs} which then decreases progressively back toward baseline.

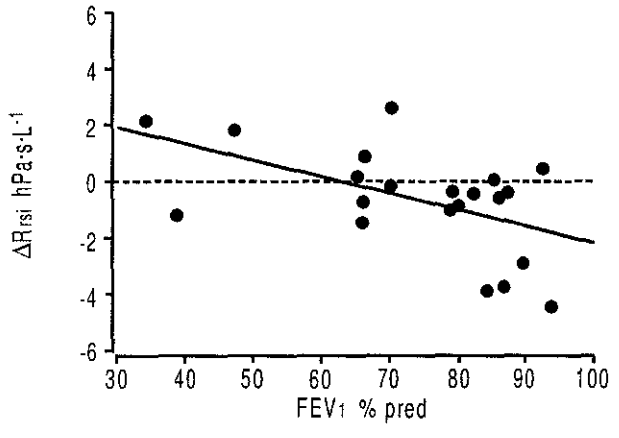


Fig. 3.–The magnitude of the change in inspiratory resistance (R_{rsi}) induced by deep inhalation shows significant correlation to the degree of baseline airway obstruction expressed as forced expiratory volume in one second (FEV_1) % pred (p=0.02). Negative values of ΔR_{rsi} indicate bronchodilation.

(tables 2–4). Neither R_{rsi} nor R_{rse} were found to be different between groups (table 2 and 3), but X_{rs} was still lower in group 2 than in group 1 after salbutamol (p=0.02, table 4). DI induced no significant change in any parameter in either group (table 2–4).

Discussion

To summarize, in this population of young asthmatics the response pattern to DI appears to be dependent on the severity of spontaneous AO. Children with mild AO show a significant decrease in R_{rsi} after DI while those with moderate-to-severe AO show either no improvement or worsening.

Methodological issues

Comparing flows resulting from consecutive partial and maximal forced expiratory manoeuvres is viewed as the gold standard for studying airway mechanics in relation to volume history [6, 7]. Measurement of Z_{rs} does not require active cooperation and is therefore particularly adapted to children. Relatively high excitation frequencies are necessary because of the harmonic content of respiratory flow in children and, in the authors' experience, reliable data are difficult to obtain <10 Hz. A study of Z_{rs} using multiple frequency input signals in a normal population of children showed that a coherence function $\geqslant 0.95$ could be obtained in all cases $\geqslant 12$ Hz [12]. The drawback of high-frequency pressure oscillations is the potential source of error related to the proximal shunting of airway flow, which may be particularly significant in children with AO [13, 14]. Upper airway wall motion was minimized in this study by varying transrespiratory pressure around the subject's head thereby reducing the pressure difference across the cheeks [15].

The analysis of maximal/partial forced expiratory flows allows a single-breath evaluation of the effects of DI, while measurements of Z_{rs} must be performed over a number of breaths to provide meaningfully interpretable data. Because the bronchodilatory effect of DI has been reported to subside with a *circa* 11 s time constant in adults [16], the analysis was limited to three breaths taken shortly after the DI in order to minimize the effect of time. The relationship between ΔRrsi and FEV_1 in children (fig. 3) was consistent with previous reports on maximal/partial expiratory flow manoeuvres in adults where the magnitude of the bronchodilator effect of DI was inversely related to the severity of spontaneous AO [2]. Thus the authors believe that the measuring conditions in this study were optimal for detecting respiratory mechanical events directly associated with the DI.

Lung function in groups 1 and 2

It may be surprising that in two groups of patients with different FEV_1, baseline R_{rs} was not significantly different. In both groups, there was a marked fall in R_{rs} after salbutamol, indicating that baseline values were clearly abnormal. Forced expiration and tidal breathing are two different patterns during which findings relative to AO may not be parallel. During a forced expiratory manoeuvre, and in contrast to tidal breathing, reflex abduction of the larynx minimizes the contribution of the upper airways [17] and decreased FEV_1 is usually taken as an indication of flow limitation in the intrathoracic airways. This may not necessarily reflect an increase in the resistance of the whole airway tree, to which the pharynx and larynx contribute significantly, with subsequent effect on R_{rs}. Nevertheless, it is worth noting that after DI a significant difference in baseline R_{rs} was observed between the 2 groups. There are further indications, in keeping with the lower FEV_1, that abnormalities of

intrathoracic airways were more significant in group 2 than in group 1. X_{rs} was clearly abnormal in the group with severe AO with reference to normative values in children (about +1 $hPa \cdot s \cdot L^{-1}$ at 12 Hz) [12] and was also significantly lower than in group 1. The negative X_{rs} may reflect increased apparent respiratory elastance due, for instance, to nonhomogeneous behaviour of the respiratory system [18] and was significantly increased from baseline after salbutamol. In group 1, X_{rs} was positive, expressing dominant airway inertance at that frequency and was unaffected by salbutamol. As a result, X_{rs} was still significantly lower in group 2 than in group 1 after bronchodilator inhalation. Therefore, the findings in group 2 are consistent with moderate-to-severe AO associated with an increase in apparent respiratory elastance being partly reversed by the bronchodilator.

Effects of deep inhalation

The decrease in R_{rs} after DI in group 1 was found to be significant in inspiration but not in expiration. It has been shown in humans that during tidal expiration, progressive glottis closure usually occurs in parallel with the decrease in volume [19]. Closure of the glottis associated with bronchoconstriction [20–22] is also more prominent in expiration than in inspiration [22]. Furthermore, evidence has been provided that laryngeal resistance may be altered by DI, the direction of the change depending on the presence of an AO. After DI, laryngeal resistance was decreased in normal subjects and stable asthmatics, and increased in normal subjects with methacholine induced bronchoconstriction as well as in asthmatics during asthma attack [23]. Such an increase in laryngeal resistance in response to DI would be more effective in increasing R_{rs} in expiration than in inspiration, thus minimizing the expression in R_{rse} of the bronchodilatory effect of DI.

Results obtained from group 1 are consistent with the study by MILANESE *et al.* [8], where spontaneous AO was suspected in nine preschool children on the basis of a reduction in R_{rs} >30% after salbutamol. MILANESE *et al.* [8] showed significant decrease in R_{rs} after DI and no change in resonant frequency at baseline. Although FEV1 was not measured, the response resembles that observed in subjects from group 1 of the present study, where R_{rsi} was significantly decreased after DI but X_{rs} was unchanged. However, the data on salbutamol differ between the two studies, in that MILANESE *et al.* [8] described a significant increase in R_{rs} after DI, while no significant variation was found in the present study (tables 2–4). It should be noted that the characteristics of the two populations were different. The former study included only preschool children while the present study included both preschool and school-age children. This may be of particular relevance since a recent report on the bronchodilator response to DI in asthmatics with varying degrees of AO described a significant inverse relationship between the magnitude of this response and age [24]. In addition, MILANESE *et al.* [8] studied children with recurrent wheezing, requiring only short acting β-agonists on an as-necessary basis [8], while some of the asthmatic children in the present study required inhaled steroids and/or presented with significant underlying respiratory disease. In this regard, it is worth noting that, after salbutamol, X_{rs} was still significantly lower in group 2 than in group 1.

In group 2, data are clearly different from prior observations in children where AO was acutely induced by methacholine inhalation [8, 9] and where both the increase in R_{rs} and the decrease in X_{rs} were found to be significantly reversed by DI [9]. The interpretation was that, in the context of an acute bronchoconstriction, airway hysteresis was likely to be increased and DI would promote bronchodilation [3, 6, 7]. Conversely, the lack of increase in R_{rs} and decrease in X_{rs} in subjects in the present study may indicate that the effect of DI on airway hysteresis was counteracted by an increase in parenchymal hysteresis. Lung hyperinflation is a common finding of chronic asthma [25]. It may be important in determining the response to DI, since it may be associated with increased hysteresis of lung tissues which favours a bronchoconstrictor response to DI. The present study lacked a systematic estimation of total lung capacity to evaluate the contribution of this mechanism. It is also possible that constriction taking place distal to the respiratory bronchioles could induce an increase in parenchymal hysteresis [1]. Another possible explanation is that inflammation and oedema within the airway wall decreases elastic load on intraparenchymatous airways leading to less interdependence between these airways and lung tissues [26]. However, figure 2, which indicates bronchoconstriction after DI, does not favour this hypothesis since a significant decrease in R_{rs} occurs during the inspiratory manoeuvre, suggesting some degree of interdependence between lung parenchyma and conducting airways.

In conclusion, in this population of asthmatic children, the bronchomotor effect of deep inhalation may be demonstrated by measuring respiratory resistance with the forced oscillation technique. Bronchodilation appears to be more readily detected in inspiration than in expiration in subjects with mild airway obstruction, but not in those with moderate-to-severe airway obstruction. The magnitude of change in respiratory resistance in inspiration induced by deep inhalation is inversely related to the degree of baseline airway obstruction. Deep inhalation has no effect on respiratory reactance which nonetheless appears to differentiate mild airway obstruction from moderate-to-severe airway obstruction and to be readily sensitive to salbutamol in the latter group. Further studies are needed to assess the usefulness of the respiratory resistance response to deep inhalation in characterising airway disease in children.

Acknowledgements. The authors are grateful to B. Chalon, C. Choné, G. Colin and S. Méline for technical assistance, N. Bertin and C. Creusat for secretarial help and R. Peslin for fruitful discussion.

References

1. Burns CB, Taylor WR, Ingram RH. Effects of deep inhalation in asthma: relative airway and parenchymal hysteresis. *J Appl Physiol* 1985; 59: 1590–1596.
2. Lim TK, Pride NB, Ingram RH. Effects of volume history during spontaneous and acutely induced airflow obstruction in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 591–596.
3. Froeb HF, Mead J. Relative hysteresis of the dead space and lung *in vivo*. *J Appl Physiol* 1968; 25: 244–248.
4. Sasaki H, Hoppin FG. Hysteresis of contracted airway smooth muscle. *J Appl Physiol* 1979; 47: 1251–1262.
5. Fish JE, Ankin MG, Kelly JF, Peterman VI. Regulation of bronchomotor tone by lung inflation in asthmatic and nonasthmatic subjects. *J Appl Physiol* 1981; 50: 1079–1086.
6. Ingram RH. Relationship among airway-parenchymal interactions, lung responsiveness, and inflammation in asthma. *Chest* 1995; 107: 148s–152s.
7. Pellegrino R, Sterk PJ, Sont JK, Brusasco V. Assessing the effect of deep inhalation on airway calibre: a novel approach to lung function in bronchial asthma and COPD. *Eur Respir J* 1998; 12: 1219–1227.
8. Milanese M, Mondino C, Tosca M, Canonica GW, Brusasco V. Modulation of airway caliber by deep inhalation in children. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1259–1264.
9. Marchal F, Schweitzer C, Moreau-Colson C. Respiratory impedance response to a deep inhalation in children. *Pediatr Pulmonol* 2002 (in press).
10. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 725–734.
11. Peslin R, Marchal F, Duvivier C, Ying Y, Gallina C. Evaluation of a modified head generator for respiratory impedance measurement. *Eur Respir Rev* 1991; 1: 140–145.
12. Mazurek H, Willim G, Marchal F, Haluszka J, Tomalak W. Input respiratory impedance measured by head generator in preschool children. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30: 47–55.
13. Cauberghs M, van de Woestijne KP. Effect of upper airway shunt and series properties on respiratory impedance measurements. *J Appl Physiol* 1989; 66: 2274–2279.
14. Marchal F, Mazurek H, Habib M, Duvivier C, Derelle J, Peslin R. Input respiratory impedance to estimate airway hyperreactivity in children: standard method *versus* head generator. *Eur Respir J* 1994; 7: 601–607.
15. Peslin R, Duvivier C, Didelon J, Gallina C. Respiratory impedance measured with head generator to minimize upper airway shunt. *J Appl Physiol* 1985; 59: 1790–1795.
16. Parham WM, Shepard RH, Norman PS, Fish JE. Analysis of time course and magnitude of lung inflation effects on airway tone: relation to airway reactivity. *Am Rev Respir Crit Care Med* 1983; 128: 240–245.
17. Clément J, Stanescu DC, van de Woestijne KP. Glottis opening and effort-dependent part of the isovolume pressure-flow curves. *J Appl Physiol* 1973; 34: 18–22.
18. Peslin R, Fredberg JJ. Oscillation mechanics of the respiratory system. *In*: Fishman PA, Macklem PT, Mead J, eds. Handbook of Physiology. The respiratory system. Mechanics of breathing. Baltimore, William & Wilkins, 1986; pp. 145–177.
19. Brancatisano T, Dodd D, Engel LA. Factors influencing glottic dimensions during forced expiration. *J Appl Physiol* 1983; 55: 1825–1829.
20. England SJ, Ho V, Zamel N. Laryngeal constriction in normal humans during experimentally induced bronchoconstriction. *J Appl Physiol* 1985; 58: 352–356.
21. Higgenbottam T. Narrowing of glottis opening in humans associated with experimentally induced bronchoconstriction *J Appl Physiol* 1980; 49: 403–407.
22. Collett PW, Brancatisano T, Engel LA. Changes in the glottic aperture during bronchial asthma. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 719–723.
23. Sekizawa K, Yanal M, Sasaki H, Takishima T. Effect of a previous voluntary deep breath on laryngeal resistance in normal and asthmatic subjects. *J Appl Physiol* 1987; 63: 1406–1412.
24. Pacini F, Filippelli M, Duranti R, *et al.* Reduction in bronchodilation following a deep inhalation is poorly related to airway inflammation in asthma. *Eur Respir J* 1999; 14: 1055–1060.
25. Pellegrino R, Brusasco V. On the causes of lung hyperinflation during bronchoconstriction. *Eur Respir J* 1997; 10: 468–475.
26. Macklem PT. A theoretical analysis of the effect of airway smooth muscle load on airway narrowing. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 83–89.

Respiratory Medicine (2003) 97, 921–927



ELSEVIER

respiratoryMEDICINE

Respiratory conductance response to a deep inhalation in children with exercise-induced bronchoconstriction

François Marchal*, Cyril Schweitzer, Samih Khallouf

Service d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre, France

KEYWORDS
Paediatric lung function testing;
Respiratory system impedance;
Resistance and conductance;
Forced oscillation technique;
Exercise induced asthma and bronchoconstriction;
Exercise challenge;
Forced expiratory volume in 1 second;
Deep inhalation children

Summary Airway response to deep inhalation (DI) may provide information relevant to the mechanisms of airway obstruction (AO). The hypothesis examined here is that DI provokes bronchodilation in children during exercise-induced bronchoconstriction (EIB). EIB was attested in 15 children aged 10 ± 3 year (mean$\pm$SD) by a decrease in forced expiratory volume in 1 s (FEV_1) $\geqslant 15\%$ from baseline after a free running test. The respiratory resistance was measured by the forced oscillation technique at 12 Hz using a head generator to vary transrespiratory pressure around the head. The airway response to DI was estimated by the effect on respiratory conductance (Grs), calculated as the reciprocal of respiratory resistance in inspiration. During EIB, DI induced a variable but significant increase in Grs, from 0.085 ± 0.023 to 0.101 ± 0.029 l hPa^{-1} s^{-1} ($P = 0.0003$). The post- to pre-DI Grs ratio (1.19 ± 0.14) was found to correlate negatively with EIB-induced reduction in FEV_1 ($P = 0.02$), forced vital capacity (FVC) ($P = 0.01$) but not FEV_1/FVC, i.e., DI induced more bronchodilation in those children with small EIB associated reduction in FVC. It is concluded that the bronchodilator effect of DI may be demonstrated in children with EIB. It is suggested that the associated small airway closure and lung hyperinflation may contribute to limit this response to DI.
© 2003 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Introduction

There is a need to develop lung function tests that may help to identify the mechanisms of airway obstruction (AO) in childhood asthma. Evaluating the effects of a deep inhalation (DI) on airway calibre may provide information relevant to such mechanisms.[1] In normal subjects at baseline, DI has been shown to have no systematic effects on airway resistance[2] or to induce slight bronchodilation.[3] On the other hand, significant bronchodilation is the usual response during methacholine or histamine challenge in control subjects and asthmatics with normal lung function.[2,4–6] In contrast, no change in- or worsening of AO may be observed during a spontaneous asthma attack.[5] The net effect of DI is attributed to the mechanical coupling between conducting airways and lung parenchyma[1,7,8] and factors such as bronchial and peripheral AO and inflammation have been proposed to be determinant to the response to DI.[8,9] Exercise-induced bronchoconstriction (EIB) is a common cause of childhood asthma but little is known regarding the effects of a DI in this condition. The information is of interest because the mechanisms that induce AO are quite different from those responsible for spontaneous asthma attack or for the airway response to methacholine challenge.[10–12]

*Corresponding author: Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, Avenue de la Forêt de Haye, Vandoeuvre les Nancy F-54505, France. Tel.: +33-3-83-68-37-45; fax: +33-3-83-68-37-39.
E-mail address: f.marchal@chu-nancy.fr (F. Marchal).

0954-6111/03/$ - see front matter © 2003 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/S0954-6111(03)00117-3

The bulk of studies on bronchomotor effects of DI in adults are based on the comparison of forced expiratory flows obtained during consecutive partial and maximal manoeuvres.[1] Children who may have difficulties in performing such manoeuvres reproducibly may benefit from methods requiring minimal cooperation, such as measurements of specific airway conductance,[4,13] lung resistance[6,14–16] or respiratory system resistance.[17–19] In acute AO induced by methacholine inhalation in symptom free pre-school children with a history of wheeze[17] or in children with asthma or chronic cough and normal lung function[18] the DI has been shown to promote bronchodilation. In the presence of spontaneous obstruction, some degree of reversibility by DI has been demonstrated in children with moderate AO while those with mild to severe AO show either no effect or airway narrowing.[19]

The aim of this study was to describe the airway response to DI in children with EIB, in the clinical setting of the paediatric lung function lab. Airway function during DI was monitored using the forced oscillation technique.

Material and methods

Subjects

Fifteen asthmatic children (11 boys) aged 5–16 year (mean $\pm$SD: 10$\pm$3) were referred to the laboratory for lung function testing. Body height was 1.39$\pm$0.14 m. Criteria for inclusion in the study were positive airway response to exercise challenge and successful DI manoeuvre, as explained in the protocol. The challenge was performed while the child had been free of respiratory symptoms for at least 2 weeks. Beta-agonist medications were discontinued at least 12 h prior to lung function measurement. Baseline FVC and FEV_1 were >75% predicted,[20] 107$\pm$12% and 98$\pm$13%, respectively. In one child unable to cooperate with forced expiration, the degree of baseline AO was assessed on the respiratory resistance which was 99% predicted.[21] The parents were encouraged to attend the laboratory during testing. The procedure was explained and informed consent was obtained prior to challenge.

Measurements

Respiratory system impedance

The apparatus used for measuring respiratory impedance and assessing the effect of DI has been described in details previously.[22] Briefly, the child wore a nose clip and breathed through a mouthpiece connected to a Fleisch no. 1 pneumotachograph. A sinusoidal pressure variation generated by a loud speaker at 12 Hz was applied around the subject's head enclosed in a canopy.[22] The so-called head generator technique allows to minimise cheek vibration and, in our experience, is well accepted in children aged 4 years and above. The signals were analysed oscillation cycle per oscillation cycle providing 12 measurements per second. Fourier coefficients of pressure and flow at 12 Hz were computed and combined to obtain respiratory system resistance and reactance. A filtering procedure consisted in eliminating the data lying outside the 99% confidence interval[18] and proved particularly efficient in eliminating artefacts related to transient glottis closure and swallowing. In this study, we used the reciprocal value of respiratory system resistance in inspiration to express the respiratory conductance (Grs) which shows linear relationship to lung volume.

Spirometry

Measurements of FVC and FEV_1 were performed by a trained and experienced technician using an electronic flowmeter (Masterscope Erich Jaeger GmbH, Wuertzburg, Germany). Forced expiratory manoeuvres were repeated up to five times at baseline. The best curve was selected as the one with the highest sum FVC + FEV_1, among those showing early rise to peak flow followed by regular decrease throughout expiration. The repeatability of two spirometric measurements performed at 10–15 min interval at baseline has been studied in another population of 26 children with stable asthma and of age similar to this study. The mean coefficients of variation for FVC and FEV_1 were 3.2% and 2.5%, respectively.

Exercise challenge

Exercise challenge consisted of a free running test, i.e., the child was asked to run outside at his own speed for 6 min or until he/she perceived dyspnoea, chest tightness or started to cough.

Drug administration

At the end of the session, two puffs of salbutamol (Ventoline®, 100 μg/puff) were administered through a non-electrostatic inhalation chamber (Nes-Spacer, Astra-Zeneka). Drug delivery was triggered while the child started to inhale slowly from the chamber. He or she was then asked to hold his breath for a few seconds at end inspiration. Normal breathing was

resumed and the second puff was delivered similarly. Post-bronchodilator measurements were performed 10 min thereafter.

Protocol

Spirometry was measured at baseline, 5 min of discontinuing exercise and 10 after salbutamol. A positive airway response to EIB was identified by a reduction in $FEV_1 \geqslant 15\%$ 5 min after exercise cessation. Grs measurements were taken at baseline, about 10 min following exercise cessation and after salbutamol. If the child was unable to perform reproducible forced expirations, the airway response to exercise was based on a decrease in $Grs \geqslant 25\%$ (i.e., a 50% increase in respiratory resistance). Each respiratory impedance measurement consisted in two successive acquisitions in between which the child did not go off the mouthpiece. The first acquisition during quiet breathing, lasting for about 30 s, was used to calculate the mean values of Grs and V_T, as reported in Table 1. During the second acquisition which lasted for about 1 min, the child was asked to take a deep breath. The criterion to validate the DI was a volume $\geqslant$ twice the preceding V_T. Grs was calculated from three respiratory cycles before and three after the DI. The magnitude of the response to DI was estimated by the ratio of post- to pre-DI Grs, referred to as Grs_{DI}/Grs. The effect of spontaneous variability of Grs on this index was assessed in another group of 15 children at baseline. A Grs ratio was calculated in a similar way, except that the two sets of respiratory cycles were separated by a normal breath. The corresponding ratio (mean $\pm$ SD) was 1.01 ± 0.10.

Data analysis

Statistical analysis of the population data was performed using the Statview software (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA). An analysis of variance for repeated measurements was used to compare the spirometric and respiratory impedance indexes in the three conditions (control, post-exercise, post-salbutamol). When a F ratio indicated significant effect, a t test was used to locate the difference more precisely. Another ANOVA test was performed on the pre- and post-DI Grs data to evaluate the effects of this manoeuvre in each condition. Standard linear regression analysis was used to evaluate the relationship of Grs_{DI}/Grs to factors such as height, % changes in FEV_1 and FVC induced by EIB from baseline ($\Delta\%FEV_1$, $\Delta\%FVC$) and difference between EIB and baseline FEV_1/FVC ($\Delta FEV_1/FVC$).

Statistical significance was defined by $P<0.05$. Data are expressed as mean $\pm$ SD.

Results

The decrease in FEV_1 induced by exercise was associated with significant decrease in FVC and FEV_1/FVC and a concurrent decrease in Grs from baseline ($P<0.0001$, Table 1). After salbutamol inhalation, FVC and FEV_1 returned to baseline and Grs to a value slightly but significantly higher than baseline ($P = 0.01$, Table 1). There was a trend for a larger V_T after exercise compared with baseline or salbutamol ($P = 0.06$, Table 1).

Technically satisfactory DIs were obtained in 12 children at baseline, 15 during EIB and 14 after

Table 1 Lung function at baseline, after exercise induced bronchoconstriction (EIB) and after bronchodilator inhalation

	Baseline	EIB	Bronchodilator
FVC (l)[a]	2.61 ± 0.73	2.18 ± 0.70*	2.64 + 0.71
	1.81–4.39	1.41–3.77	1.74–4.34
FEV_1 (l)[a]	2.13 ± 0.62	1.53 ± 0.52*	2.22 ± 0.60
	1.30–3.83	0.88–2.76	1.55–3.74
FEV_1/FVC (%)[a]	82 ± 7	70 ± 7*	84 ± 6
	69–91	57–80	76–94
VT (l)	0.48 ± 0.20	0.55 ± 0.20**	0.47 ± 0.17
	0.26–0.98	0.30–1.04	0.32–0.99
Grs ($l\,hPa^{-1}\,s^{-1}$)	0.148 ± 0.042	0.078 + 0.024*	0.183 ± 0.051****
	0.088–0.233	0.051–0.138	0.109–0.294

First line: mean ± SD. Second line: range. FVC: forced vital capacity; FEV_1: forced expiratory volume in 1 s; V_T: tidal volume; Grs: respiratory system conductance. *$P<0.0001$ vs. baseline or salbutamol. **$P=0.06$ vs. baseline or salbutamol. ****$P=0.01$ vs. baseline.

[a] $n = 14$.

salbutamol. The inspired volumes amounted to, respectively, 1.21 ± 0.25, 1.21 ± 0.40 and 1.31 ± 0.35 l, or expressed as % predicted FVC, $55 \pm 12\%$ at baseline, $52 \pm 11\%$ during EIB and $57 \pm 11\%$ after salbutamol. There was no significant difference among conditions, in DI expressed either way ($P = 0.3$).

There was no overall statistically significant effect of DI on Grs either at baseline (0.153 ± 0.039 l hPa^{-1} s^{-1} pre-DI vs. 0.153 ± 0.042 l hPa^{-1} s^{-1} post-DI) or following inhalation of salbutamol (0.195 ± 0.047 l hPa^{-1} s^{-1} pre-DI vs. 0.205 ± 0.057 l hPa^{-1} s^{-1} post-DI). By contrast, marked alterations could be observed during EIB. As a group, the children showed a significant increase in Grs after DI, i.e., from 0.085 ± 0.023 to 0.101 ± 0.029 l hPa^{-1} s^{-1} ($P = 0.0003$). An example is shown in Fig. 1: Grs increases markedly during the DI and returns progressively toward the pre-DI level. There was little evidence for a change in lung volume after the DI, by visual inspection of the tidal volume traces. On inspecting individual data, although Grs appeared to be increased by DI in all instances, the magnitude of the response was quite variable among subjects (Fig. 2). Grs_{DI}/Grs ranged from 1.02 to 1.52 (1.19 ± 0.14) and was found to correlate with $\Delta\%FEV_1$ ($P = 0.02$), $\Delta\%FVC$ ($P = 0.01$) (Fig. 3A), but not $\Delta FEV_1/FVC$ ($P = 0.7$, Fig. 3B), height ($P = 0.9$) or DI/FVC predicted ($P = 0.6$). As expected, $\Delta\%FVC$ and $\Delta\%FEV_1$ were strongly related ($r = 0.88$, $P < 0.001$).

Discussion

To our knowledge, this study is the first demonstration of the bronchodilator effect of DI in children with EIB. Also of interest is the finding that the magnitude of the airway response to DI correlates with the intensity of the change in FVC but not FEV_1/FVC—induced by exercise.

Various measurements including FEV_1, specific airway conductance, lung or respiratory resistance have been used to assess the airway response to DI, each technique carrying its own specific physiological information (e.g.[23]). With forcing signals, this

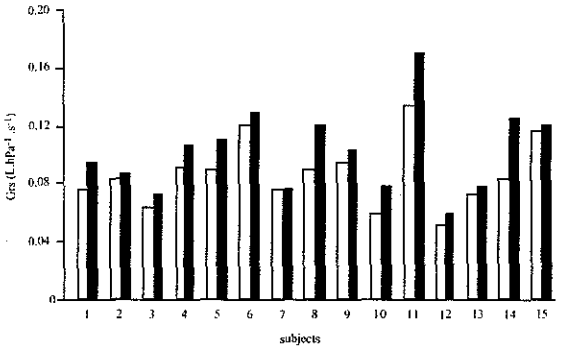


Fig. 2 Respiratory conductance (Grs) before and after deep inhalation in individual subjects. Note that Grs increases constantly after the DI but the amplitude of the change is variable among individuals.

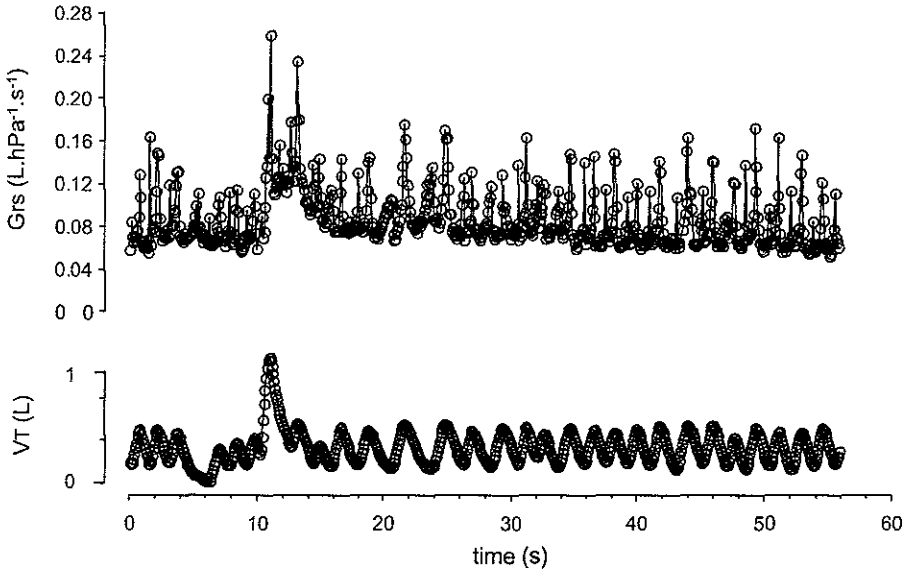


Fig. 1 Respiratory conductance (Grs) and tidal volume (V_T) during exercise-induced bronchoconstriction in one child. The deep inhalation (DI) is associated with the immediate increase in Grs which then returns toward pre-DI level.

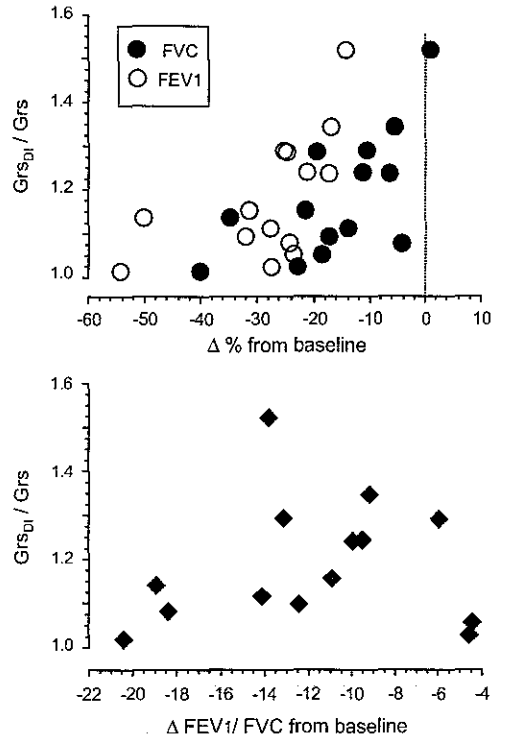


Fig. 3 (A) Post-deep inhalation (DI) to pre-DI respiratory conductance ratio (Grs_{DI}/Grs) during exercise-induced bronchoconstriction (EIB) is plotted against magnitude of EIB-induced reduction from baseline in FEV_1 ($\Delta\%FEV_1$) and in forced vital capacity ($\Delta\%FVC$). Both correlations are statistically significant (respective P values: 0.02 and 0.01). (B) Plot of Grs_{DI}/Grs against FEV_1/FVC difference between EIB and baseline shows lack of correlation ($P = 0.7$).

information is dependent on the excitation frequency. For instance, measurements at very high frequency have been suggested to specifically explore the airways.[24] With the frequency used in the present study and upper airway shunt minimised, it was suggested previously that DI-induced change in respiratory resistance was mainly an expression of the airway response.[18,19] In the current situation of acute EIB, our observation on airways effect of DI in children is consistent with the recent study by Beck et al. in adult asthmatics, where small but significant decrease in lung resistance was reported.[16]

The bronchodilator effect of a DI has been shown to depend on amplitude of the inspiration in normal adult subjects.[25] Thus validating the DI by reference to V_T could have introduced a bias, particularly for the comparison of Grs_{DI}/Grs among different conditions. Indeed, since there was a trend for a larger V_T after exercise vs. control or salbutamol, the lower limit for a validated DI was larger in the former condition. On the other hand, lung hyperinflation associated with EIB[26] could tend to decrease the amplitude of the DI. However, the latter was found not significantly different among conditions and therefore unlikely to account for the difference in response between EIB on the one hand and baseline or salbutamol on the other. This observation extend our previous findings in a population of children where bronchoconstriction was induced by methacholine inhalation[18] and DI was defined on the same criterion. Finally, no significant correlation was found between Grs_{DI}/Grs and DI/FVC% predicted.

Volume history may play a significant role in determining the degree of induced bronchoconstriction since, in normal subjects, the prevention of DIs may precipitate the airway response to methacholine [27,28] while DIs repeated prior to methacholine challenge have been shown to provide bronchoprotection in normal subjects.[29] It has been suggested that the bronchoprotective effects of DI was absent in asthmatics,[29] although the findings have recently been challenged.[30] To our knowledge, there is little data on the effects of similar alterations in the breathing pattern on the airway response to exercise in subjects with exercise-induced asthma. The only relevant information comes from the study by Beck et al. who did not demonstrate a significant difference in the change in lung resistance during EIB when the same subjects were tested with and without forced expiration manoeuvres.[16] In our study, forced vital capacity manoeuvres were avoided at least 3 min prior to the DI and breathing was monitored during the minute immediately preceding to ensure that no spontaneous sigh would occur at this time. The bronchodilation induced by DI has been shown to subside with a time constant of ca. 12 s in adults following methacholine inhalation,[4] although longer estimates have been suggested from further studies in healthy subjects.[15]

The effects of DI on bronchial calibre may be analysed on the basis of the relative hysteresis of lung parenchyma and conducting airways which are mechanically interdependent.[7] Hysteresis expresses the imperfect elasticity of any mechanical system and is represented by the looping of its pressure–volume curve. In response to the stretch induced by DI, the dead space airways dilate or constrict, depending on whether they have, respectively, larger or smaller degree of hysteresis than alveolar airspaces.[7] Measurements of transpulmonary pressure–volume relationships in situations of acute AO give support to this analysis.[8,31] Because hysteresis of the conducting airway wall is

mainly determined by the degree of smooth muscle contraction,[32] DI usually induces bronchodilation in a context of acute bronchoconstriction.[2,5] This effect has recently been identified in children during methacholine challenge[17,18] and the current observations demonstrate this general pattern of response to DI may be extended to children with EIB. It may also be inferred from the fact that DI promoted bronchodilation that airways and parenchyma were readily interacting. Since inflammation and oedema in the bronchial wall have been hypothesised to uncouple conducting airway wall and lung parenchyma,[33] the observation suggests that—if present at this stage of the response—bronchial inflammation was not significant enough to alter the mechanical interdependence between airways and lung tissues.

Although as a group, the children with EIB showed significant increase in Grs after DI, there was a marked variation among individual responses (Fig. 2). The data on within-subject Grs variability suggest that an increase of less than 10% probably is within the range of spontaneous fluctuation. Interestingly however, none of the subjects with EIB showed Grs_{DI}/Grs smaller than 1, i.e., there was no evidence of significant DI-induced bronchoconstriction. Furthermore, while the increase in Grs was statistically significant during EIB, this was not the case at baseline. Interestingly, the correlation between Grs_{DI}/Grs and $\Delta\%FEV_1$ suggests that part of the variability is accounted for by the degree of induced AO. According to a previous suggestion, the FEV_1 response was analysed in terms of change in FVC—that should reflect the degree of airway closure and gas trapping, i.e., excessive airway narrowing—and change in FEV_1/FVC—that should reflect the degree of smooth muscle contractility.[34] The findings that Grs_{DI}/Grs correlated with $\Delta\%FVC$ but not $\Delta FEV_1/FVC$ (Fig. 3) suggest that excessive airway narrowing was determinant to the airway response to DI during EIB. The change in FVC reflects hyperinflation and should be associated with an increase in residual volume.[34] Since body plethysmography was not performed, a direct evidence to such alteration in absolute lung volume could not be provided. On the other hand, that EIB may be associated with significant hyperinflation has been documented in the literature (see 26 for review). Also, it has been suggested that some patients with lung hyperinflation during EIB also demonstrated loss of elastic lung recoil.[35,36] Whatever the mechanism(s) that account for these alterations, both the peripheral airway contraction and the lung hyperinflation are expected to concur to increase lung hysteresis.[8] This in turn may balance the increase in more central airway wall hysteresis associated with the bronchoconstriction. In keeping with Froeb and Mead's analysis,[7] a DI performed in this context would be less efficient in promoting bronchodilation.

It is concluded that, as a group, these children selected on evidence of EIB demonstrate bronchodilation in response to DI. It is suggested that larger bronchodilator effects are associated with smaller exercise-induced reduction in FVC. The interpretation is in keeping with that proposed in adult subjects with pharmacologically induced acute airway obstruction.[8,31] During mild EIB, smooth muscle contraction limited to more central airways leads to an increase in conducting airways wall hysteresis, favouring bronchodilation as the net expression of the response to DI. With more severe EIB, the bronchodilator effect of DI is minimised because a simultaneous increase in parenchymal hysteresis results from small airways closure and lung hyperinflation.

Acknowledgements

The authors are grateful to R. Peslin for help on the software and fruitful discussion, N. Bertin, B. Chalon, C. Choné, G. Colin, B. Demouline and S. Méline for technical assistance, N. Bertin and C. Creusat for secretarial help.

Supported by EA 3450 "Interactions des systèmes de régulation respiratoire chez l'adulte et l'enfant".

References

1. Pellegrino R, Sterk PJ, Sont JK, Brusasco V. Assessing the effect of deep inhalation on airway calibre: a novel approach to lung function in bronchial asthma and COPDit>. *Eur Respir J* 1998;**12**:1219–27.
2. Nadel JA, Tierney DF. Effect of a previous deep inspiration on airway resistance in man. *J Appl Physiol* 1961;**16**:717–9.
3. Fairshter RD. Airway hysteresis in normal subjects and individuals with chronic airflow obstruction. *J Appl Physiol* 1985;**58**:1505–10.
4. Parham WM, Shepard RH, Norman PS, Fish JE. Analysis of time course and magnitude of lung inflation effects on airway tone: relation to airway reactivity. *Am Rev Respir Crit Care Med* 1983;**128**:240–5.
5. Lim TK, Pride NB, Ingram RH. Effects of volume history during spontaneous and acutely induced air-flow obstruction in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987;**135**:591–6.
6. Wheatley JR, Paré PD, Engel LA. Reversibility of induced bronchoconstriction by deep inspiration in asthmatic and normal subjects. *Eur Respir J* 1989;**2**:331–9.
7. Froeb HF, Mead J. Relative hysteresis of the dead space and lung in vivo. *J Appl Physiol* 1968;**25**:244–8.

8. Burns CB, Taylor WR, Ingram RH. Effects of deep inhalation in asthma: relative airway and parenchymal hysteresis. *J Appl Physiol* 1985;**59**:1590–6.
9. Pliss LB, Ingenito EP, Ingram RH. Responsiveness, inflammation, and effects of deep breaths on obstruction in mild asthma. *J Appl Physiol* 1989;**66**:2298–304.
10. McFadden ER. Exercise-induced airway obstruction. *Asthma* 1995;**16**:671–82.
11. Anderson SD, Daviskas E. The mechanism of exercise-induced asthma is... *Allergy Clin Immunol* 2000;**106**:453–9.
12. Godfrey S, Bar-Yishay E. Exercise-induced asthma revisited. *Respir Med* 1993;**87**:331–44.
13. Fish JE, Ankin MG, Kelly JF, Peterman VI. Regulation of bronchomotor tone by lung inflation in asthmatic and nonasthmatic subjects. *J Appl Physiol* 1981;**50**:1079–86.
14. Pellegrino R, Wilson O, Jenouri G, Rodarte JR. Lung mechanics during induced bronchoconstriction. *J Appl Physiol* 1996;**81**:964–75.
15. Jensen A, Atileh H, Suki B, Ingenito EP, Lutchen KR. Airway caliber in healthy and asthmatic subjects: effects of bronchial challenge and deep inspirations. *J Appl Physiol* 2001;**91**:506–15.
16. Beck KC, Hyatt RE, Mpougas P, Scanlon PD. Evaluation of pulmonary resistance and maximal expiratory flow measurements during exercise in humans. *J Appl Physiol* 1999;**86**:1388–95.
17. Milanese M, Mondino C, Tosca M, Canonica GW, Brusasco V. Modulation of airway caliber by deep inhalation in children. *J Appl Physiol* 2000;**88**:1259–64.
18. Marchal F, Schweitzer C, Moreau-Colson C. Respiratory impedance response to a deep inhalation in children. *Pediatr Pulmonol* 2002;**33**:411–8.
19. Schweitzer C, Moreau-Colson C, Marchal F. Respiratory impedance response to a deep inhalation in asthmatic children with spontaneous airway obstruction. *Eur Respir J* 2002;**19**:1020–5.
20. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983;**127**:725–34.
21. Mazurek H, Willim G, Marchal F, Haluszka J, Tomalak W. Input respiratory impedance measured by head generator in preschool children. *Pediatr Pulmonol* 2000;**30**:47–55.
22. Peslin R, Marchal F, Duvivier C, Ying Y, Gallina C. Evaluation of a modified head generator for respiratory impedance measurement. *Eur Respir Rev* 1991;**1**:140–5.
23. Burns GP, Gibson GJ. The apparent response of airway function to deep inspiration depends on the method of assessment. *Respir Med* 2001;**95**:251–7.
24. Frey U, Makkonen K, Wellman T, Beardsmore C, Silverman M. Alterations in airway wall properties in infants with a history of wheezing disorders. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;**161**(6):1825–9.
25. Duggan CJ, Chan J, Whelan AJ, Berend N. Bronchodilatation induced by deep breaths in relation to transpulmonary pressure and lung volume. *Thorax* 1990;**45**:930–4.
26. Pellegrino R, Brusasco V. On the causes of lung hyperinflation during bronchoconstriction. *Eur Respir J* 1997;**10**: 468–75.
27. Skloot G, Permutt S, Togias A. Airway hyperresponsiveness in asthma: a problem of limited smooth muscle relaxation with inspiration. *J Clin Invest* 1995;**96**:2393–403.
28. Moore BJ, Verburgt LM, King GG, Paré PD. The effect of deep inspiration on methacholine dose–response curves in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;**156**: 1278–81.
29. Kapsali T, Permutt S, Laube B, Scichilone N, Togias A. Potent bronchoprotective effect of deep inspiration and its absence in asthma. *J Appl Physiol* 2000;**89**:711–20.
30. King GG, Moore BJ, Seow CY, Paré PD. Airway narrowing associated with inhibition of deep inspiration during methacholine inhalation in asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;**164**:216–8.
31. Brusasco V, Pellegrino R, Violante B, Crimi E. Relationship between quasi-static pulmonary hysteresis and maximal airway narrowing in humans. *J Appl Physiol* 1992;**72**: 2075–80.
32. Sasaki H, Hoppin FG. Hysteresis of contracted airway smooth muscle. *J Appl Physiol* 1979;**47**:1251–62.
33. Macklem PT. A hypothesis linking bronchial hyperreactivity and airway inflammation: implications for therapy. *Ann Allergy* 1990;**64**:113–6.
34. Gibbons WJ, Sharma A, Lougheed D, Macklem PT. Detection of excessive bronchoconstriction in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;**153**:582–9.
35. Freedman S, Tattersfield AE, Pride NB. Changes in lung mechanics during asthma induced by exercise. *J Appl Physiol* 1975;**38**:974–82.
36. Peress L, Sybrecht G, Macklem PT. The mechanisms of increase in total lung capacity during acute asthma. *Am J Med* 1976;**61**:165–9.

Pediatric Pulmonology 36:502–508 (2003)

Influence of Data Filtering on Reliability of Respiratory Impedance and Derived Parameters in Children

Cyril Schweitzer, MD, Claude Chone, EedTech, and François Marchal, MD*

Summary. Forced oscillation impedance (Zrs) measurements are frequently corrupted by noisy data in children. Our aim was to improve the reliability of respiratory resistance (Rrs) and routine identification of its flow (V') and volume (V) dependence during tidal breathing, according to $Rrs = K1 + K2 \cdot |V'| + K3 \cdot V$. Zrs was measured at 12 Hz, using a head generator in 23 children aged 4–13 years undergoing methacholine (Mch) challenge. Rrs, K1, K2, K3, and residual mean square error (RMSD), as well as reproducibility of the parameters, were obtained. Calculations were performed separately in inspiration and expiration on the raw data, and after eliminating values lying outside confidence intervals ranging from 99% (F3SD) to 95% (F2SD) of the mean Zrs. Filtering decreased RMSD and Rrs, F3SD improved reproducibility of Rrs in expiration compared to raw data. F2SD increased K1 and decreased the amplitude of K2 and K3 before and after Mch compared to F3SD. Rrs and K2 were significantly larger and K3 significantly more negative in expiration than in inspiration at all levels of filtering, probably because of the upper airways. F3SD appeared efficient in eliminating aberrant data, while allowing the identification of physiological variations of Rrs. **Pediatr Pulmonol. 2003; 36:502–508.** © 2003 Wiley-Liss, Inc.

INTRODUCTION

Measurement of respiratory resistance (Rrs) has become a useful method to detect airway obstruction and bronchial responsiveness in uncooperative subjects. Periodic variations of Rrs during spontaneous breathing have a physiological origin, and the volume dependence of Rrs is potentially useful in respiratory function testing of asthmatics. Indeed, an airways-lung parenchyma interdependence was shown to contribute to the decrease in resistance with increasing lung volume during experimental bronchoconstriction.[1,2] Experimental methods to induce changes in lung volume (e.g., varying degree of expiratory pressure or artificial lung inflation) may not be practical during lung-function studies of awake young children, where measurements are most easily performed during tidal breathing.

The volume dependence of Rrs may be studied from within-breath variations, using the forced oscillation technique if many respiratory impedance (Zrs) values are generated within one breath.[3] Significant increase of volume dependence of Rrs was thus demonstrated during methacholine (Mch) challenge in young children.[4] In order to describe such volume dependence, even simpler models must take into account the turbulent flow[5] that occurs in the larger airways and which is responsible for significant flow dependence of Rrs. Such descriptions may be performed by multiple linear regression analysis, where volume and flow are the independent variables and Rrs the dependent variable.

In spite of the proper filtering of pressure and flow signals, aberrant Zrs values are frequently superimposed on the periodic (physiological) fluctuations in young children as a result, for instance, of poor signal-to-noise ratio when respiratory flow changes rapidly and is of transient glottis contraction. These artifacts may alter Rrs mean values and reproducibility. Furthermore, a proper description of the physiological variations of Rrs (whatever their mechanisms) requires prior elimination of such data. Ideally, Rrs filtering should be efficient in deleting corrupted data, while preserving physiological variations. Changes in upper airways dimensions during breathing also are likely to contribute to the within-breath variation of Rrs and to be more prominent in expiration than in inspiration.[6–8] It is therefore of interest to analyze separately both phases of the respiratory cycle.

The aim of this study was to evaluate the effect of different levels of Zrs filtering in preschool children undergoing lung function testing and Mch challenge. The following points were assessed: 1) value and reproducibility of Rrs; and 2) coefficients of (and goodness of fit to) a model description of Rrs volume and flow dependence.

Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre, France.

Grant sponsor: EA 3450 "Interactions des Systèmes de Régulation Respiratoire Chez l'Adulte et l'Enfant."

*Correspondence to: François Marchal, MD, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, Avenue de la Forêt de Haye, F-54505 Vandoeuvre les Nancy, France. E-mail: f.marchal@chu-nancy.fr

Received 24 September 2002; Revised 24 February 2003; Accepted 9 April 2003.

DOI 10.1002/ppul.10359
Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

© 2003 Wiley-Liss, Inc.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

We studied 23 children (11 boys) aged 4–13 years (mean ± SD = 7.1 ± 2.7 years), referred by their physician to the laboratory for lung function measurement and Mch challenge. Five had doctor-diagnosed asthma, 10 had a history of chronic cough, 1 had a recurrent respiratory infection, and 7 had atopy. All subjects had been free of respiratory infection for at least 4 weeks. Beta-agonist medications and inhaled steroids were discontinued ≥12 hr and ≥10 days, respectively, prior to the study. Baseline Rrs was within the 95% confidence interval predicted for the child's height.[9] The parents were encouraged to attend the laboratory during testing, and informed consent was obtained prior to Mch challenge.

Measurement of Zrs

Zrs is measured using a head generator to vary transrespiratory pressure around the subject's head to minimize upper airway wall motion (head generator technique). The hardware (Pulmosfor, SEFAM, France) was described in detail previously,[10] and the software was modified for more convenient use and improved handling of data. The child wore a noseclip and breathed through a mouthpiece connected to a Fleisch no. 1 pneumotachograph (Metabo, Hepalinges, Switzerland). An acquisition lasted 30 sec, during which sinusoidal pressure was applied at 12 Hz.

Pressure and flow signals were low pass-filtered at 32 Hz, using analog filters, and digitized at a sampling rate of 192 Hz. The breathing component in the signals was eliminated using a fourth order Butterworth high-pass filter with a corner frequency of 6 Hz. The Fourier coefficients of pressure and flow at 12 Hz were computed and combined to obtain Rrs, oscillation cycle per oscillation cycle, thus providing 12 measurements per second.

Drug Administration

Mch chloride (Laboratoire Allerbio, Varennes, Argonne, France) was administered with a De Vilbiss nebulizer (5610D. Health Care Worldwide, Somerset, PA) and a dosimeter (FDC 88, Mediprom, Paris, France) at the following cumulated doses: 50, 100, 200, 400, 800, and 1,200 μg.

Reversibility of bronchoconstriction was assessed at the end of the test by inhalation of two puffs of Bronchodual (Boehringer Ingelheim France, Paris, France), i.e., a mixture of fenoterol bromhydrate (50 μg/dose) and ipratropium bromide (20 μg/dose), delivered through an inhalation chamber (Nespacer, Astra France, Monts, France).

Protocol

Two measurements were performed at baseline, about 5 min apart, in order to evaluate reproducibility. Measurements were then repeated 3 min after each administration of Mch. The test was stopped whenever the following increase in Rrs was ≥50%.

Data Analysis

The within-breath variation of Rrs was described using multiple regression analysis. Assuming linear flow and volume dependence, the following equation was used:

$$\mathrm{Rrs} = \mathrm{K1} + \mathrm{K2} \cdot |\mathrm{V}'| + \mathrm{K3} \cdot \mathrm{V} \qquad (1)$$

where V′ and V are flow and volume means for a given oscillation cycle, K1 is the resistance at constant (end-expiratory) volume and "zero flow," and K2 and K3 respectively characterize flow and volume dependence of Rrs. The analysis was performed separately for inspiratory and expiratory Rrs (respectively, Rrsi and Rrse).

For n data points in one recording, an index of goodness-of-fit of the measurement to the model was estimated by the residual mean square difference between observed Rrs (Rrso) and model-predicted Rrs (Rrsm), normalized for the mean Rrs for that acquisition ($\mathrm{Rrs_{mean}}$) (RMSD):

$$\mathrm{RMSD} = 100 \cdot \left[\sum (\mathrm{Rrso_i} - \mathrm{Rrsm_i})^2/\mathrm{n}\right]^{0.5} \Big/ \mathrm{Rrs_{mean}} \qquad (2)$$

where i goes from 1 to n. Thus RMSD expresses the fraction of Rrs not predicted by the model, i.e., the lower the RMSD, the better the fitting.

The reproducibility of Rrs, K1, and K2 was assessed from their respective coefficients of variation at baseline. The reproducibility of K3 was assessed from the absolute value of the difference between baseline measurements.

The indexes were calculated first on the raw (unfiltered) data and then after filtering. The filtering procedure consisted of eliminating those Zrs values lying outside a given confidence interval and repeating this routine three times.

Three different filter levels were assessed on the raw data, each corresponding to a given confidence interval: mean Zrs ± 3 SD (F3SD), mean Zrs ± 2.5 SD (F2.5SD), and mean Zrs ± 2 SD (F2SD).

Statistical comparisons between groups were performed using ANOVA and paired *t*-tests as required. Data are expressed as mean ± SD, unless otherwise indicated.

RESULTS

Typical recordings of respiratory impedance and tidal flow, and the effect of filtering before and after Mch, are shown in Figures 1 and 2.

Rrs

Compared with raw data, a small but significant decrease in Rrs was associated with F2.5SD and F2SD (but not F3SD) at baseline, particularly in expiration

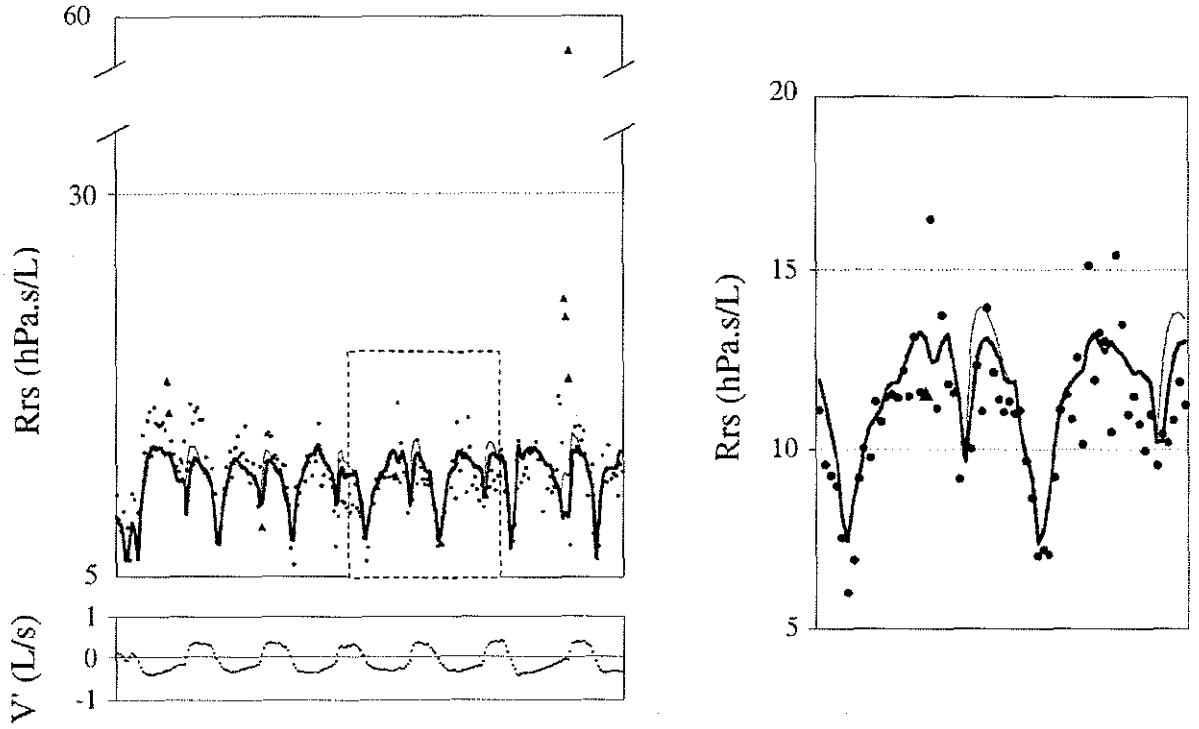


Fig. 1. Respiratory resistance (Rrs) and tidal flow (V') at baseline. Triangles describe Rrs data eliminated by filtering outside 99% confidence interval of mean respiratory *impedance*. Light and heavy lines are model descriptions of variations of Rrs with flow and volume according to Equation 1 (see text), before and after filtering, respectively.

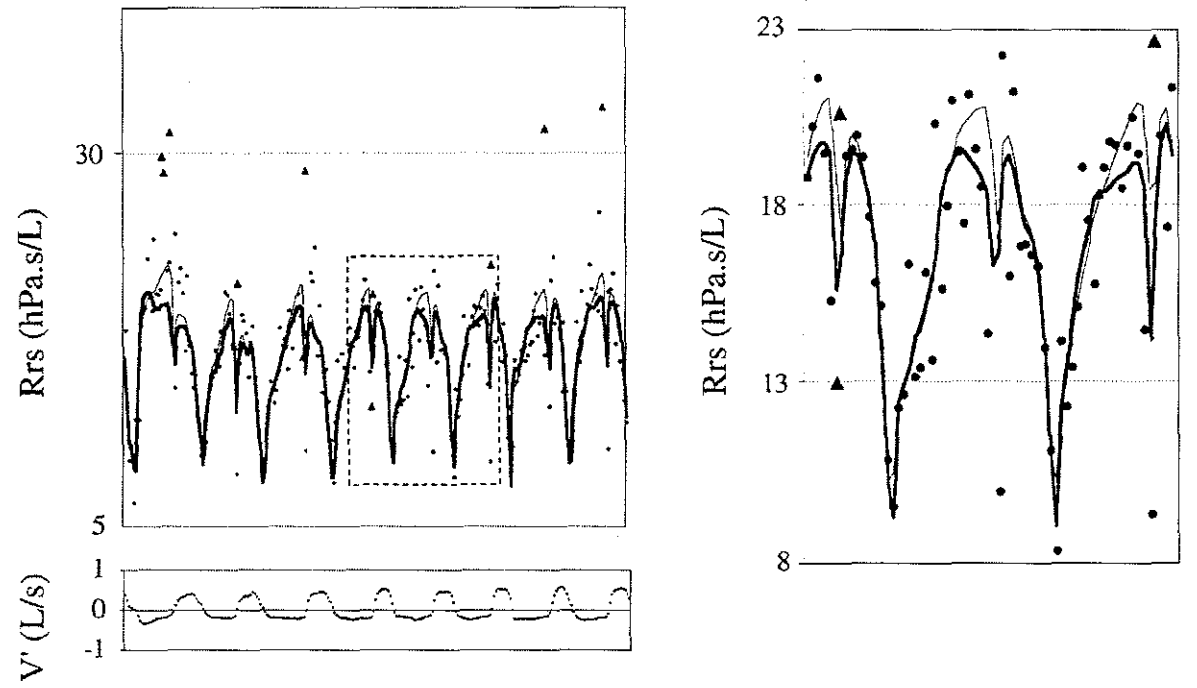


Fig. 2. Respiratory resistance (Rrs) and tidal flow (V') after methacholine. Symbols and abbreviations as in Figure 1.

TABLE 1—(A) Respiratory Resistance at Baseline and After Methacholine, and (B) Coefficient of Variation at Baseline[1]

	Baseline		Methacholine	
(A) Rrs	Inspiration	Expiration	Inspiration	Expiration
Raw data	8.2 ± 2.1	9.6 ± 2.9	14.3 ± 2.8	15.4 ± 3.6
F3SD	8.2 ± 2.2	9.1 ± 2.8	14.0 ± 2.8*	15.2 ± 3.7*
F2.5SD	8.1 ± 2.2**	9.0 ± 2.8**	13.9 ± 2.9*	15.1 ± 3.7***
F2SD	8.2 ± 2.3	8.9 ± 2.8*****	14.1 ± 3.1***	15.0 ± 3.7*
(B) CoV	Inspiration	Expiration		
Raw data	9.5 ± 7.1	15.5 ± 15.2		
F3SD	7.3 ± 5.1	11.5 ± 11.3*		
F2.5SD	7.6 ± 5.3	10.7 ± 10.9*		
F2SD	7.8 ± 5.4	11.2 ± 11.0		

[1]Rrs, respiratory resistance (hPa.s/l); CoV, coefficient of variation (%); Raw data, F3SD, F2.5SD, F3SD, respectively, data unfiltered, filtered outside Zrs mean ± 3 SD, mean ± 2.5 SD, and mean ± 2SD. Rrsi different from Rrse at all filter levels ($P < 0.003$).
*$P < 0.05$ vs. raw data.
**$P < 0.05$ vs. F3SD.
***$P < 0.05$ vs. F2.5SD.

($P < 0.05$), and was present at all levels of filtering after Mch ($P < 0.05$, Table 1A). The reproducibility of Rrs appeared to improve with filtering compared with the raw data, the trend being significant for Rrse with F3SD and F2.5SD ($P = 0.05$, Table 1B). Compared with Rrse, Rrsi was found to be systematically lower at baseline ($P < 0.003$) as well as after Mch ($P < 0.002$) at all filtering levels (Table 1A), and to be more reproducible with F3SD ($P < 0.05$, Table 1B).

The number of data points removed was obviously significantly increased with increasing level of filtering ($P < 0.001$), e.g., 2.9 ± 1.8% with F3SD, 6.1 ± 2.2% with F2.5SD, and 17.6 ± 5.7% with F2SD in inspiration at baseline. Similar numbers were observed in expiration and after Mch.

Model Analysis

Goodness of Fit

Table 2 shows that RMSD was about halved by filtering compared with raw data. The effect was significant in all conditions ($P < 0.05$), except for F3SD after Mch. Increasing the level of filtering also significantly decreased RMSD, although the magnitude of this effect was small ($P < 0.05$). RMSD was thus slightly lower with F2.5SD compared with F3SD, and also with F2SD compared with F2.5SD, at baseline or after Mch. Finally, RMSD was comparable for controls and Mch at a given level of filtering (Table 2).

Coefficients

The coefficients of the model before and after filtering are presented in Table 3. Generally, increased filtering was associated with underestimation of flow and volume dependence of Rrs. At baseline, associated with an increased filtering from F3SD to F2SD (Table 3) was a significant increase in K1 ($P < 0.03$), a significant decrease in K2 ($P < 0.005$) both in inspiration and expiration, and a significantly less negative K3 in expiration ($P < 0.02$). Mch was found to induce a significant increase in K1 and K2 and a more negative K3, as compared with baseline at any level of filtering ($P < 0.002$). After

TABLE 2—Fitting of Measured Respiratory Resistance to Model[1]

	Baseline		Methacholine	
	Inspiration	Expiration	Inspiration	Expiration
Raw data	34.6 ± 31.9	31.5 ± 31.7	30.7 ± 40.7	39.8 ± 46.0
F3SD	16.1 ± 6.1*	16.5 ± 8.3*	15.7 ± 5.7	15.5 ± 5.9*
F2.5SD	15.4 ± 6.2***	15.2 ± 6.5***	15.0 ± 5.5**	14.2 ± 5.0***
F2SD	13.8 ± 5.6*******	12.9 ± 5.1*******	13.0 ± 5.1*******	12.6 ± 4.5*******

[1]Data are residual mean square difference (%), as in Equation 2. No difference between Baseline and Methacholine.
*$P < 0.05$ vs. raw data.
**$P < 0.05$ vs. F3SD.
***$P < 0.05$ vs. F2.5SD.

TABLE 3—Model Coefficients[1]

	Baseline		Methacholine	
	Inspiration	Expiration	Inspiration	Expiration
K_1 (hPa.s/l)				
Raw data	4.5 ± 2.2	5.5 ± 3.7	9.3 ± 5.4	8.7 ± 6.1
F3SD	4.8 ± 1.7	4.7 ± 2.5	8.2 ± 3.4	8.3 ± 4.6
F2.5SD	4.8 ± 1.9	4.6 ± 2.4	8.4 ± 3.5	8.3 ± 4.7
F2SD	5.2 ± 2.2***	4.9 ± 2.3**	9.3 ± 4.0***	9.2 ± 4.9**
K_2 (hPa · sec^2/l^2)				
Raw data	9.3 ± 6.5	11.4 ± 8.7	12.6 ± 12.3	22.3 ± 14.3
F3SD	8.9 ± 2.6	13.9 ± 5.0***	15.7 ± 4.3	23.4 ± 8.9***
F2.5SD	8.7 ± 2.5	13.5 ± 4.7***	15.3 ± 4.0*	22.8 ± 7.8***
F2SD	7.7 ± 2.3***	12.3 ± 4.0*****	12.6 ± 2.8***	19.5 ± 6.8*****
K_3 (hPa · sec/l^2)				
Raw data	−3.0 ± 3.6	−6.3 ± 6.9	−13.2 ± 6.5	−18.6 ± 9.9
F3SD	−2.8 ± 1.9	−5.1 ± 3.1***	−11.8 ± 5.4****	−18.1 ± 10.9***
F2.5SD	−2.8 ± 2.1	−5.0 ± 2.8***	−11.5 ± 5.3****	−18.0 ± 9.7***
F2SD	−2.7 ± 1.9	−4.4 ± 2.7*****	−11.0 ± 5.3*****	−16.0 ± 10.0*****

[1]All coefficients significantly different from corresponding values at baseline compared with methacholine ($P < 0.002$).
*$P < 0.05$ vs. F3SD.
**$P < 0.03$ vs. F2.5SD.
***$P < 0.01$ vs. inspiration.
****$P < 0.03$ vs. raw data.

Mch, the effects of filtering were similar to baseline for K1 and K2 in inspiration and expiration, and K3 in expiration. In addition, the filtered K3 was significantly smaller than the unfiltered one ($P < 0.05$). [The difference between Mch and baseline was similar at all levels of filtering for K1, significantly smaller with F2SD compared with F2.5SD or F3SD for K2 ($P < 0.05$), and significantly smaller with F2SD than F2.5SD for K3 ($P < 0.03$).] Reproducibility of K1 was significantly improved in expiration with F2SD compared with F3SD, F2.5SD, or raw data ($P < 0.05$). K2 reproducibility was unchanged by filtering, while for K3 it was improved vs. raw data at all levels of filtering in inspiration, and with F2SD and F2.5SD in expiration (Table 4).

At a given filter level, there was no difference in K1, while K2 was significantly larger ($P < 0.001$) and K3 significantly more negative ($P < 0.001$) in expiration than in inspiration (Table 3). K1 and K2 were found more reproducible in inspiration than in expiration with F3SD ($P < 0.05$).

DISCUSSION

This study demonstrates that filtering forced oscillation Rrs improves reproducibility and fit to a model description of its flow and volume dependence. On the other hand, excessive filtering is also associated with significant, although small, alteration of the value of Rrs and model coefficients.

Comments on Filtering Oscillation Mechanics Data

There is increasing interest in analyzing the time course or within-breath variation of Rrs measured by the forced oscillation technique, as attested from both animal[11,12] and human[4,13] studies. Indeed, such analysis was shown to contain physiological information potentially useful to lung function testing.[3,14] Of importance to a meaningful

TABLE 4—Reproducibility of Model Coefficients

	Inspiration	Expiration
K1 (%)		
Raw data	108.9 ± 318.8	52.2 ± 40.8
F3SD	25.9 ± 41.6	46.3 ± 53.8
F2.5SD	26.3 ± 37.7	40.0 ± 41.7
F2SD	24.4 ± 32.5	32.1 ± 31.2*****
K2 (%)		
Raw data	236.6 ± 709.8	87.9 ± 170.6
F3SD	25.1 ± 15.0	22.7 ± 18.1
F2.5SD	24.3 ± 17.1	22.0 ± 16.8
F2SD	25.1 ± 19.9	23.4 ± 16.9
K3 (hPa · sec^2/l^2)		
Raw data	3.3 ± 3.3	3.8 ± 3.5
F3SD	1.7 ± 1.8*	2.8 ± 2.4
F2.5SD	1.8 ± 1.9*	2.4 ± 1.9*
F2SD	1.6 ± 1.5*	2.3 ± 1.8*

*$P < 0.05$ vs. raw data.
**$P < 0.05$ vs. F3SD.
***$P < 0.05$ vs. F2.5SD.

interpretation of such measurements is the proper elimination of corrupted data. Noise on signals should best be eliminated by analogical and numerical filtering of pressure and flow.[15] The most likely source for data corruption is related to the breathing of the subject affecting oscillatory flow. This is of particular importance here, since, with reference to adults, young children have a comparatively high rate of breathing and high Zrs that tend to produce a low signal-to-noise ratio, for a given energy in the pressure signal. In addition, young children may not easily refrain from swallowing, and an acquisition period may easily be corrupted by a glottis closure. In our experience, in spite of the conventional analogical low-pass and numerical high-pass filtering of pressure and flow,[15] some Rrs values are found to deviate markedly from the mean of the data set. This occurs most often at end-inspiration, when respiratory flow shifts rapidly from inspiratory to expiratory. It thus becomes clear that to achieve proper reliability of oscillation mechanics measurements in children, filtering impedance data is necessary, in addition to proper conditioning of signals.

A statistical procedure was felt to be justified because of the large number of data points that could be obtained with this technique, e.g., 360 Rrs values generated during a 30-sec acquisition period at 12 Hz. The procedure would also be quite relevant to the random nature of any residual noise. In addition, the repeated observation was made in our laboratory that minimal filtering (F3SD) was able to deal properly with the most common cause of flow artifacts, i.e., those related to glottis closure and swallowing. In line with this approach was the common practice of omitting the two extreme values of lung resistance and compliance prior to averaging when manually computing lung mechanics breath by breath. For these reasons, F3SD had empirically been included in the routine treatment of single-frequency forced-oscillation Rrs.[4]

Comments on Rrs

It is of particular interest in the present study that the baseline Rrs was not changed by F3SD compared with raw data, with only a reasonably small proportion of data points (less than 3%) being removed. In contrast, with a higher level of filtering, Rrs was significantly, although mildly, decreased. The number of points removed with F2SD was particularly significant (about 20%), which explains why the effects were more noticeable than with F2.5SD or F3SD on Rrs as well as on the coefficients. Filtering had more effect on Rrs after Mch, since a decrease was already detectable on F3SD. A possible explanation for the effect of filtering on mean Rrs is not expected from the removal of random noise. Rather, it may result from a particular distribution of data points, particularly after inhalation of the bronchoconstrictor, with the values that deviate most from the mean being in the upper range (Fig. 1). Also, more aberrant data points are expected as Rrs increases, since the signal-to-noise ratio decreases concomitantly.

Rrs reproducibility was found to be improved, with a statistically significant difference with F3SD in expiration, and little further improvement was seen with F2.5SD or F2SD in spite of the substantial number of data points removed.

Comments on Model Analysis

The multiple linear regression analysis is an analytical method that provides a unique solution to the model equation. In order to assess the performance of the analysis on noisy signals, we numerically generated pressure and flow data corresponding to realistic values of respiratory frequency and amplitude and to oscillatory signals corresponding to the K1, K2, and K3 data observed in this study (Table 3). These signals were repeatedly analyzed after adding to the flow data a random noise with an amplitude of 10% of oscillatory flow. K1 and K2 were always recovered within 3% and K3 within 10%. The lower the breathing frequency and the higher the oscillation frequency, the better the accuracy. These noise-related errors may explain some of the intraindividual variability of baseline coefficients (Table 4).

RMSD improved considerably with filtering, i.e., from nearly 40% for the raw data to ca. 15% with F3SD, a figure that compares well with a prior study in normal adult subjects.[3] Further improvement in model fit was observed with more filtering, but the gain was comparatively small. More importantly, a significant alteration in the coefficients by F2SD and F2.5SD compared with F3SD consisted in an increase in K1 and a decrease in amplitude of K2 and K3, i.e., the variations of Rrs with flow and volume were dampened, and the weight of Rrs was transferred toward the constant term of Equation 1. Accordingly, the amplitude of Mch-induced changes in K2 and K3 (but not in K1) was decreased with higher levels of filtering.

Whatever the filter level, the analysis demonstrated significant effects of Mch on Rrs flow and volume dependences, discussing the mechanisms of which[11] is beyond the scope of the study. It should simply be noted that while the analysis was able to clearly identify statistically significant effects of Mch on the group data, it may not be applied (at least not in the current form) to an individual set of data, given the rather large variability of the coefficients.

Finally, the analysis provided indications that larger Rrs in expiration compared to inspiration at any level of filtering is related to upper airways mechanisms. K2 (but not K1) was significantly larger and K3 significantly more negative in expiration than in inspiration, as previously reported in healthy adults.[3] Since K2 is associated with a

turbulent profile from orifice flow (i.e., at the level of the glottis) and eddy currents in the larger airways,[16] the expiratory – inspiratory difference is likely to reflect increased upper airway resistance in expiration. Furthermore, the glottis was shown to narrow progressively throughout expiration,[6] paralleling the decreasing V so as to mimic negative volume dependence of Rrse and to account for the difference in K3.

It is concluded that filtering single-frequency Zrs data outside the 99% confidence interval, while eliminating a reasonably small number of points, improves Rrs reproducibility (with minimal alteration of the mean value), as well as characterization of its flow and volume dependence. Further filtering only slightly improved model fit, but appeared to blunt Rrs variations with breathing. The inspiration – expiration differences in K2 and K3 are consistent with more upper airway control on Rrse, which suggests that Rrsi should more accurately characterize intrathoracic airway mechanisms, particularly during Mch challenges. A limitation of the model analysis, as applied to individual data, appears to be related to the rather large variability.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to R. Peslin for considerable help with the program and fruitful discussion, to B. Chalon, G. Colin, and S. Méline for technical assistance, and to N. Bertin and C. Creusat for secretarial help.

REFERENCES

1. Nagase T, Martin JG, Ludwig MS. Comparative study of mechanical interdependence: effect of lung volume on Raw during induced constriction. J Appl Physiol 1993;75:2500–2505.
2. Bates JHT, Lauzon AM, Dechman GS, Maksym GN, Schuessler TF. Temporal dynamics of pulmonary response to intravenous histamine in dogs: effects of dose and lung volume. J Appl Physiol 1994;75:616–626.
3. Peslin R, Ying Y, Gallina C, Duvivier C. Within-breath variations of forced oscillation resistance in healthy subjects. Eur Respir J 1992;5:88–92.
4. Marchal F, Loos N, Monin P, Peslin R. Methacholine-induced volume dependence of respiratory resistance in preschool children. Eur Respir J 1999;14:1167–1174.
5. Baier H, Wanner A, Zarzecki S, Sackner MA. Relationships among glottis opening, respiratory flow, and upper airway resistance in humans. J Appl Physiol 1977;43:603–611.
6. Brancatisano T, Dodd D, Engel LA. Factors influencing glottic dimensions during forced expiration. J Appl Physiol 1983;55: 1825–1829.
7. Collett PW, Brancatisano T, Engel LA. Changes in the glottic aperture during bronchial asthma. Am Rev Respir Dis 1983;128: 719–723.
8. Higgenbottam T. Narrowing of glottis opening in humans associated with experimentally induced bronchoconstriction. J Appl Physiol 1980;49:403–407.
9. Mazurek H, Willim G, Marchal F, Haluszka J, Tomalak W. Input respiratory impedance measured by head generator in preschool children. Pediatr Pulmonol 2000;30:47–55.
10. Peslin R, Marchal F, Duvivier C, Ying Y, Gallina C. Evaluation of a modified head generator for respiratory impedance measurements. Eur Respir Rev 1991;1:140–145.
11. Loos N, Peslin R, Marchal F. Respiratory and upper airways impedance responses to methacholine inhalation in spontaneously breathing cats. Eur Respir J 2000;15:1001–1008.
12. Hirai T, Bates JHT. Effects of deep inspiration on bronchoconstriction in the rat. Respir Physiol 2001;127:201–215.
13. Atileh H, Jensen A, Suki B, Ingenito EP, Lutchen KR. Airway caliber in healthy and asthmatic subjects: effects of bronchial challenge and deep inspirations. J Appl Physiol 2001;91:506–515.
14. Cauberghs M, Van de Woestijne KP. Changes of respiratory input impedance during breathing in humans. J Appl Physiol 1992;73: 2355–2362.
15. Van de Woestijne KP, Desager KN, Duiverman EJ, Marchal F. Recommendations for measurement of respiratory input impedance by means of the forced oscillation method. Eur Respir Rev 1994;4:235–237.
16. DuBois AB. Resistance to breathing. In: Fenn WO, Rahn H, editors. Handbook of physiology. Respiration. Washington, DC: American Physiological Society; 1964. p 451–462.

INSTITUTE OF PHYSICS PUBLISHING PHYSIOLOGICAL MEASUREMENT
Physiol. Meas. 25 (2004) 1153–1166 PII: S0967-3334(04)73469-3

Filtering artefacts in measurements of forced oscillation respiratory impedance in young children

François Marchal[1,2], Cyril Schweitzer[1], Bruno Demoulin[2], Claude Choné[1] and René Peslin[2]

[1] Service d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre, France
[2] Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Nancy I, F- 54505 – Vandoeuvre les Nancy, France

E-mail: f.marchal@chu-nancy.fr

Received 15 December 2003, accepted for publication 24 May 2004
Published 6 August 2004
Online at stacks.iop.org/PM/25/1153
doi:10.1088/0967-3334/25/5/006

Abstract

Respiratory mechanical impedance measured at a single frequency is of great interest to describe change in airways dimensions with time in young children with asthma. Adequate filtering is mandatory in order to eliminate spurious values at rapid flow transient or during glottis closure. The aim of the study was to test a new filtering procedure. Respiratory impedance was measured at 12 Hz using the head generator technique in 33 asthmatic children aged 3.5–7.5 years. Two separate measurements were obtained at baseline and one 10 min after salbutamol inhalation. Assuming corrupted data would correspond to major distortion in flow oscillation, the tested procedure calculated an index expressing departure of each flow oscillation from an ideal sinusoid (flow shape index filter (FSIF)). Cut-offs ranging from 5 to 20% were compared to the visual identification and 'by hand' elimination of corrupted data (visual filtering). Sensitivity and specificity of FSIF versus visual filtering indicated an optimal range of cut-off values between 10 and 15% (FSIF10 and FSIF15). Compared with visual filtering, respiratory conductance in inspiration (Grs) was marginally but significantly lower with FSIF10 ($p < 0.01$) but not FSIF15 and had slightly larger (within measurement) coefficient of variation with either FSIF10 or FSIF15 ($p < 0.01$). Between-measurement repeatability of Grs and Grs change induced by salbutamol were similarly estimated by FSIF10, FSIF15 or visual filtering. It is concluded that FSIF appears as a valid alternative to visual filtering. The 10% cut-off is a good compromise considering sensitivity (72%), amount of rejected data (<20%) and effect on Grs and variability.

 © 2004 IOP Publishing Ltd Printed in the UK

Keywords: preschool children, childhood asthma, head generator technique, variability and repeatability of respiratory conductance, response to bronchodilator

1. Introduction

There is a growing interest in developing methods for studying airway function in children because of the large prevalence of childhood asthma (Carlsen and Carlsen 2002). The forced oscillation technique allows us to measure respiratory mechanical impedance (Zrs) and to derive respiratory resistance or its reciprocal, respiratory conductance. Little cooperation is required and the technique may advantageously be applied to children. The development of computerized systems has favoured the use of multiple frequency excitation signals that have been shown to be sensitive in detecting changes in airway function related to pharmacological stimuli (Delacourt *et al* 2000, Ducharme and Davis 1998, Hellinckx *et al* 1998, Klug and Bisgaard 1996, Lebecque and Stanescu 1997, Malmberg *et al* 2002, Ortiz and Menendez 2002). Measurements of Zrs before and after a deep breath have recently been shown to provide useful information on airway function in children (Milanese *et al* 2000). Forcing at a single frequency (Birch *et al* 2001) was used in pioneering paediatric studies (Lenney and Milner 1978, Mansell *et al* 1972) and allows the continuous tracking of both the amplitude and the time course of change in airway function following a deep inhalation (Jensen *et al* 2001, Marchal *et al* 2002, Salome *et al* 2003, Schweitzer *et al* 2002). On the other hand, such data are often noisy in younger children despite proper analogical and digital filtering of pressure and flow. This is due to a number of factors including temporary airway closure, fast respiratory flow transients or low signal-to-noise ratio, and manifests itself by outlying values of resistance and/or reactance which are easily recognizable by eye when the data are displayed as a function of time. In such recordings, spurious data may be discarded 'by hand' but it is time consuming, and automatic filtering out of such data is highly desirable in computerized systems. The difficulty is that respiratory resistance varies systematically during the respiratory cycle as a function of respiratory flow and lung volume (Peslin *et al* 1992). These variations may be very large in patients and are of interest for the diagnosis (Marchal *et al* 1999). Therefore the challenge is to eliminate spurious variations, while preserving the meaningful ones. In a previous study, we have tested the adequacy of a statistical filter that consists in discarding the data when the resistance or the reactance was outside the 99% confidence limits of the whole recording period (Schweitzer *et al* 2003). This approach was seen to improve substantially the reproducibility of the measurements. However, when the data were analysed with a model featuring the flow and volume dependences of resistance, it was also seen that the filtering tended to modify slightly but systematically the results. Moreover, when impedance is expected to vary with time during the recording period, as it is the case of deep inhalation, it is clear that the above statistical approach cannot be used. We, therefore, looked for a non-statistical filtering, which would provide results similar to the 'by hand' method and still be easily automated.

The aim of this study was to evaluate a filtering procedure based on an assumption that factors responsible for the spurious data are likely to modify the shape of the flow oscillation signal; it consists in rejecting data points when the signal departs excessively from an ideal sine wave. The filtering based on the recognition of distorted oscillatory flow was assessed in children undergoing routine lung function testing by comparison with the 'by hand' method. Because the filtering was developed in the context of refining the analysis of the effects of a

deep inhalation, the main end point was the breath-by-breath conductance, which is linearly related to lung volume.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

A pilot study was performed in ten children (nine boys) aged 3.5–5.5 years (mean ± SD = 4.2 ± 0.8 year) with asthma ($n = 6$), chronic cough or recurrent bronchitis ($n = 4$) in order to compare the visual filtering performed by two technicians A and B. The main study included recordings from 33 children (20 boys) aged 3.5–7.5 years (mean ± SD = 5.1 ± 1 year) referred by their physician to the laboratory for lung function measurement. The height of subjects ranged from 0.95 to 1.25 m (mean ± SD = 1.10 ± 0.08 m). Twenty two subjects had doctor-diagnosed asthma, nine had a history of chronic cough and two had a history of recurrent respiratory infection. Nineteen children were on inhaled steroids. Beta-agonist medications were discontinued $\geqslant$12 h prior to the study, and all children were in stable clinical conditions at time of the study. The parents were encouraged to attend the laboratory during testing and gave informed consent, and the procedure was approved by the regional committee for human protection in the biological research.

2.2. Measurement of Zrs

Zrs was measured using the head generator technique (Peslin *et al* 1985) to minimize upper airway wall motion. The hardware (Pulmosfor, SEFAM, France) has been described in detail previously (Peslin *et al* 1991) and is in conformity with the recommendations issued by the European Working Group on Mechanical Respiratory Impedance (Oostveen *et al* 2003). The child wore a nose clip and breathed through a mouthpiece connected to a Fleisch n° 1 pneumotachograph (Metabo, Hepalinges, Switzerland). Sinusoidal pressure variation was applied at 12 Hz with the head generator. Pressure and flow signals were low-pass filtered at 32 Hz using analogical filters and digitized at a sampling rate of 96 Hz. The breathing component in the signals was eliminated using a fourth-order Butterworth high pass filter with a corner frequency of 6 Hz. The Fourier coefficients of pressure and flow at 12 Hz were computed and combined to obtain respiratory resistance, oscillation cycle per oscillation cycle, thus providing 12 measurements per second. Respiratory resistance and reactance were computed from inspiratory Zrs values (Rrs and Xrs) and respiratory conductance from the reciprocal of Rrs (Grs). Airflow, tidal volume, Rrs and Xrs were displayed immediately after each acquisition to allow visual inspection and selection of the data which were stored on a disk.

2.3. Drug administration

The effect of salbutamol was tested at the end of the test by inhalation of two puffs of Ventoline® (salbutamol, 100 μg/puff) delivered through an inhalation chamber (Nespacer, Astra France, Monts, France).

2.4. Protocol

Trials were first performed to familiarize the child with the apparatus. The duration of the acquisition was initially set at 1 min but was reduced to 30 s whenever the child hyperventilated. Once the child was accustomed to the equipment, two measurements were performed at

baseline, 5–10 min apart. In between the measurements, the child was disconnected from the mouthpiece and breathing apparatus. One further measurement was obtained 10 min following salbutamol inhalation.

2.5. Data selection and analysis

Data were selected when there was no continuous hyperventilation. An evidence of glottis closure or swallowing on the flow tracing, however, was not a criterion to reject the measurement since, hopefully, the filtering would take care of it.

2.5.1. Variability and effect of salbutamol. The within measurement (or inter-breath) variability of Grs was computed from values averaged breath-by-breath and expressed as the standard deviation to mean ratio. The between measurement repeatability of Grs and Rrs was calculated between the two baseline values as the percentage of their sign-less difference to their mean, and the per cent change in Grs and Rrs induced by salbutamol was expressed with reference to the respective mean of the two baseline measurements. Such indices are difficult to apply to Xrs because its value is usually close to zero at 12 Hz. Therefore, the between measurement repeatability of Xrs was evaluated from the difference between the two baseline values and the response to bronchodilator, as the difference between salbutamol and mean of the two baseline values.

2.5.2. Reference filter. The reference procedure consisted in 'by hand' elimination of those Rrs and Xrs values departing from the range represented by the respiratory cyclical variations and/or associated with outlying values of Xrs. This procedure will be referred to as *visual filtering*.

2.5.3. Flow shape index filter (FSIF). While, with our set-up, the pressure oscillations are always fairly sinusoidal, owing to the electro-mechanical characteristics of the generator, flow oscillations may be distorted for a number of causes. Such a distortion may strongly impair the computation of respiratory impedance, providing outlying or even negative resistance values. We, therefore, reasoned that the shape of the flow oscillation signal, more precisely its departure from a pure sine wave, could represent an objective unbiased criterion to eliminate spurious data. The FSIF is computed oscillation per oscillation using eight flow values available for each oscillation (12 Hz oscillation sampled at 96 Hz), as follows:

$$\mathrm{FSIF} = \left[\sum_{i=1}^{i=8} |V_i' - (A \,.\, \cos\omega \,.\, t_i + B \,.\, \sin\omega \,.\, t_i)|\right] \Big/ \left[\sum_{i=1}^{i=8} |V_i'|\right]. \qquad (1)$$

It is the sum of the sign-less differences between the observed flow data and the ideal sine wave having the same Fourier coefficients A and B (or equivalently the same phase and amplitude). For normalization the difference is related to the sum of the flow values of the oscillation and expressed as a percentage. In order to estimate an optimal threshold, FSIFs ranging from 5% (FSIF5) to 20% (FSIF20) were first tested for sensitivity and specificity with reference to the visual filtering. Sensitivity was 1 when all data eliminated 'by hand' were also eliminated by FSIF, i.e. there was no false negative. Specificity was 1 when all data recognized as valid 'by hand' were also validated by FSIF, i.e. there was no false positive. The power of FSIF at any threshold was characterized by the following expression:

$$d = [(1 - \text{sensitivity})^2 + (1 - \text{specificity})^2]^{0.5}. \qquad (2)$$

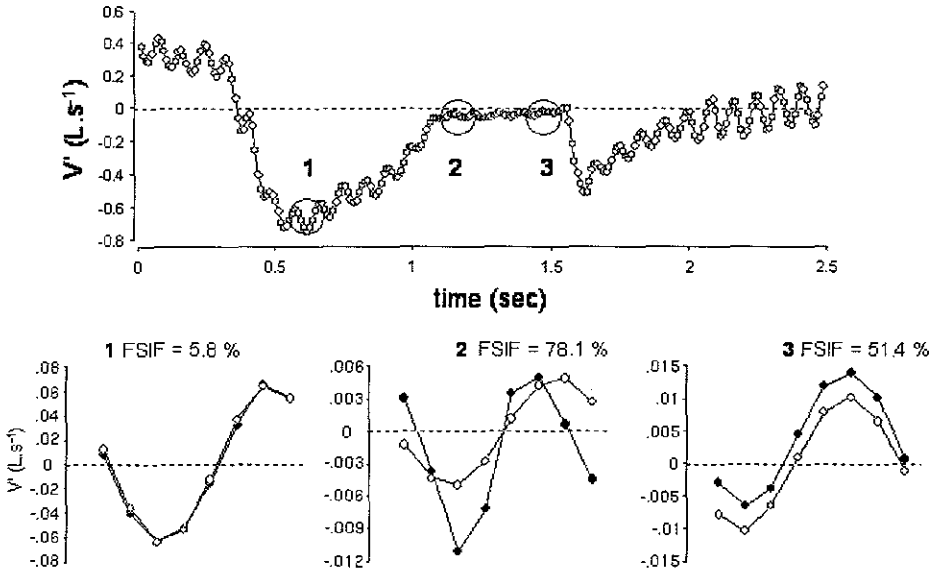


Figure 1. Tracing of unfiltered flow showing oscillations superimposed on a tidal signal in a 5 year old patient. Glottis closure is suggested in the middle part of the recording and is associated with a change in shape and amplitude of flow oscillations. Three oscillation cycles are identified in the upper tracing during normal breathing (1) and glottis closure (2) and (3). The individual graphs at the bottom show the flow signal of these oscillations cycles after high-pass filtering (closed symbols) superimposed on the ideal sine wave having the same Fourier coefficients (open symbols) and the corresponding flow shape index filter (FSIF) is indicated.

Lower the d, smaller the combination of false positive and false negative results and therefore more efficient the filtering procedure. For such an analysis to be meaningful, a minimal number of data are necessary so that calculations were performed only with those measurements where at least 10% of the data were eliminated by the visual filtering. Finally the effect on Grs, Grs variability, reproducibility and response to salbutamol was compared with the visual filtering.

2.5.4. Statistical filter. Finally, for a systematic check of the procedure, a comparison was performed with the previously validated statistical filter that consists in eliminating those Zrs values lying outside the 99% confidence interval (i.e. outside the mean $\pm$ 3SD) and repeating this routine three times (Schweitzer *et al* 2003).

Statistical comparisons among several groups of data were performed using ANOVA for repeated measurements. Paired protected t tests were applied to detect differences between two groups when the variance F ratio was significant. Data are expressed as mean $\pm$ SD, unless otherwise indicated.

3. Results

Figure 1 shows a recording of raw flow signal and examples of flow oscillations before and during glottis closure in a 5 year old subject. The corresponding FSIFs, respiratory resistance and reactance are illustrated in figure 2.

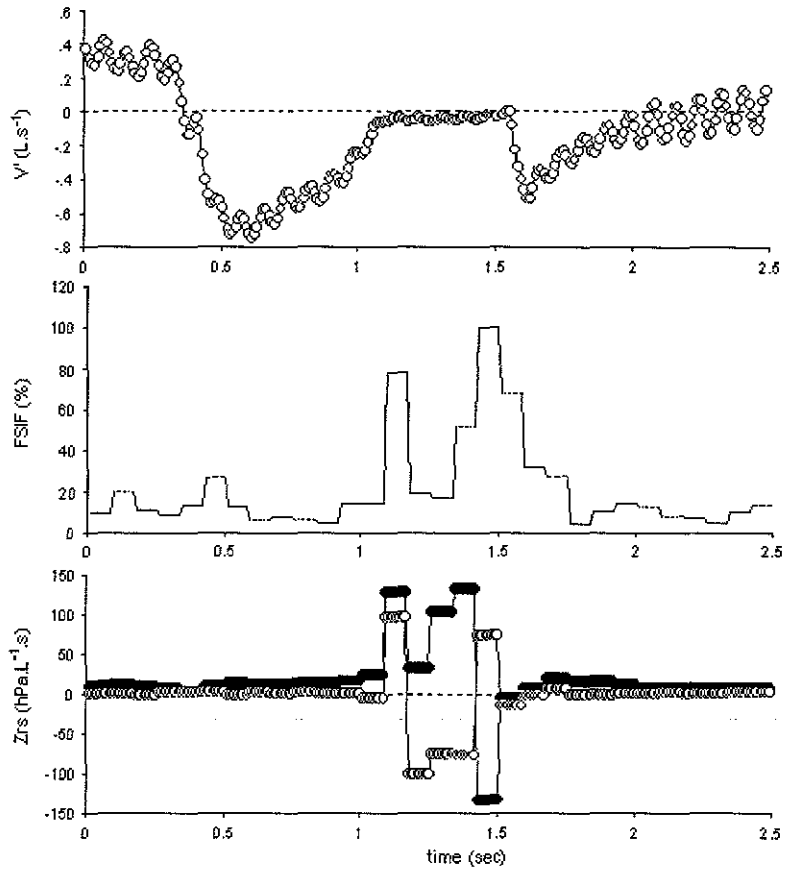


Figure 2. Same flow recording as in figure 1 (V'). The corresponding flow shape index filter (FSIF) and respiratory impedance (Zrs: resistance, closed symbols and reactance, open symbols) are represented for each oscillation cycle. Note the large variations of FSIF and both resistance and reactance during the glottis closure.

Table 1. Percentage of respiratory impedance data after filtering.

	Visual filtering	FSIF5	FSIF8	FSIF10	FSIF15	FSIF20
Baseline 1	91 ± 8	57 ± 23	74 ± 18	81 ± 15	89 ± 10	93 ± 7
Baseline 2	89 ± 13	59 ± 23	76 ± 18	82 ± 15	90 ± 11	93 ± 8
Salbutamol	91 ± 9	59 ± 15	77 ± 12	83 ± 10	91 ± 7	94 ± 5

FSIF5, FSIF8, FSIF10, FSIF15, FSIF20: flow shape index filter with cut-off at 5%, 8%, 10%, 15% and 20%, respectively.

The percentage of data remaining after filtering with FSIF levels ranging from 5% to 20%, taking into account 99 recordings, is reported in table 1. It may be seen that as much as 43% of the data were eliminated with FSIF5, down to about 7% with FSIF20. The effect of filtering was independent of the condition (i.e. baseline or salbutamol, $p = 0.65$).

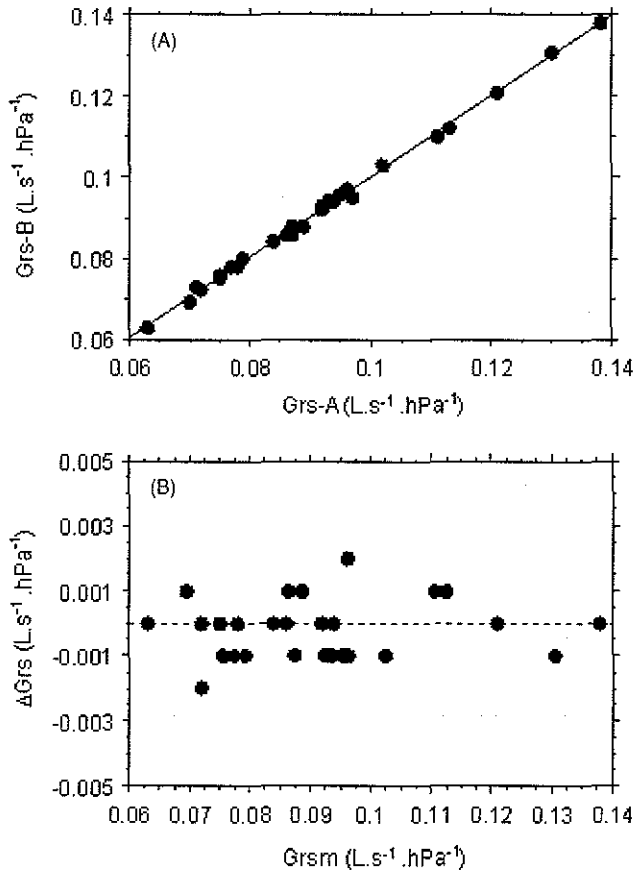


Figure 3. (A) Highly significant correlation between estimates of respiratory conductance (Grs) after the visual filtering performed by two technicians (GrsA, GrsB: $r^2 = 0.998$ ..slope = 0.993). (B) Plot of the difference between estimates of Grs by technicians A and B against the corresponding mean (Grsm) showing narrow scatter of data.

Table 2. Comparison of visual filtering between two technicians on 30 recordings in ten children.

Technician	*n* (%)	Grs (L s^{-1} hPa^{-1})	CV (%)
A	86 ± 7	0.092 ± 0.019	11 ± 3
B	88 ± 6*	0.092 ± 0.018	11 ± 3

n: percentage of data points after filtering; Grs: respiratory conductance; CV: coefficient of variation.
* $p = 0.003$.

3.1. Pilot study comparing visual filtering by two technicians

Although there was a slight but significant difference regarding the number of data left out by technicians A and B, Grs and its coefficient of variation showed virtually identical values (table 2, figure 3(A)). Moreover, the Bland and Altman plot of the Grs difference versus mean showed no trend for increasing difference with increasing mean (figure 3(B)).

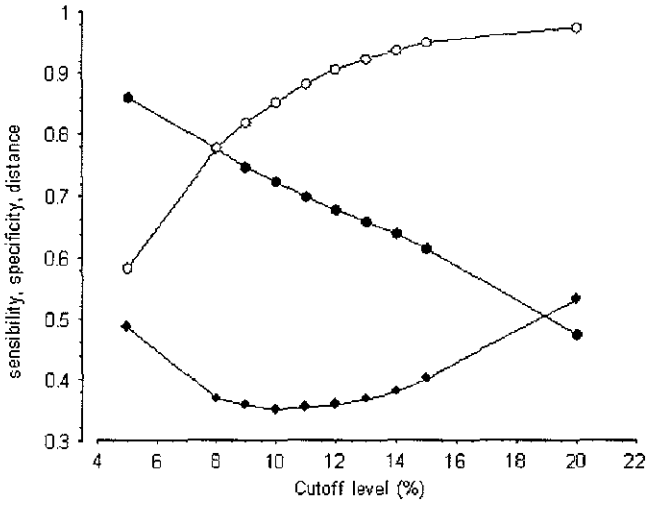


Figure 4. Efficiency of filtering respiratory impedance data based on divergence of oscillatory flow from an ideal sinusoid at different cut-off levels. Sensitivity (closed circles), specificity (open circles) and distance (lozenges) are expressed with reference to the visual filtering.

3.2. Sensitivity and specificity of FSIF

There were 31 recordings—out of 99—in which visual filtering eliminated $\geqslant 10\%$ of the data. A preliminary analysis showed that sensitivity and specificity were independent of subject's condition so that the statistics were performed on the pooled data. As expected, sensitivity decreased and specificity increased with increasing FSIF cut-off. For instance FSIF5, FSIF10 and FSIF15 had sensitivity of, respectively, 0.86, 0.72 and 0.61 and specificity of, respectively, 0.58, 0.85 and 0.95 (figure 4). d was minimal between FSIF8 (0.37) and FSIF15 (0.40) and increased steeply outside this interval, e.g., 0.48 with FSIF5 and 0.53 with FSIF20 (figure 4). FSIF11 to FSIF15 showed high specificity (around 0.9 or higher) and sensitivity ranging from 0.6 to 0.7. FSIF levels 8–10% were more sensitive and slightly less specific than FSIF levels 11–15% and also eliminated more data (table 1).

Altogether cut-offs between 10 and 15% provided optimal filtering with regard to d (figure 4) and to the number of data eliminated (table 1). A further evaluation of FSF was thus focused on these cut-offs.

3.3. FSIF and Grs, Rrs and Xrs

An important finding was that Grs tended to decrease with increasing filtering (figure 5); the effect was similar at baseline and after salbutamol; compared to visual filtering the decrease was significant for FSIF10 but not FSIF15 (table 3A). For the baseline recording, illustrated in figure 5, it was found that FSIF up to 12% yielded significantly lower Grs than visual filtering. Both FSIF10 and FSIF15 were associated with larger Rrs (table 3B) and lower Xrs compared to visual filtering (table 3C).

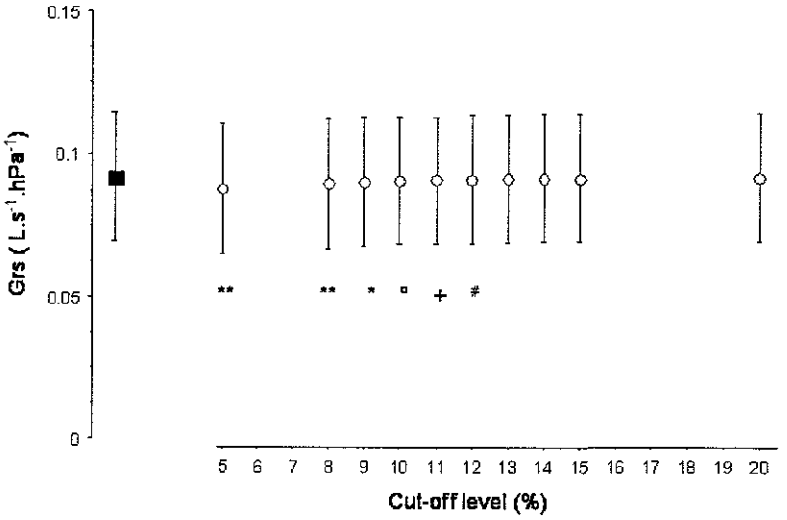


Figure 5. Mean (±SD) respiratory conductance (Grs) after visual filtering (visual filtering, closed square) and after filtering based on divergence of oscillatory flow from an ideal sinusoid (see methods) using different cut-off levels (*x*-axis). For clarity only values from first baseline recording are represented. Symbols indicate significant difference relative to visual filtering: (**) $p < 0.001$, (*) $p = 0.001$, (○) $p = 0.01$, (+) $p = 0.02$ and (#) $p = 0.05$.

Table 3. Effect of filtering on respiratory conductance and respiratory impedance.

	(A) Respiratory conductance ($L\ s^{-1}\ hPa^{-1}$)			
	Visual filtering	FSIF10[a]	FSIF15	Statistical filtering[b,c]
Baseline 1	0.092 ± 0.022	0.090 ± 0.022	0.091 ± 0.022	0.092 ± 0.022
Baseline 2	0.096 ± 0.026	0.095 ± 0.027	0.096 ± 0.026	0.097 ± 0.026
Salbutamol	0.128 ± 0.030	0.126 ± 0.031	0.126 ± 0.031	0.127 ± 0.030
	(B) Respiratory resistance ($hPa\ L^{-1}\ s$)			
	Visual filtering	FSIF10[d]	FSIF15[e]	Statistical filtering[f,g]
Baseline 1	12.5 ± 2.8	12.6 ± 2.8	12.6 ± 2.8	12.4 ± 2.8
Baseline 2	11.9 ± 2.9	12.0 ± 3.0	12.2 ± 3.1	11.9 ± 2.9
Salbutamol	8.9 ± 2.2	9.1 ± 2.3	9.3 ± 2.3	8.9 ± 2.2
	(C) Respiratory reactance ($hPa\ L^{-1}\ s$)			
	Visual filtering	FSIF10[h,i]	FSIF15[j]	Statistical filtering[k]
Baseline 1	1.34 ± 1.4	1.30 ± 1.46	1.23 ± 1.56	1.32 ± 1.39
Baseline 2	1.38 ± 1.0	1.28 ± 1.04	1.10 ± 1.30	1.34 ± 0.95
Salbutamol	1.72 ± 0.69	1.49 ± 0.81	1.32 ± 1.07	1.65 ± 0.68

Respiratory conductance: FSIF10, FSIF 15—flow shape index filter with cut-off at 10% & 15%, respectively. [a] $p < 0.001$ versus visual filtering; [b] $p < 0.05$ versus FSIF15; [c] $p < 0.01$ versus FSIF10.
Respiratory resistance: Abbreviations as in table 1; [d] $p = 0.01$ versus visual filtering; [e] $p < 0.001$ versus visual filtering; [f] $p < 0.001$ versus FSIF15; [g] $p = 0.001$ versus FSIF10.
Respiratory reactance: [h] $p = 0.03$ versus visual filtering; [i] $p = 0.02$ versus FSIF15; [j] $p < 0.001$ versus visual filtering; [k] $p = 0.002$ versus FSIF15.

Table 4. Within measurement variability of respiratory conductance after filtering with four different algorithms (see methods). Abbreviations as in table 2. Data in %.

Condition	Visual filtering	FSIF10[a]	FSIF15[a]	Statistical filtering
Baseline 1	12.2 ± 5.5	12.9 ± 4.2	12.6 ± 4.6	11.8 ± 4.5
Baseline 2	12.6 ± 4.8	13.4 ± 5.5	13.6 ± 6.8	12.3 ± 4.4
Salbutamol	10.9 ± 4.5	12.2 ± 4.1	11.8 ± 4.0	10.7 ± 3.8

[a] $p < 0.01$ versus visual or statistical filtering.

Table 5. Between measurement repeatability of respiratory conductance (A) and impedance (B and C) and corresponding change induced by salbutamol after different filtering algorithms.

	Visual filtering	FSIF10	FSIF15	Statistical filtering
	(A) Respiratory conductance			
Repeatability (%)	8.1 ± 5.9	8.6 ± 6.2	8.4 ± 5.7	8.1 ± 5.0
ΔGrs_S (%)[a]	38.1 ± 25.4	37.4 ± 26.7	36.8 ± 25.4	36.8 ± 26.1
	(B) Respiratory resistance			
Repeatability (%)	8.4 ± 6.2	8.6 ± 6.1	8.5 ± 6.3	8.3 ± 6.2
ΔRrs_S (%)[b]	−25.9 ± 12.7	−24.6 ± 13.5	−23.6 ± 14.6*	−25.9 ± 12.8
	(C) Respiratory reactance			
ΔXrs (hPa L^{-1} s)[c]	0.50 ± 0.76	0.59 ± 0.84	0.80 ± 1.23**	0.49 ± 0.75
ΔXrs_S (hPa $^{-1}$ s)[d]	0.37 ± 0.74	0.21 ± 0.84	0.16 ± 1.14	0.32 ± 0.58

[a] Percentage change in conductance induced by salbutamol. Other abbreviations as in table 2.
[b] Percentage change in resistance induced by salbutamol. Other abbreviations as in table 2.
[c] Sign-less difference between baseline measurements.
[d] Difference between salbutamol and mean baseline. Other abbreviations as in table 2.
* $p = 0.03$.
** $p = 0.04$ versus visual and statistical filtering.

3.4. FSIF and variability, reproducibility and effect of salbutamol

The Grs (within measurement) coefficient of variation was slightly but significantly smaller with visual filtering compared with FSIF15 or FSIF10 ($p < 0.01$, table 4). On the other hand, the (between measurement) reproducibility of Grs or Rrs was similar to visual filtering, FSIF15 and FSIF10 (table 5A and B), while Xrs was significantly less reproducible with FSIF15 than visual filtering ($p = 0.04$, table 5C).

The increase in Grs after salbutamol was also similar for visual filtering, FSIF15 or FSIF10 (table 5A), being on the average about four times the mean reproducibility, while the decrease in Rrs was slightly and significantly less with FSIF15 than visual filtering (table 5B, $p = 0.04$). The effect on Xrs was not affected by the filtering (table 5C).

3.5. FSIF10 and FSIF15 with reference to statistical filtering

Finally, it was found that sensitivity of FSIF10 (0.72 ± 0.22) or FSIF15 (0.61 ± 0.24) was significantly larger than that of the statistical filtering (0.41 ± 0.18, $p < 0.0001$), while specificity with either FSIF10 (0.85 ± 0.11) or FSIF15 (0.95 ± 0.075) was significantly lower than the statistical filtering (0.99 ± 0.04, $p < 0.0001$). Combining sensitivity and specificity, d was lower with FSIF10 (0.35 ± 0.20) or FSIF15 (0.40 ± 0.23) than with the statistical filter (0.59 ± 0.18, $p < 0.0001$). On the other hand, the latter was more conservative than FSIF. For

instance, in the first baseline recording, FSIF10 eliminated 19% of the data versus only 5% with the statistical filtering.

FSIF10 and FSIF15 gave slightly lower estimates of Grs than the statistical filter (respectively, $p < 0.01$ and $p < 0.05$, table 3A) and slightly higher Rrs (respectively, $p = 0.001$ and $p < 0.001$, table 3B). FSIF15 gave slightly lower values of Xrs than the statistical filter ($p = 0.002$, table 3C). Compared with the latter, reproducibility was not significantly different for Grs or Rrs with FSIF10 and FSIF15 (table 5A and B), but was slightly lower for Xrs with FSIF15 ($p = 0.04$, table 5C).

The change induced by salbutamol was similar to FSIF10 and FSIF15 than with statistical filtering for Grs and Xrs (tables 5A and C) but slightly less with FSIF15 than with statistical filtering for Rrs ($p = 0.04$, table 5B).

4. Discussion

The main motivation for this study was to design a filtering to achieve a better description of the airway response to a deep inhalation, using a procedure that would not be based on Zrs variation, but on an unbiased estimation, i.e. the shape of the flow oscillation. The primary end-point was Grs rather than Rrs because of a linear relationship between the airway conductance and lung volume. On the other hand, following a Zrs acquisition, Rrs and Xrs are displayed and used for the visual as well as the statistical filtering. Thus the current study was focused on the breath-by-breath Grs and on the mean Rrs and Xrs. The values in inspiration were retained because—compared to expiration—they have been shown to be less dependent on upper airway function (Stanescu *et al* 1972) and to exhibit a lower variability (Schweitzer *et al* 2003). While impedance data frequently exhibit smooth cyclic variations related to the volume and flow dependence of respiratory resistance, such is not a rule in children with asthma. In our experience, the data are often noisy because: (a) high airway resistance decreases the amplitude of flow oscillations, (b) fast breathing is responsible for marked respiratory flow transients, particularly at the transition from inspiration to expiration and (c) swallowing and periods of glottis closure are not infrequent when the measurements last longer than a few seconds. Then it is not uncommon to observe outlying resistance values, a proper elimination of which is necessary (Que *et al* 2001, Salome *et al* 2003, Stanescu *et al* 1975, Solymar *et al* 1984). In the present study, the graphic representation of Rrs as a function of time-allowed recognition and rejection of any data departing from the range corresponding to the regular cyclic pattern. This visual filtering was used as a reference, because we believe that the educated eye is the best possible tool to detect spurious values. The conventional coherence function would be of little help when the interest is the tracking of Zrs with time, as in the context of our study. Nevertheless, a bias may theoretically be induced by the subjectivity of investigator's own judgment. However, the artefacts most likely to affect the computation are clear outliers that are unlikely to be missed. In addition, it was established that the procedure performed by two technicians on the same set of records provided similar estimates of Grs and coefficient of variation, and in spite of its low sensitivity, the statistical filter gave the same estimation of Grs, Rrs and Xrs and on their reproducibility. The quite different approach tested here does not imply any assumption on variability or magnitude of resistance, as it is entirely based on the shape of the flow oscillation and applied individually and independently on each oscillation cycle. Considering completely different principles of visual filtering and FSIF, we find it quite remarkable that taking the first as a reference, FSIF10, for instance, has sensitivity above 0.70 and a specificity of about 0.85. This is an indication that our assumption which spurious data should reveal itself by a distorted flow signal is in general correct. False positive results may be explained by the fact that data points, identified by FSIF by their distorted

oscillation flow, were not eliminated by the visual filtering because they were lying within the range of Zrs tidal variations. On the other hand, false negative results could occur during such an event as glottis closure if the flow oscillation remained fairly sinusoidal and went undetected by FSIF, while the large increase in Zrs would easily be picked up by the eye. The situation is further complicated by the head generator as it also happens that, during such glottis closure, resistance falls close to zero or even becomes negative. When pressure is applied around the head, the transmural pressure across extrathoracic airway walls is very small, and during upper airway closure the signal-to-noise-ratio decreases markedly. An interesting finding was that, compared to visual filtering, FSIF provided slightly but significantly lower Grs at low filtering thresholds (figure 5). The oscillatory flow should be distorted during the early and late parts of inspiration, when respiratory flow changes rapidly, yet remains low. Eliminating Grs values at low flows, which are larger than at high flow, will result in a decrease in the mean value while, as explained above, such altered oscillation cycles would not be recognized by the visual filtering. Consistently, mean Rrs was higher with FSIF than with the visual filtering. The slightly lower Xrs with FSIF than with the visual filtering could suggest elimination of larger number of positive Xrs values when filtering by eye during flow transients. From a practical point of view, the underestimation of Grs being of only 1–1.5% in the 10–15% threshold range, we do not think it is a serious drawback of FSIF. Of slightly more concern could be the fact that, although the Grs coefficient of variation was comparable to prior estimations for Rrs (Timonen *et al* 1997, Klug and Bisgaard 1996), it was slightly larger with FSIF than with the visual filtering (table 4). This suggests that the selection made by the eye is influenced by the general aspect of the recording, while FSIF works oscillation cycle per oscillation cycle and does not use any information on the resistance variability. More importantly, the reproducibility of baseline Grs measurements appeared not to be significantly different with FSIF than with the visual or statistical filtering (table 5), a fact of importance in many clinical applications. The study also revealed that the reproducibility of filtered data was more than adequate to detect the effect of bronchomotor drugs (table 5) and consistent with previous reports (Klug and Bisgaard 1996).

FSIF therefore appears as a valuable alternative to the time-consuming visual filtering; it also has a much larger sensitivity than the statistical filter, with an additional advantage over the latter that it may be used in situations where resistance is expected to vary in time. Although the index d combining sensitivity and specificity did not vary much from cut-off levels of 9–12% (figure 4), the best value was found with a threshold of 10%, luckily a round figure. At that level the number of rejected points in our 99 recordings, although larger that with the visual filtering, remained acceptably low (table 1), and Grs was only 1.5% lower than with the visual filtering. Although a threshold of 15%—the other round figure—could also be considered because it eliminated the same number of points as the visual filtering and did not decrease significantly Grs, we tend to prefer 10% because of its substantially larger sensitivity and lower d. Moreover, when looking at the effect of overall mean Zrs data, FSIF15—but not FSIF10—was found to be associated with slightly lower repeatability of Xrs and lower magnitude of Rrs response to salbutamol. The threshold level, however, may have to be adapted according to the characteristics of the experimental set-up: would the pressure generator, for instance, provide a distorted signal, or the flow signal/noise ratio be lower, a higher cut-off level might be advisable.

In summary, FSIF gives satisfactory agreement with the visual filter regarding Grs and Zrs values, repeatability and response to bronchodilators. The FSIF has the advantage to operate real time, with no need for post-processing—in contrast with visual—or statistical filtering. It would be particularly helpful to unsupervised self-testing, as recently applied at the patient's home (Rigau *et al* 2003).

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the helpful technical assistance of N Bertin, G Colin, E Gerhardt and S Méline. The study was supported by EA 3450 'Interactions des systèmes de régulation respiratoire chez l'adulte et l'enfant'.

References

Birch M, MacLeod D and Levine M 2001 An analogue instrument for the measurement of respiratory impedance using the forced oscillation technique *Physiol. Meas.* **22** 323–39

Carlsen K H and Carlsen K C 2002 Exercise-induced asthma *Paediatr. Respir. Rev.* **3** 154–60

Delacourt C, Lorino H, Herve-Guillot M, Reinert P, Harf A and Housset B 2000 Use of the forced oscillation technique to assess airway obstruction and reversibility in children *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **161** 730–6

Ducharme F M and Davis G M 1998 Respiratory resistance in the emergency department: a reproducible and responsive measure of asthma severity *Chest* **113** 1566–72

Hellinckx J, De Boeck K, Bande-Knops J, van der Poel M and Demedts M 1998 Bronchodilator response in 3–6.5 years old healthy and stable asthmatic children *Eur. Respir. J.* **12** 438–43

Jensen A, Atileh H, Suki B, Ingenito E P and Lutchen K R 2001 Airway caliber in healthy and asthmatic subjects effects of bronchial challenge and deep inspirations *J. Appl. Physiol.* **91** 506–15

Klug B and Bisgaard H 1996 Measurement of lung function in awake 2–4-year-old asthmatic children during methacholine challenge and acute asthma a comparison of the impulse oscillation technique, the interrupter technique, and transcutaneous measurement of oxygen versus whole-body plethysmography *Pediatr. Pulmonol.* **21** 290–300

Lebecque P and Stanescu D 1997 Respiratory resistance by the forced oscillation technique in asthmatic children and cystic fibrosis patients *Eur. Respir. J.* **10** 891–5

Lenney W and Milner A D 1978 Recurrent wheezing in the preschool child *Arch. Dis. Child.* **53** 468–73

Malmberg L P, Pelkonen A, Poussa T, Pohianpalo A, Haahtela T and Turpeinen M 2002 Determinants of respiratory system input impedance and bronchodilator response in healthy Finnish preschool children *Clin. Physiol. Funct. Imaging* **22** 64–71

Mansell A, Levison H, Kruger K and Tripp T L 1972 Measurement of respiratory resistance in children by forced oscillations *Am. Rev. Respir. Dis.* **106** 710–4

Marchal F, Loos N, Monin P and Peslin R 1999 Methacholine-induced volume dependence of respiratory resistance in preschool children *Eur. Respir. J.* **14** 1167–74

Marchal F, Schweitzer C and Moreau-Colson C 2002 Respiratory impedance response to a deep inhalation in children with history of cough or asthma *Pediatr. Pulmonol.* **33** 411–8

Milanese M, Mondino C, Tosca M, Canonica G W and Brusasco V 2000 Modulation of airway caliber by deep inhalation in children *J. Appl. Physiol.* **88** 1259–64

Oostveen E, MacLeod D, Lorino H, Farre R, Hantos Z, Desager K and Marchal F 2003 Respiratory impedance measurements. The forced oscillation technique in clinical practice: methodology, recommendations and future developments *Eur Respir J.* **22** 1026–41

Ortiz G and Menendez R 2002 The effects of inhaled albuterol and salmeterol in 2- to 5-year-old asthmatic children as measured by impulse oscillometry *J. Asthma* **39** 531–6

Peslin R, Duvivier C, Didelon J and Gallina C 1985 Respiratory impedance measured with head generator to minimize upper airway shunt *J. Appl. Physiol.* **59** 1790–5

Peslin R, Marchal F, Duvivier C, Ying Y and Gallina C 1991 Evaluation of a modified head generator for respiratory impedance measurement *Eur. Respir. Rev.* **1** 140–5

Peslin R, Ying Y, Gallina C and Duvivier C 1992 Within-breath variations of forced oscillation resistance in healthy subjects *Eur. Respir. J.* **5** 86–92

Que C L, Kenyon C M, Olivenstein R, Macklem P and Maksym G N 2001 Homeostasis and short-term variability of human airway caliber *J. Appl. Physiol.* **91** 1131–41

Rigau J, Burgos F, Hernandez C, Roca J, Navaras D and Farré R 2003 Unsupervised self-testing of airway obstruction by forced oscillation at the patient's home *Eur Respir J.* **22** 668–71

Salome C M, Thorpe C W, Diba C, Brown N J, Berend N and King G G 2003 Airway re-narrowing following deep inspiration in asthmatic and nonasthmatic subjects *Eur. Respir. J.* **22** 62–8

Schweitzer C, Chone C and Marchal F 2003 Influence of data filtering on reliability of respiratory impedance and derived parameters in children *Pediatr. Pulmonol.* **36** 502–8

Schweitzer C, Moreau-Colson C and Marchal F 2002 Respiratory impedance response to a deep inhalation in asthmatic children with spontaneous airway obstruction *Eur. Respir. J.* **19** 1020–5

Solymar L, Aronsson P H, Engström I, Bake B and Bjure J 1984 Forced oscillation technique and maximum expiratory flows in bronchial provocation tests in children *Eur. J. Respir. Dis.* **65** 486–95

Stanescu D C, Fesler R, Veriter C, Frans A and Brasseur L 1975 A modified measurement of respiratory resistance by forced oscillation during normal breathing *J. Appl. Physiol.* **39** 305–11

Stanescu D C, Pattijn J, Clément H and Van de Woestijne K P 1972 Glottis opening and airway resistance *J. Appl. Physiol.* **32** 460–6

Timonen K L, Randell J T, Salonen R O and Pekkanen J 1997 Short-term variations in oscillatory and spirometric lung function indices among school children *Eur. Respir. J.* **10** 82–7

SCD-UHP - NANCY 1 BIBLIOTHÈQUE MÉDECINE

Nom : **Monsieur SCHWEITZER**
Prénom : **Cyril**

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

en **BIOLOGIE SANTÉ ENVIRONNEMENT**

Spécialité : **BIOINGÉNIERIE**

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER N°943

Nancy, le 6 octobre 2004

Le Président de l'Université

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1 — LE PRÉSIDENT

Jean-Pierre HINSINCE

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ · NANCY 1

24-30, rue Lionnois B.P. 60120 54003 Nancy cedex - Tél. 03 83 68 20 00 - Fax 03 83 68 21 00

Adresse électronique : _____ @uhp-nancy.fr

Résumé: Le tonus bronchomoteur (TBM) varie de façon significative lorsque le système thoraco-pulmonaire est distendu par une inspiration profonde (IP). Les caractéristiques de la variation induite varient avec la nature et le degré de l'obstruction bronchique. Ce travail comporte 3 études cliniques permettant de caractériser chez l'enfant les variations du TBM après IP lors d'une obstruction bronchique spontanée et lors de 2 obstructions induites par la méthacholine et par l'exercice. La technique des oscillations forcées en mode mono-fréquentiel permet de décrire les variations du TBM au décours d'une IP sans nécessiter de collaboration active des enfants. Les études valident les données retrouvées précédemment chez l'adulte, à savoir l'induction d'une bronchoconstriction chez le patient asthmatique sévère et une bronchodilatation en cas d'obstruction induite. La technique doit prouver son efficacité pour l'exploration fonctionnelle en pratique courante. Les mécanismes impliqués dans les variations du TBM sont mal identifiés. La théorie mécanique de l'hystérésis relatif des voies aériennes et du parenchyme prédomine les hypothèses physiopathologiques actuelles. Afin d'étudier ces mécanismes, la seconde partie du travail est consacré à la présentation un modèle de rat rendu allergique et dont la mécanique ventilatoire est mesurée par la technique des oscillations forcées.

Title: Bronchomotor tone alteration following pulmonary volume variation: description, mechanisms, experimental set-up in rat and application to lung function testing in asthmatic children.

Abstract: There is significant alteration of bronchomotor tone (BMT) after deep inhalation (DI) stretching of respiratory system. Induced alterations in BMT change with degree and nature of airway obstruction. This report presents 3 different studies in children allowing characterization of BMT after DI during spontaneous and induced obstruction (by methacholine and exercise). Lung function testing, as description of BMT after DI, is possible even in poorly cooperative children by the mean of forced oscillation technique in single frequency. Those sudies valid previous adult data, i.e. a post-DI bronchoconstriction in severe asthmatic children, whereas a bronchodilation occurs after DI in induced bronchoconstriction. The technique needs to be validated for routine lung function testing in children in assessment of bronchial inflamation. The mechanisms implicated in the DI-induced alteration of BMT are poorly understood. The main hypothesis is the theory of relative hysteresis between airway and lung parenchyma. In order to study the mechanisms implicated in the response to DI, we present a model of rat allergic asthma, where lung mechanics is assessed by forced oscillation technique.

Discipline: Ecole doctorale biologie, santé et environement.

Spécialité: Bioingénierie

Mots-clés: Inspiration profonde, oscillations forcées, tonus bronchomoteur, enfant.

Lieu de préparation: Laboratoire de Physiologie – Faculté de Médecine de Nancy
9 Avenue de la Forêt de Haye
54500 Vandoeuvre lès Nancy