UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

TPTF E TPTF/QT: NOVOS MARCADORES ARRITMOGÊNICOS E DE SOBREVIDA EM CÃES COM DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

Beatriz de Carvalho Pato Vila

Médica Veterinária

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

TPTF E TPTF/QT: NOVOS MARCADORES ARRITMOGÊNICOS E DE SOBREVIDA EM CÃES COM DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

Discente: Beatriz de Carvalho Pato Vila

Orientador: Prof. Dr. Marlos Gonçalves Sousa

Co-orientador: Prof. Dr. Aparecido Antonio Camacho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária. Área: Clínica Médica Veterinária

2020

V695t

Vila, Beatriz de Carvalho Pato
Tptf e Tptf/QT: novos marcadores arritmogênicos e de sobrevida em cães com doença mixomatosa da valva mitral / Beatriz de Carvalho Pato Vila. -- Jaboticabal, 2020
69 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Marlos Gonçalves Sousa
Coorientador: Aparecido Antonio Camacho

1. Eletrocardiografia veterinária. 2. Cardiologia veterinária. 3. Arritmia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: TPTF E TPTF/QT: NOVOS MARCADORES ARRITMOGÊNICOS E DE SOBREVIDA EM CÃES COM DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

AUTORA: BEATRIZ DE CARVALHO PATO VILA
ORIENTADOR: MARLOS GONÇALVES SOUSA
COORIENTADOR: APARECIDO ANTONIO CAMACHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARLOS GONÇALVES SOUSA
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal do Paraná - Curitiba/PR

Profa. Dra. RUTHNEA APARECIDA LAZARO MUZZI (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Patologia Veterinária / Universidade Federal de Lavras / Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Clínica de Pequenos Animais / Lavras/MG

Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 29 de julho de 2020

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

BEATRIZ DE CARVALHO PATO VILA – nascida em 22 de fevereiro de 1994 em São Paulo, filha de Sonia Vieira de Carvalho Pato Vila e José Antonio Pato Vila. Iniciou sua graduação em medicina veterinária em fevereiro de 2011 na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Jaboticabal, concluindo-a em dezembro de 2015. Durante o período de graduação realizou diversos estágios extracurriculares envolvendo clínica médica, cirurgia, patologia clínica, cardiologia e oncologia de pequenos animais e equinos em clínicas privadas, centro diagnóstico privados, hospitais universitários, e no Jockey Club de São Paulo. De 2012 a 2013 foi trainee de projetos de medicina veterinária da empresa júnior Consultoria Agropecuária Júnior (CAP Jr), e foi diretora de projetos de medicina veterinária da mesma empresa júnior de 2013 a 2014. Realizou projeto de iniciação científica financiado pela FAPESP entre 2014 e 2015 e com duração de 1 ano e meio, envolvendo imunodetecção de p53 e HER2 em carcinoma espinocelular de cães e gatos, sob orientação da Profa. Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos. Foi residente entre 2016 e 2018 no Programa de Aprimoramento Profissional em Medicina Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) UNESP – campus de Jaboticabal, na área de Clínica Médica de Pequenos Animais, sob orientação do Prof. Dr. Aparecido Antonio Camacho. Em 2018, ingressou no programa de mestrado em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária) com ênfase em Cardiologia Veterinária e Clínica Médica de Pequenos Animais sob orientação do Prof. Dr. Marlos Gonçalves Sousa e co-orientação do Prof. Dr. Aparecido Antonio na UNESP Campus Jaboticabal.

EPÍGRAFE

"*Todos nós estamos conectados uns com os outros e com todas as criaturas vivas em todos os níveis, do macro ao micro, do social ao celular. A separação que nós sentimos na caminhada, é ilusão. A realidade é que compartilhamos muito mais do que jamais compreendemos, tanto na mente quanto no corpo. Nós estamos profunda e espontaneamente interligados com os demais e com a natureza.*"

Elizabeth Blackburn e Elissa Epel

DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho a todos os meus familiares e amigos, que me incentivaram a seguir meu coração e iniciar este caminho lindo; aos meus orientadores que me guiaram durante toda a trajetória; aos colegas médicos veterinários e animais que participaram da construção deste trabalho e que poderão se beneficiar das informações aqui transmitidas. Dedico também ao meu filho da espécie canina, que foi meu primeiro e mais profundo contato com o mundo animal, e que me fez ter certeza desde pequena de que minha vocação é - não só amar, mas também - cuidar de anjos de quatro patas.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus, que me concedeu vida, saúde, força e colocou anjos ao meu redor durante toda a minha trajetória. Agradeço a todas as formas de amor e energia que me protegem e me guiam.

Serei eternamente grata aos meus pais, José Antonio e Sonia; meu irmão Guilherme; meus avós Atílio, Alice, Tetê e Aloízio; minha “titia” Glauce e meu “padinho” Waldir por me apoiarem desde a minha primeira lembrança como ser humano. Fui criada por seres de luz que me deram muito mas muito amor, e me ensinaram a fazer isso com os outros também. Obrigada por acreditarem em mim, por me darem todo o suporte para o meu crescimento pessoal e profissional, por nunca me deixarem na mão. Obrigada por me educarem, cuidarem de mim com tanto carinho, e me estimularem a ser cada vez melhor. Se eu não tivesse a confiança e incentivo que vocês me deram, não estaria escrevendo estas palavras hoje. Amo muito cada um de vocês!

Agradeço imensamente aos meus dois mentores dessa área em que me vejo cada dia mais apaixonada, a Cardiologia. Me sinto extremamente honrada em aprender com os melhores cardiologistas veterinários do nosso país: professor Marlos e professor Camacho. Muito obrigada professor Marlos, meu orientador, pela oportunidade que me concedeu para realizar este sonho incrível; por me permitir fazer parte da família #TeamCardioUFPR; por todo o tempo, dedicação e paciência tirando minhas dúvidas, corrigindo meus trabalhos e respondendo minhas mensagens; por me ensinar tanto e por trazer conhecimento de melhor qualidade, de forma clara, leve e brilhante; pelas oportunidades e experiências ímpares que me proporcionou, que impulsionaram mais ainda a minha vontade de aprender; por ser um exemplo de profissional que eu almejo ser um dia; e, claro, por todas as calorias que comemos durante os deliciosos tours gastronômicos em Jaboticabal e em Curitiba. Sou uma grande admiradora do senhor!!

Muito obrigada professor Camacho, meu co-orientador, por ter sido o melhor professor que eu tive durante toda a graduação; por ter feito meus olhos brilharem durante sua explicação na aula sobre ICC e despertar em mim uma

vontade de me aprofundar mais sobre essa especialidade maravilhosa; por ter aberto as portas do serviço de Cardiologia desde o meu primeiro estágio no 3º ano (de onde não saí mais); por ser meu orientador durante a residência e me ajudar a fazer estágio no serviço de cardiologia da Universidade de Cornell, que foi fascinante e surreal; por me aconselhar a ser orientada pelo professor Marlos e co-orientada pelo senhor, mesmo com o senhor sabendo que ia se aposentar; pelos ensinamentos quando discutimos os casos da rotina; por me dar voto de confiança para atender no setor de Cardiologia e para ajudar nos cursos de cardiologia e de clínica médica que o senhor é responsável, nos quais eu aprendo cada dia mais. Tenho um respeito imensurável pelo senhor e serei eternamente grata por ter me permitido fazer parte do serviço de Cardiologia da UNESP de Jaboticabal, o qual eu tenho muito orgulho.

Agradeço aos membros da banca de defesa, professora Mirela e professora Ruthnéa, e aos membros da banca de qualificação do meu mestrado, professora Annelise e Dr. Roberto, por terem aceito nosso convite e por todo tempo, dedicação e energia para nos ajudarem a lapidar esse trabalho. As sugestões, críticas e elogios de vocês contribuem muito para o meu aprendizado e são de grande valia para eu poder melhorar cada vez mais minha apresentação e minha escrita.

Agradeço muito às minhas Cardiogirls queridas, Rapha, Jais e Tamy, que me acodem em todas as frustrações, tiram minhas dúvidas, me aconselham, são o meu ombro amigo e me encorajam! Vocês não são apenas colegas de profissão, mas amigas que estiveram do meu lado em momentos difíceis, mas também em ótimos momentos, como gordices e viagens em cursos e congressos! Obrigada por terem se tornado, não só minhas grandes amigas, mas além de tudo, professoras maravilhosas da “cardiobaby”.

Gostaria de agradecer meu grande amigo Bruno (Xambs), por servir como exemplo pra mim há tantos anos. Quando eu estava terminando a graduação, meu sonho era virar residente da CMPA igual você; quando eu estava terminando a residência, meu sonho era fazer mestrado na cardiologia igual você! Não posso deixar de mencionar as incontáveis vezes em que você me

ajudou tirando dúvidas e me aconselhando não só sobre cardiologia e clínica, mas tantas vezes sobre minha vida pessoal, e isso não tem preço. Se tudo der certo, estaremos juntos futuramente pra eu te atazanar mais ainda, migo!!

Agradeço também aos meus queridos colegas Murillo (Jabuka) e os #TeamCardioUFPR: Má, Vini, Bru N., Matheus, Bru B., Julio, Té, Monica, Luisa e Fran. Vocês não têm ideia do quanto admiro todos vocês!! Cada um de vocês, mesmo sem querer, me ensinou não só sobre cardiologia, mas sobre acolhimento, companheirismo, dedicação, união. Obrigada por todos os ensinamentos de cardiologia na rotina, nos Journal Clubs, nos cursos e também pelos ensinamentos da vida real nos restaurantes e barzinhos!

Gostaria de agradecer em especial minha amiga Marcela, que me recebeu pela primeira vez em sua casa (sem nem me conhecer direito!!) em Curitiba no começo do meu mestrado, e que acabou se tornando uma irmã pra mim. Passei a admirar imensamente ela quando descobrí seu coração gigante, sua alegria, sua inteligência e dedicação em tudo o que faz! E obviamente depois que ela fez panquequinhas de banana e pipoca pra mim, aí o amor multiplicou mais ainda. Quando crescer, quero ser igualzinha a você!

Agradeço também às pessoas que foram grandes inspirações pra mim lá no comecinho, desde a época da graduação (e até hoje): Roberto, Evandro, Edna, Fábio, Alejandro, Michelli, Fernando, Beth, Jorge, Vivian. Observando e aprendendo com vocês através de aulas, de cursos e da rotina, o meu sonho de me aprofundar nesse universo fantástico da cardiologia nasceu, se amplificou e se fortaleceu. Obrigada por serem grandes cardiologistas e me inspirarem a me tornar uma também!

Agradeço também ao meu namorado e melhor amigo, Caio, por estar ao meu lado todos os dias; por me incentivar a sonhar cada vez mais alto; por entender e me apoiar nas minhas “ausências” nos infinitos cursos e congressos que participo; por ter até me ajudado a tabular alguns dados depois de ver meu leve desespero (rs); por me dar carinho e apoio em todos os momentos difíceis e vibrar comigo em todas as conquistas. Obrigada por todo amor e companheirismo! Te amo muito!

Agradeço ao meu filho de quatro patas, que está grudado comigo há 17 anos (passei mais tempo da minha vida com ele do que sem ele), que foi minha primeira experiência em medicar e cuidar de um animal, que vai comigo para praticamente todos os lugares que eu vou. Agradeço pela oportunidade de criar esse vínculo tão forte e especial com um ser que só consegue dar carinho e amor (e às vezes raiva quando levo no hospital, afinal ele é um Poodle idoso ranzinza!). Sou eternamente apaixonada e grata por tê-lo em minha vida!

Agradeço aos professores, funcionários, pós graduandos e residentes do HV. Se eu fosse nomear todos os que gostaria, ficaria escrevendo até o ano que vem! Mas todos foram muito importantes para eu ter chegado até aqui. Cada “bom dia”, cada sorriso, cada caso atendido em conjunto, cada emergência, cada conversa no corredor, cada abraço, cada conselho... Todos pequenos momentos fizeram parte do meu dia-a-dia e me ajudaram a me transformar na pessoa que sou hoje.

Muito obrigada meus amigos Amanda (Mandija), Letícia (Alpaca), Danielle (Fogs), Andréa (Pocotó), Pauline, Izabela, Rodolpho, Grazi, por estarem ao meu lado desde a graduação ou residência e trazerem alegria, risadas, carinho e paz para os meus dias. Levarei vocês no coração para sempre!

Agradeço também às minhas amigas-irmãs Rachel, Michelly, Rafaela e Morany, por me apoiarem em tantos momentos há mais de 15 anos (inclusive assistirem minha primeira aula online mesmo sem entender nada rs). Vocês são parte da minha família e sou muito grata por ter vocês na minha vida!

Agradeço também aos meus queridos pacientes e suas famílias, que possibilitaram que eu aprendesse na prática cada componente do exame clínico, eletrocardiograma, ecocardiograma, Holter, mas que, além de tudo, me ensinaram a olhar para o paciente como indivíduo. E enxergar que, além de meu paciente, ele é o filho de quatro patas de alguém. Sou muito grata pela confiança e carinho de todas estas famílias, e pela oportunidade de conhecer melhor o universo da clínica e cardiologia através destes animais.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo fomento da bolsa de estudos, e ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária por permitir a minha formação profissional e a realização deste sonho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Página

CERTIFICADO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....ii
TÍTULO E RESUMO.....iii
PALAVRAS-CHAVE.....iii
TITLE E ABSTRACT.....iv
KEYWORDS.....iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....v
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....1
Introdução.....1
Revisão de Literatura.....2
Referências.....10
CAPÍTULO 2 - TPTE AND TPTE/QT: NOVEL ARRHYTHMOGENIC AND SURVIVAL MARKERS FOR DOGS WITH MYXOMATOUS MITRAL VALVE DISEASE.....17
Introduction/objectives.....17
Animals, materials and methods.....18
Results.....22
Discussion.....35
Conclusions.....40
References.....40
Footnotes.....48
APÊNDICE A.....50

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Tp-Tf e Tp-Tf/QT – Novas formas de avaliação da repolarização ventricular em cães com doença mixomatosa da valva mitral como indicadores de arritmogênese e sobrevida"**, protocolo nº 015875/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marlos Gonçalves Sousa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 08 de novembro de 2018.

Vigência do Projeto	01/02/2019 a 29/07/2020
Espécie / Linhagem	Canina
Nº de animais	200
Peso / Idade	Não será restringida faixa etária nem peso
Sexo	Ambos os sexos
Origem	Dados do arquivo da rotina do Serviço de Cardiologia Veterinária do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV, UNESP, Jaboticabal.

Jaboticabal, 08 de novembro de 2018.

Fabiana Pilarski

Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

TPTF E TPTF/QT: NOVOS MARCADORES ARRITMOGÊNICOS E DE SOBREVIDA PARA CÃES COM DOENÇA MIXOMATOSA DA VALVA MITRAL

RESUMO – Introdução / Objetivos: Nos últimos anos, novos marcadores, como o intervalo entre o pico e o final da onda T (Tptf) e a relação Tptf/QT, vêm demonstrando alta sensibilidade a arritmias e mortalidade ventriculares. Analisamos esses e outros parâmetros de repolarização ventricular, como intervalo QT, intervalo QT corrigido para frequência cardíaca (QTc) e dispersão QT (QTd) em cães com doença mixomatosa valvar mitral (DMVM). Além disso, investigamos sua relação com a progressão da doença, parâmetros ecocardiográficos e arritmias ventriculares, e avaliamos seu valor prognóstico com o desenvolvimento de sinais clínicos ou mortalidade como desfecho final.

Animais, materiais e métodos: Foram obtidos dados epidemiológicos, clínicos, ecocardiográficos e eletrocardiográficos de 236 cães com DMVM e 15 cães saudáveis. Informações prognósticas e de sobrevida também foram registradas no grupo DMVM. Todos os índices de repolarização ventricular foram medidos em dez derivações eletrocardiográficas.

Resultados: Com exceção do intervalo QT, a maioria dos marcadores de repolarização aumentou com a frequência de arritmias e com a progressão da DMVM. Os parâmetros que melhor identificaram arritmias ventriculares (AUC> 0,7) foram Tptf (aVR, rV2, média rV2-V10, média rV2-V4) e Tptf/QT (II, aVR, rV2). Na análise de sobrevida, os marcadores estatisticamente significativos com as maiores diferenças na sobrevida mediana foram Tptf/QT (rV2, aVR) e Tptf (máximo de qualquer derivação, máximo rV2-V10).

Conclusão: Tptf e Tptf/QT são bons marcadores não invasivos para estratificação de risco clínico em cães com DMVM.

Palavras-chave: Arritmia ventricular, Cão, Eletrocardiografia, Mortalidade, Repolarização

TPTE AND TPTE/QT: NOVEL ARRHYTHMOGENIC AND SURVIVAL MARKERS FOR DOGS WITH MYXOMATOUS MITRAL VALVE DISEASE

ABSTRACT – Introduction/Objectives: In the last few years, novel markers such as the interval between the peak and the end of T wave (Tpte) and Tpte/QT ratio have been shown to have high sensitivity for ventricular arrhythmias and mortality. We analyzed these and other parameters of ventricular repolarization, such as QT interval, QT interval corrected for heart rate (QTc) and QT dispersion (QTd) in dogs with myxomatous mitral valve disease (MMVD). Additionally, we investigated their relationship with the progression of the disease, echocardiographic parameters and ventricular arrhythmias, and assessed their prognostic value with development of clinical signs or mortality as the final outcome.

Animals, materials and methods: Epidemiological, clinical, echocardiographic and electrocardiographic data was obtained from 236 dogs with MMVD and 15 healthy dogs. Prognostic and survival information was also recorded for the MMVD group. All ventricular repolarization indices were measured in ten lead electrocardiographic recordings.

Results: With the exception of QT interval, most repolarization markers increased along with the frequency of arrhythmias, and with the progression of MMVD. The parameters that best identified ventricular arrhythmias (AUC >0.7) were Tpte (aVR, rV2, average rV2-V10, average rV2-V4) and Tpte/QT (II, aVR, rV2). In survival analysis, statistically significant markers with the highest differences in median survival were Tpte/QT (rV2, aVR) and Tpte (maximum of any lead, maximum rV2-V10).

Conclusion: Tpte and Tpte/QT are good noninvasive markers for clinical risk stratification in dogs with MMVD.

Keywords: Canine, Electrocardiography, Mortality, Repolarization, Ventricular arrhythmia

LISTA DE ABREVIATURAS

ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
APC	Atrial premature complex
AUC	Area under the curve
CHF	Congestive heart failure
DMVM	Doença mixomatosa da valva mitral
DR	Dispersão da repolarização
E	Peak velocity of early diastolic transmitral flow
ECG	Electrocardiographic
E:A	Ratio of early to late transmitral flow
FA	Fibrilação atrial
FS	Fractional shortening
HR	Heart rate
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
LA:Ao	Ratio of the left atrial to aortic root diameters
LVIDdN	Left ventricular internal dimension at end-diastole normalized for body weight
LVIDsN	Left ventricular internal dimension at end-systole normalized for body weight
MMVD	Myxomatous mitral valve disease
QTc	Intervalo QT corrigido pela frequência cardíaca
QTc	QT interval corrected by heart rate
QTcd	QTc dispersion
QTd	Dispersão do intervalo QT
QTd	QT dispersion
ROC	Receiver operating characteristic
SCD	Sudden cardiac death
SQTC	Síndrome do QT curto
SQTL	Síndrome do QT longo
Tp	Pico da onda T

Tpte	T wave peak-end interval
Tptf	Intervalo entre o pico e o final da onda T
Tf	Final da onda T
Tpte/QT	Ratio of Tpte and QT intervals
Tptf/QT	Razão entre os intervalos Tptf e QT

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução

A doença mixomatosa da valva mitral (DMVM) é a doença cardíaca mais comum na espécie canina (Smith et al., 2015). Esta cardiopatia possui maior prevalência em machos e em cães de raças pequenas, como Cavalier King Charles Spaniel e Poodle (Mattin et al., 2015). A DMVM é causada por uma degeneração progressiva e espessamento difuso da valva mitral, levando à coaptação incompleta dos folhetos e à regurgitação valvar (Serfass et al., 2006). Embora muitos cães com DMVM permaneçam assintomáticos durante anos, a progressão da regurgitação mitral pode causar insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e arritmias, levando alguns cães à morte (Serfass et al., 2006; Crosara et al., 2010). Por este motivo, a detecção precoce do risco arritmogênico e de mortalidade pode auxiliar na determinação de prognóstico e na escolha de melhores opções terapêuticas para estes pacientes.

Acredita-se que o aumento da dispersão da repolarização (DR), ou seja, a perturbação do padrão normal ordenado de recuperação ventricular possa predispor a arritmias ventriculares. Desta forma, é importante entender os sinais contidos em ST-T durante a avaliação eletrocardiográfica que possam indicar alguma falha (Kors et al., 2008). Vários marcadores eletrocardiográficos de repolarização ventricular já foram propostos como indicadores de risco em vários contextos clínicos, como intervalo QT (Tse e Yan, 2017), intervalo QT corrigido pela frequência cardíaca (QTc) (Surawicz, 1987) e dispersão do QT (QTd) (Elming et al., 1998). Recentemente novos índices vêm se destacando por apresentarem uma maior sensibilidade à arritmogênese ventricular, como intervalo entre o pico (Tp) e o final (Tf) da onda T (Tptf) (Tse et al., 2017) e razão Tptf/QT (Castro-Torres et al., 2015).

Apesar de a sensibilidade e a aplicabilidade do intervalo Tptf e da razão Tptf/QT já terem sido demonstradas em uma vasta diversidade de condições fisiopatológicas (Vehmeijer et al., 2019; Xue et al., 2019; Li et al., 2019; Afsin et al., 2017; Yılmaz et al. 2018; Taşolar et al. 2014; Ünal et al., 2018; Cetin et al., 2020), a maioria destes

estudos avaliou o comportamento destes parâmetros eletrocardiográficos em humanos. As pesquisas conduzidas em outras espécies, incluindo os cães, envolvem modelos animais, e não doenças de ocorrência natural (Opthof et al., 2007; Picirillo et al., 2012; Yoon et al., 2019; Antzelevitch et al., 2000; Sicouri e Antzelevitch, 1991; Di Diego et al., 2003) . Visto a grande prevalência da DMVM na espécie canina (Smith et al., 2015) e sua capacidade de induzir arritmias mesmo nas fases iniciais da doença (Crosara et al., 2010; Carvalho et al., 2018), o objetivo deste trabalho foi investigar a relação entre os índices de repolarização ventricular e o risco arritmogênico em cães com esta cardiopatia. Também verificamos se estes parâmetros podem ser utilizados como indicadores de prognóstico e mortalidade. Além disso, foi avaliado se existe correlação com parâmetros ecocardiográficos e intervalo R-R, e se eles aumentam com a progressão da doença.

Revisão de literatura

A DMVM canina já foi proposta como um modelo animal do prolapso valvar mitral em humanos por apresentar similaridades macroscópicas e microscópicas, além de manifestar uma progressão semelhante (Pedersen e Häggström, 2000). As alterações macroscópicas na DMVM são caracterizadas como opacidade e espessamento, e podem se desenvolver nos dois folhetos da valva mitral. Inicialmente essas anormalidades são observadas apenas no terço distal dos folhetos valvares, que progridem para um espessamento difuso e nodular generalizado. Nas cordas tendíneas, as anormalidades macroscópicas incluem deformação e alongamento destas estruturas (Fox, 2012; Häggström et al., 2004). As alterações morfológicas causadas pela degeneração valvar mitral culminam numa aposição ineficaz dos folhetos e, consequentemente, regurgitação de sangue para o átrio esquerdo durante a sístole ventricular (Connell et al., 2012; Petric, 2015)

Inicialmente, a regurgitação mitral leve não induz alterações aparentes no tamanho e função cardíaca. As lesões valvares degenerativas podem progredir, culminando em um maior espessamento das cordoalhas tendíneas e das cúspides da

valva mitral, e no desenvolvimento de prolapso dos folhetos valvares para dentro do átrio esquerdo durante a sístole ventricular (Muzzi et al., 2009). A progressão das lesões valvares promove piora da insuficiência mitral, sobrecarga de volume e, consequentemente, remodelamento atrioventricular esquerdo (Keene et al., 2019; Ruaengsri et al., 2018).

A princípio, o estiramento ventricular esquerdo gerado pelo aumento da pré-carga leva a uma maior força de contração devido à Lei de Frank-Starling. Com a progressão do remodelamento, da disfunção miocárdica e da redução do débito cardíaco, ocorre a ativação de mecanismos compensatórios neuro-hormonais (Erling e Mazzaferro, 2008). Primeiramente, ocorre a estimulação do sistema nervoso simpático e, mais tardiamente, a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Estes mecanismos são recrutados na tentativa de manter a pressão arterial sistêmica e a homeostase cardiovascular, porém a longo prazo podem gerar consequências deletérias (Erling e Mazzaferro, 2008). Alguns efeitos como vasoconstrição, taquicardia e retenção hídrica gerados pelos mecanismos compensatórios acarretam na progressão da ICC e predispõem o desenvolvimento de arritmias (Serfass et al., 2006; Crosara et al., 2010; Carvalho et al., 2018)

Arritmia cardíaca é definida como uma variação da frequência cardíaca e/ou ritmo normal que não é fisiologicamente justificada (Antzelevitch e Burashnikov, 2011). Os mecanismos responsáveis pelas arritmias cardíacas são geralmente divididos em três categorias principais: (1) anormalidades na formação do impulso, (2) anormalidades na condução do impulso e (3) anormalidades na formação e condução do impulso. As anormalidades na formação do impulso são subdivididas em: automaticidade normal diminuída, automaticidade normal aumentada, automaticidade anormal e atividade deflagrada. As anormalidades na condução do impulso são subdivididas em bloqueios de condução e reentrada (Santilli et al., 2020b).

Um exemplo de anormalidade na formação do impulso é a maior estimulação simpática e menor estimulação parassimpática que ocorre em cães em fases avançadas da DMVM (Oliveira et al., 2014; Rasmussen et al., 2012). Esse fator é refletido na avaliação por eletrocardiograma e Holter-24h, onde observa-se maiores valores de frequência cardíaca mínima e média, menores índices variabilidade da

frequência cardíaca, poucas pausas entre batimentos cardíacos consecutivos e duração mais curta das pausas em cães com ICC (Oliveira et al., 2014; Rasmussen et al., 2012). Distúrbios entre o tônus simpático e o vagal sob o coração devem ser diagnosticados o mais cedo possível, pois essa condição pode predispor à instabilidade elétrica cardíaca e à morte súbita (Carney et al., 2005).

A fibrilação atrial (FA) é uma consequência da associação de anormalidades de formação e de condução do impulso (Santilli et al., 2020c). Além de ser a taquiarritmia supraventricular mais comum em cães, sua presença é associada a um menor tempo de sobrevida (Jung et al., 2016; Domanjko Petrič, Hozjan, Blejec, 2007). Os mecanismos propostos para explicar a indução e manutenção da FA incluem: descargas rápidas de foco ectópico (causado por atividade deflagrada) e reentrada funcional. A reentrada funcional é caracterizada por um circuito que se desenvolve ao redor de uma região central formada por tecido refratário (Santilli et al., 2020b). Fatores que promovem a reentrada incluem dispersão da refratariedade, período refratário atrial curto, fibrose e dilatação atrial (Santilli et al., 2020c). Por este motivo, a susceptibilidade à FA é significativamente maior em cães com sobrecarga de volume e fibrose atrial esquerda, características observadas em pacientes nas fases avançadas de DMVM (Ruaengsri et al., 2018; Jung et al., 2016; Janus et al., 2016).

Um indicador de prognóstico em cães com FA é a frequência da resposta ventricular, que é influenciada pelo sistema nervoso autônomo nas propriedades de condução do nó atrioventricular. Geralmente a frequência ventricular é menor quando a FA é uma anormalidade isolada, e maior quando está associada a doenças cardíacas estruturais avançadas e ICC (Santilli et al., 2020c). Pedro et al. (2007) demonstraram que para cada aumento de 10 bpm na média da FC de cães com FA, o risco de mortalidade aumenta em 35%.

Cães em fases avançadas de DMVM também possuem um maior risco de desenvolvimento de arritmias ventriculares (Crosara et al., 2010; Carvalho et al., 2018). Reentrada é o mecanismo eletrofisiológico mais comumente associado às taquicardias ventriculares, porém automaticidade anormal e atividade deflagrada também podem ocorrer. Anormalidades eletrolíticas, desequilíbrio do sistema autonômico e estresse na parede miocárdica devido sobrecarga de volume e de

pressão são os fatores moduladores mais comuns para desencadear uma taquicardia ventricular. Entre eles, a elevação do tônus simpático possui o papel principal no início e na manutenção de arritmias. A ativação do sistema adrenérgico aumenta a automaticidade celular e a atividade deflagrada, e pode promover a dispersão da refratariedade no miocárdio ventricular (Santilli et al., 2020a).

Anormalidades mecânicas no miocárdio também podem causar alterações heterogêneas na repolarização ventricular, levando ao aumento ou à redução da duração do potencial de ação (ou período refratário), dependendo da natureza e do momento em que ocorre o estímulo (Kohl et al., 1998). Este fenômeno, conhecido como feebdback eletromecânico, expõe como mudanças na carga de enchimento ventricular em corações com disfunção ventricular alteram a eletrofisiologia cardíaca e aumentam a DR, favorecendo a arritmogênese deflagrada e de reentrada (James et al., 2002; de Bakker et al., 1998).

A DR tem sido associada a arritmias com grande risco de óbito (Han e Moe, 1964; Surawicz, 1997). Dois mecanismos já foram propostos para explicar a arritmogênese na presença de grandes diferenças regionais no tempo de repolarização. Primeiro, um batimento prematuro iniciado no tecido com repolarização precoce é conduzido em direção ao tecido com repolarização tardia e falha em se propagar para o último até se recuperar do período refratário (bloqueio unidirecional) (Allessie et al., 1976; Gough et al., 1985). Como consequência, o impulso viaja ao redor do tecido refratário e entra novamente no tecido onde o impulso se originou. Segundo, as diferenças nos tempos de repolarização geram uma corrente elétrica que flui intracelularmente do tecido com atraso em direção ao tecido com repolarização precoce, que despolariza o último. Se o potencial limite de ativação for alcançado, inicia-se um batimento prematuro espontâneo e, consequentemente, uma arritmia. Esse mecanismo para arritmogênese focal foi denominado “reentrada da fase 2” (Lukas, Antzelevitch, 1996).

A DR ventricular vem sendo estudada há mais de 5 décadas (Han e Moe, 1964). Diversos estudos já demonstraram que o miocárdio ventricular é eletricamente heterogêneo e é composto por pelo menos três células eletrofisiologicamente e funcionalmente distintas: células epicárdicas, M e endocárdicas (Antzelevitch et al.,

1999; Antzelevitch et al., 1995; Anyukhovsky et al., 1999). A célula M (Moe maçônica do meio do miocárdio) foi descoberta no início dos anos 90 e foi nomeada em memória de Gordon K. Moe (Anyukhovsky et al., 1999). Os três tipos principais de células miocárdicas ventriculares diferem em relação às características de repolarização das fases 1 e 3. As células epicárdicas e as células M, mas não as endocárdicas, geralmente exibem fase 1 mais proeminente, devido a uma grande corrente de efluxo transitória sensível a 4-aminopiridina (4-AP) (Ito), dando ao potencial de ação um pico e uma cúpula ou configuração entalhada (Antzelevitch e Burashnikov, 2011). Estas características já foram demonstradas em diversas espécies, incluindo cães (Liu et al., 1993), gatos (Furukawa et al., 1990) e humanos (Nabauer et al., 1996).

Outro diferencial das células M é capacidade de seu potencial de ação prolongar desproporcionalmente em relação ao potencial de ação das outras células do miocárdio ventricular como resposta a uma desaceleração da frequência cardíaca e/ou em resposta a agentes prolongadores da duração do potencial de ação (Antzelevitch et al., 1991; Sicouri e Antzelevitch, 1991; Anyukhovsky et al., 1996). No cão, a base iônica para esses recursos da célula M inclui a presença de uma menor corrente retificadora retardada de ativação lenta (IKs) (Liu e Antzelevitch, 1995), uma corrente tardia de sódio maior (INa tardia) (Zygmunt et al., 2001) e uma corrente de troca Na-Ca maior (INCx) (Zygmunt et al., 2000).

A distribuição de células M dentro da parede ventricular já foi investigada no coração canino. Embora as células de transição sejam encontradas em toda a parede do ventrículo esquerdo canino, as células M que apresentam os potenciais de ação mais longos são localizadas no subendocárdio profundo até o meio do miocárdio na parede anterior (Yan et al., 1998), no subepicárdio profundo até o meio do miocárdio na parede lateral (Sicouri e Antzelevitch , 1991) e em toda a parede na região da via de saída do ventrículo direito (Antzelevitch et al., 1999). As células M também estão presentes nas camadas celulares profundas das estruturas endocárdicas, incluindo músculos papilares, trabéculas e septo interventricular (Sicouri e Antzelevitch, 1995).

As diferenças no tempo de repolarização dos três tipos predominantes de células do miocárdio contribuem de maneira proeminente para a inscrição da onda T no eletrocardiograma. Os gradientes de voltagem que se desenvolvem como

resultado da diferença temporal da repolarização das fases 2 e 3 nos três tipos de células dão origem a gradientes de voltagem opostos em ambos os lados da região M, que são em parte responsáveis pela inscrição da onda T (Yan e Antzelevitch, 1998).

No caso de uma onda T positiva, as células epicárdicas são as primeiras a repolarizar e as células M são as últimas. A repolarização completa do potencial de ação epicárdico coincide com o pico da onda T (Tp) e a repolarização das células M é coincidente com o final da onda T (Tf) (Yan e Antzelevitch, 1998). Portanto, a duração do potencial de ação epicárdico determina o intervalo entre a onda Q e Tp, enquanto a duração do potencial de ação das células M determina o intervalo entre a onda Q e Tf. Consequentemente, o intervalo entre o pico e o final da onda T (Tptf) nas derivações precordiais do eletrocardiograma fornece um índice de DR transmural (Antzelevitch et al., 1999).

O intervalo Tptf vem ganhando popularidade após diversos trabalhos demonstrarem associação entre este parâmetro prolongado e arritmogênese ventricular e morte súbita cardiogênica (Zhao et al., 2012; Smetana et al., 2011; Erikssen et al., 2012). Tse et al. (2017) analisaram 33 estudos relacionados a Tptf envolvendo 155.856 pessoas, com trabalhos referentes a populações em diversas condições clínicas (ICC, cardiopatia isquêmica, síndrome de Brugada, hipertensão, embolismo pulmonar, doença de Chagas, distúrbio de condução intraventricular, cardiomiopatia dilatada, cardiomiopatia isquêmica), além de trabalhos com populações generalizadas. Todos os estudos apontaram uma associação positiva entre o prolongamento do Tptf e taquicardia/fibrilação ventricular ou morte súbita cardiogênica.

A razão entre o intervalo Tptf e o intervalo QT (Tptf/QT) possui uma vantagem substancial em comparação a outros marcadores de repolarização ventricular, como os intervalos Tptf, QT e QTd, pois não precisa ser corrigida pela frequência cardíaca (Castro-Torres et al., 2015; Zhao et al., 2012) e não é afetada pela variação interindividual. Em indivíduos de espécies evolutivamente diferentes ou da mesma espécie com frequências cardíacas diferentes, as alterações no intervalo Tptf e QT ocorrem de forma proporcional e paralela, no entanto, a razão Tptf/QT permanece

constante. Isso melhora a relação sinal/ruído e fornece informações exclusivas que preveem a arritmogênese. Além disso, acredita-se que este marcador seja um índice mais sensível de arritmogênese, pois fornece uma estimativa da DR em relação à duração total da repolarização (Gupta et al., 2008).

A amplificação da DR espacial dentro do miocárdio ventricular já foi associada à arritmogênese em humanos cardiopatas com diferentes canalopatias hereditárias e adquiridas, incluindo taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, e as síndromes de Brugada (Letsas et al., 2010), do QT curto (SQTC) (Watanabe et al., 2010) e do QT longo (SQTL) (Lubinski et al.,1998; Yamaguchi et al., 2003). Embora apresentem fenótipos e etiologias distintas, a consequência eletrofisiológica é similar: o aumento da DR transmural.

O aumento da heterogeneidade de repolarização na SQTL é causado pelo prolongamento da duração do potencial de ação das células M (Antzevelich e Oliva, 2006). Pacientes com esta canalopatia possuem intervalo Tptf mais prolongado do que pacientes saudáveis (Lubinski et al., 1998). Na SQTL, a razão Tptf/QT também se mostrou um preditor de Torsade de Pointes melhor do que os intervalos QTd e QTc (Yamaguchi et al., 2003). Da mesma forma, pacientes com SQTC apresentam Tptf mais longo do que pacientes com QT curto sem histórico de arritmias, e do que pacientes saudáveis (Watanabe et al., 2010). Na SQTC, o aumento da DR transmural é resultado da redução da duração do potencial de ação das células epicárdicas ou endocárdicas (Antzevelich e Oliva, 2006).

Na síndrome de Brugada, o intervalo Tptf e a razão Tptf/QT já foram associados a maior risco de taquicardia ou fibrilação ventricular (Letsas et al., 2010). A abreviação da duração do potencial de ação das células epicárdicas nesta síndrome causa amplificação da DR espacial (Antzevelich e Oliva, 2006). Em modelos caninos de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, já foi demonstrado que ectopias originadas no epicárdio, caracterizadas como pós-despolarizações tardias induzidas por atividade deflagrada, são associadas ao aumento do intervalo Tptf e da DR transmural. Esta atividade extrassistólica pode promover substrato para o desenvolvimento de taquiarritmias reentrantes que originam taquicardia/fibrilação ventricular polimórfica rápida (Nam et al., 2005).

Além da associação com cardiopatias elétricas hereditárias, a heterogeneidade de repolarização ventricular também é descrita como uma causa subjacente de maior risco arritmogênico e de mortalidade em diversas cardiopatias estruturais. O intervalo Tptf pode ser utilizado como um fator de risco independente para morte súbita cardiogênica em adultos com doenças cardíacas congênitas (Vehmeijer et al., 2019). Este parâmetro também é um preditor independente de taquicardia ou fibrilação ventricular e de mortalidade em pacientes com implante de cardioversor desfibrilador e ICC (Xue et al., 2019). Li et al. (2019) demonstraram uma associação linear significativa entre o intervalo Tptf e os parâmetros ecocardiográficos relação E/A e a onda A, indicando que o acoplamento eletromecânico da DR é um possível mecanismo de disfunção diastólica. A aplicabilidade do intervalo Tptf como potencial ferramenta prognóstica também foi demonstrado em pacientes com calcificação anular mitral (Afsin et al., 2017), cardiomiopatia hipertrófica (Shimizu et al., 2002), estenose severa de valva mitral (Dural et al., 2017), infarto agudo do miocárdio (Erikssen et al., 2012), aumento da espessura de tecido adiposo epicárdico (Kaplan et al., 2015) e crianças com extrassístoles ventriculares de diversas etiologias (Wei et al., 2013).

Apesar de os marcadores de repolarização ventricular serem correlacionados a diversas patologias envolvendo diretamente o sistema cardiovascular, eles também já foram estudados em outras disfunções orgânicas que podem resultar em consequências deletérias ao organismo como um todo, sendo também indicadores de prognóstico nestas condições. Yılmaz et al. (2018) constataram redução estatisticamente significativa dos valores de Tptf após transplante renal em humanos nefropatas em estágio terminal, indicando um menor risco de arritmias ventriculares e FA após o procedimento. Taşolar et al. (2014) relataram que parâmetros de repolarização ventricular, incluindo o intervalo Tptf e a razão Tptf/QT, são maiores em indivíduos fumantes em comparação com aqueles que não fumam. Além disso, eles mostraram uma correlação significativa com a quantidade de cigarros fumados. Ip et al. (2020) revelaram que, além do cigarro de tabaco, o cigarro eletrônico com nicotina também causa efeitos adversos nos índices de repolarização ventricular. Na literatura atual há muitos trabalhos que evidenciam a relação entre estes marcadores de repolarização ventricular e diversos distúrbios sistêmicos, como sepse (Ozdemir et al.,

2016), diabetes mellitus (Tokatli et al., 2016), doença celíaca (Demirtas et al., 2017), HIV (Ünal et al., 2018; Cetin et al., 2020), hipotireoidismo (Gürdal et al., 2017), psoríase (Çetin et al., 2020), convulsão (Dagar et al., 2020), deficiência de vitamina D (Bagrul e Atik, 2019), o que sugere um maior risco de arritmogênese ventricular nestas afecções.

Referências

Afsin A, Yilmaz M, Deger S, Tasolar H, Yasar E, Pekdemir H (2017) Evaluation of the Tp-e interval and Tp-e/QT ratio in patients with mitral annular calcification. **Ann Clin Lab Res** 5:199.

Allessie MA, Bonke FIM, Schopman FJG (1976) Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. II. Role of nonuniform recovery of excitability in occurrence of unidirectional block, as studied with multiple microelectrodes. **Circ Res** 39:168 –177.

Antzelevitch C, Shimizu W, Yan G (2000) Electrical heterogeneity and the development of arrhythmias. In: Olsson SB, Yuan S, Amlie JP (Eds). **Dispersion of Ventricular Repolarization: State of the Art**. Armonk: Futura Publishing Company, p. 3–22.

Antzelevitch C, Oliva A (2006) Amplification of spatial dispersion of repolarization underlies sudden cardiac death associated with catecholaminergic polymorphic VT, long QT, short QT and Brugada syndromes. **J Intern Med** 259:48–58.

Antzelevitch C, Shimizu W, Yan GX, Sicouri S, Weissenburger J, Nesterenko VV, Burashnikov A, Di Diego JM, Saffitz J, Thomas GP (1999) The M cell: its contribution to the ECG and to normal and abnormal electrical function of the heart. **J Cardiovasc Electrophysiol** 10:1124–1152.

Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, Lukas A, Krishnan SC, Di Diego JM, Gintant GA, Liu DW (1991) Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells. **Circ Res** 69:1427-1449.

Antzelevitch C, Sicouri S, et al. (1995) Clinical implications of electrical heterogeneity in the heart: the electrophysiology and pharmacology of epicardial, M, and endocardial cells. In: Podrid PJ, Kowey PR (Eds.) **Cardiac arrhythmia: mechanism, diagnosis and management.** Baltimore: William & Wilkins, p. 88-107.

Antzelevitch C, Burashnikov A (2011) Overview of Basic Mechanisms of Cardiac Arrhythmia. **Card Electrophysiol Clin** 3:23-45.

Anyukhovsky EP, Sosunov EA, Gainullin RZ, Rosen MR (1999) The controversial M cell. **J Cardiovasc Electrophysiol** 10:244–260.

Anyukhovsky EP, Sosunov EA, Rosen MR (1996) Regional differences in electrophysiologic properties of epicardium, midmyocardium and endocardium: in vitro and in vivo correlations. Circulation 94:1981-1988.

Bagrul D, Atik F (2019) Association of vitamin D deficiency with ventricular repolarization abnormalities. Kardiol Pol 77:853-858.

Carney RM, Blumenthal JA, et al. (2005) Low heart rate variability and the effect of depression on post-myocardial infarction mortality. **Arch Intern Med** 165:1486-1491.

Carvalho ER, Ampuero RAN, Tuleski GLR, Camacho AA, Sousa MG (2018) Polymorphism, coupling interval and prematurity index in dogs with degenerative mitral valve disease and ventricular arrhythmias. **Vet Res Commun** 42:153-160.

Castro-Torres Y, Carmona-Puerta R, Katholi RE (2015) Ventricular repolarization markers for predicting malignant arrhythmias in clinical practice. **World J Clin Cases** 3:705-720.

Çetin M, Yavuz İH, Gümüştaş M, Yavuz GÖ (2020) P wave dispersion, Tpeak-Tend interval, and Tp-e/QT ratio in children with psoriasis. **Cardiol Young** 30:318-322.

Cetin S, Çetin AŞ, Gurdal A, Yıldızc SS, Keskinc K, Sığırcıc S, Bayraktara A (2019) Assessment of Tp-e interval and Tp-e/QT ratio in patients with human immunodeficiency virus. **Rev Port Cardiol** 39:155-160.

Connell PS, Han RI, Grande-Allen KJ (2012) Differentiating the aging of the mitral valve from human and canine myxomatous degeneration. **Journal of Veterinary Cardiology** 14:31–45.

Crosara S, Borgarelli M, Perego M, Häggström J, La Rosa G, Tarducci A, Santilli RA (2010) Holter monitoring in 36 dogs with myxomatous mitral valve disease. **Aust Vet J** 88:386-392.

Dagar S, Emektar E, Corbacioglu SK, Demirci OL, Tandogan M, Cevik Y (2020) Evaluation of electrocardiographic parameters in patients with epileptic seizure. **Acta Neurol Belg** 120:321-327.

de Bakker JMT, van Capelle FJL, Janse MJ, Wilde AAM, Coronel R, Becker AE, Dingemans KP, van Hemel NM, Hauer RNW (1988) Reentry as a cause of ventricular tachycardia in patients with chronic ischemic heart disease: Electrophysiologic and anatomic correlation. **Circulation** 77:589-606.

Demirtaş K, Yayla Ç, Yüksel M, Açar B, Ünal S, Ertem AG, Kaplan M, Akpinar MY, Kiliç ZMY, Kayaçetin E (2017) Tp-e interval and Tp-e/QT ratio in patients with celiac disease. **Revista Clínica Española** 217:439-445.

Di Diego JM, Belardinelli L, Antzelevitch C (2003) Cisapride-induced transmural dispersion of repolarization and torsade de pointes in the canine left ventricular wedge preparation during epicardial stimulation. **Circulation** 108:1027-1033.

Domanjko Petrič A, Hozjan E, Blejec A (2007). Predisposition and survival of different breeds with chronic valvular disease. In: PROCEEDINGS OF 17TH EUROPEAN COLLEGE VETERINARY INTERNAL MEDICINE – COMPANION ANIMALS CONGRESS. **Resumos…**Budapest: ECVIM, p. 239.

Dural M, Mert KU, Iskenderov k (2017) Evaluation of Tp-e interval, Tp-e/QT ratio, and Tp-e/QTc ratio in patients with mitral valve stenosis before and after balloon valvuloplasty. **Anatol J Cardiol** 18:353-360.

Elming H, Holm E, Jun L, Torp-Pedersen C, Kober L, Kircshoff M, Malik M, Camm J (1998) The prognostic value of the QT interval and QT interval dispersion in all-cause and cardiac mortality and morbidity in a population of Danish citizens. **Eur Heart J** 19:1391-1400.

Erikssen G, Liestol K, Gullestad L, Haugaa KH, Bendz B, Amlie JP (2012) The terminal part of the QT interval (T peak to T end): a predictor of mortality after acute myocardial infarction. **Ann Noninvasive Electrocardiol** 17:85-94.

Erling P, Mazzaferro EM (2008) Left-Sided Congestive Heart Failure in Dogs: Pathophysiology and Diagnosis. **Compend Contin Educ Vet** 30:79-91.

Fox, PR (2012) Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. **Journal of Veterinary Cardiology** 14:103–126.

Furukawa T, Myerburg RJ, Furukawa N, Bassett AL, Kimura S (1990) Differences in transient outward currents of feline endocardial and epicardial myocytes. **Circ Res** 67:1287-91.

Gough WB, Mehra R, Restivo M, Zeiler RH, el-Sherif N (1985) Reentrant ventricular arrhythmias in the late myocardial-infarction period in the dog. 13. Correlation of activation and refractory maps. **Circ Res** 57:432–442.

Gupta P, Patel C, Patel H, Narayanaswamy S, Malhotra B, Green JT, Yan G (2008) Tp-e/QT ratio as an index of arrhythmogenesis. **J Electrocardiol** 41:567-574.

Gürdal A, Eroğlu H, Helvaci F, Sümerkan MÇ, Kasali K, Çetin Ş, Aksan G, Kiliçkesmez, K (2017) Evaluation of Tp-e interval, Tp-e/QT ratio and Tp-e/QTc ratio in patients with subclinical hypothyroidism. **Ther Adv Endocrinol Metab** 8:25–32.

Häggström J, Duelund Pedersen H, Kvart C (2004) New insights into degenerative mitral valve disease in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 34:1209–1226.

Han J, Moe GK (1964) Nonuniform recovery of excitability in ventricular muscle. **Circ Res** 14:44-61.

Ip M, Diamantakos E, Haptonstall K, Choroomi Y, Moheimani RS, Nguyen KH, Tran E, Gornbein J, Middlekauff HR (2020) Tobacco and electronic cigarettes adversely impact ECG indexes of ventricular repolarization: implication for sudden death risk. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 318:H1176-H1184.

James PR, Hardman SM, Taggart P (2002) Physiological changes in ventricular filling alter cardiac electrophysiology in patients with abnormal ventricular function. **Heart** 88:149-152.

Janus I, Noszczyk-Nowak A, Nowak M, Ciaputa R, Kandefer-Gola M, Pasławska U (2016) A comparison of the histopathologic pattern of the left atrium in canine dilated cardiomyopathy and chronic mitral valve disease. **BMC veterinary research** 12:1.

Jung S, Sun W, Griffiths L, Kittleson M (2016) Atrial Fibrillation as a Prognostic Indicator in Medium to Large-Sized Dogs with Myxomatous Mitral Valvular Degeneration and Congestive Heart Failure. **J Vet Intern Med** 30:51-57.

Keene BW, Atkins CE, Bonagura JD, Fox PR, Häggström J, Fuentes VL, Oyama MA, Rush JE, Stepien R, Uechi M (2019) ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **J Vet Intern Med** 33:1127-1140.

Kohl P, Day K, Noble D (1998) Cellular mechanisms of cardiac mechano-electric feedback in a mathematical model. **Can J Cardiol** 14:111–19.

Kors JA, Ritsema Van Eck HJ, Van Herpen G (2008) The meaning of the Tp-Te interval and its diagnostic value. **J Electrocardiol** 41:575-580.

Letsas KP, Weber R, Astheimer K, Kalusche D, Arentz T (2010) Tpeak–Tend interval and Tpeak–Tend/QT ratio as markers of ventricular tachycardia inducibility in subjects with Brugada ECG phenotype. **Europace** 12:271–274.

Li ZD, Bai XJ, Han LL, Han W, Sun XF, Chen XM (2019) Association between ventricular repolarization variables and cardiac diastolic function: A cross-sectional study of a healthy Chinese population. **World J Clin Cases** 7:940-950.

Liu DW, Antzelevitch C (1995) Characteristics of the delayed rectifier current (IKr and IKs) in canine ventricular epicardial, midmyocardial, and endocardial myocytes. A weaker IKs contributes to the longer action potential of the M cell. **Circ Res** 76:351-65.

Liu DW, Gintant GA, Antzelevitch C (1993) Ionic bases for electrophysiological distinctions among epicardial, midmyocardial, and endocardial myocytes from the free wall of the canine left ventricle. **Circ Res** 72:671-87.

Lubinski A, Lewicka-Nowak E, Kempa M, Baczynska AM, Romanowska I, Swiatecka G (1998) New insight into repolarization abnormalities in patients with congenital long QT syndrome: the increased transmural dispersion of repolarization. **PACE** 21:172.

Lukas A, Antzelevitch C (1996) Phase 2 reentry as a mechanism of initiation of circus movement reentry in canine epicardium exposed to simulated ischemia. **Cardiovascular Research** 32:593– 603.

Mattin MJ, Boswood A, Church DB, Lopez-Alvarez J, McGreevy PD, O'Neill DG Thomson PC Brodbelt DC (2015) Prevalence of and Risk Factors for Degenerative Mitral Valve Disease in Dogs Attending Primary-care Veterinary Practices in England. **J Vet Intern Med** 29:847–854.

Muzzi RAL, Muzzi LAL, Araújo RB, Lázaro DA (2009) Doença crônica da valva mitral em cães: avaliação clínica funcional e mensuração ecocardiográfica da valva mitral. **Arq Bras Med Vet Zootec** 61:337-344

Näbauer M, Beuckelmann DJ, Uberfuhr P, Steinbeck G (1996) Regional differences in current density and rate-dependent properties of the transient outward current in subepicardial and subendocardial myocytes of human left ventricle. **Circulation** 93:168-177.

Nam GB, Burashnikov A, Antzelevitch C (2005) Cellular mechanisms underlying the development of catecholaminergic ventricular tachycardia. **Circulation** 111:2727-2733.

Oliveira MS, Muzzi RAL, Araújo RB, Muzzi LAL, Ferreira DF, Silva EF (2014) Heart rate variability and arrhythmias evaluated with Holter in dogs with degenerative mitral valve disease. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 66:425-432.

Opthof T, Coronel R, Wilms-Schopman FJ, Plotnikov AN, Shlapakova IN, Danilo P Jr, Rosen MR, Janse MJ (2007) Dispersion of repolarization in canine ventricle and the electrocardiographic T wave: Tp-e interval does not reflect transmural dispersion. **Heart Rhythm** 4:341-8.

Ozdemir R, Isguder R, Kucuk M, Karadeniz C, Ceylan G, Katipoglu N, Yilmazer MM, Yozgat Y, Mese T, Agin H (2016) A Valuable Tool in Predicting Poor Outcome due to Sepsis in Pediatric Intensive Care Unit: Tp-e/QT Ratio. **J Trop Pediatr** 62:377-384.

Pedersen HD, Häggström J (2000) Mitral valve prolapse in the dog: a model of mitral valve prolapse in man. **Cardiovasc Res** 47:234-243.

Pedro B, Dukes-McEwan J, Oyama MA, Kraus MS, Gelzer AR (2018) Retrospective Evaluation of the Effect of Heart Rate on Survival in Dogs with Atrial Fibrillation. **J Vet Intern Med** 32:86-92.

Petric AD (2015) Myxomatous mitral valve disease in dogs - an update and perspectives. **Macedonian Veterinary Review** 38:13–20.

Piccirillo G, Magrì D, Pappadà MA, Maruotti A, Ogawa M, Han S, Joung B, Rossi P, Nguyen BL, Lin SF, Chen PS (2012) Autonomic nerve activity and the short-term variability of the Tpeak-Tend interval in dogs with pacing-induced heart failure. **Heart Rhythm** 9:2044-50.

Rasmussen CE, Falk T, Zois NE, Moesgaard SG, Häggström J, Pedersen HD, Ablad B, Nilsen HY, Olsen LH (2012) Heart rate, heart rate variability, and arrhythmias in dogs with myxomatous mitral valve disease. **J Vet Intern Med** 26:76-84.

Ruaengsri C, Schill MR, Lancaster TS, Khiabani AJ, Manghelli JL, Carter DI, Greenberg JW, Melby SJ, Schuessler RB, Damiano RJ Jr (2018) The hemodynamic and atrial electrophysiologic consequences of chronic left atrial volume overload in a controllable canine model. **J Thorac Cardiovasc Surg** 156:1871-1879.

Santilli R, Möise NS, Pariaut R, Perego M (2020) Arritmias ventriculares. In: Santilli R, Möise NS, Pariaut R, Perego M (Eds.) **Eletrocardiografia de cães e gatos: diagnóstico de arritmias**. São Paulo: MedVet, p. 203-238.

Santilli R, Möise NS, Pariaut R, Perego M (2020) Bases para o diagnóstico das arritmias. In: Santilli R, Möise NS, Pariaut R, Perego M (Eds.) **Eletrocardiografia de cães e gatos: diagnóstico de arritmias**. São Paulo: MedVet, p. 93-121.

Santilli R, Möise NS, Pariaut R, Perego M (2020) Taquicardias supraventriculares. In: Santilli R, Möise NS, Pariaut R, Perego M (Eds.) **Eletrocardiografia de cães e gatos: diagnóstico de arritmias**. São Paulo: MedVet, p. 149-193.

Serfass P, Chetboul V, Sampedrano CC, Nicolle A, Benalloul T, Laforge H, Gau C, Hébert C, Pouchelon JL, Tissier R (2006) Retrospective study of 942 small-sized dogs: Prevalence of left apical systolic heart murmur and left-sided heart failure, critical effects of breed and sex. **J Vet Cardiol** 8:11–18.

Shimizu M, Ino H, Okeie K, Yamaguchi M, Nagata M, Hayashi K, Itoh H, Iwaki T, Oe K, Konno T, Mabuchi H (2002) T-peak to T-end interval may be a better predictor of high-risk patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with a cardiac troponin I mutation than QT dispersion. **Clin Cardiol** 25:335-339.

Sicouri S, Antzelevitch C (1991) A subpopulation of cells with unique electrophysiological properties in the deep subepicardium of the canine ventricle. The M cell. **Circ Res** 68:1729–1741.

Sicouri S, Antzelevitch C (1995) Electrophysiologic characteristics of M cells in the canine left ventricular free wall. **J Cardiovasc Electrophysiol** 6:591–603.

Smetana P, Schmidt A, Zabel M, Hnatkova K, Franz M, Huber K, Malik M (2011) Assessment of repolarization heterogeneity for prediction of mortality in cardiovascular disease: peak to the end of the T wave interval and nondipolar repolarization components. **J Electrocardiol** 44:301-3018.

Smith FWK, Tilley LP, Oyama MA, Sleeper MM (Eds.) (2015) Manual of Canine and Feline Cardiology. Missouri: Saunders, 472 p.

Surawicz B (1987) The QT interval and cardiac arrhythmias. **Annu Rev Med** 38:81-90.

Surawicz B (1997) Ventricular fibrillation and dispersion of repolarization. **J Cardiovasc Electrophysiol** 8:1009–1012.

Tasolar H, Balli M, Bayramoglu A, Otlu YO, Çetin M, Altun B, Çakici M (2014) Effect of Smoking on Tp-e Interval, Tp-e/QT and Tp-e/QTc Ratios as Indices of Ventricular Arrhythmogenesis. **Heart, Lung and Circulation** 23:827–832.

Tokatli A, Kilicaslan F, Alis M, Yiginer O, Uzun M (2016) Prolonged Tp-e interval, Tp-e/QT ratio and Tp470 e/QTc ratio in patients with type 2 Diabetes Mellitus. **Endocrinol Metab** 31:105-112.

Tse G, Gong M, et al. (2017) The Tpeak - Tend interval as an electrocardiographic risk marker of arrhythmic and mortality outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Heart Rhythm** 14:1131-1137.

Tse G, Yan BP (2017) Traditional and novel electrocardiographic conduction and repolarization markers of sudden cardiac death. **Europace** 19:712-721.

Ünal S, Yayla Ç, Açar B, Ertem AG, Akboga MK, Gökaslan S, Erdöl MA, Sönmezer MÇ, Kiliç EK, Hatipoglu ÇA, Tulek N, Erdinc FS, Aydo Gdu S, Temizhan A (2018) Tp–e interval and Tp–e/QT ratio in patients with Human Immunodeficiency Virus. **Journal of Infection and Public Health** 11:35–38.

Vehmeijer JT, Koyak Z, et al. (2019) Prolonged Tpeak -Tend interval is a risk factor for sudden cardiac death in adults with congenital heart disease. **Congenit Heart Dis** 14:952-957.

Watanabe H, Makiyama T, Koyama T, Kannankeril PJ, Seto S, Okamura K, Oda H, Itoh H, Okada M, Tanabe N, Yagihara N, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W (2010) High prevalence of early repolarization in short QT syndrome. **Heart Rhythm** 7:647-652.

Wei L, Lu YY, Qiao LN, Hua YM, Wang YB, Wang X, Li XH (2013) Significance of Tp-Te interval for risk stratification of ventricular premature contractions in children. **Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi** 15:1014-1017.

Xue C, Hua W, Cai C, Ding LG, Niu HX, Fan XH, Liu ZM, Gu M, Zhao YZ, Zhang S (2019) Predictive value of Tpeak-Tend interval for ventricular arrhythmia and mortality in heart failure patients with an implantable cardioverter-defibrillator: A cohort study. **Medicine (Baltimore)** 98:e18080.

Yamaguchi M, Shimizu M, Ino H, Terai H, Uchiyama K, Oe K, Mabuchi T, Konno T, Kaneda T, Mabuchi H (2003) T wave peak-to-end interval and QT dispersion in acquired long QT syndrome: a new index for arrhythmogenicity. **Clin Sci** 105:971-676.

Yan GX, Antzelevitch C (1998) Cellular basis for the normal T wave and the electrocardiographic manifestations of the long QT syndrome. **Circulation** 98:1928–1936.

Yan GX, Shimizu W, Antzelevitch C (1998) Characteristics and distribution of M cells in arteriallyperfused canine left ventricular wedge preparations. **Circulation** 98:1921–1927.

Yilmaz M, Altin C, Tekin A, Arer I, Yabanoğlu H, Çalişkan K, Moray G, Özin B, Müderrsioğlu H, Haberal M (2018) Assessment of atrial fibrillation and ventricular arrhythmia risk after transplant in patients with end-stage renal disease by P-wave/QT interval dispersion, T-Wave Peak-End interval, and T-wave Peak-End/QT interval ratio. **Exp Clin Transplant**. Online ahead of print. doi: 10.6002/ect.2017.0313.

Yoon N, Hong SN, Cho JG, Jeong HK, Lee KH, Park HW (2019) Experimental verification of the value of the Tpeak -Tend interval in ventricular arrhythmia inducibility in an early repolarization syndrome model. **J Cardiovasc Electrophysiol** 30:2098-2105.

Zhao X, Xie Z, Chu Y, Yang L, Xu W, Yang X, Liu X, Tian L (2012) Association between Tp-e/QT ratio and prognosis in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction. **Clin Cardiol** 35:559-564.

Zygmunt AC, Eddlestone GT, Thomas GP, Nesterenko VV, Antzelevitch C (2001) Larger late sodium conductance in M cells contributes to electrical heterogeneity in canine ventricle. **Am J Physiol** 281:H689-H697.

Zygmunt AC, Goodrow RJ, Antzelevitch C (2000) INaCa contributes to electrical heterogeneity within the canine ventricle. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 278:H1671-H1678.

CAPÍTULO 2 - Tpte and Tpte/QT: novel arrhythmogenic and survival markers for dogs with myxomatous mitral valve disease[1]

Introduction/objectives:

Heart disease is an important cause of sudden death in dogs, accounting for 21.9% of all cases[1]. Sudden cardiac death (SCD), often caused by ventricular arrhythmia, is also a concern in human cardiovascular medicine and accounts for almost half of deaths in people with structural heart disease[2]. SCD poses a similar risk in dogs with arrhythmias secondary to various structural heart conditions[3]. Crosara et al.[4] monitored dogs with MMVD using 24-h Holter and electrocardiogram, and found supraventricular and ventricular arrhythmias in 50% and 57% of asymptomatic dogs, and in 72% and 86% of symptomatic dogs, respectively, demonstrating that arrhythmias are common in MMVD.

It is known that sudden death and electrical instability in CHF may be related to increased dispersion of ventricular repolarization[5] through abnormalities in ionic channel currents[6]. Several electrocardiographic (ECG) markers of ventricular repolarization have been proposed as risk indicators in a variety of clinical contexts, including QT interval[7], QT interval corrected by heart rate (HR) (QTc)[8] and QT dispersion (QTd)[9]. Recently, new markers such as the interval between the peak and the end of T wave (Tpte)[10] and Tpte/QT ratio have shown greater sensitivity for detection of ventricular arrhythmias and proved better predictors of survival in people[11].

There is little information on the evaluation of ventricular repolarization parameters in dogs with myxomatous mitral valve disease (MMVD). To the best of our knowledge, our group was the first to investigate QT interval variables in dogs with MMVD[12]. In that study[12], we demonstrated that increases in QT instability and prolongation is

[1] Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista Journal of Veterinary Cardiology e encontra-se em avaliação para publicação.

significantly related to mortality in dogs with MMVD and can be used as prognostic surrogates.

In this study, we sought to assess whether T wave indices may identify dispersion of ventricular repolarization in patients with MMVD. Our objectives were four-fold: (1) to investigate whether ventricular repolarization changes over the course of the disease; (2) to determine whether T wave indices are correlated with echocardiographic parameters; (3) to assess sensitivity and specificity of repolarization markers to predict development of arrhythmias and cardiac remodeling; and (4) to assess the prognostic aspect of T wave indices having the development of CHF or all-cause mortality as the final outcomes.

Animals, materials and methods

This was a retrospective, cross-sectional study, conducted at two Veterinary Teaching facilities. The study was approved by the institutional Animal Care and Use Committee (protocol 015875/18) and complied with the National Institutes of Health Guide for the Use and Care of Laboratory Animals.

Animals

Medical records of dogs admitted to the Cardiology sections of two Veterinary Teaching Hospitals between August 2016 and December 2017 were reviewed. Inclusion criteria were dogs diagnosed with naturally occurring MMVD confirmed by echocardiographic examination, with a good quality ECG tracing and clinical and epidemiological data available, regardless of breed, age, sex or body weight. MMVD dogs were classified according to the stage of the disease[13]. Patients with no mitral valve regurgitation, dogs diagnosed with congenital heart disease or other acquired

cardiovascular disease, or those which received antiarrhythmic treatment were not admitted into this investigation. For the control group, data from clinically healthy dogs admitted for elective procedures were selected.

Clinical analyses

Clinical information collected comprised breed, sex, age, body weight, presence of clinical signs, murmur characteristics, presence of pulmonary crackling, and medical therapy.

Echocardiographic analyses

In both teaching facilities from which data was collected, echocardiographic evaluation was performed by experienced veterinary cardiologists using echocardiography machines[a,b] equipped with a range of multifrequency sector transducers, which were selected according to patient size. Echocardiograms were reviewed for ratio of the left atrial to aortic root diameters (LA:Ao), fractional shortening (FS), peak velocity of early diastolic transmitral flow (E), ratio of early to late transmitral flow (E:A), and left ventricular internal dimension at end-diastole and at end-systole, which were normalized for body weight using allometric scaling[14]: $LVIDdN=LVIDd/body\ weight^{0.294}$ and $LVIDsN=LVIDs/body\ weight^{0.315}$.

ECG analyses

Good quality computer-based ECG recordings[c] were used for measurements. All ECG tracings were recorded continuously for at least 3 minutes, and followed recommendations described elsewhere[15].

Several ECG parameters were obtained as follows: cardiac rhythm[16]; R-R interval; P-wave, PQ interval and QRS complex durations; T-wave polarity; QT interval; QTd (defined as the maximum difference between QT intervals in any two leads)[9]; QTc interval (calculated as $QTc=QT/RR^{1/3}$) [17]; QTcd (defined as the maximum difference between QTc intervals in any two leads)[9]; Tpte interval (defined as interval from the peak to the end of T wave)[18]; Tpted (defined as the maximum difference between Tpte intervals in any two leads)[19]; and Tpte/QT ratio[20]. To reduce bias, the person involved in reviewing ECG tracings (B.C.P.V) was blinded to the patient's clinical and echocardiographic condition.

Rhythm and duration of R-R, P wave, PQ interval and QRS complex were obtained in lead II. QT and Tpte (and, consequently, QTc and Tpte/QT) were measured in ten leads (I, II, III, aVR, aVL, aVF, rV2, V2, V4, V10). The values of R-R, QT and Tpte represent the average of three consecutive measurements. Also, whenever sinus arrhythmia was present, measurements were performed in duplicate in beats with higher and lower R-R intervals[21]. Four variables derived from Tpte were included as well: maximum of any lead, maximum of rV2-V10, average of rV2-V10 and average of rV2-V4. The peak of the T wave was defined as the time point where the T wave had the maximal amplitude, whereas the end of T wave was considered as the intersection of the tangent to the down slope of the T wave and the isoelectric line[18] (Fig. 1). In the case of complex T wave morphologies (biphasic or inverted), the interval between the nadir of the first component of T wave and the end of T wave was used[21].

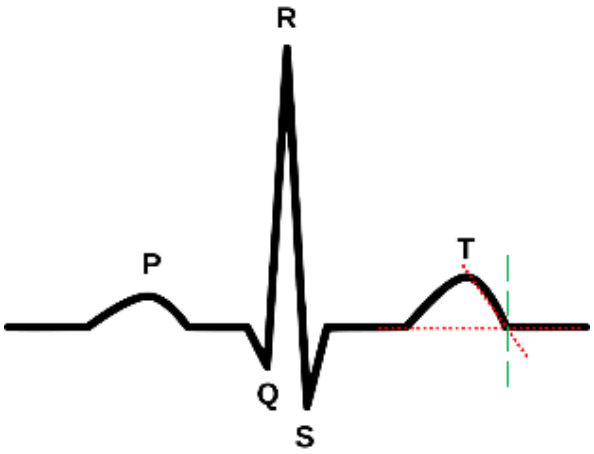

Figure 1. The 'tangent' method for defining the end of the T wave.

Prognosis and survival analysis

Clients were contacted by phone and invited to answer questions about the patient's condition; if they were still alive, the date of telephone contact was recorded; if animals had died, the date and probable cause of death was noted. Owners of asymptomatic animals were also questioned regarding manifestation of signs related to heart disease; if positive, which clinical signs and start date of these. When clients were lost to contact or information was unavailable for whatever reason, the date on which animal was last seen alive was recorded from medical records.

Statistical analysis

All data underwent the Shapiro-Wilk normality test. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post hoc test was used to check for differences in age, body weight, R-R interval and echocardiographic parameters between controls and MMVD dogs. Chi-square test was calculated to evaluate association between groups and nominal

categorical variables, such as sex, rhythm, polarity of T wave and presence of arrhythmias. To investigate differences in ECG markers of ventricular repolarization between the control and MMVD groups, either Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test or an analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was performed, depending on the results of normality test.

Spearman's test was used to investigate correlations between QT, QTc, Tpte, Tpte/QT, and both R-R interval and the echocardiographic parameters. For the interpretation of the Spearman correlation magnitude, the following classification was adopted: correlation coefficients <0.3 (poor), 0.3 to 0.5 (fair), 0.6 to 0.8 (moderately strong) and >0.8 (very strong)[23]. Receiver operating characteristic (ROC) curves were constructed to evaluate sensitivity and specificity of repolarization markers to differentiate (a) MMVD dogs with ventricular arrhythmias identified during electrocardiography from those without arrhythmias; and (b) to distinguish patients with dilated hearts from those without remodeling. Lastly, Kaplan-Meier curves and the log-rank test were used to evaluate the prognostic value of the studied ECG markers for the development of clinical signs attributable to CHF (for stages B1 and B2) and the all-cause mortality (for all dogs) as the final outcomes. All analyzes were performed using statistical softwares[d,e] with default settings. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

Results

Animals

A total of 236 dogs with MMVD met the inclusion criteria and were recruited for this study. When clinical and echocardiographic data were analyzed, 145/236 (61.4%) animals were classified as stage B1, 16/236 (6.7%) as stage B2 and 75/236 (31.8%)

as stage C. In the control group, information was collected from 15 clinically healthy animals. Although mixed breed dogs (n=70) formed the majority of cases, several breeds were represented in the MMVD group, including Poodle (n=65), Maltese (n=11), English Cocker Spaniel (n=10), Yorkshire Terrier (n=10), Lhasa Apso (n=9), Shih tzu (n=9), Dachshund (n=8), Beagle (n=7), Miniature Pinscher (n=6), Brazilian Terrier (n=4), Labrador (n=4), Schnauzer (n=4), Pekingese (n=3), Pointer (n=2), Pug (n=2), as well as Afghan Hound, American Bully, Basset Hound, Bichon Frise, Border Collie, American Bulldog, Chihuahua, Dalmatian, Papillon, German Shepherd, Pit Bull, and German Spitz (n=1 each). The control group was composed of mixed breed dogs (n=4), Poodle (n=2) and Chow Chow, English Cocker Spaniel, Labrador, Belgian Shepherd, Miniature Pinscher, Samoyed, Shih tzu, Yorkshire Terrier, and Border Collie (n=1 each).

Clinical and echocardiographic features

Cough was the most common clinical sign (50%), followed by exercise intolerance (21.0%), cyanosis (10.3%), dyspnea (8.1%), syncope (6.2%), weight loss (1.3%) and ascites (0.4%). On physical examination, the most commonly auscultated murmurs heard best over the left cardiac apex (mitral) were grade 2/6 in B1 dogs, 3/6 in B2 dogs and 4/6 in C dogs. The majority of B1 and B2 dogs did not have murmur heard over the right cardiac apex (tricuspid location), however in stage C dogs a grade 3/6 tricuspid murmur was commonly auscultated. Also, pulmonary crackling was present in 9% of dogs. At the first appointment, 67 (28%) dogs were receiving angiotensin-converting enzyme inhibitors, 45 (19%) furosemide, 22 (9.3%) spironolactone, 13 (5.5%) pimobendan, 5 (2.1%) sildenafil, 2 (0.8%) amlodipine, while 38 dogs (16%) were receiving other drugs. Comorbidities were present in 78 (53.8%) of the stage B1

dogs, 9 (56.3%) of the stage B2 dogs and 29 (38.7%) of the stage C dogs. Other clinical and echocardiographic features are summarized in Table 1. Although no statistical difference existed between the groups with regard to sex and FS, significant differences were documented for age, body weight, LVIDdN, LVIDsN, LA:Ao, E and E:A. In the advanced stages of the disease, dogs were significantly older, had lower weights, greater remodeling of cardiac chambers and volume overload.

Table 1. General and echocardiographic features of healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease.

	Control (n=15)		B1 (n=145)		B2 (n=16)		C (n=75)		p
Females (n)	6	(40%)	86	(59.31%)	6	(37.5%)	44	(58.67%)	0.2016*
Age (years)	8.67[a]	(4-13)	10[ab]	(4-16)	11[ab]	(5-15)	11.78[c]	(2-19)	<0.0001**
Weight (kg)	19.16[a]	±13.83	8.5[a]	(5.85-13)	8.437[ab]	±4.991	7.15[b]	(465-9.650)	0.0045**
LVIDdN (cm)	1.385[a]	±0.2326	1.381[a]	±0.1742	1.718[b]	(1.694-1.837)	1.829[b]	±0.2837	<0.0001**
LVIDsN (cm)	0.7826[ab]	±0.1609	0.7132[a]	(0.6328-0.8007)	0.9192[b]	±0.1382	0.8745[b]	(0.7311-0.965)	<0.0001**
LA:Ao	1.128[a]	±0.1498	1.378[b]	±0.1984	1.881[c]	±0.3026	1.98[c]	(1.76-2.3)	<0.0001**
FS (%)	70[a]	(63-75)	49.5[a]	(41-71)	52.94[a]	±12.2	50[a]	(45-61)	0.0876**
E (m/s)	0.6507[a]	±0.1332	0.6950[a]	(0.59-0.79)	0.9447[b]	±0.2129	1.158[b]	±0.4061	<0.0001**
E:A	0.9853[ab]	±0.3155	0.865[a]	(0.7425-1.2)	1.337[bc]	±0.3911	1.24[c]	(1-1.6)	<0.0001**

Results are presented as mean ± standard deviation or median (interquartile interval). Age are presented in the form of mean or median (minimum – maximum). Values followed by the same letter do not differ from each other by Dunn's test (p>0,05). *: Chi-square test; **: Kruskal-Wallis test and Dunn test; E: Peak velocity of early diastolic transmitral flow; E:A: Ratio of early-to-late transmitral flow peak velocities; FS: Fractional shortening; LA:Ao: Ratio of the left atrial dimensions to the aortic annulus dimension; LVIDdN: left ventricular end diastolic diameter normalized for body weight; LVIDsN: left ventricular end systolic diameter normalized for body weight.

ECG features

Duration of R-R interval, P wave and QRS complex differed between groups. Even though the presence of arrhythmias was observed in all groups, including the controls, in dogs with MMVD rhythm and proportion of arrhythmias were significantly associated with severity of disease (Table 2). Supraventricular arrhythmias were observed in one (6.7%) control dog (atrial premature complex [APC]), eight (5.5%) stage B1 dogs (seven with APC, two with paroxysmal supraventricular tachycardia), two (12.5%) stage B2 dogs (one with APC and one with paroxysmal supraventricular tachycardia), fifteen (20%) stage C dogs (twelve with APC, eight with paroxysmal supraventricular tachycardia). Ventricular arrhythmias were observed in one (6.7%) control animal, three (2.1%) B1 animals, three (18.8%) B2 animals and ten (13.3%) C animals. All ventricular arrhythmias were isolated ventricular beats, except for one patient in group C in which bigeminy was documented.

Table 2. Electrocardiographic features related to rhythm, R-R interval, P wave, PQ interval and QRS complex duration, T-wave polarity and prevalence of arrhythmias in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease.

	Control (n=15)		B1 (n=145)		B2 (n=16)		C (n=75)		p
SA (n)	5	(33.33%)	85	(58.62%)	11	(68.75%)	27	(36%)	<0.0001*
SR (n)	10	(66.67%)	59	(40.69%)	4	(35%)	36	(48%)	
ST (n)	0	(0%)	1	(0.69%)	1	(6.25%)	11	(14.67%)	
RR (ms)	517.1[ab]	±188.4	531[a]	(460-653.5)	543.7[ab]	±179.9	485[b]	(362-582)	0.0079**
P (ms)	40[ab]	(40-50)	43[a]	(40-47)	47[ab]	±3.863	47[b]	(43-50)	0.0002**
PQ (ms)	88.2[a]	±18.33	92.02[a]	±16.47	89.07[a]	±14.94	93 [a]	(83-107.3)	0.3017**
QRS (ms)	56.13[ab]	±5.63	55[a]	(52-60)	55[ab]	(50-62)	58.88[b]	±6.387	0.0174**
Positive T wave (n)	7	(46.67%)	41	(28.27%)	7	(43.75%)	16	(21.33%)	0.1070*
Negative T wave (n)	5	(33.33%)	79	(54.48%)	8	(50%)	46	(61.33%)	
Arrhythmia (n)	2	(13.33%)	9	(6.2%)	4	(25%)	23	(30.67%)	0.0001*

Results are presented in the form of mean ± standard deviation or median (interquartile interval). Values followed by the same letter do not differ from each other by Dunn's test (p>0,05). *: Chi-squared test; **: Kruskal-Wallis test and Dunn test; P: P wave duration; PQ: PQ interval duration; QRS: QRS complex duration; RR: interval between two successive R waves; SA: Sinus arrhythmia; SR: Sinus rhythm; ST: Sinus tachycardia

Although most ECG tracings were of sufficient quality to allow unbiased readings, QT and Tpte measurements (and consequently QTc and Tpte/QT) were not performed in ECG leads with significant artifacts or flat T waves, which included a minimum of 2 cases (0.8%) for aVR up to a maximum of 34 cases (13.5%) for aVL. Additionally, some leads were not recorded in some patients. rV2 was absent in eight (3.2%) exams, V2 in nine (3.6%) exams, V4 in eleven (4.4%) exams and V10 in 124 (49.4%) exams.

Ventricular repolarization markers *vs* disease stages

Table 3 shows the results obtained for each ECG marker of ventricular repolarization. Except for measurements derived from QT, most repolarization markers increased with the progression of the disease. Nonetheless, Tpte and Tpte/QT measured in leads II, III, aVR and V10, and QTcd were similar between groups. Of note, the majority of significant differences were documented between stage B1 and stage C dogs.

Table 3. Electrocardiographic indices of ventricular repolarization in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease.

		Control		B1		B2		C		p
QT (ms)	I	179[a]	±16.73	185[a]	±17.58	182.2[a]	±15.9	186[a]	±16	0.551*
	II	182.7[a]	±21.32	189[a]	±17.55	190[a]	±16.02	189.6[a]	±18.68	0.285*
	III	181.8[a]	±21.66	189.6[a]	±16.51	183.9[a]	±20.73	189.2[a]	±18.4	0.468*
	aVR	181.5[a]	±20.88	188.6[a]	±18.23	189.3[a]	±14.3	188.8[a]	±17.98	0.5177*
	aVL	178.8[a]	±24.9	187.9[a]	±17.30	188.2[a]	±18.24	190[a]	±17.64	0.245*
	aVF	181.1[a]	±21.65	188.6[a]	±17.92	187.4[a]	±22.97	190.8[a]	±18.77	0.3544*
	rV2	185.3[a]	±18.69	192.4[a]	±17.5	191.3[a]	±18.29	193.2[a]	±16.98	0.4626*
	V2	187.9[a]	±18.04	193.8[a]	±17.96	189.1[a]	±16.97	194.9[a]	±17.6	0.4259*
	V4	187[a]	(165-191)	190.6[a]	±18.16	193.1[a]	±18.7	191.8[a]	±17.77	0.3553**
	V10	175[a]	(161.5-193)	187.5[a]	±16.87	183.8[a]	±17.86	184[a]	(173.5-192.8)	0.3097**
	QTd	15[a]	(12-24.5)	18[a]	(13-23)	20.5[a]	(15.5-25)	16[a]	(12.5-22)	0.358**
QTc (ms)	I	226.9[ab]	±25.64	225.3[a]	(211.9-238.3)	222.[a]	(214.1-241)	237.9[b]	±17.24	0.0001**
	II	230.3[ab]	(212.-245.)	230.4[a]	(219-241.)	229.2[ab]	(218.1-249.)	239.6[b]	(228.-252.3)	0.0001**
	III	227.9[ab]	(216.9-239.7)	229.5[a]	(220.6-242.2)	229.2[a]	±24.25	242[b]	±18.04	0.0002**
	aVR	231.4[ab]	(214.9-237.6)	230[a]	(218.5-241.8)	230.5[ab]	(216.5-257.9)	242[b]	±17.41	<0.0001**
	aVL	230[ab]	(223.1-236.5)	228.9[a]	(217.5-238.3)	236.7[ab]	±30.15	242.3[b]	±17.98	<0.0001**
	aVF	226.9[a]	(217.8-236.6)	229.1[a]	(217.8-241.7)	233.4[ab]	±26.99	241.8[b]	(232-257.8)	<0.0001**
	rV2	233.9[ab]	(221.8-233.9)	232.5[a]	(222.6-246.9)	238[ab]	±29.35	247[b]	±17.69	<0.0001**
	V2	231.1[ab]	(222.4-246.4)	235.3[a]	(223.8-247.5)	226.1[a]	(215.9-242.3)	249.2[b]	±17.71	<0.0001**
	V4	228.2[ab]	(217.2-247.3)	231.4[a]	(218.7-245.8)	231.8[ab]	(221.2-242.9)	240.9[b]	(233.8-251.5)	0.0003**
	V10	223[a]	±13.5	229.1[a]	±16.55	238.9[ab]	±36.43	241.4[b]	(230.7-253.3)	0.0079**
	QTcd	19.09[a]	±6.14	22.77[a]	±45.22	27.68[a]	(18.18-70.18)	21.12[a]	(17.99-27.78)	0.5017**

Tptf (ms)	I	24.83^{ab}	±5.24	25^{a}	(22-28)	27.13^{ab}	±5.22	27^{b}	(24-34)	0.0047**
	II	25^{a}	(23-40)	27^{a}	(23-30)	26.5^{a}	(24-30.5)	28^{a}	(25-36)	0.1374**
	III	28.43^{a}	±7.122	25^{a}	(22.5-31)	28.13^{a}	±7.004	26^{a}	(24-33)	0.4003**
	aVR	25^{a}	(21-30)	26^{a}	(23-29)	27.5^{a}	(24.25-30)	27^{a}	(24.75-33.5)	0.1010**
	aVL	25.31^{ab}	±3.401	25^{a}	(22-28)	28.64^{ab}	±5.472	29^{b}	(25-35)	<0.0001**
	aVF	26.07^{ab}	±5.313	25^{a}	(23-31)	26.5^{ab}	(23.25-30.75)	28^{b}	(25-36)	0.0109**
	rV2	33^{ab}	±5.085	30^{a}	(27-33)	35^{b}	(30-40)	33^{b}	(30-37)	<0.0001**
	V2	32^{ab}	(30-35)	31^{a}	(27-35)	34.67^{ab}	±9.371	35.83^{b}	±8.559	0.0018**
	V4	30^{ab}	(27-34.5)	27^{a}	(23-33)	34.29^{ab}	±10.26	30.5^{b}	(25.25-37)	0.0041**
	V10	28.18^{a}	±6.242	28^{a}	(25-33)	32.83^{a}	±7.195	28^{a}	(25.75-33.25)	0.5389**
	Tptfd	16.07^{ab}	±6.584	15^{a}	(11-20)	18.38^{ab}	±9.605	19.37^{b}	±8.672	0.0166**
	Maximum of any lead	36.8^{ab}	±5.99	36^{a}	(32-40)	40.69^{ab}	±9.279	42.49^{b}	±9.045	<0.0001**
	Maximum of rV2-V10	35.67^{ab}	±6.499	35^{a}	(30-38)	41^{b}	±9.196	39^{b}	(34-46)	<0.0001**
	Average rV2-V10	31.63^{ab}	±4.547	29.89^{a}	±4.082	35.26^{b}	±7.069	33.67^{b}	±5.112	<0.0001*
	Average rV2-V4	32.26^{ab}	±4.687	29.33^{a}	(26.67-33)	35.1^{b}	±7.356	34.03^{b}	±5.227	<0.0001**
Tptf/QT	I	0.1398^{ab}	±0.03112	0.1350^{a}	(0.1187-0.1515)	0.1501^{ab}	±0.03196	0.1506^{b}	(0.1304-0.1847)	0.0047**
	II	0.1545^{a}	±0.03825	0.14371^{a}	(0.1237-0.1631)	0.1308^{a}	(0.1241-0.1813)	0.15^{a}	(0.1362-0.1840)	0.1027**
	III	0.1575^{a}	±0.03811	0.1366^{a}	(0.1210-0.1637)	0.1356^{a}	(0.1214-0.1851)	0.1485^{a}	(0.1287-0.16969)	0.1225**
	aVR	0.1471^{a}	±0.02849	0.1406^{a}	(0.1237-0.1539)	0.1503^{a}	±0.03099	0.1469^{a}	(0.1336-0.1753	0.1127**
	aVL	0.1434^{ab}	±0.02388	0.1344^{a}	(0.12-0.1514)	0.1533^{ab}	±0.03241	0.1557^{b}	(0.1333-0.1832)	0.0003**
	aVF	0.1474^{ab}	±0.03956	0.1377^{a}	(0.1202-0.1650)	0.1522^{ab}	±0.03443	0.1515^{b}	(0.1404-0.1860)	0.0122**
	rV2	0.1786^{a}	±0.02523	0.1537^{b}	(0.1387-0.1784)	0.1895^{a}	±0.04446	0.1765^{a}	(0.1561-0.1925)	<0.0001**
	V2	0.177^{ab}	(0.154-0.1849)	0.1616^{a}	(0.14-0.1855)	0.1829^{ab}	±0.04611	0.1839^{b}	±0.04126	0.0022**
	V4	0.1737^{ab}	±0.03325	0.1477^{a}	(0.1257-0.1683)	0.1756^{ab}	±0.04325	0.1634^{b}	(0.14-0.1855)	0.0009**
	V10	0.1591^{a}	±0.03288	0.15^{a}	(0.1292-0.1734)	0.1813^{a}	±0.05067	0.1613^{a}	(0.1298-0.1929)	0.5598**

Results of obtained parameters are presented in the form of mean ± standard deviation or median (interquartile interval). Values followed by the same letter do not differ from each other (p>0.05) by Dunn's or Tukey's test, according to data distribution.*: ANOVA, followed by Tukey test; **: Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test; QTc: QT interval corrected by heart rate; QTcd: QTc dispersion; QTd: QT dispersion; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

Ventricular repolarization markers *vs* echocardiographic parameters and R-R interval

QT measurements obtained in all leads showed moderately strong positive correlation with R-R interval, and poor negative correlation with FS. However, no other echocardiographic parameter significantly correlated with QT. On the contrary, QTc obtained in all leads showed fair negative correlation with R-R interval and poor to fair positive correlation with all echocardiographic parameters, except FS. Tpte obtained in leads I, aVL, rV2, V2, and V4, the maximum of any lead, the maximum of rV2-V10, the average of rV2-V10 and the average of rV2-V4 showed poor to fair positive correlation with LVIDdN, LVIDsN and LA:Ao. A poor positive correlation was also found to exist between some Tpte indices and both E and E:A. Similarly, Tpte/QT obtained in leads I, aVL, aVF, rV2 and V4 showed poor to fair positive correlation with LVIDdN, LA:Ao, FS, E while negative correlation was documented with R-R interval. Tpte/QT obtained from aVL showed poor positive correlation with E:A, as did LVIDsN and Tpte/QT obtained from V2 and V4 (Table A available in Supplemental Material on-line).

Ventricular repolarization markers *vs* Cardiac remodeling and arrhythmias

Area under the curve (AUC) >0.7 was used as the cut-off criteria for acceptable sensitivity and specificity[24]. Evaluation of ROC curves for identification of cardiac remodeling using QT, QTc, Tpte and Tpte/QT failed to show any AUC >0.7 (data not shown). For investigation of arrhythmias of ventricular origin, ECG parameters in which an AUC >0.7 was obtained were Tpte and Tpte/QT. The highest odds ratios for development of ventricular arrhythmias were calculated for Tpte (average rV2-V10), Tpte (average rV2-V4), Tpte/QT (rV2), Tpte (rV2) and Tpte/QT (aVR). Cut-off values

for each ECG parameter and its respective sensitivity, specificity, accuracy, and odds ratio for development of ventricular arrhythmias are listed in Table 4. ROC curves are shown in Figure 2.

Table 4. Cut-off, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), accuracy (%), odds ratio and p value of electrocardiographic parameters with an AUC >0.7 to differentiate dogs with mitral myxomatous valve disease with and without ventricular arrhythmia.

	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV	Accuracy (%)	Odds Ratio	p
Tpte aVR	> 32.50	38.89	83.98	0.16	80.72	3.34	0.0042
	> 24.50	88.89	31.60	0.09	35.74	3.7	
	> 29.50	55.56	72.73	0.14	71.49	3.33	
Tpte rV2	> 32.50	81.25	61.43	0.13	62.76	6.9	0.0042
	> 34.50	68.75	73.99	0.16	73.64	6.26	
	> 39.50	31.25	91.93	0.22	87.87	5.18	
Tpte average rV2-V10	> 32.13	93.33	64.91	0.16	66.67	27.75	0.0020
	> 36.58	62.50	87.72	0.26	86.07	11.9	
	> 35.29	68.75	82.89	0.22	81.97	10.66	
Tpte average rV2-V4	> 32.50	93.75	62.72	0.15	64.75	25.24	0.0015
	> 36.50	68.75	85.96	0.26	84.84	13.48	
	> 35.17	75.00	82.02	0.23	81.56	13.68	
Tpte/QT II	> 0.1458	77.78	53.04	0.11	54.84	3.95	0.0050
	> 0.1681	61.11	75.65	0.16	74.60	4.88	
	> 0.2041	22.22	89.57	0.14	84.68	2.45	
Tpte/QT aVR	> 0.1444	72.22	58.01	0.12	59.04	3.59	0.0033
	> 0.1690	44.44	81.39	0.16	78.71	3.5	
	> 0.1980	33.33	91.77	0.24	87.55	5.58	
Tpte/QT rV2	> 0.1663	87.50	53.81	0.12	56.07	8.16	0.0090
	> 0.1821	68.75	72.65	0.15	72.38	5.84	
	> 0.2141	25	95.54	0.29	90.79	7.1	

PPV calculated as TP/(TP+FP). Accuracy was calculated as (TP+TN)/(TP+TN+FP+FN). Average: Tpte average; FN: false negative; FP: false positive; TN: true negative; TP: true positive; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

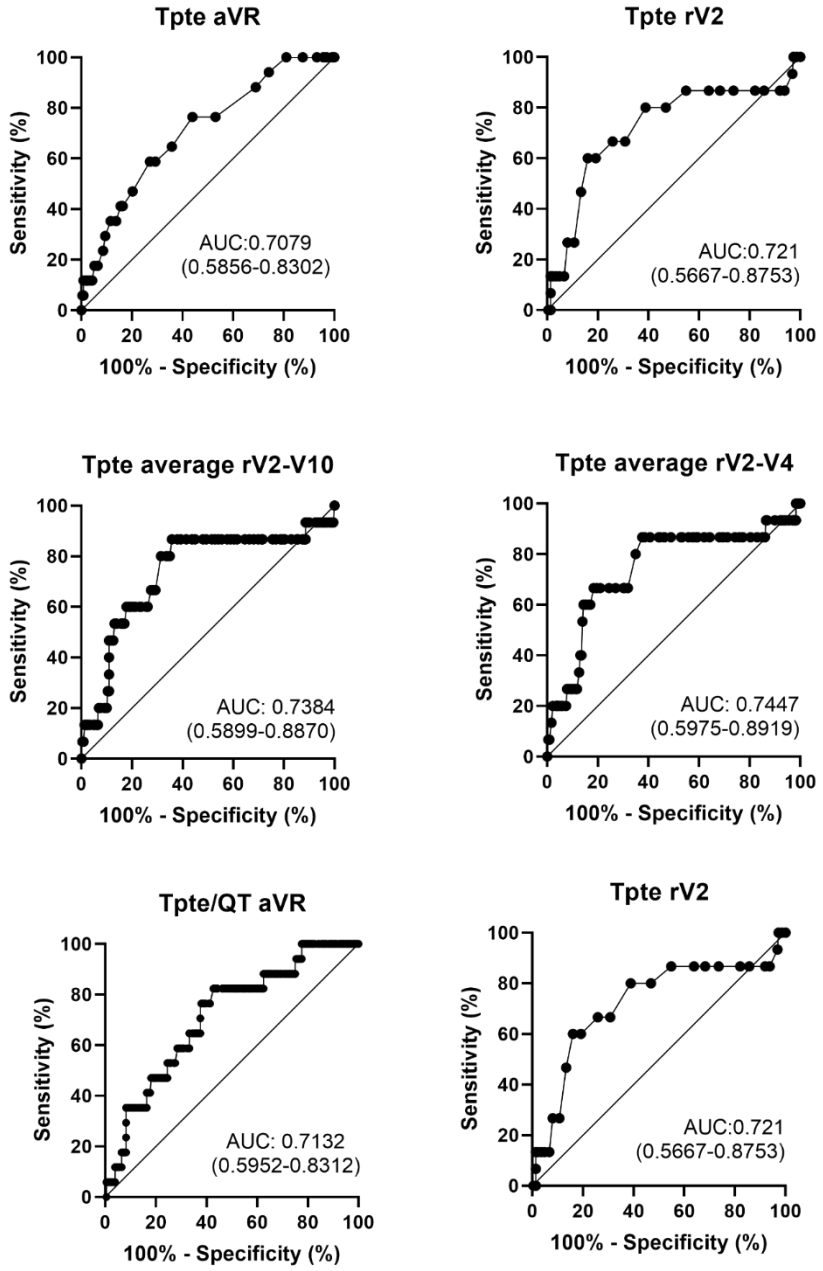

Figure 2. ROC curves constructed to assess sensitivity and specificity of ventricular repolarization markers for differentiation of dogs with and without myxomatous mitral valve disease presenting ventricular arrhythmias.

AUC: Area under the curve; Average: average of Tpte values; ROC: Receiver operating characteristic curve; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

Ventricular repolarization markers *vs* Prognosis and survival

Owners of 87 asymptomatic animals (stages B1 and B2) were contacted and only 13 of these dogs had developed clinical signs attributable to CHF. The low proportion of patients (<50%) that reached this end-point impairs the construction of an accurate Kaplan-Meier curve (data not shown). Nonetheless, survival information was obtained from the owners of 139 dogs with MMVD (all stages), of which 69 (50%) died. The most common causes of death were cardiovascular disease (n=22; 31.9%), neoplasia or complications associated with chemotherapy or surgery to remove tumors (n=21; 30.4%) and unknown cause (n=19; 27.5%). The most frequent cardiovascular complication was CHF (n=14), followed by SCD (n=4) and cardiorenal syndrome (n=4).

Ventricular repolarization parameters associated with all-cause mortality are shown in Table 5, along with its respective cut-off, and median survival times. The increase in all significant indices was associated with increased mortality, with the exception of QT aVL and Tpted (Figure 3). For instance, Tpte/QT rV2, when a cutoff value of 0.2141 is applied, shows a median difference of 587 days in survival time, with a hazard ratio of 2.551. Similarly, Tpte rV2 also has a median difference of 255 days with a hazard ratio of 2.627 when a cutoff value of 39.5 ms is applied. Indices that demonstrated the greatest differences in mean survival time according to the cut-off point were Tpte/QT (aVR), Tpte/QT (rV2), Tpte (maximum of any lead) and Tpte (maximum rV2-V10). It is important to emphasize that hazard ratios were derived from the log-rank comparison and not from Cox proportional hazards models. The Kaplan-Meier curves obtained for the significant findings are shown in Figure 4.

Table 5. Cut-offs, median survival times and p values of surrogates of ventricular repolarization obtained in dogs with myxomatous mitral valve disease.

	Cutoff value	Median survival of dogs < cutoff (days)	Median survival of dogs > cutoff (days)	Difference in median survival time (days)	p
QT aVL (ms)	199.5	929	1196	267	0.0143
QTc II (ms)	260.4	1004	872	132	0.0074
QTc aVR (ms)	254.5	1223	872	315	0.0038
Tpte aVF (ms)	38.5	979	752	227	0.0149
Tpte rV2 (ms)	39.5	1094	839	255	0.0017
Tpted (ms)	25.5	965	983	18	0.0497
Tpte maximum of any lead (ms)	49	1004	531	473	0.0066
Tpte maximum of rV2-V10 (ms)	46.5	1117	752	365	0.0243
Tpte/QT aVR	0.198	1118	531	587	0.0002
Tpte/QT aVF	0.2021	1150	991	159	0.0111
Tpte/QT rV2	0.2141	1118	531	587	0.023

QTc: QT interval corrected by heart rate; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

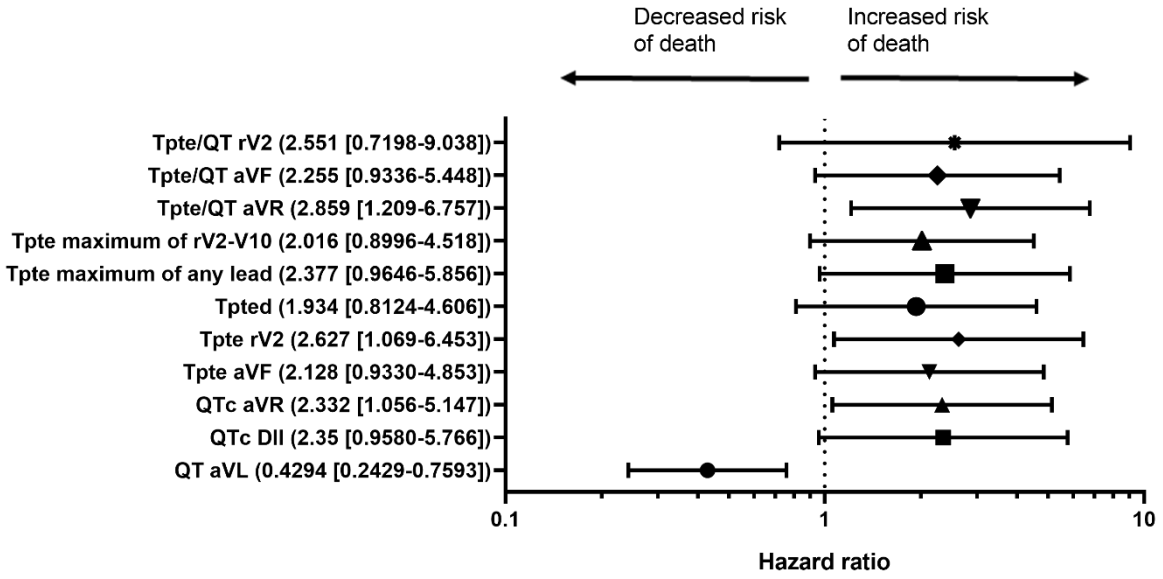

Figure 3. Forest plot showing the hazard ratio and 95% confidence of intervals of ventricular repolarization markers for the risk of death in dogs with mitral myxomatous valve disease. QTc: QT interval corrected by heart rate; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

QTc: QT interval corrected by heart rate; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

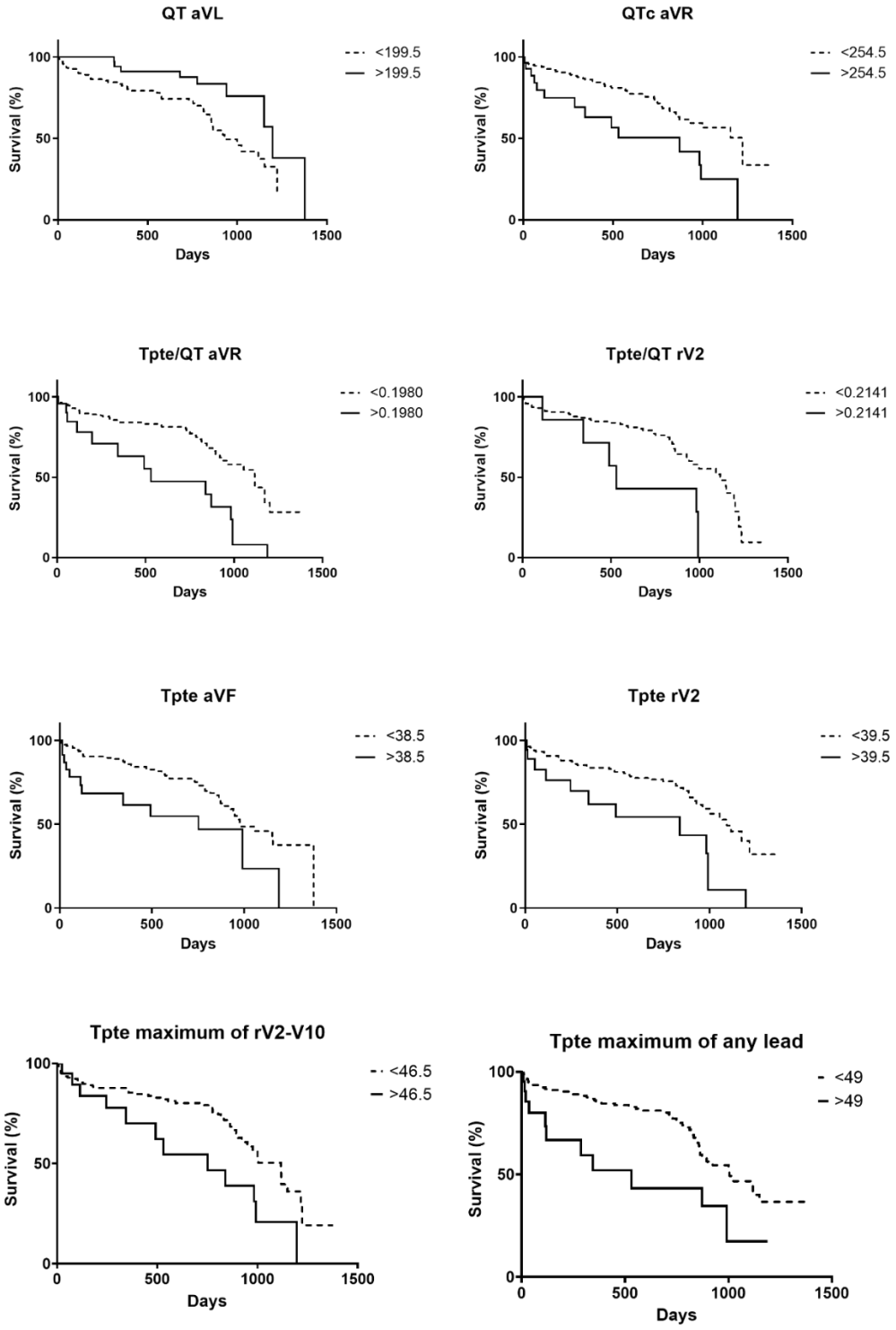

Figure 4. Kaplan-Meier curves constructed to investigate ventricular repolarization markers as surrogates of mortality in dogs with myxomatous mitral valve disease.

QTc: QT interval corrected by heart rate; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals

Discussion

In this study, we investigated the applicability of ECG-derived repolarization markers in dogs with MMVD. The electrocardiogram is a noninvasive, widely available and cheap ancillary method that allows the identification of cardiac rhythm disturbances. Characteristics of T wave reflect myocardial repolarization, and might be useful as surrogates for development of arrhythmias and survival. However, to the best of our knowledge, no prior veterinary study has evaluated how Tpte performs in a naturally occurring canine disease. Our results showed that Tpte and Tpte/QT are good markers to predict ventricular arrhythmias and all-cause mortality in dogs with MMVD, especially when compared with other surrogates of ventricular repolarization such as QT and QTc.

It has been more than 3 decades since the description of the M cell that reframed understanding that regional differences exist in the electrical properties of the ventricular myocardium. Canine models developed for studying ventricular action potentials first identified electrophysiologically distinct mid-myocardial cells, termed M cells, which were found to exhibit unique repolarization properties compared to the cells in the endocardium and epicardium[25]. Although M cells are similar to epicardial and endocardial cells histologically, they appear to be an electrophysiological and pharmacological hybrid between Purkinje and ventricular cells. The hallmark of the M cell is the characteristic of prolongation of its action potential relative to the action potential of other ventricular myocardial cells in response to heart rate slowing and to action potential duration-prolonging agents[26]. In 1998, Yan and Antzelevitch studied the behavior of epicardial, endocardial and M cells in the formation of the T wave in dogs, and demonstrated that the repolarization of the epicardium cells (the first to

repolarize) coincides with the peak, while the repolarization of M cells (the last to repolarize) coincides with the end of the T wave. Therefore, it was demonstrated, for the first time, that Tpte interval represents the surface ECG manifestation of dispersion of repolarization across the ventricular wall, hereafter referred to as repolarization heterogeneity[27].

Although the consensus is that Tpte reflects dispersion of ventricular repolarization, there is disagreement about whether this dispersion is transmural[28] or global [18, 29-31]. Tpte is considered to be more representative of transmural dispersion in precordial leads, since they measure the electric field through the ventricular wall. The direction of these leads is radially outward from the "center" of the heart, the center of the Einthoven triangle. However, bipolar limb leads do not look across the ventricular wall and therefore, although Tpte intervals measured in these leads may provide a transmural dispersion index, they are more likely to reflect global dispersion, including apicobasal and interventricular repolarization dispersion[32].

The use of Tpte and Tpte/QT as indices of arrhythmogenesis and mortality in people with cardiac disease has been well recognized in the medical literature, even in subjects with normal QT intervals[20]. In a study that recruited people with hypertrophic cardiomyopathy, Shimizu and colleagues[33] showed that Tpte/QT, but not QTc, was significantly higher in patients who developed SCD or ventricular tachycardia. Of note, Tpte/QT was also shown to be a stronger predictor of mortality in human patients with acute myocardial infarction during the first year after the event, as compared to QT[34]. People with severe mitral valve stenosis had increased Tpte and Tpte/QT, and these parameters reduced significantly after correction by balloon valvuloplasty[35]. Conversely, that same study documented no difference in QT and QTc between

healthy subjects and patients with mitral valve stenosis either before or after valvuloplasty. Tpte and Tpte/QT were also shown to be useful for clinical risk stratification in people with mitral annular calcification[36].

Prolongation of Tpte and Tpte/QT is likely to represent a period of potential vulnerability to re-entrant ventricular arrhythmias[20]. Except for QT, most of the ventricular repolarization indices evaluated in this investigation increased along with the frequency of arrhythmias, and with the progression of MMVD (Table 3). In CHF, sympathetic nervous system stimulation leads to increased dispersion of ventricular repolarization, resulting in increased Tpte interval[37]. In addition to sympathetic stimulation, increased calcium influx and reduced potassium outflow may also cause temporal heterogeneity of Tpte, therefore posing a higher risk of malignant ventricular arrhythmias in CHF patients[38].

While arrhythmias were observed in all stages of MMVD, supraventricular and ventricular extrasystoles were more frequent in the more advanced stages. This finding has been reported in other studies of MMVD dogs[4, 12, 39]. The exact mechanism for development of arrhythmias in MMVD dogs has not yet been elucidated, but it is likely to be multifactorial[4]. Supraventricular arrhythmias in dogs with MMVD have been associated with increased mitral valve prolapse[40] and enlargement of the left atrial chamber[4]. Ventricular arrhythmias have been associated with ventricular dilation and stretching with increased myocardial wall tension[41], myocardial hypoxia[42], intramyocardial arterial stenosis, myocardial interstitial fibrosis and poor systolic function[43]. None of the studied parameters produced an AUC >0.7 when used to investigate cardiac remodeling. However, the positive correlations found between either Tpte, Tpte/QT or QTc and the echocardiographic parameters may reflect the

role played by cardiac remodeling and congestion on myocardial electrical activity. Mechanical overload can alter myocardial electrophysiological properties and increase repolarization abnormalities and inhomogeneity[44]. This phenomenon, known as mechanoelectrical feedback, has already been demonstrated in canine ventricles and suggests that myocardial stretch might initiate arrhythmias and that the susceptibility to stretch-induced arrhythmias is enhanced by ventricular dilatation[41].

QT interval was the only parameter to positively correlate with R-R interval. It is well described in human and veterinary literature that QT interval changes with HR. While higher HR (shorter R-R) are associated with shorter QT intervals, lower HR (higher R-R intervals) results in a prolonged QT[45,46]. Moreover, it is recognized that QT interval changes lag behind HR changes, resulting in the appearance of “hysteresis” in QT/RR interval plots[47]. For this reason, correction for this effect is necessary for meaningful QT interval assessment. Fridericia’s correction method has been thought to result in a low accuracy error compared to other methods[48].

In this study QT (any lead), QTd and QTcd failed to differentiate healthy and MMVD dogs and showed no reasonable sensitivity and specificity as surrogates for augmented ventricular arrhythmogenesis. Nonetheless, QT (aVL) was demonstrated to be a good prognostic marker in survival analyses. Surprisingly, a better prognosis was observed in patients with longer QT. We hypothesize that the moderately strong positive correlation found between QT values and R-R intervals may explain this result, since R-R intervals were significantly associated with the degree of the disease. Even though QTc (all leads) differed between groups and correlated positively with the majority of echocardiographic parameters, it was not a good predictor for arrhythmias. Similarly, a study with Boxers showed that neither QT interval nor QTd correlated with

indicators of disease severity for familial ventricular arrhythmias, including the number of ventricular premature complexes, or complexity of arrhythmias[49].

Several methods have been published for determination of Tpte (leads II, V2, V5, average V1-V6, average V4-V6, maximum of V1-V6, maximum of any lead, automated 12SL method) and most of them have proven utility for risk stratification. However, a lack of standardization of this measurement limits its use in clinical practice[50]. Since veterinary literature related to ventricular repolarization markers is still very scarce, measurements in all leads in this investigation were essential to evaluate its potential applicability in a clinical setting. In veterinary practice, most measurements are performed in lead II, but the results of this research show that assessment of ventricular repolarization is best done in aVR and precordial leads to determine electrical instability and mortality.

In our study, the best markers for ventricular arrhythmias and survival were Tpte and Tpte/QT obtained from leads aVR and rV2, as well as Tpte (maximum of any lead, maximum of rV2-V10, average rV2-V10 and average rV2-V4). In clinical practice, parameters obtained from either aVR or rV2 have the advantage of requiring only a single lead measurement. Of note, in this study these two leads were among the least frequently uninterpretable (0.8% and 1.6%, respectively). Tpte and Tpte/QT obtained from lead rV2 also increased with the progression of MMVD.

Limitations

This study needs to be interpreted in the context of its many limitations. Firstly, data were collected retrospectively, and groups were composed of unequal samples, with the control and B2 groups being the smallest and group B1 the largest, which might

explain the absence of differences between populations in some analyses. Although treatment with antiarrhythmic drugs was an exclusion criterion, some of the dogs with MMVD were receiving other cardiac therapy at initial presentation. The effect of these drugs on the studied parameters is not completely understood. However, since medication changes the patient's loading conditions, we assume that therapy would alter repolarization indices considerably. In addition, the diagnosis of arrhythmias was based solely on the interpretation of 3 to 5 minutes ECG recordings, which reduces sensitivity for detection of rhythm disorders.

Conclusions

In conclusion, Tpte and Tpte/QT may be used for clinical risk stratification in dogs with MMVD. These parameters changed with the progression of the disease, identified animals at a higher risk for ventricular arrhythmias and predicted mortality. Future studies that investigate ventricular repolarization markers in a larger population, as well as in dogs with other cardiac diseases are warranted to improve the understanding of the role played by altered loading conditions and cardiac remodeling on electrical instability in dogs.

Conflicts of interest statement

The authors do not have any conflicts of interest to disclose.

References

[1] Olsen TF, Allen AL. Causes of sudden and unexpected death in dogs: A 10-year retrospective study. Can Vet J 2000; 41:873-875.

[2] Huikuri H, Castellanos A, Myerburg R. Suden death due to cardiac arrhythmias. N Engl J Med 2001; 345:1473-1482.

[3] Basso C, Fox PR, Meurs KM, Towbin JA, Spier AW, Calabrese F, Maron BJ, Thiene G. Arrhythmogenic rightventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac deathin boxer dogs: a new animal model of human disease. Circulation 2004; 109:1180-1185.

[4] Crosara S, Borgarelli M, Perego M, Häggström J, La Rosa G, Tarducci A, Santilli RA. Holter monitoring in 36 dogs with myxomatous mitral valve disease. Aust Vet J 2010; 88:386-392.

[5] Barr CS, Naas A, Freeman M, Lang CC, Struthers AD. QT dispersion and sudden unexpected death in chronic heart failure. Lancet 1994; 343:327-329.

[6] Kaab S, Nuss HB, Chiamvimonvat N, O'Rourke B, Pak PH, Kass DA, Marban E, Tomaselli GF. Ionic mechanism of action potential prolongation in ventricular myocytes from dogs with pacing-induced heart failure. Circ Res 1996; 78:262–273.

[7] Tse G, Yan BP. Traditional and novel electrocardiographic conduction and repolarization markers of sudden cardiac death. Europace 2017; 19:712-721.

[8] Surawicz B. The QT interval and cardiac arrhythmias. Annu Rev Med 1987; 38:81-90.

[9] Elming H, Holm E, Jun L, Torp-Pedersen C, Kober L, Kircshoff M, Malik M, Camm J. The prognostic value of the QT interval and QT interval dispersion in all-cause and cardiac mortality and morbidity in a population of Danish citizens. Eur Heart J 1998; 19:1391-1400.

[10] Tse G, Gong M, Wong WT, Georgopoulos S, Letsas KP, Vassiliou VS, Chan YS, Yan BP, Wong SH, Wu WKK, Ciobanu A, Li G, Shenthar J, Saguner AM, Ali-Hasan-Al-Saegh S, Bhardwaj A, Sawant AC, Whittaker P, Xia Y, Yan GX, Liu T. The Tpeak - Tend interval as an electrocardiographic risk marker of arrhythmic and mortality outcomes: a systematic review and meta-analysis. Heart Rhythm 2017; 14:1131-1137.

[11] Castro-Torres Y, Carmona-Puerta R, Katholi RE. Ventricular repolarization markers for predicting malignant arrhythmias in clinical practice. World J Clin Cases 2015; 3:705-720.

[12] Brüler BB, Jojima FS, Dittrich G, Giannico AT, Sousa MG. QT instability, an indicator of augmented arrhythmogenesis, increases with the progression of myxomatous mitral valve disease in dogs. Journal of Veterinary Cardiology 2018; 20:254-266.

[13] Keene BW, Atkins CE, Bonagura JD, Fox PR, Häggström J, Fuentes VL, Oyama MA, Rush JE, Stepien R, Uechi M. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. J Vet Intern Med 2019; 33:1127-1140.

[14] Cornell C, Kittleson M, Della Torre P. Allometric scaling of Mmode cardiac measurements in normal adult dogs. J Vet Intern Med 2004; 18:311–321.

[15] Tilley LP. Essentials of canine and feline electrocardiography: interpretation and treatment. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febiger 1992;127-207.

[16] Santilli R, Moïse NS, Pariaut R, Perego M. Formation and interpretation of the electrocardiographic waves. In: Santilli R, Moïse NS, Pariaut R, Perego M, eds.

Electrocardiography of the dog and cat.: Diagnosis of arrhythmias. 2nd ed. Trento: Edra S.p.A., 2019;35-64.

[17] Fridericia LS. Die Systolendauer im elektrokardiogramm bei normalen menschen und bei herzkranken. Acta Med Scand 1920; 53:489.

[18] Xia Y, Liang Y, Kongstad O, Holm M, Olsson B, Yuan S. Tpeak-Tend interval as an index of global dispersion of ventricular repolarization: evaluations using monophasic action potential mapping of the epi- and endocardium in swine. J Interv Card Electrophysiol 2005; 14:79-87, 2005.

[19] Abdelrahman TM. Prognostic value of T peak-to-end interval for risk stratification after acute myocardial infarction. Egypt J Crit Care Med 2014; 2:19-27.

[20] Gupta P, Patel C, Patel H, Narayanaswamy S, Malhotra B, Green JT, Yan G. Tp-e/QT ratio as an index of arrhythmogenesis. J Electrocardiol 2008; 41:567-574.

[21] Tutar HE, Öcal B, Imamoglu A, Atalay S. Dispersion of QT and QTc interval in healthy children, and effects of sinus arrhythmia on QT dispersion. Heart 1998; 80:77-79.

[22] Emori T, Antzelevitch C. Cellular Basis for Complex T Waves and Arrhythmic Activity Following Combined IKr and IKs Block. Journal Of Cardiovascular Electrophysiology 2001; 12:1369-1378.

[23] Chan YH. Biostatistics 104: Correlational Analysis. Singapore Med J 2003; 44:614-619.

[24] Hosmer DW, Lemeshow S. Assessing the Fit of the Model. In: Hosmer DW, Lemeshow S, editors. Applied Logistic Regression. New York: John Wiley and Sons; 2000, p. 160–4.

[25] Anyukhovsky EP, Sosunov EA, Rosen MR. Regional differences in electrophysiological properties of epicardium, midmyocardium, and endocardium. In vitro and in vivo correlations. Circulation 1996; 94:1981–1988.

[26] Prenner SB, Shah SJ, Goldberger JJ, Sauer AJ. Repolarization Heterogeneity: Beyond the QT Interval. Journal of the American Heart Association. 2016;5(5). e003607. https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003607

[27] Yan GX, Antzelevitch C. Cellular basis for the normal T wave and the electrocardiographic manifestations of the long QT syndrome. Circulation 1998; 98: 1928-1936.

[28] Bai R, Lu J, Pu J, Liu N, Zhou Q, Ruan Y, Niu H, Zhang C, Wang L, Kam R. Left Ventricular Epicardial Activation IncreasesTransmural Dispersion of Repolarization in Healthy,Long QT, and Dilated Cardiomyopathy Dogs. Pace 2005; 28:1098-1106.

[29] Kors JA, Ritsema Van Eck HJ, Van Herpen G.The meaning of the Tp-Te interval and its diagnostic value. J Electrocardiol 2008; 41:575-580, 2008.

[30] Opthof T, Coronel R, Wilms-Schopman FJG, Plotnikov AN, Shlapakova IN, Danilo Jr. P, Rosen MR, Janse MJ. Dispersion of repolarization in canine ventricle and the electrocardiographic T wave: Tp-e interval does not reflect transmural dispersion. Heart Rhythm 2007; 4:341-348.

[31] Arteyeva NV, Goshka SL, Sedova KA, Bernikova OG, Azarov JE. What does the T(peak)-T(end) interval reflect? An experimental and model study. J Electrocardiol 2013; 46:296.

[32] Antzelevitch C, Sicouri S, Di Diego JM Burashnikov A, Viskin S, Shimizu W, MD, Yan GX, Kowey P, Zhang L. Does Tpeak–Tend provide an index of transmural dispersion of repolarization? Heart Rhythm 2007; 4:1114-6.

[33] Shimizu M, Ino H, Okeie K, Yamaguchi M, Nagata M, Hayashi K, Itoh H, Iwaki T, Oe K, Konno T, Mabuchi H. T-peak to T-end interval may be a better predictor of high-risk patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with a cardiac troponin I mutation than QT dispersion. Clin Cardiol 2002; 25:335-339.

[34] Erikssen G, Liestol K, Gullestad L, Haugaa KH, Bendz B, Amlie JP. The terminal part of the QT interval (T peak to T end): a predictor of mortality after acute myocardial infarction. Ann Noninvasive Electrocardiol 2012; 17:85-94.

[35] Dural M, Mert KU, Iskenderov K. Evaluation of Tp-e interval, Tp-e/QT ratio, and Tp-e/QTc ratio in patients with mitral valve stenosis before and after balloon valvuloplasty. Anatol J Cardiol 2017; 18:353-360.

[36] Afsin A, Yilmaz M, Deger S, Tasolar H, Yasar E, Pekdemir H. Evaluation of the Tp-e interval and Tp-e/QT ratio in patients with mitral annular calcification. Ann Clin Lab Res 2017; 5:199.

[37] Yagishita D, Chui RW, Yamakawa K, Rajendran PS, Ajijola OA, Nakamura E, So EL, Mahajan A, Shivkumar K, Vaseghi M. Sympathetic Nerve Stimulation, Not Circulating Norepinephrine, Modulates T-Peak to T-End Interval by Increasing Global

Dispersion of Repolarization. Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology 2014; 8:174-185.

[38] Piccirillo G, Moscucci F, D'alessandro G, Pascucci M, Rossi P, Han S, Chen LS, Lin S, Chen P, Magrì D. Myocardial Repolarization Dispersion and Autonomic Nerve Activity in a Canine Experimental Acute Myocardial Infarction Model. Heart Rhythm 2014; 11:110–118.

[39] Carvalho ER, Ampuero RAN, Tuleski GLR, Camacho AA, Sousa MG. Polymorphism, coupling interval and prematurity index in dogs with degenerative mitral valve disease and ventricular arrhythmias. Vet Res Commun 2018; 42:153-160.

[40] Olsen LH, Mow T, Koch J, Pedersen HD. Heart rate variability in young clinically healthy Dachshunds: Influence of sex, mitral valve prolapse status, sampling period and time of day. J Vet Cardio 1999; 1:7-15.

[41] Hansen DE, Craig CS, Hondeghem LM Stretch-induced arrhythmias in the isolated canine ventricle. Circulation 1990; 81:1094-1105.

[42] Shepard JW, Garrison MW, Grither DA, Dolan GF. Relationship of ventricular ectopy to oxyhemoglobin desaturation in patients with obstructive sleep apnea. Chest 1985; 88:335–340.

[43] Falk T, Jonsson L, Olsen LH, Tarnow I, Pedersen HD. Associations between cardiac pathology and clinical, echocardiographic and electrocardiographic findings in dogs with chronic congestive heart failure. Vet J 2010; 185:68-74.

[44] James PR, Hardman SM, Taggart P. Physiological changes in ventricular filling alter cardiac electrophysiology in patients with abnormal ventricular function. Heart 2002; 88:149–152. doi:10.1136/heart.88.2.149

[45] Luo S, Michler K, Johnston P, Macfarlane PW. A comparison of commonly used QT correction formulae: the effect of heart rate on the QTc of normal ECGs. J Electrocardiol 2004; 37:81-90.

[46] Oliveira MS, Muzzi RAL, Muzzi LAL, Cherem M, Mantovani MM. QT interval in healthy dogs: which method of correcting the QT interval in dogs is appropriate for use in small animal clinics? Pesq Vet Bras 2014; 34:469-472.

[47] Lau CP, Freedman AR, Fleming S, Malik M, Camm AJ, Ward DE. Hysteresis of the ventricular paced QT interval in response to abrupt changes in pacing rate. Cardiovascular research 1988; 22:67–72

[48] Hnatkova K, Vicente J, Johannesen L, Garnett C, Stockbridge N, Malik M. Errors of Fixed QT Heart Rate Corrections Used in the Assessment of Drug-Induced QTc Changes. Front Physiol 2019; 10:635.

[49] Spier AW, Meurs KM, Muir WW, Lehmkuhl LB, Hamlin RL. Correlation of QT dispersion with indices used to evaluate the severity of familial ventricular arrhythmias in Boxers. Am J Vet Res 2001; 62:1481-5.

[50] Rosenthal TM, Masvidal D, Abi Samra FM, Bernard ML, Khatib S, Polin M, Rogers PA, Xue JQ, Morin DP. Optimal method of measuring the T-peak to T-end interval for risk stratification in primary prevention. Europace 2018; 20:698–705.

Footnotes

[a] Acuson X300 Premium Edition, Siemens Medical Solutions, Germany

[b] Affiniti, Philips, United States of America

[c] ECG-PC, Teb, São Paulo, São Paulo, Brazil

[d] Rstudio Team (2015). Rstudio: Integrated Development for R. Rstudio, Inc., Boston, Massachusetts, United States of America, http://www.rstudio.com

[e]GraphPad Prism version 8.0.2 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California, USA, www.graphpad.com

APÊNDICE

APÊNDICE A

Table A. Ventricular repolarization markers with significant correlation with echocardiographic parameters and R-R interval in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease.

LVIDdN	Rho	LVIDsN	Rho	LA:Ao	Rho	FS *vs.*	Rho	E *vs.*	Rho	E:A	Rho	RR *vs.*	Rho
Tptf DI	0.3221821	QT aVF	0.1019086	Tptf DI	0.1894489	QT DI	-0.2350549	Tptf DI	0.163373	Tptf aVL	0.2238784	QT DI	0.6004958
Tptf DII	0.22	Tptf DI	0.1696127	Tptf aVL	0.1600401	QT DII	-0.223978	Tptf aVL	0.2390081	Tptf V2	0.1523091	QT DII	0.621729
Tptf aVR	0.2101899	Tptf DII	0.1690456	Tptf aVF	0.144481	QT DIII	-0.2283703	Tptf rV2	0.1613959	Maximum rV2-V10	0.1431246	QT DIII	0.6403189
Tptf aVL	0.3479462	Tptf aVL	0.2136006	Tptf rV2	0.2218015	QT aVR	-0.2347356	Tptf V2	0.1915193	Average rV2-V10	0.1381865	QT aVR	0.6146647
Tptf aVF	0.1915787	Tptf rV2	0.1702115	Tptf V2	0.206883	QT aVL	-0.2049171	Maximum of any lead	0.1523415	Average rV2-V4	0.1526555	QT aVL	0.60865
Tptf rV2	0.2236734	Tptf V2	0.1802888	Tptf V4	0.143402	QT aVF	-0.1570663	Maximum rV2-V10	0.1938869	Tptf/QT aVL	0.1681166	QT aVF	0.6296454
Tptf V2	0.2389137	Tptf V4	0.1767122	Tptfd	0.1410513	QT rV2	-0.2388887	Average rV2-V10	0.2069287	QTc DI	0.2514084	QT rV2	0.611794
Tptf V4	0.1762514	Maximum of any lead	0.1857534	Maximum of any lead	0.2172443	QT V2	-0.2510136	Average rV2-V4	0.2252633	QTc DII	0.2014429	QT V2	0.6058443
Tptfd	0.1514601	Maximum rV2-V10	0.234629	Maximum rV2-V10	0.2438848	QT V4	-0.2426104	Tptf/QT DI	0.1758622	QTc DIII	0.1716567	QT V4	0.5986382
Maximum of any lead	0.2545038	Average rV2-V10	0.2467374	Average rV2-V10	0.2692453	QT V10	-0.2601508	Tptf/QT aVL	0.2073457	QTc aVR	0.2295389	QT V10	0.6022982
Maximum rV2-V10	0.3103895	Average rV2-V4	0.2469135	Average rV2-V4	0.2779963	Tptf DI	0.1474941	Tptf/QT aVF	0.1357821	QTc aVL	0.2364697	Tptf V2	0.1499543
Average rV2-V10	0.2805011	Tptf/QT V2	0.1472069	Tptf/QT DI	0.1991706	Tptf DII	0.1409435	Tptf/QT rV2	0.2231495	QTc aVF	0.1928488	Tptf/QT DI	-0.2055208
Average rV2-V4	0.2923866	Tptf/QT V4	0.1680616	Tptf/QT aVL	0.1610566	Tptf DIII	0.1577444	Tptf/QT V2	0.2272285	QTc rV2	0.2509746	Tptf/QT DII	-0.2538069

Tptf/QT DI	0.3068777	QTc DI	0.1797367	Tptf/QT aVF	0.1585444	Tptf aVR	0.2131423	Tptf/QT V4	0.1973064	QTc V2	0.2530443	Tptf/QT DIII	-0.1562018
Tptf/QT DII	0.2184281	QTc DII	0.2016026	Tptf/QT rV2	0.2594322	Tptf aVL	0.2903374	QTc DI	0.2701272	QTc V4	0.2273155	Tptf/QT aVR	-0.2213992
Tptf/QT aVR	0.1801239	QTc DIII	0.1492379	Tptf/QT V2	0.2297337	Tptf aVF	0.2269219	QTc DII	0.2793716	QTc V10	0.2563784	Tptf/QT aVL	-0.2204931
Tptf/QT aVL	0.3129369	QTc aVR	0.2068225	Tptf/QT V4	0.1493334	Tptf/QT DI	0.2336859	QTc DIII	0.2645929			Tptf/QT aVF	-0.2129487
Tptf/QT aVF	0.1770889	QTc aVL	0.1922186	QTc DI	0.2686769	Tptf/QT DII	0.1953217	QTc aVR	0.2768702			Tptf/QT rV2	-0.2649628
Tptf/QT rV2	0.2340904	QTc aVF	0.2345995	QTc DII	0.2957561	Tptf/QT DIII	0.2426064	QTc aVL	0.3474598			Tptf/QT V4	-0.1647258
Tptf/QT V2	0.2492685	QTc rV2	0.222763	QTc DIII	0.2413673	Tptf/QT aVR	0.2751072	QTc aVF	0.3217578			Tptf/QT V10	-0.3250254
Tptf/QT V4	0.1917148	QTc V2	0.1885648	QTc aVR	0.2735967	Tptf/QT aVL	0.3598323	QTc rV2	0.3243743			QTc DI	-0.4146449
QTc DI	0.3336868	QTcd	0.2925233	QTc aVL	0.2654189	Tptf/QT aVF	0.2782485	QTc V2	0.3264841			QTc DII	-0.3924399
QTc DII	0.3075394			QTc aVF	0.2847328	Tptf/QT rV2	0.1616702	QTc V4	0.2826976			QTc DIII	-0.371495
QTc DIII	0.2859374			QTc rV2	0.2524878	Tptf/QT V4	0.1991089	QTc V10	0.2546416			QTc aVR	-0.3897842
QTc aVR	0.3287487			QTc V2	0.2660844							QTc aVL	-0.3871469
QTc aVL	0.3531702			QTc V4	0.2554545							QTc aVF	-0.3505387
QTc aVF	0.3844781			QTc V10	0.2361285							QTc rV2	-0.4256618
QTc rV2	0.3355224											QTc V2	-0.3963404
QTc V2	0.3090439											QTc V4	-0.3562254
QTc V4	0.2968051											QTc V10	-0.3587338
QTc V10	0.2645166											QTcd	-0.2692877
QTcd	0.2740975												

Results obtained on Spearman's test. QTc: QT interval corrected by heart rate; QTcd: QTc dispersion; QTd: QT dispersion; Tpte: T wave peak-end interval; Tpte/QT: Ratio of Tpte and QT intervals