

VALIDACIJA MJERENJA FRAKCIONIRANE TEMPERATURE IZDAHA TE NJEZINA POVEZANOST S RAZLIČITIM ENDOGENIM, EGZOGENIM I OKOLIŠNIM ČIMBENICIMA U ZDRAVIH ISPITANIKA

Huljev Šipoš, Ivana

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:856583>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Ivana Huljev Šipoš

**VALIDACIJA MJERENJA FRAKCIONIRANE
TEMPERATURE IZDAHA TE NJEZINA
POVEZANOST S RAZLIČITIM ENDOGENIM,
EGZOGENIM I OKOLIŠNIM ČIMBENICIMA
U ZDRAVIH ISPITANIKA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Ivana Huljev Šipoš

**VALIDACIJA MJERENJA FRAKCIONIRANE
TEMPERATURE IZDAHA TE NJEZINA
POVEZANOST S RAZLIČITIM ENDOGENIM,
EGZOGENIM I OKOLIŠNIM ČIMBENICIMA
U ZDRAVIH ISPITANIKA**

DOKTORSKI RAD

Mentori: dr. sc. Marina Labor, dr. med.
prof. dr. sc. Kristian Vlahoviček

Zagreb, 2022.



University of Zagreb

FACULTY OF SCIENCE
BIOLOGY DEPARTMENT

Ivana Huljev Šipoš

**VALIDATION OF THE FRACTIONAL
EXHALED BREATH TEMPERATURE
MEASUREMENT AND ITS ASSOCIATION
WITH DIFFERENT INTRINSIC, EXTRINSIC
AND ENVIRONMENTAL FACTORS IN
HEALTHY SUBJECTS**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors: Marina Labor, MD, PhD
Professor Kristian Vlahoviček, PhD

Zagreb, 2022.

Ovaj je doktorski rad izrađen u Dječjoj bolnici Srebrnjak (Odjel za plućnu funkciju i Odjel za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku), Srebrnjak 100, 10 000 Zagreb, pod vodstvom dr. sc. Marine Labor, dr. med., i prof. dr. sc. Kristiana Vlahovičeka, u sklopu sveučilišnog poslijediplomskog dokorskog studija Biologije na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Marina Labor, dr. sc., rođena je 1987. u Osijeku gdje je završila osnovnu školu i Isusovačku klasičnu gimnaziju. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku 2011. godine. Iste godine upisala je poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na istom fakultetu. Nakon završenog pripravničkog staža tijekom 2012. godine radi kao liječnik na poslovima humanitarnog razminiranja. Specijalističko usavršavanje iz pulmologije započinje 2013. godine u KBC-u Osijek. Tijekom specijalizacije educirala se i u međunarodnim centrima izvrsnosti iz područja bronhologije i interventne bronhologije (Golnik, Heidelberg, Marseille, Baltimore). Dosad je objavila trideset znanstvenih radova citiranih u međunarodnim bazama kao autor ili koautor te održala više prezentacija na međunarodnim znanstvenim skupovima. Doktorirala je na Medicinskom fakultetu u Osijeku 2016. godine na temi temperatura izdaha kao mogući neinvazivni marker osjetljivosti na duhanski dim. Trenutno je zaposlena kao liječnik specijalist u Sveučilišnoj bolnici u Linköpingu, u Kraljevini Švedskoj, te kao predavač na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Linköpingu. Recenzent je za mnoge znanstvene časopise visokog faktora odjeka te pozvani predavač na međunarodnim skupovima.

Kristian Vlahoviček, prof. dr. sc., rođen je u Zagrebu, gdje je 1995. završio studij Molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu. Doktorirao je 2000. godine na temi računalne biologije. Od 1996. do 2011. godine prof. Vlahoviček radi u okviru istraživačke grupe za bioinformatiku u centru ICGEB u Trstu, u Italiji. Naslov docenta na Biološkom odsjeku PMF-a stječe 2002. godine. Na navedenom fakultetu uvodi bioinformatiku i računalnu biologiju u nastavne programe na Biologiji. Pod mentorstvom prof. Vlahovičeka i u međunarodnom okruženju njegove istraživačke grupe diplomiralo je mnogo studenata koji su svoj rad nastavili u najprestižnijim svjetskim i domaćim institucijama. Profesor Vlahoviček objavio je više od šezdeset znanstvenih radova, a citiran je više od 6000 puta. Gotovo svi radovi u koautorstvu prof. Vlahovičeka objavljeni su u časopisima natprosječnog faktora odjeka (Q1 kategorija). Profesor Vlahoviček pozvani je predavač na mnogim domaćim i stranim znanstvenim skupovima. Od 2009. do 2014. naslovni je profesor na sveučilištu u Oslu, u Norveškoj. Postao je prvi hrvatski dobitnik prestižne EMBO-HRZZ potpore za uspostavu laboratorija 2006. godine. Suradnik je i na nekoliko projekata EU programa 6 i 7 i voditelj međunarodnog projekta ICGEB. Profesor Vlahoviček dobitnik je godišnje nagrade HAZU 2009. godine i Godišnje nagrade za znanost RH 2011. godine. Također, recenzent je za mnoge znanstvene časopise visokog faktora odjeka (više od sedam) i član uredništva više časopisa: *Bioinformatics*, *BMC Bioinformatics*, *BMC Structural Biology*, *DNA research*, *FEBS Journal*,

F1000Research, Extremophiles, Genome Biology, Nucleic Acids Research, PLoS One, PLoS Computational Biology, Nature Communications, Scientific Reports. Recenzentske i savjetničke poslove obavlja i sudjelovanjem u recenzijama projekata MZOŠ, UKF i NZZ. Član je i Povjerenstva za upravljanje Fonda UKF. Exaltum Ltd. osniva 2013. godine. Od 2006. do 2011. godine obnaša funkciju izvanrednog profesora, a od 2011. do 2016. godine funkciju redovnog profesora. U zvanje trajnog redovnog profesora na Biološkom odsjeku PMF-a izabran je 2016. godine.

**VALIDACIJA MJERENJA FRAKCIONIRANE TEMPERATURE IZDAHA TE
NJEZINA POVEZANOST S RAZLIČITIM ENDOGENIM, EGZOGENIM I
OKOLIŠNIM ČIMBENICIMA U ZDRAVIH ISPITANIKA**

IVANA HULJEV ŠIPOŠ

Dječja bolnica Srebrnjak

Temperatura izdahnutog zraka (EBT) poznata je kao biomarker upale i prokrvljenosti dišnih putova. U istraživanju je mjerena temperatura različitih frakcija izdahnutog zraka, fEBT (iz perifernih i centralnih dišnih putova). Svrha ovog istraživanja bila je validirati tu metodu kako bi se utvrdile referentne vrijednosti te utjecaj različitih čimbenika na njih.

Hipoteze istraživanja bile su da je fEBT iz centralnog dišnog sustava niži i varijabilniji u odnosu na onaj iz periferne frakcije te da je statistički značajno povezan s tjelesnom temperaturom mjenom na specifičnim točkama. Ova presječna studija obuhvaćala je 55 odraslih osoba kojima je opetovano mjenom fEBT, dva dana za redom, koristeći FractAir uređaj. Mjenom su i bazalni metabolizam, razina fizičke aktivnosti, udaljenost od glavne prometnice, vanjska i sobna temperatura, tlak i vlaga u zraku, KKS, CRP, plućne funkcije, kumulirani EBT i tjelesne temperature.

Rezultati su osnovnu hipotezu potvrdili, dok je sekundarna odbačena. Također, pokazali su da fEBT nije povezan s tjelesnom temperaturom ($p > 0,05$ za sve) te da je ponovljiv tijekom dvaju uzastopnih dana. Svi su fEBT-ovi korelirali s temperaturom sobnog zraka ($p < 0,01$). U multivarijantnoj analizi nisu nađene povezanosti fEBT s ostalim osobnim i vanjskim čimbenicima. Pri temperaturi sobe od $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ fiziološke vrijednosti temperature prve frakcije bile su $23,481 \pm 3,150\text{ }^{\circ}\text{C}$, druge frakcije $26,114 \pm 4,024\text{ }^{\circ}\text{C}$, a treće frakcije $28,216 \pm 3,321\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Rad sadrži 127 stranica, 14 slika, 26 tablica, 136 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: disanje, temperatura, EBT, metabolizam, dišni sustav

Mentori: dr. sc. Marina Labor, dr. med. i prof. dr. sc. Kristian Vlahoviček

Ocjenjivači:

Izv.Prof.dr.sc.Snježana Židovec-Lepej,
znanstvena savjetnica, Klinika za infektivne bolesti „Dr.Fran Mihaljević“ Zagreb, (PMF Zagreb)

Prof. dr. sc. Domagoj Đikić, PMF Zagreb

Prof.dr. sc. Davor Plavec, dr.med., Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, (MF Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku)

**VALIDATION OF THE FRACTIONAL EXHALED BREATH TEMPERATURE
MEASUREMENT AND ITS ASSOCIATION WITH DIFFERENT INTRINSIC,
EXTRINSIC AND ENVIRONMENTAL FACTORS IN HEALTHY SUBJECTS**

IVANA HULJEV ŠIPOŠ
Children's hospital Srebrnjak

Exhaled air temperature (EBT) is known as a biomarker of inflammation and airway blood flow. The temperature of different fractions of exhaled air, fEBT (from peripheral and central airways) was measured in the research. The purpose of this study was to validate this method in order to determine the reference values and the influence of different factors on them.

The research hypotheses were that fEBT from the central respiratory system was lower and more variable than the one from the peripheral and that it was statistically related to body temperature measured at specific points. This cross-sectional study included 55 adults in which the fEBT was repeatedly measured, two days in a row, using a FractAir device. Basal metabolism, level of physical activity, distance from the main road, outdoor and room temperature, air pressure and humidity, KKS, CRP, lung function, accumulated EBT and body temperatures were also measured.

The results confirmed the primary hypothesis, while the secondary was rejected. They also showed that fEBT was not associated with body temperature ($p > 0.05$ for all) and was recurrent for two consecutive days. All fEBTs correlated with room temperature ($p < 0.01$). No associations of fEBT with other personal and external factors were found in the multivariate analysis. At room temperature of $22\text{ }^{\circ}\text{C}$, the physiological values of the temperature of the first fraction were $23.481 \pm 3.150\text{ }^{\circ}\text{C}$, the second $26.114 \pm 4.024\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the third fraction $28.216 \pm 3.321\text{ }^{\circ}\text{C}$.

The thesis includes 127 pages, 14 figures, 26 tables and 136 references. Original is in Croatian language.

Keywords: breathing, temperature, EBT, metabolism, respiratory tract

Supervisors: Marina Labor, MD, PhD and Professor Kristian Vlahoviček, PhD

Reviewers:

Assoc.Prof.dr.sc.Snježana Židovec-Lepej, scientific advisor, Infectious Diseases Clinic
„Dr.Fran Mihaljević“ Zagreb, (PMF Zagreb)

Prof. dr. sc. Domagoj Đikić, PMF Zagreb

Prof.dr. sc. Davor Plavec, dr.med., Children's hospital Srebrnjak, Zagreb, (MF
University J.J.Strossmayer, Osijek)

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1.	Ciljevi i Hipoteze	3
2.	LITERATURNI PREGLED	5
2.1.	Građa dišnih putova	5
2.2.	Termoregulacija	8
2.3.	Odgovor efektorskih organa na povećanje tjelesne temperature	10
2.4.	Tjelesna temperatura, njezino mjerenje i temperatura sučelja.....	12
2.5.	Bronhalna cirkulacija i temperatura dišnih putova	16
2.6.	Temperatura izdahnutog zraka i njezino mjerenje.....	17
3.	ISPITANICI I METODE.....	26
3.1.	Ustroj studije.....	26
3.2.	Metode	27
3.3.	Ispitanici.....	28
3.3.1.	Anamneza.....	29
3.3.2.	Plućna funkcija s bronhodilatacijskim testom.....	29
3.3.3.	Srednji uravnoteženi EBT	30
3.3.4.	Biomarkeri sustavne upale	31
3.3.5.	Frakcionirani EBT.....	32
3.3.6.	Razina bazalnog metabolizma u mirovanju (BMR).....	37
3.3.7.	Mjerenje frakcije izdahnutog dušikova oksida (FeNO).....	38

3.3.8.	Mjerenje tjelesne temperature	38
3.3.9.	Mjerenje okolišnih uvjeta prilikom provođenja pokusa.....	39
3.3.10.	Statistička obrada podataka.....	39
4.	REZULTATI	40
5.	RASPRAVA.....	73
6.	ZAKLJUČAK.....	84
7.	POPIS LITERATURE.....	87
8.	POPIS SLIKA I TABLICA	100
9.	POPIS PRILOGA	103
10.	POPIS KRATICA I SIMBOLA	104
11.	ŽIVOTOPIS.....	107

1. UVOD

Održavanje temperature vitalnih organa unutar određenog fiziološkog intervala jedna je od ključnih komponenti za normalno funkcioniranje i preživljavanje ljudskog organizma. Svrha održavanja temperature je odvijanje enzimatskih procesa. Promjene temperature izvan ustanovljenih fizioloških granica (36,2 °C do 37,5 °C) upućuju na aktivan patološki proces (1, 2). Bolesnicima se svakodnevno mjeri temperatura u okviru utvrđivanja vitalnih znakova i to u gotovo svakog bolesnika u kliničkoj praksi. Temperatura se mjeri na standardnim mjestima na tijelu (rektalno, aksilarno, oralno, na koži čela i timpanički/otički), predviđajući tako, uz racionalnu prilagodbu, unutarnju tjelesnu temperaturu, tj. temperaturu „jezgre“ (3). Rektalna temperatura je najreprezentativnija kao mjera unutarnje temperature, ali mjerenje je neugodno za bolesnika i podložno bakterijskoj kontaminaciji. Oralna temperatura je obično za 0,5 °C niža od rektalne i podložnija je vanjskim okolišnim utjecajima, dok se otička temperatura smatra nepreciznijom od rektalne (4). Razlike u izmjerenim temperaturama na tim mjestima pod utjecajem su sučelja između unutrašnjosti i površine tijela, stoga te razlike predstavljaju priliku da se dobiju korisne informacije o patologiji vezanoj za samo sučelje. Prema Popovu, Kralimarkovoj i Dimitrovu, navedeno je osnova i za mjerenje temperature izdahnutog zraka (engl. *exhaled breath temperature*, EBT) (5). Neizvjesno je predstavlja li EBT zamjensku mjeru za unutarnju tjelesnu temperaturu i u kojoj mjeri odražava upalne procese koji se odvijaju u plućima. Dosadašnja ispitivanja nisu utvrdila povezanost između EBT-a i tjelesne temperature mjerene na tradicionalnim mjestima, što je vjerojatno posljedica različitih fizioloških mehanizama (6). Pretpostavlja se da periferni dijelovi pluća imaju temperaturu koja predstavlja unutarnju temperaturu. Ta temperatura reflektira protok krvi unutar bogate vaskularne mreže alveola. Tijekom disanja izmjenjuju se plinovi i energija između organizma i okoliša. S obzirom na to da je krv glavni nositelj termalne energije, procesi koji modificiraju protok krvi unutar dišnih putova mogu se reflektirati na EBT.

Mjerenje EBT-a je nova, neinvazivna metoda koja ima potencijal za uvođenje u kliničku praksu. Proučava se kao biomarker lokalne i sustavne upale tijekom posljednjih petnaest godina. Mjerenjem temperature izdaha u zdravoj populaciji te u bolestima dišnog sustava, kao što su astma, kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB), cistična fibroza, karcinom bronha, te usporedbom s drugim biomarkerima upale, kao što su frakcija izdahnutog dušikova oksida

(FeNO), broj leukocita i eozinofila u iskašljaju i krvi, visoko osjetljivi C-reaktivni protein (hsCRP), protein Clara stanica (CC16), utvrđeno je da je EBT biomarker upale i prokrvljenosti dišnih putova (6). Ranija istraživanja potvrdila su da EBT ne ovisi o tjelesnoj temperaturi, da je visoke ponovljivosti (engl. *interclass correlation coefficient* = 0,94 – 0,99) te da promjena temperature izdaha od $\pm 0,3$ °C predstavlja klinički značajnu promjenu (6).

Tehnologija koja je prva korištena uključivala je mjerenje EBT-a tijekom izdisaja putem temperaturnog senzora koji je morao mjeriti vrlo male temperaturne promjene u kratkim vremenskim intervalima. Ovo mjerenje zahtijevalo je standardizaciju mjernih uvjeta, počevši od kvalitete toplinskog senzora, kontrolirane brzine izdisaja i kontroliranih uvjeta okoliša (temperature, tlaka i vlage u sobi), a zahtijevalo je i značajnu suradnju ispitanika. Rezultat mjerenja bila je logaritamska krivulja s postizanjem određenog platoa na kraju mjerenja, koju je bilo teško analizirati. Prvi eksperimenti koji su uspoređivali EBT i FeNO, koji su provedeni prije dvadesetak godina na odraslima (7) i djeci (8), analizirali su porast EBT-a tijekom jednog izdaha.

Popov i sur. razvili su drugačiji pristup mjerenju EBT-a. Osmislili su prijenosni uređaj naziva X-halo, tj. prijenosni uređaj koji se bazira na principu akumulacije toplinske energije u izolirani spremnik s visokim termalnim kapacitetom. Zbog toga mjerenje je bilo manje ovisno o vanjskim uvjetima (9).

Prilikom validacije EBT-a važno je utvrditi:

1. ponovljivost mjerenja
2. usporedivost s drugim biomarkerima
3. razlike između mjerenja u zdravih i bolesnih ispitanika
4. osjetljivost na čimbenike rizika i liječenja, vanjske uvjete, karakteristike i navike ispitanika
5. referentne vrijednosti.

Danas je dostupna nova tehnologija koja omogućuje frakcionirano mjerenje temperature izdaha. Ta tehnologija omogućava mjerenje temperature izdaha pojedinih frakcija izdahnutog zraka, tj. zraka iz različitih dijelova dišnog sustava (središnji i periferni dišni putovi). Ti se dijelovi dišnog sustava razlikuju, ne samo po funkciji, već i po vaskularizaciji, zato što arterijska krv iz lijevog srca opskrbljuje središnje dišne putove (traheju i bronhe), dok periferiju (respiratorne bronchiole i alveole) uglavnom opskrbljuje venska krv iz desnog srca.

Svrha istraživanja ove doktorske disertacije je provesti validaciju navedene metode mjerenja kako bi se utvrdile fiziološke vrijednosti izmjerene temperature izdaha pojedinih frakcija te kako bi se ocijenio utjecaj endogenih čimbenika (karakteristike i navike ispitanika) i egzogenih čimbenika (čimbenika okoliša) na fiziološke vrijednosti.

Rezultati ovog istraživanja poslužit će za postavljanje temelja za buduća znanstvena istraživanja u području fracioniranog mjerenja temperature izdaha. Navedeno istraživanje značajno će doprinijeti razumijevanju i upoznavanju fiziologije dišnog sustava i obraditi područja koja do sada nisu opisana u dostupnoj literaturi.

1.1. Ciljevi i Hipoteze

Glavni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi referentne intervale za temperature različitih frakcija izdahnutog zraka (iz centralnih i perifernih dišnih putova) te utjecaje različitih endogenih i egzogenih čimbenika na referentne intervale temperatura.

Specifični ciljevi istraživanja bili su:

1. utvrditi korelaciju temperature različitih frakcija izdahnutog zraka s tjelesnom temperaturom mjerenom na tipičnim mjestima
2. utvrditi ponovljivost izmjerene temperature pojedinih frakcija izdahnutog zraka
3. utvrditi povezanost temperature različitih frakcija izdahnutog zraka i srednje uravnotežene temperature izdaha mjerene X-halo uređajem.
4. utvrditi povezanost temperature različitih frakcija izdahnutog zraka s demografskim karakteristikama ispitanika, mjerama plućne funkcije, tjelesnom aktivnošću, prehranom, parametrima upale i hemokoncentracije, bazalnim metabolizmom te različitim okolišnim parametrima.

Postavila sam osnovnu hipotezu istraživanja koja je bila osnova određivanja ciljeva istraživanja. Osnovna hipoteza glasi:

Temperatura izdaha frakcije iz centralnog dišnog sustava je niža i varijabilnija u odnosu na temperaturu izdaha frakcije iz perifernih dišnih putova.

Osim osnovne hipoteze, odredila sam i pomoćnu hipotezu istraživanja koja glasi:

Temperatura izdaha frakcije iz centralnog dišnog sustava statistički značajno pozitivno korelira s tjelesnom temperaturom mjerenom na karakterističnim točkama.



Slika 1. Testiranje ispitanika na AirFract uređaju

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Građa dišnih putova

Respiratorni trakt može se podijeliti s obzirom na anatomiju i fiziologiju, tj. funkciju. Anatomski, respiratorni trakt dijeli se na gornje i donje dišne putove (1). Gornji dišni putovi uključuju nos i nosne prolaze, paranazalne sinuse, ždrijelo i dio grkljana iznad glasnica. Donje dišne putove čine grkljan ispod glasnica, dušnik, bronhi i bronhioli. Pluća mogu biti uključena u donji respiratorni trakt i kao zasebna cjelina, a uključuju respiratorne bronhiole, alveolarne duktuse, alveolarne vreće i alveole koji čine periferne dišne putove (Slika 2). Nasuprot tome, funkcionalna podjela respiratornog trakta bila bi na konduktivnu (provodnu) i respiratornu zonu, ovisno o tome provodi li se zrak ili događa li se u njoj izmjena plinova. Konduktivna zona obuhvaća strukture izvan pluća: nos, ždrijelo, grkljan i dušnik te strukture unutar pluća: bronhe, bronhiole i terminalne bronhiole. U konduktivnoj zoni udahnuti zrak vodi se do alveola i pri tome filtrira, zagrijava i vlaži. Otpor protoku zraka u provodnoj zoni dišnih putova je nizak, osim ako neki dio njih nije pogođen patološkim procesom. U ovoj zoni omogućena je obrambena i filtracijska uloga različitih stanica dišnog trakta. Respiratorna zona uključuje respiratorne bronhiole, alveolarne duktuse i alveole i mjesto je izmjene plinova (kisika i ugljičnog dioksida) između dišnog sustava i krvi. Respiratorni bronhioli i alveolarni duktusi odgovorni su za 10 % izmjene plinova, dok je 90 % u alveolama. Od glavnih bronha nastavlja se progresivna podjela na sve uže i kraće bronhe, a procjenjuje se da postoji 20 – 23 bronhijalnih grana prije nego što dišni putovi završe alveolama. Razgranatost dišnih putova povećava se i ukupna površina presjeka luminalne površine u svakoj od sljedećih generacija dišnih putova. Kroz svaku sljedeću generaciju bronha usporava se zrak koji putuje do alveola, što u normalnim plućima, na razini perifernih dišnih putova, omogućuje difuziju plinova. Također, smanjenje brzine protoka zraka u perifernim dišnim putovima uzrokuje povećanu izloženost malih dišnih putova česticama koje se nalaze u udahnutom zraku, poput cigaretnog dima, alergena, kemikalija i raznih onečišćivača zraka. Zbog velike izloženosti štetnim česticama, mali dišni putovi najpodložniji su oštećenju i prvi stradavaju kod učestale izloženosti faktorima iz okoliša. Kod pušača se razvija disfunkcija malih dišnih putova i respiratorni se simptomi javljaju ranije od mjerljivih oštećenja (10), tj. prije nego što dođe do zamjetnog oštećenja pluća.

Hogg i sur. u svom su radu (11) pokazali da mali dišni putovi minimalno doprinose ukupnoj rezistenciji protoku zraka u plućima, ali isto tako taj otpor naraste 4 – 40 puta u bolesnika s emfizemom.

Opstrukcija malih dišnih putova izlučevinama sa sužavanjem i obliteracijom uslijed pregradnje uzrokovane duljim izlaganjem štetnim česticama uvelike povećava otpor u njima. Oštećenje malih dišnih putova može uzrokovati zarobljavanje zraka u izdisaju, što dovodi do hiperinflacije i daljnjeg uništavanja plućnog parenhima.

Prepoznato je da patološke promjene na malim dišnim putovima, povezane s protokom zraka u izdisaju, mogu biti prisutne i pogoršati se tijekom vremena unatoč normalnom nalazu spirometrije, koja je standardna metoda za procjenu protoka zraka. Stoga se mali dišni putovi često nazivaju „tihom zonom“ plućnih bolesti. S obzirom na to da KOPB i astma, kao jedni od velikih problema današnje medicine koji su povezani s visokim morbiditetom i mortalitetom, počinju u malim dišnim putovima, izvodi se logičan zaključak o važnosti razvoja metode koja bi mogla otkriti ove rane promjene u perifernim dišnim putovima kako bi se započelo liječenje na vrijeme.

Neka nedavna istraživanja pokazuju da postoje određene sličnosti između remodeliranja matriksa alveolarnog zida i stijenki malih dišnih putova. U bolesnika s KOPB-om utvrđeno je da je u tim zidovima elastin značajno smanjen, dok su razine kolagena i hijaluronske kiseline povišene (12).

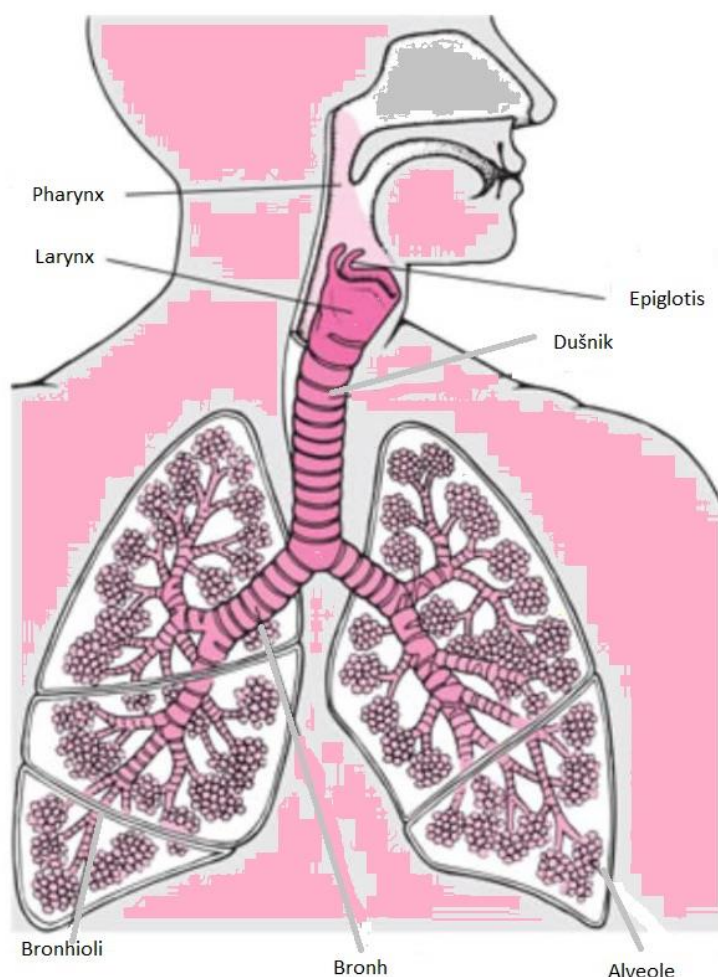
Danas je procjena fiziologije i anatomije malih dišnih putova moguća različitim metodama. Metoda višestrukog ispiranja daha dušikom (engl. *multiple breath nitrogen washout*, MBNW) i impulsna oscilometrija (IOS) potencijalno su korisne metode za procjenu funkcije malih dišnih putova. Jetmalani i suradnici (13) objavili su da su MBNW i IOS nalazi izvan referentnih raspona kod pušača s normalnom spirometrijom i da su ove abnormalnosti povezane s respiratornim simptomima.

IOS koristi zvučne valove različitih frekvencija (5 – 30 Hz) za procjenu respiratorne rezistencije i reaktivnosti tijekom normalnog disanja i metoda je komplementarna spirometriji u dijagnostici opstruktivnih bolesti pluća (13).

Jedan od načina procjene funkcije malih dišnih putova je i metoda ispiranja udahnutog plina jednim udahom tijekom normalnog disanja. Test se temelji na različitoj distribuciji dvaju

udahnuta plina (helij i sumporni heksafluorid) i senzitivan je marker funkcije malih dišnih putova kod umjerenog do teškog KOPB-a (14, 15, 16).

Mogućnost razlikovanja ozljede malih dišnih putova i emfizema poboljšana je nedavnim razvojem metode mapiranja parametrijskog odgovora (engl. *parametric response mapping*, PRM). Ona omogućava identifikaciju dijelova pluća s poremećenom funkcijom malih dišnih putova i njihovog razlikovanja od emfizematičnih pluća (17). Dijelovi pluća (vokseli) zahvaćeni emfizemom imaju niske vrijednosti atenuacije u inspiriju i u ekspiriju. Dijelovi s oštećenjem malih dišnih putova imaju niske vrijednosti samo u ekspiriju jer se kod njih *air-trapping* događa samo u izdisaju. Boes i sur. koristili su PMR analizu za praćenje napredovanja funkcionalnog oštećenja dišnih putova u emfizematskim plućima tijekom godinu dana. Rezultati su pokazali da bolest malih dišnih putova predstavlja prijelaznu fazu između zdravih pluća i emfizema (18).



Slika 2. Dišni putovi

Izvor: modificirano prema MSD-u, 2021.

2.2. Termoregulacija

Termoregulacija je fiziološki proces održavanja relativno konstantne temperature jezgre koja je u rasponu od 33,2 do 38,2 °C, a prosjek joj je oko 37 °C. Taj se raspon dodatno sužava kada se zanemari oralno mjerenje i razmotre rektalna, timpanička ili aksilarna mjerenja (3).

Odstupanja temperature jezgre tijela od samo nekoliko stupnjeva veliki su izazov za termoregulatorni mehanizam tijela i odstupanje temperature izvan normalnih raspona može biti fatalno. Primjerice, iznad tjelesne temperature od 42 °C nastupaju citotoksične reakcije zbog denaturacije proteina i poremećene sinteze DNA (19), što rezultira zatajenjem organa i poremećajem funkcije neurona. S druge strane, ako temperatura padne ispod 27 °C (teška hipotermija), nastupaju poremećaji neuromuskularnoga, kardiovaskularnoga, hematološkoga i respiratornoga sustava koji također mogu rezultirati smrću (20).

Unatoč potrebi za regulacijom temperature jezgre unutar uskog intervala, ljudi mogu preživjeti na mjestima s ekstremnim temperaturnim uvjetima što predstavlja veliki izazov za njihov kapacitet termoregulacije. Naprimjer, ljudski organizam sposoban je održavati temperaturu jezgre u fiziološkim granicama i tijekom utrka kroz Saharu gdje dnevne temperature dosežu visokih 50 °C, ali i tijekom ronjenja ispod leda gdje su temperature vode samo koji stupanj iznad razine za smrzavanje. Da bi održali optimalnu fiziološku funkciju i preživjeli, ljudi moraju biti sposobni održati adekvatnu temperaturu jezgre (unutar glave, toraksa i abdomena) usprkos promjenama temperature okoline. Stoga, gubitak tjelesne topline mora biti u ravnoteži s njezinom proizvodnjom.

Ljudi su endotermni homeotermi, što znači da mogu sami producirati tjelesnu toplinu, kao što mogu i regulirati vlastitu tjelesnu temperaturu. Naša visoka temperatura jezgre postiže se uglavnom produkcijom topline kao rezultat metabolizma. Prijenos topline odvija se niz termalni gradijent, što znači od toplog prema hladnom, kroz procese radijacije, kondukcije i/ili konvekcije. S obzirom na to da su ljudi uglavnom najtopliji u svojoj okolini, normalan put prijenosa ide od tijela prema okolini. Ipak, ako temperatura jezgre poraste, toplina se gubi kroz evaporaciju kao glavni mehanizam snižavanja tjelesne temperature (21).

Sljedeća jednadžba temperaturne ravnoteže uključuje unutarnje i vanjske čimbenike koji pridonose temperaturnoj ravnoteži i stoga sudjeluju u održavanju temperature jezgre:

Pohranjena toplina = metabolizam - rad - isparavanje ± zračenje ± provođenje ± konvekcija

Metabolizam označava one kemijske reakcije u tijelu koje proizvode toplinu. Tijekom napora mišići oslobađaju veliku količinu topline. Rad se odnosi na obavljene vanjski posao. Isparavanje (evaporacija) je gubitak topline u okoliš isparavanjem vode s površine kože i dišnog sustava (ukupna količina znoja koja isparava s površine kože ovisi o površini kože koja je izložena okolišu, temperaturi i relativnoj vlažnosti i konvekciji zraka oko tijela). Radijacija je elektromagnetsko zračenje (toplina) koje se prenosi između tijela koja nisu u kontaktu, uključujući infracrveno zračenje iz tijela. Kondukcija je prijenos topline između tijela u dodiru. Konvekcija je prijenos topline iz tijela u plin ili u tekućinu koja se kreće duž tijela (2, 21).

Koordinirajući ili centralni integracijski centar za termoregulaciju nalazi se u hipotalamusu. Najvažnija regija za autonomnu regulaciju temperature je preoptički anteriorni hipotalamus (22).

Kada se govori o tjelesnoj temperaturi, obično se misli na temperaturu jezgre i temperaturu periferije (površine tijela). Temperatura jezgre reflektira temperaturu dubokih tkiva, tj. organa koji imaju visoki bazalni metabolizam (mozak, srce i jetra). Temperatura periferije (površine tijela) je pod utjecajem krvnog protoka kroz kožu koji raste kod više temperature jezgre i kod viših temperatura okoline. Obično se mjeri na koži ruku ili nogu. Omjer površine i mase kod udova je velik, a poznato je da je taj omjer važan kod prijenosa toplinske energije (21). Uz visok omjer površine i težine, ruka će se hladiti brže od trupa čiji je omjer manji.

Površinska temperatura važan je pokazatelj potrebe za izmjenom topline. Temperatura površine tijela obično je za oko 4 °C niža od temperature jezgre. U toplom okruženju manja je razlika između temperature jezgre i površine jer je protok krvi kroz kožu povećan pa se temperatura kože približava temperaturi okoline. Ljudi su obično topliji od okoline pa je uobičajeno da se temperatura prenese iz tijela u okoliš. Tijekom hladnog vremena cirkulacija krvi kroz kožu se smanjuje što dovodi do pada temperature tjelesne površine kako bi se očuvala temperatura jezgre. Gradijent temperature između jezgre i površine može biti koristan monitor toplinskog stanja (npr. u stanju šoka povećava se gradijent između jezgre i periferije, a taj je gradijent koristan za razlikovanje kardiovaskularnog i respiratornog uzroka otežanog disanja) (23).

2.3. Odgovor efektorskih organa na povećanje tjelesne temperature

Koža ima značajnu ulogu u termoregulaciji i u odgovoru na povišenu ili sniženu temperaturu okoliša. Krvne žile kože pod utjecajem simpatikusa se šire ili sužavaju. Kod vazodilatacije, tj. širenja kožnih krvnih žila temperatura tijela predaje se okolišu (24).

Kod sužavanja kožnih krvnih žila (vazokonstrikcija) kao odgovor na hladnoću, krv se preusmjerava u duboke vene, dalje od površine, tako da se čuva toplina i povećava temperaturni gradijent između jezgre i okoline.

Kod izlaganja umjerenj hladnoći ljudski organizam čuva toplinu mehanizmima koji troše malo energije, kao što su vazokonstrikcija i piloerekcija. Nastup drhtanja označava maksimalnu postignutu vazokonstrikciju (25).

Drhtanje su nevoljne, brze, oscilirajuće kontrakcije skeletnog mišićja. Hidrolizira se ATP, ali rad kontrakcijom se ne obavlja, stoga se sva energija koja se proizvodi oslobađa kao toplina. Kod odraslog čovjeka drhtanje može proizvesti topline koliko i pet puta viša razina bazalnog metabolizma (26), dok kod novorođenčadi zbog nezrelosti skeletne muskulature drhtanje izostaje te je termogeneza bez drhtanja najvažniji način generiranja topline (27).

Kao odgovor na simpatički podražaj mišić *erector pili*, na mjestu gdje dlaka izlazi iz kože, kontrahira se i podiže dlaku, čime „hvata zrak“, smanjujući cirkulaciju zraka neposredno uz kožu i umanjujući na taj način gubitak topline. To se naziva piloerekcija. Poznata je kao reakcija na hladnoću i emocionalne podražaje. To je autonomni simpatički odgovor i smatra se da ga posreduju alfa1 adrenergični receptori (28).

Proizvodnja znoja i posljedična evaporacija (isparavanje) osnovni je mehanizam gubitka topline kod porasta temperature okoliša, kao i kod tjelesnog napora. Štoviše, to je jedini mehanizam kojim se tijelo hladi kada temperatura okoliša premaši temperaturu tijela. Izlaganje vrućini i tjelesni napor podižu, kako temperaturu jezgre, tako i temperaturu periferije, a oboje pritom doprinose povećanom znojenju. Prag za znojenje obično premašuje prag za vazodilataciju za 0,2 °C. Ipak, zna se da znojenje počinje vrlo brzo (sekunde) od početka tjelesnog napora, prije nego što se uopće može izmjeriti promjena temperature tijela (29).

Pretpostavlja se da je navedena reakcija posredovana kombinacijom signala iz centra za regulaciju temperature i refleksa tlačnog naprezanja u naporu (30).

Tijekom različitih kataboličkih procesa u organizmima kemijska se energija pretvara u kinetičku i toplinsku, a višak topline oslobađa se u okolinu (2). U mitohondrijima eukariotskih stanica stvara se adenzin trifosfat (ATP) koji je oblik pohrane kemijske energije. Drhtanje je metoda kojom se podiže tjelesna temperatura pretvaranjem kemijske energije ATP u kinetičku energiju u vidu mišićnog podrhtavanja, pri čemu se većina energije oslobađa kao toplina. Stvaranje topline bez drhtanja svojstveno je smeđem masnom tkivu (31, 32). Za sintezu ATP-a koristi se energija pohranjena u obliku protonskoga gradijenta, tj. protonske pokretačke sile (PMF), odnosno sile koja se koristi za pokretanje protona preko unutarnje membrane mitohondrija. To mehaničko gibanje protona osigurava energiju za dodavanje neorganske fosfatne grupe adenzin-difosfatu i tako nastaje ATP. U endotermnim organizmima tjelesna se toplina održava pomicanjem protona niz mitohondrijski gradijent. Navedeno je moguće jer postoji alternativni povratni put za protone kroz specifične proteine u unutarnjoj membrani. Ti proteini (termogenini) omogućavaju povratak protona niz mitohondrijski gradijent koji je nastao sintezom ATP-a i tako se oslobađa energija u obliku topline. Do određene mjere sve endotermne stanice oslobađaju toplinu, posebno kada je tjelesna temperatura ispod regulatornog praga. Smeđe masno tkivo visoko je specijalizirano za termogenezu bez drhtanja, prvenstveno zato što svaka stanica ima veći broj mitohondrija od tipične stanice, a takvi mitohondriji imaju veću koncentraciju termogenina u unutarnjoj membrani (2). To je tkivo termogeno putem podizanja bazalnog metabolizma, a ranije se smatralo da je ono važno samo kod malih sisavaca i novorođenčadi. Sada postoje dokazi o njegovoj ulozi i kod odraslih osoba (31, 32, 33, 34).

Simpatička aktivnost kao odgovor na signale perifernih i središnjih termoreceptora može potaknuti termogenezu smeđeg masnog tkiva. Osim simpatičkog živčanog sustava, termogenezu bez drhtanja reguliraju i hormoni štitnjače (28).

2.4. Tjelesna temperatura, njezino mjerenje i temperatura sučelja

Mjerenje tjelesne temperature jedna je od metoda procjena zdravstvenog stanja koja se svakodnevno koristi u kliničkoj praksi još od 1971. g. za utvrđivanje vitalnih znakova u gotovo svakog bolesnika. Ipak, dileme vezane za tehnologiju, točnost i metodologiju i dalje postoje (35). Organizam čovjeka mora održavati temperaturu unutarnjih organa unutar uskih granica kako bi bile moguće enzimske reakcije, a promjene izvan tih granica upućuju na različite patološke procese (1, 2). Još u prvom stoljeću rimski enciklopedist Celsus došao je do zaključka da je toplina (lat. *calor*), uz bol (lat. *dolor*), crvenilo (lat. *rubor*) i otok (lat. *tumor*), jedan od simptoma upale. Stari liječnici, još od antičkih Grka, bili su svjesni veze između povišene tjelesne temperature i bolesti, ali sve do 16. stoljeća nije zabilježen pokušaj mjerenja tjelesne temperature (36).

Razvoj termometra i uvođenje temperaturne skale u 18. stoljeću omogućili su objektivno mjerenje temperature. Mnogi znanstvenici doprinijeli su napretku, ali razvoj kliničke termometrije vezuje se za Carla Reinholda Augusta Wunderlicha. Wunderlich je 1871. godine utvrdio kako je korištenje termometra i dužnost i vrijedna pomoć tijekom dijagnostičkog procesa (37, 38). Tijekom toga vremena na Sveučilištu u Leipzigu Wunderlich je prikupio desetke tisuća aksilarnih mjera temperature termometrom koji je bio dugačak više od jedne stope (30,48 cm). Analizom prikupljenih podataka od približno 25 000 pacijenata došlo se do široko prihvaćenoga medicinskoga koncepta da je normalna tjelesna temperatura za zdravog pojedinca približno 37 °C (37, 38). Njegov je rad doveo do zaključka da je normalna tjelesna temperatura unutar raspona od 36,2 °C do 37,5 °C. Ovi su limiti i dalje tema kritičkih debata, ali glavni princip je da normalna temperatura leži unutar određenog intervala (39, 40).

Razvoj alternativnih metoda mjerenju termometrima sa živom u staklenom kućištu potaknut je štetnim svojstvima žive, ali i kliničkom potrebom za brzim i jednostavnim mjerenjem. *The European Council Directive 2007/51/EC (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) (41)* sada zabranjuje prodaju živinih termometara. Idealan termometar trebao bi biti bez žive, minimalno invazivan, brz, pouzdan, točan i siguran te bi trebao minimizirati ovisnost o tehnici mjerenja.

U praksi se preporučuje mjerenje temperature na standardnim mjestima na tijelu (rektalno, aksilarno, oralno, na koži čela i timpanički/otički), predviđajući, uz racionalnu prilagodbu, unutarnju tjelesnu temperaturu (3, 42).

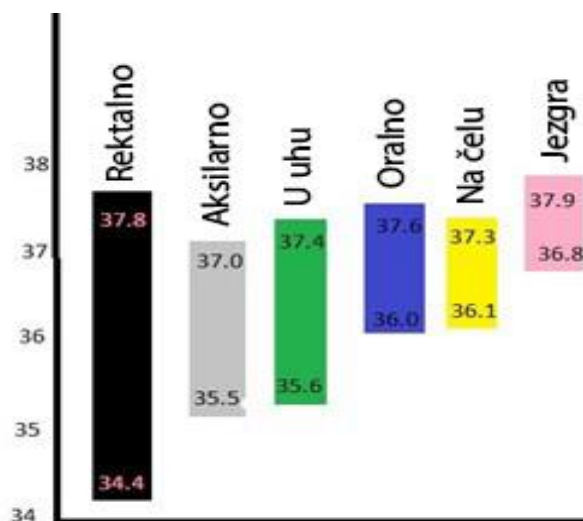
Timpanički termometar pokazao se točnim u nekim studijama, dok u nekim drugim istraživanjima nije bio pouzdan (43, 44, 45, 46).

Kistemaker je u svom istraživanju ispitivao točnost termometrije nad temporalnom arterijom (42). Pearce iznosi kako ne postoje moderni klinički termometri koji su potpuno bez problema (38).

Od presudne je važnosti identificirati mjesto na tijelu na kojem će se izmjeriti temperatura. Živinim termometrima mjerila se temperatura pod rukom (aksilarna temperatura), u rektumu ili u ustima. Nijedna od ovih temperatura nije odgovarala temperaturi vitalnih organa, koja se često naziva „temperatura jezgre“ (engl. *core temperature*) (47, 48). Oralna temperatura obično je za 0,5 °C niža od rektalne i osjetljivija je na vanjske utjecaje, dok se otička temperatura smatra netočnijom od rektalne (4).

Nadalje, dva simultana mjerenja na različitim mjestima kod istog pacijenta, koristeći isti termometar, vjerojatno će dati dvije različite vrijednosti.

MHRA je 2005. godine objavila izvješće o termometriji koje je uključivalo normalne temperaturne raspone za različita mjesta na tijelu (45) (Slika 3.).



Slika 3. Rasponi temperature prema objavi MHRA-e

Izvor: Modificirano prema Crawford D, Greene N, Wentworth S (2005) MRHA 04144. Thermometer Review: UK Market Survey 2005. <http://www.cedar.wales.nhs.uk/opendoc/219052>

Podaci više autora sažimaju rad različitih izvora (3, 44, 46, 47) i naglašavaju varijacije u rasponu „normalne“ temperature na svakom od mjesta mjerenja.

Ti se temperaturni rasponi danas koriste u mnogim bolnicama kao pomoć u pravodobnoj identifikaciji akutno bolesnih i kao vodič za pravilnu daljnju dijagnostiku i liječenje.

Da bi se postigla precizna termometrija, moraju se uzeti u obzir svi čimbenici koji utječu na mjerenje temperature, uključujući tehničke čimbenike (konfiguracija uređaja i obilježja uređaja), fiziološke čimbenike, tehniku uporabe (način na koji korisnik utječe na mjerenje) i način kalibracije.

Normalna temperatura varira ovisno o mjestu mjerenja, s višom temperaturom u jezgri tijela i s nižom temperaturom na periferiji. U praksi se temperatura jezgre mjeri invazivno (često se koristi plućni arterijski kateter), što je nepraktično za sve osim za specijalizirane kliničke odjele. U novije vrijeme, u eksperimentalne svrhe za neinvazivno mjerenje temperature jezgre koristi se uređaj Dräger Double Sensor (48).

Postoji mnogo mjesta koja se mogu koristiti za neinvazivno mjerenje temperature. Idealno mjesto bilo bi ono koje je neovisno o promjenama okoliša, osjetljivo na fiziološke i patološke promjene, bezbolno, reagira na promjene temperature jezgre i definirano je normalnim temperaturnim rasponom. Nijedno od dostupnih (relativno neinvazivnih) mjernih mjesta (usta, uho, pazuh, čelo ili rektum) ne ispunjava sve navedene uvjete. Rektalna temperatura najbolje predstavlja unutarnju temperaturu, ali mjerenje nije ugodno za pacijenta i osjetljivo je na bakterijsku kontaminaciju. Oralna temperatura je za otprilike 0,5 °C niža od rektalne i više ju modeliraju okolišni uvjeti.

Žene i muškarci imaju različite raspone normalne tjelesne temperature koji se mogu objasniti fiziološkim razlikama, kao što su ovulacija i deblji sloj subkutanog masnog tkiva u žena. Međutim, nema konsenzusa jesu li rasponi konzistentno viši ili niži u korist žena ili muškaraca (3, 49).

Također, treba uzeti u obzir i dob kod procjene normalne temperature. Srednja temperatura niža je u skupini starijih odraslih (35, 37). Čimbenici u podlozi, uključujući nisku razinu aktivnosti i slabljenje cirkulatornog i živčanog sustava, mogu utjecati na normalnu temperaturu u starijih odraslih (3, 50).

Temperaturne razlike tijekom dana prvi je primijetio Wunderlich 1871. godine (37). Nakon njega nekoliko drugih istraživača proučavalo je iste razlike (47, 50). Sada je široko prihvaćeno da srednja temperatura varira tijekom dana, uz minimalne temperature između 02:00 i 08:00 h te maksimalne između 16:00 i 21:00 h (47, 51, 52). Raspon ovih dnevnih varijacija nije dobro definiran (51, 52).

Na tjelesnu temperaturu također utječe nedavna fizička aktivnost (52). Ne samo da tjelesna aktivnost ima trenutni učinak, već može utjecati na dnevnu varijabilnost normalne temperature, uz veću razliku između maksimalne i minimalne dnevne temperature kod fizički aktivnih pojedinaca (39, 52).

Posebno područje interesa u termometriji je pitanje usporedbi temperatura izmjerenih na različitim mjestima na tijelu te dijagnostički zaključci koji iz njih proizlaze.

Na razlike u izmjerenim temperaturama (temperatura određenog mjesta na tijelu u odnosu na temperaturu jezgre ili drugo mjerno mjesto) utječe sučelje između unutrašnjosti i površine pa te razlike pružaju priliku za dobivanje korisnih informacija o patologiji vezanoj za samo sučelje.

Neki primjeri razlika u temperaturi jezgre i određenog dijela tijela već se dugo koriste u dijagnostici i probiru određenih bolesti (53). Primjerice, mjerenje rektalne temperature koristi se u dijagnozi bolova u donjem dijelu trbuha (54) gdje se povišena rektalna temperatura javlja kod bolesnika s apendicitisom i upalnom bolesti zdjelice. Termografija se koristi u dijagnostici karcinoma dojke (55, 56), a mjerenje temperature kože nad zglibom zahvaćenim reumatoidnim artritisom otkriva pacijente koji imaju visok rizik za radiološko oštećenje zgloba i za one koji mogu imati koristi od biološke terapije (57).

Na toj osnovi počiva i mjerenje temperature izdahnutog zraka (EBT, od engl. *exhaled breath temperature*) (5).

Jedno od glavnih pitanja jest je li EBT samo zamjena za unutarnju temperaturu i u kojoj mjeri odražava upalne procese u plućima. Prethodne analize nisu pronašle značajnu povezanost između EBT-a i tjelesne temperature izmjerene na tradicionalnim mjestima, što upućuje na drugačiju fiziološku pozadinu (6).

2.5. Bronhalna cirkulacija i temperatura dišnih putova

Vaskulaturi dišnih putova, kao jednim od glavnih segmenata koji su zahvaćeni u većini bolesti pluća, do sada nije pridavana zaslužena pozornost, ponajviše zato što nije lako izmjeriti bronhalni protok krvi.

Bronhalne krvne žile izlaze iz aorte, a njihovi ogranci prodiru u mišićni sloj i tako pletu submukoznu mrežu krvnih žila (1). Proliferacija malih žila i cijedenje iz njih izravno mijenjaju debljinu stijenki dišnih putova.

Paredi smatra da su promjene temperature izdahnutog zraka odraz fluktuacije volumena krvi u bronhalnoj cirkulaciji, dok same promjene protoka krvi u cirkulaciji pluća, tj. ograncima plućne arterije, čak ni kad su izrazite, ne utječu na temperaturu izdahnutog zraka (58).

To upućuje na to da je bronhalni protok krvi nositelj izmjene temperature u respiratornom traktu, a ne plućna cirkulacija, kao što se ranije mislilo. Dakle, bronhalni protok, sam po sebi, može utjecati na to hoće li odgovor dišnih putova ići u smislu bronhokonstrikcije ili bronhodilatacije, a također može mijenjati i samu temperaturu, što još jednom potvrđuje da je bronhalna cirkulacija ta koja kontrolira EBT i kontrolira sužavanje dišnih putova (59).

Osim toga, uslijed porasta temperature, kod osjetljivih pojedinaca, može doći do bronhodilatacije. Tako provocirana dilatacija dišnih putova može se spriječiti primjenom inhalacijskih vazokonstriktora kojima je glavni učinak redukcija mukozne opskrbe krvlju (59, 60).

Tu su pretpostavku pokušali osporiti McCafferty i Innes koji navode da je Paredi u istraživanju previdio više važnih stvari (61). S obzirom na to da je zrak koji su ispitanici udisali bio topao sobni zrak, bez izrazitije struje zraka, navode da tu nema velikog doprinosa bronhalne cirkulacije izmjeni temperature. Također, ne odobravaju to da se u mjerenje nije uključila vlažnost udahnutog zraka, čime bi se u obzir uzela ravnoteža EBT-a i isparavanje sa sluznice dišnog trakta, do kojeg dolazi za vrijeme izdisaja te se ta voda zajedno s toplinom vraća u zrak koji se potom izdahne.

Logično bi bilo zaključiti da kod respiratornih bolesti kod kojih dolazi do destrukcije dišnih putova, a posljedično i prateće vaskulature, zbog procesa koji dovode do remodeliranja strukture tkiva uzrokovanih različitim patofiziološkim procesima, dolazi do smanjenja površine dišnih putova te se manje topline može prenijeti na izdahnuti zrak.

Primjerice, histološka istraživanja kod kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB) pokazala su smanjenu opskrbu krvlju dišnih putova (62, 63), što se potvrdilo i u nešto novijim studijama (64, 65), iako stalna prisutnost upale u dišnim putovima normalno uzrokuje vaskularnu proliferaciju, što je prisutno u nekim fenotipovima KOPB-a (66).

Također, promjene na vaskulaturi u bolesnika s KOPB-om dijelom su prisutne i zbog vazomotorne reaktivnosti, koja je u cijelom organizmu (67), pa tako i u dišnim putovima veća nego inače (65, 68).

Dakle, zbog trajne upale i promjena u strukturi dišnih putova, bronhijalni protok krvi u bolesnika s KOPB-om značajno odstupa od normalnoga. Protok krvi u bronhalnoj cirkulaciji ovisi o ravnoteži između upale i destrukcije parenhima, odnosno smanjene površine vaskularnog bazena. Smanjeni protok krvi rezultat je smanjene vaskularnosti bronha, plućne hiperinflacije (69), vazokonstrikcije posredovane endotelinom (70) i deficita endotelnog čimbenika rasta (71).

2.6. Temperatura izdahnutog zraka i njezino mjerenje

Temperatura izdahnutog zraka (EBT) u posljednjih se petnaestak godina koristi kao neinvazivni marker upale u dišnom sustavu. Zanimanje za EBT proizlazi iz mogućnosti da se usporedbom EBT-a i temperature mjerene na drugim karakterističnim mjestima na tijelu dobiju podaci o samom sučelju, tj. u ovom slučaju u plućima.

Više opsežnih istraživanja pokazalo je da postoje specifični „temperaturni senzori“, tj. ionski kanali osjetljivi na promjene temperature u vagalnim senzornim živcima koji inerviraju mukožu čitavog respiratornog trakta u ljudi i u nekih životinjskih vrsta (72, 73, 74, 75, 76). Pretpostavlja se da je aktivacija ovih živaca odgovorna za manifestacije različitih simptoma kao što su kašalj i bronhokonstrikcija kod bolesnika s akutnim i kroničnim upalnim bolestima dišnog sustava (73, 77). U dosadašnjim studijama temperatura sluznice dišnih putova procjenjivana je indirektnim mjerenjem temperature izdahnutog zraka. Khosravi i sur. (78) u svom su istraživanju krenuli s hipotezom da se temperatura sluznice respiratornog trakta ne može točno odrediti mjerenjem EBT-a zbog slabe termalne provodljivosti zraka. Koristili su minijaturne temperaturne senzore brzog odgovora koje su uvodili kroz bronhoskop te tako direktno mjerili temperaturu mukoze u traheji, glavnim, lobarnim i segmentalnim bronhima u

osam ispitanika. Za razliku od temperature zraka u lumenu dišnih putova, temperatura mukoze u tim segmentima ostajala je relativno stabilna tijekom cjelokupnog dišnog ciklusa. Temperatura mukoze progresivno se penjala, počevši od one u traheji ($35,7 \pm 0,2$ °C) pa do segmentalnih bronha ($36,9 \pm 0,2$ °C). Zaključili su da je temperatura mjerena direktno na mukozi viša od temperature izdahnutog zraka ($31,7 \pm 0,8$ °C).

Mjerenje EBT-a je nova, neinvazivna metoda koja ima potencijal za uvođenje u kliničku praksu. Mjerenjem temperature izdaha u zdravoj populaciji te u bolestima dišnog sustava (astma, kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB), cistična fibroza, karcinom bronha) te usporedbom s drugim biomarkerima upale (frakcija izdahnutog dušikova oksida (FeNO), broj leukocita i eozinofila u iskašljaju i krvi, visoko osjetljivi C-reaktivni protein (hsCRP), protein Clara stanica (CC16)), utvrđeno je da je EBT, prije svega, biomarker upale i prokrvljenosti dišnih putova (6).

Ranija istraživanja potvrdila su da EBT ne ovisi o tjelesnoj temperaturi, da je visoke ponovljivosti (*intraclass correlation coefficient* = 0,94 – 0,99) te da je promjena EBT-a od $\pm 0,3$ °C klinički značajna (6).

Prva tehnologija koja je korištena uključivala je mjerenje EBT-a putem specijalnog temperaturnog senzora. Taj temperaturni senzor morao je mjeriti vrlo male temperaturne promjene u kratkim vremenskim intervalima. Pri korištenju ove metode bilo je potrebno standardizirati mjerne uvjete, počevši od kvalitete toplinskog senzora, (kontrolirane) brzine izdisaja, (kontroliranih) uvjeta okoliša (temperature, tlaka i vlage u sobi), a i sama mjerna tehnika zahtijevala je značajnu suradnju ispitanika (7, 8).

U metodi pojedinačnog izdisaja pacijenti isprva dišu normalno, zatim potpuno izdahnu, a potom maksimalno udahnu i započinju izdisati protiv fiksnog otpora održavajući protok na 6 L/min pri tlaku od 10 cm H₂O. Temperatura izdahnutog zraka mjeri se senzorom temperature brzog odziva u intervalima od 8 ms unutar osjetnika protoka. Ovom metodom mjerenja dobivaju se podaci o temperaturi okoliša, početnoj krivulji porasta temperature, konačnom porastu temperature i podešenom konačnom porastu temperature, što pokazuje razliku između konačnog porasta temperature i temperature okoline. Konačni porast temperature definiran je kao temperatura tijekom najmanje 2 sekunde tijekom zadnjih 20 % temperaturnog profila izdisaja, kada nema promjene temperature više od 0,58 °C uz konstantni protok od 6 L/min. Rezultat mjerenja bila je logaritamska krivulja s postizanjem određenog platoa na kraju mjerenja koju je bilo teško analizirati (7, 8).

Praktičniji pristup mjerenja EBT-a uveo je Popov i sur. (5, 6) korištenjem prijenosnog uređaja koji se bazira na principu akumulacije toplinske energije u izolirani spremnik s visokim termalnim kapacitetom, čineći mjerenje manje ovisnim o vanjskim uvjetima (9).

Metoda se temelji na mjerenju temperature izdahnutog zraka nakon postizanja maksimuma i nakon stabilizacije te temperature kod mirnog disanja. Pomoću X-halo uređaja mjeri se temperatura izdahnutog zraka s točnošću od 0,03 °C. Bolesnik udiše zrak na nos te izdiše kroz usnik direktno u komoricu uređaja tijekom 1 – 5 minuta, sve dok se temperatura izdisaja ne stabilizira. Dakle, ispitanici izdišu u izolirani uređaj sve dok se senzor koji bilježi temperaturu ne zagrije do postojane razine temperature koja se označava sa EBT (engl. *exhaled breath temperature*). Na takvo uzorkovanje vrlo malo utječe frekvencija i dubina disanja (79).

Mjerenje temperature izdisaja X-halo uređajem praktičnije je od prethodne metode pojedinačnog mjerenja izdisaja. Mjerna oprema je jeftinija i pristupačnija jer je prilagođena za uporabu pacijentima. Prema literaturi, na samo mjerenje ne utječe većina čimbenika okoliša (tlak i vlaga), volumen pluća pacijenta, kao ni frekvencija i način disanja, što omogućuje usporedbu vrijednosti bez potrebe za korekcijom (79).

Carpagnano i sur. (80) u velikoj su populaciji zdravih, odraslih bijelaca, nepušača (n = 298) proveli uspostavu referentnih vrijednosti za zdravu populaciju u različitim okolišnim uvjetima (raspon temperature okoliša 0 – 38 °C) za mjerenje temperature izdisaja X-halo uređajem. Utvrđena je referentna vrijednost EBT-a ($30,459 \pm 2,955$ °C) uz vanjsku temperaturu kao glavni čimbenik koji na nju utječe (porast temperature pri kojoj se mjeri za 1 °C, znači porast EBT-a za 0,19 °C).

Kod žena je EBT približno 1 °C niža nego kod muškaraca, što je vjerojatno rezultat utjecaja ženskih spolnih hormona (estradiol i progesteron) koji imaju protuupalne učinke te mogu posljedično utjecati na bazalni metabolizam i na EBT (80, 81).

Nekoliko studija proučavalo je fiziološke promjene kumuliranog EBT-a uz vježbanje, ventilaciju te inhalacijsku terapiju (82, 83).

U svom su istraživanju Peroni i sur. pokazali da se kod djece s astmom nakon šest minuta vježbanja na pokretnoj traci srednja vršna temperatura izdisaja povećala za 0,4 °C od početne vrijednosti. Ovaj porast temperature izdisaja pozitivno je povezan s maksimalnim smanjenjem forsiranog ekspiracijskog volumena u 1. sekundi (FEV1), posebice u kortikosteroid naivnih ispitanika. Ovi rezultati, kao i nepostojanje dokazane povezanosti između početne temperature izdisaja i pada FEV1, podupiru pretpostavku o EBT-u kao

korisnom markeru za praćenje upalnih procesa u dišnom sustavu, kao i za praćenje remodelinga vaskulature (84).

Svensson i sur. ispitivali su porast EBT-a neposredno nakon vježbanja u ispitanika s astmom te zdravih kontrola. Uočili su da samo u bolesnika kod kojih je zabilježen pad FEV1 veći od 10 % nakon tjelesnog napora EBT ostaje povišen i po jedan sat nakon fizičke aktivnosti. Došli su do zaključka da povišenje EBT-a koje traje duže vrijeme može imati uzrok u permanentnoj upali kod bolesnika s naporom induciranom bronhokonstrikcijom (85).

Pifferi i sur. matematičkim su modelom odvojili zdrave ispitanike od astmatičara i našli su da srednja vrijednost EBT-a tijekom platoa u ekspiriju bolje razdvaja ispitanike nego sama razlika EBT-a. Također, uočili su da krajnji dio izdaha najpreciznije reflektira upalu u malim dišnim putovima koji imaju slabiju ventilaciju, čak i za vrijeme stabilne faze bolesti (86). Tu hipotezu podržava i Popov i sur. (87).

FeNO je još jedan neinvazivni marker upale kod bolesti dišnog sustava koji se već dugo koristi kao neizostavan dio u dijagnostičkoj obradi. Istraživanja su pokazala da NO povećava protok krvi, najviše putem djelovanja na vazomotorni tonus, čemu u prilog govori povezanost između povišenog FeNO-a i povećanog protoka krvi kroz bronhalnu cirkulaciju (8, 65, 88). U bolesnika s astmom temperatura izdisaja isprva je proučavana zajedno s FeNO testom, uz komparaciju metoda, pod pretpostavkom da oba testa odražavaju upalu dišnih putova (8, 65, 88).

Iako su prva istraživanja pokazala pozitivnu povezanost EBT-a s FeNO vrijednostima (8) i bronhalnim protokom krvi, kasnije su dobivani i drugačiji rezultati. Štoviše, kasnija istraživanja pokazala su da su promjene debljine zida bronha, zajedno s pojačanom sekrecijom, uzrok negativne korelacije EBT-a i FeNO-a (65, 89).

Pojedine studije pokazale su da su FeNO vrijednosti bile slabo povezane s promjenom temperature izdaha kod bolesnika s KOPB-om (65, 89), vjerojatno zbog promijenjene debljine bronhalnih zidova i prisutnosti sekreta, što je tipično za kroničnu opstruktivnu bolest pluća.

Nadalje, pokazalo se da su EBT i FeNO korisni kod razlikovanja upale od remodeliranja dišnih putova (7, 58).

Mjerenje EBT-a u zdravom stanju, tj. izvan akutnih infekcija, može se uzeti kao referentna vrijednost za usporedbu s temperaturom izdaha na početku upale (npr. u akutnoj

egzacerbaciji) ili kod praćenja napredovanja destrukcije parenhima pluća te neoangiogeneze kod karcinoma.

Klækstad i sur. (90) utvrdili su značajno niži EBT kod bolesnika s KOPB-om u usporedbi s pušačima i sa zdravim kontrolama, uz zaključak da čak i uz prisutnu upalu u dišnim putovima, strukturalno oštećenje respiratornog tkiva sa značajno smanjenim protokom krvi može rezultirati u konačnici nižim EBT-om, dok zbog upalne podloge kod akutnog pogoršanja KOPB-a dolazi do porasta EBT-a (91).

Mjerenjem promjene temperature izdaha nakon popušene jedne cigarete zaključeno je da EBT ima potencijal predviđanja budućeg razvoja KOPB-a i njegovog pogoršanja u budućnosti kod pušača (92, 93). Dakle, EBT je osjetljiv na akutni učinak dima cigarete, ali, osim toga, utvrđeno je i da je značajno viši kod pušača, kao i bivših pušača koji ne boluju od KOPB-a, te se progresivno smanjuje tijekom vremena nakon prestanka pušenja (90). Osim akutnih učinaka koje izaziva pušenje cigareta, postoji i kronični učinak s dugoročnim posljedicama, kao što je postupna redukcija vaskulature dišnih putova te propadanje samog dišnog parenhima. Postoji značajna inverzna korelacija između EBT-a i broja popušanih cigareta (py, od engl. *pack-years*) kod pušača (94).

Rezultat prospektivne, opservacijske, neintervencijske kohortne studije na 146 pacijenata, pušača i bivših pušača s pušačkim stažem većim od 20 py, koji nisu bolovali od KOPB-a na početku studije, upućuje na mogućnost da akutni učinak nakon popušene jedne cigarete može predvidjeti koje će osobe razviti KOPB tijekom sljedećih dviju godina praćenja (93).

Paredi i sur. tvrde kako su debljina stijenki dišnih putova i količina sekreta u njima glavni uzrok slabije izmjene topline u tim dijelovima dišnog sustava i zato, usprkos normalnom protoku krvi kroz dišne putove, bolesnici s KOPB-om mogu imati reduciranu izmjenu topline (65).

Istraživanja su pokazala da je promjena EBT-a manja u bolesnika s KOPB-om nego kod zdravih ispitanika, što se tumači prisustvom sekreta i povećanjem debljine stijenke (89). Na debljinu stijenke dišnih putova u bolesnika s KOPB-om utječu zadebljanje glatkih mišića bronha, umnažanje žljezdanog tkiva, skvamozna metaplazija te uništavanje parenhima. Sve te promjene naposljetku će rezultirati i promjenama u normalnoj izmjeni topline (95).

Potvrđeno je da promjena EBT-a pozitivno korelira s brojem leukocita i s postotkom neutrofila u sputumu (91), a to je zanimljivo jer bolesnici s KOPB-om imaju višu razinu neutrofila u sputumu. Porast upalnih stanica u sputumu javlja se kod akutne egzacerbacije KOPB-a, tako da EBT može biti marker za praćenje bolesnika.

U svom istraživanju Paredi, Kharinotov i Barnes došli su do podatka o porastu EBT-a nakon inhalacije vazodilatatora u bolesnika s kroničnom opstruktivnom bolesti pluća, što izostaje u bolesnika s astmom, a dokaz je da je kod tih bolesnika smanjena vaskularnost bronha (96). Jeffery je u svom istraživanju našao da kod inhalacije vazodilatatora u bolesnika s KOPB-om dolazi do sporijeg porasta i kraćeg trajanja porasta temperature izdaha, što nije slučaj kod zdravih (95). Iz navedenog proizlazi zaključak da je bronhalna vaskulatura reducirana, a žile slabije reaktivne na vazodilatatore u bolesnika s KOPB-om.

Kod bolesnika na kortikosteroidnoj terapiji nije dokazana značajna razlika u promjeni temperature izdaha ni bronhalnog protoka, iako je to bilo za očekivati jer kortikosteroidi imaju vazokonstriktivno djelovanje (65, 89).

Temperatura izdaha pozitivno korelira s BMI-om (indeksom tjelesne mase) (80, 97). Kod pretilih osoba postoji kronična upala niskog stupnja, što dovodi do pretpostavke da je i veća temperatura izdaha, kao posljedica djelovanja velikog broja proupalnih medijatora (97).

Zagađenje zraka, ovisno o gustoći prometa, značajno korelira s EBT-om, što se također tumači određenim stupnjem upale u respiratornom traktu zbog prisutnog zagađenja zraka koji udišu ispitanici koji žive bliže prometnicama (79).

Utvrđeno je da zdravi ispitanici imaju različiti cirkadiurni ritam EBT-a u usporedbi s aksilarnom temperaturom uz akrofazu u 19 h za EBT, a za aksilarnu temperaturu u 13 h (98).

Postoje dokazi da u starijih ispitanika EBT ima niže vrijednosti, vjerojatno zbog prirodnog propadanja plućnog parenhima, a time i smanjenja alveokapilarne površine (79).

U osoba koje svakodnevno vježbaju izmjerene su niže razine upalnih parametara u krvi: C-reaktivnog proteina, fibrinogena, faktora VIII, leukocita, IL-6, što je posljedica smanjenja sistemske upale, čime se objašnjava niža temperatura izdaha u fizički aktivnih osoba (99, 100, 101, 102).

Nadalje, u jednom istraživanju kod asmaticara nađeno je da su razine CC16 (*Clara cell protein 16*) nakon vježbanja bile pozitivno povezane s povećanjem temperature izdaha (103).

CC16 je protein u plazmi koji štiti respiratorni trakt od oksidativnog stresa i upale. Ti se podaci objašnjavaju činjenicom da se nakon vježbanja temperatura izdisaja povećava zbog promijenjene propusnosti respiratornog epitela uslijed vazodilatacije. Inače, nedostatak CC16 faktor je rizika za virusne infekcije, dok je polimorfizam gena CC16 faktor rizika za pojavu astme u djece.

Carpagnano i sur. utvrdili su i značajno viši EBT kod bolesnika s karcinomom pluća nemalih stanica (NSCLC), bez obzira na pušački staž (104), što je koreliralo s izdahnutim vaskularnim endotelnim faktorom rasta (VEGF) (105). To navodi na zaključak da karcinogeneza, vjerojatno zbog neoangiogeneze, sama po sebi modulira EBT i to na način da je u uznapredovalim karcinomima viši i samim time pruža metodi potencijal da se koristi u kliničkoj praksi za praćenje ovakvih bolesti.

U komparaciji s djecom koja boluju od astme, u djece s bronhopulmonalnom displazijom zabilježene su značajno niže temperature izdaha koje su ipak više od onih kod zdravih kontrolnih ispitanika (106). Uzrok tomu vjerojatno su strukturne promjene zbog zadebljanja glatkih mišića i stanjenja bronhalnih zidova na račun epitela, što u konačnici utječe na izmjenu temperature.

Najnovija tehnologija mjerenja EBT-a, koja se koristi u ovom istraživanju, omogućuje frakcionirano mjerenje temperature izdaha (fEBT), što znači da može mjeriti temperaturu izdaha pojedinih frakcija izdahnutog zraka, odnosno dijelova izdahnutog zraka iz različitih dijelova dišnog sustava (središnji i periferni dišni putovi).

U literaturi je vrlo malo podataka o mjerenju fEBT-a Fract Air uređajem.

Dimov i sur. (107) istraživali su promjene fEBT nakon maksimalnog kardio-pulmonalnog opterećenja u zdravih sportaša. Vršne fEBT vrijednosti prije i nakon napora nisu se signifikantno razlikovale. Analizom je utvrđeno da je temperatura druge frakcije značajno pala nakon napora, za razliku od prve i treće frakcije. Veća emisija topline iz ovog dijela dišnog sustava nakon napora može značiti da tijekom hiperventilacije dolazi do emisije topline s primarno ovog dijela dišnog sustava. Također, zaključili su da promjene fEBT-a nakon fizičke aktivnosti nisu linearne te zahvaćaju različite frakcije EBT-a, tj. dijelove respiratornog trakta na različite načine. Izostala promjena EBT-a u pojedinim frakcijama sugerira da je zagrijavanje dišnih putova tijekom vježbe kompenzirano povećanjem gubitka topline zbog hiperventilacije.

Tufvesson i sur. (103) objavili su studiju u kojoj su mjerili i uspoređivali temperaturu frakcija izdahnutog zraka u bolesnika s astmom, KOPB-om, sistemskom sklerozom te zdravih

kontrola. Frakcije na koje je podijeljen izdahnuti volumen u ovom istraživanju bile su jednake, tj. svaka je frakcija bila 1/3 od ukupnog izdahnutog volumena. Utvrdili su da je relativna temperatura u perifernim dijelovima dišnog sustava niža u bolesnika s KOPB-om i sa sistemnom sklerozom (SSC) u odnosu na bolesnike s astmom, koji su imali vrijednosti slične onima u zdravih, kontrolnih ispitanika. Generalno, temperature mjerene iz centralnih i perifernih dišnih putova ovisile su o apsolutnim plućnim volumenima, kao i o njihovom postotku od predviđenih vrijednosti (vitalni kapacitet (VC), totalni plućni kapacitet (engl. *TLC total lung capacity*), forsirani ekspiratorni volumen u 1. sekundi (FEV1)). Također, T3/T1 omjer kod zdravih ispitanika umjereno pozitivno korelira s plućnim volumenima te s apsolutnim vrijednostima volumena pri mjerenju difuzijskoga kapaciteta pluća (FVC ($r = 0,62$, $p = 0,022$), TLC ($r = 0,688$, $p = 0,007$), VC ($r = 0,60$, $p = 0,023$), IC ($r = 0,70$, $p = 0,005$), VA ($r = 0,62$, $p = 0,018$)), a također i s postocima od prediktivnih vrijednosti (TLC % ($r = 0,65$, $p = 0,012$), IC % ($r = 0,65$, $p = 0,012$), DLCO % ($r = 0,60$, $p = 0,034$), VA % ($r = 0,60$, $p = 0,024$)). Slične povezanosti plućnih volumena s omjerom T3/T1 utvrđene su i među svim ostalim ispitanicima. Vrijednosti EBT-a iz periferne frakcije bile su značajno povezane s difuzijskim kapacitetom za ugljični monoksid (DLCO, $r = 0,52$, $p < 0,001$), što sugerira povezanost s vaskularizacijom u plućima jer je DLCO parametar koji djelomično reflektira vaskularnu komponentu alveolarne cirkulacije. Sukladno tome, utvrđene su niže relativne temperature na periferiji, mjerene T3/T1 omjerom, u ispitanika s nižim vrijednostima DLCO i u skupini bolesnika s KOPB-om, kao i sa SSC. S DLCO-m je najjače korelirao omjer T3/T1 ($r = 0,45$, $p = 0,0014$), dok su Tmax i T3max samo blago korelirali ($r = 0,35$, $p = 0,0022$, $r = 0,27$, $p = 0,030$). Značajna razlika među različitim grupama ispitanika nađena je između izmjerenih Tmax, kao i između izmjerenih T3max vrijednosti. Temperaturni omjer između perifernih i centralnih dišnih putova (T1/T3 %) bio je niži u bolesnika s KOPB-om i SSC-om u usporedbi s onima u grupi astmatičara koji su pokazivali vrijednosti slične onima u kontrolnoj skupini. T3max vrijednosti bile su značajno povezane s postocima prediktivnih vrijednosti kao što su DLCO % ($r = 0,30$, $p = 0,016$), alveolarni volumen (VA) % ($r = 0,27$, $p = 0,034$) i DLCO/VA % ($r = 0,27$, $p = 0,030$). Gotovo sve vrijednosti temperatura bile su značajno povezane jedne s drugima (osim Tmax i T3max s T3/T1). Tmin nije bila povezana s nijednim od parametara plućne funkcije. Nijedna od temperaturnih vrijednosti nije bila povezana s FeNO-m. Parametar koji je bio od najvećeg interesa u ovom istraživanju, odnos T3/T1, pokazivao je niže vrijednosti u bolesnika s KOPB-om i SSC-om u odnosu na astmatičare i zdrave kontrole, koji su pokazivali slične vrijednosti. Ovo je u suglasnosti s višim protokom krvi kroz dišne putove u astmatičara zbog čega je i temperatura izdaha viša. Niže razine T3/T1

omjera u bolesnika s KOPB-om mogle bi biti zbog smanjene sposobnosti zagrijavanja zraka u alveolama. Uzroci te smanjene sposobnosti mogli bi biti razaranje stijenki alveola te povećanje njihove debljine kod emfizema, uništenje endotelih stanica i nestanak alveolarnih kapilara. Bolesnici sa SSC-om imaju sistemski reduciranu vaskularizaciju. To je vjerojatno prisutno i u plućima, pa samim time dovodi do smanjene sposobnosti zagrijavanja zraka i do nižeg T3/T1 omjera.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Istraživanje sam provela u prostorijama Dječje bolnice Srebrnjak (Odjel za plućnu funkciju i Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku), Srebrnjak 100, 10 000 Zagreb. Mjerenja bazalnog metabolizma i mjerenja tjelesne temperature i temperature izdaha provela sam u odvojenoj klimatiziranoj sobi kako bi se osigurali stabilni uvjeti okoliša i mir te kako bi se utjecaj neposredne okoline na mjerenja temperature izdahnutog zraka sveo na najmanju moguću mjeru.

Ispitanike sam tijekom prvog posjeta obavijestila o studiji nakon čega su potpisali informirani pristanak (Prilog 2.). Potom sam im na ispunjavanje dala upitnik (Prilog 3.) o navikama (tjelesna aktivnost, prehrana) i o osobnim podacima (datum rođenja, spol, tjelesna visina i težina, udaljenost mjesta prebivališta u odnosu na glavnu cestu).

Pri drugom posjetu ujutro, nakon aklimatizacije, provela sam mjerenja temperature (u uhu, u pazuhu, u ustima i na koži čela), izmjerila im bazalni metabolizam, uzeta je kapilarna krv za laboratorijsku obradu (kompletna krvna slika i hsCRP), zabilježila uvjete okoliša (temperatura, vlaga i tlak zraka u zatvorenom i na otvorenom), izmjerila srednji uravnoteženi EBT X-halo uređajem i frakcionirani EBT u pet odvojenih mjerenja (svaki sat od 08:00 do 12:00 sati određenog dana) s uređajem za mjerenje frakcionirane temperature izdaha. Na kraju posjeta provela sam testove plućne funkcije (spirometrija s bronhodilatacijskim testom i mjerenje FeNO-a). Sva mjerenja, osim spirometrije i bronhodilatatornog testa, ponovila sam i tijekom sljedećeg dana. Mjerenja bazalnog metabolizma provela sam kako bi se isključio utjecaj dobi i spola te kod žena promjena razine spolnih hormona tijekom menstrualnog ciklusa.

Korištenjem gore navedenog dizajna eksperimenta (kontrolirana unutarnja atmosfera, mjerenje upalnih parametara, bilježenje vremena od jela i tjelesne aktivnosti) eliminira se potreba za stratifikacijom uzorka prema dobi i spolu, čime se smanjuje potreban uzorak i povećava izvedivost studije.

3.2. Metode

Ovo ispitivanje, koje uključuje ukupno tri posjete, provela sam na sljedeći način.

1. Inicijalni posjet uključuje:

- a. potpisivanje informiranog pristanka
- b. samostalno popunjavanje upitnika s pitanjima o svakodnevnim navikama (tjelesna aktivnost, prehrana, pušenje), osobnim podacima (datum rođenja, spol) i geografskim značajkama ispitanika (mjesto boravka u odnosu na glavnu prometnicu) te kratka osobna anamneza s ciljem isključivanja ispitanika koji boluju od akutnih ili kroničnih upalnih bolesti pluća, kardiovaskularnog, probavnog i lokomotornog sustava.

2. Drugi posjet uključuje:

- a. testove plućne funkcije (spirometrija s bronhodilatacijskim testom, frakcija izdahnutog dušikova oksida – FeNO)
- b. mjerenje temperature (u uhu, u pazušnoj jami, u ustima i na koži čela), s time da su temperature u uhu i na čelu mjerene prije svakog mjerenja fEBT-a
- c. mjerenje bazalnog metabolizma (BMR)
- d. uzimanje kapilarne krvi za laboratorijsku obradu (kompletna krvna slika i visoko osjetljivi C-reaktivni protein)
- e. mjerenje okolišnih uvjeta prilikom provođenja pokusa (temperatura, vlažnost i tlak zraka u sobi i vani)
- f. mjerenje srednje uravnotežene temperature izdahnutog zraka X-halo uređajem
- g. mjerenje temperature izdahnutog zraka uređajem za frakcionirano mjerenje temperature izdaha u pet odvojenih pokušaja.

3. Treći posjet.

Tijekom trećeg posjeta obavila sam sva mjerenja koja sam provela i tijekom drugog posjeta, osim spirometrije i bronhodilatacijskog testa. Posjeti su bili uzastopno svakog dana.

3.3. Ispitanici

U istraživanje je prema kriterijima za uključivanje i neuključivanje odabrala sam 55 zdravih dobrovoljaca.

Veličina uzorka od minimalno trideset ispitanika izračunata je na temelju literaturnih podataka (6) pri čemu je razlika između koeficijenata korelacije korištena kao osnova za izračunavanje veličine uzorka i uz korištenje statističkog programskog paketa STATISTICA ver.12. Za izračunavanje veličine uzorka korišteni su sljedeći podaci: statistička snaga od 80 % i $\alpha = 0,05$ te razlika između očekivane korelacije za tjelesnu temperaturu izmjerenu na različitim tipičnim mjestima ($r < 0,70$) i korelacije tjelesne temperature i temperatura izdaha ($r \leq 0,10$). Kako bi se osigurala dovoljna navedena minimalna veličina uzorka ($n = 30$) i kako bi se izbjegla potreba za stratifikacijom prema dobi i spolu, odabrana je eksperimentalna postavka za smanjenje varijabilnosti na temelju preliminarnih rezultata istraživanja: 1) stabilna temperatura okoline za mjerenje od oko 22 °C, 2) mjerenje bazalnog metabolizma svako jutro, što isključuje utjecaj spola i faze menstrualnog ciklusa i dobi ispitanika i 3) isključenje pušača. Konačna veličina uzorka od pedeset ispitanika određena je na temelju planiranih naprednih statističkih metoda analize podataka strojnog učenja kako bi se stvorio prediktivni model koji koristi karakteristike ispitanika.

Kriteriji za uključivanje: zdravi ispitanici starosti od 18 do 45 godina, oba spola, dobrovoljci. Zdravstveno stanje ispitanika utvrđeno je na temelju osobne anamneze i izmjerenih upalnih parametara.

Kriteriji za izuzeće: ispitanici koji pate od akutne ili kronične bolesti gornjeg ili donjeg dišnog sustava i/ili pluća (KOPB, astma, TBC, respiratorne infekcije...), kao i druge akutne ili kronične sistemske upalne bolesti u vrijeme uključivanja (reumatske bolesti, bolesti kardiovaskularnog sustava, povišeni upalni parametri...) i ako nisu u mogućnosti izvršiti dijagnostički protokol.

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Dječje bolnice Srebrnjak na sjednici 9. svibnja 2017. i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta na sjednici 25. siječnja 2018.

3.3.1. Anamneza

U prvom (inicijalnom) posjetu ispitanicima sam detaljno opisala postupak i ciljeve istraživanja, a zatim su potpisali informirani pristanak.

Usljedilo je uzimanje kratke osobne anamneze s ciljem isključivanja ispitanika koji pate od akutnih ili kroničnih upalnih bolesti pluća, kardiovaskularnog, probavnog i lokomotornog sustava.

Ovom prilikom naglasak je stavljen na moguće respiratorne probleme i navike, prvenstveno pušenje i izloženost raznim biološkim i kemijskim agensima koji bi mogli dovesti do razvoja upalnih bolesti dišnog sustava. Uz to, prisutnost pridruženih kroničnih bolesti i upotreba kronične terapije.

Na kraju posjeta ispitanici su ispunili upitnik s pitanjima o dnevnim navikama (tjelesna aktivnost, prehrana), osobnim podacima (tjelesna visina, tjelesna težina, datum rođenja, spol) i mjestu prebivališta u odnosu na glavnu cestu.

3.3.2. Plućna funkcija s bronhodilatacijskim testom

Spirometrija je metoda mjerenja plućne funkcije kojom se mjere volumeni pluća i brzine protoka zraka kroz dišne putove. Rezultati se iskazuju kao apsolutne vrijednosti i kao postotak od referentnih vrijednosti koje ovise o spolu, dobi, visini i težini tijela (109, 110).

Spirometriju sam izvodila standardiziranom metodom na spirometru MasterScreen (Jaeger, Njemačka) u skladu s preporukama i normama Europskog respiratornog društva (109, 110).

Zabilježila sam spirometrijske parametre: forsirani vitalni kapacitet (FVC) izražen u L i kao % očekivane vrijednosti, forsirani volumen izdisaja u 1. sekundi (FEV1) izražen u L i kao % očekivane vrijednosti, vršni ekspiratorni protok (PEF) izražen u L i kao % očekivane vrijednosti i omjer forsiranog ekspiracijskog volumena i vitalnog kapaciteta (FEV1/FVC, tj. Tiffeneauov indeks) izražen u postocima, maksimalni protok izdisaja pri 50 % volumena (MEF 50 %) i maksimalni protok izdisaja pri 25 % volumena (MEF 25 %).

Test bronhodilatatorom činila je spirometrija dvadeset minuta nakon udisanja kratkodjelujućeg bronhodilatatora (400 mcg salbutamola) prema ERS smjernicama. Test je smatran pozitivnim uz porast FEV1 za $\geq 12\%$ i ≥ 200 ml (111).

3.3.3. Srednji uravnoteženi EBT

EBT sam izmjerila pomoću X-halo uređaja (Delmedica Investments, Singapur), spontanom disanjem, uz udah kroz nos i izdah kroz usnik u aparat s jednosmjernim ventilom u trajanju od približno pet minuta, sve dok stabilna temperatura izdaha nije izražena u °C, čime se smanjuje utjecaj vanjskih čimbenika, frekvencije i dubine disanja na izmjerenu temperaturu (5, 6, 112, 113). Vrijednosti sam zabilježila uz preciznost od 0,01 °C (Slika 4.).



Slika 4. X-Halo uređaj

3.3.4. Biomarkeri sustavne upale

Uzorak kapilarne krvi (uzet s jagodice prsta) uzorkovan je za hematološku i biokemijsku analizu, koje su obavljene odmah nakon vađenja krvi ujutro za oba posjeta. Hematološka analiza (kompletna krvna slika s mjerenjem broja eritrocita, hematokrita, hemoglobina, broja trombocita i broja leukocita provela se na hematološkom brojaču Sysmex XN Europe GmbH, Norderstedt, Njemačka). Automatski uređaj XN/550, koji analizira brzo i precizno, uključuje tehnologiju protočne citometrije Sysmex i metodu određivanja hemoglobina bez cijanida.

Uzorak za biokemijsku analizu analiziran je na razinu C-reaktivnog proteina visoke osjetljivosti (hsCRP) na aparatu Olympus AU680 (Beckman Coulter, Inc., SAD).

C-reaktivni protein (CRP) je protein koji se nalazi u ljudskoj krvi. On pripada skupini pentraksina, a otkriven je još 1930. godine (114).

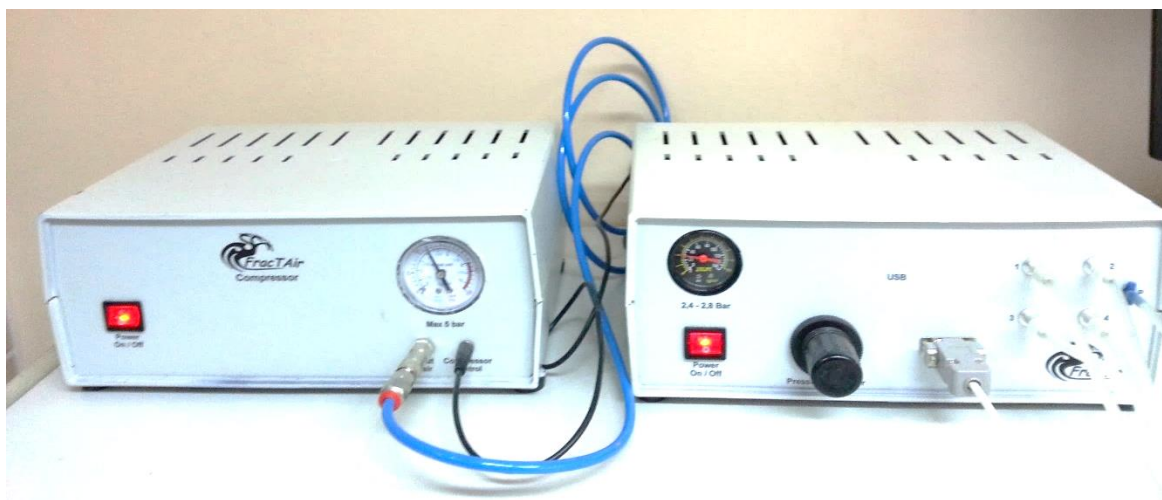
CRP je protein akutne faze upale koji se proizvodi u jetri i u adipocitima. Mjerenje koncentracije CRP-a spada u rutinske, svakodnevne pretrage sa svrhom otkrivanja upale. U akutnoj upali koncentracija CRP-a premaši granice normale za 6 – 9 sati, dok vrhunac postigne nakon dva dana. Poluvrijeme života mu je konstantno pa je stoga njegova koncentracija u krvi determinirana količinom koja se stvara.

Razina CRP-a koristi se za razlikovanje bakterijskih od virusnih infekcija. Također, njome se prati napredak bolesti i liječenja, a u nekim se okolnostima pokazala korisnom kao faktor rizika. Povišene vrijednosti nalazimo kod različitih upalnih stanja, uključujući infekcije, traume, maligne bolesti, nekrozu i alergijske reakcije. Koncentracije CRP-a niže od 10 mg/L (1,0 mg/dL) smatraju se fiziološkima (iako u granicama normale mogu biti i kod nekih blažih, lokaliziranih, kroničnih upala). Povišene vrijednosti CRP-a od 10 do 40 mg/L (1,0 – 4,0 mg/dL) ukazuju uglavnom na blaže upale i virusne infekcije, dok su iste fiziološke kod npr. trudnica, pušača, tijekom fizičke aktivnosti. Kod akutnih bakterijskih upala vrijednosti se uglavnom kreću od 40 do 200, dok su teške bakterijske infekcije i sepse, kao i opekline, karakterizirane CRP-om većim od 200 (114).

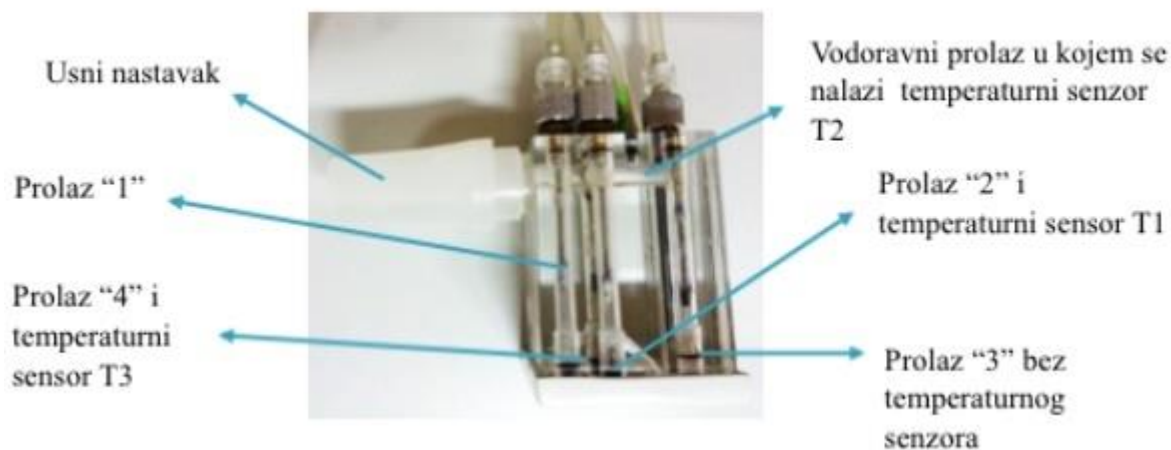
3.3.5. Frakcionirani EBT

Frakcionirani EBT izmjerila sam metodom jednog izdisaja, u pet ponavljanja, u razmaku od jednog sata, pomoću uređaja FractAir (Sofija, Bugarska).

Uređaj se sastoji od tijela, tlačnoga kompresora i mjerne komore koja sadrži brzoreaktivne valvule i temperaturne senzore (Slike 5. i 6.). Softverski dio (Slike 7. i 8.) sastoji se od aplikacije u koju sam prije mjerenja unijela osobne podatka o ispitaniku (ime, dob, visina, težina, spol, krvni tlak, je li pušač, ostale relevantne dijagnoze i kumulativni EBT izmjeren X-halo uređajem) te sam postavila željene postotke frakcija izdahnutog zraka koje su se mjerile. Prilikom izdisaja program na ekranu bilježi krivulje koje odgovaraju temperaturama različitih frakcija (Slika 9.). U laboratoriju moraju biti ispunjeni sljedeći uvjeti: sobna temperatura oko 22 °C, mjerna komora ne smije biti izložena izravnoj sunčevoj svjetlosti i zračnoj struji (klima, propuh...) i ne smije biti u blizini izvora topline.



Slika 5. Uređaj FractAir: tlačni kompresor (lijevo) i tijelo uređaja (desno)



Slika 6. Mjerna komorica uređaja FracTAir s temperaturnim senzorima i valvulama

Patient information | Measurement | Settings

Last calibration

Last calibration Step 1	Last calibration Step 2	Last calibration Step 3
16/02/2021 17:09:12	26.1.2021 ä. 12:32:25	26.1.2021 ä. 11:16:32

Patient information

Name:

Age:

Height:

Weight:


Gender:

Blood pressure:

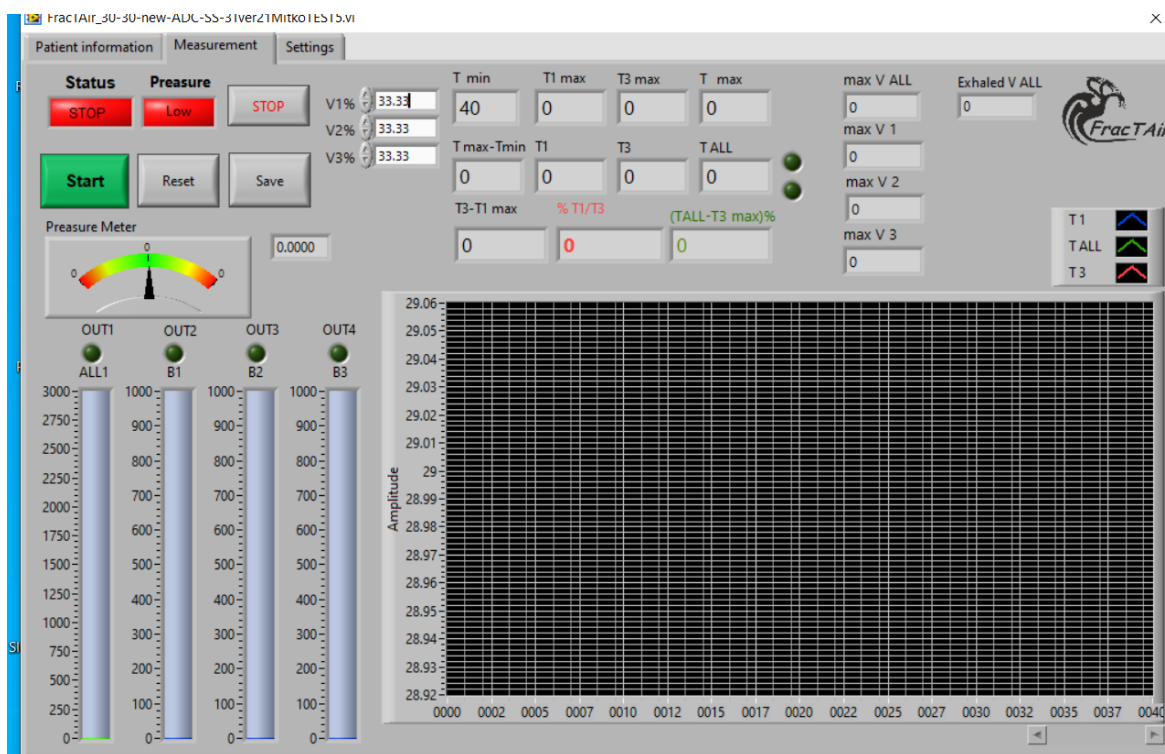
Smoker:

Diagnosis:

X-halo temperature:



Slika 7. Sučelje programske podrške uređaja FracTAir 1



Slika 8. Sučelje programske podrške uređaja FracTAir 2

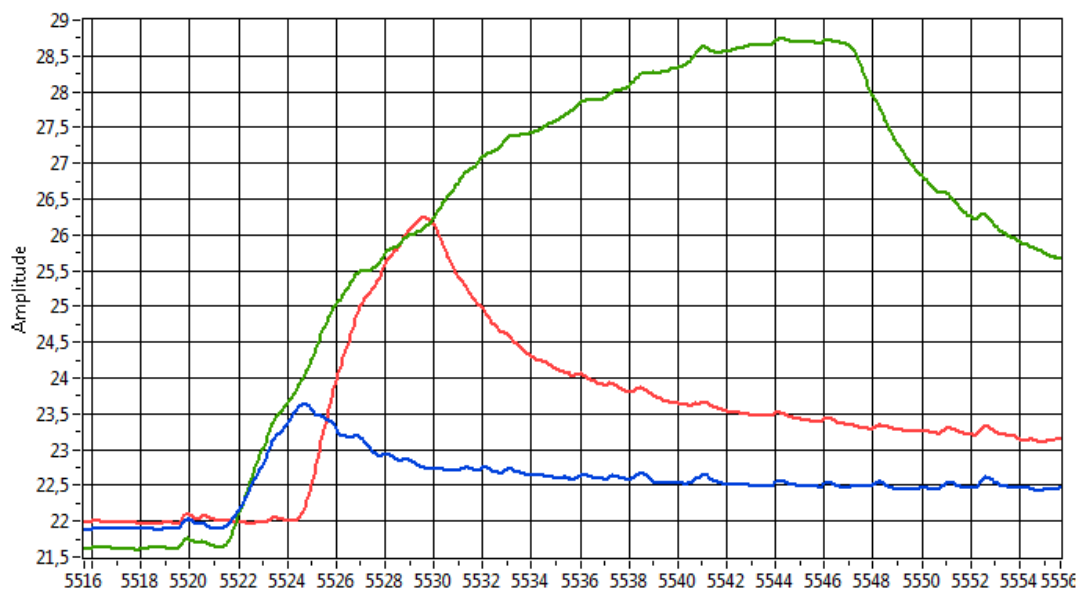
Postupak mjerenja započinje stavljanjem kvačice na nos ispitanika koji zatim izdahne na usta izvan uređaja, zatim ustima obuhvati usnik uređaja i duboko udahne, a potom nastavlja mirno izdisati kroz uređaj do kraja mjerenja.

Mjerni uređaj automatski usmjerava različite frakcije izdisaja kroz kanaliće u plastičnoj komori na osjetljive toplinske senzore koji u stvarnom vremenu mjere temperaturu pojedine frakcije izdaha. Tijekom početnog dubokog udisaja kroz komoru mjeri se volumen udahnutog zraka prema kojem se, s obzirom na postavljene postotke (tj. frakcije izdahnutog zraka), prilikom izdisaja koji slijedi, valvule automatski otvaraju kako bi propustile zrak iz pojedinog dijela dišnog sustava, tj. centralnog i perifernog dijela. Ova se funkcija uređaja može prilagoditi ovisno o frakcijama čije se temperature žele izmjeriti. U našem smo istraživanju odabrali frakcije od 10 %, 20 % i 70 %, što bi značilo da smo mjerili temperaturu izdahnutog zraka iz mrtvog prostora koji predstavlja fiziološki mrtvi prostor, tj. prvih 10 % izdahnutog volumena, zatim temperaturu sljedeće frakcije od 20 % (funkcionalni mrtvi prostor) i na kraju temperaturu s periferije, odnosno iz samih pluća, koja je zastupljena udjelom od 70 %. Pored volumena, uređaj mjeri najnižu (T_{min}) i najvišu (T_{max}) zabilježenu temperaturu tijekom cijelog izdisaja, kao i najviše izmjerene temperature u prvoj ($T1_{max}$), drugoj ($T2_{max}$) i trećoj ($T3_{max}$) frakciji. Vrijednost T_{max} predstavlja najvišu vrijednost temperature u trećoj frakciji. Također, uređaj

računa i omjer (%) između T3max i T1max (nazvan T3/T1 ratio) po formuli $T3/T1 \text{ ratio} = (T3_{\text{max}} - T1_{\text{max}}) / T1_{\text{max}} * 100$.

Svaku od triju zabilježenih temperatura korigirala sam prema minimalnoj temperaturi. Također, izračunala sam i standardiziranu temperaturu koja predstavlja korigiranu temperaturu treće frakcije standardizirane na najmanji volumen izdaha u jednog ispitanika.

Osim navedenih parametara koje uređaj automatski mjeri, izračunala sam parametar naziva „disipacija topline“ za svaku od frakcija izdahnutog zraka. Disipacija topline za prvu frakciju označava razliku korigirane maksimalne temperature izdaha prve frakcije zabilježene na grafičkom prikazu i minimalne temperature. Disipacija topline za drugu frakciju označava razliku korigirane maksimalne temperature izdaha druge frakcije i korigirane maksimalne temperature prve frakcije, dok disipacija topline za treću frakciju označava razliku korigirane maksimalne temperature izdaha treće frakcije i maksimalne korigirane temperature za drugu frakciju.

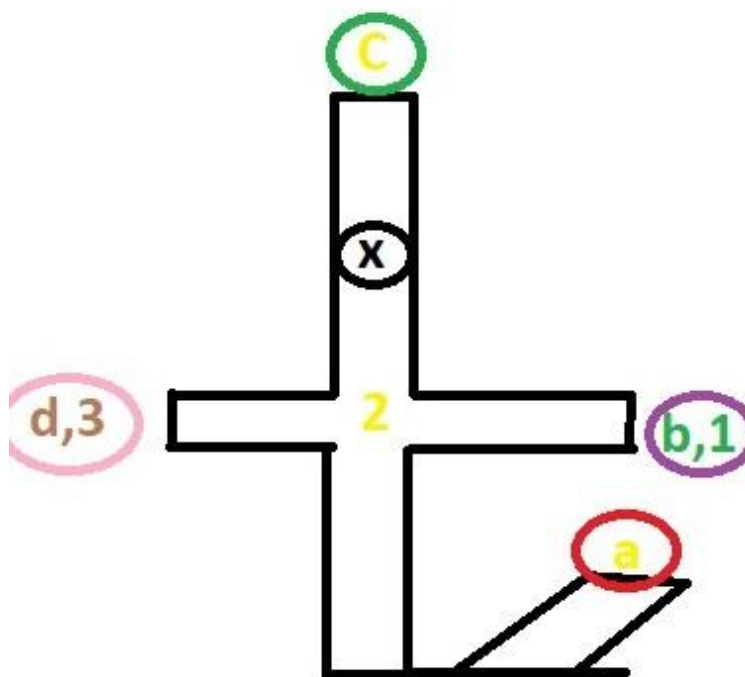


Legenda: Plava — T1 (prva frakcija), crvena — T2 (druga frakcija), zelena — T3 (treća frakcija)

Slika 9. Grafički prikaz temperaturnih krivulja

Uređaj omogućuje ponavljanje mjerenja nakon deset minuta, koliko je potrebno za stabilizaciju temperature toplinskih senzora na temperaturu zraka u prostoriji.

Kompjutorski softver (Slike 7. i 8.) koristi se da se zadaju frakcije izdahnutog zraka koje će se usmjeravati kroz različite dijelove mjerne komorice (u kojoj se, ovisno o zadanim vrijednostima, otvaraju ventili i frakcije izdaha usmjeravaju na različite temperaturne senzore koji služe za mjerenje temperature). Ventil a otvara se nakon udisaja, a ventili b – d tijekom prolaska prve, druge i treće frakcije. Senzori 1 – 3 mjere temperaturu izdahnutog zraka u prvoj (plava krivulja na slici), drugoj (zeleno krivulja) i trećoj (crvena krivulja) frakciji, x označava mjesto na kojem je tlačni senzor (Slika 10.).



Slika 10. Shematski prikaz temperaturnih senzora i valvula

3.3.6. Razina bazalnog metabolizma u mirovanju (BMR)

BMR sam mjerila pomoću FitMate uređaja (Cosmed, Rim, Italija). Mjerenje sam izvodila rano ujutro u ležećem položaju s oronazalnom maskom ili usnikom kroz koji su ispitanici mirno disali deset minuta (pet minuta za kalibraciju uređaja i pet minuta za mjerenje BMR-a). BMR je također bio izražen kao % očekivanog prema Harris-Benedictovoj formuli (prilagođeno dobi, tjelesnoj težini, visini i spolu) (115).

Bazalni metabolizam naziv je za količinu energije potrebne za održavanje funkcije živog organizma u stanju mirovanja (osmoregulacija, disanje, cirkulacija, probava, kontrola tjelesne temperature, rast stanica, funkcija mozga i živčanog sustava te kontrakcija mišića) (115). Određuje se potrošnjom kisika ili količinom izdahnutog ugljičnog dioksida (CO₂) u određenom vremenu. Pritom svakoj litri udahnutog kisika ili izdahnutog CO₂ odgovara određeni energijski ekvivalent.

Pravilno mjerenje zahtijeva stroge kriterije kao što su: toplinski neutralno okruženje, fizički i psihički mirno stanje i stanje prije jela.

Vrijednosti u odrasle osobe su između 5600 i 8000 kJ dnevno. One su za oko 7 % veće u muškaraca nego u žena iste tjelesne težine, visine i dobi. U žena BMR varira ovisno o fazi menstrualnog ciklusa (zbog povećanja razine progesterona BMR raste na početku lutealne faze i ostaje na najvišoj razini do kraja te faze) (116).

Mjerenje BMR-a jedan je od osnovnih načina određivanja energetske potrebe organizma i obično se vrši prema Harris-Benedictovoj formuli iz 1919. godine (117).

Jednadžba za izračun BMR-a za muškarce: $BMR = (66,5 + 13,7 \times t / \text{kg} + 5 \times v / \text{cm} - 6,8 \times d / \text{a}) \text{ kcal} / 24 \text{ h}$, a za žene: $BMR = (65,5 + 9,6 \times t / \text{kg} + 1,8 \times v / \text{cm} - 4,7 \times d / \text{a}) \text{ kcal} / 24 \text{ h}$, gdje je t oznaka za težinu, v za visinu i a za dob. Pojedinačne varijacije u BMR-u uglavnom su posljedica razlika u nemasnoj tjelesnoj masi.

3.3.7. Mjerenje frakcije izdahnutog dušikova oksida (FeNO)

Mjerenje FeNO-a provela sam uređajem HypAirFeNO (Medisoft, Sorinnes, Belgija) tijekom jednog izdaha prema ATS/ERS preporukama, pri protoku od 50 mL/sek (118).

Tehnika mjerenja temelji se na činjenici da NO iz izdahnutog zraka reagira s ozonom. Kad se vrati u svoje primarno stanje, emitira svjetlost čiji je intenzitet proporcionalan količini izdahnutog NO, a to se naziva kemiluminescentna reakcija.

FeNO, tj. frakcija izdahnutog dušikova oksida (NO) mjeri se svakodnevno u dijagnostici upalnih bolesti dišnog sustava i služi kao neinvazivni biomarker za dijagnosticiranje, praćenje bolesti i uspjeha liječenja kod djece i odraslih oboljelih od astme.

NO je molekula plina koju proizvode mnoge stanice u upalnom odgovoru (npr. eozinofili, endotelne stanice, neuroni...). Povišene vrijednosti NO nalaze se u bolesnika s astmom, ograničenim bronhiektazijama i akutnoj egzacerbaciji kronične bolesti pluća, a povezane su i s piskanjem, rinitisom i alergijskim rinitisom u djece osnovnoškolske dobi (119).

Snižene vrijednosti nalaze se kod djece koja boluju od cistične fibroze, primarne cilijarne diskinezije, bronhopulmonalne displazije te arterijske plućne hipertenzije. Kod izloženosti zagađenom zraku, u nekim istraživanjima, zabilježene su snižene (120), a u drugima povišene vrijednosti FeNO-a (121, 122, 123), dok pušenje snižava FeNO (124).

Gornja razina normale varira u različitim studijama od 20 do 30 ppb (engl. *parts per billion*), a muškarci imaju više vrijednosti od žena (124).

3.3.8. Mjerenje tjelesne temperature

Tjelesnu temperaturu mjerila sam više puta dnevno, prije ostalih ispitivanja u ustima i pod pazuhom tijekom dvaju uzastopna dana, dok sam u uhu i na koži čela mjerila digitalnim termometrom prije svakog mjerenja na aparatu za mjerenje fEBT-a. Temperature pod pazuhom i u ustima mjerila sam alkoholnim termometrom. Za mjerenje temperature u uhu koristila sam digitalni toplomjer Rossmax RA-600, dok sam za čelo koristila beskontaktni toplomjer

Rossmax HA-500. Oba su termometra visoke preciznosti i ponovljivosti mjerenja, a validacija je provedena u nekoliko sveučilišnih bolnica prema protokolu regulatornog standarda ASTM 1965-98 i PrEN 12470-5 za RA-600 te ASTM E 1965-98:2009 za HA 500.

3.3.9. Mjerenje okolišnih uvjeta prilikom provođenja pokusa

Okolišne uvjete (temperatura, vlažnost i tlak zraka u sobi i vani) mjerila sam One Concept Bergenom, meteorološkom stanicom koja ima vanjski senzor.

3.3.10. Statistička obrada podataka

Normalnost raspodjele numeričkih podataka ispitana je testom Kolmogorov-Smirnov. Numerički podaci izraženi su aritmetičkom sredinom (AS) i standardnom devijacijom (SD), odnosno medijanom i interkvartilnim rasponom (IQR), ovisno o vrsti distribucije. Podaci o postavljenim pokazateljima izraženi su brojem i udjelom u postocima. Usporedba između zavisnih varijabli (ponovljenih mjerenja) utvrđena je ovisno o distribuciji t-testom za uparene uzorke, Wilcoxonovim testom, analizom varijance (ANOVA) za ponovljena mjerenja ili Friedmanovim testom. Kako se izmjerene vrijednosti fEBT-a, maksimalna standardizirana temperatura, minimalna temperatura i maksimalna korigirana temperatura nisu značajno razlikovale između mjerenja i između dana, izračunate su prosječne vrijednosti za pojedini dan te za oba dana mjerenja i korištene su u daljnoj analizi. Korelacija pojedinih varijabli određena je pomoću jednovarijantne korelacijske analize i analize kovarijance (ANCOVA). U analizi podataka nisu dodatno korištene planirane metode strojnog učenja (nenadzirano klasteriranje korištenjem metode potpornih vektora i nelinearne regresije uz moguću izradu prediktivnog modela pojedinih frakcija EBT-a) zbog malog uzorka i uravnoteženosti susljednih fEBT mjerenja. Smatralo se da takva dodatna analiza ne može doprinijeti boljem razjašnjenju rezultata. Statistički značajnima smatrani su rezultati usporedbi i povezanosti uz razinu značajnosti $p < 0,05$.

4. REZULTATI

U Tablici 1. prikazana su osnovna obilježja 55 ispitanika (32 muškog i 23 ženskog spola). Ispitanici su bili medijana dobi 25 godina (IQR, 21,2 – 36,7 g.) te normalne tjelesne težine (medijan BMI 23,4 kg/m²). Medijan vremena od zadnjeg obroka bio je 2,3 sata (IQR, 1,4 – 9 sati).

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitanika (N = 55)

Varijabla	Srednja vrijednost ili medijan	SD ili 25 - 75 P
Dob (godine)	25,0*	21,25 – 36,750**
Tjelesna visina (cm)	176,3	9,6
Tjelesna masa (kg)	73,6	15,3
Bazalni metabolizam 1 (kcal)	1939,1	460,4
Bazalni metabolizam 2 (kcal)	1962,4	383,1
BMI (kg/m ²)	23,8*	22,2 – 25,4**
Vrijeme od obroka (sat)	-2,3*	-9,0 – 1,4**

Legenda: *medijan, **25 – 75 P – interkvartilni raspon, SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, BMI – indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*).

U Tablici 2. prikazane su usporedbe između muškaraca i žena za mjerenja bazalnog metabolizma i ambijentalne temperature pri kojoj su mjerenja izvođena.

Tablica 2. Usporedba ambijentalne temperature i bazalnog metabolizma prvog i drugog dana mjerenja između muškaraca i žena (N = 55)

Varijable	Muškarci			Žene			Razlika	95 % CI	P
	n	Srednja vrijednost	SD	n	Srednja vrijednost	SD			
BMR_1	32	2146	376	11	1393	331	752	494 – 1011	<0,001
BMR_2	32	2158	287	11	1525	335	632	421 – 844	<0,001
T sobna_1	32	21,5	1,2	11	20,1	0,8	1,4	0,6 – 2,2	0,001
T sobna_2	32	21,5	1,0	11	20,3	1,0	1,2	0,5 – 1,9	0,001

Legenda: SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*).

Iz Tablice 2. vidi se da postoji statistički značajna razlika u bazalnom metabolizmu između muškaraca i žena u prvom i u drugom danu mjerenja. Isto tako, postoji statistički značajna razlika u ambijentalnoj temperaturi pri kojoj su mjerene temperature izdaha između muškaraca i žena prvog i drugog dana mjerenja.

U Tablici 3. prikazani su rezultati krvnih pretraga mjerenih 1. i 2. dan ispitivanja te njihova usporedba kako bi se utvrdilo postoje li razlike u razini upalnih markera (CRP, leukociti) te markera hidriranosti organizma (eritrociti, hemoglobin, hematokrit) koji bi mogli utjecati na promjenu tjelesne temperature, bazalnog metabolizma i temperature izdaha.

Tablica 3. Usporedba rezultata mjerenja krvnih pretraga ispitanika prvog i drugog dana mjerenja (N = 55)

Varijabla	Medijan	25 – 75 P	p vrijednost
CRP 1 (mg/L)	0,9	0,6 – 1,2	0,017
CRP 2 (mg/L)	1,01	0,6 – 1,7	
Eritrociti 1 ($10^{12}/L$)	4,9	4,2 – 5,5	0,615

Tablica 3. Nastavak

Eritrociti 2 ($10^{12}/L$)	4,9	4,2 – 5,4	
Hemoglobin 1 (g/L)	152,0	128,3 – 159,0	0,571
Hemoglobin 2 (g/L)	151,0	129,3 – 159,0	
Hematokrit 1 (L/L)	0,4	0,4 – 0,5	0,536
Hematokrit 2 (L/L)	0,5	0,4 – 0,5	
Leukociti 1 ($10^9/L$)	5,6	5,2 – 6,2	0,123
Leukociti 2 ($10^9/L$)	6,1	5,3 – 6,9	

Legenda: 25 – 75 P – interkvartilni raspon, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, CRP-C – reaktivni protein.

Iz Tablice 3. vidljivo je da je utvrđena statistički značajna razlika između razina CRP-a kod prvog i drugog dana mjerenja ($p = 0,017$, Wilcoxon test), iako su obje vrijednosti bile u granicama normale. Utvrđene razlika nema klinički značaj. Za ostale ispitivane hematološke varijable nije utvrđena statistički značajna razlika između prvog i drugog dana mjerenja ($p > 0,05$ za sve varijable, Wilcoxon test).

U Tablici 4. prikazane su vrijednosti te usporedba okolišnih uvjeta 1. i 2. dana mjerenja.

Tablica 4. Osnovna obilježja okolišnih uvjeta

Varijabla	Srednja vrijednost ili medijan	SD ili 25 – 75 P	<i>p</i> vrijednost
Sobni tlak 1 (hpa)	1006,9	10,2	0,373
Sobni tlak 2 (hpa)	1007,4	9,7	
Vanjski tlak 1 (hpa)	1023,0*	1018,3 – 1031,0**	0,696
Vanjski tlak 2 (hpa)	1023,0*	1019,0 – 1028,0**	
Sobna vlažnost 1 (g/m^3)	44,9	8,0	0,702
Sobna vlažnost 2 (g/m^3)	44,6	7,5	
Vanjska vlažnost 1 (g/m^3)	66,0*	50,0 – 82,0**	0,381
Vanjska vlažnost 2 (g/m^3)	62,0*	48,0 – 81,5**	
Sobna temperatura 1 ($^{\circ}C$)	21,5	1,5	0,491
Sobna temperatura 2 ($^{\circ}C$)	21,3	1,1	

Tablica 4. Nastavak

Vanjska temperatura 1 (°C)	10,8	5,4	0,792
Vanjska temperatura 2 (°C)	11,0	4,7	

Legenda: * medijan, **25 – 75 P – interkvartilni raspon, SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja.

Među ispitivanim varijablama okolišnih uvjeta nije utvrđena statistički značajna razlika između mjerenja 1. i 2. dana ($p > 0,05$ za sve varijable, Student t-test, Wilcoxon test).

U Tablici 5. prikazane su vrijednosti parametara plućne funkcije mjerene spirometrijom prije i nakon bronhodilatatora te vrijednosti FeNO-a (kao parametra eozinofilne upale dišnih putova) mjerene prvi i drugi dan mjerenja.

Tablica 5. Osnovna obilježja plućne funkcije ispitanika (N = 55)

Varijabla	Srednja medijan	vrijednost	ili SD ili 25 – 75 P	p vrijednost
FEV1 (L)		4,1	0,8	
FEV1 nakon BD-a (L)		4,2	0,9	0,161
FVC (L)		4,9	1,1	
FVC nakon BD-a (L)		4,9	1,1	0,201
Tiffeneauov indeks (%)		85,0	6,4	
Tiffeneauov indeks nakon BD-a (%)		85,3	7,8	0,553
MEF25 1 (%)		6,8*	5,5 – 9,1**	
MEF25 1 nakon BD-a (%)		6,8*	5,5 – 8,9**	0,918
MEF50 1 (%)		4,8	0,9	
MEF50 1 nakon BD-a (%)		4,7	0,9	0,282
PEF 1 (%)		10,3*	8,7 – 11,8**	
PEF 1 nakon BD-a (%)		10,3*	9,1	0,137
FeNO 1 (ppb)		17,0*	12,0 – 20,0**	
FeNO 2 (ppb)		15,0*	12,0 – 20,8**	0,577

Legenda: *medijan, **25 – 75 P – interkvartilni raspon, SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja; BD – bronhodilatator, FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, % – postotak od prediktivne vrijednosti, FVC – forsirani vitalni kapacitet, MEF 25 % – maksimalni ekspiratorni protok na 25 % forsiranog vitalnog kapaciteta, MEF 50 % – maksimalni ekspiratorni protok na 50 % forsiranog vitalnog kapaciteta, PEF – vršni ekspiratorni protok (engl. *peak expiratory flow*), FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida.

Nije utvrđena statistički značajna razlika između izmjerenih parametara spirometrije s bronhodilatatorom i bez bronhodilatatora (BD) ($p > 0,05$ za sve varijable, Student t-test, Wilcoxon test) te nije utvrđena statistički značajna razlika između izmjerenih vrijednosti FeNO-a između prvog i drugog dana mjerenja ($p = 0,5771$, Wilcoxon test).

U Tablici 6. prikazane su i uspoređene vrijednosti temperature ispitanika mjerene na različitim mjestima (aksilarno, čelo, uho, usta) te temperature izdaha mjerene X-halo uređajem prvi i drugi dan ispitivanja.

Tablica 6. Osnovna obilježja višestrukih mjerenja temperature ispitanika mjerene na različitim mjestima (aksilarno, čelo, uho, usta) te temperature izdaha mjerene uređajem X-halo

Varijabla	Srednja vrijednost ili medijan	SD ili 25 – 75 P	<i>p</i> vrijednost
Temperatura aksilarna 1 (°C)	36,3*	36,0 – 36,8**	0,041
Temperatura aksilarna 2 (°C)	36,5*	36,2 – 36,8**	
Temperatura čelo 1-1 (°C)	36,2	0,3	0,689
Temperatura čelo 2-1 (°C)	36,2	0,4	
Temperatura čelo 1-2 (°C)	36,2	0,4	0,032
Temperatura čelo 2-2 (°C)	36,3	0,4	
Temperatura čelo 1-3 (°C)	36,2	0,4	0,028
Temperatura čelo 2-3 (°C)	36,3	0,3	
Temperatura čelo 1-4 (°C)	36,2	0,4	0,229
Temperatura čelo 2-4 (°C)	36,3	0,3	
Temperatura čelo 1-5 (°C)	36,2	0,5	0,089
Temperatura čelo 2-15 (°C)	36,3	0,4	
Temperatura uho 1-1 (°C)	36,2*	35,8 – 36,4**	0,587
Temperatura uho 2-1 (°C)	36,2*	35,8 – 36,4**	
Temperatura uho 1-2 (°C)	36,2*	35,9 – 36,5**	1,0
Temperatura uho 2-2 (°C)	36,3*	35,9 – 36,5**	
Temperatura uho 1-3 (°C)	36,2	0,4	0,325
Temperatura uho 2-3 (°C)	36,2	0,5	
Temperatura uho 1-4 (°C)	36,3	0,4	0,035

Tablica 6. Nastavak

Temperatura uho 2-4 (°C)	36,2	0,4	
Temperatura uho 1-5 (°C)	36,4	0,4	
Temperatura uho 2-5 (°C)	36,3	0,5	0,088
Temperatura usta 1 (°C)	36,7	0,5	
Temperatura usta 2 (°C)	36,7	0,4	0,200
EBT na X-halo 1	34,3*	34,0 – 34,7**	
EBT na X-halo 2	34,3*	33,9 – 34,6**	0,654

Legenda: medijan, **25 – 75 P – interkvartilni raspon, SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, oznake 1-5 označavaju redoslijed mjerenja u pojedinom danu (npr. oznaka 2-5 znači peto mjerenje drugog dana), EBT – temperatura izdahnutog zraka (engl. *exhaled breath temperature*).

Iz Tablice 6. vidljivo je da je utvrđena statistički značajna razlika u aksilarnoj temperaturi između prvog i drugog dana, u temperaturi čela u drugom mjerenju između prvog i drugog dana i temperaturi mjerenoj u uhu u četvrtom mjerenju između prvog i drugog dana ($p < 0,05$, Student t-test, Wilcoxonov test). Nije utvrđena statistički značajna razlika temperature izdaha mjerene X-halo uređajem između prvog i drugog dana mjerenja ($p < 0,05$, Wilcoxonov test). Susljedna mjerenja temperature mjerene na čelu tijekom istog dana nisu se značajno razlikovala ($p < 0,05$ za prvi i drugi dan, ANOVA za ponovljena mjerenja), ali utvrđen je statistički značajni linearni trend porasta temperature mjerene u uhu i prvog i drugog dana ($p < 0,05$ za prvi i drugi dan mjerenja, ANOVA za ponovljena mjerenja).

U Tablici 7. prikazane su i uspoređene izmjerene vrijednosti volumena izdahnutog zraka pet susljednih mjerenja provedenih prvog i drugog dana pri mjerenju frakcionirane temperature izdaha.

Tablica 7. Volumen izdahnutog zraka pri višestrukom mjerenju frakcionirane temperature izdaha u ispitanika (N = 55), uz usporedbu prvog i drugog dana mjerenja

Varijabla	Srednja vrijednost	SD	p vrijednost
Maksimalni volumen 1-1 (mL)	3676,1	1047,5	
Maksimalni volumen 2-1 (mL)	3900,8	1142,2	0,001

Tablica 7. Nastavak

Maksimalni volumen 1-2 (mL)	3766,2	1023,1	0,334
Maksimalni volumen 2-2 (mL)	3834,4	1128,1	
Maksimalni volumen 1-3 (mL)	3818,8	1044,6	0,119
Maksimalni volumen 2-3 (mL)	3925,1	1188,0	
Maksimalni volumen 1-4 (mL)	3843,7	1059,2	0,014
Maksimalni volumen 2-4 (mL)	3985,4	1143,1	
Maksimalni volumen 1-5 (mL)	3895,9	1087,6	0,866
Maksimalni volumen 2-5 (mL)	3887,0	1125,9	

Legenda: SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, oznake 1-5 označavaju redosljed mjerenja u pojedinom danu (npr. oznaka 2-5 znači peto mjerenje drugog dana).

Uočava se statistički značajna razlika u mjerenjima izdahnutog volumena u prvom mjerenju prvog i drugog dana te u četvrtom mjerenju prvog i drugog dana ($p < 0,05$, Student t-test). Utvrđene razlike, iako statistički značajne, klinički su zanemarive (Cohen's $d < 0,2$). Analiza varijance za ponovljena mjerenja provedena za mjerenja prvog dana utvrdila je statistički značajno povećanje volumena od 1. do 5. mjerenja ($t = 3,707$; $df = 54$; $p < 0,001$), ali preklapaju se intervali pouzdanosti srednjih vrijednosti za sva mjerenja. Za mjerenja drugog dana nije utvrđena statistički značajna razlika među ponovljenim mjerenjima izdahnutog volumena ($t = 0,862$; $df = 54$; $p = 0,392$).

U Tablici 8. prikazane su i uspoređene temperature frakcija izdahnutog zraka pri višestrukom mjerenju frakcionirane temperature izdaha prvog i drugog dana mjerenja.

Tablica 8. Temperature frakcija izdahnutog zraka pri višestrukom mjerenju frakcionirane temperature izdaha u ispitanika (N = 55), uz usporedbu prvog i drugog dana mjerenja

Varijabla	Srednja vrijednost	SD	<i>p</i> vrijednost
T max 1-1 (°C)	27,8	1,2	0,772
T max 2-1 (°C)	27,9	1,2	
T max 1-2 (°C)	27,8	1,1	0,879
T max 2-2 (°C)	27,8	1,1	
T max 1-3 (°C)	27,9	1,2	0,088

Tablica 8. Nastavak

T max 2-3 (°C)	27,7	0,9	
T max 1-4 (°C)	27,8	1,0	0,242
T max 2-4 (°C)	27,7	0,9	
T max 1-5 (°C)	27,7	1,0	0,391
T max 2-5 (°C)	27,6	0,9	
T min 1-1 (°C)	21,1	1,3	0,560
T min 2-1 (°C)	21,1	1,2	
T min 1-2 (°C)	21,3	1,4	0,465
T min 2-2 (°C)	21,2	1,1	
T min 1-3 (°C)	21,2	1,3	0,546
T min 2-3 (°C)	21,2	1,0	
T min 1-4 (°C)	21,2	1,3	0,358
T min 2-4 (°C)	21,1	0,9	
T min 1-5 (°C)	21,2	1,1	0,579
T min 2-5 (°C)	21,1	1,0	
T1 max 1-1 (°C)	23,0	1,3	0,345
T1 max 2-1 (°C)	23,3	1,4	
T1 max 1-2 (°C)	23,2	1,3	0,844
T1 max 2-2 (°C)	23,3	1,3	
T1 max 1-3 (°C)	23,3	1,5	0,383
T1 max 2-3 (°C)	23,2	1,1	
T1 max 1-4 (°C)	23,2	1,4	0,660
T1 max 2-4 (°C)	23,2	1,0	
T1 max 1-5 (°C)	23,2	1,2	0,193
T1 max 2-5 (°C)	23,1	1,0	
T2 max 1-1 (°C)	25,7	1,5	0,191
T2 max 2-1 (°C)	25,6	1,5	
T2 max 1-2 (°C)	25,9	1,6	0,162
T2 max 2-2 (°C)	25,7	1,5	
T2 max 1-3 (°C)	25,9	1,6	0,430
T2 max 2-3 (°C)	25,7	1,3	

Tablica 8. Nastavak

T2 max 1-4 (°C)	25,8	1,5	0,667
T2 max 2-4 (°C)	25,7	1,2	
T2 max 1-5 (°C)	25,7	1,4	0,184
T2 max 2-5 (°C)	25,7	1,3	
T3 max 1-1 (°C)	27,9	1,2	0,906
T3 max 2-1 (°C)	28,2	1,1	
T3 max 1-2 (°C)	28,1	1,1	0,205
T3 max 2-2 (°C)	28,1	1,0	
T3 max 1-3 (°C)	28,1	1,1	0,446
T3 max 2-3 (°C)	28,0	0,9	
T3 max 1-4 (°C)	28,0	1,0	0,542
T3 max 2-4 (°C)	28,0	0,9	
T3 max 1-5 (°C)	28,0	0,9	0,103
T3 max 2-5 (°C)	28,0	0,9	

Legenda: SD – standardna devijacija, oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, oznake 1-5 označavaju redoslijed mjerenja u pojedinom danu (npr. oznaka 2-5 znači peto mjerenje drugog dana), T max – maksimalna korigirana standardizirana temperatura, T min – minimalna temperatura, T1 max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije.

Za izmjerene varijable temperature izdaha prikazane u Tablici 7. nije uočena statistički značajna razlika za ista mjerenja 1. i 2. dana ($p > 0,05$ za sve, Student t-test), a niti za susljedna mjerenja provedena istog dana ($p > 0,05$ za sve, ANOVA za ponovljena mjerenja).

Kako se varijable maksimalna standardizirana temperatura, minimalna temperatura, maksimalna korigirana temperatura nisu značajno razlikovale između mjerenja te između dana, izračunate su prosječne vrijednosti (AS) za pojedini dan te za oba dana mjerenja i prikazane su u Tablici 9.

Tablica 9. Izračunate srednje vrijednosti temperatura izdaha, disipacije topline (razlike temperature za taj dio izdahnutog volumena) te temperature mjerene na čelu i u uhu, a koje se nisu statistički značajno mijenjale između vizita (N = 55)

Varijabla	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Srednja vrijednost	<i>p</i> vrijednost*
T_max AS	26,3	29,8	27,788	
T max AS1	26,1	30,3	27,842	0,576
T max AS2	26,0	29,7	27,734	
T min AS	19,7	23,4	21,159	
T min AS1	19,7	24,5	21,197	0,679
Tmin AS2	19,1	23,2	21,121	
T1 max AS	20,9	25,8	23,191	
T1 max AS1	21,0	26,5	23,191	0,392
T1 max AS2	20,8	25,2	23,19	
T2 max AS	22,7	28,1	25,748	
T2 max AS1	22,9	28,4	25,819	0,366
T2 max AS2	22,6	28,2	25,677	
T3 max AS	26,8	30,0	28,081	
T3 max AS1	26,7	30,5	28,104	0,619
T3 max AS2	26,2	29,9	28,059	
Tčelo AS1	35,6	36,8	36,19	0,303
Tčelo AS2	35,6	37,2	36,248	
Tuho AS1	35,6	37,0	36,248	0,110
Tuho AS2	35,2	37,2	36,208	
TV1	1,0	2,9	2,032	
TV2	1,700	3,7	2,558	0,001
TV3	0,900	4,5	2,333	

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, T max — maksimalna korigirana standardizirana temperatura, T min — minimalna temperatura, T1 max — maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max — maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max — maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, AS — uprosječno, TV1 — disipacija temperature u prvom odjeljku, TV2 — disipacija temperature u drugom odjeljku, TV3 — disipacija temperature u trećem odjeljku. Prikazana *p* vrijednost je za usporedbu prosječne vrijednosti prvog i drugog dana mjerenja na temelju testa za parne uzorke.

Na temelju Tablice 9. vidljivo je da se srednje vrijednosti temperatura frakcija izdaha, temperature mjerene na čelu i u uhu nisu statistički značajno mijenjale između vizita ($p > 0,05$, t-test za parne uzorke) te da su se vrijednosti disipacije topline (razlike temperature za taj dio izdahnutog volumena) statistički značajno razlikovale između pojedinih dijelova izdahnutog volumena ($p = 0,0011$, ANOVA za ponovljena mjerenja). Najveći doprinos toplini izdaha dao je drugi dio izdahnutog volumena (20 % izdahnutog volumena) koji pripada provodnim dišnim putovima ili funkcionalnom mrtvom prostoru (+2,558 °C), a zatim dio koji pripada prostoru izmjene plinova ili alveolarnom prostoru (+2,333 °C). Najmanji doprinos je iz prostora anatomskeg mrtvog prostora (+2,032 °C).

U Tablici 10. prikazane su vrijednosti uprosječenih temperatura frakcija izdahnutog zraka i Tmin te njihova usporedba između muškaraca i žena.

Tablica 10. Razlika između izmjerenih korigiranih uprosječenih temperatura izdaha (Tmax AS, T1 max AS, T2 max AS, T3 max AS) i uprosječene minimalne temperature (T min AS) između muškaraca i žena

Varijable	Muškarci			Žene			Razlika	95 % CI	P
	n	Srednja vrijednost	SD	N	Srednja vrijednost	SD			
TmaxAS	32	28,110	0,834	11	27,252	0,592	0,858	0,306 – 1,410	0,003
TminAS	32	21,215	0,933	11	20,306	0,698	0,909	0,289 – 1,530	0,005
T1maxAS	32	23,512	1,002	11	21,923	0,637	1,589	0,935 – 2,242	< 0,001
T2maxAS	32	26,138	1,113	11	24,139	0,678	1,999	1,277 – 2,722	< 0,001
T3maxAS	32	28,355	0,830	11	27,716	0,477	0,639	0,103 – 1,175	0,021

Legenda: SD – standardna devijacija, CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*), Tmin – minimalna uprosječena temperatura, T1max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, Tmax – maksimalna korigirana standardna temperatura, AS – uprosječeno.

Iz Tablice 10. vidi se da postoji statistički značajna razlika u korigiranim uprosječenim temperaturama frakcija izdahnutog zraka i u minimalnoj temperaturi između muškaraca i žena.

Tablica 11. prikazuje povezanost maksimalne standardizirane uprosječene temperature (T max AS) s drugim varijablama s kojima je u univarijatnom modelu utvrđena statistički značajna povezanost.

Tablica 11. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T max AS u univarijatnoj analizi

Varijabla	Korelacijski koeficijent	<i>p</i> vrijednost
BMR_1	0,413	0,002
BMR_2	0,389	0,003
Eritrociti_1	0,329	0,014
Eritrociti_2	0,335	0,012
Hemoglobin_1	0,393	0,003
Hemoglobin_2	0,394	0,003
Tjelesna masa	0,408	0,002
Tjelesna visina	0,426	0,001
FEV1 nakon BD-a	-0,296	0,028
FVC	0,406	0,002
FVC nakon BD-a	0,365	0,006
FVC % nakon BD-a	0,303	0,025
PEF nakon BD-a	0,299	0,027
Tiff	-0,386	0,004
Tiff nakon BD-a	-0,373	0,005
T sobna_1	0,372	0,005
T sobna_2	0,523	< 0,001
T1 max AS	0,748	< 0,001
T2 max AS	0,737	< 0,001
T3 max AS	0,967	< 0,001

Tablica 11. Nastavak

T min AS	0,571	< 0,001
Max V 1_1-1	0,554	< 0,001

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, BMR – bazalni metabolizam, FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, FVC – forsirani vitalni kapacitet, % – postotak od predviđene vrijednosti, PEF – vršni ekspiratorni protok, T – temperatura, Tiff – Tiffeneauov indeks, BD – bronhodilatator, T max – maksimalna korigirana standardizirana temperatura, T min – minimalna temperatura, T1 max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, AS – uprosječno, Max V1 – volumen prvog odjeljka.

U Tablici 11. vidljivo je da je T max AS snažno povezana s uprosječenim korigiranim maksimalnim temperaturama prve, druge i treće frakcije te umjereno povezana s minimalnom temperaturom. Također, slabo je povezana s bazalnim metabolizmom mjerenim prvi i drugi dan, vrijednostima eritrocita mjerenima prvi i drugi dan, vrijednostima hemoglobina prvi i drugi dan, spirometrijskim vrijednostima (FVC vrijednosti prije i nakon BD-a) te biološki neznačajno s PEF-om nakon BD-a.

Negativno je povezana s nekim spirometrijskim parametrima (forsiranim ekspiratornim volumenom u 1. sekundi nakon bronhodilatatora – FEV1 nakon BD-a (biološki neznačajno) te slabo negativno povezana s Tiffeneauovim indeksom prije i poslije bronhodilatatora (Tiff 1, Tiff 1 nakon BD-a).

Tablica 12. prikazuje povezanost maksimalne korigirane uprosječene temperature prve frakcije (T1 maxAS) s drugim varijablama s kojima je u univarijatnom modelu utvrđena statistički značajna povezanost.

Tablica 12. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T1 max AS u univarijatnoj analizi

Varijabla	Kor. koeficijent	<i>p</i> vrijednost
BMR_1	0,584	< 0,001
BMR_2	0,543	< 0,001
FEV1 nakon BD-a	-0,384	0,004
FEV1 % nakon BD-a	-0,552	< 0,001

Tablica 12. Nastavak

FVC % nakon BD-a	0,356	0,008
PEF % nakon BD-a	0,435	0,001
Tiff	-0,300	0,026
Tiff nakon BD-a	-0,350	0,009
T sobna_1	0,726	< 0,001
T sobna_2	0,800	< 0,001
T vanjska_1	0,308	0,025
Tlak sobni_1	0,496	< 0,001
Tlak sobni_2	0,506	< 0,001
Tlak vani_2	0,315	0,019
Vlažnost vani_1	-0,434	0,001
Vlažnost vani_2	-0,343	0,010
TčeloAS_1	-0,440	0,001
TčeloAS_2	-0,396	0,003
T2 max AS	0,93	< 0,001
T3 max AS	0,731	< 0,001
T max AS	0,748	< 0,001
T min AS	0,882	< 0,001

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja; BMR – bazalni metabolizam, FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, FVC – forsirani vitalni kapacitet, % – postotak od predviđene vrijednosti, PEF – vršni ekspiratorni protok, T – temperatura, Tiff – Tiffeneauov indeks, BD – bronhodilatator, T max – maksimalna korigirana standardizirana temperatura, T min – minimalna temperatura, T1 max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, AS – uprosječno.

U Tablici 12. vidi se da je T1 max AS (maksimalna korigirana uprosječena temperatura prve frakcije) snažno povezana s uprosječenim korigiranim maksimalnim temperaturama 2. i 3. frakcije, kao i s minimalnom temperaturom te maksimalnom prosječnom standardiziranom temperaturom. Zatim, umjereno je povezana s bazalnim metabolizmom mjerenim prvog i drugog dana, slabo je povezana sa spirometrijskim parametrima (forsiranim vitalnim kapacitetom – postotkom od prediktivne vrijednosti, FVC % nakon BD-a i vršnim ekspiratornim protokom, postotkom od prediktivne vrijednosti nakon bronhodilatatora, PEF % nakon BD-a). Snažno je povezana sa sobnom temperaturom mjerenom prvi i drugi dan, slabo je povezana s vanjskom temperaturom mjerenom prvi dan te sa sobnim tlakom mjerenim prvi

dan, a umjereno sa sobnim tlakom mjerenim drugi dan. Slabo je povezana s tlakom zraka mjerenim drugi dan vani.

Negativno je povezana sa spirometrijskim parametrima (forsiranim ekspiratornim volumenom u 1. sekundi nakon bronhodilatatora, FEV1 nakon BD-a (slaba povezanost) te umjereno negativno povezana s njegovim postotkom od normale, dok slabo korelira s Tiffeneauovim indeksom prije i nakon BD-a). Slabo je negativno povezana s prosječnom temperaturom mjerenom na čelu prvi i drugi dan i s vlagom u vanjskom zraku mjerenom prvog i drugog dana.

Tablica 13. prikazuje povezanost maksimalne korigirane uprosječene temperature druge frakcije (T2 max AS) s drugim varijablama s kojima je u univarijatnom modelu utvrđena statistički značajna povezanost.

Tablica 13. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T2 max AS u univarijatnoj analizi

Varijabla	Kor. koeficijent	<i>p</i> vrijednost
Dob	0,33	0,014
BMR_1	0,531	< 0,001
BMR_2	0,497	< 0,001
CRP_2	0,275	0,042
FEV1 nakon BD-a	-0,383	0,004
FEV1 % nakon BD-a	-0,555	< 0,001
FVC % nakon BD-a	0,406	0,002
PEF % nakon BD-a	0,462	< 0,001
Tiff	-0,373	0,005
Tiff nakon BD-a	-0,409	0,002
T sobna_1	0,640	< 0,001
T sobna_2	0,793	< 0,001
Tlak sobni_1	0,424	0,001
Tlak sobni_2	0,464	< 0,001

Tablica 13. Nastavak

Tlak vanjski_2	0,287	0,034
Vlažnost vanjska_1	-0,348	0,009
TčeloAS_1	-0,492	< 0,001
TčeloAS_2	-0,467	< 0,001
T1 maxAS	0,930	< 0,001
T3 max AS	0,705	< 0,001
T max AS	0,737	< 0,001
T min AS	0,797	< 0,001

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja; BMR – bazalni metabolizam, FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, FVC – forsirani vitalni kapacitet, % – postotak od predviđene vrijednosti, PEF – vršni ekspiratorni protok, T – temperatura, Tiff – Tiffeneauov indeks, BD – bronhodilatator, T max – maksimalna korigirana standardizirana temperatura, T min – minimalna temperatura, T1 max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, AS – uprosječno, CRP-C – reaktivni protein.

Iz Tablice 13. vidi se da je T2 max AS (maksimalna korigirana uprosječna temperatura 2. frakcije) snažno pozitivno povezana s maksimalnim uprosječenim korigiranim temperaturama 1. i 3. frakcije, minimalnom temperaturom i maksimalnom uprosječenom korigiranim standardnom temperaturom. Nadalje, umjereno je povezana s bazalnim metabolizmom izmjerenim prvog dana, a slabo je povezana s bazalnim metabolizmom izmjerenim drugog dana te spirometrijskim parametrima (FVC % nakon BD-a te PEF % nakon BD-a), starosnom dobi, sobnim tlakom prvog i drugog dana te biološki neznačajno s vanjskim tlakom zraka izmjerenim drugog dana te CRP-om mjerenim drugi dan. Zatim, umjereno pozitivno povezana je sa sobnom temperaturom mjerenom prvog dana, a snažno je povezana s tom istom temperaturom izmjerenom drugog dana.

Negativno je povezana sa spirometrijskim parametrima (FEV1 % nakon BD-a (umjereno), FEV1 nakon BD1 (slabo), Tiffeneauovim indeksom prije i poslije bronhodilatatora (umjereno)), slabo negativno povezana s vlažnosti zraka mjerenom vani prvoga dana te prosječnom temperaturom mjerenom na čelu prvog i drugog dana.

Tablica 14. prikazuje povezanost maksimalne korigirane uprosječne temperature treće frakcije (T3 max AS) s drugim varijablama s kojima je u univarijatnom modelu utvrđena statistički značajna povezanost.

Tablica 14. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T3 max AS u univarijatnoj analizi

Varijabla	Korelacijski koeficijent	<i>p</i> vrijednost
BMR_1	0,380	0,004
BMR_2	0,380	0,004
Eritrociti_1	0,318	0,018
Eritrociti_2	0,338	0,012
Hemoglobin_1	0,364	0,006
Hemoglobin_2	0,375	0,005
Tjelesna masa	0,396	0,003
Tjelesna visina	0,406	0,002
FEV1 nakon BD-a	-0,321	0,017
FVC	0,388	0,003
FVC nakon BD-a	0,347	0,010
Tiff	-0,338	0,012
Tiff nakon BD-a	-0,345	0,010
T sobna_1	0,324	0,016
T sobna_2	0,479	< 0,001
T1 max AS	0,731	< 0,001
T2 max AS	0,705	< 0,001
T max AS	0,967	< 0,001
T min AS	0,534	< 0,001
Max V 1_1-1	0,464	< 0,001

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi, a 2 drugi dan mjerenja, BMR – bazalni metabolizam, FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, FVC – forsirani vitalni kapacitet, % – postotak od predviđene vrijednosti, PEF – vršni ekspiratorni protok, T – temperatura, Tiff – Tiffeneauov indeks, BD – bronhodilatator, T max – maksimalna korigirana standardizirana temperatura, T min – minimalna temperatura, T1 max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, AS – uprosječno, Max V1 – volumen prvog odjeljka.

Iz Tablice 14. vidljivo je da je T3 max AS (maksimalna korigirana uprosječena temperatura treće frakcije) snažno pozitivno povezana s uprosječenim korigiranim temperaturama ostalih frakcija, kao i s maksimalnom standardiziranom korigiranom temperaturom, dok je umjereno povezana s minimalnom temperaturom. Slabo je pozitivno povezana i s tjelesnom masom i visinom, bazalnim metabolizmom mjerenim prvi i drugi dan, koncentracijom eritrocita prvi i drugi dan te nekim spirometrijskim parametrima (forsiranim ekspiratornim volumenom FVC-om te FVC-om nakon BD-a), hemoglobinom mjerenim prvi i drugi dan te sobnom temperaturom mjerenom prvi i drugi dan.

Slabo je negativno povezana s Tiffeneauovim indeksom prije i nakon BD-a i forsiranim ekspiratornim volumenom u 1. sekundi nakon bronhodilatatora (FEV1 nakon BD-a).

Vezano za povezanosti temperatura frakcija izdahnutog zraka s temperaturama mjerenima na drugim standardnim točkama na tijelu, može se utvrditi da maksimalna prosječna standardizirana temperatura, kao ni maksimalna prosječna temperatura treće frakcije, nije značajno povezana ni s jednom od temperatura mjerenih na standardnim mjestima na tijelu, a maksimalna prosječna temperatura prve frakcije, kao i ona druge frakcije, slabo je negativno povezana s temperaturama na čelu mjerenima prvi i drugi dan.

Nije utvrđena statistički značajna povezanost pojedinih frakcija fEBT-a sa srednjom uravnoteženom temperaturom izdaha mjerenom X-halo uređajem.

U prilogu rada dana je cijela tablica analize univarijatne povezanosti pojedinačnih varijabli.

U Tablici 15. prikazana je povezanost maksimalne temperature prve frakcije (T1 max AS_1) prvog dana mjerenja s varijablama mjerenima prvoga dana.

Tablica 15. Povezanost maksimalne temperature prve frakcije (T1 max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvoga dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP 1	0,119	1	0,119	0,216	0,645
BMR	< 0,001	1	< 0,001	0,001	0,971
Dob	2,318	1	2,318	4,213	0,048
T_sobna_1	11,756	1	11,756	21,369	< 0,001
Vlažnost sobna_1	1,475	1	1,475	2,680	0,111

Tablica 15. Nastavak

Vlažnost vanjska_1	0,020	1	0,020	0,036	0,851
Vanjska temperatura_1	0,365	1	0,365	0,663	0,422
Tjelesna masa	0,189	1	0,189	0,343	0,562
Tjelesna visina	0,674	1	0,674	1,224	0,277
FeNO 1	0,062	1	0,062	0,113	0,739
FEV1 % nakon BD-a	0,532	1	0,532	0,967	0,333
FEV1	0,425	1	0,425	0,773	0,386
FVC % nakon BD-a	2,045	1	2,045	3,716	0,063
FEV1 nakon BD-a	0,089	1	0,089	0,162	0,690
FVC	0,054	1	0,054	0,098	0,756
Boravište od prometnice	1,426	1	1,426	2,591	0,117
Spol	2,118	2	1,059	1,925	0,162
Boravište od prometnice i spol	0,491	2	0,246	0,446	0,644

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 15. vidljivo je da je multivarijatnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost maksimalne temperature prve frakcije s dobi i sa sobnom temperaturom prvog dana mjerenja.

U Tablici 16. prikazana je povezanost maksimalne temperature prve frakcije (T1 max AS_2) drugog dana mjerenja s varijablama mjerenima drugog dana.

Tablica 16. Povezanost maksimalne temperature prve frakcije (T1 max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugoga dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP_2	0,021	1	0,021	0,059	0,810
BMR_2	0,088	1	0,088	0,251	0,620
Dob	0,075	1	0,075	0,215	0,646
T_sobna_2	10,348	1	10,348	29,560	< 0,001
Vlažnost sobna_2	0,721	1	0,721	2,061	0,161
Vlažnost vanjska_2	0,052	1	0,052	0,149	0,702
Tjelesna masa	0,010	1	0,010	0,030	0,864
Tjelesna visina	0,148	1	0,148	0,422	0,521
T_vanjska_2	0,621	1	0,621	1,774	0,192
FeNO_2	0,508	1	0,508	1,452	0,237
FEV1 % nakon BD-a	0,076	1	0,076	0,217	0,644
FEV1	0,043	1	0,043	0,122	0,729
FVC % nakon BD-a	0,018	1	0,018	0,050	0,824
FVC	0,023	1	0,023	0,067	0,798
FEV1 nakon BD-a	0,656	1	0,656	1,873	0,180
Minimalna dnevna tjelesna aktivnost	0,170	1	0,170	0,486	0,491
Boravište od prometnice	0,133	1	0,133	0,381	0,541
Spol	1,034	2	0,517	1,476	0,243
Boravište od prometnice*spol	0,176	2	0,088	0,252	0,779

Legenda: oznaka 2 uz ime varijable označava drugi dan mjerenja, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 16. vidljivo je da je multivarijatnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost maksimalne temperature prve frakcije sa sobnom temperaturom mjerenom drugog dana.

U Tablici 17. prikazana je povezanost maksimalne temperature druge frakcije (T2 max AS_1) prvog dana mjerenja s varijablama mjerenima prvoga dana.

Tablica 17. Povezanost maksimalne temperature druge frakcije (T2 max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvoga dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP_1	0,081	1	0,081	0,174	0,680
BMR_1	0,006	1	< 0,001	0,013	0,911
Dob	0,010	1	0,010	0,214	0,647
T_sobna1	9,647	1	9,647	20,697	< 0,001
Vlažnost sobna_2	0,854	1	0,854	1,832	0,185
Vlažnost vanjska_2	0,031	1	0,031	0,065	0,800
Tjelesna masa	0,102	1	0,102	0,219	0,643
Tjelesna visina	< 0,001	1	< 0,001	< 0,001	0,990
T_vanjska_1	0,006	1	0,006	0,013	0,911
FeNO_1	0,082	1	0,082	0,176	0,677
FEV1 % nakon BD-a	0,623	1	0,623	1,336	0,256
FEV1	0,117	1	0,117	0,250	0,620
FVC % nakon BD-a	0,249	1	0,249	0,533	0,470
FVC	0,006	1	0,006	0,013	0,910
FEV1 nakon BD-a	1,274	1	1,274	2,733	0,108
Minimalna dnevna tjelesna aktivnost	0,064	1	0,064	0,136	0,714
Boravište od prometnice	0,901	1	0,901	1,933	0,174
Spol	1,961	2	0,980	2,104	0,138
Boravište od prometnice*spol	0,019	2	0,010	0,020	0,980

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 17. vidljivo je da je multivarijatnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost maksimalne temperature druge frakcije sa sobnom temperaturom mjerenom prvog dana.

U Tablici 18. prikazana je povezanost maksimalne temperature druge frakcije (T2 max AS_2) drugog dana mjerenja s varijablama mjerenima drugog dana.

Tablica 18. Povezanost maksimalne temperature druge frakcije (T2 max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugog dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP_2	0,244	1	0,244	0,326	0,572
BMR2	0,024	1	0,024	0,031	0,860
Dob	0,690	1	0,690	0,922	0,344
T_sobna_2	8,075	1	8,075	10,793	0,002
Vlažnost sobna_2	0,854	1	0,854	1,832	0,185
Vlažnost vanjska_2	0,031	1	0,031	0,0653	0,800
Tjelesna masa	0,102	1	0,102	0,219	0,643
Tjelesna visina	< 0,001	1	< 0,001	< 0,001	0,990
T_vanjska_1	0,006	1	0,006	0,013	0,911
FeNO_1	0,082	1	0,082	0,176	0,677
FEV1 % nakon BD-a	0,623	1	0,623	1,336	0,256
FEV1	0,117	1	0,117	0,250	0,620
FVC % nakon BD-a	0,249	1	0,249	0,533	0,470
FVC	0,006	1	0,006	0,013	0,910
FEV1 nakon BD-a	1,274	1	1,274	2,733	0,108
Minimalna dnevna tjelesna aktivnost	0,064	1	0,064	0,136	0,714
Boravište od prometnice	0,901	1	0,901	1,933	0,174
Spol	1,961	2	0,980	2,104	0,138
Boravište od prometnice*spol	0,019	2	0,010	0,020	0,980

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, a 2 drugi dan, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 18. vidljivo je da je multivarijantnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost maksimalne temperature druge frakcije sa sobnom temperaturom u drugom danu mjerenja.

U Tablici 19. prikazana je povezanost maksimalne temperature treće frakcije (T3 max AS_1) prvog dana mjerenja s varijablama mjerenima prvoga dana.

Tablica 19. Povezanost maksimalne temperature treće frakcije (T3 max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvoga dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP_1	0,257	1	0,257	0,479	0,494
BMR_1	0,049	1	0,049	0,091	0,765
Dob	1,154	1	1,154	2,153	0,152
T_sobna_1	6,635	1	6,635	12,38	0,001
Vlažnost sobna_1	1,352	1	1,352	2,523	0,122
Vlažnost vanjska_1	0,500	1	0,500	0,934	0,341
T_vanjska_1	0,216	1	0,216	0,403	0,530
Tjelesna masa	1,306	1	1,306	2,437	0,128
Tjelesna visina	0,735	1	0,735	1,371	0,250
FeNO_1	0,240	1	0,240	0,447	0,508
FEV1 % nakon BD-a	0,055	1	0,055	0,102	0,751
FEV1	0,148	1	0,148	0,275	0,603
FVC % nakon BD-a	1,123	1	1,123	2,095	0,158
FEV1 nakon BD-a	0,076	1	0,076	0,142	0,709
FVC	0,187	1	0,187	0,349	0,559
Boravište od prometnice	0,785	1	0,785	1,464	0,235
Spol	0,969	2	0,485	0,904	0,415
Boravište od prometnice* spol	0,465	2	0,232	0,434	0,652

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 19. vidljivo je da je multivarijatom analizom utvrđena statistički značajna povezanost maksimalne temperature treće frakcije sa sobnom temperaturom mjerenom u prvom danu.

U Tablici 20. prikazana je povezanost maksimalne temperature treće frakcije (T3 max AS_2) drugog dana mjerenja s varijablama mjerjenima drugog dana.

Tablica 20. Povezanost maksimalne temperature treće frakcije (T3 max AS_2) drugog dana s varijablama mjerjenima drugog dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	<i>p</i> vrijednost
CRP_2	0,021	1	0,021	0,042	0,839
BMR_2	0,049	1	0,049	0,099	0,755
Dob	0,151	1	0,151	0,303	0,586
T_sobna_2	4,404	1	4,404	8,851	0,005
Vlažnost sobna_2	1,045	1	1,045	2,100	0,157
Vlažnost vanjska_2	0,042	1	0,042	0,085	0,773
Tjelesna masa	0,144	1	0,144	0,288	0,595
Tjelesna visina	0,004	1	0,004	0,009	0,926
T_vanjska_2	0,285	1	0,285	0,572	0,455
FeNO_2	0,003	1	0,003	0,006	0,938
FEV1 % nakon BD-a	0,144	1	0,144	0,289	0,595
FEV1	0,979	1	0,979	1,968	0,170
FVC % nakon BD-a	< 0,001	1	< 0,001	< 0,001	0,974
FVC	0,242	1	0,242	0,487	0,490
FEV1 nakon BD-a	0,769	1	0,769	1,546	0,223
Minimalna dnevna tjelesna aktivnost	0,179	1	0,179	0,360	0,553
Boravište od prometnice	0,355	1	0,355	0,714	0,404
Spol	0,187	2	0,094	0,188	0,830
Boravište od prometnice*spol	0,584	2	0,292	0,587	0,562

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, a 2 drugi dan, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 20. vidljivo je da je multivarijantnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost maksimalne temperature treće frakcije sa sobnom temperaturom mjerenom drugog dana.

U Tablici 21. prikazana je povezanost maksimalne standardizirane temperature (T max AS_1) prvog dana mjerenja s varijablama mjerenima prvoga dana.

Tablica 21. Povezanost maksimalne standardizirane temperature (T max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvog dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP_1	0,123	1	0,123	0,244	0,625
BMR_1	0,126	1	0,126	0,25	0,620
Dob	0,569	1	0,569	1,126	0,297
T_sobna_1	7,809	1	7,809	15,45	< 0,001
Vlažnost sobna_1	0,208	1	0,208	0,412	0,526
Vlažnost vanjska_1	0,932	1	0,932	1,845	0,184
T_vanjska_1	0,140	1	0,140	0,277	0,602
Tjelesna masa	0,969	1	0,969	1,917	0,176
Tjelesna visina	0,530	1	0,530	1,049	0,313
FeNO_1	0,466	1	0,466	0,922	0,344
FEV1 % nakon BD-a	0,323	1	0,323	0,639	0,430
FEV1	0,110	1	0,110	0,217	0,644
FVC % nakon BD-a	1,787	1	1,787	3,536	0,069
FEV1 nakon BD-a	0,036	1	0,036	0,071	0,792
FVC	0,075	1	0,075	0,149	0,702
Boravište od prometnice	0,675	1	0,675	1,335	0,256
Spol	1,539	2	0,769	1,522	0,234
Boravište od prometnice* spol	0,113	2	0,057	0,112	0,894

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi,

postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 21. vidljivo je da je multivarijatom analizom utvrđena statistički značajna povezanost standardizirane maksimalne temperature sa sobnom temperaturom prvog dana.

U Tablici 22. prikazana je povezanost maksimalne standardizirane temperature (T max AS_2) drugog dana mjerenja s varijablama mjerenima drugog dana.

Tablica 22. Povezanost maksimalne standardizirane temperature (T max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugog dana (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	DF	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
CRP_2	0,004	1	0,004	0,007	0,932
BMR_2	0,014	1	0,014	0,026	0,874
Dob	0,422	1	0,422	0,796	0,379
T_sobna_2	4,892	1	4,892	9,224	0,005
Vlažnost sobna_2	0,643	1	0,643	1,213	0,279
Vlažnost vanjska_2	0,153	1	0,153	0,289	0,595
Tjelesna masa	0,175	1	0,175	0,329	0,570
Tjelesna visina	0,009	1	0,009	0,017	0,898
T_vanjska_2	0,204	1	0,204	0,384	0,540
FeNO_2	0,073	1	0,073	0,138	0,713
FEV1 % nakon BD-a	0,433	1	0,433	0,816	0,373
FEV1	0,517	1	0,517	0,975	0,331
FVC % nakon BD-a	0,050	1	0,050	0,094	0,761
FVC_1	0,021	1	0,021	0,040	0,843
FEV1 nakon BD-a	0,629	1	0,629	1,185	0,284
Minimalna dnevna tjelesna aktivnost	0,502	1	0,502	0,947	0,338
Boravište od prometnice	0,112	1	0,112	0,212	0,649
Spol	0,291	2	0,146	0,275	0,762
Boravište od prometnice*spol	0,213	2	0,106	0,201	0,819

Legenda: CRP-C – reaktivni protein, BMR – bazalni metabolizam, T – temperatura, BMR – bazalni metabolizam, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, postotak od prediktivne vrijednosti, BD – bronhodilatator, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od prediktivne vrijednosti, DF – stupnjevi slobode, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 22. vidljivo je da je multivarijatnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost standardizirane maksimalne temperature sa sobnom temperaturom mjerenom drugog dana.

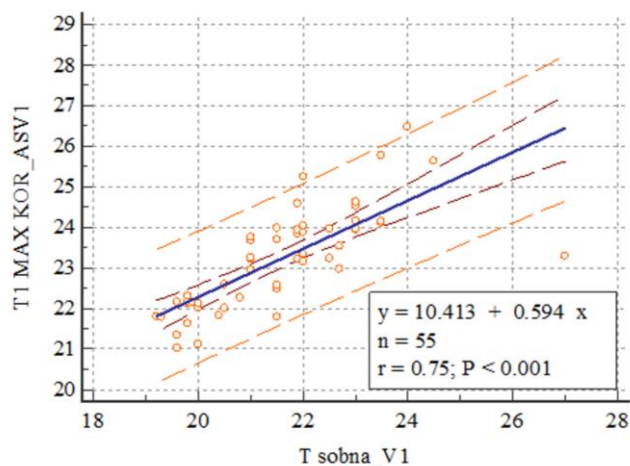
U Tablici 23. prikazane su predviđene temperature izdaha pri sobnoj temperaturi od 22 °C s 95 % intervalima pouzdanosti (CI) za svaku od frakcija temperature izdaha te za maksimalnu prosječnu korigiranu standardnu temperaturu izdaha.

Tablica 23. Predviđene temperature izdaha pri 22 °C te 95 % intervalima pouzdanosti (CI) za svaku od frakcija temperatura izdaha te za standardnu temperaturu

Varijabla	-95 % CI	+95 % CI	Srednja temperatura	Koeficijent korelacije	<i>p</i> vrijednost
T1 max AS	20,331	26,614	23,481	0,753	< 0,001
T2 max AS	22,090	30,138	26,114	0,683	< 0,001
T3 max AS	24,896	31,538	28,216	0,399	< 0,001
T max AS	24,589	31,365	27,997	0,457	< 0,001

Legenda: CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*), T1 max – maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, T2 max – maksimalna korigirana temperatura druge frakcije, T3 max – maksimalna korigirana temperatura treće frakcije, T max – maksimalna prosječna korigirana standardna temperatura, AS – uprosječena.

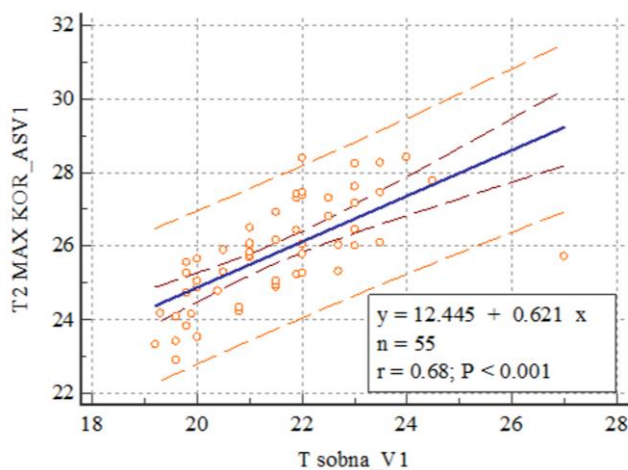
Na Slici 11. prikazan je regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu prve frakcije.



Legenda: T1 MAX KOR_ASV1 – maksimalna uprosječna korigirana temperatura prve frakcije.

Slika 11. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu prve frakcije (T1MAX KOR_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti

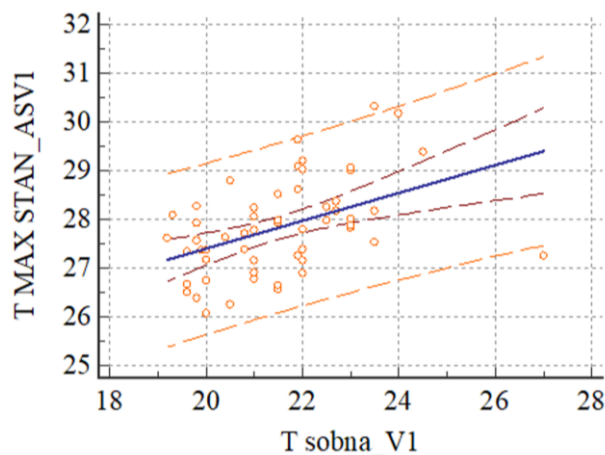
Na Slici 12. prikazan je regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu druge frakcije.



Legenda: T2 MAX KOR_ASV1 – maksimalna uprosječna korigirana temperatura druge frakcije.

Slika 12. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu druge frakcije (T2MAX KOR_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti

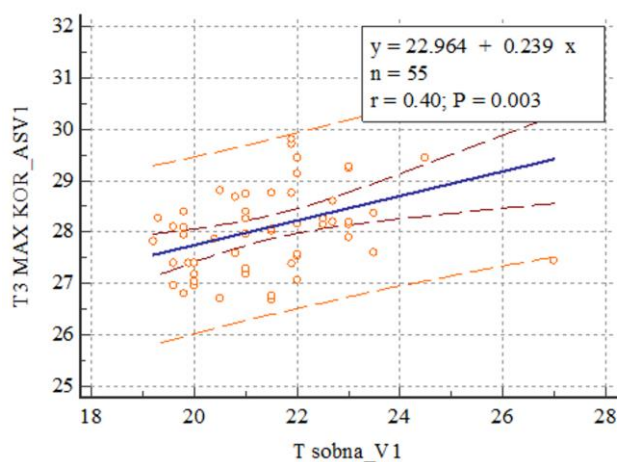
Na Slici 13. prikazan je regresijski pravac za maksimalnu prosječnu standardiziranu temperaturu.



Legenda: T MAX STAN_ASV1 — maksimalna uprosječna standardizirana korigirana temperatura.

Slika 13. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu standardiziranu temperaturu (T MAX STAN_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti

Na Slici 14. prikazan je regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu treće frakcije.



Legenda: T3 MAX KOR_ASV1 — maksimalna uprosječna korigirana temperatura treće frakcije.

Slika 14. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu treće frakcije (T3MAX KOR_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti

U Tablici 24. prikazana je povezanost disipacije topline prve frakcije izdahnutog zraka s nezavisnim varijablama.

Tablica 24. Povezanost disipacije topline 1. frakcije s nezavisnim varijablama (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	Srednja vrijednost	F	p vrijednost
BMR	0,131	0,131	1,132	0,297
CRP_1	0,557	0,557	4,822	0,037
Dob	0,00737	0,00737	0,0639	0,802
Eritrociti_1	0,00463	0,00463	0,0401	0,843
FeNO_1	0,0000679	0,0000679	0,000588	0,981
FEV1 % 1 nakon BD-a	0,0400	0,0400	0,347	0,561
FEV1	0,0448	0,0448	0,388	0,538
FEV1 nakon BD-a	0,116	0,116	1,001	0,326
FVC % nakon BD-a	0,00446	0,00446	0,0387	0,846
FVC	0,0270	0,0270	0,234	0,633
MEF 25 %	0,0127	0,0127	0,110	0,743
MEF 50 %	0,0576	0,0576	0,499	0,486
Pušač	0,136	0,136	1,178	0,287
T_sobna_1	0,0962	0,0962	0,833	0,369
T_vanjska_1	0,0101	0,0101	0,0874	0,770
Tjelesna masa	0,261	0,261	2,264	0,144
Tjelesna visina	0,0431	0,0431	0,374	0,546
Vlažnost sobna_1	0,398	0,398	3,447	0,074
Vrijeme od obroka (h)	0,0125	0,0125	0,108	0,745
Boravište od prometnice	0,0413	0,0413	0,358	0,554
Spol	0,276	0,138	1,195	0,318
Boravište od prometnice i spol	0,107	0,0534	0,463	0,634

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, BMR – bazalni metabolizam, CRP-C – reaktivni protein, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % BD – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi nakon bronhodilatatora, postotak od predviđenog, FVC % – forsirani vitalni kapacitet, postotak od predviđenog, MEF 25% – maksimalni ekspiratorni *flow* na 25 % forsiranoga vitalnoga kapaciteta, MEF 50 % – maksimalni ekspiratorni *flow* na 50 % forsiranoga vitalnoga kapaciteta, T – temperatura, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 24. vidljivo je da je multivarijantnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost disipacije topline prve frakcije izdahnutog zraka samo s razinom CRP-a prvog dana mjerenja ($p = 0,037$; ANCOVA).

U Tablici 25. prikazana je povezanost disipacije topline druge frakcije izdahnutog zraka s nezavisnim varijablama.

Tablica 25. Povezanost disipacije topline 2. frakcije s nezavisnim varijablama (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	Srednja vrijednost	F	<i>p</i> vrijednost
BMR	0,271	0,271	1,494	0,232
CRP_1	0,00826	0,00826	0,0455	0,833
Dob	0,597	0,597	3,288	0,081
Eritrociti_1	0,136	0,136	0,752	0,393
FeNO	0,00233	0,00233	0,0128	0,911
FEV1 % nakon BD-a	0,00800	0,00800	0,0441	0,835
FEV1	0,0456	0,0456	0,251	0,620
FEV1 nakon BD-a	0,130	0,130	0,719	0,404
FVC % nakon BD-a	0,00942	0,00942	0,0519	0,821
FVC	0,0000687	0,0000687	0,000379	0,985
MEF 25 %	0,0184	0,0184	0,102	0,752
MEF 50 %	0,00946	0,00946	0,0521	0,821
Pušač	0,0399	0,0399	0,220	0,643
T_sobna_1	0,146	0,146	0,804	0,377
T_vanjska_1	0,00155	0,00155	0,00853	0,927
Tjelesna masa	0,000936	0,000936	0,00516	0,943
Tjelesna visina	0,275	0,275	1,514	0,229
Vlažnost sobna_1	0,0322	0,0322	0,177	0,677
Vrijeme od obroka (h)	0,0484	0,0484	0,267	0,609
Boravište od prometnice	0,0561	0,0561	0,309	0,583

Tablica 25. Nastavak

Spol	0,401	0,201	1,105	0,345
Boravište od prometnice i spol	0,0880	0,0440	0,243	0,786

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, BMR – bazalni metabolizam, CRP-C – reaktivni protein, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % BD – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi nakon bronhodilatatora, postotak od prediktivne vrijednosti, MEF 25 % – maksimalni ekspiratorni *flow* na 25 % forsiranoga vitalnoga kapaciteta, MEF 50 % – maksimalni ekspiratorni *flow* na 50 % forsiranoga vitalnoga kapaciteta, T – temperatura, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 25. vidljivo je da multivarijatnom analizom nije utvrđena statistički značajna povezanost disipacije topline druge frakcije s nezavisnim varijablama.

U Tablici 26. prikazana je povezanost disipacije topline treće frakcije izdahnutog zraka s nezavisnim varijablama.

Tablica 26. Povezanost disipacije topline 3. frakcije s nezavisnim varijablama (N = 53, ANCOVA)

Varijabla	Suma kvadrata	Srednja vrijednost	F	<i>p</i> vrijednost
BMR	0,329	0,329	1,477	0,234
CRP_1	0,256	0,256	1,147	0,293
Dob	0,0621	0,0621	0,278	0,602
Eritrociti_1	0,247	0,247	1,106	0,302
FeNO_1	0,175	0,175	0,785	0,383
FEV1 % nakon BD-a	1,742	1,742	7,81	0,009
FEV1	0,00736	0,00736	0,033	0,857
FEV1 nakon BD-a	0,00679	0,00679	0,0305	0,863
FVC % nakon BD-a	0,182	0,182	0,817	0,374
FVC	0,00983	0,00983	0,0441	0,835
MEF 25 %	0,0267	0,0267	0,12	0,732
MEF 50 %	0,193	0,193	0,866	0,360
Pušač	0,0531	0,0531	0,238	0,629
T_sobna_1	0,169	0,169	0,759	0,391
T_vanjska_1	0,124	0,124	0,557	0,462

Tablica 26. Nastavak

Tjelesna masa	0,225	0,225	1,009	0,324
Tjelesna visina	0,105	0,105	0,47	0,498
Vlažnost sobna_1	0,0122	0,0122	0,0549	0,816
Vrijeme od obroka (h)	0,000122	0,000122	0,000547	0,981
Boravište od prometnice	0,337	0,337	1,512	0,229
Spol	1,04	0,52	2,332	0,116
Boravište od prometnice i spol	0,0614	0,0307	0,138	0,872

Legenda: oznaka 1 uz ime varijable označava prvi dan mjerenja, BMR – bazalni metabolizam, CRP-C – reaktivni protein, FeNO – frakcija ekshaliranog dušikova oksida, FEV1 % BD – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi nakon bronhodilatatora, postotak od prediktivne vrijednosti, MEF 25 % – maksimalni ekspiratorni *flow* na 25 % forsiranoga vitalnoga kapaciteta, MEF 50 % – maksimalni ekspiratorni *flow* na 50 % forsiranoga vitalnoga kapaciteta, T – temperatura, F – vrijednost testa.

Iz Tablice 26. vidljivo je da je multivarijatnom analizom utvrđena statistički značajna povezanost disipacije topline treće frakcije izdahnutog zraka s FEV1 (%) nakon primjene bronhodilatatora.

5. RASPRAVA

Prepoznavanje velikog ekonomskog tereta koji kronične respiratorne bolesti predstavljaju za društvo motivacija je za istraživanje metoda za procjenu upalnih bolesti dišnog sustava. Ipak, nijedna dijagnostička metoda koja je istovremeno jednostavna, jeftina i prilagođena pacijentima nije pronašla mjesto u rutinskoj kliničkoj praksi. Mjerenje temperature izdahnutog zraka (EBT) predloženo je kao neinvazivna metoda za otkrivanje upalnih procesa u dišnim putovima koji su rezultat povećanog ili smanjenog protoka krvi kroz njih (6).

S obzirom na to da se vrijednosti temperature izdahnutog zraka u ljudi kreću unutar uskog raspona, termometri dizajnirani u tu svrhu moraju biti točni i vrlo osjetljivi. Osnova za utvrđivanje svih ostalih obilježja metode za mjerenje EBT-a bila bi mjerenje EBT-a u zdravih ljudi ili u fazi mirovanja bolesti, uspostava svojstvenih referentnih vrijednosti i utvrđivanje čimbenika (kako vanjskih, tako i onih od strane samih ispitanika) koji imaju utjecaj na te referentne vrijednosti. Također, potrebno je utvrditi raspon vrijednosti, osjetljivost, specifičnost, zatim točnost i preciznost metode. Da bi se metoda koristila za procjenu akutnih promjena, kao što su akutne egzacerbacije, upale pluća, napredovanje upale ili neoangiogeneze, kao i za kronično praćenje procesa destrukcije plućnog parenhima, i kako bi uočene promjene rezultirale pravodobnom i adekvatnom intervencijom (terapijom), potrebno je utvrditi i osjetljivost metode na klinički relevantne promjene.

Dugi niz godina temperatura izdaha mjerila se prvo metodom jednog udaha uz izdisaj na temperaturni senzor (7, 8), a kasnije i metodom mjerenja kumulativne temperature izdaha X-halo uređajem (6). Referentne vrijednosti utvrđene su samo za metodu koja mjeri kumulativni EBT X-halo uređajem, za razliku od ranije korištenih metoda mjerenja EBT-a koje su tako ostale nevalidirane (80). Kumulativni EBT predstavlja vrijednost koja odražava karakteristiku dišnih putova (sučelja) između temperature jezgre i okoliša, ali ne može razlikovati mjesto u dišnom sustavu na kojem se odvija patofiziološki proces (6). Kako bi se tome doskočilo, razvijena je metoda frakcioniranog mjerenja temperature izdahnutog zraka (fEBT), koja može ukazati na mjesto patofiziološkog procesa jer mjeri temperature iz različitih dijelova dišnog sustava (107, 108). Za tu novu metodu fEBT bilo je potrebno utvrditi referentne vrijednosti – što je bio cilj ovog rada. Također, bilo je potrebno utvrditi koja obilježja okoliša i osobine ispitanika utječu na referentne vrijednosti kako bi se metoda mogla koristiti i u kliničke svrhe. Pored toga, trebalo bi utvrditi i druga obilježja fEBT metode u različitim skupinama ispitanika, u eksperimentalnim uvjetima te u intervencijskim studijama.

U ovom radu u kojem je istraživana fEBT i obilježja koja na fEBT utječu, utvrdila sam referentne vrijednosti za svaku od triju frakcija izdahnutoga zraka, kao i za standardiziranu maksimalnu temperaturu (tj. temperaturu treće frakcije standardiziranu na najmanji volumen izdisaja ispitanika). Referentne vrijednosti ovise primarno o temperaturi okoliša u kojem se mjere te su izračunate za standardnu temperaturu okoliša od 22 °C. Za temperaturu prve frakcije iznose od 20,331 do 26,614 °C (srednja vrijednost 23,481 ± 3,150 °C), a uz promjenu ambijentalne temperature za 1 °C referentna se vrijednost mijenja za ± 0,594 °C (95 % CI, 0,451 – 0,736 °C). Referentne vrijednosti za temperaturu druge frakcije su od 22,090 do 30,138 °C (srednja vrijednost 26,114 ± 4,024 °C), a uz promjenu ambijentalne temperature za ± 1 °C dolazi do promjene u referentnim vrijednostima za ± 0,621 °C (95 % CI, 0,438 – 0,804 °C). Referentne vrijednosti za temperaturu treće frakcije su od 24,896 do 31,538 °C (srednja vrijednost 28,216 ± 3,321 °C), a kod promjene ambijentalne temperature za ± 1 °C dolazi do promjene u referentnim vrijednostima za ± 0,239 °C (95 % CI, 0,088 – 0,390 °C). Referentne vrijednosti za standardiziranu maksimalnu temperaturu su od 24,589 do 31,365 °C (srednja vrijednost 27,977 ± 3,388 °C) pri ambijentalnoj temperaturi od 22 °C, a kod promjene ambijentalne temperature za ± 1 °C referentne se vrijednosti mijenjaju za ± 0,287 °C (95 % CI, 0,133 – 0,441 °C). Ovime je potvrđena osnovna hipoteza istraživanja da je temperatura izdaha frakcije iz centralnog dišnog sustava niža i varijabilnija u odnosu na temperaturu izdaha frakcije iz perifernih dišnih putova.

Ranije su za metodu mjerenja kumulativnog EBT Carpagnano i sur. (80) utvrdili referentne vrijednosti u velikoj populaciji zdravih odraslih bijelaca, nepušača (n = 298) u različitim okolišnim uvjetima (raspon temperature okoliša 0 – 38 °C). Referentne vrijednosti za EBT su 30,459 ± 2,955 °C uz vanjsku temperaturu kao glavni čimbenik koji na njih utječe (porast temperature pri kojoj se mjeri za 1 °C znači porast EBT-a za 0,19 °C). Dakle, vidljivo je da je kumulativna temperatura izdaha viša i od temperature treće frakcije izdahnutog zraka (koja od svih frakcija mjeri najviše vrijednosti u ovom istraživanju, a njezin je raspon ± 3,321 °C te da je promjena pri promjeni temperature zraka za 1 °C (± 0,239 °C (95 % CI, 0,088 – 0,390 °C)) usporediva s Carpagnanovim istraživanjem.

Utvrđeno je da je kod žena EBT približno 1 °C niži nego kod muškaraca, vjerojatno pod utjecajem ženskih spolnih hormona (estradiol i progesteron) koji imaju protuupalne učinke te mogu posljedično utjecati na bazalni metabolizam i na EBT (80). U ovom istraživanju nisam utvrdila utjecaj spola na fEBT, ali utvrdila sam povezanost temperatura frakcija izdahnutog zraka s razinom bazalnog metabolizma, no samo u univarijantnoj analizi.

Temperature periferne frakcije konzistentno su bile više od temperatura iz centralne frakcije. S obzirom na to da su pluća i periferni dišni putovi unutar prsnog koša, bilo bi logično zaključiti da se njihova temperatura stalno održava blizu temperature jezgre. Međutim, dišni putovi također su kontinuirano izloženi ambijentalnom zraku koji može sniziti temperaturu mukoze dišnih putova, a time i EBT. Linearna brzina udahnutog zraka progresivno pada idući prema periferiji dišnih putova jer se bronhi sve više granaju i njihov se lumen smanjuje. Na taj se način, idući prema periferiji, efekt hlađenja udahnutog zraka na mukozu dišnog trakta smanjuje. Navedeno je utvrđeno i u istraživanju Khosravi i sur. (78).

Također, promatrala sam povezanost temperatura frakcija izdahnutog zraka s temperaturama mjerenima na drugim standardnim točkama na tijelu. Zaključak je da maksimalna prosječna standardizirana temperatura i maksimalna prosječna temperatura treće frakcije (alveolarni prostor) nisu povezane ni s jednom od temperatura mjerenima na standardnim mjestima na tijelu. Maksimalna prosječna temperatura prve frakcije (T1 max AS), kao i ona druge frakcije (T2 max AS), je slabo negativno povezana s temperaturama na čelu mjerenima prvi i drugi dan u univarijantnoj analizi, što nije potvrđeno multivarijantnom analizom (za T1 max AS i za prosječnu temperaturu mjerenu na čelu prvi ($r = -0,44$, $p < 0,001$) i drugi dan ($r = -0,396$, $p = 0,003$), a za T2 max AS i za prosječnu temperaturu mjerenu na čelu prvi ($r = -0,492$, $p < 0,001$) i drugi dan ($r = -0,467$, $p < 0,001$)). Nijedna od temperatura mjerenih frakcija nije povezana s aksilarnom temperaturom, kao ni s temperaturama mjerenima u uhu, što bi za metodu fEBT značilo da frakcije izmjerene temperature odražavaju temperaturu iz dijelova pluća iz kojih frakcije potječu te da su dišni putovi u ovom slučaju sučelje između okoliša i temperature jezgre te da na fEBT to sučelje (dišni putovi i pluća) značajno utječe. Time je ispunjen prvi primarni cilj istraživanja da se utvrde povezanosti temperature različitih frakcija izdahnutog zraka s tjelesnom temperaturom mjerenom na tipičnim mjestima. Odbačena je pomoćna hipoteza istraživanja da je temperatura izdaha frakcije iz centralnog dišnog sustava statistički značajno pozitivno povezana s tjelesnom temperaturom mjerenom na karakterističnim točkama.

Isto tako, u ispitivanjima s kumulativnom temperaturom izdaha nisam našla povezanost s tjelesnom temperaturom (6).

Bilo bi zanimljivo usporediti fEBT, a posebno frakciju iz perifernih dišnih putova, s temperaturom jezgre i vidjeti odražava li temperatura periferne frakcije temperaturu jezgre ili ipak nema povezanosti.

Iako fEBT nije bio povezan ni s jednom od temperatura mjerenima na karakterističnim mjestima, ostaje otvoreno pitanje kakve bi rezultate utvrdili u istraživanju provedenom na febrilnim bolesnicima.

Utvdila sam i da se temperature izdaha koje su susljedno mjerene tijekom dvaju dana mjerenja u pet navrata statistički značajno ne razlikuju i na temelju tog saznanja izračunala sam i prosječne temperature pojedinih frakcija za pojedini dan mjerenja te za oba dana mjerenja i koristila ih pri utvrđivanju povezanosti s okolišnim i demografskim parametrima. Time je utvrđen drugi primarni cilj istraživanja – potvrđena je ponovljivost izmjerene temperature pojedinih frakcija izdahnutog zraka.

Navedeno je utvrđeno i za metodu mjerenja EBT-a uz X-halo uređaj gdje je utvrđena visoka ponovljivost mjerenja (intraclass correlation coefficient = 0,94 – 0,99) te da promjena temperature izdaha od $\pm 0,3$ °C predstavlja klinički značajnu promjenu (6).

Osim ponovljivosti tijekom dvaju uzastopnih dana, rezultati su pokazali da nema signifikantne cirkadijalne varijabilnosti tijekom prijepodneva ($p > 0,05$). Svakako bi bilo interesantno dodatno istražiti postoji li cirkadijalna varijabilnost tijekom čitavog dana, tj. 24 sata za što u ovom istraživanju nismo imali mogućnosti.

Što se tiče kumulirane temperature izdaha, utvrđeno je da zdravi ispitanici imaju različiti cirkadijalni ritam EBT-a u usporedbi s aksilarnom temperaturom uz akrofazu u 19 sati za EBT, a za aksilarnu temperaturu u 13 sati (98).

S druge strane, nisam utvdila statistički značajnu povezanost temperature pojedinih frakcija EBT-a sa srednjom uravnoteženom temperaturom izdaha mjerenom X-halo uređajem, što znači da se metodom mjerenja X-halo uređajem mjere neka druga obilježja temperature izdaha u odnosu na metodu fEBT. Time je ispunjen i treći primarni cilj istraživanja – utvrditi povezanost temperature različitih frakcija izdahnutog zraka i srednje uravnotežene temperature izdaha mjerene X-halo uređajem. Kako je uz mjerenje srednje uravnotežene temperature X-halo uređajem proveden značajan broj istraživanja i utvrđene su i referentne vrijednosti (80) te promjene EBT-a u raznim patofiziološkim stanjima (6), svakako će biti važno provesti usporedna mjerenja ovih dviju metoda mjerenja temperature izdaha.

Što se tiče okolišnih uvjeta, jedino je sobna temperatura snažno pozitivno povezana sa svim izmjerenim temperaturama obaju dana (minimalnom temperaturom, T1 max, T2 max i T3 max te standardiziranom temperaturom) ($p < 0,01$ za sve). Također, u univarijatnoj analizi

sobna temperatura slabo je povezana s T max AS prvog ($r = 0,372$, $p = 0,005$) i umjereno drugog dana mjerenja ($r = 0,523$, $p < 0,001$), snažno s T1 max AS ($r = 0,726$, $p < 0,001$) za prvi dan te ($r = 0,800$, $p < 0,001$) za drugi dan mjerenja, umjereno s T2 max AS ($r = 0,640$, $p < 0,001$) za prvi dan i snažno ($r = 0,793$, $p < 0,001$) za drugi dan mjerenja i s T3 max AS slabo ($r = 0,324$, $p = 0,016$) za prvi dan i ($r = 0,479$, $p < 0,001$) za drugi dan mjerenja.

T1 max AS je slabo povezana sa sobnim tlakom zraka mjerenim prvoga ($r = 0,496$, $p < 0,001$) i umjereno povezana s izmjerenim sobnim tlakom zraka drugog ($r = 0,506$, $p < 0,001$) dana mjerenja, kao i s tlakom zraka vani mjerenim drugi dan ($r = 0,315$, $p = 0,019$) (slaba povezanost). S tlakom sobnog zraka slabo je povezana i T2 max AS i to ($r = 0,424$, $p = 0,001$) za prvi dan i ($r = 0,464$, $p < 0,001$) za drugi dan mjerenja, kao i s tlakom zraka mjerenim vani ($r = 0,287$, $p = 0,034$) (biološki nesignifikantno). T1 max AS slabo je negativno povezana s vlagom u zraku vani i to ($r = -0,434$, $p < 0,001$) za prvi dan i ($r = -0,343$, $p = 0,010$) za drugi dan mjerenja. S vlagom zraka vani mjerenom prvi dan negativno je povezana T2 max AS ($r = -0,348$, $p = 0,009$). Navedeni rezultati za vlagu i tlak zraka iz univarijatne analize nisu potvrđeni u multivarijatnom modelu.

Kako ambijentalna temperatura značajno utječe na temperaturu frakcija izdahnutog zraka, potrebno je mjerenja provoditi u standardiziranim uvjetima ili provoditi korekciju za ambijentalnu temperaturu sukladno regresijskoj jednadžbi za pojedine frakcije fEBT-a.

S obzirom na to da su sva mjerenja provedena u umjerenim okolišnim uvjetima, bilo bi interesantno izmjeriti fEBT u ekstremnijim uvjetima temperature, vlage i tlaka zraka.

U prvim ispitivanjima s kumuliranom temperaturom izdaha nije nađena povezanost sa sobnom temperaturom, atmosferskim tlakom i relativnom vlažnosti (6), dok se u Carpagnanovom istraživanju ambijentalna temperatura pokazala kao glavni čimbenik koji utječe na EBT (80), kao i u ovom istraživanju.

Što se tiče utjecaja plućnih volumena na temperature frakcija, u multivarijatnoj analizi našli smo da temperature mjerene iz centralnih i perifernih dišnih putova nisu ovisile o apsolutnim plućnim volumenima, kao ni o njihovim postocima od predviđenih vrijednosti (vitalni kapacitet (VC), forsirani ekspiratorni volumen u 1. sekundi (FEV1), volumen pri 50 % vitalnoga kapaciteta (MEF50), volumen pri 25 % vitalnoga kapaciteta (MEF25)), a nisu povezane ni s Tiffeneauovim indeksom, tj. omjerom FEV1 i FVC-a ($p > 0,05$ za sve). Važno je naglasiti da su mjereni volumeni i protoci bili unutar referentnih raspona. Tu se pak otvara pitanje povezanosti fEBT-a s tim istim parametrima kod bolesnika s restriktivnim i s opstruktivnim bolestima pluća.

Za razliku od toga, u univarijantnoj analizi prosječna maksimalna standardna temperatura (T max AS) slabo je povezana sa spirometrijskim vrijednostima (FVC % nakon BD-a ($r = 0,303$, $p = 0,025$), FVC vrijednostima prije ($r = 0,406$, $p = 0,002$) i nakon BD-a ($r = 0,365$, $p = 0,006$), PEF-om nakon BD-a ($r = 0,299$, $p = 0,027$, biološki neznačajno), a slabo je negativno povezana sa spirometrijskim parametrima (FEV1 nakon BD-a ($r = -0,296$, $p = 0,028$, biološki neznačajno), Tiff ($r = -0,373$, $p = 0,004$), Tiff nakon BD-a ($r = -0,373$, $p = 0,005$)). Sve su ove povezanosti utvrđene u univarijantnoj analizi, dok u multivarijantnoj nisu potvrđene.

T1 max AS u univarijantnoj analizi slabo je povezana sa spirometrijskim parametrima (FVC % nakon BD-a ($r = 0,356$, $p = 0,008$), PEF % nakon BD-a ($r = 0,435$, $p = 0,001$), dok je umjereno negativno povezana sa spirometrijskim parametrima (FEV1 nakon BD-a ($r = -0,552$, $p < 0,001$), slabo negativno s FEV1 nakon BD-a ($r = -0,384$, $p = 0,004$)) i Tiffeneauovim indeksom prije ($r = -0,3$, $p = 0,026$) i nakon BD-a ($r = -0,35$, $p = 0,009$)). Ove povezanosti nisu potvrđene u multivarijantnoj analizi.

T2 max AS u univarijantnoj analizi slabo je povezana sa spirometrijskim parametrima (FVC % nakon BD-a ($r = 0,406$, $p < 0,001$) te PEF % nakon BD-a ($r = 0,462$, $p < 0,001$)). Umjereno je negativno povezana sa spirometrijskim parametrima (FEV1 % nakon BD-a ($r = -0,555$, $p < 0,001$), slabo negativno s FEV1 nakon BD-a ($r = -0,383$, $p = 0,004$), Tiffeneauovim indeksom prije ($r = -0,373$, $p = 0,005$) i poslije bronhodilatatora ($r = -0,409$, $p = 0,002$). Multivarijantna analiza nije potvrdila ove rezultate.

T3 max AS (prosječna maksimalna temperatura treće frakcije) u univarijantnoj analizi slabo je povezana sa spirometrijskim parametrima (FVC ($r = 0,388$, $p = 0,003$), FVC nakon BD-a ($r = 0,347$, $p = 0,010$)). Slabo je negativno povezana s Tiffeneauovim indeksom prije ($r = -0,338$, $p = 0,012$) i nakon bronhodilatatora ($r = -0,345$, $p = 0,010$) te FEV1 nakon BD-a ($r = -0,321$, $p = 0,017$). Ovi rezultati nisu potvrđeni u multivarijantnoj analizi.

Prikazani rezultati za povezanost plućne funkcije i fEBT-a dijelom se podudaraju s Tufvessonovim istraživanjem (108) koji je također našao povezanost nekih plućnih volumena s temperaturama frakcija izdahnutog zraka.

Iako bi navedeni rezultati mogli upućivati na to da ispitanici s većim plućnim volumenima postižu i više temperature izdaha, vjerojatno zbog veće površine kapilarne mreže i malih dišnih putova u kojima se struja zraka stigne više usporiti i jače zagrijati u odnosu na manje plućne volumene, iste povezanosti nisam potvrdila u multivarijantnoj analizi, što bi moglo

značiti da je utjecaj na EBT u onih s većim volumenima posredno vezan za veći utjecaj ambijentalne temperature (udahnutog zraka). Također, u ovom su istraživanju sudjelovali samo ispitanici s normalnim spirometrijskim parametrima, tako da je ostala nerazjašnjena povezanost plućnih volumena s frakcijama izdahnutog zraka kod ljudi s manjim plućnim volumenima (npr. u populaciji starijih ljudi gdje prirodno dolazi do propadanja plućnog parenhima i smanjenja plućnih volumena, kao i kod bolesnika s različitim opstruktivnim i restriktivnim bolestima pluća).

Osim navedenog, uočila sam statistički značajnu povezanost između disipacije temperature treće frakcije i FEV1 (%) nakon BD-a ($p = 0,031$) u multivarijantnoj analizi, što bi išlo u prilog pretpostavci da veći volumen izdisaja rezultira i višim temperaturama završne frakcije. To je rezultat prolongiranog izdisaja koji omogućava dugotrajnije izlaganje temperaturnog senzora toplini, čime senzori dosežu više temperature. U svim mjerenjima T3 max postiže plateau, ali kod većih plućnih volumena plateaui su izrazitiji i dugotrajniji. Vrlo je vjerojatno da bi se porastom izdahnutog volumena i izmjerene vrijednosti na sensorima približile svom plateauu. Možda bi se korištenjem senzora s bržim odzivom brže postigle te maksimalne vrijednosti. T3 max konzistentno mjeri više maksimalne vrijednosti od T1 max i T2 max, što sugerira da bi se kod ispitanika s manjim plućnim volumenima temperatura treće frakcije nastavila povećavati s višim izdahnutim volumenima. Naime, zadnja frakcija sadrži zrak koji je bio izložen većoj površini dišnih putova od prve i druge frakcije, što također može utjecati na T3 max.

Frakcija izdahnutog NO-a (razina eozinofilne upale u dišnim putovima) nije bila povezana ni s jednom od frakcija EBT-a što se također podudara s Tufvessonovom studijom (108) te je navedeno i očekivani rezultat u zdravih ispitanika.

S druge strane, kod istraživanja na kumuliranoj temperaturi izdaha, prva su istraživanja pokazala pozitivnu povezanost EBT-a s FeNO vrijednostima i bronhalnim protokom krvi, ali kasnije su dobivani i drugačiji rezultati. Štoviše, kasnija su istraživanja pokazala da su promjene debljine zida bronha, zajedno s pojačanom sekrecijom, uzrok negativne korelacije EBT-a i FeNO-a (7, 58, 71).

Dob ispitanika povezana je s maksimalnom temperaturom prve frakcije prvoga dana mjerenja u multivarijantnoj analizi ($p = 0,048$), ali ne i drugog dana mjerenja. U univarijantnoj analizi povezana je s prosječnom maksimalnom temperaturom druge frakcije (T2 max AS) ($r = 0,33$, $p = 0,014$), što nije potvrđeno u multivarijantnim modelima. Navedeno je u suprotnosti

s istraživanjima u kojima je utvrđeno da starija populacija ima niži EBT (79), iako sam ja istraživala relativno mladu populaciju. Takva povezanost možda bi se mogla tumačiti povećanom razinom sistemske upale u starijih ispitanika koja se možda prenosi i na centralne dišne putove.

U multivarijatnom modelu udaljenost od glavne ceste nije bila značajno povezana ni s jednom od frakcija EBT-a ($p > 0,05$). U usporedbi s time, zagađenje zraka, ovisno o gustoći prometa, značajno korelira s EBT-om (79).

Također, ni razina tjelesne aktivnosti nije bila povezana s fEBT-om ($p > 0,05$). Ali, valja napomenuti da moji ispitanici nisu testirani nakon intenzivnijih fizičkih napora. S druge strane, kod istraživanja kumulirane temperature izdaha utvrđene su niže vrijednosti EBT-a u tjelesno aktivnih ispitanika što se tumačilo smanjenom razinom upalnih parametara u krvi: C-reaktivnog proteina, fibrinogena, faktora VIII, leukocita, IL-6, kao posljedicom smanjenja sistemske upale u fizički aktivnih ispitanika (100, 101, 102, 103).

Vremenski period od posljednjeg obroka nije bio povezan s fEBT-om. Što se tiče kumulirane temperature izdaha mjerene X-halo uređajem, utvrđeno je da se EBT povisuje unosom hrane, pogotovo visokokalorične (125).

Razina bazalnog metabolizma nije pokazala signifikantnu povezanost s fEBT-om ($p > 0,05$) u multivarijatnom modelu. U univarijatnoj analizi našla sam da je maksimalna prosječna standardna temperatura slabo povezana s bazalnim metabolizmom mjerenim prvi ($r = 0,413$, $p = 0,002$) i drugi dan ($r = 0,389$, $p = 0,003$), dok prosječna maksimalna temperatura prve frakcije pokazuje umjerenu povezanost ($r = 0,584$, $p < 0,001$) za prvi dan ($r = 0,543$, $p < 0,001$) i za drugi dan, a prosječna maksimalna korigirana temperatura druge frakcije umjereno ($r = 0,531$, $p < 0,001$) za prvi te slabo ($r = 0,497$, $p < 0,001$) za drugi dan i prosječna maksimalna korigirana temperatura treće frakcije pokazuje slabu povezanost ($r = 0,38$, $p = 0,004$) za prvi dan i ($r = 0,38$, $p = 0,004$) za drugi dan. Objašnjenje za navedene povezanosti najvjerojatnije je to da je kod ispitanika s višim bazalnim metabolizmom veća i prokrvljenost dišnih putova ili veća temperatura jezgre pa time i temperatura mukoze dišnih putova, a ta se toplina onda prenosi na EBT.

BMI, kao ni tjelesna masa i visina nisu pokazali povezanost s fEBT-om ($p > 0,05$) u multivarijatnoj analizi. Ali, u univarijatnoj analizi našla sam da prosječna maksimalna korigirana standardna temperatura slabo korelira s tjelesnom masom ($r = 0,408$, $p = 0,002$) kao i s tjelesnom visinom ($r = 0,426$, $p = 0,001$), prosječna maksimalna korigirana temperatura treće frakcije slabo je povezana s tjelesnom masom ($r = 0,396$, $p = 0,003$) i s tjelesnom visinom ($r =$

0,406, $p = 0,002$). Inače, u pretilih ispitanika veći je stupanj kronične upale na razini čitavog organizma, pa time kod njih bilježimo i veću kumulativnu temperaturu izdaha (99). Ali, kako u ovom istraživanju nisam imala pretilih bolesnika, kao ni onih s povišenim upalnim markerima, tumačenje ovakve povezanosti fEBT-a s tjelesnom masom ostaje dijelom nejasno. Povezanost prosječne temperature periferne frakcije s tjelesnom visinom vjerojatno je posredna jer je tjelesna visina osnovna odrednica plućnih volumena.

Nije utvrđena statistički značajna povezanost između vrijednosti pojedinih krvnih parametara i temperatura frakcija izdaha u multivarijantnoj analizi ($p > 0,05$). Jedino je utvrđena statistički značajna slaba povezanost između disipacije topline prve frakcije i vrijednosti CRP-a prvog dana mjerenja ($p = 0,037$). S druge strane, u univarijantnoj analizi, prosječna maksimalna korigirana temperatura druge frakcije biološki je neznajčajno povezana s vrijednosti CRP-a ($r = 0,275$, $p = 0,042$) u drugom danu mjerenja. Ta se povezanost možda može tumačiti povećanom razinom sustavne upale u ispitanika s višim CRP-om, ali s obzirom na to da se radi o fiziološkim vrijednostima CRP-a, povezanost ne možemo smatrati klinički značajnom. Uzevši u obzir da je u ovom istraživanju klinički značajno povišeni CRP bio isključni kriterij, očekivano je da fiziološke vrijednosti neće pokazati povezanost s fEBT-om. Svakako bi u budućnosti bilo interesantno istražiti povezanost fEBT-a s povišenim vrijednostima CRP-a i to kod upala na razini različitih dijelova dišnog sustava, kao i kod onih upala koje nisu povezane s dišnim sustavom.

Što se tiče broja leukocita, koji su uz CRP također upalni marker, nisam našla povezanost s temperaturama frakcija izdahnutog zraka. Kod istraživanja s kumuliranim EBT-om utvrdila sam da promjena EBT-a pozitivno korelira s brojem leukocita i s postotkom neutrofila u sputumu (91), dok povezanost s leukocitima u krvi nije utvrđivana.

Markeri hemokoncentracije, kao što su eritrociti, u univarijantnoj analizi bili su slabo povezani s prosječnom maksimalnom korigiranom standardnom temperaturom mjerenom prvog dana ($r = 0,329$, $p = 0,014$), kao i drugog dana mjerenja ($r = 0,335$, $p = 0,012$). Također, bili su povezani i s prosječnom maksimalnom korigiranom temperaturom treće frakcije T3 ($r = 0,318$, $p = 0,018$) za prvi dan i ($r = 0,338$, $p = 0,012$) za drugi dan mjerenja. S prosječnom maksimalnom korigiranom standardnom temperaturom povezana je slabo i razina hemoglobina u prvom ($r = 0,393$, $p = 0,003$) i u drugom danu mjerenja ($r = 0,394$, $p = 0,003$). Razina hemoglobina također je bila slabo povezana i s prosječnom maksimalnom korigiranom temperaturom treće frakcije ($r = 0,364$, $p = 0,006$) za prvi dan i ($r = 0,375$, $p = 0,005$) za drugi dan mjerenja. Navedene povezanosti nisu potvrđene u multivarijantnoj analizi što je i za očekivati jer se radi o zdravim ispitanicima.

S ovim su u potpunosti ispunjeni i svi sekundarni ciljevi našeg istraživanja.

Iako ovo istraživanje nije direktno usporedivo s Tufvessonovim istraživanjem (114), s obzirom na to da su u ovom istraživanju frakcije izdahnutog zraka podijeljene na 10 % (centralna frakcija, tj. frakcija iz velikih dišnih putova, tzv. anatomske mrtvi prostor), 20 % (konduktivni dišni putovi, tzv. funkcionalni mrtvi prostor) i 70 % (periferni dišni putovi, tj. područje izmjene plinova), a u Tufvessonovom na tri jednaka dijela, ipak se sustavno nadopunjuju. Naime, Tufvesson je našao da je temperatura periferne frakcije značajno povezana s difuzijskim kapacitetom za ugljični monoksid (DLCO, $r = 0,52$, $p < 0,001$), što sugerira povezanost s alveolarnom vaskularizacijom u plućima jer je DLCO parametar koji djelomično reflektira vaskularnu komponentu alveolarne cirkulacije. Sukladno tome, utvrđene su niže relativne temperature na periferiji mjerene T3/T1 omjerom u ispitanika s nižim vrijednostima DLCO-a i u skupini bolesnika s KOPB-om, kao i sa SSC-om. S druge strane, moje je istraživanje utvrdilo referentne vrijednosti za temperaturu periferne frakcije, kao i za ostale frakcije, što nudi potencijal za neinvazivna klinička ispitivanja plućnog vaskularnog sustava koji je inače izrazito teško proučavati.

Do sada se o bronhalnoj cirkulaciji zna da je dio sistemskog krvotoka i izlazi iz aorte, a završava peribronhalnom mrežom krvnih žila (1). Ogranci bronhalnih arterija prodiru u mišićni sloj i tvore još jednu mrežu u submukozi. Proliferacija malih žila i njihovo propuštanje mijenja debljinu stijenke bronha. Iako je u ranijim istraživanjima sugerirano da je plućna cirkulacija (ogranci plućne arterije) dominantna u izmjeni temperature u dišnim putovima (126, 127, 128), kasnija su istraživanja pokazala da je submukozna bronhalna cirkulacija ta koja regulira EBT i modelira bronhokonstrikciju/bronhodilataciju (129). Tijekom izdaha, duž cijelog respiratornog trakta, dolazi do isparavanja te se ta voda zajedno s toplinom vraća u zrak koji se potom izdahne (130). Stoga je logično zaključiti da kod respiratornih bolesti kod kojih dolazi do razaranja dišnih putova, a posljedično tome i prateće vaskulature, zbog različitih patofizioloških procesa koji dovode do remodeliranja strukture tkiva, dolazi do smanjenja površine dišnih putova, pa se manje topline može prenijeti na izdahnuti zrak.

Tijekom proteklih triju desetljeća u mnogobrojnim istraživanjima kumulativne temperature izdaha X-halo uređajem utvrđeno je kako je EBT povišen kod astme (95, 96, 131), akutne egzacerbacije astme, u sezoni polinacije u preosjetljivih pojedinaca s rinokonjunktivitisom s astmom ili bez astme (132), nakon fizičke aktivnosti u astmatičara i neastmatičara (85), akutne egzacerbacije KOPB-a, nakon popušene cigarete (90, 91), kod pušača i bivših pušača koji ne boluju od KOPB-a ali progresivno se smanjuje tijekom vremena

nakon prestanka pušenja (90), kod voljne hiperventilacije i kod udisanja metakolina kod testiranja hipersenzitivnosti bronha u zdravih i astmatičara (5), kod bolesnika s cističnom fibrozom (u onih s jače sniženim FEV1) (133), kod karcinoma pluća (104), nakon konzumacije visokokaloričnog obroka, nakon obroka bogatog ugljikohidratima (125), kod boravka u prostorijama sa višom temperaturom (134), kod ljudi koji žive blizu prometnica zbog utjecaja zagađenog zraka (79) i kod pretilih bolesnika zbog sistemske upale (80). Nadalje, EBT je snižen kod KOPB-a (91, 92, 93), kod ljudi starije dobi (79), kod kroničnih pušača (94) i kod žena u odnosu na muškarce (80). Snižen je i kod plućne hipertenzije koja je uzrokovana bolešću lijevoga srca u odnosu na plućnu hipertenziju uzrokovanu KOPB-om (135).

Također, utvrđeno je da je EBT povezan s razinom eozinofila u sputumu, s brojem leukocita u iskašljaju te s razinom VEGF-a u izdahnutom zraku kod bolesnika s NSCLC-om (104, 136).

Preostaje nam tek istražiti povezanosti različitih frakcija izdahnutog zraka u svim ovim patologijama i usporediti s navedenim rezultatima.

6. ZAKLJUČAK

Temeljem rezultata ove doktorske disertacije došla sam do sljedećih zaključaka.

1. Hipoteza da je temperatura izdaha frakcije iz centralnih dišnih putova niža i varijabilnija od one iz perifernih dišnih putova je potvrđena.
2. Pomoćna hipoteza da temperatura izdaha iz centralnog dišnog sustava statistički značajno pozitivno korelira s tjelesnom temperaturom mjerenom na karakterističnim točkama je opovrgnuta. Temperature mjerene na karakterističnim mjestima (aksilarna, timpanična i otička) ne koreliraju ni s jednom od temperatura frakcija izdahnutog zraka. Iako su u univarijantnoj analizi utvrđene neke povezanosti (prosječna maksimalna temperatura prve frakcije (T1 max AS) i prosječna maksimalna temperatura druge frakcije (T2 max AS) negativno koreliraju s prosječnom temperaturom mjerenom na čelu prvi i drugi dan mjerenja), navedeno nije potvrđeno u multivarijantnom modelu.
3. Utvrdila sam da postoji ponovljivost mjerenja (nisam utvrdila razliku između susljednih mjerenja frakcionirane temperature izdahnutog zraka tijekom istog dana kao ni u usporedbi s mjerenjima drugog dana).
4. Referentne vrijednosti za temperaturu prve frakcije pri vanjskoj temperaturi zraka od 22 °C su od 20,331 do 26,614 °C (srednja vrijednost $23,481 \pm 3,150$ °C), a kod promjene ambijentalne temperature za 1 °C dolazi do promjene u referentnim vrijednostima za 0,594 °C (95 % CI, 0,451 – 0,736 °C). Referentne vrijednosti za temperaturu druge frakcije su od 22,090 do 30,138 °C (srednja vrijednost $26,114 \pm 4,024$ °C) pri vanjskoj temperaturi od 22 °C, a kod promjene te temperature za 1 °C dolazi do promjene u referentnim vrijednostima za 0,621 °C (95 % CI, 0,438 – 0,804 °C). Referentne vrijednosti za temperaturu treće frakcije su od 24,896 do 31,538 °C (srednja vrijednost $28,216 \pm 3,321$ °C) pri temperaturi vanjskog zraka od 22 °C, kod promjene ambijentalne temperature za 1 °C dolazi do promjene u referentnim vrijednostima za 0,239 °C (95 % CI, 0,088 – 0,390 °C). Referentne vrijednosti za standardiziranu maksimalnu temperaturu su od 24,589 do 31,365 °C (srednja vrijednost $27,977 \pm 3,388$ °C) pri vanjskoj temperaturi od 22 °C, a kod promjene vanjske temperature za jedan stupanj referentne vrijednosti se mijenjaju za 0,287 °C (95 % CI, 0,133 – 0,441 °C).

5. Dob ispitanika, tjelesna visina, tjelesna masa, BMI i spol nisu bili statistički značajno povezani ni s jednom od izmjerenih temperatura frakcija izdahnutog zraka u multivarijantnoj analizi.
6. Vrijeme od zadnjeg obroka i razina tjelesne aktivnosti nisu bili povezani s fEBT-om.
7. FeNO vrijednosti nisu bile statistički značajno povezane s izmjerenim temperaturama nijedne od frakcija izdahnutog zraka.
8. Apsolutne spirometrijske vrijednosti (FVC, FEV1, Tiff, MF50, MF25), kao ni njihovi postoci od normale, a ni ti isti parametri nakon bronhodilatatornog testa nisu bili statistički značajno povezani s frakcijama EBT-a. Iako su u univarijantnoj analizi nađene neke povezanosti, one nisu potvrđene u multivarijantnom modelu (Tmax AS pozitivno je povezan sa spirometrijskim vrijednostima (FVC % nakon BD-a, FVC vrijednosti prije i nakon BD-a, PEF nakon BD-a) a negativno povezan sa spirometrijskim parametrima (FEV1 nakon BD-a, Tiffeneauovim indeksom , Tiffeneauovim indeksom nakon BD-a). T1 max AS korelira sa spirometrijskim parametrima (FVC % nakon BD-a, PEF % nakon BD-a) a negativno korelira sa spirometrijskim parametrima (FEV1 nakon BD-a, FEV1 nakon BD-a i Tiffeneauovim indeksom prije i nakon BD-a). T2 max AS korelira sa spirometrijskim parametrima (FVC % nakon BD-a, te PEF % nakon BD-a) a negativno korelira sa spirometrijskim parametrima (FEV1 % nakon BD-a , FEV1 nakon BD-a, Tiffeneauovim indeksom prije i poslije bronhodilatatora). T3 max AS korelira sa spirometrijskim parametrima FVC i FVC nakon BD-a dok negativno korelira s Tiffeneauovim indeksom prije i nakon bronhodilatatora te FEV1 nakon BD-a).
9. Utvrdila sam značajnu povezanost između disipacije topline treće frakcije i FEV1 % nakon primjene bronhodilatatora.
10. BMR nije bio povezan s fEBT-om u multivarijantnom modelu. Ali, u univarijantnoj analizi maksimalna prosječna standardna temperatura, prosječna maksimalna korigirana temperatura prve frakcije, prosječna maksimalna korigirana temperatura druge frakcije kao i prosječna maksimalna korigirana temperatura treće frakcije povezane su s bazalnim metabolizmom mjerenim prvi i drugi dan
11. Udaljenost od prometnice nije povezana ni s jednom od temperatura frakcija izdahnutog zraka.

12. Temperatura prostorije u kojoj je mjerenje izvođeno povezana je sa svim izmjerenim frakcijama EBT-a. Također, u univarijatnoj analizi sobna temperatura bila je povezana sa svim izmjerenim temperaturama frakcija izdahnutog zraka prvoga i drugog dana mjerenja.
13. Vlaga u zraku i tlak zraka u prostoriji i vani, kao ni temperatura vani, nisu bili povezani ni s jednom od frakcija EBT-a. Iako su u univarijatnoj analizi nađene neke povezanosti, u multivarijatnoj analizi one nisu potvrđene (T1 max AS bio je povezan sa sobnim tlakom zraka mjerenim prvoga i drugog dana mjerenja, kao i s tlakom zraka vani mjerenim drugi dan. T2 max AS povezan je s tlakom sobnog zraka prvoga i drugog dan mjerenja, kao i s tlakom zraka mjerenim vani. T1 max AS negativno je povezan s vlagom u zraku prvoga i drugog dana mjerenja. T2 max AS negativno je povezan s vlagom u vanjskom zraku mjerenom prvi dan).
14. EBT mjeren X-halo uređajem nije povezan ni s jednom od temperatura frakcija izdahnutog zraka.
15. CRP, kao nijedan parametar iz KKS-a, ne korelira s izmjerenim fEBT-om. Međutim, u univarijatnoj analizi našla sam da je T2 max AS povezan s vrijednosti CRP-a drugog dana mjerenja, što nisam potvrdila u multivarijatnom modelu. Također, uočena je statistički značajna povezanost između disipacije topline iz prve frakcije i CRP-a u prvom danu mjerenja.
16. Što se tiče leukocita, koji su uz CRP također upalni marker, nije nađena povezanost s temperaturama frakcija izdahnutog zraka. Marker hemokoncentracije, kao što su eritrociti, samo su u univarijatnoj analizi povezani s Tmax AS i T3 max AS i to u oba dana mjerenja. S Tmax AS i T3 max AS povezana je i razina hemoglobina u prvom i u drugom danu mjerenja što nije potvrđeno u multivarijatnom modelu.

7. POPIS LITERATURE

1. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo L (ur.) Harrison's Principles of Internal Medicine. New York: Mcgraw-Hill
2. Tansey EA, Johnson CD (2015) Recent advances in thermoregulation. *Advances in Physiology Education*. 39(3): 139-148.
3. Sund-Levander M, Forsberg C, Wahren LK. (2002) Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women: a systematic literature review. *Scandinavian Journal of Caring Sciences* 16: 122–128.
4. Barnett BJ, Nunberg S, Tai J, Lesser ML, Fridman V, Nichols P, Powell R, Silverman R. (2011) Oral and tympanic membrane temperatures are inaccurate to identify fever in emergency department adults. *The Western Journal of Emergency Medicine* 12(4): 505-511.
5. Popov TA, Kralimarkova TZ, Dimitrov DV (2012) Measurement of exhaled breath temperature in science and clinical practice. *Breathe* 187-192.
6. Popov TA, Dunev S, Kralimarkova TZ, Kraeva S, DuBuske LM (2007) Evaluation of a simple, potentially individual device for exhaled breath temperature measurement. *Respiratory Medicine* 101: 2044–2050.
7. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ (2002) Faster rise of EBT in asthma: a novel marker of airway inflammation? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165(2): 181–184.
8. Piacentini GL, Bodini A, Zerman L, Costella S, Zanolla L, Peroni DG, Boner AL (2002) Relationship between exhaled air temperature and exhaled nitric oxide in childhood asthma. *European Respiratory Journal* 20(2): 108–11.
9. Popov TA, Kralimarkova TZ, Tzachev CT, Dimitrov V, Mun KK, Gill J (2009) Exhaled breath temperature measurement made easy. *Pediatric Allergy and Immunology* 20(2): 200–201.
10. Singh D (2017) Small Airway Disease in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 80(4): 317-324. doi: 10.4046/trd.2017.0080.
11. Hogg JC, Macklem PT, Thurlbeck WM (1968) Site and nature of airway obstruction in chronic obstructive lung disease. *New England Journal of Medicine* 278: 1355-1360.

12. Eurlings IM, Dentener MA, Cleutjens JP, Peutz CJ, Rohde GG, Wouters EF, Reynaert NL (2014) Similar matrix alterations in alveolar and small airway walls of COPD patients. *BMC Pulmonary Medicine* 14:90. doi: 10.1186/1471-2466-14-90.
13. Jetmalani K, Thamrin C, Farah CS, Bertolin A, Chapman DG, Berend N, Salome CM, King GG (2017) Peripheral airway dysfunction and relationship with symptoms in smokers with preserved spirometry. *Respirology*. doi: 10.1111/resp.13215.
14. Piorunek T, Kostrzewska M, Stelmach-Mardas M, Mardas M, Michalak S, Goździk-Spychalska J, Batura-Gabryel H (2017) Small Airway Obstruction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Potential Parameters for Early Detection. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 980:75-82. doi: 10.1007/5584_2016_208.
15. Husemann K, Berg N, Engel J, Port, J, Joppek, C, Tao, Z, Singer, F, Schulz, H, Kohlhaüfl, M (2014) Double tracer gas single-breath washout: reproducibility in healthy subjects and COPD. *European Respiratory Journal* 44(5): 1210.
16. Boeck L, Gensmer A, Nyilas S, Stieltjes, B, Re TJ, Tamm M, Latzin P, Stolz D (2016) Single-breath washout tests to assess small airway disease in COPD. *Chest*. 150(5): 1091–1100.
17. Galban CJ, Han MK, Boes JL, Chughtai KA, Meyer CR, Johnson TD, Galban S, Rehemtulla A, Kazerooni EA, Martinez FJ, Ross BD (2012) Computed tomography-based biomarker provides unique signature for diagnosis of COPD phenotypes and disease progression. *Nature Medicine* 18: 1711–1715.
18. Boes JL, Hoff BA, Bule M, Johnson TD, Rehemtulla A, Chamberlain R, Hoffman EA, Kazerooni EA, Martinez FJ, Han MK, Ross BD, Galban CJ (2015) Parametric response mapping monitors temporal changes on lung CT scans in the subpopulations and intermediate outcome measures in COPD Study (SPIROMICS). *Academic Radiology* 22: 186–194.
19. Lepock JR (2003) Cellular effects of hyperthermia: relevance to the minimum dose for thermal damage. *International Journal of Hyperthermia* 19: 252–266.
20. Mallet ML (2002) Pathophysiology of accidental hypothermia. *Quarterly Journal of Medicine* 95: 775–785.
21. Taylor NA, Machado-Moreira CA, van den Heuvel AM, Caldwell JN (2014) Hands, and feet: physiological insulators, radiators and evaporators. *European Journal of Applied Physiology* 114: 2037–2060.

22. Romanovsky AA (2007) Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 292: R37–R46.
23. Clarke S, Parris R, Reynard K (2005) Core-peripheral temperature gradient as a diagnostic test in dyspnoea. *Journal of Emergency Medicine* 22: 633– 635.
24. Charkoudian N (2003) Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clinic Proceedings* 78: 603– 612.
25. DeGroot D, Kenney WL (2007) Impaired defense of core temperature in aged humans during mild cold stress. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 292: R103–R108.
26. Eyolfson DA, Tikuisis P, Xu XJ, Weseen G, Giesbrecht GG (2001) Measurement and prediction of peak shivering intensity in humans. *European Journal of Applied Physiology* 84: 100 –106.
27. Stern L (1980) Thermoregulation in the newborn infant: historical, physiological and clinical considerations. U: Smith GF, Vidyasagar, D. (ur.) *Historical Review and Recent Advances in Neonatal and Perinatal Medicine*. Evansville: Mead Johnson Nutritional Division
28. Alsene KM, Carasso BS, Connors EE, Bakshi VP (2006) Disruption of prepulse inhibition after stimulation of central but not peripheral α -1 adrenergic receptors. *Neuropsychopharmacology* 31: 2150 –2161.
29. van Beaumont W, Bullard RW (1963) Sweating: its rapid response to muscular work. *Science* 141: 643– 646.
30. Shibasaki M, Crandall CG. (2010) Mechanisms and controllers of eccrine sweating in humans. *Frontiers in Bioscience* 2: 685– 696.
31. Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B (2007) Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 293: E444 –E452.
32. Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, Watanabe K, Yoneshiro T, Nio-Kobayashi J, Iwanaga T, Miyagawa M, Kameya T, Nakada K, Kawai Y, Tsujisaki M (2009) High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes* 58: 1526 –1531.
33. van der Lans AA, Hoeks J, Brans B, Vijgen GH, Visser MG, Vosselman MJ, Hansen J, Jörgensen JA, Wu J, Mottaghy FM, Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD

- (2013) Cold acclimation recruits human brown fat and increases nonshivering thermogenesis. *Journal of Clinical Investigation* 123: 3395– 3403.
34. van der Lans AA, Wierts R, Vosselman MJ, Schrauwen P, Brans B, van Marken Lichtenbelt WD (2014) Cold-activated brown adipose tissue in human adults–methodological issues. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 307: R103–R113.
35. Sund-Levander M, Grodzinsky E, Loyd D, Wahren LK (2004) Errors in body temperature assessment related to individual variation, measuring technique and equipment. *International Journal of Nursing Practice* 10(5): 216-223
36. Ring EFJ (2006) The historical development of thermometry and thermal imaging in medicine. *Journal of Medical Engineering and Technology* 30 (4): 192-198.
37. Wunderlich CA (1871) *On the Temperature in Diseases: A Manual of Medical Thermometry*. New Sydenham Society, London
38. Pearce JM (2002) A brief history of the clinical thermometer. *QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians*. 95 (4): 251-252.
39. Kelly G (2006) Body temperature variability (part 1): a review of the history of body temperature and its variability due to site selection, biological rhythms, fitness, and aging. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutics* 11 (4): 278-293.
40. Mackowiak PA, Wasserman SS, Levine MM (1992) A critical appraisal of 98.6 degrees F, the upper limit of the normal body temperature, and other legacies of Carl Reinhold August Wunderlich. *Journal of the American Medical Association*. 268 (12): 1578-1580.
41. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (2010) *Mercury in Medical Devices*.
<http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20100709144805/http://mhra.gov.uk/Safetyinformation/Generalsafetyinformationandadvice/Product-specificinformationandadvice/Mercuryinmedicaldevices/index.htm>
42. Kistemaker JA, Den Hartog EA, Daanen HA (2006) Reliability of an infrared forehead skin thermometer for core temperature measurements. *Journal of Medical Engineering and Technology*. 30 (4): 252-261.
43. Farnell S, Maxwell L, Tan S, Rhodes A, Philips SB (2005) Temperature measurement: comparison of non-invasive methods used in adult critical care. *Journal of Clinical Nursing*.

44. Carroll M (2000) An evaluation of temperature measurement. *Nursing Standard* 14 (44): 39-43.
45. Crawford D, Greene N, Wentworth S (2005) MRHA 04144. Thermometer Review: UK Market Survey 2005. <http://www.cedar.wales.nhs.uk/opendoc/219052> (Zadnji pristup 20.12. 2020.)
46. Chamberlain JM, Terndrup TE, Alexander DT, Silverstone F, Wolf-Klein, G, O'Donnell, R, Grander, J (1995) Determination of normal ear temperature with an infrared emission detection thermometer. *Annals of Emergency Medicine*. 25 (1): 15-20.
47. Edwards B, Waterhouse J, Reilly T, Atkinson G (2002) A comparison of the suitabilities of rectal, gut, and insulated axilla temperatures for measurement of the circadian rhythm of core temperature in field studies. *Chronobiology International* 19 (3): 579-597.
48. Mazgaoker S, Ketko I, Yanovich R, Heled Y, Epstein Y. Measuring core body temperature with a non-invasive sensor. *J Therm Biol*. 2017 May;66:17-20. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.03.007. Epub 2017 Mar 18. PMID: 28477905.
49. Roy S, Powell K, Gerson LW (2003) Temporal artery temperature measurements in healthy infants, children, and adolescents. *Clinical Pediatrics* 42 (5): 433-437.
50. McCarthy PW, Heusch AI (2006) The vagaries of ear temperature assessment. *Journal of Medical Engineering and Technology*. 30 (4): 242-251.
51. Waterhouse J, Folkard S, Van Dongen H, Minors D, Owens, D, Kerkhof, GA, Weinert, D, Nevill, AM(2001) Temperature profiles, and the effect of sleep on them, in relation to morningness-eveningness in healthy female subjects. *Chronobiology International* 18 (2): 227-247.
52. Atkinson G, Coldwells A, Reilly T, Waterhouse J (1993) A comparison of circadian rhythms in work performance between physically active and inactive subjects. *Ergonomics* 36 (1-3): 273-281.
53. Mackowiak PA, Wasserman SS (1995) Physicians' perceptions regarding body temperature in health and disease. *Southern Medical Journal* 88 (9): 934-938.
54. Hoffmann J, Kurgan A, Abramowitz HB (1983) Rectal temperature in the diagnosis of acute lower abdominal pain. *Israel Journal of Medical Science*. 19(6): 505-507.
55. Singh D, Singh AK (2019) Role of image thermography in early breast cancer detection- Past, present and future. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 183:105074. doi:[10.1016/j.cmpb.2019.105074](https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2019.105074)

56. Zuluaga-Gomez J, Zerhouni N, Al Masry Z, Devalland C, Varnier C (2019) Survey of breast cancer screening techniques: thermography and electrical impedance tomography. *Journal of Medical Engineering and Technology* 23:1-18. doi: 10.1080/03091902.2019.1664672.
57. Greenwald M, Ball J, Paulus H (2016) Using Dermal Temperature to Identify Rheumatoid Arthritis Patients With Radiologic Progressive Disease in Less Than One Minute. *Arthritis Care and research* 68 (8): 1201-1205. doi:10.1002/acr.22813.
58. Paredi P , Kharitonov SA, Barnes PJ (2005) Correlation of exhaled breath temperature with bronchial blood flow in asthma. *Respiratory Research* 10(6): 15.
59. Gilbert IA, McFadden ERJ (1992) Airway cooling and rewarming. The second reaction sequence in exercise induced asthma. *Journal of Clinical Investigation* 90: 699–704.
60. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ (2002) Exhaled breath temperature gradients in asthma and the effect of beta 2 agonists. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165: A237.
61. McCafferty JB, Innes JA(2003) Exhaled breath temperature in airways disease. *European Respiratory Journal* 22: 393-394.
62. Reid A, Heard BE (1962) Preliminary studies of human pulmonary capillaries by India ink injection. *Medicina Thoracalis* 19: 599-790.
63. Cudkowicz L (1953) The bronchial arteries in pulmonary emphysema. *Thorax* 8: 46-58.
64. Hashimoto M, Tanaka H, Abe S (2005) Quantitative analysis of bronchial wall vascularity in the medium and small airways of patients with asthma and COPD. *Chest* 127: 965-972.
65. Paredi P, Ward S, Cramer D, Dip M, Barnes PJ, Kharitonov SA (2007) Normal Bronchial Blood Flow in COPD Is Unaffected by Inhaled Corticosteroids and Correlates With Exhaled Nitric Oxide. *Chest* 131: 1075-1081.
66. Zanini A, Chetta A, Saetta M, Baraldo S, Castagnetti C, Nicolini G, Neri, M, Olivieri, D (2009) Bronchial vascular remodelling in patients with COPD and its relationship with inhaled steroid treatment. *Thorax* 6: 1019-1024.
67. Wiesmann F, Petersen SE, Leeson PM, Francis JM, Robson MD, Wang Q, Choudhury R, Channon KM, Neubauer S(2004) Global impairment of brachial, carotid, and aortic vascular function in young smokers: direct quantification by

- high-resolution magnetic resonance imaging. *Journals of the American College of Cardiology* 44: 2056-2064.
68. Wanner A, Campos MA, Mendes E (2007) Airway blood flow reactivity in smokers. *Pulmonary Pharmacology Therapeutics* 20: 126-129.
 69. Ricketts HJ, Carrington CB (1968) Experimental bronchial artery occlusions in sheep. *Proceeding of the 11th Aspen Emphysema Conference*. Aspen: US Department, 187–189.
 70. Roland M, Bhowmik A, Sapsford RJ, Seemungal TA, Jeffries DJ, Warner TD, Wedzicha JA (2001) Sputum and plasma endothelin-1 levels in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 56: 30–35.
 71. Kanazawa H, Asai K, Hirata K, Yoshikawa J (2003) Possible effects of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *The American Journal of Medicine* 114: 354–358.
 72. Groneberg DA, Niimi A, Dinh QT, Cosio B, Hew M, Fischer A, et al. Increased expression of transient receptor potential vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med.* (2004) 170:1276–80. doi: 10.1164/rccm.200402-174OC
 73. Ni D, Gu Q, Hu H, Gao N, Zhu M, Lee LY. Thermal sensitivity of isolated vagal pulmonary sensory neurons: role of transient receptor potential vanilloid receptors. *Am J Physiol Reg Int Comp Physiol.* (2006) 291:541–50. doi: 10.1152/ajpregu.00016.2006
 74. Zhang G, Lin RL, Wiggers M, Snow DM, Lee LY. Altered expression of TRPV1 and sensitivity to capsaicin in pulmonary myelinated afferents following chronic airway inflammation in the rat. *J Physiol.* (2008) 586:5771–86. doi: 10.1113/jphysiol.2008.161042
 75. Lee LY, Gu Q. Role of TRPV1 in inflammation-induced airway hypersensitivity. *Curr Opin Pharmacol.* (2009) 9:243–9. doi: 10.1016/j.coph.2009.02.002
 76. Caceres AI, Brackmann M, Elia MD, Bessac BF, del Camino D, D'Amours M, et al. A sensory neuronal ion channel essential for airway inflammation and hyperreactivity in asthma. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2009)106:9099–104. doi: 10.1073/pnas.0900591106

77. Dhaka A, Viswanath V, Patapoutian A. TRP ion channels and temperature sensation. *AnnuRevNeurosci.* (2006)29:135-61.doi:10.1146/annurev.neuro.29.051605.112958
78. Khosravi M, Lin R-L, Maskey AP, Pandey S, Lin A-H and Lee L-Y (2021) A Distinct Difference Between Air and Mucosal Temperatures in Human Respiratory Tract. *Front. Med.* 8:650637. doi: 10.3389/fmed.2021.650637
79. Bijmens E, Pieters N, Dewitte H, Cox B, Janssen BG, Saenen N, Dons E, Zeegers MP, Int Panis L, Nawrot TS (2013) Host and environmental predictors of exhaled breath temperature in the elderly. *BMC Public Health* 13: 1226.
80. Carpagnano GE, Foschino-Barbaro MP, Crocetta C, Lacedonia D, Saliari V, Zoppo LD, Barnes PJ (2017) Validation of the exhaled breath temperature measure: reference values in healthy subjects. *151(4): 855-860.*
81. Perez-Alvarez MJ, Wandosell F (2016) Stroke and neuroinflammation: role in sexual hormones. *Current Pharmaceutical Design* 22(10):1334-1349.
82. Couto M, Santos P, Silva D, Delgado L, Moreira A (2015) Exhaled breath temperature in elite swimmers: the effects of a training session in adolescents with or without asthma. *Pediatric Allergy and Immunology* 26(6):564-570.
83. Popov TA, Petrova D, Kralimarkova TZ, Ivanov Y, Popova T, Peneva M, Odzhakova T, IlievaY, Yakovliev P, Lazarova T, Georgiev O, Hodzhev V, Hodzheva E, Staevska MT, Dimitrov VD (2013) Real life clinical study design supporting the effectiveness of extra-fine inhaled beclomethasone/formoterol at the level of small airways of asthmatics. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* 26(6): 624-629.
84. Peroni DG, Chinellato I, Piazza M, Zardini F, Bodini A, Olivieri F, Boner, AL, Piacentini, G(2012)Exhaled breath temperature and exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children. *Pediatric Pulmonology* 47: 240-244.
85. Svensson H, Nilsson D, Bjermer L, Tufvesson E (2012) Exhaled breath temperature increases after exercise in asthmatics and controls. *Respiration.* 84(4): 283-90.
86. Pifferi M, Ragazzo V, Previti A, Pioggia G, Ferro M, Macchia P, Piacentini, GL, Boner AL (2009) Exhaled air temperature in asthmatic children: a mathematical evaluation. *Pediatric Allergy and Immunology* 20: 164-171. doi:10.1111/j.1399-3038.2008.00742.x

87. Popov TA, Kralimarkova T, Tzachev C, Dimitrov V, Mun KK, Gill J. Exhaled Breath Temperature Measurement Made Easy. *Pediatric Allergy and Immunology* 2008;20:200–201.
88. Barreto M, La Penna F, Prete A, Bonafoni S, Biagiarelli F, Negro V, Barberi S, Villa MP (2011) Exhaled breath temperature and nitric oxide in assessing children with and without respiratory disease. *European Respiratory Journal* 38(Suppl. 55): 785–786.
89. Paredi P, Caramori G, Cramer D, Ward D, Ciaccia A, Papi A, Kharitonov, SA, Barnes PJ (2003) Slower rise of exhaled breath temperature in chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal* 21: 439–443.
90. Kløkstad S, Bikov A, Lazar Z, Gálffy G, Losonczy G, Horvath I (2010) The effect of smoking and COPD on exhaled breath temperature. *European Respiratory Journal* 36 (Suppl. 54): 1315.
91. Lázár Z, Bikov A, Martinovszky F, Gálffy G, Losonczy G, Horváth I (2014) Exhaled breath temperature in patients with stable and exacerbated COPD. *Journal of Breath Research* 18;8(4):046002.
92. Vrbica Ž, Labor M, Gudelj I, Labor S, Jurić I, Plavec D (2017) MARKO study group. Early detection of COPD patients in GOLD 0 population: an observational non-interventional cohort study - MARKO study. *BMC Pulmonary Medicine*10;17(1):36.
93. Labor M, Vrbica Ž, Gudelj I, Labor S, Jurić I, Plavec D (2016) Exhaled Breath Temperature as a Novel Marker of Future Development of COPD: Results of a Follow-Up Study in Smokers. *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 13(6):741-749.
94. Kralimarkova TZ, Mincheva RK, Dimitrov VD, Gill JS, Popov TA (2010) Exhaled breath temperature and tobacco smoking. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 181: A5439.
95. Jeffery PK (2004) Remodeling and inflammation of bronchi in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*: 176-183.
96. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ (2002) Faster rise of exhaled breath temperature in asthma: a novel marker of airway inflammation? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165: 181–184.

97. Bulló M, García-Lorda P, Megias I, Salas-Salvadó J (2003) Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obesity Research* 11: 525-531.
98. Kralimarkova TZ, Rasheva M, Grigorova T (2011) Circadian variation of exhaled breath temperature in healthy subjects. *European Respiratory Journal* 38(Suppl. 55): 736.
99. Elosua R, Bartali B, Ordovas JM, Corsi AM, Lauretani F, Ferrucci L (2005) Association between physical activity, physical performance, and inflammatory biomarkers in an elderly population: the InCHIANTI study. *Journals of Gerontology. Series A. Biological Sciences and Medical Sciences* 60: 760–767.
100. Reuben DB, Judd-Hamilton L, Harris TB, Seeman TE (2003) The associations between physical activity and inflammatory markers in high-functioning older persons: MacArthur studies of successful aging. *Journal of the American Geriatrics Society* 51: 1125–1130.
101. Nicklas BJ, Hsu FC, Brinkley TJ, Church T, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Pahor M(2008) Exercise training and plasma C-reactive protein and interleukin-6 in elderly people. *Journal of the American Geriatrics Society* 56: 2045–2052.
102. Geffken DF, Cushman M, Burke GL, Polak JF, Sakkinen PA, Tracy RP (2001) Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population. *American Journal of Epidemiology* 153: 242–250.
103. Tufvesson E, Svensson H, Ankerst J, Bjermer L (2013) Increase of club cell (Clara) protein (CC16) in plasma and urine after exercise challenge in asthmatics and healthy controls, and correlations to exhaled breath temperature and exhaled nitric oxide. *Respiratory Medicine* 107: 1675-1681.
104. Carpagnano GE, Lacedonia D, Spanevello A, Martinelli D, Saliani V, Ruggieri C, Foschino-Barbaro MP (2014) Exhaled breath temperature in NSCLC: could be a new non-invasive marker? *Medical Oncology* 31(5): 952.
105. Carpagnano GE, Lacedonia D, Spanevello A, Cotugno G, Saliani V, Martinelli D, Foschino-Barbaro MP (2015) Is the exhaled breath temperature in lung cancer influenced by airways neoangiogenesis or by inflammation? *Medical Oncology*. 32(10): 237.
106. Carraro S, Piacentini G, Lusiani M, Uyan ZS, Filippone M, Schiavon M, Boner, AL, Baraldi E(2010). Exhaled air temperature in children with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Pulmonology* 45: 1240-1245.

107. Dimov P, Labor M, Plavec D. Fraction of air coming from conductive airways has the negative balance in heat dissipation after maximal effort exercise—a physiological basis for exercise-induced bronchoconstriction. *J Breath Res.* 2019 Aug 20;13(4):046011. doi: 10.1088/1752-7163/ab3254. PMID: 31307029. *ume on one side and the temperature of exhaled air on the other can vary significantly.*
108. Tufvesson E, Nilsson E, Popov TA, Hesselstrand R, Bjermer L. Fractional exhaled breath temperature in patients with asthma, chronic obstructive pulmonary disease, or systemic sclerosis compared to healthy controls. *Eur Clin Respir J.* 2020;7(1):1747014. Published 2020 Apr 12. doi:10.1080/20018525.2020.1747014
109. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows (1994) Work Group on Standardization of Respiratory Function Tests. European Community for Coal and Steel. Official position of the European Respiratory Society. *Revue des Maladies Respiratoires* 11 (Suppl 3):5-40.
110. Gibson GJ (1993) Standardised lung function testing. *European Respiratory Journal* 6, 155-157.
111. Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, Malo JL (1993) Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests,. European Community for Coal and Steel. Official Statement of the European Respiratory Society. *Revue des Maladies Respiratoires* 16 (Suppl 3):53-83.
112. Popov TA. Human exhaled breath analysis (2010) *Annals of Allergy Asthma and Immunology* 106: 451– 456.
113. Popov TA, Kralimarkova TZ, Tzachev CT, Dunev SS, Dimitrov VD, Gill J (2010) Development of an Individual Device for Exhaled Breath Temperature Measurement. *IEEE Sensors Journal* 10: 110-113.
114. Pepys MB, Hirschfield GM (2003). C-reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation* 111 (12): 1805–12. doi:10.1172/JCI18921.
115. McNab BK (1997) On the Utility of Uniformity in the Definition of Basal Rate of Metabolism. *Physiological Zoology* 70 (6): 718–720. doi:10.1086/515881.
116. Bisdee JT. James WPT (1983) Whole body calorimetry studies in the menstrual cycle (oralno priopćenje). New York: Fourth International Conference on Obesity.

117. Harris J, Benedict F (1918) A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *PNAS* 4 (12): 370–373. doi:10.1073/pnas.4.12.370.
118. American Thoracic Society, European Respiratory Society (2005) . ATS/ERS Recommendations for Standardized procedures for online and offline measurement of exhaled lower respiratory and nasal nitric oxide. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 171:912-930.
119. De Prins S, Marcucci F, Sensi L, Van de Mierop E, Nelen V, Nawrot TS, Schoeters G, Koppen G (2014) Exhaled nitric oxide and nasal tryptase are associated with wheeze, rhinitis and nasal allergy in primary school children. *Biomarkers* 19 (6): 481–487. doi:10.3109/1354750x.2014.937362.
120. Jacobs L, Nawrot TS, de Geus B, Meeusen R, Degraeuwe B, Bernard A, Sughhis, M, Nemery, B, Int Panis LLR (2010) Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. *Environmental Health* 9 (64): 64. doi:10.1186/1476-069X-9-64.
121. SG, Opperhuizen A, Steerenberg PA (1999) Air pollution is associated with increased level of exhaled nitric oxide in nonsmoking healthy subjects. *Archives of Environmental Health* 54 (5): 331–335. doi:10.1080/00039899909602496.
122. Adar SD, Adamkiewicz G, Gold DR, Schwartz J, Coull BA, Suh H (2007) Ambient and microenvironmental particles and exhaled nitric oxide before and after a group bus trip. *Environmental Health Perspectives* 115 (4): 507–512. doi:10.1289/ehp.9386.
123. Bos, I, De Boever P, Vanparijs J, Pattyn M, Panis LI, Meeusen R (2013) Subclinical effects of aerobic training in urban environment. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 45 (3): 439-447. doi:10.1249/MSS.0b013e31827767fc
124. Malinowski A, Janson C, Holmkvist T, Norbäck D, Meriläinen P, Högman M. Effect of smoking on exhaled nitric oxide and flow-independent nitric oxide exchange parameters. *EuRespir J*. 2006 Aug;28(2):339-45. doi: 10.1183/09031936.06.00113705. Epub 2006 Apr 26. PMID: 16641119
125. Kralimarkova TZ (2012) Effect of energy food intake on exhaled breath temperature in healthy subjects. *European Respiratory Journal* 40: 631.
126. Baile EM, Dahlby RW, Wiggs BR, Pare PD (1985) Role of tracheal and bronchial circulation in respiratory heat exchange. *Journal of Applied Physiology* 58: 217–222.

127. Solway J, Leff ID, Dresha I, Muñoz NN, Ingenito EP, Michaels D, Ingram RH, Drazen JM (1986) Circulatory heat sources for canine respiratory heat exchange. *Journal of Clinical Investigations* 78: 1015–1019. doi: 10.1172/JCL112655.
128. Serikov VB, Fleming NW (2001) Pulmonary and bronchial circulations: contributions to heat and water exchange in isolated lungs. *Journal of Applied Physiology* 91:1977–1985.
129. McFadden ER Jr, Pichurko BM, Bowman KF, Ingenito E, Burns S, Dowling N, Solway J(1985) Thermal mapping of the airways in humans. *Journal of Applied Physiology* 58: 564–570.
130. Cole P (1954) Recordings of respiratory temperature. *The Journal of Laryngology and Otology* 68: 295-307.
131. Yadav BS, Bade G, Guleria R, Talwar A. Exhaled Breath Temperature and Systemic Biomarkers for Assessment of Airway Inflammation in Asthmatics. *J Assoc Physicians India*. 2021 Jul;69(7):11-12. PMID: 34431272.
132. Kralimarkova TZ, DuBuske LM, Garcia G, et al. Association between airway hyperresponsiveness and exhaled breath temperature. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(Suppl.):AB224
133. Bade G, Gupta S, Kabra SK, Talwar A. Slower rise of exhaled breath temperature in cystic fibrosis. *Indian Pediatr*. 2015 Feb;52(2):125-7. doi: 10.1007/s13312-015-0585-2. PMID: 25691179.
134. Logie KM, Kusel MM, Sly PD, Hall GL (2011) EBT in children is influenced by room temperature and lung volume. *Pediatric Pulmonology* 46: 1062-1068.
135. Carpagnano GE, Radaeli A, Lacedonia D, Correale M, Carpagnano G, Palmiotti A, Barbaro MPF, Di Biase M, Brunetti N, Scioscia G, Malerba M. Exhaled Nitric Oxide and Exhaled Breath Temperature as Potential Biomarkers in Patients with Pulmonary Hypertension. *Biomed Res Int*. 2018 Aug 26;2018:7292045. doi: 10.1155/2018/7292045. PMID: 30225263; PMCID: PMC6129334.
136. Kharitonov SA, Barnes PJ (2006) Exhaled biomarkers. *Chest* 130(5): 1541-1546.

8. POPIS SLIKA I TABLICA

Slike:

Slika 1. Testiranje ispitanika na AirFract uređaju.....	4
Slika 2. Dišni putovi.....	7
Slika 3. Rasponi temperature prema objavi MHRA-e.....	13
Slika 4. X-Halo uređaj.....	30
Slika 5. Uređaj FracTAir: tlačni kompresor (lijevo) i tijelo uređaja (desno).....	34
Slika 6. Mjerna komorica uređaja FracTAir s temperaturnim senzorima i valvulama.....	32
Slika 7. Sučelje programske podrške uređaja FracTAir 1.....	35
Slika 8. Sučelje programske podrške uređaja FracTAir 2.....	336
Slika 10. Shematski prikaz temperaturnih senzora i valvula.....	38
Slika 11. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu prve frakcije (T1MAX KOR_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti.....	69
Slika 12. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu druge frakcije (T2MAX KOR_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti.....	69
Slika 13. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu standardiziranu temperaturu (T MAX STAN_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti.....	70
Slika 14. Regresijski pravac za maksimalnu prosječnu korigiranu temperaturu treće frakcije (T3MAX KOR_ASV1); crtkane linije bliže pravcu predstavljaju 95 % CI za regresijski pravac, a one dalje od pravca 95 % CI za predviđene vrijednosti.....	70

Tablice:

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitanika (N = 55).....	40
Tablica 2. Usporedba ambijentalne temperature i bazalnog metabolizma prvog i drugog dana mjerenja između muškaraca i žena (N = 55)	41
Tablica 3. Usporedba rezultata mjerenja krvnih pretraga ispitanika prvog i drugog dana mjerenja (N = 55)	41
Tablica 4. Osnovna obilježja okolišnih uvjeta.....	42
Tablica 5. Osnovna obilježja plućne funkcije ispitanika (N = 55)	43
Tablica 6. Osnovna obilježja višestrukih mjerenja temperature ispitanika mjerene na različitim mjestima (aksilarno, čelo, uho, usta) te temperature izdaha mjerene uređajem X-halo.....	44
Tablica 7. Volumen izdahnutog zraka pri višestrukome mjerenju frakcionirane temperature izdaha u ispitanika (N = 55), uz usporedbu prvog i drugog dana mjerenja.....	45
Tablica 8. Temperature frakcija izdahnutog zraka pri višestrukome mjerenju frakcionirane temperature izdaha u ispitanika (N = 55), uz usporedbu prvog i drugog dana mjerenja.....	46
Tablica 9. Izračunate srednje vrijednosti temperatura izdaha, disipacije topline (razlike temperature za taj dio izdahnutog volumena) te temperature mjerene na čelu i u uhu, a koje se nisu statistički značajno mijenjale između vizita (N = 55).....	49
Tablica 10. Razlika između izmjerenih korigiranih uprosječenih temperatura izdaha (Tmax AS, T1 max AS, T2 max AS, T3 max AS) i uprosječene minimalne temperature (T min AS) između muškaraca i žena.....	50
Tablica 11. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T max AS u univarijatnoj analizi	51
Tablica 12. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T1 max AS u univarijatnoj analizi	52
Tablica 13. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T2 max AS u univarijatnoj analizi	54

Tablica 14. Prikaz razine povezanosti za varijable za koje je utvrđena statistički značajna povezanost s T3 max AS u univarijatnoj analizi	56
Tablica 15. Povezanost maksimalne temperature prve frakcije (T1 max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvoga dana (N = 53, ANCOVA).....	57
Tablica 16. Povezanost maksimalne temperature prve frakcije (T1 max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugoga dana (N = 53, ANCOVA).....	59
Tablica 17. Povezanost maksimalne temperature druge frakcije (T2 max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvoga dana (N = 53, ANCOVA).....	60
Tablica 18. Povezanost maksimalne temperature druge frakcije (T2 max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugog dana (N = 53, ANCOVA)	61
Tablica 19. Povezanost maksimalne temperature treće frakcije (T3 max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvoga dana (N = 53, ANCOVA).....	62
Tablica 20. Povezanost maksimalne temperature treće frakcije (T3 max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugog dana (N = 53, ANCOVA)	63
Tablica 21. Povezanost maksimalne standardizirane temperature (T max AS_1) prvog dana s varijablama mjerenima prvog dana (N = 53, ANCOVA)	64
Tablica 22. Povezanost maksimalne standardizirane temperature (T max AS_2) drugog dana s varijablama mjerenima drugog dana (N = 53, ANCOVA)	65
Tablica 23. Predviđene temperature izdaha pri 22 °C te 95 % intervalima pouzdanosti (CI) za svaku od frakcija temperatura izdaha te za standardnu temperaturu.....	66
Tablica 24. Povezanost disipacije topline 1. frakcije s nezavisnim varijablama (N = 53, ANCOVA).....	69
Tablica 25. Povezanost disipacije topline 2. frakcije s nezavisnim varijablama (N = 53, ANCOVA).....	70
Tablica 26. Povezanost disipacije topline 3. frakcije s nezavisnim varijablama (N = 53, ANCOVA).....	71

9. POPIS PRILOGA

Prilog 1. Informirani pristanak.....	111
Prilog 2. Upitnik o navikama i demografskim karakteristikama ispitanika.....	117
Prilog 3. Tablica analize univarijatne povezanosti pojedinačnih varijabli.....	119
Prilog 4. Extended summary, english version.....	123

10. POPIS KRATICA I SIMBOLA

AS – aritmetička sredina

ATS – Američko torakalno društvo

ATP – adenzin trifosfat

BD – bronhodilatator

BMI – indeks tjelesne mase

BMR – bazalni metabolizam

CC16 – Clara stanični sekretorni protein 16

CO₂ – ugljični dioksid

CRP-C – reaktivni protein

DF – stupnjevi slobode

DLCO – difuzijski kapacitet za ugljični monoksid

EBT – temperatura izdahnutog zraka

ERS – Europsko torakalno društvo

F – vrijednost testa

fEBT – frakcionirana temperatura izdahnutog zraka

FeNO – frakcija izdahnutog dušikova oksida

FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi

FVC – forsirani vitalni kapacitet

GOLD – Globalna inicijativa za kroničnu opstruktivnu plućnu bolest

hs-CRP – visoko osjetljivi C-reaktivni protein

IC – inhalacijski kapacitet

ICS – inhalacijski kortikosteroid

IL-6 – interleukin 6

IOS – impulsna oscitometrija

IQR – interkvartilni raspon

KKS – kompletna krvna slika

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

MBNW – metoda višestrukog ispiranja daha dušikom (engl. *multiple breath nitrogen washout*)

MEF 50 % – maksimalni ekspiratorni protok pri 50 % volumena pluća

MEF 25 % – maksimalni ekspiratorni protok pri 25 % volumena pluća

NO – dušični monoksid

NSCLC – nesitnostanični karcinom pluća

S – sobna

SABA – kratkodjelujući β_2 agonist

SD – standardna devijacija

V – vanjska

V1 – vizita 1

V2 – vizita 2

VEGF – vaskularni endotelni čimbenik rasta

PMF – sila koja pokreće protone (engl. *Proton Motive Force*)

PRM – metoda mapiranja parametrijskog odgovora (engl. *parametric response mapping*)

SSc – sustavna skleroza

T – temperatura

TBC – tuberkuloza

TLC – ukupni kapacitet pluća

Tmax – maksimalna temperatura

Tmin – minimalna temperatura

T1 max – maksimalna temperatura prve frakcije izdahnutog zraka

T2 max – maksimalna temperatura druge frakcije izdahnutog zraka

T3 max – maksimalna temperatura treće frakcije izdahnutog zraka

T3/T1 – omjer između temperatura treće i prve frakcije izdahnutog zraka

VA – alveolarni volumen

VC – vitalni kapacitet

11. ŽIVOTOPIS

Ivana Huljev Šipoš rođena je 19. 11. 1983. godine u Šibeniku. Osnovnu školu završila je u Primoštenu. Školovanje nastavlja na prirodoslovno-matematičkoj gimnaziji u Šibeniku. Medicinski fakultet upisala je 2002. godine u Zagrebu, a diplomirala je 2008. godine. Nakon odrađenog staža u Općoj bolnici Šibensko-kninske županije i nakon položenog državnog ispita 2009. godine, radila je godinu dana kao liječnik obiteljske i hitne medicine u Blatu i Veloj luci na otoku Korčuli, potom u Slunju i Gospiću te tri godine na Zavodu za hitnu pomoć u Šibeniku. Specijalističko usavršavanje iz pulmologije u Općoj bolnici Šibensko-kninske županije započinje 2013. godine. Naslov specijalist pulmolog stječe 2018. godine, a 2015. godine upisuje doktorski studij na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, smjer Biologija. Od 2020. godine do danas radi kao specijalist pulmolog u Kliničkoj bolnici Dubrava. Udana je i majka dvoje djece.

Prilog 1.
INFORMIRANI PRISTANAK

Naziv ispitivanja: „Validacija mjerenja frakcionirane temperature izdaha te njezina povezanost s različitim endogenim, egzogenim te okolišnim čimbenicima kod zdravih ispitanika“

Glavni ispitivač: izv. prof. dr. sc. Davor Plavec, dr. med.

Broj telefona: +385 1 6391 178

E-mail: plavec@bolnica-srebrnjak.hr

Adresa ustanove: Dječja bolnica Srebrnjak

Srebrnjak 100,

10 000 Zagreb, Hrvatska

Pozvani ste da sudjelujete u ispitivanju u kojem će se mjeriti frakcionirana temperatura izdaha aparatom FractAir te će se također izvršiti neka druga mjerenja što će Vam u daljnjem tekstu biti objašnjeno. Ovaj informirani pristanak sadrži informacije koje će Vam pomoći da odlučite želite li sudjelovati u ispitivanju. Prije nego što odlučite želite li sudjelovati u ispitivanju, važno je da pročitate i razumijete sljedeće informacije. Uzmite vremena koliko trebate, pročitajte pažljivo ovaj dokument i pitajte liječnika bilo koje pitanje koje Vas zanima.

On će Vam objasniti sve vezano za ovo ispitivanje i vodit će Vas kroz ovaj informirani pristanak.

Ovaj dokument objašnjava svrhu, procedure, rizike, dobrobiti, nelagode i mjere opreza pri ovom ispitivanju. Liječnik ispitivač ne može dati nikakva obećanja o tome kakvi će biti rezultati ovoga ispitivanja.

Ovaj informirani pristanak možete odnijeti kući i razgovarati s članovima obitelji i/ili sa svojim obiteljskim liječnikom.

Ako niste potpuno iskreni s liječnikom u vezi svoje povijesti bolesti, ovo ispitivanje može dovesti do pogrešnih rezultata ispitivanja.

Sukob interesa

Sukob interesa je okolnost pri kojoj različiti interesi mogu utjecati na pacijentove odluke. Na primjer, sukob interesa liječnika može uključivati sukob interesa koji može proizlaziti iz njegove različite pozicije kao Vašeg liječnika i liječnika istraživača ili može uključivati

financijska pitanja. Liječnik ispitivač treba slijediti preporuke lokalnih vlasti za sprečavanje sukoba interesa prije nego što bude odobreno provođenje ovog ispitivanja. Razlog je da bi bili sigurni da provođenje ispitivanja i prijavljivanje rezultata neće biti pod utjecajem sukoba interesa.

Multicentrično sudjelovanje

Molimo Vas obavijestite svog liječnika ispitivača ako sudjelujete u nekom drugom kliničkom ispitivanju.

1. Uvod

Temperatura izdahnutog zraka (EBT) je neinvazivna metoda s potencijalom uvođenja u kliničku praksu. Dosadašnja istraživanja u zdravoj populaciji te u bolesnika s bolestima dišnog sustava utvrdila su da je EBT biomarker upale i prokrvljenosti dišnih putova i da ne ovisi o tjelesnoj temperaturi. Nova tehnologija omogućuje frakcionirano mjerenje EBT-a, čime se mjeri temperatura pojedinačnih frakcija izdahnutog zraka iz različitih dijelova dišnog sustava. U ovom istraživanju na zdravim, odraslim ispitanicima utvrdile bi se referentne vrijednosti za temperaturu pojedinih frakcija izdahnutog zraka, ponovljivost i utjecaj individualnih karakteristika i navika te povezanost s markerima upale.

2. Što trebam znati o FractAir aparatu?

Frakcionirano mjerenje temperature izdaha je nova metoda za koju se koristi aparat FractAir.

Postupak je jednostavan, nije bolan i ne uključuje uzimanje lijekova.

Proizvod je siguran za uporabu i zadovoljava medicinske internacionalne standarde sigurnosti.

3. Zašto se provodi ovo ispitivanje?

Cilj ovog ispitivanja je utvrditi referentne vrijednosti za temperaturu različitih frakcija izdahnutog zraka u zdravih ispitanika i povezanost s demografskim karakteristikama ispitanika, navikom pušenja, testovima plućne funkcije, tjelesnom aktivnošću, prehranom, parametrima upale (sustavnim i lokalnim), bazalnim metabolizmom i različitim okolišnim parametrima.

4. Tko može sudjelovati u ovom ispitivanju?

Zdravi ispitanici stariji od 18 godina, oba spola.

5. Tko ne bi trebao sudjelovati u ovom ispitivanju?

Oni koji u trenutku uključivanja boluju od akutne ili kronične bolesti gornjih ili donjih dišnih putova i/ili pluća, kao i drugih akutnih ili kroničnih sustavnih upalnih bolesti te ako nisu u mogućnosti izvesti dijagnostički protokol.

6. Kako i gdje će se provoditi ovo ispitivanje?

Ispitivanje će se provoditi u Dječjoj bolnici Srebrnjak. Ispitivanje uključuje ukupno tri posjeta u jednom tjednu.

Pri incijalnom posjetu, a nakon potpisivanja informiranog pristanka, provest će se sljedeća obrada ispitanika.

Ispitanici će samostalno popuniti upitnik s pitanjima o navikama (pušenje, tjelesna aktivnost, prehrana) i osobnim podacima (datum rođenja, spol, mjesto boravka u odnosu na glavnu prometnicu).

Potom će učiniti testove plućne funkcije (spirometrija s bronhodilatacijskim testom, frakcija izdahnutog dušikova oksida – FeNO), mjerenje temperature (u uhu, u pazušnoj jami, u ustima i na koži čela), mjerenje bazalnog metabolizma, uzet će se kapilarna krv za laboratorijsku obradu (kompletna krvna slika i visoko osjetljivi C-reaktivni protein), izmjerit će se vanjski uvjeti (temperatura, vlažnost i tlak zraka u sobi i vani), izmjerit će se srednja uravnotežena temperatura izdahnutog zraka X-halo uređajem te u pet odvojenih pokušaja izmjerit će se temperatura izdahnutog zraka uređajem za fracionirano mjerenje temperature izdaha. Sva mjerenja, osim plućne funkcije, bit će ponovljena i tijekom sljedećih dvaju dana. Ispitanici će također voditi dnevnik prehrane i aktivnosti.

Testovi koji će biti učinjeni uključuju:

1. spirometriju s bronhodilatacijskim testom

Plućna funkcija ispitanika izmjerit će se standardnom metodom spirometrije na spirometru MasterScreen-Jager u skladu sa službenim preporukama Europskog respiratornog društva.

Mjerit će se spirometrijski parametri koji ukazuju na opstruktivske/restruktivske smetnje ventilacije: FVC – forsirani vitalni kapacitet (izražen kao u L te kao % očekivane vrijednosti), FEV1 – forsirani ekspiracijski volumen u 1. sekundi (izražen u L/sek te kao % očekivane vrijednosti), PEF – vršni ekspiracijski protok (izražen u L te kao % očekivane vrijednosti), FEV1/FVC (Tiffeneauov indeks – izražen kao postotak). Bronhodilatacijski test učinit će se udisanjem kratkodjelujućeg inhalacijskog bronhodilatatora (400 µg salbutamola) te će se ponoviti mjerenje plućne funkcije za 20 min.

2. srednju uravnoteženu temperaturu izdahnutog zraka

Mjerit će se temperatura izdahnutog zraka pomoću X-halo uređaja (Delmedica Investments, Singapur). To je jednostavan uređaj kod kojeg se zrak udahnut kroz nos izdiše kroz usta izravno u uređaj tijekom jedne do pet minuta dok se ne postigne stabilna temperatura izdaha izražena u °C, uz preciznost od 0,01 °C.

3. biomarkere krvi

Uzorak kapilarne krvi (kap kapilarne krvi iz jagodice prsta) bit će u tri navrata, tri uzastupna dana, uzet iz ispitanikovog prsta te će se u kliničkom laboratoriju učiniti kompletna krvna slika i visoko osjetljiv C-reaktivni protein.

4. frakcioniranu temperaturu izdahnutog zraka

Mjerit će se temperature različitih frakcija izdahnutog zraka metodom jednog izdaha, u pet ponavljanja, koji će biti vremenski udaljeni jedan sat. Uređaj za mjerenje automatski usmjerava različite frakcije izdaha na toplinski senzor koji mjeri temperaturu izdaha u realnom vremenu. Uređaj omogućava ponavljanje mjerenja nakon deset minuta, koliko je potrebno za stabilizaciju temperature toplinskog senzora na temperaturu zraka u prostoriji.

5. mjerenje bazalnog metabolizma

Razina bazalnog metabolizma (RMR) mjerit će se uređajem FitMate (Cosmed, Rome, Italy). Mjerenje će se provesti rano ujutro prije bilo kojeg obroka u ležećem položaju uz oronazalnu masku kroz koju će ispitanici mirno spontano disati kroz 5'30" (30 sek za kalibraciju uređaja i 5 min za mjerenje RMR-a). RMR će biti izražen i kao % očekivanog prema Harris-Benedictovoj formuli (korigirano za dob, tjelesnu težinu, visinu i spol).

6. FeNO

Izdahnuta frakcija dušikova oksida (FeNO) mjerit će se uređajem HypAirFeNO (Medisoft, Sorinnes, Belgium) tijekom jednog izdaha prema ATS/ERS preporukama, pri protoku od 50 mL/sek.

7. Hoće li osobni podaci u ispitivanju biti povjerljivi?

Da. Podaci će biti povjerljivi kako je zakonski regulirano i odobreno od Etičkog povjerenstva Dječje bolnice Srebrnjak te ostalih pravnih tijela koja kontroliraju klinička ispitivanja.

8. Povlačenje informiranog pristanka ili isključenje iz studije

Potpisom informiranog pristanka nemate nikakvih obveza. Možete slobodno i bez ikakvog objašnjenja odustati od sudjelovanja u ovom ispitivanju.

9. Troškovi sudjelovanja u ovom ispitivanju / Naknada za sudjelovanje

Za sudjelovanje u ovom kliničkom ispitivanju nećete dobiti nikakvu naknadu. Procedure koje će se provoditi neće ići na trošak Vašeg zdravstvenog osiguranja. Niti Vi, niti Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje, niti bilo koji drugi osiguravatelj koji pokriva troškove Vašeg liječenja neće biti traženi da plate nijednu studijski specifičnu proceduru.

Sudjelovanje u ovom kliničkom ispitivanju je dobrovoljno.

Ovo ispitivanje je pregledano te odobreno od strane Etičkog povjerenstva Dječje bolnice Srebrnjak.

JEDAN PRIMJERAK INFORMIRANOG PRISTANKA POTREBNO JE DATI ISPITANIKU

1. Pristajem na sudjelovanje u ispitivanju „Validacija mjerenja frakcionirane temperature izdaha te njezina povezanost s različitim endogenim, egzogenim te okolišnim čimbenicima kod zdravih ispitanika“.
2. Potvrđujem da sam pročitala/pročitao i razumjela/razumio informirani pristanak za gore navedeno ispitivanje te sam razmotrila/razmotrio informacije i dobila/dobio zadovoljavajuće odgovore na postavljena pitanja.
3. Razumijem da je moje sudjelovanje dobrovoljno i da mogu povući pristanak u bilo koje vrijeme bez ikakvog razloga.
4. Razumijem da ne smijem sudjelovati u nekom drugom ispitivanju dok traje ovo ispitivanje.
5. Pristajem da mi se uzmu uzorci krvi. Shvaćam da će liječnik ispitivač poduzeti sve mjere da se zaštiti pravo na privatnost podataka.
6. Slažem se da će se osobni podaci koji budu prikupljeni u toku ispitivanja, posebno detalji o mom zdravlju, koji će se bilježiti na papiru i na elektronskim medijima za pohranu i koji će se obrađivati kao što je opisano u obrascu informiranog pristanka, moći prenijeti regulatornim tijelima nakon što osobni identifikacijski podaci budu uklonjeni.

Pročitala/Pročitao sam ovaj informirani pristanak i dobila/dobio sam odgovore na sva pitanja.

Potpisivanjem ovog pristanka ne odričem se svojih prava.

Dobit ću potpisani i datirani primjerak ovog informiranog pristanka.

Dobrovoljno pristajem na sudjelovanje u ovom ispitivanju i shvaćam da mogu povući svoj
pristanak u bilo koje vrijeme.

Potpis: _____ Datum: ____/____/____

IZJAVA LIJEČNIKA ISPITIVAČA

Osobi koja je potpisala ovaj informirani pristanak u cijelosti i pažljivo objašnjeno je ovo
ispitivanje i dobila/dobio je priliku da postavi pitanja u vezi s prirodom, rizicima i
prednostima sudjelovanja u ovom istraživanju.

Potpis: _____ Datum: ____/____/____

Glavni ispitivač: _____

*(ili osoba koja je delegirana
od strane glavnog ispitivača)*

Prilog 2. Upitnik o navikama i demografskim karakteristikama ispitanika

CRF FractAir

Vizita 1

Datum (MM/DD/YYYY): / /

Datum rođenja (MM/DD/YYYY): / / Spol: M F TT (kg): . TV (m):

Pušenje: nepušač

Bivši pušač (prestao prije više od 6 mj.)

Pušač (ili prestaio prije manje od 6 mj.)

God: / Cigareta na dan:

Zadnja cigareta u (hh:mm): :

Dnevna tjelesna aktivnost: > 1h/dan 30'-1h/dan < 30'/dan

Zadnja tjelesna aktivnost (MM/DD hh:mm): / :

Boravište: > 200 m od glavne prometnice < 200 m od glavne prometnice

Zadnji obrok u (hh:mm): : (ugljikohidrati / proteini / masti)

Temperatura zraka – Vanjska: _____ °C; Sobna: _____ °C;

Vlažnost zraka – Vanjska: _____%; Sobna: _____%;

Tlak zraka – Vanjski: _____ hPa; Sobni: _____ hPa;

Tjelesna temperatura – Aksilarna: _____ °C; Usta: _____ °C; Na čelu _____ °C;

FENO: _____ ppb

Laboratorij – L: _____, E: _____, Hb: _____, Htc: _____, CRP: _____

Plućna funkcija:

FVC _____ L, FVC _____ %, FEV₁ _____ L, FEV₁ _____ %, MEF₅₀ _____ L/s, MEF₅₀ _____ %,

MEF₂₅ _____ L/s, MEF₂₅ _____ %, PEF _____ L/s, PEF _____ %

Bazalni metabolizam: _____

EBT (X-halo): _____ °C

EBTf – 1 (hh:mm): : ; 2 (hh:mm): : ; 3 (hh:mm): : ; 4 (hh:mm): : ; 5

(hh:mm): : ;

Dnevnik prehrane

Dnevnik tjelesne aktivnosti

CRF FractAir

Vizita 2

Datum (MM/DD/YYYY): / /

Zadnja cigareta u (hh:mm): :

Dnevna tjelesna aktivnost: > 1h/dan 30'-1h/dan < 30'/dan

Zadnja tjelesna aktivnost (MM/DD hh:mm): / :

Boravište: > 200 m od glavne prometnice < 200 m od glavne prometnice

Zadnji obrok u (hh:mm): : (ugljikohidrati / proteini / masti)

Temperatura zraka – Vanjska: _____ °C; Sobna: _____ °C;

Vlažnost zraka – Vanjska: _____%; Sobna: _____%;

Tlak zraka – Vanjski: _____hPa; Sobni: _____hPa;

Tjelesna temperatura – Aksilarna: _____ °C; Usta: _____ °C; Na čelu _____ °C;

FENO: _____ppb

Laboratorij – L: _____, E: _____, Hb: _____, Htc: _____, CRP: _____

Plućna funkcija:

FVC _____L, FVC _____%, FEV₁ _____L, FEV₁ _____%, MEF₅₀ _____L/s, MEF₅₀ _____%,

MEF₂₅ _____L/s, MEF₂₅ _____%, PEF _____L/s, PEF _____%

Bazalni metabolizam: _____

EBT (X-halo): _____ °C

EBTf – 1 (hh:mm): : ; 2 (hh:mm): : ; 3 (hh:mm): : ; 4 (hh:mm): : ; 5

(hh:mm): : ;

Dnevnik prehrane

Dnevnik tjelesne aktivnosti

Prilog 3. Tablica analize univarijatne povezanosti pojedinačnih varijabli

		T MAX ST AN_A S	T MAX ST AN _ASV1	T MAX ST AN _ASV2	T_ MI N_ AS	T_ MI N_ AS_ V 1	T_ MI N_ AS_ V 2	T s obn a_ V 1	T s obn a_ V 2	T va njsk a_ V 1	T va njsk a_ V 2	T1 M AX K OR_ AS	T1 M AX K OR_ ASV1	T1 M AX K OR_ ASV2	T2 M AX K OR_ AS	T2 M AX K OR_ ASV1	T2 M AX K OR_ ASV2	T3 M AX K OR_ AS	T3 M AX K OR_ ASV1	T3 M AX K OR_ ASV2
T MAX ST AN _AS	Correla tion co efficient		0,923	0,897	0,571	0,528	0,536	0,372	0,523	0,178	0,147	0,748	0,693	0,74	0,737	0,714	0,683	0,967	0,893	0,842
	Signific ance L evel P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0051	< 0,0001	0,2022	0,2846	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T MAX ST AN _ASV1	Correla tion co efficient	0,923		0,658	0,583	0,633	0,432	0,457	0,517	0,186	0,193	0,741	0,767	0,641	0,683	0,76	0,524	0,882	0,965	0,599
	Signific ance L evel P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	0,0005	0,0001	0,1816	0,159	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T MAX ST AN _ASV2	Correla tion co efficient	0,897	0,658		0,448	0,305	0,554	0,204	0,403	0,133	0,066	0,612	0,476	0,712	0,659	0,525	0,735	0,879	0,638	0,961
	Signific ance L evel P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0006	0,0233	< 0,0001	0,1357	0,0011	0,3419	0,6307	< 0,0001	0,0002	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T_ MI N_ AS	Correla tion co efficient	0,571	0,583	0,448		0,944	0,914	0,801	0,709	0,217	0,232	0,882	0,87	0,812	0,797	0,79	0,718	0,534	0,538	0,414
	Signific ance L evel P	< 0,0001	< 0,0001	0,0006	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,1194	0,0877	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0017
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T_ MI N_ AS_ V 1	Correla tion co efficient	0,528	0,633	0,305	0,944		0,729	0,825	0,715	0,224	0,256	0,841	0,905	0,687	0,726	0,797	0,569	0,493	0,59	0,279

	Significance Level P	< 0,0001	< 0,0001	0,0233	< 0,0001		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,1073	0,0593	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	< 0,0001	0,0393	
	N	55	55	55	55		55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	
T_MIN_AS_V2	Correlation coefficient	0,536	0,432	0,554	0,914	0,729		0,648	0,758	0,172	0,167	0,795	0,692	0,84	0,761	0,659	0,791	0,501	0,392	0,517
	Significance Level P	< 0,0001	0,001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001	< 0,0001	0,219	0,2217	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	0,0031	0,0001
	N	55	55	55	55	55		55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T sobna_V1	Correlation coefficient	0,372	0,457	0,204	0,801	0,825	0,648		0,607	0,324	0,369	0,726	0,753	0,624	0,64	0,683	0,523	0,324	0,399	0,17
	Significance Level P	0,0051	0,0005	0,1357	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001	0,0178	0,0055	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0158	0,0025	0,2159
	N	55	55	55	55	55	55		55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T sobna_V2	Correlation coefficient	0,523	0,517	0,43	0,79	0,715	0,758	0,607		0,364	0,352	0,8	0,739	0,796	0,793	0,779	0,723	0,479	0,46	0,397
	Significance Level P	< 0,0001	0,0001	0,0011	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		0,0073	0,0084	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0002	0,0004	0,0027
	N	55	55	55	55	55	55	55		53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
T vanjska_V1	Correlation coefficient	0,178	0,186	0,133	0,217	0,224	0,172	0,324	0,364		0,617	0,308	0,278	0,31	0,249	0,237	0,234	0,206	0,176	0,195
	Significance Level P	0,2022	0,1816	0,3419	0,1194	0,1073	0,219	0,0178	0,0073		< 0,0001	0,0251	0,0435	0,0239	0,0719	0,088	0,0917	0,1385	0,2071	0,1624
	N	53	53	53	53	53	53	53	53		53	53	53	53	53	53	53	53	53	53
T vanjska_V2	Correlation coefficient	0,147	0,193	0,066	0,232	0,256	0,167	0,369	0,352	0,617		0,196	0,207	0,165	0,26	0,279	0,211	0,108	0,162	0,025

	Significance Level P	0,2846	0,159	0,6307	0,0877	0,0593	0,2217	0,0055	0,0084	<0,0001		0,1516	0,1295	0,2297	0,0552	0,0391	0,1224	0,432	0,2383	0,8581
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53		55	55	55	55	55	55	55	55	55
T1 MAX KOR_AS	Correlation coefficient	0,748	0,741	0,612	0,882	0,841	0,795	0,726	0,8	0,308	0,196		0,963	0,949	0,93	0,919	0,842	0,731	0,713	0,594
	Significance Level P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0251	0,1516		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55		55	55	55	55	55	55	55	55
T1 MAX KOR_ASV1	Correlation coefficient	0,693	0,767	0,476	0,87	0,905	0,692	0,753	0,739	0,278	0,207	0,963		0,828	0,862	0,917	0,709	0,677	0,743	0,457
	Significance Level P	<0,0001	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0435	0,1295	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55		55	55	55	55	55	55	55
T1 MAX KOR_ASV2	Correlation coefficient	0,74	0,641	0,712	0,812	0,687	0,84	0,624	0,796	0,31	0,165	0,949	0,828		0,921	0,834	0,917	0,724	0,61	0,697
	Significance Level P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0239	0,2297	<0,0001	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55		55	55	55	55	55	55
T2 MAX KOR_AS	Correlation coefficient	0,737	0,683	0,659	0,797	0,726	0,761	0,64	0,793	0,249	0,26	0,93	0,862	0,921		0,953	0,943	0,705	0,644	0,623
	Significance Level P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0719	0,0552	<0,0001	<0,0001	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55		55	55	55	55	55
T2 MAX KOR_ASV1	Correlation coefficient	0,714	0,76	0,525	0,79	0,797	0,659	0,683	0,779	0,237	0,279	0,919	0,917	0,834	0,953		0,798	0,671	0,716	0,476

	Significance Level P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,088	0,0391	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0002
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55		55	55	55	55
T2 MAX KOR _ASV2	Correlation coefficient	0,683	0,524	0,735	0,718	0,569	0,791	0,523	0,723	0,234	0,211	0,842	0,709	0,917	0,943	0,798		0,666	0,493	0,717
	Significance Level P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0917	0,1224	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001	0,0001	< 0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55		55	55	55
T3 MAX KOR _AS	Correlation coefficient	0,967	0,882	0,879	0,534	0,493	0,501	0,324	0,479	0,206	0,108	0,731	0,677	0,724	0,705	0,671	0,666		0,911	0,886
	Significance Level P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	0,0001	0,0158	0,0002	0,1385	0,432	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		< 0,0001	< 0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55		55	55
T3 MAX KOR _ASV1	Correlation coefficient	0,893	0,965	0,638	0,538	0,59	0,392	0,399	0,46	0,176	0,162	0,713	0,743	0,61	0,644	0,716	0,493	0,911		0,616
	Significance Level P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0031	0,0025	0,0004	0,2071	0,2383	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0001	< 0,0001		< 0,0001
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55		55
T3 MAX KOR _ASV2	Correlation coefficient	0,842	0,599	0,961	0,414	0,279	0,517	0,17	0,397	0,195	0,025	0,594	0,457	0,697	0,623	0,476	0,717	0,886	0,616	
	Significance Level P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0017	0,0393	0,0001	0,2159	0,0027	0,1624	0,8581	< 0,0001	0,0005	< 0,0001	< 0,0001	0,0002	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
	N	55	55	55	55	55	55	55	55	53	55	55	55	55	55	55	55	55	55	

VALIDATION OF THE FRACTIONAL EXHALED BREATH TEMPERATURE MEASUREMENT AND ITS ASSOCIATION WITH DIFFERENT INTRINSIC, EXTRINSIC AND ENVIRONMENTAL FACTORS IN HEALTHY SUBJECTS

The economic burden that chronic respiratory diseases pose to society, merits basic and clinical research into inflammatory respiratory diseases. Yet, no method that is simple, inexpensive and patient friendly has been put in place in routine clinical practice. Exhaled breath temperature (EBT) measurement has been proposed as a non-invasive method for detecting inflammatory processes in airways resulting from the change in airway's blood flow and temperature dissipation (heat dissipation on different respiratory departments).

Because EBT is measured within a narrow range, thermometers designed for this purpose must be accurate and highly sensitive. The main advantage of the EBT measurement method would be to determine EBT in the resting phase of the disease, which would serve to assess acute changes such as acute exacerbations and pneumonias. In addition, EBT measurement can also be used for monitoring the progression of the chronic disorders like COPD (monitoring the process of destruction of the lung parenchyma). The method using the X-halo® device already showed its potential in several chronic lung disorders and lung carcinoma, and has reference values published. The problem with X-halo® method is that we can't differentiate where the change in airways happened (central or peripheral airways).

The latest EBT measurement technology, used in our research, enables measurement of the fractions of the EBT, which means that it can measure the temperature of the individual part of EBT (central and peripheral airways).

The main hypothesis of our research was that the temperature of the exhaled fraction from the central airways is lower and more variable than the temperature from the periphery of the airwaves.

The secondary hypothesis was that the fraction of exhaled breath temperature from the central airways significantly correlates with body temperature measured on characteristic body sites.

The main goals were:

1. to determine the correlation of fEBT with the body temperature on typical sites,
2. to determine the repeatability of measured fEBT,
3. to determine the connection between different fEBT with breath temperature measured with the X-Halo® device.

The secondary goal was to determine the connection between the temperature of different fractions with: demographic characteristics of participants, lung function, physical activity, diet, inflammatory and hemoconcentration parameters, basal metabolism rate and different environmental parameters.

Materials and methods

This was cross-sectional study of healthy volunteers. The study was approved by the Ethics Committee of the Srebrnjak Children's Hospital at its session on May 9, 2017 and the Ethics Committee of the Faculty of Medicine University of Zagreb at its session on January 25, 2018, and all participants signed the written informed consent form.

The trial was divided in total of 3 visits done on consecutive days and conducted as follows:

1. Initial visit, included signing of informed consent, subcompletion of questionnaire with questions about daily habits (physical activity, diet), personal data (date of birth, gender) and geographical characteristics of respondents (place of residence and the relation to the main road). And a brief personal history was taken to exclude respondents suffering from acute or chronic inflammatory diseases of the lungs , cardiovascular, digestive and locomotor systems.
2. Second visit included:
 - a. pulmonary function tests (spirometry, bronchodilation test, fraction of exhaled nitric oxide-FeNO)), temperature measurement (in the ear, in the armpit, on the skin of the forehead) provided that the temperature in the ear and on the skin of the forehead is measured before each fEBT measurement. Measurement of basal metabolism was also performed.
 - b. Taking capillary blood for laboratory processing, complete blood count (CBC), high sensitive C reactive protein (hsCRP)

- c. Measuring environmental conditions during experiment (temperature, humidity and air pressure out and inside)
- d. Measuring the EBT with X-halo® device
- e. Measurement of fractionated EBT by FractAir® device , in 5 separate attempts.

3. During the third visit, all measurements from the second visit were repeated using the same routine except spirometry with bronchodilator test.

Basal metabolic rate (BMR), body temperature measurement and EBT were measured in a separated air conditioned room to ensure stable ambient conditions.

The study was conducted on site at the Srebrenjak, Children hospital, (department of pulmonary function and department of laboratory diagnostic).

The study recruited 55 healthy volunteers that were selected according to prespecified inclusion and exclusion criteria.

A sample size of at least 30 subjects was calculated based on literature data where the difference between the correlation coefficients was used as a basis for calculating the sample size by using the statistical software package STATISTICA ver.12. The following data were used to calculate the sample size: statistical power of 80% and $\alpha = 0.05$, and the difference between the expected correlation for body temperature measured at different typical sites ($r=0.70$) and the correlation of body temperature and exhalation temperature ($r=0.10$). In order to ensure a sufficient stated minimum sample size ($n = 30$) and to avoid the need for stratification by age and sex, an experimental setting was selected to reduce variability: 1.) stable ambient temperature for measurement of about 22 °C, 2.) measurement of BMR every morning (excludes the influence of gender, phase of the menstrual cycle and age of the subjects), and 3.) exclusion of smokers. The final sample size of 55 subjects was used to improve precision and lessen the variability.

Inclusion criteria were: healthy subjects aged 18 to 45 years, both sexes, volunteers. The health condition of the subjects was determined on the basis of personal medical history and on the results of measured inflammatory parameters.

Exclusion criteria: subjects suffering from acute or chronic upper or lower respiratory and/or lung disease (COPD, asthma, TB, respiratory infections...), as well as other acute or chronic systemic inflammatory disorders at the time of inclusion (e.g. rheumatic diseases,

disorders of the cardiovascular system, elevated inflammatory parameters...), and if unable to perform a diagnostic protocol.

Fractional exhaled breathe temperature

Fractional EBT was measured using a FractAir® device. The FractAir® device consists of a body, a pressure compressor and a measuring chamber containing fast-reactive valves and temperature sensors. The software part consists of an application in which personal data about the subject is entered before the measurement (name, age, height, weight, gender, blood pressure, smoking history, other relevant diagnoses and EBT measured by X-halo® device). Also, planned percentages of exhaled air fractions which should be measured are set. During exhalation, the program records curves in different colors on the screen that correspond to the temperatures of different fractions. The following conditions must be met in the laboratory: room temperature around 22 °C, the measuring chamber must not be exposed to direct sunlight or air current (air conditioning, drafts...) and must not be near heat sources. The device was each day calibrated for temperature and volume using a 3L calibration syringe.

The measurement procedure begins by placing a clamp on the nose of the subject who then exhales through the mouth outside the device, then puts the mouthpiece of the device in his mouth and inhales deeply and continues to exhale calmly through the device until the end of the measurement.

The measuring device automatically directs different exhalation fractions through channels in the plastic chamber to sensitive thermal sensors that measure the temperature of each exhalation fraction in real time. During the initial deep breath through the chamber, the volume of inhaled air is measured to set exhaled air fractions according to preset percentages, the valves open automatically to let out the air from each portion of the respiratory system, (i.e. central and peripheral). In our study, we selected fractions of 10%, 20% and 70%, which would represent temperatures of exhaled air from the physiological dead space (10% of slow vital capacity (VC)), functional dead space (20% of VC), and finally the temperature from the periphery (last 70% of VC). In addition to volume, the device measures the lowest (Tmin) and highest (Tmax) recorded temperature throughout exhalation, as well as the highest measured temperatures of the first (T1max), second (T2max) and third (T3max) fractions. The value of Tmax represents the highest value of temperature in the third fraction.

A standardized temperature was also calculated, representing the temperature of the third fraction standardized to the lowest exhalation volume in one subject (the lowest from 10 measurements done) to account for the changes in exhalation volume between the measurements.

In addition to the listed parameters that the device automatically measures, we calculated a parameter called "heat dissipation" for each of the exhaled air fractions. Heat dissipation for the first fraction indicates the difference between the T1max and Tmin. Heat dissipation for the second fraction means the difference between T2max and T1max, while heat dissipation for the third fraction means the difference of T3max and T2max. In the event of the technical error the device allows repeating the measurement after 10 minutes, because that is how much is needed to stabilize the temperature of the thermal sensors to the room air temperature.

Statistical data analysis - The normality of the distribution of numerical data was tested by the Kolmogorov-Smirnov test. Numerical data are expressed by arithmetic mean (AS) and standard deviation (SD), (median and interquartile range (IQR)), depending on the type of distribution. Data on set indicators are expressed in number and percentage. Comparison between dependent variables (repeated measurements) was determined depending on the distribution by t-test for paired samples, Wilcox test, variance analysis (ANOVA) for repeated measurements or Friedman test. Since the variables measured fEBT, maximum standardized temperature, minimum temperature and maximum corrected temperature, they did not differ significantly between measurements and between days, the average values for each day and for both days of measurement were calculated and used in further analysis. The correlation of individual variables was determined using one-way correlation analysis and covariance analysis (ANCOVA). Planned machine learning methods (uncontrolled clustering using the support vector method and nonlinear regression with possible development of a predictive model of individual EBT fractions) were not additionally used in the data analysis due to small sample and balance of consecutive fEBT measurements. . Statistical analysis was conducted in the statistical software package Statistica version 12 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK). The results of comparisons and correlations with the level of significance $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

The hypothesis that the exhalation temperature of the fraction from the central airways is lower and more variable than that from the peripheral airways has been confirmed. The auxiliary hypothesis that the exhalation temperature from the central respiratory system is statistically significantly positively connected with the body temperature measured at characteristic points has been refuted. Temperatures measured at characteristic sites (axillary, tympanic, and otic) do not correlate with any of the EBT fraction temperatures. We found that there was repeatability of measurements (no difference was found between consecutive fEBT measurements during the same day and also there was no difference compared to the measurement on the second day). The reference values for the temperature of the first fraction, at an outdoor air temperature of 22 ° C are from 20,331 to 26,614 ° C (mean value 23,481 ± 3,150 ° C), and when the ambient temperature changes by 1 ° C there is a change in the reference values for 0.594 ° C (95% CI, 0.451-0.736 ° C). The reference values for the temperature of the second fraction are from 22,090 to 30,138 ° C (mean value 26,114 ± 4,024 ° C) at an outdoor temperature of 22 ° C and when the temperature changes by 1 ° C there is a change in the reference values by 0,621 ° C % CI, 0.438-0.804 ° C). The reference values for the temperature of the third fraction are from 24,896 to 31,538 ° C (mean value 28,216 ± 3,321 ° C) at an outdoor air temperature of 22 ° C, when the ambient temperature changes by 1 ° C there is a change in the reference values by 0,239 ° C 95% CI, 0.088-0.390 ° C). The reference values for the standardized maximum temperature are from 24.589 to 31.365 ° C (mean 27.977 ± 3.388 ° C) at an outdoor temperature of 22 ° C and when the outdoor temperature changes by one degree the reference values change by 0.287 ° C (95% CI, 0.133-0.441 ° C). Subject age, body height, body weight, BMI, and gender were not statistically significantly associated with any of the measured fEBTs in the multivariate analysis. The time since the last meal and the level of physical activity were not associated with fEBT. FeNO values were not statistically significantly related to the measured temperatures of any of the exhaled air fractions. Absolute spirometric values (FVC, FEV1, Tiff, MF50, MF25), as well as their percentages from normal, and these same parameters after the bronchodilator test were not statistically significantly associated with EBT fractions. Although some correlations were found in the univariate analysis, they were not confirmed in the multivariate model. A significant association was found between heat dissipation of the third fraction and FEV1% after bronchodilator administration. BMR did not correlate with fEBT. But in the univariate analysis, the maximum, average standard temperature correlated with the basal metabolism measured on the first ($r =$

0.413, $p = 0.0017$) and second day ($r = 0.389$, $p = 0.0033$), as well as the average maximum temperature of the first fraction ($r = 0.584$, $p = <0.0001$) for the first day and ($r = 0.543$, $p = <0.0001$) for the second day, the average maximum corrected temperature of the second fraction ($r = 0.531$, $p <0.0001$) for the first and ($r = 0.497$, $p <0.0001$) for the second day and the average maximum corrected temperature of the third fraction ($r = 0.38$, $p = 0.0043$) for the first day and ($r = 0.38$, $p = 0.0043$) for the second day. This has not been confirmed in the multivariate model. The distance from the road is not related to any of the EBT fractions. The room temperature in which the measurement was performed is related to all measured EBT fractions. Humidity in the air and air pressure in the room and outside, as well as the temperature outside were not related to any of the EBT fractions. Although some correlations were found in the univariate analysis, they were not confirmed in the multivariate analysis. EBT measured by X halo® device is not associated with any of the EBT fractions. hsCRP as well as none of the parameters from blood was associated with measured fEBT. But, a statistically significant association was observed between heat dissipation from the first fraction and hsCRP on the first day of measurement. Regarding leukocytes, which in addition to CRP is also an inflammatory marker, no association was found with the temperatures of exhaled air fractions.