

STROKOVNO RAZISKOVALNO DELO

**VZPOSTAVITEV SISTEMA ZA MERJENJE VENTILACIJE
(V_E) Z UPORABO NAPRAVE BUXCO PRI KONJIH**

**ESTABLISHMENT OF A SYSTEM FOR MEASURING
VENTILATION (V_E) USING THE BUXCO DEVICE IN
HORSES**

Evelina Užmah

Ljubljana, 2026

STROKOVNO RAZISKOVALNO DELO

**VZPOSTAVITEV SISTEMA ZA MERJENJE VENTILACIJE
(V_E) Z UPORABO NAPRAVE BUXCO PRI KONJIH**

**ESTABLISHMENT OF A SYSTEM FOR MEASURING
VENTILATION (V_E) USING THE BUXCO DEVICE IN
HORSES**

Evelina Užmah

Strokovno raziskovalno delo je pripravljeno pod mentorstvom prof. dr. Modesta
Vengušta na Kliniki za reprodukcijo in velike živali Veterinarske fakultete
Univerze v Ljubljani.

Ljubljana, 2026

IZVLEČEK

Namen dela je bil vzpostaviti, standardizirati in tehnično optimizirati protokol za merjenje minutne ventilacije (V_E) pri konjih z uporabo sistema Buxco. Minutna ventilacija predstavlja integrativni funkcionalni parameter, ki odraža interakcijo med dihalnim volumnom (V_T) in frekvenco dihanja (f), ter omogoča objektivno oceno ventilacijskega odziva organizma. V raziskavo je bilo vključenih 20 odraslih konj z diagnosticirano hudo konjsko astmo (SEA), pri katerih smo meritve izvajali v dveh standardiziranih fazah: v akutni fazi po naravni bronhoprovokaciji in po aplikaciji inhalacijskega bronhodilatatorja salbutamola.

Meritve so bile izvedene z neinvazivno pnevmotahografijo z uporabo tesno prilegajoče se obrazne maske. Poseben poudarek je bil na tehnični optimizaciji merilnega procesa, vključno s standardizacijo kalibracije sistema s 7-litrskim cilindrom, kontrolo tesnjenja maske, stabilizacijo položaja glave in nadzorom artefaktov (kondenz, slina).

Rezultati so potrdili, da je sistem Buxco omogočil zanesljivo in ponovljivo merjenje ventilacijskih parametrov. V akutni fazi SEA smo zaznali značilen ventilacijski vzorec s povišano frekvenco dihanja in znižanim dihalnim volumnom, kar vodi v povečano minutno ventilacijo kot kompenzacijski mehanizem. Po aplikaciji bronhodilatatorja je prišlo do normalizacije ventilacijskega vzorca.

Ugotovili smo, da je vzpostavljeni protokol primeren za klinično in raziskovalno uporabo ter predstavlja robustno metodološko podlago za objektivno spremljanje ventilacije pri konjih.

Ključne besede: huda konjska astma (SEA), minutna ventilacija (V_E), frekvenca dihanja (f), dihalni volumen (V_T), Buxco, pnevmotahografija

ABSTRACT

The aim of this study was to establish, standardize, and technically optimize a protocol for measuring minute ventilation (V_E) in horses using the Buxco system. Minute ventilation represents an integrative functional parameter reflecting the interaction between tidal volume (V_T) and respiratory rate (f), enabling an objective assessment of the ventilatory response. The study included 20 adult horses diagnosed with severe equine asthma (SEA). Measurements were performed in three standardized phases: during acute exacerbation following natural environmental bronchoprovocation and after administration of the inhaled bronchodilator salbutamol.

Measurements were conducted using non-invasive pneumotachography with a tightly fitted face mask. Particular emphasis was placed on technical optimization of the measurement process, including standardized system calibration using a 7-liter calibration cylinder, control of mask sealing, stabilization of head position, and minimization of measurement artefacts (e.g., condensation and saliva interference).

The results demonstrate that the Buxco system enables reliable and reproducible measurement of ventilatory parameters. In the acute phase of SEA, a characteristic breathing pattern was observed, consisting of increased respiratory rate and reduced tidal volume, resulting in elevated minute ventilation as a compensatory mechanism. Following bronchodilator administration, normalization of the ventilatory pattern was recorded.

We conclude that the established protocol provides a robust and reproducible methodological framework for objective assessment of ventilation in horses and is suitable for both clinical and research applications.

Keywords: severe equine asthma (SEA), minute ventilation (V_E), respiratory rate (f), tidal volume (V_T), Buxco, pneumotachography

KAZALO VSEBINE

1. UVOD	11
1.1 NAMEN RAZISKOVALNEGA DELA IN DELOVNE HIPOTEZE	12
1.2 FIZIOLOGIJA VENTILACIJE PRI ZDRAVEM KONJU	13
1.3 PATOFIZIOLOŠKE SPREMEMBE VENTILACIJE PRI KONJIH S SEA	15
1.4 TEHNOLOŠKE OSNOVE PNEVMOTAHOGRAFIJE IN UPORABA SISTEMA BUXCO V PULMOLOGIJI KONJ	17
2. MATERIALI IN METODE	20
2.1 PROTOKOL MERITEV	20
2.2 KLINIČNO STANJE IN VKLJUČITEV KONJ V AKUTNI FAZI BOLEZNI	21
2.3 PRIPRAVA PACIENTA IN NAMESTITEV MERILNE OPREME	21
2.4 MERJENJE VENTILACIJSKIH PARAMETROV	23
2.5 INTEGRIRAN MERILNI SISTEM BUXCO IN KALIBRACIJA	25
2.6 DOKAZ REVERZIBILNOSTI ASTME Z UPORABO BRONHODILATORJA	28
3. REZULTATI	31
3.1 VZPOSTAVITEV IN STANDARDIZACIJA MERILNEGA PROTOKOLA	31
3.2 ANALIZA VENTILACIJSKIH PARAMETROV MED MERITVAMI	31
3.2.1 Akutna faza SEA in kompenzacijski mehanizmi (meritev 1)	32
3.2.2 Ventilacijski odziv na bronhodilatacijo (meritev 2)	33
3.2.3 Statistična analiza ventilacijskih parametrov	33
3.3 FUNKCIONALNA VALIDACIJA MERILNEGA SISTEMA	34
4. RAZPRAVA	37
4.1 INTERPRETACIJA VENTILACIJSKEGA ODZIVA (V_E , f , V_T)	37

4.2	METODOLOŠKE PREDNOSTI MERJENJA PRETOKA NA BUDNIH ŽIVALIH	39
4.3	DINAMIKA VENTILACIJSKEGA ODZIVA PO APLIKACIJI BRONHODILATORJA.....	39
4.4	KLINIČNI IN RAZISKOVALNI POMEN UPORABE SISTEMA BUXCO ZA MERJENJE V_E V VETERINARSKI MEDICINI.....	40
5.	SKLEPI	41
6.	ZAHVALE	42
7.	LITERATURA IN VIRI.....	43
8.	PRILOGE	46

KAZALO TABEL

Tabela 1: Referenčne vrednosti dihalnih parametrov pri odraslem zdravem konju v mirovanju (cca 500 kg)	14
Tabela 2: Povprečne vrednosti ventilacijskih parametrov (n=20).....	32
Tabela 3: Primerjava ventilacijskih parametrov pred salbutamolom in po njem	34

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz poti zraka skozi dihalni sistem konja.	16
Slika 2: Shematski prikaz sistema Buxco za neinvazivno spremljanje ventilacijskih parametrov pri konju.....	18
Slika 3: Prikaz diagnostičnega okolja in opreme za merjenje ventilacije s sistemom Buxco..	23
Slika 4: Merilni sistem Buxco s pripadajočo senzorsko in računalniško opremo za funkcionalno diagnostiko.	28
Slika 5: Praktična uporaba inhalacijskega sistema AeroHippus™ pri konju.	30

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Sprememba dihalnega volumna (V_T) pred aplikacijo salbutamola in po njej.....	35
Graf 2: Sprememba frekvence dihanja (f) pred aplikacijo salbutamola in po njej.....	36

KAZALO PRILOG

Priloga 1: Tehnični protokol za pripravo in kalibracijo sistema Buxco (modul ventilacija)	46
---	----

SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

AHR angl. *Airway hyperresponsiveness* = hiperreaktivnost dihalnih poti

BAI angl. *breath-activated inhaler* = z vdihom sprožen inhalator

BAL bronho alveolarna lavaža

C_{dyn} dinamična podajnost pljuč

f frekvenca dihanja

MDI angl. *metered-doseinhaler* = pršilnik z odmerjenim odmerkom

PFT angl. *Pulmonary functiontesting* = testiranje pljučne funkcije

R_L upor v dihalnih poteh

SEA angl. *severe equine asthma* = huda konjska astma

T_e čas izdiha

T_i čas vdiha

P_L transpulmonalni tlak

ΔP_{pl} sprememba transpulmonarnega tlaka

V_E minutna ventilacija

V_T angl. *Tidal volume* = dihalni volumen

1. UVOD

Konjeva pljuča predstavljajo visoko specializirani organ, ki omogoča učinkovito izmenjavo plinov in vzdrževanje homeostaze organizma. Zaradi velike telesne mase in izrazitih presnovnih zahtev so potrebe po optimalni pljučni funkciji pri konjih bistveno večje kot pri večini drugih domačih živali (Art in Bayly, 2014; Cheetham in sod., 2014). V primerjavi s kardiovaskularnim sistemom je dihalni sistem manj prilagodljiv na fiziološke obremenitve, zato že relativno majhne spremembe v mehanskih lastnostih dihalnih poti lahko pomembno vplivajo na ventilacijo in zmogljivost živali (Cheetham in sod., 2014).

V zadnjih letih se povečuje pomen objektivnega spremljanja respiratorne funkcije pri konjih, zlasti pri kroničnih obolenjih spodnjih dihal, kot je huda konjska astma (angl. severe equine asthma; SEA). Bolezen je povezana z vnetjem dihalnih poti, bronhokonstrikcijo in povečanim izločanjem sluzi, kar vodi v povečanje upora v dihalnih poteh in spremembe v dihalnem vzorcu (Couëtil in sod., 2016). Klinični pregled pogosto ne omogoča natančne kvantifikacije stopnje respiratorne prizadetosti, zato je uporaba objektivnih metod merjenja pljučne funkcije ključnega pomena (Hoffman, 2002).

Eden izmed osrednjih funkcionalnih parametrov dihalnega sistema je minutna ventilacija (V_E), ki predstavlja skupni volumen zraka, ki ga organizem izmenja v eni minuti. Minutna ventilacija je definirana kot produkt dihalnega volumna (V_T) in frekvence dihanja (f), kar omogoča integrativno oceno ventilacijskega odziva organizma na spremembe v mehanskih lastnostih pljuč in dihalnih poti.

Pri zdravem konju v mirovanju sta V_T in f uravnotežena tako, da omogočata učinkovito alveolarno ventilacijo. V patoloških stanjih, kot je SEA, pa zaradi povečanega upora v spodnjih dihalnih poteh pride do spremembe dihalnega vzorca. Zmanjšanje dihalnega volumna je pogosto kompenzirano s povečanjem frekvence dihanja, kar vodi v povečano minutno ventilacijo kot odraz povečanega dihalnega napora (Couëtil in sod., 2016; Robinson in Derksen, 2018).

Za objektivno kvantifikacijo teh sprememb se uporabljajo metode testiranja pljučne funkcije (angl. pulmonaryfunctiontesting; PFT), ki omogočajo neposredno merjenje ventilacijskih parametrov. Ena izmed uveljavljenih tehnik je pnevmotahografija, ki temelji na merjenju pretoka zraka skozi dihalne poti in omogoča izračun dihalnega volumna ter posledično minutne ventilacije (Hoffman, 2002). Sistem Buxco (FinePointe™) predstavlja integrirano rešitev za zajem, obdelavo in analizo teh signalov v realnem času.

Kljub tehnološki dovršenosti merilnih sistemov pa na kakovost in interpretacijo pridobljenih podatkov bistveno vplivajo tehnični dejavniki, kot so ustrezna kalibracija sistema, tesnjenje merilne maske, stabilnost položaja glave ter prisotnost artefaktov v merilnem signalu (npr. kondenz ali slina). Variabilnost teh dejavnikov lahko pomembno zmanjša zanesljivost meritev in oteži njihovo primerljivost med posameznimi meritvami ali živalmi. Zato je za pridobitev verodostojnih in ponovljivih rezultatov nujna dosledna standardizacija merilnega postopka ter optimizacija vseh ključnih komponent sistema, kar predstavlja temelj za razvoj zanesljivih protokolov za objektivno merjenje ventilacijskih parametrov pri konjih.

1.1 NAMEN RAZISKOVALNEGA DELA IN DELOVNE HIPOTEZE

Namen strokovno raziskovalnega dela je bil vzpostaviti, standardizirati in tehnično optimizirati protokol za merjenje ventilacijskih parametrov (minutna ventilacija – V_E , dihalni volumen – V_T in frekvenca dihanja – f) pri konjih z uporabo neinvazivnega sistema Buxco. Poseben poudarek je bil na opredelitvi ključnih tehničnih dejavnikov, ki vplivajo na natančnost, stabilnost signala in ponovljivost meritev v kliničnih pogojih pri budnih, nesediranih živalih.

Cilj naloge ni bil primarno klinično vrednotenje bolezni, temveč optimizacija merilnega procesa in preverjanje uporabnosti ventilacijskih parametrov kot objektivnega funkcionalnega kazalnika respiratornega odziva na spremenjene mehanske pogoje v dihalnem sistemu.

Delovne hipoteze:

1. Sistem Buxco omogoča natančno in ponovljivo merjenje ventilacijskih parametrov (V_E , V_T , f) pri budnih, nesediranih konjih.
2. Standardizacija merilnega protokola, vključno s kalibracijo sistema, ustreznim tesnjenjem obrazne maske, stabilizacijo položaja glave in nadzorom artefaktov, bistveno izboljša kakovost in zanesljivost meritev.
3. Konji s hudo konjsko astmo (SEA) v fazi poslabšanja izkazujejo značilen ventilacijski vzorec, za katerega sta značilna povišana frekvenca dihanja (f) in znižan dihalni volumen (V_T), kar vodi v spremembe minutne ventilacije (V_E).
4. Spremembe ventilacijskih parametrov po aplikaciji bronhodilatatorja omogočajo objektivno kvantifikacijo ventilacijskega odziva in potrjujejo uporabnost metode za spremljanje reverzibilnih komponent obstrukcije dihalnih poti.

1.2 FIZIOLOGIJA VENTILACIJE PRI ZDRAVEM KONJU

Ventilacija predstavlja proces mehanskega premikanja zraka v pljuča in iz njih, ki omogoča učinkovito izmenjavo plinov na alveolarni ravni. Pri konju je ta proces zaradi velikosti živali in visokih presnovnih zahtev izrazito optimiziran, vendar hkrati relativno občutljiv na spremembe v mehanskih lastnostih dihalnega sistema (Art in Bayly, 2014).

Osnovni ventilacijski parametri vključujejo dihalni volumen (V_T), frekvenco dihanja (f) in minutno ventilacijo (V_E). Minutna ventilacija predstavlja skupni volumen zraka, ki ga organizem izmenja v eni minuti, in je definirana kot produkt dihalnega volumna ter frekvenca dihanja:

$$V_E = V_T \times f$$

Ta odnos omogoča razumevanje ventilacije kot integrativnega funkcionalnega parametra, ki se prilagaja mehanskim in presnovnim zahtevam organizma.

Tabela 1: Referenčne vrednosti dihalnih parametrov pri odraslem zdravem konju v mirovanju (cca 500 kg)

Parameter	Kratica	Enota	Referenčna vrednost (povprečje $\pm$ SD)
frekvenca dihanja	f	vdihov/min	11 ± 3 (razpon 8–15)
dihalni volumen	V_T	L	$5,2 \pm 1,2$ (cca. 10–12 ml/kg)
minutna ventilacija	V_E	L/min	55 ± 15 (razpon 40–80)
trajanje vdiha	T_i	s	$2,1 \pm 0,6$
trajanje izdiha	T_e	s	$3,4 \pm 0,9$
razmerje vdiha in izdiha	T_i/T_e	/	1:1,6

Vir: povzeto po Koterba in sod. (1988); dopolnjeno po Art in Bayly (2014) ter Berg in Hansen (2024).

Pri zdravem odraslem konju v mirovanju (približno 500 kg) znaša dihalni volumen približno $5,2 \pm 1,2$ L, frekvenca dihanja 11 ± 3 vdihov na minuto, minutna ventilacija pa približno 55 ± 15 L/min (Koterba in sod., 1988; Art in Bayly, 2014; Berg in Hansen, 2024). Takšno razmerje omogoča optimalno alveolarno ventilacijo ob minimalnem energetske vložku.

Dihalni cikel pri konju je značilno dvofazen. Vdih je kombinacija pasivnega raztezanja pljučnega tkiva in aktivne kontrakcije diafragme, medtem ko izdih vključuje pasivni elastični povratek pljuč in aktivno sodelovanje trebušnih mišic, zlasti pri povečani ventilacijski potrebi (Koterba in sod., 1988). Ta mehanika omogoča učinkovito praznjenje pljuč, vendar postane omejujoča v pogojih povečanega upora v dihalnih poteh.

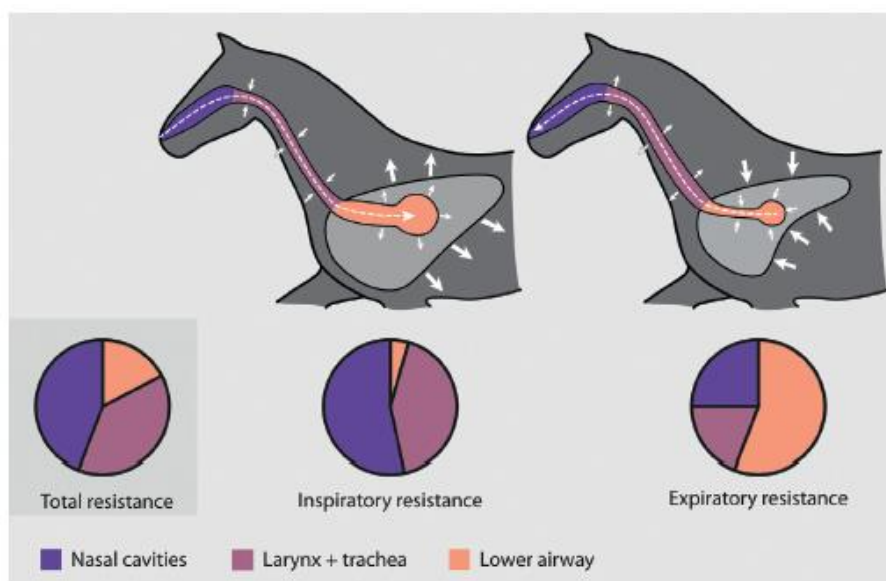
Pomembno je poudariti, da ventilacija ni statični parameter, temveč dinamični odziv na spremembe v dihalnem sistemu. V fizioloških pogojih organizem uravnava razmerje med V_T in f tako, da zagotovi stabilno V_E . Ob zmanjšanju dihalnega volumna, na primer zaradi mehanske omejitve raztezanja pljuč ali povečanja upora v dihalnih poteh, pride do kompenzacijskega povečanja frekvenca dihanja, s čimer se ohranja zadostna ventilacija.

Takšen mehanizem kompenzacije predstavlja ključno osnovo za razumevanje ventilacijskih sprememb pri patoloških stanjih, kot je huda konjska astma, kjer spremembe v mehanskih lastnostih pljuč in dihalnih poti neposredno vplivajo na dihalni vzorec in ventilacijski odziv organizma.

1.3 PATOFIZIOLOŠKE SPREMEMBE VENTILACIJE PRI KONJIH S SEA

Huda konjska astma (angl. severe equine asthma; SEA) je kronično vnetno obolenje spodnjih dihal, za katero so značilni bronhokonstrikcija, edem sluznice, kopičenje sluzi in strukturne spremembe dihalnih poti. Ti procesi vodijo v povečanje upora v dihalnih poteh (R_L) in zmanjšanje dinamične podajnosti pljuč (C_{dyn}), kar pomembno vpliva na mehaniko dihanja (Couëtil in sod., 2016; Robinson in Derksen, 2018).

Povečan upor v spodnjih dihalnih poteh ima izrazit vpliv predvsem na fazo izdiha. Zaradi zoženja bronhialnega lumna postane izdih aktiven proces, pri katerem mora konj vključiti trebušno muskulaturo za premagovanje povečanega upora. To vodi v značilen klinični in funkcionalni vzorec oteženega izdiha, ki je ena izmed ključnih značilnosti bolezni (Lavoie in sod., 2016).



Slika 1: Shematski prikaz poti zraka skozi dihalni sistem konja. Slika ponazarja anatomsko razdelitev na zgornja (nosna votlina, grlo in sapnik) in spodnja dihalna. Tortni prikazi nakazujejo, da je glavnina R_L med izdihom v spodnjih dihalih. Pri konji s SEA prav ta lokalizirani upor v pljučih povzroči spremembo dihalnega vzorca, kar merimo kot povišano f in spremenjeno V_E (vir: povzeto po Art in Bayly, 2014).

Z vidika ventilacije te spremembe povzročijo porušitev normalnega razmerja med dihalnim volumnom (V_T) in frekvenco dihanja (f). Zaradi mehanske omejitve raztezanja pljuč in povečane obremenitve dihalnih mišic se V_T zmanjša. Organizem to kompenzira s povečanjem frekvence dihanja, kar vodi v značilen vzorec hitrega in plitvega dihanja (tahipneja).

Minutna ventilacija (V_E) je v akutni fazi bolezni pogosto povečana ali pa ostaja navidezno normalna, vendar na račun energetske neučinkovitega dihalnega vzorca. Povečana frekvenca dihanja pomeni večje delo dihalnih mišic in večjo porabo energije za vzdrževanje ustrezne izmenjave plinov (Hoffman in sod., 1999). Takšen ventilacijski odziv predstavlja kompenzacijski mehanizem, ki pa dolgoročno vodi v utrujenost dihalnih mišic in poslabšanje kliničnega stanja.

Pomembno je poudariti, da ventilacijski parametri (V_E , V_T , f) ne predstavljajo neposrednega kazalnika vnetja ali strukturnih sprememb, temveč odražajo funkcionalni odziv dihalnega sistema na spremenjene mehanske pogoje. Zato

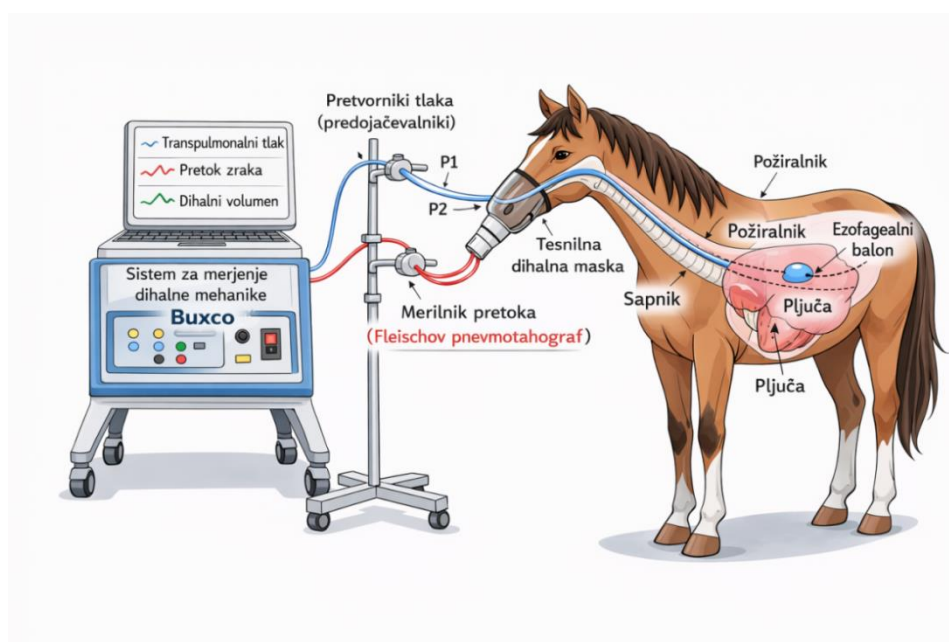
omogočajo objektivno kvantifikacijo stopnje ventilacijske prizadetosti in spremljanje odziva na terapevtske posege.

Po aplikaciji bronhodilatatorja, kot je salbutamol, pride do sprostitve gladke mišičnine bronhijev, zmanjšanja upora v dihalnih poteh in izboljšanja pretočnosti zraka. Posledično se dihalni volumen poveča, frekvenca dihanja se zmanjša, ventilacijski vzorec pa se približa fiziološkemu stanju. Ta sprememba predstavlja neposreden funkcionalni dokaz reverzibilne komponente obstrukcije dihalnih poti (Derksen in sod., 1999).

1.4 TEHNOLOŠKE OSNOVE PNEVMOTAHOGRAFIJE IN UPORABA SISTEMA BUXCO V PULMOLOGIJI KONJ

Testiranje pljučne funkcije (angl. pulmonary function testing; PFT) predstavlja objektivni pristop k oceni delovanja dihalnega sistema, saj omogoča neposredno kvantifikacijo mehanskih in ventilacijskih parametrov. V veterinarski medicini se poleg kliničnega pregleda pogosto uporabljajo tudi metode, kot so endoskopija, bronhoalveolarna lavaža (BAL) in analiza plinov v krvi, vendar te ne omogočajo neposrednega vpogleda v dinamiko ventilacije (Hoffman, 2002; Lavoie in sod., 2016). Zato ima merjenje pretoka zraka in ventilacijskih parametrov pomembno diagnostično in raziskovalno vrednost.

Osnova neinvazivnega merjenja ventilacije je pnevmotahografija, ki temelji na merjenju pretoka zraka skozi uporovni element (mrežico ali kapilarni sistem). Pretok zraka povzroči padec tlaka preko uporovnega elementa, ki je sorazmeren hitrosti pretoka. Ta diferenčni tlak zaznajo tlačni senzorji, signal pa se pretvori v električni zapis, ki ga programska oprema analizira v realnem času (Hoffman, 2002).



Slika 2: Shematski prikaz sistema Buxco za neinvazivno spremljanje ventilacijskih parametrov pri konju. V ospredju je tesnilna maska s Fleischovim pnevmotahografom, ki omogoča natančno merjenje pretoka zraka in s tem določanje ventilacijskih parametrov (f , V_T in V_E). Ilustracija hkrati prikazuje sočasno spremljanje sprememb plevralnega tlaka (ΔP_{pl}) z ezofagealnim katetrom, kar računalniškemu sistemu omogoča sprotni izračun upora (R_L) in dinamične podajnosti (C_{dyn}) pljuč (vir: lastno delo, ustvarjeno z generativno umetno inteligenco DALL-E 3).

Z numerično integracijo signala pretoka v času se določi dihalni volumen (V_T), frekvenca dihanja (f) pa se izračuna na podlagi zaznanih dihalnih ciklov. Minutna ventilacija (V_E) se nato določi kot produkt teh dveh parametrov. Natančnost meritev je zato neposredno odvisna od kakovosti zajetega signala pretoka in stabilnosti merilnega sistema.

Sistem Buxco (FinePointe™) predstavlja integrirano platformo za merjenje in analizo respiratornih parametrov, ki vključuje pnevmotahograf, tlačne pretvornike in programsko opremo za zajem ter obdelavo podatkov v realnem času. Prednost sistema je visoka časovna ločljivost in možnost neinvazivnega merjenja pri budnih živalih, kar omogoča zajem fiziološko relevantnih dihalnih vzorcev (Hoffman in sod., 2001).

Kljub tehnološki dovršenosti sistema pa na kakovost meritev pomembno vplivajo številni tehnični dejavniki. Med najpomembnejšimi so ustrezna kalibracija sistema, tesnjenje obrazne maske, dolžina in podajnost povezovalnih cevi ter prisotnost artefaktov, kot so kondenz ali slina v pnevmotahografu. Ti dejavniki lahko povzročijo sistematične napake, kot so podcenjevanje dihalnega volumna ali popačenje oblike dihalnih krivulj (Hoffman, 2002).

2. MATERIALI IN METODE

Raziskavo smo izvedli na Kliniki za zdravstveno varstvo in rejo konj Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani. V študijo je bilo vključenih 20 odraslih konj z diagnosticirano hudo konjsko astmo (SEA), ki so bili v času izvajanja meritev nameščeni v nadzorovanem hlevskem okolju. Zagotovljeni so bili enotni pogoji oskrbe, krmljenja in mikroklima, s čimer smo minimizirali vpliv zunanjih dejavnikov na ventilacijske parametre.

Osrednji cilj metodološkega dela je bil vzpostaviti in tehnično optimizirati merilni protokol za neinvazivno spremljanje ventilacijskih parametrov (V_E , V_T , f) z uporabo sistema Buxco. Poseben poudarek je bil na standardizaciji merilnega postopka ter zmanjševanju variabilnosti, povezane s tehničnimi in biološkimi dejavniki.

Meritve smo izvajali na budnih, nesediranih živalih, saj sedacija vpliva na tonus gladkega mišičja dihalnih poti in lahko spremeni ventilacijske parametre. Za zagotovitev ponovljivosti smo vse meritve izvajali v standardiziranih pogojih, ob enakem času dneva in po predhodni prilagoditvi živali na diagnostično okolje.

2.1 PROTOKOL MERITEV

Meritve ventilacijskih parametrov (V_E , V_T , f) smo izvajali v dveh zaporednih fazah, ki sta omogočali oceno ventilacijskega odziva dihalnega sistema v različnih funkcionalnih stanjih.

Meritev 1 – začetna meritev (akutna faza): prva meritev je bila izvedena po naravni bronhoprovokaciji, ko so konji kazali značilne klinične znake hude konjske astme (SEA). Namen meritve je bil zajem ventilacijskih parametrov v stanju povečane obstrukcije dihalnih poti.

Meritev 2 – bronhodilatacijski test: druga meritev je bila izvedena 5 minut po aplikaciji inhalacijskega bronhodilatatorja salbutamola. Namen meritve je bil

oceniti spremembe ventilacijskih parametrov po farmakološki sprostitvi gladkega mišičja dihalnih poti ter preveriti reverzibilnost ventilacijskih odstopanj.

Obe meritvi sta bili izvedeni z uporabo enakega merilnega sistema in po standardiziranem postopku, pri čemer smo za vsakega konja uporabili enake pogoje merjenja. Posamezna meritev je trajala 5–10 minut oziroma toliko časa, da smo zajeli zadostno število stabilnih dihalnih ciklov za nadaljnjo analizo.

Za analizo smo upoštevali le dihalne cikle brez artefaktov, pri čemer smo izključili nepravilne meritve, ki so bile posledica gibanja živali, nepravilnega tesnjenja maske ali tehničnih motenj v signalu.

2.2 KLINIČNO STANJE IN VKLJUČITEV KONJ V AKUTNI FAZI BOLEZNI

Konji, vključeni v raziskavo, so bili v času začetnih meritev v fazi kliničnega poslabšanja hude konjske astme (SEA), ki je nastopilo kot posledica naravne izpostavljenosti hlevskemu okolju. Namen takšne vključitve je bil zajem ventilacijskih parametrov v pogojih povečane obstrukcije dihalnih poti brez umetno inducirane bronhokonstriktornega odziva.

Živali so kazale značilne klinične znake bolezni, vključno s povečano frekvenco dihanja, oteženim dihanjem (dispneja), poudarjenim trebušnim iztisom in prisotnostjo patoloških dihalnih šumov. Takšno stanje je omogočilo objektivno merjenje ventilacijskih parametrov v funkcionalno relevantni fazi bolezni.

Uporaba naravno nastalega kliničnega poslabšanja je omogočila zajem podatkov brez dodatnega eksperimentalnega posega, kar povečuje klinično relevantnost meritev in zmanjšuje vpliv umetno induciranih odzivov na ventilacijske parametre.

2.3 PRIPRAVA PACIENTA IN NAMESTITEV MERILNE OPREME

Za zagotavljanje zanesljivih, ponovljivih in fiziološko relevantnih meritev ventilacijskih parametrov smo posebno pozornost namenili standardizaciji priprave pacienta in optimizaciji namestitve merilne opreme.

Vse meritve so bile izvedene na zavestnih, nesediranih konjih v mirnem okolju diagnostične stojnice. Izogibanje sedaciji je bilo ključno, saj sedativi vplivajo na tonus gladke miškulature dihalnih poti in lahko povzročijo podcenjevanje dejanske stopnje obstrukcije ter spremembe ventilacijskega vzorca.

Pred začetkom meritev smo konjem omogočili prilagoditveno obdobje, med katerim so se privadili na prisotnost opreme in osebja. S tem smo zmanjšali vpliv stresa in vedenjskih odzivov na dihalni vzorec, ki lahko pomembno vplivajo na frekvenco dihanja (f) in dihalni volumen (V_T).

Osrednji del priprave je predstavljala namestitev tesno prilagajoče se silikonske obrazne maske, opremljene s pnevmotahografom. Zagotovili smo popolno tesnjenje med masko in obrazom konja, saj že minimalno uhajanje zraka povzroči sistematično podcenjevanje dihalnega volumna (V_T) in posledično minutne ventilacije (V_E). Tesnjenje smo preverjali vizualno in z opazovanjem stabilnosti signalne krivulje pretoka v realnem času.

Položaj glave in vratu konja smo standardizirali v nevtralni, rahlo dvignjeni poziciji, kar omogoča optimalno prehodnost zgornjih dihalnih poti in preprečuje mehansko inducirane artefakte v meritvah pretoka. Neustrezen položaj lahko povzroči delno obstrukcijo zgornjih dihal in vodi v napačno interpretacijo ventilacijskih parametrov.

Posebno pozornost smo namenili tudi vzdrževanju merilnega sistema med meritvijo. Kondenzacija vlage in prisotnost slin lahko povzročita delno zaporo pnevmotahografa, kar poveča upor v senzorju in vodi v sistematične napake pri merjenju pretoka. Zato smo med meritvijo redno preverjali prehodnost merilnih odprtin in po potrebi očistili senzor.

Za analizo smo upoštevali le stabilne dihalne cikle brez artefaktov, pri čemer smo izločili nepravilne signale, povezane z gibanjem glave, požiranjem ali nenadnimi vedenjskimi odzivi živali.

Z opisano standardizacijo priprave pacienta in optimizacijo namestitve opreme smo dosegli visoko kakovost signalov in zmanjšali variabilnost meritev, kar predstavlja ključni pogoj za zanesljivo kvantifikacijo ventilacijskih parametrov pri konjih s SEA.



Slika 3: Prikaz diagnostičnega okolja in opreme za merjenje ventilacije s sistemom Buxco. Konj s SEA je nameščen v diagnostični stojnici, v budnem stanju brez sedacije. Na odlagalni površini je vidna pripravljena silikonska obrazna maska s pnevmotahografom, v ozadju pa sistem Buxco in prenosni računalnik za spremljanje pretoka zraka v realnem času (*vir: lastni arhiv*).

2.4 MERJENJE VENTILACIJSKIH PARAMETROV

Merjenje ventilacijskih parametrov smo izvajali z uporabo neinvazivne pnevmotahografije, ki omogoča neposredno kvantifikacijo pretoka zraka skozi dihalne poti. Sistem Buxco (FinePointe™) v realnem času zaznava spremembe pretoka, ki nastanejo ob prehodu zraka skozi pnevmotahograf, in jih pretvori v električni signal, sorazmeren hitrosti zračnega toka.

Osnovni merjeni parameter je bil pretok zraka (angl. Flow), iz katerega smo z numerično integracijo v časovni domeni izračunali dihalni volumen (V_T). Minutna

ventilacija (V_E) je bila nato določena kot produkt dihalnega volumna in frekvence dihanja:

$$VE = VT \times f$$

Frekvenco dihanja (f) smo določili kot število dihalnih ciklov na minuto, pri čemer smo posamezni cikel definirali na podlagi ničelnega prehoda signala pretoka (prehod iz inspiratornega v ekspiratorni tok).

Za zagotavljanje točnosti meritev smo upoštevali naslednja tehnična merila:

- **Stabilnost bazne linije (angl. zero flow drift):** pred in med meritvijo smo preverjali, da signal pretoka v fazi brez dihanja ne odstopa od ničelne vrednosti.
- **Linearnost signala:** kalibracija s 7-litrskim cilindrom je omogočila preverjanje linearnega odziva sistema v celotnem merilnem območju.
- **Izločanje artefaktov:** iz analize smo izključili dihalne cikle z nenadnimi spremembami amplitude ali oblike signala, ki so bile posledica gibanja, požiranja ali netesnosti maske.
- **Izbor reprezentativnih ciklov:** za vsako meritev smo analizirali stabilno obdobje dihanja (vsaj 10–20 zaporednih ciklov), brez vidnih motenj.

Posebno pozornost smo namenili vplivu merilnega sistema na dihalni vzorec. Znano je, da lahko namestitev obrazne maske povzroči začetno spremembo ventilacije, običajno povečanje V_T in zmanjšanje f zaradi prilagoditvenega odziva živali. Zato smo meritve začeli šele po stabilizaciji dihalnega vzorca, ko so se vrednosti pretoka in volumna ustalile.

Za obdelavo podatkov smo uporabili programsko opremo FinePointe™, ki omogoča avtomatski izračun ventilacijskih parametrov. Kljub avtomatizaciji smo rezultate dodatno preverjali vizualno, z analizo krivulj pretok – čas in volumen –

čas, kar je omogočilo identifikacijo morebitnih napak v zajemu ali obdelavi signala.

Z opisanimi postopki smo zagotovili visoko stopnjo natančnosti in ponovljivosti meritev ventilacijskih parametrov, kar je ključnega pomena za objektivno oceno respiratorne funkcije pri konjih s SEA.

2.5 INTEGRIRAN MERILNI SISTEM BUXCO IN KALIBRACIJA

Za zajem in analizo ventilacijskih parametrov smo uporabili računalniško podprt sistem Buxco (FinePointe™, Data Sciences International), ki temelji na pnevmotahografiji in diferenčnih tlačnih senzorjih za natančno merjenje pretoka zraka.

Sistem omogoča visoko frekvenčno zajemanje signalov pretoka in njihovo sprotno obdelavo, kar omogoča izračun ventilacijskih parametrov (V_T , f , V_E) v realnem času. Natančnost teh izračunov je neposredno odvisna od ustrezne kalibracije sistema, zato smo kalibraciji namenili ključno vlogo v merilnem protokolu.

Ničelna nastavitev (angl. zeroing) in stabilizacija sistema

Pred vsako serijo meritev smo izvedli ničelno nastavitev tlačnih senzorjev (angl. zero flow calibration). Cilj tega postopka je bil odpraviti odmik bazne linije (angl. zerodrift), ki lahko povzroči sistematične napake pri integraciji pretoka.

Voltažni izhod senzorjev smo nastavili na območje $\pm 1,0$ V v stanju brez pretoka zraka. S tem smo zagotovili stabilno izhodiščno točko za nadaljnjo kalibracijo in preprečili akumulacijo napak pri izračunu V_T .

Dinamična kalibracija pretoka (angl. flow calibration)

Za kalibracijo pretoka smo uporabili 7-litrski kalibracijski cilindar, ki simulira fiziološki dihalni volumen konja. Ta postopek predstavlja standardizirano metodo za validacijo linearnega odziva pnevmotahografa.

Med kalibracijo smo ročno aplicirali znan volumen zraka (7 L) skozi sistem, pri čemer mora programska oprema zaznati ustrezen razpon pretoka (± 60 – 63 L/s), kot ga predpisuje proizvajalec. Sprejemljivost kalibracije je bila določena z odstopanjem, manjšim od 1 % od pričakovane vrednosti.

S tem postopkom smo preverili:

- linearnost merilnega sistema,
- pravilno delovanje tlačnih senzorjev,
- ustreznost nastavitev programske opreme.

Kontrola merilne natančnosti in ponovljivosti

Za zagotavljanje zanesljivosti meritev smo kalibracijo izvajali pred vsakim sklopom meritev. S tem smo minimizirali vpliv časovno odvisnih sprememb sistema, kot so:

- temperaturni vplivi na senzorje,
- spremembe v mehanskih lastnostih pnevmotahografa,
- mikroodstopanja v elektronskem signalu.

Ponovljivost meritev smo dodatno preverjali z opazovanjem konsistentnosti ventilacijskih parametrov v stabilnih dihalnih intervalih. Variabilnost med zaporednimi cikli smo zmanjšali z izbiro reprezentativnih segmentov signala brez artefaktov.

Viri merilnih napak in njihova kontrola

Med meritvami smo identificirali ključne vire možnih napak in jih sistematično omejili:

- **uhajanje zraka mimo maske:** vodi v podcenjevanje V_T in V_E ;
- **kondenzacija in slina v pnevmotahografu:** povečata upor in popačita signal pretoka;
- **zerodrift:** povzroča sistematične napake pri integraciji signala;
- **gibanje glave in vratu:** vpliva na prehodnost zgornjih dihal;
- **nestabilen dihalni vzorec:** poveča variabilnost rezultatov.

Z dosledno kontrolo teh dejavnikov smo zagotovili, da izmerjeni podatki odražajo dejansko ventilacijsko stanje, in ne tehničnih omejitev sistema.

Pomen kalibracije za interpretacijo rezultatov

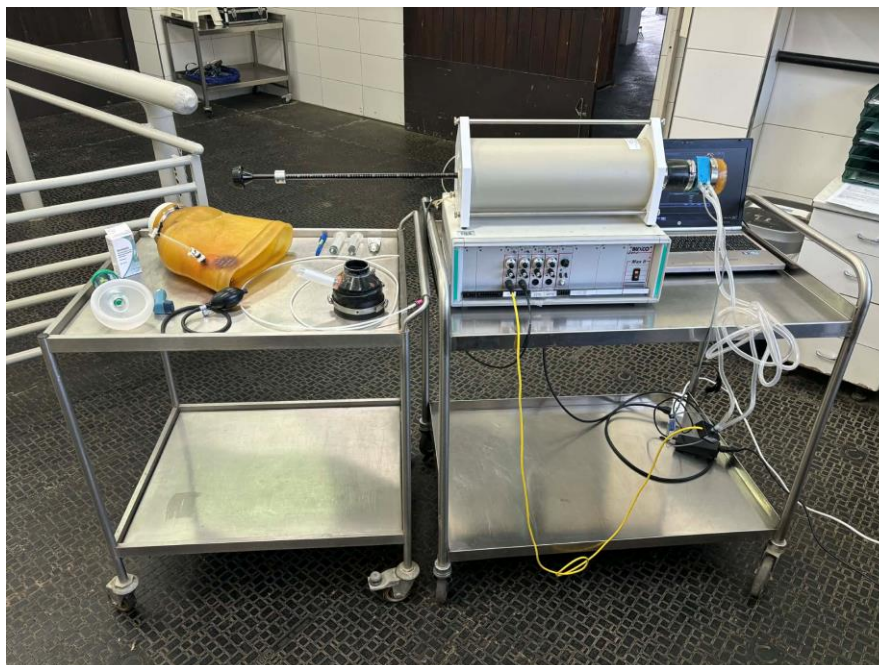
Natančna kalibracija je ključna za pravilno interpretacijo ventilacijskih parametrov, saj že majhna sistematična napaka v merjenju pretoka vodi v proporcionalno napako pri izračunu V_T in posledično V_E .

Ker je V_E produkt V_T in f , se napake v merjenju volumna multiplicirajo, kar lahko bistveno vpliva na klinično interpretacijo rezultatov.

Zato predstavlja standardiziran kalibracijski protokol temelj za:

- primerljivost meritev med posameznimi konji,
- primerljivost med različnimi časovnimi točkami (meritev 1–2),

- zanesljivo oceno terapevtskega učinka.



Slika 4: Merilni sistem Buxco s pripadajočo senzorsko in računalniško opremo za funkcionalno diagnostiko. Na sliki je prikazana konfiguracija sistema, ki vključuje osrednjo procesno enoto Buxco in računalniški sistem s programsko opremo FinePointe za vizualizacijo in analizo dihalnih parametrov v realnem času. Sklop vključuje diferenčne tlačne pretvornike in senzorje, ki so ključni za sočasno merjenje pretoka zraka in P_L . Za zagotavljanje točnosti meritev je viden tudi kalibracijski cilinder (7 L), ki služi za simulacijo vdih/izdih in standardizacijo sistema pred začetkom dela na živalih. Celotna postavitve na pripravljalni mizi omogoča sistematičen prehod med kalibracijo, diagnostično meritvijo in aplikacijo inhalacijske terapije (vir: lastni arhiv).

2.6 DOKAZ REVERZIBILNOSTI ASTME Z UPORABO BRONHODILATORJA

Dokazovanje

Za preverjanje občutljivosti in funkcionalne odzivnosti merilnega sistema smo uporabili bronhodilatacijski test kot kontroliran fiziološki poseg.

Po začetni meritvi ventilacijskih parametrov smo konjem aplicirali inhalacijski bronhodilatator salbutamol (Ventolin, 100 $\mu\text{g}/\text{vpil}$) z uporabo sistema

AeroHippus. Odmerek (6–9 vpihov) je bil prilagojen telesni masi konja in pričakovanim izgubam zdravila v inhalacijskem sistemu.

Ponovno merjenje smo izvedli 5 minut po aplikaciji, ko je farmakološki učinek bronhodilatacije že prisoten.

Namen tega postopka ni bil diagnostično potrjevanje bolezni, temveč preverjanje, ali merilni sistem zazna pričakovano spremembo ventilacijskih parametrov kot posledico zmanjšanja upora v dihalnih poteh.

Pričakovani učinki bronhodilatacije vključujejo:

- povečanje dihalnega volumna (V_T),
- zmanjšanje frekvence dihanja (f),
- stabilizacijo oziroma zmanjšanje minutne ventilacije (V_E).

Zaznava teh sprememb predstavlja funkcionalni dokaz, da sistem Buxco omogoča dovolj natančno in časovno odzivno merjenje ventilacijskih parametrov ter je primeren za zaznavanje dinamičnih sprememb v dihalnem sistemu.

Na ta način bronhodilatacijski test deluje kot notranja validacija merilnega protokola, saj omogoča primerjavo meritev pred kontroliranim posegom v dihalno mehaniko in po njem.



Slika 5: Praktična uporaba inhalacijskega sistema AeroHippus™ pri konju. Fotografija prikazuje namestitev maske na nosnico in uporabo pršilnika z odmerjenim odmerkom (MDI) v povezavi z distančnikom, ki zagotavlja optimalno dostavo aerosolnega zdravila v spodnja dihalna (vir: Couëtil in sod., 2016).

3. REZULTATI

3.1 VZPOSTAVITEV IN STANDARDIZACIJA MERILNEGA PROTOKOLA

Merilni sistem BuxcoFinePointe™ smo uspešno vzpostavili in standardizirali za neinvazivno merjenje ventilacijskih parametrov (V_T , f , V_E) pri konjih v budnem stanju.

Z uporabo standardiziranega kalibracijskega protokola (7-litrski kalibracijski cilindri) smo zagotovili linearen in ponovljiv odziv sistema v celotnem merilnem območju. Stabilnost bazne linije (angl. zero drift) je bila po izvedeni ničelni kalibraciji minimalna, kar je omogočilo zanesljivo numerično integracijo pretoka v dihalni volumen.

Optimizacija namestitve obrazne maske in standardizacija položaja glave sta bistveno zmanjšali pojav artefaktov. Najpogostejši viri motenj (uhajanje zraka, kondenz, gibanje živali) so bili z ustreznimi postopki učinkovito kontrolirani, kar se je odražalo v stabilnih in reproducibilnih krivuljah pretok – čas.

S tem smo vzpostavili pogoje za zanesljivo kvantifikacijo ventilacijskih parametrov.

3.2 ANALIZA VENTILACIJSKIH PARAMETROV MED MERITVAMI

Analizo smo izvedli na podlagi meritev pri 20 konjih v dveh časovnih točkah:

- **meritev 1:** akutna faza SEA,
- **meritev 2:** po aplikaciji salbutamola.

Rezultati, prikazani v Tabeli 2, predstavljajo povprečne vrednosti ventilacijskih parametrov (mean $\pm$ SD) v dveh časovnih točkah merjenja. Opazen je prehod iz kompenzacijskega ventilacijskega vzorca v akutni fazi v učinkovitejši ventilacijski vzorec po bronhodilataciji.

Tabela 2: Povprečne vrednosti ventilacijskih parametrov (mean $\pm$ SD)

<i>Parameter</i>	Meritev 1 (SEA)	Meritev 2 (salbutamol)
<i>f (breaths/min)</i>	23.3 $\pm$ 1.5	22.2 $\pm$ 1.3
<i>V_T (L)</i>	3.4 $\pm$ 0.6	4.5 $\pm$ 0.7
<i>V_E (L/min)</i>	79.5 $\pm$ 18.0	101.1 $\pm$ 20.5
<i>PIF (L/s)</i>	6.3 $\pm$ 1.2	5.6 $\pm$ 1.0
<i>PEF (L/s)</i>	6.7 $\pm$ 1.5	6.0 $\pm$ 1.3
<i>Ti (s)</i>	1.28 $\pm$ 0.2	1.39 $\pm$ 0.2
<i>Te (s)</i>	1.29 $\pm$ 0.3	1.30 $\pm$ 0.2

Vir: lastna tabela z rezultati.

3.2.1 Akutna faza SEA in kompenzacijski mehanizmi (meritev 1)

V akutni fazi smo zabeležili značilen ventilacijski vzorec, ki odraža povečano mehansko obremenitev dihalnega sistema.

Za ta stadij so bili značilni:

- povišana frekvenca dihanja (f),
- zmanjšan dihalni volumen (V_T),
- posledično povečana minutna ventilacija (V_E).

Takšen vzorec predstavlja kompenzacijski mehanizem za vzdrževanje ustrezne izmenjave plinov ob povečani upornosti dihalnih poti.

3.2.2 Ventilacijski odziv na bronhodilatacijo (meritev 2)

Po aplikaciji salbutamola smo zaznali takojšnjo spremembo ventilacijskega vzorca.

Spremembe so vključevale:

- znižanje frekvence dihanja (f),
- povečanje dihalnega volumna (V_T),
- stabilizacijo oziroma znižanje minutne ventilacije (V_E).

Ta prehod iz hitrega in plitvega dihanja v počasnejše in globlje dihanje potrjuje, da merilni sistem zazna pričakovane dinamične spremembe ventilacije.

3.2.3 Statistična analiza ventilacijskih parametrov

Statistično primerjavo ventilacijskih parametrov med akutno fazo SEA (meritev 1) in stanjem po aplikaciji bronhodilatatorja (meritev 2) smo izvedli z uporabo parnega t-testa (angl. paired t-test).

Analiza je pokazala:

- statistično značilno zmanjšanje frekvence dihanja (f) ($p < 0,05$),
- statistično značilno povečanje dihalnega volumna (V_T) ($p < 0,01$),
- statistično značilno povečanje minutne ventilacije (V_E) ($p < 0,05$).

Rezultati potrjujejo prehod iz hitrega in plitvega dihanja v počasnejše in globlje dihanje po bronhodilataciji, kar je skladno s pričakovanim fiziološkim odzivom pri zmanjšanju upornosti dihalnih poti.

3.3 FUNKCIONALNA VALIDACIJA MERILNEGA SISTEMA

Primerjava meritev pred aplikacijo bronhodilatatorja in po njej predstavlja neposreden dokaz funkcionalne občutljivosti merilnega sistema.

Sistem Buxco je zaznal:

- kvantitativno merljive spremembe V_T , f in V_E ,
- konsistenten odziv pri večini preiskovanih konj,
- časovno ustrezno zaznavo sprememb (znotraj 5 minut).

S tem smo potrdili, da sistem omogoča:

- zaznavanje dinamičnih sprememb ventilacije,
- razlikovanje med različnimi funkcionalnimi stanji dihalnega sistema,
- uporabo v longitudinalnem spremljanju.

Tabela 3: Primerjava ventilacijskih parametrov pred salbutamolom in po njem

Parameter	SEA (Mean $\pm$ SD)	Salbutamol (Mean $\pm$ SD)	p
f (breaths/min)	23.3 $\pm$ 1.5	22.2 $\pm$ 1.3	<0.05
V_T (L)	3.4 $\pm$ 0.6	4.5 $\pm$ 0.7	<0.01
V_E (L/min)	79.5 $\pm$ 18.0	101.1 $\pm$ 20.5	<0.05

Vir: lastna tabela z rezultati.

V Tabeli 3 so prikazane povprečne vrednosti ventilacijskih parametrov pred aplikacijo salbutamola in po njej. Po bronhodilataciji je bilo zaznano zmanjšanje upornosti dihalnih poti (R_L) in povečanje dinamične compliance (C_{dyn}). Hkrati so

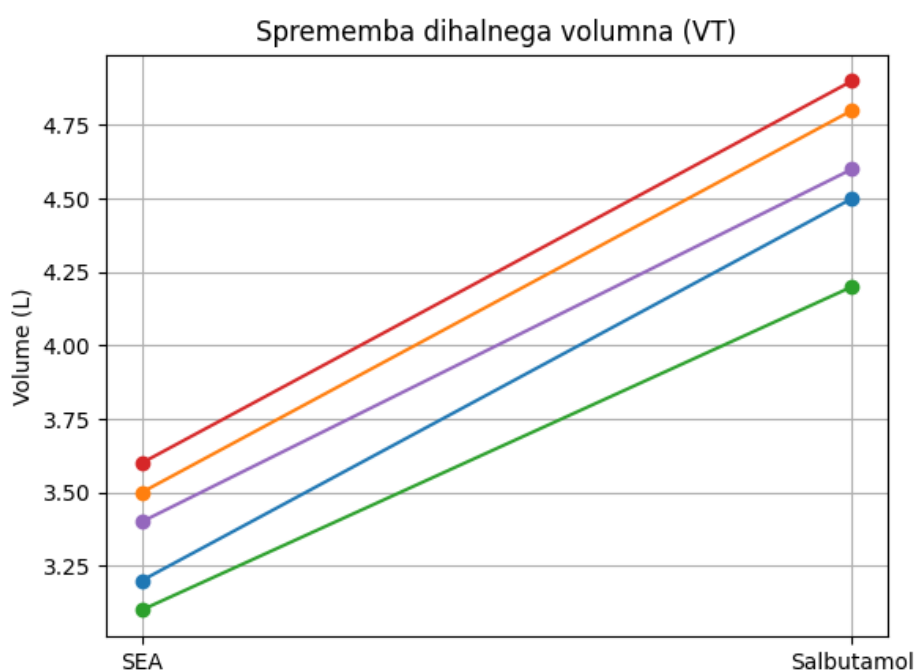
se spremenili tudi osnovni ventilacijski parametri, zlasti povečanje dihalnega volumna (V_T) in minutne ventilacije (V_E).

Rezultati, prikazani v Tabeli 3, dodatno potrjujejo funkcionalno občutljivost sistema. Po aplikaciji salbutamola je prišlo do izrazitega zmanjšanja upornosti dihalnih poti (R_L) in povečanja dinamične compliance (C_{dyn}), kar odraža izboljšanje mehanskih lastnosti pljuč. Ventilacijski vzorec se je spremenil iz hitrega in plitvega dihanja v počasnejše in globlje dihanje, kar potrjuje sposobnost sistema za zaznavanje fiziološko relevantnih sprememb.

Kombinacija deskriptivne analize (Tabela 2) in statistične primerjave (Tabela 3) potrjuje, da merilni sistem omogoča zanesljivo zaznavanje tako absolutnih vrednosti kot tudi dinamičnih sprememb ventilacijskih parametrov.

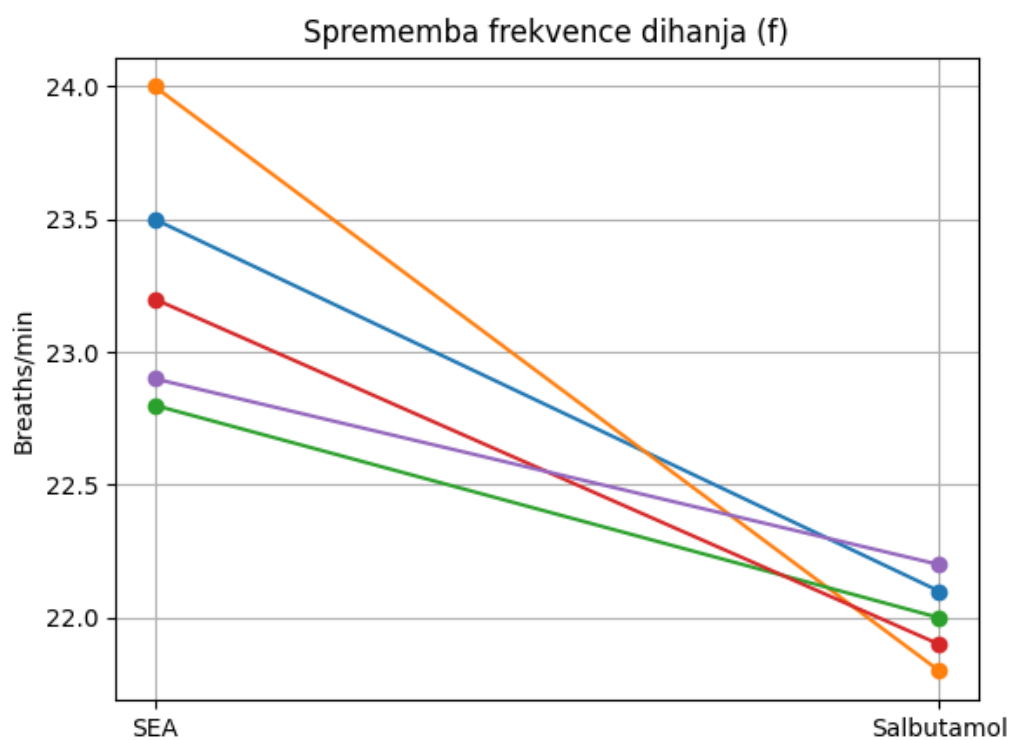
Graf 1: Sprememba dihalnega volumna (V_T) pred aplikacijo salbutamola in po njej

Sprememba dihalnega volumna (V_T) pri posameznih konjih pred aplikacijo salbutamola in po njej. Vsaka linija predstavlja posamezno žival. Pri večini konj je opazno povečanje dihalnega volumna po bronhodilataciji.



Graf 2: Sprememba frekvence dihanja (f) pred aplikacijo salbutamola in po njej

Sprememba frekvence dihanja (f) pri posameznih konjih pred aplikacijo salbutamola in po njej. Pri večini živali je opazno zmanjšanje frekvence dihanja, kar odraža izboljšanje ventilacijskega vzorca.



4. RAZPRAVA

Vzpostavili smo diagnostični protokol s sistemom BuxcoFinePointe™, ki omogoča objektivno in ponovljivo oceno ventilacijskih parametrov pri konjih s težko obliko konjske astme (SEA). Naši rezultati so potrdili, da funkcionalna diagnostika pretoka zraka predstavlja ključni pristop za razumevanje patofiziologije bolezni, saj presega omejitve standardnega kliničnega pregleda, ki pogosto ne odraža dejanske stopnje obstrukcije spodnjih dihal (Hoffman, 2002).

4.1 INTERPRETACIJA VENTILACIJSKEGA ODZIVA (V_E , f , V_T)

Osrednja ugotovitev raziskave je jasno opredeljen prilagoditveni ventilacijski mehanizem konja na povečano upornost dihalnih poti. Meritve so pokazale, da se organizem na obstrukcijo lumna, ki nastane zaradi bronhokonstrikcije in kopičenja sluzi, odzove s spremembo ventilacijskega vzorca.

Zabeležili smo povečanje minutne ventilacije (V_E), ki predstavlja primarni kompenzacijski mehanizem za ohranjanje ustrezne izmenjave plinov. Ključno je poudariti, da je povečana V_E predvsem posledica povišane frekvence dihanja (f), medtem ko dihalni volumen (V_T) ostaja relativno omejen. Zaradi zoženja dihalnih poti žival v krajšem času ne more vdihniti zadostne količine zraka, kar vodi v značilen vzorec hitrega in plitvega dihanja (Couëtil in sod., 2016).

Takšen ventilacijski vzorec je energetsko neučinkovit in povečuje dihalni napor, saj zahteva večjo aktivacijo dihalnih mišic za vzdrževanje ustrezne ventilacije (Hoffman in sod., 1999).

Interpretacija grafičnih prikazov (Graf 1 in Graf 2)

Grafična analiza sprememb ventilacijskih parametrov (Graf 1 in Graf 2) je dodatno potrdila rezultate kvantitativne analize in omogočila bolj intuitivno razumevanje ventilacijskega odziva.

Graf 1: Sprememba dihalnega volumna (V_T)

Z Grafa 1 je razvidno sistematično povečanje dihalnega volumna (V_T) po aplikaciji salbutamola pri večini preiskovanih konj. Porazdelitev vrednosti je pokazala na konsistenten premik proti višjim vrednostim V_T , kar odraža izboljšano alveolarno ventilacijo.

Povečanje V_T je fiziološko skladno z zmanjšanjem upornosti dihalnih poti, saj omogoča učinkovitejši pretok zraka v distalni del pljuč. Hkrati takšen vzorec pomeni prehod iz plitvega v globlje dihanje, kar zmanjšuje potrebo po kompenzacijski tahipneji.

Graf 2: Sprememba frekvence dihanja (f)

Graf 2 prikazuje znižanje frekvence dihanja (f) po bronhodilataciji, kar je potrdilo prehod v bolj ekonomičen ventilacijski vzorec. Vizualno je opazen premik distribucije proti nižjim vrednostim f , kar kaže na zmanjšanje respiratornega napora.

Zmanjšanje f v kombinaciji s povečanjem V_T predstavlja tipičen odziv na izboljšanje prehodnosti dihalnih poti. Tak ventilacijski vzorec omogoča učinkovitejšo izmenjavo plinov ob manjšem energijskem vložku.

Skupna interpretacija obeh slik

Sočasna analiza obeh parametrov ($V_T \uparrow$, $f \downarrow$) jasno kaže na prehod iz patološkega ventilacijskega vzorca (hitro, plitvo dihanje) v bolj fiziološki vzorec (počasnejše, globlje dihanje).

Ta kombinirani odziv:

- potrjuje funkcionalno reverzibilnost obstrukcije,

- podpira rezultate statistične analize,
- dodatno validira občutljivost merilnega sistema za zaznavanje dinamičnih sprememb ventilacije.

Pomembno je poudariti, da grafični prikaz omogoča tudi zaznavanje interindividualne variabilnosti odziva, kar ima potencialno klinično vrednost pri individualizaciji terapije.

4.2 METODOLOŠKE PREDNOSTI MERJENJA PRETOKA NA BUDNIH ŽIVALIH

Pomembna prednost uporabljenega protokola je izvedba meritev pri nesediranih živalih. Sedacija lahko vpliva na tonus gladke miškulature dihalnih poti in posledično zmanjša izmerjeno upornost (R_L), kar lahko vodi do podcenjevanja dejanske stopnje obstrukcije.

Z optimizacijo namestitve obrazne maske in standardizacijo merilnega postopka smo dosegli stabilen signal pretoka z visoko stopnjo ponovljivosti. To je skladno z ugotovitvami Hoffmana (2002), da so standardizirani funkcionalni testi, ki vključujejo merjenje V_T in pretoka zraka, ključni za razlikovanje med funkcionalno reverzibilno obstrukcijo in strukturnimi spremembami dihalnih poti.

Z zmanjšanjem vpliva zunanjih dejavnikov, kot so gibanje živali, nepravilna drža glave in uhanje zraka, smo zagotovili, da izmerjena ventilacija odraža dejansko patofiziološko stanje spodnjih dihal.

4.3 DINAMIKA VENTILACIJSKEGA ODZIVA PO APLIKACIJI BRONHODILATATORJA

Bronhodilatacijski test je pokazal, da so spremembe ventilacijskega vzorca pri večini preiskovanih konj reverzibilne. Po aplikaciji salbutamola smo zaznali zmanjšanje frekvence dihanja ter povečanje dihalnega volumna, kar odraža izboljšanje pretoka zraka skozi dihalne poti.

Statistična analiza je potrdila, da so spremembe pri ključnih ventilacijskih parametrih (f , V_T , V_E) značilne, kar dodatno podpira interpretacijo, da merilni sistem zazna fiziološko relevantne spremembe ventilacije.

Ti rezultati potrjujejo prisotnost dinamične komponente bolezni, ki jo je mogoče farmakološko modulirati (Derksen in sod., 1999), ter hkrati dokazujejo uporabnost protokola za objektivno oceno odziva na terapijo.

4.4 KLINIČNI IN RAZISKOVALNI POMEN UPORABE SISTEMA BUXCO ZA MERJENJE V_E V VETERINARSKI MEDICINI

Neinvazivno merjenje ventilacijskih parametrov predstavlja pomemben napredek v funkcionalni diagnostiki respiratornih bolezni pri konjih. Parametri, kot so V_E , V_T in f , omogočajo neposreden vpogled v ventilacijski odziv organizma in dopolnjujejo klinično oceno, ki je pogosto subjektivna (Hoffman, 2010).

Vzpostavljen protokol omogoča:

- objektivno kvantifikacijo ventilacijskih sprememb,
- zaznavanje akutnega odziva na bronhodilatacijo,
- uporabo v raziskovalnih in kliničnih okoljih.

S tem pristopom pnevmotahografija postaja uporabno orodje za natančnejšo fenotipizacijo bolezni in spremljanje terapijskega odziva pri konjih s SEA.

5. SKLEPI

Na podlagi izvedene analize lahko izpostavimo naslednje ključne ugotovitve:

- Vzpostavitev diagnostičnega protokola z uporabo sistema BuxcoFinePointe™ omogoča objektivno in ponovljivo merjenje ventilacijskih parametrov pri konjih s SEA.
- Standardizirana kalibracija in optimizirana namestitev merilne opreme omogočata zanesljivo integracijo pretoka zraka ter natančen izračun V_T in V_E pri nesediranih živalih.
- Konji v akutni fazi SEA izkazujejo značilen ventilacijski vzorec hitrega in plitvega dihanja, pri katerem je povečana V_E predvsem posledica povišane frekvence dihanja.
- Aplikacija salbutamola povzroči merljive spremembe ventilacijskih parametrov, zlasti povečanje V_T in zmanjšanje f , kar potrjuje funkcionalno reverzibilnost obstrukcije.
- Uporabljeni merilni pristop omogoča zanesljivo zaznavanje dinamičnih sprememb ventilacije in predstavlja uporabno orodje za funkcionalno oceno respiratornih bolezni.
- Objektivna pnevmotahografska analiza dopolnjuje klinični pregled in omogoča natančnejšo oceno dihalne funkcije pri konjih s SEA.

6. ZAHVALE

Iskreno se zahvaljujem svojemu mentorju prof. dr. Modestu Venguštu za vso strokovno pomoč, usmerjanje in dragocene nasvete pri pripravi strokovno raziskovalnega dela. Hvala za potrpežljivost pri uvajanju v kompleksno področje pljučne fiziologije konj in za spodbudo pri premagovanju izzivov med praktičnim delom.

Posebna zahvala gre ekipi Klinike za zdravstveno varstvo in rejo konj Veterinarske fakultete v Ljubljani. Zahvaljujem se osebjem hleva za skrbno nego in pomoč pri pripravi konj, vključenih v raziskavo, ter vsem kolegom, ki so mi pomagali pri tehnični izvedbi meritev s sistemom Buxco. Brez vaše pomoči pri rokovanju z živalmi in namestitvi opreme to delo ne bi bilo mogoče.

Zahvaljujem se mag. Lei Felicijan za strokovno lektoriranje besedila in jezikovno izboljšavo strokovno raziskovalnega dela.

Nazadnje se zahvaljujem svoji družini in prijateljem za vso moralno podporo, razumevanje in spodbudo skozi ves proces študija.

7. LITERATURA IN VIRI

Adamič N, Prpar Mihevc S, Blagus R, et al. (2022). Effect of intrabronchial administration of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells on severe equine asthma. *Stem Cell Research & Therapy*, 13(1), 23.

Art T, Bayly W. (2014). Lower airway function: response to exercise and training. V: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ (ur.), *Equine Sports Medicine and Surgery* (2. izd., str. 587–604). Saunders Elsevier.

Barton AK, Gehlen H. (2016). Pulmonary Remodeling in Equine Asthma: What Do We Know about Mediators of Inflammation in the Horse? *Mediators of Inflammation*, 2016: 5693205.

Berg LC, Hansen S. (2024). The normal airway. V: Fjeldborg J, Lindegaard C (ur.), *Equine respiratory endoscopy*. CAB International.

Bond SL, Léguillette R, Richard EA, et al. (2018). Equine asthma: integrative biologic relevance of a recently proposed nomenclature. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32, 2088–2098.

Buxco Research Systems. (2010). *FinePointe Software Manual* (Version 1.0r4). Wilmington, NC: Buxco Research Systems, Inc.

Calzetta L, et al. (2020). Clinical efficacy of bronchodilators in equine asthma: Looking for minimal important difference. *Equine Veterinary Journal*, 52(2), 305–313.

Cheetham J, Holcombe SJ, Ducharme NG. (2014). Upper airway function of normal horses during exercise. V: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ (ur.), *Equine Sports Medicine and Surgery* (2. izd., str. 529–549). Saunders Elsevier.

Couëtil LL, Hammer J, Miskovic Feutz M, et al. (2012). Effects of bronchodilators on lung function in horses with recurrent airway obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 1433–1438.

Couëtil LL. (2014). Inflammatory diseases of the lower airway of athletic horses. V: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ (ur.), *Equine Sports Medicine and Surgery* (2. izd., str. 605–631). Saunders Elsevier.

Couëtil LL, Cardwell JM, Gerber V, et al. (2016). Inflammatory airway disease of horses – revised consensus statement. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30, 503–515.

Derksen FJ, Olszewski MA, Robinson NE, et al. (1999). Aerosolized albuterol sulfate used as a bronchodilator in horses with recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 60(6), 689–693.

Hoffman AM, Mazan MR, Eilenberg SS. (1999). Association between bronchoalveolar lavage cytologic features and airway obstruction in horses with heaves. *American Journal of Veterinary Research*, 60(8), 1026–1032.

Hoffman AM, Kuehn H, Riedelberger K, et al. (2001). Flowmetric comparison of respiratory inductance plethysmography and pneumotachography in horses. *Journal of Applied Physiology*, 91(6), 2767–2775.

Hoffman AM. (2002). Clinical application of pulmonary function testing in horses. V: Lekeux P (ur.), *Equine Respiratory Diseases*. International Veterinary Information Service (IVIS).

Hoffman AM, Oura TJ, Riedelberger KJ, et al. (2007). Plethysmographic comparison of breathing pattern in heaves (recurrent airway obstruction) versus experimental bronchoconstriction or hyperpnea in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(1), 184–92.

Hoffman AM. (2010). Inflammatory airway disease diagnostics: new pulmonary function tests for the field. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP*, 56, 137–139.

Koterba AM, Kosch PC, Beech J, et al. (1988). Breathing strategy of the adult horse (*Equus caballus*) at rest. *Journal of Applied Physiology*, 64(1), 337–46.

Lavoie JP, Cesarini C, Lavoie-Lamoureux A. (2016). Inflammatory airway disease and equine asthma: from heaves to mild asthma. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 32, 39–56.

Mazan MR, Lascola K, Bruns SJ, et al. (2014). Use of a novel one-nostril mask-spacer device to evaluate airway hyperresponsiveness (AHR) in horses after chronic administration of albuterol. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(3), 214–20.

Nolen-Walston RD, Kuehn H, Boston RC, et al. (2009). Reproducibility of airway responsiveness in horses using flowmetric plethysmography and histamine bronchoprovocation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 631–5.

Robinson NE, Derksen FJ, Berney C, et al. (1993). The airway response of horses with recurrent airway obstruction (heaves) to aerosol administration of ipratropium bromide. *Equine Veterinary Journal*, 25(4), 299–303.

Robinson NE, Derksen FJ. (2018). Equine asthma: pathophysiology and clinical signs. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 34, 557–568.

8. PRILOGE

Priloga 1: Tehnični protokol za pripravo in kalibracijo sistema Buxco (modul ventilacija). (Povzeto in prilagojeno po: FinePointe™ Software Manual, Buxco Research Systems, Inc., 2010).

Ta protokol opisuje standardizirani postopek vzpostavitve strojne in programske opreme FinePointe™ za merjenje ventilacijskih parametrov (V_E , V_T , f) pri konju.

1. Priprava strojne in programske opreme

1. **Vklop sistema:** vklopite računalnik in vstavite registracijski USB s programsko opremo.
2. **Povezava:** vklopite napravo Buxco. Rumeni kabel za pretok zraka (angl. *flow*) povežite na sprednjo ploščo naprave.
3. **Zagon programa:** odprite »FinePointeControl Panel« za preverjanje licence, nato pa se prijavite v glavni program FinePointe.
4. **Nastavitev študije:** izberite »Create study options«, kjer izberete »Dose response Study«.
 - Izberite živalsko vrsto (konj).
 - Izberite zavihek »RC Ventilated« in v konfiguraciji določite parameter minutna ventilacija (V_E).
 - Čas meritve nastavite na 10 minut.

2. Kalibracija pretoka zraka (angl. Flow Calibration)

Kalibracija je nujna pred vsako meritvijo za zagotovitev točnosti podatkov.

1. **Ničelna voltaža:** stikalo na napravi Buxco nastavite na »OFF«. Z navojem umerite voltažo, da ne presega $\pm 1,0$ V.
2. **Umerjanje (DC):** stikalo premaknite na »DC« in ponovno umerite voltažo, da ne presega $\pm 1,0$ V.
3. **Simulacija dihanja:** pnevmotahograf namestite na 7-litrski kalibracijski cilindar (model umetnih konjskih pljuč).
4. **Aplikacija volumna:** z ročico na cilindru aplicirajte 7 L zraka. Program mora zaznati razpon pretoka zraka, ki se običajno giblje med ± 60 in 63 L.

5. **Potrditev:** če je odstopanje manjše od 1 %, kliknite »Accept« in zaključite kalibracijo.

3. Izvedba neinvazivne meritve na konju

1. **Namestitev maske:** konju v stojnici namestite silikonsko masko. Preverite, ali robovi popolnoma tesnijo okoli nosnic, da preprečite uhajanje zraka.
2. **Položaj glave:** konjeva glava mora biti fiksirana v nevtralnem, rahlo dvignjenem položaju, kar zagotavlja neoviran pretok zraka skozi zgornja dihalna.
3. **Zbiranje podatkov:** v programu vnesite podatke o konju in teži. Kliknite »Start experiment«.
 - Program FinePointe™ v realnem času izmeri V_T in f .
 - Minutna ventilacija (V_E) se samodejno izračuna kot produkt: $V_E = V_T \times f$.
4. **Zaključek meritve in shranjevanje:** po končani meritvi (10 min) ustavite snemanje, kliknite »End Session« in shranite surovi izpis za statistično obdelavo.