

# Dinámica no lineal para caracterizar la variabilidad del ritmo cardíaco en pacientes chagásicos agudos

**Pablo Guillén<sup>1\*</sup>, Diego Jugo<sup>2</sup>, Hugo Carrasco<sup>3</sup> y Rubén Rojas<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Cálculo Científico Universidad de Los Andes, CeCaLCULA, Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>Postgrado de Automatización e Instrumentación, Grupo de Ingeniería Biomédica (GIBULA), Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Cardiovasculares, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Recibido: 08-09-03. Aceptado: 06-11-03

## Resumen

En este trabajo se realiza un estudio de la Variabilidad del Ritmo Cardíaco (HRV en Inglés) en pacientes chagásicos agudos mediante métodos del análisis no lineal: dinámica simbólica y entropía aproximada. El objetivo es determinar las posibles alteraciones en el balance autonómico cardíaco en la enfermedad de Chagas aguda. Los resultados obtenidos por ambos métodos (dinámica simbólica y entropía aproximada) indican algunas alteraciones del balance autonómico cardíaco en las fases tempranas de la enfermedad probablemente causadas por el infiltrado inflamatorio agudo.

**Palabras clave:** Dinámica no lineal; enfermedad de Chagas aguda; variabilidad de la frecuencia cardíaca.

## Nonlinear dynamics to characterize heart rate variability in acute chagasic patients

### Abstract

This work realizes a study of heart rate variability in chagasic patients by means of nonlinear analysis methods: symbolic dynamics and approximate entropy. The main objective of the study was to investigate possible alterations of cardiac autonomic balance in acute chagasic patients. The results obtained for both methods (symbolic dynamics and approximate entropy) indicate some alterations in the autonomic cardiac balance in early phase probably caused by acute infiltrated inflammatory.

**Key words:** Acute chagasic disease; heart rate variability; nonlinear dynamics.

### Introducción

En la enfermedad de Chagas aguda existe siempre invasión parasitaria al miocardio, que origina un sustrato anatómico de miocarditis aguda, lesiones capilares, fibrosis escasa y aislados nidos de amastigotes (1). Las descripciones de lesiones obser-

vadas en modelos experimentales de esta enfermedad y en autopsias de casos humanos agudos también refieren invasión y destrucción precoz de ganglios del sistema nervioso autónomo cardíaco, lo cual ha dado fundamento a la teoría neurogénica para explicar el daño miocárdico progresivo de la

\* Autor para la correspondencia. E-mail: pguillen@cecalc.ula.ve

miocardiopatía chagásica crónica, atribuyéndolo a pérdida del control autonómico cardíaco desde la fase aguda, con la consecuente dilatación progresiva e irreversible de las cavidades cardíacas (2). De ser cierta esta teoría, el sustrato anatómico descrito debería generar modificaciones muy precoces de activación eléctrica y disfunción del sistema nervioso autónomo. El presente estudio ha sido diseñado con el objeto de comprobar la posibilidad de que estas alteraciones pudieran detectarse mediante el análisis de la variabilidad de los intervalos RR del electrocardiograma de reposo en nuestros pacientes chagásicos agudos.

Durante las últimas dos décadas la variabilidad del ritmo cardíaco ha despertado un creciente interés como método de diagnóstico no invasivo de distintas patologías cardiovasculares. Las primeras observaciones de dinámica no lineal y comportamiento caótico en los sistemas fisiológicos se van a realizar a finales de la década de los setenta y principio de los ochenta (3-5) del siglo pasado. A finales de los ochenta y principio del noventa (6-11), se desarrolla una hipótesis sobre la naturaleza y aparente comportamiento caótico de la HRV. La aplicación de nuevos métodos de diagnóstico cardiológico en los últimos años, ha permitido estudiar mejor a los pacientes cardiopatas, y a la vez, comenzar a explorar las formas "incipientes" de la enfermedad. El análisis de la HRV ha permitido evaluar el balance autonómico cardíaco. Los desbalances en el sistema nervioso autonómico han sido propuestos como un posible mecanismo que produce fibrilación ventricular y paro cardíaco súbito en pacientes con enfermedades cardiovasculares (12, 13). Estudios recientes mediante métodos de dinámica simbólica (14), han mostrado que una baja HRV está relacionada a un aumento de riesgo para diferentes arritmias ventriculares y muerte súbita cardíaca. Estos fenómenos están asociados con una complejidad decreciente de la dinámica de los latidos. La entropía es un concepto que específica aleatoriedad y predicción de

los sistemas (15). El algoritmo de la entropía aproximada ofrece un cálculo rápido de la regularidad en las señales biológicas, el cual podría ser potencialmente aplicado para caracterizar el aumento de regularidad en la HRV de sujetos patológicos (16).

El propósito del presente estudio es la aplicación de un nuevo método de dinámica simbólica y su comparación con el método de la entropía aproximada, para analizar la HRV de un grupo de sujetos sanos (n=15) y un grupo de pacientes chagásicos agudos (n=19).

## Materiales y Métodos

**Pacientes y parámetros:** 19 pacientes con síndrome febril prolongado, *Trypanosoma cruzi* circulante y signos de miocarditis aguda en la biopsia septal endomiocárdica fueron admitidos en el estudio. El protocolo clínico inicial ha sido mencionado en publicaciones previas de nuestro grupo (17, 18); consistió en: elaboración de historia clínica, registro de ECG de reposo de 12 derivaciones interpretado según las normas de la NYHA, Rx tórax PA de pie, ecocardiograma bidimensional y Doppler, electrocardiograma dinámico (Holter) de 24 horas, ECG de señales promediadas (19, 20) y toma de biopsia septal endomiocárdica, después de explicar los procedimientos a los pacientes y obtener su permiso por escrito. El diagnóstico seroparasitológico positivo para enfermedad de Chagas aguda se basó en los resultados de las siguientes pruebas: DAT, IFI, Elisa, examen en fresco, Giemsa de frotis de sangre periférica, inoculación a ratones, serodiagnóstico y hemocultivo (1). Además, se detectó la presencia de miocarditis aguda y de parásitos en el miocardio mediante el uso de técnicas histológicas (H-E), Inmuno-histoquímicas (IFI, PAP) y de biología molecular (PCR) aplicadas a las biopsias miocárdicas (1).

En un estudio piloto preliminar, se determinó que la edad es un factor fundamental en el análisis de los resultados de estos procedimientos (21); por tanto, se escogió un grupo

control de 15 sujetos sanos pareados por edad al grupo de estudio, a quienes se realizaron las pruebas no invasivas señaladas en protocolo y una serología para Chagas.

**Procesamiento de la señal ECG:** Las señales electrocardiográficas de alta resolución (ECGAR), ( $f_m = 1000$  Hz,  $AB = 0,5 - 10^3$  Hz y duración del registro 10 minutos), utilizadas en este trabajo, fueron adquiridas mediante un sistema de adquisición y procesado desarrollado por el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Los Andes, (Sistema Potardio) (19). Este sistema de promediado, detecta los complejos QRS y genera los intervalos RR (tiempo transcurrido entre dos complejos QRS consecutivos), a tal secuencia de intervalos RR se le conoce como tacograma y a partir del mismo es posible desarrollar diversos algoritmos de análisis que producen información muy importante acerca del funcionamiento del sistema nervioso autónomo. Los tacogramas a analizar contienen en su mayoría 300 intervalos RR. En la Figura 1, se muestran 2 tacogramas para un sujeto sano y un paciente chagásico agudo, respectivamente.

**Grupo de pacientes y grupo de control:** Para este trabajo se han seleccionado ECGAR de 15 sujetos sanos, edad  $25 \pm 11$  años (grupo de control), y 19 pacientes chagásicos agudos, edad  $26 \pm 12$ . Todos estos pacientes pertenecen a la consulta regular del Centro Cardiovascular del Hospital Universitario de la Universidad de Los Andes.

**Dinámica simbólica:** El principio básico de dinámica simbólica es transformar una serie temporal en una secuencia de símbolos. Esto provee un modelo para las órbitas del sistema dinámico via un espacio de sucesiones. Dado un conjunto de datos  $X$  (los intervalos RR consecutivos) la secuencia de símbolos es obtenida cuantificando  $X$  en cajas etiquetadas con un símbolo. Calculando atributos de la secuencia de símbolos puede revelar características no lineales de la serie temporal original y el sistema dinámico examinado. Las secuencias de símbolos serán estimadas de acuerdo al siguiente algoritmo: Una ventana de longitud  $M$  muestras es ajustada sobre el primer valor de la serie. Dentro de la ventana de  $M$  muestras se determinan las diferencias consecutivas

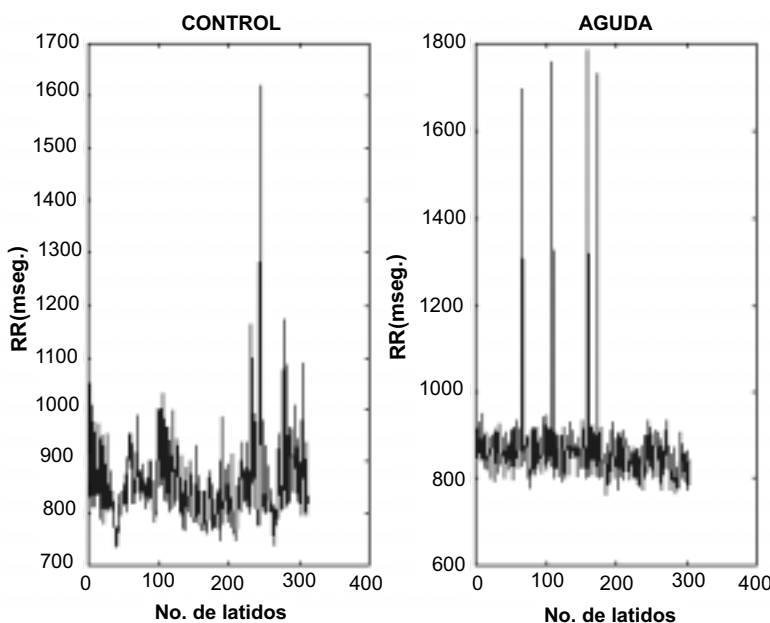


Figura 1. Tacograma de los intervalos RR para un sujeto de control y un paciente chagásico agudo.

muestra a muestra. Todas las diferencias menores que la desviación estándar, *sd*, de los valores en la ventana son consideradas. El resultado da un símbolo y la ventana es movida al segundo valor de la serie y el procedimiento comienza de nuevo para obtener el próximo símbolo. La fórmula matemática para este procedimiento es:

$$S_j = \begin{cases} 0 & \text{si } |x_j^j - x_{j-1}^j| \geq a * sd \\ 1 & \text{si } |x_j^j - x_{j-1}^j| < a * sd \end{cases} \quad j = 1, \dots, N - M + 1 \quad [1]$$

donde *N* es la longitud de la serie RR y *a* es un parámetro usado para ponderar la desviación estándar de los *M* valores que constituyen la ventana. Se construye un histograma a partir de la secuencia de símbolos *s<sub>j</sub>*. El número de ocurrencias de cada símbolo *s<sub>k</sub>*, *k* = 0, 1, ..., *M* - 1, a lo largo de toda la serie RR, es el parámetro propuesto para caracterizar la complejidad de la variabilidad del ritmo cardíaco. Una vez obtenidas las secuencias de símbolos, se generan los histogramas para cada conjunto de intervalos RR en el grupo de control y en el grupo de pacientes chagásicos agudos. La Figura 2 muestra los histogramas de un sujeto de control y un paciente chagásico agudo, respectivamente. Estos histogramas fueron obtenidos considerando una ventana de longitud *M* = 20 latidos y el parámetro *a* igual a uno. El algoritmo presentado en este trabajo permite detectar los cambios de complejidad de la HRV a través de los intervalos RR.

**Entropía aproximada:** La entropía aproximada cuantifica la predicción de valores siguientes de una serie temporal basada en el conocimiento de los valores previos de la serie temporal (17). En una serie temporal perfectamente regular (manteniendo cierto orden) el conocimiento de los valores previos posibilita la predicción de los valores siguientes. Por ejemplo, en una serie temporal perfectamente regular como la siguiente; 0, 0, 1, 0, 0, 1, ..., conociendo que los dos valores previos fueron 0 y 0 posibilita la predicción que el valor siguiente sea 1. Con un aumento de la irregularidad, aún conociendo

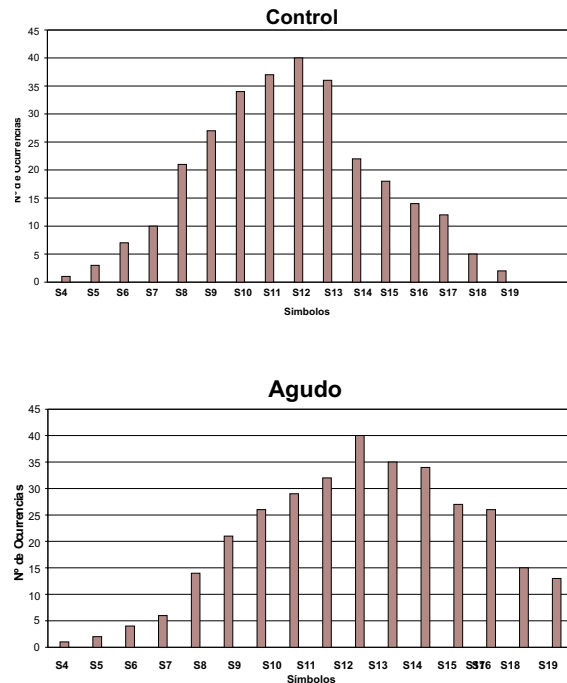


Figura 2. Histogramas de las secuencias de símbolos de la HRV para un sujeto de control y un paciente chagásico agudo. Los símbolos obtenidos cuantifican la diferencia entre los histogramas.

los valores previos, la predicción del valor siguiente podría ser errónea. A continuación se presenta el algoritmo para calcular la entropía aproximada:

$$EnAp = F^m(r) - F^{m+1}(r) \quad [2]$$

donde  $F^m(r)$  es definida como

$$F^m(r) = (N - m + 1)^{-1} \sum_{i=1}^{N-m+1} \ln C_i^m(r), \quad [3]$$

y  $C_i^m(r)$  está dada por

$$C_i^m(r) = \frac{\text{(numero de } j \text{ tal que } d[\mathbf{x}(i), \mathbf{x}(j)] \leq r)}{(N - m + 1)} \quad [4]$$

donde  $\mathbf{x}(i)$  y  $\mathbf{x}(j)$  son vectores definidos por

$$x(i) = [x(i), \dots, x(i + m - 1)]$$

$$x(j) = [x(j), \dots, x(j + m - 1)] \quad [5]$$

de una serie temporal  $x(1), x(2), \dots, x(N)$  y  $d$  se refiere a la métrica usual, para una descripción más detallada véase (15). El valor de la entropía aproximada como una medida relativa (no absoluta), depende de tres parámetros: la longitud de la ventana usada ( $N$ ), el número de valores previos usados para la predicción del valor siguiente ( $m$ ), y un nivel de filtro ( $r$ ). El filtro  $r$ , es usado como un tamaño relativo, es decir, se expresa como parte de la desviación estándar de los ( $N$ ) valores que constituyen la ventana (15).

**Método estadístico aplicado:** Para distinguir entre el grupo de control (GC) y el grupo de pacientes chagásicos agudos (Ch) con las variables medidas en el dominio del tiempo, y mediante los métodos de dinámica simbólica y entropía aproximada, se aplicó la prueba U de Mann-Whitney, considerando diferencias estadísticamente significativas entre las variables cuando ( $P < 0,05$ ).

## Resultados

Los resultados obtenidos para las variables medidas en el dominio del tiempo, media y desviación estándar del tacograma, son presentados en la Tabla 1. Se realizaron discriminaciones entre el grupo de control (GC) y el grupo de pacientes chagásicos agudos y se obtuvieron diferencias significativas al determinar los valores clásicos de la variabilidad del ritmo cardíaco en el dominio del tiempo.

Para el análisis de dinámica simbólica  $a = 1$  y  $M = 20$  latidos, han sido considerados como el nivel de ponderación de la desviación estándar y el tamaño de la ventana, respectivamente. Utilizando una ventana  $M = 20$  latidos se obtiene una secuencia de 20 símbolos ( $S_0, S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_7, S_8, S_9, S_{10}, S_{11}, S_{12}, S_{13}, S_{14}, S_{15}, S_{16}, S_{17}, S_{18},$  y  $S_{19}$ ), para esta ventana  $S_{19}$  es un símbolo extremo, que de acuerdo a la ecuación [1] su valor numérico es el número 19 y este valor se alcanza cuando las diferencias consecutivas muestra a muestra de la ventana considerada son menores que el

Tabla 1

Variabilidad del ritmo cardíaco. Medidas clásicas en el dominio del tiempo, media y desviación estándar del tacograma, los resultados se presentan en términos de media y desviación estándar

Variabes	GC	Ch	Valor p
Media(mseg.)	887±134	712±137	0,001
sd (mseg.)	55±26	40±34	0,04

Abreviaturas: sd= desviación estándar, GC= grupo control, Ch= chagásicos, p= significancia estadística, mseg.= milisegundos.

umbral definido, cuantificando en este caso un comportamiento regular de la señal. En la Tabla 2 se muestra el número de ocurrencias de los símbolos obtenidos para el grupo de control y el grupo de pacientes chagásicos agudos. El símbolo que discrimina es  $S_{19}$  ( $P = 0,007$ ), presentando un mayor número de ocurrencias en el grupo de pacientes chagásicos agudos que en el grupo de control, lo cual muestra un aumento de regularidad de la variabilidad del ritmo cardíaco. Adicionalmente, se puede observar que los símbolos  $S_{13}, S_{14}, S_{15}, S_{16}, S_{17},$  y  $S_{18}$  se van presentando con un mayor número de ocurrencias en el grupo de pacientes chagásicos agudos que en el grupo de control, lo que refleja una disminución de la variabilidad del ritmo cardíaco.

Para estimar la entropía aproximada se han escogido los siguientes parámetros  $\alpha = 1, m = 2$  y  $M$  igual a la longitud total del tacograma (serie RR). En la Tabla 3 se muestran los valores de la entropía aproximada para el grupo de control y el grupo de pacientes chagásicos agudos. En general, puede observarse que el grupo de control presenta un valor más alto de la entropía aproximada que el grupo de pacientes chagásicos agudos, lo cual muestra una mayor irregularidad de la HRV en los sujetos sanos.

## Discusión

El análisis de la variabilidad del ritmo cardíaco (HRV) presentado en este trabajo, se ha orientado a la aplicación de métodos de la dinámica no lineal como herramienta no invasiva para obtener índices que permi-

tan caracterizar los cambios de complejidad entre sujetos sanos y pacientes chagásicos agudos, ya que ellos (símbolos en el caso de dinámica simbólica) indican una regularidad de la HRV en la fase inicial de la enfermedad. Estos resultados, indicativos de una regularidad de la HRV en pacientes chagásicos agudos, y por ende de una disfunción precoz del balance autonómico (Tabla 2) son compatibles con los obtenidos mediante el método de entropía aproximada (Tabla 3).

Los métodos tradicionales en el dominio del tiempo (media y desviación estándar de la serie RR) no son suficientes para describir los complejos cambios dinámicos de la HRV, para lo cual deben asumirse características no lineales de la regulación autonómica cardíaca. Sin embargo, nuestros resultados actuales también muestran diferencias de las variables clásicas de la HRV en el dominio del tiempo (Tabla 1) entre los grupos estudiados.

Los pacientes chagásicos agudos incluidos en el presente estudio son representativos de la mayoría de los casos de esta patología (22): tienen las manifestaciones clínicas usuales con poco deterioro evidente cardiovascular y responden a la medicación con un aparente regreso a la normalidad. En contraste, la información sobre las características anatomopatológicas de esta fase aguda de la enfermedad proviene de estudios necrópsicos de los casos más severos, en los cuales se describieron lesiones musculares y de los ganglios del sistema nervioso autónomo cardíaco, cuya destrucción dio origen a la teoría neurogénica de Koberle hace más de 40 años, que todavía es motivo de controversia (22). Además, parecen existir diferencias regionales con respecto al grado de compromiso del sistema nervioso autónomo, el cual se describe como frecuente en los países del cono de la América del sur, pero es muy escaso o inexistente en los países del norte de Sudamérica (23). Por ejemplo, estudios experimentales recientes en nuestro país indicaron ausencia de alteraciones del balance

Tabla 2

Símbolos para el grupo de control y el grupo de pacientes chagásicos agudos, considerando M=20 latidos, los resultados se presentan en términos de media y desviación estándar

Símbolos	GC	Ch	Valor p
S <sub>0</sub>	0	0	-
S <sub>1</sub>	0	0	-
S <sub>2</sub>	0	0	-
S <sub>3</sub>	0	0	-
S <sub>4</sub>	0,7±2	0,3±1	n.s.
S <sub>5</sub>	3±9	2±3	n.s.
S <sub>6</sub>	6±16	3±5	n.s.
S <sub>7</sub>	9±11	6±10	n.s.
S <sub>8</sub>	21±15	14±14	n.s.
S <sub>9</sub>	26±16	20±21	n.s.
S <sub>10</sub>	33±20	25±21	n.s.
S <sub>11</sub>	37±18	29±15	n.s.
S <sub>12</sub>	39±13	32±18	n.s.
S <sub>13</sub>	36±16	39±51	n.s.
S <sub>14</sub>	21±10	34±47	n.s.
S <sub>15</sub>	17±15	33±42	n.s.
S <sub>16</sub>	13±17	27±23	n.s.
S <sub>17</sub>	12±19	25±23	n.s.
S <sub>18</sub>	5±8	15±18	n.s.
S <sub>19</sub>	1±6	13±19	0,007

Abreviaturas: GC = grupo control, Ch = chagásicos, p = significancia estadística, n.s. = no significativo.

Tabla 3

Valores de la entropía aproximada para el grupo de control y el grupo de pacientes chagásicos agudos, los resultados se presentan en términos de media y desviación estándar

Variabes	GC	Ch	Valor p
	0,42±0,1	0,34±0,15	0,002

Abreviaturas: GC= grupo control, Ch= chagásicos, p= significancia estadística.

autonómico en la fase aguda (24), y se ha reportado que la maniobra de Vasalva es normal en pacientes estudiados a los pocos meses de tratada esta fase, hallazgo indicativo de indemnidad de la respuesta parasimpática cardíaca (25). Las alteraciones en el balance autonómico reportadas con las técnicas aplicadas en este estudio no fueron detectadas en estos mismos pacientes al utilizar las técnicas convencionales (26), lo cual sugiere que son muy discretas y podrían originarse en los cambios reversibles anatómopatológicos subyacentes. Como tampoco fueron detectadas en los pacientes chagásicos crónicos con daño miocárdico subclínico (20), cabe pensar o bien que fueron cambios funcionales ya recuperados después de la fase aguda, o que las técnicas empleadas en ese estudio (las convencionales) no tienen la suficiente sensibilidad para detectar cambios sutiles en la regulación autonómica, como parece ser el caso de nuestros pacientes agudos. Es necesario por lo tanto reanalizar la información de los pacientes chagásicos crónicos a la luz de las nuevas técnicas no lineales aplicadas en este estudio y también completar estudios de seguimiento a mediano y largo plazo del balance autonómico de los pacientes agudos incluidos en este trabajo.

En conclusión, los resultados obtenidos mediante los métodos de dinámica simbólica y entropía aproximada nos confirman que estas técnicas podrían ser usadas para caracterizar el balance autonómico cardíaco de pacientes chagásicos agudos.

### Referencias Bibliográficas

1. AÑEZ N., CARRASCO H., PARADA H., CRISANTE G., ROJAS A., FUENMAYOR C. *Am J Trop Med Hyg.* 60: 726-732, 1999.
2. KÖBERLE F. *Die Chgaskrankheit eine Erkrankung der neurovegetativenperiferie.* Wien Klin Wschr, 68: 333-372, 1956.
3. MACKEY M., GLASS L. *Science* 197: 287-289, 1977.
4. GUEVARA M., GLASS L., SHRIER A. *Science* 214: 1350-1353, 1981.
5. GUEVARA M., GLASS L., MACKEY M. *Trans IEEE Systems, Man and Cybernetics* 13: 790-798, 1983.
6. GOLDBERGER A., WEST B. *Yale J Biol Med* 60: 421-435, 1987.
7. GOLDBERGER A. *Science* 243: 604-607, 1989.
8. GOLDBERGER A. *Ann Biomed Eng* 1: 195-198, 1990.
9. GOLDBERGER A., RIGNEY D., WEST B. *Sci Am* 262: 42-49, 1990.
10. WEST B. *World Scientific, Singapore,* New Jersey (USA), pp. 288, 1990.
11. WEST B. *J Mod Phys B* 4: 1629-1669, 1990.
12. HALL P., ATWOOD E., FROELICHER V. *The signal average surface electrocardiogram and the identification of the late potentials.* Progress in Cardiovascular disease, Vol. XXXI N° 4, January/February, pp. 295-317, 1989.
13. DOUGHERTY C., BURR R. *Am J Cardiol* 70: 441-448, 1992.
14. WESSEL N., ZIEHMANN C., KURTHS J., MEYERFELDT U., SCHIRDEWAN A., VOSS A. *Physical Review E* 61: 733-739, 2000.
15. PINCUS S., GOLDBERGER A. *American Physiological Society,* 266: H1643-H1656, 1994.
16. PINCUS S., GLADSTONE I., EHRENKRANZ R. A regularity statistic for medical data analysis. *J Clin Monit* 7: 335-345, 1991.
17. CARRASCO H., PARADA H., GUERRERO L., DUQUE M. *Int J Cardiol* 43: 27-38, 1994.
18. CARRASCO H., BARBOZA J., INGLESSIS G., FUENMAYOR A., MOLINA C. *Am Heart J* 104: 595-602, 1982.
19. MEDINA R., JUGO D., CARRASCO H., LOBELO R., CASTILLO C. *An acquisition and processing system for the high resolution surface electrocardiogram.* Pro-

- ceeding of the 14<sup>th</sup> annual international conference of the IEEE EMBS society, Paris, pp. 779-780, 1992.
20. CARRASCO H., JUGO D., MEDINA R., CASTILLO C., MIRANDA P. **Electrocardiograma de alta resolución y variabilidad de la frecuencia cardíaca en pacientes chagásicos crónicos**. arch inst cardiol mex vol, 67: 277-285, 1997.
  21. CARRASCO H., JUGO D., MEDINA R., FUENMAYOR C., INGLESSIS I. **Rev Chile Cardiol** 4:166, 1995.
  22. LUGONES H., LEDESMA O., STORINO R., MARTELEUR A., RIBAS C., BARBIERI G. **Chagas agudo**. En Storino R, Milei, J. Enfermedad de Chagas. Buenos Aires: Mosby-Doyma Argentina, pp. 209-234, 1994.
  23. CARRASCO H., PALACIOS E., SCORZA C., MENDOZA R. **Interciencia** 8: 342-352, 1983.
  24. FUENMAYOR A., FUENMAYOR A.M., CARRASCO H., PARADA H., FUENMAYOR C., JUGO D. **Clin Cardiol** 20:1021-1025, 1997.
  25. ODREMAN R., DÁVILA D., DONIS J., TORRES A., BELLABARBA G., LEMORVAN C. **Avances Cardiol** 16:141, 1996.
  26. JUGO D., CARRASCO H., MEDINA R., LANDAETA A., BELLERA J. **Avances Cardiol** 19(6): 203-208, 1999.