



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Alteraciones en la Modulación Respiratoria del Vector Cardíaco en Pacientes con Enfermedad de Chagas

Proyecto Integrador para optar al título de grado
Ingeniero Biomédico

Ezequiel de la Rosa

Asesor de tesis: Elmer A. Fernández

Córdoba, Diciembre de 2014

A mis padres Alberto y Diana

por su aliento continuo.

A mi abuela Beba: desearía

pudieses estar en este momento.

Reconocimientos

Quiero añadir estas líneas para expresar el profundo agradecimiento a todas esas personas que durante todos estos años, y hasta el día de hoy, me motivaron para alcanzar esta meta.

A mi director de tesis –y gran compañero- Elmer A. Fernández, de quien tanto he aprendido. Por su confianza y paciencia en este proyecto; por transmitirme su pasión por la ciencia.

A los doctores Eric Laciari y Raúl Correa, quienes brindaron desinteresadamente la base de datos utilizada en este proyecto y quienes ayudaron en la comprensión de la misma.

Al Ing. Omar González, quien despertó mi inquietud por las ciencias y la ingeniería.

A mis padres –Beto y Diana- y mis hermanos - Mati y Juan-: nada de esto hubiese sido posible sin ustedes.

A mi novia Vale. Por el ánimo de todos los días, la paciencia, y su compañía de fierro.

A mis abuelos, por su cariño incondicional.

A mis amigos.

Gracias!

“No estalla como las bombas, ni suena como los tiros. Como el hambre, mata callando. Como el hambre, mata a los callados: a los que viven condenados al silencio y mueren condenados al olvido. Tragedia que no suena, enfermos que no pagan, enfermedad que no vende. El mal de Chagas no es negocio que atraiga a la industria farmacéutica, ni es tema que interese a políticos ni a los periodistas”.

Eduardo Galeano (Chagas: Una tragedia silenciosa).

Índice general

Resumen.....	19
Capítulo I. Introducción.....	21
1.1.Motivación.....	25
1.2.Objetivos generales.....	27
1.3.Objetivos Específicos.....	27
Capítulo II. La enfermedad de Chagas.....	29
2.1.Introducción.....	29
2.2.Definición.....	30
2.3.Epidemiología y distribución geográfica.....	30
2.4.Etiología.....	32
2.5.Ciclo de vida del T. cruzi.....	32
2.6.Mecanismos de transmisión	33
2.6.1. Transmisión vectorial.....	34
2.6.2. Transmisión no vectorial.....	35
2.7.Fases, formas y evolución clínica.....	35
2.7.1. Manifestaciones de la fase aguda.....	36
2.7.2. Manifestaciones de la fase crónica.....	37
2.7.2.1. Chagas crónico: forma indeterminada.....	37
2.7.2.2. Chagas crónico: forma cardíaca.....	40
2.7.2.3. Chagas crónico: forma digestiva.....	41
2.8.Diagnóstico de la enfermedad de Chagas.....	42
2.8.1. Diagnóstico de laboratorio.....	44
2.8.1.1. Diagnóstico de laboratorio en la fase aguda.....	45
2.8.1.2. Diagnóstico de laboratorio en la fase crónica.....	48
2.8.2. Otros métodos diagnósticos.....	51
2.9.Electrocardiograma y enfermedad de Chagas.....	52

2.10.	Tratamiento de la enfermedad de Chagas.....	54
2.11.	Prevención y control.....	55
Capítulo III. Señales electrocardiográficas.....		57
3.1.	Introducción.....	57
3.2.	El sistema cardiovascular.....	58
3.3.	El corazón.....	58
3.4.	Dinámica de la circulación.....	60
3.5.	Sistema de conducción del corazón.....	61
3.6.	Propagación del impulso cardíaco.....	62
3.7.	Inervación cardíaca.....	63
3.7.1.	Inervación cardíaca simpática.....	65
3.7.2.	Inervación cardíaca parasimpática.....	65
3.8.	Electrocardiografía.....	66
3.9.	Registro de la señal electrocardiográfica.....	68
3.10.	Sistemas de derivaciones.....	69
3.10.1.	Las 12 derivaciones del ECG estándar.....	69
3.10.2.	Derivaciones para monitoreo.....	71
3.10.3.	Derivaciones ortogonales.....	71
3.11.	Interpretación fisiológica del electrocardiograma.....	73
3.12.	Electrocardiografía de alta resolución.....	76
3.12.1.	Potenciales tardíos ventriculares.....	78
3.12.2.	Detección de potenciales tardíos ventriculares.....	80
3.13.	ECGAR y enfermedad de Chagas.....	84
Capítulo IV. Modulación de señales derivadas del electrocardiograma.....		87
4.1.	Introducción.....	87
4.2.	Variabilidad del ritmo cardíaco.....	88
4.2.1.	Análisis en el dominio de la frecuencia.....	89
4.2.1.1.	Transformada rápida de Fourier.....	89
4.2.2.	Modulación de la VRC.....	90
4.2.3.	VRC y enfermedad de Chagas.....	93
4.3.	Modulación de la amplitud del latido cardíaco.....	94

4.4. Modulación respiratoria del potencial de acción cardíaco.....	95
4.5. Modulación respiratoria de las pendientes del QRS.....	95
Capítulo V. Materiales y métodos.....	97
5.1. Introducción.....	97
5.2. Materiales.....	98
5.2.1. Base de datos CARACAS.....	98
5.2.2. Base de datos BDMG.....	101
5.2.3. Base de datos unificada.....	102
5.3. Métodos.....	104
5.3.1. Algoritmo propuesto.....	104
5.3.1.1. Extracción de parámetros.....	105
5.3.1.2. Derivación de señales del ECG.....	114
5.3.1.3. Cuantificación espectral.....	117
5.3.2. Análisis estadístico.....	121
Capítulo VI. Resultados. Parte I.....	125
6.1. Boxplots.....	125
6.2. Resultados del análisis estadístico.....	127
6.2.1. Análisis estadístico: CS entre $ RR(f) _{VLF}$ y $ RQRSo\text{ff}(f) _{VLF}$	128
6.2.2. Análisis estadístico: CS entre $ RR(f) _{VLF}$ y $ QRSd(f) _{VLF}$	129
6.2.2.1. Análisis de validación de los coeficientes del modelo.....	136
Capítulo VII. Conclusiones. Parte I.....	137
7.1. Conclusiones generales.....	137
7.2. Conclusiones específicas.....	138
7.3. Limitaciones.....	139
Capítulo VIII. Metodología diagnóstica.....	141
8.1. Introducción.....	141
8.2. Desarrollo de una regla de decisión.....	142
8.3. Análisis de validación.....	145

Capítulo IX. Resultados. Parte II.....	147
9.1. Clasificación de sujetos negativos y positivos (CI).....	147
9.2. Validación y evaluación de la robustez de la regla de decisión.....	148
Capítulo X. Conclusiones. Parte II.....	151
10.1. Conclusiones generales.....	151
10.2. Trabajo a futuro.....	153
Apéndice I. Criterios basados en la información estadística.....	155
Apéndice II. Base de datos de valores CVLFI.....	159
Referencias.....	161
Bibliografía de consulta.....	168

Índice de figuras

Fig. 2.1. Distribución de individuos infectados con enfermedad de Chagas.....	31
Fig. 2.2. Taxonomía del T. cruzi.....	32
Fig. 2.3. Ciclo de vida del T. cruzi y mecanismos de transmisión.....	33
Fig. 2.4. Diferentes especies de Triatomíinos.....	34
Fig. 2.5. Evaluación de sujetos con posible ECh.....	43
Fig. 2.6. Concentrac. parasitarias y de anticuerpos durante las etapas aguda y crónica.....	45
Fig. 3.1. Anatomía del corazón.....	59
Fig. 3.2. Sístole y diástole cardíaca.....	59
Fig. 3.3. Esquema de la circulación sanguínea.....	60
Fig. 3.4. Anatomía del corazón y potenciales de acción transmembrana.....	61
Fig. 3.5. Organización del sistema nervioso simpático y parasimpático.....	64
Fig. 3.6. Potencial de membrana de células marcapaso. Estimulación simpática y parasimp...66	
Fig. 3.7. Registro ECG y ondas características.....	67
Fig. 3.8. Derivaciones electrocardiográficas.....	70
Fig. 3.9. Posición electrodos en un sistema de derivaciones de Frank-Starling.....	73
Fig. 3.10. Propagación del impulso cardíaco.....	74
Fig. 3.11. Espectro de potencia de distintas ondas del ECG.....	76
Fig. 3.12. Vectores cardíacos: sujetos con y sin ECh.....	79

Fig. 3.13. Algoritmo de promediado de señales ECGAR.....	82
Fig. 3.14. Vector cardíaco filtrado para determinar PTV.....	83
Fig. 4.1. Derivación series RR.....	88
Fig. 4.2. Espectro de la señal VRC.....	92
Fig. 4.3. Valor medio y errores estándar de la media de las potencias de las bandas espectrales VLF, LF y HF.....	93
Fig. 4.4. Registro ECG. Modulación respiratoria.....	94
Fig. 5.1. Señal ECG registro de la base de datos CARACAS.....	101
Fig. 5.2. Caneles XYZ. Ruido electromagnético.....	103
Fig. 5.3. Diagrama de flujo del algoritmo propuesto.....	106
Fig. 5.4. Canales originales y filtrados.....	107
Fig. 5.5. Generación VMC.....	109
Fig. 5.6. Generación VMcf.....	110
Fig. 5.7. Distintos VMC de sujetos de la base de datos CARACAS.....	111
Fig. 5.8. VMC, VMcf, intervalos.....	113
Fig. 5.9. SDECG: QRSd(t), QRsonR(t), y RQRsoff(t).....	114
Fig. 5.10. SDECG: RR(t) y RpAmp(t).....	114
Fig. 5.11. Interpolación splines-cúbicos: RR(t).....	115
Fig. 5.12. Interpolación splines-cúbicos: QRSd(t).....	116
Fig. 5.13. Intervalos espectrales de RR(t) y QRSd(t).....	118
Fig. 5.14. Correlación de señales.....	119
Fig. 6.1. Boxplots: CS entre QRsonR-RR.....	125
Fig. 6.2. Boxplots: CS entre QRsonR-Rpamp.....	126

Fig. 6.3. Boxplots: CS entre QRSoFF-RR.....	126
Fig. 6.4. Boxplots: CS entre QRSoFF-RpAmp.....	126
Fig. 6.5.Boxplots: CS entre QRSD-RR.....	127
Fig. 6.6. Boxplots: CS entre QRSD-RpAmp.....	127
Fig. 6.7. Boxplots con y sin outliers.....	130
Fig. 6.8. CVLFI sujetos N° 2.....	130
Fig. 6.9. Gráficas de diagnóstico: caso a).....	132
Fig. 6.10. Gráficas de diagnóstico: caso b).....	134
Fig. 6.11. Gráficas de diagnóstico: caso c).....	135
Fig. 6.12. Distribuciones nulas. Modelo 2, caso c).....	136
Fig. 9.1. Curvas ROC. Distribuciones nulas AUC.....	149

Índice de tablas

Tabla 2.1. Métodos directos para diagnosticar ECh en la etapa aguda.....	46
Tabla 2.2. Métodos indirectos para diagnosticar ECh en la etapa crónica.....	48
Tabla 2.3. Sensibilidad y especificidad de los principales métodos diagnósticos indirectos.....	50
Tabla 2.4. Alteraciones electrocardiográficas en pacientes con miocardiopatía chagásica.....	52
Tabla 3.1. Diferencias entre ECG convencional y ECGAR.....	77
Tabla 4.1. Bandas frecuenciales de registros de corta y larga duración.....	90
Tabla 5.1. Grupos de sujetos base de datos CARACAS.....	100
Tabla 5.2. Características sistema PREDICTOR.....	100
Tabla 5.3. Base de datos unificada y grupos de clasificación.....	102
Tabla 5.4. Parámetros CS.....	120
Tabla 6.1. Estadística descriptiva: CVLFI.....	129
Tabla 6.2. Comparación modelos caso a).....	131
Tabla 6.3. Test de razón log-verosimilitud.....	131
Tabla 6.4. Diferencias de medias entre grupos.....	133
Tabla 6.5. Comparación modelos caso c).....	135
Tabla 8.1. Matriz de confusión.....	143
Tabla 9.1. Matriz de confusión: Positivos vs Negativos.....	147
Tabla 9.2. Matriz de confusión: Positivos Indeterminados vs Negativos.....	148
Tabla A1. Base de datos valores CVLFI.....	159

RESUMEN

Situación: La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria crónica y sistémica que históricamente se confinó a los países de América Latina. Actualmente, la diseminación del *Trypanosoma cruzi* alcanzó países de Europa, América del Norte y Oceanía, convirtiéndose en una problemática de salud global. En países endémicos, la transmisión vectorial propaga la enfermedad, a diferencia de las regiones no endémicas donde la transfusión sanguínea, trasplante de órganos, y transmisión transplacentaria diseminan la infección. Los sujetos con la forma indeterminada de la enfermedad, son responsables del 94% de los nuevos contagios en regiones libres del vector. El escenario actual es alarmante, generando una gran preocupación e interés en la comunidad científica por encontrar nuevos métodos diagnósticos que puedan utilizarse en la detección de la enfermedad y permitan frenar la propagación del *T. cruzi*.

Materiales y métodos: En el presente trabajo, se utilizan registros de electrocardiografía de alta resolución (ECGAR) para analizar sujetos sanos y pacientes chagásicos en dos estadios distintos de la enfermedad. Para cada registro, se derivan 5 señales del ECGAR y se evalúan las interacciones entre bandas espectrales de las mismas mediante el índice de correlación de Spearman. Se analizan posibles alteraciones en la modulación que ejerce la respiración sobre el vector cardíaco en pacientes chagásicos. Mediante técnicas estadísticas, se analizan posibles diferencias en los parámetros extraídos del ECG entre los grupos control y chagásicos. Finalmente, se propone una metodología de diagnóstico complementario basada en unos de los parámetros obtenidos.

Resultados: Se encuentran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos control y chagásicos, aún con aquellos sujetos que sufren la forma indeterminada de la enfermedad. El coeficiente de Spearman obtenido de correlacionar las bandas espectrales de dos señales derivadas del ECG (variabilidad del ritmo cardíaco, y una señal derivada del ancho de los complejos QRS) presenta fuertes diferencias entre los sujetos. En base al mismo, se desarrolla un método diagnóstico que presenta un 70% de precisión (Sensibilidad del ~68% y especificidad del ~72%) con un alto valor predictivo positivo (84%).

Conclusiones: El análisis latido-a-latido de registros ECGAR es una prominente y prometedora técnica para la evaluación cardíaca e identificación de daño por enfermedad de Chagas. Como herramienta diagnóstica, el método aquí propuesto es implementable en dispositivo ECGAR portátiles que ayudaría en la detección precoz de individuos chagásicos en un estadio donde las posibilidades de cura son superior y el pronóstico más favorable. Adicionalmente, la detección temprana ayudaría a prevenir nuevos contagios.

CAPÍTULO I- Introducción.

La Trypanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas-Mazza (ECh) es una infección parasitaria, crónica y sistémica causada por el protozooario *Trypanosoma Cruzi*. Se transmite a los seres humanos a través de las heces de su vector (organismo biológico que porta y transmite el agente infeccioso), un artrópodo de la subfamilia Triatominae conocido como Vinchuca, Barberio, o Chinche entre otros, como así también mediante mecanismos transfusionales, por el transplante de órganos, transmisión vertical (transplacentaria), la ingesta del parásito e inclusive por accidentes de laboratorio o quirófano.

Es de carácter endémica en veintiún países de América Latina¹ [1] y hasta finales del siglo XX su distribución geográfica se limitó a la de su vector- América Central y Sudamérica-. Sin embargo, los procesos migratorios han propagado la enfermedad desde estos países hacia regiones no endémicas mediante mecanismos no vectoriales, llevando a que en la actualidad América del Norte, países Europeos y del Pacífico Occidental presenten una creciente cantidad de infecciones con T. Cruzi [2,6], convirtiéndose así en una problemática de salud global.

El mal de Chagas-Mazza –como también se conoce esta patología- lleva el nombre del médico e infectólogo brasileño Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, quien la describió por primera vez en 1909. Actualmente, a más de un siglo de su hallazgo y con cerca de 10 millones de infectados a nivel mundial, genera unas 14,000 muertes al año [3], siendo reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las 13 enfermedades tropicales más desatendidas [5], es decir, asociada a la pobreza, olvidada por los medios de comunicación y consecuencia de políticas con un fuerte impacto negativo en la salud, el bienestar, y el desarrollo socio-económico en países de bajos ingresos y en desarrollo [4]. Así, la gran cantidad de infectados

¹*Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guyana Francesa, Guatemala, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Suriname, Venezuela y Uruguay.*

asociadas a las elevadas tasas de morbilidad y mortalidad de la patología le confieren una significativa importancia médico-sanitaria que se acentúa y rige, prioritariamente, en poblaciones rurales [7].

Pereira-Nunes y otros [4] indican que además de ser una enfermedad preocupante en cuanto a sus aspectos epidemiológicos y clínicos, la ECh representa una importante carga económica en las regiones endémicas. Así, en los países de América Latina, la enfermedad de Chagas es la más costosa de las enfermedades tropicales desatendidas y se estima que a nivel mundial genera costos que superan los 23 billones de dólares [65]. Significativas pérdidas económicas afrontan estos países debido a la temprana mortalidad y/o discapacidad que genera en las personas infectadas y que suelen pertenecer a la población más o potencialmente productiva, los adultos jóvenes. Esto se produce debido a las complicaciones neurológicas, cardiológicas, digestivas o cardio-digestivas características de la enfermedad que requieren por lo general tratamientos largos y/o intervenciones quirúrgicas, incluyendo el implante de marcapasos o desfibriladores cardíacos implantables y hasta transplantes cardíacos, incrementando los costos asociados a la enfermedad [5].

La enfermedad de Chagas se caracteriza por presentar dos fases clínicas bien diferenciadas: la fase aguda y la fase crónica. La etapa aguda comienza con el período de incubación y en la mayoría de los casos es asintomática. Los casos aparentes suelen manifestarse en períodos de elevada parasitemia con fiebre como principal síntoma. El tratamiento con drogas antiparasitarias cura la enfermedad en esta fase y previene las manifestaciones clínicas características de la fase crónica. Luego de 8 a 10 semanas, comienza la etapa crónica de la enfermedad. Ésta suele caracterizarse por un período totalmente asintomático conocido como *Chagas crónico indeterminado* o *fase latente*. Si bien las pruebas serológicas son positivas en esta fase, el individuo no presenta manifestaciones clínicas que indiquen una posible infección con *T. Cruzi*: la radiografía de tórax, el ECG convencional, esofagografía con contraste de bario y enema se encuentran normales, presentando el individuo ausencia de signos y síntomas. El tratamiento con drogas no siempre se recomienda aunque un 20-60% de los infectados en fase latente se curan de la infección [5]. De no ser tratados o persistir la infección, el estadio puede durar entre 10-20 años como así también de por vida. Esto ha llevado a que se hable de una enfermedad silenciosa ya que el individuo solo presenta malestar y sintomatología cuando la enfermedad ha evolucionado a una de sus fases crónicas determinadas y en la cual la salud del paciente se encuentra comprometida. La ECh crónica determinada se presenta en

un 30-40% de los enfermos, donde el resto convive con la enfermedad en su forma indeterminada. En esta fase crónica aparecen una gran cantidad de alteraciones cardíacas, del aparato digestivo, y del sistema nervioso central (S.N.C.), siendo las primeras las más severas. La cardiopatía Chagásica Crónica presenta una amplia variedad de cuadros clínicos que pueden ser causal de muerte. El tratamiento depende de cada paciente en este estadio; las drogas antiparasitarias no suelen curar la infección y el paciente convive con lesiones sistémicas irreversibles.

La Trypanosomiasis Americana es, de las enfermedades endémicas infecciosas, la más letal del hemisferio occidental [8] y la enfermedad parasitaria que causa mayores daños en el corazón [3]. Su diagnóstico temprano es de suma importancia clínica para que el enfermo Chagásico logre superar la infección, para prevenir lesiones orgánicas y sistémicas e impedir el avance de la enfermedad. Desde otro enfoque, la detección temprana es un factor clave a nivel epidemiológico: se estima que un 94% de las nuevas infecciones producidas en regiones urbanas y no endémicas son causadas por individuos que presentan la forma indeterminada de la enfermedad, estadio clínico al que evoluciona la mayoría de los individuos infectados debido a la ausencia de signos, síntomas, o la resolución espontánea de los mismos [63]. De acuerdo a *Fabrizio y otros* [63] la detección de la enfermedad en este estadio es limitada debido a: (i) la ausencia de signos y síntomas, (ii) la carga parasitaria en sangre es baja por lo que se deben realizar tests serológicos que no se encuentran siempre disponibles, (iii) los métodos serológicos requieren de laboratorios, infraestructura y recursos tecnológicos de difícil acceso en regiones rurales y endémicas, (iv) y además la ECh es muchas veces desconocida por profesionales hasta en las propias regiones endémicas.

La detección de la patología se realiza a partir de muestras de sangre del individuo. Para ello, se utilizan métodos diagnósticos directos –principalmente en la etapa aguda- que permiten visualizar el *T. Cruzi* cuando la carga parasitaria es elevada, y métodos indirectos –etapa crónica- utilizados para detectar anticuerpos circulantes contra el parásito. En este último caso, se requieren dos pruebas serológicas positivas utilizando métodos distintos para confirmar la infección. De ser reactivos ambos tests, se realizan exámenes clínicos complementarios para determinar el grado de lesión orgánica, principalmente cardíaca (ECG, radiografía de tórax, holter, entre otros). Los estudios de laboratorio, si bien resultan eficaces como herramientas diagnósticas, presentan una gran desventaja al no poder dar una respuesta *in situ*. Debemos recordar que en regiones endémicas, las víctimas del Chagas viven

en regiones rurales o parajes alejados de las grandes urbes, por lo general en condiciones de vivienda muy precarias y con una fuerte interacción con la naturaleza, donde los triatomas están presentes. A causa de ello, los procesos diagnósticos son de larga duración y requieren el transporte de muestras sanguíneas hasta el establecimiento de salud más cercano para su análisis. Las condiciones de higiene en la que se hacen las extracciones no suelen ser óptimas y el mismo proceso puede perjudicar a la población más vulnerable. Sin embargo, al día de hoy no existen métodos diagnósticos no invasivos, implementados en dispositivos portátiles y que generen una rápida respuesta para detectar el Chagas permitiendo, a su vez, conocer el compromiso cardíaco del paciente infectado.

1.1. Motivación.

La situación que emerge es alarmante. Los procesos migratorios desde poblaciones rurales a grandes urbes han propagado la ECh dentro del mismo continente Americano. El incremento de posibilidades para llegar a destinos internacionales, la expansión de los mercados a nivel mundial junto al boom de las tecnologías de información aumentaron la interconexión entre pueblos y culturas de todo el mundo [6], lo que llevó a diseminar el *T. Cruzi* hacia los países más remotos. La falta de conocimiento y de experiencia en regiones no endémicas sobre la enfermedad potenciaron la transmisión por las rutas no vectoriales, haciendo que el Chagas deje de discriminar las poblaciones con menores recursos para instalarse en las sociedades por igual.

La necesidad actual de nuevas herramientas diagnósticas complementarias de bajo costo, portátiles, que permitan obtener resultados *in situ*, con rápida capacidad de respuesta, no invasivas y sencillas para su uso son el motivo del presente trabajo.

La electrocardiografía (ECG), con más de un siglo desde su primer registro, se ha convertido en una técnica diagnóstica de rutina para la detección de patologías predominantemente del sistema cardiovascular. Sin embargo el ECG convencional ha sido, hasta el momento, inservible para la detección de alteraciones cardíacas producidas en la forma indeterminada de la enfermedad. Debido a que el *T. Cruzi* tiene predilección por las células nerviosas y musculares para instalarse y reproducirse, principalmente del corazón y aparato digestivo [7], en este trabajo se plantea la hipótesis de que podría evidenciarse información de la enfermedad en la señal electrocardiográfica.

Con el advenimiento del ECG de alta resolución (ECGAR, o HRECG por sus siglas en inglés 'High Resolution Electrocardiography') se ha logrado descifrar eventos que ocurren a muy baja amplitud y muy alta frecuencia, y que son omitidos en la ECG estándar. Entre ellos, los potenciales tardíos ventriculares son los que han recibido mayor atención por su significado clínico [9] y han sido estudiados en numerosas ocasiones en pacientes chagásicos [17,18,67,73]. No obstante, **al día de hoy no ha sido posible identificar mediante ningún método electrocardiográfico alteraciones precoces cardíacas en individuos con la forma indeterminada de ECh** donde, a pesar de estar infectados con el parásito, no presentan signos ni síntomas, el ECG estándar y la radiografía de tórax son normales, al igual que la esofagografía de bario y enema son también normales.

En el siguiente trabajo, se hipotetiza que pueden existir alteraciones eléctricas en el sistema de conducción del corazón y cambios en la propagación y modulación del potencial de acción cardíaco (PAC) debido a la invasión miocárdica del *T. Cruzi*. Se analizan registros ECGAR y evalúan parámetros que podrían ayudar a la detección y diagnóstico temprano del Chagas indeterminado. Mediante el algoritmo propuesto para ello, se encuentran diferencias significativas entre individuos sin la enfermedad e individuos asintomáticos sin alteraciones en tests diagnósticos convencionales pero con serología positiva.

1.2. Objetivos Generales

Proponer e implementar un algoritmo para el análisis de registros de electrocardiografía de alta resolución que permita clasificar sujetos sin ECh de aquellos sujetos con la forma indeterminada de la enfermedad.

1.3. Objetivos Específicos

- Estudiar métodos de procesamiento de señales biomédicas aplicados a la electrocardiografía.
- Aplicar métodos de análisis frecuencial.
- Implementar algoritmos de detección de latidos y variabilidad del ritmo cardíaco (VRC).
- Implementar algoritmos para la extracción de parámetros e información de la señal de ECG.
- Analizar la información espectral que modula la VRC y otras señales derivadas del ECG.
- Analizar mediante métodos estadísticos apropiados los resultados obtenidos entre distintos grupos de individuos chagásicos e individuos sanos.
- Proponer un algoritmo que permita separar registros del grupo control y del grupo infectado.
- Abordar los resultados obtenidos desde un enfoque cardio-fisiológico.

CAPÍTULO II- La enfermedad de Chagas.

2.1. Introducción

El presente capítulo aborda los conceptos fundamentales referidos a la enfermedad de Chagas que permiten comprender el origen del presente trabajo y el método de análisis propuesto, identificando la actual necesidad mundial de desarrollar nuevas herramientas para el diagnóstico prematuro de la infección.

Se hace hincapié, principalmente, en los métodos diagnósticos empleados al día de hoy como así también en el centro de atención de muchos de los grupos de investigación actuales: el 'Chagas crónico indeterminado'.

2.2. Definición

Pizzi y otros [7] definen la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana como “una antropozoonosis hemohistoparasitaria, caracterizada clínicamente por evolucionar hacia la cronicidad, endémica de América; producida por el Trypanosoma Cruzi y transmitida por diversas especies de triatomíneos”.

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria, crónica y sistémica. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1] es una de las 13 enfermedades tropicales desatendidas. Fue descubierta por el médico brasileño Carlos Chagas en el año 1909. Sin embargo, es una enfermedad antigua que data de los comienzos de la humanidad: restos de ADN de su agente etiológico (Trypanosoma Cruzi) se han encontrado en tejidos de momias de aldeas precolombinas de hace 9000 años [3,8]. Actualmente, a más de un siglo de su hallazgo la enfermedad de Chagas sigue siendo no solo un problema de salud en la región, sino también a nivel global con una marcada significancia social y económica, asociada a la pobreza, con un fuerte impacto en la calidad de vida y con implicancias predominantes en América Latina pero también en regiones no endémicas [25,56].

2.3. Epidemiología y distribución geográfica

Históricamente la enfermedad de Chagas se limitó a las áreas rurales de América Central y América del Sur donde la presencia de vectores en las viviendas facilita la transmisión en el hombre. En los últimos 20 años, la gran cantidad de programas destinados al control de vectores junto a la obligatoriedad de realizar análisis de laboratorio en bancos de sangre para evitar el contagio transfusional redujeron sustancialmente la transmisión del *T. Cruzi* y la carga epidemiológica en América Latina [5].

Actualmente, de acuerdo a estimaciones de la OMS [1] entre 7.7 y 10 millones de personas poseen Chagas en todo el mundo [3], y solo las regiones endémicas (21 países de América Latina sin contar las islas del Caribe, libres de ECh) presentan entre 7-8 millones del total. En nuestro país, se estima que 10 millones de personas tienen posibilidades de infectarse, 3.5 millones se encuentran infectadas y 1,05 millones tienen cardiopatía chagásica crónica [7].

Durante la década de los '80, 100 millones de personas se encontraban en riesgo de contraer enfermedad de Chagas y unas 17.4 millones estaban infectadas solamente en los países endémicos. Los programas desarrollados en América Latina resultaron exitosos reduciendo la incidencia de nuevos casos de 700.000 por año en 1990 a 41200 por año en el 2006 como así también reduciendo el número de muertes asociadas a la ECh (50000 por año en los '90 vs 12500 por año en 2006) [5].

Sin embargo, el incremento de posibilidades para llegar a destinos internacionales, la expansión de los mercados a nivel mundial junto al boom de las tecnologías de información aumentaron la interconexión entre pueblos y culturas de todo el mundo [6], lo que llevó a diseminar el *T. Cruzi* hacia los países más remotos. Hoy en día, la enfermedad de Chagas representa un importante problema de salud en los EE.UU., Canadá, Europa y el oeste del Pacífico (principalmente Australia y Japón [25]), donde un número creciente de personas infectadas han sido identificadas [5,6,52]. De acuerdo a Bruce y otros [65], se estima que el gasto económico global de la enfermedad de Chagas supera los 23 billones de dólares. En la figura 2.1 puede observarse la distribución mundial de la enfermedad. Los Estados Unidos se estima que poseen unas 300167 personas infectadas. España, el segundo país no endémico con mayor número de inmigrantes infectados, se estima que posee entre 47738 y 67423 personas con enfermedad de Chagas [5].

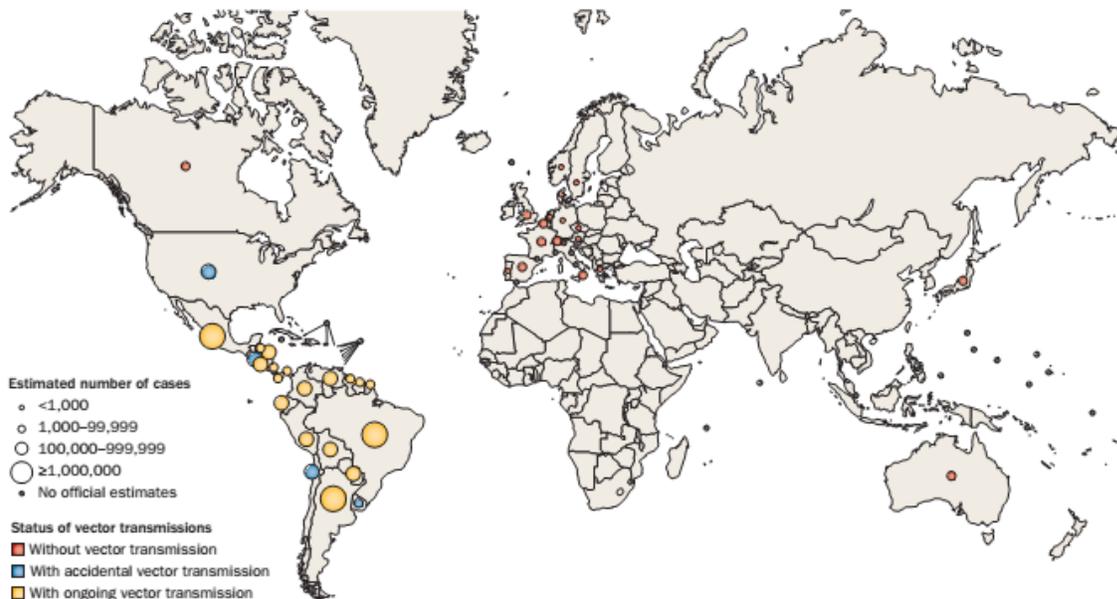


Figura. 2.1. Distribución global de individuos infectados con Enfermedad de Chagas. Estimación oficial de la OMS entre 2006-2009. Extraído de *Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy* [25].

2.4. Etiología

El *Trypanosoma Cruzi* es un protozoo flagelado con polimorfismo y presenta dos formas: el tripomastigote y el amastigote, además de sus formas intermedias [7]. Pertenece al phylum *Sarcomastigophora*, subphylum *Mastigophora*, orden *Kinetoplastida*, y familia *Trypanosomatidae* (ver figura 2.2). Su única mitocondria contiene el kinetoplasto, una red de ADN extracelular correspondiente al genoma extracelular del parásito, que se localiza cerca del cuerpo basal del flagelado.

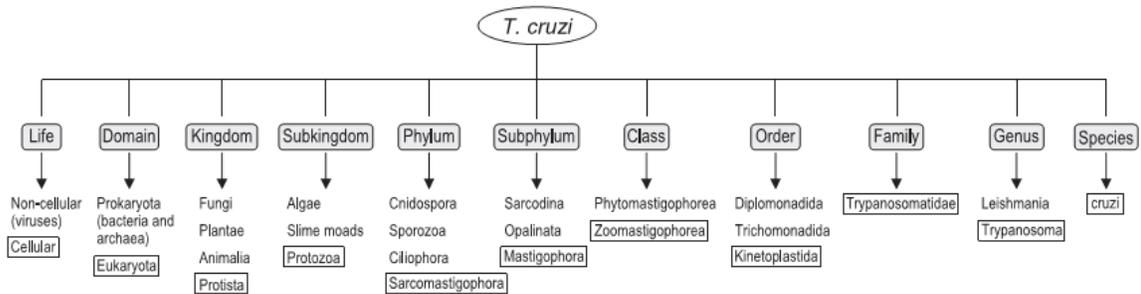


Figura. 2.2. Taxonomía del *Trypanosoma Cruzi*. Extraído de *American Trypanosomiasis* [3].

2.5. Ciclo de vida del T. Cruzi

El ciclo se inicia cuando la vinchuca (vector) infectada con el parásito se alimenta de la sangre de un mamífero. Inmediatamente defeca depositando sobre la piel o mucosas los tripomastigotes (forma sanguínea del parásito en el mamífero, de forma alargada en un estadio muy móvil) metacíclicos que invaden las células al penetrar por la picadura, lesiones de rascado o mucosas. En el interior de dichas células pasa a la forma de Amastigote y se multiplica por división binaria produciendo una masa de amastigote. Este pseudoquiste termina por romperse y sale a la circulación general como tripomastigote circulante. De este modo, se disemina por todo el organismo invadiendo nuevas células y transformándose nuevamente en Amastigotes para su reproducción. Destruyen las células para nuevamente volver a la circulación como tripomastigotes circulantes, hospedándose en nuevos órganos y sistemas y repitiendo el ciclo.

El mamífero infectado, al ser picado por una vinchuca transmite los tripomastigotes circulantes. En el vector el *T. Cruzi* se aloja en el lumen del tubo digestivo donde adquiere formas redondeadas (esferomastigotes) y formas alargadas (Epimastigotes) para reproducirse. En la porción terminal del intestino y tubos de Malpighi el parásito vuelve a su forma tripomastigote metacíclico y cuando el insecto defeca, transmite el parásito completando así el ciclo (ver figura 2.3).

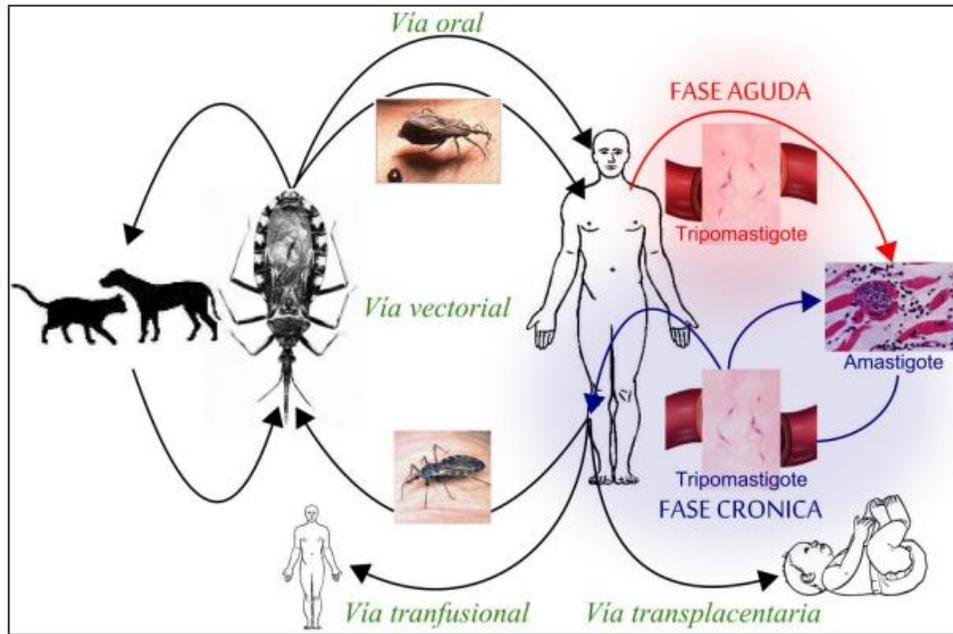


Figura. 2.3. Ciclo de vida del *T. Cruzi* y sus formas de transmisión. Extraído de *Guías para la Atención al Paciente Infectado con Trypanosoma cruzi* [26].

2.6. Mecanismos de Transmisión

La enfermedad de Chagas históricamente se transmitió en las regiones endémicas principalmente a través de su vector, la *vinchuca*. Sin embargo, hoy en día diferentes formas de transmisión, sobre todo en las regiones libres del vector y/o endémicas, propagan la enfermedad mediante mecanismos no vectoriales (ver Figura 2.3).

2.6.1. Transmisión vectorial

La enfermedad de Chagas se transmite a los seres humanos y a más de 150 especies de mamíferos domésticos y salvajes, principalmente por grandes insectos que se alimentan de sangre y reciben el nombre de *vinchuca*, *chinche*, *kissing-bug*, entre otros. Pertenecen al phylum *Arthropoda*, subphylum *Hexapoda*, orden *Hemiptera*, familia *Reduviidae*, subfamilia *Triatominae*. Aunque se conocen cerca de 140 especies de triatominos, sólo unos pocos son vectores competentes del *Tripanosoma Cruzi*. En la figura 2.4 pueden observarse algunas de estas especies de triatominos. Los principales vectores de este parásito son *Triatoma Infestans*, *Triatoma Brasiliensis*, y *Panstrongylus Megistus* en los países de América del Sur, *Rhodnius Prolixus* and *Triatoma Dimidiata* en los países de la actual Comunidad Andina de Naciones y parte de América Central, y *T. Dimidiata* y *Triatoma Barberi* en México.



Figura 2.4. Diferentes especies de triatominos.

2.6.2. Transmisión no vectorial.

La ECh puede transmitirse por diferentes mecanismos no vectoriales. La transfusión de sangre y transmisión vertical (transplacentaria, de madre a hijos) son las principales causas de infección en las áreas urbanas y países no endémicos [63]. El riesgo de contraer la enfermedad luego de la transfusión de 1 unidad de sangre de un donante infectado es entre 10% y 20% [3]. *Rassi y otros* [3] destacan que el riesgo de transmisión de la enfermedad es mayor en la transfusión de plaquetas que de otros componentes sanguíneos. La transmisión vertical ocurre en el 5% de los embarazos de mujeres con enfermedad de Chagas crónica en algunas regiones de Bolivia, Chile y Paraguay y entre 1-2% en los restantes países endémicos [3].

La transmisión también puede producirse por el transplante de órganos y médula ósea desde un donante con enfermedad crónica. Varios de estos casos han sido reportados en América Latina [3]. Además, el Chagas puede transmitirse por la ingesta de alimentos contaminados con *T. Cruzi*. Éste mecanismo no vectorial es por lo general responsable de brotes de infección aguda en regiones donde la vinchuca está presente en las viviendas. En menor frecuencia, se han documentado casos de infección por medio de accidentes de laboratorio de personal que trabaja con el parásito como así también por accidentes de quirófano.

2.7. Fases, formas y evolución clínica

La fase inicial de la infección con *T. Cruzi* dura entre 4 y 8 semanas y se conoce como fase aguda. Se continúa con la fase crónica, la cual persiste durante toda la vida del individuo infectado y presenta 4 formas clínicas: una forma indeterminada, y tres determinadas (cardíaca, digestiva, y cardiodigestiva).

La fase aguda es por lo general asintomática. En los casos agudos aparentes, las manifestaciones clínicas implican fiebre, taquicardia adenopatía, hepatoesplenomegalia y edemas [7]. Los síntomas aparecen 1-2 semanas luego de la exposición con el triatomino infectado o luego de algunos meses si la transmisión se produjo por transfusión de sangre u órganos. Por lo general, el tratamiento antiparasitario cura completamente la enfermedad en esta fase [5] y previene la evolución a la fase crónica. *Rassi y otros* [5] indican que

ocasionalmente se registran muertes en la fase aguda, en un 5-10% de los pacientes sintomáticos como consecuencia de miocarditis severas o meningoencefalitis.

En el 90% de los infectados en fase aguda las manifestaciones clínicas se resuelven espontáneamente habiéndose tratado o no al paciente con drogas. De acuerdo a *Fabrizio y otros* [63], la mayoría de los individuos ingresan a la fase crónica debido a que ignoran su estado por ausencia de síntomas o resolución espontánea de los mismos. Entre un 60-70% del total de infectados en fase aguda, no desarrolla posteriormente ningún síntoma ni presenta evidencias clínicas. Esta forma de la fase crónica se conoce como *Chagas indeterminado*.

Del total de individuos que presentan la forma indeterminada de la ECh, en dos tercios la enfermedad no progresa y en el tercio restante se vuelve sintomática. De los pacientes con ECh sintomático, en dos tercios la infección progresa desarrollando la forma cardíaca de la enfermedad mientras que en el tercio restante se desarrolla la forma digestiva [57].

2.7.1. Manifestaciones de la fase aguda.

Por lo general la fase aguda es oligosintomática, con fiebre poco característica y presentando una reducida respuesta celular al agente *T. Cruzi*. Los síntomas generalmente se manifiestan en jóvenes y niños y corresponden al período de alta parasitemia. Cuando la fase aguda es sintomáticamente definida, suelen aparecer fiebre, taquicardia, adenopatía, hepatoesplenomegalia y edemas [7].

El parásito puede marcar su sitio de ingreso en el cuerpo humano mediante los llamados 'signos de puerta de entrada', causando inflamación por lo general en los sitios descubiertos del cuerpo. Cuanto el mismo se produce en el ojo puede ocasionar conjuntivitis, edema palpebral y adenopatía satélite (signo de Romaña) [31].

En las formas agudas graves de la enfermedad suele existir compromiso cardíaco consistente de una miocarditis aguda difusa intensa [7]. Frecuentemente el electrocardiograma evidencia bajo voltaje del complejo QRS, intervalo PR y/o QT prolongados, y alteraciones de la onda T junto a taquicardia sinusal. Con menor frecuencia, pueden aparecer extrasístoles ventriculares, fibrilación auricular o bloqueo de rama derecha, los cuales indican un pronóstico pobre en el paciente [31].

Pizzi y otros [7] indican que la meningoencefalitis es otra manifestación importante que suele manifestarse mediante convulsiones y signos meníngeos pudiendo producir la muerte del paciente en pocos días.

La etapa aguda presenta una elevada parasitemia por lo que el parásito puede ser fácilmente identificado en muestras de sangre.

La fase aguda generalmente ocurre en niños. Sin tratamiento, aproximadamente el 5-10% de los pacientes sintomáticos mueren durante esta fase debido a la encefalomiелitis o insuficiencia cardíaca grave, y rara vez por muerte súbita.

2.7.2. Manifestaciones de la fase crónica.

Luego de entre 2-4 meses las manifestaciones clínicas de la fase aguda desaparecen y el parásito es difícilmente detectado en muestras de sangre. Comienza la denominada fase crónica, por lo general con un período de latencia largo denominado *Chagas crónico indeterminado* que puede persistir entre 10-30 años o durante toda la vida del individuo. Durante este período muchos pacientes evolucionan hacia alguna de las formas determinadas, presentando manifestaciones clínicas y afección de órganos específicos como el corazón, esófago, colon, sistema nervioso, principalmente.

2.7.2.1. Chagas Crónico: forma indeterminada.

En regiones endémicas, aproximadamente el 50% de la población de individuos chagásicos posee la forma *indeterminada* de la enfermedad [31]. Los individuos en esta fase son totalmente asintomáticos, no poseen disminución de la respuesta inmune celular, el examen ECG de 12 derivaciones es normal al igual que la radiografía torácica, con esófago y colon normales. El individuo asintomático desconoce la enfermedad que presenta y sólo los tests serológicos pueden demostrar la infección con *T. Cruzi* (serología positiva). De acuerdo a *Pereira-Nunes y otros* [4], *Ribeiro y otros* [25] y *Lescure y otros* [57], el Chagas indeterminado (CI) se define como una *combinación de infección (que puede confirmarse a través de métodos serológicos o parasitológicos), radiografía de tórax y ECG convencional normales, esofagografía con contraste de bario y enema normales, y la ausencia de signos y síntomas*. De acuerdo a

Noman de Alencar y otros [64], el CI se define como aquellos individuos asintomáticos, que presentan serología positiva, ECG convencional y radiografía de tórax normales.

De acuerdo a las definiciones aquí presentadas, el individuo con CI no presenta signos, síntomas ni manifestaciones clínicas en los exámenes diagnósticos que permitan al médico suponer una posible infección. Por lo general, sólo la entrevista con el paciente puede determinar la necesidad o no de realizar estudios de laboratorio en busca del parásito (procedencia del individuo, tipo de vivienda en la que habita, condiciones de la misma, infección con Chagas en el grupo familiar, entre otras).

Prata [31] indica que la proporción de pacientes que presentan algún tipo de anormalidad en exámenes diagnósticos del corazón alternativos (holter 24-horas, ergometría, ecocardiografía) o del sistema digestivo son casos atípicos con compromiso de los órganos de baja intensidad, en la misma proporción que podrían encontrarse esas manifestaciones en sujetos sanos. Esto indica un pronóstico muy favorable en los individuos con Chagas indeterminado. Sin embargo, se cree que éstos pacientes pueden evolucionar de manera precoz hacia alguna forma cardíaca, digestiva, o cardiodigestiva de la enfermedad.

A pesar de no manifestar alteraciones anatómo-fisiológicas cardíacas, en un 60% de biopsias de miocardio los sujetos indeterminados revelaron algún tipo de lesión focal [31]. Esto induce a pensar que existen alteraciones del corazón de menor intensidad que las producidas en la forma cardíaca de la enfermedad por más que los tests diagnósticos no reflejen anormalidades. Esto refuerza la hipótesis que el Chagas indeterminado favorece el desarrollo de alguna forma determinada y estas lesiones miocárdicas halladas podrían revelar las primeras alteraciones cardíacas durante la transición del Chagas determinado al Chagas crónico cardíaco. Adicionalmente, la forma indeterminada de la enfermedad ha sido vinculada con casos de muerte súbita [57].

En esta forma indeterminada del Chagas crónico, en dos tercios de los sujetos la enfermedad no progresa y en el tercio restante lo hace hacia una forma sintomática [57]. En pacientes con forma sintomática, dos tercios desarrollan la forma cardíaca de la enfermedad y el tercio restante la forma digestiva o cardio-digestiva. La transición de la forma indeterminada a la determinada puede demorar algunos años como así también décadas. En áreas endémicas, la aparición de alteraciones electrocardiográficas indica que 2-5% de los pacientes con ECh indeterminado evolucionan hacia la forma cardíaca cada año [25].

Actualmente, la forma crónica indeterminada es el principal centro de atención de los grupos de investigación en la patología debido a diferentes motivos. Entre ellos, la falta de conocimiento desde múltiples áreas sobre esta forma de la enfermedad. De acuerdo a *Fabrizio y otros* [63], la mayoría de los individuos chagásicos ignoran su condición debido a la ausencia de síntomas al comienzo de la enfermedad o presentan síntomas que se resuelven en forma natural y espontánea. En consecuencia, la mayoría de los infectados con *T. Cruzi* ingresan en la forma crónica chagásica indeterminada. La detección de la enfermedad en este estadio es bastante limitada debido a: (i) la ausencia de signos y síntomas, (ii) la carga parasitaria en sangre es baja por lo que se deben realizar tests serológicos que no se encuentran siempre disponibles, (iii) los métodos serológicos requieren de laboratorios, infraestructura y recursos tecnológicos de difícil acceso en regiones rurales y endémicas, (iv) y además la ECh es muchas veces desconocida por profesionales hasta en las propias regiones endémicas. Debemos considerar que en regiones urbanas libres del vector como así también en las regiones no endémicas donde la transmisión se da principalmente por transfusión sanguínea, transmisión vertical y trasplante de órganos, la forma indeterminada de la enfermedad es la principal fuente de transmisión de la enfermedad, produciendo hasta un 94% del total de las nuevas infecciones [63]. Esto lleva a que, actualmente, **se busquen nuevos métodos diagnósticos principalmente para el CI, estadio que genera la mayoría de las infecciones en las regiones urbanas y no endémicas.**

De acuerdo a *Rassi y otros* [5] y *Gascona y otros* [52], el pronóstico de los individuos post-tratamiento con drogas antiparasitarias disminuye con la duración de la infección y el estadio clínico del paciente. Desde esta perspectiva, el diagnóstico precoz de la ECh en su forma indeterminada posee ventajas en el pronóstico del individuo por dos motivos: (i) la probabilidad de que se cure completamente la infección es mayor [5], (ii) el tratamiento antitripanozomal se inicia antes de que el individuo haya desarrollado lesiones sistémicas irreversibles.

De acuerdo a *Noman de Alencar y otros* [64] uno de los desafíos actuales en ciencia es encontrar indicios que logren predecir en forma temprana la transición desde la forma asintomática de la enfermedad hacia alguna de las formas determinadas puesto que al día de hoy no han sido identificados indicadores de progresión. La detección temprana lograría un tratamiento con mayor probabilidad de éxito en el paciente y permitiría evitar nuevos casos de infección.

2.7.2.2. Chagas Crónico: Forma cardíaca.

El compromiso cardíaco en la ECh es la afección orgánica más crítica de la enfermedad debido a sus características, frecuencia, severidad y consecuencias [4,37] además de ser controversial por la gran variedad de cuadros clínicos inespecíficos que lo único que comparten es su etiología [7].

La miocardiopatía chagásica es la manifestación más frecuente y severa afectando al 20-40% de los individuos con enfermedad crónica [25]. El paro cardíaco repentino como así también la insuficiencia cardíaca progresiva son causas bien conocidas de muerte en los pacientes que presentan miocardiopatía chagásica, en especial en aquellos con función sistólica ventricular izquierda disminuida. Además, el accidente cerebrovascular relacionado a la miocardiopatía chagásica también ha sido identificado como un importante contribuyente de mortalidad en las regiones endémicas [25].

La predilección del parásito por las células musculares (entre ellas miocárdicas) y ganglionares [3,8] produce disfunción parasimpática en el corazón [4]. De acuerdo a *Pereira-Nunes y otros* [4] los pacientes chagásicos presentan una modulación del sistema parasimpático sobre el nodo sinusal disminuida, causante de una respuesta reducida de la frecuencia cardíaca a estímulos fisiológicos y farmacológicos. Estas alteraciones ocurren en forma temprana en el curso de la enfermedad y previamente a que se desarrolle disfunción ventricular izquierda. La fisiopatología de este proceso disfuncional parasimpático no está completamente comprendida pero se ha demostrado que incluye denervación debido a la destrucción de células ganglionares parasimpáticas y fibras nerviosas debido al proceso inflamatorio.

La miocardiopatía chagásica crónica se manifiesta mediante tres síndromes básicos que pueden coexistir en el paciente: insuficiencia cardíaca, arritmia cardíaca, y tromboembolismo. Las manifestaciones clínicas son muy variables de acuerdo a la duración de la enfermedad y el grado de lesión miocárdica.

Las primeras manifestaciones de la cardiopatía chagásica son generalmente leves. Algunos pacientes presentan palpitaciones y astenia [7]. Con frecuencia aparecen anormalidades en el ECG completamente asintomáticas como así también en otros estudios diagnósticos complementarios, como la ecocardiografía, el monitoreo Holter de 24 horas, o la resonancia magnética. Cuando la miocardiopatía se asevera, las manifestaciones posteriores incluyen

alteraciones de la conducción, principalmente el bloqueo de rama derecha, bloqueo del fascículo anterior de la rama izquierda, como así también impulsos ventriculares prematuros [25]. La cardiomegalia es también frecuente, evidenciándose en la radiografía de tórax un corazón de silueta redondeada [7]. La dilatación del ventrículo izquierdo junto al deterioro de la función sistólica son características de las etapas finales de la enfermedad y forman una vía común de todas las miocardiopatías dilatadas.

2.7.2.3. Chagas crónica: forma digestiva

En las regiones endémicas, cada año el 0,33% de los pacientes con Chagas indeterminado evolucionan hacia una forma digestiva y, de acuerdo a *Prata* [31], el 15-20% de los pacientes chagásicos desarrolla alteraciones de la motilidad, secreción y absorción en el tracto digestivo, especialmente en el esófago y colon. Los cambios en la motilidad surgen con tránsito lento y aumento del calibre de los órganos, característico de un megaesófago o megacolon [31].

Las esofagopatías chagásicas son una expresión clínica de la enfermedad que pueden desarrollarse en forma independiente a la afección cardíaca o en forma conjunta (Chagas determinado cardio-digestivo). Aquí existe una pérdida progresiva de la coordinación, motilidad y capacidad contractil del órgano [7].

Pizzi y otros [7] establecen que las colopatías chagasicas son afecciones frecuentes en el Chagas crónico e implican disfunción de los segmentos del colon por denervación parasimpática. El paciente aquí manifiesta constipación progresiva.

La forma cardio-digestiva de la enfermedad implica afecciones conjuntas de las formas cardíacas y digestivas con una amplia cantidad de escenarios diversos.

2.8. Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se basa sobre 3 pilares fundamentales:

- Clínico (Anamnesis- Examen Físico)
- Epidemiológico
- De laboratorio

Pizzi y otros [7] establecen que debe formularse el diagnóstico presuntivo ante un cuadro febril prolongado con polipoadenopatías, hepatoesplenomegalia, edemas y taquicardia, y más aún si hay signos de Puerta de Entrada (lesiones cutáneas que evidencian el contacto con el triatomino), transfusión de sangre o plasma previa a la enfermedad.

Debe considerarse si el paciente reside en áreas endémicas, zonas rurales, y en el tipo de vivienda que habita. Además de la residencia, debe considerarse la estadía ocasional de la persona en dichos sitios.

Frente a la sospecha de una posible infección con *T. Cruzi*, el procedimiento que se realiza para evaluar al posible enfermo chagásico comprende las siguientes etapas [5,31]:

1. Confirmar diagnóstico etiológico (diagnóstico de laboratorio).
2. Definir la forma clínica de la enfermedad.
3. Determinar tipo y severidad de lesiones.
4. Establecer el estadio de la forma cardíaca.
5. Considerar el pronóstico.
6. Decidir el tratamiento específico.

Para confirmar que el individuo se encuentra efectivamente infectado, se debe realizar el análisis de laboratorio correspondiente. El método de detección es dependiente del estadio de la enfermedad, y es necesario emplear el método que se suponga óptimo en cada caso. Es posible inferir en forma relativa si la infección se encuentra en etapa aguda o crónica a partir del examen físico, anamnesis y el examen interrogatorio. Los métodos de diagnóstico de laboratorio se analizan en la sección 2.8.1.

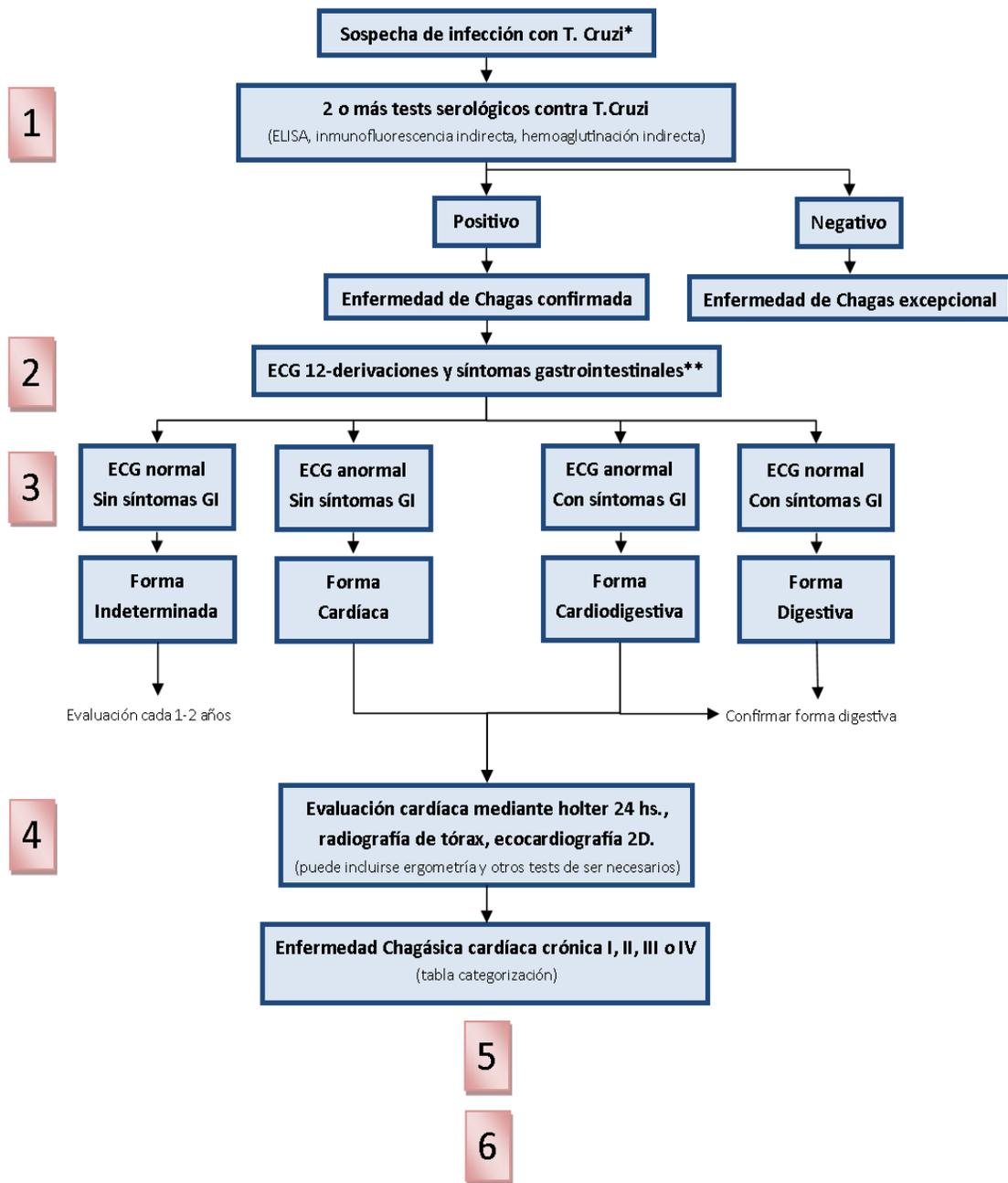


Figura 2.5. Evaluación de sujetos con posible enfermedad de Chagas. En rojo, las 6 etapas del proceso. ECG=electrocardiograma; GI=Gastro-intestinales; ELISA= Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas. *Paciente expuesto a la enfermedad (Contacto con vinchucas, región endémica, madre con ECh, previa transfusión sanguínea o receptor de órganos) o presenta síntomas característicos de la misma. ** Disfagia, odinofagia, regurgitación, constipación prolongada. Diagrama de flujo adaptado de *Chagas Disease* [5].

Una vez confirmado el diagnóstico etiológico, se procede a definir la forma clínica de la enfermedad. *Rassi y otros* [5] determinan que esta etapa se realiza buscando síntomas cardiovasculares, gastrointestinales, y a partir de un examen electrocardiográfico convencional de 12 derivaciones. El ECG es la herramienta diagnóstica determinante de la forma clínica que posee el paciente, como puede observarse en el diagrama de flujos de la figura 2.5, donde se ponen de manifiesto las 6 etapas propuestas en la evaluación del paciente chagásico.

Se debe realizar una esofagografía con contraste de bario y enema para diagnosticar la forma digestiva de la enfermedad. Sin embargo, estos tests no se recomiendan realizar como práctica estandarizada en pacientes que no presentan sintomatología gastrointestinal. Aquellos pacientes que presentan la forma crónica indeterminada, con un ECG de 12 derivaciones normal, sin síntomas cardiovasculares y gastrointestinales tendrían un pronóstico favorable y deberían evaluarse al menos cada 1 o 2 años [5].

Aquellos pacientes que presentan alteraciones en el estudio electrocardiográfico y han de poseer la forma crónica cardíaca de la enfermedad deben someterse a una evaluación cardíaca de rutina para establecer el estadio clínico de la forma cardíaca. Esto implica un análisis holter de 24 horas, una radiografía de tórax y una ecocardiografía 2D. Mientras que el holter permite la detección de arritmias, las dos técnicas restantes permiten evaluar el tamaño y función del corazón. *Rassi y otros* [5] afirman que estos 3 análisis permiten clasificar el paciente, estratificar el nivel de riesgo del mismo, y aplicar el tratamiento adecuado.

El tratamiento de la enfermedad de Chagas se realiza en función de la etapa (aguda o crónica) y de la forma clínica (indeterminada, cardíaca, digestiva o cardiodigestiva). Esto se discute en la sección 2.10.

2.8.1. Diagnóstico de laboratorio.

El diagnóstico de laboratorio que permite detectar infección con *T. Cruzi* se divide en función de la fase clínica en la que se encuentra el paciente infectado. Esto se debe a que los niveles de parasitemia y anticuerpos específicos difieren en la infección aguda y en la crónica.

La fase aguda se caracteriza por presentar una elevada carga parasitaria circulante en los pacientes. De este modo, se utilizan técnicas para la detección directa del parásito. Si bien la infección genera una respuesta que estimula la producción de anticuerpos (Ac) de tipo IgG (inmunoglobulinas G) e IgM (inmunoglobulinas M), la concentración sanguínea de los primeros es escasa en esta etapa y los ensayos de serología IgM no se encuentran difundidos ni estandarizados para su uso [3]. En contraparte, la etapa crónica de la enfermedad presenta cargas parasitarias reducidas y posiblemente intermitentes [3], lo que no permite utilizar técnicas directas contra el parásito. Las técnicas diagnósticas en esta etapa implican la detección serológica de los anticuerpos IgG que se unen al antígeno (Ag) *T. Cruzi* y su concentración en sangre es significativa. En la mayoría de los pacientes, estos anticuerpos estarán presentes durante toda la vida [24]. La dinámica de las concentraciones parasitarias y de anticuerpos específicos en las 2 etapas puede observarse en la figura 2.6.

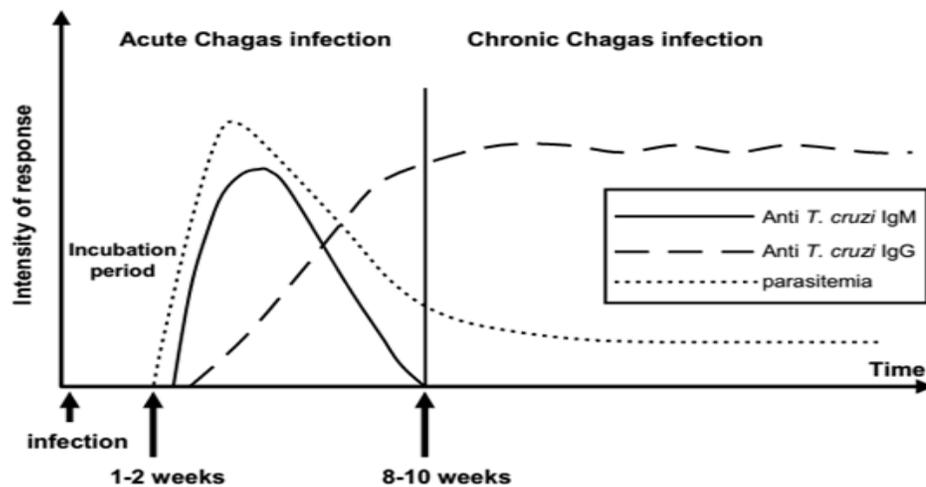


Figura. 2.6. Concentraciones parasitarias y de anticuerpos durante las etapas aguda y crónica de la enfermedad. Imagen extraída de *American Trypanosomiasis* [3].

2.8.1.1. Diagnóstico de laboratorio en la fase aguda.

Las técnicas para confirmar la presencia parasitaria en sangre se basan en microscopía directa, hemocultivo, xenodiagnóstico y procedimientos moleculares [23]. La tabla 2.1. resume los métodos directos para el diagnóstico en etapa aguda.

Métodos de Laboratorio Directos
Gota Fresca
Gota Gruesa
Métodos de Hemoconcentración: Strout (macro y micro), Martín-Leboeuf
PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)
Hemocultivo
Xenodiagnóstico

Tabla 2.1. Métodos directos para diagnosticar ECh en la etapa aguda.

Gota Fresca

Consiste en la extracción de sangre del pulpejo del dedo, del lóbulo de la oreja o del talón en los recién nacidos. Se coloca una gota de sangre entre porta y cubre-objeto junto a una gota de citrato de sodio al 2% [7]. Se utiliza para distinguir fácilmente la presencia del parásito debido a sus rápidos movimientos entre las células sanguíneas. El método logra detectar parásitos en el 85% de los casos [24].

Gota Gruesa

La extracción de sangre se obtiene del lóbulo de la oreja, del pulpejo del dedo o de la vena del codo. Se coloca una gota de sangre en el centro de un portaobjeto y con el vértice de otro portaobjeto se extiende la gota en forma circular. Se repite el procedimiento en el mismo lugar con otras 3 o 4 gotas. En los pasos siguientes se colorean las gotas con Giemsa¹ diluido, luego se las lava con agua destilada, se las cubre con Giemsa normal, y finalmente se las vuelve a lavar con agua destilada y se deja secar al aire [7]. El método de gota gruesa permite observar las características morfológicas del parásito. Cuando el nivel de parasitemia es bajo, sin embargo, es necesario usar técnicas de hemoconcentración, como el método de Strout [24].

¹*Giemsa (tinción de) es un método habitual para examinar frotis sanguíneos, muestras histológicas y otras muestras biológicas. Permite la tinción de protozoos. Pone de manifiesto la presencia del Tripanozoma Cruzi en la enfermedad de Chagas.*

Métodos de Hemoconcentración

La concentración de los parásitos se logra centrifugando la sangre. Entre los métodos de hemoconcentración se destacan el de Martín-Lebouef, el cual consiste en la observación en microscopio previo triple centrifugado sanguíneo. Otro método utilizado es el de concentración de Strout. Este último junto al de Martín-Lebouef se utilizan en la búsqueda de Tripanozomas. Finalmente, el Microhematocrito (MicroStrout) es un tercer método muy sencillo con sensibilidad similar al método de Strout. Su gran ventaja recae en la poca cantidad de sangre utilizada, lo que permite su utilización en Chagas congénito y en niños [7].

Los métodos de hemoconcentración logran detectar el parásito en más del 95% de los casos [24].

Xenodiagnóstico

Método clásico cuya sensibilidad depende del grado de parasitemia del paciente [24]. Utiliza ninfas de *Triatoma Infestans* como hospedadores para demostrar la existencia de infección.

Hemocultivo

Al igual que el Xenodiagnóstico, la sensibilidad del método es dependiente de la parasitemia del individuo. El método es muy utilizado en análisis de laboratorio. Consiste en un microcultivo de la sangre y su posterior seguimiento para comprobar proliferación de microorganismos. Con fines diagnóstico, el más utilizado para detectar presencia de parásitos es el hemocultivo para *T. Cruzi*.

Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR)

Es un método más reciente. La técnica consiste en la amplificación in vivo de fragmentos de ADN del parásito. Requiere de mayor infraestructura del establecimiento de salud y se realiza en los establecimientos de mayor complejidad [26].

El tiempo que demora en realizarse la PCR es mayor que en observación directa del parásito, pero inferior que el Xenodiagnóstico y Hemocultivo. Al igual que estos últimos, la sensibilidad del mismo depende de las cargas parasitarias. La gran ventaja que posee es que un resultado positivo confirma la infección con *T. Cruzi*. Sin embargo, un resultado negativo no descarta que exista infección [24]. Los ensayos basados en PCR no se encuentran comercialmente

disponibles y no son más precisos que las pruebas serológicas. Si bien no se utilizan para el diagnóstico del Chagas Crónico, se lo suele utilizar en Chagas congénito y en reinfección de pacientes infectados inmunológicamente comprometidos [25].

2.8.1.2. Diagnóstico de laboratorio en la fase crónica.

Para detectar infección con *T. Cruzi* en la etapa crónica de la enfermedad, ya sea en su forma indeterminada, cardiológica, digestiva, o cardiodigestiva, no pueden realizarse tests directos contra el parásito por su baja concentración en sangre. Los distintos métodos utilizados aquí detectan presencia de IgG anti-*T. Cruzi*. Los métodos serológicos convencionales son los mostrados en la tabla 2.2: inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemoaglutinación indirecta (HAI), ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). El ministerio de salud de la Nación en su guía sobre Chagas [26] agrega la Aglutinación con partículas de gelatina como método diagnóstico.

Métodos de Laboratorio Indirectos Convencionales
Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)
Hemoaglutinación Indirecta (HAI)
Ensayos Inmunoenzimáticos (ELISA)

Tabla 2.2. Métodos de laboratorio indirectos para diagnosticar ECh en la etapa crónica.

El diagnóstico en esta fase de la enfermedad requiere realizar al menos dos reacciones serológicas normalizadas de distintos principios y antígenos [24, 25, 26]. Esto se debe a que actualmente ningún método posee una sensibilidad y especificidad del 100% en la detección de la infección y además reacciones cruzadas con otras infecciones han sido documentadas. De acuerdo a las *Guías para la Atención al Paciente Infectado con Trypanosoma cruzi* [26], ambas pruebas deben realizarse con la misma muestra de suero, siendo necesario además utilizar por lo menos una de las pruebas de mayor sensibilidad como ELISA o IFI. Para considerar el diagnóstico como definitivo (ya sea confirmando o descartando una infección crónica), el resultado de ambas pruebas debe ser coincidente (ambas reactivas o ambas

no reactivas). En caso de discordancia (una prueba reactiva y otra no reactiva) se deberá realizar una tercera prueba, o derivarla a un centro de referencia.

Murcia y otros [26] afirman que uno de los inconvenientes de la serología convencional son las reacciones cruzadas con otros tripanosomátidos como *Leishmaniaspp* o *Trypanosoma rangeli* debido al antígeno utilizado en los tests. *Teixeira y otros* [8] indican que los tests serológicos pueden presentar reactividad cruzada por ejemplo si el paciente presenta otra infección kinetoplastida con parásitos intracelulares, enfermedades bacterianas (como la malaria, toxoplasmosis, etc.) o frente a algunas condiciones autoinmunes como la artritis reumatoidea o el lupus eritematoso sistémico. Otro inconveniente de los estudios serológicos es la falta de capacidad para evaluar a los pacientes tras el tratamiento, ya que los anticuerpos detectados son de larga duración y la seroconversión no ocurre hasta pasados varios años después del tratamiento.

Ensayos Inmunoenzimáticos (ELISA)

El Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA, del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) se basa en la capacidad de las enzimas para ligarse a moléculas inmunoglobulínicas formando conjugados que entran en juego en las reacciones inmunitarias.

Permite la identificación de antígenos, sobre todo en cortes de tejido, como la identificación de anticuerpos presentes en un suero frente a un antígeno conocido. Este último es el de nuestro interés ya que permite identificar anticuerpos contra *T. Cruzi*.

Es un método indirecto en el que participa el suero a analizar, portador o no de anticuerpos, el antígeno que se enfrenta al suero en cuestión y una antigammaglobulina homóloga conjugada con la enzima. El complejo antígeno-anticuerpo (complejo Ag-Ac) se pone de manifiesto agregando la antigammaglobulina que en presencia de un sustrato (H_2O_2) y de un cromógeno produce un cambio de color en el sistema que es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra. Finalmente, los cambios de coloración se leen en un espectrofotómetro.

Para el diagnóstico de Chagas, la sensibilidad del método es 94-100% y la especificidad es de 96-100% de acuerdo a *Haberland y otros* [27].

Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

El método de Inmunofluorescencia Indirecta IFI utiliza antígenos unidos a la superficie de un portaobjetos que al entrar en contacto con los anticuerpos anti-*T. Cruzi* de la muestra en cuestión, reaccionan formando el compuesto antígeno-anticuerpo fijado al portaobjetos. Las inmunoglobulinas que no han reaccionado contra el antígeno se eliminan mediante un procedimiento de lavado. Finalmente, el complejo antígeno-anticuerpo se revela mediante globulina antihumana marcada con fluoresceína. El resultado, es un complejo Ag-Ac visible mediante microscopio de fluorescencia.

La sensibilidad de los test IFI es de 98% y la especificidad de 98% [27].

Hemoaglutinación Indirecta (HAI)

El método se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos, en este caso anti-*T. Cruzi*, de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos. En el suero existen anticuerpos inespecíficos (heterófilos) que son capaces de aglutinar glóbulos rojos (GR) de distintas especies. Su presencia se investiga enfrentando el suero con GR no sensibilizados. Los anticuerpos interferentes se eliminan mediante tratamiento con algún compuesto químico específico, como el *2-mercaptoetanol*.

La sensibilidad de los tests de hemoaglutinación indirecta es de 88-99% y la especificidad de 96-100% [27]. La tabla 2.3 resume los parámetros sensibilidad y especificidad de cada método.

Ensayo de Laboratorio	Sensibilidad	Especificidad
ELISA	94-100%	96-100%
IFI	98%	98%
HAI	88-99%	96-100%

Tabla 2.3. Sensibilidad y especificidad de los principales métodos diagnósticos indirectos.

2.8.2. Otros métodos diagnósticos.

Los métodos diagnósticos convencionales empleados en laboratorios tienen varias limitaciones debido a la infraestructura y materiales que requieren para realizar los tests, los largos tiempos que conlleva realizar un análisis, la imposibilidad de diagnosticar *in situ* la ECh, los cambios en la sensibilidad y especificidad de los métodos por reacciones cruzadas [28], la falta de capacidad para analizar pacientes que han sido tratados [26], entre otros.

La necesidad de nuevos métodos que suplan estas limitaciones son un gran desafío en la actualidad. La ECh genera daños orgánicos severos en pacientes con infección avanzada y los tratamientos con drogas presentan limitaciones en cuanto a su efectividad [29]. Ensayos serológicos de rápida respuesta diagnóstica en la etapa aguda y crónica, que permitan confirmar la cura luego de un tratamiento con drogas antiparasitarias y con mayor especificidad y sensibilidad son requeridos, tal como lo ponen de manifiesto un grupo de médicos brasileños bajo la publicación *International meeting: new diagnostic tests are urgently needed to treat patients with Chagas disease* [29].

En la actualidad, nuevos métodos serológicos están siendo investigados, desarrollados y validados. Entre ellos, es necesario destacar los llamados *Tests de diagnóstico Rápido* (RTD's), que se encuentran disponibles en el mercado. Los mismos utilizan recombinaciones de proteínas en un ensayo inmuno-cromatográfico. Las principales ventajas de los mismos son: (i) procesamiento rápido de las muestras, (ii) dispositivos son de uso individual, (iii) almacenamiento a temperatura ambiente, (iv) no requieren de equipamiento de laboratorio, (v) no requieren técnicas de laboratorio especiales. La sensibilidad y especificidad de los mismos es de 98.5-100% y de 94.8-99.9% respectivamente [30]. Otras ventajas de las pruebas de diagnóstico rápido son (RDTs), como afirma *Lorca y otros* [28], es que emplean cantidades mínimas de muestra, que son relativamente fáciles de realizar, no demoran más de 10 minutos y su manipulación es fácil. Sin embargo, requieren de personal entrenado para que sean efectuadas sin contratiempos *in situ* careciendo de las facilidades de laboratorio.

En Argentina, actualmente un grupo de investigadores del Instituto nacional de Tecnología Industrial (INTI) está desarrollando un dispositivo que permite detectar Chagas en forma rápida e *in situ*. La sensibilidad y especificidad del mismo no es conocida ya que el dispositivo no se encuentra todavía en el mercado y la poca información disponible no es de fuentes oficiales. Se denomina *Nanopoc*, y es capaz de detectar diversas enfermedades infecciosas,

entre ellas la enfermedad de Chagas. El dispositivo diagnosticaría en un tiempo promedio de 15 minutos distintas enfermedades, entre ellas ECh, y su precio sin considerar insumos rondaría entre los 500-900 USD.

2.9. Electrocardiografía y Enfermedad de Chagas

Ribeiro y otros [25] indican que la electrocardiografía es la técnica más sencilla y definitiva para examinar pacientes con miocardiopatía chagásica y una gran cantidad de alteraciones características de la enfermedad son apreciables en el ECG. La tabla 2.4 resume las posibles anomalías del electrocardiograma de un paciente infectado.

Alteraciones electrocardiográficas en pacientes con miocardiopatía Chagásica
ESPECÍFICAS
Bloqueo de rama derecha
Latidos ventriculares prematuros frecuentes
Taquicardia ventricular no sostenida
Bloqueo atrio-ventricular de segundo o tercer grado
Bradicardia sinusal con frecuencia cardíaca menor a 40 latidos por minuto (lpm)
Disfunción del nodo sinusal
Bloqueo de rama izquierda
Fibrilación auricular
Alteraciones primarias del segmento ST y onda T
NO ESPECÍFICAS
Bradicardia sinusal con frecuencia cardíaca mayor a 40 lpm
Bajo voltaje del complejo QRS
Alteraciones no específicas del segmento ST y onda T
Bloqueo incompleto de rama derecho
Bloqueo del fascículo anterior izquierdo
Latidos ventriculares prematuros aislados
Bloqueo atrio-ventricular de primer grado

Tabla 2.4. Alteraciones electrocardiográficas en pacientes con miocardiopatía Chagásica específicas e inespecíficas. Adaptado de Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy [25].

Los pacientes con un registro ECG normal presentan un buen pronóstico luego de 5-10 años de seguimiento y solo muy pocos evolucionan a una disfunción ventricular izquierda severa. Por el contrario, la aparición de nuevas alteraciones electrocardiográficas permite identificar pacientes con una importante disminución (>5%) de la fracción de eyección ventricular izquierda

Existen varias técnicas electrocardiográficas utilizadas en el diagnóstico y clasificación de la miocardiopatía chagásica crónica. El ECG convencional de 12 derivaciones, el monitoreo Holter de 24 Hs, la ergometría o test de esfuerzo, la vectocardiografía, ECG de alta resolución y ECG de análisis promediado, son algunas de las técnicas utilizadas. Si bien todas ellas permiten caracterizar en diversa forma el estado funcional del corazón en el Chagas cardíaco crónico, ninguna es capaz de detectar alteraciones cardíacas precoces derivadas de la infección parasitaria. De esta manera, **actualmente no existen técnicas diagnósticas que logren evidenciar en forma temprana la afección cardíaca producida por el *T. Cruzi* en la forma indeterminada de la patología.**

En trabajos previos, se ha descripto el ECG como una herramienta útil para el cribado de la miocardiopatía chagásica crónica (MCC) y se lo ha propuesto como primer examen en el algoritmo para la valoración pronóstica y muerte por causa cardíaca en Ech [32]. *Bochard-Villanueva y otros* [32] han mostrado el potencial de la electrocardiografía de superficie (12 derivaciones) en la detección precoz de la MCC. Para ello, han comparado registros ECG de pacientes con la resonancia magnética cardíaca con contraste (RMCC). La RMCC permite detectar alteraciones cardíacas tempranas producidas por la enfermedad. Los resultados presentaron que una gran proporción de los pacientes con realce tardío de gadolinio en la RMCC presentaba a su vez algún tipo de alteración en el ECG de 12 derivaciones, presentando este último una sensibilidad del 83%, una especificidad del 68%, un valor predictivo negativo del 96% y un valor predictivo positivo del 29%. La gran ventaja es el bajo costo y disponibilidad global del ECG, en comparación con la RMCC de alto costo y baja disponibilidad en países en desarrollo.

2.10. Tratamiento de la enfermedad de Chagas

El objetivo del tratamiento de pacientes con ECh es erradicar el parásito y combatir los signos y síntomas de la enfermedad [5], curar la infección en la etapa aguda, prevenir el daño de los órganos afectados en la etapa crónica asintomática y prevenir morbilidad y mortalidad en pacientes donde la enfermedad está clínicamente manifestada [3]. *Rassi y otros* [5] afirman que el pronóstico del tratamiento con drogas es dependiente del estadio clínico de la enfermedad y el mismo disminuye a medida que la infección se asevera. Mientras que entre un 50-80% de los pacientes en fase aguda logran la cura con drogas antitripanosomales, sólo entre un 20-60% de pacientes con Chagas indeterminado lo hacen, y la cifra disminuye más aún en pacientes con alguna forma crónica determinada [5]. Desde esta perspectiva, el diagnóstico precoz de la enfermedad es un punto crucial que determina el pronóstico del paciente. La principal ventaja de realizar el tratamiento en una fase temprana es la posibilidad de evitar lesiones irreversibles posteriores. Si bien la infección puede llegar a curarse en estadios severos, son las lesiones sistémicas, orgánicas e irreversibles las que complican el pronóstico del paciente y no la infección por sí misma.

El tratamiento con drogas antitripanosomales se recomienda en todos los casos agudos, congénitos, infecciones reactivadas, en todos los niños infectados y en pacientes de hasta 18 años con enfermedad crónica. El tratamiento debe ofrecerse a adultos infectados entre 19-50 años que no presentan Chagas crónico cardíaco en forma avanzada. Para los adultos mayores de 50 años el tratamiento con drogas es opcional dado que aún no se han demostrado beneficios en este grupo. Por otro lado, el tratamiento está contraindicado durante el embarazo y en pacientes con insuficiencia renal y/o hepática severa y generalmente no debe realizarse en paciente con MCC avanzada o megaesófago con substancial deterioro de la deglución [5].

Existen solo dos drogas en las que se ha demostrado beneficios eficaces para el tratamiento de la enfermedad de Chagas: Benznidazol (Radanil ®) y Nifurtimox (Lampit ®). Benznidazol es una droga más segura y eficaz [5] y por ello es usualmente utilizada en el tratamiento de primera línea. Los niños deber ser tratados con esta droga (5-10 mg/Kg/día) en dos tomas diarias durante 30-60 días [5,7] o con Nifurtimox (15-20 mg/Kg/día) en tres tomas diarias durante 60-90 días [5]. En adultos, el tratamiento de 5-10mg/Kg de Benznidazol u 8-10 mg/Kg de Nifurtimox se recomienda durante el mismo período de tiempo que el tratamiento

en niños. *Pizzi y otros* [7] establecen que en adultos el tratamiento con Nifurtimox es recomendable iniciarlo durante las dos primeras semanas con una dosis baja y aumentar 2mg cada semana hasta alcanzar los 8-10mg/Kg sugeridos.

Durante el tratamiento con Benznidazol es frecuente la aparición de exantemas en la primera semana. También se recomienda un estricto control de laboratorio mientras dure el tratamiento debido a que suelen observarse leucopenia y plaquetopenia, alteración en enzimas hepáticas y neuropatías periféricas.

En las formas determinadas de la enfermedad, tanto los síntomas cardíacos como los digestivos deben tratarse. La MCC se trata con antiarrítmicos, cardiotónicos y diuréticos. Dependiendo de la afección cardíaca suelen colocarse marcapasos como así también DCT (desfibrilador cardioversor implantable). En pacientes con insuficiencia cardíaca severa una alternativa es el trasplante cardíaco. Algunos resultados indican que pacientes chagásicos transplantados tienen mejor pronóstico que aquellos pacientes que han recibido trasplante por otro tipo de enfermedad cardíaca [5].

2.11. Prevención y control.

Debido a la ausencia de una vacuna contra la enfermedad, la prevención primaria se realiza controlando el vector y previniendo la transmisión por mecanismos no vectoriales [5]. El control del vector se realiza de acuerdo a *Pizzi y otros* [7] en forma *Defensiva y Ofensiva*. La primera implica la mejora de viviendas semirurales o periurbanas. La segunda mediante la desinfección de las viviendas y anexos utilizando insecticidas de contacto y largo poder residual. El control de transmisión por mecanismos no vectoriales se logra principalmente analizando donantes sanguíneos y de órganos como así también mediante el tratamiento de receptores de sangre sospechosa (durante 10 días).

En los últimos años se ha logrado una disminución substancial de la enfermedad mediante el control del vector y la transmisión no vectorial. Sin embargo siguen faltando programas integradores y sostenidos en el tiempo en los cuales se involucre a la comunidad para combatir la propagación del Chagas. Programas de educación en regiones endémicas, mayor participación de la comunidad y los organismos de salud, seguimiento epidemiológico de la infección son solo algunos desafíos para combatir la enfermedad.

En regiones urbanas y no endémicas libres del vector, donde la transmisión se produce principalmente por individuos chagásicos indeterminados, **la detección temprana de la enfermedad sería un potente mecanismo de control y prevención de casos futuros.**

CAPÍTULO III. Señales Electrocardiográficas.

3.1. Introducción.

En el presente trabajo se analizan señales electrocardiográficas en individuos con ECh. Ello requiere una interpretación cardio-fisiológica de los fenómenos y eventos a analizar, los cuales se presentan en este capítulo. Mediante una técnica poco difundida, se busca aprovechar información fisiológica que por lo general es desechada o no es apreciable mediante los métodos electrocardiográficos convencionales difundidos.

El presente trabajo resume conceptos de fisiología cardíaca y de electrocardiografía convencional para comprender los beneficios del empleo del ECG de alta resolución. Se analizan distintas técnicas de procesamiento de la señal ECGAR en individuos chagásicos y se resumen los resultados obtenidos de distintas investigaciones.

3.2. El sistema cardiovascular

Consiste principalmente de un órgano central de impulsión denominado *corazón* y de un conjunto de conductos de propiedades diversas: arterias, venas, vasos capilares y vías linfáticas.

Mientras las *arterias* distribuyen la sangre proveniente del corazón a todo el organismo, las *venas* recogen la sangre desde los tejidos y la conducen al órgano eyector. Entre las arterias y las venas, se interponen los llamados *vasos capilares*. En ellos se producen los intercambios entre la sangre y los distintos tejidos, con dos funciones diversas: nutrir las células (sentido sangre-tejido) y eliminar residuos metabólicos de las mismas (sentido tejido-sangre). Estos intercambios producen la transformación de una sangre rica en oxígeno (arterial) en una sangre cargada de gas carbónico (venosa). Las *vías linfáticas* se consideran parte del aparato circulatorio y conforman junto a otras estructuras el sistema linfático, una red de transporte de líquidos corporales. Llevan la linfa, un fluido proveniente de la sangre y de similar composición, en forma unidireccional al corazón.

3.3. El corazón

Es un músculo hueco que contiene cavidades en las cuales circula la sangre. Está compuesto por dos mitades diferenciadas: un corazón derecho, y un corazón izquierdo, separados por un tabique o septum. A su vez, cada una de estas mitades posee dos cavidades: un atrio (aurícula) y un ventrículo. Cada uno de los atrios se comunica con el ventrículo correspondiente mediante un orificio provisto de válvulas, las cuales aseguran una circulación sanguínea unidireccional evitando reflujos. Mientras que a los atrios llegan venas, desde los ventrículos nacen arterias.

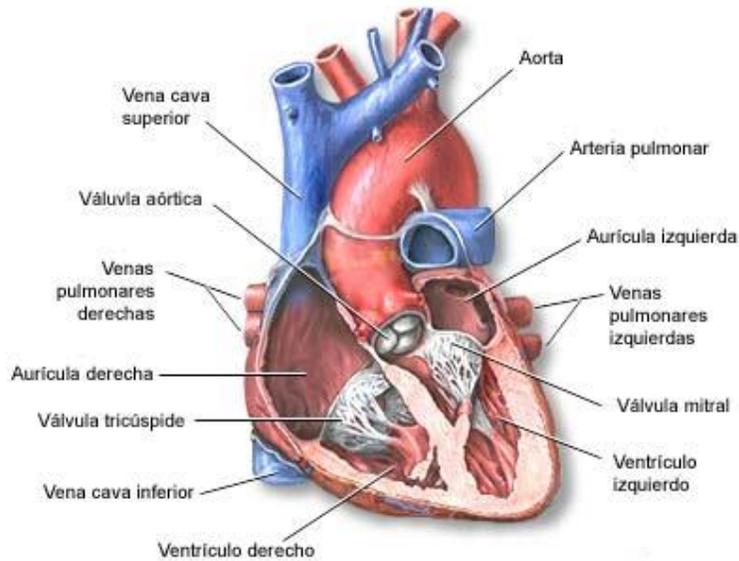


Figura. 3.1. Anatomía del corazón. Cavidades, vasos y válvulas. Imagen extraída de *A.D.A.M. Interactive Anatomy*.

Las cavidades del corazón trabajan en forma ordenada. Cuando el corazón se distiende, las cuatro cámaras se relajan para llenar sus cavidades con sangre en un proceso denominado diástole. Durante el proceso denominado sístole, las cámaras se contraen. Después de la contracción o sístole auricular, continua la contracción o sístole ventricular, la cual expulsa la sangre hacia las arterias. En la imagen 3.2 puede observarse este proceso. Para ello, requiere del trabajo del miocardio, un músculo con propiedades particulares revestido interiormente por el endocardio y exteriormente por el epicardio. Rodeando al miocardio se encuentra un conjunto fibroso que lo separa de los órganos vecinos denominado pericardio.

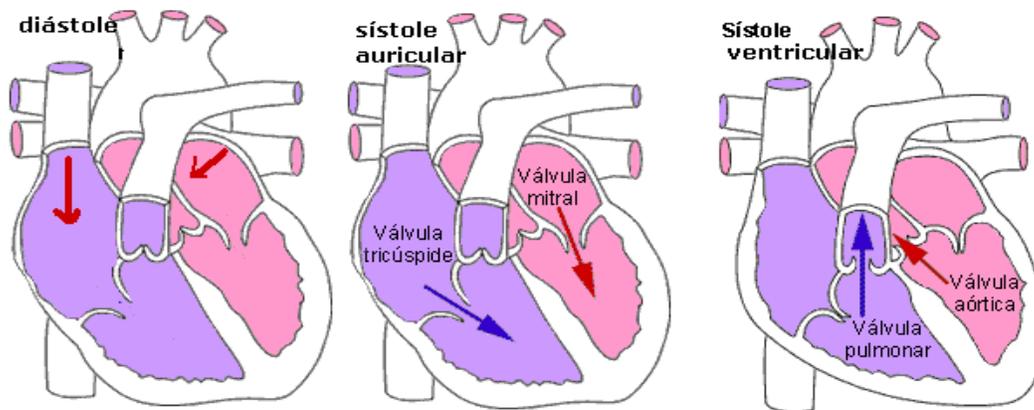


Figura. 3.2. Sístole y diástole. Imagen extraída de <http://ijcnaturais.blogspot.com.ar/>

3.4. Dinámica de la circulación

En términos generales y a modo de simplificar su comprensión podemos resumir la dinámica de la circulación sanguínea comenzando desde el ventrículo izquierdo, que al contraerse impulsa sangre oxigenada por la arteria aorta y la distribuye en todo el organismo con excepción de los pulmones. Así, en cada tejido se producen intercambios fisicoquímicos en los capilares y se recoge la sangre venosa que contiene residuos celulares. La misma es recogida por intermedio de las venas cavas, superior e inferior, que conducen la sangre al atrio del corazón derecho.

La sangre en el atrio derecho pasa al ventrículo derecho atravesando una válvula auriculo-ventricular, la cual evita reflujos. Al contraerse el ventrículo, impulsa la sangre al tronco pulmonar para que llegue a los pulmones.

En los pulmones, la sangre venosa elimina el gas carbónico al exterior e incorpora oxígeno. Así, la sangre rica en oxígeno llega al corazón izquierdo, precisamente al atrio del mismo, mediante las venas pulmonares. Atraviesa la válvula auriculo-ventricular que conecta con el ventrículo izquierdo y llena esta cavidad, completando así el ciclo. La figura 3.3 esquematiza la circulación de la sangre.

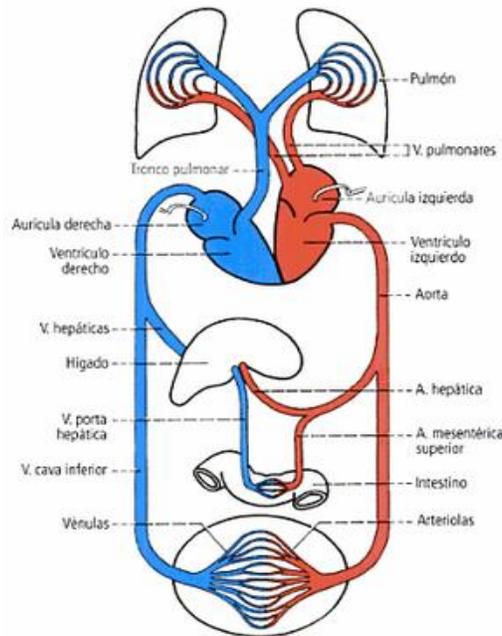


Figura. 3.3. Esquema de la circulación sanguínea. No incluye circulación de cuello, cabeza y miembros superiores que pertenecen a la gran circulación. Extraída de *Anatomía Humana, Latarjet-Ruiz Liard*.

Es necesario notar que en este circuito cerrado existen dos circulaciones con características diferentes: una sistémica o general, y una circulación pulmonar. En esta última, mientras que las arterias conducen sangre carboxigenada, las venas transportan sangre rica en oxígeno, a la inversa de lo que sucede en la gran circulación (sistémica).

3.5. Sistema de conducción del corazón

Es ampliamente conocida la capacidad de contracción del músculo cardíaco debido a su automaticidad. El corazón aislado y sin estimulación nerviosa puede continuar latiendo. Esto se debe a que diversas partes del sistema de conducción cardíaco y algunas partes del miocardio son capaces de producir y propagar descargas en forma espontánea.

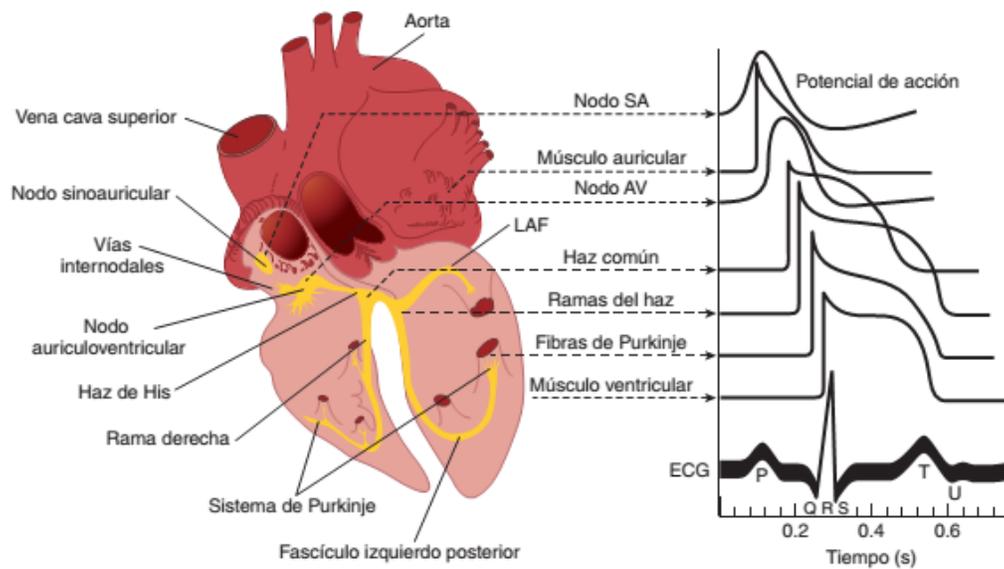


Figura. 3.4. A la izquierda, anatomía del sistema de conducción cardíaco. A la derecha, potenciales de acción transmembrana de las distintas regiones del sistema de conducción junto al registro de potenciales superficiales (electrocardiograma). Imagen extraída de Ganong 23 edición.

El latido cardíaco se origina en el sistema de conducción cardíaco especializado y se propaga a través del mismo a todo el músculo cardíaco. El sistema puede dividirse en dos partes:

- El *nodo sinuatrial* o *sinusal* (nodo SA), ubicado en la aurícula derecha.
- El *conjunto atrioventricular*, de donde distinguimos el *nodo atrioventricular* o *de Tawara* (nodo AV), el *fascículo atrioventricular* y sus ramas, más bien conocido *haz de His*, y la *red de Purkinje* o *Myofibra conducens cardíaca*.

En condiciones normales el nodo SA es el marcapasos cardíaco, descargando con mayor frecuencia el impulso eléctrico. Esta frecuencia de descarga corresponde a la frecuencia a la que late el corazón o frecuencia cardíaca. La figura 3.4 esquematiza el sistema de conducción del corazón.

3.6. Propagación del impulso cardíaco

El impulso cardíaco se origina en el nodo sinusal, ubicado en la unión de la vena cava superior con el atrio derecho. Se transmite en sentido radial a las aurículas y mediante 3 haces de fibras auriculares denominadas Haz internodal de Bachman, haz internodal medio de Wenckebach y el haz internodal posterior de Thorel al nodo auriculoventricular, ubicado en la región posterior derecha del septum interauricular. La despolarización de las aurículas demora 0.1 seg. Debido a la menor velocidad de conducción del nodo AV, el impulso continúa con un retraso de 0.1seg (retardo nodal) a través del haz de His y de sus 2 ramas, izquierda y derecha. Las ramas despolarizan a nivel endocárdico el sistema de Purkinje el cual dispersa el impulso cardíaco por todo el miocardio ventricular. Este fenómeno completo comprende un latido cardíaco.

3.7. Inervación cardíaca

Hemos mencionado que el corazón, en condiciones normales, produce contracciones involuntarias del miocardio a causa de un pequeño grupo de células marcapasos ubicadas en el nodo sinusal. Sin embargo, la frecuencia cardíaca impuesta por este nodo es alterada por el control que realizan nervios extrínsecos. Es aquí donde aparece el *Sistema Nervioso Autónomo* (SNA) para controlar las descargas eléctricas de las células marcapasos mediante un proceso de retroalimentación negativa.

El *sistema nervioso autónomo o vegetativo* es el encargado de controlar acciones involuntarias de nuestro organismo. Se activa mediante centros neuronales ubicados en la médula espinal, el tallo cerebral y el hipotálamo y cumple un importante rol fisiológico regulando funciones de las vísceras, los músculos, glándulas y vasos sanguíneos.

El SNA tiene principalmente dos divisiones: *simpática* y *parasimpática*. Algunos autores consideran una tercera división al sistema nervioso entérico, el cual actúa directamente sobre el aparato digestivo.

En la figura 3.5 puede observarse la organización de los sistemas nerviosos simpático y parasimpático y el control de los mismos sobre diferentes órganos.

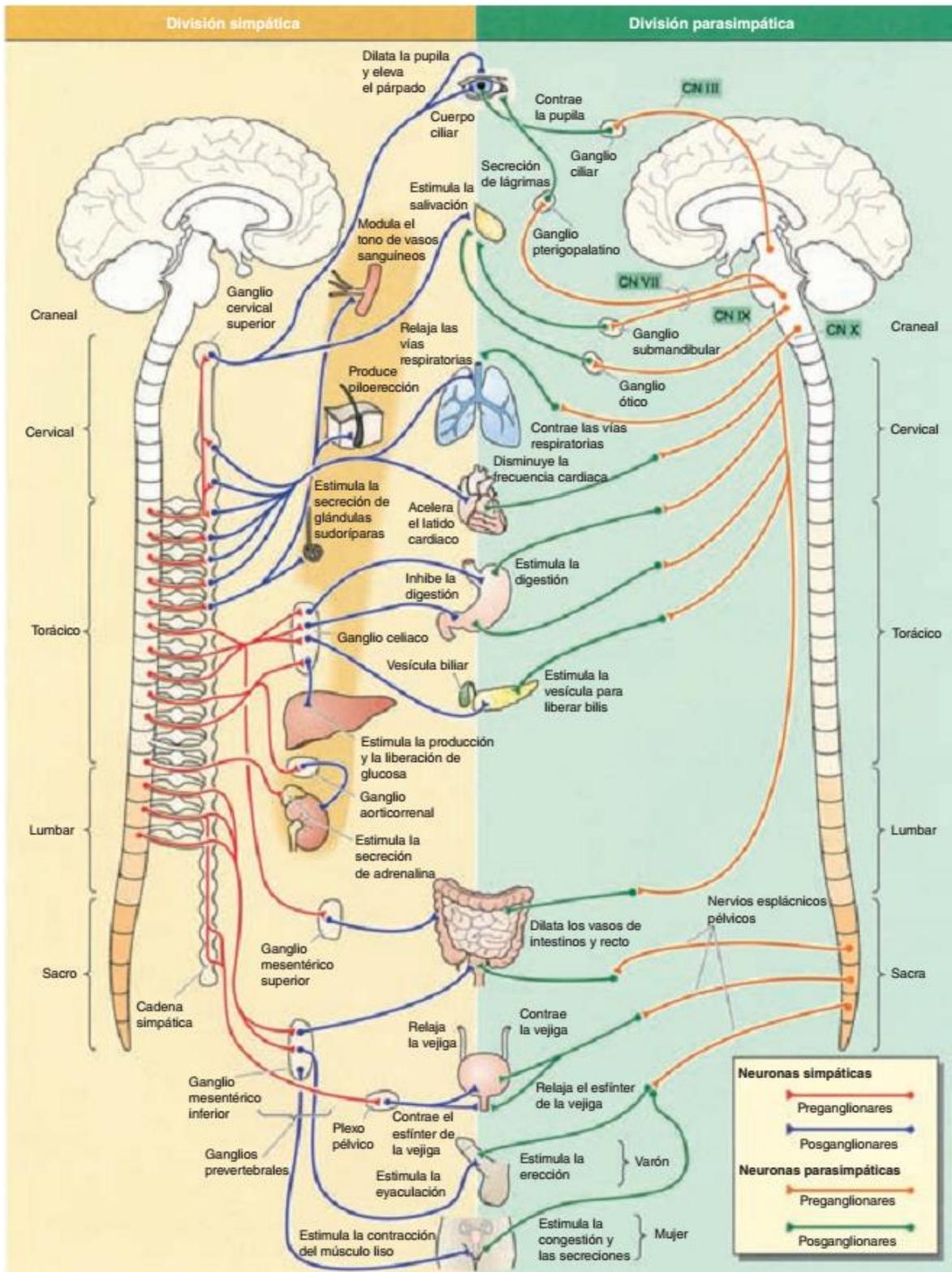


Figura. 3.5. Organización del sistema nervioso simpático y parasimpático. Extraído de *Fisiología Médica, Ganong* 23 edición.

3.7.1. Inervación simpática del corazón

La inervación eferente de los nervios simpáticos actúa sobre los atrios, los ventrículos y sobre el sistema de conducción cardíaco. Los nervios simpáticos derechos inervan al nodo SA y la pared anterior de los ventrículos, mientras que el nervio simpático izquierdo estimula el nodo AV y la pared posterior del ventrículo izquierdo [22].

Los efectos que producen estos impulsos nerviosos consisten en el aumento de la frecuencia cardíaca (efecto cronotrópico), aumento de la fuerza de contracción de la musculatura cardíaca (efecto inotrópico), aumento de la velocidad de conducción del impulso eléctrico (efecto dromotrópico) y aumento de la relajación cardíaca (lusitropismo) [22]. También inhibe los efectos producidos por la estimulación vagal. El gasto cardíaco puede duplicarse y hasta triplicarse por acción de los nervios simpáticos.

Sobre los potenciales de las células marcapasos, la estimulación simpática disminuye con mayor rapidez el potencial de membrana y aumenta la frecuencia de descarga espontánea.

3.7.2. Inervación parasimpática del corazón

La inervación parasimpática del corazón está dada por el nervio vago. Mientras que el vago derecho actúa principalmente sobre el nodo sinusal, el izquierdo lo hace sobre el nodo aurículo-ventricular. Sin embargo, puede existir un significativo solapamiento en la distribución anatómica de estos nervios.

Las aurículas se encuentran intensamente inervadas por eferencias del vago. Esto no sucede en los ventrículos, principalmente en el músculo de los mismos, que están escasamente inervados por este nervio.

En oposición a los efectos que produce la división simpática sobre el corazón, la estimulación parasimpática disminuye la frecuencia cardíaca (FC), la fuerza de contracción y la velocidad de conducción del impulso eléctrico. La estimulación parasimpática produce bradicardia y puede detener el corazón por unos pocos segundos, disminuir el gasto cardíaco en un 20-30 % y disminuir el rendimiento del corazón en su función como bomba en un 50% [22].

A nivel celular, podemos decir que las fibras vagales al estimular el nodo sinusal hiperpolarizan la membrana y disminuyen la pendiente de los prepotenciales de las células marcapasos. De aquí se debe la disminución de la frecuencia de descarga. Esto puede observarse en la figura 3.6 donde se compara un potencial de membrana de una célula autoexcitable sin estimulación eferente (a) con el mismo potencial estimulado por vías simpáticas y parasimpáticas.

Es importante conocer que ni la estimulación simpática ni parasimpática modifican la conducción por el haz de His ni tampoco por sus ramas [22].

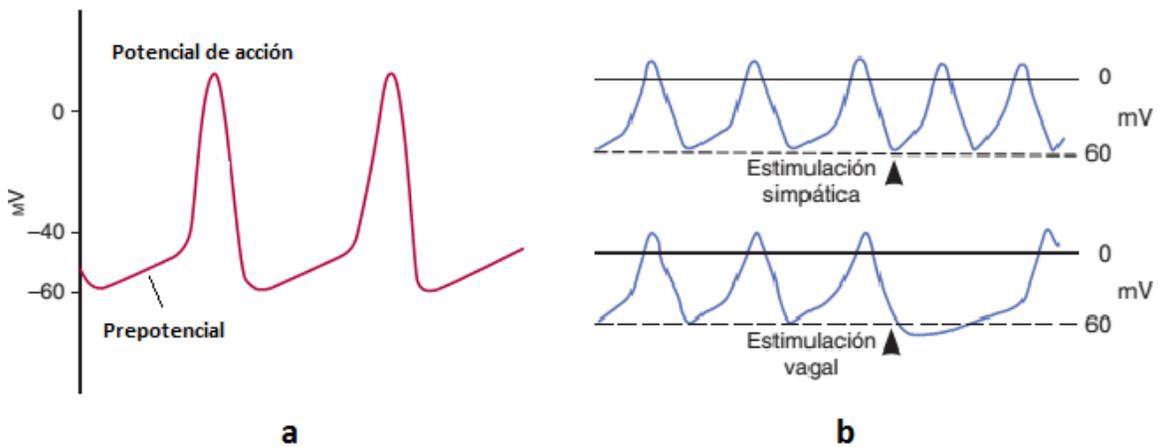


Figura. 3.6. a) Potencial de membrana célula marcapaso. b) Potenciales de membrana de la misma célula estimulados por nervios simpáticos y parasimpáticos. Ambas imágenes extraídas de *Fisiología Médica, Ganong 23 edición*.

3.8. Electrocardiografía

La electrocardiografía (ECG) es una técnica diagnóstica universalmente utilizada en la medicina para evaluar el estado de salud del corazón y del sistema cardiovascular principalmente. Ha sido estudiada durante más de un siglo desde que se obtuvieron los primeros registros y hasta al día de hoy se la utiliza como una técnica de chequeo rutinaria en todo el mundo. Es el principal método de diagnóstico de cardiopatías.

Para conocer los eventos eléctricos que suceden en el corazón, la técnica utiliza un dispositivo denominado *electrocardiógrafo*, cuyo resultado es un *electrocardiograma* o *registro electrocardiográfico*. En la figura 3.7 puede observarse un fragmento de un registro con sus ondas características. El principio de funcionamiento consiste en la captación de la actividad eléctrica generada en el corazón mediante electrodos conductivos ubicados en distintos puntos de la superficie del cuerpo. Las señales obtenidas de distintas posiciones del individuo luego son acondicionadas y procesadas por el dispositivo para aumentar la calidad y fidelidad de las mismas. Se obtiene así una gráfica de voltajes en función del tiempo que es la resultante de todos los potenciales de acción generados por las células cardíacas.

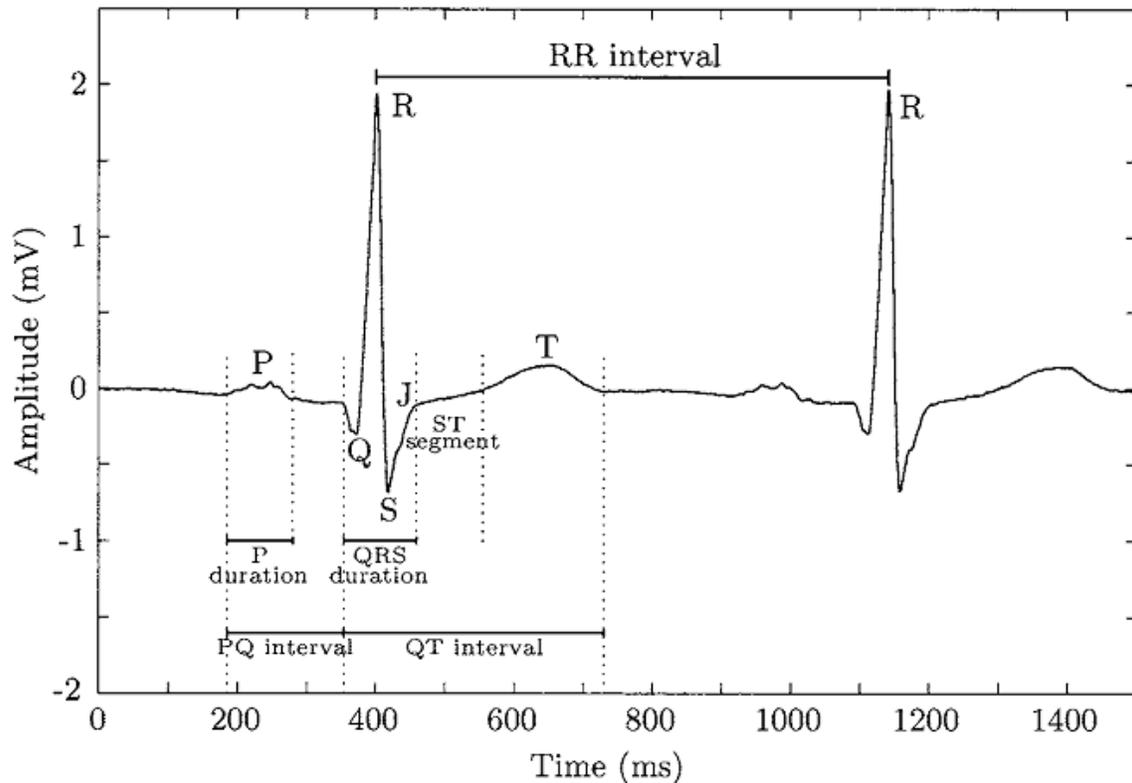


Figura. 3.7. Registro ECG y ondas características. Extraído de *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications* [37].

La electrocardiografía permite detectar actividad eléctrica en forma *indirecta* o *derivada* sin necesidad de posicionar los electrodos sobre el tejido cardíaco. Esto se logra debido a que los líquidos corporales son buenos conductores y permiten registrar el ciclo cardíaco posicionando electrodos sobre la piel. La no invasividad del ECG es una de las grandes ventajas de la técnica, junto a la sencillez para realizar el estudio, el bajo costo del dispositivo y sus insumos, portabilidad, entre otras.

3.9. Registro de la señal electrocardiográfica

A partir de electrodos ubicados en distintas posiciones de la superficie corporal se logra registrar la actividad eléctrica del corazón. Dependiendo del tipo de aplicación se emplean distintas cantidades de electrodos y configuraciones. Esto se detalla en la sección siguiente.

Los electrodos conducen las pequeñas corrientes captadas mediante un cableado hacia amplificadores diferenciales diseñados para trabajar con señales biomédicas. Estos amplificadores deben tener una alta ganancia ya que la señal de ECG puede variar desde 1 microvoltio hasta 1 Voltio. Si bien las ondas características cardíacas no alcanzan el orden del Volt, muchas veces los llamados *drift de línea* o *desplazamientos de la línea de base* pueden alcanzar estos valores. Generalmente, estas variaciones se deben a cambios en la impedancia piel-electrodo.

El ancho de banda convencional de un electrocardiógrafo es de 0.05 Hz a 100-500Hz donde la frecuencia de corte superior depende de la técnica utilizada. En el ECG de 12 derivaciones el mismo es 0.05-100Hz. La frecuencia de muestreo del conversor analógico-digital depende del ancho de banda en cuestión. Por lo general, muestrean la señal a no menos de 300 Hz para evitar aliasing.

Por razones de seguridad del paciente, se utilizan distintas aislaciones para evitar accidentes. En función de ello, el circuito del electrocardiógrafo se divide en dos partes: un circuito completamente aislado que interacciona con el paciente, el cual contiene los electrodos, cables, selector de derivaciones y filtros, y un circuito o etapa sin aislar donde se encuentran amplificadores de salida, la pantalla de visualización, el detector de latidos y cardiotácometro, display, entre otros.

3.10. Sistemas de derivaciones

Existen prioritariamente 3 variantes de la técnica utilizados en electrocardiografía clínica: el ECG convencional de 12 derivaciones, la vectocardiografía (VCG) y el monitoreo electrocardiográfico. Acorde a ello, existe un sistema de derivación para cada técnica. Algunas técnicas adicionales como los tests de esfuerzo (ergometrías) utilizan algunas de las 12 derivaciones estándar.

El ECG convencional, la técnica más difundida y utilizada, registra potenciales cardíacos desde 12 posiciones corporales distintas. De estas derivaciones, solo 3 son bipolares mientras que las otras 9 son unipolares.

La vectocardiografía permite reconstruir a partir de 3 derivaciones ortogonales el vector cardíaco. Para ello registra señales desde los 3 planos espaciales XYZ.

Finalmente, las técnicas de monitoreo no requieren de gran cantidad de derivaciones. Se utilizan entre 1-3 derivaciones. Analizan la señal durante largos períodos, como sucede en los registros de *Holter*, generalmente en búsqueda de eventos cardíacos que ocurren esporádicamente y no se observan en otras técnicas de corta duración.

A continuación se explican brevemente los distintos sistemas de derivaciones. Se hace énfasis en las derivaciones ortogonales que se utilizarán en el presente trabajo para analizar registros de pacientes chagásicos.

3.10.1. Las 12 derivaciones del ECG estándar.

Son las más utilizadas en clínica médica y comprenden las 3 derivaciones bipolares DI, DII, y DIII y las 9 derivaciones unipolares aVR, aVL, aVF, V1, V2, V3, V4, V5, V6.

Las 3 primeras datan del siglo XX y fueron descriptas por Willem Einthoven. Reciben el nombre de derivaciones estándar o clásicas. Conforman el llamado triángulo de Einthoven y miden diferencias de potencial entre electrodos posicionados en diferentes extremidades (brazo izquierdo, brazo derecho y pierna izquierda).

DI: Diferencias de potencial entre los electrodos del brazo izquierdo (positivo) y del brazo derecho (negativo).

DII: Diferencias de potencial entre los electrodos de la pierna izquierda (positivo) y del brazo derecho (negativo).

DIII: Diferencias de potencial entre los electrodos de la pierna izquierda (positivo) y del brazo izquierdo (negativo).

Las derivaciones aVL, aVR y aVF hacen referencia a los potenciales aumentados de los electrodos posicionados en el brazo izquierdo (aVL, del inglés 'Augmented Left Vector'), en el brazo derecho (aVR, del inglés 'Augmented Right Vector') y en la pierna izquierda (aVF, del inglés 'Augmented Foot Vector').

Para ello, miden la diferencia de potencial entre el electrodo de cada miembro y un potencial neutro de referencia que, si bien si bien no es nulo, es despreciable. Este electrodo referencial generalmente se lo conoce como *terminal central de Wilson*.

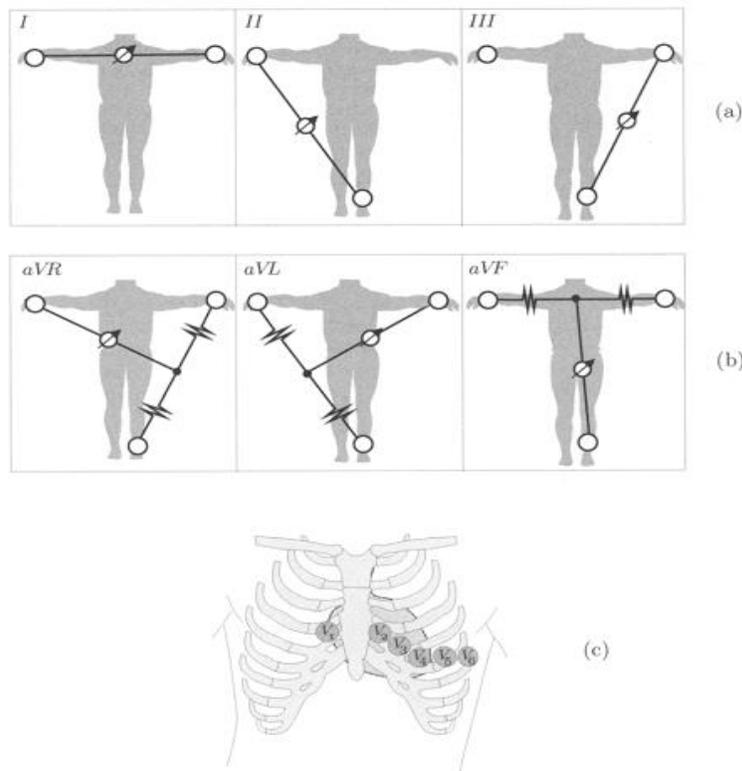


Figura. 3.8. a) Derivaciones bipolares de Einthoven. b) Derivaciones de miembros aumentadas. c) Derivaciones precordiales. Extraído de *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications* [37].

Finalmente, quedan las 6 derivaciones unipolares precordiales V1, V2, V3, V4, V5 y V6. Las mismas se ubican sobre el tórax y distribuyéndose en forma semicircular alrededor de una proyección del corazón sobre la piel permiten registrar eventos que ocurren en distintos sitios del mismo. Permite estudiar la región izquierda y derecha del órgano, como así también sus paredes anterior y posterior.

Las figuras 3.8 esquematizan las distintas derivaciones utilizadas en el ECG convencional.

3.10.2. Derivaciones para monitoreo.

Por lo general utilizan de 1 a 3 derivaciones. Esto se debe a que el objetivo del ECG de monitoreo persigue la robusta detección de cada latido cardíaco, basado en el complejo QRS de cada ciclo. Esto permite realizar análisis del ritmo cardíaco (RC) y de la variabilidad del mismo (VRC). Con este fin, se selecciona una derivación que presente una gran amplitud en el pico de la onda R para asegurar una alta relación señal-ruido en la detección de cada latido. Por lo general suele utilizarse la derivación DII que presenta esta característica. La segunda derivación suele elegirse a modo de *backup* para compensar fallas en la adquisición de la señal por el canal principal DII.

3.10.3. Derivaciones ortogonales.

Como se mencionó, las derivaciones ortogonales o de Frank-Starling registran eventos desde 3 planos perpendiculares entre sí. Son derivaciones bipolares que permiten monitorear en el dominio del tiempo la señal generada por cada componente espacial XYZ como así también el vector cardíaco resultante.

Si consideramos el vector cardíaco que evoluciona en el dominio del tiempo $\mathbf{v}(\mathbf{t})$ y las componentes ortogonales $v_i(t)$, siendo $\hat{\mathbf{x}} \hat{\mathbf{y}} \hat{\mathbf{z}}$ vectores unitarios correspondidos en las direcciones x,y,z respectivamente:

$$\mathbf{v}(\mathbf{t}) = v_x(t)\hat{\mathbf{x}} + v_y(t)\hat{\mathbf{y}} + v_z(t)\hat{\mathbf{z}}$$

De esta manera podemos conocer la variación de la señal vectocardiográfica.

Existen dos tipos de sistemas de derivaciones XYZ. Las derivaciones *ortogonales* propiamente dichas, y las *ortogonales corregidas*. La desventaja de las primeras es que no consideran las inhomogeneidades del cuerpo y su contorno. Asumen que la dirección de la línea espacial que conecta un par de electrodos produce la orientación del vector cardíaco en el plano correspondiente. Actualmente se sabe que esta suposición es imprecisa de modo que las derivaciones ortogonales sin corregir no se utilizan para usos clínicos.

Las derivaciones ortogonales corregidas buscan generar una medición ortonormal del vector eléctrico cardíaco. Para ello, dos condiciones deben cumplirse:

- I. Las tres componentes del vector cardíaco a monitorear son ortogonales entre sí y se encuentran en la posición de los ejes de coordenadas, que son generalmente los ejes espaciales del cuerpo.
- II. Las mediciones son normalizadas. Cada una de las tres componentes del vector eléctrico cardíaco es detectada con la misma sensibilidad.

El contenido de la información generada por estas 3 componentes XYZ es muy similar a las derivaciones V2, V6 y aVF del sistema de 12 derivaciones. La diferencia es que las mismas son corregidas al aplicarse los incisos I y II (ortonormalidad). Si bien las señales no son mejores en uso clínico que sus análogas en el ECG de 12 derivaciones, permiten monitorear el progreso del frente de despolarización, es decir, la dirección en la que se van activando las distintas regiones del corazón.

De los sistemas de derivaciones ortogonales corregidos, el de Frank-Starling es el de mayor uso en vectocardiografía. El mismo utiliza 7 electrodos que permiten obtener derivaciones ortogonales XYZ (1 par de electrodos por cada derivación y uno adicional de referencia). Obtenidas las derivaciones perpendiculares entre sí, se emplea una matriz resistiva para normalizar las mediciones en cada plano.

La figura 3.9 muestra la ubicación en el cuerpo de los electrodos para un sistema de Frank-Starling y la matriz resistiva que se emplea para normalizar las derivaciones.

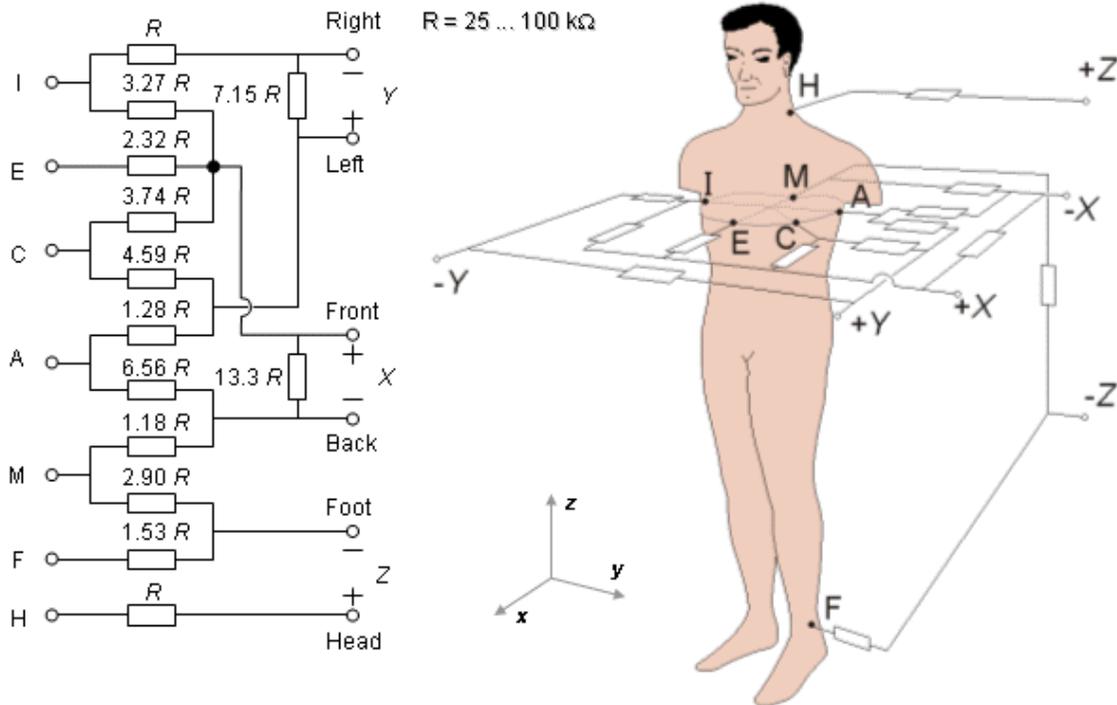


Figura. 3.9. Posición de los electrodos en un sistema de derivación de Frank-Starling y configuración resistiva para normalizar las derivaciones. Imagen extraída de *Bioelectromagnetism - Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields* [69].

3.11. Interpretación fisiológica del electrocardiograma.

En la sección 3.6 hemos descrito el proceso de propagación de la onda de despolarización del corazón. Durante el ciclo cardíaco, la señal registrada por el electrocardiógrafo presenta una morfología como la expuesta en la figura 3.7. Las ondas características pueden apreciarse en dicha imagen. Sin embargo, nos es de interés interpretar que está sucediendo en cada una de estas ondas.

La despolarización de los atrios es conocida como onda P, la de los ventrículos como complejo QRS, mientras que la onda T representa la repolarización ventricular. La onda U no siempre está presente y su origen es un poco controversial; se cree podría representar la repolarización del sistema de Purkinje. La repolarización de los atrios no puede visualizarse ya que queda enmascarada en el complejo QRS, de mayor amplitud. La *línea de base* es el parámetro utilizado para medir la amplitud de cada señal, y se corresponde con la línea

isoeléctrica que precede al complejo QRS. De la misma manera, la duración de una onda se mide a partir de los puntos donde la señal se desvía significativamente de la línea de base o la cruza. En la figura 3.10 se puede observar como las distintas regiones cardíacas deflexionan la señal electrocardiográfica.

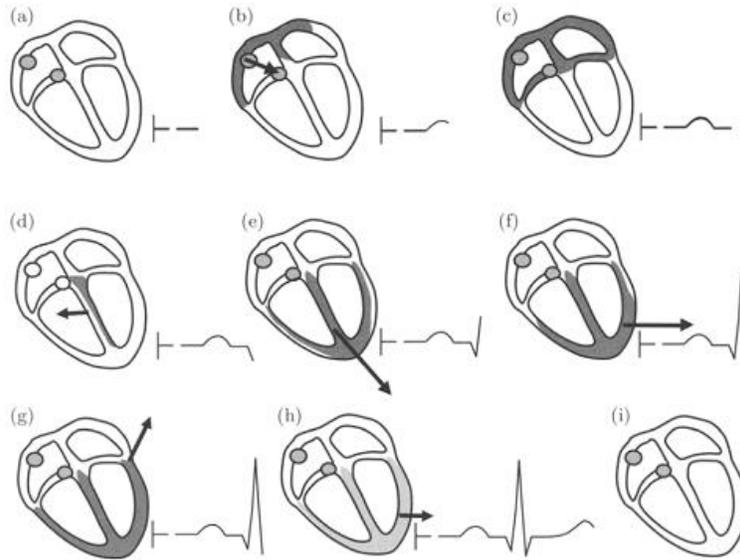


Figura. 3.10. Propagación del impulso cardíaco en el corazón y visualización del avance en el registro ECG. a) Células cardíacas en reposo. b) Despolarización auricular. c) El impulso eléctrico alcanza el nódulo AV. d-g) Despolarización ventricular. h) Repolarización ventricular. i) Células cardíacas nuevamente en reposo. Imagen extraída de *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications* [37].

La *onda P* refleja la despolarización de las aurículas derechas e izquierdas. En la mayoría de las derivaciones es positiva. Su duración normal no excede los 120 mseg y su amplitud los 300 μV . La ausencia de la misma puede indicar que un latido tiene origen en otro sitio del sistema de conducción que no es el nodo SA y no despolariza los atrios (son llamados latidos ectópicos).

La morfología de la onda P es la de una onda suave. Esto se debe al espectro frecuencial que caracteriza a la misma y que es de baja frecuencia (entre 10-15 Hz), como se aprecia en la figura 3.11.

El *complejo QRS* está dado por la despolarización de los ventrículos izquierdo y derecho. Se compone de 3 ondas. La primer deflexión negativa se denominada *onda Q*; se continúa con

una rápida deflexión positiva denominada *onda R* y finaliza con otra rápida deflexión negativa denominada *onda S*. Si bien cada onda presenta sus características, el análisis se realiza sobre el conjunto de las 3 ondas que representa un latido cardíaco. En condiciones normales, el complejo QRS dura entre 70-110 mseg. La morfología de esta onda es bastante variable y depende sobretodo del origen del latido cardíaco, que de ser ectópico, puede presentar más de 3 ondas y durar hasta 250 mseg.

La despolarización ventricular es la señal que genera mayor deflexión en el ECG. Puede alcanzar amplitudes de hasta 3 mV. Por esta cualidad, en técnicas de procesamiento de la señal cardíaca el complejo QRS es la primer onda a identificar. Las rápidas deflexiones producidas en el complejo QRS se deben a sus mayores componentes frecuenciales, principalmente en el rango de 10-50 Hz. Puede apreciarse en la figura 3.11.

La *onda T*, representa la repolarización de los ventrículos. Por lo general es positiva y es una onda suave como la onda P. Se ubica luego del complejo QRS y su duración normal alcanza los 300 mseg.

Existen otros parámetros que si bien no son ondas también se analizan. El *punto J* es el final de la onda S y se utiliza para medir el *segmento ST*. Este último representa el tiempo que permanecen despolarizados los ventrículos en un estado activo. Termina en el mismo punto que lo hace la onda T.

El *intervalo PQ* indica el tiempo desde que se despolarizan los atrios hasta que comienzan a activarse los ventrículos. Representa a su vez el tiempo que demora el impulso cardiaco en propagarse desde su origen en el nodo SA hasta alcanzar los ventrículos.

El *intervalo QT* indica el tiempo que demoran los ventrículos en despolarizarse y repolarizarse en un ciclo cardíaco.

Un parámetro que nos será de interés es el *intervalo R-R*. Este mide la duración de un ciclo cardíaco completo, medido entre dos picos de la onda R sucesivos. La medición de este parámetro permite calcular frecuencia cardíaca y analizar variaciones del ritmo de la misma.

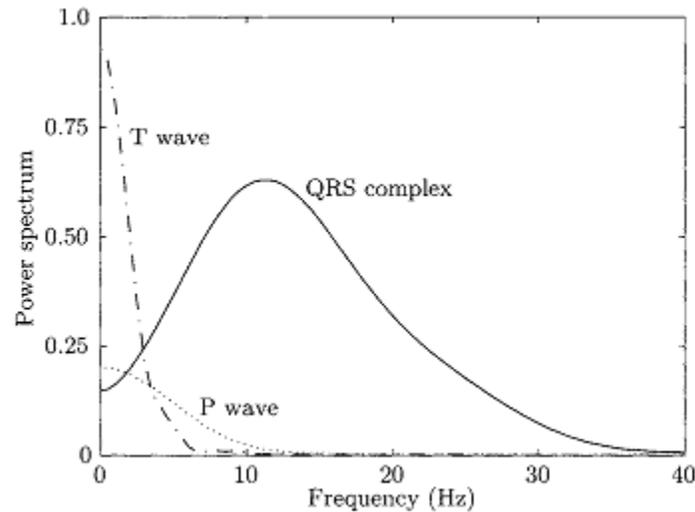


Figura. 3.11. Espectro de potencia de las distintas ondas del ECG. *Extraído de Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications* [37].

3.12. Electrocardiografía de alta resolución

La electrocardiografía convencional se limitó durante muchos años al registro de señales cardíacas con amplitudes en el orden de las decenas de microvoltios (μV). Esto se debió a que el registro de señales de menor amplitud estaban fuertemente perturbadas por ruido, motivo que llevó a ignorar su estudio [9]. Sin embargo, con el advenimiento de la electrocardiografía de alta resolución (ECGAR, o HRECG del inglés ‘High Resolution Electrocardiography’) estas limitaciones se vieron superadas. Una gran variedad de eventos cardíacos ocurren a muy baja amplitud y en la actualidad pueden percibirse mediante la ECGAR, cuya resolución se encuentra en el orden de $1 \mu\text{V}$ [9]. Mientras que en la electrocardiografía convencional el nivel de ruido varía entre $8\text{-}10 \mu\text{V}$ [13], el ruido en HRECG es de $1 \mu\text{V}$ o menor [13]. De este modo, una gran cantidad de información fisiológica del corazón oculta en los registros logró descifrarse, generando así nuevas líneas de investigación en el área.

La ECGAR provee, además, una alta resolución en el dominio temporal, por lo que suele conocerse también como electrocardiografía de alta frecuencia (ECGAR, o HFECG del inglés ‘High Frequency Electrocardiography’) por su mayor frecuencia de muestreo de la señal. En el ECG tradicional el ancho de banda se encuentra limitado al rango $0.05\text{-}150 \text{ Hz}$ por convención [14]. Sin embargo, una gran cantidad de eventos cardíacos ocurren en las altas frecuencias, y

el análisis y comprensión de los mismos amplía el potencial diagnóstico de la técnica. Muchos de estos eventos ocurren en el complejo QRS de la señal, lo que ha llevado a conocer la técnica también como HF-QRS. Al encontrarse estas frecuencias entre los 150-300 Hz, es necesario, por el teorema de Nyquist, muestrear la señal a por lo menos el doble de su mayor frecuencia. En la práctica, los registros de ECGAR muestrean la señal a por lo menos 1 KHz, encontrándose inclusive estudios que utilizan frecuencias de muestro de hasta 25 KHz [70,71]. Recientemente, *Jurak y otros* [70] han demostrado que existe información fisiológica en los intervalos frecuenciales de 150-250 Hz, 250-500Hz y 500-1000 Hz de los complejos QRS capaz de identificar diversas patologías cardíacas aún no estudiadas a muy altas frecuencias.

Característica	ECG Estándar	ECG Alta Resolución
Ancho de Banda	0.05-150 Hz	0.05-300 Hz
Frecuencia de muestreo	≈ 300 Hz	≥ 1KHz
Resolución ADC	8 Bits	≥ 12 Bits
Nivel de ruido	8-10 μV	1 μV
Permite detectar PTV	NO	SÍ
Permite detectar Potenciales Intra-QRS	NO	SÍ

Tabla 3.1. Diferencias entre ECG convencional y ECGAR. PTV= Potenciales tardíos ventriculares.

En definitiva, se puede decir que la ECGAR provee alta resolución bidimensional del ECG: en términos del tiempo (se logra resolución de por lo menos 1mseg), y en términos de la amplitud (resolución de 1 μV). En la tabla 3.1 se aprecian algunas diferencias entre las dos técnicas electrocardiográficas (estándar vs Alta Resolución).

Como se dijo anteriormente, han surgido una gran cantidad de técnicas asociadas a la ECGAR. El cálculo del valor eficaz (RMS) del voltaje durante el intervalo completo del complejo QRS ha sido ampliamente estudiado. *Trägårdh y Schlegel* [14] indican que dichos valores son un potente indicador de perturbaciones en la conducción local del tejido cardíaco. La gran mayoría de las técnicas han hecho énfasis en las señales de baja amplitud que ocurren durante el segmento PR debidas a la despolarización del Haz de His, aquellos eventos que ocurren en la porción terminal del complejo QRS y segmento ST denominados Potenciales Tardíos

Ventriculares (PTV), los llamados potenciales intra-QRS y a variaciones de la onda P [9]. De todas ellas, *Laguna y Sornmo* [9] indican que los PTV son los que han recibido mayor atención clínica. Así es como ha sido de gran difusión la técnica de ECG promediado (SAECG, del inglés 'Signal Averaging Electrocardiography'), ya que permite incrementar significativamente la relación señal-ruido al promediar latidos sucesivos permitiendo así la detección de PTV.

En éste trabajo, será necesario conocer más sobre los potenciales tardíos ventriculares, ya que tienen una estrecha relación con las lesiones miocárdicas producidas en la Cardiopatía Chagásica Crónica.

3.12.1. Potenciales Tardíos Ventriculares.

Los potenciales tardíos ventriculares (PTV o VLP, del inglés 'Ventricular Late Potentials') son señales de baja amplitud (en el orden de algunos μV) que ocurren a muy altas frecuencias (40-250 Hz) en la porción terminal del complejo QRS y que pueden prolongarse durante el segmento ST del electrocardiograma [17]. Se producen por lesiones existentes en el músculo cardíaco y representan una 'fragmentación' de la conducción eléctrica, localizándose sobre los bordes de regiones con infarto de miocardio [16].

Los PTV son de gran interés clínico ya que su detección en pacientes post-infarto de miocardio es un indicador de riesgo de arritmias ventriculares [17] y está asociada a la muerte súbita [16].

En términos fisio-patológicos, los potenciales tardíos representan retardos en la conducción del potencial de acción cardíaco a través de regiones lesionadas del miocardio [16]. Los impulsos eléctricos llegan a los ventrículos en forma tardía, demorando así la despolarización de los mismos. Algunas hipótesis sugieren que la actividad eléctrica se desorganiza y desincroniza al llegar a los bordes de la lesión miocárdica. El motivo de ello recae en los cambios de tejido existentes entre el tejido sano y el lesionado, generalmente con presencia de fibrosis en dicha separación. Otras hipótesis sugieren que los PTV's se generan en células que se encuentran dentro de regiones de tejido necrosado, con fibrosis, o en áreas con lesiones miocárdica, donde la velocidad en la conducción eléctrica se encuentra disminuida [16].

Ioana Mozoş y otros [16] indican que alteraciones tisulares tales como fibrosis, necrosis y distrofias en el miocardio favorecen la aparición de potenciales tardíos. Esto puede deberse a retardos en la despolarización celular, a la generación de vías de conducción más prolongadas que las normales, a la baja velocidad de conducción del PAC, y distintas combinaciones de estas alteraciones [16, 19].

La aparición de los PTV's en la porción terminal del complejo QRS suele aumentar la duración de este último. A su vez, los incrementos de la longitud del QRS se utilizan como indicadores de arritmias en muerte súbita [16] y de vulnerabilidad a taquicardias ventriculares sostenidas en pacientes post-infarto de miocardio [19]. En la figura 3.12 pueden observarse dos vectores cardíacos obtenidos de acuerdo al método convenido para la detección de los PTV's (*Standards for Analysis of Ventricular Late Potentials Using High-Resolution or Signal-Averaged Electrocardiography*) [19]. En el primer caso, se muestra un complejo QRS de un sujeto de la base de datos de Chagas con potenciales tardíos. En la segunda figura, el vector correspondiente a un individuo sano, sin presencia de PTV's.

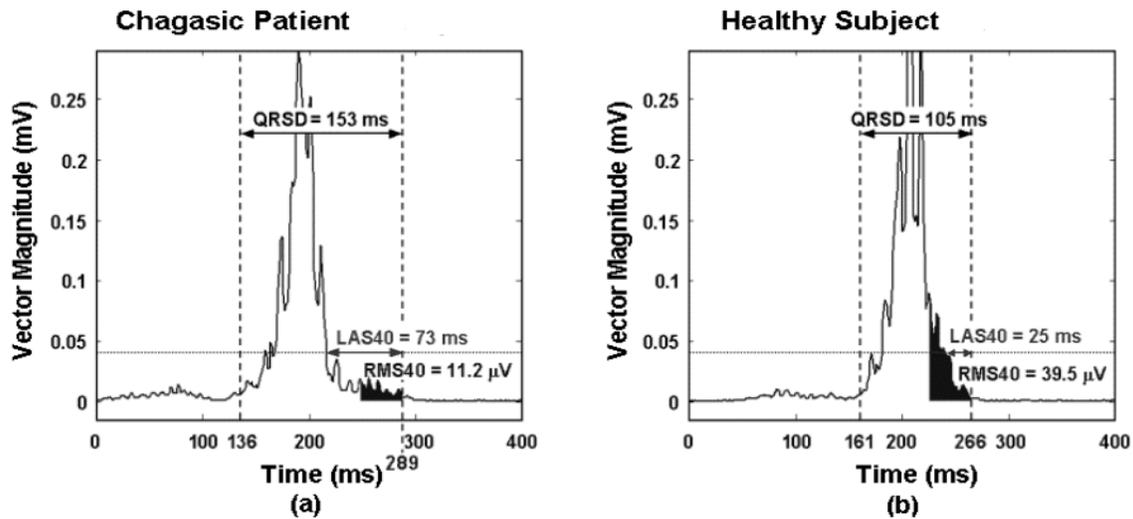


Figura. 3.12. Vectores cardíacos de dos individuos, con y sin ECh. a) Paciente chagásico con presencia de PTV en la porción terminal del vector. b) Sujeto sano sin presencia de PTV. Como puede apreciarse, la duración del complejo QRS de a) es mayor que la de b) producto de la presencia de potenciales tardíos. Imagen extraída de *Evaluation of Myocardial Damage in Chagasic Patients from the Signal-Averaged and Beat-to Beat Analysis of the High Resolution Electrocardiogram* [18].

En la enfermedad de Chagas-Mazza, se ha estudiado profundamente la aparición de PTV's. Éstos han sido hallados en pacientes con lesiones miocárdicas de diferente magnitud [17,18, 20] y la aparición de los mismos junto al aumento de la duración del complejo QRS se ha utilizado como indicador del grado de lesión del músculo cardíaco causado por la miocardiopatía chagásica [18]. *Laciar y otros* [18,20] han encontrado un aumento de la duración y de la variabilidad de la misma en términos del desvío estándar del complejo QRS en estudios SAECG y análisis latido a latido (beat-to-beat analysis). Los resultados indican que estos parámetros se incrementan conforme el daño miocárdico por ECh-M se asevera y el estadio clínico del paciente empeora.

Gomis y otros [21] han propuesto un concepto generalizado para aquellos eventos anormales que ocurren dentro del complejo QRS, pudiéndose encontrar en cualquier región del mismo y diferenciándose de los potenciales tardíos ventriculares que sólo ocurren en la porción terminal. Son los llamados potenciales intra-QRS. Los mismos, representan trastornos de la conducción en el miocardio, son de muy baja amplitud y la presencia de estos también se asocia a eventos arritmogénicos [21].

3.12.2. Detección de Potenciales Tardíos Ventriculares.

La detección de potenciales tardíos ventriculares ha sido estandarizada en el documento '*Standards for Analysis of Ventricular Late Potentials Using High-Resolution or Signal-Averaged Electrocardiography*' [19] para utilizar un criterio común en el diagnóstico de los mismos. La técnica por convención requiere utilizar el promediado de la señal de ECG de alta resolución (SAECG).

Para ello, se requiere utilizar las derivaciones ortogonales y bipolares XYZ, un ancho de banda mínimo de 0.5-250 Hz, una frecuencia de muestreo no inferior a 1KHz y un conversor analógico-digital (ADC, del inglés 'Analog-to-Digital Converter') con resolución de por lo menos 12 bits [19].

En esta técnica se asume que la señal a estimar tiene una morfología latido-a-latido fija. La detección del punto fiducial (momento en el que ocurre cada latido) sobre cada complejo QRS requiere de precisión para poder alinear correctamente los latidos [9]. Se utiliza generalmente la correlación cruzada para determinar si un latido será promediado o no. Para ello, se deben evaluar por lo menos 40 mseg de los latidos que se quieren correlacionar,

utilizando las pendientes de subida o bajada del complejo QRS. Se promediarán aquellos latidos con una correlación cruzada de por lo menos 98% [19].

Así, como detallan *Laguna y Sornmo* [9], si modelamos el latido x_i como una señal determinística s con un ruido aleatorio v_i asíncrono a la actividad eléctrica tenemos:

$$x_i = s + v_i, \quad i = 1, \dots, M.$$

Solo los latidos procedentes del nodo sinusal son considerados, por lo que requiere clasificar previamente los latidos en función de su origen para descartar aquellos que sean ectópicos.

Si consideramos todos los latidos como un vector X

$$X = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_M]$$

La estimación de la señal s se obtiene promediando de la siguiente manera

$$\bar{s} = \frac{1}{M} X \bar{w}$$

Siendo \bar{w} un vector de pesos unitarios. Al ser el ruido asíncrono en cada latido, se logra reducir el mismo un factor \sqrt{M} . Si la intensidad de v_i varía entre latidos, pueden modificarse los pesos de \bar{w} en forma inversamente proporcional al ruido.

En la práctica, suelen promediarse 10 minutos de señal o por lo menos 300 latidos para alcanzar el nivel de ruido deseado.

Una vez obtenidos los 3 canales XYZ alineados y promediados independientemente, los mismos deben ser pre-filtrados utilizando un filtro pasa alto Butterworth bidireccional con frecuencia inferior de corte en 25 o 40 Hz (aún no se ha determinado cuál de ellas es la más conveniente). El mismo permite evidenciar micropotenciales y a la vez atenuar las componentes de baja frecuencia pertenecientes a las ondas P y T. Esto facilita la detección de los puntos de inicio y fin del complejo QRS (QRS_{on} y QRS_{off} respectivamente), ilustrados en la figuras 3.12 y 3.14 [18].

Se calcula con las tres derivaciones filtradas X_f - Y_f - Z_f el vector magnitud (VM):

$$VM(t) = \sqrt{X_f^2(t) + Y_f^2(t) + Z_f^2(t)}$$

En la figura 3.13 se observa el procesamiento en las señales ECGAR para realizar el promediado de las mismas (SAECG) y poner en evidencia potenciales tardíos.

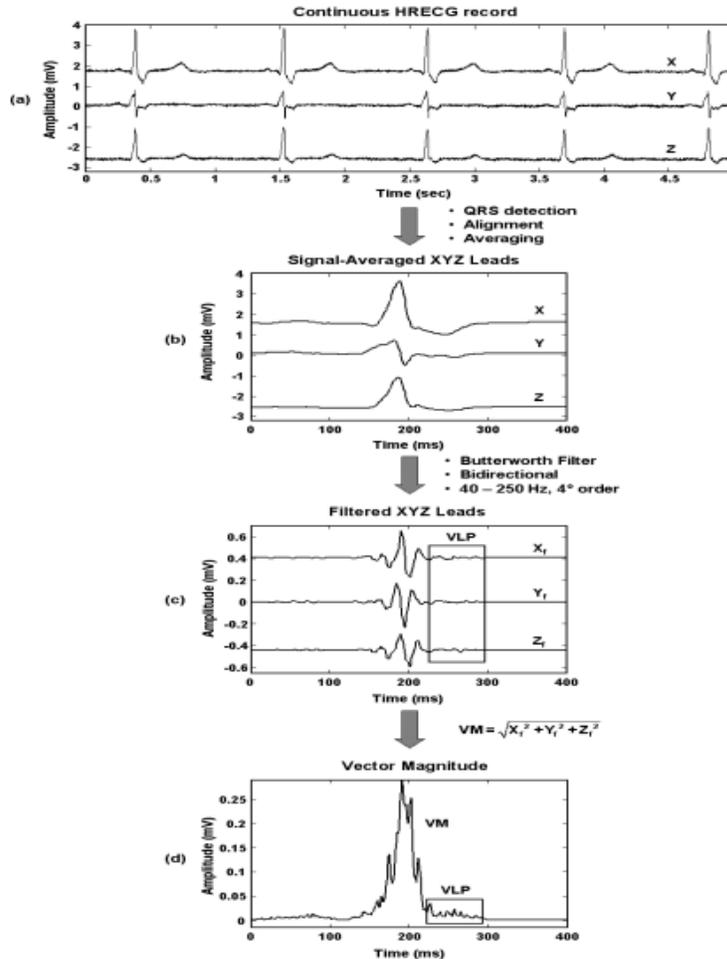


Figura. 3.13. Algoritmo de promediado de señales ECGAR para evidenciar PTV's.

A partir de los puntos QRS_{on} y QRS_{off} se procede a calcular tres índices temporales que permiten detectar PTV's en el vector magnitud. El estándar requiere que se satisfagan todos ellos para asegurar la presencia de un potencial tardío.

- 1) Duración total del complejo QRS (QRSd) mayor a 114mseg.

$$QRSd = QRS_{off} - QRS_{on} > 114 \text{ mseg}$$

- 2) Valor cuadrático medio de la amplitud de los últimos 40 mseg del complejo QRS (RMS40) menor a 20 μ V.

$$RMS40 = \sqrt{\frac{1}{T2 - T1} \sum_{t=T1}^{T2} VM^2(t)} < 20\mu V$$

$$T1 = QRS_{off} - 40mseg \quad y \quad T2 = QRS_{off}$$

3) Duración de la porción terminal del complejo QRS que se encuentra por debajo de $40 \mu V$ (LAS40) mayor a 38 mseg.

$$LAS40 = QRS_{off} - \text{argmax} \{t \mid VM(t) \geq 40\mu V\} > 38mseg$$

En la figura 3.14 se aprecian estos 3 índices para determinar existencia de PTV's.

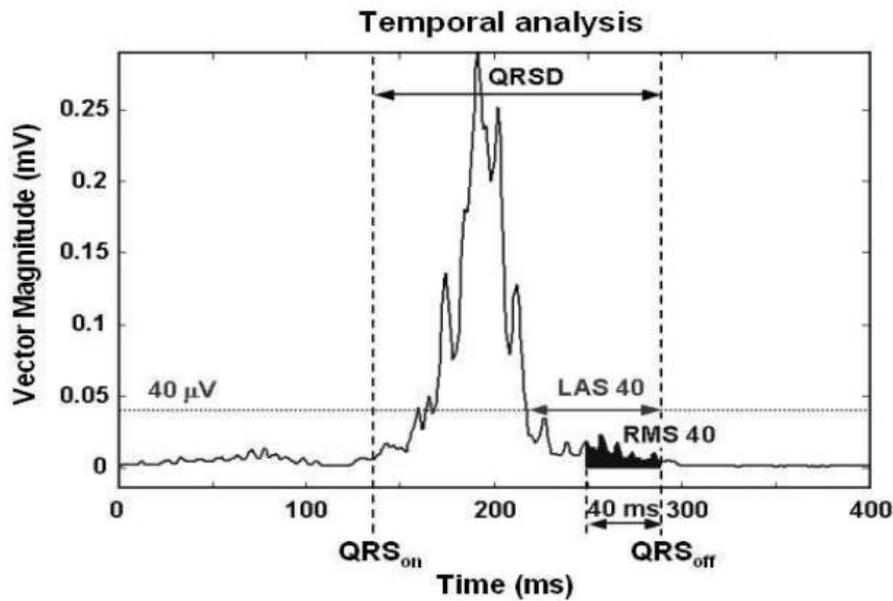


Figura. 3.14. Vector cardíaco filtrado e índices para determinar la presencia de PTV. Extraído de *Evaluation of Myocardial Damage in Chagasic Patients from the Signal-Averaged and Beat-to-Beat Analysis of the High Resolution Electrocardiogram* [18].

Goldberger y otros [22] determinan que se requieren dos parámetros positivos para identificar un PTV. Independientemente del criterio que resulte más efectivo, siempre se requiere de la técnica SAECG para la detección de estos eventos. Sin embargo, algunos métodos que eluden

el promediado de la señal y utilizan análisis latido-a-latido para detectar PTV's han sido propuestos [19].

El análisis latido-a-latido si bien no puede determinar con precisión los valores RMS40 y LAS40 por el nivel de ruido existente, permite diferenciar eventos que ocurren entre latidos, lo que no se logra con SAECG. Esto se debe a que el proceso de promediado elimina aquella información dinámica sobre PTV's que puede ser de utilidad diagnóstica [18]. Así, *Laciar y otros* [18] han logrado precisar la variabilidad de QRSd producida latido-a-latido por presencia de PTV's. Para concluir, podemos decir que el análisis latido a latido permite medir la duración de cada complejo QRS sin identificar los PTV's aunque quedando los mismos comprendidos en dicha medición. Esto descarta el uso de electrocardiografía convencional para realizar dichas mediciones, la cual al identificar los puntos QRS_{on} y QRS_{off} elude los potenciales tardíos y los mismos no son considerados en la medición de QRSd. Se resalta esta cualidad de la ECGAR para comprender el motivo de su utilización en capítulos posteriores.

3.13. ECGAR y enfermedad de Chagas

A pesar de la gran cantidad de ventajas que dispone la electrocardiografía de alta resolución, la técnica no ha sido estudiada en profundidad y sólo en unos pocos trabajos científicos ha sido aplicada para el estudio de la enfermedad de Chagas.

Entre los métodos que han sido propuestos, se destaca el ya mencionado estudio de *Laciar y otros* [18]. En el mismo se analiza un método utilizando ECG de señal promediada como así también análisis latido-a-latido de señales ECGAR. El trabajo logra identificar PTV en distintos individuos chagásicos crónicos. Además, se encuentra una creciente duración de los complejos QRS a medida que el estadio de la enfermedad se asevera. Sin embargo, el estudio no reporta diferencias significativas entre individuos sanos y aquellos con Chagas crónico indeterminado. Sólo se encuentran diferencias con individuos que ya presentan algún tipo de alteración en el ECG estándar de 12 derivaciones.

En otro estudio, se ha propuesto el uso de la técnica ECGAR para analizar mediante vectocardiografía el grado de lesión miocárdica en individuos chagásicos [66]. Nuevamente, se

encuentran diferencias significativas al analizar distintos grupos de pacientes chagásicos crónicos, sin manifestarse diferencias entre sujetos sanos y chagásicos indeterminados.

Gomis y otros [67] han trabajado con la técnica ECGAR analizando potenciales intra-QRS y PTV en individuos con diferente grado de lesión miocárdica chagásica. A partir de distintos índices lograron estratificar los grupos de chagásicos crónicos sin lograr clasificar individuos con Chagas indeterminado. *Jugo y otros* [68] han trabajado con ECGAR utilizando solamente las componentes de alta frecuencia de los complejos QRS en un rango de 150-250 Hz. En el estudio, evidencian diferencias entre un grupo de individuos chagásicos crónicos y sujetos sanos.

Pueyo y otros [68] han estudiado las pendientes de subida y bajada de los complejos QRS de pacientes chagásicos utilizando ECGAR. De las publicaciones científicas sobre ECG en Chagas, ésta es la única que encuentra diferencias significativas entre sujetos sanos y sujetos con Chagas indeterminado. Las diferencias se encuentran principalmente al analizar las pendientes de subida del complejo QRS. La técnica es similar al SAECG, promediando sucesivos latidos cardíacos. Sin embargo, en dicho trabajo no se cuantifica el grado de separación que se logra entre los distintos grupos chagásicos y sujetos sanos. Si bien encuentra diferencias ($p < 0.05$) entre el grupo control y el chagásico indeterminado, sólo se analiza la separabilidad entre grupos de sujetos con ECh y no se propone ninguna metodología que permita discriminar individuos con CI de sujetos seronegativos.

CAPÍTULO IV. Modulación de señales derivadas del electrocardiograma.

4.1. Introducción.

Es posible obtener a partir de la señal electrocardiográfica nuevas señales derivadas de la misma. Son las llamadas *Señales Derivadas del ECG (SDECG)*. A lo largo de los años, varias de estas señales han sido analizadas encontrándose en las mismas influencias y/o control mediado por mecanismos fisiológicos. La más conocida de estas señales y que ha recibido mayor atención debido a la información que brinda es la *Variabilidad del Ritmo Cardíaco (VRC)*. Sin embargo, no es la única que proporciona información de los mecanismos de control fisiológicos.

En el presente trabajo se analizan los efectos de la respiración sobre diferentes SDECG en pacientes chagásicos. Éste capítulo, de sumo interés para comprender la metodología empleada y el algoritmo propuesto (cap. V), resume los efectos de los mecanismos participantes y su interacción con diferentes señales obtenidas del ECG. Se enfatizan aquellas señales que han sido encontradas afectadas por la mecánica respiratoria.

4.2. Variabilidad del Ritmo Cardíaco

Hemos dicho que la señal VRC es la señal electrocardiográfica derivada más estudiada; una simple búsqueda de *Heart rate variability* en Pubmed arroja 17097 resultados. Procedamos a definir algunos conceptos para comprender esta señal.

Un latido cardíaco está representando en la señal electrocardiográfica por varias ondas (ver cap. III). El complejo QRS, formado por las 3 ondas que dan origen a su nombre, representa la propagación del potencial de acción cardíaco a lo largo de los ventrículos, específicamente la despolarización de ellos. Considerando como punto referencial el pico de la onda R, es posible medir el tiempo que demora el corazón en producir dos latidos cardíacos consecutivos. Este intervalo de duración lo llamaremos intervalo RR y se representa en la figura 4.1-a. Así, para un latido 'i', el intervalo queda determinado por:

$$RR_i = Pf_{i+1} - Pf_i \quad (i=1, \dots, N-1)$$

Donde Pf es el punto fiducial, tiempo en el que se produce el pico de la onda R.

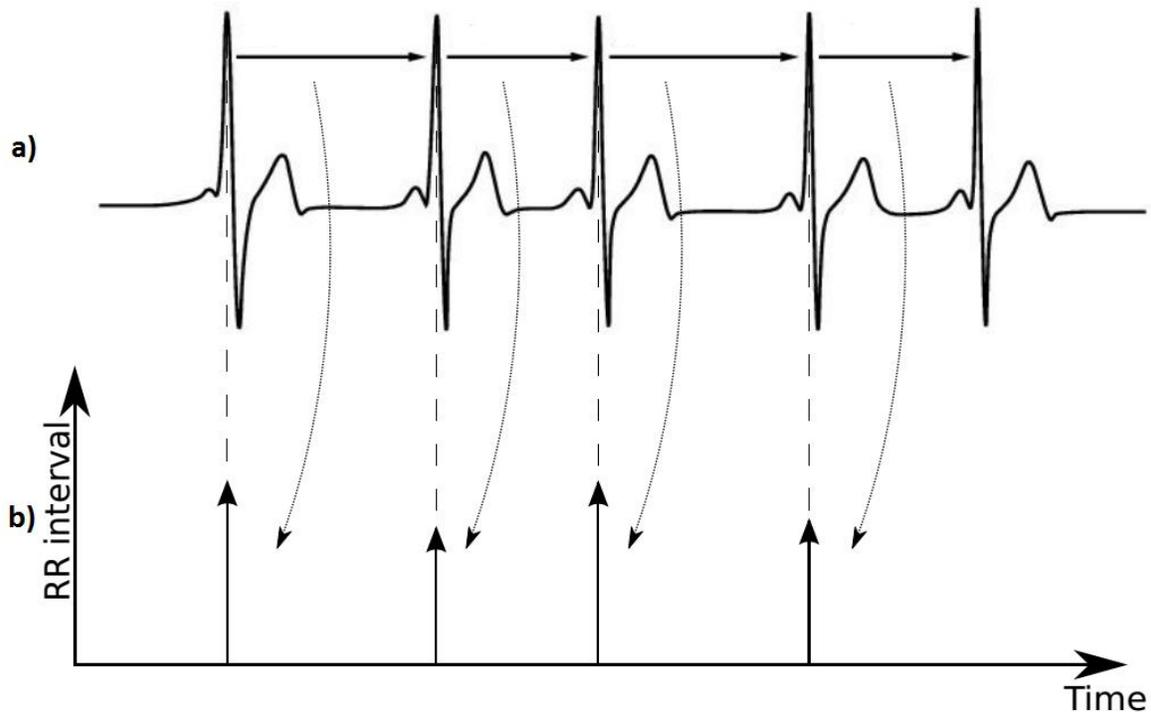


Figura 4.1. Derivación de una serie temporal RR. Extraído de *Heart Rate Variability analysis in R with RHRV* [72].

Es posible generar así, una serie temporal $RR(t)$ a partir de todas las mediciones entre latidos sucesivos, como se muestra en la figura 4.1.

Los métodos para cuantificar la variabilidad del ritmo cardíaco se pueden clasificar según correspondan a: dominio temporal, dominio frecuencial, geométricos y no lineales [55]. Para conocer las influencias y mecanismos de control fisiológicos de esta señal se recurre a los métodos del dominio frecuencial. El análisis de las distintas bandas espectrales de la VRC provee información sobre diferentes mecanismos regulatorios y se detalla en las próximas secciones.

4.2.1. Análisis en el dominio de la frecuencia.

El análisis en el dominio frecuencial de la VRC describe oscilaciones periódicas de la señal descompuesta a diferentes frecuencias y amplitudes. La estimación espectral para esta señal se realiza mediante dos métodos: 1), utilizando un método no paramétrico, la Transformada Rápida de Fourier (FFT, del inglés 'Fast Fourier Transform'), que se caracteriza por picos discretos para las diversas componentes de frecuencia, y 2), mediante un método paramétrico, el Modelo de Estimación Autorregresivo, que provee un espectro suave y continuo de la señal. Mientras que la FFT es un método de estimación rápido y simple, el método paramétrico es de mayor complejidad y requiere verificar si el modelo empleado es adecuado [33].

En el presente trabajo, la Transformada Rápida de Fourier se emplea en el análisis de SDECG. Veamos en que consiste.

4.2.1.1. Transformada Rápida de Fourier

La estimación espectral utilizando FFT es la implementación optimizada de la Transformada Discreta de Fourier (DFT, del inglés 'Discrete Fourier Transform') [34]. *Tompkins* [35] indica que el término FFT se utiliza para todo algoritmo computacional mediante el cual la DFT puede ser evaluada para una señal. Algebraicamente, la DFT queda definida en forma directa e inversa respectivamente como:

$$X(f) = \sum_{n=0}^{M-1} x(n)e^{j2\pi n/M}$$

y

$$x(n) = \frac{1}{M} \sum_{f=0}^{M-1} X(f)e^{-j2\pi n/M}$$

Donde M es la longitud (cantidad de muestras) de la TDF [33].

4.2.2. Modulación de la VRC

Es necesario destacar que la señal VRC puede derivarse de registros de corta o larga duración. Por lo general, los registros de corta duración son señales ECG adquiridas durante 5-10 minutos mientras que un análisis de larga duración suele realizarse generalmente sobre registros de 24 Hs, como puede ser una señal proveniente de un holter [33]. Dependiendo de la duración del registro, la información espectral puede dividirse en 3 o 4 bandas frecuenciales (registros de corta y larga duración respectivamente).

En los registros de corta duración, el espectro se divide en las bandas de alta frecuencia (HF, del inglés 'High Frequency'), baja frecuencia (LF, del inglés 'Low Frequency') y muy baja frecuencia (VLF, del inglés 'Very Low Frequency'). En registros de larga duración se subdivide la banda VLF en Ultra-baja Frecuencia (ULF, del inglés 'Ultra Low Frequency') y VLF. La tabla 4.1 muestra los distintos intervalos dependiendo de la duración del registro. En el presente trabajo se utilizan bases de datos con registros de duración no mayor a 10 minutos, de modo que nos enfocaremos en la primer división de bandas espectrales (VLF, LF Y HF).

Tipo de registro		
Duración	Corta (hasta 10 min)	Larga (24 Hs)
Intervalos	HF [0.15-0.4 Hz] LF [0.04-0.15 Hz] VLF [<0.04 Hz]	HF [0.15-0.4 HZ] LF [0.04-0.15 Hz] VLF [0.0033-0.04 Hz] ULF [<0.0033 Hz]

Tabla 4.1. Bandas frecuenciales de registros de corta y larga duración.

Los intervalos LF y HF son los que han recibido mayor atención ya que ha sido más fácil conocer sus influencias y se encuentran fuertemente controlados por el sistema nervioso autónomo. Se conoce como espectro de alta frecuencia a la información comprendida en el intervalo [0.15-0.4 Hz] de la señal VRC. Este intervalo está principalmente controlado por la actividad eferente vagal y también por la respiración [36,37], ya que presenta un pico de potencia alrededor de la frecuencia fundamental respiratoria [38] (ver figura 4.2).

En contraparte, el intervalo de baja frecuencia LF [0.04-0.15 Hz] está controlado por la estimulación simpática del corazón y presenta un pico dado por la presión arterial [36,37]. Durante muchos años estos fueron los únicos mecanismos fisiológicos que controlaron el intervalo LF. Sin embargo, en un trabajo reciente se ha determinado que esta banda espectral también se encuentra influenciada por la mecánica respiratoria, la cual la modifica en cada ciclo inspiración-expiración [39].

A partir de estas dos bandas espectrales suele calcularse la relación $\frac{LF}{HF}$ la cual es un índice del balance autónomo (estimulación simpática-parasimpática).

Finalmente, la banda de muy baja frecuencia VLF [<0.04 Hz] es la que ha sido menos estudiado y la información que refleja es aún discutida. *Sayers* [40] estableció que la misma está afectada por el mecanismo termorregulatorio y se asociaría con la dependencia de la frecuencia de descarga del nodo sinusal con la temperatura [41]. Este intervalo también podría estar influenciado por el sistema vasomotor periférico y controlado por el sistema renina-angiotensina [43]. *Taylor y otros* [47] encontraron también contribuciones de la actividad parasimpática que modificarían el intervalo de muy baja frecuencia y, recientemente (2013), *Hernando y otros* [44] encontraron que este intervalo también estaría influenciado linealmente por la mecánica respiratoria. Este último resultado podría estar relacionado a los cambios en dicha banda producidas durante la apnea obstructiva del sueño [55].

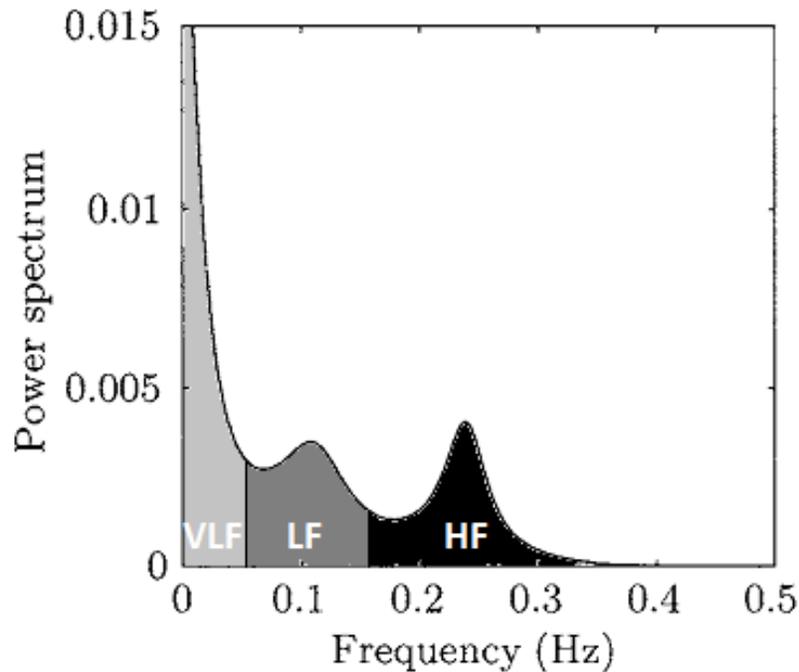


Figura. 4.2. Espectro de la señal VRC y sus tres bandas frecuenciales. El pico aproximado en 0.25 Hz corresponde a la respiración y el cercano a 0.1 Hz a la presión arterial. Adaptado de *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications* [37].

La influencia respiratoria sobre las banda de alta frecuencia [0.15-0.4 Hz] se conoce como *Arritmia Sinusal Respiratoria* (RSA, del inglés 'Respiratory Sinus Arrhythmia'). La RSA es la modulación instantánea del ritmo cardíaco causada por la respiración. Este fenómeno fue inicialmente descrito por *Hales* en 1733 [45] y explica la aceleración en la frecuencia cardíaca instantánea causada durante la fase inspiratoria y su desaceleración durante la fase expiratoria. La magnitud del efecto es muy variable y tiende a ser más pronunciado cuanto más lenta y profunda es la respiración [46]. El efecto de la RSA está parcialmente influenciado por la acción mecánica de los pulmones como así también por el volumen de llenado cardíaco a partir de las variaciones en la presión intratorácica [46].

Como se ha visto, si bien sólo la banda espectral HF presenta una fuerte influencia respiratoria, las bandas VLF y LF recientemente se han encontrado moduladas por la respiración. En la figura 4.2 pueden visualizarse las bandas espectrales de la señal VRC con los respectivos picos mencionados en esta sección. Los efectos respiratorios en esta señal son tan pronunciados que han permitido derivar la señal respiratoria a través diversos métodos [42].

4.2.3. VRC y enfermedad de Chagas.

Debido a la predilección del *Trypanosoma cruzi* para alojarse en células musculares (principalmente del miocardio) [3] y a la destrucción que produce de los ganglios parasimpáticos [8], podría esperarse que el espectro de frecuencia de la variabilidad del ritmo cardíaco resulte afectado, principalmente aquellos intervalos con una fuerte influencia simpática y parasimpática. En otras palabras, la degeneración que se produce del sistema nervioso autónomo afecta los mecanismos que regulan la VRC y por ende la variabilidad de esta señal.

En un estudio espectral sobre la señal VRC, *Vinzio y otros* [59] encontraron en pacientes chagásicos que el espectro de potencia de los intervalos VLF, LF y AF se incrementa significativamente a medida que el nivel de lesión miocárdica producida por el parásito se asevera. Esto se visualiza en la figura 4.3, donde se representa el valor medio y error estándar de la media de los distintos intervalos de potencia, comparados para 3 grupos de pacientes chagásicos (I-II-III, donde grupo I representa pacientes con Chagas indeterminado, grupo II pacientes con CCC y lesiones miocárdicas leves, y grupo III pacientes con CCC y lesiones miocárdicas severas).

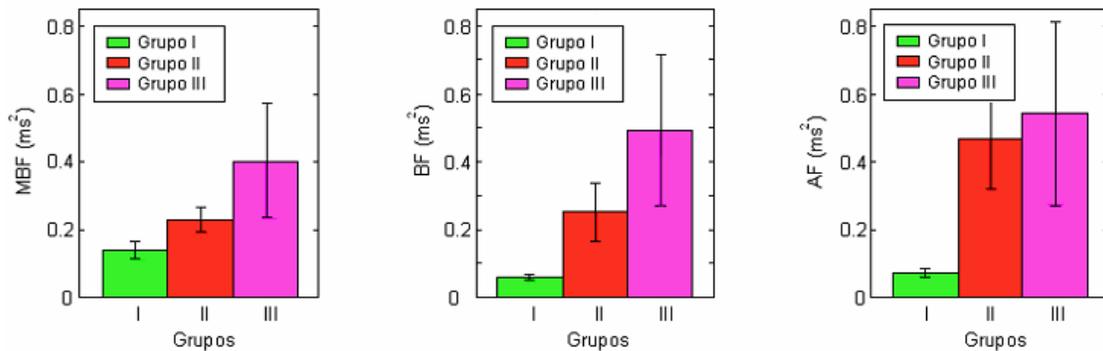


Figura 4.3. Representación del valor medio y error estándar de la media de las potencias de las bandas espectrales VLF (MBF), LF (BF) y HF (AF) para distintos grupos de individuos chagásicos. Extraído de *Variabilidad del ritmo cardíaco en enfermos chagásicos crónicos* [59].

4.3. Modulación de la amplitud del latido cardíaco

La Arritmia Sinusal Respiratoria logra explicar las alteraciones que sufre el ritmo cardíaco mediadas por la respiración. La RSA modula los intervalos de duración entre latidos consecutivos, modificando la frecuencia de descarga del nodo sinusal. Sin embargo, la modulación no sólo se produce en términos temporales: también la respiración modifica la magnitud del complejo QRS en cada latido.

Consideremos un registro electrocardiográfico sobre el cual se han detectado cada uno de sus latidos. Esto implica la detección de cada complejo QRS presente en la señal, como se muestra en la figura 4.4. Es posible apreciar en la imagen que la amplitud de la onda R de cada complejo QRS (representada con un punto rojo) varía latido a latido mimetizando la forma de una onda sinusoidal.

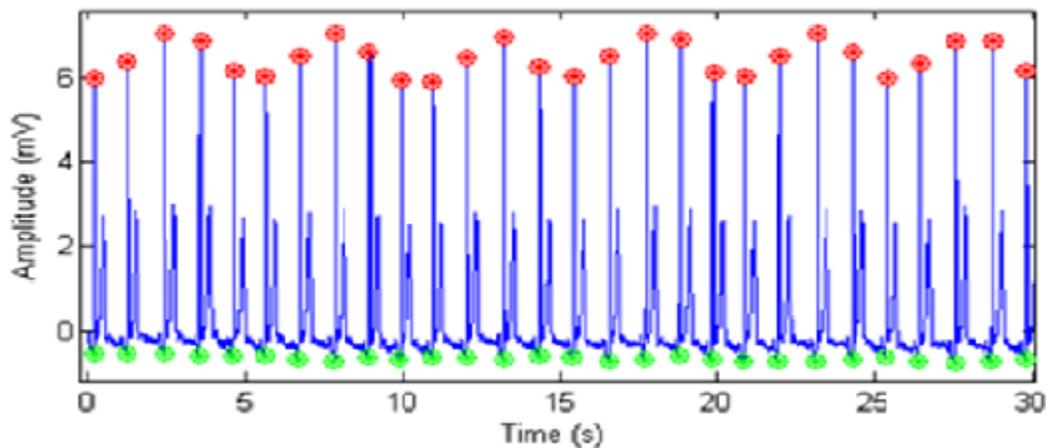


Figura. 4.4. Registro ECG. En rojo, el pico R de cada complejo QRS. En verde, el punto de menor magnitud del complejo QRS. Extraído de *Evaluation of Methods for Estimation of Respiratory Frequency from the ECG* [48].

Estas variaciones, con forma de sinusoide, se deben también a efectos respiratorios sobre la señal ECG. Esto ha permitido derivar la señal respiratoria a partir de las variaciones en la amplitud del pico R [48,49]. El efecto, independiente de la RSA fue estudiado por *Pallás-Areny y otros* [50] y se debe a las influencias entre los sistemas respiratorio y cardiovascular, específicamente a la proximidad física entre los pulmones y el corazón. Así, los movimientos

del corazón analizados a través de la rotación de su vector cardíaco acarrean información de baja frecuencia debida a la mecánica respiratoria, en una forma similar que lo hace la RSA en el análisis espectral de la VRC [50].

4.4. Modulación respiratoria del potencial de acción cardíaco

Fernández y Willshaw [11] demostraron que la respiración no solo modifica la amplitud del complejo QRS sino que también modula la propagación del potencial de acción cardíaco (PAC) en términos del tiempo de duración de cada complejo QRS. En dicho estudio se demuestra que la información respiratoria comprendida en el espectro de la VRC y de una serie temporal derivada de la amplitud de los complejo QRS, se encuentra en el espectro que modula una serie derivada del ancho del vector cardíaco de cada latido. Adicionalmente, *de la Rosa y Fernández* [51] describieron que el mismo fenómeno ocurre en el intervalo QR del complejo QRS en cada uno de los 3 canales ortogonales XYZ. En dicho estudio se encontró un mayor efecto modulador sobre las derivaciones Y-Z de Frank-Starling (87%) que sobre la derivación X (57%).

4.5. Modulación respiratoria de las pendientes del complejo QRS

El estudio de las pendientes de subida y bajada de los complejos QRS en registros ECG de individuos sanos y patológicos es bastante reciente. En término fisiológicos, éstos parámetros describen la conducción del PAC a través del miocardio [53] que, frente a defectos conductivos en el tejido cardíaco, se alteran produciendo aumento/disminución de dichas pendientes de subida-bajada.

Hernando y otros [44] encontraron que las pendientes de subida y bajada del complejo QRS también se encuentran moduladas por la respiración; *Lázaro y otros* [60] lograron inclusive derivar la señal respiratoria a partir de dichas pendientes. En vista de que las pendientes del complejo QRS determinan la duración total o ancho de esta onda, éste fenómeno podría

asociarse a lo encontrado en [11,51]. En el trabajo desarrollado en [44] se demostró que la banda espectral VLF de una serie temporal derivada de dichas pendientes posee influencia respiratoria y que esa misma interacción respiratoria modula el intervalo VLF de la señal VRC. Esto se puede interpretar como una modulación simultánea o interacción entre las señales VRC y la derivada de las pendientes en su intervalo VLF y mediada por la respiración [44]. Ésta interacción había sido previamente descrita en un trabajo sobre pacientes con angina de pecho [62], donde se había encontrado una relación entre VRC y las pendientes del QRS en el intervalo VLF, aunque no se había logrado precisar que los efectos respiratorios sean causantes de ello. En un trabajo más reciente realizado sobre una base de datos de registros ECG realizada en pacientes durante hemodiálisis, también se reportó una interacción entre la VRC y las pendientes del QRS debida a la respiración, aunque en este estudio también se logró identificar que en dicha modulación el sistema nervioso autónomo también interacciona [61]. Este último efecto del SNA alterando la interacción entre la respiración, la VRC y las pendientes de QRS es de esperar en vista que los pacientes de la base de datos presentaban insuficiencia renal y su edad, patología y medicación afectan la regulación del SNA sobre el corazón.

CAPÍTULO V. Materiales y métodos.

5.1. Introducción.

En la enfermedad de Chagas el compromiso cardíaco es la afección más frecuente y peligrosa para el paciente. Una gran variedad de cuadros clínicos y manifestaciones electrofisiológicas han sido reportadas, entre ellas las que comprometen el sistema de conducción del corazón y la propagación de la onda de despolarización a través del órgano. En consecuencia, las influencias respiratorias encontradas sobre el electrocardiograma de superficie podrían resultar alteradas por la enfermedad. En este capítulo se hipotetiza que en registros ECG chagásicos la información espectral de señales que describen la conducción del impulso eléctrico sobre el tejido cardíaco (como lo son las señales derivadas de la duración o de las pendientes del QRS) pueden dejar de reflejar la influencia respiratoria que se encuentra en las señales VRC y en la derivada de los picos de onda R, debido a i) los cambios en la conducción del PAC en la ECh y la susceptibilidad del mismo a ser modulado por la respiración, como así también a ii) la degeneración del sistema nervioso autónomo característica de la enfermedad. *Fernández y Willshaw* [11] habían encontrado que existía una relación entre la información respiratoria de la señal derivada de la duración de los complejos QRS y las señales VRC como así también la señal derivada de los picos de onda R. La interacción entre estas señales había sido descrita en el intervalo de alta frecuencia (HF). *Hernando y otros* [44] han recientemente encontrado interacción entre la señal VRC y la derivada de las pendientes de los complejos QRS a causa de la respiración, aunque sin embargo, el fenómeno fue descrito en el intervalo de muy baja frecuencia VLF.

5.2. Materiales

En el presente trabajo se utilizaron 2 bases de datos con registros de electrocardiografía de alta resolución. En principio, se trabajó con la base de datos 'CARACAS', elaborada entre los años 1992 y 1993 por el Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela (Caracas, VENEZUELA) y por el Grupo de Bioingeniería y Biofísica Aplicada de la Universidad Simón Bolívar (Caracas, VENEZUELA). La misma, corresponde al proyecto SEARCH ('Señales Electrocardiográficas de Alta Resolución en Chagas') y consiste de 183 registros, de los cuales 172 corresponden a pacientes con enfermedad de Chagas clasificados en distintos grupos de acuerdo a sus manifestaciones clínicas, y los 11 registros restantes a sujetos sin la enfermedad, pertenecientes a un grupo control. Toda la información expuesta aquí se extrajo de la base de datos de Chagas [10].

La segunda base de datos utilizada aquí se denomina BDMG y ha sido utilizada en [11,12]. Posee 8 registros de ECGAR de individuos cardiológicamente sanos. Su empleo en el presente proyecto tiene por finalidad la ampliación del grupo control (sujetos sanos), debido a que la base 'CARACAS' posee sólo 11 sujetos de este tipo frente a los 172 chagásicos. De esta manera, utilizando la base BDMG se logra aumentar el grupo control de 11 a un total de 19 registros sanos (sin ECh), permitiendo el contraste de los distintos grupos en un modo más apropiado.

5.2.1. Base de datos CARACAS

Los 183 registros de ECGAR corresponden a:

- 11 sujetos sanos utilizados como grupo control (Grupo 0).
- 96 pacientes chagásicos con diferentes manifestaciones de la enfermedad y clasificados clínicamente (Grupos I, II y III).
- 76 pacientes Chagásicos sin clasificación clínica (Grupo U).

Para poder clasificar en grupos la base de datos, se realizaron pruebas diagnósticas en cada paciente. Entre ellas:

- a) La prueba serológica de Machado-Guerreiro.
- b) El registro ECG convencional de 12 derivaciones.
- c) Un estudio ecocardiográfico para determinar la función ventricular y las dimensiones del corazón.
- d) Un registro ECG ambulatorio (Holter) de 24 horas.

Por último, se obtuvo una historia clínica de cada paciente con todos sus datos (nombre, edad, sexo) y antecedentes de historial médico.

La clasificación en función de los distintos exámenes diagnósticos quedó conformada de la siguiente manera:

- *Grupo 0*: compuesto por 11 sujetos sanos (edad 33.6 ± 10.9 años) con serología negativa de Chagas.
- *Grupo I*: compuesto por 41 pacientes Chagásicos (edad 41.4 ± 8.1 años), con serología positiva, pero sin evidencias de daño cardíaco en el estudio ecocardiográfico ni en el ECG estándar.
- *Grupo II*: compuesto por 39 pacientes Chagásicos (edad 45.8 ± 8.8 años), con serología positiva y alguna evidencia de daño cardíaco como problemas de conducción (bloqueos de rama y/o impulsos ventriculares prematuros) registrados en el ECG convencional o en el ECG Holter de 24 horas.
- *Grupo III*: compuesto por 16 pacientes Chagásicos (edad 53.6 ± 9.3 años), con serología positiva, evidencia de daño cardíaco detectado en el ECG convencional, impulsos ventriculares prematuros y/o episodios de taquicardia ventricular registrados en el ECG Holter, y fracción de eyección normal o disminuida detectada en el estudio ecocardiográfico.

En la Tabla 5.1. se resume la clasificación de los distintos grupos, sanos y chagásicos, en función de los exámenes diagnósticos previamente realizados.

Grupo	Serología	ECG	Ecosonograma	Holter
0	-	Normal	Normal	Normal
I	+	Normal	Normal	Normal
II	+	Normal/Anormal	Normal	Normal/IVP
III	+	Anormal	Normal/F.E. disminuida	IVP/TV
U	+	Sin revisar	Sin revisar	Sin revisar

Tabla 5.1. Grupos de sujetos clasificados en función de los exámenes de diagnóstico. ECG=Electrocardiograma convencional de 12 derivaciones ; FE=Fracción de eyección; TV= Taquicardia ventricular; IVP=Impulsos ventriculares prematuros.

La adquisición de los registros ECGAR se llevó a cabo con el sistema PREDICTOR (Corazonix Corporation, Oklahoma City, USA). Las características del dispositivo se resumen a continuación:

Especificación	Valor
Número de canales	3
Ganancia	1000 - 8000
Ancho de banda	0.05 - 300 Hz
Relación de rechazo de modo común	> 170 dB
Corriente de fuga	< 2 μ A
Frecuencia de muestreo por canal	1 kHz
Resolución conversor A/D	16 bits

Tabla 5.2. Características del sistema PREDICTOR.

Para cada paciente, se obtuvo un registro ECGAR de 10 minutos de duración usando la configuración estándar de derivaciones ortogonales XYZ. En la Figura 5.1 se ilustran los 3 canales (XYZ) de las derivaciones de Frank-Starling.

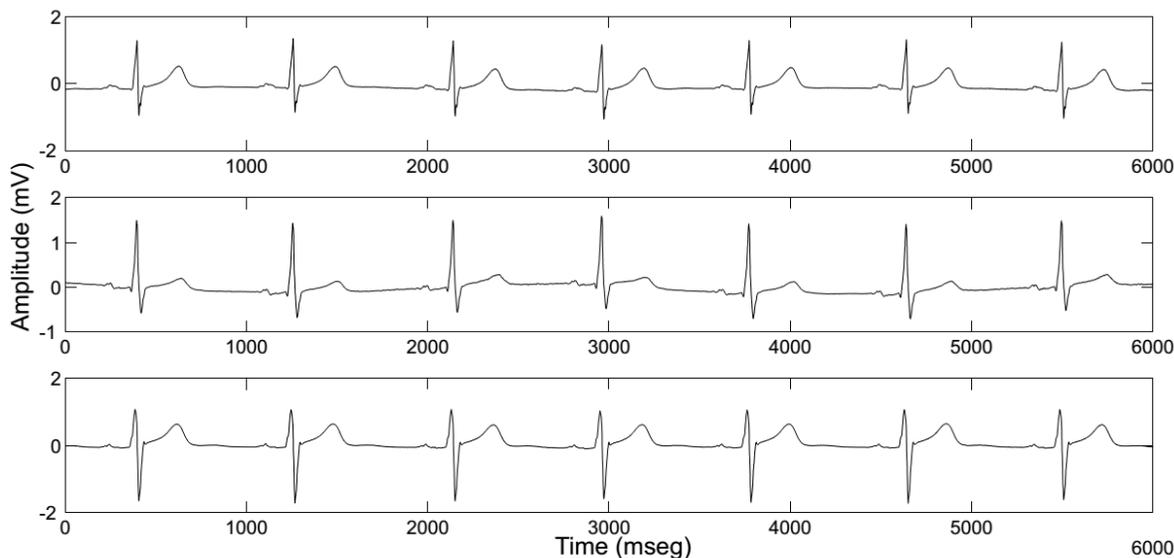


Figura 5.1. Fragmento de un registro correspondiente a la base de datos 'CARACAS'. De arriba hacia abajo, se aprecian los canales X-Y-Z.

5.2.2. Base de datos BDMG

Consiste de 8 registros de ECGAR de individuos cardiológicamente sanos y sin alteraciones electrocardiográficas, todos ellos procedentes de Capital Federal (Buenos Aires), área libre del vector del Chagas [57]. Todos los individuos eran masculinos (edad 27 ± 9 años). El individuo del registro identificado como 1 padecía diabetes tipo II y el del registro identificado como 3 era fumador.

Los registros de ECG se realizaron durante 17 minutos. Las derivaciones utilizadas fueron las de Frank-Starling (XYZ). Durante los primeros 7 minutos, los individuos estuvieron en reposo, distendidos y con respiración normal. Durante el resto del tiempo fueron instruidos a sentarse y a continuar respirando normalmente. El sistema de adquisición utilizado fue el sistema GBI holter (www.galix-gbi.com/), el cual posee una frecuencia de muestreo de 1 KHz y un conversor ADC con resolución de 12 bits. Esta base de datos de sujetos sanos se identificó como Grupo H. Todos los datos fueron extraídos de [11] y [12].

5.2.3 Base de datos unificada

En el presente trabajo se analizaron 72 registros ECGAR: 53 pertenecientes a individuos chagásicos y 19 correspondientes a individuos cardiológicamente sanos sin ECh.

Los 19 registros de sujetos sin ECh, pertenecientes a los grupos 0 y H se unificaron bajo la denominación de *Grupo Negativo* (grupo control unificado).

Con motivos de poder comparar los resultados obtenidos en este trabajo entre distintos grupos de individuos sanos e infectados con *T. Cruzi*, tanto en la base de datos CARACAS como en la BDMG sólo los 7 primeros minutos de señal de cada registro ECGAR fueron analizados. Todos los registros del grupo control de la base de datos CARACAS (Grupo 0) y de la base BDMG (Grupo H) fueron utilizados. En vista de que el presente trabajo persigue la búsqueda de diferencias electrocardiográficas significativas principalmente entre individuos chagásicos asintomáticos sin alteraciones en el ECG convencional e individuos cardiológicamente sanos sin la enfermedad, todos aquellos registros ECGAR que manifestaban alteraciones cardíacas severas, como impulsos ventriculares prematuros, fueron excluidos del análisis. En consecuencia, el Grupo III, Grupo U y 24 registros del Grupo II fueron descartados. Éstos registros manifiestan alteraciones electrocardiográficas prominentes que en la práctica clínica obligan la realización de estudios cardiológicos posteriores y permiten sospechar una infección con *T. Cruzi*. Adicionalmente, 3 registros del Grupo I fuertemente perturbados por ruido electromagnético y señales mioeléctricas fueron descartados (ver Fig. 5.2).

A continuación, la base de datos resultante utilizada en el presente trabajo:

Grupo Unificado	Grupo	Clasificación Clínica	Base de datos	Cantidad de Registros
Positivo	I	C.C.I.	CARACAS	38
Positivo	II	C.C.C.	CARACAS	15
Negativo	0	C.S	CARACAS	11
Negativo	H	C.S.	BDMG	8
				Total= 72

Tabla 5.3. Base de datos unificada y grupos de clasificación. C.C.I.= Chagas crónico Indeterminado. C.C.C.=Chagas crónico Cardíaco. C.S.=Cardiológicamente sanos.

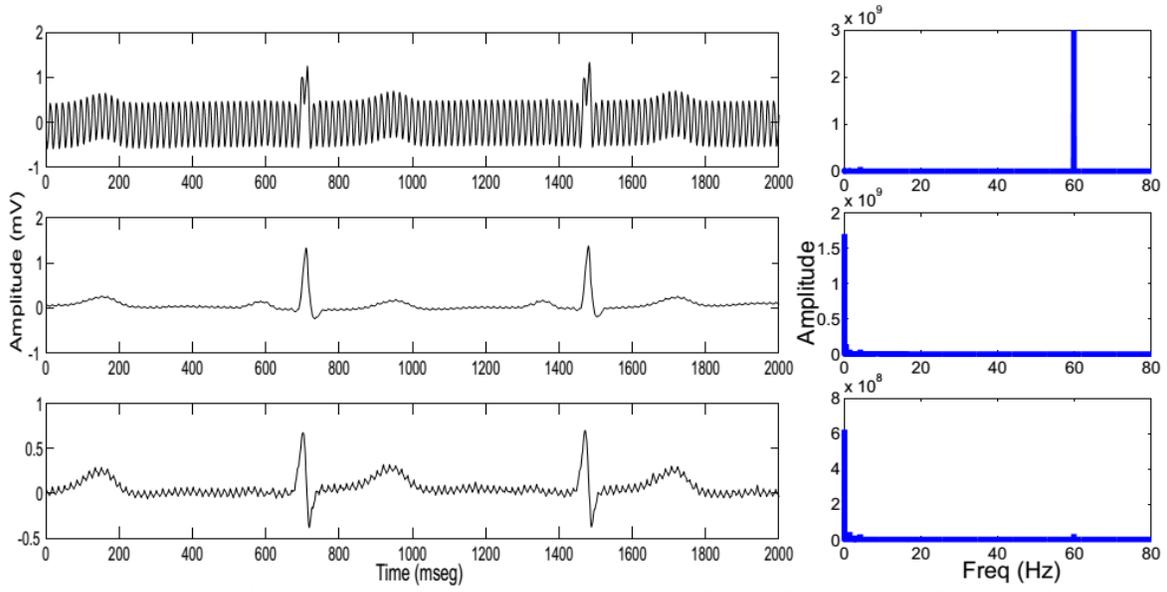


Figura 5.2. A la izquierda, los canales X-Y-Z de un registro descartado de la base de datos CARACAS. A la derecha, su espectro obtenido mediante la FFT. Es posible apreciar cómo en el canal X, el de mayor perturbación electromagnética, el ruido de 60Hz opaca las bajas frecuencias, que sin embargo son predominantes en señales poco perturbadas, como la correspondiente al canal Y.

5.3. Métodos

5.3.1. Algoritmo propuesto

El procesamiento de los registros se realizó en lenguaje Matlab® versión R2013a. Los canales ortogonales X, Y, y Z fueron filtrados mediante un filtro Butterworth pasabanda (40-250 Hz), bidireccional de 4to orden para facilitar la extracción de parámetros del registro ECG [18]. La detección de latidos se realizó sobre los canales ortogonales sin filtrar, mediante el algoritmo de *Pan-Tompkins* [58] de detección de complejos QRS.

Para cada complejo QRS detectado, se calcularon los dos siguientes vectores: VMC, vector magnitud cardíaco reconstruido a partir de los canales sin filtrar (XYZ), y VMCf, vector magnitud cardíaco filtrado, reconstruido a partir de los canales ortogonales filtrados (Xf-Yf-Zf).

Sobre cada latido encontrado y a partir de los vectores generados se realizaron cinco mediciones: i) QRS_d, el intervalo de duración completo del vector magnitud cardíaco, ii)QRS_{onR}, el intervalo de duración desde el inicio del VMC hasta su pico R, iii) RQRS_{off}, el intervalo de duración desde el pico R del VMC hasta su punto de finalización, iv)R_pAmp, la amplitud del pico del VMC y v)RR, el intervalo de duración entre dos latidos cardíacos consecutivos.

Mientras que el VMC se utilizó para establecer el momento en que se produce el pico R, denominado punto fiducial, y para medir la amplitud de dicho punto (R_pAmp, máximo valor del vector), el VCMf se utilizó para estimar los puntos de inicio y fin del complejo QRS, denominados QR_{son} y QR_{soff} respectivamente. A partir de los puntos de inicio y fin del complejo y del punto fiducial se midieron los intervalos QR_{Sd}, QR_{sonR} y RQR_{Soff} de cada latido. El intervalo RR se midió como la distancia entre dos puntos fiduciales consecutivos.

A partir de las cinco mediciones realizadas, se derivaron cinco series temporales: QR_{Sd}(t), QR_{sonR}(t), RQR_{Soff}(t), RR(t) y R_pAmp(t). De cada una de las series se removieron los valores considerados atípicos.

Las cinco series resultantes fueron interpoladas mediante el método de splines cúbicas y remuestreadas a una frecuencia fija y constante de 4Hz. Luego, a cada una de las señales muestreadas se les sustrajo el valor medio, se las multiplicó por una ventana Hanning y se les

aplicó la transformada rápida de Fourier. Los espectros resultantes se identificaron como $QRSd(f)$, $QRSONR(f)$, $RQRSoff(f)$, $RR(f)$ y $RpAmp(f)$.

Finalmente, cada señal fue dividida en sus tres bandas de frecuencia características (VLF [0-0.04Hz], LF[0.04-0.15Hz] y HF[0.15-0.4Hz]). Así, las señales $QRSd(f)$, $QRSONR(f)$ y $RQRSoff(f)$ se correlacionaron en dichos intervalos frecuenciales con las dos señales restantes ($RR(f)$ y $RpAmp(f)$) mediante el método de correlación de Spearman.

Con los 18 parámetros de correlación obtenidos por cada registro, se generó una nueva base de datos que posteriormente se analizó mediante diferentes modelos estadísticos.

En la figura 5.3 puede visualizarse el presente algoritmo propuesto. A modo de ejemplo, y para simplificar su comprensión, el mismo muestra paso-a-paso como se calculó el coeficiente de Spearman entre las bandas frecuenciales VLF de las señales derivadas $RR(t)$ (VRC) y $QRSd(t)$ (señal propagación del potencial de acción cardíaco). El mismo procedimiento se realizó en los dos restantes intervalos (LF y HF), y de la misma manera, para los restantes pares de señales derivadas ($QRSd-RR$, $QRSONR-RR$, $QRSONR-RpAmp$, $RQRSoff-RR$, y $RQRSoff-RpAmp$). El algoritmo se encuentra dividido en tres etapas: extracción de parámetros, derivación de señales del ECG y cuantificación espectral, las cuales se detallan a continuación.

5.3.1.1. Extracción de parámetros.

Es en esta primer etapa del procesamiento de los registros electrocardiográficos se requirió extraer de cada latido cardíaco los cinco parámetros definidos previamente (i-ii-iii-iv-v) a fines de generar a partir de ellos las distintas series de tiempo derivadas del ECG.

El algoritmo empleado para la extracción de parámetros comprende las siguientes etapas:

- a. Filtrado.
- b. Detección del latido cardíaco.
- c. Reconstrucción del vector magnitud cardíaco.
- d. Identificación de puntos característicos. Medición de parámetros.

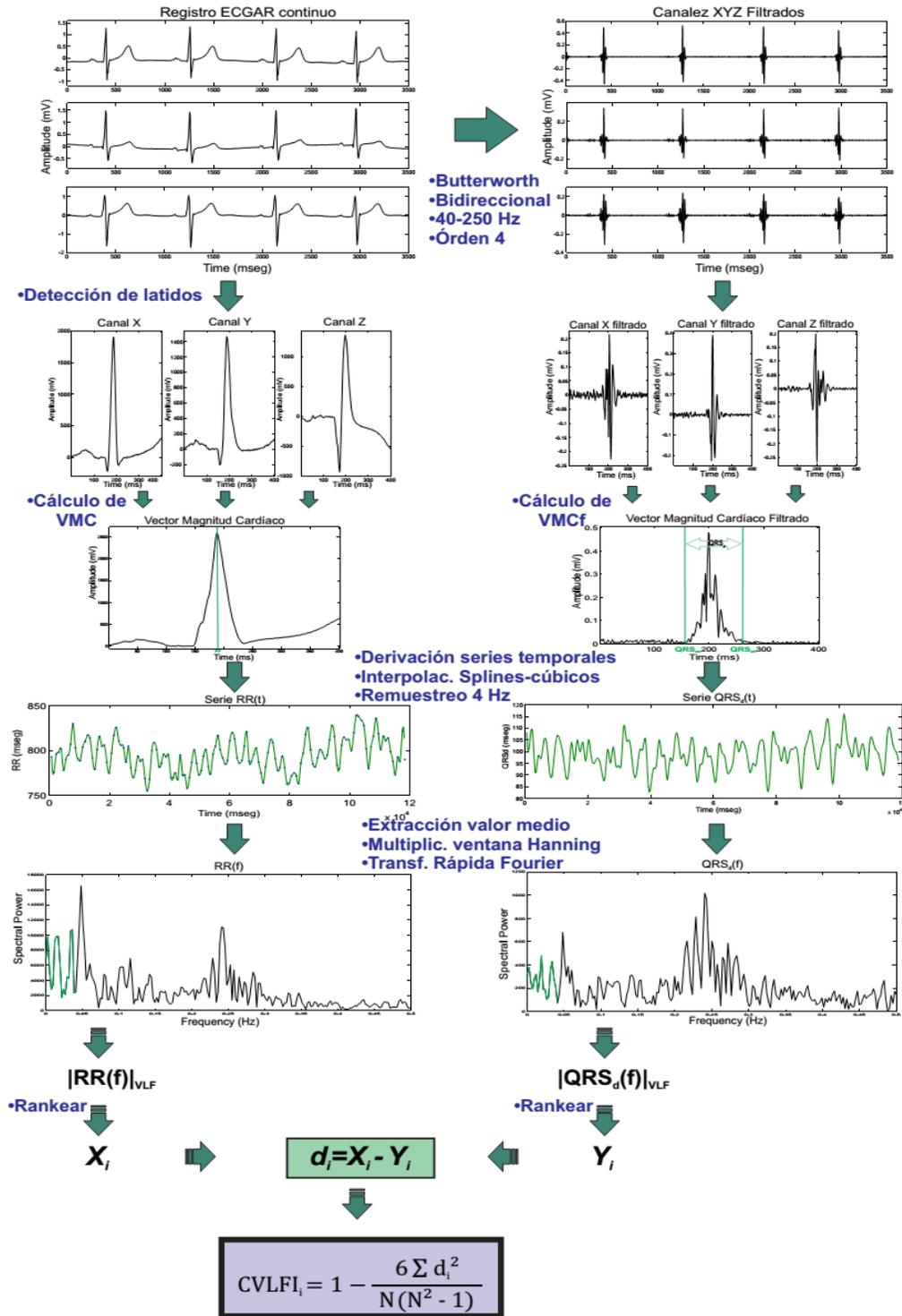


Figura 5.3. Diagrama de flujo del algoritmo propuesto, implementado sobre un par de señales (RR(t) – QRsd(t)) para obtener el índice de correlación de Spearman en el intervalo frecuencial VLF. N=cantidad de muestras comprendidas en la banda espectral VLF.

a) Filtrado

Los canales originales X-Y-Z (graficados en Fig. 5.4) se filtraron utilizando un filtro Butterworth bidireccional, pasabanda 40-250 Hz, de orden 4. Este filtro atenúa las ondas P y T realzando el complejo QRS de cada latido y permitiendo identificar con mayor facilidad los puntos de inicio y fin del complejo QRS [18], como se aprecia en la figura 5.4. Las frecuencias de corte (40-250 Hz) del filtro se deben a la presencia de PTV en individuos chagásicos, eventos cardíacos que se producen en dicho rango frecuencial [17]. Estos eventos aumentan la duración de los complejos QRS de cada latido [18] y por ello no pueden ser eludidos.

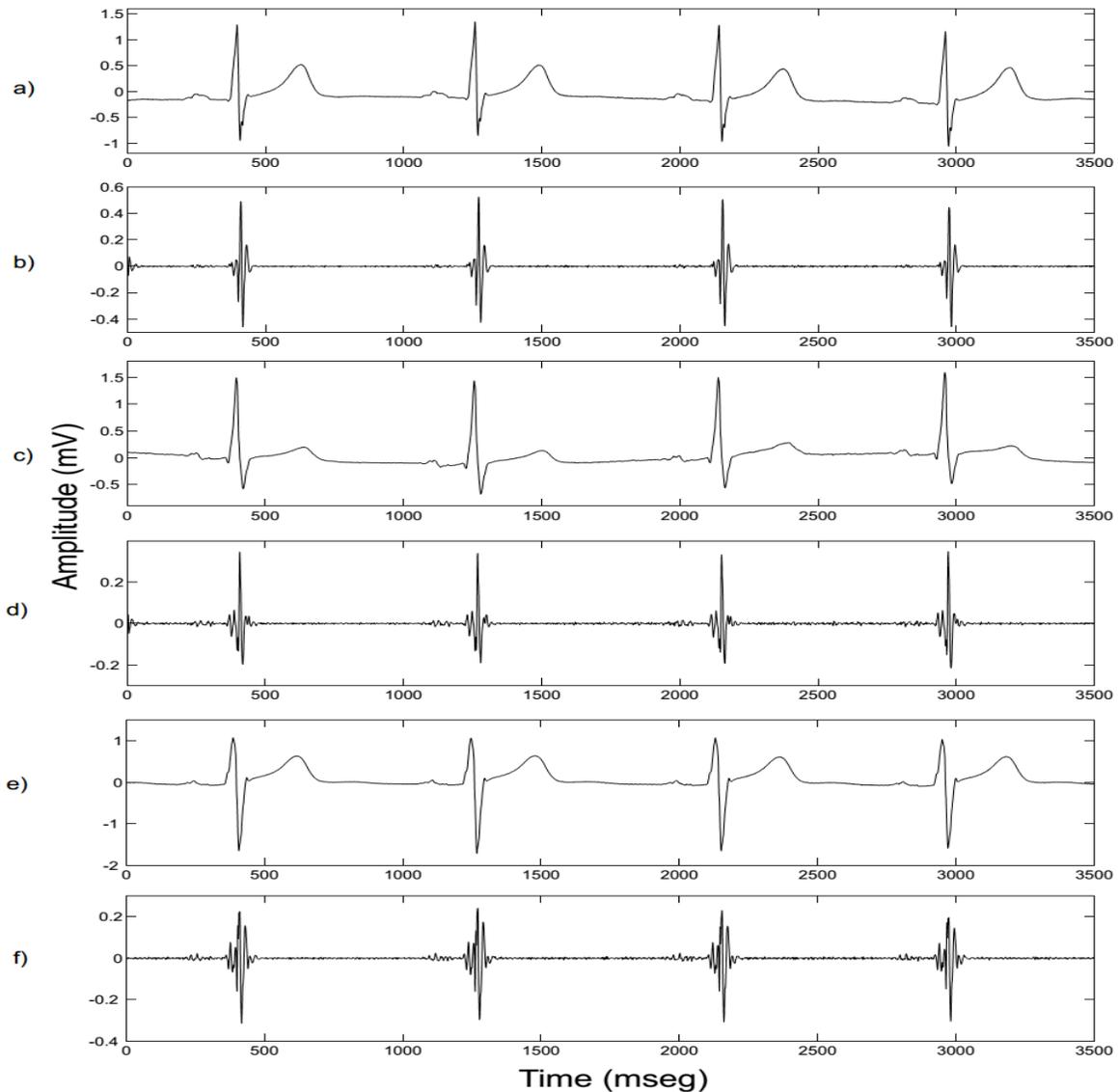


Figura 5.4. a)-c)-e) canales originales X,Y,Z respectivamente. b)-d)-f), canales filtrados Xf,Yf,Zf respectivamente.

b) Detección de latidos.

Para poder realizar mediciones sobre cada latido cardíaco es necesario identificar los mismos en cada uno de los 3 canales ortogonales XYZ. Para ello se utilizó el algoritmo de Pan-Tompkins [58] de detección de latidos, basado en la morfología del QRS, un umbral de detección, y ciertas características de la fisiología cardíaca.

El mismo consiste de 4 etapas fundamentales: un filtrado pasabanda, un filtro diferenciador, una transformación no lineal de la señal y un filtro integrador de ventana móvil. La primer etapa del algoritmo, el filtrado pasabanda, se utiliza para remover y atenuar el ruido en la señal debido a señales musculares, ruido electromagnético (50/60Hz), ruido de línea de base (producido a bajas frecuencias) y ondas que no pertenecen al complejo QRS, como puede ser la onda T [35,58]. De acuerdo a *Tompkins* [35], el filtro que maximiza la energía del complejo QRS debe tener frecuencias de corte de 5-15 Hz. Además de realzar frecuencias características de la onda buscada, el filtro pasabanda mejora la relación señal-ruido, permitiendo utilizar umbrales de detección más pequeños que los necesarios si no se realiza este filtrado. En la etapa siguiente, el filtro diferenciador provee información sobre la pendiente del complejo QRS. Las ondas P y T resultan atenuadas en esta etapa mientras que la señal pico-a-pico correspondiente al QRS es realzada [35]. La etapa a continuación, tiene como fin generar una señal con valores no negativos y, principalmente, intensificar los efectos de los filtrados anteriores. Permite así enfatizar aquellas componentes de mayor frecuencia que corresponden al complejo QRS [35]. Para ello, se elevan al cuadrado cada una de las muestras de la señal de la manera:

$$y(t) = x(t)^2$$

Una vez elevadas al cuadrado las muestras del registro ECG, se utiliza un filtro integrador de ventana móvil que provee información sobre el ancho del QRS. Esto se debe a la variación morfológica de ciertos latidos (presentes en diversas cardiopatías) que carecen de pendientes pronunciadas, principal característica de la onda QRS, y que por lo general son de mayor duración [35,58].

Finalmente, en base a la señal de salida obtenida del algoritmo de Pan-Tompkins y, estableciendo un umbral de detección para la señal, se identifica como complejo QRS aquel evento cardíaco que además de superar el umbral establecido, se encuentra distanciado del último latido detectado al menos unos 200 mseg. Esta restricción se debe al período

refractario de las células cardíacas que, fisiológicamente, no responden a estímulos consecutivos menores a 200 msec [35,58]. La salida del algoritmo aquí presentado, corresponde a un conjunto de muestras las cuales corresponden al pico R del complejo QRS. El dato muestral que identifica el momento en que ocurre cada latido se denominó 'Punto de ocurrencia' (P_o).

c) *Reconstrucción del vector magnitud cardíaco.*

A partir del P_o de cada latido cardíaco se calculó el VMC (ver Fig. 5.5) utilizando los canales ortogonales sin filtrar X, Y, y Z tomando una ventana temporal de 350 msec ($P_o \pm 175$ msec) de la siguiente manera:

$$VMC_i(t) = \sqrt{\sum_{t=P_o-175}^{P_o+175} X_i^2(t) + Y_i^2(t) + Z_i^2(t)}$$

donde i es el i -ésimo latido cardíaco detectado.

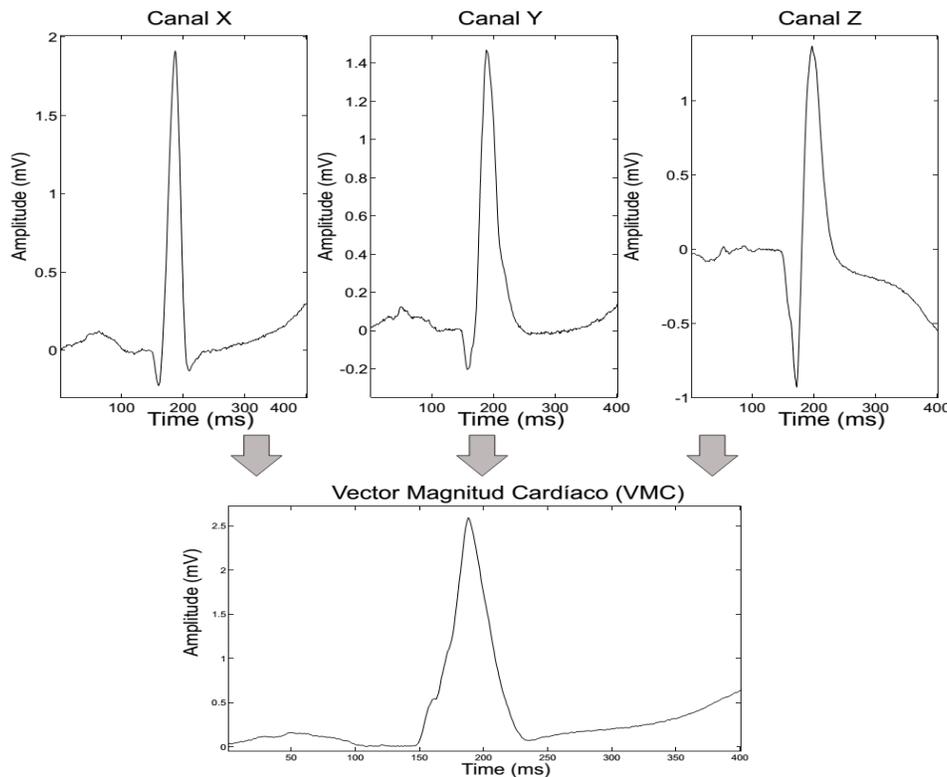


Figura 5.5. Arriba, los tres canales ortogonales X, Y, y Z de un registro electrocardiográfico de la base de datos BDMG. Abajo, el vector magnitud cardíaco generado a partir de dichos canales utilizando.

Adicionalmente, se calculó a partir de los 3 canales filtrados X_f , Y_f , y Z_f el vector magnitud cardíaco filtrado (VMCf) del mismo modo que VMC (ver figura 5.6):

$$VMCf_i(t) = \sqrt{\sum_{t=P_0-175}^{P_0+175} Xf_i^2(t) + Yf_i^2(t) + Zf_i^2(t)}$$

Siendo nuevamente i el i -ésimo latido cardíaco detectado.

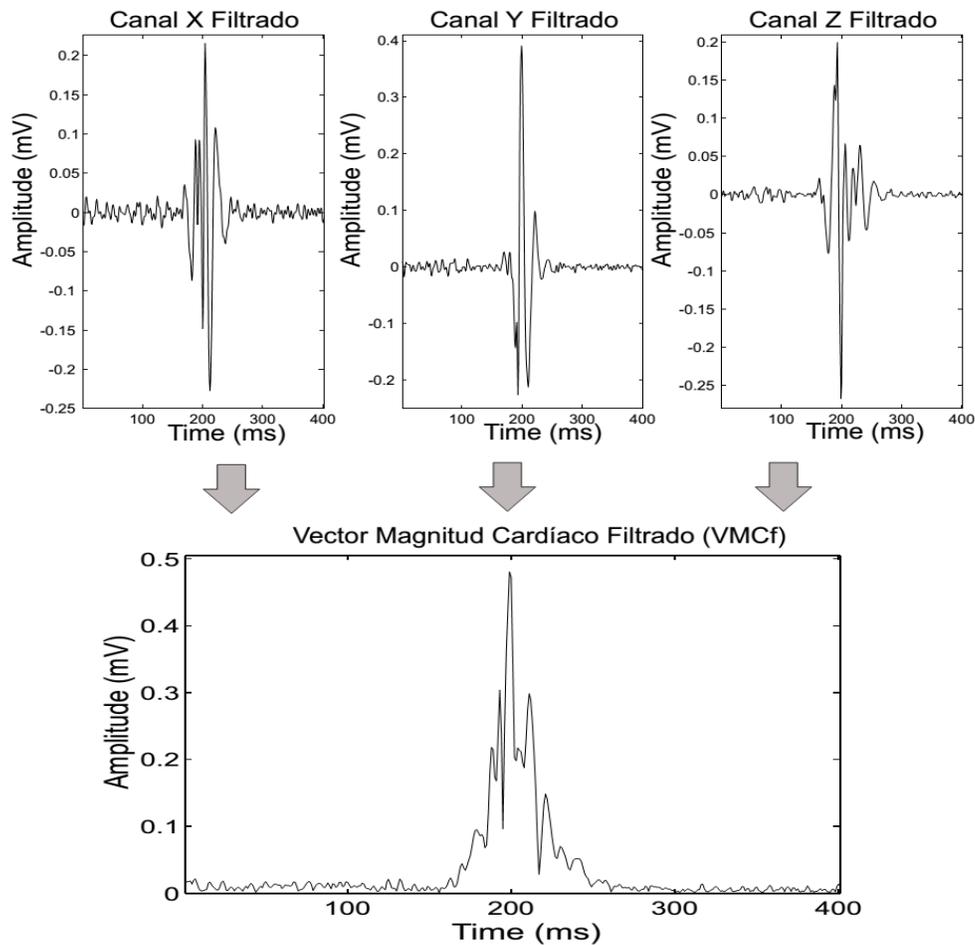


Figura 5.6. Arriba, los tres canales ortogonales filtrados X_f , Y_f , y Z_f de un registro electrocardiográfico de la base de datos CARACAS. Abajo, el vector magnitud cardíaco filtrado generado a partir de dichos canales utilizando.

d) *Identificación de puntos característicos. Medición de parámetros.*

El punto fiducial (*PF*, punto de referencia) de cada complejo QRS se determinó como el instante de tiempo en el que se produce el máximo valor de VMC. La amplitud de este punto, la cual se corresponde con el pico de la onda R, se identificó como *RpAmp*.

La búsqueda de los puntos de inicio y fin del vector magnitud cardíaco se realizó, en primera instancia, directamente sobre VMC como en [11]. Para ello, se identificó la línea de base del vector (intervalo isoelectrico). Luego, se generó una ventana móvil de 5 msec que, al exceder en promedio un valor umbral de $3 \cdot \text{desvío estándar}$ la media de la línea de base, identificaba los puntos de inicio (QRS_{on}) y fin (QRS_{off}) del VMC.

Si bien este algoritmo pudo implementarse en la base de datos local BDMG, no funcionó para la base de datos CARACAS donde existe una gran variabilidad en la morfología de los latidos y en muchos registros las ondas P y T enmascaran los puntos de inicio y fin del complejo QRS, como se muestra en la figura 5.7.

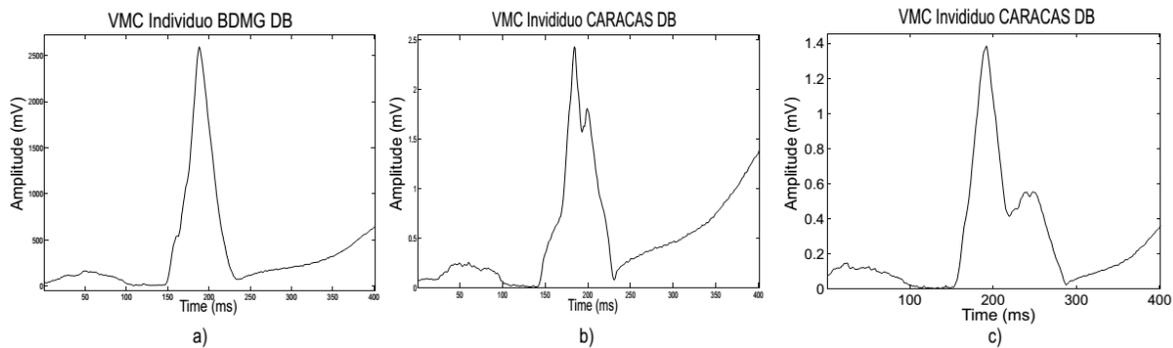


Figura 5.7. a) Vector cardíaco de un individuo de la base de datos BDMG. b) y c), vectores cardíacos de individuos de la base de datos de Chagas. Como puede observarse, la morfología del latido varía y existe sobre-elevación producida por la onda T que no permite identificar un eje isoelectrico referencial a la derecha del pico R, dificultando en ambos casos la detección del punto de fin QRS_{off} .

A fines de utilizar un único algoritmo generalizado que permita trabajar con las dos bases de datos, el algoritmo de identificación de puntos característicos se modificó. El nuevo algoritmo utilizado requirió realizar el filtrado pasabanda (explicado previamente) y reconstruir el vector a partir de los canales filtrados (VMCf). Mientras que VMC se lo utilizó para identificar la posición y amplitud de la onda R (puntos *PF* y *RpAmp*, ilustrados en Fig 5.8), el VMCf se utilizó para identificar los puntos de inicio y fin del complejo QRS (QRS_{on} y QRS_{off} respectivamente).

Los puntos QRS_{on} y QRS_{off} se estimaron mediante un algoritmo desarrollado por *Laciar y otros* [59]. Para ello se calculó la línea isoeletrica (intervalo de menor variabilidad) que precede el punto de inicio del vector cardíaco. Luego se utilizaron dos ventanas móviles de longitud variable, una comenzando en la línea isoeletrica y desplazándose en dirección hacia el pico R del vector (ventana izquierda); la otra, comenzando en el pico del vector y desplazándose en sentido contrario hacia la línea isoeletrica (ventana derecha). Si en la ventana izquierda la media aritmética superaba el umbral (media de línea isoeletrica + 3*desvío estándar) y la media aritmética de la ventana derecha se encontraba en un valor por debajo de dicho umbral y ambas ventanas se encontraban superpuestas, entonces el punto central de las dos ventanas conjuntas se consideró QRS_{on} , punto de inicio del VMC. Por el contrario, si las ventanas no se superponían, se incrementaba en 1 mseg cada ventana de búsqueda y se repetía el algoritmo hasta encontrar superposición. La longitud inicial de las ventanas fue de 5 mseg. De la misma manera se identificó el punto de fin QRS_{off} .

A partir de los puntos característicos identificados, para cada latido detectado se calcularon los siguientes 5 intervalos:

- i) QRS_d , duración total del complejo QRS.

$$QRS_d = QRS_{off} - QRS_{on}$$

- ii) $QRS_{on}R$, duración del intervalo desde el inicio del complejo QRS hasta el pico R:

$$QRS_{on}R = PF - QRS_{on}$$

- iii) $RQRS_{off}$, duración del intervalo desde el pico R hasta el punto final del complejo QRS

$$RQRS_{off} = QRS_{off} - PF$$

- iv) $RpAmp$, amplitud del pico R

$$RpAmp = \max(VMC)$$

v) Intervalo RR (tiempo entre dos latidos cardíacos consecutivos)

$$RR_i = PF_{i+1} - PF_i \quad (i = 1, \dots, N - 1)$$

donde i es el i -ésimo latido cardíaco hallado y N es la cantidad total de latidos de un registro.

Los cuatro primeros parámetros, los vectores VMC y $VMCf$ junto a los puntos característicos PF , QRS_{on} y QRS_{off} estimados sobre el latido pueden visualizarse en la Figura 5.8.

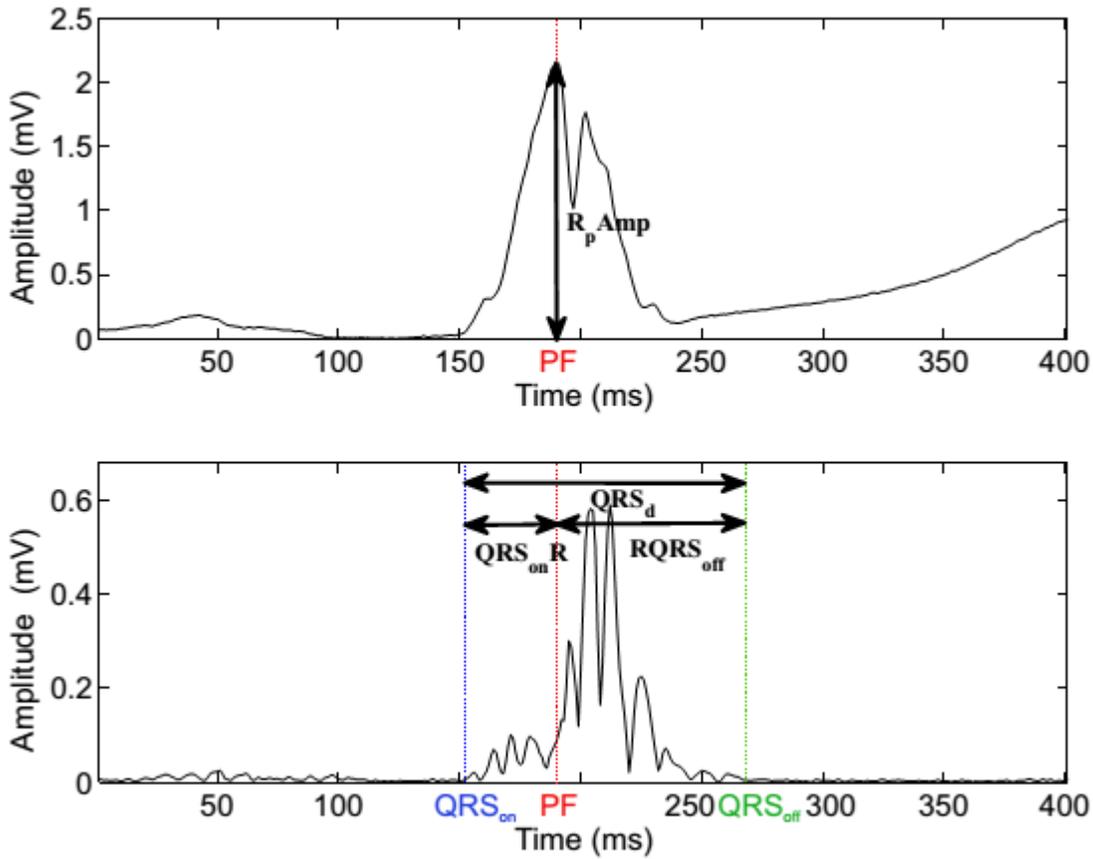


Figura 5.8. Arriba el vector VMC, su punto fiducial PF (rojo) y su máxima amplitud (RpAmp, pico de onda R). Abajo, el vector filtrado VMCf. En rojo se ha proyectado el punto fiducial desde VMC. En azul, el punto de inicio del complejo (QRSon) y en verde el punto de finalización (QRSoff). Además se visualizan los intervalos QRSd, QRSONR y RQRSoff.

5.3.1.2. Derivación de señales del ECG.

A partir de las mediciones realizadas sobre los latidos, cinco series temporales se derivaron: i) $QRS_{onR}(t)$, ii) $RQRS_{off}(t)$, iii) $QRS_d(t)$, iv) $RR(t)$ y v) $RpAmp(t)$, donde “t” es el instante del tiempo en que ocurre el punto fiducial. Dicho de otro modo, para cada uno de los 5 parámetros medidos, las sucesivas mediciones realizadas procedentes de los latidos del registro completo se posicionaron en el eje temporal en el momento que el correspondiente latido cardíaco ocurre. La figura 5.9 muestra un fragmento de 60 segundos de las señales $QRS_d(t)$, $QRSonR(t)$ y $RQRSoff(t)$ obtenidas en un individuo de la base de datos CARACAS. La figura 5.10 muestra para el mismo individuo sus señales $RR(t)$ y $RpAmp(t)$.

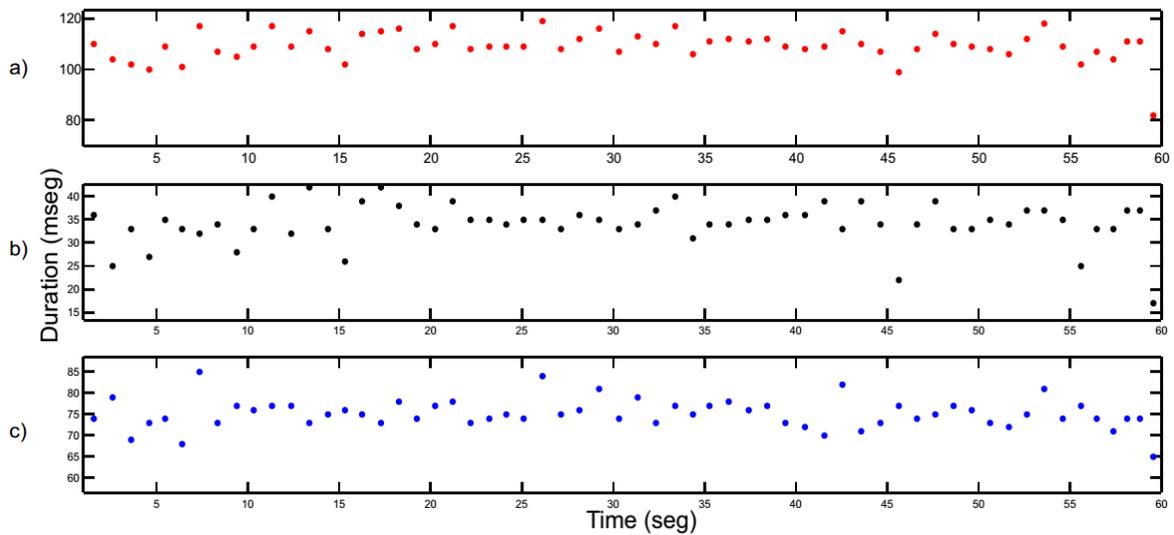


Figura 5.9. Señales derivadas del ECG para un individuo chagásico durante 1 minuto de señal. a) $QRS_d(t)$, b) $QRSonR(t)$, c) $RQRSoff(t)$.

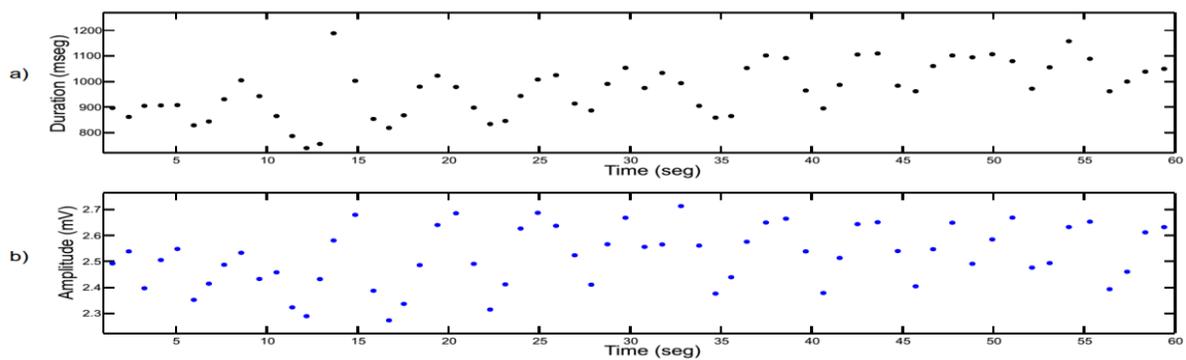


Figura 5.10. Series temporales $RR(t)$ y $RpAmp(t)$ a lo largo de un minuto de señal para un individuo chagásico.

El procesamiento de las SDECG requirió:

- a. Procesamiento de datos.
- b. Interpolación y remuestreo.

a) *Procesamiento de datos.*

En las 5 series temporales (i-ii-iii-iv-v) se removieron los datos considerados atípicos. Aquellas muestras que se encontraban por encima de los 3 desvíos estándar de la media fueron descartadas de la serie temporal.

b) *Interpolación y remuestreo.*

En las señales derivadas del ECG las muestras no se encuentran equidistantes en el eje temporal. De acuerdo a Risk [34], para el cálculo del espectro de potencia de series de latidos es conveniente que las mismas posean muestras equiespaciadas. Por ello, para realizar la estimación espectral de señales utilizando la transformada rápida de Fourier, cada una de las 5 series temporales en estudio ($QRS_{on}R(t)$, $RQRS_{off}(t)$, $QRS_d(t)$, $RR(t)$ y $RpAmp(t)$) se interpoló utilizando *splines cúbicas*. Las figuras 5.11 y 5.12 muestran la interpolación realizada en fragmentos de 2 minutos de señal sobre las series $RR(t)$ y $QRS_d(t)$ respectivamente.

El método de las splines cúbicas es un tradicional método de interpolación utilizado en series de datos no equiespaciadas. Está basado en la construcción de un polinomio de orden tres que permite solución simple y de fácil aplicación. Provee una interpolación *suave* entre los datos de la serie, como puede apreciarse en las figuras 5.11-5.12.

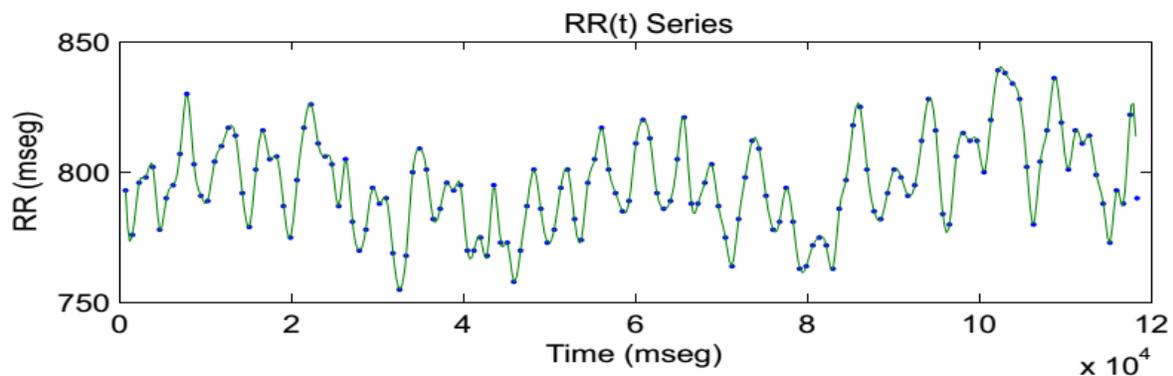


Figura 5.11. Interpolación utilizando el método de splines cúbicas sobre la señal $RR(t)$ durante 2 minutos de duración de la misma. Los puntos en azul representan las muestras iniciales. En verde, la interpolación realizada entre dichos puntos muestrales.

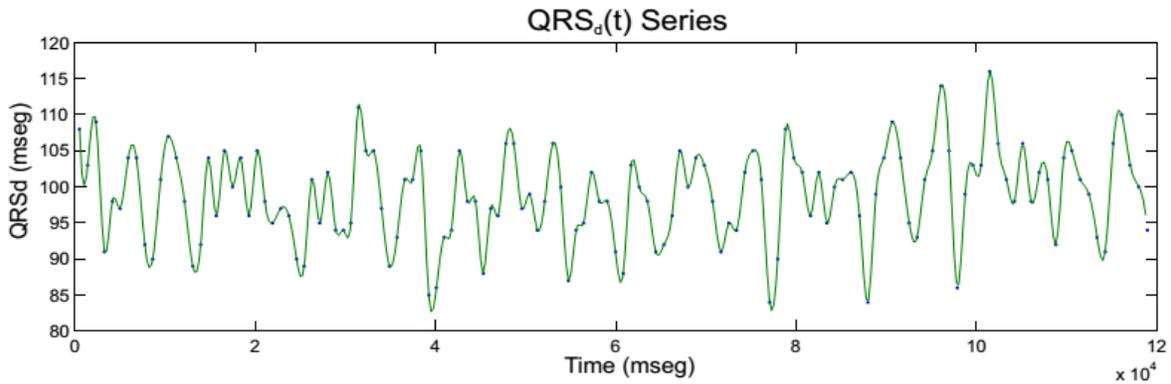


Figura 5.12. Interpolación utilizando el método de splines cúbicas sobre la señal $QRS_d(t)$ durante 120 segundos de duración de la misma. Los puntos en azul representan las muestras iniciales. En verde, la interpolación realizada entre dichos puntos muestrales.

Las señales interpoladas fueron finalmente remuestreadas a 4 Hz. De esta manera las muestras de las SDECG se encuentran equiespaciadas previamente a la aplicación del convencional procedimiento de FFT. Por lo general, en la gran mayoría de las publicaciones científicas se remuestrea las SDECG entre 2-4 Hz (aunque 1hz y 10 Hz también son frecuencias utilizadas) [46]. Si bien la frecuencia cardíaca puede alcanzar los 3Hz (180 latidos por minuto), requiriendo así por el teorema de Nyquist un muestreo de la señal a 6 Hz, en el presente trabajo donde los registros utilizados pertenecen a individuos sanos o chagásicos (sin alteraciones cardíacas o siendo las mismas leves) con frecuencias cardíacas normales en reposo (~ 1 Hz, 60 lpm aprox), el remuestreo de la señal a una frecuencia de 4Hz resulta apropiado.

5.3.1.3. Cuantificación espectral

A cada una de las 5 SDECG luego de ser interpoladas y remuestreadas se les sustrajo el valor medio (media aritmética) y se las multiplicó por una ventana Hanning, para luego obtener el espectro mediante la transformada rápida de Fourier. Así, por ejemplo para la señal $QRS_d(t)$ la transformación fue:

$$QRS_d(f) = FFT((QRS_d(t) - mean(QRS_d(t)) * H(t))$$

Donde $H(t)$ representa una ventana simétrica Hanning dada por:

$$H[t] = \begin{cases} \frac{1}{2} \left[1 + \cos\left(\frac{\pi t}{L}\right) \right], & 1 \leq t \leq L \\ 0, & \text{con otro valor} \end{cases}$$

y L equivale a la cantidad de muestras presentes en la función interpolada.

Para cada una de las señales derivadas del ECG los espectros obtenidos fueron:

$$QRS_d(t) \xrightarrow{FFT} QRS_d(f)$$

$$QRS_{on}R(t) \xrightarrow{FFT} QRS_{on}R(f)$$

$$RQRS_{off}(t) \xrightarrow{FFT} RQRS_{off}(f)$$

$$RR(t) \xrightarrow{FFT} RR(f)$$

$$RpAmp(t) \xrightarrow{FFT} RpAmp(f)$$

Los tres intervalos espectrales (VLF [0-0.04 Hz], LF [0.04-0.15 Hz] y HF [0.15-0.4 Hz]) de cada una de las SDECG fueron aislados. Así, por ejemplo para la señal $QRS_d(f)$, la separación en intervalos de la información espectral resultó en las señales $|QRS_d(f)|_{VLF}$, $|QRS_d(f)|_{LF}$, y $|QRS_d(f)|_{HF}$, intervalos del espectro de la señal duración del complejo QRS en las bandas de muy baja frecuencia, baja frecuencia y alta frecuencia respectivamente. En la figura 5.13 se

aprecia el espectro de las series $RR(t)$ y $QRSd(t)$. Los intervalos espectrales se ilustran con distintos colores.

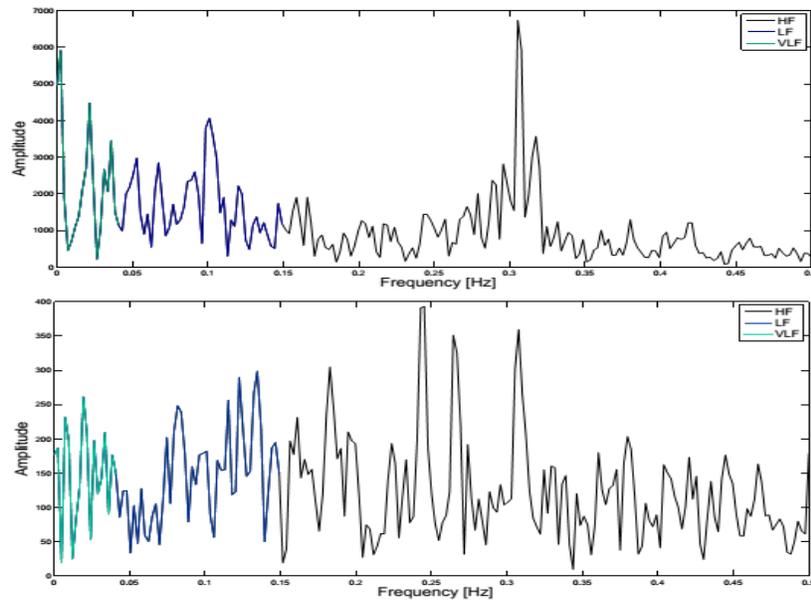


Figura 5.13. Arriba, la señal $RR(f)$. Abajo, la señal $QRSd(f)$. En ambas señales, los distintos intervalos espectrales se ilustran con colores.

Finalmente, las señales $QRSd(f)$, $QRSONR(f)$ y $RQRSoff(f)$ fueron correlacionadas en cada una de sus bandas espectrales con las señales $RR(f)$ y $RpAmp(f)$ en sus respectivas bandas utilizando el método de correlación de *Spearman* (CS) [74]. Estas dos últimas señales presentan, como se mostró en capítulos previos, una fuerte interacción de mecanismos fisiológicos, entre los que participa el proceso respiratorio. De esta manera, el método de *Spearman* permite cuantificar la influencia de dichos eventos fisiológicos sobre tres señales que representan la conducción del impulso cardíaco ($QRSd(t)$, $QRSONR(t)$ $RQRSoff(t)$). El coeficiente de correlación que se obtiene se encuentra normalizado de modo que nos permite contrastar la información obtenida para distintos registros en forma directa (el coeficiente obtenido varía en el intervalo $[-1,1]$). El método permite obtener un parámetro que caracteriza la influencia existente entre las dos señales en forma robusta frente a la presencia de *outliers* (datos atípicos) y siendo preferente cuando el tamaño de las muestras es pequeño [83]. Este fue el motivo de elección del CS descartando, entre otros, el tradicional coeficiente de correlación de *Pearson*. En la figura 5.14, pueden observarse los datos correlacionados de dos series temporales, en sus tres bandas utilizando el CS.

La expresión que permite correlacionar dos series de datos de un mismo tamaño utilizando el método de Spearman es:

$$CS_{i,g} = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{N(N^2 - 1)}$$

Donde $CS_{i,g}$ es el índice de correlación de Spearman para el individuo 'i' correspondiente al grupo de clasificación 'g', $d_{i,j} = x_{i,j} - y_{i,j}$, $x_{i,j}$ e $y_{i,j}$ son los espectros rankeados de las señales a correlacionar en una determinada banda de frecuencia y N es la cantidad de muestras presentes en dicho intervalo frecuencial.

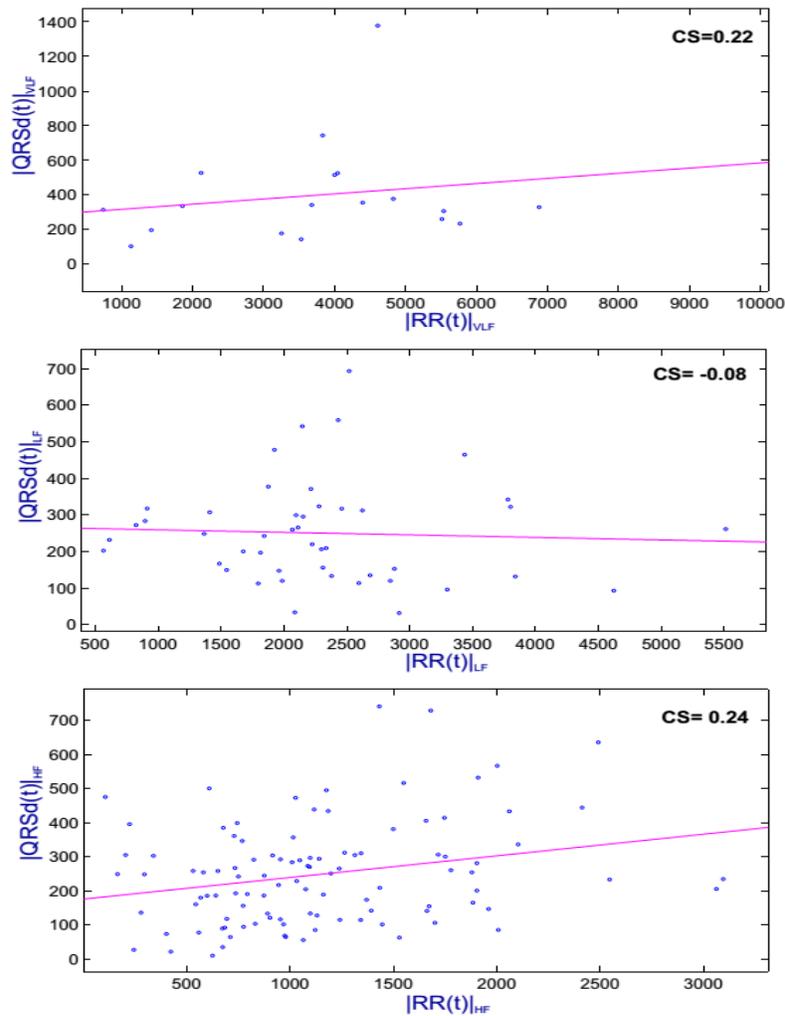


Figura 5.14. Correlación de dos señales (RR(t) vs QRSd(t)) en sus tres bandas frecuenciales. De arriba hacia abajo: VLF, LF, y HF.

De esta manera, por cada registro ECG se obtuvieron 18 parámetros correspondientes a los coeficientes de correlación de Spearman entre distintas SDECG en sus distintos intervalos de frecuencia, como se muestra en la tabla 5.4. Luego de procesar los 72 registros electrocardiográficos, se conformó una nueva base de datos con todos éstos parámetros utilizada en la búsqueda de diferencias entre los distintos grupos, control y chagásicos.

SEÑAL	Intervalo	$RR(f)$			$RpAmp(f)$		
		VLF	LF	HF	VLF	LF	HF
$QRSd(f)$	VLF	CS1	/	/	CS2	/	/
	LF	/	CS3	/	/	CS4	/
	HF	/	/	CS5	/	/	CS6
$QRSonR(f)$	VLF	CS7	/	/	CS8	/	/
	LF	/	CS9	/	/	CS10	/
	HF	/	/	CS11	/	/	CS12
$RQRSoff(f)$	VLF	CS13	/	/	CS14	/	/
	LF	/	CS15	/	/	CS16	/
	HF	/	/	CS17	/	/	CS18

Tabla 5.4. Parámetros obtenidos de un registro ECG a partir de la correlación de las bandas espectrales de distintas SDECG. CS=coeficiente de Spearman.

5.3.2. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se utilizó el lenguaje y entorno de programación R en su versión 3.0.0 (www.r-project.org) [81]. Para ello, los 18 parámetros de la base de datos de tabla 5.4 se analizaron estadísticamente en búsqueda de diferencias entre los distintos grupos, sanos y chagásicos. En base a la hipótesis propuesta, alteraciones en la modulación respiratoria del vector cardíaco debido a lesiones en el sistema de conducción del corazón podrían verse reflejadas en los CS obtenidos entre distintos espectros de SDECG de individuos chagásicos. Para cada coeficiente CS se realizó, en primera instancia, un diagrama de caja (boxplot) para visualizar la distribución de los datos entre los distintos grupos, como así también una tabla resumen de parámetros estadísticos. Mediante el diagrama boxplot es posible sospechar, en función de la superposición o solape de los mismos, la existencia de diferencias significativas entre los grupos analizados. De la misma manera, aquellos diagramas que se encuentren solapados entre los grupos permiten descartar de la variable en estudio pruebas de hipótesis posteriores, puesto que evidentemente no presentarán diferencias significativas ($p < 0.05$). Solamente para aquellas variables (CS) en las cuales se sospechó que podrían existir diferencias ($p < 0.05$) de grupo en grupo, se realizó un análisis estadístico exhaustivo utilizando modelos lineales.

Los modelos lineales para cada valor $CS_{i,j}$ observado fueron ajustados por medio del algoritmo de Mínimos Cuadrados Generalizados (GLS, del inglés 'Generalized Least Squares'), utilizando la librería de R *nlme* versión 3.1-113 [82]. GLS es una técnica matemática para estimación de parámetros en modelos lineales que permite modelar varianzas desiguales en las observaciones, es decir la presencia de *heterocedasticidad*. También suele utilizarse para estimar parámetros en los casos que existe algún tipo de correlación entre las observaciones. La utilización de dicha técnica se debe a que el método tradicional de Mínimos Cuadrados Ordinarios (OLS, del inglés 'Ordinary Least Squares'), utilizado para estimar parámetros de modelos lineales minimizando la suma de las distancias verticales entre las respuestas observadas de la muestra y las respuestas del modelo, asume previamente varianzas en los errores de tipo *homocedástica*, y la ausencia de correlación entre los errores. La presencia de heterocedasticidad en los datos observados se evaluó comparando un modelo que asume varianzas constantes (homocedasticidad) frente a un modelo que asume varianzas desiguales para distintos niveles de los grupos. La búsqueda de diferencias en un determinado

parámetro CS se realizó por medio de distintos modelos que utilizan diferentes combinaciones de los grupos clínicos (control y chagásicos):

A. Modelo Homocedástico (Modelo 1).

Considera un modelo lineal con varianzas constantes, de la forma

$$y_{ig} = \mu + \beta_g + \varepsilon_{ig}$$

Aquí, y_{ig} corresponde al valor $CS_{i,g}$ del sujeto identificado como 'i' correspondiente al grupo 'g', μ es la media general (constante e independiente del grupo de clasificación), β_g es el efecto esperado para el grupo 'g' y ε_{ig} es el error, el cual se asumió independiente de las observaciones y con distribución normal $\varepsilon_{ig} \sim N(0, \sigma^2 \mathbf{I})$ (\mathbf{I} se corresponde con la matriz identidad).

B. Modelo Heterocedástico.

Los modelos heterocedásticos propuestos responden a la misma expresión lineal asumida para el Modelo 1, pero con una estructura de errores ε_{ig} diferente. En el modelo homocedástico, la varianza σ se asumió igual para todas las observaciones. A diferencia de ello, aquí se consideró para la varianza un vector de varianzas dependientes de los grupos considerados. A modo de ejemplo, supongamos que cada uno de los grupos (0,H,I,II) posee una varianza característica propia. Los errores entonces toman la forma $\varepsilon_{ig} \sim N(0, \Sigma)$ donde $\Sigma = \mathbf{I} * \{\sigma_{k_1}, \dots, \sigma_{k_K}\}$, y donde k se define de acuerdo a la estructura de varianza asumida. En búsqueda del modelo más apropiado y que mejor ajuste los datos, diferentes estructuras de varianzas fueron consideradas y evaluadas.

Para evaluar si las observaciones de una variable $CS_{i,g}$ se comportaban de manera diferente entre los distintos grupos de individuos, se analizaron distintos escenarios posibles:

- Caso a) Aquí todos los grupos fueron evaluados, es decir $g = \{0, H, I, II\}$ con las siguientes estructuras de varianzas consideradas: $k = g = \{0, H, I, II\}$, $k = \{\text{Negativo}, I, II\}$ y $k = \{\text{Negativo y II}, I\}$, donde el término *Negativo* hace referencia al grupo control conjunto (Grupo 0 y Grupo H). Estos modelos se identificaron como Modelo 2, Modelo 3 y Modelo 4 respectivamente.

- Caso b) Aquí, se contrastó el grupo *Negativo* contra los grupos chagásicos I y II, resultando $g = \{Negativo, I, II\}$. Las estructuras de varianza consideradas fueron $k = g = \{Negativo, I, II\}$ y $k = \{Negativo y II, I\}$. Estos modelos fueron identificados como Modelo 2 y Modelo 3 respectivamente.
- Caso c) Aquí se contrastó el grupo control unificado (*Negativo*) frente al grupo de individuos chagásicos *Positivo* (grupos I y II conjuntos). De esta manera, $g = \{Negativo, Positivo\}$ y $k = g = \{Negativo, Positivo\}$. Este modelo se identificó como Modelo 2.

Para los distintos escenarios considerados, tanto el modelo homocedástico (Modelo 1) como los distintos modelos heterocedásticos fueron ajustados utilizando la técnica de Mínimos cuadrados Generalizados y, el modelo más apropiado se escogió utilizando los criterios de información de Akaike (AIC, del inglés 'Akaike Information Criterion'), Bayesiano (BIC, del inglés 'Bayesian Information criterion'), y el test de razón de verosimilitud (LRT, del inglés 'Likelihood Ratio Test'). La librería de R *nlme* versión 3.1-113 [82] se utilizó en todos los casos para contrastar los modelos y seleccionar el que resultara adecuado.

Los tests basados en información estadística, AIC y BIC, permiten escoger dentro de un conjunto de modelos que ajustan la muestra en estudio, aquel modelo más apropiado y que mejor se aproxima a la población desconocida, utilizando el logaritmo de la función verosimilitud y un término de penalización de los parámetros estimados en el modelo. Las expresiones para poder contrastar estos criterios son:

$$AIC = -2 * l + 2 * p$$

Y

$$BIC = -2 * l + \ln(n) * p$$

Donde ' l ' corresponde al logaritmo de la máxima verosimilitud (log-verosimilitud), ' n ' al tamaño de la muestra, y ' p ' corresponde al número de parámetros estimados en el modelo.

Una vez calculados los distintos criterios, la forma de proceder es similar tanto para AIC como para BIC: se escoge aquel modelo que minimiza el valor AIC (o BIC).

De manera distinta, el LRT permite determinar si dos modelos difieren significativamente entre sí ($p < 0.05$), abordando desde otra arista la elección de un determinado modelo. Para

ello, se requiere que los modelos a contrastar estén anidados, lo que implica un modelo de mayor complejidad que el otro y que el modelo más simple sea un caso o condición del modelo más complejo. Esto implica que uno de los dos modelos posea más parámetros que el otro, por lo que debería ajustarse mejor a los datos que el modelo con menor cantidad de parámetros. El test se calcula mediante la siguiente expresión:

$$LRT = -2\log\left(\frac{L_s}{L_c}\right)$$

donde L_s se corresponde con la función de verosimilitud del modelo restringido y L_c con la función de verosimilitud del modelo general o sin restringir.

La distribución de probabilidad del test estadístico puede ser aproximada mediante una distribución chi-cuadrada con grados de libertad gl equivalente a la diferencia en la cantidad de parámetros entre los dos modelos:

$$gl = gl_c - gl_s$$

De esta manera, obtenido LRT es posible obtener un p-valor para contrastarlo a un nivel de significancia α .

Para mayor información sobre los criterios de selección de modelos presentados en este capítulo, puede consultarse el Apéndice I.

En función del criterio AIC, BIC y el test de razón de verosimilitud se seleccionó aquel modelo que mejor ajusta los datos para, finalmente, contrastar los diferentes niveles ' g ' considerados previamente en búsqueda de diferencias estadísticas utilizando mínimos cuadrados.

Finalmente, se realizó un análisis de validación con el objetivo de evaluar si el modelo lineal escogido para el *caso c*) (Negativos vs positivos) y los parámetros estimados para el mismo pueden haber sido obtenidos por azar. Se llevó a cabo así un test de permutación del modelo seleccionado y se generó la distribución nula de los parámetros. Se estimó un modelo lineal con la misma configuración de parámetros (asumiendo misma configuración de media y varianza) a través de 1000 permutaciones de la base de datos. La distribución de los parámetros estimados se evaluó frente a la obtenida con el modelo previamente seleccionado (es decir, con los datos originales).

CAPÍTULO VI- Resultados. Parte I.

6.1 Boxplots.

Las figuras 6.1-6.6 muestran los boxplots obtenidos de los 18 coeficientes de Spearman calculados. En cada imagen es posible visualizar, además de los diagramas de caja, la distribución de datos entre los 4 grupos considerados (0, H, I, II).

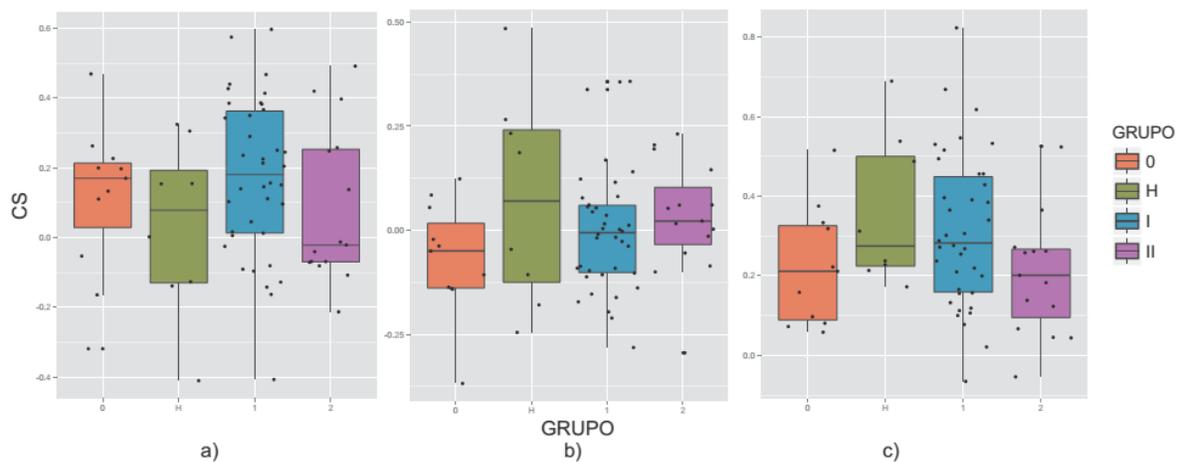


Figura 6.1. Boxplots de los índices de correlación de Spearman entre las señales $QRSonR(f)$ y $RR(f)$ en sus bandas VLF (a), LF (b), y HF (c).

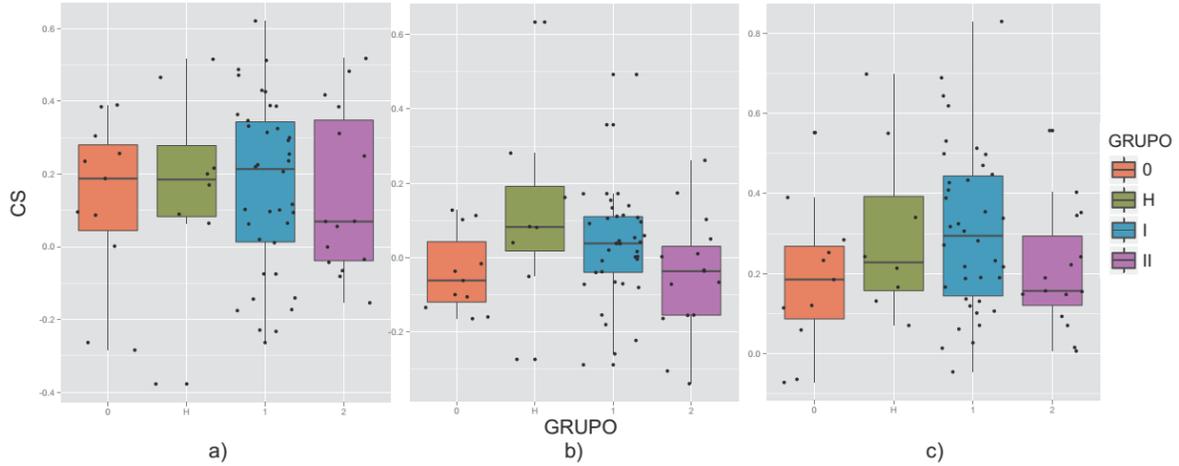


Figura 6.2. Boxplots de los índices de correlación de Spearman entre las señales $QRSonR(f)$ y $RpAmp(f)$ en sus bandas VLF (a), LF (b), y HF (c).

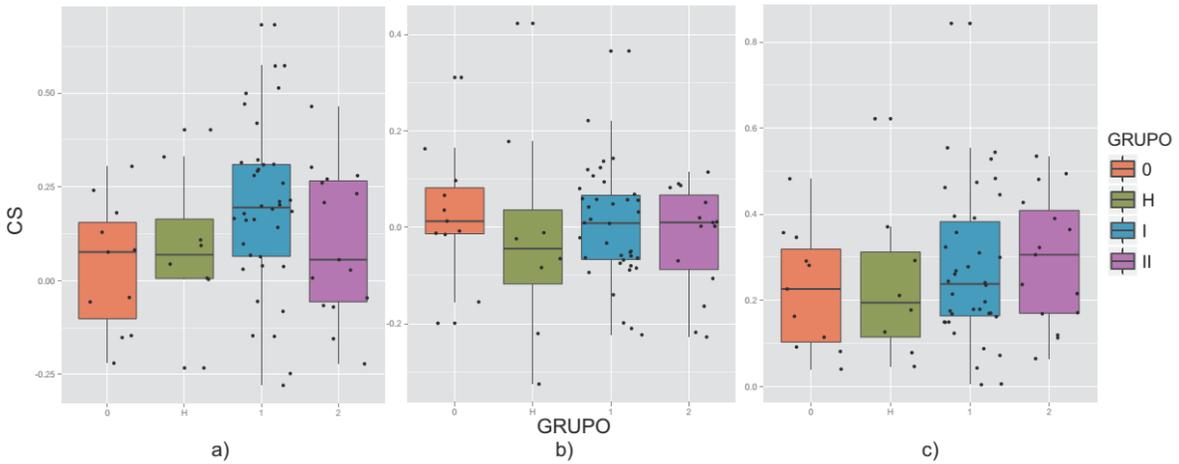


Figura 6.3. Boxplots de los índices de correlación de Spearman entre las señales $RQRsoff(f)$ y $RR(f)$ en sus bandas VLF (a), LF (b), y HF (c).

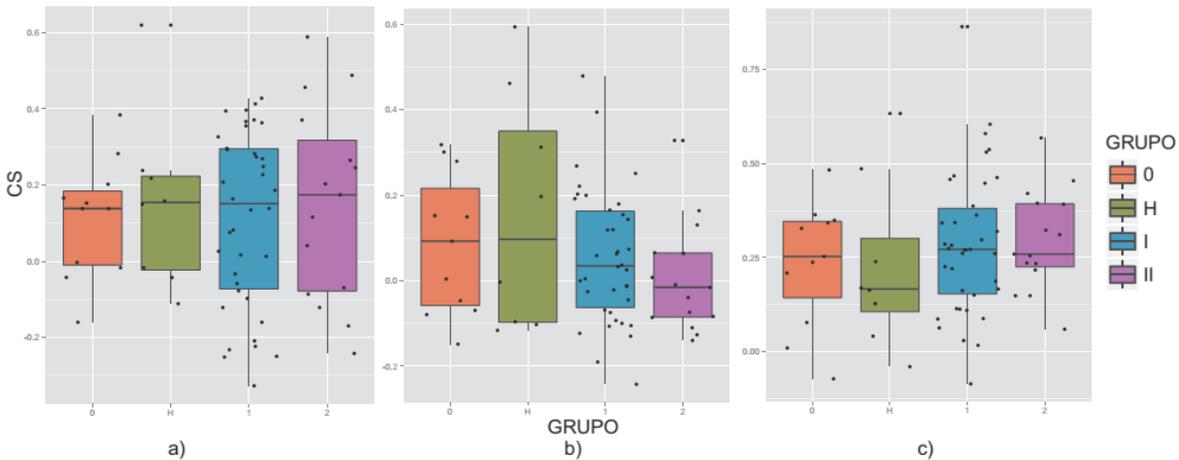


Figura 6.4. Boxplots de los índices de correlación de Spearman entre las señales $RQRsoff(f)$ y $RpAmp(f)$ en sus bandas VLF (a), LF (b), y HF (c).

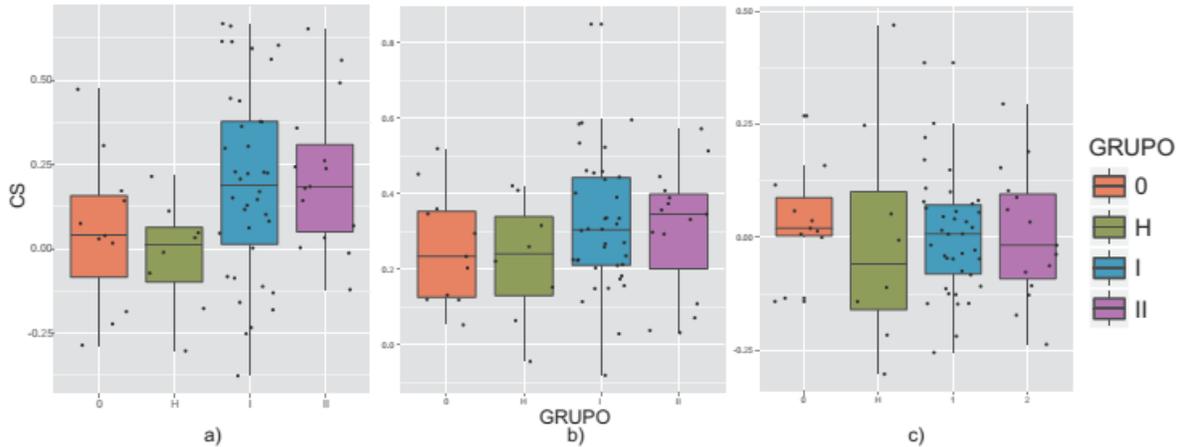


Figura 6.5. Boxplots de los índices de correlación de Spearman entre las señales $QRSd(f)$ y $RR(f)$ en sus bandas VLF (a), LF (b), y HF (c).

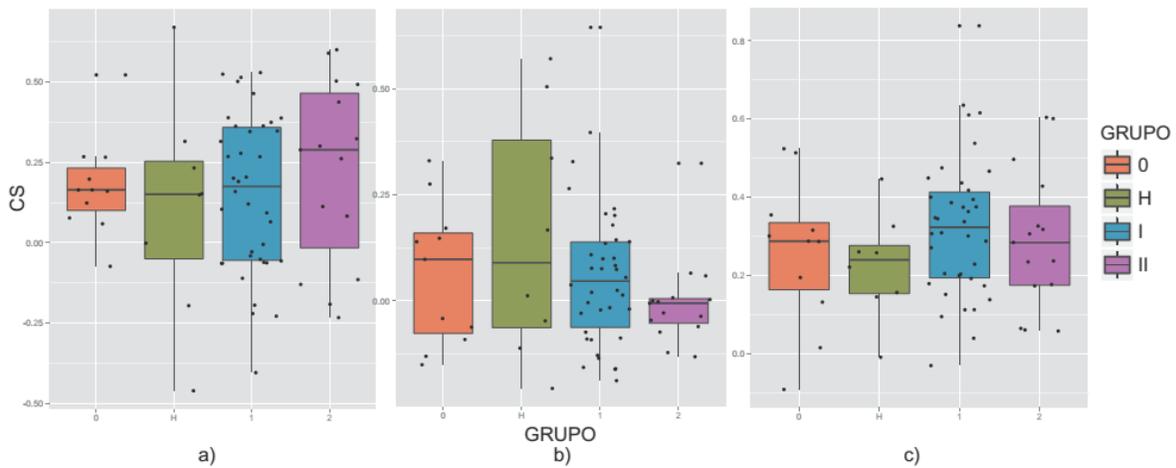


Figura 6.6. Boxplots de los índices de correlación de Spearman entre las señales $QRSd(f)$ y $RpAmp(f)$ en sus bandas VLF (a), LF (b), y HF (c).

6.2. Resultados del análisis estadístico.

En la gran mayoría de los diagramas (16/18) se observa solapamiento entre los distintos grupos considerados lo que sugiere ausencia de diferencias significativas entre los mismos, motivo por el cual no se decidió avanzar hacia el análisis estadístico propuesto en el capítulo anterior. Solamente los diagramas 6.3-a) y 6.5-a) permiten suponer diferencias entre los grupos por lo cual se realizó el análisis estadístico completo para estos coeficientes.

6.2.1. Análisis estadístico: CS entre $|RR(f)|_{VLF}$ y $|RQRSoff(f)|_{VLF}$.

El primer boxplot (6.3-a) sugiere que una prueba de hipótesis entre los sujetos con y sin ECh rechazaría el supuesto que las medias entre los grupos son equivalentes. Los individuos sin ECh (grupos 0 y H) muestran un patrón similar con un fuerte solapamiento de sus diagramas, que podría resultar estadísticamente diferente del grupo chágasico indeterminado (grupo I). Sin embargo, los individuos positivos (grupos I y II) no muestran así un patrón uniforme. El grupo II presenta un diagrama de caja que no diferiría de los grupos control.

Al analizar el escenario 'a' (todos los grupos considerados, es decir $g = \{0, H, I, II\}$) se hallaron diferencias significativas ($p < 0.05$) al contrastar los grupos control frente a los chágasicos indeterminados (0 vs I y H vs I). Sin embargo, el grupo chágasico II no presentó diferencias frente a los grupos control (0 vs II y H vs II $p\text{-valor} > 0.05$).

Adicionalmente, los p-valores fueron ajustados por múltiple comparación utilizando FDR (del inglés, 'False Discovery Rate'), es decir, la proporción de falsos positivos entre las hipótesis rechazadas de *Benjamini y Hochberg* [84]). Los p-valores ajustados por FDR permiten ser contrastados a un nivel de significación α en un modo más restrictivo que los p-valores sin ajustar. El motivo de su utilización es que en problemas de multiplicidad, como el aquí planteado, donde existen varias hipótesis independientes, tratar estas hipótesis individualmente puede aumentar la probabilidad global de error de Tipo I (falsos positivos) dando lugar a interpretaciones erróneas de las conclusiones obtenidas [85]. Es por este motivo que resulta necesario realizar algún tipo de corrección en la significación final obtenida. El resultado obtenido al contrastar los distintos grupos (0 vs I, 0 vs II, H vs I y H vs II) utilizando los p-FDR (p-valores ajustados mediante FDR), en cambio, permite aceptar las hipótesis nula ($p > 0.05$) descartando posibles diferencias significativas entre las medias muestrales de los grupos propuestos.

6.2.2. Análisis estadístico: CS entre $|\text{RR}(f)|_{\text{VLF}}$ y $|\text{QRSd}(f)|_{\text{VLF}}$.

A diferencia del caso anterior, el coeficiente de correlación de Spearman entre $\text{RR}(t)$ y $\text{QRSd}(t)$ en su banda espectral VLF (a partir de ahora denominado *CVLFI*) presenta, en los diagramas de caja, un patrón lógico que sugiere diferencias significativas entre los individuos con y sin ECh. Los grupos control (0 y H) poseen rangos en sus boxplot similares, y visualmente el solapamiento induce a pensar que no existiría diferencias entre ambos grupos. Lo mismo ocurre cuando se analizan los grupos chagásicos (I y II). Sin embargo, los diagramas de caja de los grupos control frente a los chagásicos sugieren posibles diferencias que deben ser analizadas estadísticamente.

En la tabla 6.1. se presenta el resumen estadístico de los CVLFI para cada uno de los grupos considerados.

	0	H	I	II	Neg	Pos
Min.	-0.286	-0.302	-0.377	-0.121	-0.302	-0.377
1er Qu.	-0.134	-0.097	0.014	0.052	-0.150	0.034
Mediana	0.035	0.012	0.189	0.185	0.032	0.185
Media	0.009	-0.019	0.196	0.219	-0.003	0.203
3er Qu.	0.126	0.064	0.378	0.310	0.103	0.377
Max.	0.306	0.216	0.668	0.653	0.306	0.668

Tabla 6.1. Estadística descriptiva de los valores CVLFI para cada uno de los grupos. Neg={0,H}; Pos={I,II}.

Adicionalmente, la figura 6.7 muestra el diagrama de caja y distribución de puntos para cada grupo. El boxplot sugiere algún nivel de heterocedasticidad (varianzas desiguales) entre los grupos.

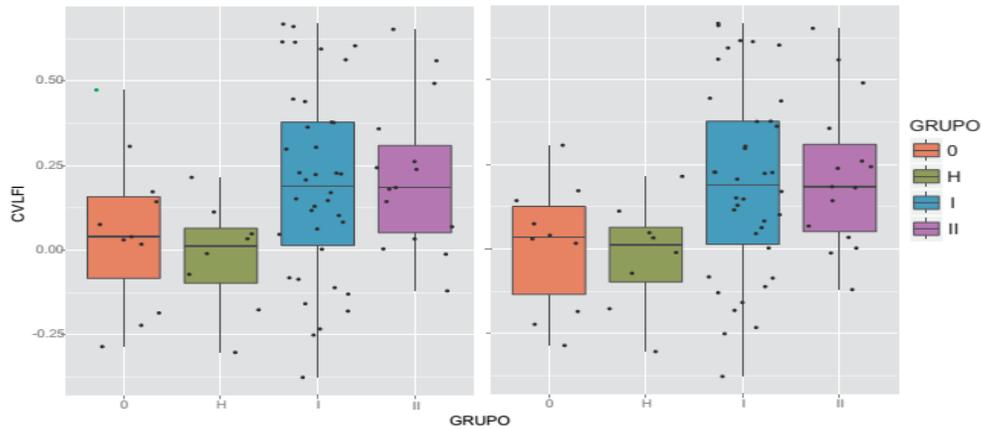


Figura 6.7. Boxplots de los valores CVLFI para cada uno de los grupos. Los grupos '0' y 'H' corresponden a sujetos no chagásicos, el grupo I a individuos con la forma indeterminada chagásica, y el grupo II a sujetos con Chagas con evidencias clínicas en el ECG convencional. En los diagramas es posible observar heterocedasticidad. A la izquierda, se muestran todos los datos obtenidos (incluido el sujeto n°2 en verde) mientras que a la derecha, todos los datos con excepción de los outliers removidos en el grupo 0.

En el diagrama de caja correspondiente al grupo control '0' se observa un valor CVLFI extremadamente alto comparado con el resto. Este coeficiente en particular, corresponde al sujeto identificado como N°2 en la base de datos 'CARACAS'. Fue considerado como un valor atípico y removido del grupo 0 en los análisis posteriores (ver figura 6.7). En la figura 6.8 es posible observar que este registro ECGAR posee un outlier en la banda espectral VLF de la señal RR(t) que tracciona fuertemente el coeficiente de correlación de Spearman.

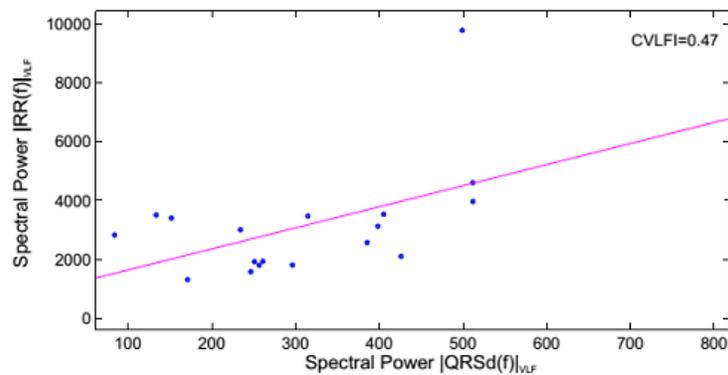


Figura 6.8. $|RR(f)|_{VLF}$ vs $|QRSd(f)|_{VLF}$ del registro correspondiente al sujeto N°2. Como puede observarse, el valor CVLFI obtenido está incrementado por la presencia de un valor atípico.

Caso a)

En esta situación se evalúa si los valores CVLFI pueden ser explicados a través de los distintos grupos y, a su vez, si el efecto de dichos grupos es estadísticamente diferente.

El modelo lineal considera para la variable de clasificación 'g' cuatro niveles: Grupos 0, I, II y H. A su vez, cuatro modelos con diferentes estructuras de varianza fueron evaluados. El último modelo considerado aquí (Modelo 4) asume que solamente el grupo I presenta varianza desigual, mientras que los grupos restantes presentan varianzas similares. Al comparar los distintos modelos propuestos se puede observar en tabla 6.2 que el criterio AIC favorece al modelo 4. Este modelo presenta, como se aprecia en tabla 6.3, diferencias estadísticas (LRT=0.049) frente al modelo 1 (homocedástico) y, en base al inferior valor obtenido en el criterio AIC y a la similitud encontrada en el valor obtenido del criterio BIC los resultados sugieren que el nivel de heterocedasticidad supuesto para el modelo 4 ajusta, entre los modelos propuestos, mejor los datos.

Modelo	gl	AIC	BIC	LogLik
1	5	24.14	35.16	-7.07
2	8	25.42	43.06	-4.71
3	7	24.19	39.63	-5.
4	6	22.27	35.50	-5.14

Tabla 6.2. Comparación de los Modelos 1 a 4 para el caso a). gl= grados de libertad. AIC: Criterio de información de Akaike. BIC: Criterio de información Bayesiano. LogLik: Log Likelihood.

Test de razón de verosimilitud (p-valor)			
Modelo	2	3	4
1	4.717 (0.194)	3.946 (0.139)	3.865 (0.049)
2		0.306 (0.58)	0.771 (0.379)
3			0.081 (0.776)

Tabla 6.3. Test de razón de LOG-verosimilitud al contrastar los distintos modelos propuestos. Entre paréntesis, pueden observarse los p-valores correspondientes.

Además, al analizar las gráficas de diagnóstico presentadas en la figura 6.9, puede observarse que el Modelo 1 no modela apropiadamente la distribución de los residuos (se observa algún nivel de heterocedasticidad). Sin embargo, este patrón desaparece al observar las gráficas correspondientes a los modelos 2, 3 y 4. Por ello, basado en los resultados de las tablas 6.2-6.3 como así también en la figura 6.9, se escogió el Modelo 4. El mismo sugiere que los grupos 0, II y H presentan la misma varianza mientras que, la varianza del grupo chagásico I difiere, siendo un 42% superior a la de los grupos restantes (figura 6.9).

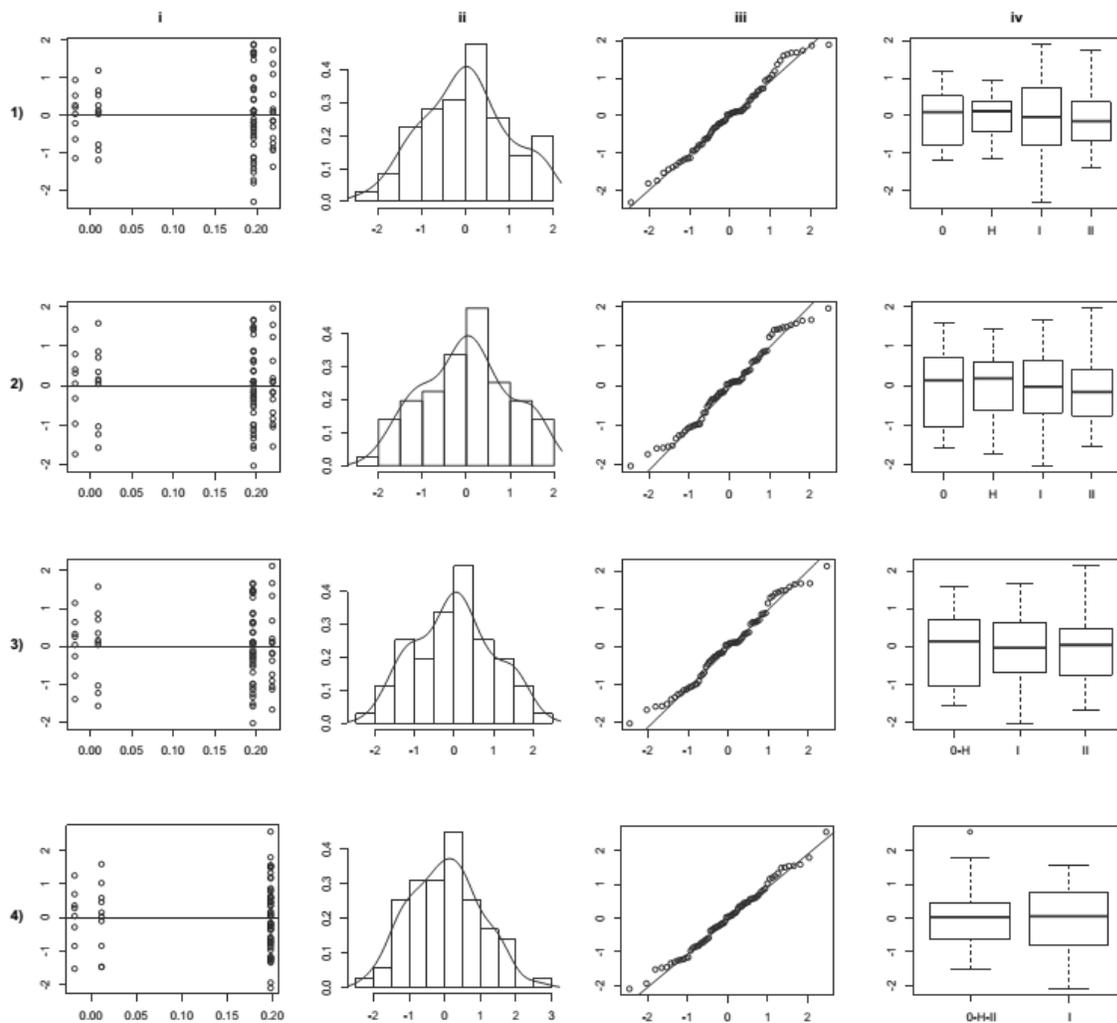


Figura 6.9. Gráficas de diagnóstico de los modelos 1, 2, 3 y 4 del caso a). Cada fila representa un modelo. i) Gráfico de residuos vs valores ajustados. ii) Histograma de distribución de los residuos. iii) Q-Q plot normal. iv) Residuos por grupo de varianza. En el Modelo 1, se observa que el grupo I presenta una varianza superior. Dicho modelo no presenta heterogeneidad.

Utilizando los coeficientes estimados con el Modelo 4, se analizó la diferencia de medias por mínimos cuadrados entre los distintos grupos. Al comparar los grupos de a pares, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los sujetos con y sin ECh (0 vs I, 0 vs II, H vs I y H vs II), como se observa en tabla 6.4. Además, los p-valores fueron corregidos utilizando FDR para múltiples comparaciones. Aún con un carácter más restrictivo, los grupos volvieron a presentar diferencias estadísticas entre sí ($p\text{-fdr} < 0.05$).

Grupos	Estimación	ES	p-valor	p-FDR
0 vs I	-0.18679051	0.07776372	0.0191	0.0286
0 vs II	-0.21011352	0.08119315	0.0118	0.0255
0 vs H	0.02784765	0.09433791	0.7688	0.7688
I vs II	-0.02332301	0.06876576	0.7355	0.7688
H vs I	-0.21463816	0.08388113	0.0128	0.0255
H vs II	-0.23796117	0.08706995	0.0080	0.0257

Tabla 6.4. Diferencias de medias por mínimos cuadrados entre los distintos grupos. Estimación: Diferencia de medias de mínimos cuadrados. ES: Error estándar. P-fdr: p-valor corregido por FDR para múltiples comparaciones.

Caso b)

En este escenario se compara el grupo Negativo (0 y H) frente a los grupos I y II, teniendo así tres niveles de la variable $g = \{Neg, I, II\}$ para los distintos modelos lineales. En este caso, se analizaron los modelos 1, 2 y 3. El modelo que mejor ajustó los datos fue el Modelo 3, asumiendo heterocedasticidad con una misma varianza para los grupos Negativo y II, y una varianza diferente para el grupo I. Este modelo presentó diferencias significativas frente al modelo homocedástico 1 ($p < 0.05$) y obtuvo mejores valores en los distintos criterios considerados (AIC, BIC y Log Likelihood) que los restantes modelos.

En este caso, los grupos chagásicos I y II fueron significativamente diferentes que el grupo Negativo ($p < 0.01$ para ambos casos). Sin embargo, no se encontraron diferencias al contrastar los grupo I y II ($p = 0.7$).

Un patrón de varianzas similar al observado para el caso a) se aprecia en este escenario (ver figura 6.10), donde el grupo I presenta una varianza 60% superior que la correspondiente al grupo *Negativo*.

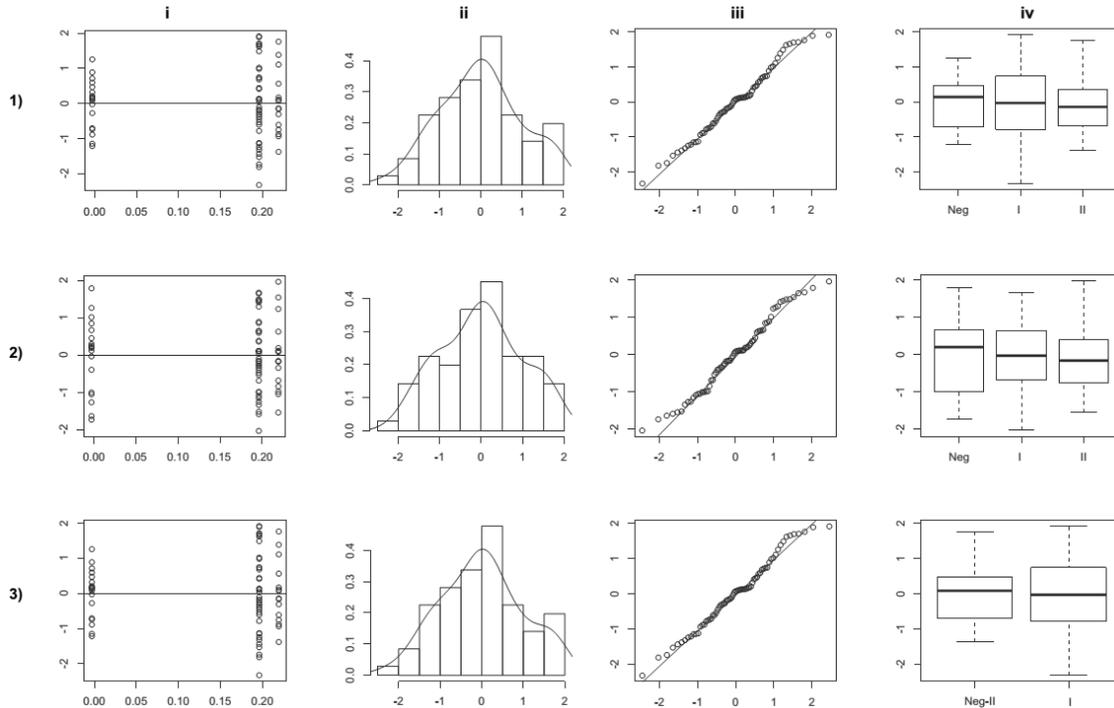


Figure 6.10. Gráficas de diagnóstico para los modelos del caso b). Cada fila corresponde a un modelo evaluado. i) Gráfico de residuos vs valores ajustados. ii) Histograma de distribución de los residuos. iii) Q-Q plot normal. iv) Residuos por grupo de varianza. En el Modelo 1, se observa que el grupo I presenta una varianza superior. Dicho modelo no presenta heterogeneidad.

Caso c)

Este caso considera solo dos niveles para la variable 'g': *Negativo* (0 y H) y *Positivo* (I y II). Se asemeja a una situación real donde solamente existen individuos con o sin enfermedad de Chagas.

En la tabla 6.5 se observan los resultados de los criterios de información de Akaike y Bayesiano para la selección de modelos, junto al test de razón de verosimilitud (LRT). El criterio AIC favorece fuertemente la selección del modelo 2, mientras que el BIC es similar en ambos modelos. Se observan, además, diferencias significativas en el LRT ($p=0.0471$) sugiriendo así que el modelo heterocedástico 2 ajusta mejor los datos, en comparación con el

modelo homocedástico. En la figura 6.11. pueden observarse las gráficas diagnósticas de ambos modelos.

Modelo	gl	AIC	BIC	LogLik	Test	
					LR	p-valor
1	3	14.499	21.201	-4.249	3.942	0.0471
2	4	12.557	21.493	-2.278		

Tabla 6.5. Comparación de modelos para el caso c). gl= grados de libertad. AIC: Criterio de información de Akaike. BIC: Criterio de información Bayesiano. LogLik: Log Likelihood. LR: Log Likelihood ratio (razón de verosimilitud)

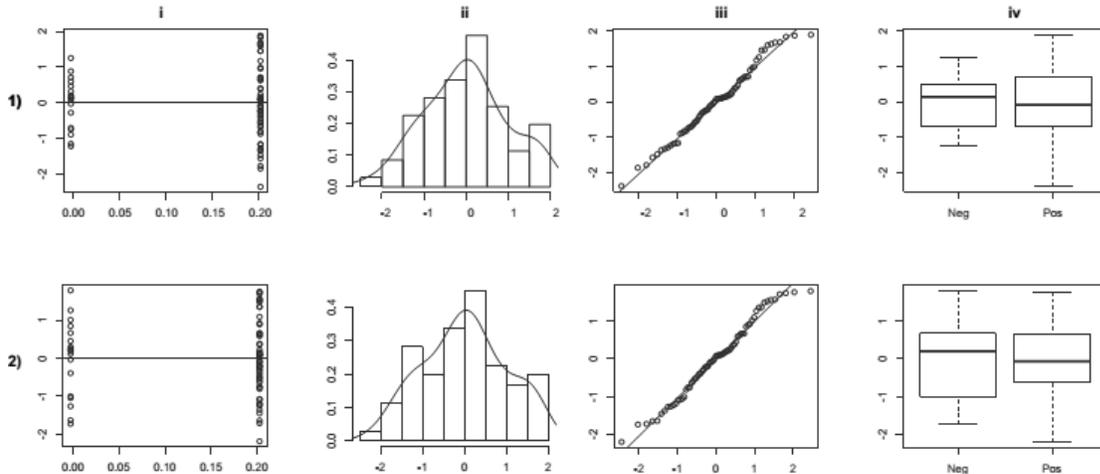


Figura 6.11. Gráficas diagnósticas para los modelos del caso c). i) Gráfico de residuos vs valores ajustados. ii) Histograma de distribución de los residuos. iii) Q-Q plot normal. iv) Residuos por grupo de varianza. En el Modelo 2, la gráfica de residuos muestra un mejor comportamiento del modelo 2. El modelo 1 no presenta heterogeneidad.

Finalmente, utilizando los coeficientes del Modelo 2, se encontraron diferencias significativas entre los grupos *Positivo* y *Negativo*. La estimación de mínimos cuadrados obtenida fue 0.2058 (error estándar, ES=0.0546) con un p-valor significativo de 0.0003.

6.2.2.1. Validación de los coeficientes del modelo.

En la figura 6.12 se aprecian los boxplots de las distribuciones nulas de los coeficientes del Modelo 2 para el caso c) (Negativos vs Positivos), como así también la diferencia de medias estimada por mínimos cuadrados. En rojo se observa el valor obtenido para los coeficientes del modelo con los datos originales (sin permutar). Los p-valores asociados para los coeficientes estimados con el Modelo 2 ajustados a los datos sin permutar fueron menores a 0.005 en todos los casos. El cálculo de p-valores se realizó utilizando la siguiente expresión:

$$p = \frac{\sum_{i=1}^{1000} I(\beta_g^*, \beta_g^i)}{1000}$$

donde $I \begin{cases} 1 & \text{si } \beta_{Negativo}^* < \beta_{Negativo}^i, \beta_{Diferencia}^* > \beta_{Diferencia}^i, \beta_{Positivo}^* > \beta_{Positivo}^i, \\ & 0 \text{ de otro modo} \end{cases}$

β_g^* es el coeficiente estimado para el grupo 'g' con los datos sin permutar y β_g^i es el coeficiente estimado para el grupo 'g' en la i-ésima permutación ($i = 1 \dots 1000$).

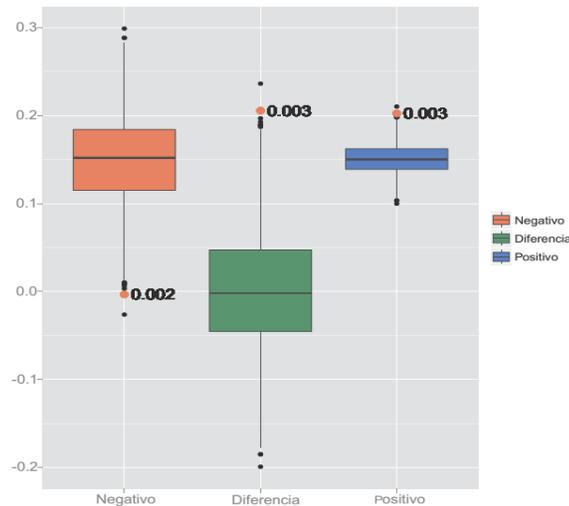


Figura 6.12. Distribución nula de los coeficientes del Modelo 2 (caso c). En rojo, los coeficientes β_g^* estimados con el Modelo 2 con los datos no permutados. También se muestran los p-valores obtenidos.

CAPÍTULO VII- Conclusiones. Parte I.

7.1. Conclusiones generales.

Los resultados del presente trabajo sugieren que en la forma indeterminada de la enfermedad de Chagas, principalmente, cierta información cardiofisiológica se revela en la señal del ECG que podría ayudar en la detección precoz de dichos sujetos. La estrategia de análisis estadístico propuesta aquí exhibe fuertes diferencias entre aquellos individuos con Chagas indeterminado y aquellos individuos no infectados. Más aún, estadísticamente se comprueba que los sujetos infectados con *T. Cruzi* que presentan algún tipo de manifestación cardíaca en los métodos diagnósticos, también presentan diferencias significativas al ser contrastados contra el grupo sano control. Los grupos seropositivos, así mismo, se comportan con un patrón esperable sin encontrarse diferencias estadísticas entre los grupos, de la misma manera que sucede con los grupos seronegativos (grupo control).

El presente trabajo, hasta donde el autor pudo indagar, es el primero en exhibir evidencias robustas de alteraciones cardíacas tempranas en la forma indeterminada de la ECh mediante un método electrocardiográfico. Previamente, utilizando las pendientes del QRS se habían encontrado débiles relaciones entre individuos con CI y sujetos sanos que marcarían algún tipo de diferencia entre dichos grupos [68]. Sin embargo, dichos resultados no fueron sometidos a pruebas estadísticas adecuadas. En el presente trabajo, se demuestra que un análisis estadístico en profundidad, utilizando modelos estadísticos apropiados permite validar los resultados obtenidos.

El coeficiente de Spearman que presenta diferencias entre grupos, CVLFI, impulsa la búsqueda de métodos basados en dicho parámetro que permitan clasificar individuos infectados de aquellos sanos. Si bien se evidenciaron diferencias, sería interesante conocer en qué medida puede utilizarse CVLFI como herramienta diagnóstica complementaria. ¿Qué criterio basado

en este parámetro podría ser útil? ¿Qué tan certero sería a la hora de detectar un sujeto enfermo?

7.2. Conclusiones Específicas.

De los 18 coeficientes de Spearman evaluados, el único que mostró diferenciarse entre grupos chagásicos y sanos, corresponde al obtenido entre los intervalos de muy baja frecuencia entre la señal VRC y una señal que describe la propagación del potencial de acción (QRSd(t)). Bajo la hipótesis aquí planteada, la modulación respiratoria descrita sobre estas dos señales podría resultar alterada en individuos chagásicos y reflejarse en el análisis aquí empleado. **Si bien se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos, no es posible atribuir dichos resultados a los efectos de la respiración sobre ambas señales.** En primer lugar, la banda espectral de muy baja frecuencia VLF es, hasta el momento, muy controversial en cuanto al contenido fisiológico que representa. Se han descrito varios mecanismos reguladores que podrían participar en su modulación, entre los cuales se encuentra la mecánica respiratoria. Se sugirió que la VRC y una señal derivada de pendientes del QRS, similar a la QRSd(t) derivada en este trabajo, estarían cercanamente relacionadas a causa de la respiración, en forma lineal. Sin embargo, sería inapropiado asegurar que los resultados aquí expuestos son consecuencia de alteraciones en la modulación respiratoria en sujetos chagásicos ya que, en este trabajo, no se aísla la información respiratoria de los demás mecanismos regulatorios. En segundo lugar, si consideramos que los resultados obtenidos son consecuencia de modificaciones en la modulación respiratoria del latido cardíaco, podríamos esperar encontrar un efecto similar en otras bandas frecuenciales, también influenciadas por la respiración. En particular, la banda de alta frecuencia HF; la misma resguarda predominantemente información respiratoria por sobre otras interacciones fisiológicas, y es sin lugar a dudas, la banda más influenciada por los procesos inspiratorio-expiratorio. No obstante, no se encontró diferencia alguna mediante el método propuesto, lo que también nos induce a rechazar la hipótesis de que las alteraciones se deban a influencias respiratorias.

A pesar de lograr diferenciar grupos con y sin ECh, no es posible determinar el fenómeno cardio-fisiológico aquí subyacente. Los resultados encontrados impulsan nuevas búsquedas en materia fisiológica que permitan acercarse a nuestros resultados. El conocimiento preciso de la fisiología implicada permitirá, a futuro, mejorar el método propuesto y buscar nuevos parámetros de cuantificación del fenómeno.

7.3. Limitaciones.

La estrategia estadística empleada nos indica que sujetos chagásicos y sanos se comportan de manera diversa cuando se cuantifica CVLFI. Sin embargo, el presente trabajo no brinda información sobre dichos coeficientes en otras patologías cardíacas. Ello requiere la utilización de nuevas bases de datos registradas con señales de alta resolución, que permitan utilizar el algoritmo aquí propuesto. De esta manera, se podría conocer si el fenómeno descrito es compartido con otras patologías del corazón.

Otra limitación del presente trabajo, es que no se han logrado validar los resultados con otras bases de datos ECGAR de sujetos con enfermedad de Chagas. Desafortunadamente, sólo se ha utilizado la base de datos 'CARACAS'. En buscadores web de artículos científicos recientes, no se han encontrado bases de datos alternativas de características similares (alta resolución con derivaciones ortogonales). No obstante, el uso de la base de datos local BDMG de sujetos sanos, presentó un comportamiento similar al grupo también control de la base de datos de Chagas, al compartir el rango de los valores CVLFI obtenidos. Desde este punto de vista, los resultados son alentadores y sugieren que el método es apropiado y los resultados reproducibles.

CAPÍTULO VIII- Metodología diagnóstica.

8.1. Introducción.

A pesar de que los tests serológicos convencionales utilizados para evidenciar la presencia del *T. Cruzi* en sangre poseen alta sensibilidad-especificidad, ninguno de ellos puede asegurar un diagnóstico de la ECh por sí solo, requiriéndose al menos dos métodos serológicos (algunos autores consideran tres) para confirmar un caso de infección. Considerando que los requerimientos técnicos y protocolos necesarios para llevar a cabo estas pruebas de laboratorio no siempre se encuentran disponibles o son difíciles de emplear en regiones principalmente endémicas, y que en los países no endémicos el desconocimiento y falta de sistematización en la aplicación de dichos protocolos dificultan la detección de sujetos seropositivos, es necesario el desarrollo de nuevos dispositivos diagnósticos portátiles, no invasivos, de fácil uso y rápida respuesta que ayuden en la detección del Chagas.

Particularmente, durante la forma indeterminada de la enfermedad, los individuos son difícilmente diagnosticados y son causantes, de acuerdo a *Fabrizio y otros* [63], de la gran mayoría de los nuevos contagios por mecanismos no vectoriales. Esto se debe, en parte, a que no se han logrado evidenciar indicadores de progresión desde la forma indeterminada hacia una de las formas sintomáticas que ayuden en la detección precoz de la enfermedad, evitando daños orgánicos/sistémicos irreversibles como así también la diseminación del *T. Cruzi*.

Desde este punto de vista, **el desarrollo de herramientas diagnósticas portátiles que puedan revelar algún tipo de evidencia de la enfermedad es altamente deseado**, posibilitando la posterior confirmación de la infección mediante métodos más precisos y complejos.

Como se mostró en el capítulo previo, mediante el ECG de alta resolución es posible extraer cierta información sobre la enfermedad en sus etapas tempranas. En esta sección, motivada por los hallazgos del capítulo previo, se desarrolla una prueba diagnóstica que podría complementar los tests de laboratorio convencionales.

8.2. Desarrollo de una regla de decisión.

El objetivo aquí planteado, consiste en la propuesta y desarrollo de una metodología de detección precoz de sujetos con Chagas indeterminado, utilizando la base de datos de valores CVLFI obtenidos y evaluados en secciones anteriores.

Así, el criterio de decisión que se emplee podría utilizarse como herramienta diagnóstica complementaria: sin ser capaz de confirmar la presencia de *T. Cruzi* (es decir la *infección*, que solamente se confirma por análisis de laboratorio) en un individuo, pero funcionando como herramienta pre-diagnóstica que guíe la realización de futuros estudios serológicos en individuos potencialmente enfermos. Recordemos que en regiones endémicas, el Chagas de transmisión vectorial tiene lugar en regiones principalmente rurales, donde los análisis serológicos para confirmar infecciones requieren extracciones y transporte de sangre, suministro energético no siempre disponible, el análisis de las muestras en laboratorios con infraestructura apropiada, siendo procesos costosos y que demandan mucho tiempo. Por otro lado, en regiones no-endémicas y áreas urbanizadas los mecanismos de transmisión no-vectoriales propagan la infección, principalmente a través de los individuos que presentan la forma indeterminada. Así, un cribado rápido, no invasivo, portátil, de bajo coste tiene implicancias positivas al detectar la infección en un estadio donde la cura es aún posible y donde no existen lesiones orgánicas y sistemas irreversibles, como así también al evitar la propagación del *T. Cruzi* principalmente mediante la transfusión sanguínea y/o transplacentaria.

El desarrollo de un método diagnóstico implica considerar el *caso c)* de la sección 5.3.2 (capítulo V), en el cual se habían considerado solo dos grupos de sujetos: *Negativo* y *Positivo*. Este escenario, es el que afrontaría una situación real, a partir del cual deseáramos conocer un criterio que nos indique si un individuo está potencialmente infectado o no. A partir de este caso, se realizó un análisis de curva ROC (del inglés, '*Receiver Operating Characteristic*') en el que se buscó determinar un valor o nivel umbral de clasificación de sujetos en Chagásicos (positivos) o no chagásicos (negativos), utilizando el parámetro CVLFI.

Las curvas ROC se utilizan frecuentemente en medicina para conocer el rendimiento de distintas pruebas diagnósticas, es decir, su capacidad discriminativa para clasificar correctamente a individuos en categorías o estados (en este caso, *positivos* o *negativos*). En este tipo de problemas se presentan dos tipos de error: i) Aquel que se comete cuando a un

individuo negativo se lo clasifica erróneamente como positivo, y ii) el error que se comete cuando a un individuo positivo se lo clasifica como negativo. A partir de estos errores, se definen *Sensibilidad* (proporción de individuos positivos clasificados correctamente como positivos) y *especificidad* (proporción de individuos negativos clasificados correctamente como negativos) [86]. Así, una buena herramienta diagnóstica maximizaría sus valores de sensibilidad (SE) y especificidad (SP), de modo tal de clasificar correctamente todos los sujetos. La tabla 8.1 se conoce como matriz de confusión y muestra los distintos posibles tipos de clasificación.

		Diagnóstico Verdadero		
		Positivo	Negativo	TOTAL
Resultado del Test	Positivo	Verdadero Positivo (VP)	Falso Positivo (FP)	VP + FP
	Negativo	Falso Negativo (FN)	Verdadero Negativo (VN)	FN + VN
TOTAL		VP + FN	FP + VN	

Tabla 8.1. Matriz de confusión.

La SE y SP que caracteriza un método diagnóstico, junto a los parámetros *Valor predictivo positivo* (PPV, del inglés ‘Positive predicted value’), *Valor predictivo negativo* (NPV, del inglés, ‘Negative predicted value’) y *precisión* (ACC, del inglés, ‘Accuracy’) que se derivan de la matriz de confusión se resumen a continuación:

Sensibilidad $SE = \frac{VP}{VP+FN} \%$

Especificidad $SP = \frac{VN}{VN+FP} \%$

Valor predictivo positivo $PPV = \frac{VP}{VP+FP} \%$

Valor predictivo negativo $NPV = \frac{VN}{VN+FN} \%$

Precisión (o exactitud) $ACC = \frac{VP+VN}{VP+FN+FP+VN} \%$

Es necesario considerar, no obstante, el criterio elegido como *punto de corte*. Este valor modifica los parámetros SE y SP en función del valor considerado debido a que, si bien en el mejor de los casos todos los individuos serían correctamente clasificados, es habitual que exista superposición entre los valores de los distintos grupos, requiriéndose encontrar aquel umbral de clasificación óptimo. Desde este punto de vista, la curva ROC provee el espectro completo de puntos de corte posibles representado en un sistema de coordenadas *SE vs SP* [86], en un rango de clasificación que varía en detectar correctamente el 100% de los sujetos negativos frente a la correcta detección del 100% de los sujetos positivos.

El nivel de corte se seleccionó, en el presente trabajo, aplicando un método descrito en *Fernández y otros* [88], el cual selecciona el punto óptimo de corte teniendo en cuenta la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. El método se basa en la distancia Euclídea al nivel óptimo de corte que maximiza SE, SP, PPV, NPV. Estos cuatro índices, definen así el espacio de cuarta dimensión {SE, SP, PPV, NPV}. En un método ideal, se espera que los cuatro parámetros alcancen un valor del 100%. Por ello, aquí la distancia Euclídea se utilizó para encontrar el punto de corte óptimo en este espacio dimensional, que más se aproxima al punto ideal definido (SE=100%, SP=100%, PPV=100%, NPV=100%).

Para cada punto de corte, se mide la distancia del mismo al punto ideal mediante la expresión:

$$D_i = \sqrt{(SE_i - 100)^2 + (SP_i - 100)^2 + (PPV_i - 100)^2 + (NPV_i - 100)^2}$$

donde 'i' representa los distintos puntos de corte. Aquel punto que minimiza la distancia D, fue seleccionado como punto de corte óptimo obteniendo el mejor rendimiento en términos del espacio de cuarta dimensión considerado.

Definido el umbral de corte, la regla de decisión propuesta es de la forma:

$$IF CVLFI \leq \text{Umbral de corte} THEN \text{Negativo} ELSE \text{Positivo} \quad (R1)$$

La cual implica que para valores CVLFI iguales o por debajo del nivel de corte, el sujeto evaluado se considerará negativo (no chagásico), y si su valor CVLFI se encuentra por encima, se considerará positivo (chagásico).

8.3. Análisis de validación.

Adicionalmente, se realizó un análisis de validación de los resultados utilizando distintas estrategias:

- a) El punto de corte para la regla de decisión (R1) se estimó selectivamente removiendo de la base de datos los distintos grupos (0, H I, II). Por ejemplo, al removerse el grupo control H, el punto de corte se estimó utilizando el grupo 0 como *Negativo* y los grupos I y II como *Positivo*. Dicho punto de corte se empleó en la regla de decisión propuesta (R1) y se aplicó sobre el grupo removido (en este caso, el grupo H). De la misma manera se procedió descartando los grupos restantes.
- b) Para la validación del análisis de curvas ROC, se utilizó la librería de R *ROCR* versión 1.0-5 [89]. Se generaron 1000 curvas ROC permutadas como así también las distribuciones nulas de las áreas bajo las curvas ROC (AUC, del inglés, 'Area under curve'), en forma similar a la descrita previamente para la evaluación de los parámetros del modelo lineal. La distribución de cada punto en la curva ROC se comparó frente a la obtenida en la regla de clasificación sin permutar.

CAPÍTULO IX- Resultados. Parte II.

9.1. Clasificación de sujetos Negativos y Positivos (CI).

Se desarrolló una regla de decisión simple con el objetivo de clasificar sujetos chagásicos (Positivos) de aquellos no-chagásicos (Negativos), basada en los valores CVLFI obtenidos. El punto de corte (valor umbral) establecido como criterio de decisión se estableció por medio del análisis de curvas ROC. Luego, los distintos sujetos (en base a CVLFI) fueron clasificados utilizando la regla:

$$IF CVLFI \leq \text{Umbral de corte THEN Negativo ELSE Positivo} \quad (R1)$$

Para nuestra base de datos, el punto de corte obtenido fue CVLFI=0.08359 al utilizar los grupos Positivo (Grupos I y II) y Negativo (Grupos 0 y H). Al aplicar este umbral de corte en la regla de decisión R1, se obtuvo la matriz de confusión representada en Tabla 9.1. A partir de esta tabla se puede observar que un ~68% de sujetos positivos fueron efectivamente identificados como positivos, con un ~88% de confianza (PPV). Al analizar el grupo de individuos negativos, solo un ~28% de los mismos fueron clasificados como chagásicos. Éste ultimo resultado implica que a un ~28% de sujetos sanos se les pediría una prueba serológica para comprobar infección con *T. Cruzi* de manera innecesaria. Por otro lado, se observa que un ~32% de los sujetos chagásicos resultan mal clasificados.

		Diagnóstico Verdadero		
		Positivo	Negativo	
Resultado del Test	Positivo	36	5	PPV=87.8%
	Negativo	17	13	NPV=43.3%
		SE=67.9%	SP=72.2%	

Tabla 9.1. Matriz de confusión obtenida al aplicar el umbral de corte CVLFI=0.08359 en la regla de decisión (R1) para la clasificación de sujetos Positivos (Grupos I y II) vs Negativos (Grupos 0 y H).

Debido a que nuestro principal objetivo en el presente trabajo es la identificación mediante registros ECGAR de sujetos chagásicos presentando la forma indeterminada de la enfermedad, el umbral de corte se estimó removiendo el grupo II del análisis (sujetos chagásicos con manifestaciones en el ECG convencional notoriamente observables) y aplicando el umbral CVLFI obtenido en la regla de decisión R1. El resultado obtenido fue un valor CVLFI=0.08359, exactamente igual al obtenido previamente al considerar el grupo II en el análisis. Los resultados obtenidos al clasificar individuos chagásicos (indeterminados) y sujetos sanos se resumen en la tabla 9.2. Aquí, la metodología propuesta alcanza una precisión del 70% obteniéndose resultados similares a los obtenidos en la tabla 9.1. Se observa que nuevamente un ~32% de los sujetos chagásicos indeterminados no resultan diagnosticados, y que en un ~28% de los sujetos sanos se pediría innecesariamente un análisis serológico.

		Diagnóstico Verdadero		
		Positivo	Negativo	
Resultado del Test	Positivo	26	5	PPV=83.8%
	Negativo	12	13	NPV=52.0%
		SE=68.4%	SP=72.2%	

Tabla 9.2. Matriz de confusión cuando se aplica el umbral de corte CVLFI en la regla R1 para clasificar sujetos chagásicos (indeterminados) frente a sujetos sanos.

9.2. Validación y evaluación de la robustez de la regla de decisión.

Para evaluar la robustez de la regla de decisión R1, se repitió el proceso anterior eliminando el grupo H del análisis y luego eliminando el grupo 0. La estimación de umbral de corte sin el grupo H arrojó un CVLFI=0.0835 (como los obtenidos anteriormente), y el 75% (6 sujetos de

8) de los individuos fueron correctamente clasificados como negativos. Cuando se removió el grupo 0 del análisis, el umbral CVLFI obtenido fue de 0.0629, alcanzando un 60% de clasificaciones correctas.

Adicionalmente, un test de permutación se realizó para evaluar si el rendimiento de la curva ROC (utilizando todos los sujetos) pudo ser obtenido en forma azarosa. Para ello, se realizaron mil (1000) análisis ROC permutados. La figura 9.1 muestra, en rojo, la curva ROC obtenida con los datos sin permutar. Además, se observan los boxplots obtenidos con los datos permutados para cada punto de corte. Es posible apreciar que la curva ROC obtenida con los datos sin permutar se encuentra siempre por encima del percentil de 75% para todos los puntos de corte. Este último resultado sugiere que la curva ROC de los datos sin permutar no pudo ser obtenida por azar.

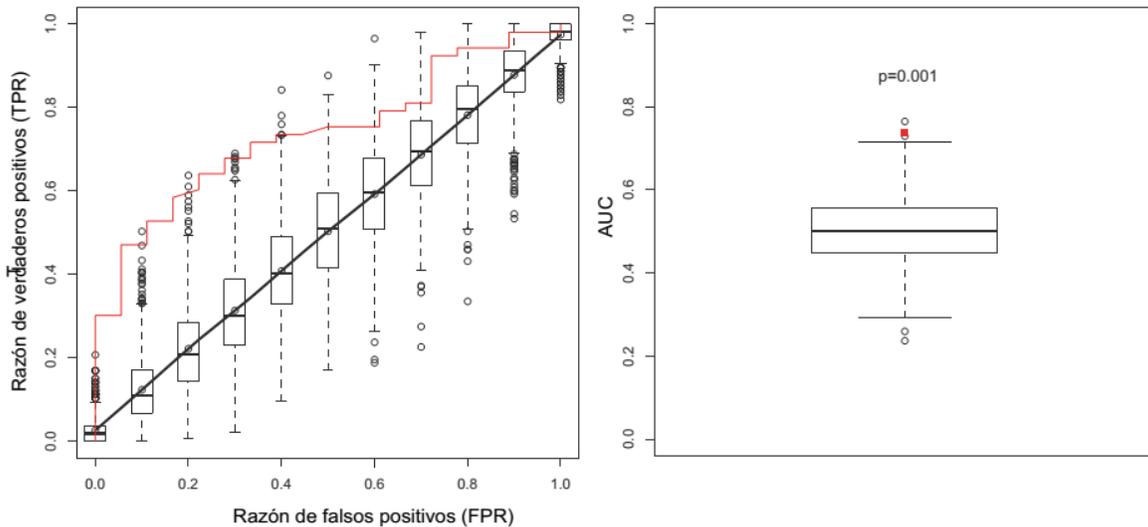


Figura 9.1. Análisis ROC, validación de la curva ROC y área bajo la curva (AUC). Los boxplots muestran las distribuciones nulas. En rojo, la curva y AUC obtenido con los datos originales (sin permutar).

CAPÍTULO X. Conclusiones. Parte II.

10.1. Conclusiones generales

En este trabajo se presenta, por primera vez una regla de decisión simple capaz de detectar sujetos asintomáticos sufriendo la forma indeterminada de la enfermedad de Chagas, de sujetos cardiológicamente sanos no infectados. El método propuesto se basa en la evaluación del coeficiente de correlación de Spearman obtenido a partir de las bandas espectrales de muy baja frecuencia de dos señales derivadas del ECG: la variabilidad del ritmo cardíaco, y una señal derivada del ancho de complejos QRS, obtenidas a partir de registros de alta resolución en sus derivaciones ortogonales. Por medio de este método, es posible identificar el 68.4% de los individuos que presentan la forma chagásica indeterminada, con una especificidad del ~72%, y valores predictivos del ~84% y 52% (positivo y negativo respectivamente). Los análisis de validación realizados respaldan los resultados obtenidos, sugiriendo que el patrón diagnóstico no es un resultado azaroso. Además, los sujetos analizados de la base BDMG (sanos) se comportaron en forma similar a los sujetos sanos de la base 'CARACAS', obteniendo salidas del test similares en rango y sin presentar diferencias significativas. Este abordaje también permite respaldar los resultados, sugiriendo reproducibilidad del experimento.

Actualmente, los métodos electrocardiográficos no permiten revelar información sobre la forma indeterminada de la enfermedad y, de acuerdo a *Lescure y otros* [57] no existen indicadores de progresión desde el Chagas indeterminado hacia alguna de las formas sintomáticas determinadas. No obstante, en diversos estudios realizados en biopsias miocárdicas de sujetos con CI, se encontró que los mismos presentaban lesiones focales microscópicas [92]. Desde este punto, es necesario destacar que aun existiendo alteraciones electrofisiológicas en células cardíacas, el ECG convencional solo es capaz de reflejar las deflexiones de onda producidas por el reclutamiento de grandes grupos celulares, ignorando aquellos eventos de menor magnitud.

En este trabajo, se utilizaron registros ECG de alta resolución en búsqueda de alteraciones electrocardiográficas chagásicas precoces. Hasta donde pudo indagar el autor, los resultados aquí expuestos representan la primer evidencia de alteraciones electrofisiológicas en corazones de sujetos con ECh, ya que hasta el momento no ha sido posible evidenciar mediante métodos electrocardiográficos manifestaciones del Chagas indeterminado. El método propuesto, podría revelar las primeras alteraciones en la conducción del potencial de acción cardíaco en estos pacientes y develar cambios fisiológicos tempranos en la transición desde la forma indeterminada hacia una de las formas determinadas.

El impacto de la utilización de esta técnica puede evaluarse desde dos puntos de vista: en primera instancia, beneficiando individuos que al ser diagnosticados en forma temprana, podrán ser tratados en forma adecuada en una etapa de la enfermedad donde las chances de cura son superiores y el pronóstico más favorable, evitando de esta manera la aparición de lesiones orgánicas irreversibles. Por otro lado, la detección de individuos con Chagas indeterminado permitirá evitar la propagación de la enfermedad en poblaciones vulnerables mediante las rutas no vectoriales, implementando políticas públicas de salud para palear la diseminación del *T. Cruzi*.

El método electrocardiográfico que aquí se propone, podría ser utilizado como herramienta de diagnóstico complementario. La realización de pruebas serológicas mediante al menos dos métodos distintos en regiones endémicas es por lo general difícil de emplear debido a los requerimientos tecnológicos necesarios. Desde este punto de vista, el algoritmo propuesto podría ser implementado en dispositivos ECGAR portátiles, proveyendo información de individuos potencialmente infectados que luego podrían ser confirmados serológicamente en establecimientos de salud apropiados.

Lirio y otros [90], y previamente *Maguire y otros* [91] han sugerido, para el Chagas de regiones endémicas, la utilización de solo una prueba serológica junto a un registro ECG convencional como criterio diagnóstico de la enfermedad. El fundamento de ambos autores para sugerir dicho criterio, recae en la fuerte prevalencia de manifestaciones en el ECG estándar en sujetos que se encuentran infectados con *T. Cruzi*. Debido a la dificultad para acceder a pruebas de laboratorio en regiones endémicas, el Chagas podría ser abordado combinando el análisis ECG con una prueba de laboratorio. Como gran debilidad al abordaje diagnóstico propuesto por estos autores, se critica la ausencia de manifestaciones en el ECG de superficie para los individuos indeterminados. No obstante, los resultados del presente trabajo podrían reforzar

la propuesta de *Lirio y Maguire* ya que, en el método propuesto, se evidencian también alteraciones electrocardiográficas en individuos con Chagas indeterminado.

Entre las ventajas implicadas de la implementación del algoritmo en electrocardiógrafos, se destacan su portabilidad, no invasividad, simple uso, bajo coste y global disponibilidad. Se destaca la capacidad de respuesta del test: en 7 minutos se obtiene una respuesta a la prueba diagnóstica. Además, empleando el electrocardiógrafo en forma convencional, se brindaría información sobre la condición cardíaca de aquellos sujetos que presenten miocardiopatía chagásica crónica y, aprovechando la alta resolución de los registros, se podría evaluar la presencia de potenciales tardíos ventriculares, eventos cardíacos muy frecuentes en la enfermedad de Chagas.

Se concluye finalmente, que el análisis latido-a-latido de registros ECGAR es una prominente y prometedora técnica para la evaluación cardíaca e identificación de daño por enfermedad de Chagas.

10.2. Trabajo a futuro.

A fines de re validar los resultados, sería necesario reproducir el experimento aquí propuesto sobre nuevas bases de datos. Desafortunadamente, no se encuentran fácilmente bases ECGAR de sujetos chagásicos. Como consideración en la realización de bases ECGAR similares, se debería prestar atención en el protocolo para el registro de la señal ECG y en el dispositivo empleado. La base de datos 'CARACAS' no es reciente, y presenta varios registros fuertemente perturbados con ruido principalmente electromagnético. Respecto de los tests de confirmación de infección con *T. Cruzi*, sería necesario emplear las pruebas serológicas que actualmente se aconsejan. En la base de datos 'CARACAS' fue utilizada la prueba de Machado-Guerrera, hoy en día no utilizada.

Con respecto al grupo control utilizado, el mismo contó con 19 sujetos obtenidos de unificar dos bases de datos (BDMG y CARACAS). Los mismos fueron contrastados frente a 38 sujetos con Chagas indeterminado y 15 sujetos chagásicos que presentaban manifestaciones en el ECG estándar. A futuro, sería de gran interés ampliar el grupo control, para contrastar muestras de tamaños similares (el grupo indeterminado duplica en cantidad de registros al grupo control aquí usado).

El algoritmo aquí propuesto, también podría testearse frente a sujetos chagásicos en estadios clínicos más severos (grupos II y III de la base 'CARACAS'). Este tipo de registros requiere, sin embargo, la implementación de nuevos algoritmos que permitan trabajar adecuadamente con la gran variación morfológica de las señales. Muchos de estos sujetos presentan latidos ectópicos en sus registros, los cuales perturban el espectro de las señales derivadas. Por ello, y como fin inmediato, se requerirá la implementación de un clasificador de latidos para poder procesar los registros de estos grupos chagásicos.

Adicionalmente, será necesario conocer cómo responde la metodología frente a distintas patologías cardíacas. Para este caso, se requieren también bases de datos ECGAR con registros de no menos de 7 minutos de duración para que el algoritmo pueda implementarse.

Finalmente, desde una perspectiva electro-fisiológica, un mayor conocimiento y análisis del fenómeno aquí subyacente, podría ayudar a comprender los resultados observados y a mejorar la metodología propuesta. Particularmente, la banda de muy baja frecuencia de la señal VRC, y de otras señales derivadas del ECG, sigue siendo muy controversial en la bibliografía científica.

Apéndice I. Criterios Basados en la Información Estadística.

Los criterios de información propuestos por *Akaike* (AIC) [75] y por *Schwarz* (BIC) [76], nos permiten analizar un conjunto de modelos candidatos M_1, M_2, \dots, M_i que ajustan una determinada muestra x_1, x_2, \dots, x_p extraída de la población en estudio y sobre la cual se desea inferir información. Ambos criterios, seleccionan aquel modelo M que mejor ajusta los datos de la muestra, considerando M el modelo que presenta menor valor AIC (o BIC) dentro de los candidatos.

Modelos con un mayor número de parámetros tienden a ajustar mejor una base de datos, no obstante tienden a ser más inestables y a modelar la variabilidad de esos datos más que su tendencia [77]. Mediante los criterios de selección de modelos se mide el ajuste ('fit') de un modelo dado, maximizando el valor de la *función de verosimilitud* y 'penalizando' la cantidad de parámetros que son estimados en dicho modelo.

La elección de un modelo con muy pocos parámetros puede implicar hacer suposiciones simples y poco realistas, conduciendo a un alto sesgo y con poca predicción. Tales modelos no son lo suficientemente flexibles para describir correctamente la muestra o la población. Por lo contrario, un modelo con demasiados parámetros es capaz de ajustar muy bien los datos de la muestra, con el riesgo de sobreajustar los mismos, es decir, ajustarse estrechamente a la muestra en sí con bajo poder de generalización [78].

En forma genérica, y de acuerdo a *Atkinson* [78] es posible generalizar algunos de los criterios de selección de modelos basados en información, entre ellos el criterio de Akaike y el criterio Bayesiano mediante la siguiente ecuación

$$-2 * l + A_n * p \quad (1)$$

donde 'l' corresponde al logaritmo de la máxima verosimilitud (log-verosimilitud), 'A_n' es una función (que puede tomar el valor de una constante) del tamaño de la muestra 'n', y 'p' se corresponde con el número de parámetros utilizados en el modelo. Es necesario que A_n tome un valor específico en la ecuación para poder implementar el criterio. Las propuestas de Akaike y Schwarz corresponden a distintos valores de A_n, modificando el grado de penalización del criterio por utilizar p parámetros.

Los criterios de información que presentan la forma (1) (como lo son AIC y BIC) representan la función log-likelihood (término izquierdo de la ecuación) con una penalización (término derecho). El término izquierdo utiliza $l = \log Lik$, es decir el logaritmo de la máxima verosimilitud. Utilizar el logaritmo y no la función verosimilitud en forma directa, es una estrategia muy común en estadística para simplificar cálculos algebraicos (por ejemplo, un producto a través del logaritmo se transforma en una suma, con lo cual resulta más fácil trabajar). A fines de comprender (1) y sin ahondar por demás, definiremos la función de verosimilitud de acuerdo a Devore [79] de la siguiente manera:

Supongamos que X₁, X₂, ..., X_n poseen una función densidad de probabilidad

$$f(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_1, \theta_2, \dots, \theta_m) \quad (2)$$

Donde $\theta_1, \dots, \theta_m$ representan distintos parámetros desconocidos. Siendo x_1, x_2, \dots, x_n valores muestrales observados y siendo (2) una función de los parámetros $\theta_1, \dots, \theta_m$ se define la *función de verosimilitud*. Las estimaciones de máxima verosimilitud $\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_m$ son aquellos valores de las θ_i que incrementan al máximo la función de probabilidad de tal modo que

$$f(x_1, x_2, \dots, x_n; \hat{\theta}_1, \hat{\theta}_2, \dots, \hat{\theta}_m) \geq f(x_1, x_2, \dots, x_n; \theta_1, \theta_2, \dots, \theta_m) \quad \text{con todos los } \theta_1, \dots, \theta_m$$

De esta manera, la función de verosimilitud nos dice qué tan probable es que la muestra observada sea una función de los posibles valores de parámetros [79]. Al incrementarse al máximo la probabilidad se obtienen los valores de parámetros con los que la muestra observada es más probable que haya sido generada, es decir, los valores de parámetros que 'más concuerdan' con los datos observados.

Criterio de información de Akaike (AIC).

El AIC utiliza un valor $A_n=2$, con lo que reemplazando en (1) toma la forma

$$AIC = -2 * l + 2 * p \quad (3)$$

El criterio se basa en la estimación de la distancia relativa de Kullback-Leibler (KL) de la función verosimilitud del modelo candidato ajustado a las observaciones, a la función verosimilitud desconocida de la población. El objetivo de selección de modelos mediante el AIC es estimar la pérdida de información cuando la distribución de probabilidad f , asociada con el modelo verdadero, es aproximada mediante la distribución de probabilidad g , asociada con el modelo candidato que va a ser evaluado. Una medida para la discrepancia entre el modelo real y el modelo aproximado viene dada por la cantidad KL. La distancia de Kullback-Leibler se define como $E_t(l_t(y)) - E_t(l(y))$, donde E_t representa el valor esperado bajo la función de distribución verdadera (desconocida), l es la log-verosimilitud de los datos ajustados al modelo considerado, y l_t es la log-verosimilitud de los datos de la distribución verdadera (desconocida). Como $E_t(l_t(y))$ es el mismo valor independientemente del modelo en cuestión, la distancia KL se minimiza eligiendo el modelo que presenta el máximo valor $E_t(l(y))$. Bajo esta consideración, se logra escoger el modelo que más se aproxima al modelo real. Akaike estableció el criterio basado en este principio arribando a la ecuación (3), ya que aquel modelo ajustado con un bajo valor en (3) es más probable que proporcione una función verosimilitud cercana a la verdadera (desconocida).

El criterio de Akaike no identifica el modelo verdadero. Sólo es capaz de identificar el mejor modelo dentro de un conjunto de modelos candidatos, en el sentido de que proporciona la aproximación más cercana a la realidad o al verdadero modelo. Entre las ventajas del AIC se destacan su simplicidad y facilidad para ser implementado, como así también la ventaja de no requerir un nivel de significación específico para contrastar dos modelos.

Criterio de Información Bayesiano (BIC).

Fue propuesto por Schwarz en el año 1978. Algebraicamente, es similar al criterio AIC, pero con la diferencia de penalizar en función del tamaño muestral. Mientras que el AIC presenta un término de penalización $2*p$, independiente del tamaño de la muestra, implicando que un

mismo número de parámetros comunes sea seleccionado tanto para muestras pequeñas como para muestras grandes, el criterio BIC utiliza una penalización $\ln(n) * p$ con $A_n = \ln(n)$, siendo \ln la función 'logaritmo neperiano' y n el tamaño de la muestra. Reemplazando en (1) resulta

$$BIC = -2 * l + \ln(n) * p \quad (4)$$

El procedimiento de selección de un modelo en base al criterio BIC es el siguiente: se calcula el BIC de los distintos modelos M_1, M_2, \dots, M_i y se selecciona el modelo dentro de los candidatos que minimiza el valor BIC.

Debido al grado de penalización del BIC, este criterio se inclina, a diferencia de AIC, hacia modelos de dimensión baja, siempre y cuando el número de observaciones sea $n \geq 8$ [80]. AIC, para muestras pequeñas o grandes, tiende a seleccionar modelos con más parámetros de los necesarios [80]. Estas diferencias implican que el modelo BIC tienda a producir errores de *underfitting* a diferencia de AIC en la selección de parámetros que tiene a producir errores *overfitting* [78].

Apéndice II. Base de datos de valores CVLFI.

GRUPO	SUJETO	r. CVLFI	p. CVLFI
0	1	0,0753354	0,7669787
0	2	0,4736842	0,0488745
0	3	-0,2858617	0,2492895
0	4	-0,1847265	0,4615069
0	5	0,0402477	0,8758089
0	6	0,1723426	0,4926069
0	7	0,0175439	0,9475458
0	8	0,1434469	0,5690284
0	9	0,3065015	0,2155291
0	10	0,0299278	0,9083322
0	11	-0,2218782	0,3746604
1	13	0,6160991	0,0076742
1	14	0,6140351	0,0079263
1	15	-0,0856553	0,7356756
1	16	0,2280702	0,3611666
1	18	0,2239422	0,3701306
1	19	0,1702786	0,4978898
1	20	-0,376677	0,1241044
1	21	0,3044376	0,2187598
1	22	0,378741	0,1219311
1	23	0,6615067	0,0035654
1	24	-0,128999	0,6091089
1	25	0,376677	0,1241044
1	26	-0,1805986	0,4717585
1	27	-0,1104231	0,6622787
1	28	0,0835913	0,7419053
1	29	0,1517028	0,5466666
1	30	0,2074303	0,407251
1	31	0,4468524	0,0646532
1	32	-0,2321981	0,3523304
1	33	0,6037152	0,0092891
1	34	0,128999	0,6091089

1	35	0,1166151	0,6443622
1	36	0,2280702	0,3611666
1	37	0,6676987	0,0031818
1	38	-0,250774	0,3141659
1	39	0,4385965	0,0702136
1	40	0,003096	0,9934389
1	42	0,2982456	0,2286451
1	43	0,2260062	0,3656326
1	44	0,3642931	0,1377349
1	45	0,0629515	0,8050117
1	46	0,5624355	0,0167572
1	47	0,1475748	0,5577967
1	48	0,0464396	0,856385
1	49	-0,1578947	0,5301662
1	50	0,5954592	0,0105105
1	51	0,1021672	0,6864489
1	52	-0,0815273	0,7481509
2	62	0,4922601	0,0398274
2	63	0,6532508	0,0041341
2	64	0,0691434	0,7859357
2	65	0,3581011	0,144937
2	66	-0,120743	0,6325232
2	67	0,1805986	0,4717585
2	68	0,1434469	0,5690284
2	69	0,2610939	0,2941027
2	70	0,244582	0,3265954
2	71	0,2383901	0,3393174
2	72	0,1847265	0,4615069
2	73	0,0340557	0,8953028
2	74	0,5603715	0,0172292
2	75	-0,0113519	0,9672027
2	76	0,003096	0,9934389
H	108	0,1124871	0,6562859
H	109	-0,0710784	0,7874378
H	110	-0,1764706	0,4821256
H	111	0,2156863	0,3884396
H	112	0,0340557	0,8953028
H	113	-0,3023736	0,2220227
H	114	-0,0092879	0,9737597
H	115	0,0485036	0,8499278

Tabla A1. Base de datos de valores CVLFI. r: Valor 'rho' del coeficiente de Spearman. p: p-valor.

Referencias.

- [1] WHO. Research Priorities for Chagas Disease, Human African Trypanosomiasis and Leishmaniasis: Technical Report of the TDR Disease Reference Group on Chagas Disease, Human African Trypanosomiasis and Leishmaniasis. Technical Report Series no. 975. Geneva: World Health Organization; 2012 (<http://www.who.int/es/>)
- [2] Valerio L, Roure S, Sabrià M, Balanzó X, Vallès X, Serés L. Clinical, electrocardiographic and echocardiographic abnormalities in Latin American migrants with newly diagnosed Chagas disease 2005-2009, Barcelona, Spain. *Euro Surveill* 2011;**16**(38):19971.
- [3] Rassi A Jr, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infect Dis Clin North Am.* 2012; **26**: 275-91.
- [4] Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas Disease: An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects. *J Am Coll Cardiol.* 2013; **62**: 767-76.
- [5] Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 2010; **375**: 1388-402.
- [6] Klein N, Hurwitz I, Durvasula R. Globalization of Chagas Disease: A Growing Concern in Nonendemic Countries. *Epidemiol Res Int.* 2012; 2012. DOI:10.1155/2012/136793.
- [7] Pizzi HL, Sánchez RJ, Huck GA. Protozoología. Córdoba; 2011.
- [8] Teixeira ARL, Nitz N, Guimaro MC, Gomes C, Santos-Buch CA. Chagas Disease. *Postgrad Med J.* 2006; **82**: 788-79.
- [9] Sörnmo L, Laguna P. Electrocardiogram (ECG) Signal Processing. *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering* 2006. DOI: 10.1002/9780471740360.ebs1482.
- [10] Mora F, Gomis P, Passariello G. Señales electrocardiográficas de alta resolución en Chagas - El proyecto SEARCH. *Acta Cient Venez.* 1999; **50**: 187-94.
- [11] Fernández EA, Willshaw P. Time modulation changes of the cardiac vector induced by respiration. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias* 2008; **14**: 69-74.
- [12] Fernández EA, Perazzo CA, Willshaw P. Modulación respiratoria sobre la propagación del potencial cardíaco. *XV Congreso Argentino de Bioingeniería SABI* 2003.
- [13] Narayanaswamy S. High Resolution Electrocardiography". *Indian Pacing Electrophysiol. J.* 2002; **2**: 46-50.

- [14] Trägårdh E, Schlegel TT. High-Frequency QRS electrocardiogram. *Clinical physiology and functional imaging* 2007; **27**(4):197-204.
- [15] Narayanaswamy S. High Resolution Electrocardiography". *Indian Pacing Electrophysiol. J.* 2002; **2**: 46-50.
- [16] Mozoş I, Şerban C, Mihăescu R. Late Ventricular Potentials in Cardiac and Extracardiac Diseases. Cardiac Arrhythmias – New Considerations. InTech; 2012.
- [17] Laciár Leber E, Jané R. Detección Y Análisis Latido a Latido De Potenciales Tardíos Ventriculares Mediante Mapas Espectro-Temporales. *Comité Español de Automática (CEA-IFAC)* 2005; **2**: 74-82.
- [18] Laciár E, Jané R, Brooks DH. Evaluation of Myocardial Damage in Chagasic Patients from the Signal-Averaged and Beat-to Beat Analysis of the High Resolution Electrocardiogram. *Comput Cardiol.* 2006; **33**: 25–28.
- [19] Breithardt G, Cain ME, El-Sherif N, et. al. Standards for analysis of ventricular late potentials using high resolution or signal-averaged electrocardiography. A statement by a Task Force Committee of the European Society of Cardiology, the American Heart Association, and the American College of Cardiology. *Circulation* 1991; **83**: 1481–8.
- [20] Laciár E, Jané R, Brooks DH. Beat-to-beat analysis of QRS duration in time and wavelet domains. *Comput Cardiol.* 2000; **27**: 719–22.
- [21] Gomis P, Suarez K, Passariello G, Mendoza I, Caminal P, Lander P. Abnormal intra-qrS signals and late potentials in the high-resolution ecg associated with chagasic myocarditis. *Comput Cardiol* 1996; **8**: 633-636.
- [22] Duque RM, Vesga BEA. Electrocardiografía. Bogotá: Sociedad Colombiana de cardiología y cirugía cardiovascular; 2008.
- [23] Lopez Antuñano FJ, Flores HR, Ramos C. Diagnosis of Chagas' Disease. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 2000; **42**:121 -129.
- [24] Murcia L, Carrilero B, Saura D, Iborra MA, Segovia M. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; **31**: 26–34
- [25] Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol.* 2012; **9**: 576–89
- [26] Ministerio de Salud de la Nación. Guías para la atención al paciente infectado con *Trypanosoma cruzi* (Enfermedad de chagas). Buenos Aires: 2012.
- [27] Haberland A, Saravia SG, Wallukat G, Ziebig R, Schimke I. Chronic Chagas disease: from basics to laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2013; **51**: 271–294.

- [28] Lorca M, Contreras MDC, Salinas P, Guerra A, Raychaudhuri S. Evaluación de una prueba rápida para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en suero. *Parasitol Latinoam* 2008; **63**: 29 – 33.
- [29] Médecins Sans Frontières. International meeting: new diagnostic tests are urgently needed to treat patients with Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; **41**: 315–319.
- [30] Chappuis F, Mauris A, Holst M, Albajar-Vinas P, Jannin J, et al. Validation of a Rapid Immunochromatographic Assay for Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection among Latin-American Migrants in Geneva, Switzerland. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 2948.
- [31] Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*. 2001; **1**: 92–100.
- [32] Bochar-Villanueva B, Estornell Erill J, Fabregat Andres O, et. al. Diagnostic performance of surface electrocardiogram in early detection of chagasic cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2013; **34**: P1198.
- [33] Sztajzel J. Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. *SWISS MED WKLY* 2004; **134**:514–522
- [34] Risk MR. Tesis doctoral. Análisis de Tiempo-Frecuencia de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca y la Presión Arterial. Universidad Nacional de Córdoba. 2008.
- [35] Tompkins WJ. Biomedical digital signal processing. New Jersey: Prentice Hall; 1993.
- [36] Lombardi F, Malliani A, Pagani M, Cerutti S. Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. *Cardiovascular Research* 1996; **32**: 208-216.
- [37] Sörnmo L, Laguna P. Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications. Amsterdam: Elsevier; 2005.
- [38] Aysin B, Aysin E. Effect of Respiration in Heart Rate Variability (HRV) Analysis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2006; **1**:1776–9.
- [39] Beda A, Simpson DM, Carvalho NC, Carvalho ARS. Low-frequency heart rate variability is related to the breath-to-breath variability in the respiratory pattern. *Psychophysiology* 2014; **51**: 197–205.
- [40] Sayers BM. Analysis of heart rate variability. *Ergonomics* 1973; **16**: 17–32.
- [41] Ganong WF. Fisiología Médica. 20ava edición. México: Manual Moderno ;2006.
- [42] Cyzars D, Zerm R, Bettermann H, Fruhwirth M, Moser M, Kroz M. Comparison of Respiratory Rates Derived from Heart Rate Variability, ECG Amplitude, and Nasal/Oral Airflow. *Annals of Biomedical Engineering* 2008; **36**:2085-2094.

- [43] Stein PK, Kleiger RE. Insights from the study of heart rate variability. *Annu Rev Med* 1999; **50**:249-61.
- [44] Hernando D, Alcaine A, Pueyo E, et. al. Influence of Respiration in the Very Low Frequency Modulation of QRS slopes and Heart Rate Variability in Cardiomyopathy Patients. *Comput Cardiol* 2013; **40**:117-120.
- [45] Akselrod S. Components of heart rate variability: Basic studies. *Heart Rate Variability (M. Malik and A. J. Camm, eds.)* 1995;12: 147-163.
- [46] Clifford GD. Tesis Doctoral. Signal Processing Methods For Heart Rate Variability Analysis. University of Oxford. 2002.
- [47] Taylor JA, Carr DL, Myers CW, Eckberg DL. Mechanisms Underlying Very-Low-Frequency RR-Interval Oscillations in Humans. *Circulation* 1999; **98**(6):547-55.
- [48] Sobron A, Romero I, Lopetegui T. Evaluation of Methods for Estimation of Respiratory Frequency from the ECG. *Comput Cardiol* 2010; **37**: 513-516
- [49] Correa LS, Laciari E, Torres A, Jané R. Performance evaluation of three methods for respiratory signal estimation from the electrocardiogram. *IEEE EMBS* 2008; **2008**:4760-63.
- [50] Pallas-areny R, Colomus-balague J, Rosell FJ. The effect of respiration -induced heart movements on the ECG. *IEEE Trans. Biomed. Eng* 1989; **36**:585-590.
- [51] de la Rosa E, Fernández EA. QR interval dependency to the breathing rate. *XIX Congreso Argentino de Bioingeniería SABI* 2013.
- [52] Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop.* 2010; **115**: 22-27.
- [53] Pueyo E, Sornmo L, Laguna P. QRS slopes for detection and characterization of myocardial ischemia. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2008; **55**: 468477.
- [54] Teixeira ARL, Nitz N, Guimaro MC, Gomes C, Santos-Buch CA. Chagas Disease. *Postgrad Med J.* 2006; **82**: 788-79.
- [55] Kleiger RE, Stein PK, Bigger JT. Heart Rate Variability: Measurement and Clinical Utility. *Annals of Noninvasive Electrocardiology* 2005; **10**: 88-101.
- [56] Armaganijan L, Morillo CA. Chagas Disease: 101 Years of Solitude!: Time for Action. *Stroke* 2010; **41**: 2453-2454.
- [57] Lescure FX, Le Loup G, Freilij H, et. al. Chagas disease: changes in knowledge and management. *Lancet Infect Dis.* 2010; **10**: 556-570.

- [58] Pan J, Tompkins WJ. A Real-Time QRS Detection Algorithm. *IEEE Trans Biomed Eng* 1985; **32**: 230-236.
- [59] Vinzio C, Robledo F, Carvajal C, Laciari E. Análisis Espectral de la Variabilidad del Ritmo Cardíaco en Enfermos Chagásicos Crónicos. *XVII Congreso Argentino de Bioingeniería SABI* 2009; **95**:1-4.
- [60] Lazaro J, Alcaine A, Gil E, Laguna P, Bailon R. Electrocardiogram derived respiration from QRS slopes. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2013; 3913-3916.
- [61] Hernando D, Alcaine A, Laguna P, Pueyo E, Bailon R. Very low frequency modulation in QRS slopes and its relation with respiration and heart rate variability during hemodialysis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2013; 5365-5368.
- [62] Alcaine A, Bailon R, Romero D, Pueyo E, Laguna P. Very low- frequency modulation of qrs slopes in patients with angina pectoris. *Comput Cardiol* 2011; **2011**: 757-760.
- [63] Fabrizio MC, Schweigmann NJ, Bartoloni NJ. Modelling inter-human transmission dynamics of Chagas disease: analysis and application. *Parasitology* 2014; **141**: 837-848.
- [64] Alencar MCNd, Rocha MOdC, Lima MMdO, et al. Heart Rate Recovery in Asymptomatic Patients with Chagas Disease. *PLoS ONE* 2014; **9**: e100753.
- [65] Lee BY, Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez PJ. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis.* 2013; **13**: 342-348.
- [66] Correa R, Laciari P, Arini P, Jané R. Analysis of QRS Loop in the Vectorcardiogram of Patients with Chagas' Disease. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; **2010**: 2561-2564.
- [67] Gomis P, Suarez K, Passariello G, Mendoza I, Caminal P, Lander P. Abnormal intra-qrs signals and late potentials in the high-resolution ecg associated with chagasic myocarditis. *Comput Cardiol* 1996; **8**: 633-636.
- [68] Pueyo E, Laciari E, Anzuola E, Laguna P, Jané R. Assessment of myocardial damage in chronic chagasic patients using QRS slopes. *Comp Cardiol.* 2007; **34**: 725-728.
- [69] Malmivuo J, Plonsey R. Bioelectromagnetism - Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields. New York: Oxford University Press; 1995.
- [70] Jurak P, Halamek J, Leinveber P, et. al. Ultra-high-frequency ECG Measurement. *Comput Cardiol* 2013; **40**:783-786.
- [71] Lasala JL, Cabibbo DH, Kohen AJ, Zanutto BS. Determinación de la distribución armónica de las EMI en sistemas de adquisición. *XIX Congreso Argentino de Bioingeniería SABI* 2013.
- [72] Garcia CA, Otero A, Presedo J, Vila X. Heart Rate Variability analysis in R with RHRV. Apunte. Universidad Castilla de la Mancha. www.edii.uclm.es/~useR-2013/slides/40.pdf

- [73] Dopico L, Nadal J, Infantosi A. Analysis of late potentials in the high-resolution electrocardiogram of patients with Chagas' disease using weighted coherent average. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica* 2000; **16** (1): 49-59.
- [74] Fieller EC, Hartley HO, Pearson ES. Tests for Rank Correlation Coefficients. I. *Biometrika* 1957; **44**: 470-481.
- [75] Akaike H. A New Look at the Statistical Model Identification. *I.E.E.E. Transactions on Automatic Control* 1974; **19**: 716-723.
- [76] Schwarz GE. Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics* 1978; **6** (2): 461-464.
- [77] Posada S, Rosero-Noguera R. Comparación de modelos matemáticos: una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. *Rev Col Cienc Pec* 2007; **20**:141-148.
- [78] Dziak JJ, Coffman DL, Lanza ST. Sensitivity and specificity of information criteria. Technical Report Series 12-119. The Pennsylvania State University.
- [79] Devore JL. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. 7a ed. México: Cengage Learning; 2008.
- [80] Caballero-Diaz FF. Tesis doctoral. Selección de modelos mediante criterios de información en análisis factorial. Aspectos teóricos y computacionales. Universidad de Granada. 2011.
- [81] R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2009.
- [82] Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and R Core Team. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-117. 2014. <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- [83] Restrepo LF, González J. From pearson to Spearman. *Rev Col Cienc Pec* 2007; **20**:183-192.
- [84] Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol.* 1995; **57**: 289-300.
- [85] Cambor PM. Ajuste del valor-p por contrastes múltiples. *Rev Chil Salud Pública* 2012; **16** (3): 225 -232.
- [86] Cambor PM. Comparación de pruebas diagnósticas desde la curva ROC. *Revista Colombiana de Estadística* 2007; **30**: 163-176.
- [87] Burgueño MJ, Garcia-Bastos JL, Gonzales-Buitrago JM. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Med Clin (Barc)* 1995; **104**: 661-670.

- [88] Fernández EA, Valtuille R, Presedo J, Willshaw P. Comparison of different methods for hemodialysis evaluation by means of ROC curves: from artificial intelligence to current methods. *Clin Nephrol.* 2005; **64**: 205–213.}
- [89] Sing T, Sander O, Beerenwinkel N, Lengauer T. ROCR: visualizing classifier performance in R. *Bioinformatics* 2005; **21**: 7881.
- [90] Lirio M, Maia ZPG, Nakatani M, Mehta SR, Badaro R. The Significance of Electrocardiographic Abnormalities and Serology for T. cruzi Infection. *J Trop Dis* 2013; **1**: 121. doi: 10.4172/2329-891X.1000121
- [91] Maguire JH, Mott KE, Lehman JS, et al. Relationship of electrocardiographic abnormalities and seropositivity to Trypanosoma cruzi within a rural community in Northeast Brazil. *Am Heart J* 1983; **105**: 287-94.
- [92] Andrade Z. Immunopathology of Chagas Disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; **94**: 71-80.

Bibliografía de consulta.

Devore JL. **Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias.** 7a ed. México: Cengage Learning; 2008.

Ganong WF. **Fisiología Médica.** 20ava edición. México: Manual Moderno ; 2006.

Klabunde ER. **Cardiovascular Physiology Concepts.** 2da edición. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

Latarjet M, Ruiz-Liard A. **Anatomía Humana.** Madrid: Editorial médica panamericana; 1999.

Malmivuo J, Plonsey R. **Bioelectromagnetism - Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields.** New York: Oxford University Press; 1995.

Pizzi HL, Sánchez RJ, Huck GA. **Protozoología.** Córdoba; 2011.

Sörnmo L, Laguna P. **Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications.** Amsterdam: Elsevier; 2005.

Tompkins WJ. **Biomedical digital signal processing.** New Jersey: Prentice Hall; 1993.

U.S. National Library of Medicine. (<http://www.nlm.nih.gov/>)

Vircell Microbiologists. (<http://www.vircell.com/>)

Vera de Payer, E. **Álgebra Lineal.** Córdoba: Universitas - Editorial Científica Universitaria; 2005.

Wiener Lab Group. (<http://www.wiener-lab.com.ar/>)

Wikipedia. (<http://www.wikipedia.org/>)