



CARDIOLOGÍA DEL ADULTO - TRABAJOS LIBRES

Comportamiento fractal del ventrículo izquierdo durante la dinámica cardiaca

Fractal behaviour of the left ventricle during heart dynamics.

Javier Rodríguez, MD; Signed Prieto, Investigadora; Liliana Ortiz, Investigadora; Nicolás Avilán, Físico Investigador; Luisa Álvarez, PSY, Investigadora; Catalina Correa, PSY, Investigadora; Ingrid Prieto, Estudiante de Biología.

Bogotá, DC., Colombia.

La geometría fractal caracteriza objetivamente los grados de irregularidad de los objetos naturales. De otro lado, las dimensiones fractales permiten definir matemáticamente la irregularidad de las formas naturales, como por ejemplo las estructuras cardiacas.

El ventrículo izquierdo se estudia a través del ventriculograma, y es a partir de este examen con la aplicación de la geometría fractal, que se puede calcular el grado de irregularidad, de forma objetiva y reproducible para cualquier paciente.

A partir de 17 ventriculogramas de 6 de pacientes con fracción de eyección normal y 11 con fracción de eyección menor a 40%, con diagnóstico de compromiso ventricular severo, se desarrolló una medida cuantitativa de los ventriculogramas en la que se evaluaron los grados de similitud entre las dimensiones fractales de los contornos ventriculares izquierdos durante la dinámica cardíaca, en sístole, diástole y totalidad.

Se observó que el grado de similitud entre las dimensiones fractales de las comparaciones hechas en los contornos de un ventrículo sano, varía entre $2^{0.9}$ y 2^{10} , mientras que las de un ventrículo con fracción de eyección menor a 40% se encuentra entre 2^{10} y 2^{500} al menos en uno de los cotejos realizados.

PALABRAS CLAVE: ventriculograma izquierdo, fractal, dimensión fractal.

Fractal geometry is the geometry that objectively characterizes the degrees of irregularity of natural objects. On the other hand, fractal dimensions allow defining mathematically the irregularity of natural forms such as those of the heart structures.

The left ventricle is studied through ventriculography, and by the application of fractal geometry to this exam, it is possible to calculate the degree of irregularity in an objective and reproducible way in any patient.

From 17 ventriculographies, 6 from patients with normal ejection fraction and 11 with ejection fraction <40%, with diagnosis of severe ventricular involvement, a quantitative measurement from the ventriculographies was developed in which the degrees of similarity between the fractal dimensions of the left ventricles' silhouettes during heart dynamics in systole, diastole and in the whole cycle, were evaluated.

It was observed that the degree of similarity between the fractal dimensions of the comparisons made in the silhouette of a healthy ventricle vary between $2^{(0.9)}$ and $2^{(10)}$, whereas those of a ventricle with an ejection fraction < 40% is between $2^{(10)}$ and $2^{(500)}$ at least in one of the comparisons realized.

KEY WORDS: left ventriculography, fractal, fractal dimension.

(Rev.Colomb.Cardiol. 2006; 13: 165-170)

Grupo INSIGHT. Bogotá, DC., Colombia.

Correspondencia: Javier Rodríguez, MD. Grupo INSIGHT. Dg. 51 A Bis No. 56 C-25 Sur. Bogotá, DC., Colombia. Teléfono: 2 382108. Correo electrónico: grupoinight2025@yahoo.es

Recibido: 15/07/05. Aprobado: 09/10/06.

Introducción

Desde 1975, Benoît Mandelbrot, a partir de la imposibilidad de realizar mediciones euclidianas confiables que se pudieran asociar con estructuras que presenten irregularidad y complejidad en su forma a diferentes escalas (1, 2), desarrolló la geometría fractal, la cual permite caracterizar objetos irregulares, y a partir de este desarrollo concibió una medida de la irregularidad de los objetos que denominó dimensión fractal. Esta geometría se aplica en la medición de costas en investigaciones en matemáticas puras, para simular el movimiento browniano, en la medición de distribuciones de estrellas, nubes y sistemas hidrográficos, y fundamentalmente en la medición de atractores caóticos de los sistemas complejos (1, 3, 4). Para fractales no estrictos matemáticamente caracterizados por la superposición entre sus partes, considerados fractales salvajes, la dimensión fractal se calcula con el método de Box-Counting (3, 4).

Las estructuras anatómicas como las ramificaciones venosas y arteriales (5) y la ramificación de las fibras de músculo cardiaco, presentan una geometría irregular al igual que otras redes, como el árbol tráqueo-bronquial y el sistema de conducción de His-Purkinje (6-9).

La aplicación de la geometría fractal en la medición de estructuras del cuerpo humano, ha servido para aproximarse a la diferenciación de estados de salud y enfermedad. Luzi y colaboradores (10) mostraron que las mediciones fractales de muestras de cáncer de piel, pueden constituir una manera objetiva de caracterización entre tumores de diferentes tipos histológicos. Además, encontraron que las muestras de carcinoma invasivo de vejiga de alto grado, presentan una dimensión fractal mayor que las de bajo grado. Al realizar medidas fractales de tejidos sanos y con crecimiento tumoral en ojos de ratones, Baish y Jain (5) diferenciaron matemáticamente la vascularización de estos tejidos. De otra parte, Gazit y colaboradores (11) mostraron la transición de una vasculatura normal a una tumoral a partir de la combinación de un modelo de crecimiento fractal de invasión de percolación y una simulación del mecanismo autocrino. A nivel clínico, Lefebvre y Benali (12) y Polhman y colaboradores (13), encontraron que los análisis fractales en el diagnóstico de mamografías digitalizadas, podrían reducir el número de falsos positivos en cáncer de seno.

Rodríguez y colaboradores, a partir del desarrollo de una nueva metodología basada en la armonía matemática intrínseca, realizaron medidas fractales de capas arteriales coronarias, y obtuvieron mediciones objetivas de aplicación experimental y terapéutica, que diferencian matemáticamente las arterias sanas de aquellas con restenosis (14). Luego, en un trabajo posterior (15), evaluaron la dinámica de la ramificación coronaria izquierda en arteriografías y observaron que los pacientes sin enfermedad arterial oclusiva severa, presentan mayor variabilidad de las dimensiones fractales.

El ventriculograma es un examen invasivo de diagnóstico del que se obtiene una visualización radiográfica del ventrículo izquierdo. La evaluación de la silueta ventricular al final de la diástole y la sístole, se utiliza para el cálculo de la fracción de eyección del ventrículo, así como para establecer anomalías en la motilidad de la pared ventricular (16). Estas anomalías y el movimiento propio de la dinámica cardiaca, producen cambios en la estructura geométrica de la totalidad del ventrículo, que no son evaluados cuantitativamente con la metodología que se emplea en la actualidad y que impide una caracterización matemática de las diferencias, a veces calificadas como insignificantes desde la metodología tradicional, entre ventrículos con y sin lesión severa, que desde la precisión matemática podrían cuantificar qué tan severa o no es la lesión. El análisis geométrico del ventrículo izquierdo en el que se comparen los grados de similitud de las dimensiones fractales del ventrículo, contribuye a una evaluación objetiva y cuantitativa de las patologías ventriculares que permite desarrollar una metodología de evaluación objetiva para el ventrículo izquierdo que diferencia matemáticamente ventrículos con y sin lesión severa.

Materiales y métodos

Este es un estudio que se basa en una metodología de generalización geométrica aplicada a la clínica, para el cual se escogieron 17 pacientes sometidos a examen de ventriculografía izquierda por indicación médica, 6 con fracción de eyección normal, quienes constituyeron el grupo uno, y 11 con fracción de eyección menor a 40%, que integraron el grupo dos. Los exámenes clínicos fueron realizados por especialistas en el departamento de Hemodinamia de la Fundación Cardioinfantil-Instituto de Cardiología. Las imágenes se obtuvieron a través del sistema ACOM – TOP de Siemens instalado en el departamento de Hemodinamia de la Fundación Cardioinfantil.

La técnica usada en este estudio para el cateterismo cardiaco fue la canalización de la arteria femoral vía percutánea, realizando posteriormente la inserción de catéteres cinco o seis french, de 1,5 mm ó 1,8 mm de diámetro, respectivamente. Normalmente, en adultos se inyectan 30 a 45 mL de medio de contraste a presión en la cavidad ventricular izquierda, a una velocidad de 10 a 12 mL/seg.

Justificación

Como patología cardiaca, la disfunción ventricular izquierda se determina, entre otras cosas, por la pérdida o disminución del movimiento de alguna o algunas regiones del ventrículo, lo que implica un cambio en la estructura geométrica de la totalidad del mismo, el cual no es evaluado con los métodos clínicos actuales.

La cavidad ventricular izquierda es un objeto irregular, por tanto, para una evaluación reproducible y objetiva de la misma, es necesario utilizar la geometría fractal.

Hipótesis

El análisis geométrico del ventrículo izquierdo basado en los grados de similitud de las dimensiones fractales en la proyección del ventrículo en sístole, en diástole y en su totalidad logrará una caracterización objetiva que distinguirá matemáticamente ventrículos con y sin lesión severa.

Objetivos

- Desarrollar una metodología de evaluación geométrica para el ventrículo izquierdo.
- Medir la dimensión fractal de cada una de las regiones definidas.
- Desarrollar una nueva metodología de evaluación para evidenciar ventrículos con y sin lesión severa.

Metodología

Se tomaron las imágenes del ventrículo izquierdo en sístole, diástole y la totalidad a través del sistema ACOM-TOP. Luego se calcularon sus dimensiones fractales con una modificación del método de Box-Counting de acuerdo con la metodología utilizada en anteriores trabajos (14, 15), en donde se superpusieron dos rejillas de 1 y 2 cm para el conteo de cuadros correspondiente, para luego calcular la dimensión fractal con una simplificación del método de Box-Counting, describiendo los

contornos geométricos, es decir, la fractalidad en el comportamiento dinámico del sistema. De este modo, se evaluó la geometría fractal en sístole, en diástole y la totalidad en el movimiento del sistema.

De acuerdo con esta metodología el resultado siempre es el mismo, sin tener en cuenta repeticiones del experimento, pues se obtienen caracterizaciones matemáticas de cada ventrículo y para cada grupo estudiado, lo que permite prescindir de metodologías estadísticas y del uso de grandes muestras para comprobar los resultados.

Análisis matemático

El cálculo de la dimensión de Box-Counting tradicional, fue simplificado por la metodología seguida en un trabajo previo (14). Esta simplificación se realiza con el objetivo de efectuar posteriormente las respectivas comparaciones entre los objetos evaluados, construyéndose una metodología de evaluación de la dimensión fractal de los objetos definidos independientemente del grado de compromiso. A partir del cálculo de grados de similitud evaluados con la fórmula para tal efecto (ver definiciones), se analizaron las dimensiones fractales, haciendo una comparación de cada una de las regiones con las otras dos, buscado las posibles diferencias entre los dos grupos del estudio. Estas comparaciones determinan la caracterización del estado patológico o de salud.

Definiciones

Fractal: término usado como sustantivo para nombrar un objeto irregular o interrumpido, y como adjetivo para referir la irregularidad del mismo.

Dimensión fractal: medida numérica adimensional que determina el grado de irregularidad de un fractal. Para el propósito de esta investigación se utilizó la definición de dimensión fractal de Box-Counting.

Dimensión fractal de Box-Counting (3):

$$D = \frac{\log N(2^{-(k+1)}) - \log N(2^{-k})}{\log 2^{k+1} - \log 2^k} = \log_2 \frac{N(2^{-(k+1)})}{N(2^{-k})}$$

N: número de cuadros ocupados por el objeto.

K: grado de partición de la cuadrícula.

D: dimensión fractal.

Ventriculograma: visualización del ventrículo izquierdo obtenida en la detección del medio líquido de

contraste yodado inyectado previamente. La ventriculografía izquierda se realiza normalmente en proyección oblicua anterior derecha.

Regiones medidas fractalmente¹:

Contornos geométricos medidos durante la dinámica cardiaca:

- Sístole (S): región del espacio cubierta por la imagen del ventrículo en sístole.
- Diástole (D): región del espacio cubierta por la imagen del ventrículo en diástole.
- Totalidad (T): suma de los valores obtenidos en sístole y en diástole.

Grados de similitud²: para calcular los grados de similitud se asignó un peso para cada cifra en la dimensión fractal. El peso de las decenas es 0,1; el de las unidades 1, el de las décimas 10, el de las centésimas 100 y el de las milésimas 1.000. El grado de similitud entre dos dimensiones fractales, comparando las cifras de izquierda a derecha, queda determinado por la siguiente ecuación:

$$S = 2^{x-ny}$$

- x: peso de la primera cifra diferente en los números.
- y: peso de la última cifra igual en los dos números.
- n: diferencia en los valores de la primera cifra diferente.

Resultados

Las dimensiones fractales de las regiones definidas en los 17 ventriculogramas, oscilaron entre 0,5850 y 1,2410. Para el grupo uno, las dimensiones fractales variaron entre 0,5850 y 1,2410, mientras que para el grupo dos, oscilaron entre 0,9069 y 1,1375 (Tabla 1).

Los grados de similitud calculados para el grupo 1 están entre $2^{0.9}$ y 2^{10} . Para el grupo 2, se observan grados de similitud desde $2^{0.9}$ hasta 2^{500} . Un ventrículo con fracción de eyección < 40% tiene similitudes entre las dimensiones fractales mayores de 2^{10} y hasta 2^{500} mínimo en una de sus regiones.



Figura 1. Aplicación del método de Box-Counting en las imágenes del ventrículo izquierdo.

Discusión

Este es el primer trabajo donde se calculan dimensiones fractales de ventriculogramas, logrando diferenciar pacientes sanos de severos con medidas matemáticas precisas, objetivas y reproducibles a partir de una nueva metodología basada en la geometría fractal. A través del método de Box-Counting, se calcularon dimensiones fractales de ventriculogramas en sístole y en diástole de dos grupos de pacientes: el primero con fracción de eyección normal y el segundo con fracción de eyección menor a 40%, y se compararon los grados de similitud entre los objetos definidos. Con esta metodología se diferenciaron matemáticamente ventriculogramas con fracción de eyección normal de los que presentan fracción de eyección menor a 40%; cualquier ventriculograma que presente grados de similitud mayores de 2^{10} en cualquiera de las regiones comparadas, presentará una fracción de eyección menor a 40%, en caso contrario corresponderá a una fracción de eyección normal.

La utilización de teorías matemáticas puede verse también en otros trabajos que han producido resultados concretos de aplicación experimental y evaluación farmacológica. Rodríguez y colaboradores (14) aplicaron por primera vez la teoría fractal para realizar nuevas medidas histomorfométricas de arterias en un modelo experimental de reestenosis, con la cual se diferencian arterias sanas de enfermas con una precisión de 10^{30} . En otro trabajo de aplicación clínica similar a este, se evaluó la ramificación coronaria izquierda en arteriografías diferenciando pacientes con y sin enfermedad arterial oclusiva severa (15).

¹ Definición hecha por el primer autor.

² Definición hecha por el primer y el cuarto autor.

Tabla 1.
 DIMENSIONES FRACTALES DE LAS REGIONES Y GRADOS DE SIMILITUD ENTRE ELLAS.

		Dimensiones fractales			Grados de similitud		
		Sístole	Diástole	Total	S – D ¹	S – T	T – D
GRUPO 1 Fracción de eyección normal	1	0,5850	1,0506	0,8541	2 ^{0,9}	2 ⁷	2 ^{0,9}
	2	1,0000	0,7776	0,8797	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁹
	3	1,0000	0,8931	0,9386	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁹
	4	0,8301	1,2410	1,0704	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁸
	5	1,1069	0,9593	1,0231	2 ^{0,9}	2 ⁹	2 ^{0,9}
	6	1,0000	0,8580	0,9206	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁹
GRUPO 2 Fracción de eyección ventricular menor a 40%	1	1,0000	0,9220	0,9569	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁷⁰
	2	1,0000	0,9593	0,9780	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁸⁰
	3	1,0444	0,9125	0,9780	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁴⁰
	4	0,9260	1,0324	0,9827	2 ^{0,9}	2 ⁴⁰	2 ^{0,9}
	5	1,0641	1,1375	1,1069	2 ⁹	2 ⁹	2 ⁷⁰
	6	1,0506	0,9594	1,0000	2 ^{0,9}	2 ⁵⁰	2 ^{0,9}
	7	0,9069	0,9175	0,9125	2 ⁹⁰	2 ⁹⁰	2 ⁵⁰⁰
	8	1,0875	1,0780	1,0825	2 ⁹⁰	2 ⁵⁰⁰	2 ⁹⁰
	9	0,9175	1,0740	1,0000	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ³⁰
	10	1,0375	0,9296	0,9819	2 ^{0,9}	2 ^{0,9}	2 ⁴⁰
	11	1,0589	1,0473	1,0525	2 ⁹⁰	2 ⁴⁰⁰	2 ⁹

¹ S-D: Grado de similitud encontrado al comparar las dimensiones fractales entre la sístole(S) y la diástole(D), S-T: para la sístole(S) y la totalidad(T), y D-T: para la diástole(D) y la totalidad(T).

Huikuri y colaboradores (17) realizaron una caracterización de la dinámica cardiaca aplicando geometría fractal en pacientes con infarto agudo del miocardio con una fracción de eyección menor al 35% superando los factores predictores de muerte convencionales. Estas investigaciones implementan análisis estadísticos y son útiles para muestras poblacionales. En este trabajo, por tratarse de una generalización geométrica, los resultados son ventajosos para cualquier caso particular dentro de estos dos grupos, además de permitir deducir la geometría fractal adecuada a cada grupo evaluado. Por ejemplo, el paciente 11 del grupo 2 que por equivocación había sido ubicado inicialmente en el grupo de pacientes con fracción de eyección normal, presentó grados de similitud 2⁴⁰⁰, de lo cual se dedujo, de acuerdo con los resultados, que debía presentar una fracción de eyección menor al 40%. Al revisar de nuevo su historia clínica, se observó que presentaba un daño ventricular severo, confirmando la efectividad de la metodología desarrollada y mostrando que la comparación de los valores de las dimensiones fractales, determinan la salud o la enfermedad de los objetos estudiados. Los resultados obtenidos en la investigación podrían ser de utilidad en estudios con fractales de mortalidad por infarto agudo del miocardio y compromiso ventricular.

Las metodologías de investigación más aplicadas en la actualidad, parten de la afirmación de que el análisis

más apropiado es el estadístico (18). Sin embargo, «un estudio bien diseñado y llevado a cabo cuidadosamente, suele deparar resultados que son evidentes sin un análisis estadístico formal, mientras que si existen fallas importantes en su diseño o ejecución, aún el mejor análisis estadístico resultará inútil». Gracias a que nuestra metodología está basada en una teoría matemática, parte de cálculos geométricos exactos y establece un método objetivo de diferenciación entre los grupos evaluados, haciendo innecesario el uso de la estadística, logrando caracterizaciones generales exactas para cada grupo en cuestión y para cualquier paciente en particular.

La concepción desde la cual se desarrolló esta nueva metodología, evalúa de forma unificada la función y morfología ventricular izquierda, evidenciando su relación y permitiendo deducir, a partir de cálculos numéricos, diferencias entre los grupos evaluados. Para el desarrollo del estudio fue necesario realizar una abstracción numérica de uno de los objetos utilizados. De esta manera, los valores obtenidos de la totalidad, se adquirieron a partir de la suma de los valores medidos en sístole y en diástole, y no de una medición directa de un objeto. Esta abstracción permite relacionar las medidas de la estructura ventricular obtenidas durante la dinámica cardiaca.

En el futuro se aplicará esta metodología al análisis de lesiones del ventrículo izquierdo leves y moderadas, gene-

realizando los resultados obtenidos con el fin de desarrollar una aplicación diagnóstica en la clínica de forma general y de aplicación a cualquier patología que tenga efectos sobre la geometría ventricular. Las mediciones anatómicas objetivas del corazón, pueden complementar los estudios de la dinámica cardiaca realizados, lo que podría generar una visión unificada del conocimiento de la estructura y fisiología ventricular y cardiaca.

Conclusiones

- Se desarrolló una nueva metodología de evaluación del ventrículo izquierdo a partir de la geometría fractal, que caracteriza de manera unificada la estructura y fisiología ventricular.
- Las relaciones matemáticas entre las dimensiones fractales de los objetos componentes calculados, diferencian claramente un ventrículo sano de un ventrículo con fracción de eyección menor del 40%. Un ventrículo sano tiene similitudes entre las dimensiones fractales de sus partes componentes entre $2^{0,9}$ y 2^{10} .
- Un ventrículo severo presenta grados de similitud mayores de 2^{10} y hasta 2^{500} de las dimensiones fractales, en mínimo una de sus regiones durante la dinámica cardiaca.
- La precisión de las medidas obtenidas permite una evaluación matemática general y objetiva de cualquier caso particular de los grupos evaluados, haciendo innecesario el uso de metodologías estadísticas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Fundación Cardioinfantil, en especial a los doctores Darío Echeverri y Mauricio Pineda por su apoyo en esta investigación.

Así mismo, a la doctora Stella Huérfano, Ph.D. en Matemáticas, profesora de la Universidad Nacional

de Colombia, por su constante apoyo al grupo de investigación.

A Adriana Forero, a Doris Páez y al personal de hemodinamia de la Fundación Cardioinfantil, por su colaboración oportuna.

Bibliografía

1. Mandelbrot B. ¿Cuánto mide la costa de Bretaña? En: Mandelbrot B. Los Objetos Fractales. Barcelona: Tusquets Eds. S.A.; 2000. p. 27-50.
2. Mandelbrot B. The fractal geometry of nature. In: Freeman. Barcelona: Tusquets Eds. S.A.; 2000.
3. Peitgen H, Jurgens H, Saupe D. Limits and self similarity. In: Chaos and Fractals: New Frontiers of Science. N.Y.: Springer-Verlag; 1992. p. 135-182.
4. Peitgen H. Length area and dimension. Measuring complexity and scaling properties. In: Chaos and Fractals: New Frontiers of Science. N.Y.: Springer-Verlag; 1992. p. 183-228.
5. Baish J, Jain R. Fractals and cancer. Cancer Research 2000; 60: 3683-3688.
6. Goldberger AL, West BJ. Fractals in physiology and medicine. The Yale Journal of Biology 1987; 60: 421-35.
7. Goldberger A, Rigney D, West B. Chaos and fractals in human physiology. Sci Am 1990; 262: 42-49.
8. West BJ. Fractal physiology and chaos medicine. London: World Scientific Publishing Co.; 1990.
9. Goldberger AL. Non-linear dynamics for clinicians: chaos theory, fractals, and complexity at the bedside. Lancet 1996; 347: 1312 - 1314.
10. Luzzi P, Bianciardi G. Fractal analysis in human pathology. Annals New York Academy of Sciences. 1999; 879: 255-257.
11. Gazit Y, Berk DA, Lunig M, Baxter LT, Jain RK. Scale – invariant behavior and vascular network formation in normal and tumor tissue. Phys Rev Lett 1995; 75: 2428-2431.
12. Lefebvre F, Benali H. A fractal approach to the segmentation of microcalcifications in digital mammograms. Med Phys 1995; 22: 381-390.
13. Pohlman S, Powell K, Obuchowski NA, Chilcote WA, Grundfest-Broniatowski S. Quantitative classification of breast tumors in digitized mammograms. Med Phys 1996; 23: 1337-1345.
14. Rodríguez J, Mariño M, Avilán N, Echeverri D. Medidas fractales de arterias coronarias en un modelo experimental de restenosis, armonía matemática intrínseca de la estructura arterial. Rev Col Cardiol 2002; 10 (2): 65-72.
15. Rodríguez J, Álvarez L, Mariño M, Avilán N, Prieto S, Casadiego E, et al. Variabilidad de la dimensión fractal del árbol coronario izquierdo en pacientes con enfermedad arterial oclusiva severa. Rev Col Cardiol 2004; 11 (4): 185-92.
16. Harrison TR. Principios de medicina interna. Madrid: Mc Graw Hill; 1998. p. 1429-1430.
17. Huikuri HV, Mäkikallio TH, Peng Ch, Goldberger AL, Hintze U, Moller M. Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. Circulation 2000; 101: 47-53.
18. Ruíz J, Sánchez J. Método científico de investigación animal. En: Manual Básico de Investigación Experimental. Bogotá: Ediciones Médicas Latinoamericanas S.A.; 2002. p. 139-152.