

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

ANÁLISE LINEAR E NÃO-LINEAR DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA EM CÃES COM DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E IMPORTÂNCIA NA
CARACTERIZAÇÃO DE SAÚDE, DOENÇA E RISCO MORTE

LUCIENE MARIA MARTINELLO ROMÃO

Orientadora: Professora Doutora Maria Lucia Gomes Lourenço

BOTUCATU – SP
2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

ANÁLISE LINEAR E NÃO-LINEAR DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA EM CÃES COM DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E IMPORTÂNCIA NA
CARACTERIZAÇÃO DE SAÚDE, DOENÇA E RISCO MORTE

LUCIENE MARIA MARTINELLO ROMÃO

Tese apresentada junto ao programa de
Pós-graduação em Medicina Veterinária
e Zootecnia para obtenção do título de
Doutora.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Lucia
Gomes Lourenço

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Romão, Luciene Maria Martinello.

Análise linear e não-linear da variabilidade da frequência cardíaca em cães com diferentes faixas etárias e importância na caracterização de saúde, doença e risco morte / Luciene Maria Martinello Romão. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Maria Lucia Gomes Lourenço

Capes: 50501062

1. Cães. 2. Batimento cardíaco. 3. Sistema nervoso autônomo. 4. Comportamento caótico nos sistemas. 5. Variabilidade do batimento cardíaco.

Palavras-chave: Espécie canina; Frequência cardíaca; Sistema nervoso autônomo; Teoria do caos; Variabilidade da frequência cardíaca.

Nome do Autor: Luciene Maria Martinello Romão

Título: ANÁLISE LINEAR E NÃO-LINEAR DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM CÃES COM DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E IMPORTÂNCIA NA CARACTERIZAÇÃO DE SAÚDE, DOENÇA E RISCO MORTE

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Lucia Gomes Lourenço

Presidente e Orientadora

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu/SP

Prof. Dr. Luiz Henrique de Araújo Machado

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP- Botucatu/SP

Prof^a. Dr^a. Bertha Furlan Polegato

Departamento de Clínica Médica

Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp

Prof. Dr. Moacir Fernandes de Godoy

Departamento de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP- São José do Rio Preto/SP

Prof^a. Dr^a. Lilian Caram Petrus

PetCor – Cardiologia e nutrição veterinária

Data da defesa: 23 de novembro de 2022.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a toda minha família, que não mediram esforços para me ajudar em tudo que foi preciso, amo muito vocês e obrigada por existirem na minha vida, sem vocês nada disso teria acontecido.

Meu marido, Felipe, que me ajudou em todos os processos desse doutorado, e sempre esteve me apoiando em tudo.

Aos meus pais, Adolfo e Rosária, por todo amor e força que sempre me prestaram durante toda minha vida, incluindo a acadêmica.

Ao meu filho de quatro patas, Godines, que esteve ao meu lado durante toda a preparação dessa tese.

A minha irmã Aliene, por todas as conversas e discussões sobre a teoria do Caos e minha sobrinha Izabela por todo amor e amizade comigo.

À minha orientadora, professora Maria Lúcia, por todo carinho, parceria e paciência de sempre. Em todos momentos da nossa trajetória, sempre esteve disposta a ouvir minhas ideias e a me apoiar em cada uma delas. Muito obrigada por tudo.

Gostaria de fazer um agradecimento especial ao professor Moacir Godoy, pelo seu incentivo, disponibilidade e apoio que demonstrou durante meu mestrado e agora doutorado, sem seus ensinamentos nada disso teria acontecido, obrigada por colocar a teoria do caos em minha vida.

Obrigada a todos os membros da banca pelo aceite e disponibilidade, com certeza vocês vão agregar muito em nosso trabalho. Sou uma admiradora da trajetória de cada um de vocês e fico extremamente honrada e feliz com a presença de todos.

Aos meus amigos que nunca deixaram de me ajudar e me incentivaram nessa etapa da minha vida.

A todos os animais e tutores que participaram desse estudo, obrigada por tudo.

Finalmente, quero demonstrar o meu agradecimento, a todos aqueles que, de um modo ou de outro, tornaram possível a realização dessa tese.

A minha eterna gratidão a todos

LISTA DE TABELAS

Seção 1

Tabela 1. Valores de média $\pm$ desvio-padrão e [mediana] das variáveis dos gráficos de recorrência e índices lineares analisados10

Tabela 2. Comparação entre os grupos com os valores de P para cada variável dos gráficos de recorrência e índices lineares analisados.....14

Tabela 3. Acurácia diagnóstica e valores de corte dos índices estudados para cães com risco de morte.....16

Seção 2

Tabela 1. Doenças manifestadas nos cães dos grupos 4 e 5.....19

Tabela 2. Valores de média $\pm$ desvio-padrão e [mediana] das variáveis simbólicas analisadas19

Tabela 3. Comparação entre os grupos com os valores de P para cada variável simbólica analisada.....20

Tabela 4. Acurácia diagnóstica e valores de corte dos índices estudados para cães com risco de morte.....20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Meteorologista Edward N. Lorenz.....	08
Figura 2. Transiente Caótico no Sistema de Lorenz	09
Figura 3. Jules Henri Poincaré.....	10
Figura 4. Fractal.....	11
Figura 5. Benoit Mandelbrot	12
Figura 6. Diagrama demonstrativo das divisões do sistema nervoso autônomo em um cão.....	14
Figura 7. Intervalos de tempo entre os batimentos.....	16

Figura 8. Modelo de construção do Gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1	19
Figura 9. Representação das linhas diagonais no gráfico de recorrência em um modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1.....	20
Figura 10. Linhas verticais no gráfico de recorrência no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1.....	21
Figura 11. Cálculo da Entropia de Shannon no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1.....	22
Figura 12. Cálculo TT no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1 e extensão mínima de linhas verticais = 2	24
Figura 13. Cálculo da % DET no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1.....	25
Figura 14. Método de análise simbólica.....	27
Figura 15. Classificação de padrões das análises simbólicas.....	28

Seção 1

Figura 1. Cães utilizando o monitor de frequência cardíaca para realização da gravação dos intervalos RR.....	10
Figura 2. <i>Receiver operating curves</i> dos índices de maior acurácia diagnóstica para risco de morte em cães.....	14
Figura 3. Gráficos de Recorrência de cães escolhidos para representar cada um dos grupos estudados.....	16

Seção 2

Figura 1. Representação gráfica do valor posicional da análise simbólica de cada variável 0V% e 2V% respectivamente.....	21
Figura 2. <i>Receiver operating curves</i> dos índices de maior acurácia diagnóstica para risco de morte em cães.....	21
Figura 3. Análise simbólica dos cães escolhidos para representar cada um dos grupos.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AS- Análise simbólica

ASR- arritmia sinusal respiratória

DET%- Determinismo

FC- frequência cardíaca

GR - Gráficos de Recorrência

ICC- Insuficiência cardíaca congestiva

LAM%- Laminaridade

Ms- Milissegundos

PNN50- porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms

RMSSD- Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes

RR%- Taxa de recorrência

SDNN- Desvio padrão de todos os intervalos RR

ShanEntr- entropia de Shannon

SNA- sistema nervoso autônomo

SNC- sistema nervoso central

SNP- sistema nervoso parassimpático

SNS- sistema nervoso simpático

TT- Tempo de aprisionamento

VFC- variabilidade de frequência cardíaca

0V- sem variações entre três símbolos

1V- uma variação entre três símbolos

2V- duas variações entre três símbolos

SUMÁRIO

RESUMO.....	01
ABSTRACT	02
CAPÍTULO I	03
INTRODUÇÃO	04
REVISÃO DE LITERATURA	07
HIPÓTESES	31
OBJETIVOS	31
CAPÍTULO II	33
Seção 1	01
Seção2	01
CAPÍTULO III	34
Discussão Geral	35
CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	39

ROMÃO, L.M.M. Análise Linear e Não-Linear da Variabilidade da Frequência Cardíaca em Cães com Diferentes Faixas Etárias e Importância na Caracterização de Saúde, Doença e Risco Morte. Botucatu, 2022, 108. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Os sistemas vivos saudáveis e estáveis são geralmente considerados caóticos e fractais por natureza. A complexidade do organismo em situações normais é tipicamente não-linear em curto prazo, sendo que este organismo é um exemplo claro de um “sistema complexo”, caracterizado pela interação contínua de vários órgãos, objetivando a manutenção da vida. A teoria do Caos é um princípio científico que estuda o comportamento de sistemas complexos não-lineares, descritos como propriedades coletivas, que aparecem como resultantes da interação entre componentes associados ao sistema como um todo. A variabilidade dos intervalos de tempo entre os batimentos cardíacos é designada pela variabilidade de frequência cardíaca, sendo caracterizado como um sistema caótico determinístico. A avaliação do domínio do caos pode ser feita através de alguns índices, como a análise simbólica e os Gráficos de Recorrência, e sua mensuração realizada pelo monitor de frequência cardíaca. O objetivo deste estudo foi descrever as análises lineares e não-lineares da variabilidade da frequência cardíaca em cães em diferentes faixas etárias e sua acurácia diagnóstica na caracterização de estados de saúde, doença e risco morte.

Palavras-chave: frequência cardíaca; sistema nervoso autônomo; Teoria do Caos; espécie canina; variabilidade da frequência cardíaca.

ROMÃO, L.M.M. Linear and Nonlinear Analysis of Heart Rate Variability in Dogs with Different Age Groups and Importance in the Characterization of Health, Disease and Death Risk. Botucatu, 2022, 108p. Thesis (Doctorate) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Healthy and stable living systems are generally considered to be chaotic and fractal in nature. The complexity of the organism in normal situations is typically non-linear in the short term, and this organism is a clear example of a “complex system”, characterized by the continuous interaction of several organs, aiming at the maintenance of life. Chaos theory is a scientific principle that studies the behavior of complex non-linear systems, described as collective properties, which appear as a result of the interaction between components associated with the system as a whole. The variability of time intervals between heartbeats is called heart rate variability, being characterized as a deterministic chaotic system. The evaluation of the chaos domain can be done through some indices, such as the symbolic analysis and the Recurrence Graphs, and its measurement performed by the heart rate monitor. The aim of this study was to describe the linear and non-linear analyzes of heart rate variability in dogs in different age groups and its diagnostic accuracy in characterizing health states, disease and risk of death.

Keywords: heart rate; autonomic nervous system; Chaos theory; canine species; heart rate variability.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO

A teoria do caos é um termo coletivo que se refere a fenômenos que descrevem modificações em sistemas ao longo do tempo, como por exemplo, atratores, fractais e catástrofes. A dinâmica não linear de eventos aparentemente aleatórios pode ser prevista por equações determinísticas simples. Dada essa mentalidade, sistemas imprevisíveis podem parecer estáveis em uma escala maior e, conter características como limites claros e dependência sensível das condições iniciais. Pequenas mudanças nas condições iniciais levam a uma diferença significativa a longo prazo (OREL et al., 2019).

Sistemas vivos saudáveis e estáveis são geralmente considerados caóticos e fractais por natureza. Alguns dos exemplos mais acessíveis incluem frequência cardíaca, neurônios, redes neurais e vasculatura ramificada sendo que nos três últimos exemplos, suas partes separadas repetem os traços. A variabilidade foi analisada com o caos e com a teoria fractal em muitos sistemas fisiológicos diferentes, e demonstraram estar associadas ao estado de saúde do sistema (KOROLJ, WU E RADISIC, 2019).

A complexidade do organismo em situações normais é tipicamente não-linear em curto prazo, o qual é um exemplo claro de “sistema complexo”, caracterizado pela interação contínua de vários órgãos, visando a manutenção da vida. Como qualquer sistema físico natural, o organismo realiza ou está sujeito a processos que envolvem mistura, trocas e difusão, entre outros. Portanto, tende a se mover em direção a estados de equilíbrio na ausência de ações contrárias (GODOY e GREGÓRIO, 2019).

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é um marcador já validado para analisar o equilíbrio entre o sistema nervoso parassimpático e simpático, que são

considerados os componentes principais da regulação cardiovascular, permitindo investigar a sua influência em diversas patologias. Essas mudanças nos intervalos RR podem ser analisadas por diferentes métodos lineares e não-lineares, sendo os métodos não-lineares uma melhor opção para a compreensão desse sistema complexo (VANDERLEI et al., 2009; VALENCIA et al., 2015; TAKAKURA et al., 2017; MOISE, FLANDERS E PARIAUT., 2020).

A frequência cardíaca e VFC designam dois parâmetros separados, mas relacionados. Alterações na frequência cardíaca são normais, aumentado nos exercícios e diminuindo em repouso, bem como sob outras influências autônomas. A variabilidade dos intervalos de tempo entre os batimentos é designada pela VFC, e foi demonstrado que a VFC normalmente é um sistema caótico determinístico (KOROLJ, WU E RADISIC, 2019).

Há interesse crescente em avaliar a complexidade do controle cardiovascular pela análise da variabilidade de frequência cardíaca em curto prazo, pois trata-se de análise da atividade dos centros vasomotores e respiratórios, regulação barorreflexa e quimiorreflexa, mediada por interferências vagais e simpáticas. Todos esses mecanismos atuam sobre frequências semelhantes, mas não coincidentes. O aumento da força das junções entre esses mecanismos ou a ação dominante de um desses mecanismos tendo prioridade sobre os outros, determina a redução da complexidade, ou seja, o aumento da regularidade e previsibilidade, sendo considerado um marcador de doença (PORTA et al, 2001).

A avaliação do domínio do caos pode ser feita por alguns índices como a análise simbólica e os Gráficos de Recorrência. A análise simbólica é uma abordagem não-linear baseada nas transformações de uma série em sequências simbólicas (com símbolos de um determinado alfabeto), para investigar os aspectos dinâmicos de uma

série temporal. Este tipo de análise é capaz de fornecer informações simplificadas de sistemas complexos por meio de um número limitado de símbolos (VALENCIA et al, 2015).

Porta et al. (2001) sugeriu a análise da VFC através de análise simbólica que apresenta potencial para detectar modificações não-recíprocas nas modulações simpática e parassimpática, ou mudanças recíprocas com diferentes magnitudes, visto que a soma de todos os parâmetros simbólicos é igual a 100% ($0V\% + 1V\% + 2V\% = 100\%$); já a análise espectral é baseada na definição de bandas de frequência, cujos limites inferiores e superiores são padronizados. Além do mais, os índices espectrais são pertinentes apenas em condições caracterizadas por mudanças recíprocas nas modulações simpática e parassimpática. As séries temporais simbólicas podem ser exploradas de maneira útil para lidar com essa desvantagem de outros métodos de análise (PERSEGUINI, 2010; CYSARZ et al., 2018).

Os Gráficos de Recorrência (GR), analisam o comportamento de sistemas, representados por séries temporais, em um espaço abstrato denominado espaço de fase. Sua construção é bastante simples, baseada em um quadrado no qual tanto o eixo x quanto o eixo y contêm os elementos da série temporal, dispostos sequencialmente do primeiro ao último, fazendo correlações dois a dois. A partir de então, de acordo com parâmetros pré-estabelecidos (dimensão, atraso e raio), a recorrência de valores pode ser verificada (GODOY e GREGÓRIO, 2019).

A VFC pode ser analisada por curto período ou mais prolongado utilizando o método Holter, que registra a atividade elétrica por 24 horas (WARE, 2006). A avaliação da VFC em 24 horas é bastante trabalhosa, mais lenta, sendo um método mais oneroso, menos acessível e sujeito à artefatos; dessa forma, a análise a curto prazo foi criada. Sua mensuração em curto prazo pode ser realizada pelo

eletrocardiograma e/ou monitores de frequência cardíaca (frequencímetros). Estudos avaliando a VFC no domínio do tempo e frequência por 24 horas em 153 homens, comparando-os com os resultados obtidos em cinco minutos, observaram haver forte correlação entre as metodologias (BERNTSON et al., 1997; MIN et al., 2008; BOGUICKI; NOWAK, 2015).

A captação dos pulsos elétricos cardíacos pode ser realizada por monitores de frequência cardíaca, a qual é feita por meio de uma cinta adequada ao corpo do paciente conectada a um receptor calibrado capaz de detectar pulsos de radiofrequência na faixa de 5 KHz (+/-100 Hz). Os monitores possuem um cabo USB para transmissão dos dados de cada pulso cardíaco detectado para um computador (BUCK, 2016). Em seres humanos e em cães o monitor de frequência cardíaca apresenta um êxito maior quando comparado ao eletrocardiograma convencional (BARBOSA et al., 2016; MARTINELLO et al., 2022).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi descrever as análises lineares e não-lineares da variabilidade da frequência cardíaca obtida com monitor de frequência cardíaca em curto prazo, em cães com diferentes faixas etárias e sua importância na avaliação diagnóstica na caracterização de saúde, doença e risco morte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TEORIA DO CAOS

Caos é um sistema dinâmico que parece aleatório, embora tenha ordem subjacente. Quando grandes interações de cálculos complexos foram habilitados pela primeira vez por computadores, fenômenos estranhos foram revelados, como resultados contraditórios de modelos meteorológicos (KOROLJ; WU; RADISIC, 2019).

O meteorologista Edward N. Lorenz (figura 1) em 1961, trabalhando em um computador de simulação da evolução do clima, digitou os dados para uma nova simulação, observando diferença significativa entre a antiga com tempo estável e previsões de sol, e a nova, caracterizada por tempestade. Verificando os dados inseridos na nova simulação, notou que esquecera de inserir as três últimas casas decimais (precisamente 0,506 ao invés de 0,506127). O meteorologista não pensou na época, que a omissão de uma parte em mil faria alguma diferença. Na realidade, o equívoco cometido por Lorenz em sua simulação, equivaleria apenas a uma pequena brisa, mas contrariamente a ausência de três casas decimais, fora capaz de instituir importantes mudanças em grandes escalas. Se Lorenz estivesse certo, a previsão do tempo em longo prazo estaria condenada. Lorenz distraidamente confirmou a intuição anterior de Poincaré em 1963 que estudava orbitas planetárias, esbarrando no "efeito borboleta". A descoberta fenomenal de Lorenz anunciou o início da ciência do caos (LUCAS, 1990).



Figura 1: Meteorologista Edward N. Lorenz (DOMÍNIO PÚBLICO).

Quando Edward Lorenz criou equações para descrever esses fenômenos atmosféricos para previsão do tempo, percebeu que os números gerados pareciam caóticos, mas ao visualizar o gráfico, apareceu uma imagem similar a uma borboleta. A equação, conhecida como Atrator de Lorenz (figura 2), é um “*mapa caótico que mostra como o estado de um sistema dinâmico que evolui no tempo num padrão complexo*”. O meteorologista introduziu duas inovações ao provar que a sensibilidade às condições iniciais (depois chamado de efeito borboleta) e exibir a surpreendente imagem do “atrator”, sugerida por uma descrição verbal, mas um tanto confusa, por Poincaré. Suas observações estavam bem próximas da caracterização do comportamento caótico. Algumas ferramentas hoje utilizadas no estudo dos sistemas dinâmicos, em particular no comportamento caótico, foram criadas ou tiveram seu embrião nos trabalhos de Poincaré (AUBIN; DALMENICO, 2002; OESTREICHER, 2007).

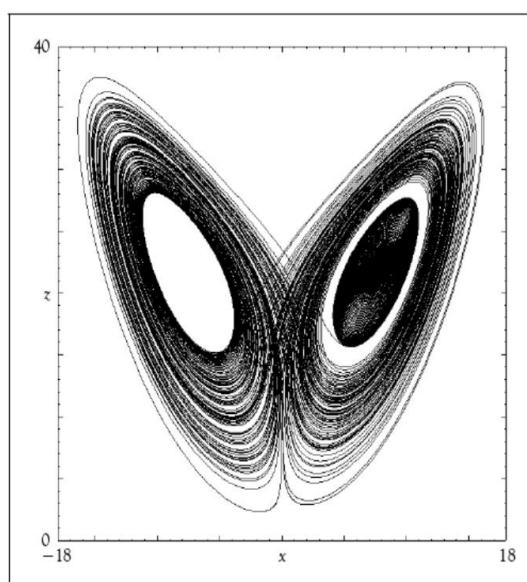


Figura 2: Transiente Caótico no Sistema de Lorenz (DOMÍNIO PÚBLICO).

A teoria dos sistemas dinâmicos corresponde à um ramo da física que tenta modelar matematicamente a evolução comportamental de diferentes sistemas físicos. A teoria foi desenvolvida pelo físico, matemático e filósofo Henri Poincaré (figura 3) este, primeiro cientista a considerar a possibilidade de caos em seu trabalho sobre órbitas planetárias. Ao invés de existirem órbitas ordenadas, regulares um sistema equilibrado e harmônico, o que ocorria eram órbitas que tendiam a não ser constante, tornavam-se complexas e irregulares, onde o que prevaleceria não era a ordem natural, e sim o caos, pois os movimentos se tornavam aparentemente aleatórios (WADT, 2009).



Figura 3: Jules Henri Poincaré (DOMÍNIO PÚBLICO).

Os sistemas caóticos são bem aproximados por geometrias fractais. A geometria fractal surgiu da necessidade de se calcular e descrever certos fenômenos da natureza ou objetos que não possuem forma definida. Frequentemente, fractais podem ser descritos como estruturas que têm padrões auto-semelhantes infinitamente

repetidos (figura 4). Em contraste, para estruturas não fractais, como um círculo perfeito, essa relação de lei de potência está ausente. Ao representar graficamente o comprimento medido versus a precisão da medição de diferentes estruturas, o expoente da lei de potência da relação ajustada pode produzir uma definição para a dimensão fractal e, assim, reflete o valor característico para cada estrutura, que descreve o nível de complexidade de escalonamento dessa estrutura. Quanto maior for o valor, maior será a complexidade da estrutura (KOROLJ, WU E RADISIC ., 2019).

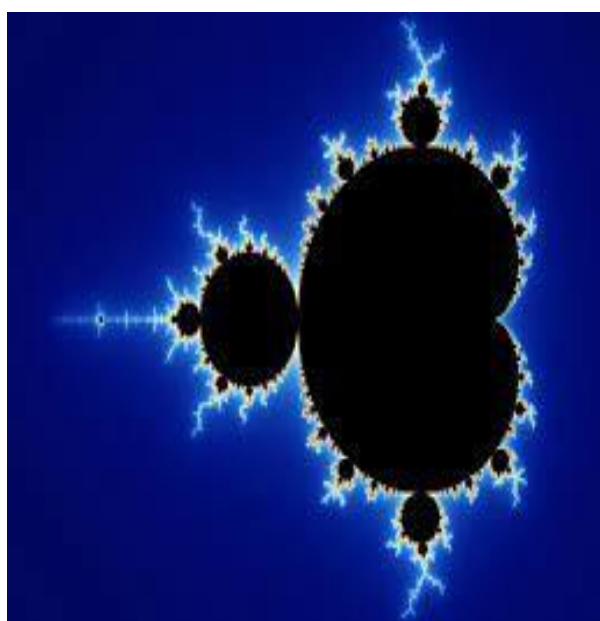


Figura 4: Fractal (DOMÍNIO PÚBLICO).

Benoit Mandelbrot em 1979 (figura 5) foi o matemático que propôs "*As nuvens não são esferas, as montanhas não são cones, os litorais não são círculos e as cascas das árvores não são lisas, tampouco os raios se deslocam em linha reta*".

Mandelbrot não considerava as medidas euclidianas básicas tais como profundidade, espessura e extensão para suas teorias, pois dizia que essas não compreendiam o sentido das formas irregulares. Seus trabalhos foram focados na ideia de dimensão. A dimensão fracionada possibilita medir o grau de fragmentação

ou de irregularidade de um objeto. Os vasos sanguíneos formam autossimilaridade, pois se ramificam, se dividem e voltam a ramificar-se até se tornarem muito estreitos, o que torna a natureza dessa ramificação fractal. O termo fractal provém da palavra *fractus*, que significa descontínuo, irregular ou quebrado. Os termos fractais não foram descobertos nem criados por Mandelbrot apenas os nomeou (RICIERI, 1990).



Figura 5: Benoit Mandelbrot (DOMÍNIO PÚBLICO).

2.2 TEORIA DO CAOS APLICADA À MEDICINA

Algum grau de caos está universalmente presente nos sistemas vivos. Já foram detectados vários componentes com padrão caótico, tais como a atividade elétrica do coração, pois o padrão do eletrocardiograma revela uma infinidade de picos e inclinações que variam no tempo, com variabilidade de batimento a batimento. A distribuição anatômica das árvores arterial, venosa e brônquica também, já que os vasos sanguíneos não formam uma cadeia perfeita, mas sim uma ramificação de rede (KOROLJ; WU; RADISIC, 2019).

A maioria dos sistemas existentes na natureza deve se comportar como um sistema complexo dinâmico não-linear determinístico, ou seja, um sistema que muda ao longo do tempo de forma causal. O futuro do sistema depende apenas de fenômenos de seu passado e presente, onde todo evento é determinado fisicamente por uma cadeia contínua de ocorrências anteriores, e sendo assim esses sistemas devem obedecer à Teoria do Caos (OESTREICHER, 2007).

Os seres vivos certamente são sistemas com todas as características já citadas, no qual o Caos teria um conceito positivo refletindo a situação de saúde, ou seja, o organismo está preparado para responder favoravelmente às agressões do meio, disponibilizando toda a sua capacidade. Quando não houver o Caos, as alterações contínuas da vida levariam aos estados de doença, até a ocorrência do equilíbrio e como resultado a morte (GODOY, 2003).

Nas situações clínicas, encontramos grande variabilidade nas condições finais com sensível dependência da condição inicial. Assim, pequenas disfunções em órgãos isolados levam gradativamente a certos graus de disfunção à distância que gradualmente vão se associando e, de acordo com variáveis dependentes ou não de cada indivíduo, acabam às vezes em situações catastróficas como a morte (GODOY, 2003).

2.3- SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E VARIABILIDADE DE FREQUÊNCIA CARDÍACA

O coração é ricamente innervado pelos nervos autônomos. O sistema nervoso autônomo (SNA) do coração consiste em gânglios intrínsecos e extrínsecos. Os componentes parassimpáticos do sistema nervoso cardíaco extrínseco se originam no nervo vago, enquanto a inervação do sistema simpático extrínseco é mediada

pelos gânglios cervicais, cérvico-torácicos e torácicos. Barorreceptores, quimiorreceptores e receptores mecânicos de estresse localizados no coração e grandes vasos regulam o tônus autonômico (KHAN; LIP; SHANTSILA, 2019).

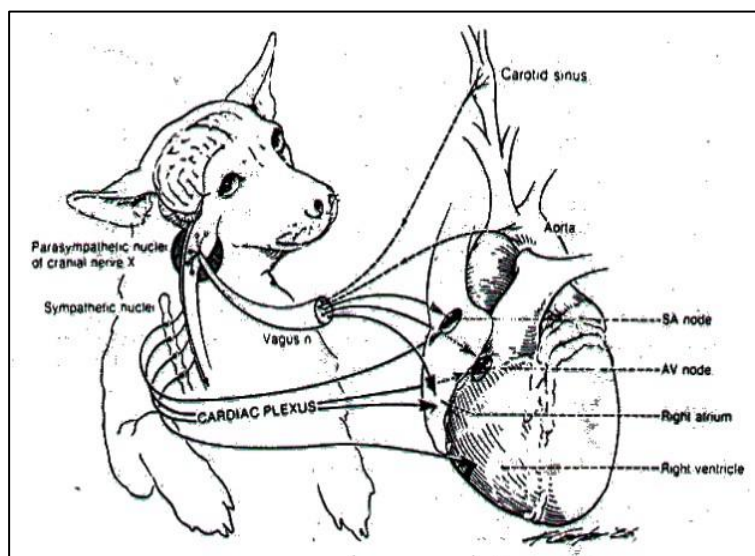


Figura 6: Diagrama demonstrativo das divisões do sistema nervoso autônomo em um cão. Tilley (1992)

Tanto o sistema nervoso simpático (SNS) como o parassimpático (SNP) fornecem algum grau de estímulo nervoso para um determinado tecido em todos os momentos. Portanto, a frequência de disparos dos neurônios em ambos os sistemas pode aumentar ou diminuir, com isso aumentando ou inibindo a atividade tecidual. Muitos tecidos são inervados por ambos os sistemas; como estes normalmente têm efeitos opostos em um determinado tecido, aumentar a atividade de um sistema é ao mesmo tempo diminuir a atividade do outro, e isso resulta em um controle muito rápido e preciso da função de um tecido (MCCORRY, 2007).

A ativação dos receptores β_1 adrenérgicos pelo neurotransmissor noradrenalina, que são encontrados em todas as células musculares cardíaca, fazem

o controle simpático. A ativação destes receptores acelera as mudanças nos canais iônicos, responsáveis pela despolarização espontânea das células-marcapasso, que atingem o limiar mais rapidamente, aumentando a velocidade de condução de célula a célula e diminuindo o período refratário, o que leva ao aumento da frequência cardíaca, contratilidade e consequentemente do volume de ejeção (STEPHENSON, 2014).

No SNP, os axônios dos neurônios pré-ganglionares são mais longos que os pós-ganglionares e fazem sinapse com os neurônios pós-ganglionares dentro dos gânglios terminais que estão próximos ou embutidos nos tecidos efetores, os axônios dos neurônios pós-ganglionares, que são muito curtos, fornecem entrada para as células desse tecido efector. O nervo vago inerva as vísceras do tórax e do abdome, e o significado fisiológico desse nervo em termos de influência do SNP é claramente ilustrado por sua ampla distribuição e pelo fato de que 75% de todas as fibras parassimpáticas estão no nervo vago. Como os gânglios terminais estão localizados dentro do tecido innervado, há uma proporção de 1:1 de fibras pré-ganglionares para fibras pós-ganglionares. Portanto, os efeitos do SNP tendem a ser mais discretos e localizados, estimulando apenas tecidos específicos em um determinado momento, em comparação ao sistema simpático onde é possível uma descarga mais difusa (MCCORRY, 2007).

O SNA está intimamente ligado à frequência cardíaca (FC), a qual sofre variações fisiológicas a cada batimento. Esse mecanismo de controle ocorre por vias aferentes vagais e medulares, onde a informação que atinge o sistema nervoso central (SNC) é modulada e retorna ao coração por fibras eferentes simpáticas lentas e vagais rápidas. Como a captação de noradrenalina liberada nas terminações simpáticas é mais lenta que a da acetilcolina nas terminações vagais, essa diferença na velocidade

de transmissão nas vias colinérgicas e adrenérgicas resultará em desigualdades na frequência de modulação desses dois sistemas no nodo sinusal (SÁ et al., 2013).

Alterações na frequência cardíaca podem ser normais, por exemplo, em exercícios versus estados de repouso, e sob outras influências autônomas. A variabilidade dos intervalos de tempo entre os batimentos (figura 7) é chamada de variabilidade da frequência cardíaca (VFC). A VFC normal demonstrou ser um sistema determinístico caótico. Quaisquer alterações na VFC, e suas propriedades fractais, foram reconhecidas distintamente por estarem relacionadas com a fisiopatologia. Isso tem sido especialmente útil por seu valor preditivo e diagnóstico, com a regra geral emergente de que, a variabilidade reduzida é uma característica da doença (KOROLJ; WU; RADISIC, 2019).

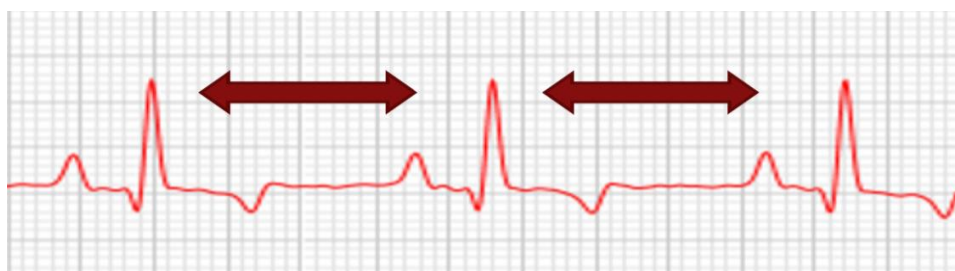


Figura 7: intervalos de tempo entre os batimentos (ARQUIVO PESSOAL).

Esta coordenação neural está ligada à frequência cardíaca (FC) e atividade dos barorreceptores. A partir das informações aferentes, por meio de estímulo e inibição, respostas das vias simpática e parassimpática são criadas e alteram a FC, se adequando às necessidades de cada momento. A diminuição da FC é consequência de um predomínio da atividade vagal, enquanto o aumento da FC é a resposta de maior ação simpática e menor atividade parassimpática (VANDERLEI et al, 2009).

A VFC em curto prazo em indivíduos saudáveis é principalmente atribuível a flutuações do tônus vagal. A manifestação mais reconhecível dessa influência

parassimpática é a oscilação do intervalo RR denominada arritmia sinusal respiratória (ASR), que é resultado do acoplamento entre respiração e FC (COSTA, DAVIS e GOLDBERGER, 2017)

A arritmia sinusal respiratória é um indicador da função de repouso intrínseca que aparece quando o indivíduo está prestes a descansar. É amplamente usada como um indicador de atividade vagal cardíaca. Existem quatro núcleos vagais localizados no bulbo do tronco encefálico, entre eles, o núcleo ambíguo e o núcleo motor dorsal; em tais situações, espera-se que estes núcleos trabalhem cooperativamente para o propósito comum de “economia de energia”, ou seja, ASR aumenta com o decúbito em posição supinada, relaxamento e sono, e diminui com a posição em pé, exercício físico, estresse, alteração cardiovascular, incluindo estimulação dos barorreceptores, idade avançada e função cardíaca comprometida (HAYANO; YUDA, 2019).

A hiperatividade do sistema nervoso simpático é desencadeada por vias centrais e periféricas que estão associadas a reflexos cardiovasculares anormais observados em uma variedade de estados de doenças, como isquemia cardíaca, disfunção ventricular, doença renal entre outras. A simpatoexcitação, pode ser o resultado do aumento nas influências excitatórias ou uma diminuição nas influências inibitórias nos centros cardiovasculares do tronco cerebral (VALENCIA et al., 2015).

2.4– ÍNDICES DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

2.4.1 - Método linear

O método linear mais empregado é o domínio do tempo (expressa os resultados em unidade de tempo - milissegundos), que mede cada intervalo RR normal por um período de tempo, e com base em métodos estatísticos ou geométricos (média, desvio-padrão e índices derivados do histograma ou do mapa de coordenadas

cartesianas dos intervalos RR) são calculados os índices. Os índices mais utilizados no domínio do tempo são: SDNN (desvio-padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo em ms) RMSSD (a raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo ms) e PNN50 (representa a porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 ms) (VANDERLEI et al., 2009).

A estimulação simpática leva alguns segundos para ser evidenciada em comparação à estimulação parassimpática; desta forma, índices baseados na medida dos intervalos RR individualmente, como o SDNN, fornecem análises de variações entre batimentos a longo prazo. São úteis para avaliação tanto do sistema simpático como parassimpático; entretanto, é impossível distinguir a partir deles se a diminuição da VFC é decorrente de aumento do tônus simpático ou diminuição do tônus parassimpático (MARÃES, 2010).

Os índices rMMSD e pNN50% são variáveis que consideram alterações curtas e rápidas entre intervalos RR adjacentes, pois a estimulação parassimpática resulta em uma resposta rápida e de curta duração, já evidenciada no primeiro ou segundo batimento subsequente. Esses índices são baseados na comparação entre a duração de dois ciclos adjacentes, o que possibilita a avaliação do tônus parassimpático (RASSI JR., 2011).

2.4.2- Métodos não lineares

Vários métodos não-lineares da VFC têm sido utilizados, como entropia de Shannon, medidas de quantificação e gráficos de recorrência. Os gráficos de recorrência (GR) criados por Eckmann et al. (1987), investigam o comportamento de sistemas, representados por séries temporais, em um espaço abstrato denominado espaço de fase. Sua fabricação é bastante simples, baseada em um quadrado no qual

tanto o eixo x quanto o eixo y contêm os elementos da série temporal, dispostos sequencialmente do primeiro ao último, fazendo correlações dois a dois. Depois disso conforme os parâmetros pré-estabelecidos (dimensão, atraso e raio), a recorrência de valores pode ser analisada (GODOY; GREGORIO, 2019).

Abaixo seguem algumas figuras ilustrativas exibindo a formação de gráficos de recorrência segundo Gatti (2015) e Souza (2020).

A Figura 8 representa a construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1. Observa-se que os pontos de recorrência foram identificados por uma estrela, o valor da primeira célula no eixo x (570) é recorrente ao primeiro valor do eixo y (570) e assim consecutivamente, (GATTI, 2015; SOUZA, 2020).

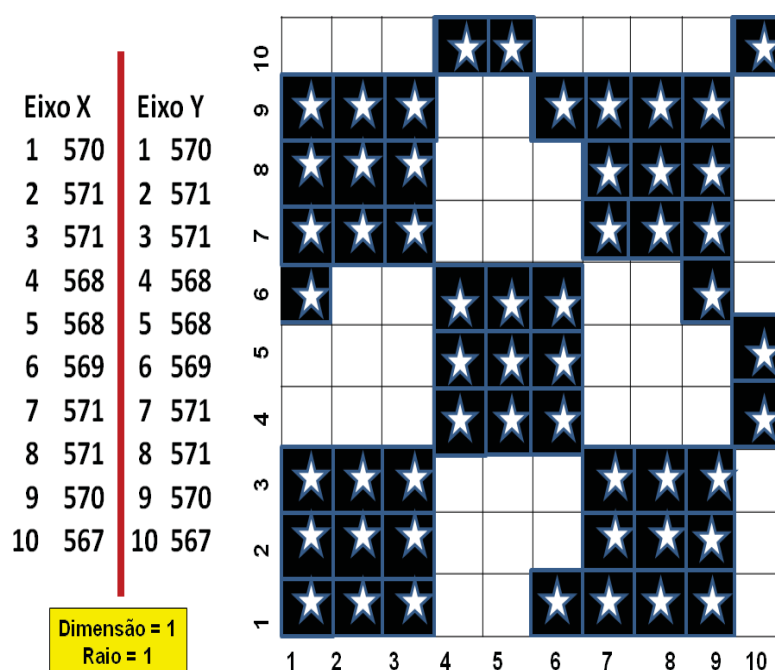


Figura 8: Modelo de construção do gráfico de recorrência no modelo de construção com dimensão 1 e raio 1.

A contemplação da imagem do GR revela sistemas de pequena escala (textura), pontos únicos, linhas diagonais, linhas horizontais e verticais. A Figura 9 ilustra a formação das linhas diagonais no gráfico de recorrência, para a formação de uma linha diagonal, precisa ocorrer pelo menos dois pontos de recorrência (GATTI, 2015; SOUZA, 2020).

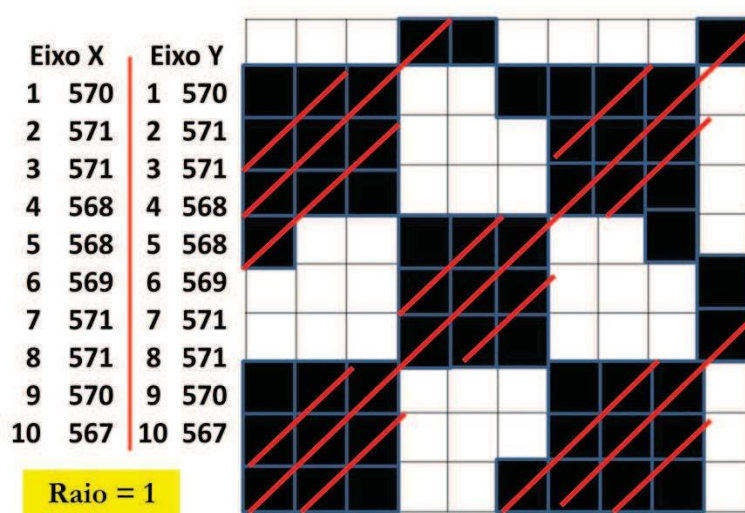


Figura 9: Representam as linhas diagonais no gráfico de recorrência no modelo de construção com dimensão 1 e raio 1. As linhas horizontais e verticais mostram os estados que não são alterados ou alterados lentamente ao longo do tempo.

A Figura 10 ilustra formação das linhas verticais. A Figura 11 revela a ilustração das linhas verticais no gráfico de recorrência com dimensão 1 raio 1. Para uma formação de uma linha vertical precisa ter pelo menos 2 pontos de recorrência (GATTI, 2015 e SOUZA, 2020).

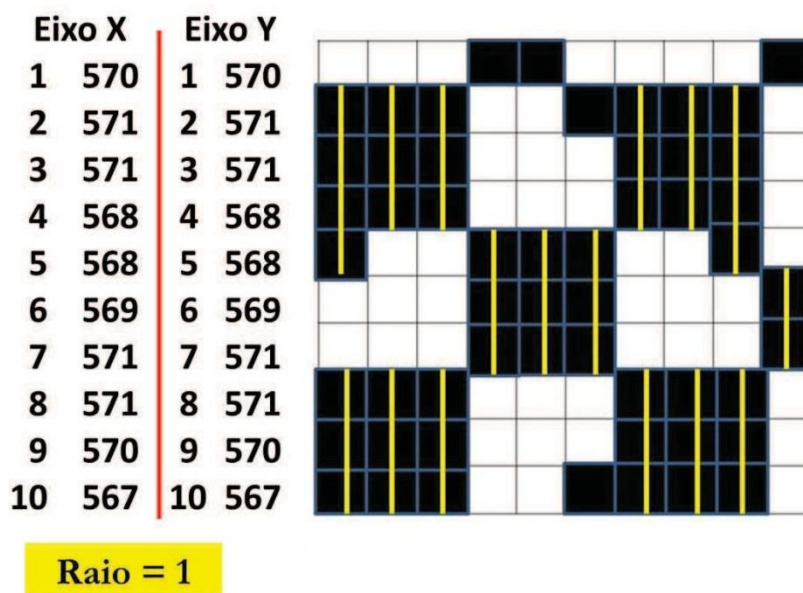


Figura 10: - Ilustração das linhas verticais no gráfico de recorrência no modelo de construção com dimensão 1 e raio 1.

A taxa de Recorrência (Recurrence Rate, RR) representa a probabilidade de uma situação ocorrer em um espaço físico; se os valores da taxa de recorrência forem altos, isso é característico de condições com probabilidade alta de recorrência, enquanto valores baixos indicam menor probabilidade de recorrência. Esse cálculo é representado pela fórmula matemática abaixo (SOUZA, 2020).

$$RR = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{1}{N^2} \sum_{i,j=1}^N \vec{R}_{i,j}^{m,\epsilon}.$$

A entropia de Shannon no GR mostra a complexidade de um sistema. Ela informa a probabilidade de encontrar uma linha diagonal (l) dividida pelo número possível de diagonais do mesmo tamanho no sistema multiplicado pelo $\log p(l)$, sendo assim a soma de todos os comprimentos recorrentes, ou seja, a entropia de Shannon mede a incerteza da diagonal, quanto maior a incerteza do tamanho da diagonal, maior a entropia de informação. Esse cálculo é expresso pela fórmula matemática abaixo e ilustrada pelo modelo do gráfico de recorrência (figura 11) (SOUZA, 2020).

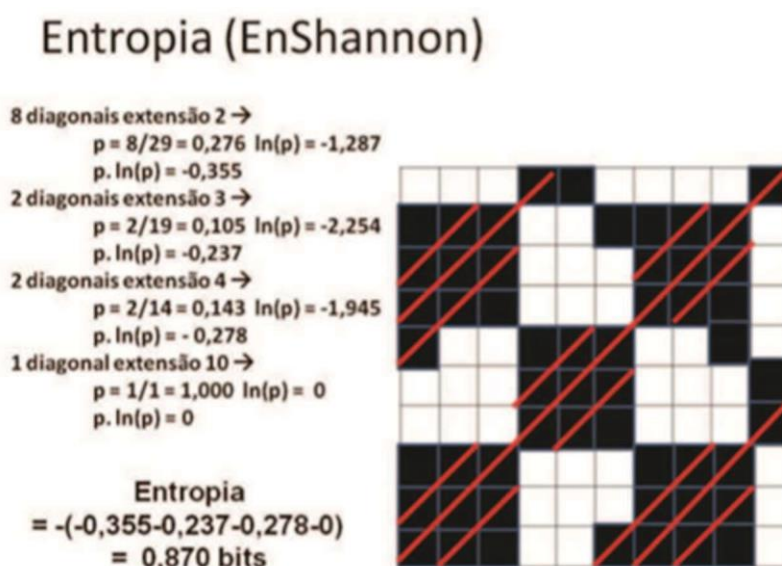


Figura 11: Ilustração do cálculo da Entropia de Shannon no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1.

A Laminaridade (*Laminarity – LAM*) é o percentual de pontos que formam as estruturas verticais e horizontais (SANTANA, 2020), cálculo esse expresso pela fórmula matemática abaixo:

$$LAM = \frac{\sum_{v=v_{min}}^N v P(v)}{\sum_{v=1}^N v P(v)},$$

Onde P , representado pela fórmula $P(v) = \sum_{i,j=1}^N (1 - R_{i,j})(1 - R_{i,j+v}) \prod_{k=0}^{v-1} R_{i,j+k}$, é o histograma dos comprimentos v das linhas verticais (e horizontais). O cálculo da LAM é efetuado para o valor de v que ultrapassa um comprimento mínimo v_{min} , com o intuito de diminuir a influência do movimento tangencial. Seu valor diminui se o GR apresentar apenas pontos únicos isolados em vez de linhas verticais e horizontais (SANTANA, 2020).

O comprimento médio das linhas verticais é definido como tempo de aprisionamento ou *trapping time* (TT), que mede o tempo médio que um estado permanece em um estado laminar, que não muda no tempo (SOUZA, 2020). Esse cálculo é expresso pela fórmula matemática abaixo:

$$TT = \frac{\sum_{v=v_{min}}^N v P^e(v)}{\sum_{v=v_{min}}^N P^e(l)},$$

O numerador representa o número de pontos que formam as linhas verticais do sistema e o denominador a quantidade de linhas verticais. A Figura 12 mostra o cálculo TT no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1 e extensão mínima de linhas verticais igual a 2. Aconteceram neste caso 49 pontos recorrentes (quadrados pretos) formando 16 linhas verticais: $TT = 49/16 = 3,06$ (SOUZA, 2020).

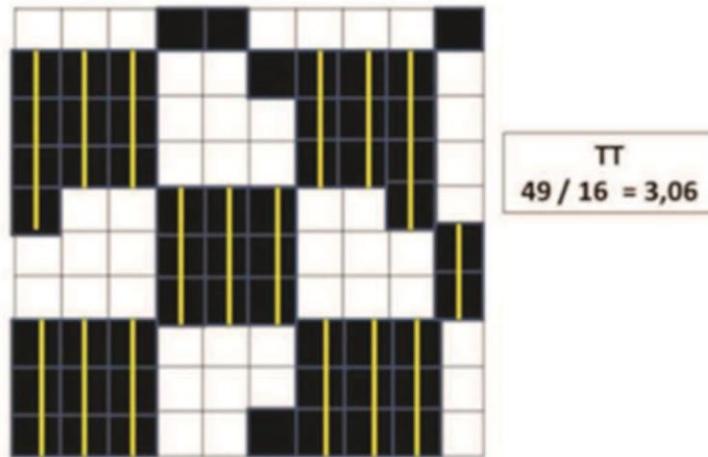


Figura 12: Cálculo TT no modelo de construção de um gráfico de recorrência com dimensão 1 e raio 1 e extensão mínima de linhas verticais igual a 2.

O Determinismo (*Determinism* DET%) é a porcentagem dos pontos de recorrência (figura 13), que medem o número de diagonais criadas e pode ser interpretado como a previsibilidade do sistema. No cálculo, l é o tamanho da estrutura diagonal, $P(l)$ é a probabilidade dessa estrutura diagonal ocorrer dentro do gráfico de recorrência, e l_{min} , é o número mínimo de estruturas diagonais a ser considerada (normalmente é utilizado $l_{min} = 2$) (SOUZA, 2020). Esse cálculo é expresso pela fórmula matemática abaixo:

$$DET = \frac{\sum_{l=l_{min}}^N l P^{\epsilon}(l)}{\sum_{i,j}^N \vec{R}_{i,j}^{m,\epsilon}},$$

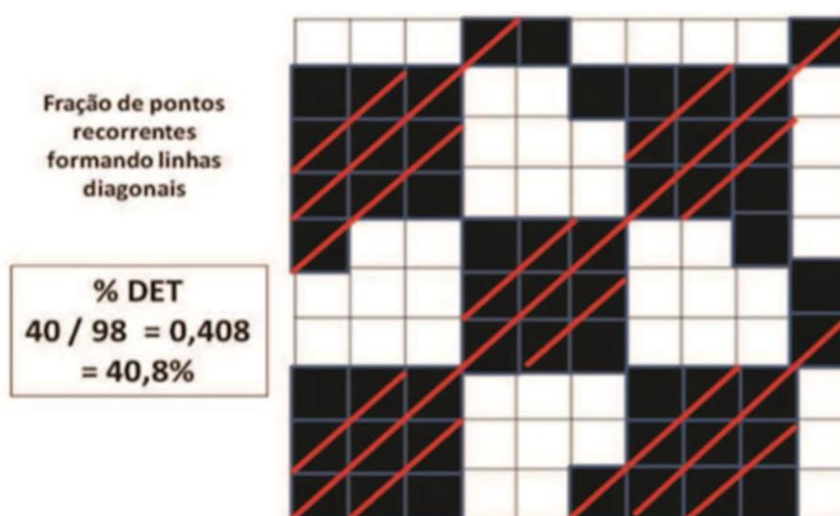


Figura 13. Cálculo da % DET no modelo de construção de um gráfico derecorrência com dimensão 1 e raio 1. Nesta figura pode ocorrer 98 pontos de recorrência possíveis (quadrados que podem formar uma diagonal, ou seja, mínimo 2 quadrados), mas formaram apenas 40 pontos recorrentes (quadrados pretos). Assim % DET = 40/98.

Os GRs permitem quantificar e qualificar a VFC e mostram ser um método interessante para avaliar o sistema nervoso autônomo. É válido verificar se existem padrões bem definidos nos GRs em estados com homeostase adequada e nos diferentes graus de comprometimento, pois a VFC tende a diminuir com o envelhecimento e com o início de doenças (GODOY; GREGORIO, 2019).

A análise simbólica (AS) é uma nova técnica para avaliar a VFC, sendo o cálculo da diferença entre o menor e o maior intervalo R-R de uma série temporal, e dividindo o valor encontrado por seis, o que representa o número de símbolos da AS (zero a cinco). Esses símbolos são agrupados de três em três gerando os padrões simbólicos. Diferentes eventos de variações são criados e cada tríade forma padrões

que são dadas nomeações específicas para estas variações, sendo 0V composto por símbolos que não apresentam variação entre eles, ou seja, todos os símbolos são iguais. As sequências {1,1,1} e {4,4,4} são exemplos de sequências desta classe. O 1V apresenta apenas uma variação de um símbolo para outro, ou seja, sequências com dois símbolos iguais consecutivos e um diferente. Exemplos de sequências são {4,1,1} e {3,3,6}. A família 2LV é composta por três símbolos diferentes, mas com a mesma direção de variações, ou seja, em ordem crescente ou decrescente. Exemplos destas sequências são {2,3,6} e {5,6,3}. O 2UV compreende sequências que formam um pico ou vale, ou seja, com duas variações diferentes, em direções opostas. As sequências {3,5,3} e {3,0,1} são exemplos (SILVA et al., 2017; SILVA, 2018).

A análise simbólica apresenta quatro índices (0V%, 1V%, 2LV% e 2UV%) e a soma desses resultados em 100%. Um estudo usando a série simbólica criada mostrou que padrões sem variações (0V) aparecem com maior frequência durante doses alta de atropina em comparação com o repouso, ou com doses baixa de atropina. Além disso, os padrões com duas variações diferentes (2UV) aparecem mais frequentemente durante a dose baixa de atropina e menos frequentemente durante a dose alta de atropina, ou seja, 0V% reflete exclusivamente modulação simpática; 1V% reflete a modulação de ambas as vias; 2LV% também reflete modulações simpáticas e parassimpáticas, mas esse índice apresenta predomínio vagal; e o índice 2UV% reflete modulação exclusivamente parassimpática. Portanto, a análise simbólica mostra as modulações simpática e parassimpática no coração exclusivamente pelos índices 0V% e 2UV%, respectivamente. As representações podem ser observadas nas figuras 14 e 15 (CYSARZ et al., 2015; MOURA-TONELLO et al., 2019).

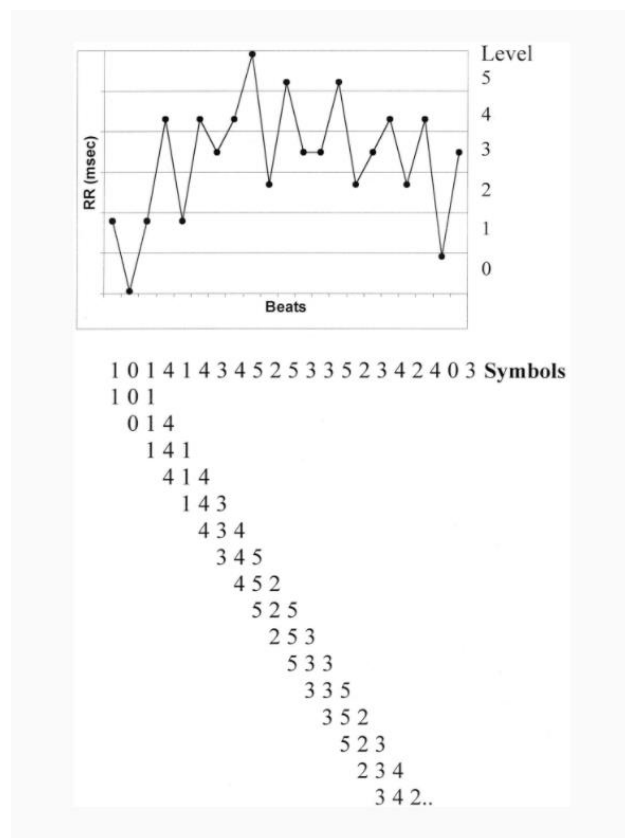


FIGURA 14: Método de análise simbólica. A série RR foi distribuída em seis níveis (de 0 a 5); cada nível foi identificado pelo símbolo (número), e padrões de três símbolos foram criados (GUZZETTI et al., 2005).

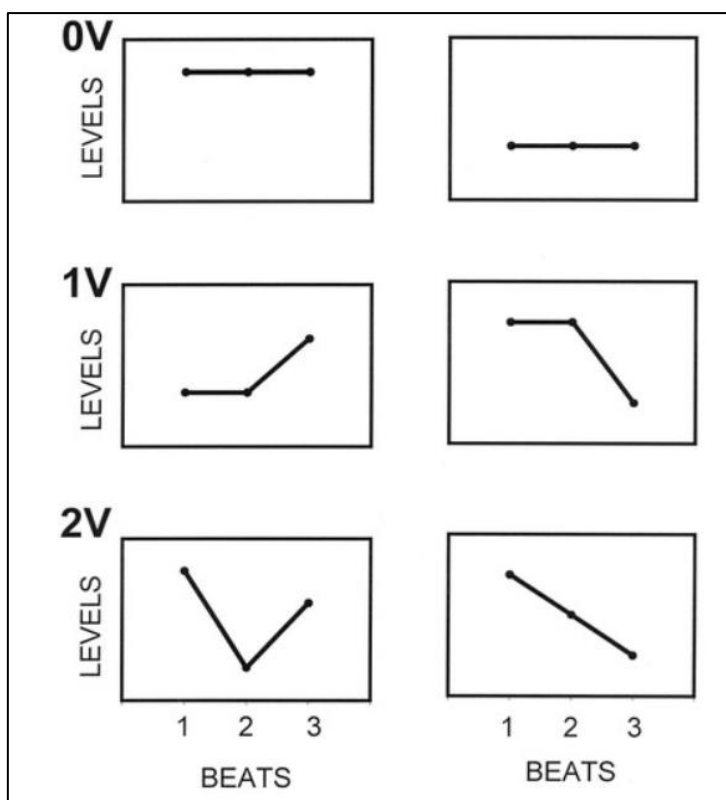


FIGURA 15: Classificação de padrões, onde 0V indica padrões sem variação; 1V, padrões com 1 variação; e 2V, padrões com 2 variações (GUZZETTI et al., 2005).

2.5 IDADE E DOENÇAS QUE INFLUENCIAM NA VARIABILIDADE DE FREQUÊNCIA CARDÍACA

A variabilidade da frequência cardíaca é reconhecida como importante marcador da integridade do sistema nervoso autônomo. O processo de envelhecimento promove uma série de alterações na estrutura e função cardiovascular. Uma possível ligação entre o envelhecimento e uma variedade de processos de doenças cardiovasculares é o papel da inflamação e da fibrose que diminuem a quantidade e/ou eficácia da modulação do tônus vagal fisiológico e promovem a quebra de redes regulatórias, como as que controlam a frequência cardíaca (COSTA, DAVIS; GOLDBERGER, 2017).

A arteriosclerose é provocada por mudanças normais da idade em seres humanos, por influências ambientais e fatores genéticos. Menor resposta cardiovascular aos estímulos simpáticos e parassimpáticos são encontradas como resultado dessas alterações, que aumentam a fase de ejeção, a fase de relaxamento, e reduzem a diástole, com aumento da impedância à ejeção do ventrículo esquerdo e diminuição da complacência (FECHINE; TROMPOERI, 2012). Lesão miocárdica espontânea em cães que consiste em arteriosclerose coronária intramural e fibrose também foi descrita como um achado comum em cães idosos (FALK et al., 2006).

O primeiro estudo que demonstrou o valor preditivo da análise de VFC foi relatado em 1987, com avaliação de 808 pessoas que sobreviveram ao infarto agudo do miocárdio, e realizaram Holter de 24 horas antes da alta. Os pacientes foram acompanhados por 31 meses, quando ocorreram 127 mortes, sendo que 43 óbitos ocorreram no grupo de pacientes com SDNN <50 ms (KLEIGER et al., 2005).

O avanço da doença mixomatosa degenerativa valvar está associado ao desequilíbrio do SNA. Foi realizada a análise de 5 minutos no domínio do tempo e frequência em um estudo retrospectivo com 29 cães saudáveis e 71 cães com doença valvar em diferentes estágios e exibiu que todos os parâmetros de VFC relacionados ao domínio do tempo diminuíram com a gravidade da doença, mas apenas os cães com ICC exibiram valores significativamente mais baixos. Os valores da banda de alta frequência diminuíram mais do que os valores da banda de baixa frequência à medida que a gravidade da doença progredia (BAISAN, VULPE e OHAD., 2021).

Pessoas com ICC apresentam evidências de aumento da ativação do sistema nervoso simpático, refletido pelo aumento dos níveis plasmáticos de noradrenalina. Além disso, a isquemia induz aumento rápido e maciço na concentração de catecolaminas endógenas (adrenalina, noradrenalina, endotelina e

dopamina) no fluido intersticial miocárdico, com efeito deletério nos cardiomiócitos (VALENCIA et al., 2015). Um estudo realizado em cães com insuficiência cardíaca congestiva (ICC), proveniente da doença mixomatosa degenerativa valvar, concluiu também que a atividade parassimpática foi diminuída significativamente em cães com sinais clínicos de ICC sugerindo diminuição da estimulação parassimpática e aumento da atividade simpática (OLIVEIRA et al., 2012).

Um estudo em seres humanos realizado com 30 pacientes com doença renal crônica demonstrou diminuição da VFC, onde 53% apresentavam disfunção autonômica (40% dos pacientes com disfunção do sistema parassimpático e 13% dos pacientes com disfunção de ambos os sistemas). Vários estudos mostram que a queda da VFC pode ser um fator preditivo para a sobrevida da população com doença renal crônica (GATTI, 2015).

Foi realizado também um estudo retrospectivo com 651 pacientes humanos com câncer que se submeteram ao monitoramento com Holter 24 horas. Um dos índices avaliados nesse estudo foi o SDNN, e os autores observaram que a presença de câncer em combinação com a diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (SDNN <70ms) está associada a um menor tempo de sobrevida (GUO et al., 2015).

Uma pesquisa que avaliou os gráficos de Lorenz em 20 cães sem arritmias e 57 cães com arritmias (supraventriculares, ventriculares e bloqueios atrioventriculares) pelo método Holter por uma hora, identificou padrões distintos nos gráficos de Lorenz para os diversos ritmos cardíacos em cães e mostrou que a interpretação visual desses gráficos pode auxiliar na determinação do tipo de arritmia e na compreensão do mecanismo da arritmia em cães e em outras espécies (DEPROSPERO e ADIN., 2020).

O envelhecimento não é o único fator que leva à perda da complexidade do sistema, mas a presença de uma doença também ocasiona diminuição da VFC. Logo, a análise da VFC não é utilizada apenas para avaliar a função autonômica, mas também para quantificar o risco em uma ampla variedade de doenças cardíacas e não cardíacas (KLEIGER; STEIN; BIGGER, 2005).

3. HIPÓTESE

- Que as análises lineares e não-lineares da variabilidade da frequência cardíaca em cães podem ter uma importância clínica na caracterização de saúde, doença e risco morte e se são capazes de auxiliar na acurácia diagnóstica para identificar cães com risco de morte.

4. OBJETIVOS

4.1. Gerais

- Descrever as análises lineares e não-lineares da variabilidade da frequência cardíaca em cães em diferentes faixas etárias.
- Caracterizar sua relevância clínica nos estados de saúde, doença e risco morte e por sua vez demonstrar a acurácia diagnóstica para identificação de cães com risco de morte.

4.2. Específicos

- Descrever o comportamento autonômico cardíaco em cães saudáveis e doentes, através dos gráficos de recorrência.

- Descrever o comportamento autonômico cardíaco em cães em diferentes faixas etárias, pela análise simbólica.

CAPÍTULO II

TRABALHOS CIENTÍFICOS

1 Seção 1

2 American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology

3 <https://journals.physiology.org/author-info>

4

5 DIAGNOSTIC VALUE OF LINEAR AND NON-LINEAR ANALYSES OF HEART
6 RATE VARIABILITY FOR DIFFERENTIATION OF HOMEOSTASIS IN HEALTH
7 STATUS, DISEASE STATE OR DEATH IN DOGS

8 Luciene M. Martinello^{a*}, Felipe G. Romão^b, Moacir F. Godoy^c, Luiz Henrique A.
9 Machado^d, Miriam H. Tsunemi^e, Maria Lucia G. Lourenço^f

10 ^aVeterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of
11 Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil.
12 lucienemartinello@hotmail.com (LM) *

13 ^bVeterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of
14 Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil.
15 fgazza_vet@hotmail.com (FGR)

16 ^cDepartment of Cardiology and Cardiovascular Surgery - São José do Rio Preto
17 Medical School (FAMERP). mf60204@gmail.com (MFG)

18 ^dVeterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of
19 Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil.
20 henrique.machado@unesp.br (LHAM)

21 ^eSão Paulo State University (Unesp), Institute of Biosciences, Botucatu, São Paulo,
22 Brazil. m.tsunemi@unesp.br (MT)

Veterinary Clinic Department, São Paulo State University (Unesp), School of
Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, SP, Brazil. maria
lucia.lourenco@unesp.br (MLGL)

Luciene Maria Martinello's current address is:

Department of Veterinary Clinic, São Paulo State University, Street Prof. Dr. Walter
Mauricio Correa, s/n – Zip Code:18618-681 Botucatu, São Paulo, Brazil.

*Corresponding author: Luciene Maria Martinello

E-mail: lucienemartinello@hotmail.com

Short Title: Differentiation of Homeostasis in Dogs through the Analysis of Heart Rate
Variability

Abstract

Most of the systems existing in nature should behave as a deterministic and chaotic nonlinear dynamic complex system, in which chaos would have a positive effect, reflecting health. The autonomic nervous system is closely linked to the heart rate, which undergoes physiological variations in each heartbeat and is characterized as a chaotic deterministic system. Since the heart is therefore controlled by a nonlinear system, these analyses are increasingly being used. The aim of this study was to evaluate the nonlinear indexes of recurrence charts and linear indexes in dogs in health status, disease states and risk of death and to demonstrate whether these indexes present good diagnostic accuracy to identify dogs at risk of death. Sixty-six dogs were submitted to short-term analysis of heart rate variability by a heart rate monitor. The results showed that the SDNN, RMSSD, PNN50% and DET% indexes showed a significant difference between all groups, aiding in differentiating the health status in terms of autonomic homeostasis. A higher sensitivity (96.67%) was observed for linear indexes (SDNN, RMSSD and PNN50%), and a higher specificity (100%) was observed for nonlinear indexes (DET%, REC% and LAM%) in the recognition of dogs at risk of death. Linear indexes (SDNN, RMSSD and PNN50%) and nonlinear indexes (DET% and ShanEnt) had greater diagnostic accuracy to identify healthy dogs or dogs who are at risk of death. It is concluded that linear and nonlinear analyses of heart rate variability aid in differentiating health status in healthy dogs and are excellent predictors of prognosis.

Keywords: Autonomic nervous system, Heart rate variability, Heart rate monitor, Chaos theory, canine.

67 Introduction

68 Chaos is a dynamic system that seems random, although it has an underlying
69 order. Some degree of chaos is universally present in living systems, and several
70 components with chaotic patterns have already been detected, such as the anatomical
71 distribution of venous and bronchial branches, since blood vessels do not form a
72 perfect chain but rather a branch of the network. Another example would be cardiac
73 electrical activity because the pattern of an electrocardiogram reveals a multitude of
74 peaks and inclinations that vary in time, according to heartbeat variability [1].

75 Most existing systems in nature must behave as a deterministic nonlinear
76 dynamic complex system, that is, a system that changes over time in a causal way. Its
77 future depends only on phenomena of its past and present, where every event is
78 physically determined by an uninterrupted chain of previous occurrences; therefore,
79 these systems must obey chaos theory [2].

80 Living organisms are certainly a system with all the above mentioned
81 characteristics, in which chaos would have a positive concept reflecting the health
82 situation; in other words, the organism is prepared to respond favorably to the
83 aggressions of the environment, providing all its capacity. In clinical situations, great
84 variability is observed in the terminal conditions that depend sensitively on the initial
85 condition. Thus, small dysfunctions in isolated organs gradually lead to certain degrees
86 of dysfunction as they associate in a gradual manner and sometimes result in
87 catastrophic situations. When chaos is absent, continuous changes in life lead to states
88 of disease until the occurrence of balance and, as a result, death [3].

89 The autonomic nervous system (ANS) is closely linked to the heart rate (HR),
90 which undergoes physiological variations in each heartbeat. This control mechanism
91 occurs by vagal and medullary afferent pathways, by which the information that

reaches the central nervous system (CNS) is modulated and returns to the heart by slow sympathetic and rapid vagal efferent fibers. As the uptake of norepinephrine released in sympathetic terminations is slower than that of acetylcholine in parasympathetic terminations, this difference observed in the rate of transmission in cholinergic and adrenergic pathways will result in inequalities in the modulation frequency of these two systems in the sinus node [4].

Changes in heart rate may be habitual, for example, in exercises versus resting states, and under other autonomic influences. The variability of the time intervals between heartbeats is called heart rate variability (HRV). Natural HRV has been shown to be a chaotic deterministic system. Any changes in HRV and its fractal properties were distinctly recognized because they were related to the pathophysiology of the disease. This has been especially useful for its predictive and diagnostic value, with the general rule being that reduced variability is a characteristic of the disease [1].

There is increasing interest in evaluating the complexity of cardiovascular control by analyzing short-term heart rate variability; this is an analysis of the activity of vasomotor and respiratory centers, baroreflex and chemoreflex regulation, mediated by vagal and sympathetic interferences. All these mechanisms act on similar frequencies but are not coincidental. The joint action of these mechanisms or the dominant action of one of these mechanisms determines the reduction of complexity, that is, the increase in regularity and predictability, which is considered a marker of morbidity [5].

Human cardiac monitors are already used in animal studies to assess HRV in the short term. The measurement of RR intervals performed through the Polar[®] monitor is already a validated method for dogs [6,7,8].

Because the heart is controlled by a nonlinear deterministic system, nonlinear dynamics measurements are increasingly employed. Recurrence plots (RP) can analyze recurrences in the dynamics of a system and can also display specific patterns of large and small scales, which are produced by typical dynamic behavior, for example, diagonal lines (temporal evolution, similar location of different parts of the trajectory) or vertical and horizontal lines (the state does not change for a period of time). The structures within the RPs can be described by the analysis of recurrence quantification, which is an appropriate method for the analysis of short sequences and nonstationary RR intervals; additionally, this recurrence quantification is sensitive to small changes in system dynamics [9,10].

RPs, designed by Eckmann et al. in 1987, were proposed to investigate the behavior of systems characterized by time series in an abstract space called the phase space [11], which is a highly effective and widely accepted tool to study time series. Its formation is demonstrated in a square in which both the x-axis and the y-axis contain the elements of the time series, arranged sequentially from the first to the last, making correlations every two elements. Thereafter, according to preestablished parameters (dimension, delay and radius), the recurrence of values can be analysed. The different colors represent different rays, and rays with equal distances have the same color; this complements the visual appearance and characteristics of the graph [12].

A study of RPs conducted in humans of various age groups (newborns and healthy children, healthy young and middle-aged adults, elderly, people with advanced chronic kidney disease and people with brain death or imminent death) described quantitative and qualitative aspects that allow differentiation between health states, advanced disease states and death or imminent death in the course of life. In this

study, the most relevant indexes were TT trapping time (nonlinear measurement) and SDNN (linear measurement) [13].

To date, there are no studies evaluating HRV in healthy, sick and life-threatening dogs analyzed by recurrence charts. It is assumed that detailed knowledge about cardiac autonomic homeostasis in healthy individuals and patients by nonlinear methods allows a better understanding of this complex system. Thus, the aim of this study was to evaluate the indexes of recurrence charts and linear indexes in healthy and sick dogs and those at risk of death and to demonstrate whether these indexes present good diagnostic accuracy to identify dogs at risk of death.

Materials and methods

The study was conducted in accordance with animal welfare standards after approval by the Committee for Ethics in the Use of Animals of the Faculty of Veterinary Medicine of UNESP - FMVZ - Botucatu (CEUA protocol n° 204/2017) and after the written consent form by tutors. This was a prospective study with 66 dogs. Thirty-six males and 30 females of different breeds and sizes were divided into three groups. Group 1 (control group) was composed of 30 young adult dogs, group 2 was composed of 14 dogs with chronic diseases, and group 3 was composed of 22 dogs at risk of death.

All dogs underwent a previous physical examination (heart rate, respiratory rate, rectal temperature), followed by a specific cardiovascular physical examination (mucosal staining, capillary refill time, auscultation of all cardiac foci, assessment of precordial shock, degree of hydration and femoral pulse), echocardiographic and electrocardiographic examination. Inclusion criteria in group 1 were healthy animals, with no changes in physical, echocardiographic and/or electrocardiographic

examinations, between one and eight years of age. This age was chosen due to the result of a previous study, which reported that patients at this age present better HRV [8]. Group 2 included dogs with clinically stable chronic diseases (asymptomatic patients with controlled underlying disease), and group 3 included only dogs that died within 15 days after analysis with the frequency meter. On the other hand, the exclusion criteria for group 1 were brachycephalic animals and any dog that presented any previous cardiac alteration. In group 2, dogs with decompensated underlying diseases were excluded, and in group 3, animals that died after 15 days of analysis with the frequency meter were excluded. All dogs that presented some type of arrhythmia were excluded.

Electrocardiographic data (1,000 consecutive RR intervals) were digitally captured in a Polar device, model® V-800, already validated for animals for this purpose [14,6,7,15,8]. First, an electrocardiogram was performed to visualize possible arrhythmias. Then, the heart rate monitor was performed after trichotomy of the area for better electrode contact and less interference. After that, the electrodes were placed on each side in the sternal region at the same height as the fourth intercostal space, as performed in human neonates [3]. The device was connected in two adhesive pediatric electrodes, thus without the elastic strap, and fixed next to the animal's body, which was aided by the use of adhesive adhesives and bandages. The dogs were allocated to a room with their owners for 15 minutes to adapt to the environment; then, the recording was performed. The dogs were released in this same room only with their owners to perform the exam, and the devices were only switched off at the end of a period of five to eight minutes. The heart rate monitor used recorded the R-R intervals for the same period (figure 1). Subsequently, the R-R intervals were transferred to a computer for analysis. These intervals were digitally filtered to eliminate premature

beats and noise and then manually reanalyzed to exclude residual artifacts. Only time series with less than 10% artifacts were included for analysis. The linear indexes of the study were the mean of RR intervals (mean RR), standard deviation of the mean of normal RR intervals (SDNN), the square root of the mean square of the differences between adjacent RR intervals (RMSDD), and the percentage of adjacent RR intervals with duration differences greater than 50 ms (PNN50%).

The nonlinear indexes were evaluated by the recurrence plots, and the following quantitative indexes were obtained: percentage of recurrence points in the phase plane (recurrence rate; REC%), percentage of recurrence points forming diagonal lines (determinism; DET%), percentage of recurrence points forming vertical lines (laminarity; LAM%), average length of vertical lines (imprisonment time; TT) and Shannon entropy (a measure that indicates the complexity of the system; ShanEntr). Visual Recurrence Analysis (VRA - Version 5.01, Eugene Kononov, <http://visual-recurrence-analysis.software.informer.com>) software was used for these analyses. Recurrence charts were constructed with the following parameters: dimension = 2, delay = 2, radius = 70, line = 2) and Volcano (as color scheme) [13], and Kubios® software (Biomedical Signal Analysis Group, Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finland).

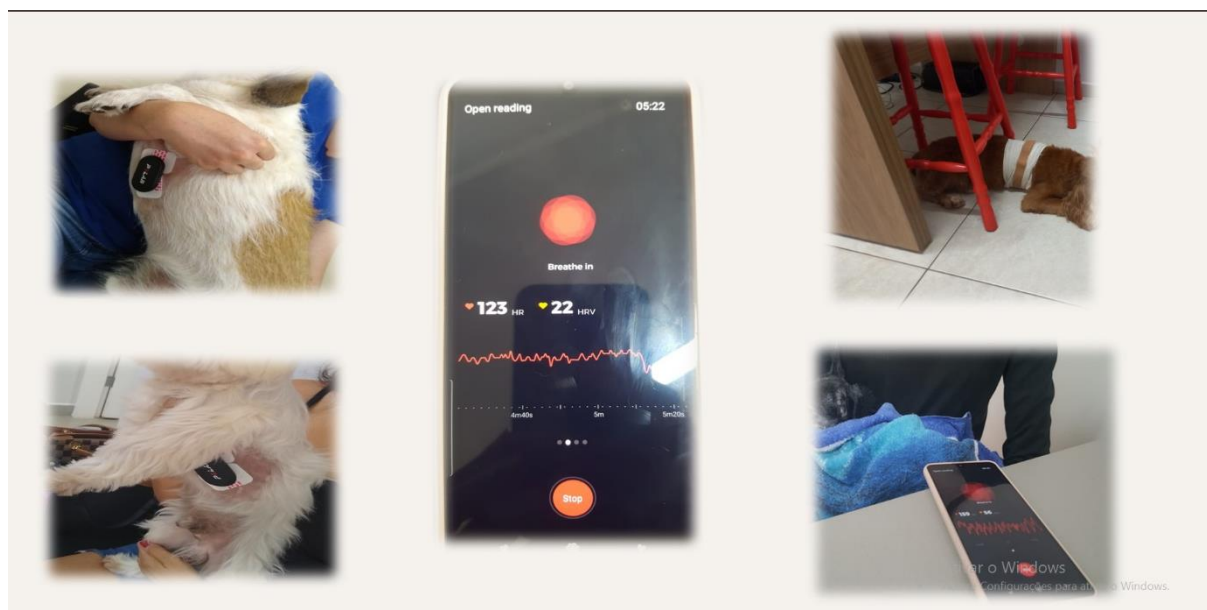


Figure 1: Dogs using the heart rate monitor to record RR intervals.

Statistical analysis

Normal distribution was evaluated using the Shapiro–Wilk test. The comparison of the means/medians of the variables between the groups was performed by the t test for independent samples (when a normal distribution occurred) or the Mann–Whitney nonparametric test (when a normal distribution did not occur). For the comparison of the mean/median between all groups, ANOVA (when the assumption of normality was met) and the Kruskal–Wallis test (when the assumption of normality was not met) were used. Multiple comparisons were applied to detect which groups differed from each other.

The efficacy of the discrimination of the variables for groups 2 and 3 against the control group was performed by calculating sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy (with the respective confidence intervals) and constructing the ROC curve. The area under the curve (AUC) values

were used to choose the most efficient variables (AUC above 80%). Descriptive analysis of all quantitative variables, such as the mean, standard deviation and quartiles for each group, was performed. A p value lower than 0.05 was considered to indicate a significant difference between the respective groups.

Results

This was a prospective study using 66 dogs. 36 males and 30 females of various breeds were divided into three groups. Group G1 (control) had 30 dogs, 14 males and 16 females, with a mean age between 3.61 ± 1.93 years old and an average weight of 8.8 ± 2.52 kg. Group G2 (sick dogs) was composed of 14 dogs, 10 males and four females, with a mean age between 12.07 ± 2.32 years old and an average weight of 7.56 ± 2.66 kg. In this group, dogs had different chronic clinical conditions, such as stage C mitral valve myxomatous disease [ACVIM Consensus – 2019] (4/14), chronic renal disease in stage III [International Renal Interest Society, International Society of Renal Interest] (5/14) and dogs with diabetes mellitus, pulmonary neoplasia, liver neoplasia, chronic pancreatitis and cardiorenal syndrome (1/14 each), totaling 14 animals. Group G3 (risk of death) was composed of 22 dogs that died 6.69 ± 6.07 days after analysis with the frequency meter, 12 males and 10 females, with a mean age between 11.84 ± 2.33 years and a mean weight of 6.09 ± 2.88 kg. In this group, eight animals (8/22) had end-stage neoplasia (with multicenter lymphoma [1/8], cutaneous mastocytoma [2/8], pulmonary carcinoma [3/8], renal carcinoma and renal-based neoformation generating obstruction in the cranial vena cava [2/8]); six dogs (6/22) had stage D mitral valve myxomatous disease [ACVIM Consensus – 2019], five dogs (5/22) had stage IV chronic kidney disease [International Renal Interest Society]; two dogs (2/22) had refractory pneumonia; and one dog (1/22) epilepsy.

HRV differed significantly between groups ($p < 0.05$) in different clinical states (G1, G2 and G3). Healthy dogs (G1) presented linear HRV indexes (RR, SDNN, RMSSD and PNN50%) that were significantly higher than those of the other groups (G2 and G3) (Tables 1 and 2). The only nonlinear index that showed a significant difference between healthy dogs (G1) and sick dogs (G2) was determinism (DET%). The recurrence rate (REC%), determinism (DET), laminarity (LAM%), time of imprisonment (TT) and entropy of Shannon index (ShanEnt) showed a significant difference ($p < 0.05$) between healthy dogs (G1) and dogs at risk of death (G3) (Table 1). In the comparison between groups G2 and G3, there was a significant difference ($p < 0.05$) between all indexes studied, except for the mean RR. The standard deviations, means and medians of each index are presented in Table 1. The significant differences are highlighted in bold between the analyzed groups ($p < 0.05$) (Table 2).

Table 1: Mean $\pm$ standard deviation and [median] of linear (RR, SDNN, RMSSD and PNN50%) and nonlinear (REC, DET, LAM, TT, ShanEnt) indexes of HRV in dogs in the different groups analyzed.

Indexes	Control group (n = 30) G1	Dogs with diseases chronicles (n = 14) G2	Dogs at risk of death (n = 22) G3
Interval RR	580.57 $\pm$ 111.74 ^a [542.57]	463.92 $\pm$ 95.63 ^{bc} [437.5]	379.18 $\pm$ 79.94 ^c [371]
SDNN (msec)	71.74 $\pm$ 24.90 ^a [72.15]	33.28 $\pm$ 11.740 ^b [32.1]	12.63 $\pm$ 8.968 ^c [9.7]
RMSSD (msec)	93.04 $\pm$ 40.28 ^a [85.9]	32.86 $\pm$ 18.36 ^b [27.4]	6.68 $\pm$ 4.980 ^c [4.8]
PNN50%	52.56 $\pm$ 19.42 ^a [57.00]	14.29 $\pm$ 15.02 ^b [7.06]	0.340 $\pm$ 0.782 ^c [0]
REC%	32.27 $\pm$ 1.858 ^a [31.71]	31.56 $\pm$ 6.314 ^{ab} [32.60]	38.73 $\pm$ 4.994 ^c [40.462]
DET%	52.08 $\pm$ 8.798 ^a [48.54]	66.55 $\pm$ 1 6.90 ^b [62.64]	87.21 $\pm$ 15.54 ^c [93.13]
LAM%	60.96 $\pm$ 12.41 ^a [61.67]	73.87 $\pm$ 14.84 ^{ab} [72.68]	90.87 $\pm$ 10.79 ^c [95.24]
TT	3.216 $\pm$ 0.727 ^a [2.999]	4.591 $\pm$ 3.051 ^{ab} [3.574]	11.41 $\pm$ 6.46 ^c [10.64]
Shanent Bits	2.465 $\pm$ 0.272 ^a [2.408]	2.952 $\pm$ 0.663 ^{ab} [2.930]	4.156 $\pm$ 0.778 ^c [4.216]

Interval (mean normal RR intervals); SDNN (standard deviation of the mean of normal RR intervals); RMSSD (square root of the mean sum of the square difference of adjacent normal RR intervals of the whole exam), PNN50% (percentage of difference greater than 50 msec between adjacent normal RR intervals), REC% (the percentage of recurrence points in a recurrence chart); DET% (the percentage of recurrence points forming diagonal lines); LAM% (the percentage of recurrence points forming vertical lines); TT (the average length of vertical lines); ShanEntr (Shannon entropy: a measure that indicates the complexity of the system). Different letters in the same line represent significant differences between the groups (*one-way ANOVA* and Tukey–Kramer; $p < 0.05$)

Table 2: Comparison between groups (G1 - control), G2 (chronic diseases) and G3 (dogs at risk of death) and statistical significance ($p < 0.05$).

Groups	interval RR	SDNN (msec)	RMSSD (msec)	PNN50%	REC%	DET%	LAM%	TT	Shanent Bits
G1XG2	0.0336	0.0029	0.0057	0.0048	1.0000	0.0324	0.0716	0.3833	0.1169
G1XG3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
G2XG3	0.0841	0.0273	0.0112	0.0129	0.0004	0.0303	0.0237	0.0034	0.0046

The SDNN, RMSSD, PNN50% and %DET indexes showed a significant difference between all groups ($p < 0.05$). The nonlinear indexes REC%, %LAM, TT and ShanEnt showed no significant difference between groups G1 and G2, which made it impossible to distinguish the clinical states between patients and healthy patients.

The animals of group 3 (risk of death) presented significantly lower values of all indexes in the time domain and significantly higher values of nonlinear indexes than animals in group 1 (healthy dogs). The time domain indexes, namely, SDNN, PNN50% and RMSSD, were more sensitive (96.67%), with a low false-negative rate, and

nonlinear rates (DET%, REC% and LAM%) were more specific (100%), presenting a low rate of false positives in the recognition of dogs at risk of death. Greater diagnostic accuracy was obtained for the RMSSD (99.8%), PNN50% (99.5%), SDNN (99.4%), ShanEnt (98.4%) and DET% (96.4%) indexes.

The AUCs of the linear and nonlinear indexes more predictive of the risk of death (SDNN, PNN50%, RMSSD, DET % and ShanEnt) overlapped; they did not totally differ and crossed at certain points, indicating little difference between them (figure 2).

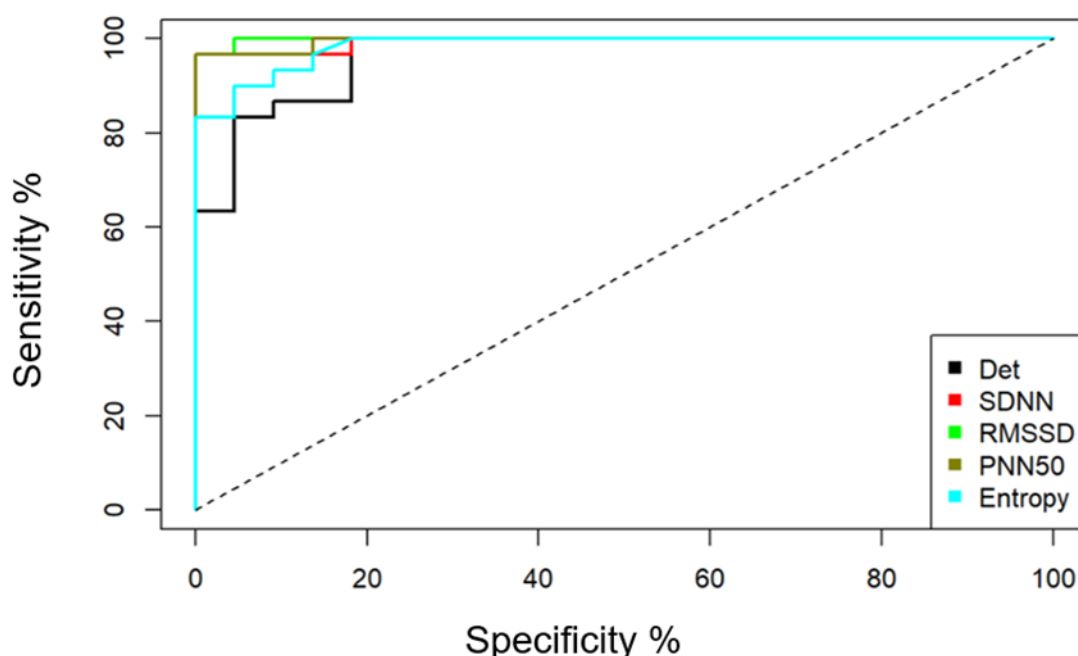


Figure 2: *Receiver operating curves* of the most diagnostic accuracy indexes for the risk of death in patients. SDNN (standard deviation of the mean of normal RR intervals); RMSSD (square root of the sum mean of the difference of squares of adjacent normal RR intervals of the whole exam); PNN50% (percentage of difference greater than 50 msec between adjacent normal RR intervals); DET% (percentage of determinism); Entropy/ShanEntr (Shannon entropy).

The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, diagnostic accuracy and cutoff of each index are presented in Table 3.

Table 3: *Receiver operating characteristics* of linear HRV indexes (RR; SDNN, RMSSD and PNN50) and nonlinear (REC, DET, LAM, TT and ShanEnt), diagnostic accuracy and cutoff for dogs at risk of death.

Indexes	SE for risk of death, % (95% CI)	SP for risk of death, % (95% CI)	PPV for risk of death, % (95% CI)	NPV for risk of death, % (95% CI)	Accuracy, % (95% CI)	Cutoff
interval RR	81.82(59.72-94.81)	93.33(77.93-99.18)	90.00(68.30-98.77)	87.50(71.01-96.49)	92.6(85.1-100.2)	< 453 ms > RM
SDNN	95.45(77.19-99.88)	96.67(82.78-99.92)	95.45(77.16-99.88)	96.67(82.73-99.92)	99.4(98.1-100.7) *	< 34.7 ms >RM*
RMSSD	95.45(77.19-99.88)	96.67(82.78-99.92)	95.45(77.16-99.88)	96.67(82.73-99.92)	99.8(94.4-100.3)*	< 19.0 ms >RM*
PNN50	95.45(77.19-99.88)	96.67(82.78-99.92)	95.45(77.16-99.88)	96.67(82.73-99.92)	99.5(98.5-100.6)*	< 2.54% >RM*
Rec	68.18(45.13-86.14)	100.0(88.43-100.0)	100.0(78.20-100.0)	81.08(64.84-92.04)	90.8(80.9-100.6)	>39.12% > RM
Detective	77.27(54.63-92.18)	100.0(88.43-100.0)	100.0(80.49-100.0)	85.71(69.74-95.19)	96.4(92.0-100.7)*	>87.75% > RM*
Lam	77.27(54.63-92.18)	100.0(88.43-100.0)	100.0(80.49-100.0)	85.71(69.74-99.19)	95.3(90.1-100.5)	>87.34% > RM
Tt	81.82(59.72-94.81)	93.33(77.93-99.19)	90.00(63.30-98.77)	87.50(71.01-96.49)	95.3(90.1-100.5)	>4.66% > RM
Shanent	90.91(70.84-98.8)	90.00(73.47-97.89)	86.96(66.41-97.22)	90.9(78.97-96.80)	98.4(96.1-100.7)*	> 2.86% > RM*

Sensitivity (SE), specificity (SP), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), accuracy and cutoff of each index were evaluated. Sensibility for risk of death, % (CI95%) Specificity for risk of death, % (95% CI%) for risk of death, % (95% CI%) NPV for risk of death, % (95% CI%) Accuracy, % (CI95%). Risk of death (MR) and cutoff values < (lower) or > (higher)

In the plots of recurrence analyses (qualitative analysis) of the most representative cases of each group analyzed, it can be observed that the animals in group 1 presented a more diffuse and homogeneous distribution when compared to groups 2 and 3, which exhibited more geometric patterns. The lower the HRV was, the more geometric and linear the graph was presented (figure 3).

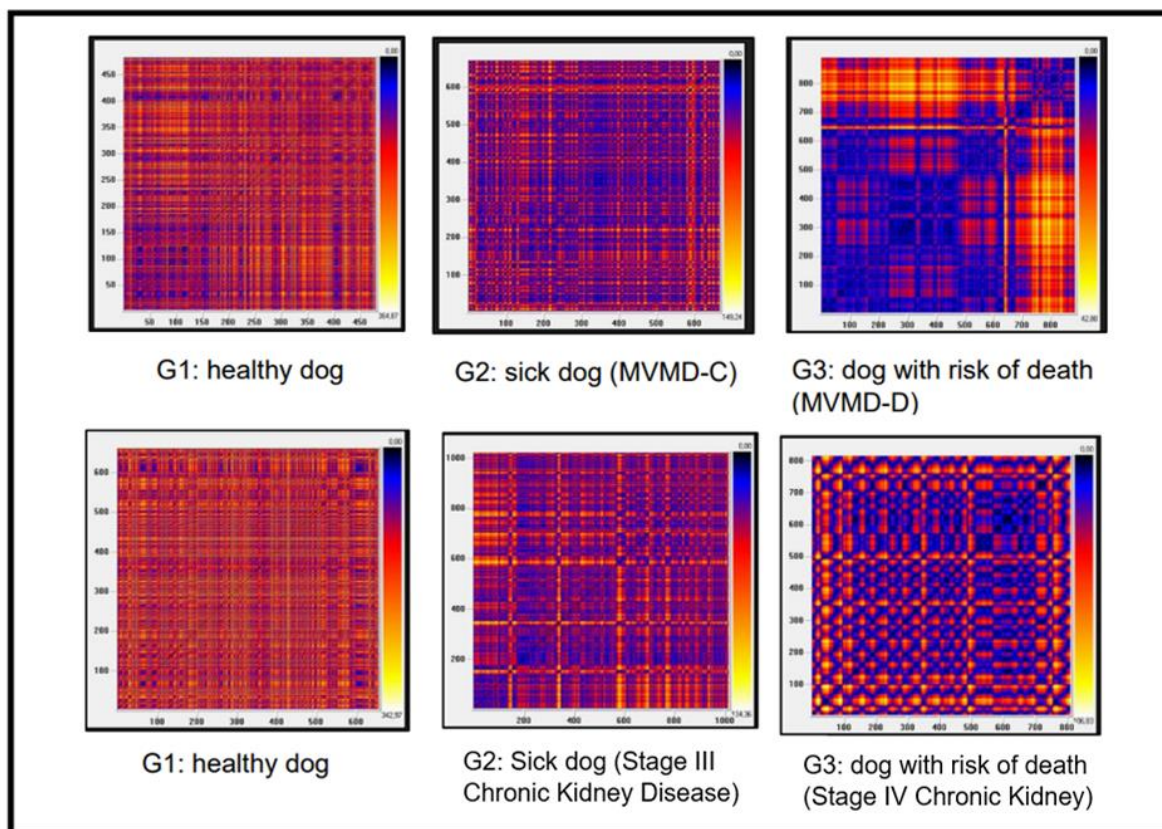


Figure 3: Representative recurrence plots of dogs chosen to represent each of the groups: G1- control group, G2: dogs with chronic diseases (Stage C mitral myxomatous degenerative disease; Stage III Chronic Kidney Disease) and G3- death-risk dogs (Stage D mitral myxomatous degenerative disease; Stage IV Chronic Kidney Disease).

Comparisons between sick and life-threatening dogs showed significantly lower SDNN ($p=0.0273$) in group G3 compared to group G2; however, the RR interval did not differ significantly ($p=0.0841$) between these groups, showing that the difference in HRV is not only associated with changes in heart rate.

Discussion

The present study aimed to describe the indexes of recurrence plots and linear indexes in healthy dogs, sick patients and at risk of death and to characterize the cardiac autonomic behavior of these groups by evaluating whether these indexes present good diagnostic accuracy regarding the risk of death in dogs.

It was observed in this study that HRV decreases according to health status, increasing in morbid states and at risk of death. Linear and nonlinear indexes have been shown to be useful for assessing clinical status and autonomic homeostasis in dogs.

Cardiac homeostasis depends on the dynamic balance between the sympathetic and parasympathetic branches of the autonomic nervous system (ANS). The control of cardiac homeostasis occurs mainly through sympathetic and parasympathetic endings throughout the heart, which directly interfere with heart rate values and beat-to-beat variability. Thus, the loss or reduction in HRV indirectly reflects a reduction in chaotic behavior, which can translate into compromised homeostasis. For this reason, groups 2 and 3 were composed of animals with different diseases, as the pathological state generates high levels of circulating catecholamines that cause deleterious effects, leading to increased sympathetic activity and decreased parasympathetic activity, which in turn decreases the VFC. HRV is the result of the regulation of the autonomic nervous system, which is affected by any type of disease [16,17,13]. Corroborating a human study based on an extensive amount of data published in the literature, it joined in the same group several individuals with different diseases and showed that these people had low HRV [18].

In group 1, brachycephalic dogs were excluded because their morphology makes these dogs present a greater inspiratory effort, increasing the parasympathetic tonus and physiologically increasing their HRV [19].

In the present study, HRV analysis was performed for five to eight minutes with dogs without sedation. All indexes analyzed showed significant differences in the comparison of at least one group, indicating that short-term analysis with the heart rate monitor is feasible to assume the clinical and autonomic state of a patient. The evaluation performed in a short period presents fewer ectopia events or artifacts that interfere in the analysis of HRV, which may compromise the reliability of the results obtained [14]. Corroborating the present study, a study conducted with 79 dogs from different age groups performed HRV analysis over five minutes and concluded that HRV derived from electrocardiographic recording over five minutes in clinical settings is a reliable method to evaluate the function of the autonomic nervous system [20]. HRV performed in a short period is an acceptable analysis because in a few minutes, we can obtain the results; furthermore, it is possible to evaluate the cardiac autonomic behavior of healthy and sick dogs. Several studies have obtained satisfactory results in the evaluation of HRV in a short period [21,22,23,24].

In the present analysis, we chose to use the heart rate monitor because the aim was to analyze HRV in dogs with less stress possible in the clinical routine. The HR monitor proved to be a great option for HRV analysis because it was possible to record RR intervals with less stressed patients and to transfer these results to diverse HRV analysis software available on the market, such as ^dRecurrence Analysis and ^eKubios®. The heart rate monitor is a noninvasive and financially accessible method for HRV analysis and is advantageous in relation to electrocardiography because it causes less discomfort to the patient, with a good level of agreement between these two methods in dogs and human beings [7, 25, 26].

HRV indexes in the time domain are the most studied in the veterinary cardiology routine; the SDNN is correlated with the sympathetic and parasympathetic

components of the autonomic nervous system, whereas RMSSD and PNN50% consider short and rapid changes between adjacent RR intervals, based on the comparison between the duration of two adjacent cycles, which allows the evaluation of parasympathetic vagal tone [27]. However, to the authors' knowledge, there are no publications that evaluated the measures of the recurrence chart in healthy dogs, sick patients and those at risk of death. Nonlinear measures, such as REC%, ShanEn, LAM%, TT and DET%, were proposed as measures of complexity, and smaller values indicate greater complexity of system dynamics [9].

In the present study, group 1 (control group) was formed by healthy young adult dogs (3.61 ± 1.93 years old), who present autonomic behavior more compatible with homeostasis, that is, considered chaotic; this group presented higher HRV, with higher rates of SDNN, RMSSD and PNN50% and lower recurrence indicators, demonstrating that this group presented better functioning of the ANS. In a previously performed analysis that evaluated HRV in the time and frequency domain in 87 dogs of different age groups for 20 minutes, dogs between 1.1 and 7.9 years of age presented higher HRV than puppies (< 1 year) and elderly dogs (> 8 years) [8].

Dogs in groups 2 and 3 presented lower rates of SDNN, RMSSD and PNN50% and higher recurrence indicators, which demonstrates deterioration of ANS homeostasis in these groups, so aging is not the only factor that leads to loss of system complexity but also the presence of a disease.

The linear indexes were significantly lower ($p < 0.05$) in animals at risk of death than in sick animals, and all analyses of recurrence quantification were significantly higher in dogs at risk of death than in dogs with chronic diseases ($p < 0.05$), resulting in lower variation and, therefore, greater autonomic impairment. Animals with chronic disease already present increased sympathetic activity and decreased

parasympathetic activity, with a subsequent decrease in HRV, with inadequate treatment or no treatment at all, a greater balance of the system (absence of chaos) and, as a result, death.

The time domain analysis and the nonlinear index (%DET) were higher in the comparison between healthy and sick dogs because group G1 presented significantly higher values in the indexes of the time domain and a lower value of the %DET index. A human study evaluated recurrence rates in 17 young patients with diabetes mellitus [9], revealing significantly higher values of %REC and TT in these young people than in the control group (healthy patients), which reveals changes in dynamic recurrences with reduced HR complexity. In the present study, higher TT and % REC indexes were demonstrated in sick patients, but there was no significant difference between these groups. HRV is the result of the regulation of the autonomic nervous system, which is affected by any type of condition; the SNS (sympathetic nervous system) is one of the two branches of the nervous system that is involved in the regulation of numerous homeostatic mechanisms, including cardiac function. The main function of the SNS is to stimulate the fight or flight response of the body, but in morbid states, high circulating catecholamine levels are generated, which causes harmful deleterious effects [16,3,28,29].

All indexes studied showed significant differences between groups 1 and 3, which shows that all indexes studied are useful for the differentiation between these two groups. Dogs at risk of death presented a very low HRV, exhibiting a decreased parasympathetic tone (SDNN, RMSSD and PNN50% with extremely low values) and presented higher recurrence and predictability (%REC, %DET, TT, LAM% and ShanEn), which indicates progression toward the equilibrium state and detachment from chaotic behavior; young adult dogs, on the other hand, went in the opposite

direction because they presented a normal HRV, lower recurrence and less predictability because they were healthy individuals considered chaotic.

In the qualitative analysis of recurrence plots, a more diffuse and homogeneous distribution was observed in healthy young adult dogs, reinforcing that this group of patients presented higher HRV, less predictability, less recurrence and more chaos. In groups 2 and 3, more geometric patterns were observed, and in group 3, there was a greater number of large squares, visibly showing that these patients present a loss of complexity and simplification of dynamic heart rate in pathological conditions, a fact observed and described in humans in recurrence plots [13].

The ability of linear and nonlinear indexes to discriminate patients at risk of death against various diseases was good based on the analysis of AUCs (sensitivity and specificity) to better understand whether these indexes would be predictive in the recognition of dogs at risk of death. Linear indexes (SDNN, RMSSD, PNN50%) were more sensitive (95.45%) with a low rate of false negatives compared to other indexes in the identification of dogs at risk of death and had a higher negative predictive value (96.67%); dogs with SDNN, RMSSD and PNN50% higher than 34.7 ms, 19.0 ms and 2.54% (cut off), respectively, were less likely to die. On the other hand, the nonlinear indexes (REC%, DET% and LAM%) presented a higher specificity (100%) with a low rate of false positives compared to all other indexes in the identification of dogs at risk of death and had a higher positive predictive value (100%); dogs with REC, DET and LAM higher than 39.12%, 87.75% and 87.34%, respectively, had a higher risk of dying. Of all the indexes investigated, the ones with the highest diagnostic accuracy were RMSSD (99.8%), PNN50% (99.5%), SDNN (99.4%), ShanEnt (98.4%) and DET% (96.4%), which were clinically relevant, serving as useful tools to help determine the risk of death of a patient.

This is the first time in veterinary medicine that cutoff values for dogs at risk of death from HRV indexes have been evaluated, demonstrating the efficacy of HRV analysis as an accessible, low-cost and rapid research tool to evaluate the autonomic homeostasis of an individual independent of the existing disease, aiding in the prognosis of patients.

The limitations of this study were that the recording of RR intervals for HRV analysis was not standardized, so some patients may have been slightly more anxious, but the intention of using the heart rate monitor to perform the analysis was to generate the lowest level of stress in these dogs. All dogs at the time of analysis were apparently calm. Another limitation was the mean age of the animals in the control group, as they were very young dogs compared to the other groups. Although the number of patients in the chronic patient and death groups may be more robust, recurrence rates and linear indexes have proven to be useful tools in determining the different health statuses of dogs. These analyses served as predictors, thus enabling their use in veterinary clinical practice. A study with a larger number of patients with chronic morbid conditions is necessary.

Conclusion

The linear and non-linear indexes of HRV proved to be useful predictors in the assessment of homeostasis between dogs with morbid conditions (chronic diseases) and at risk of death and among healthy and life-threatening conditions in dogs. Linear indexes and the nonlinear DET% index was relevant to aid in the differentiation of healthy dogs from sick dogs. The qualitative analysis of recurrence plots showed usefulness in the rapid identification of health status in dogs. The present study allowed

the identification of linear (RMSSD, PNN50%, SDNN) and nonlinear (ShanEnt, DET%) indexes, which presented greater diagnostic accuracy in the identification of patients at risk of death and predictive cutoff values; these results are important, as they may direct the veterinarian clinician to optimize the therapy instituted, aiming to improve the general condition of the patient or reinforce the evidence of clinical evolution, indicating whether the prognosis is good, reserved or poor.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Footnotes

^cModel V-800® (Polar, Kempele, Finland)

^dRecurrence Analysis (VRA - Version 5.01, Eugene Kononov, <http://visual-recurrence-analysis.software.informer.com>)

^{and}Kubios® (Kubios, Kuopio, Finland)

References

- [1] A. Korolj, H.T. Wu, M. Radisic, A Healthy Dose of Chaos: Using fractal frameworks for engineering higher-fidelity biomedical systems, *Biomater Sci.* 219 (2019) 1-45.
- [2] C. Oestreicher, A history of chaos theory, *Clin Dialogs. Neurosci.* 9 (2007) 279-89.

- 498 [3] F.A. Selig, E.R. Tonolli, E.V.C.M. Silva, M.F. Godoy, Variabilidad de la frecuencia
499 cardiac en neonates premature y de término, *Arq Bras Cardiol.* 96 (2011) 443-449.
- 500 [4] J.C.F. Sto, E.C. Costa, E. Silva, G.D. Azevedo, Heart rate variability as a method
501 of evaluation of the autonomic nervous system in polycystic ovary syndrome, *Rev Bras*
502 *Ginecol Obstet.* 35 (2013) 421-426.
- 503 [5] P. Porta, S. Guzzetti, N. Montano, R. Furlan, M. Pagani, A. Malliani, S. Cerutti,
504 Entropy, entropy rate, and pattern classification as tools to typify complexity in short
505 reart period variability series, *IEEE. Trans. Biomed.* 48 (2001) 1282-1291.
- 506 [6] V.S.M. Jonckheer-Sheehy, C.M. Vinke, A. Ortolani, Validation of a Polar® human
507 heart rate monitor for measuring heart rate and heart rate variability in adult dogs under
508 conditions, *J Vet Behav.* 7 (2012) 205-212.
- 509 [7] A. Essner, R. Sjostrom, E. Ahlgrn, B. Lindmark, Validity and reability of
510 PolarRS800CX hear rate monitor, measuring heart rate in dogs during standing
511 position and at trot on a treadmill, *Physiol. Behav.* 114 (2013) 1-5.
- 512 [8] L. Martinello, A.S. Cruz-Aleixo, F.G. Romão, M.C.F. Lima, M.H. Tsunemi, S.B.
513 Chiacchio, M.F. Godoy, M.L.G. Lourenço, Short-term heart rate variability analysis in
514 healthy dogs of different ages, *Acta Sci. Vet.* 50 (2022) 1-7.
- 515 [9] M. Javorka, Z. Trunkvalterova, I. Tonhajzerova, Z. Lazarova, J. Javorkova, K.
516 Javorka, Recurrences in heart rate dynamics are changed in patients with diabetes
517 mellitus, *Clin Physiol Funct Imaging.* 28 (2008) 326–331.
- 518 [10] D. Dimitriev, E.V. Saperoca, S. Dimitriev, Y. Karpenko, Recurrence quantification
519 analysis of heart rate during mental arithmetic stress in young females, *Front. Physiol.*
520 11 (2020) 1-5.

- 521 [11] J.P. Eckmann, S.O. Kamphorst, D. Ruelle, Recurrence plots of dynamical
522 systems. *Europhys Lett.* 4 (1987) 973-977.
- 523 [12] I.T. Takakura, R.A. Hoshi, M.A. Santos, F.C. Pivatelli, J.H. Nóbrega, D.L. Guedes,
524 F.V. Nogueira, Z.Q. Frota, G.C. Castelo, M.F. Godoy, Recurrence Plots: a new tool for
525 quantification of cardiac autonomic nervous system recovery after transplant, *Braz J*
526 *Cardiovasc Surg.* 32 (2017) 245-252.
- 527 [13] M.F. Godoy, M.L. Gregory, Diagnostic relevance of recurrence plots for the
528 characterization of health, disease or death in humans, *J Hum Growth Dev.* 9 (2019)
529 39-47.
- 530 [14] R.M. Marchant-Forde, D.J. Marlin, J.N. Marchant-Forde, Validation of a cardiac
531 monitor for measuring heart rate variability in adult female pigs: accuracy, artifacts and
532 editing, *Physiol Behav.* 80 (2004) 449-458.
- 533 [15] R.A. Paula, A. S. Cruz-Aleixo, L.S. Peternelli, M.C. Grandi, M.H. Tsunemi, M.L.G,
534 Lourenço, S.B. Chiacchio, A test of the effects of the maternal equine pheromone on
535 the clinical and ethological parameters of equines undergoing hoof trimming, *J Vet*
536 *Behav.* 31 (2019) 28-35.
- 537 [16] R.E. Kleiger, P.K. Stein, J.T. Bigger, Variability Heart Rate: Measurement and
538 Clinical Utility. *A.N.E.* 10 (2005) 88–101.
- 539 [17] L.C.M. Vanderlei, C.M. Pastre, R.A. Hoshi, T.D. Carvalho, M.F. Godoy. Basics of
540 heart rate variability and its clinical applicability, *Rev Bras Cirurg Cardiovasc.* 24 (2009)
541 205-217.

- 542 [18] M.F. Godoy, M.L. Gregório. Heart Rate Variability as a Marker of Homeostatic
543 Level. In:Theodoros Aslanidis and Christos Nouris. Autonomic Nervous System -
544 Special Interest Topics. London, United Kingdom: Intechopen Limited; (2022). 25-35.
- 545 [19] L. Trauffler, S. Schuller, A. Kovacevic, A. Tichy. Establishing reference standards
546 for the vasovagal tonus index in a cohort of healthy French Bulldogs, Schweiz Arch
547 Tierheilkd. 12 (2019). 821-829.
- 548 [20] R.A. Baisan, E.I. Condurachi, V. Vulpe, Short-term heart-rate variability in healthy
549 small and medium-sized dogs over a five-minute measuring period, J Vet Res. 64
550 (2020)161-67.
- 551 [21] G. Piccirillo, M. Ogawa, j. Song , V.J. Chong , B. Joung, S. Han , D. Magrì, L.S.
552 Chen , S.F. Lin , P.S. Chen , Power spectral analysis of heart rate variability and
553 autonomic nervous system activity measured directly in healthy dogs and dogs with
554 tachycardia-induced heart failure, Heart Rhythm. 6 (2009) 546-552.
- 555 [22] M. Katayama, T. Kubob, K.M. Kazutaka, K.I. Kazushi, M. Nagasawaa, T. Kikusuia
556 T, Heart rate variability predicts the emotional state in dogs. Behav, Processes. 128
557 (2016)108–112.
- 558 [23] S. Bogucki, A. Noszczyk-Nowak, Short-term heart rate variability in dogs with sick
559 sinus syndrome or chronic mitral valve disease as compared to healthy controls, Pol J
560 Vet Sci. 20 (2017) 167-172.
- 561 [24] M.C.E. Maccariello, C.C.F. Souza, L. Morena, D.P.M. Dias, M. A. Medeiros,
562 Effects of acupuncture on the heart rate variability, cortisol levels and behavioral
563 response induced by thunder sound in beagles, Physiol Behav. 186 (2018) 37-44.

- 564 [25] A. Essner, R. Sjöström, E. Ahlgrn, P. Gustas, L. Edge-Hughes, L. Zetterberg, K.
565 Hellström. Comparison of polar RS800CX heart rate monitor and electrocardiogram
566 for measuring interbeat intervals in healthy dogs, *Physiol Behav.* 138 (2015) 247-53.
- 567 [26] M.P.C.R. Barbosa, N.T. Silva, F.M. Azevedo, C.M. Pastre, C.M. Vanderlei,
568 Comparison of Polarfi RS800G3TM heart rate monitor with Polarfi S810iTM and
569 electrocardiogram to obtain the series of RR intervals and analysis of heart rate
570 variability at rest, *Clin Physiol Funct Imaging.* 36 (2016)112-117.
- 571 [27] V.R.F.S. Marães, Heart rate and its variability: analyses and applications, *Rev.*
572 *andal. med. Deporte.* 3 (2010) 33-42.
- 573 [28] M.P. TARVAINEN, J.P. NISKANEN, J.A. LIPPONEN, R.O. PERTTU, P.A.
574 KARJALAINEN, Kubios HRV - Heart rate variability analysis software, *Compute.*
575 *Methods Programs Biomed.* 113 (2014) 210–220.
- 576 [29] C. Lucia, A. Eguchi, W. Koch, New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling
577 During Heart Failure and Aging, *Front. Pharmacol.* 9 (2018) 1-14.
- 578
- 579

Seção 2

Polish Journal of Veterinary Sciences

<http://www.uwm.edu.pl/pjvsci/ifa.html>

Original article

Study of autonomic modulation by non-linear analysis of heart rate variability in different age groups and analysis of health status, disease and risk of death in dogs.

L. Martinello^{1*}, F.G. Romão¹, M. F. Godoy², L. H. A. Machado¹, M.H. Tsunemi³, M.L. G Lourenço¹.

¹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science.

²Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery - São José do Rio Preto Medical School (FAMERP).

³São Paulo State University (Unesp), Institute of Biosciences, Botucatu, São Paulo, Brazil.

* Corresponding author. Tel.: 55 14 991636277

E-mail address: Luciene.martinello@unesp.br (Martinello. L).

Abstract

The symbolic analysis of heart rate variability (biomarker of cardiac autonomic homeostasis) is a nonlinear and effective tool for pattern extraction and classification in a series analysis, which implies the transformation of an original time series into symbols, represented by numbers. Autonomic heart rate control is influenced by different factors, and better indicators of heart rate variability are found in healthy young individuals than in older and sicker individuals. The aim of this study was to compare the indicators of heart rate variability among healthy dogs in different age groups and in health status using the nonlinear method of symbolic analysis to evaluate the diagnostic accuracy of this method for the risk of death in dogs. An increase in cardiac sympathetic modulation was observed in puppies and dogs at risk of death, which was evidenced by a marked increase of 0 V% (without variation – associated with sympathetic modulation) and a decrease in patterns of 2 V% (two variations – associated with parasympathetic modulation), while the opposite was observed in young adult dogs with increased parasympathetic modulation. Elderly dogs showed a gradual decrease in parasympathetic activity, which tended to worsen with loss of health. It is concluded that the variables of symbolic analysis may be useful to evaluate autonomic modulation in dogs and assist in the differentiation between health states, advanced disease and death throughout the life cycle and have been shown to be indices with high specificity, sensitivity and diagnostic accuracy to help identify dogs at risk of death.

Keywords: dogs, sympathetic system, parasympathetic system and heart rate variability.

Introduction

Physiological time systems, such as the series of successive intervals between heartbeats, contain valuable information. Different linear and nonlinear approaches have been proposed to characterize the dynamic peculiarities of autonomic homeostasis (Cysarz et al. 2013). The nonlinear analysis of heart rate variability (HRV) provides noninvasive ways of investigating cardiac autonomic modulation in the presence of rhythmic variability (Vanderlei et al. 2009; Guzzetti et al. 2005; Moïse, Flanders and Pariaut, 2020).

Symbolic analysis is a nonlinear and effective tool for the extraction and classification of patterns in temporal systems, which implies the transformation of an original time series into symbols and the creation of patterns with them (Porta et al. 2001). Different criteria can be applied for the transformation of series into symbolic representations and the creation of patterns of analysis (Valencia et al. 2015). The full dynamics of the series (the minimum-maximum range) are distributed over six sections, each identified by a number or symbol from 0 to 5. Original values within each section are replaced by the symbol that defines it in a specific way, thus obtaining a symbolic series. The symbolic series is converted into several patterns of three symbols. Four different categories of patterns can be identified: 0 V (without variation – associated with sympathetic modulation) when there are no variations between three successive symbols, i.e., all three symbols are the same (e.g., 555); 1 V (one variation – no predominance) when a variation between three successive symbols exists, i.e., two symbols are equal (e.g., 755); 2 LV (pattern with two equal variations forming ascending or descending ramps) in which there are two similar variations between successive symbols, i.e., two successive decreases or increases (e.g., '456' or '654'), and 2 UV (pattern with two different variations, forming peaks or valleys) when there are two different variations between successive symbols, i.e., a decrease followed by an increase or vice versa (e.g., '252' or '847') (Tobaldini et al. 2009; Cysarz et al. 2015; Valencia et al. 2015; Silva et al. 2017; Corrêa et al. 2019; Moura-Tonello et al. 2019).

The results of the 2 LV% and 2 UV% patterns added together and presented as 2 V% are associated with parasympathetic activity (Guzzetti et al. 2005).

A study by Guzzetti et al. (2005) showed that after high doses of atropine (parasympathic), there was a significant increase in 0 V patterns (without variation – associated with sympathetic modulation) and a decrease in 2 V (two variations – associated with parasympathetic modulation), while phenylephrine infusion (receptor-specific adrenergic agonist 1) showed a significant increase in the percentage of 2 V, and the infusion of nitroprusside (mixed vasodilator) (reflex increase in cardiac sympathetic modulation) caused a significant increase in 0 V dynamics. Changes in 1 V patterns did not reach the significance threshold during the autonomic tests in this study, concluding that the increase in cardiac sympathetic modulation determines the increase in 0 V and the decrease in 2 V patterns, while opposite results are observed during an increase in cardiac parasympathetic modulation.

Hyperactivity of the sympathetic nervous system (SNS) is triggered by central and peripheral pathways that are associated with abnormal cardiovascular reflexes observed in a variety of disease states. Patients with congestive heart failure (CHF) have evidence of sympathetic nervous system activation, reflected by increased plasma levels of norepinephrine. It is important to highlight that in the senescent heart, sympathetic activity is increased, while cardiac neuronal uptake of circulating catecholamines is decreased, leading to decreased parasympathetic activity and increased sympathetic activity (Valencia et al. 2015; Lucia, Eguchi and Koch 2018).

Autonomic heart rate control is influenced by different factors, and better HRV indicators are found in healthy young individuals than in elderly and sick individuals. However, most studies on HRV were conducted in populations of extreme ages, young and old, usually without information and comparisons of the initial, intermediate and end-of-life periods (Kleiger, Stein and Bigger 2005; Costa, Davis and Goldberger 2017).

To date, there are no published data on symbolic analysis in dogs. Thus, the aim of the present study was to compare HRV indicators between healthy dogs in different age groups, dogs with chronic diseases and dogs at risk of death using the nonlinear method of symbolic analysis and to determine whether this method of analysis presents good diagnostic accuracy to identify dogs at risk of death.

Materials and methods

Study animals:

A total of 126 dogs examined at the hospital between August 2017 and October 2018 were included in the study, 66 males and 60 females, of different breeds, separated into five groups.

This study was conducted according to animal welfare standards after approval by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Faculty of Veterinary Medicine of UNESP - FMVZ - Botucatu (protocol no. 204/2017) and after the free written consent of the tutors. Group 1 (n=30) was composed of healthy dogs under 1 year of age, group 2 (n=30) was composed of healthy dogs aged between 1 and 8 years, and group 3 (n=30) was composed of healthy dogs older than 8 years. Group 4 consisted of 14 animals with chronic compensated diseases (asymptomatic patients with controlled underlying disease), with a mean age of 12.07 years. Group 5 consisted of 22 dogs at risk of death, with a mean age of 12.14 years. Group 5 consisted of 22 dogs at risk of death, with a mean age of 12.14 years. HRV indices analyze the homeostase of an individual regardless of the disease, so groups 4 and 5 represent dogs with different conditions. The diseases of groups 4 and 5 are shown in Table 1.

Experimental procedure

All dogs in the study were preliminarily selected through electrocardiographic examinations to visualize possible arrhythmias and subsequent inclusion or exclusion from the study, and in the first three groups, brachycephalic animals or animals that presented any other clinical condition were excluded. Dogs in group 4 that had decompensated chronic diseases were excluded. The animals in group 5 died a maximum of 15 days after analysis with the frequency meter.

The analysis was performed by the heart rate monitor, and the RR intervals were captured by a Polar device®, model V-800, already validated for animals for this purpose (Jonckheer-Sheehy, Vinke and Ortolani 2012; Essner et al. 2013). A sequence of RR intervals with 660 consecutive beats and with the highest stability was selected to perform all analyses, according to the methodology previously proposed by Martinello et al. (2022). To perform the examination, the animals were released during the recording period in a room only with their owners to suffer the least possible influence of stress in the clinical environment; the heart rate monitors were only switched off at the end of a period of five to eight minutes, and all collections were performed during the day.

Heart Rate Variability

The HRV was evaluated from the symbolic analysis using symbolic analysis software (fast version), developed in the Department of Pre-Clinical Sciences of Università Di Milano, Italy, of the RR interval series (Perseguini et al. 2011; Valencia et al. 2015), which separated the RR intervals into 6 levels (0 to 5) and ordered them into sequences of 3 symbols that in turn were classified into 4 categories:

1- 0 V% - pattern without variation (3 symbols equal);

2- 1 V% - pattern one variation (2 equal symbols followed by a different symbol);

3- 2 LV% - pattern with two equal variations (3 symbols form ascending or descent ramps);

4- 2UV%, standard with two different variations (3 symbols form peaks or valleys).

The results of the 2 LV% and 2 UV% patterns were summed and presented as 2 V%, as performed by Guzzetti et al. (2005).

Statistical analysis

Descriptive analysis of all quantitative variables, such as the mean, standard deviation and quartiles for each group, was performed. The efficiency of the discrimination of the variations found for the patients and death groups against the G2 group was performed by calculating sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy (with the respective confidence intervals) and constructing the ROC curve. The values of the area under the curve were used to choose the most efficient variables (area above 80%). The assumption of normality of the distribution of variables for each group was made by the Shapiro–Wilk test. For the comparison of the mean/median between all groups, ANOVA (when the assumption of normality was met) and the Kruskal–Wallis test (when the assumption of normality was not met) were used. Multiple comparisons were applied to detect which groups differed from each other. A p value lower than 0.05 was considered to indicate a significant difference between the respective groups.

Results

Table 2 describes the means, medians and standard deviations of each variation analyzed. It was verified in the present study that dogs in group G2 (healthy dogs aged between 1 and 8 years) presented higher values of 2 V and less than 0 V compared to the other groups, showing that young adult animals presented higher parasympathetic predominance. There was

a significant difference in the correlation of group G2 with groups G1 (< 1 year of age), G4 (compensated chronic diseases) and G5 (death) in most of the symbolic variations. There was no significant difference ($P>0.05$) between groups G2 and G3 (healthy > 8 years) (table 3), but group G3 presented lower values of 2 V and higher values of 0 V.

There was no significant difference between groups G1 and G3, G1 and G4, and G3 versus G4 in all symbolic analyses; however, the values of 0 V were higher than the values of 2 V in groups G4 and G1, showing a sympathetic predominance in these groups.

Dogs in group G5 that presented risk of death, as predicted, had significantly lower values of 2 V and higher values of 0 V compared to all other groups, indicating progression toward the equilibrium state, thus revealing an absolute sympathetic predominance at this stage. The mean death of these animals was 6.28 days.

This differentiation between all groups was displayed as a parabolic pattern in box-plot charts (figure 1). Table 2 shows the significant differences in the indices between the analyzed groups in bold ($P<0.05$).

The 0 V index showed a sensitivity of 90.91% and specificity of 93.33%, while the 2 V index showed a sensitivity of 95.45% and specificity of 93.33%, revealing that they are sensitive and specific indices to assist in the identification of dogs at risk of death, in addition to presenting good diagnostic accuracy to assess risk 0 V (96.5%) and 2 V (99.4%). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, diagnostic accuracy and cutoff of each index are shown in Table 4.

The AUROCs of the 0 V and 2 V indices overlapped and did not differ completely from the intersection at certain points, indicating little difference between them (figure 2).

In figure 3, we contemplate the most representative cases of each analyzed group. We can see higher values of 0 V in the puppy dog (group 1), in the dog with chronic disease (group

4) and in the dog at risk of death (group 5) and higher values of 2 V in the young adult dog (group 2) and old dog (group 3).

Discussion

The purpose of this study was to evaluate whether the short-term symbolic analysis of RR intervals, opted for the use of the heart rate monitor, which is widely used for HRV analysis in humans (Vanderlei et al. 2008; Heitmann et al. 2011; Barbosa et al. 2016), is a noninvasive method and very accessible for the analysis of HRV, advantageous in relation to Holter, because it is more comfortable for the patient and presents a good level of agreement already described in humans between the two methods (Min et al., 2008), in addition to being already a validated method for dogs (Jonckheer-Sheely 2012; Essner et al. 2013; Essner et al. 2015).

It was observed that dogs younger than one year old (G1) showed sympathetic predominance, with values greater than 0 V and less than 2 V, but this group of animals did not present significantly different values in relation to the dogs in groups 3 and 4; however, the animals that make up G3 (healthy dogs > 8 years) showed values greater than 2 V, showing parasympathetic predominance in these stages of life, but it was noticed that dogs in group 3 and 4, the values of 0 V increased progressively and the of 2 V have decreased. The immaturity of the autonomic nervous system shows a clear physiological decrease in HRV, but aging and the presence of diseases at different stages cause progressive deterioration of autonomic function, gradually reducing HRV (Godoy and Gregório 2019).

Several studies in humans have shown that the aging process interferes with cardiac autonomic modulation and decreases HRV (Perseguini, et al. 2011; Nascimento et al. 2013; Godoy and Gregory 2019). In the present study, elderly dogs (G3) showed values lower than 2 V and greater than 0 V compared to young adult dogs (G2), i.e., lower HRV and high sympathetic modulation, slightly more evidenced in G3 (healthy dogs > 8 years), although not

significant, which could be explained by the clinical aspect of G3 animals, as cardiac function and structure are initially preserved.

The results revealed that animals with chronic diseases (G4) presented statistically higher values of the 0 V index, displayed by increased cardiac sympathetic modulation, than young adult dogs (G2). HRV translates into a balance or homeostasis between sympathetic and parasympathetic activity, and disease states undoubtedly cause an imbalance between these two systems, promoting more evident sympathetic modulation. The results of the present study are similar to those previously described, which also showed an increase in sympathetic activity in sick dogs (Peripherr et al. 2012; Bogucki and Noszczyk-Nowak 2017; Baisan, Vulpe and Ohad 2021).

A human study based on an extensive amount of data published in the literature combined several individuals with different diseases into the same group and showed that these people had low HRV. The present study also observed that dogs with different diseases have low HRV values compared to healthy dogs (Godoy and Gregório 2022).

In group 5, a pneumonia dog was included, and a decrease in HRV was observed in this patient, corroborating a study carried out in humans diagnosed with pneumonia that showed that sympathetic activity is dominant in these people. Diseases in general, pneumonia in particular, are associated with a balance of pro- and anti-inflammatory processes, leading to an immune response. Pneumonia causes fever, tachypnea, tachycardia and hypoxia, which reflect sympathetic modulation leading to the expected change in HRV (Izhaki et al. 2022).

The SNS is fundamental for the so-called "fighting or flight response" and is activated under physiological conditions of stress in cardiovascular and noncardiovascular diseases. The action of the SNS takes place through the release of catecholamines (norepinephrines) and plays a crucial role in the regulation of homeotase, but its chronic stimulation is particularly harmful

in the case of multiple comorbidities and negatively influences the clinical phenotype (Lucia, Eguchi and Koch 2018; Goldberger et al. 2019).

In the present study, the analysis of AUROCs (sensitivity and specificity) to evaluate the efficiency of these indices in the discrimination of patients at risk of death presented a good diagnostic accuracy and a high sensitivity and specificity to assist in the identification of these dogs. In addition, the cutoff value was obtained for each of these indices, and dogs with values of 0 V greater than 26.18% and 2 V lower than 32.04% had a higher possibility of dying. Thus, symbolic analysis can be very useful to direct veterinarian clinicians in therapeutic monitoring and even prognostically with the data obtained.

I regret that the present study cannot differentiate the group of elderly animals and the group of animals with chronic diseases, which was a limitation found, possibly because aging is characterized by the activation of several neurohormonal pathways, the most important being the SNS. SNS hyperactivity is initially a compensatory mechanism to stimulate contractility and maintain homeostasis, but unfortunately, this chronic stimulation becomes harmful and causes decreased cardiac function (Lucia, Eguchi and Koch 2018), consequently decreasing the VFC and this differentiation between the groups.

To date, the authors are unaware of the performance of any study using symbolic analysis in dogs and its diagnostic accuracy for risk of death in dogs; we observed that dogs with risk of death (G5) physiologically present an exacerbated sympathetic predominance. The decrease in HRV indicates a lower ability to maintain homeostasis, which may predispose the patient to the disease (Takakura et al. 2017) and, if uncontrolled, cause body balance and, consequently, death.

Conclusion

We concluded the efficacy of the symbolic analysis with diagnostic precision for the identification of dogs at risk of death and in the differentiation between the state of health in younger individuals from morbid states in dogs because healthy animals presented better behavior of the ANS in relation to animals with chronic diseases and with risk of death. Thus, symbolic analysis in the clinical routine can contribute to the investigation of a possible condition in patients in which there is a solitary predominance. In addition, it was very clear that animals at risk of death have hyperactivity sns compared to all other groups, which can help in the prognosis and clinical management of dogs.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

Baisan RA, Vulpe V, Ohad DG (2021) Short-term heart rate variability in healthy dogs and dogs in various stages of degenerative mitral valve disease evaluated before pharmacotherapy. J Vet Cardiol 274: 1-6.

<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105704>

Barbosa MPCR, Silva NT, Azevedo FM, Pastre CM, Vanderlei CM (2016) Comparison of Polar RS800G3TM heart rate monitor with Polar S810iTM and electrocardiogram to obtain the series of RR intervals and analysis of heart rate variability at rest. Clin Physiol Funct Imaging 36: 112-117.

<https://doi:10.1111/cpf.12203>

- 294 Bogucki S, Noszczyk-Nowak A (2017) Short-term heart rate variability in dogs with sick sinus
 295 syndrome or chronic mitral valve disease as compared to healthy Controls. *Pol J Vet Sci* 20:
 296 167–172.
 297 [https://doi: 10.1515/pjvs-2017-0021](https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0021)
 298
- 299 Corrêa MS, Catai AM, Milan-Mattos J, Porta A, Driusso, P (2019) Cardiovascular autonomic
 300 modulation and baroreflex control in the second trimester of pregnancy: A cross sectional study.
 301 *Plos One* 14: 1-16.
 302 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216063>
 303
- 304 Costa MD, Davis RB, Goldberger AL (2017) Heart Rate Fragmentation: A New Approach
 305 the Analysis of Cardiac Interbeat Interval Dynamics. *Front in Physiol* 8: 1-13.
 306 <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00255>
 307
- 308 Cysarz D, Porta A, Montano N, Leeuwen VP, Kurths J, Wessel N (2013) Different approaches
 309 of symbolic dynamics to quantify heart rate complexity. 35th Annual International Conference
 310 of the IEEE EMBS: Osaka, Japão, Japan, 3 - 7 July 2013.
- 311 Cysarz D, Leeuwen P V, Edelhäuser F, Montano N, Somers KV, Porta A (2015) Symbolic
 312 Transformations of Heart Rate Variability Preserve Information About cardiac autonomic
 313 control. *Physiol Meas* 36: 643-658.
 314 [https://doi: 10.1088/0967-3334/36/4/643](https://doi.org/10.1088/0967-3334/36/4/643)
 315
- 316 Essner A, Sjostrom R, Ahlgrn E, Lindmark B (2013) Validity and Reability of Polar rs800cx
 317 Hear Rate Monitor, Measuring Heart Rate in Dogs During Standing Position and at Trot on a
 318 Treadmill. *Physiol Behav* 115: 1-5.

<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.03.002>

Essner A, Sjöström R, Ahlgrén E, Gustas P, Edge-hughes L, Zetterberg L, Hellström K (2015) Comparison of polar RS800CX heart rate monitor and electrocardiogram for measuring interbeat intervals in healthy dogs. *Physiol Behav* 138: 247-253.

<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.034>

Godoy MF, Gregório ML (2019) Diagnostic Relevance of Recurrence Plots for the Characterization of Health, Disease or Death in Humans. *J Hum Growth Dev* 29: 39-47.

<https://dx.doi.org/10.7322/jhgd.157746>

Godoy MF, Gregório ML. Heart Rate Variability as a Marker of Homeostatic Level. In: Theodoros Aslanidis and Christos Nouris. *Autonomic Nervous System - Special Interest Topics*. London, United Kingdom: Intechopen Limited; 2022. 25-35.

Goldberger JJ, Arora A, Buckley Una, Shivkumar K (2019) Autonomic Nervous System Dysfunction, *J Am Coll Cardiol* 73: 1189-1206.

<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.12.064>

Guzzetti S, Borroni E, Garbelli PE, Ceriani E, Bella P, Montano N, Cogliati C, Somers VK, Mallani A, Porta A (2005) Symbolic Dynamics of Heart Rate Variability: A Probe to Investigate Cardiac Autonomic Modulation. *Circulation* 112: 465-470.

<https://doi.org/10.1161/circulationaha.104.518449>

- 343 Heitmann A, Huebner T, Schroeder R, Perz S, Voss A (2011) Multivariate short-term heart rate
344 variability: a prediagnostic tool for screening heart disease. *Med Biol Eng Comput* 49: 41-50.
345 [https://doi: 10.1007/s11517-010-0719-6](https://doi.org/10.1007/s11517-010-0719-6)
346
- 347 Izhaki N, Perek S, Agbaria M, Raz-Pasteur A (2022) Ultrashort heart rate variability for early
348 risk stratification in pneumonia patients: Preliminary analysis. *Isr Med Assoc J.* 24: 741-746.
349
- 350 Jonckheer-Sheehy VSM, Vinke CM, Ortolani A (2012) Validation of a Polar® human heart
351 rate monitor for measuring heart rate and heart rate variability in adult dogs under stationary
352 conditions. *J Vet Behav* 7: 205-212.
353 <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2011.10.006>
354
- 355 Kleiger RE, Stein PK, Bigger JT (2005) Heart Rate Variability: Measurement and Clinical
356 Utility. *A.N.E* 10:88–101.
357 [https://doi: 10.1111/j.1542-474X.2005.10101.x](https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.2005.10101.x)
358
- 359 Lucia C, Eguchi A, Koch, WJ (2018) New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During
360 Heart Failure and Aging. *Front Pharmacol* 9: 1-14.
361 [https://doi: 10.3389/fphar.2018.00904](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00904)
362
- 363 Martinello L, Cruz-aleixo AS, Romão FG, Lima MCF, Tsunemi MH, Chiacchio SB, Godoy
364 MF, Lourenço MLG (2022) Short-term Heart Rate Variability Analysis in Healthy Dogs of
365 Different Ages. *Acta Sci. Vet* 50: 1-7.
366 [https://doi: https://doi.org/10.22456/1679-9216.118578](https://doi.org/10.22456/1679-9216.118578)
367

- 368 Min K B, Min JY, Paek D, Coh S, Son M (2008) Is 5-Minute Heart Rate Variability a Useful
 369 Measure for Monitoring the Autonomic Nervous System of Workers? *Int Heart J* 49: 175-181.
 370 [https://doi: 10.1536/ihj.49.175](https://doi.org/10.1536/ihj.49.175)
 371
- 372 Moïse SN, Flanders WH, Pariaut R (2020). Beat-to-Beat Patterning of Sinus Rhythm Reveals
 373 Non-linear Rhythm in the Dog Compared to the Human. *Front in Physiol* 10: 1-22.
 374 [https://doi: 10.3389/fphys.2019.01548](https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01548)
 375
- 376 Moura-Tonello SC, Carvalho VO, Godoy MF, Porta A, Leal AMO, Bocchi AE, Catai AM
 377 (2019) Evaluation of Cardiac Autonomic Modulation Using Symbolic Dynamics After Cardiac
 378 Braz. J. Cardiovasc. Surg 34: 572-580.
 379 <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2019-0236>
 380
- 381 Nascimento LS, Santos AC, Lima AHRA, Dias RMR, Santos MSB (2013) Symbolic analysis
 382 comparison of heart rate variability in middle-aged and older physically active women. *Rev*
 383 *bras ativ fís saúde* 19: 253-259.
- 384 Perseguini NM, Takahashi ACM, Rebelatto JR, Silva E, Borghi-Silva A, Porta A, Montano, N,
 385 Catai AM (2011) Spectral and symbolic analysis of the effect of gender and postural change on
 386 cardiac autonomic modulation in healthy elderly subjects. *Braz J Med Biol* 44: 29-37.
 387 <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2010007500137>
 388
- 389 Peripherr P, Chansaisakorn W, Trisiroj M, Kalandakanond-Thongsong S, Buranakarl (2012)
 390 Heart rate variability and plasma norepinephrine concentration in diabetic dogs at rest. *Vet Res*
 391 *Commun* 36: 207–214.
 392 [https://doi: 10.1007/s11259-012-9531-0](https://doi.org/10.1007/s11259-012-9531-0)

393 Porta A, Guzzetti S, Montano N, Furlan R, Pagani M, Malliani A, Cerutti S (2001) Entropy,
394 Entropy Rate, and Pattern Classification as Tools to Typify Complexity in Short Heart Period
395 Variability Series. IEEE Trans Biomed Eng 48: 282-1291.

396 [https://doi: 10.1109/10.959324](https://doi.org/10.1109/10.959324)

397
398 Silva LEV, Geraldini VR, Oliveira BP, Silva CAA, Porta A, Fazan R (2017) Comparison
399 between spectral analysis and symbolic dynamics for heart rate variability analysis in the rat.
400 Scientific Reports 7: 1-8.

401 [https://doi:10.1038/s41598-017-08888-w](https://doi.org/10.1038/s41598-017-08888-w)

402
403 Takakura IT, Hoshi RA, Santos MA, Pivatelli FC, Nóbregao JH, Guedes DL, Nogueira VF,
404 Frota TQ, Castelo GC, Godoy MF (2017) Recurrence Plots: a New Tool for Quantification of
405 Cardiac Autonomic Nervous System Recovery after Transplant. Braz J Cardiovasc Surg 32:
406 245-52.

407 <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2016-0035>

408 Tobaldini E, Montano N, Wei SG, Zhang ZH, Francis J, Weiss RM, Casali KR, Felder RB,
409 Porta A (2009) Symbolic Analysis of the Effects of Central Mineralocorticoid Receptor
410 Antagonist in Heart Failure Rats. IEEE Trans Biomed Eng 150: 21-26.

411 [https://doi: 10.1016/j.autneu.2009.03.009](https://doi.org/10.1016/j.autneu.2009.03.009)

412
413 Vanderlei LCM, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF (2009) Comparison of the
414 Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and
415 frequency domains. Braz J Med Biol Res 41: 205-217.

416 <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2008005000039>

417

418 Valencia JF, Vallverdu M, Rivero I, Voss A, Luna AB, Porta A, Caminal P (2015) Symbolic
419 dynamics to discriminate healthy and ischemic dilated cardiomyopathy populations: an
420 application to the variability of heart period and QT interval. Philos Trans A Math Phys Eng
421 Sci 373: 1-20.
422 [https://doi: 10.1098/rsta.2014.0092](https://doi.org/10.1098/rsta.2014.0092)

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

Table 1: Diseases manifested by dogs in groups 4 and 5.

Group 4 - Chronic diseases	Group 5 - State of imminent death
Stage C myxomatous mitral valve disease	Neoplasia in the terminal stage: • Multicenter lymphoma • Cutaneous mastocytoma • Lung carcinoma • Renal carcinoma • Neoformation in cardiac base (caudal vena cava obstruction)
Stage III chronic kidney disease	Stage D myxomatous mitral valve disease
Diabetes Mellitus	Stage IV chronic kidney disease
Pulmonary Neoplasia	Refractory pneumonia
Chronic pancreatitis	Status epilepticus
Cardiorenal syndrome	

Table 2: Mean $\pm$ standard deviation and [median] of the indices (mean RR, 0 V%, 1 V% and 2 V%) of HRV in dogs in the different groups analyzed.

Variables	Group 1 < 1 year (n=30)	Group 2 1.1-7.9 years (n=30)	Group 3 >8 years (n=30)	Group 4 Chronic diseases (n=13)	Group 5 Risk of death (n=14)
Mean RR	378,56 $\pm$ 89,13 ^a [351,24]	580,57 $\pm$ 11,74 ^b [542,57]	537,53 $\pm$ 131,74 ^{cb} [558,35]	463,76 $\pm$ 95,635 ^{ad} [437,50]	379,18 $\pm$ 79,94 ^{ad} [371,00]
0 V (%)	40,37 $\pm$ 22,93 ^a [38,32]	14,02 $\pm$ 7,97 ^b [12,47]	26,91 $\pm$ 22,23 ^{abc} [20,61]	36,50 $\pm$ 24,64 ^{acd} [28,85]	75,82 $\pm$ 26,26 ^d [85,79]
1 V (%)	32,05 $\pm$ 10,01 ^a [36,71]	40,08 $\pm$ 4,98 ^b [39,91]	35,95 $\pm$ 8,57 ^{cab} [37,55]	32,69 $\pm$ 10,61 ^{dabc} [36,03]	15,75 $\pm$ 16,55 ^e [10,34]
2 V (%)	27,53 $\pm$ 14,29 ^a [26,49]	45,87 $\pm$ 10,35 ^b [47,84]	37,09 $\pm$ 15,05 ^{cab} [41,39]	30,93 $\pm$ 16,31 ^{dac} [31,48]	8,41 $\pm$ 9,80 ^e [3,82]

Mean RR (mean normal RR intervals); 0 V% - pattern without variation; 1 V% - pattern with a variation; 2 V% - standard with two variations. Different letters in the same line represent significant differences between the groups (one-way ANOVA and Tukey–Kramer; $p \leq 5\%$).

Table 3: Comparison between groups and P values for each variable.

Groups	Mean RR	0 V (%)	1 V (%)	2 V (%)
G1XG2	0,0000	0,0001	0,0126	0,0005
G1XG3	0,0000	0,2012	1,0000	0,3440
G1XG4	0,1493	1,0000	1,0000	1,0000
G1XG5	1,0000	0,0311	0,1067	0,0044
G2XG3	1,0000	0,3454	0,5455	0,5582
G2XG4	0,1950	0,0189	0,1515	0,0795
G2XG5	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
G3XG4	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
G3XG5	0,0003	0,0000	0,0021	0,0000
G4XG5	0,3147	0,0369	0,2559	0,0058

Table 4: Values of SE, SP, PPV, NPV, diagnostic accuracy and cutoff for dogs at risk of death of each index evaluated (0 V and 2 V)

Indices	SE for risk of death, % (IC95%)	SP for risk of death, % (IC95%)	PPV for risk of death, % (IC95%)	NPV for risk of death, % (IC95%)	Accuracy, % (IC95%)	Cutoff
0 V	90,91(70,84-98,88)	93,33(70,88-98,88)	90,91(70,84-98,88)	93,33(77,93-99,18)	96,5(91,0-100,2)	> 26,18 ms > RM
2 V	95,45(77,16-99,88)	93,33(77,93-99,18)	91,30(71,96-98,93)	96,55(82,24-98,79)	99,4(98,2-100,6)	< 32,04% > RM

Sensitivity (SE), specificity (SP), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), accuracy and cutoff of each index were evaluated. Sensitivity to risk of death, % (CI95%) Specificity for risk of death, % (95% CI%) PPV for risk of death, % (95% CI%) VNP for risk of death, % (CI95%) Accuracy, % (95% CI%). Risk of death (MR) and cutoff values < (lower) or > (higher).

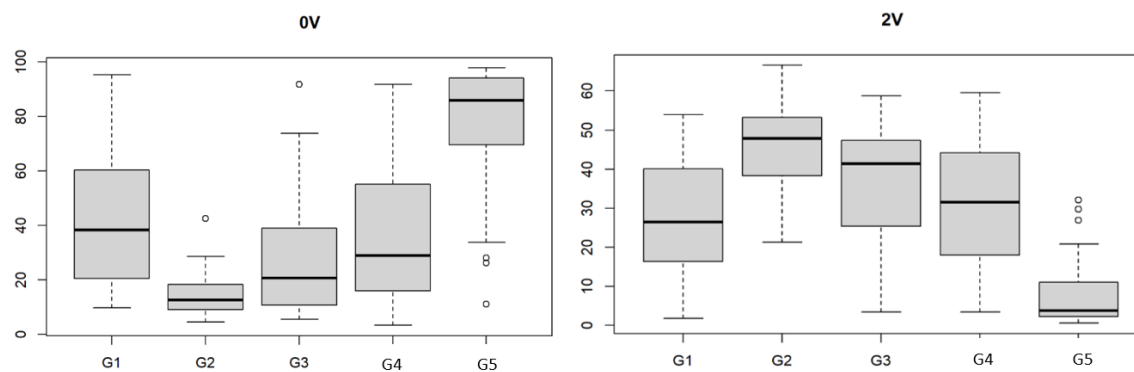


Figure 1: Graphic representation of the positional value of the symbolic analysis of each variable 0 V% and 2 V% in the different groups of dogs analyzed (G1, G2, G3, G4 and G5). A parabolic pattern of the acquired values is perceived

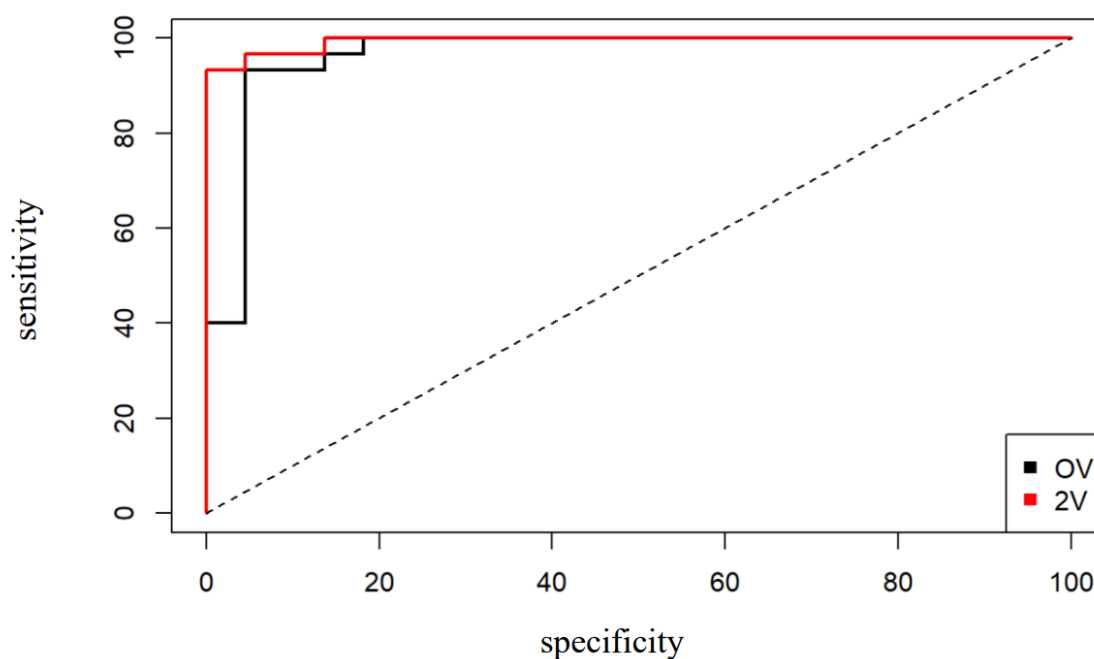
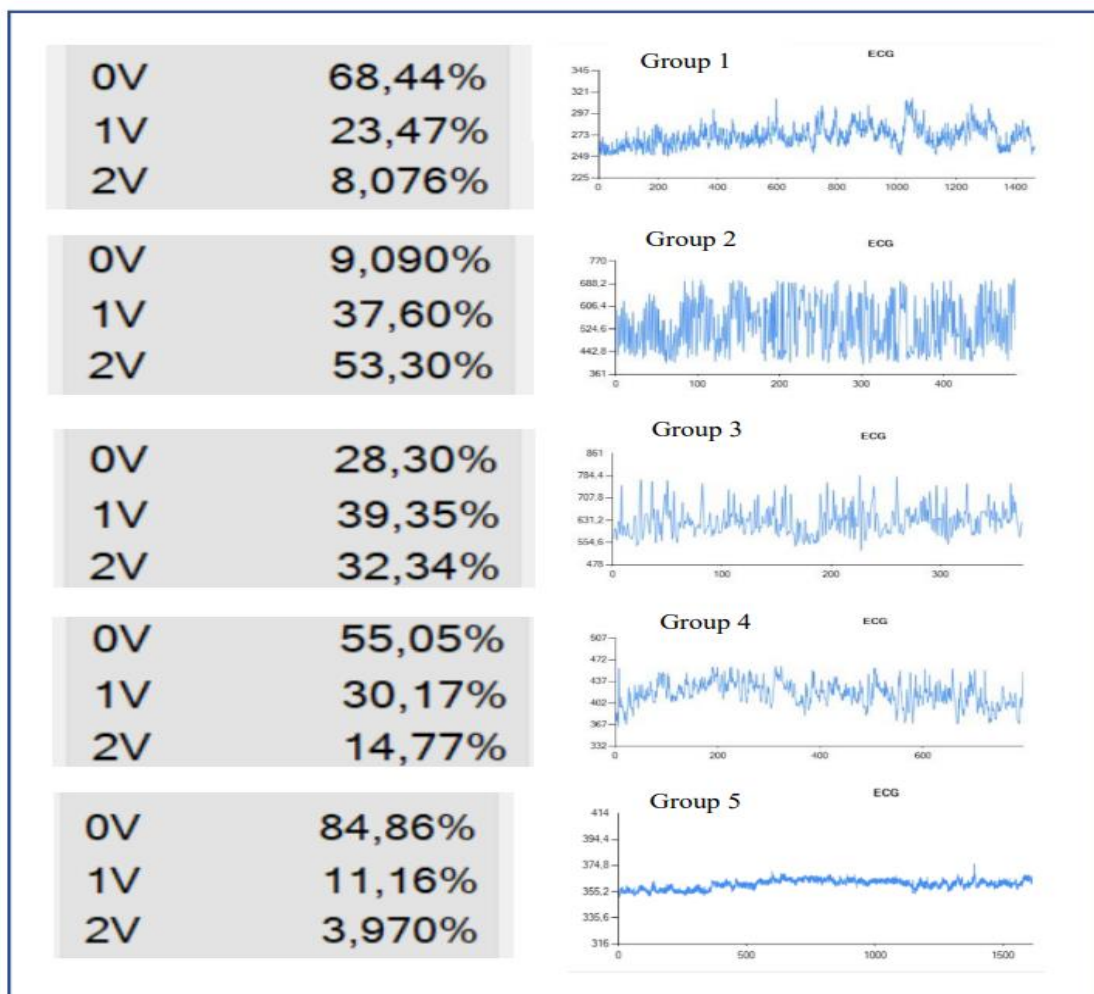


Figure 2: Receiver operating curves of diagnostic accuracy of symbolic analysis indices for risk of death in dogs. 0 V (index that evaluates the sympathetic nervous system) and 2 V (index that evaluates the parasympathetic nervous system).



487 Figure 3: Symbolic analysis of dogs chosen to represent each of the groups: G1- puppies group,
 488 G2: young adults group, G3: elderly group, G4: dogs with chronic diseases (stage C
 489 myxomatous mitral degenerative disease; and G5- dogs at risk of death (stage D mitral
 490 myxomatous degenerative disease)

491

CAPÍTULO III

DISCUSSÃO GERAL

DISCUSSÃO GERAL

O propósito do presente estudo foi investigar a acurácia diagnóstica dos índices não-lineares dos gráficos de recorrência e a análise simbólica e de alguns índices lineares da VFC, e mostrar se podem ser uma ferramenta útil para diferenciar o comportamento autonômico cardíaco nesses grupos de cães, pois não existem trabalhos na literatura até o momento que avaliaram a análise simbólica e os gráficos de recorrência qualitativamente e quantitativamente e acurácia diagnóstica dos índices não-lineares e lineares em cães saudáveis, com doenças crônicas e com risco de morte.

Nesta análise, foi encontrada diminuição acentuada da modulação parassimpática cardíaca e aumento acentuado da modulação simpática em cães com risco de morte e em cães filhotes, possivelmente pela imaturidade do SNA e após a exaustão do mesmo respectivamente. Foi observado também que cães adultos jovens saudáveis demonstraram maior VFC e os valores dos índices não-lineares parassimpáticos estudados diminuíram com a idade e um pouco mais com a perda da hígidez.

No presente trabalho, foram estudadas diversas doenças nos cães que integraram os grupos de doenças crônicas e morte, pois o comportamento autonômico dessas doenças são semelhantes, com total de 27 animais; a maior incidência ocorreu por causas cardíacas (33,3%), seguidas por nefropatias, neoplasias, endocrinopatias, pneumopatias e neuropatia (29,6%, 22,2%, 7,4%, 3,7% e 3,7%, respectivamente).

Neste estudo que avaliou a análise simbólica, foi realizada a comparação entre cães de diferentes faixas etárias e cães com doenças crônicas e em risco de morte iminente, foi decidido essa comparação entre grupos, pois na medicina veterinária não há valores de referência para cães desta análise e o balanço dos sistemas simpático

e parassimpático pode sofrer influência com idade em cães como já observado em um trabalho realizado por MARTINELLO et al., 2022 que avaliou índices lineares da VFC em cães saudáveis com diferentes faixas etárias.

A análise dos GRs foi feita pela comparação entre cães saudáveis, cães com doenças crônicas e em risco de morte, sendo que o grupo dos cães saudáveis foi baseado em um trabalho anteriormente realizado que também mostrou que cães adultos jovens apresentam maior VFC (MARTINELLO et al., 2022), o que corroborou estudos realizados em seres humanos (FINLEY; NUGENT, 1995; GODOY; GREGÓRIO, 2019).

No estudo da análise simbólica, não houve diferença estatística entre cães adultos jovens e cães idosos, o que provavelmente aconteceu pelo fato de ambos os grupos eram compostos por cães saudáveis, mas foi observada diminuição dos índices parassimpáticos com o avançar da idade. Também não ocorreu diferença estatística entre os cães idosos e os cães doentes, pois como já sabido a VFC diminui gradativamente com a idade (GODOY; GREGÓRIO, 2019; MARTINELLO, 2022). Todavia, foi possível notar diferença estatística na comparação de cães adultos jovens com os cães portadores de doenças crônicas, mostrando valores maiores de 0V nos cães doentes, corroborando achados de outros estudos realizados em cães, que também mostram diminuição da VFC em cães doentes (OLIVEIRA et al., 2012; BAISAN, VULPE e OHAD., 2021). Ademais, nossos resultados mostraram que quanto maior a atividade simpática, maior é o potencial de gravidade da doença e assim colaborando para o desfecho de morte.

Os gráficos de recorrência em cães doentes evidenciaram padrões menos difusos e padrões cada vez mais geométricos foram encontrados à medida que o paciente estava se aproximando da morte, demonstrando maior linearidade. Essa é

uma análise interessante, pois os aspectos qualitativos dos GR podem auxiliar na diferenciação do estado de saúde de um paciente. As análises quantitativas mostraram maior previsibilidade, mais recorrência e menos caos nos cães doentes e nos cães com risco de morte, confirmando também que quanto mais grave o paciente se encontra, maior é o predomínio simpático, assim piorando o prognóstico e aumentando a probabilidade de morte.

Foram estudados também alguns índices lineares (SDNN, RMSSD e PNN50%), pois na medicina veterinária são os mais utilizados na rotina clínica e foi observado que esses índices podem ser grandes aliados na diferenciação de animais saudáveis e animais doentes, e também de animais saudáveis com os animais com risco de morte, pois os cães doentes e cães com risco de morte apresentaram menor predomínio parassimpático, e conseqüentemente maior estimulação simpática. Em um trabalho realizado em seres humanos, também foi observado que o SDNN é um bom índice para monitorar o paciente em diferentes estágios da vida (GODOY; GREGORIO, 2019).

Em ambos os estudos foi observado boa capacidade dos índices lineares e não lineares de discriminarem pacientes com risco de morte frente à diversas afecções com base na análise das AUROCs (sensibilidade e especificidade). No primeiro estudo que avaliou os índices lineares e os índices dos GRs, observou que índices lineares (SDNN, RMSSD, PNN50%) foram mais sensíveis (95,45 %) com baixa taxa de falsos negativos em comparação aos outros índices, na identificação de cães com risco de morte. Já os índices não-lineares (REC%, DET% e LAM%) apresentaram maior especificidade (100%) com baixa taxa de falsos positivos, em comparação a todos os outros índices na identificação de cães com risco de morte.

No segundo estudo, observou também uma eficiência dos índices da análise simbólica na discriminação de pacientes com risco de morte, apresentaram boa acurácia diagnóstica e alta sensibilidade e especificidade para auxiliar na identificação desses cães.

Nos dois estudos aqui realizados foi constatada diferença estatística de todas as variáveis pesquisadas na comparação do grupo de cães com risco de morte iminente com todos os outros grupos analisados, mostrando que os cães com risco de morte exibem VFC extremamente baixa com uma maior recorrência indicando progressão em direção a invariabilidade. Em vista disso, pode-se associar a hiperatividade simpática encontrada em nosso estudo, como fator preditor de mortalidade e esses índices não-lineares e lineares podem tornar-se importantes para realizar decisões e/ou intervenções em cães.

Mais estudos devem ser realizados sobre a utilização da VFC na avaliação terapêutica e na monitorização de cães doentes e com risco de morte, pois se o paciente apresenta VFC baixa, o acompanhamento constante dos índices que avaliam a VFC pode ser uma grande ajuda para avaliar o prognóstico e probabilidade de morte e/ou recuperação do paciente.

CONCLUSÃO GERAL

A análise simbólica mostrou que que cães filhotes apresentam predomínio simpático (valores maiores de 0V%), os cães adultos jovens e idosos apresentaram predomínio parassimpático, mas os valores de 2V% diminuíram e os valores de 0V% aumentaram nos cães doentes. Cães com risco de óbito apresentam predomínio simpático e com valores extremamente significativos em comparação a todos os

outros grupos. Os índices %REC, %DET, TT e ShanEn dos Gráficos de Recorrência mostraram valores maiores em cães doentes e aumentaram nos cães com risco de óbito, exibindo nitidamente a perda do Caos. O mesmo ocorreu com as análises lineares, já que os índices que avaliam o sistema nervoso parassimpático estavam com seus valores baixos nestes grupos de pacientes. A maioria dos índices estudados apresentaram excelente acurácia diagnóstica para identificar os cães com risco de morte iminente.

A análise da VFC em curto prazo realizada com o monitor de frequência cardíaca é extremamente útil na rotina clínica de pequenos animais, pois obtemos resultados rápidos, com menos estresse e intervalos RR podem ser extraídos e utilizados em vários programas disponíveis de análise de VFC.

Podemos concluir que as análises não-lineares da VFC ajudam a diferenciar cães saudáveis de cães com doenças crônicas, e apresentam boa acurácia diagnóstica para identificar cães com risco de morte iminente revelando ser uma excelente ferramenta para decisão clínica e prognóstico. Além disso, essas análises ajudam a entender melhor o comportamento autonômico dos cães em diferentes faixas etárias e estado de saúde.

REFERÊNCIAS

AUBIN, D.; DALMEDICO, A. D. Writing the History of Dynamical Systems and Chaos: Longue Dureé and Revolution, Disciplines and Cultures - História Mathematica. **Elsevier Science**, v. 29, n. 3, 2002.

BAISAN, R. A.; VULPE, V., OHAD, D. G. Short-term heart rate variability in healthy dogs and dogs in various stages of degenerative mitral valve disease evaluated before pharmacotherapy. **The Veterinary Journal**, v. 274, p. 1-6, 2021.

BARBOSA, M.P.C.R.; SILVA, N.T.; AZEVEDO, F.M.; PASTRE, C.M.; VANDERLEI, C.M. Comparison of Polar RS800G3TM heart rate monitor with Polar S810iTM and electrocardiogram to obtain the series of RR intervals and analysis of heart rate variability at rest. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 36, p. 112-117, 2016.

BERNTSON, G.G.; BIGGER, J.T.; ECKBERG, D.L.; GROSSMAN, P.; KAUFMANN, P.G.; MALIK, M.; NAGARAJA, H.N.; PORGES, S.W.; SAUL, J.P.; STONE, P.H.; MOLEN, M.W.V. Heart Rate Variability: Origins, Methods and interpretive caveats. **Psychophysiology**, v.34, p. 623-648, 1997.

BOGUCKI S, NOSZCZYK-NOWAK A. Short-term heart rate variability (HRV) in healthy dogs. **Polish Journal of Veterinary**, v. 18, n. 2, p.307-12, 2015.

BUCK, FABIANO. **Análise dos intervalos (r-r) entre monitor wcs pulse e eletrocardiograma portátil porta pak/90**. 2016 (Dissertação de Mestrado) – Teses e Dissertações – Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

COSTA, M.D.; DAVIS, R.B.; GOLDBERGER, A.L. Heart Rate Fragmentation: A New Approach to the Analysis of Cardiac Interbeat Interval Dynamics. **Frontiers in Physiology**. v. 8, 2017.

CYSARZ, D.; LEEUWEN, P. V.; EDELHÄUSER, F.; MONTANO, N, SOMERS, K, V.; PORTA, A. Symbolic Transformations Of Heart Rate Variability Preserve Information About Cardiac Autonomic Control. **Physiological Measurement**, v. 36, p. 643-658, 2015.

CYSARZ, D.; EDELHÄUSER, F.; JAVORKA, M.; MONTANO, N.; PORTA, A. On the relevance of symbolizing heart rate variability by means of a percentile-based coarse graining approach. **Physiological Measurement**, p. 1-34, 2018.

DEPROSPERO, D.J.; ADIN, D. B. Visual representations of canine cardiac arrhythmias with Lorenz (Poincaré) plots. **American Journal of Veterinary Research**, v. 81, 2020.

FALK, T.; JONSSONB, L.; OLSEN, L. H.; PEDERSEN, H. D. Arteriosclerotic changes in the myocardium, lung, and kidney in dogs with chronic congestive heart failure and myxomatous mitral valve disease. **Cardiovascular Pathology**, v. 15, p. 185 – 193, 2006.

FINLEY, J.P.; NUGENT, S.T. Heart rate variability in infants, children and young adults. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 54, p. 103-108, 1995.

FECHINE, B. R. A.; TROMPIERI, N. O Processo de Envelhecimento: As principais alterações que acontecem com o idoso com o passar dos anos. **Revista Científica Internacional**, v. 1, n. 7, p. 106-132, 2012.

GATTI, M. Variabilidade da Frequência Cardíaca e seu valor prognóstico imediato em nefropatas crônicos submetidos à hemodiálise. Dissertação (Mestrado) - de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, 2015.

GODOY, M. F. Teoria do Caos Aplicada à Medicina. Tese (Livre Docência). Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto -FAMERP. São José do Rio Preto, 2003. 179 p.

GODOY, M.F.; GREGÓRIO, M.L. Diagnostic Relevance of Recurrence Plots for the Characterization of Health, Disease or Death in Humans. **Journal of Human Growth and Development**. v. 29, p. 39-47, 2019.

GUZZETTI, S.; BORRONI, E.; GARBELLI, P. E.; CERIANI, E.; BELLA, P. D.; MONTANO, N.; COGLIATI, C.; SOMERS, V.K.; MALLANI, A.; PORTA, A. Symbolic Dynamics of Heart Rate Variability. A Probe to Investigate Cardiac Autonomic Modulation. **Circulation**, v.112, p. 465-470, 2005.

GUO, Y.; KOSHY, S.; HUI, D.; PALMER, J. L.; SHIN, K.; BOZKURT, M.; YUSUF, S.W. Prognostic Value of Heart Rate Variability in Patients with Cancer. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 32, n. 6, p. 516-520, 2015.

HAYANO, J.; YUDA, E. Pitfalls of assessment of autonomic function by heart rate variability. **Journal of Physiological Anthropology**. v.38, n. 3, p. 1-8, 2019.

JAVORKA, M.; TRUNKVALTEROVA, Z.; TONHAJZEROVA, I.; LAZAROVA, Z.;

KHAN, A. A.; LIP, G.Y.H.; SHANTSILA, A. Heart rate variability in atrial fibrillation: The balance between sympathetic and parasympathetic nervous system. **European Journal Of Clinical Investication**, v. 49, n. 11, p. 1-8, 2019.

KLEIGER, E. R.; STEIN, P. K.; BIGGER, J.T.; JR., M.D. Heart Rate Variability: Measurement and Clinical Utility. **A.N.E**, v. 10, n. 1, p. 88-101, 2005.

KOROLJ, A.; WU, H. T.; RADISIC, M. A Healthy Dose of Chaos: Using fractal frameworks for engineering higher-fidelity biomedical systems. **Biomaterials**, v. 219, p. 1-45, 2019.

LUCAS, ADAM. The Order in Chaos. Academia. edu, 1990. Disponível em: https://www.academia.edu/9376895/The_Order_in_Chaos_interviews_with_Gavin_Brown_and_Mitchell_Feigenbaum_unpub_1990. Acesso em: três, fevereiro, 2022.

MARÃES, V.R.F.S. Frequência cardíaca e sua variabilidade: análises e aplicações. **Revista Andalluza de Medicina Del Deporte**, v.3, n.1, p.33-42, 2010.

MARTINELLO, L.; CRUZ-ALEIXO, A.S.; ROMÃO, F.G.; LIMA, M.C.F.; TSUNEMI, M.H.; CHIACCHIO, S.B.; GODOY, M.F.; LOURENÇO, M. L.G. Short-term Heart Rate Variability Analysis in Healthy Dogs of Different Ages. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 50, p. 1-7, 2022.

MCCORRY, L.K. Physiology of the Autonomic Nervous System. **American Journal of Pharmaceutical Education**, v. 71, n.4, p. 1-11, 2007.

Min, K. B.; Min, J.Y.; Paek, D.; Coh, S.; Son, M. Is 5-Minute Heart Rate Variability a Useful Measure for Monitoring the Autonomic Nervous System of Workers? **International Heart Journal**, v. 49, p. 175-181, 2008.

MOÏSE, S.N.; FLANDERS, W. H.; PARIAUT, R. Beat-to-Beat Patterning of Sinus Rhythm Reveals Non-linear Rhythm in the Dog Compared to the Human. **Fronters in Physiology**, v.10, p. 1-22, 2020.

MOURA-TONELLO, S. C.; CARVALHO, V. O.; 2, GODOY, M. F.; PHD; PORTA, A.; LEAL, A. M. O.; BOCCHI, A.E.; CATAI, A. M. Evaluation of Cardiac Autonomic Modulation Using Symbolic Dynamics After Cardiac Transplantation. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 34, n. 5, p. 572-580, 2019.

OESTREICHER, C. A History of Chaos Theory. **Dialogues in Clinical Neuroscience.**, v. 9, n. 3, p. 279-289, 2007.

OLIVEIRA, M.S.; MUZZI, R.A.L.; ARAÚJO, R.B.; MUZZI, L.A.L.; FERREIRA, D.F.; NOGUEIRA, R.F.; SILVA, E.F. Heart rate variability parameters of myxomatous mitral valve disease in dogs with and without heart failure obtained using 24-hour Holter electrocardiography. **Veterinary Record**, v.170, n.24, 2012.

OREL, V.E.; KOROVIN, S.I.; MOLNÁ, J.; OREL, V.B. Non-Linear Dynamics Theory and Malignant Melanoma. **Experimental Oncology**, v. 41, p. 291–299, 2019.

PERSEGUINI, M. N. Análises Espectral E Simbólica Da Modulação Autonômica Cardíaca Em Repouso e Em Resposta À Mudança Postural De Idosos Saudáveis: Comparação Entre Gêneros. Dissertação (Mestrado). Pós-graduação em Fisioterapia. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2010.

PORTA, P.; GUZZETTI, S.; MONTANO, N.; FURLAN, R.; PAGANI, M.; MALLIANI, A.; CERUTTI, S. Entropy, entropy rate, and pattern classification as tools to typify complexity in short reart period variability series. **Journal: IEEE Trans. Biomed. Engineering**, v. 48, p. 1282-1291, 2001.

RASSI, J. A. *Compreendendo melhor as medidas de análise da variabilidade da frequência cardíac*, 2000. Disponível em: < 11w www.cardios.com.br/jornais/jornal-20/metodos diagnosticos.htm>. Acesso em: 16 set. 2018.

RICIERI, A. P. *Fractais e Caos: A matemática de hoje*. São Paulo: Prandiano, 1990.

SÁ, J. C.F.; COSTA, E.C.; SILVA, E.; AZEVEDO, G.D. Variabilidade da frequência cardíaca como método de avaliação do sistema nervoso autônomo na síndrome dos ovários policísticos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.35, n.9, p. 421-426, 2013.

SANTANA, L. I. T. Uso do Gráfico de Recorrência em análise de preços de Etanol e

Açúcar. 2020. Dissertação (Mestrado) - Biometria e Estatística Aplicada. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.

SILVIA, C. S. Função Autonômica Cardíaca E Análise Linear E Simbólica Da Variabilidade Da Frequência Cardíaca De Diabéticos Do Tipo 2: Efeitos Crônicos Do Exercício Resistido. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Rio Claro, 2015.

SILVA, L. E. V.; GERALDINI, V. R.; OLIVEIRA, B. P.; SILVA, C.A.A.; PORTA, A.; FAZAN, R. Comparison between spectral analysis and symbolic dynamics for heart rate variability analysis in the rat. **Scientific Reports**, v.7, p. 1-8, 2017.

SOUZA, A. P. P. C. Importância da Variabilidade da Frequência Cardíaca e dos Gráficos de Recorrência como marcadores de prognóstico em pacientes de Unidade de Terapia Intensiva. 2020. Disertação (Mestrado) – Enfermagem, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, 2020.

STEPHENSON, R.B. Revisão da Função Cardiovascular. In: KLEIN, B.G. **Cunningham-Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p.158-170, 2014.

TAKAKURA, I. T.; HOSHI, R.A.; SANTOS. M. A.; PIVATELLI, F. C.; NÓBREGA0, J.H.; GUEDES, D.L.; NOGUEIRA, V. F.; FROTA, T. Q.; CASTELO, G.C.; GODOY, M. F. Recurrence Plots: a New Tool for Quantification of Cardiac Autonomic Nervous

System Recovery after Transplant. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 32, n. 4, p. 245-52, 2017.

VALENCIA, J. F.; VALLVERDU. M.; RIVERO, I.; VOSS, A.; LUNA, A.B.; PORTA, A.; CAMINAL, P. Symbolic dynamics to discriminate healthy and ischaemic dilated cardiomyopathy populations: an application to the variability of heart period and QT interval. **Philosophical Transactions: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v.373, P. 1-20, 2015.

VANDERLEI, L.C.M.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A.; CARVALHO, T.D.; GODOY, M.F. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.24, n.2, p.205-217, 2009.

WADT, M. P. S. Complexidade e auto-eco-organização: implicações para o professor on-line. 2009. Tese (Doutorado) - Linguística Aplicada e Estudos da Linguagem, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo – PUC, São Paulo, 2009.

WARE, W.A. Doença valvar e endocárdica adquirida. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p.135-141.