

Evaluación de la Disfunción Diastólica en Pacientes Chagásicos Mediante Métodos Radioisotópicos

Araujo Ríos, Raúl¹; Irahola Canizares, Pamela C.²; Zambrana Zelada, Alfredo³.

¹ Médico Cardiólogo; Docente Titular Cátedra de Cardiología. Facultad de Medicina. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca.

² Médica Cirujana. Egresada de la Facultad de Medicina. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca

³ Electromedicina. Instituto de Medicina Nuclear Sucre. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca.

RESUMEN

Incentivados por la importancia de la disfunción diastólica en la insuficiencia cardíaca en general y en pacientes chagásicos en particular por las pocas publicaciones sobre este tema, previa revisión bibliográfica sobre la fisiología y la fisiopatología de la disfunción diastólica, en la siguiente investigación presentamos las alteraciones de la función diastólica en pacientes chagásicos indeterminados, crónicos y un grupo control, seleccionados mediante serología y electrocardiograma, han sido evaluados mediante ventriculografía radioisotópica de equilibrio.

En estos estudios determinamos que existe un alto porcentaje de pacientes chagásicos con disfunción diastólica secundaria a la fibrosis miocárdica, que pasan desapercibidos en los exámenes clínicos y otros complementarios, sin dar importancia a la repercusión clínica que amerita tratamiento específico.

Si bien la función sistólica está conservada (56% +/- 4.8%), encontramos anomalías en la función diastólica en el 36% de los pacientes analizando como parámetro el llenado ventricular rápido y 15% de anomalía considerando el tiempo total de llenado ventricular.

La disfunción diastólica en nuestros pacientes en fase indeterminada parece no tener significado clínico, ya que hemodinámicamente están sostenidos por una fracción de eyección normal. Sin embargo si analizamos al grupo de pacientes crónicos, establecemos que sí existe un deterioro significativo de la función diastólica.

En el análisis estadístico se han utilizado pruebas como H de Kruskal - Wallis y la U de Mann-Whitney.

PALABRAS CLAVES: Disfunción diastólica, Cardiomiopatía Chagásica, Ventriculografía Radioisotópica de Equilibrio.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas parte de la pobreza de nuestro país sido estudiada desde varios aspectos clínicos y con apoyo de exámenes complementarios: electrocardiograma, radiografía de tórax y ecocardiograma, dando énfasis a la función sistólica miocárdica, sin tener en cuenta la importancia de la función diastólica y sus consecuencias clínicas y sintomáticas, especialmente en el estudio de la insuficiencia cardíaca con repercusión diastólica pura.

El siguiente trabajo trata de resaltar las alteraciones diastólicas en pacientes chagásicos en fase indeterminada y crónica, sintomáticos o no, mediante estudios de Ventriculografía Radioisotópica de Equilibrio, efectuados en el Instituto de Medicina Nuclear dependiente de nuestra Universidad.

Publicaciones recientes sugieren que en un 30-50% de pacientes con insuficiencia cardíaca la causa primaria es una disfunción diastólica. Varios estudios también demuestran que en un número importante de pacientes con insuficiencia cardíaca sistólica la función diastólica suele determinar la sintomatología, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. Otros datos preliminares sugieren que la disfunción diastólica es una causa importante de intolerancia al esfuerzo en pacientes con hipertensión arterial crónica.

FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN DIASTÓLICA (12)

Por convención, la diástole ventricular izquierda se extiende desde el momento del cierre de la válvula aórtica hasta el cierre de la válvula mitral, y su duración suele ser de dos tercios del ciclo cardíaco en reposo.

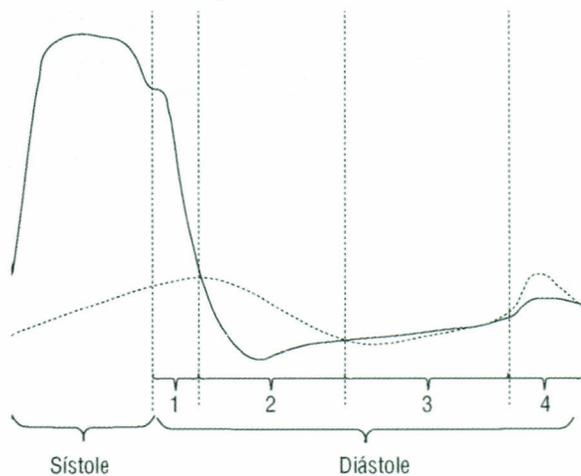


Fig. 1. Fases del ciclo cardíaco. La línea continua representa la presión ventricular. La línea intermitente representa la presión auricular simultáneamente. Fase 1: relajación isovolumétrica; fase 2: llenado precoz; fase 3: diástasis; fase 4: contracción auricular. (12)

La primera fase diastólica, desde el cierre de la válvula aórtica hasta la apertura de la válvula mitral, constituye el período de relajación isovolumétrica. Durante este período, la presión intraventricular disminuye con rapidez antes del inicio del llenado ventricular. Éste abarca tres fases en pacientes con ritmo sinusal. La fase de llenado precoz comienza con la apertura de la válvula mitral, al disminuir la presión intraventricular por debajo del valor de la presión auricular. La segunda fase, o fase de equilibrio, es apreciable en pacientes con función diastólica normal y baja frecuencia cardíaca. Durante esta fase, el volumen ventricular se mantiene constante debido al equilibrio de la presión auriculoventricular. Finalmente, la fase de llenado por contracción auricular depende, como su nombre indica, del aumento en la presión por la contracción auricular. Varios parámetros fisiológicos interactúan en la diástole ventricular. Entre éstos, los más fundamentales son la relajación, distensibilidad ventricular, y la contracción auricular, sin dejar de tomar en cuenta la precarga, poscarga, distensibilidad pericárdica e inclusive la frecuencia cardíaca y la actividad eléctrica aurículo-ventricular

RELAJACIÓN VENTRICULAR

La relajación (lusitropismo) de las fibras musculares cardíacas es una propiedad activa que emplea energía en forma de adenosintrifosfato (ATP). No sólo depende de la disponibilidad de energía, sino también de la abundancia de los iones de Ca^{++} en el citoplasma. El efecto de la relajación de las fibras musculares cardíacas resulta en un descenso súbito de la presión en el ventrículo izquierdo. La velocidad a la que disminuye la presión durante el período de relajación isovolumétrica refleja directamente la velocidad de relajación de las fibras musculares. Esta velocidad puede medirse con técnicas invasivas y suele definirse como la velocidad de descenso máxima dP/dt o como el tiempo de la constante de relajación isovolumétrica.

Varios estudios han demostrado que en el ventrículo izquierdo normalmente el ápex se relaja con más rapidez y antes que los segmentos medios y basales, causando un efecto de succión. Es importante reconocer que la relajación ventricular está directamente relacionada con la contractilidad. (12)

DISTENSIBILIDAD VENTRICULAR

La distensibilidad depende de la relación entre el «estiramiento» de la fibra miocárdica y el «estrés» (fuerza aplicada por superficie). Dicha relación resulta afectada por la relajación activa de los sarcómeros y por el contenido relativo de fibras elásticas y colágenas en el tejido conectivo. Estas fibras determinan el tamaño y la forma anatómica del ventrículo izquierdo, y forman la matriz que permite convertir el acortamiento y alargamiento de las fibras musculares en cambios de presión.

La fuerza requerida para estirar las fibras es baja inicialmente, pero aumenta de manera geométrica a medida que las fibras son estiradas. Este fenómeno explica que, aun en sujetos normales, la sobrecarga excesiva de volumen puede resultar en el desarrollo de fallo cardíaco.

La distensibilidad del ventrículo izquierdo puede disminuir:

- a) al reducirse la elasticidad tisular debido al aumento en la densidad de las fibras colágenas en respuesta a factores humo- rales (angiotensina, noradrenalina, etc.), y/o
- b) al aumentar el grosor parietal, como ocurre de manera habitual en respuesta a la elevación crónica en la presión arterial. El grosor de la pared ventricular es un parámetro importante en el estudio de la función diastólica. En general, éste se encuentra anormalmente aumentado en las cardiomiopatías hipertróficas y restrictivas. (12)

CONTRACTILIDAD AURICULAR

La función auricular izquierda depende de su precarga, poscarga y contractilidad. La precarga auricular (volumen auricular al final de la fase de llenado ventricular temprano) afecta directamente a la fuerza de contracción auricular, de acuerdo con la ley de Starling: el volumen determina el estiramiento de las fibras musculares, el cual, a su vez, determina directamente el acortamiento y, por tanto, el volumen de eyección auricular. En pacientes con relajación ventricular anormal o incompleta debido a elevación de la frecuencia cardíaca o a bloqueo de primer grado, el volumen de precarga auricular se encuentra aumentado, lo que conlleva a un volumen de eyección auricular mayor.

Por tanto, el desarrollo de fibrilación auricular puede conllevar una disminución del gasto cardíaco y la aparición de síntomas congestivos en estos sujetos. La distensibilidad ventricular constituye la poscarga de la aurícula izquierda. La contracción auricular es inefectiva cuando la Cv está reducida, debido a que parte del volumen de eyección auricular va en dirección retrógrada al no existir válvulas en las venas pulmonares.

Todas estas propiedades combinadas permiten mantener un volumen de eyección y un gasto cardíaco adecuados bajo una presión de llenado normal. Los pacientes con disfunción diastólica pueden presentar varios grados de alteraciones en una o varias de estas propiedades, así como manifestar síntomas que oscilan entre una ligera disnea de esfuerzo y un edema pulmonar y periférico. (12)

ETIOLOGÍA

Dentro de la literatura se describe como etiología de disfunción diastólica varias patologías como: la hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, corazones seniles, diabetes, cardiomiopatía restrictiva, miocardiopatía hipertrófica primaria, miocardiopatía dilatada idiopática, pericarditis constrictiva. Sin embargo queda excluida la disfunción diastólica en pacientes con Enfermedad de Chagas cuya existencia queda demostrada en el presente artículo.

DIAGNÓSTICO

Para la evaluación de la disfunción diastólica, aparte de una historia clínica minuciosa se pueden utilizar varios exámenes complementarios: cateterismo cardíaco, ecocardiografía doppler, estudio doppler con flujo transluminal, estudio doppler de flujo venoso pulmonar, estudio doppler de propagación de flujo ventricular, estudio doppler tisular.

Este artículo trata de utilizar la Ventriculografía Radioisotópica de Equilibrio como parámetro de disfunción diastólica mediante la medición del PFR (Peak Filling Rate: Índice máximo de llenado ventricular), y TPFR (Time Peak Filling Rate: Tiempo máximo de llenado ventricular).

METODOLOGÍA

Diseño

Se planteó un diseño transversal, con tres grupos de sujetos (Control, Chagas Intermedio y Chagas Crónico), con variables discretas cuantitativas, criterios de inclusión y exclusión. La función ventricular como variable independiente y como variables dependientes las fracciones de eyección global y segmentaria, índice máximo de llenado ventricular (Peak Filling Rate) y el tiempo máximo de llenado ventricular (Time Peak Filling Rate).

En el análisis estadístico se utilizaron dos pruebas independientes: H de Kruskal – Wallis (prueba paramétrica) y la U de Mann-Whitney (prueba no paramétrica) para garantizar resultados en grupos independientes.

La prueba H de Kruskal – Wallis (prueba paramétrica), con objeto de estudiar las diferencias entre grupos. Se optó por este parámetro estadístico, porque los datos no cumplen con el supuesto de homocedasticidad, que garantiza la interpretación de resultados sin pérdida de potencia.

La prueba de U de Mann-Whitney (prueba no paramétrica) utilizada para el análisis estadístico de grupos independientes con variable diferentes.

Universo

De una población de 267 pacientes estudiados, fueron seleccionados de la siguiente manera:

1. Grupo Control: 72 personas con serología para Chagas no reactiva y electrocardiograma normal.
2. Grupo Chagas Indeterminado: 118 pacientes con dos serología positivas para Chagas y electrocardiograma normal.
3. Grupo Chagas Crónico: 77 pacientes con dos serologías reactivas para *Tripanosoma Cruzi* y electrocardiograma anormal.

Como variable de exclusión, se han descartado pacientes con serología positiva para Chagas que tengan alguna otra patología cardiovascular concomitante: hipertensión arterial, diabetes, gerontos, fibrilación auricular, hipertensión pulmonar, valvulopatías, cardiopatías congénitas, Cardiomiopatía restrictiva y obliterativa, cardiopatía isquémica o arterioesclerótica entre otros.

La edad de los sujetos en estudio, fue entre 9 y 60 años con una media de 38 años.

De los 267 pacientes, 116 fueron varones (43%), 151 mujeres (57%).

Procedimiento

La evaluación de la función ventricular se realizó mediante Ventriculografía Radioisotópica de Equilibrio, con SPECT (Tomografía Computarizada de Emisión de Fotón Simple) aplicada a los tres grupos de pacientes, catalogados como:

- a) Grupo Control.
- b) Grupo Chagas Intermedio.
- c) Grupo Chagas Crónico.

Para obtener las imágenes, se inyectó a los pacientes pirofosfato en una cantidad de 0.5 ml. Después de 15 minutos, tiempo que tarda la molécula en marcar los glóbulos rojos, se inyectó Tc99m, en una dosis variable de 20 a 30 mCi.

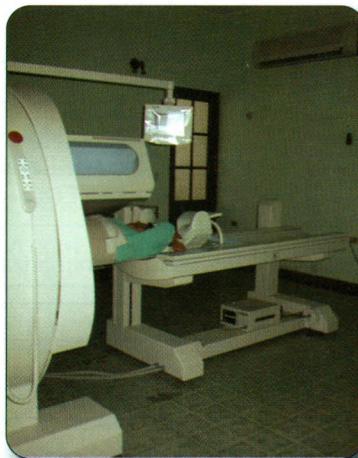
Se adquirieron imágenes mediante:

Ventriculografía de Equilibrio (Sincronizada o Gatillada), con una matriz de 64 * 64, zoom de 2.67 y tiempo de adquisición hasta obtener un total de 6.000.000 de cuentas (15 a 25 minutos).

Las imágenes se adquirieron en posición: oblicua anterior izquierda (OAI) entre -40° a -45°, y en algunos casos con una inclinación (tilt) de +/- 2°, para obtener la perfecta visualización del septum interventricular (best septum) que garantiza la separación de ambos ventrículos para el análisis de cada uno de ellos.

El ventrículo izquierdo en su función global se valoró por ventriculografía radioisotópica de Equilibrio con FE (FEVI). La función diastólica del ventrículo izquierdo ha sido valorada por curvas de función ventricular y los resultados del PFR y TPFR.

Instrumentos e insumos



El Tomógrafo Computarizado de Emisión de Photon Simple (SPECT) que se utilizó en los estudios fue: Siemens, Modelo: E-Cam, con simple detector, software: e-soft, colimador de baja energía alta resolución, con todos los parámetros de Control de Calidad tanto NEMA (Nacional Electrical Manufacturers Associations), como de Fabricantes dentro de los recomendados:

Amplitud máxima a la mitad de la altura del pico

Distancia (cm)	0.0	8.4	14.0
FWHM (mm)	5.81	10.52	14.28

(FWHM):

Tamaño de píxel:

Matriz	64*64	128*128	256*256	512*512	1024*1024
Tamaño de píxel (MM)	10.03	4.97	2.44	1.21	0.61

Resolución Energética Intrínseca

Real (MM)	9.14
Espacial (MM)	3.50

El radioisótopo, fue: Tecnecio 99 metaestable (Tc99m), siempre con valores menores a 0.15 uCi Mo99/ mCi Tc99m.
 Activímetro: Marca Carpintec, Modelo: CRC-12
 Molécula: Pirofosfato
 Otros materiales: electrodos, jeringas y varios.

ANÁLISIS DE DATOS Y RESULTADOS

Análisis descriptivo

Mediante Ventriculografía Radioisotópica se analizaron parámetros de función sistólica y diastólica.

PFR: Peak Filling Rate: Índice máximo de llenado ventricular.

TPFR: Time Peak Filling Rate: Tiempo máximo de llenado ventricular.

Los resultados son los siguientes:

Tabla 1

Grupo Control. Función diastólica. – Intervalo de confianza medio del 95%

	Máximo	Mínimo	Media	Desv. Stand	Anormal %
PFR	4.5	2.0	3.2	0.6	3%
TPFR	195	168	181	20.3	2%

En los pacientes de Control (Tablas 1) se puede apreciar que la función sistólica y diastólica están dentro de límites normales con un mínimo de anormalidad (< 3%).

Tabla 2

Chagas Indeterminado. Función diastólica. – Intervalo de confianza medio del 95%

	Máximo	Mínimo	Media	Desv. Stand	Anormal %
PFR	6.5	1.1	3.8	0.9	36
TPFR	195	168	181	20.3	15

Se puede observar que existe una anormalidad diastólica del 36% cuando se utiliza como parámetro PFR, aumentando más aun esta disfunción, 15% más, si se valora el tiempo total de llenado ventricular.

Tabla 3

Chagas Crónico. Función diastólica. – Intervalo de confianza medio del 95%

	Máximo	Mínimo	Media	Desv. Stand	Anormal %
PFR	4.5	2.0	3.2	0.9	49
TPFR	186	70	128	22.3	36

En esta tabla la anormalidad diastólica sube al 49% cuando se analiza el llenado ventricular rápido y a 36% utilizando el parámetro tiempo total de llenado ventricular, implicando alteraciones severas diastólicas en este grupo de pacientes.

Análisis de contraste

Se realizó la prueba H de Kruskal – Wallis con objeto de estudiar las diferencias entre los grupos citados. Se optó por esta prueba porque los datos no cumplen con el supuesto de homocedasticidad, que garantiza la interpretación de resultados sin pérdida de potencia.

Tabla 4

Estadístico H para cada una de las variables analizadas
Fraciones de eyección

	VI	VD	S	AP	A	AL	L	PFR	TPFR
Chi²	45.303	42.707	47.316	21.909	42.131	26.213	11.204	20.915	34.157
GI	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Sig.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.004	0.0001	0.001

En este análisis estadístico se observa las fracciones de eyección globales tanto del ventrículo derecho como del izquierdo incluyéndose fracciones de eyección segmentarias del ventrículo izquierdo.

Los resultados de Chi² y una "p" significativa para PFR de 0.0001 y de 0.001 para TPFR demuestran resultados confiables. Estos grupos muestran diferencias significativas en todas las variables. Por tanto realizamos la prueba de U de Mann-Whitney entre pares de grupos para obtener información más precisa de estas diferencias. Los resultados se muestran a continuación

Tabla 5
Estadístico U para cada una de las variables, tomando los grupos Control y Chagas Intermedio

	VI	VD	S	AP	A	AL	L	PFR	TPFR
U*	3094.5	3056.0	2809.0	2650.5	3333.0	3492.0	3840.5	2985.5	2971.0
W**	10115	10077	9830.0	9671.5	5961.0	6120.0	10861	10006	9992.0
Z	-3.143	-3.250	-3.918	-4.348	-2.491	-2.058	-1.110	-3.439	-3.474
Sig.	0.002	0.001	0.0001	0.0001	0.013	0.040	0.267	0.001	0.001

*U de Mann-Whitney

**W de Wilcoxon

Según dicha Tabla se obtienen diferencias significativas en todas las variables analizadas. Los parámetros de función diastólica (PFR y TPFR) con una $p < 0.001$ implican que existe una diferencia estadísticamente significativa entre pacientes no chagásicos comparando con el grupo chagásicos indeterminado.

Tabla 6
Estadístico U para cada una de las variables, tomando los grupos Control y Chagas Crónico.

	VI	VD	S	AP	A	AL	L	PFR	TPFR
U*	1195.0	1163	1090.0	1803.5	1506.0	1822.0	1927.5	1659.5	2571.5
W**	4198.0	4166.5	4093.0	4806.5	4509.0	4825.5	4930.5	4662.5	5199.5
Z	-5.996	-6.120	-6.397	-3.682	-4.813	-3.610	-3.211	-4.232	-0.762
Sig.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.001	0.0001	0.01	0.001

*U de Mann-Whitney

**W de Wilcoxon

Según se observa en dicha Tabla se obtienen diferencias significativas en todos los parámetros estudiados, tanto de la función global del ventrículo izquierdo como del ventrículo derecho; de igual manera en el PFR y con menor significación en el TPFR. Dichas estadísticas indican la disfunción sistólica y diastólica, que se traduce en el cuadro clínico que presentan estos enfermos chagásicos crónicos.

Tabla 7
Estadístico U para cada una de las variables, tomando los grupos Chagas Intermedio y Chagas crónico.

	VI	VD	S	AP	A	AL	L	PFR	TPFR
U*	1195.0	1163	1090.0	1803.5	1506.0	1822.0	1927.5	1659.5	2571.5
W**	4198.0	4166.5	4093.0	4806.5	4509.0	4825.5	4930.5	4662.5	5199.5
Z	-5.996	-6.120	-6.397	-3.682	-4.813	-3.610	-3.211	-4.232	-0.762
Sig.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.001	0.0001	0.01	0.001

*U de Mann-Whitney

**W de Wilcoxon

Según se observa en la Tabla 7 se obtiene diferencia significativa en el tiempo total de llenado ventricular (TPFR: p: 0.003) comparando pacientes con Chagas indeterminado y crónico.

En el análisis de llenado ventricular rápido la significación estadística esta en el límite de la p: 0.05, implicando que entre ambos grupos existen estas variaciones hemodinámicas.

	VI	VD	S	AP	A	AL	L	PFR	TPFR
U*	2602.5	3056.0	2837.5	2872.0	4001.0	2725.0	3582.0	3824.0	3387.5
W**	5605.5	5840.5	5875.0	7004.0	5270.0	5728.0	6585.0	6827.0	10408
Z	-5.043	-4.434	-4.339	-1.407	-5.911	-4.721	-2.496	-1.868	-3.000
Sig.	0.0001	0.0001	0.0001	0.159	0.0001	0.0001	0.013	0.05	0.003

*U de Mann-Whitney

**W de Wilcoxon

CONCLUSIONES

- La respuesta inflamatoria secundaria a la agresión del *Tripanosoma Cruzy* y la consecuente fibrosis miocárdica conlleva a diversas alteraciones tanto en la función sistólica como diastólica.
- Se pudo observar en el grupo control que no existió significación estadística evidente que nos lleve a pensar en mínimas alteraciones de la función diastólica.
- Los pacientes chagásicos en fase indeterminada tienen una fracción de eyección global conservada (56% +/- 4.8%) que determinan la ausencia de síntomas de insuficiencia cardiaca. En la presente investigación encontramos anomalías en la función diastólica del 36%, analizando TPFR y del 15% analizando el PFR.
- La disfunción diastólica en nuestros pacientes en fase indeterminada parece no tener significado clínica, ya que hemodinamicamente están sostenidos por una fracción de eyección normal. Sin embargo si analizamos al grupo de pacientes crónicos, establecemos que sí existe un deterioro significativo de la función diastólica.

COMENTARIO

Creemos que la ventriculografía radioisotópica de equilibrio es un buen método para valorar parámetros sistólicos y especialmente la función diastólica, ya que inclusive el poder analizar mediante Tomografía Computarizada de Emisión de Photon Simple (SPECT) hace que la técnica sea más confiable ya que no es manipulador dependiente.

Recomendamos en general a los médicos, tener en cuenta que si existen trastornos diastólicos de diversa magnitud que en su mayoría pasan desapercibidos, e inclusive cuadros de insuficiencia cardiaca netamente diastólica que no responden al tratamiento convencional de insuficiencia cardiaca sistólica.

Esta investigación debería continuar para realizar trabajos prospectivos que lleven a un análisis más profundo en cuanto a la morbimortalidad y pronóstico de esta enfermedad que aqueja a más de 22.000.000 de habitantes en nuestra América.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.-

1. Albanesi F, Gomes J. O tromboembolismo em pacientes com lesao apical da cardiopatia chagásica crônica. *Arq Brás Card.* 2001.[12 páginas]. Disponible en URL:<http://www.medicineonhearth.com/display.br>. Consultado: junio 19, 2004.
2. Araujo P. Repercusión socioeconomica de la enfermedad de Chagas. Sucre, Bolivia: Monografía. Facultad de Ciencias Economicas, Administrativas y Comerciales. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca; 2003.
3. Azogue E, La Fuente C, Darraz Ch. Enfermedad de Chagas. Aspectos Epidemiológicos. *Bol. Inf. CENETROP.* Vol II unico. Santa Cruz, Bolivia; 1981.
4. Bertolasi C. Editor. *Cardiología 2000.* Buenos Aires, Argentina: Ed. Med. Panamericana.
5. Brandwald E. Editor. *Tratado de Cardiología.* 5ta ed. Madrid; España: Ed Interamericana; 1997.
6. Casaniño H, Toranzos F. Correlacion histologica de los aneurismas ventriculares chagásicos e isquémicos. Relación con la fisiopatología. *Arch Ins. Cardio Mex.*58(5):4251;1988.
7. Castagnino H, Cicco J, Thompson A. Causas de muerte de la miocardiopatía Chagásica crónica. *Sem Méd Arg.* 152:529; 1978.
8. Convillas Y, Puigbo JJ, Acquatella H. Echocardiografic features of impaires left ventricular diastolic function in Chagas' diseas. *Br Neart J.* 53:289; 1985.
6. Fernandez S, Oliveira M, Texeira V, Almeida H. Trombose endocárdica em pacientes chagásicos crônicos. 2000. [6 páginas]. Disponible en URL:<http://www.cardiosrv.l.ush.usl-berta.ca>. Htm. Consultado: junio 19; 2004.
10. Ferraces MJ et col. Introducción a los diseños de investigación: planificación, análisis estadístico (SSPS para WINDOWS). Santiago; España: Ed Tòrculo; 1995.
11. Ferraces MJ, Andrade E. Diseños de investigación. Santiago, España: Ed Torculo.
12. Garcia MJ. Diagnóstico y guía terapéutica de la insuficiencia cardiaca diastólica. *Rev. Esp. Card.* 2003. [1 página]. Disponible en URL:http://www.revespcardiol.org/cardio/ctl_servlet?_f=45&ident=13045656 Consultado: abril 19; 2010.
13. Valencia E. prevalencia de la enfermedad de Chagas en Bolivia. La Paz, Bolivia: Edit. Don Bosco; 1998.
14. Revista de cardiología de España