

Utilidad del ecocardiograma Doppler en el diagnóstico de rechazo en pacientes con trasplante cardíaco. I - Evaluación general de las variables analizadas

R. A. PEREZ DE LA HOZ*, E. GUEVARA ^Δ, M. BUSTAMANTE LABARTA, A. ORIA,
S. PERRONE, A. F. TORINO ^Δ, L. D. SUAREZ ^Δ

Sección Ecocardiografía, Departamento de Investigaciones Clínicas, ICYCC, Fundación Favaloro, Buenos Aires

* Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

Trabajo recibido para su publicación: 10/95 Aceptado: 10/95

Dirección para separatas: Dr. Ricardo A. Pérez de la Hoz, Sección Ecocardiografía, Fundación Favaloro, Solís 453, Buenos Aires, Argentina

^Δ Miembro Titular SAC

[◦] FACC

Antecedentes

A fin de disminuir el número de biopsias endomiocárdicas, el ecocardiograma Doppler se presenta como una alternativa válida.

Material y método

Se analizaron 290 estudios consecutivos realizados el mismo día que la biopsia en 40 pacientes sometidos a trasplante cardíaco ortotópico en un período de 30 meses, informándose ambos procedimientos en forma independiente. Se analizaron veinticuatro variables comprendidas en el estudio modo M, bidimensional, Doppler y Doppler color. Todas estas variables fueron comparadas con el resultado de la biopsia. Se realizó análisis univariado por los métodos de ANOVA y chi cuadrado.

Resultados

Las variables estadísticamente significativas fueron: el período isovolumétrico diastólico ($p < 0,04$), el tiempo de hemipresión mitral ($p < 0,05$), la velocidad de pico pulmonar ($p < 0,05$), la presencia de derrame pericárdico ($p < 0,006$) y la velocidad de acortamiento circunferencial ($p < 0,01$). Se encontraron 96 biopsias con rechazo grado 0, 141 con grado 1, 40 con grado 2 y 13 con grado 3.

Conclusiones

El tiempo de hemipresión pulmonar, el período isovolumétrico diastólico y la velocidad pico pulmonar mostraron ser útiles en la detección de rechazo cardíaco. La velocidad de acortamiento circunferencial, a pesar de mostrar diferencia con significación estadística, es un fenómeno sistólico tardío. El bajo número de biopsias con grado severo de rechazo avala la necesidad de métodos alternativos incruentos de seguimiento. REV ARGENT CARDIOL 1996; 64 (6): 579- 584.

Palabras clave Ecocardiografía - Rechazo - Trasplante cardíaco

Si bien el trasplante cardíaco ha producido un cambio fundamental en la terapéutica de los pacientes con miocardiopatía dilatada en fase terminal, modificando en ellos la calidad y la expectativa de vida,

su seguimiento en el postrasplante sigue siendo complicado y hasta por momentos, agresivo. Aún cuando la anatomía patológica es el patrón oro en el diagnóstico de certeza de rechazo, su implementación a

través de biopsias endomiocárdicas no está exenta de riesgos y complicaciones por la frecuencia con que se realiza.

Apoyados en la literatura internacional al respecto, se analizó la posibilidad de que a través del eco-Doppler cardíaco transtorácico, método incruento, repetible y libre de complicaciones, fuese posible determinar patrones de rechazo en los pacientes trasplantados, disminuyendo así la frecuencia de biopsias y optimizando su indicación. (1-6)

Este trabajo refleja los primeros resultados de nuestra investigación, siendo nuestro próximo objetivo analizar en forma longitudinal los resultados obtenidos en cada paciente.

MATERIAL Y METODO

De un total de 420 estudios consecutivos de ecocardiografía y biopsia, en pacientes trasplantados, hemos seleccionado aquellos ecocardiogramas Doppler realizados el mismo día de la biopsia, para evitar las distorsiones que pudieran ocurrir por lo temprano del estudio —si se realizaba antes— o bien el efecto terapéutico —si se realizaba después—, quedando conformado un grupo de 290 biopsias y ecocardiogramas. (7)

El total de pacientes estudiados fue de 40. El seguimiento se realizó durante un promedio de 14 meses (rango 1-30). El informe ecocardiográfico fue redactado sin conocimiento del resultado de la biopsia.

Los valores de las variables analizadas en el estudio Doppler fueron promediados entre por lo menos 5 muestras y se presentan en la Tabla 1.

Todas las variables fueron cotejadas para cada estudio con el resultado de las biopsias, que fueron clasificadas en grados de rechazo de 0 a 3 y agrupadas en dos grupos: A, grados 0-1, y B, 2-3, en función de diferencias pronósticas.

Se realizó análisis univariado por los métodos de ANOVA y chi cuadrado.

Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$.

RESULTADOS

La población quedó dividida en 96 estudios con biopsia grado 0, 141 grado 1, 40 con biopsia grado 2 y finalmente, 13 con grado 3.

De las variables analizadas con ecocardiografía modo M, ninguna demostró tener significación estadística (Tabla 2).

Solamente la velocidad de acortamiento circunferencial (VAC) y el período eyectivo (Pey) mostraron una significación estadística con $p < 0,05$.

El derrame pericárdico presentó significación estadística cuando se comparó su frecuencia de aparición dentro de un estadio y no en cuanto al volumen estimado. No se observaron trombos

intraventriculares, aunque cabe consignar la presencia de trombos intraauriculares en dos oportunidades.

Al analizar los resultados de los estudios Doppler, dos variables resultaron con significación estadística (Tabla 3). Ellas fueron el tiempo de hemipresión pulmonar (PHT) y el período isovolumétrico diastólico (PIVD) ($p < 0,05$ y $0,04$ respectivamente), siendo ambos elementos utilizados en la cuantificación de la función diastólica del ventrículo izquierdo (VI).

No resultaron con significación las otras variables integrantes del análisis del patrón mitral.

En el estudio del flujo anterógrado pulmonar se observó un resultado positivo para la velocidad pico pulmonar (VPP) ($p < 0,05$), mientras que el tiempo de aceleración de la onda pulmonar (TSVD) careció de significación.

Al analizar los valores obtenidos en los distintos grados de biopsia para las variables que resultaron con significación estadística, se observa un comportamiento similar en las tres, pautando la orien-

Tabla 1
Variables analizadas en cada estudio de Eco-Doppler

1. *Ecocardiograma modo M:*
 - Diámetro diastólico del ventrículo derecho (DDVD)
 - Diámetro diastólico del ventrículo izquierdo (DDVI)
 - Diámetro sistólico del ventrículo izquierdo (DSVI)
 - Septum interventricular en diástole (SIVD)
 - Septum interventricular en sístole (SIVS)
 - Pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole (PPVID)
 - Pared posterior del ventrículo izquierdo en sístole (PPVIS)
 - Velocidad de acortamiento circunferencial (VAC)
 - Período eyectivo aórtico (PEu)
 - Tamaño de la aurícula izquierda (AI)
 - Presencia de derrame pericárdico (DP)
 - Cálculo de masa ventricular (MASA)
2. *Ecocardiograma bidimensional:*
 - Presencia y cuantificación del derrame pericárdico (DEP)
 - Presencia de trombos intraventriculares o intraauriculares (TROMB)
 - Anomalías posquirúrgicas en la zona de la sutura auricular
 - Impresión de la función sistólica de ambos ventrículos
3. *Ecocardiograma Doppler (con o sin codificación color):*
 - Flujo diastólico mitral:
 - Velocidad pico de la onda E (VPE)
 - Velocidad pico de la onda A (VPA)
 - Tiempo de hemipresión mitral (HTP)
 - Tiempo de desaceleración de la pendiente EF (TpoDES)
 - Pendiente de desaceleración EF (PenDES)
 - Período isovolumétrico diastólico (PIVD)
 - Flujo pulmonar:
 - Velocidad pico pulmonar (VPP)
 - Tiempo de aceleración de la onda pulmonar (en el TSVD)
 - Insuficiencia tricuspídea:
 - Cuantificación y cálculo de presión sistólica de arteria pulmonar
 - Insuficiencia pulmonar:
 - Cuantificación y cálculo de presión diastólica de arteria pulmonar

Tabla 2
Valor de los distintos parámetros que no alcanzaron significación estadística, expresados en medias y desvío estándar para cada grado de biopsia y su significación estadística

Biopsia/Variable	0	I	II	III	p
DDVD		26,1 ± 7,04		26,9 ± 5,3	0,4
DDVI	46,4 ± 6	46,3 ± 4	46,1 ± 4	44,3 ± 5	0,6
DSVI	30,4 ± 5	30,7 ± 5	28,7 ± 5	30,0 ± 3	0,3
FAC	34,0 ± 8	34,0 ± 8	37,1 ± 8	31,8 ± 7	0,1
SIVD	11,6 ± 2	11,7 ± 2	12,0 ± 2	12,7 ± 2	0,3
SIVS	15,2 ± 3	15,6 ± 4	15,5 ± 2	15,6 ± 2	0,3
PPVID	11,1 ± 2	11,9 ± 2	10,9 ± 2	11,6 ± 2	NS
PPVIS	19,2 ± 2	17,4 ± 2	17,8 ± 2	17,8 ± 3	0,7
VPE	0,79	0,80	0,84	0,83	0,5
TpoDES	169,0	156,8	156,6	152,0	0,5
TpoACE	125,9	122,1	131,7	124,4	0,3
PSVD	31,1	31,1	32,3	30,2	0,9

tación de una tendencia según el grado de rechazo (Gráfico 1).

No se encontraron diferencias significativas en la cuantificación de las insuficiencias tricuspídea y pulmonar, siendo esta última de hallazgo mucho más aleatorio.

La presión sistólica pulmonar (obtenida a través de la insuficiencia tricuspídea), no tuvo valor estadístico.

Finalmente, la masa ventricular, si bien no alcanzó significación estadística en su análisis, estuvo cerca de la misma ($p < 0,07$).

DISCUSION

El escaso número de estudios histológicos obtenidos con grado de rechazo severo avala la necesidad de afinar los métodos de diagnóstico alternativos para precisar y limitar las indicaciones de las biopsias, ya que representan un procedimiento cruento que efectuado secuencialmente para cumplir normas de protocolo puede generar complicaciones. Este es uno de los fundamentos de nuestro trabajo.

La división de la población en dos grupos, efectuada según el resultado de la biopsia (grupo A: grados 0-I, y B: grados II-III), tiene un significado clínico muy importante, ya que permite diferenciar el

grupo de pacientes en proceso de rechazo que requiere una conducta francamente activa como es el grupo B, de aquellos pacientes sin rechazo o con rechazo leve en los cuales no es necesario modificar los patrones habituales de tratamiento (grupo A), siendo el primer grupo a donde dirigimos particularmente nuestra atención.

De acuerdo con lo observado en los resultados, queda demostrado que los parámetros emergentes del flujo diastólico mitral, fundamentalmente el PHT, muestran una significación estadística suficiente como para poder ser aplicados en el diagnóstico ecocardiográfico de rechazo precoz y se corresponden con lo citado en la literatura por distintos grupos. (1, 5, 6, 8-12)

El otro parámetro de función diastólica ventricular que muestra significación es el período isovolumétrico diastólico (PIVD). (13, 14)

Ambos parámetros son fáciles de obtener, no tienen prácticamente variación interobservador, son repetibles y con valores conocidos. Además, en el caso del PIVD, la presencia de un flujo auricular extraño por contracción de la doble aurícula no modificaría el resultado, factor a veces utilizado para el análisis del flujo mitral y no visto por nosotros con excesiva frecuencia. (15, 16)

Tabla 3
Valor de las distintas variables que alcanzaron significación estadística, expresadas en medias y desvío estándar para cada grado de biopsia y su significación estadística

bx/eco	0	A	1	2	B	3	p
VAC	1,37 ± 0,3		1,31 ± 0,3	1,38 ± 0,3		1,41 ± 1	0,01
Pey	257 ± 40		261 ± 29	264 ± 32		212 ± 57	0,01
PHT	49,7 ± 16		48,5 ± 16	49,8 ± 22		41,6 ± 15	0,05
PIVD	98,6 ± 20		95,5 ± 21	107,2 ± 25		78,9 ± 13	0,04
VPP	79 ± 2		83 ± 2	90 ± 2		68 ± 2	0,05
MASA	228 ± 32		224 ± 37	230 ± 34		237 ± 61	0,07
DP	25		50	12		9	0,006

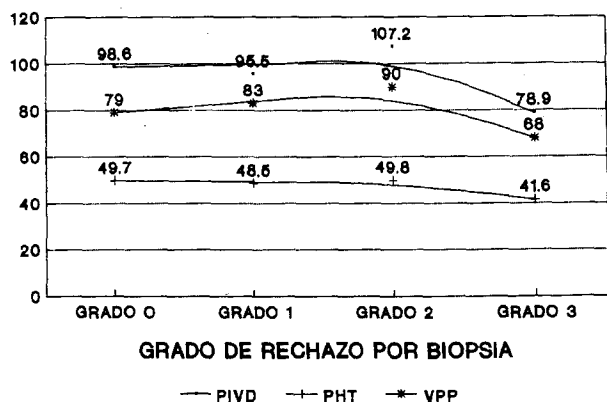


Gráfico 1. Orientación de la tendencia de los parámetros con significación estadística según el grado de rechazo.

Es cierto que ambos patrones mostraron poca variabilidad en los estadios 0, 1 y 2, pero resulta muy significativo el franco descenso del promedio obtenido en el estadio 3, que probablemente refuerce la potencia del resultado obtenido. Es muy interesante analizar el comportamiento de estas variables cuando son expuestas en forma de curva o tendencia, ya que ésta permite advertir una orientación diferencial en el comportamiento ecocardiográfico del rechazo. Esto sugiere que será necesario identificar otras variables para poder dividir dos subpoblaciones en el grupo con biopsias grado 2. Es decir, deslindar aquellos que mantengan parámetros de rechazo leve, de aquellos que manifiesten una tendencia hacia el agravamiento.

Esta tendencia observada permitiría relativizar la aparente desproporción de los valores absolutos hallados en los estudios con rechazo grado 2 (Gráfico 1).

El derrame pericárdico es otro elemento interesante a destacar, pues confirma una observación hecha desde el primer momento de nuestra investigación.

Para considerar la presencia de derrame pericárdico deben tomarse los estudios realizados luego de la primera semana del posoperatorio, donde su presencia es un hecho habitual. En relación con este parámetro importa no sólo su presencia o reaparición, sino la progresión o regresión de la efusión. (8, 16)

El mecanismo íntimo no es claro pero probablemente corresponda al proceso inflamatorio que acompaña a los primeros estadios de rechazo, sumado a un aumento lento de la presión en la aurícula izquierda. (17)

En una comunicación previa ya habíamos comprobado cierta tendencia del rechazo a modificar los parámetros del flujo pulmonar (tanto la velocidad pico del flujo, como el tiempo de aceleración en el TSVD). (18)

Con nuestra experiencia actual, quedó demostra-

do que la VPP es de utilidad en el diagnóstico de rechazo. Creemos que esta variable refleja, en forma temprana, un aumento en la presión de la aurícula izquierda a consecuencia de una alteración de la distensibilidad ventricular. (8, 19-21)

Consideramos oportuno insistir en la necesidad de un análisis más detallado del flujo pulmonar, ya que, pese a encontrar una operatividad limitada hasta el momento, cuando se suma a los parámetros clásicos de flujo mitral, podría resultar una expresión temprana de variaciones en la presión diastólica pulmonar y de las resistencias pulmonares.

Estos indicadores alcanzarán probablemente un índice de máxima operatividad cuando se puedan establecer porcentajes de variabilidad aplicados individualmente en cada paciente.

Por otra parte, otros dos índices, el Pey y la VAC, han demostrado tener una diferencia estadísticamente significativa, pero como ambos son propios de la función sistólica su aparición es tardía y por lo tanto no sirven para el diagnóstico precoz.

Dichos parámetros de función sistólica suelen coincidir con un correlato clínico de disfunción ventricular y si bien son poco útiles en el diagnóstico temprano de rechazo, son muy eficaces en el seguimiento del mismo.

Conviene resaltar que se modifican rápidamente al modificarse la situación de rechazo, cosa que no ocurre con los parámetros de función diastólica que se mantienen en el tiempo si el grado de rechazo ha sido severo, estando vinculados con el nivel de necrosis celular.

Por otro lado, las mediciones en modo M, si bien son de fácil obtención y con pocas diferencias interobservador, resultan ser poco confiables. (22, 23) Esto es debido a la presencia frecuente de hipoquinesia del septum o de movimiento paradójal (pudiendo ser ambos por fenómenos inflamatorios o isquémicos), o bien a la evolución rápida de la hipertrofia de las paredes ventriculares, ya sea por efecto ciclosporínico o como consecuencia de una hipertensión de instalación temprana. (22)

No hemos encontrado hasta el momento ninguna relación entre la presión sistólica de la arteria pulmonar medida por Doppler y el grado de rechazo, siendo para nosotros lo suficientemente confiable como método de cuantificación. (24)

Tampoco hubo relación entre la severidad de la insuficiencia tricuspídea y el grado de rechazo, ya que la misma se encuentra influenciada por otros factores, como el trauma producido por la biopsia endomiocárdica. (25-27)

Llamó la atención no encontrar significación en el cálculo de la masa ventricular, ya que la curva resultó ser francamente indicativa. De todas maneras, este valor ha sido también motivo de discusión y

actualmente se propone la posibilidad de que sea un patrón de rechazo humoral y no celular. (4, 8, 22)

Se observaron variabilidades en algunos valores (tiempo y pendiente de desaceleración mitral) no explicados sobre la base de alteraciones cardíacas, que creemos están más en relación con las diferencias interobservadores que con la situación probable de rechazo.

Creemos que la búsqueda no termina en estos parámetros. Se han iniciado nuevos estudios que intentan analizar otras variables, como los patrones de remodelación ventricular y la estimación de la fracción de eyección; o bien a través de la ecocardiografía de alta frecuencia que procura incluso llegar a detectar anomalías celulares. (12, 17, 27-29)

CONCLUSIONES

En la detección de rechazo cardíaco por ecocardiografía Doppler en pacientes seguidos luego de un trasplante cardíaco ortotópico:

- Los parámetros de función diastólica, tiempo de hemipresión y período isovolumétrico diastólico, han demostrado ser eficaces en la detección del rechazo cardíaco.

- Se observa una alta significación estadística de la VPP.

- Las variables de función sistólica son tardías y sólo 2 mostraron significación estadística.

SUMMARY

USEFULNESS OF DOPPLER ECHOCARDIOGRAPHY IN THE DIAGNOSIS OF REJECTION IN CARDIAC TRANSPLANTATION

Background

In order to reduce the number of endomyocardial biopsies in patients after cardiac transplant, the Doppler echocardiography is proposed as a valid option for non invasive evaluation.

Material and method

290 consecutive echocardiographic studies were performed simultaneously with endomyocardial biopsy on 40 patients who had received orthotopic cardiac transplantation within a thirty months period. Both procedures were analysed separately. Twenty four variables involved were analysed by means of mode M and two bidimensional echocardiography, Doppler and colour-Doppler echocardiography. All these variables were compared with the biopsy results. An ANOVA univariate analysis and chi square test was done.

Results

The isovolumetric relaxation time, mitral pressure

half time, and pulmonar peak velocity reached statistical significance values, $p < 0.04$, $p < 0.05$ and $p < 0.05$ respectively. Also did the presence of pericardial effusion, $p < 0.06$, and mean velocity circumferential fiber shortening with a $p < 0.01$. The biopsy founded 96 studies with 0 grade rejection, 141 with grade 1, 40 with grade 2 and 13 with grade 3.

Conclusions

Mitral pressure half time, isovolumetric relaxation time and pulmonar peak velocity demonstrated efficacy as early rejection indices in cardiac allograft transplant. Even showing statistical significance, the mean velocity circumferential fiber shortening is a late systolic phenomena. The low incidence of high grade rejection biopsy strenghtens the need of alternative non invasive diagnostic procedures.

Key words Echocardiography - Rejection - Cardiac transplant

BIBLIOGRAFIA

1. Brockway B. Echocardiography and cardiac transplantation: a literature review and practical approach. *J Am Soc Echocard* 1989; 2: 425.
2. Desruennes A, Solís E y col. Doppler echocardiography: an excellent noninvasive method for the detection of acute cardiac allograft rejection. *Transplant Proceed* 1989; 21: 3634-3638.
3. Dodd DA, Brady LD, Carden KA, Frist WH, Boucek MM y col. Pattern of echocardiographic abnormalities with acute cardiac allograft rejection in adults: correlation with endomyocardial biopsy. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: 1009-1017.
4. Gill EA, Borrego C, Bray BE y col. Left ventricular mass increases during cardiac allograft vascular rejection. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 922-926.
5. Reynolds T, Halfman-Franey M y col. The role of cardiac sonographer in the evaluation of the heart transplant recipient. *J Am Soc Echocard* 1989; 2: 431.
6. Valentine H, Fowler M y col. Doppler echocardiographic indices of diastolic function as markers of acute cardiac rejection. *Transplant-Proceed* 1987; XIX: 2556-2559.
7. Desruennes M, Thierry C y col. Doppler echocardiography for the diagnosis of acute cardiac allograft rejection. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 63-70.
8. Ciliberto CR, Cataldo G y col. Echocardiographic assessment of cardiac allograft rejection. *Eur Heart J* 1989; 10: 400-408.
9. Ciliberto CR, Mascarello M, Gronda E, Bonacina E, Anjos MC y col. Acute rejection after heart transplantation: non-invasive echocardiographic evaluation. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 1156-1161.
10. Habib G, Benichou M y col. Detection du reject aigu par echocardiographie Doppler dans la transplantation cardiaque orthotopique *Arch Mal Coeur* 1989; 82: 1535-1541.
11. Lafay V, Habib B y col. Evolution des paramètres echocardiographiques et Doppler, après transplantation cardiaque orthotopique, en dehors des periods de rejet. *Arch Mal Coeur* 1991; 84: 1433-1440.
12. Mannaerts HF, Simoons ML, Balk AH, Tijssen J y col. Pulsed-wave transmitral Doppler do not diagnose moderate acute rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: 411-421.

13. Forster T, McGhie J y col. Can we assess the changes of ventricular filling resulting from acute allograft rejection with Doppler echocardiography? *J Heart Transplant* 1988; 7: 430-434.
14. Furniss E, Murray A y col. Value of echocardiographic determination of isovolumetric relaxation time in the detection of heart transplant rejection. *J Heart Lung Transplant* 1991; 10.
15. Valantine H, Appleton C y col. Influence of recipient atrial contraction on left ventricular filling dynamics of the transplanted heart assessed by Doppler echocardiography. *Am J Cardiol* 1987; 59: 1159-1163.
16. Arthur E, Weyman MD. *En: Principles and Practice of Echocardiography*. Massachusetts, Lea & Febiger, 1994; 1231-1239.
17. Stinson E, Schroeder J. Observations on the behavior of recipient atria after cardiac transplantation in man. *Am J Cardiol* 1972; 30: 615.
18. Pérez de la Hoz R, Torino A, Roisimblit J, Lagens E y col. Detección de rechazo en trasplantados cardíacos por ecocardiografía. *Rev Argent Cardiol* 1994; (Suppl I): 36 (Abstract).
19. Anconi J, Edel F. Can Doppler derived rate of right ventricular pressure rise diagnose of acute cardiac rejection? *Circulation* 1992; 86: I-448.
20. Lewen M, Bryg R y col. The development of tricuspid regurgitation after orthotopic cardiac transplant. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 9-A.
21. Mugge A, Werner D y col. Quantification of tricuspid regurgitation by Doppler color flow mapping after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1990; 66: 884-887.
22. Leenen F, Holliwel D y col. Blood pressure and left ventricular anatomy and function after heart transplantation. *Am Heart J* 1991; 122: 1087-SS.
23. Stork T, Mochel M y col. Noninvasive diagnosis of cardiac allograft rejection by means of pulsed Doppler and M-mode ultrasound. *J Ultrasound Med* 1991; 10: 569-575.
24. Daroca A, Bond M, Perrone S, Pérez de la Hoz R y col. Monitoreo hemodinámico de la presión de la arteria pulmonar con catéter de Swan-Ganz y su correlación con mediciones por ecocardiografía Doppler en pacientes candidatos a trasplante cardíaco. *Rev Argent Cardiol* 1993; (Suppl 2): 43 (Abstract).
25. Hausen B, Albes JM, Rohde R, Demertisz S, Mugge A y col. Tricuspid valve regurgitation attributable to endomyocardial biopsies and rejection in heart transplantation. *Ann Thor Surg* 1995; 59:1134-1140.
26. Huddleston CB, Rosenbloom M, Goldstein JA, Pasque MK. Biopsy-induced tricuspid regurgitation after cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 832-836.
27. Chandraratna PA, Awaad MI, Chandrasoma P, Khan M. High-frequency ultrasound: determination of the lowest frequency required for cellular imaging and detection of myocardial disease. *Am Heart J* 1995; 129: 15-19.
28. Reddy SC, Rath GA, Ziady GM, Matesic C, Kormos R. Tricuspid flail leaflets after orthotopic heart transplant: a new complication of endomyocardial biopsy. *J Am Soc Echocard* 1993; 6: 223-226.
29. Stemplfle HU, Angermann CE, Kraml P, Schutz A y col. Serial changes during acute cardiac allograft rejection: quantitative ultrasound tissue analysis versus myocardial histologic findings. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 310-317.