Dinamika Poincaréovih dijagrama u procjeni boli novorođenčadi

Šapina, Matej

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:002209

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Matej Šapina

Dinamika Poincaréovih dijagrama u procjeni boli novorođenčadi

Doktorska disertacija

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Matej Šapina

Dinamika Poincaréovih dijagrama u procjeni boli novorođenčadi

Doktorska disertacija

Osijek, 2018.

Mentor rada: Doc.prim.dr.sc. Silvija Pušeljić, dr.med.

Rad ima 60 stranica.

PREDGOVOR

Jedna od motivacija za istraživanje srčane varijabilnosti u novorođenačkom stresu je bila pokazati da se vrhunska znanost može, unatoč svim poteškoćama, provesti s minimalnim sredstvima, uz mnogo truda i kreativnosti. Izuzetno sam sretan što u tome i uspjeli! Mi, iz jedne male klinike, prepoznati smo u svjetskim znanstvenim časopisima kao ekipa koja itekako vrijedi!

Na cijelom putu nisam bio sam i s toga ne mogu ne zahvaliti svima onima koji su mi pomogli. Prije svega zahvaljujem roditeljima, koji su me uvijek poticali na učenje (hvala mama, hvala tata!). Hvala bratu (Marijanu) i sestri (Mateji) što su sa zanimanjem slušali ono što govorim i ispravljali me kada bih pretjerao. Hvala i Tomislavu, koji je bio uvijek tu kada je zapelo.

Istraživanje ne bi bilo moguće bez Karolinine i Krešine pomoći s kojima sam proveo, sada već i planirajući, snimajući, analizirajući podatke. Hvala vam što sam baš s vama mogao pokazati kako apstraktni matematički koncepti mogu mijenjati konzervativne paradigme. Uz vas, Alen i Marko su bili ti koji su morali na kavama slušati sve što radim.

Također ne mogu ne zahvaliti svim roditeljima koji su uključili svoje mališane u istraživanje. Na dobrom smo putu smanjivanja i kontrole boli novorođenčadi!

Disertacija je tek formalni završetak poslijediplomskog obrazovanja, a mnogo toga nas još čeka!

Somewhere, something incredible is waiting to be known.

Carl Sagan

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1 Prilagodba novorođenčeta na vanmaternične uvjete života 1
1.2 Bol i razvoj boli u novorođenčadi 1
1.3 Srčana varijabilnost i autonomni živčani sustav 4
1.4 Analiza Poincaréovih dijagrama 5
1.5 Asimetrija Poincaréovih dijagrama 9
2. HIPOTEZA 11
3. CILJ ISTRAŽIVANJA 12
4. ISPITANICI I METODE 13
4.1. Ustroj studije 13
4.2. Ispitanici 13
4.3. Protokol istraživanja 13
4.4. Prikupljanje i digitalna obrada podataka 15
4.4.1.Priprema podataka za obradu 15
4.4.2. Surogat modeli 16
4.4.3. Mjerenje standardnih deskriptora i izračun srčane asimetrije 19
4.5. Statističke metode 24
5. REZULTATI 25
6. RASPRAVA 43
6.1. Analiza Poincaréovih dijagrama 43
6.2. Asimetrija i entropija Poincaréovih dijagrama 46
6.3. ROC analiza 47
7. ZAKLJUČCI 50
8. SAŽETAK 51
9. SUMMARY 52
10. LITERATURA 53
11. ŽIVOTOPIS 60

KRATICE

ASCII	American Standard Code for Information Interchange
ANOVA	Analiza varijance
C.I.	Interval pouzdanosti
DNA	Deoksiribonukleinska kiselina
EI	Ehlerov indeks
LF	Low frequency power
GI	Guzikov indeks
HF	High frequency power
HRA	Heart rate asymmetry
ID	Identifikacijski broj
PI	Portin indeks
RMSSD	Root mean square of the successive sifferences
ROC	Reciever operating characteristics
SD1	Standardna devijacija histograma okomitog na liniju identiteta
SD2	Standardna devijacija histograma paralelnog s linijom identiteta
SDNN	Standard deviation of normal to normal R-R intervals
SKG	Šapina-Kramarić-Garcin indeks

POPIS SLIKA

Slika 1. Prikaz nekoliko reprezentativnih vremenskih zapisa i njihovih pratećih Poincaréovih dijagrama

Slika 2. Prikaz Poincaréovog dijagrama zapisa RR intervala

Slika 3. Prikaz Poincaréovog dijagrama zapisa RR intervala za prvih 10 lagova

Slika 4. Reprezentativni prikaz pročišćenog zapisa RR intervala jednog ispitanika

Slika 5. Prikaz postavljanja tijela Firstbeat Bodyguard uređaja na područje gornjeg desnog toraksa ispitanika

Slika 6. Reprezentativni prikaz zapisa RR intervala i randomiziranih podataka

Slika 7. Prikaz autokorelacije zapisa RR intervala

Slika 8. Prikaz odnosa izvornog i modificiranog Poincaréovog dijagrama

Slika 9. Prikaz binarne distribucije entropije

Slika 10. Poincaréovih dijagrama kroz faze istraživanja za jednog reprezentativnog ispitanika

POPIS TABLICA

Tablica 1. Prikaz rezultata SD1 za različite lagove u pojedinim fazama istraživanja

Tablica 2. Post hoc p-vrijednosti za SD1

Tablica 3. Prikaz rezultata SD2 za različite lagove u pojedinim fazama istraživanja

Tablica 4. Post hoc p-vrijednosti za SD2

Tablica 5. Prikaz rezultata SD1/SD2 za različite lagove kroz pojedine faze istraživanja

Tablica 6. Post hoc p-vrijednosti za SD1/SD2

Tablica 7. Prikaz rezultata SD1 i SD2 za različite lagove u pojedinim fazama istraživanja dobivenih randomizacijom originalnih vremenskih zapisa

Tablica 8. Prikaz p-vrijednosti usporedbi SD1 i SD2 izvornih i randomiziranih vremenskih zapisa za različite lagove

Tablica 9. Prikaz rezultata parametara SKG indeksa za različite lagove pojedinih faza istraživanja

Tablica 10. Prikaz rezultata SKG indeksa za različite lagove u pojedinim fazama istraživanja dobivenih randomizacijom izvornih vremenskih zapisa

Tablica 11. Prikaz rezultata entropija SKG indeksa pojedinih faza istraživanja

Tablica 12. Prikaz utjecaja različitih duljina Faze 1 istraživanja na najznačajnije parametre (lag 1)

Tablica 13. Rezultati ROC analize modela univarijatne logističke regresije standardnih deskriptora

Tablica 14. ROC analiza multi lag modela logističke regresije standardnih deskriptora

Tablica 15. Prikaz rezultata ROC analize modela univarijatne logističke regresije za lag 1 i različite duljine zapisa faze 1

Tablica 16. Prikaz rezultata ROC analize modela multiple logističke regresije različitih duljina zapisa faze 1

1. UVOD

1.1 Prilagodba novorođenčeta na vanmaternične uvjete života

Tijekom cijelog života ljudski organizam se adaptira na promjene u okolini. One kreću od intrauterinog razvoja i nastavljaju se do odrasle dobi. Međutim, novorođenački period, prvih 28 dana od rođenja djeteta, je razdoblje u kojem se događaju najdramatičnije i najbrže fiziološke promjene (1). Svi organski sustavi su zahvaćeni, a trenutačni učinci su vidljivi na respiratornom i kardiovaskularnom sustavu, jer ukoliko promjena izostane, novorođenčetu prijeti smrtni ishod (1).

Intrauterino se fetus razvija u relativno stacionarnim uvjetima, u mraku, tišini, lebdeći u mediju konstantne temperature i parcijalnih tlakova respiracijskih plinova (2, 3). Početkom poroda novorođenče biva izloženo djelovanju mehaničkih sila koje su najintenzivnije tijekom prolaza kroz porođajni kanal kada dolazi do konačnog istiskivanja dijela tekućine iz dišnih putova novorođenčeta. Kada je dijete porođeno, temperatura prostora u kojem se nalazi niža je u odnosu na intrauterinu, zvuk se intenzivira i biva izloženo djelovanju svjetla. Posljedično se stvara akutna stresna reakcija, aktivacija autonomnog živčanog sustava, reninsko angiotenzinskog sustava te izlučivanje glukokortikoida (4). Trenutačna adaptacija je neophodna od trenutka kada se podveže pupkovina i u potpunosti se razdvoji novorođenče od majke i ono uspostavlja samostalnu cirkulaciju i disanje (5).

Unatoč tomu što je homeoterm, novorođenče je termolabilan organizam i sklono je pothlađivanju (6). Fetalni nefrološki sustav započinje sa stvaranjem mokraće oko trećeg mjeseca, ali najveći dio do početka ekstrauterinog života, obavlja placenta (7). Promjene gastrointestinalnog sustava su sporije i uključuju adaptaciju na potpuno novi način prehrane, s kontinuiranog dotoka hranjivih tvari putem placente, na intermitentnu (7, 8). Od ostalih sustava, imunološki sustav dolazi u kontakt s vlastitim i nekim antigenima majke, a živčani sustav se još dugo nakon rođenja razvija (7, 9).

1.2 Bol i razvoj boli u novorođenčadi

Dugo vremena bol u novorođenačkoj populaciji nije dobivala dovoljnu pažnju i kao takva nije liječena (10). Uvažena je bila paradigma kako, zbog nedovoljno razvijenog živčanog sustava, novorođenčad ima smanjenu ili potpuno odsutnu mogućnost osjećati

bol. U evolucijskom smislu, objašnjavalo se kako je takva adaptacija potrebna zbog bolnog prolaska kroz porođajni kanal (11, 12).

Prema *Intenational association of Pain,* bol je definirana kao "neugodno osjetilno i emocionalno iskustvo povezano s potencijalnim ili stvarnim oštećenjem tkiva", a "bol je uvijek subjektivna". Međutim, takvom definicijom isključena je neverbalna populacija kao što je novorođenčad. Definicija je dopunjena naglašavanjem važnosti liječenja boli u svim neverbalnim populacijama:

"Nemogućnost osjećaja komunikacije ni u kojem slučaju ne negira mogućnost da pojedinac osjeća bol" (13).

Bolni putevi sastoje se od aferentnog i eferentnog dijela (14). Aferentni put započinje perifernim nociceptorima, živčanim završecima osjetljivim na bol (14). Oštećene stanice izlučuju tvari - prostaglandine, bradikinine, serotonin, tvar P, histamin, koji započinju generiranje impulsa (15-17). Bolni impulsi se šire prema stražnjem rogu leđne moždine, odakle dalje mogu ići u dva smjera: natrag periferno čime se započinje refleksni akt odmicanja od stimulusa, i centralno, prema talamusu, koji djeluje kao relejna jezgra i facilitira diskriminaciju i lokalizaciju boli (14, 18).

Tijekom embrionalnog razvoja, živčani završeci se počinju razvijati perioralno tijekom sedmog tjedna gestacije. Razvoj živčanih završetaka širi se preko lica, ruku i dlanova do kraja jedanaestog tjedna, po trupu i proksimalnim ekstremitetima do petnaestog tjedna, a na mukozne membrane i preostalo kutano područje do dvadesetog tjedna intrauterinog života (19).

Oko dvanaestog tjedna veze između perifernih nociceptora i živčanih stanica u stražnjim rogovima leđne moždine. Od dvanaestog do dvadesetog tjedna gestacije veza između živčanih stanica stražnjih rogova i cerebralnog korteksa nije u potpunosti razvijena, što znači kako je fetus u mogućnosti raditi refleksne radnje uklanjanja, bez obzira na nedostatak percepcije boli. Putovi između živčanih stanica stražnjeg roga moždine i talamusa završeni su između 24. do 26. tjedna gestacije, čime je stvorena osnova za percepciju boli (19, 20).

Dvije su vrste živčanih vlakana kojima se bol širi - nemijelinizirana (C-polimodalna vlakna), kojim se širi duboka, tupa, visceralna bol, i mijelinizirana (Aδ, za oštru i brzu bol). Mijelinizacija neurona nociceptornog trakta je završena oko 37. tjedna

gestacije. Unatoč nemijeliniziranim putevima, duljina cjelokupnog nociceptornog trakta je u nedonoščadi kraća u odnosu na terminsku novorođenčad i odrasle, što znači da podjednako brzo mogu osjetiti bol (20).

Međutim, nerazvijeni descedentni modulatorni putevi kojima se putem intrinzičkih opioida i tzv. "gate-control" teorije umanjuje bol, nisu još uvijek razvijeni (21). Kombinacijom nemijeliniziranih ascedentnih nociceptornih puteva i nerazvijenost descedenthih, modulatornih puteva zapravo pokazuje kako nedonoščad može osjetiti bol kao tupu, dugotrajniju u odnosu na odrasle, i nije u mogućnosti ništa po tom pitanju poduzeti (20).

Unatoč tomu što su tri desetljeća prošla od Anandovog i Hickeyovog seminalnog djela gdje su dokazali kako nociceptorna aktivnost uzrokuje ozbiljan fiziološki stres u novorođenčadi, u mnogim jedinicama intenzivnog liječenja novorođenčadi i nedonoščadi, brojni se medicinski zahvati rade bez ili s nedostatnom analgezijom (19, 22). Sva novorođenčad barem u jednom trenutku bivaju izložena jatrogenim bolnim podražajima, a što je gestacijska dob niža, podražaji postaju učestaliji i invazivniji (22).

Novija istraživanja su pokazala kako opetovano ponavljanje bolnih podražaja može uzrokovati trajne promjene u procesuiranju boli pojedinca (23). Dugoročno se mogu događati epigenetske promjene, koje mogu imati utjecaj na neuralni razvoj, modulaciju boli i reaktivnosti na bolne podražaje u odrasloj dobi (23).

Neliječena bol može imati kratkoročne i dugoročne posljedice. Kratkoročno bolni podražaji uzrokuju desaturacije, niže vrijednosti parcijalnog tlaka kisika u tkivima, povećavaju akciju srca i srčanu varijabilnost, brze oscilacije intrakranijskog tlaka (24-28). Nadalje, događaju se hormonalne promjene, povećava se serumska razina kortizola, aldosterona, hormona rasta, kateholamina i glukagona (29). Takva akutna stresna reakcija posebno je značajna za nedonoščad zbog velike potrošnje energetskih zaliha, čime se povećava mortalitet i morbiditet, a stres, dugoročno, može uzrokovati imunosupresiju (20). S obzirom da postoji nezrelost imunološkog sustava, novorođenčad dodatno postaje podložnija infekcijama (30, 31). Liječenje boli kratkoročno uzrokuje stabilizaciju krvnog tlaka i smanjenje broja hipoksičnih epizoda (32).

Dugoročne posljedice neliječene boli još uvijek se istražuju. Međutim, studije kojima se prati nedonoščad pokazale su brojna odstupanja u neurološkom razvoju, u

smislu motoričkih i kognitivnih defekata, poremećaja ponašanja, slabije adaptivne sposobnosti, smanjenje socijalne kontrole i sl. (20, 33-37). Svakako postoji korelacija između nedonošenosti i težine kliničke slike s navedenim neurološkim ishodom, ali smatra se da udio u utjecaju na neurološki razvoj zasigurno ima i kontrola boli (38).

Tijekom fetalnog razvoja, živčano tkivo prolazi kroz brojne epigenetske promjene (39). Vrlo specifični obrasci metilacije DNA su potrebni za regulaciju funkcije genoma (40). Povećana metilacija inihibira gensku ekspresiju, a snižena povećava (41). S obzirom na to da brojne promjene i dinamiku tijekom fetalnog razvoja, epigenetske promjene su izraženije za to vrijeme (42). Za razliku od genoma, na kovalentne promjene DNA metilacijom utječu ozljede. Akutna ozljeda za vrijeme kritičnih razvojnih promjena su rizični faktor za razvoj kronične boli (42, 43). Obzirom da okoliš uvelike utječe na metilacijski status organizma u razvoju, utjecaj bolnog stimulusa na epigenetske modifikacije se ne može dovoljno naglasiti (20).

1.3 Srčana varijabilnost i autonomni živčani sustav

Analiza varijabilnosti srčanog ritma obuhvaća više skupina analitičkih metoda pomoću kojih se opisuju razlike u duljinama sukcesivnih RR intervala (44, 45). Za razliku od tradicionalnog fiziološkog shvaćanja homeostaze kao autoregulacije u svrhu zadržavanja stabilnog stanja, biološki sustavi slijede značajno složenije obrasce ponašanja (46, 47). Upravo, obzirom na kompleksnost dobivenog signala, razvijen je široki spektar analitičkih metoda i matematičkih modela kojim bi se ona opisala (45). Najjednostavnije se metode mogu grupirati u tri velike skupine: 1) metode vremenske domene, 2) metode spektralne domene i 3) nelinearne metode (45).

Metode vremenske domene obuhvaćaju tradicionalne statističke metode kojima se opisuju aritmetička sredina, varijanca i standardna devijacija, i geometrijski indeksi histograma frekvencija (45). Ozbiljan nedostatak analize metodama vremenske domene je nedostatak prikaza kompleksnih procesa u pozadini signala. Metode spektralne domene domene su u širokoj upotrebi, od kojih je analiza brzim Fourierovim transformacijama zasigurno najkorištenija u istraživanjima (45, 48). Kompleksni signali se razlažu na temeljne frekvencije i kao rezultat dobiju se spektri, koji pokazuju izravan odnos s autonomnim živčanim sustavom (48).

Kako su biološki signali produkt brojnih kompleksnih varijabli, koje nemaju u osnovi linearna svojstva, racionalna je primjena nelinearnih analitičkih metoda (49, 50). Tek neke od metoda su: Poincaréovi dijagrami, Lyapunov indeks, aproksimativna i entropija uzorka, fraktalna analiza i Hurstov eksponent, korelacijska dimenzija itd. (51-58). Unatoč složenim matematičkim analizama, glavno ograničenje nelinearnih metoda je postojanja problema interpretacije u kontekstu fiziologije, odnosno patofiziologije.

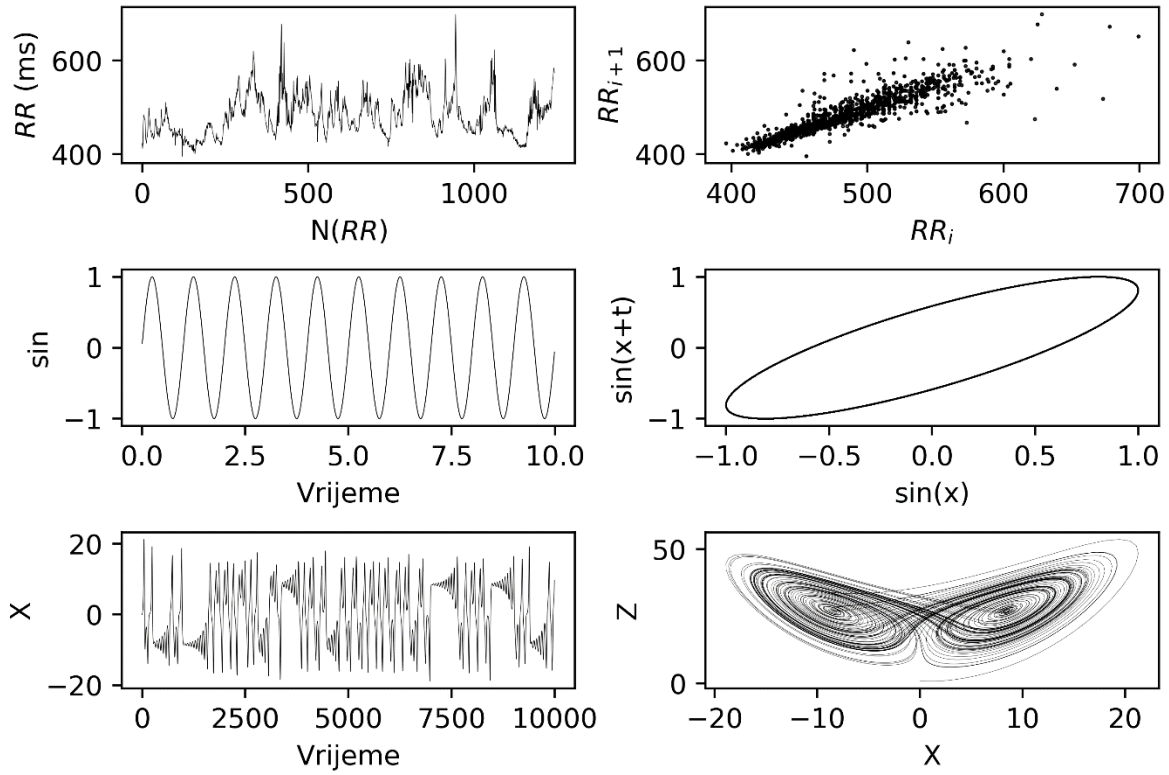
U kliničkom smislu, značaj varijabilnosti srčanog ritma prepoznat je šezdesetih godina prošlog stoljeća tijekom opservacije fetalnog distresa (59). Obzirom na izravnu vezu s autonomnim živčanim sustavom, analiza srčane varijabilnosti, spektralna analiza pokazala se dobrom dijagnostičkom metodom, u ispitivanju baroreceptorske nestabilnosti, sinkopa, i drugih poremećaja autonomnog živčanog sustava (60-62). U međuvremenu u mnogim kliničkim istraživanjima potvrdilo se kako je redukcija varijabilnosti negativan prognostički znak u brojnim kliničkim stanjima. Općenito, što je ljudski organizam mlađi, varijabilnost srčanog ritma je veća, a u kontekstu zdravlja i bolesti, postojanje varijabilnosti je znak zdravlja, jer veća varijabilnost predstavlja veću sposobnost prilagođavanja i obrnuto (63).

1.4 Analiza Poincaréovih dijagrama

Jedna od najčešće korištenih metoda analize biomedicinskih signala su Poincaréovi dijagrami (64). Riječ je o prikazu signala u faznom prostoru u kojem je pojedina vrijednost (n+1) prikazana kao funkcija prethodne (n). Pravac pod nagibom 45° naziva se linija identiteta, a predstavlja vrijednosti gdje je sukcesivna vrijednost jednaka prethodnoj ($RR_{i+1}=RR_i$), a oko njega su raspršene vrijednosti. Nije ograničena na biomedicinska istraživanja, već se može iskoristiti za analizu vremenskog signala neovisno o etiologiji. S druge strane, ni fazni prostor nije ograničen samo na jedan odmak (eng. *lag*) (n+1), nego ih može postojati toliko koliko je N-1 podataka vremenskog signala.

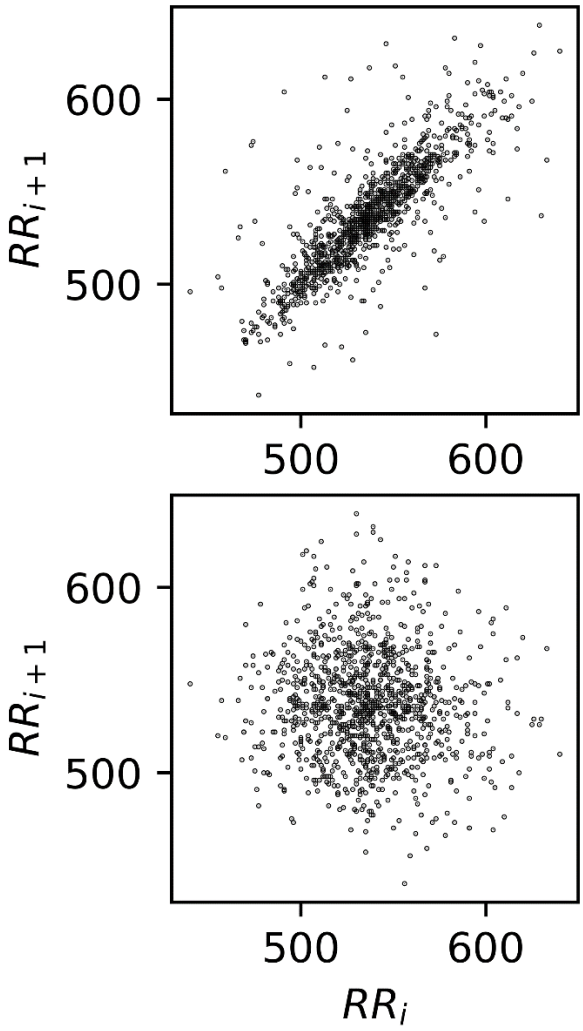
Prednost prikaza rezultata Poincaréove analize je vizualna interpretacija, zbog lakoće zapažanja odstupajućih vrijednosti, prikazivanje autokorelacije, detektiranja artefakata i sl.. Fazni prostor sadrži stanja jednog signala, čime se opisuje njegova dinamika. Ako je u faznom prostoru prikazan zapis RR intervala, dobijemo tipični Poincaréov dijagram za RR intervale. Sinusna funkcija može poprimati oblike elipse ili kružnice, ovisno o tome koliki je *lag*. A vjerojatno najpoznatiji prikaz Poincaréovog

dijagrama, poznat i u općoj populaciji je tzv. Lorenzov leptir (ili atraktor), koji je rezultat triju običnih diferencijalnih jednadžbi (Slika 1., Slika 2. i Slika 3.). U osnovi, svaka funkcija se može prikazati na ovaj način. Međutim, kompleksni biomedicinski signali mogu sadržavati, ovisno o sposobnosti uzorkovanja uređaja, i po desetke tisuća vrijednosti, čime često dolazi do preklapanja vrijednosti, zbog čega se dobivaju "oblaci" u faznom prostoru. Zbog toga je prvi puta opisano nekoliko različitih oblika: 1) oblik kometa (karakterističan za zdravu populaciju), 2) poput torpeda – kao rezultat smanjene cjelokupne varijabilnosti, 2) lepezastog oblika – smanjena cjelokupna varijabilnost s naglašenom disperzijom, 3) kompleksni oblici – karakteristični za aritmije, gdje je vidljivo više *clustera* RR intervala (64).



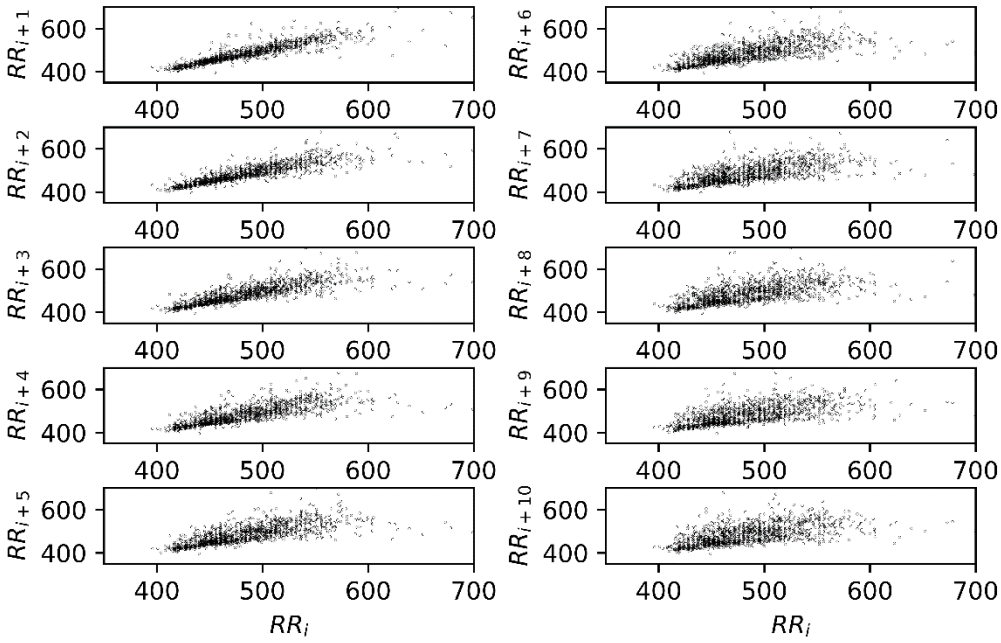
Slika 1. Prikaz nekoliko reprezentativnih vremenskih zapisa i njihovih pratećih Poincaréovih dijagrama

Lijevi stupac predstavlja vremenske zapise, a u desnom stupcu se nalaze njihovi prikazi u Poincaréovim dijagramima. U prvom redu se nalazi primjer zapisa RR intervala jednog ispitanika iz doktorske disertacije s tipičnim Poincaréovim dijagramom za zapis RR intervala. U drugom redu je jednostavna sinusna funkcija, čiji prikaz u faznom prostoru predstavlja elipsu, a u trećem redu se nalazi zapis Lorenzove diferencijalne jednadžbe s tzv. Lorenzovim leptirom (ili atraktorom) u faznom prostoru.



Slika 2. Prikaz Poincaréovog dijagrama zapisa RR intervala

Gornja slika prikazuje Poincaréov dijagram fiziološkog zapisa, a donja randomiziranih podataka. Vidljiv je izostanak pozitivne korelacije kada je zapis podataka randomiziran.



Slika 3. Prikaz Poincaréovog dijagrama zapisa RR intervala za prvih 10 *lagova*

S postupnim povećanjem *lagova* vidljivo je i povećanje širine Poincaréovih dijagrama, kao posljedica smanjenja autokorelacije.

Kako bi se uklonio nedostatak subjektivne, vizualne procjene dobivenih podataka, osmišljeni su tzv. standardni deskriptori Poincaréovih dijagrama, SD1 i SD2 (65). Oni su rezultat postavljanja elipse na dijagram, a standardni deskriptori su vrijednosti za kratku (SD1) i dugačku (SD2) os dobivene elipse. SD1 je mjera za varijabilnost vrijednosti okomitu, a SD2 za varijabilnost paralelnu s linijom identiteta (65).

Posebnu važnost ima upravo linija identiteta ($RR_i=RR_{i+1}$). Sve vrijednosti koje se nalaze iznad predstavljaju deceleracije ($RR_{i+1}>RR_i$), a sve vrijednosti ispod predstavljaju akceleracije. Rađena su istraživanja postavljanja matematičkog modela utjecaja autonomnog živčanog sustava na Poincaréove dijagrame, gdje su simpatikus i parasimpatikus modelirani kao oscilatori (66). Dokazano je kako je djelovanje parasimpatikusa na SA čvor značajno brže u odnosu na simpatikus, dok je djelovanje simpatikusa dugotrajnije. Upravo korištenjem metoda spektralne analize, djelovanje parasimpatikusa prikazuje se spektrom visokih frekvencija, a djelovanje simpatikusa, spektrom niskih frekvencija. Pronađena je korelacija između standardnih deskriptora i

analize spektralne domene, zbog čega se tonus autonomnog živčanog sustava može prikazati analizom Poincaréovih dijagrama (67). SD1 predstavlja kratkoročnu varijabilnost, odnosno trenutačne oscilacije, odnosno djelovanje parasimpatikusa, dok SD2 predstavlja dugoročnu varijabilnost i djelovanje simpatikusa (52, 65).

Obzirom na linearni izračun vrijednosti standardnih deskriptora, statistički značajne korelacije pronađene su s vrijednostima vremenske i spektralne domene. Apsolutna pozitivna korelacija postoji između RMSSD i SD1, zbog matematičke povezanosti $\text{RMSSD} = \sqrt{2 * \text{SD1}}$ unatoč različitom porijeklu (68). SD2 najviše korelira s ukupnom varijabilnosti (SDNN), što je, čini se posljedica odnosa ukupne s dugoročnom varijabilnosti u kratkotrajnim zapisima (67).

Omjer SD1/SD2 je nelinearna analitička metoda, a predstavlja mjeru za nepredvidivost RR zapisa i može se opisati kao: mjera za balans autonomnog živčanog sustava – omjer tonusa simpatikusa i parasimpatikusa; omjer između dugoročne varijabilnosti i kratkoročne varijabilnosti; odnosno, prema analogiji omjeru niskih i visokih frekvencija spektralne domene (LF/HF) (69). Uzimajući u obzir mogućnost prikazivanja recipročnog omjera (SD2/SD1), na takav način se prikazuje omjer kratkoročne varijabilnosti i dugoročne varijabilnosti, odnosno parasimpatikusa i simpatikusa.

1.5 Asimetrija Poincaréovih dijagrama

Vizualnom inspekcijom Poincaréova dijagrama vidljivo je postojanje nejednolikog rasporeda pojedinačnih vrijednosti s obzirom na liniju identiteta. Sve vrijednosti koje se nalaze iznad linije identiteta opisuju usporavanje srčanog ritma, a one ispod, ubrzavanje. Analiza asimetrije srčanog ritma (HRA) je relativno novi koncept kojim se dopunjuje panel postojećih analitičkih metoda analize srčane varijabilnosti (70).

U zdravom organizmu, prilikom mirovanja, pojava asimetrije je najveća, međutim, u brojnim patološkim stanjima opaženo je kako dolazi do redukcije asimetrije. Ako se fiziološki signal izmiješa kako bi se izgubila njegova intrinzična svojstva, ali očuvale mjere centralne tendencije, on postaje nasumičan i u faznom prostoru gubi izduženi oblik, poprima oblik više nalik na kružnicu, čime se pokazuje kako biološki signali nisu nasumični.

Do sada je opisano samo nekoliko indekasa asimetrije Poincaréovih dijagrama, među kojima su najpoznatiji Portin, Ehlerov i Guzikov indeks (71-73).

Portin indeks (PI) se temelji na računanju udjela akceleracija (ΔRR^-), u ukupnom broju RR točaka, koje ne leže na liniji (72).

$$PI = \frac{N(\Delta \mathrm{RR}^-)}{N(\Delta \mathrm{RR}^- \neq 0)}$$

Ehlerov indeks (EI) se računa na temelju asimetrije razdiobe razlike dva sukcesivna RR intervala (ΔRR). Nema krajnjih vrijednosti, ali za EI>0, distribucija je nagnuta udesno, a za EI<0, ulijevo (73).

$$EI = \frac{\sum_{i=1}^{N(\Delta \mathrm{RR})} \Delta \mathrm{RR(i)}^3}{(\sum_{i=1}^{N(\Delta \mathrm{RR})} \Delta \mathrm{RR(i)}^2)^{3/2}}$$

Guzikov indeks (GI) predstavlja prosječnu kvadriranu udaljenost točaka Poincaréovog dijagrama od linije identiteta (x = y), dijeljenu sa zbrojem prosječnih kvadriranih vrijednosti iznad i ispod linije identiteta (71).

$$GI = \frac{\sum_{i=1}^{N(\Delta \mathrm{RR}^+)} \Delta(\mathrm{RR}^+)^2(i)}{\sum_{i=1}^{N(\Delta \mathrm{RR}^+)} \Delta \mathrm{RR}^2(i)}$$

U novije vrijeme opisan je i SKG indeks koji obuhvaća karakteristike PI i GI (74). Izvorni Poincaréov dijagram se transformira u novi fazni prostor, kako bi na y-osi bila razlika dvaju sukcesivnih RR intervala (ΔRR), dok na x-osi ostaje originalni RR interval. Potom se zbroj ΔRR intervala iznad ili ispod nove linije identiteta kvadrira, a potom dijeli sa zbrojem kvadrata zbroja ΔRR intervala iznad i ispod linije identiteta. Na taj način je moguće kvantificirati udjele akceleracija i deceleracija zapisa RR intervala.

$$SKG_{up} = \frac{\left(\sum_{i=1}^{N(\Delta RR^+)} \Delta RR^+(i)\right)^2}{\left(\sum_{i=1}^{N(\Delta RR^+)} \Delta RR^+(i)\right)^2 + \left(\sum_{i=1}^{N(\Delta RR^-)} \Delta RR^-(i)\right)^2}$$

Zbog nedostatka istraživanja o primjeni Poincaréovih dijagrama i HRA na stres u novorođenačkoj populaciji, u ovoj doktorskoj disertaciji glavni motiv je implementirati iste u proučavanje boli i stresa.

2. HIPOTEZA

1. U fazama provođenja uzorkovanja krvi i simulacije doći će do značajne redukcije srčane asimetrije u odnosu na faze mirovanja
2. Standardni deskriptori Poincaréovih dijagrama su u fazama mirovanja veći u odnosu na simulacijsku i fazu uzorkovanja krvi
3. U svim fazama istraživanja postojat će značajne razlike u standardnim deskriptorima Poincaréovih dijagrama i indeksa asimetrije, u odnosu na surogat modele

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj doktorske disertacije je:

1) ispitati reaktivnost autonomnog živčanog sustava novorođenčadi nakon bolnog podražaja izazvanog vađenjem krvi,
2) ispitati dinamiku promjena standardnih deskriptora i njihovog omjera,
3) ispitati dinamiku promjena asimetrije srčane akcije tijekom bolnog podražaja,
4) usporediti dinamiku promjena navedenih parametara sa surogatnim modelom, generiranim na temelju dobivenog signala.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Istraživanje je postavljeno kao nerandomizirano kontrolirano ispitivanje s ponovljenim mjerenjima.

4.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno na rodilištu Zavodu za neonatologiju i neonatalnu intenzivnu medicinu, Kliničkog bolničkog centra Osijek, u razdoblju od 30. rujna 2016. do 10. veljače 2017. Metodom jednostavnog slučajnog uzorkovanja novorođenčad kronološke dobi od 72 sata uključena je u istraživanje s Apgar zbrojem >9/9. U svrhu zaštite identiteta, svako je novorođenče dobilo svoj šesteroznamenkasti jedinstveni identifikacijski broj (ID), stvoren generatorom slučajnih brojeva bez ponavljanja, s kojim je registrirano i praćeno kroz daljnji tijek istraživanja. U istraživanju je sudjelovalo 40 terminske novorođenčadi, 21 ženskog i 19 muškog spola, s prosječnom rodnom masom 3542,05+339,09 g. Uključena su samo terminska novorođenčad bez vidljivih malformacija, bez prenatalnih i perinatalnih komorbiditeta, planirana za otpust kući. Prilikom uzorkovanja krvi novorođenčeta uzorkovana minimalna količina krvi za potrebe novorođenačkog probira, a novorođenčad nisu bila izložena dodatnim, nepotrebnim bolnim podražajima.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Klinčkog bolničkog centra Osijek i Medicinskog fakulteta Osijek. Roditelji ispitanika su dobili detaljne usmene i pismene upute o svim fazama istraživanja, potvrdu o sudjelovanju u istraživanju dali su potpisivanjem informiranog pristanka.

4.3. Protokol istraživanja

Detaljan pregled protokola istraživanja prikazan je u (74-76). Istraživanje je provedeno kada je novorođenče navršilo 72 sata. Navedena kronološka dob je odabrana zbog toga što nakon navršena 72 sata svako novorođenče u Republici Hrvatskoj podliježe probiru na fenilketonuriju i kongenitalnu hipotireozu (77). Upravo zbog toga što je riječ o nacionalnom programu probira na navedene bolesti, niti jedno novorođenče nije dodatno izloženo bolnim procedurama. Prije početka istraživanja sva su novorođenčad

nahranjena, postavljena u supinacijski položaj i izdvojena s radilišta u prostor s manjim zagađenjem bukom koji bi mogao utjecati na postupak istraživanja.

Istraživanje je provedeno kroz pet faza, a primjer zapisa RR intervala nalazi se na Slici 4.:

Faza 1.) Prva faza mirovanja

Faza 2.) Simulacijska faza

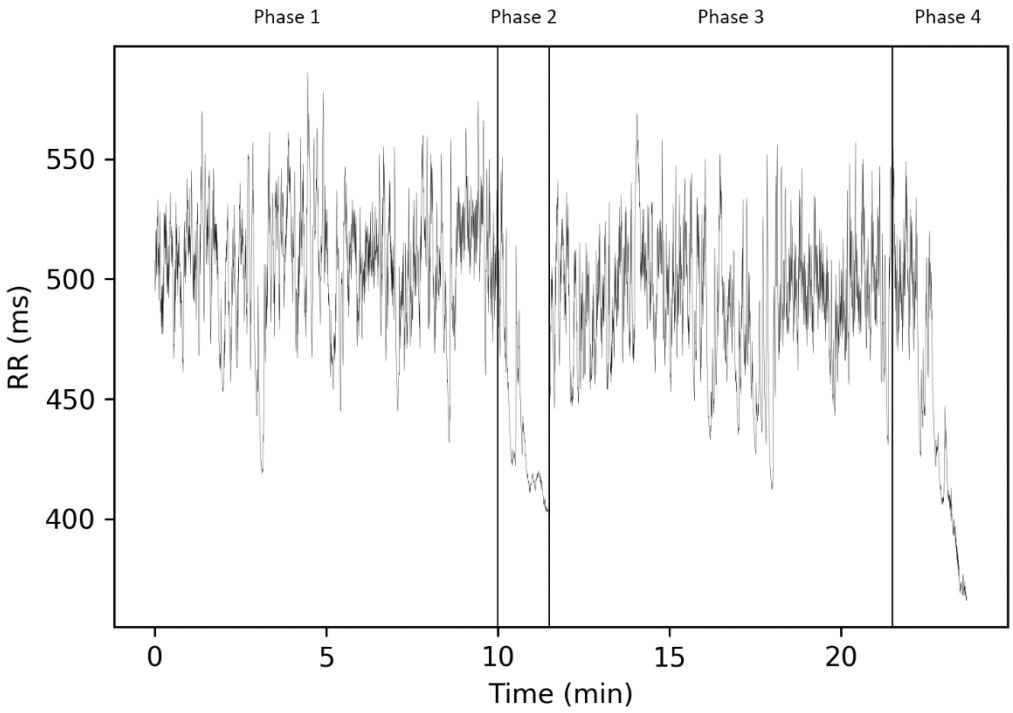
Faza 3.) Druga faza mirovanja

Faza 4.) Faza uzorkovanja krvi

Faza 5.) Intervencijska faza

Faza 1 je prva faza mirovanja u trajanju 10 minuta, u kojoj je zabilježen bazalni ritam i služi kao kontrolna faza za usporedbu s ostalim fazama istraživanja. Faza 2 je simulacijska faza, u kojoj se postupak uzorkovanja krvi oponašao intermitentnim pritiskom na petu novorođenčeta, koji je provodila medicinska sestra. Obzirom na mogućnost kontroliranja duljine faze, ona je trajala 90 sekundi, što je prosječno vrijeme potrebno za uzorkovanje krvi iz pete novorođenčeta. Nakon završetka simulacijske faze slijedila je druga faza mirovanja u trajanju 10 minuta (faza 3). Duljina trajanja je jednaka fazi 1, zbog tzv. *wash out* fenomena, kako bi se serijska narav istraživanja mogla adekvatno provesti, a novorođenčad stabilizirati prije završne faze. Po završetku faze 3, slijedila je faza rutinskog uzorkovanja krvi iz pete, koja je bila varijabilne duljine trajanja, ovisno o karakteristikama pacijenta i brzini uzorkovanja krvi. Faza 5 nije uključena u ovo istraživanje.

Unatoč fiksnim vremenskim duljinama trajanja prvih triju faza istraživanja (u minutama i sekundama), zbog varijabilnosti RR intervala dva jednako dugačka vremenska perioda ne moraju imati jednaki broj podataka. Prosječni (± standardna devijacija) broj RR intervala u fazi 1 iznosio je: 1284,13±149,23, u fazi 2: 229,93±43,03, u fazi 3: 1323,6±193,2, a u fazi 4: 411.63±193,31 intervala.



Slika 4. Reprezentativni prikaz pročišćenog zapisa RR intervala jednog ispitanika

4.4. Prikupljanje i digitalna obrada podataka

4.4.1.Priprema podataka za obradu

RR intervali su prikupljeni pomoću Firstbeat Bodyguard 2 uređaja (Firstbeat Bodyguard 2, Firstbeat Technologies Ltd, Jyvaskyla, Finska – Slika 5), tijekom cijelog postupka istraživanja. Bodyguard 2 je jednokanalni prijenosni EKG uređaj visoke rezolucije, mase 28 g, s implementiranim algoritmom filtriranja RR intervala.



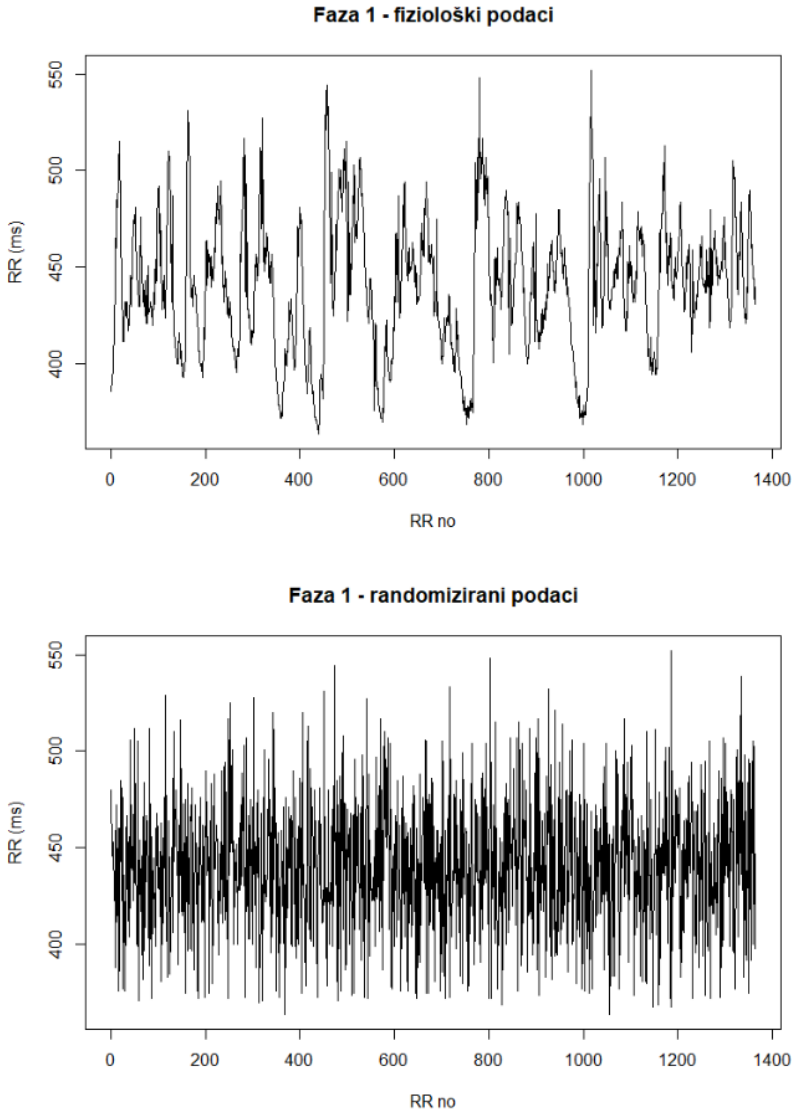
Slika 5. Prikaz postavljanja tijela Firstbeat Bodyguard uređaja na područje gornjeg desnog toraksa ispitanika

Nakon vizualne inspekcije snimljenih signala slijedi uklanjanje artefakata i interpolacija stršećih vrijednosti (78). Pročišćeni podaci su pohranjeni u ASCII dokumentu, a takav, analitički prihvatljiv signal, razdvojen je na segmente prema fazama. Analiza podataka digitalnog zapisa učinjena je pomoću posebno programiranog računalnog programa u programskom jeziku Python 3.5, koji je validiran usporedbom s nekoliko standardnim računalnih programa za analizu srčane varijabilnosti.

4.4.2. Surogat modeli

Surogat modeli su korišteni u svrhu stvaranja kontrolne skupine prilikom analize vremenskih signala, kako bi se prikupljeni signali usporedili sa signalom sličnih svojstava. U ovom istraživanju korišten je surogat model kreiran je temeljem postojećih signala, na način da je svaki zapis istraživanja izmiješan pomoću generatora slučajnih brojeva. Takav novostvoreni randomizirani zapis sastavljen je od vrijednosti pojedinog segmenta istraživanja i ima jednaku duljinu, aritmetičku sredinu i standardnu devijaciju, ali različite autokorelacijame i autokovarijance.

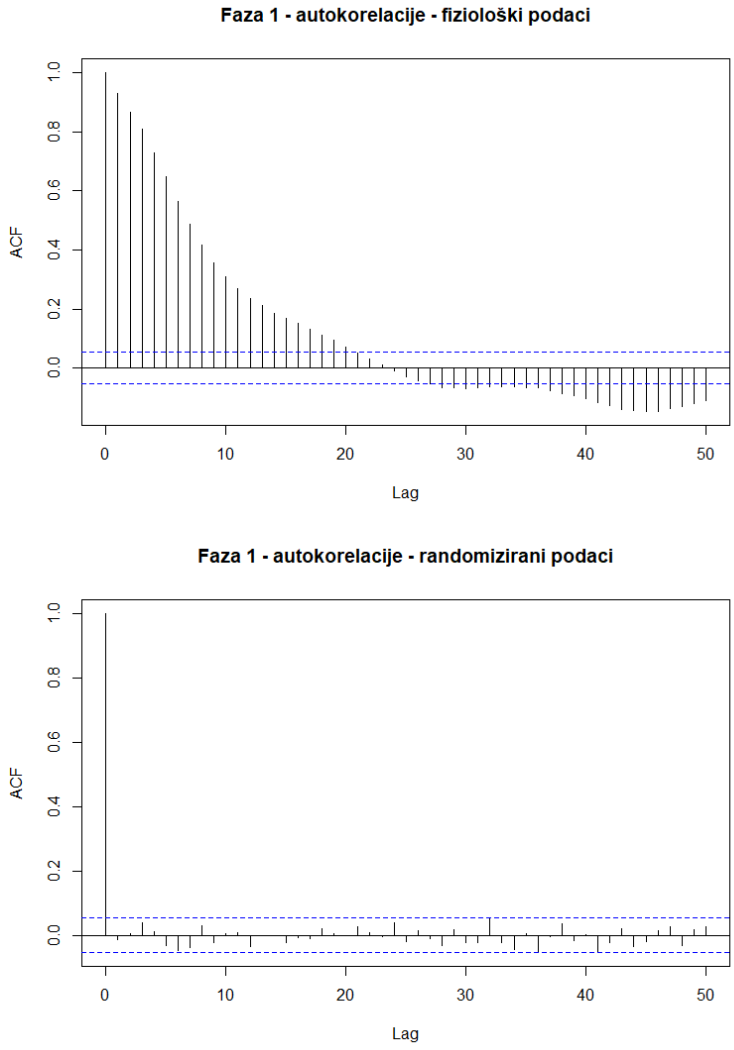
Primjer stvaranja surogat modela nalazi se u Slici 6., gdje su podaci jednog ispitanika randomizirani. Vizualno postoji značajna razlika u izgledu, iako su obje vremenske serije stacionarne i imaju jednake aritmetičke sredine i standardne devijacije.



Slika 6. Reprezentativni prikaz zapisa RR intervala i randomiziranih podataka

Gornji graf predstavlja zapis RR intervala snimljenog na jednom pacijentu, a donji izmiješane podatke. U oba slučaja zapis je stacionaran, a fiziološki podaci sadrže postupne promjene, koje su u izmiješanim podacima iznenadne.

Radi objektivnijeg testiranja jesu li podaci dobro randomizirani, učini se analiza autokorelacija za različite odmake, tzv. *lagove*, koji su značajni za analizu Poincaréovih dijagrama koja je korištena dalje u radu. Na Slici 7. vidljivo je kako se vrijednosti autokorelacije za randomizirane podatke za prvih 50 lagova kreću oko 0, dok je postupan pad zabilježen u originalnom zapisu. Vrijednost koja strši za lag 0 iznosi 1, a predstavlja korelaciju podataka samih sa sobom, bez odmaka, a predstavlja linearnu korelaciju, koja je takva iz razumljivih razloga.



Slika 7. Prikaz autokorelacije zapisa RR intervala

Gornji graf predstavlja prikaz autokorelacije jednog fiziološkog zapisa RR intervala, a donji izmiješanih podataka za prvih 50 *lagova*. U fiziološkim podacima se autokorelacija postupno smanjuje, a u izmiješanim podacima uglavnom se kreće oko 0. Za *lag* 0 postoji savršena korelacija, jer predstavlja linearnu povezanost podataka s identičnom kopijom zapisa.

4.4.3. Mjerenje standardnih deskriptora i izračun srčane asimetrije

Deskriptori Poincaréovih dijagrama

Postupak izračuna standardnih deskriptora Poincaréovih dijagrama, može se prikazati u nekoliko koraka :

1. Prvi korak obuhvaća stvaranje predispozicija za dvodimenzionalnim prikazom podataka u dvodimenzionalnom koordinatnom sustavu. Kako bi se prikaz omogućio, točka u koordinatnom sustavu mora biti definirana s koordinatama. Izvorni podaci (RR_i intervali) predstavljaju koordinatne vrijednosti na x osi, a tzv. *lag 1* (RR_{i+1}) predstavljaju vrijednosti na y osi. Na takav način, točka u koordinatnom sustavu je definirana s (RR_i, RR_{i+1}).
2. Takozvanom *elipse fitting* tehnikom se postavlja elipsa na dobiveni raspršeni dijagram, čija kratka os predstavlja SD1, a dugačka SD2. Matematički SD1 i SD2 se računaju pomoću jednadžbi:

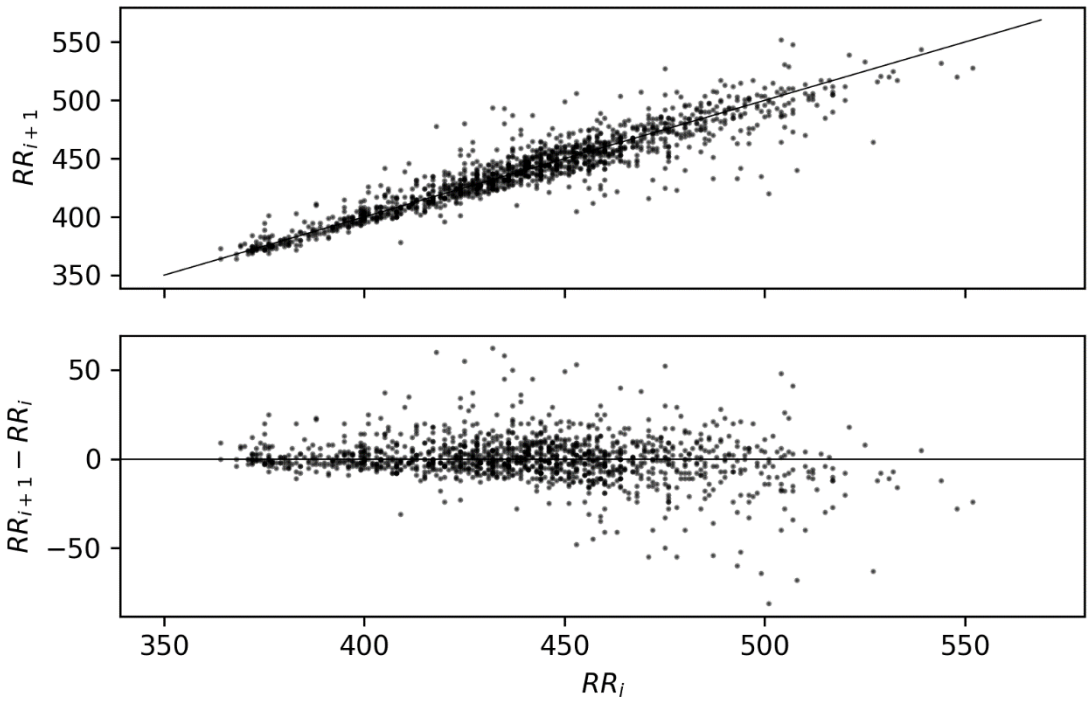
$$SD1 = \frac{\sqrt{2}}{2} SD(RR_i - RR_{i+1})$$

$$SD2 = \sqrt{2SD(RR_i)^2 - \frac{1}{2} SD(RR_i - RR_{i+1})^2}$$

SKG indeks

Postupak izračunavanja SKG indeksa je prikazan u nekoliko koraka (74):

1) Prvi korak je stvaranje faznog prostora iz originalnog vremenskog zapisa, gdje je x = RR_i, a y = $\Delta RR = RR_{i+1} - RR_i$. Nova linija identiteta se sada nalazi na y=0 i služi kao os simetrije za daljnje izračune (Slika 8.)



Slika 8. Prikaz odnosa izvornog i modificiranog Poincaréovog dijagrama

Gornji graf predstavlja izvorni Poincaréov dijagram s linijom identiteta pod 45°, a donji prilagođeni oblik, koji je osnova za računanje SKG indeksa. Linija identiteta, odnosno os simetrije na temelju koje se računa SKG indeks je u donjem slučaju 0.

2) Zbroj svih vrijednosti koji se nalazi iznad y = 0 (ΔRR>0) označava se s C_{up} i predstavlja deceleracije, a zbroj svih vrijednosti koji se nalaze ispod y = 0 predstavlja akceleracije (ΔRR>0), a označava se s C_{down}. Formalno matematički se C_{up} i C_{down} definiraju kao:

$$C_{up} = \sum_{i=1}^{N(\Delta RR^{+})} \Delta RR_i^{+}$$

$$C_{down} = \sum_{i=1}^{N(\Delta RR^{-})} \Delta RR_i^{-}$$

3) Uvodi se nova varijabla koja predstavlja ukupnu varijabilnost ΔRR (C_{Total}) koja se dalje izračunava kao zbroj kvadrata C_{up} i C_{down}:

$$C_{Total} = C_{up}^2 + C_{down}^2$$

4) SKG indeks se konačno definira kao udio C_{up}, odnosno C_{down} u ukupnoj varijabilnosti, a predstavlja normalizirane vrijednosti udjela deceleracija i akceleracija u zapisu RR intervala:

$$SKG_{up} = \frac{C_{up}^2}{C_{Total}}, \text{ for decelerations} \quad (4)$$

$$SKG_{down} = \frac{C_{down}^2}{C_{Total}}, \text{ for accelerations} \quad (5)$$

Entropija SKG indeksa

Budući da su SKG_{up} i SKG_{down} komplementarni (SKG_{up} + SKG_{down} = 1) i međusobno isključivi te predstavljaju udjele u ukupnom zbroju njihovih kvadriranih vrijednosti, moguće je izračunati entropiju SKG indeksa. S obzirom na to da postoje dvije vrijednosti, najprirodnija i najprikladnija mjera za entropiju koja se može računati dolazi iz područja teorija informacija, a to je Shanonova entropija (79):

$$H = -\sum_{i=1}^{n} p_i \log_b p_i \quad (3)$$

Entropiju je moguće definirati na različite načine, ali u kontekstu teorije informacije, ona predstavlja količinu neodređenosti (nesigurnosti) koju neka poruka sadrži (79).

Baza logaritma može poprimiti bilo koju vrijednost, no najčešće je prihvaćeno da se za dva međusobno isključiva događaja (u ovom slučaju varijable SKG_{up} i SKG_{down}), koristi baza 2. Jedinica tako dobivene entropije SKG indeksa izražena je u *bitovima*, a predstavlja prosječnu količinu informacije. U najjednostavnijem primjeru bacanja novčića s jednakom vjerojatnošću pisma i glava (*P*(pismo) = *P*(glava) = 0.5), uvrštavanjem vrijednosti u jednadžbu (3), dobijemo da novčić sadrži u prosjeku 1 *bit* informacija.

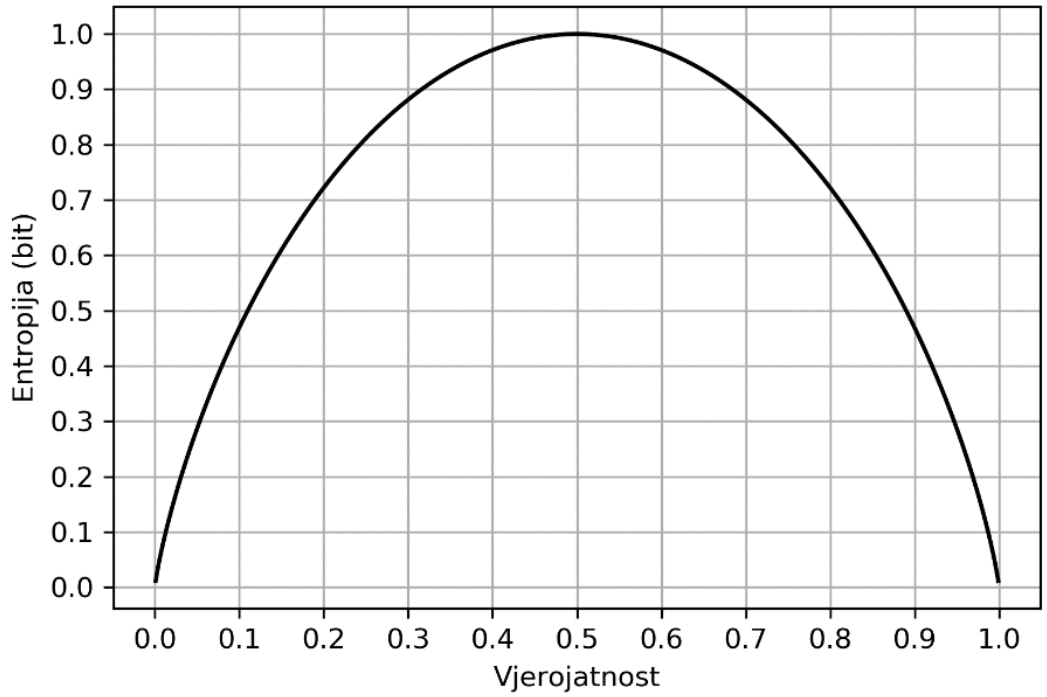
Slika 9. prikazuje distribuciju vrijednosti entropije za različite vjerojatnosti binarne varijable (npr. novčić). Vidljivo je kako je entropija najveća kada je jednaka vjerojatnost oba događaja (0.5), a najmanja, kada imamo samo jedan ishod (vjerojatnost je jednaka 0 ili 1). Drugim riječima, ako bacamo novčić koji sadrži isključivo pisma, entropija je jednaka nuli, odnosno, takav novčić ima 0 *bita* informacija. Na taj način se

uvijek može predvidjeti što se može očekivati. S druge strane, entropija je najveća kada je vjerojatnost pisma jednaka vjerojatnosti glave, odnosno, takav novčić u prosjeku sadrži 1 *bit* informacija, odnosno, tada je novčić najmanje predvidiv.

Ako umjesto vrijednosti x uvrstimo SKGup i SKGdown, jednadžba (3) poprima oblik:

$$H = -1 * \left[\left(SKG_{up}\right) * log_2(SKG_{up}) + (SKG_{down}) * log_2(SKG_{down})\right].$$

U kontekstu SKG indeksa, entropija je najveća kada su udjeli SKGup i SKGdown jednaki (0.5) i iznosi 1 bit, a najmanja kada je jedan od dva parametra jednak 0, odnosno 1 te iznosi 0 bita.



Slika 9. Prikaz binarne distribucije entropije

Najveća vrijednost entropije vidljiva je kada je vjerojatnost događaja 0.5, a iznosi 1 bit, a najmanja je kada je u pitanju siguran događaj s vjerojatnošću 1 ili kada je vjerojatnost događaja 0 i iznosi 0 bitova.

Utjecaj duljine vremenskih zapisa na analizu

Radi prikazivanja utjecaja duljine vremenskog zapisa na Poincaréove deskriptore, SKG indeks i entropiju, faza 1 je dodatno podijeljena u nekoliko različitih duljina (90, 150, 300, 600 i 800 RR intervala). Razlog tomu je postojanje diskrepancije između duljina trajanja zapisa faza 2 i 4. Na temelju izvornih podataka faze 1, nasumično su odabrane odgovarajuće duljine trajanja zapisa prema broju podataka RR intervala (90, 150, 300, 600 i 800) te su korištene u daljnjoj analizi.

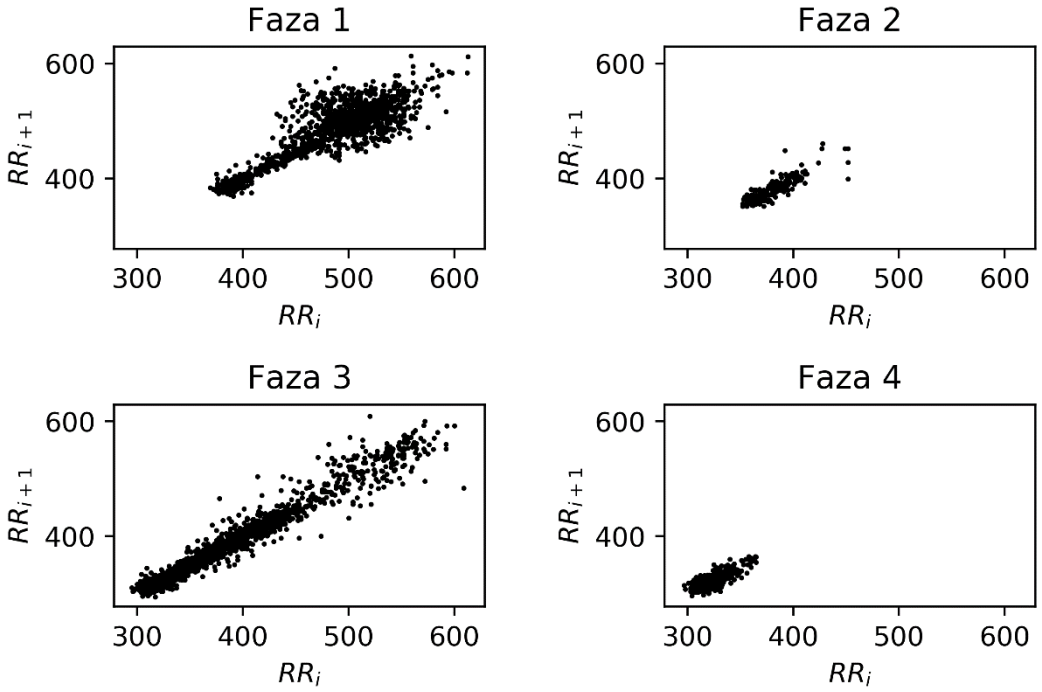
4.5. Statističke metode

Prilikom statističke obrade korišten je računalni program R (RStudio inačica 0.99.903). Numeričke varijable s normalnom razdiobom prikazane su pomoću aritmetičke sredine i standardne devijacije. Normalnost distribucije ispitana je pomoću Kolmogorov Smirnovljevog testa. Razlike među numeričkim varijablama su ispitane pomoću analize varijance (ANOVA) s ponovljenim mjerenjima (eng. Repeated measures ANOVA). *Post hoc* p-vrijednosti su ispitane pomoću Studentovog t-testa.

U svrhu postavljanja klasifikacijskog modela korištena je logistička regresija u kojoj je zavisna varijabla binarna (faze stresa (2 i 4) = 1, Faza 1 = 0). Rezultati logističke regresije u obliku vjerojatnosti pripadanja pojedinoj skupini (1 ili 0), pomoću koje je dalje korištena ROC (eng. Reciever operator characteristics) kako bi se procijenila površina ispod krivulje (AUC). Optimalna granična vrijednost (eng. cut-off) određena je pomoću Youdenovog J koeficijenta, nakon čega su dalje rađene 2x2 klasifikacijske tablice za evaluaciju statističkog modela. Rezultati modela, uz AUC krivulju prikazani su pomoću osjetljivosti i specifičnosti. Razina statističke značajnosti određena je s $p<0,05$.

5. REZULTATI

Rezultati istraživanja su prikazani u Tablicama i Slikama. Slika 10. sadrži vizualni prikaz Poincaréovog dijagrama kroz četiri faze istraživanja za *lag* 1. U Fazi 1 imamo tipični oblik Poincaréovog dijagrama, a u fazi 3 tzv. torpedo oblik. Faze stresa (faza 2 i faza 4) imaju značajno manju ukupnu varijabilnost i pomaknute su prema donjem lijevom uglu grafa, gdje se nalaze niže vrijednosti duljine trajanja RR intervala. Što je vrijednost RR intervala manja, to je brža frekvencija rada srca.



Slika 10. Poincaréovih dijagrama kroz faze istraživanja za jednog reprezentativnog ispitanika

U gornjem lijevom kutu je prikazan Poincaréov dijagram zapisa RR intervala za fazu 1, u gornjem desnom za fazu 2, u donjem lijevom za fazu 3 i u donjem desnom za fazu 4, istraživanja. Vidljiva je promjena oblika i smanjenje ukupne varijabilnosti dijagrama u fazama stresa (faza 2 i faza 4).

Tablica 1. sadrži prikaze rezultata SD1 deskriptora kroz faze istraživanja. Statistički značajne razlike su pronađene među svim fazama za svaki pojedini *lag*. Tablica 2. sadrži *post hoc* p-vrijednosti usporedbi SD1 među fazama, prema određenom *lagu*. Promatrajući faze mirovanja (faza 1 i faza 3) vidljivo je kako za svaki *lag* nisu pronađene statistički značajne razlike. U fazi 1 za *lag* 1 prosječna vrijednost SD1 iznosila je 13,66±7,65, dok je za isti *lag* u fazi 3 vrijednost iznosila 13.39±9.13 (p=0,843). Za sve ostale *lagove*, *post hoc* p-vrijednosti su u pravilu bile veće od 0,9.

Promatrajući dalje razlike između faza mirovanja i faza stresa, vidljivo je kako se u svakom *lagu* vrijednosti statistički značajno razlikuju. U svakom *lagu* su prosječne vrijednosti SD1 i u fazi 1 i u fazi 3 bile veće u odnosu na fazu 2 i fazu 4. Npr. za *lag* 1 vrijednosti SD1 u fazi 1 i 3 iznosile su 13,66±7,65 i 13,39±9,13, dok su za faze 2 i 4 vrijednosti SD1 iznosile 9.57±6,53 i 10,49±6,81.

Uspoređujući vrijednosti SD1 među fazama stresa, nisu pronađene statistički značajne razlike niti za jedan *lag*, a p-vrijednosti su se kretale između p=0,502 za *lag* 1 i p=0,639 za *lag* 10.

Zajednička osobina SD1 je linearni porast u svim fazama što je veći *lag*, zbog čega je vidljiv prosječni porast za 14,42 ms u fazi 1 između vrijednosti SD1 u *lagu 1 i 10*, 11,22 ms između istih *lagova* faze 2, 14,66 ms u fazi 3 i 11,43 ms u fazi 4.

Tablica 1. Prikaz rezultata SD1 za različite *lagove* u pojedinim fazama istraživanja

lag	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4	p*
1	13,66±7,65	9,57±6,53	13,39±9,13	10,49±6,81	0,004
2	16,16±7,62	12±7,09	16,16±8,71	12,87±7,13	0,003
3	19,04±8,21	13,73±8,01	19,01±9,82	14,69±7,88	<0,001
4	21,09±8,62	15,21±8,56	21,23±10,42	16,37±8,7	<0,001
5	23,06±9,02	16,48±8,94	23,05±10,97	17,68±9,3	<0,001
6	24,38±9,28	17,58±9,29	24,43±11,31	18,69±9,65	<0,001
7	25,73±9,55	18,41±9,46	25,63±11,56	19,7±10,02	<0,001
8	26,58±9,74	19,16±9,7	26,6±11,84	20,48±10,21	<0,001
9	27,41±9,82	20,08±10,27	27,37±12,01	21,21±10,43	<0,001
10	28,08±10,03	20,79±10,54	28,05±12,17	21,92±10,72	<0,001

*repeated measures ANOVA

Tablica 2. *Post hoc* p-vrijednosti za SD1

lag	p_{12}	p_{13}	p_{14}	p_{23}	p_{24}	p_{34}
1	**<0,001**	0,843	**0,024**	**0,021**	0,502	**0,032**
2	**<0,001**	0,998	**0,03**	**0,014**	0,586	**0,018**
3	**<0,001**	0,983	**0,01**	**0,007**	0,595	**0,007**
4	**<0,001**	0,918	**0,009**	**0,004**	0,553	**0,006**
5	**<0,001**	0,992	**0,006**	**0,004**	0,562	**0,005**
6	**<0,001**	0,969	**0,005**	**0,003**	0,604	**0,004**
7	**<0,001**	0,941	**0,004**	**0,002**	0,559	**0,004**
8	**<0,001**	0,994	**0,004**	**0,003**	0,561	**0,004**
9	**<0,001**	0,98	**0,004**	**0,004**	0,629	**0,004**
10	**<0,001**	0,987	**0,005**	**0,005**	0,639	**0,005**

p_{12} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 2, p_{13} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 3, p_{14} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 4, p_{23} – post hoc p-vrijednosti između faze 2 i faze 3, p_{24} – post hoc p-vrijednosti između faze 2 i faze 4, p_{34} – post hoc p-vrijednosti između faze 3 i faze 4

Tablica 3. sadrži prikaze rezultata za Poincaréov deskriptor SD2 među fazama istraživanja i za različite *lagove*. Prateće *post hoc* p-vrijednosti su prikazane u Tablici 4. Niti u jednom slučaju nisu pronađene statistički značajne razlike među vrijednostima SD2 među fazama. Vidljiv je postupni pad vrijednosti SD2 s povećanjem *laga*. Prosječne vrijednosti SD2 u fazi 1 za *lag* 1 iznosile su 66,05±28,95 ms, a za *lag* 10 60,79±29,37 ms, u fazi 2 za *lag* 1 64,24±27,47 ms i *lag* 10 61,03±27,37 ms. Prosječne vrijednosti SD2 za *lag* 1 i 10 u fazi 3 iznosile su 74,36±27,78 ms i 69,81±27,51 ms, a za fazu 4 74,34±35,43 i 71,24±35,64.

Također je vidljivo kako su standardne devijacije konstantne za svaki *lag* u pojedinoj fazi – u fazi 1 između 28,85 i 29,37, u fazi 2 između 27,36 i 27,47, dok je faza 4 imala najveće standardne devijacije u rasponu od 35,43 i 35,65.

Tablica 3. Prikaz rezultata SD2 za različite *lagove* u pojedinim fazama istraživanja

lag	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4	p*
1	66,05±28,95	64,24±27,47	74,36±27,78	74,34±35,43	0,16
2	65,52±28,85	63,76±27,5	73,93±27,56	73,91±35,49	0,153
3	64,6±29,01	63,34±27,41	73,13±27,51	73,49±35,51	0,154
4	63,92±28,98	62,94±27,39	72,44±27,51	73,04±35,52	0,157
5	63,11±29,14	62,57±27,39	71,8±27,52	72,64±35,54	0,155
6	62,59±29,13	62,22±27,38	71,29±27,51	72,33±35,59	0,153
7	61,93±29,29	61,95±27,41	70,83±27,52	72,01±35,58	0,149
8	61,54±29,28	61,67±27,42	70,42±27,53	71,75±35,63	0,149
9	61,13±29,37	61,32±27,36	70,1±27,51	71,49±35,65	0,143
10	60,79±29,37	61,03±27,37	69,81±27,51	71,24±35,64	0,140

*repeated measures ANOVA

Tablica 4. Post hoc p-vrijednosti za SD2

lag	p_{12}	p_{13}	p_{14}	p_{23}	p_{24}	p_{34}
1	0,716	0,12	0,197	0,112	0,051	0,998
2	0,722	0,115	0,189	0,109	**0,048**	0,997
3	0,8	0,115	0,168	0,122	**0,047**	0,957
4	0,843	0,115	0,155	0,133	**0,047**	0,928
5	0,913	0,114	0,14	0,144	**0,047**	0,898
6	0,942	0,112	0,13	0,151	**0,046**	0,876
7	0,997	0,109	0,119	0,16	**0,046**	0,858
8	0,979	0,11	0,115	0,166	**0,046**	0,842
9	0,97	0,109	0,11	0,164	**0,043**	0,835
10	0,961	0,108	0,107	0,164	**0,042**	0,830

p_{12} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 2, p_{13} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 3, p_{14} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 4, p_{23} – post hoc p-vrijednosti između faze 2 i faze 3, p_{24} – post hoc p-vrijednosti između faze 2 i faze 4, p_{34} – post hoc p-vrijednosti između faze 3 i faze 4

U Tablici 5. su prikazane aritmetičke sredine i standardne devijacije omjera standardnih deskriptora SD1 i SD2 u fazama istraživanja. Statistički značajne razlike su pronađene za svaki *lag*, dok su *post hoc* p-vrijednosti prikazane u Tablici 6. Vidljivo je kako je za svaki *lag* prosječni omjer SD1/SD2 bio veći u fazama mirovanja (faza 1 i 3), u odnosu na faze stresa (faza 2 i 4). Npr. za *lag* 1 prosječna vrijednost SD1/SD2 iznosila je 0,23±0,13, a za *lag* 10 0,53±0,2, u fazi 2 vrijednosti za *lag* 1 iznosile su 0,16±0,07, a za *lag* 10 0,38±0,19. U fazi 3, vrijednosti SD1/SD2 iznosile su 0,2±0,15, a za *lag* 10 0,44±0,2, dok su u fazi 4 vrijednosti iznosile 0,16±0,11 za *lag* 1 i 0,35±0,2 za *lag* 10.

Promatrajući razlike među fazama, statistički značajne razlike nisu pronađene niti za prvih pet *lagova* među fazama mirovanja (faza 1 i faza 3, Tablica 6.). Statistički značajne razlike nisu pronađene među fazama stresa (faza 2 i faza 4), niti za jedan *lag*. Također, zajednička karakteristika svih faza je postupni linearni porast vrijednosti SD1/SD2 s porastom *lagova*, a najveći omjer zabilježen je u fazi 1 i *lagu* 10, gdje je omjer iznosio 0,53±0,2.

Tablica 5. Prikaz rezultata SD1/SD2 za različite *lagove* kroz pojedine faze istraživanja

lag	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4	p*
1	0,23±0,13	0,16±0,07	0,2±0,15	0,16±0,11	0,01
2	0,27±0,11	0,2±0,1	0,24±0,13	0,2±0,12	0,008
3	0,33±0,14	0,24±0,11	0,28±0,15	0,23±0,13	0,001
4	0,37±0,14	0,26±0,13	0,32±0,16	0,25±0,15	<0,001
5	0,41±0,17	0,29±0,14	0,35±0,17	0,28±0,16	<0,001
6	0,44±0,17	0,31±0,15	0,37±0,18	0,29±0,17	<0,001
7	0,47±0,19	0,33±0,16	0,4±0,19	0,31±0,17	<0,001
8	0,49±0,19	0,34±0,17	0,41±0,19	0,33±0,18	<0,001
9	0,51±0,2	0,36±0,18	0,43±0,19	0,34±0,19	<0,001
10	0,53±0,2	0,38±0,19	0,44±0,2	0,35±0,2	<0,001

*Repeated measures ANOVA

Tablica 6. Post hoc p-vrijednosti za SD1/SD2

lag	p_{12}	p_{13}	p_{14}	p_{23}	p_{24}	p_{34}
1	**0,002**	0,251	**0,014**	0,124	0,793	0,111
2	**0,003**	0,103	**0,005**	0,218	0,834	0,089
3	**0,002**	0,085	**0,001**	0,135	0,768	**0,040**
4	**0,001**	0,067	**<0,001**	0,109	0,741	**0,027**
5	**0,001**	0,052	**<0,001**	0,100	0,702	**0,023**
6	**0,001**	**0,040**	**<0,001**	0,107	0,636	**0,020**
7	**0,001**	**0,030**	**<0,001**	0,102	0,628	**0,018**
8	**0,001**	**0,029**	**<0,001**	0,105	0,63	**0,019**
9	**0,001**	**0,027**	**<0,001**	0,152	0,543	**0,023**
10	**0,002**	**0,023**	**<0,001**	0,190	0,494	**0,025**

p_{12} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 2, p_{13} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 3, p_{14} – post hoc p-vrijednosti između faze 1 i faze 4, p_{23} – post hoc p-vrijednosti između faze 2 i faze 3, p_{24} – post hoc p-vrijednosti između faze 2 i faze 4, p_{34} – post hoc p-vrijednosti između faze 3 i faze 4

U Tablici 7. se nalazi prikaz vrijednosti standardnih deskriptora dobivenih na temelju surogatnih zapisa. Na temelju rezultata vidljivo je kako je uspješno učinjena randomizacija originalnih zapisa, s obzirom na to da su vrijednosti SD1 i SD2 podjednake, u svim *lag*ovima u svakoj fazi pojedinačno. Očekivanog porasta vrijednosti SD1 nije bilo s porastom veličine *laga*.

Tablica 7. Prikaz rezultata SD1 i SD2 za različite *lagove* u pojedinim fazama istraživanja dobivenih randomizacijom originalnih vremenskih zapisa

	lag	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4
SD1	1	48,12±20,6	46,03±19,42	53,81±19,57	53,86±25,19
	2	47,89±20,72	44,97±19,43	53,85±19,26	52,9±25,37
	3	47,93±20,7	46,22±20,45	53,83±19,46	53,52±24,92
	4	48,09±20,47	46,66±20,31	53,86±19,37	53,22±24,59
	5	47,97±20,44	46,65±21,12	54,02±19,52	53,31±25,08
	6	47,95±20,23	45,82±19,37	53,83±19,4	52,93±24,73
	7	48,26±20,64	45,65±19,52	54,02±19,53	53,33±25,08
	8	47,97±20,66	46,84±20,14	53,8±19,74	53,68±25,48
	9	47,97±20,57	45,77±19,5	53,92±19,61	53,43±25,11
	10	48,02±20,66	45,79±19,76	53,73±18,99	53,84±25,65
SD2	1	47,82±20,4	45,98±20,12	53,89±19,45	52,76±24,86
	2	48,05±20,3	47,03±20,09	53,85±19,74	53,72±24,68
	3	48,01±20,31	45,79±19,09	53,87±19,56	53,11±25,13
	4	47,85±20,55	45,36±19,19	53,84±19,65	53,41±25,45
	5	47,98±20,56	45,33±18,38	53,67±19,52	53,32±24,96
	6	48±20,77	46,18±20,18	53,87±19,62	53,69±25,33
	7	47,68±20,36	46,35±20,02	53,68±19,48	53,29±24,98
	8	47,97±20,36	45,16±19,39	53,9±19,27	52,92±24,61
	9	47,97±20,44	46,26±20	53,78±19,41	53,19±24,97
	10	47,93±20,34	46,22±19,79	53,96±20,04	52,77±24,41

U Tablici 8. se nalazi prikaz rezultata usporedbi izvornih i randomiziranih vremenskih zapisa. Svaki parametar izvornog zapisa je uspoređivan s istim parametrom odgovarajućeg *laga* randomiziranih nizova, a vrijednosti su u svakom trenutku bile statistički značajno različite.

Tablica 8. Prikaz p-vrijednosti usporedbi SD1 i SD2 izvornih i randomiziranih vremenskih zapisa za različite *lagove*

	lag	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4
SD1	1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	3	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	4	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	5	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	6	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	7	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	8	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	9	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
SD2	1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	3	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	4	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	5	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	6	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	7	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	8	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	9	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Tablica 9. sadrži prikaze rezultata SKG indeksa asimetrije među fazama i s povećanjem *laga*. Statistički značajne razlike su pronađene za *lag* 1 ($p<0.001$), dok za ostale *lagove* značajne razlike nisu pronađene. Vidljivo je kako su podjednake vrijednosti SKG_{up} i SKG_{down} zabilježene u fazama mirovanja (faza 1 i faza 3), dok je u fazama stresa (faza 2 i faza 4) veća vrijednost SKG_{down}. SKG_{up} u fazi 1 iznosio je 50,19±0,72, u fazi 2 43,85±6,98, u fazi 3 50,14±0,85, a u fazi 4 46,6±5,74.

Tablica 9. Prikaz rezultata parametara SKG indeksa za različite *lagove* pojedinih faza istraživanja

l*ag*		Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4	p*
1	SKG_{up}	50,19±0,72	43,85±6,98	50,14±0,85	46,6±5,74	<0,001
	SKG_{down}	49,81±0,72	56,15±6,98	49,86±0,85	53,4±5,74	
2	SKG_{up}	49,99±0,09	50,04±0,99	50,01±0,11	50,07±0,47	0,925
	SKG_{down}	50,01±0,09	49,96±0,99	49,99±0,11	49,93±0,47	
3	SKG_{up}	50,01±0,07	49,83±0,8	50,01±0,1	49,91±0,55	0,257
	SKG_{down}	49,99±0,07	50,17±0,8	49,99±0,1	50,09±0,55	
4	SKG_{up}	50±0,09	50,24±0,8	50,02±0,1	49,97±0,59	0,06
	SKG_{down}	50±0,09	49,76±0,8	49,98±0,1	50,03±0,59	
5	SKG_{up}	50,01±0,08	49,88±0,83	50,03±0,1	49,95±0,48	0,504
	SKG_{down}	49,99±0,08	50,12±0,83	49,97±0,1	50,05±0,48	
6	SKG_{up}	49,99±0,08	50,11±0,79	50,01±0,1	49,99±0,52	0,6
	SKG_{down}	50,01±0,08	49,89±0,79	49,99±0,1	50,01±0,52	
7	SKG_{up}	50±0,07	49,95±0,75	50,03±0,08	49,96±0,43	0,829
	SKG_{down}	50±0,07	50,05±0,75	49,97±0,08	50,04±0,43	
8	SKG_{up}	49,99±0,08	49,97±0,74	50±0,09	49,97±0,58	0,985
	SKG_{down}	50,01±0,08	50,03±0,74	50±0,09	50,03±0,58	
9	SKG_{up}	50±0,08	50,01±0,66	50,01±0,08	49,94±0,48	0,84
	SKG_{down}	50±0,08	49,99±0,66	49,99±0,08	50,06±0,48	
10	SKG_{up}	50±0,08	49,87±0,7	49,99±0,09	49,94±0,56	0,558
	SKG_{down}	50±0,08	50,13±0,7	50,01±0,09	50,06±0,56	

*repeated measures ANOVA

Tablica 10. sadrži SKG vrijednosti izračunate na temelju surogatnih zapisa. Vidljivo je kako je u svakoj fazi udio SKG_{up} i SKG_{down} podjednak, opisujući adekvatnu primjenu randomizacije originalnih vremenskih zapisa.

Tablica 10. Prikaz rezultata SKG indeksa za različite *lagove* u pojedinim fazama istraživanja dobivenih randomizacijom izvornih vremenskih zapisa

lag		Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4
1	SKG_{up}	50,01±0,08	50,3±0,61	49,97±0,11	50,2±0,64
	SKG_{down}	49,99±0,08	49,7±0,61	50,03±0,11	49,8±0,64
2	SKG_{up}	50±0,07	50,07±0,44	49,99±0,09	50,12±0,37
	SKG_{down}	50±0,07	49,93±0,44	50,01±0,09	49,88±0,37
3	SKG_{up}	50±0,07	50,15±0,58	50±0,09	50,08±0,33
	SKG_{down}	50±0,07	49,85±0,58	50±0,09	49,92±0,33
4	SKG_{up}	50,01±0,07	50,08±0,38	49,99±0,1	50,06±0,32
	SKG_{down}	49,99±0,07	49,92±0,38	50,01±0,1	49,94±0,32
5	SKG_{up}	49,99±0,07	50,06±0,37	50,01±0,09	50,01±0,25
	SKG_{down}	50,01±0,07	49,94±0,37	49,99±0,09	49,99±0,25
6	SKG_{up}	50±0,08	49,96±0,35	49,99±0,09	50,08±0,46
	SKG_{down}	50±0,08	50,04±0,35	50,01±0,09	49,92±0,46
7	SKG_{up}	49,99±0,07	50,01±0,29	50,01±0,09	49,99±0,23
	SKG_{down}	50,01±0,07	49,99±0,29	49,99±0,09	50,01±0,23
8	SKG_{up}	50±0,08	49,91±0,39	49,99±0,08	50,08±0,52
	SKG_{down}	50±0,08	50,09±0,39	50,01±0,08	49,92±0,52
9	SKG_{up}	49,99±0,08	50±0,31	50±0,08	49,98±0,33
	SKG_{down}	50,01±0,08	50±0,31	50±0,08	50,02±0,33
10	SKG_{up}	50±0,08	49,92±0,44	50±0,07	50,07±0,44
	SKG_{down}	50±0,08	50,08±0,44	50±0,07	49,93±0,44

Tablica 11. sadrži prikaze aritmetičkih sredina i standardnih devijacija Shannonove entropije SKG indeksa u različitim fazama istraživanja. Statistički značajne razlike su pronađene među fazama za svaki pojedini *lag*. U fazama mirovanja (faza 1 i 3) vrijednosti entropije bile su najveće, dok su u fazama stresa (faze 2 i 4) vrijednosti entropije bile u svakom *lagu* niže.

U fazi 1 vrijednosti entropije SKG indeksa kretale su se od 0,9998±0,0005 bita do 1±0 bita za *lag* 10. U fazi 2 za *lag* 1 vrijednost entropije iznosila je 0,9749±0,0379 bita, a *lag* 10 0,9999±0,0003 bita. Vrijednosti entropije u fazi 3 se kretala od 0,9998±0,0003 bita do 1±0 za *lag* 10, a u fazi 4 od 0,9873±0,021 bita za *lag* 1 do 0,9999±0,0003 bita za *lag* 10.[1]

Tablica 11. Prikaz rezultata entropija SKG indeksa pojedinih faza istraživanja

	Faza 1	Faza 2	Faza 3	Faza 4	p*
lag 1	0,9998±0,0005	0,9749±0,0379	0,9998±0,0003	0,9873±0,021	<0,001
lag 2	1±0	0,9997±0,0005	1±0	0,9999±0,0001	<0,001
lag 3	1±0	0,9998±0,0004	1±0	0,9999±0,0002	0,001
lag 4	1±0	0,9998±0,0005	1±0	0,9999±0,0002	0,003
lag 5	1±0	0,9998±0,0005	1±0	0,9999±0,0001	0,006
lag 6	1±0	0,9998±0,0005	1±0	0,9999±0,0002	0,008
lag 7	1±0	0,9998±0,0004	1±0	0,9999±0,0001	0,008
lag 8	1±0	0,9998±0,0003	1±0	0,9999±0,0003	0,004
lag 9	1±0	0,9999±0,0002	1±0	0,9999±0,0002	0,003
lag 10	1±0	0,9999±0,0003	1±0	0,9999±0,0003	0,003

*repeated measures ANOVA

[1] Potrebno je naglasiti da, unatoč prikazu entropije u obliku 1±0 bita za faze mirovanja, prosječna entropija nije iznosila 1 bit, niti je standardna devijacija iznosila 0 bita. Razlog ovakvom prikazu rezultata je posljedica ponavljajućih vrijednosti 0,9999… te se autor zbog praktičnog razloga i nedovoljno informacija koje se dobiju punim prikazom, odlučuje zaokruživanju vrijednosti. Navedeno nije slučaj s fazama 2 i 4, gdje je na četiri decimale pronađeno dovoljno informacija vrijednih prikaza rezultata.

U Tablici 12. se nalazi prikaz rezultata Poincaréovih deskriptora, SKG indeksa i njegove entropije, izračunatih koristeći se različitim duljinama zapisa faze 1. Statistički značajne razlike su pronađene u vrijednosti SD2 i entropiji SKG indeksa ($p<0,001$), dok se vrijednosti SD1 i SKG indeksa nisu značajno razlikovale ovisno o duljini zapisa pomoću koje su se izračunale. Vrijednosti SD1 i SKG indeksi su pokazali robusnost i neovisnost o duljini zapisa. S druge strane vrijednost SD2 je postajala konzistentnom s duljinom zapisa od 600 podataka pa nadalje (61,35±29,55 do 62,08±30,85), dok su vrijednosti značajno niže bile prilikom kraćih vremenskih zapisa (37,29±20,66).

Slične promjene su vidljive u vrijednosti entropije SKG indeksa, koja je bila najniža u zapisu od 90 podataka (0,984±0,04), a postupno se povećavala sa zapisom duljine 600 podataka (0,99±0), pa naviše.

Tablica 12. Prikaz utjecaja različitih duljina Faze 1 istraživanja na najznačajnije parametre (*lag* 1)

	duljina vremenskog zapisa							
	90	150	230	600	800	1000	cijeli zapis	p*
SD1	12,16±8,98	13,29±10,71	13,76±9,63	13,38±8,3	13,22±8,13	13,51±7,92	13,66±7,65	0,133
SD2	37,29±20,66	47,84±25,97	55,14±32,56	61,35±29,55	60,92±30,63	62,08±30,85	62,08±30,85	<0,001
SKG_{up}	48,73±7,42	50,27±5,24	50±3,81	50,08±1,25	50,34±1,017	50,25±1,06	0,50,189±7,22	0,387
SKG_{down}	51,27±7,42	49,728±5,24	49,99±3,81	49,925±1,25	49,66±1,02	49,76±1,06	49,81±7,22	0,387
Ent	0,984±0,04	0,992±0,01	0,996±0,01	0,999±0	0,999±0	0,999±0	0,999±0	<0,001

*Repeated measures ANOVA

U Tablici 13. se nalazi prikaz rezultata ROC analize modela univarijatne logističke regresije, za standardne deskriptore i njihov omjer, u razlikovanju faze mirovanja (faza 1) i faza stresa (faza 2 i 4). Rezultati modela su prikazani u obliku AUC s pratećim intervalima pouzdanosti, osjetljivosti i specifičnosti za određenu cut-off vrijednost. Statistički značajni rezultati su pronađeni sposobnosti razlikovanja faza mirovanja i obje faze stresa za sve *lag*ove SD1 i SD1/SD2, međutim SD2 se nije pokazao kao učinkovit diskriminatorni parametar. Vidljivo je su AUC vrijednosti SD1/SD2 za razlikovanje faze 1 od faze 4 veće za svaki *lag* u razlikovanju faze 1 i faze 2.

Uspoređujući fazu 1 i fazu 2, za *lag* 1 AUC vrijednost iznosila je 0,713 s osjetljivosti 77,5% i specifičnosti 69% ($p<0,001$), a najveće AUC vrijednosti su pronađene u *lag*ovima 5, 6, 7 i 8, a iznosile su 0,745, dok su osjetljivosti za sva četiri *laga* iznosila 80%, a specifičnosti 65%, osim za *lag* 8, gdje je specifičnost iznosila 62,5%. Za iste faze, AUC vrijednosti omjer SD1/SD2 bile su nešto niže, uspoređujući odgovarajuće *lagove*. Za *lag* 1 vrijednost AUC iznosila je 0,682, sa osjetljivosti 52,5% i specifičnosti

80%, dok su najviše AUC vrijednosti pronađene za *lag* 7 i 8, a iznosile su 0,731. Osjetljivost za *lag* 7 iznosila je 70%, a specifičnost 77,5%, dok je za *lag* 8 osjetljivost iznosila 65%, a specifičnost 77,5%.

Promatrajući diskriminatorna svojstva SD1 u razlikovanju faze 1 i faze 4, vidljivo je kako su AUC vrijednosti za svaki odgovarajući *lag* niže u odnosu na usporedbe faze 1 i faze 4. Vrijednost AUC za *lag* 1 iznosila je 0,663 s osjetljivosti 60% i specifičnosti 72,5%. Najveće AUC vrijednosti vidljive su za *lag* 3, 5 i 6 (AUC=0,674), s pripadajućim osjetljivostima od 57,5% (*lag* 3 i 5) i 62,5% (*lag* 6) i specifičnostima od 80% (*lag* 3, 5 i 6).

Za svaki *lag*, AUC vrijednosti SD1/SD2 iznosile su više od 0,7, a vidljiv je i postupni porast s povećanjem *laga*. AUC vrijednost za *lag* 1 iznosila je 0,702, a osjetljivost 80% i specifičnost 62,5%, dok je najveća AUC vrijednost pronađena za *lag* 7 i iznosila je 0,744 s osjetljivosti 72,5% i specifičnosti 77,5%.

Tablica 13. Rezultati ROC analize modela univarijatne logističke regresije standardnih deskriptora

		Faza 1 vs Faza 2						Faza 1 vs Faza 4					
	lag	AUC	95% C.I.	cut off	osjetljivost	specifičnost	p	AUC	95% C.I.	cut off	osjetljivost	specifičnost	p
SD1	1	0,713	0,601-0,809	≤11,135	77,5	60	<0,001	0,663	0,548-0,764	≤8,906	60	72,5	0,009
	2	0,701	0,589-0,799	≤13,613	75	65	<0,001	0,653	0,538-0,756	≤10,779	57,5	80	0,016
	3	0,732	0,621-0,825	≤15,673	77,5	65	<0,001	0,674	0,560-0,774	≤12,406	57,5	80	0,006
	4	0,74	0,630-0,832	≤17,855	77,5	65	<0,001	0,673	0,559-0,774	≤15,798	65	72,5	0,006
	5	0,742	0,632-0,833	≤19,836	80	65	<0,001	0,674	0,560-0,775	≤15,619	57,5	80	0,005
	6	0,742	0,632-0,833	≤20,938	80	65	<0,001	0,674	0,560-0,775	≤17,093	60	80	0,005
	7	0,745	0,635-0,836	≤22,424	80	65	<0,001	0,67	0,556-0,771	≤18,547	62,5	75	0,006
	8	0,745	0,635-0,836	≤23,747	80	62,5	<0,001	0,669	0,555-0,771	≤19,636	62,5	75	0,006
	9	0,737	0,627-0,83	≤19,822	62,5	80	<0,001	0,666	0,551-0,767	≤21,038	62,5	75	0,008
	10	0,727	0,616-0,821	≤21,746	67,5	75	<0,001	0,66	0,546-0,762	≤22,349	62,5	75	0,012
SD2	1	0,506	0,391-0,619	≤32,708	15	97,5	0,932	0,561	0,445-0,671	>66,776	55	60	0,352
	2	0,504	0,390-0,618	≤31,436	15	97,5	0,947	0,561	0,446-0,672	>66,339	55	60	0,347
	3	0,502	0,388-0,616	>30,703	85	2,5	0,977	0,57	0,454-0,68	>65,205	55	60	0,280
	4	0,504	0,390-0,618	>29,788	85	2,5	0,955	0,572	0,456-0,682	>61,349	60	55	0,267
	5	0,506	0,391-0,619	>29,101	85	2,5	0,932	0,578	0,462-0,688	>62,135	60	57,5	0,226
	6	0,51	0,396-0,624	>29,037	85	2,5	0,879	0,579	0,463-0,688	>58,148	60	55	0,222
	7	0,512	0,398-0,625	>28,957	85	2,5	0,857	0,581	0,465-0,690	>57,401	60	55	0,211
	8	0,516	0,401-0,629	>28,895	85	2,5	0,812	0,583	0,467-0,692	>58,807	60	55	0,196
	9	0,515	0,401-0,628	>28,827	85	2,5	0,819	0,588	0,472-0,696	>64,258	50	67,5	0,173
	10	0,516	0,402-0,630	>28,721	85	2,5	0,805	0,588	0,472-0,697	>63,968	50	67,5	0,170
SD1/SD2	1	0,692	0,579-0,790	≤0,146	52,5	80	0,001	0,702	0,590-0,800	≤0,175	80	62,5	<0,001
	2	0,697	0,585-0,795	≤0,232	72,5	70	0,001	0,704	0,592-0,801	≤0,209	70	75	<0,001
	3	0,712	0,600-0,808	≤0,264	70	75	<0,001	0,717	0,605-0,812	≤0,238	67,5	80	<0,001
	4	0,721	0,609-0,815	≤0,304	72,5	72,5	<0,001	0,723	0,612-0,817	≤0,292	72,5	75	<0,001
	5	0,726	0,615-0,820	≤0,338	67,5	77,5	<0,001	0,736	0,625-0,828	≤0,309	70	77,5	<0,001
	6	0,732	0,621-0,825	≤0,343	70	77,5	<0,001	0,741	0,631-0,833	≤0,332	72,5	77,5	<0,001
	7	0,735	0,624-0,827	≤0,363	70	77,5	<0,001	0,744	0,634-0,835	≤0,333	70	80	<0,001
	8	0,735	0,624-0,827	≤0,385	65	77,5	<0,001	0,739	0,629-0,831	≤0,374	72,5	77,5	<0,001
	9	0,731	0,620-0,824	≤0,462	80	62,5	<0,001	0,742	0,632-0,833	≤0,392	72,5	77,5	<0,001
	10	0,724	0,612-0,818	≤0,465	75	65	<0,001	0,741	0,631-0,832	≤0,396	70	77,5	<0,001

Tablica 14. sadrži prikaz rezultata ROC analize rađen pomoću multiple logističke regresije u kojoj su nezavisne varijable prvih deset *lagova* standardnih deskriptora, a zavisna varijabla faza 1 mirovanje i stresne faze. AUC vrijednosti u razlikovanju faze 1 i faze 2 bile su konzistentne s visokim vrijednostima AUC (AUC_{SD1} = 0,864, AUC_{SD2} = 0,873, $AUC_{sd1/sd2}$ = 0,863). Osjetljivosti su iznosile 85% za SD1 i SD2 i 95% za SD1/SD2, a specifičnosti 80% za SD1 i SD2 i 65% za SD1/SD2.

AUC vrijednosti za razlikovanje faze 1 i faze 4 bile su nešto niže (AUC_{SD1} = 0,762, AUC_{SD2} = 0,784, $AUC_{sd1/sd2}$ = 0,795). Osjetljivost je bila najveća za SD1/SD2 (82,5%), a specifičnost za SD2 (92,5%).

Tablica 14. ROC analiza multi lag modela logističke regresije standardnih deskriptora

		AUC	95% C.I.	Osjetljivost	Specifičnost	p
Faza 1 vs, Faza 2	SD1	0,864	0,769-0,930	85	80	<0,001
	SD2	0,873	0,780-0,937	85	80	<0,001
	SD1/SD2	0,863	0,768-0,930	95	65	<0,001
Faza 1 vs, Faza 4	SD1	0,762	0,654-0,850	60	80	<0,001
	SD2	0,784	0,678-0,869	57,5	92,5	<0,001
	SD1/SD2	0,795	0,690-0,877	82,5	67,5	<0,001

C.I. - 95%-tni interval pouzdanosti

U Tablici 15. se nalazi prikaz usporedbi ROC analize za razlikovanje Faze 1 i faze 2 te Faze 1 i Faze 4, za najznačajnije parametre analize Poincaréovih dijagrama. Rezultati su uspoređeni za različite duljine trajanja Faze 1.

Zajednička karakteristika rezultatima SD1, SKG i entropije je povećanje vrijednosti AUC s porastom duljine zapisa faze 1, dok su vrijednosti AUC za SD2 i SD1/SD2 veće što su zapisi kraći.

Promatrajući SD1 za fazu 1 i 2, model je bio statistički značajan za sve duljine zapisa faze 1 osim za duljinu od 90 RR intervala (p=0,166). Vidljivo je kako s postupnim povećanjem duljine zapisa dolazi do porasta AUC, koja je najveća bila uspoređujući duljinu cijelog zapisa faze 1 s fazom 2 (AUC=0,713), a najmanja za duljinu od 150 RR

intervala (AUC=0,635). Najveća osjetljivost je zabilježena uspoređujući duljinu cijelog zapisa (77,5%), a specifičnost za duljine od 600 i 800 RR intervala (90%).

Slično povećanje AUC vidljivo je uspoređujući različite duljine faze 1 s fazom 4. Statistički značajnim nisu se pokazale duljine od 90 i 150 RR intervala (p=0,466 i p=0,165), dok su najveće AUC vidljive uspoređujući cjelokupnu duljinu zapisa (AUC=0,664), a najmanja statistički značajna AUC vidljiva je za duljinu od 230 RR intervala faze 1 (AUC=0,629, p=0,041). Najveća osjetljivost je zabilježena za cijelu duljinu zapisa faze 1 (60%), a specifičnost za duljinu od 800 RR intervala faze 1, dok je u tom slučaju osjetljivost iznosila samo 37,5%.

Veličina AUC za SD2 je obrnuto proporcionalna SD1. Najveće AUC su pronađene kada je duljina zapisa faze 1 iznosila 90 RR intervala (AUC_{12}=0,8 i AUC_{14}=0,820), a najmanja kada je korišten cijeli zapis (AUC_{12}=0.8 i AUC_{14}=0,506 i AUC_{14}=0,561).

Slične promjene su pronađene i za SD1/SD2, gdje je u oba slučaja AUC najveći za duljinu zapisa faze 1 od 90 RR intervala (AUC_{12}=0,861 i AUC_{14}=0,845). Vidljivo je kako je za SD1/SD2 bez obzira kolika je duljina faze 1, osjetljivost iznosila 80%, u evaluaciji faze 1 i 4, dok je za fazu 1 i 2 ona bila varijabilna. Najveća je bila kada je duljina RR intervala faze 1 iznosila 230 RR intervala (80%), a najmanja kada je korišten cijeli zapis (52,5%).

AUC vrijednosti SKG indeksa su se povećavale u oba slučaja proporcionalno duljini faze 1. Najveća AUC za fazu 1 i 2 iznosila je 0,906, a najmanja za duljinu faze 1 od 90 RR intervala (AUC=0,738). Najveće osjetljivosti iznosile su 90% za duljinu faze 1 od 230, 800 i 1000 RR intervala, a specifičnosti 97,5% za duljinu od 600 RR intervala i cijeli zapis. Najveća AUC za fazu 1 i 4 zabilježena je kada je duljina faze 1 iznosila 800 RR intervala i cijeli zapis (AUC=0,786), s osjetljivosti 75% i specifičnosti 90% za duljinu faze 1 od 800 RR intervala.

Porast AUC vrijednosti entropije SKG indeksa proporcionalan je duljini zapisa RR intervala. U oba slučaja najniže AUC zabilježene su za duljinu faze 1 od 90 RR intervala (AUC_{12}=0,696 i AUC_{14}=0,544), a najveće kada je korišten cijeli zapis (AUC_{12}=0,97% i AUC_{14}=0,905)

Tablica 15. Prikaz rezultata ROC analize modela univarijatne logističke regresije za *lag 1* i različite duljine zapisa faze 1

		Faza 1 vs. Faza 2						Faza 1 vs. Faza 4					
	duljina signala	AUC	95% C.I.	cut-off	Osjetljivost	specifičnost	p	AUC	95% C.I.	cut-off	Osjetljivost	specifičnost	p
SD1	90	0,59	0,462-0,718	≤8,409	60	65	0,166	0,548	0,433-0,660	≤8,0958	52,5	67,5	0,466
	150	0,635	0,512-0,758	≤8,409	60	72,5	0,038	0,59	0,474-0,699	≤8,4277	55	72,5	0,165
	230	0,669	0,549-0,788	≤9,026	65	65	0,009	0,629	0,514-0,735	≤8,9061	60	67,5	0,041
	600	0,691	0,574-0,808	≤7,02	45	90	0,003	0,646	0,531-0,749	≤7,157	42,5	90	0,021
	800	0,694	0,578-0,811	≤7,02	42,5	90	0,003	0,646	0,531-0,749	≤6,789	37,5	92,5	0,021
	1000	0,706	0,59-0,821	≤8,409	60	72,5	0,002	0,656	0,541-0,758	≤8,096	52,5	77,5	0,012
	cijeli zapis	0,713	0,599-0,827	≤11,135	77,5	60	0,001	0,663	0,548-0,764	≤8,906	60	72,5	0,009
SD2	90	0,8	0,703-0,897	>44,356	77,5	75	<0,001	0,829	0,729-0,904	>60,888	62,5	95	<0,001
	150	0,697	0,58-0,814	>44,799	77,5	60	0,002	0,736	0,626-0,829	>59,7	62,5	87,5	<0,001
	230	0,621	0,497-0,744	>50,730	65	60	0,06	0,676	0,562-0,776	>59,776	62,5	72,5	0,004
	600	0,543	0,415-0,67	>44,159	77,5	37,5	0,513	0,606	0,490-0,713	>63,951	57,5	65	0,098
	800	0,551	0,424-0,678	>51,325	65	50	0,43	0,613	0,497-0,719	>66,06	55	70	0,077
	1000	0,534	0,406-0,662	>51,532	65	52,5	0,603	0,6	0,484-0,708	>62,046	60	62,5	0,118
	cijeli zapis	0,506	0,391-0,619	≤32,708	15	97,5	0,932	0,561	0,445-0,671	>66,776	55	60	0,352
SD1/SD2	90	0,861	0,782-0,94	≤0,191	75	80	<0,001	0,845	0,747-0,916	≤0,175	80	80	<0,001
	150	0,803	0,707-0,898	≤0,175	67,5	80	<0,001	0,799	0,695-0,881	≤0,175	80	80	<0,001
	230	0,776	0,673-0,878	≤0,202	80	65	<0,001	0,769	0,662-0,856	≤0,175	80	75	<0,001
	600	0,714	0,602-0,827	≤0,146	52,5	85	0,001	0,719	0,608-0,814	≤0,175	80	65	<0,001
	800	0,728	0,617-0,838	≤0,162	60	77,5	<0,001	0,736	0,625-0,828	≤0,175	80	67,5	<0,001
	1000	0,723	0,611-0,834	≤0,153	55	80	0,001	0,732	0,622-0,825	≤0,175	80	65	<0,001
	cijeli zapis	0,692	0,576-0,808	≤0,146	52,5	80	0,003	0,702	0,590-0,8	≤0,175	80	62,5	<0,001
SKG_{down}	90	0,738	0,623-0,852	>0,535	70	80	<0,001	0,609	0,493-0,716	>0,542	42,5	82,5	0,089
	150	0,805	0,706-0,904	>0,509	87,5	67,5	<0,001	0,705	0,593-0,802	>0,499	77,5	60	<0,001
	230	0,838	0,744-0,931	>0,506	90	70	<0,001	0,723	0,612-0,817	>0,51	67,5	75	<0,001
	600	0,888	0,801-0,975	>0,518	77,5	97,5	<0,001	0,765	0,657-0,853	>0,514	65	92,5	<0,001
	800	0,903	0,817-0,989	>0,506	90	92,5	<0,001	0,794	0,689-0,876	>0,503	75	90	<0,001
	1000	0,896	0,809-0,983	>0,508	90	87,5	<0,001	0,786	0,680-0,870	>0,512	65	95	<0,001
	cijeli zapis	0,906	0,82-0,991	>0,509	87,5	97,5	<0,001	0,786	0,680-0,87	>0,509	67,5	97,5	<0,001
Ent	90	0,696	0,575-0,816	≤0,9957	77,5	70	0,002	0,544	0,429-0,656	≤0,9945	47,5	72,5	0,500
	150	0,732	0,621-0,842	≤0,9957	77,5	65	<0,001	0,559	0,444-0,670	≤0,9896	32,5	85	0,363
	230	0,821	0,727-0,914	≤0,9957	77,5	80	<0,001	0,663	0,549-0,765	≤0,9994	77,5	55	0,009
	600	0,936	0,883-0,988	≤0,9972	80	97,5	<0,001	0,835	0,735-0,909	≤0,9991	67,5	90	<0,001
	800	0,957	0,918-0,996	≤0,9957	77,5	100	<0,001	0,869	0,775-0,934	≤0,9994	77,5	85	<0,001
	1000	0,951	0,908-0,993	≤0,9957	77,5	100	<0,001	0,864	0,769-0,930	≤0,9992	72,5	87,5	<0,001
	cijeli zapis	0,97	0,936-1	≤0,9992	87,5	97,5	<0,001	0,905	0,819-0,959	≤0,9994	77,5	97,5	<0,001

C.I. – 95%-tni interval pouzdanosti

U Tablici 16. se nalazi prikaz ROC analize koristeći kombinaciju SD1, SD1/2, SKG indeks i njegovu entropiju u modelu multivarijatne logističke regresije. Rezultati su prikazani kao AUC s intervalom pouzdanosti te osjetljivost i specifičnost modela. Promatrajući faze 1 i 2, najveća AUC je zabilježena kada je korištena duljina cijelog zapisa (AUC=0,909) s osjetljivosti od 95% i specifičnosti 100%, a najniža za duljinu zapisa faze 1 od 230 RR intervala (AUC=0,855).

Za razlikovanje faze 1 i 4 najveća je AUC zabilježena za najkraći zapis faze 1 (AUC=0,892) s osjetljivosti 85% i specifičnosti 82,5%, dok je nešto niža bila za duljinu cijelog zapisa (AUC=0,878) s osjetljivosti 82,5% i specifičnosti 90%.

Tablica 16. Prikaz rezultata ROC analize modela multiple logističke regresije različitih duljina zapisa faze 1

	duljina zapisa	AUC	95% C.I.	Osjetljivost	Specifičnost	p
Faza 1 vs, Faza 2	90	0,915	0,831-0,966	82,5	87,5	<0,001
	150	0,879	0,787-0,941	80	87,5	<0,001
	230	0,855	0,758-0,924	75	87,5	<0,001
	600	0,955	0,884-0,989	92,5	92,5	<0,001
	800	0,983	0,925-0,999	97,5	92,5	<0,001
	1000	0,969	0,904-0,995	90	97,5	<0,001
	cijeli zapis	0,989	0,935-1	95	100	<0,001
Faza 1 vs, Faza 4	90	0,892	0,803-0,951	85	82,5	<0,001
	150	0,848	0,750-0,918	80	80	<0,001
	230	0,801	0,696-0,882	60	92,5	<0,001
	600	0,836	0,737-0,91	67,5	95	<0,001
	800	0,875	0,782-0,938	87,5	82,5	<0,001
	1000	0,858	0,761-0,926	70	97,5	<0,001
	cijeli zapis	0,878	0,785-0,940	82,5	90	<0,001

C.I. – 95%-tni interval pouzdanosti

6. RASPRAVA

U ovom radu nastojalo se primijeniti standardnu analizu i asimetriju Poincaréovih dijagrama u kontekst modela novorođenačkog stresa i boli u svrhu identificiranja promjena autonomnog živčanog sustava novorođenčeta. Rezultati istraživanja su pokazali kako su terminska novorođenčad primarno parasimpatički dominantna: reagiraju na stresne podražaje sniženjem tonusa parasimpatikusa, čime se povećava udio akceleracija u RR tahogramu, a promjene su praćene smanjenjem entropije srčanog ritma. Dodatno, uz praćenje fizioloških promjena, cilj je bio utilizirati rezultate analize kao moguće dijagnostičko pomagalo u identificiranju stresa i boli novorođenčeta. Multivarijatnim pristupom inkorporirajući standardne deskriptore i asimetriju Poincaréovih dijagrama i entropiju s visokom osjetljivosti i specifičnosti moguće je razlikovati mirovanje od stresa.

6.1. Analiza Poincaréovih dijagrama

U istraživanju su pronađene statistički značajne promjene u vrijednosti SD1, dok vrijednosti SD2 nisu pokazali statistički značajne razlike.

SD1 predstavlja kratkoročnu varijabilnost, odnosno kratkoročnu memoriju, što je, drugim riječima, surogat za tonus parasimpatikusa. S druge strane, SD2, predstavlja dugoročnu varijabilnost, odnosno surogat za tonus simpatikusa. U stanju stresa i mirovanju nisu pronađene statistički značajne razlike u vrijednosti SD2. Takva distribucija statsitički značajnih rezultata za oba parametra vidljiva je za sve *lagove*, gdje je značajna razlika između mirovanja i obje faze stresa pronađena za SD1, dok za SD2 razlika nije postojala.

Omjer SD1/SD2 značajno je reduciran u stresu za sve *lagove*, u odnosu na faze mirovanja. S fiziološke strane takve rezultate moguće je interpretirati kao redukciju omjera tonusa parasimpatikusa i simpatikusa, a u pogledu varijabilnosti, kao redukciju omjera kratkoročne i dugoročne varijabilnosti. Matematički gledano, ako vrijednost ostaje konstantna, a SD1 može poprimati različite vrijednosti, konačna vrijednost omjera isključivo ovisi o SD1. Upravo je to slučaj u rezultatima istraživanja: s obzirom na to da nisu pronađene statistički značajne razlike u vrijednosti SD2 u mirovanju i stresu, SD2 se može (uvjetno) shvatiti konstantom, a budući da se vrijednost SD1 smanjuje u stresu, dolazi do ukupnog smanjenja omjera SD1.

Interpretacija u fiziološkom kontekstu može se oblikovati na sljedeći način: pod uvjetom da je tonus simpatikusa promjenjiv, omjer tonus parasimpatikusa i simpatikusa je ovisan primarno o tonusu parasimpatikusa. Drugim riječima, novorođenčad u stresu reagira primarno redukcijom tonusa parasimpatikusa, dok tonus simpatikusa ostaje nepromijenjen.

S obzirom na to da se analiza srčane varijabilnosti, posebno u kontekstu Poincaréovih dijagrama počela se primjenjivati tek unazad tridesetak godina, još uvijek postoji prostor za otkrivanje primjena istih. Temeljem postojećih istraživanja novorođenačke populacije, temeljena uglavnom na analizi spektralnih domena, poznato je kako su terminska i prijevremeno rođena novorođenčad predominantno parasimpatičkog odgovora. Navedena tvrdnja se pokazala točnom i na temelju rezultata ovog istraživanja, zbog redukcije SD1 i SD1/SD2, a nedostatak promjena u tonusu simpatikusa vjerojatno je odraz nezrelosti simpatičkog sustava.

Do sada se u brojnim bazičnim i kliničkim ispitivanjima pokazala efektivna primjena analize Poincaréovih dijagrama. Standardni deskriptori su se pokazali kao koristan marker u pretreniranih sportaša, gdje je pretreniranost znak organizma u stresu, a širina Poincaréovih dijagrama je u takvoj populaciji reducirana u odnosu na kontrolnu skupinu (80). Psihogeni stres predstavlja vrstu stresa koja se očituje somatizacijom simptoma, a njegova procjena je često ograničena na anketne upitnike, koji mogu biti podvrgnuti brojnim iskrivljenjima, od kojih je subjektivna interpretacija istraživača jedna od češćih. Poincaréovi dijagrami su primijenjeni u različitim istraživanjima psihogenog stresa, gdje je pronađena redukcija vrijednosti SD1 i SD2 u različitim dijelovima dana i povezanost SD1 sa stresom ispitanika s naglaskom na povećanje tonusa simpatikusa (81, 82).

Uz spektralnu analizu, Poincaréovi dijagrami su našli svoju primjenu čak i u procjeni stresa domaćih životinja (83). U dojenačkoj populaciji Poincaréovi dijagrami su se pokazali efektivnim kao marker promijenjenog odgovora funkcije autonomnog živčanog sustava. U istraživanju o utjecaju položaja spavanja dojenčadi pronađeno je kako je značajno reducirana disperzija Poincaréovih dijagrama u dojenčadi koja spava u potrbušnom položaju, čime su dane implikacije o povezanosti sindroma iznenadne smrti dojenčadi s promijenjenom funkcijom autonomnog živčanog sustava i redukcijom srčane varijabilnosti (84).

U dostupnoj literaturi pronađeno je jedno istraživanje s kojim se rezultati ove disertacije mogu izravno usporediti. U istraživanju Weissman i suradnici su ispitivali promjenu autonomnog živčanog sustava novorođenčadi kojima je uzorkovana krv iz pete (85). U istraživanju je sudjelovalo 24 terminske novorođenčadi u dobi između 48 i 72 sata. Istraživanje je sadržavalo samo dvije faze - faza mirovanja u trajanju pet minuta i faza uzorkovanja krvi varijabilne duljine trajanja. U mirovanju prosječna vrijednost SD1 iznosila je 12,8±6,7, a SD2 50,5±21,3 ms. Uspoređujući mirovanje s rezultatima disertacije (SD1 = 13,66±7,65, SD2 = 66,05±28,95, ta lag 1), vrijednosti SD2 su značajno različite (p=0,027), dok se vrijednosti SD1 ne razlikuju (p=0,737). Međutim, u tom istraživanju došlo je do statistički značajne redukcije oba deskriptora, dok je u disertaciji samo promijenjena vrijednost SD1. Mogući razlozi ovom su razlike u frekvenciji uzorkovanja (500 Hz u odnosu na 1024 Hz) i duljina trajanja faze urokovanja krvi koja u tom istraživanju nije navedena. No, zajedničko opažanje obaju istraživanja je značajna redukcija parasimpatičke aktivnosti.

Korištenje tzv. *multi-lag* pristupa je novitet u analizi Poincaréovih dijagrama novorođenčadi, a do sada je taj pristup primjenjivan samo na odrasloj populaciji. Prvi je metodu primjenio Lerma u istraživanju kroničnog bubrežnog zatajenja, gdje je pokazano kako jedan otkucaj može utjecati na nekoliko sljedećih (86). Metodom je moguće razlikovati uredne od patoloških RR intervala, a metoda se pokazala korisnom u primjeni kroničnog srčanog zatajenja (87, 88).

Contreras i suradnici su u svom istraživanju pokazali povezanost između spektralnih indekasa i različitih *lagova* Poincaréovih dijagrama u zdravoj populaciji i populaciji dijabetičara (87). U zdravih ispitanika SD1 i SD2 su značajno pozitivno korelirali s visokim frekvencijama (HF) za *lagove* 1 i 2, a SD1 je bolje korelirao s HF za vrijednosti *lagova* ≥ 4, u odnosu na niske frekvencije (LF). Obzirom da LF predstavlja tonus simpatikusa, a HF parasimpatikusa, moguće je ekstrapolirati zaključke na rezultate ovog istraživanja. Budući da su u ovom istraživanju statistički značajne razlike pronađene u svim *lagovima* za SD1, čini se da je redukcija tonusa parasimpatikusa glavni način reakcije novorođenčeta na stres.

Obzirom na sveobuhvatnu primjenu, moguće je zaključiti da redukcija standardnih deskriptora, uz vidljivu vizualnu redukciju varijabilnosti Poincaréovih

dijagrama može svrstati Poincaréove dijagrame u skupinu univerzalnih markera za stres, neovisno o etiologiji.

6.2. Asimetrija i entropija Poincaréovih dijagrama

Drugi dio ovog istraživanja je proširenje standardne analize Poincaréovih dijagrama primjenom analize srčane asimetrije.

S obzirom na to da je analiza srčane asimetrije putem Poincaréovih dijagrama relativno nova metoda, postoji tek manji broj istraživanja kojima se pokušava fiziološka interpretacija.

U izvornom istraživanju SKG indeksa objašnjenje redukcije asimetrije je ekstrapolirano na temelju sličnosti izračuna s GI (70). Karmarkar je u eksperimentalnom modelu pokazao kako antikolinergici, redukcijom tonusa parasimpatikusa značajno utječu na GI, dok su u humanim istraživanjima Guzik i Klinworth interpretirali promjene u kontekstu utjecaja na barorefleksni odgovor, promjenama u tlaku ili povezanosti disanja s kardiovaskularnim centrom (70, 89). U drugom istraživanju u modelu stresa novorođenčadi, koristeći se tzv. asymmetric detrended fluctuation analizom (ADFA), pronađena je također veća asimetrija u stresnim stanjima, i to posebno deceleracijske komponente (76). Time je vidljivo kako je asimetrija prisutna u stresu novorođenčeta, a smanjenje deceleracijske komponente može se povezati s redukcijom parasimpatikusa, jer se redukcija događa i s deceleracijskom komponentom SKG indeksa – SKG_{up} (Tablica 9.).

Entropija je mjera za neodređenost sustava. Rezultati su pokazali kako je entropija najveća u fazama mirovanja, a reducira se u fazama stresa, opisujući veću nepredvidivost stanjima stresa. Prvi puta je entropija u modelu novorođenačkog stresa primijenjena koristeći se *multi-lag tone entropy* pristupom (75). Takvim pristupom je moguće učiniti evaluaciju autonomnog živčanog sustava koristeći se tonusom RR intervala i posljedično entropijom. Multi-lag pristup je omogućio evaluaciju utjecaja jednog RR intervala na nekoliko idućih, a rezultati su upućivali na vrlo visoku točnost modela s AUC vrijednostima od 0,93 za *lag* 1 do 0,95 za *lagove* viših vrijednosti.

Sličnost SKG indeksa u mirovanju fizioloških i randomiziranih podataka, upravo objašnjava zašto je entropija u mirovanju najveća. Nedostatak SKG indeksa je vidljiv za veće vrijednosti lagova. Razlog tomu je najvjerojatnije redukcija autokorelacije koja nastaje s povećanjem lagova. Iako nisu pronađene statistički značajne razlike s povećanjem lagova, entropija je u svim slučajevima statistički značajno različita. Važno je primijetiti kako se vrijednosti entropije najčešće razlikuju u decimalama, stoga bi trebalo njihovu kliničku vrijednost uzeti s oprezom.

Jedan od mogućih nedostataka ovog istraživanja može biti diskrepancija u duljini trajanja faza mirovanja i stresnih faza. Faze mirovanje i faza simulacije su mogle biti vremenski kontrolirane, ali faza uzorkovanja krvi nije, zbog etičkih razloga. Temeljem rezultata vidljivo je kako su SD1 i SKG indeks za različite duljine trajanja faze 1 bili konzistentni, dok su SD2 i entropija SKG indeksa ovisni o duljini zapisa. S kraćim vremenskim zapisom moguće je postojanje većih razlika u vrijednostima koje bi mogle utjecati na vrijednosti SKG indeksa, a time izravno na entropiju. U rezultatima različitih duljina trajanja faza, vidljive su najveće vrijednosti standardne devijacije SKG indeksa, što je mogući razlog nepostojanju statistički značajnih razlika u različitim duljinama zapisa. Međutim, veća standardna devijacija znači veću varijabilnost, što je mogući razlog nižim vrijednostima entropije u najkraćim duljinama zapisa. S druge strane, postupnim produljenjem vremenskog zapisa dobivaju se reprezentativniji podaci koji uzrokuju stabilizaciju entropije. Iz istog razloga, zbog čega s kraćim vremenskim zapisima vrijednost SD2 ostaje kraća, ali s produljenjem zapisa, vrijednost se stabilizira, u oba slučaja na duljini zapisa od oko 600 podataka.

Diskrepancija u različitim duljinama trajanja faza nije nedostatak u proučavanju akutnih bolnih i stresnih događaja, jer se kontinuiranim monitoriranjem pacijenta dobiju značajno veći zapisi podataka u mirnom stanju, u odnosu na stanja stresa, koja kraće traju. Time, ovako postavljen model istraživanja reflektira više stvarne uvjete u ustanovama, što ga čini pogodnim za postavljanje temelja za monitoriranje pacijenata u stvarnom svijetu.

6.3. ROC analiza

Jedna od osnovnih motivacijskih istraživačkih pitanja za ovo istraživanje je nastalo autorovim opažanjem nedostatnosti laboratorijske dijagnostike u novorođenačkoj populaciji. U potrazi za novim markerima, prirodno se nametnulo pitanje: mogu li

biomedicinski signali služiti kao biomarkeri za određena klinička stanja? Sve većom primjenom tehnologije u medicini, prikuplja se velika količina podataka za pojedinačnog pacijenta. Nažalost, takvi podaci ostaju nedovoljno iskorišteni te se umjesto kontinuiranog monitoringa, često u kliničkoj praksi oslanja na trenutačne vrijednosti prikazane na zaslonu uređaja, umjesto praćenja trenda. Takav pristup dovodi do nedovoljnog iskorištavanja kapaciteta postojeće digitalne dijagnostičke opreme, a neiskorišten vremenski podatak je trajno izgubljen podatak.

ROC analiza, temeljena na jednostavnoj i multiploj logističkoj regresiji, primijenjena je u ovom istraživanju kako bi se ispitala dijagnostička točnost deskriptora Poincaréovih dijagrama, SKG indeksa i njegove entropije u kontekstu razlikovanja novorođenčeta za vrijeme mirovanja i u stresu.

Rezultati evaluacije modela prikazani su pomoću AUC, osjetlijvosti i specifičnosti. Potrebno je naglasiti kako su *osjetljivost i specifičnost karakteristike testova, a ne pacijenta*. Za pravilnu kliničku interpretaciju potrebno je voditi se Bayesovom logikom i uzeti u obzir *vjerojatnost određenog stanja prije dijagnostičkog testa (eng. pretest probability), jer tek tada osjetljivost i specifičnost, odnosno pozitivni i negativni omjeri izgleda imaju smisla u kliničkoj interpretaciji testa* (90).

S obzirom na to da postoji više parametara kojima su okarakterizirani Poincaréovi dijagrami, prvi korak u evaluaciji modela je bio koristiti univarijatne modele standardnih deskriptora. Unatoč pojedinim razlikama s promjenom *laga* u vrijednostima AUC, promatrajući intervale pouzdanosti i njihova preklapanja, SD1 i SD1/SD2 niti za jedan lag se ne može reći da je stršio u razlikovanju faza mirovanja i faza stresa. SD2 se nije pokazao kao kvalitetan marker za evaluaciju stresa, što je u skladu s prethodno objašnjenim rezultatima vrijednosti SD2.

Modeli koji su temeljeni na multiploj logističkoj regresiji značajno su bolje uspijevali razlikovati mirovanje od stresa. Svakim dodavanjem novih varijabli, uspijeva se bolje opisati pojedini model, čime se njegova dijagnostička sposobnost povećava. Upravo je to razlog zašto model koji je obuhvaćao sve lagove SD2 bolje uspijeva razlikovati stres od mirovanja.

Obzirom da se multi-lag pristupom dobije mnoštvo varijabli, potrebno je odabrati onaj skup varijabli koje će najbolje opisati model. Redundantnost smanjuje kvalitetu

modela, jer kao i u stvarnom životu, u evaluaciji pacijenta, nije svaka informacija jednako vrijedna. Takvim pristupom, odabirom parametara koji su se pokazali statistički značajnim u univarijatnim modelima za lag 1 (SD1, SD1/SD2, SKG i entropija SKG), uspijevaju se stvoriti dijagnostički modeli s vrlo visokim AUC, od 0.892 do čak 0.989, s najvećim osjetljivostima od 97.5% i specifičnostima 100%. Drugim riječima, odabirom skupa varijabli, dobije se gotovo savršen dijagnostički model koji s visokom točnošću može opisati je li novorođenče u stresu.

Zajedničko svim rezultatima je dijagnostička točnost u razlikovanju bolnog podražaja, koja je za sve parametre uvijek bila niža. Opservirani rezultati bi se mogli interpretirati u kontekstu duljine trajanja i vrsti bolnog podražaja. Za vrijeme simulacijske faze se, naime, stvara dugotrajni intermitentni pritisak na petu novorođenčeta, dok u fazi uzorkovanja krvi, krv prikuplja i pritisak na petu je takav da se istiskuje minimalna potrebna količina krvi dovoljna za daljnju laboratorijsku analizu.

Unatoč tomu što je u ovom istraživanju riječ o eksperimentalnom kontroliranom modelu procjene akutne novorođenačke boli, rezultati istraživanja imaju dalekosežne implikacije koje bi se mogle dalje koristiti u svakodnevnom radu. Jedna od mogućih primjena je upravo u procjeni akutnog stresa, kao što je npr. titracija analgosedacije u proceduralnoj boli. Ovakvim integrativnim pristupom, primjenom biomedicinskog inženjerstva, analize signala, informacijskih znanosti i statističke analize otvara se prostor za uvođenje nove paradigme, kojom bi se u modernoj medicini povećala važnost i oslanjanje na biomarkere derivirane iz fizioloških signala.

Potrebna su daljnja istraživanja kojima će se ispitati učinkovitost ovih metoda u stvarnim uvjetima i primjeni na drugim skupinama pacijenata koji nisu u mogućnosti verbalizirati bol, poput novorođenčadi. Upravo zbog svoje neinvazivnosti, jednostavnosti i brzini dobivanja parametara, konzistentnost u duljini vremenskih zapisa, mogućnosti vizualne interpretacije, dinamika Poincaréovih dijagrama u procjeni boli bi mogla zaživjeti u stvarnoj kliničkoj praksi.

7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja analize dinamike Poincaréovih dijagrama moguće je zaključiti sljedeće:

- *Analizom Poincaréovih dijagrama u kontekstu novorođenačkog stresa vidljiva je redukcija tonusa parasimpatičkog ogranka autonomnog živčanog sustava, vidljivog kao redukcija SD1*
- *Asimetrije Poincaréovih dijagrama se povećava u stanju novorođenačkog stresa, što je praćeno povećanjem entropije istoga*
- *Multivarijatni multi-lag model ima značajno bolja diskriminantna svojstva u odnosu na univarijatne modele*
- *Kombinacijom standardnih deskriptora, asimetrije Poincaréovih dijagrama i entropije dobije se gotovo idealan neinvazivni biomarker za novorođenački stres*

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Istražiti dinamiku analize RR intervala pomoću Poincaréovih dijagrama u modelu kontroliranog novorođenačkog stresa. **Nacrt studije:** Istraživanje je postavljeno kao nerandomizirano kontrolirano kliničkog ispitivanje s ponovljenim mjerenjima. **Ispitanici i metode:** Metodom jednostavnog slučajnog uzorkovanja 40 zdrave terminske novorođenčadi kronološke dobi od 72 sata, rođenih u rodilištu Klinčkog bolničkog centra Osijek uključeno je u istraživanje. Protokol istraživanja sastojao se od četiri faze: faza 1 – mirovanje, faza 2 – simulacija bolnog podražaja pritiskom na petu novorođenčeta, faza 3 – mirovanje i faza 4 – uzorkovanje krvi iz pete novorođenčeta. Tijekom provođenja protokola istraživanja, kontinuirano je monitoriran zapis RR intervala, koji je nakon primarne obrade korišten u daljnjoj analizi. Analiza srčane varijabilnosti rađena je koristeći se analizom Poincaréovih dijagrama, unutar koje je uz standardne deskriptore korišten multi-lag pristup, asimetrija i entropija Poincaréovih dijagrama. **Rezultati:** Rezultati istraživanja su pokazali kako se u svim fazama istraživanja dobiveni signali značajno razlikuju od surogat modela. Značajna je redukcija parametra SD1 za sve lagove u fazama stresa, dok se parametar SD2 nije značajno mijenjao. Pronađena je i značajna redukcija asimetrije Poincaréovih dijagrama, a u skladu s njom je opisana i povećana entropija. ROC analizom univarijatnih i multivarijatnih single- i multi-lag modela, pronađeno je kako zasebno standardni deskriptori imaju vrijednosti AUC u pravilu veći od 0,7, a u kombiniranom modelu od 0,878 do 0,989. Analizom Poincaréovih dijagrama moguće je točnije razlikovati kontinuirani stres u odnosu na intermitentni. **Zaključak:** Dinamika analize Poincaréovih dijagrama predstavlja novitet u neinvazivnoj analizi novorođenačkog stresa. Na temelju provedenog istraživanja u kontroliranom modelu novorođenačkog stresa moguće je zaključiti kako se rezultati analiziranog fiziološkog signala mogu koristiti kao biomarkeri za razlikovanje novorođenčeta u mirovanju i u stresu

Ključne riječi: Poincaréovi dijagrami; srčana varijabilnost; bol; autonomni živčani sustav; asimetrija srčane varijabilnosti

9. SUMMARY

Objectives: To investigate the changes in the heart rate variability applying the Poincaré plot method in a controlled neonatal stress model. **Study design:** The study was designed as a non-randomized controlled clinical trial with repeated measurements. **Patients and methods:** Using simple random sampling, 40 healthy term newborns with a chronological age of 72 hours, born in the University Hospital Osijek, were included in the study. The research protocol consisted of for consecutive phases: phase 1 - first baseline phase, phase 2 - dull pain heel stimulation phase, phase 3 - second baseline phase, and phase 4 - sharp pain heel stick blood drawing phase. RR intervals were recorded during the entire protocol. After preprocessing, the heart rate variability analysis was done using the Poincaré plot method, which was extended to a multi-lag approach, along with Poincaré plot asymmetry and its entropy. **Results:** The results of the study showed that the RR interval signals in all the phases of the study protocol significantly differed from the surrogate model. A significant reduction of SD1 was observed at all lags within the stress phases, while SD2 did not significantly change. When stressed, a reduction of Poincaré plot asymmetry, followed with an increase of entropy was observed. The results ROC analysis for univariate and multivariate single- and multi-lag models showed AUC values of more than 0.7 for a single parameter, while when combined the AUC values increased up to 0.787 and 0.989. The proposed models were able to distinguish continuous stress more accurately than intermittent stress from resting. **Conclusion:** The Poincaré plot analysis is a novel and non-invasive method for assessing newborn stress. Based on the results of the study, it can be concluded that the results obtained from the physiological time series can be used as biomarkers for differentiating newborn stress from resting states.

Keywords: Poincaré plots; heart rate variability; pain; autonomic nervous system; heart rate asymmetry

10. LITERATURA

1. Hillman NH, Kallapur SG, Jobe AH. Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. Clinics in perinatology. 2012;39(4):769-83.
2. Jauniaux E, Watson A, Ozturk O, Quick D, Burton G. In-vivo measurement of intrauterine gases and acid–base values early in human pregnancy. Human Reproduction. 1999;14(11):2901-4.
3. Macaulay JH, Randall NR, Bond K, Steer PJ. Continuous monitoring of fetal temperature by noninvasive probe and its relationship to maternal temperature, fetal heart rate, and cord arterial oxygen and pH. Obstetrics and gynecology. 1992;79(3):469-74.
4. Newnham J, Marshall C, Padbury J, Lam R, Hobel C, Fisher D. Fetal catecholamine release with preterm delivery. American journal of obstetrics and gynecology. 1984;149(8):888-93.
5. Friedman A, Fahey J, editors. The transition from fetal to neonatal circulation: normal responses and implications for infants with heart disease. Seminars in perinatology; 1993.
6. Darnall R. The thermophysiology of the newborn infant. Medical instrumentation. 1987;21(1):16-22.
7. Sharma A, Ford S, Calvert J. Adaptation for life: a review of neonatal physiology. Anaesthesia & Intensive Care Medicine. 2011;12(3):85-90.
8. Veereman-Wauters G. Neonatal gut development and postnatal adaptation. European journal of pediatrics. 1996;155(8):627-32.
9. Goldman AS, Chheda S, Garofalo R. Evolution of immunologic functions of the mammary gland and the postnatal development of immunity. Pediatric Research. 1998;43(2):155.
10. Baños J-E, Ruiz G, Guardiola E. Analysis of Articles on Neonatal Pain Published from 1965 to 1999. Pain Research and Management. 2001;6(1):45-50.
11. Levy DM. The infant's earliest memory of inoculation: a contribution to public health procedures. The Journal of genetic psychology. 1960;96(1):3-46.
12. Merskey H. On the development of pain. Headache: The Journal of Head and Face Pain. 1970;10(3):116-23.
13. Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain, IASP Task Force on Taxonomy. Seattle, WA: International Association for the Study of Pain Press (Also available online at www iasp-painorg). 1994.

14. Pain IoMCo, Behavior CI. Pain and disability: Clinical, behavioral, and public policy perspectives: National Academies Press; 1987.
15. Dray A, Perkins M. Bradykinin and inflammatory pain. Trends in neurosciences. 1993;16(3):99-104.
16. Kawabata A. Prostaglandin E2 and pain—an update. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2011;34(8):1170-3.
17. Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. Progress in neurobiology. 1999;57(1):1-164.
18. Steeds CE. The anatomy and physiology of pain. Surgery (Oxford). 2009;27(12):507-11.
19. Anand KJ, Hickey PR. Pain and its effects in the human neonate and fetus. N Engl j Med. 1987;317(21):1321-9.
20. Hatfield LA. Neonatal pain: What's age got to do with it? Surgical neurology international. 2014;5(Suppl 13):S479.
21. Melzack R, editor Gate control theory: On the evolution of pain concepts. Pain forum; 1996: Elsevier.
22. Carbajal R, Rousset A, Danan C, Coquery S, Nolent P, Ducrocq S, et al. Epidemiology and treatment of painful procedures in neonates in intensive care units. Jama. 2008;300(1):60-70.
23. Low LA, Schweinhardt P. Early life adversity as a risk factor for fibromyalgia in later life. Pain research and treatment. 2012;2012.
24. Van LC, Johnson L, Andrews S, Hawkins S, Newbold J. Pain responses of hospitalized neonates to venipuncture. Neonatal network: NN. 1995;14(6):31-6.
25. Wiliamson PS, Williamson ML. Physiologic stress reduction by a local anesthetic during newborn circumcision. Pediatrics. 1983;71(1):36-40.
26. Rawlings DJ, Miller PA, Engel RR. The effect of circumcision on transcutaneous PO2 in term infants. American Journal of Diseases of Children. 1980;134(7):676-8.
27. Stevens B, Johnston C. Premature infant's response to pain: A pilot study. Nurs Quebec. 1991;11:90-5.
28. Bellieni CV, Burroni A, Perrone S, Cordelli DM, Nenci A, Lunghi A, et al. Intracranial pressure during procedural pain. Neonatology. 2003;84(3):202-5.
29. Anand K, Brown M, Causon R, Christofides N, Bloom S, Aynsley-Green A. Can the human neonate mount an endocrine and metabolic response to surgery? Journal of Pediatric Surgery. 1985;20(1):41-8.

30. Chiu IM, Heesters BA, Ghasemlou N, Von Hehn CA, Zhao F, Tran J, et al. Bacteria activate sensory neurons that modulate pain and inflammation. Nature. 2013;501(7465):52.

31. Calvo M, Dawes JM, Bennett DL. The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. The lancet neurology. 2012;11(7):629-42.

32. Pokela M-L. Pain relief can reduce hypoxemia in distressed neonates during routine treatment procedures. Pediatrics. 1994;93(3):379-83.

33. Denk F, McMahon SB, Tracey I. Pain vulnerability: a neurobiological perspective. Nature neuroscience. 2014;17(2):192.

34. Grunau R, Whitfield M, Petrie J, editors. Extremely low birth weight (ELBW) toddlers are relatively unresponsive to pain at 18 months corrected age compared to larger birth weight children. Proceedings of the Neonatal Society Meeting; 1994.

35. Whitfield MF, Grunau RE. Behavior, pain perception, and the extremely low-birth weight survivor. Clinics in perinatology. 2000;27(2):363-79.

36. Grunau RE, Whitfield MF, Petrie J. Children's Judgements about Pain at Age 8–10 Years: Do Extremely Low Birthweight ([les] 1000 g) Children Differ from Full Birthweight Peers? The Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines. 1998;39(4):587-94.

37. Grunau RE, Whitfield MF, Fay TB. Psychosocial and academic characteristics of extremely low birth weight (≤ 800 g) adolescents who are free of major impairment compared with term-born control subjects. Pediatrics. 2004;114(6):e725-e32.

38. Bellu R, de Waal K, Zanini R. Opioids for neonates receiving mechanical ventilation: a systematic review and meta-analysis. Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition. 2010;95(4):F241-F51.

39. Buchheit T, Van de Ven T, Shaw A. Epigenetics and the transition from acute to chronic pain. Pain Medicine. 2012;13(11):1474-90.

40. Leon AC, Davis LL, Kraemer HC. The role and interpretation of pilot studies in clinical research. Journal of psychiatric research. 2011;45(5):626-9.

41. Razin A, Cedar H. DNA methylation and gene expression. Microbiological reviews. 1991;55(3):451-8.

42. Seo S, Grzenda A, Lomberk G, Ou X-M, Cruciani RA, Urrutia R. Epigenetics: a promising paradigm for better understanding and managing pain. The Journal of Pain. 2013;14(6):549-57.

43. Stone LS, Szyf M. The emerging field of pain epigenetics. Pain. 2013;154(1):1-2.

44. Berntson GG, Bigger JT, Eckberg DL, Grossman P, Kaufmann PG, Malik M, et al. Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. Psychophysiology. 1997;34(6):623-48.

45. Electrophysiology TFotESoCtNASoP. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Circulation. 1996;93(5):1043-65.

46. Yates FE. Order and complexity in dynamical systems: homeodynamics as a generalized mechanics for biology. Mathematical and computer modelling. 1994;19(6-8):49-74.

47. Lloyd D, Aon MA, Cortassa S. Why homeodynamics, not homeostasis? The Scientific World Journal. 2001;1:133-45.

48. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, et al. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. Circulation research. 1986;59(2):178-93.

49. Michaels DC, Chialvo DR, Matyas EP, Jalife J. Chaotic activity in a mathematical model of the vagally driven sinoatrial node. Circulation research. 1989;65(5):1350-60.

50. Guevara MR, Glass L, Shrier A. Phase locking, period-doubling bifurcations, and irregular dynamics in periodically stimulated cardiac cells. Science. 1981;214(4527):1350-3.

51. Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science. 1995;5(1):82-7.

52. Brennan M, Palaniswami M, Kamen P. Do existing measures of Poincare plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? IEEE transactions on biomedical engineering. 2001;48(11):1342-7.

53. Ivanov PC, Amaral LAN, Goldberger AL, Havlin S, Rosenblum MG, Struzik ZR, et al. Multifractality in human heartbeat dynamics. Nature. 1999;399(6735):461.

54. Acharya UR, Joseph KP, Kannathal N, Min LC, Suri JS. Heart rate variability. Advances in cardiac signal processing: Springer; 2007. p. 121-65.

55. Voss A, Schulz S, Schroeder R, Baumert M, Caminal P. Methods derived from nonlinear dynamics for analysing heart rate variability. Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences. 2009;367(1887):277-96.

56. Osaka M, Saitoh H, Atarashi H, Hayakawa H. Correlation dimension of heart rate variability: a new index of human autonomic function. Frontiers of medical and biological engineering: the international journal of the Japan Society of Medical Electronics and Biological Engineering. 1993;5(4):289-300.

57. Rosenstein MT, Collins JJ, De Luca CJ. A practical method for calculating largest Lyapunov exponents from small data sets. Physica D: Nonlinear Phenomena. 1993;65(1-2):117-34.

58. Tapanainen JM, Thomsen PEB, Køber L, Torp-Pedersen C, Mäkikallio TH, Still A-M, et al. Fractal analysis of heart rate variability and mortality after an acute myocardial infarction. The American journal of cardiology. 2002;90(4):347-52.

59. Horn E, Lee S. Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death: further observation. American Journal of Obstetrics & Gynecology. 1965;87:824-6.

60. Pongiglione G, Fish FA, Strasburger JF, Benson DW. Heart rate and blood pressure response to upright tilt in young patients with unexplained syncope. Journal of the American College of Cardiology. 1990;16(1):165-70.

61. La Rovere MT, Pinna GD, Hohnloser SH, Marcus FI, Mortara A, Nohara R, et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. Circulation. 2001;103(16):2072-7.

62. Pagani M, Malfatto G, Pierini S, Casati R, Masu AM, Poli M, et al. Spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy. Journal of the autonomic nervous system. 1988;23(2):143-53.

63. Ernst G. Heart-Rate Variability—More than Heart Beats? Frontiers in public health. 2017;5:240.

64. Woo MA, Stevenson WG, Moser DK, Trelease RB, Harper RM. Patterns of beat-to-beat heart rate variability in advanced heart failure. American heart journal. 1992;123(3):704-10.

65. Tulppo MP, Makikallio T, Takala T, Seppanen T, Huikuri HV. Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise. American journal of physiology-heart and circulatory physiology. 1996;271(1):H244-H52.

66. Brennan M, Palaniswami M, Kamen P. Poincare plot interpretation using a physiological model of HRV based on a network of oscillators. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2002;283(5):H1873-H86.

67. Guzik P, Piskorski J, Krauze T, Schneider R, Wesseling KH, Wykretowicz A, et al. Correlations between the Poincare plot and conventional heart rate variability parameters assessed during paced breathing. The Journal of Physiological Sciences. 2007;57(1):63-71.

68. Ciccone AB, Siedlik JA, Wecht JM, Deckert JA, Nguyen ND, Weir JP. Reminder: RMSSD and SD1 are identical heart rate variability metrics. Muscle & nerve. 2017;56(4):674-8.

69. Shaffer F, Ginsberg J. An overview of heart rate variability metrics and norms. Frontiers in public health. 2017;5:258.

70. Guzik P, Piskorski J, Krauze T, Wykretowicz A, Wysocki H. Heart rate asymmetry by Poincaré plots of RR intervals. Biomedizinische Technik. 2006;51(4):272-5.

71. Piskorski J, Guzik P. Geometry of the Poincaré plot of RR intervals and its asymmetry in healthy adults. Physiological measurement. 2007;28(3):287.

72. Porta A, Casali KR, Casali AG, Gnecchi-Ruscone T, Tobaldini E, Montano N, et al. Temporal asymmetries of short-term heart period variability are linked to autonomic regulation. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2008;295(2):R550-R7.

73. Ehlers CL, Havstad J, Prichard D, Theiler J. Low doses of ethanol reduce evidence for nonlinear structure in brain activity. Journal of Neuroscience. 1998;18(18):7474-86.

74. Kramarić K, Šapina M, Garcin M, Milas K, Pirić M, Brdarić D, et al. Heart rate asymmetry as a new marker for neonatal stress. Biomedical Signal Processing and Control. 2019;47:219-23.

75. Šapina M, Karmakar CK, Kramarić K, Garcin M, Adelson PD, Milas K, et al. Multi-lag tone–entropy in neonatal stress. Journal of The Royal Society Interface. 2018;15(146):20180420.

76. Šapina M, Kośmider M, Kramarić K, Garcin M, Adelson PD, Pirić M, et al. Asymmetric detrended fluctuation analysis in neonatal stress. Physiological measurement. 2018;39(8):085006.

77. Tansek MZ, Groselj U, Angelkova N, Anton D, Baric I, Djordjevic M, et al. Phenylketonuria screening and management in southeastern Europe–survey results from 11 countries. Orphanet journal of rare diseases. 2015;10(1):68.

78. Sami S, Seppänen M, Kuusela A. Artefact correction for heart beat interval data. 1st Probisi 2004 Proceedings Jyväskylä, Finland: University of Jyväskylä. 2004.

79. Shannon CE, Weaver W, Burks AW. The mathematical theory of communication. 1951.

80. Mourot L, Bouhaddi M, Perrey S, Cappelle S, Henriet MT, Wolf JP, et al. Decrease in heart rate variability with overtraining: assessment by the Poincare plot analysis. Clinical physiology and functional imaging. 2004;24(1):10-8.

81. Orsila R, Virtanen M, Luukkaala T, Tarvainen M, Karjalainen P, Viik J, et al. Perceived mental stress and reactions in heart rate variability—a pilot study among employees of an electronics company. International Journal of Occupational Safety and Ergonomics. 2008;14(3):275-83.

82. Dimitriev D, Saperova E. Heart rate variability and blood pressure during mental stress. Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni IM Sechenova. 2015;101(1):98-107.

83. Von Borell E, Langbein J, Després G, Hansen S, Leterrier C, Marchant-Forde J, et al. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals—a review. Physiology & Behavior. 2007;92(3):293-316.

84. Galland BC, Reeves G, Taylor B, Bolton D. Sleep position, autonomic function, and arousal. Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition. 1998;78(3):F189-F94.

85. Weissman A, Zimmer EZ, Aranovitch M, Blazer S. Heart rate dynamics during acute pain in newborns. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2012;464(6):593-9.

86. Claudia L, Oscar I, Héctor PG, Marco VJ. Poincaré plot indexes of heart rate variability capture dynamic adaptations after haemodialysis in chronic renal failure patients. Clinical physiology and functional imaging. 2003;23(2):72-80.

87. Contreras P, Canetti R, Migliaro ER. Correlations between frequency-domain HRV indices and lagged Poincaré plot width in healthy and diabetic subjects. Physiological measurement. 2006;28(1):85.

88. Thakre TP, Smith ML. Loss of lag-response curvilinearity of indices of heart rate variability in congestive heart failure. BMC cardiovascular disorders. 2006;6(1):27.

89. Klintworth A, Ajtay Z, Paljunite A, Szabados S, Hejjel L. Heart rate asymmetry follows the inspiration/expiration ratio in healthy volunteers. Physiological measurement. 2012;33(10):1717.

90. Lesaffre E, Speybroeck N, Berkvens D. Bayes and diagnostic testing. Veterinary parasitology. 2007;148(1):58-61.

ŽIVOTOPIS

Matej Šapina rođen je u Travniku (Bosna i Hercegovina), 10. kolovoza 1989. godine. Osnovnu školu pohađao je u Berlinu, Orahovici i Strizivojni, a opću gimnaziju u Đakovu. Na studij medicine Medicinskog fakulteta upisuje se 2008. godine, koji završava 2014. godine.

Nakon završetka fakulteta i stjecanja licence za rad, zapošljava se kao liječnik opće medicine u Domu zdravlja Đakovo, a potom 2016. godine započinje specijalizaciju iz pedijatrije u Kliničkom bolničkom centru Osijek.

Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, na Medicinskom fakultetu Osijek započinje 2015. godine.

Kao asistent zaposlen je na Katedri za pedijatriju Medicinskog fakulteta i na Katedri za medicinsku statistiku i informatiku Fakulteta za dentalnu medicinu i zdravstvo. Sudjelovao je na projektu Ministarstva zdravlja i Svjetske zdravstvene organizacije: „Praćenje zdravstveno-ekoloških pokazatelja Parmske deklaracije u osnovnim školama“, a sudjelovao je u izradi brošure „Zdravstveno ekološki čimbenici u osnovnim školama u Republici Hrvatskoj“.

Tijekom poslijediplomskog studija objavljuje 8 znanstvenih radova i sudjeluje na više znanstvenih i stručnih skupova. Za temu iz istraživanja doktorske disertacije dobio je Dekanovu nagradu Medicinskog fakulteta Osijek 2018. godine.