

# Análisis sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca: un nuevo enfoque en la metodología de la investigación clínica de la sepsis neonatal

## *Heart rate variability analysis: a new approach in clinical research methodology for neonatal sepsis*

Dr. Eduardo Cuestas<sup>a,b,c</sup>, Med. Alina Rizzotti<sup>a</sup> y Med. Guillermo Agüero<sup>a</sup>

### RESUMEN

Los conocimientos sobre sepsis neonatal se han incrementado notablemente, pero aún no se dispone de ninguna prueba clínica o bioquímica lo suficientemente sensible y específica para el diagnóstico temprano y oportuno de la enfermedad. Esta situación sería consecuencia de la utilización de procedimientos analíticos que podrían perder elementos importantes de información biológica. Se han propuesto nuevos métodos de análisis no-lineal para series temporales de datos fisiológicos; de particular interés resulta el estudio de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, que aparentemente permitiría detectar anomalías con una antelación de 12-24 h a las manifestaciones clínicas o bioquímicas de la infección. **Palabras clave:** marcadores fisiológicos, variabilidad de la frecuencia cardíaca, sepsis neonatal.

### SUMMARY

The knowledge on neonatal sepsis has increase significantly, but a clinical or biochemical marker is not available for an early and appropriate diagnosis. This fact results of an inadequate analysis which might be missing important quantum of biological information. A new method of non-linear analysis have been proposed to investigate time series of physiological data, particularly heart rate variability analysis, that apparently would detect abnormal changes which precedes clinical or biochemical signs of infection by as much as 12-24 hours. **Keywords:** physiological markers, heart rate variability, neonatal sepsis.

### INTRODUCCIÓN

La sepsis es un síndrome clínico que refleja una respuesta inflamatoria sistémica descontrolada ante una infección. Incluye la presencia de un agente infeccioso y al menos algunos de los signos de respuesta inflamatoria sistémica, como alteraciones de la regulación térmica y cambios en la frecuencia cardíaca y respiratoria que suelen ser inicialmente imperceptibles. Cuando la respuesta inflamato-

ria sistémica se mantiene y agrava el paciente desarrollará disfunción orgánica múltiple, con diferentes grados de *shock*, seguidos eventualmente por la muerte.<sup>1</sup>

Este cuadro afecta principalmente a los neonatos prematuros y a recién nacidos con patologías que requieren cuidados invasivos. La prevalencia de un episodio de sepsis confirmada por hemocultivo en prematuros es de 21% y la mortalidad entre ellos alcanza al 18%.<sup>2</sup>

La presencia de sepsis recién se sospecha cuando el paciente presenta síntomas y signos de descompensación, lo cual dispara un algoritmo diagnóstico que incluye pruebas bioquímicas y bacteriológicas, mientras se inicia un tratamiento antibiótico empírico y medidas de sostén. Esto implica que el diagnóstico se realice cuando los pacientes presentan diferentes grados de deterioro, que puede aumentar la mortalidad hasta 40% y elevar las secuelas entre los sobrevivientes;<sup>3</sup> por ello, la detección temprana y oportuna de la sepsis neonatal ofrecería una oportunidad inigualable para mejorar estos indicadores.

Las estrategias de investigación que se han focalizado en el estudio de combinaciones de pruebas bioquímicas y clínicas para el diagnóstico temprano de la sepsis han fracasado debido a su baja sensibilidad y especificidad, y a que no se ha podido desarrollar un conjunto de pruebas considerado ideal.<sup>4</sup>

Un nuevo paradigma en la investigación clínica de la sepsis se basa en técnicas de análisis no lineal de series

- Servicio de Pediatría y Neonatología. Hospital Privado. Córdoba, Argentina.
- Cátedra de Clínica Pediátrica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.
- Cátedra de Metodología de la Investigación y Bioestadística. Facultad de Medicina. Universidad Católica de Córdoba.

*Correspondencia:*  
Dr. Eduardo Cuestas  
ecuestas@hospitalprivadosa.com.ar

*Conflicto de intereses:*  
Ninguno que declarar.

Recibido: 21-2-2011  
Aceptado: 10-5-2011

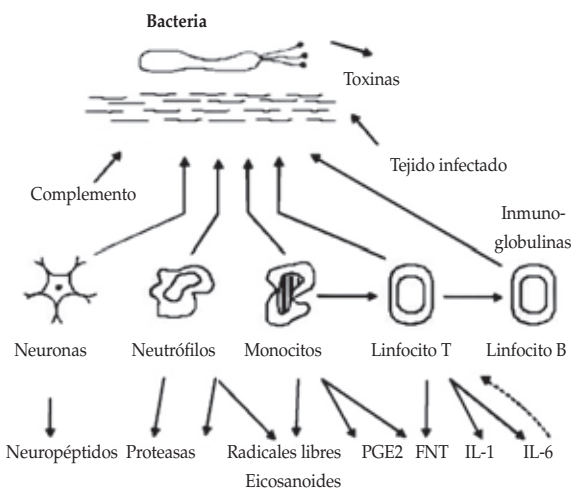
temporales mediante el monitoreo continuo de variables fisiológicas como la frecuencia cardíaca, a fin de detectar la presencia de reducciones de la variabilidad y desaceleraciones transitorias que aparentemente ocurren en fases preclínicas de la enfermedad. Este monitoreo sistemático habría permitido, en algunos estudios experimentales, el diagnóstico y tratamiento de la sepsis en recién nacidos asintomáticos, lo cual disminuye considerablemente la morbimortalidad.<sup>5</sup>

Esta revisión repasa cómo, la infección, al desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica, afecta el sistema de señales cerebrales que inducen por vía autonómica la disfunción del corazón y los fundamentos básicos del monitoreo continuo de las características de la frecuencia cardíaca, como así también su utilidad para el diagnóstico de la sepsis tardía en recién nacidos internados en la unidad de cuidados intensivos.

**Infección, inflamación y tráfico de mediadores hacia el SNC**

La respuesta innata del sistema inmunitario da origen a diferentes mediadores capaces de activar y producir cambios metabólicos en todos los tejidos, de manera que cuando un microorganismo

FIGURA 1. Infección, respuesta inmunitaria y liberación de mediadores proinflamatorios



La infección activa el sistema inmunitario y desencadena una respuesta inflamatoria mediante la liberación de mediadores proinflamatorios.  
 PGE2: Prostaglandina E2.  
 FNT: Factor de necrosis tumoral.  
 IL: Interleuquina.

es reconocido se activa la liberación de citoquinas proinflamatorias desde el sitio de la infección hacia el torrente circulatorio, tal como se describe en la Figura 1.<sup>6-9</sup>

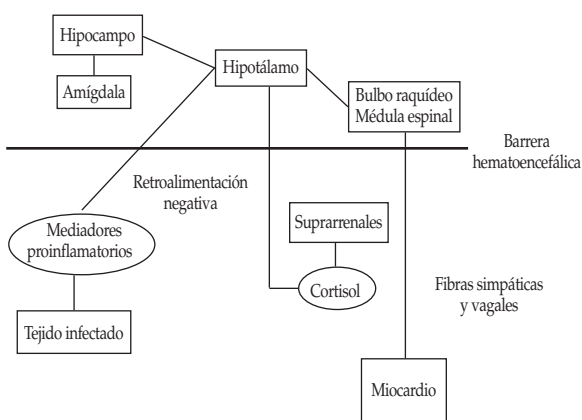
El cerebro tiene la función de organizar la respuesta del huésped al estrés infeccioso. El nervio vago y los órganos circunventriculares son las dos principales vías que vehiculizan las señales cerebrales durante la sepsis.<sup>10-11</sup>(Figura 2).

**El deterioro de la función del miocardio en la sepsis**

En condiciones de normalidad, los intervalos de tiempo entre los latidos cardíacos no son constantes. Esta variabilidad es regulada por el sistema nervioso autónomo mediante impulsos simpáticos y parasimpáticos que, transmitidos al nódulo senoauricular (SA), aceleran o desaceleran el ritmo cardíaco.

Las terminaciones simpáticas que inervan el nódulo SA liberan norepinefrina, que unida a los receptores β1 adrenérgicos activan la adenilciclasa para incrementar los niveles de AMPc, que abre los canales de calcio y despolariza la membrana celular aumentando la contractilidad y la frecuencia cardíaca. En cambio, las terminacio-

FIGURA 2. Mecanismos de señalización cerebral durante la sepsis



Las estructuras cerebrales involucradas en la señalización de respuestas a la infección incluyen el sistema límbico, el eje hipotálamo-hipofisario y el locus coeruleus / sistema noradrenérgico. Las sustancias proinflamatorias liberadas por las células inmunitarias llegan al cerebro por difusión pasiva o por transporte activo y disparan señales neurohormonales. El nervio vago envía, por vía aferente, señales al SNC y vehiculiza, por vía eferente, la reacción parasimpática visceral.

nes parasimpáticas liberan acetilcolina, que unida a los receptores colinérgicos muscarínicos del marcapaso SA provocan apertura de los canales de potasio, hiperpolarización de membrana, disminución de la contractilidad y de la frecuencia cardíaca<sup>12</sup> (Figura 3).

La disfunción miocárdica es propia de la sepsis y aunque su evaluación no se incluye en los puntajes de gravedad neonatal, como CRIB o SNAP, se trata de una disfunción frecuente y relevante. Los mecanismos que explican la disfunción miocárdica son múltiples y actúan sinérgicamente. Los mediadores biológicos operan sobre el miocardio tanto en forma paracrina como sistémica. En los pacientes sépticos se ha demostrado la existencia de un factor depresor miocárdico.<sup>13</sup> El FNT y la IL-1 $\beta$  son los principales mediadores de la disfunción contráctil. También se ha relacionado la disfunción miocárdica a IL-6, factor de migración de macrófagos, lisozima c, endotelina 1, estrés oxidativo y factor C5a del complemento. Durante la sepsis aumenta la liberación de óxido nítrico (ON) como consecuencia del incremento

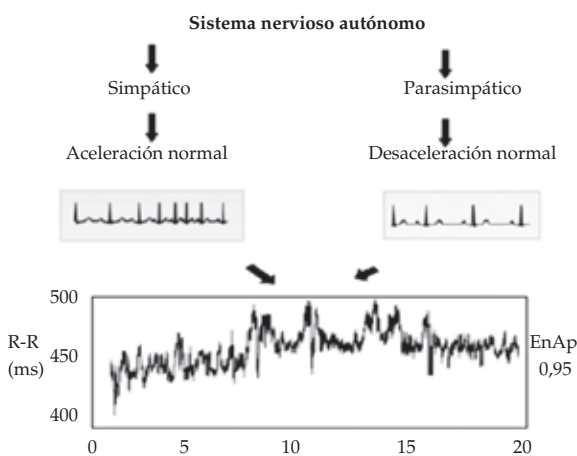
de la expresión de oxidonitricosintasa (ONS), el exceso de ON inhibe los complejos mitocondriales, aumenta la liberación de citoquinas y amplifica la respuesta inflamatoria local.<sup>14</sup>

La contracción de los cardiomiocitos se produce por la entrada de Ca por los canales dependientes de voltaje (canales L) e induce, mediante la unión a receptores de rianodina del retículo sarcoplasmático (RS), la salida del Ca almacenado para activar el complejo miofibrilar de troponina c.<sup>15</sup>

Durante la sepsis, el FNT $\alpha$  y la IL-1 actúan bloqueando los canales L. También se produce disminución de la densidad de los receptores de rianodina, reducción de la sensibilidad de los miofilamentos al Ca y ampliación de la fosforilación de fosfolambano, que aumenta el atrapamiento de Ca en el RS por activación de la Ca<sub>2</sub>+ATPasa<sup>16</sup> (SERCA2).

En la sepsis, la estructura mitocondrial de los cardiomiocitos está perturbada, al igual que el consumo intracelular de O<sub>2</sub>. La disfunción mitocondrial se explica por el bloqueo de piruvato dehidrogenasa y nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), la inhibición de las cadenas de fosforilación oxidativa, la disminución del contenido y el aumento de la permeabilidad mitocondrial; los dos últimos expresan un incremento de las proteínas desacopladoras y alteración de los poros de transición de permeabilidad mitocondrial,<sup>17</sup> fenómenos asociados a la pérdida del gradiente mitocondrial, caída en la síntesis de adenosina trifosfato (ATP), activación de caspasas y liberación de citocromo c, mecanismos conducentes a apoptosis celular<sup>18</sup> (Figura 4).

FIGURA 3. Regulación autonómica normal de la frecuencia cardíaca



En condiciones de normalidad, las señales simpáticas y parasimpáticas llegan al marcapaso senoauricular y producen aceleraciones y desaceleraciones que explican la variabilidad de los intervalos R-R, como se muestra en el electrocardiograma. Abajo, en el trazado de la secuencia temporal de la frecuencia cardíaca de 20 minutos, se observa una importante variabilidad de los intervalos R-R medidos en milisegundos (ms). La entropía aproximada (EnAP) es alta, cercana a 1, lo que implica que existe la irregularidad característica de la frecuencia cardíaca normal.

### Alteraciones de la regulación autonómica cardíaca en la sepsis

La estimulación adrenérgica que ocurre como respuesta a la infección en su fase inicial produce un aumento de la contractilidad y de la frecuencia cardíacas mediadas por noradrenalina. Pero luego, aunque los niveles plasmáticos circulantes de dicha catecolamina estén incrementados, existe una oxidación aumentada por anión superóxido, lo cual reduce su actividad. Además ocurre una disminución de la densidad de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, cuya capacidad de respuesta está mermada y perturba la transducción intracelular, hecho que se explica por la inhibición de la proteína G, que impide la activación de la adenilato ciclasa necesaria para la fosforilación del fosfolambano.<sup>19,20</sup>

En cambio, la estimulación vagal activa la respuesta antiinflamatoria colinérgica<sup>11</sup> y, de

este modo, mediante la estimulación de ambas vías eferentes del sistema nervioso autónomo, se produce una disminución de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, disminución de la entropía aproximada y desaceleraciones intermitentes del ritmo cardíaco en etapas preclínicas de la sepsis, adelantándose de esta modo a la aparición de las manifestaciones clínicas y bioquímicas unas 12-24 h<sup>5,21-24</sup> (Figura 5).

**Medición y análisis de la disfunción autonómica del corazón en la sepsis**

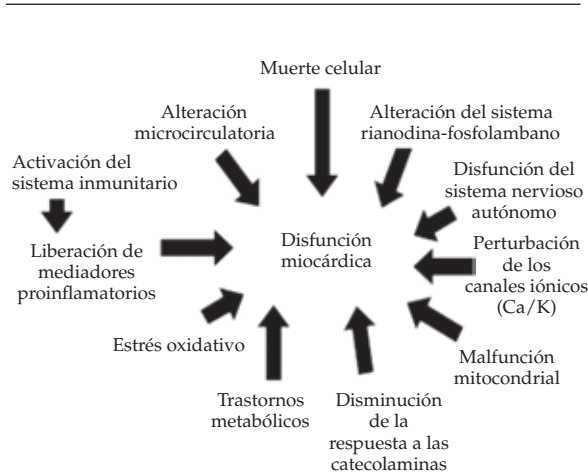
La disfunción autonómica cardíaca en la sepsis puede ser medida por parámetros de variabilidad de la frecuencia cardíaca de 24 h. La cual muestra un importante deterioro tanto en las señales simpáticas como parasimpáticas. La medición de la variabilidad de la frecuencia cardíaca expresa el control cerebral del corazón, mientras que la medición de sensibilidad barorrefleja caracteriza la relación entre el corazón y el sistema vascular, y la sensibilidad quimiorrefleja describe la interacción entre el sistema respiratorio y el corazón.<sup>25</sup> En los pacientes ventilados, las dos últimas mediciones no pueden ser efectuadas por métodos convencionales, como la provocación de hipoxemia y la prueba de fenilefrina.

La información sobre la frecuencia cardíaca puede ser obtenida de los monitores electrocardiográficos analógicos que captan señales de

voltaje junto al paciente durante las 24 h del día. Estas señales pueden ser almacenadas, digitalizadas y filtradas a fin de obtener trazados de aproximadamente 20 minutos, de una longitud de 4096 ciclos cardíacos, donde se identifiquen claramente los complejos QRS a fin de poder medir los intervalos R-R. El análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca puede realizarse por análisis lineales sobre series temporales o análisis espectrales de frecuencia calculando, por ejemplo, la desviación típica de los intervalos R-R y su coeficiente de variabilidad.<sup>26</sup> Estos métodos válidos para los adultos no son de utilidad en los recién nacidos, pues los dominios de espectros de frecuencia altos y bajos son muy superiores en estos últimos, lo cual complica el cálculo de la variabilidad.<sup>27</sup> A fin de solucionar este inconveniente se han ideado fórmulas de análisis no lineal que emplean el modelo matemático de entropía aproximada descrito por Pincus.<sup>28</sup>

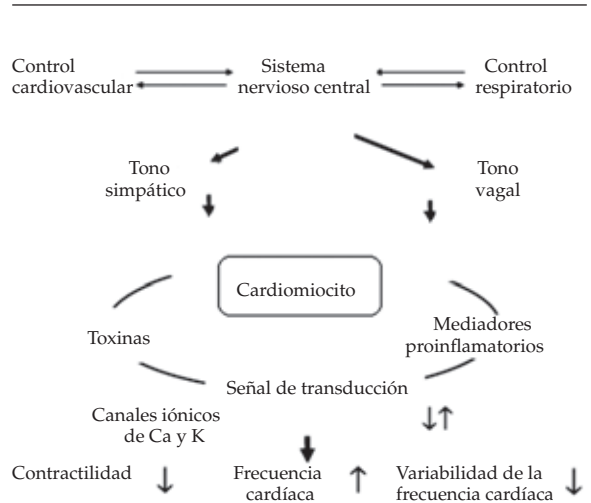
La entropía es una medida de desorden consagrada por la segunda ley de la termodinámica, la cual establece que los estados de un sistema

FIGURA 4. Disfunción miocárdica en la sepsis



Los mecanismos que causan la disfunción del miocardio en la sepsis son múltiples y actúan sinérgicamente.

FIGURA 5. Disfunción autonómica del miocardio durante la sepsis



La función autonómica del miocardio está gravemente afectada durante la sepsis. Se debe a la acción de las toxinas bacterianas que inducen la liberación de mediadores proinflamatorios que interfieren los mecanismos de señalización, el control cerebral, la neurotransmisión y, directamente, al cardiomiocito, lo cual provoca disminución de la contractilidad, aumento de la frecuencia cardíaca, disminución de la variabilidad y aparición de desaceleraciones importantes en la frecuencia cardíaca.

tienden a evolucionar desde formas ordenadas, aunque estadísticamente menos probables, hacia configuraciones menos ordenadas, pero estadísticamente más probables.

En relación al análisis de series de datos temporales, la EnAp (entropía aproximada) proporciona el grado de variabilidad dentro de una serie de datos. Si se entiende la EnAp como una medida de complejidad, los valores más pequeños indican una gran regularidad, mientras que los valores más grandes revelan un mayor desorden o irregularidad.

Valores pequeños de EnAp implican una mayor probabilidad de que patrones similares sean seguidos por un patrón adicional sucesivo similar, mientras que si la serie tiene secuencias de valores muy irregulares o variables, la ocurrencia de patrones similares no tendría valor predictivo para las mediciones sucesivas y el valor de la EnAp sería entonces relativamente grande.

La EnAp ha sido utilizada en estudios dinámi-

cos de la frecuencia cardíaca. Su aplicación puede ofrecer importantes aportes a la detección experimental de sepsis, pues cuando la variabilidad de la frecuencia cardíaca se encuentra disminuida presenta resultados extremadamente pequeños aún en períodos preclínicos.<sup>29</sup>

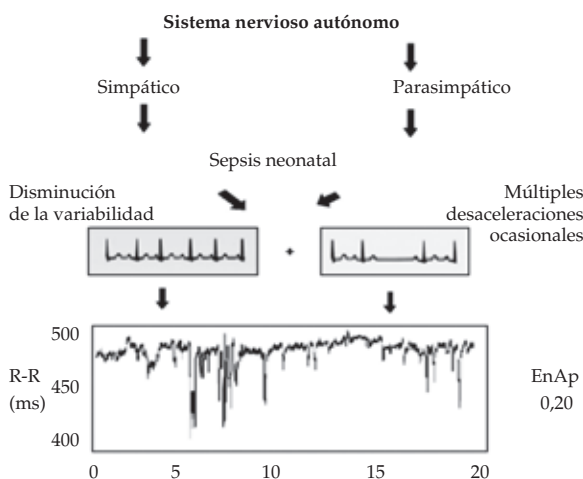
## CONCLUSIÓN

Como hasta el momento no se han podido encontrar pruebas de laboratorio que permitan el diagnóstico de la sepsis de forma temprana, se están intentando estrategias de vigilancia de patrones fisiológicos que permitan la sospecha precoz de sepsis, con el objetivo de disminuir la morbi-mortalidad.

El monitoreo continuo de la frecuencia cardíaca para determinar la presencia de disminuciones de la variabilidad, desaceleraciones y valores pequeños de entropía aproximada promete ser un adjunto útil a la observación clínica y a las pruebas de laboratorio convencionales. Resta entonces la tarea de validar el método y determinar, efectivamente, los valores límite diagnósticos de la EnAp de la frecuencia cardíaca que permitan identificar, con precisión, los recién nacidos en mayor riesgo de desarrollar sepsis. Será entonces necesario realizar ensayos diagnósticos bien diseñados y, una vez que esta hipótesis haya demostrado su utilidad, vincularse con la industria de la bioingeniería para desarrollar monitores que incorporen esta nueva tecnología a los cuidados de rutina.

Por el momento, esto es solo una propuesta para futuras investigaciones y desarrollos tecnológicos, con el objetivo de predecir la sepsis neonatal con mayor antelación. ■

FIGURA 6. Regulación autonómica anormal de la frecuencia cardíaca



Durante la sepsis se produce una disregulación de las señales simpáticas y parasimpáticas que llegan al marcapaso senoauricular produciendo desaceleraciones transitorias frecuentes e importantes y una marcada disminución de la variabilidad de los intervalos R-R, como se muestra en el electrocardiograma. Abajo, en el trazado de la secuencia temporal de la frecuencia cardíaca de 20 minutos, se observa un dibujo más constante de los intervalos R-R medidos en milisegundos (ms) y desaceleraciones frecuentes. La entropía aproximada (EnAp) es muy baja, cercana a 0, lo cual implica que existe la característica regularidad de la frecuencia cardíaca durante la sepsis.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet* 2005;365:63-78.
2. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2002;110:285-91.
3. Bassler D, Stoll BJ, Schmidt B, Asztalos EV, et al. Using a count of neonatal morbidities to predict poor outcome in extremely low birth weight infants: added role of neonatal infection. *Pediatrics* 2009;123:313-8.
4. Ng PC. Diagnostic markers of infection in neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004;89:F229-35.
5. Griffin MP, Lake DE, O'Shea TM, Moorman JR. Heart rate characteristics and clinical signs in neonatal sepsis. *Pediatr Res* 2007;61(2):222-7.
6. Dunn AJ, Wang J, Ando T. Effects of cytokines on cerebral neurotransmission. Comparison with the effects of stress. *Adv Exp Med Biol* 1999;461:117-27.
7. Katafuchi T, Hori T, Take S. Central administration of in-



- terferon-alpha enhances rat sympathetic nerve activity to the spleen. *Neurosci Lett* 1991;125:37-40.
8. McCann SM, Kimura M, Karanth S, Yu WH, et al. The mechanism of action of cytokines to control the release of hypothalamic and pituitary hormones in infection. *Ann N Y Acad Sci* 2000;917:4-18.
  9. Gutiérrez EG, Banks WA, Kastin AJ. Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse. *J Neuroimmunol* 1993;47:169-76.
  10. Akrouf N, Sharshar T, Annane D. Mechanisms of brain signaling during sepsis. *Curr Neuropharmacol* 2009;7:296-301.
  11. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000;405:458-62.
  12. Werdan K, Schmidt H, Ebelt H, Zorn-Pauly K, et al. Impaired regulation of cardiac function in sepsis, SIRS, and MODS. *Can J Physiol Pharmacol* 2009;87:266-74.
  13. Parrillo JE, Burch C, Shelhamer JH, Parker MM, et al. A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance. *J Clin Invest* 1985;76:1539-53.
  14. Andresen M, Regueira T. Disfunción miocárdica en la sepsis. *Rev Med Chile* 2010;138:888-896.
  15. Dong LW, Wu LL, Ji Y, Liu MS. Impairment of the ryanodine-sensitive calcium release channels in the cardiac sarcoplasmic reticulum and its underlying mechanism during the hypodynamic phase of sepsis. *Shock* 2001;16:33-9.
  16. Wu LL, Tang C, Dong LW, Liu MS. Altered phospholamban-calcium ATPase interaction in cardiac sarcoplasmic reticulum during the progression of sepsis. *Shock* 2002;17:389-93.
  17. Soriano FG, Nogueira AC, Caldini EG, Lins MH, et al. Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock. *Crit Care Med* 2006;34:1073-9.
  18. Fauvel H, Marchetti P, Chopin C, Formstecher P, Nevière R. Differential effects of caspase inhibitors on endotoxin-induced myocardial dysfunction and heart apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:H1608-14.
  19. Schmidt H, Müller-Werdan U, Hoffmann T, Francis DP, et al. Autonomic dysfunction predicts mortality in patients with multiple organ dysfunction syndrome of different age groups. *Crit Care Med* 2005;33(9):1994-2002.
  20. Mangoni ME, Nargeot J. Genesis and regulation of the heart automaticity. *Physiol Rev* 2008;88:919-82.
  21. Griffin MP, Moorman JR. Toward the early diagnosis of neonatal sepsis and sepsis-like illness using novel heart rate analysis. *Pediatrics* 2001;107:97-104.
  22. Griffin MP, O'Shea TM, Bissonette EA, Harrell FE Jr, et al. Abnormal heart rate characteristics preceding neonatal sepsis and sepsis-like illness. *Pediatr Res* 2003;53:920-6.
  23. Griffin MP, Lake DE, Moorman JR. Heart rate characteristics and laboratory tests in neonatal sepsis. *Pediatrics* 2005;115:937-41.
  24. Griffin MP, Lake DE, Bissonette EA, Harrell FE Jr, et al. Heart rate characteristics: novel physiologic markers to predict neonatal infection and death. *Pediatrics* 2005;116:1070-4.
  25. Cao H, Lake DE, Griffin MP, Moorman JR. Increased nonstationarity of neonatal heart rate before the clinical diagnosis of sepsis. *Ann Biomed Eng* 2004;32:233-44.
  26. Moorman JR, Lake DE, Griffin MP. Heart rate characteristics monitoring for neonatal sepsis. *IEEE Trans Biomed Eng* 2006;53:126-32.
  27. Lipsitz LA, Pincus SM, Morin RJ, Tong S, et al. Preliminary evidence for the evolution in complexity of heart rate dynamics during autonomic maturation in neonatal swine. *J Auton Nerv Syst* 1997;65:1-9.
  28. Pincus SM, Goldberger AL. Physiological time-series analysis: what does regularity quantify? *Am J Physiol* 1994;266:H1643-56.
  29. Pincus SM. Approximate entropy as a measure of system complexity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:2297-301.