

Análisis de la Fracción de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca en el Diagnóstico Precoz de la Disautonomía Chagásica

Daniela S. ANDRÉS⁽¹⁾ Jorge MITELMAN⁽²⁾ Isabel M. IRURZUN⁽³⁾ Magdalena M. DEFEO⁽⁴⁾
Luisa GIMENEZ⁽⁵⁾ Luciano R. ACUÑA⁽⁶⁾ Eduardo E. MOLA⁽⁷⁾

Reblampa 78024-401

Andrés DS, Mitelman J, Irurzun IM, Defeo MM, Gimenez L, Acuña LR, Mola EE. Analisis de la Fraccion de la Variabilidad de la Frecuencia Cardiaca en el Diagnostico Precoz de la Disautonomia Chagásica. Reblampa 2006; 19(1): 14-19.

RESUMEN: La variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) presenta características complejas que se manifiestan mediante diagramas de dispersión los cuales exhiben patrones relacionados con diversas cardiopatías. Sosnowski et al. desarrollaron un índice para cuantificar la densidad de puntos en ellos. En este trabajo analizamos su utilidad en el diagnóstico precoz de la disautonomía chagásica. **Objetivos:** 1) Detectar la presencia de alteraciones de la fracción de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (FVFC) y el r-SDNN en pacientes portadores de enfermedad de Chagas tanto en periodo indeterminado como crónico versus pacientes sanos. 2) Asociación de estas alteraciones con el estadio de la enfermedad de Chagas. El estudio se llevó a cabo sobre dos grupos poblacionales: uno control de 59 individuos sanos y otro de 24 portadores de enfermedad de Chagas. Se recolectaron y analizaron registros Holter de 24 hs. y se construyeron series temporales de intervalos RR. Sobre cada serie se calculó el promedio, el desvío estándar, el r-SDNN, el pNN50 y el FVFC. Se analiza la capacidad discriminante de los índices. Los valores medios de los diversos índices de VFC en el grupo control se corresponden con los reportados previamente en la literatura. El índice FVFC no discrimina entre los distintos grupos. El r-SDNN es el índice que mejor discrimina entre individuos sanos y portadores de enfermedad de Chagas (indeterminados y con cardiopatía tipo A). El índice FVFC no contempla la dispersión de los puntos en torno a la diagonal principal de los diagramas de dispersión.

DESCRITORES: enfermedad de Chagas, disautonomía, frecuencia cardíaca, electrocardiografía Holter, análisis numérico.

Trabajo realizado en el Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas, INIFTA. (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET; Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, CIC), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. República Argentina.

(1) Médica Becaria CONICET.

(2) Jefe de Cardiología Hospital Municipal "Teodoro Álvarez". Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina. Profesor/Investigador Instituto de Ciencias de la Salud Fundación Barceló (IUCS).

(3) Investigador CONICET.

(4) Hospital Interzonal General de Agudos "Rodolfo Rossi", La Plata. República Argentina. Jefa de la Sección de Arritmias del Servicio de Cardiología.

(5) Médica cardióloga Encargada Sector Chagas /Investigadora (IUCS).

(6) Médico/Becario en investigación clínica (IUCS).

(7) Investigador CONICET. Profesor Titular Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata.

Dirección para correspondencia: Profesor E. E. Mola. Casilla de Correo, 314 (1900) La Plata. Buenos Aires - Argentina. e-mail: eemola@inifta.unlp.edu.ar
Tel: 0221-425 7430 (int. 149) - Fax: 0221-425 4642.

Trabajo recibido el 10/2005 y publicado el 03/2006.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una endemia latinoamericana que integra un grupo de patologías llamadas de la pobreza y la negligencia. Después del período agudo, la tripanosomiasis americana puede cursar sin complicaciones viscerales constituyendo la etapa indeterminada de la enfermedad, o bien desarrollando la miocardiopatía crónica (cerca del 30% de los infectados desarrollan complicaciones). Esta nosología es de patogénesis insuficientemente conocida, clínica variable e impredecible. Se han propuesto factores vasculares, inflamatorios, inmunológicos y neurológicos para explicar la compleja y multifactorial acción del parásito en el organismo, que posiblemente actuarían interrelacionándose para desarrollar y desencadenar la enfermedad cardíaca¹.

El *Tripanosoma cruzi* posee una neuraminidasa que actuaría sobre los grupos de ácido siálico de los glicoesfingolípidos de las membranas de las fibras de conducción, del sistema autónomo y de las células endoteliales del miocardio y los vasos sanguíneos². Es evidente que en la génesis y progresión de la enfermedad intervendrían condiciones aún no identificadas que precipitarían las diferentes alteraciones en la fibra miocárdica y en el sistema de conducción. La enfermedad en su evolución presenta arritmias graves que pueden desencadenar incluso la muerte súbita. Estas arritmias pueden relacionarse con la miocardiopatía en sí o con la disautonomía secundaria al compromiso del sistema nervioso autónomo. Esta última alcanza al 30% de los enfermos con Chagas crónico cuando se la evalúa con la alteración de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, y podría estar vinculada con la actividad inmunológica presente en la miocardiopatía chagásica^{3,4}.

El compromiso autónomo en la enfermedad de Chagas ha sido objeto de continuos estudios desde Carlos Chagas⁵, continuando posteriormente Koberle al señalar las lesiones en el año 1955⁶⁻⁸. En la Argentina se destacan los trabajos de Losa et al., utilizando múltiples técnicas de análisis⁹; entre éstas la frecuencia cardíaca durante maniobras posturales; la maniobra de Valsalva; bloqueo autónomo total^{10,11} o la detección de anticuerpos antirreceptores autónomos¹²⁻¹⁴. La presencia de megavisceras digestivas también sugeriría y confirmaría el compromiso del sistema nervioso autónomo.

Nuestro grupo ha realizado estudios de la variabilidad de la frecuencia cardíaca para demostrar la afectación autónoma en la enfermedad^{15,16}. La variabilidad de la frecuencia cardíaca es una manifestación compleja de la dinámica cardíaca¹⁷⁻²¹. Como tal, ha sido estudiada utilizando una variedad de métodos estadísticos y no-lineales. En particular el empleo de estos últimos se basa en el reconocimiento de que la sucesión de latidos exhibe una ausencia de longitudes de escala características, un hecho asociado

a la existencia de una multitud de posibles respuestas del sistema a estímulos externos.

Actualmente se acepta que la dinámica del ritmo cardíaco posee características complejas, y que la alteración de las mismas podría proveer herramientas de diagnóstico útiles en enfermedades cardíacas. La naturaleza compleja del ritmo cardíaco puede visualizarse muy fácilmente mediante los diagramas de dispersión, (también llamados mapas de Poincaré), de las series temporales de intervalos RR. Los diagramas de dispersión a menudo exhiben patrones característicos, y los estudios están orientados hacia la correlación entre la forma de estos patrones con las distintas alteraciones cardíacas^{22,23}. En este sentido, el desarrollo de índices que cuantifiquen la geometría de tales patrones se hace necesario como primer paso hacia su utilización con propósitos clínicos. Es decir, con fines de diagnóstico médico es necesario obtener una medida cuantitativa a partir de los diagramas. Aumentar la sensibilidad diagnóstica del análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca sería deseable al proponer un índice como herramienta para el diagnóstico precoz de la disautonomía chagásica. Recientemente, Sosnowski et al.²⁴ desarrollaron un índice llamado fracción de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (FVFC), para cuantificar la densidad de puntos en un diagrama de dispersión.

OBJETIVOS

1. Detectar la presencia de alteraciones de la FVFC y el r-SDNN en pacientes portadores de enfermedad de Chagas tanto en periodo indeterminado como crónico versus pacientes sanos.
2. Asociación de estas alteraciones con el estadio de la enfermedad de Chagas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población

Se estudiaron 83 individuos de ambos sexos, como grupo control fueron incluidos 59 individuos sanos, 30 varones y 29 mujeres, edad entre 30 y 68 años (promedio 49 años). 24 enfermos chagásicos en diferentes estadios de la enfermedad, 8 varones y 16 mujeres. De los 59 pacientes sanos, doce pertenecen a nuestra base de datos y los restantes a bases de datos internacionales²⁵. Entre los chagásicos, quince se encontraban en periodo indeterminado (clínicamente normales, sin alteraciones del electrocardiograma, ni de la radiografía de tórax), (grupo 1), con edades entre 28 y 48 años (promedio 38 años). Los restantes nueve pacientes se encontraban en el grupo de Chagas crónico con cardiopatía tipo A (clasificación del Consejo de Enfermedad de Chagas y Miocardiopatías Infecciosas «Dr. Salvador Mazza» SAC)²⁶ (grupo 2), con edades entre 33 y 59 años (promedio 46 años).

El grupo control de sujetos sanos se seleccionó como aquellos individuos sin síntomas clínicos de enfermedad, sin medicación ni marcapasos y con Holter dentro de los parámetros normales de acuerdo con los criterios resumidos en la tabla I.

A los pacientes del grupo chagásico se les realizó examen clínico completo y laboratorio de rutina, tres reacciones para Chagas, según criterios del Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben (reacción de hemoaglutinación indirecta positiva con títulos >1/32, método de ELISA positivo y el test de inmunofluorescencia positivo con títulos >1/32). Electrocardiograma de 12 derivaciones, telerradiografía de tórax, ecocardiograma bidimensional y electrocardiograma Holter de 24 horas de tres canales (criterios de normalidad tabla I). Variabilidad de la frecuencia cardiaca. Fueron excluidos del estudio los individuos chagásicos que presentaron factores de riesgo cardiovascular (diabetes, hipertensión arterial, dislipemia, obesidad, tabaquismo), coronariopatía, alcoholismo, endocrinopatía u otro tipo de enfermedad con repercusión cardíaca. Los pacientes firmaron el consentimiento informado, siendo el estudio evaluado y aprobado por la Secretaria de Ciencia y Tecnología y el Comité Científico y Ético del IUCS. (Se respetaron las normas del protocolo de Helsinki)²⁷.

Obtención y análisis de los registros Holter

Los registros Holter fueron recolectados durante 24 hs. con una grabadora digital de tres canales DMS300. Para las arritmias se utilizó la clasificación de Lown (arritmias ventriculares simples grado I y II).

Los complejos QRS fueron detectados y clasificados automáticamente, y luego esta clasificación fue revisada y corregida por tres médicos cardiólogos en forma independiente. A continuación se construyeron las series temporales de los intervalos RR que se analizan en el presente trabajo.

Las señales electrocardiográficas fueron preseleccionadas para eliminar aquellas que contenían más del 10% de artefactos o sectores ruidosos de más de 20 segundos de duración. A continuación, los artefactos fueron detectados y eliminados de nuestras series temporales; por lo tanto, las series temporales utilizadas en el presente estudio no contienen artefactos.

TABLA I
CRITERIOS DE NORMALIDAD UTILIZADOS PARA LA SELECCIÓN DEL GRUPO CONTROL

Frecuencia mínima nocturna > 40 lat/min.
Pausas sinusales nocturnas < 2 seg.
Extrasístoles ventriculares < 100/24 hs. Sin duplas, salvas ni polimorfismo.
Extrasístoles auriculares < 100/ 24 hs. Sin salvas.
Ausencia de bloqueos o anomalías de conducción

Estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca:

La frecuencia cardiaca fue registrada durante 24 horas mediante el mismo grabador Holter. Las mediciones se efectuaron de acuerdo con las recomendaciones de la Fuerza de Tareas del Comité de Electrocardiografía y Electrofisiología²⁸⁻³⁰. Se calcularon el valor medio del intervalo RR, el desvío estándar del total de los intervalos RR (SDNN; VN: 141±39 msec.), el desvío estándar de la media de los intervalos RR registrados cada 5 minutos (SDANN; VN: 127±35 msec.), la raíz cuadrada media de la diferencia de intervalos R-R consecutiva (RMSSD; VN: 27±12), y la diferencia porcentual entre intervalos RR consecutivos mayor de 50 msec. (pNN50; VN: >15% como alta variabilidad y <4% como baja variabilidad).

En los cálculos no se hicieron distinciones por género ni por edad.

El diagrama de dispersión es una representación bidimensional de la duración entre latidos. Se construye graficando cada intervalo RR (i) contra el sucesivo RR (i+1). El área se divide luego en 256 cajas de 0.1 seg. de lado cada una, con posterioridad se cuenta el número de intervalos RR sucesivos que quedan contenidos dentro de cada caja, y se calculan las cantidades absolutas y relativas de intervalos RR sucesivos que difieren entre sí más de 50 msec. La FVFC se define como:

$$FVFC = \left[1 - \frac{N1 + N2}{Total\ NN - NN50} \right] \times 100$$

Donde N1 y N2 son los dos valores más altos del número de intervalos RR sucesivos en todas las cajas, Total NN es el número total de intervalos RR sucesivos y NN50 es el número de intervalos RR que difieren del sucesivo en más de 50 msec.

RESULTADOS

En la tabla II se resume, para cada una de las poblaciones estudiadas, los resultados de los índices calculados. En la misma tabla se indica la FVFC para las distintas poblaciones de este estudio. Los valores medios obtenidos para todos los índices en

TABLA II
VALORES MEDIOS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS ÍNDICES ESTADÍSTICOS CALCULADOS SOBRE CADA UNO DE LOS GRUPOS POBLACIONALES ESTUDIADOS EN EL PRESENTE TRABAJO

Indice	Sujetos sanos	Chagas grupo 1	Chagas grupo 2
<RR>	746.8±157.3	787.9±90.0	883.7±136.8
SD	121.2±39.5	119.2±42.9	135.1±47.9
r-SDNN	24.1±11.6	27.5±13.0	74.7±54.4
PNN50	0.082±0.085	0.096±0.101	0.159±0.178
FVFC	52.1±14.1	52.9±14.1	50.3±16.2

individuos sanos se corresponden con los reportados en la literatura. El r-SDNN es el índice que mejor discrimina entre los pacientes chagásicos del grupo II y el grupo control, como así también entre los enfermos chagásicos del grupo II y el indeterminado. Los pacientes del grupo de Chagas crónico con cardiopatía tipo A se diferencian del grupo Indeterminado y de los pacientes sanos por el r-SDNN. En la tabla III se indica el resultado (probabilidad p) del test de Student realizado entre el grupo control y cada uno de los grupos (I y II) de enfermos chagásicos estudiados en el presente trabajo.

En la población estudiada, la FVFC no hace distinción entre los distintos grupos.

La figura 1 muestra los gráficos de dispersión de un sujeto sano (a) y un paciente chagásico del Grupo 2 (b).

DISCUSIÓN

La fracción de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (FVFC) es un índice introducido recientemente por M. Sosnowski et al. para cuantificar la densidad de puntos en un diagrama de dispersión²⁴. Los autores comunicaron que la FVFC es más sencilla de interpretar que otros índices basados en el mismo principio, como el índice de compacticidad, y afirmaban que es además robusto a la presencia de artefactos e independiente de la distribución día / noche de intervalos RR. Finalmente, la FVFC sería también más reproducible, siendo todas estas ventajas, a juicio de los autores, de valor para su uso clínico frente a otros índices.

El estudio de Sosnowski et al. fue realizado sobre una población de sujetos sanos, un grupo de pacientes post-infarto de miocardio, y pacientes con fibrilación auricular. Su aplicabilidad en el diagnóstico de otras enfermedades cardíacas aún debe ser validada, especialmente en lo que concierne a la presencia de disautonomía. Para establecer el valor pronóstico de la FVFC es necesario extender el estudio de Sosnowski et al. a poblaciones numerosas.

En el presente trabajo, se comparó el índice FVFC con los índices estadísticos de VFC de uso corriente (media, SD, r-SDNN, pNN50), aplicado a enfermos chagásicos en diversos estadios de la enfermedad. La FVFC, por su definición, no captura las diferencias observadas en los diagramas de dispersión. En cambio, el r-SDNN toma en cuenta la característica que distingue a estos diagramas, que es la dispersión de los puntos respecto a la diagonal principal. Esta diagonal representa el estado de mínima variabilidad entre latidos sucesivos.

El Chagas es una patología que no puede extrapolarse fácilmente a otras. La alteración del sistema nervioso autónomo no es el único de los mecanismos

desencadenantes de arritmias severas, sino que probablemente además contribuye al desarrollo y evolución de la miocardiopatía. En el ámbito clínico subsisten dudas e incógnitas sobre los mecanismos que intervienen en la evolución de la enfermedad, como el por qué algunos presentan manifestaciones severas tales como arritmias graves y aun muerte súbita, y otros no. Esta situación ha llevado al desarrollo y evaluación de marcadores de pronóstico de la fase indeterminada con resultados disímiles. Son numerosos

TABLA III
PROBABILIDAD P DE UN TEST DE STUDENT ENTRE EL GRUPO CONTROL Y CADA UNO DE LOS GRUPOS DE ENFERMOS CHAGÁSICOS ESTUDIADOS EN EL PRESENTE TRABAJO

Indice	Sujetos sanos Chagas grupo 1	Sujetos sanos Chagas grupo 2	Chagas grupo 1 Chagas grupo 2
<RR>	0.904	0.025	0.063
SD	0.22	0.827	0.371
r-SDNN	0.202	<10 ⁻³	0.001
PNN50	0.620	0.702	0.140
FVFC	0.858	0.845	0.709

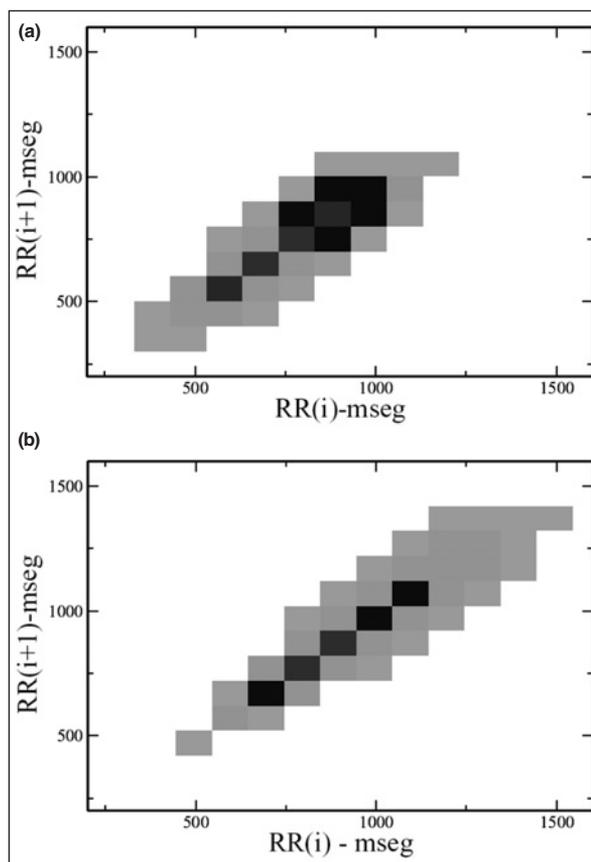


Figura 1 - Diagramas de dispersión simplificados para un individuo sano (a), y un paciente chagásico del Grupo 2 (b).

los estudios que evidencian que esta etapa no es totalmente muda³¹.

La etapa crónica no presenta igual evolución en todos los sujetos, existiendo formas que lo hacen tórpidamente y otras que entran en una fase de

congelamiento (permanentemente estacionaria). De ahí la necesidad de profundizar con estudios poblacionalmente extensos utilizando herramientas de mayor sensibilidad y especificidad, así como reproducibles, que detecten precozmente la disautonomía.

Reblampa 78024-401

Andrés DS, Mitelman J, Irurzun IM, Defeo MM, Gimenez L, Acuña LR, Mola EE. Analisis of the fraction variability of the heart rate in the early diagnosis of the Chagas disautonomy. Reblampa 2006; 19(1): 14-19.

ABSTRACT: Background: The heart rate variability (HRV) has complex characteristics that can be revealed by scatterplots showing patterns that might be related to the occurrence of different cardiac illnesses. Sosnowski and co-workers have developed an index to quantify the point density in a scatterplot. In this work we analyze its usefulness in the early diagnosis of chagas disautonomy. **Goals:** 1) To determinate whether there are any alterations in the HRVF and r-SDNN indexes of Chagas infected people. 2) To determinate if these alterations depend on the illness stage (undetermined or chronic). **Materials and Methods:** The study population consisted of two groups: a control group of 59 healthy subjects, and 24 patients with Chagas disease. In each subject a 24-hour ambulatory ECG recording was obtained and analysed. From these recording time series of RR intervals were obtained. The following statistical indexes were evaluated from each time series: mean and standard deviation of the RR intervals, r-SDNN, the pNN50, and the HRVF. The discriminatory performance of each index is analysed. **Results and Discussion:** HRV average index values of the healthy subjects group are within the values reported in the literature. The HRVF index does not show a discriminatory capacity among the three groups of subjects, whereas the r-SDNN index shows the highest discriminatory performance between healthy subjects and patients with chronic Chagas disease. The reason of HRVF index failure should be traced back to its own definition because it does not take proper account of those points outside the main scatterplot diagonal.

DESCRIPTORS: Chagas disease, disautonomy, heart rate, Holter, numerical analysis.

Reblampa 78024-401

Andrés DS, Mitelman J, Irurzun IM, Defeo MM, Gimenez L, Acuña LR, Mola EE. Análise da variabilidade da frequência cardíaca no diagnóstico precoce da desautonomia chagásica. Reblampa 2006; 19(1): 14-19.

RESUMO: A variação da frequência cardíaca (FVFC) apresenta características complexas que se manifestam em diagramas de dispersão que exibem padrões relacionados a diversas cardiopatias. Sosnowski et al. desenvolveram um índice para quantificar a densidade de pontos nesses diagramas. Este estudo analisa sua utilidade no diagnóstico precoce da desautonomia chagásica. **Objetivos:** 1) detectar a presença de alterações da fração de variação da frequência cardíaca (FVFC) e o r-SDNN (Índice de variabilidade da frequência cardíaca) em pacientes portadores da doença de Chagas, tanto em período indeterminado como crônico, em comparação com pessoas sadias e 2) associar as alterações encontradas com o estágio da doença de Chagas. **População:** um grupo controle constituído por 59 indivíduos sãos e outro, por 24 portadores da doença de Chagas. **Metodologia:** registros Holter de 24h foram coletados e analisados e foram construídas séries temporais com os intervalos RR. Para cada série foram calculados média, desvio padrão, r-SDNN, pNN50 (Índice de variabilidade da frequência cardíaca) e FVFC. A capacidade de discriminação dos índices foi analisada. **Resultados:** verificou-se que os valores médios dos diversos índices de VFC no grupo de controle correspondem aos encontrados na literatura. O índice FVFC não permitiu discriminar os distintos grupos. O r-SDNN revelou-se o índice com maior capacidade de discriminação entre indivíduos sãos e portadores da Doença de Chagas (indeterminados e com cardiopatia tipo A). O índice FVFC não permitiu examinar a dispersão dos pontos em torno da diagonal principal dos diagramas de dispersão.

DESCRITORES: doença de Chagas, desautonomia, frequência cardíaca, eletrocardiografia Holter, análise numérica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Laguens RO, Cabeza Mecker PM, Vigliano CA, Patogenia de la miocarditis chagásica crónica humana. *Medicina* 1999; 59(2): 63-8.
- 2 Mitelman J, Giménez L, Díaz A, et al. Asociación entre disfunción endotelial por prueba de isquemia con eco-Doppler braquial y factor de von Willebrand en la enfermedad de Chagas. *Rev Argent de Cardiol* 2001; 69(3): 274-80.
- 3 Mosca W, Plaja J, Hubsch M. Longitudinal study of immune response in human Chagas' disease. *J Clin Microbiol* 1985; 22(3): 22.
- 4 Goin JC, Perez Leiros C, Borda E, Sterin-Borda L. Modification of cholinergic-mediated cellular transmembrane signals by the interaction of human chagasic IgG with cardiac muscarinic receptors. *Neuro Immuno Modulation* 1994; 1: 284-91.
- 5 Chagas C, Villela E. Forma cardíaca de Tripanosomiasis Americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1922; 14: 5- 61.
- 6 Köberle F. Aspectos neurológicos da moléstia de Chagas. *Arch Neuro Siquiatr* 1967; 25: 159-80.
- 7 Köberle F. Patogenia da moléstia de Chagas. *Rev Goiana* 1957; 3: 155-80.
- 8 Köberle F. El mal de Chagas: la enfermedad del sistema nervioso. *Rev éd Córdoba* 1959; 47: 105-33.
- 9 Iosa D. Cardioneuropatía chagásica crónica. Patogenia y tratamiento. La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso. *Pub Cient OPS* 547 1994; 6: 109-59.
- 10 Iosa D, Kaeiro T, Palmero H. Abnormal hyperventilation test in chronic Chagas' disease. *J Aut Nerv Syst* 1980; 2: 87-92.
- 11 Iosa D. Cardioneuropatía chagásica crónica. Organización Panamericana de la Salud (ed). La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso. Washington D C. USA 1994, pp 109-155.
- 12 Sterin-Borda L, Cantore M, Pascual J, et al. Chagasic IgG binds and interacts with α adrenoceptor coupled adenylate cyclase system. *Int J Immunopharmacol* 1986; 8: 581-8.
- 13 Borda E, Sterin-Borda L. Anti adrenergic and muscarinic receptor antibodies in Chagas' cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 1996; 154: 149-56.
- 14 Sterin Borda L, Borda ES. Neuroimmunomodulation; Perspectives at the New Millennium. V. Goldman, J. Cullivan (ed). New York Acad Science. New York, USA 2000, pp 273-280.
- 15 Mitelman J, Giménez I, Manzullo E, Romero Villanueva H. Variabilidad de la Frecuencia cardíaca en el periodo indeterminado de la enfermedad de Chagas. *Rev Argent de Cardiol* 1999; 69: 37.
- 16 Mitelman J, Giménez L, Manzullo E et al. Utilización de métodos diagnósticos incruentos para la detección de lesiones miocárdicas en el período indeterminado de la infección chagásica crónica. *Rev Argent de Cardiol* 2004; 6: 797-802.
- 17 Goldberger AL. *Nonlinear Dynamics, Fractal and Chaos: Applications to Cardiac Electrophysiology* 1990; 18: 195-8.
- 18 Mietus JE, Peng C-K, Henry I, Goldsmith RL, Goldberger AL. The pNNx files: re-examining a widely used heart rate variability measure. *Heart* 2002; 88: 378-80.
- 19 Ivanov PCh, Nunes Amaral LA, Goldberger AL, Havlin S, Rosenblum MG, Struzik ZR, Stanley HE. Multifractality in human heartbeat dynamics. *Nature* 1999; 399: 461-5.
- 20 Zochowski M, Winkowska-Nowak K, Nowak A, Karpinski G, Budaj A. Autocorrelations of R-R distributions as a measure of heart variability. *Physical Review E* 1997; 56: 3725-7.
- 21 Irurzun IM, Bergero P, Cordero MC, Defeo MM, Vicente JL, Mola EE. Non-linear properties of R-R distributions as a measure of heart rate variability. *Chaos, Solitons and Fractals* 2003; 16: 699-708.
- 22 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.
- 23 Gilham J. Application of scatterplots to Holter ECG data. *Journal of Electrocardiology* 1993; 26 Suppl: 31-3.
- 24 Sosnowski M, Clark E, Latif S, Macfarlane PW, Tendra M. Heart Rate Variability Fraction- A New Reportable Measure of 24.Hour R-R Interval Variation. *An Non-invasive Electrocardiology* 2005; 10(1): 7-15.
- 25 www.physionet.org.
- 26 Consejo de Enfermedad de Chagas y Miocardiopatías Infecciosas Dr. Salvador Mazza. Jornadas de actualización de la clasificación clínica de la enfermedad de Chagas. *Rev Col Argent Cardiol* 1998; 3: 26-7.
- 27 Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Finlandia, 1964 y modificaciones.
- 28 Camm J, Malik M. Heart rate variability: standards of measurements, physiological interpretation and clinical use. Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 1996; 93: 1043.
- 29 Low P. Clinical autonomic testing report of the therapeutics and technology assessment subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 1996; 46: 873-80.
- 30 Bigger JT Jr, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC. Frequency domain measures of heart period variability to assess risk late after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 729.
- 31 Almeida EA, Martin CBF, Ruggeri GB, Lopes MAS, Carvalhal S. Biópsia endomiocárdica em cardiopatas chagásicos crônicos: um estudo, na necrópsia, para aferição diagnóstica. *Arq Bras Cardiol* 1988; 50(2): 109-13.