

LA FATIGUE DU DIAPHRAGME: UN RISQUE VITAL AU COURS DES PNEUMONIES ?

D. Desmecht, A. Linden, H. Amory, P. Lekeux

Laboratoire d'Investigation Fonctionnelle

Faculté de Médecine Vétérinaire

Université de Liège, Bât. B42 Sart Tilman, B-4000 Liège, Belgique

Introduction

Les jeunes bovins sont particulièrement enclins aux maladies respiratoires. Les pertes zootechniques qui en découlent ont une importance économique considérable pour la spéculation bovine en général et justifient les efforts réalisés pour élargir nos connaissances des mécanismes physiopathologiques sous-jacents.

Le système respiratoire est essentiellement constitué de deux parties : un organe dévolu aux échanges gazeux : le poumon, et une pompe destinée à mobiliser l'air dans ce dernier : les muscles respiratoires. Traditionnellement, le centre d'intérêt de la plupart des pneumologues et des recherches menées en physiologie respiratoire bovine a toujours été l'étude du poumon sain et pathologique. Cependant, l'étude de la physiologie et des performances des muscles respiratoires revêt un intérêt considérable, surtout dans le contexte des pneumonies. En effet, dans ces conditions, les muscles respiratoires ont à soutenir un travail exacerbé, sans possibilité de repos et dans des conditions précaires d'approvisionnement en oxygène. La question qui se pose est donc de savoir si, dans certains cas, la cause de l'acidose respiratoire, voire de la mort, pourrait être attribuée à la fatigue de ces muscles.

Afin de répondre à cette question, une démarche en trois étapes a été suivie. D'abord, un modèle expérimental permettant de quantifier les performances mécaniques du diaphragme chez le veau sain, non tranquillisé et respirant spontanément a été établi. Ensuite, ce modèle a été amélioré afin de satisfaire à des conditions de fiabilité maximales. Enfin, le modèle en question a été mis en oeuvre dans le contexte d'une pneumonie à *Pasteurella hemolytica* induite expérimentalement.

Matériel et méthode

Etablissement du modèle

La mesure de la force générée par un muscle en réponse à la stimulation électrique de son nerf est une méthode spécifique et objective d'en apprécier quantitativement la contractilité. Dans le cas du diaphragme des bovins, l'utilisation de cette méthode a exigé le recours simultané à trois techniques:

La mesure de la force générée, c'est-à-dire la pression transdiaphragmatique (P_{di}), obtenue en soustrayant la valeur de la pression oesophagienne de celle de la pression ruménale (1). Ces deux dernières pressions étaient mesurées grâce à deux cathéters en polyéthylène équipés d'un ballonnet à leur extrémité distale et raccordés à un transducteur de pression (Statham P23D) à leur extrémité proximale. Les cathéters en question étaient introduits dans l'oesophage et dans le rumen via les narines et leur positionnement vérifié grâce au monitoring visuel des tracés de pression et en utilisant les équations conventionnelles utilisées pour les bovins (2).

Le contrôle strict de l'influx nerveux phrénique. Cela a nécessité le développement d'une technique originale de stimulation transjugulaire des nerfs phréniques chez le bovin éveillé et respirant spontanément. Au départ, l'idée de stimuler les nerfs phréniques au travers de la paroi des veines jugulaires était basée sur une particularité anatomique du trajet des nerfs phréniques chez les bovidés. En effet, sur une distance d'environ 1 cm (veau de ± 50 kg), à l'aplomb de la première vertèbre dorsale, le nerf phrénique droit repose entre la veine jugulaire, la veine brachiale et l'artère brachiale droites, tandis que le gauche se trouve coincé entre les veines jugulaires et brachiales

gauches et le muscle scalène. Les deux nerfs phréniques ont donc été stimulés au travers des parois des veines jugulaires via deux cathéters munis d'électrodes de platine à leur extrémité distale descendues à cette position à partir de deux introducteurs en matière plastique placés dans les veines jugulaires au niveau du cou. Afin de réaliser le positionnement correct des électrodes de platine distales en regard des nerfs phréniques ipsilatéraux, des ondes carrées ont été déclenchées dès l'introduction du cathéter-électrode dans la veine. Le cathéter-électrode était alors avancé pas à pas dans la veine jusqu'à ce qu'une secousse mécanique soit nettement identifiable sur le tracé de la Pdi. Cela étant fait, le voltage du stimulus était augmenté progressivement jusqu'à ce que l'intensité de la secousse mécanique soit maximale. Enfin, afin de mesurer la contractilité du diaphragme, les nerfs phréniques étaient stimulés à 10, 20, 30, 70 et 100 Hz pendant 2 secondes (3). La Pdi mesurée concomitamment permettait de quantifier les tétanos progressivement fusionnés du diaphragme. En règle générale, toute la procédure était bien tolérée par les animaux éveillé et non tranquillisés à l'exception des sujets pesant moins de 50 kg chez la majorité desquels il s'est avéré impossible de stimuler de manière fiable le nerf phrénique gauche sans initier des arythmies cardiaques. Chez les jeunes animaux, nous avons donc eu recours à des stimulations unilatérales droites. Le risque de fibrillation ventriculaire, réel en cas d'entrée intempestive des électrodes stimulatrices dans les cavités cardiaques, reste faible si on recourt à une introduction progressive des électrodes sous monitoring visuel minutieux du tracé de Pdi.

La réponse électrique du diaphragme en réponse à la stimulation électrique de ses nerfs devait être minutieusement contrôlée afin de vérifier que la stimulation restait identique d'une fois à l'autre. Cela a été réalisé grâce à un monitoring électromyographique (4).

Etude de la fiabilité du modèle

Il y a plusieurs sources d'erreur possibles dans la construction et l'interprétation des courbes "Pdi-fréquence" décrites ci-dessus.

Lorsqu'on compare deux courbes, il importe que les mêmes fibres nerveuses phréniques aient été stimulées dans les deux cas. Une telle condition peut être facilement rencontrée en augmentant le voltage du stimulus de manière à ce que toutes les fibres nerveuses présentes dans le nerf soient dépolarisées. En pratique le voltage requis, appelé voltage supramaximal, a été déterminé chez chaque sujet grâce au monitoring de l'amplitude du potentiel d'action composé de chaque hémidiaphragme. Lorsque cette amplitude n'augmentait plus en réponse à un stimulus d'intensité croissante, le voltage était encore augmenté de 40-50 % afin de rester dans des conditions supramaximales même en cas de déplacement de l'électrode dans la veine.

Même lorsque le stimulus est supramaximal, il reste que lorsqu'on compare deux courbes, elles doivent également être identiques d'un point de vue mécanique (5). En d'autres mots, les deux contractions doivent être isométriques, les fibres musculaires se raccourcir à la même vitesse et la contraction avoir été initiée alors que les fibres avaient la même longueur. En pratique, ces conditions sont respectées si on veille à stimuler les nerfs phréniques au moment de la fin de l'expiration (quand le thorax est revenu passivement à sa capacité résiduelle fonctionnelle) et contre des voies aériennes obstruées.

Lorsque ces quatre conditions étaient réunies au moment de la stimulation, il s'est avéré possible de mesurer, de manière reproductible et fiable, la force déployée par le diaphragme en réponse à des stimulation de fréquence croissante chez des bovins éveillé et respirant spontanément.

Induction d'une pneumonie expérimentale

Cinq veaux Frisons mâles sains, âgés d'environ 10 jours ont été utilisés. Une instillation intratrachéale d'une culture de *Pasteurella hemolytica* A1 (5.10^9 à 5.10^{10} CFU/ml) en phase logarithmique de croissance a été pratiquée.

Les animaux ont été étudiés pendant dix heures, après quoi ils ont été euthanasiés.

Paramètres mesurés et protocole

Les paramètres de la ventilation, de la mécanique pulmonaire et des gaz artériels ont été mesurés avant l'inoculation et une fois toutes les heures après par les techniques classiques (pneumotachographie, ballonnet œsophagien, ...). Les courbes "Pdi-fréquence" du diaphragme ont également été construites avant et toutes les trois heures après l'inoculation. Après l'euthanasie des animaux, les poumons ont été prélevés pour examen histopathologique.

Résultats

Le succès de l'inoculation a été confirmé aussi bien par l'évolution des paramètres fonctionnels respiratoires (hyperventilation, diminution importante de la compliance dynamique pulmonaire, hypoxémie artérielle) et hématologiques (neutropénie) que par l'examen histo-pathologique.

La Pdi, qui valait 53 ± 3.9 , 53.7 ± 4.4 , 39.3 ± 2.5 , 37.3 ± 2.2 et 25.8 ± 3.6 cmH₂O avant l'inoculation pour une stimulation à 100, 70, 30, 20 et 10 Hz respectivement a diminué progressivement au cours de la maladie : 39.9 ± 1.9 , 38 ± 2.7 , 32.4 ± 2.7 , 29.9 ± 3 et 26.2 ± 2.3 après 3 heures; 33.7 ± 1.2 , 32.1 ± 0.8 , 28.1 ± 1.1 , 25.8 ± 2 et 24.3 ± 1.3 après 6 heures et 34.3 ± 4.7 , 30.5 ± 4.1 , 25.9 ± 2.5 , 23.2 ± 0.8 et 22.1 ± 1.9 cmH₂O après 9 heures, toujours pour des stimulations pratiquées à 100, 70, 30, 20 et 10 Hz, respectivement.

Comme discuté précédemment, la pression générée par le diaphragme pour une stimulation donnée est dépendante de la longueur initiale de ses fibres, laquelle, à son tour, dépend du volume pulmonaire auquel la stimulation est pratiquée. Par conséquent, il est possible que les changements observés soient secondaires à des changements du volume pulmonaire atteint en fin d'expiration. Ce volume de fin d'expiration, mesuré par la dilution de l'Hélium, a effectivement diminué au cours des dix heures de maladie. Cependant, cela signifie que les muscles expiratoires "poussaient" le diaphragme en avant pendant l'expiration, ce qui a en fait pour effet de le placer sur un point plus efficace de sa courbe tension-longueur lorsque l'inspiration spontanée, ou la stimulation, commence. Par conséquent, la mesure de la Pdi pendant la pneumonie n'a sûrement pas été sousestimée.

Conclusion

Les performances mécaniques du diaphragme diminuent au cours du développement d'une pneumonie. Ce phénomène n'a pas pu être corrélé à des raisons purement mécaniques et peut donc être assimilé à de la fatigue. De nombreuses étapes, depuis le cerveau jusqu'aux éléments contractiles sont concernées par la contraction musculaire. Cependant, l'approche utilisée ici exclut nécessairement les étapes "centrales".

L'observation que la perte de force ne s'accompagne pas d'un déclin de l'activité électrique suggère (1) que la transmission nerveuse n'était probablement pas altérée et (2) que le dysfonctionnement se situe plutôt au niveau du couplage excitation-contraction. Les processus métaboliques fournissant de l'énergie pour la contraction musculaire dépendent fortement de la perfusion musculaire et de la disponibilité en oxygène. Il est possible que dans le contexte de la pneumonie, le travail respiratoire étant multiplié et la disponibilité en oxygène étant réduite du fait de l'altération des échanges gazeux, pourrait forcer le diaphragme à un métabolisme anaérobie. La présente étude ne permet pas d'apporter une explication précise à la perte de force mesurée. C'est pourquoi des biopsies de diaphragme ont été faites avant l'euthanasie des animaux en vue de déterminer les contenus tissulaires en glycogène et en lactates. Cette étude pourra éventuellement permettre d'apporter une explication moins spéculative.

En conclusion, il apparaît clairement que d'autres études sont indispensables pour préciser le mécanisme exact responsable de la diminution des performances du diaphragme au cours d'une pneumonie. Cette étude montre cependant de manière non équivoque que le facteur précipitant qui peut causer la mort au cours des maladies respiratoires pourrait être simplement la fatigue des muscles inspiratoires. Il paraît donc vital d'améliorer la fonction des muscles respiratoires, par exemple à l'aide de médicaments. La stratégie thérapeutique de choix dans ce contexte sera celle qui agit à la fois directement, en améliorant la contractilité des muscles, et indirectement, en diminuant le travail visco-élastique de la respiration et en améliorant les échanges gazeux.

Résumé

L'effet d'une pneumonie induite expérimentalement sur les performances mécaniques du diaphragme a été étudié chez des veaux éveillé.

Cinq veaux Frisons mâles sains, âgés de 7 à 15 jours et pesant environ 45 kg ont été exposés à une instillation intratrachéale d'un bouillon de culture de *Pasteurella hemolytica* A1 (5.10^9 to 5.10^{10} CFU/ml) en phase logarithmique de croissance. Les nerfs phréniques ont été stimulés électriquement au moyen d'électrodes de platine montées sur un cathéter introduit dans la veine jugulaire. La pression transdiaphragmatique (Pdi) déployée en réponse à des stimulations supramaximales (60 V, 2 sec) de fréquences croissantes a été mesurée au moyen de cathéters à ballonnets pendant une occlusion des voies aériennes pratiquée en fin d'expiration. Toute la procédure a été répétée avant et toutes les trois heures après l'inoculation.

Tous les animaux ont développé une pneumonie aiguë comme en ont témoigné les paramètres cliniques, hématologiques, ventilatoires, mécaniques et l'évolution des gaz artériels. La présence de pneumonie a été confirmée par l'examen histopathologique post-mortem.

La Pdi, qui valait 53 ± 3.9 , 53.7 ± 4.4 , 39.3 ± 2.5 , 37.3 ± 2.2 et 25.8 ± 3.6 cmH₂O avant l'inoculation pour une stimulation à 100, 70, 30, 20 et 10 Hz respectivement a diminué progressivement au cours de la maladie : 39.9 ± 1.9 , 38 ± 2.7 , 32.4 ± 2.7 , 29.9 ± 3 et 26.2 ± 2.3 après 3 heures; 33.7 ± 1.2 , 32.1 ± 0.8 , 28.1 ± 1.1 , 25.8 ± 2 et 24.3 ± 1.3 après 6 heures et 34.3 ± 4.7 , 30.5 ± 4.1 , 25.9 ± 2.5 , 23.2 ± 0.8 et 22.1 ± 1.9 cmH₂O après 9 heures, toujours pour des stimulations pratiquées à 100, 70, 30, 20 et 10 Hz, respectivement.

Ces résultats suggèrent qu'une fatigue du diaphragme pourrait jouer un rôle important dans les pneumonies bovines. Par conséquent, il faut considérer que, dans de telles circonstances, il paraît vital d'améliorer la fonction des muscles respiratoires, par exemple à l'aide de médicaments. Ce concept est d'une grande importance au moment d'élaborer des stratégies thérapeutiques.

Summary

The effect of experimentally-induced pneumonia on diaphragmatic strength generation was studied in spontaneously breathing calves.

Five healthy male Friesian calves, 7 to 15 days old and weighing 44.5 ± 1.9 kg (mean \pm SE) were exposed to intratracheal instillation of 30 ml *Pasteurella hemolytica* A1 broth (5.10^9 to 5.10^{10} CFU/ml) in logarithmic phase of growth. The diaphragm was electrically stimulated via intracaval platinum electrodes mounted on a 12-gauge catheter introduced in the right jugular vein. The transdiaphragmatic pressure (Pdi) generated at functional residual capacity against occluded airways during supramaximal (60 V) 2-sec stimulations applied over a frequency range of 10-100 Hz was measured using conventional balloon catheters systems. The procedure was repeated before, 3, 6 and 9 hours after inoculation.

All animals developed acute pneumonia, as judged by clinical, mechanical and arterial gases parameters which were severely altered as well by post-mortem histopathologic examinations. Pdi, which amounted to 53 ± 3.9 , 53.7 ± 4.4 , 39.3 ± 2.5 , 37.3 ± 2.2 and 25.8 ± 3.6 cmH₂O before inoculation for 100,

70, 30, 20 and 10 Hz respectively, decreased progressively during the course of the disease : 39.9 ± 1.9 , 38 ± 2.7 , 32.4 ± 2.7 , 29.9 ± 3 et 26.2 ± 2.3 after 3 hours; 33.7 ± 1.2 , 32.1 ± 0.8 , 28.1 ± 1.1 , 25.8 ± 2 and 24.3 ± 1.3 after 6 hours and 34.3 ± 4.7 , 30.5 ± 4.1 , 25.9 ± 2.5 , 23.2 ± 0.8 and 22.1 ± 1.9 cmH₂O after 9 hours for 100, 70, 30, 20 and 10 Hz, respectively.

These data strongly suggest that an impairment of diaphragmatic function may play a role in the ventilatory failure observed during severe respiratory diseases.

So, attempts to improve the function of the diaphragm with drugs may be vital in such circumstances. This concept is of great potential significance in the treatment of respiratory diseases.

Zusammenfassung

An normal atmenden Kälbern wurden die Auswirkungen einer experimentell ausgelösten Pneumonie auf das mechanische Leistungsvermögen des Zwerchfells untersucht.

Fünf gesunden männlichen Frisian-Kälbern im Alter von 7 - 15 Tagen und mit einer Körpermasse von 44.5 ± 1.9 kg (Mittelwert \pm SE) wurden 30 ml Pasteurella haemolytica A1 (5.10^9 - 5.10^{10} KBE/ml) in der logarithmischen Wachstumsphase intratracheal instilliert. Die elektrische Reizung des Zwerchfells erfolgte mittels Platinelektroden über die rechte Jugularvene. Der transdiaphragmatische Druck (Pdi), der sich während supramaximaler Stimulationen (60 Volt, 2 s) innerhalb eines Frequenzbereiches von 10 - 100 Hz aufbaute, wurde endexpiratorisch bei funktioneller Residualkapazität gemessen, wobei die Atemwege künstlich verschlossen wurden. Pdi ist die Differenz zwischen intraruminalen Druck und Ösophagusdruck, beide gemessen mit Hilfe von Ballonkathetern. Die Messungen erfolgten vor, sowie 3, 6 und 9 Stunden nach Keiminstillation.

Anhand klinischer Befunde, lungenmechanischer Untersuchungen und Blutgasmessungen wurde bei allen Tieren das Bild einer sich entwickelnden akuten Pneumonie diagnostiziert und durch postmortale histopathologische Untersuchungen bestätigt. Pdi betrug vor der experimentellen Infektion $53 \pm 3,9$; $53,7 \pm 4,4$; $39,3 \pm 2,5$; $37,3 \pm 2,2$ und $25,8 \pm 3,6$ cm H₂O bei einer entsprechenden Stimulation von 100, 70, 30, 20 oder 10 Hz. Während der Pneumonieentstehung nahm Pdi progressiv ab: $39,9 \pm 1,9$; $38 \pm 2,7$; $32,4 \pm 2,7$; $29,9 \pm 3$ und $26,2 \pm 2,3$ nach 3 Stunden; $33,7 \pm 1,2$; $32,1 \pm 0,8$; $28,1 \pm 1,1$; $25,8 \pm 2$ und $24,3 \pm 1,3$ nach 6 Stunden und $34,3 \pm 4,7$; $30,5 \pm 4,1$; $25,9 \pm 2,5$; $23,2 \pm 0,8$ und $22,1 \pm 1,9$ cm H₂O nach 9 Stunden für 100, 70, 30, 20 bzw 10 Hz.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Ermüdung des Zwerchfells ein wesentlicher Bestandteil ventilatorischer Störungen während schwerer respiratorischer Erkrankungen sein kann. Die unter solchen Umständen medikamentell zu verbessernde Leistungsfähigkeit der Atemmuskulatur eröffnet große Potenzen beim Aufbau neuer Therapiemethoden.

Références

1. Desmecht, D., Rollin, F., Lekeux, P., Transdiaphragmatic pressure measurement in cattle: technical data. *Res. Vet. Sci.*, 1992, in press.
2. Lekeux, P., Hajer, R., Breukink, H., Pulmonary function testing in calves: technical data. *Am. J. Vet. Res.* 45:342-345. 1984.
3. Aubier, M., Farkas, G., De Troyer, A. et al. Detection of diaphragmatic fatigue in man by phrenic stimulation. *J. Appl. Physiol.* 50:558-564. 1981.
4. Markand, A., Kincaid, J., Pournaud, R., Electrophysiologic evaluation of diaphragm by transcutaneous phrenic nerve stimulation. *Neurology* 34:604-614. 1984.
5. Kim, M., Druz, W., Danon, J. et al., Mechanics of the canine diaphragm. *J. Appl. Physiol.* 41:369-374. 1976.