

Revisión de tema: Biomarcadores neuronales y gliales como estrategia de clasificación cuantitativa de la severidad del trauma craneoencefálico

Review: Neuronal and glial biomarkers as quantitative approach to classify the severity of traumatic brain injury

Alexander Rodríguez Sanjuán¹, Eliana Cervera²,
Gerardo Valencia Villa³, Pedro J. Villalba Amarís⁴

Resumen

Se ha puesto de relieve el potencial de la evaluación neurológica temprana inexacta de la severidad en pacientes con trauma craneoencefálico, ya que en algunos subgrupos de pacientes la gravedad de la lesión puede ser sobreestimada y en otros subestimada, lo cual ha llevado a la búsqueda de biomarcadores asociados a la lesión cerebral temprana. La investigación en este campo ha aumentado de forma exponencial en los últimos 20 años, con la mayoría de las publicaciones sobre el tema en los últimos 10 años, evidenciando diferentes resultados, que van desde hallazgos prometedores a otros no concluyentes.

Un biomarcador ideal debería poder demostrar una alta sensibilidad y especificidad para la lesión cerebral, entre otros aspectos. En la actualidad no se cuenta con un biomarcador único capaz de predecir el deterioro clínico de los pacientes que presente tanto una alta sensibilidad como especificidad; en lugar de ello se debe disponer de un panel de marcadores que reflejen diferentes aspectos de la injuria traumática. Este trabajo presenta una revisión sobre los biomarcadores más prometedores como predictores de severidad del trauma craneoencefálico, explorando su naturaleza, ubicación a nivel encefálico, sus concentraciones basales, su vida media y los métodos por los cuales estos pueden ser cuantificados una vez atraviesan la barrera hematoencefálica.

Palabras clave: traumatismo encefálico, marcadores biológicos, pronóstico, hemorragia cerebral traumática.

Fecha de recepción: 7 de marzo de 2016
Fecha de aceptación: 4 de abril de 2016

¹ Estudiante de Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad del Norte. Barranquilla (Colombia). alexandersanjuan@uninorte.edu.co

² Estudiante de Medicina, Universidad del Norte. Barranquilla (Colombia). edcervera@uninorte.edu.co

³ Profesor asistente, Departamento de Medicina, Universidad del Norte. Barranquilla (Colombia). gvalenci@uninorte.edu.co

⁴ Profesor asistente, Departamento de Medicina, Universidad del Norte. Barranquilla (Colombia). villalbp@uninorte.edu.co

Correspondencia: Pedro Javier Villalba Amarís, Universidad del Norte, km 5, antigua vía a Puerto Colombia. Barranquilla (Colombia) (+5)3509285, villalbp@uninorte.edu.co

Abstract

It has been highlighted the potential of early neurological inaccurate assessment of severity in patients with head trauma; in some cases, for example, the severity of the injury is overestimated or underestimated. The aforementioned situation has led to the search of biomarkers associated with early brain injury. Research in this field has exponentially increased over the past 20 years, with a higher publication ramp in the last 10 years. The results range from promising findings to other sometime inconclusive. An ideal biomarker should be able to demonstrate high sensitivity and specificity for brain injury, among others aspects. Literature has shown that there is not a single biomarker that can predict patient's clinical decline with high sensitivity and specificity correlation. Instead, it is required to use a panel of markers that reflect different aspects of traumatic brain injury. In this paper, we conducted a review of the most promising biomarkers studied as predictors of severity of head trauma, with special focus on their nature, location, basal concentrations, blood half-life and methods by which they can be quantified in blood samples.

Keywords: traumatic brain injury, biomarkers, prognosis, traumatic brain bleeding.

INTRODUCCIÓN

Cada año 1,1 millones de estadounidenses son tratados en salas de emergencia por trauma craneoencefálico (TCE), 235 000 son hospitalizados por lesión cerebral traumática no fatal y fallecen 50 000. En Finlandia, un estudio prospectivo encontró que el 3,8 % de la población había experimentado al menos 1 hospitalización debido a lesión cerebral traumática hasta los 35 años de edad. De modo similar, en otro estudio en Nueva Zelanda se obtuvo que a los 25 años de edad el 31,6 % de la población había experimentado al menos una lesión cerebral traumática que requirió atención médica (hospitalización, servicio de urgencias o consultorio médico). Se estima que el 43,3 % de los estadounidenses tienen discapacidad residual 1 año después del daño. La estimación más reciente de la prevalencia de los residentes civiles estadounidenses que viven con discapacidad después de la hospitalización con TCE es de 3,2 millones (1).

El trauma craneoencefálico se evalúa y clasifica clínicamente de acuerdo con la Escala de Coma de Glasgow o Glasgow Coma Scale (GCS)(2) y por imagenología: tomografía axial

computarizada (TAC) y resonancia magnética (RM). Sin embargo, el uso de la GCS como herramienta diagnóstica está sujeto a limitaciones importantes, siendo difícil valorar la apertura ocular en pacientes que presentan lesiones graves en la cara; asimismo, la respuesta verbal no puede ser estimada correctamente en individuos que se encuentren bajo los efectos de drogas psicoactivas y/o alcohol, y en aquellos que por el estado de gravedad se encuentren intubados o sedados tendrán capacidades lingüísticas limitadas (3).

Dado que la gravedad de la lesión neurológica del paciente puede ser subestimada en algunos casos y sobreestimada en otros, se ha centrado la atención en las estrategias de evaluación temprana en los pacientes con TCE y su inexactitud ante circunstancias especiales y frecuentes (4).

En vista de la alta tasa de intubación y las dificultades en la evaluación adecuada de la apertura ocular, Stocchetti et al. concluyeron que la puntuación GCS motora era más importante que la apertura ocular o las respuestas verbales para predecir la gravedad de la lesión neurológica.

Otras investigaciones recientes han proporcionado pruebas de que el uso de medicamentos sedantes impidieron la evaluación precisa del GCS durante las primeras 24 horas (h) (5).

Otros desafíos para el diagnóstico se presentan por la naturaleza evolutiva de algunas lesiones cerebrales, que pueden conducir a un mayor deterioro neurológico. Además, las respuestas neurológicas después del TCE pueden variar con el tiempo por razones ajenas a la lesión. Por ejemplo, el trauma se asocia frecuentemente con la intoxicación por alcohol y drogas (6). Estos factores en conjunto sitúan a la GCS en un escenario lleno de limitaciones que disminuyen la confiabilidad de la misma como una prueba altamente sensible en circunstancias específicas y no poco frecuentes como las ya mencionadas.

Por otra parte, las técnicas de neuroimagen se utilizan para proporcionar información objetiva sobre la de la lesión y su ubicación (7) y no están influenciadas por los factores de confusión mencionados. Sin embargo, la TAC tiene una baja sensibilidad para la lesión cerebral difusa y cuando el TCE es leve (8) y la disponibilidad y utilidad de la RM en la etapa aguda es limitada.

Estos hechos, entre otros, han dado lugar a la búsqueda de métodos alternativos para evaluar el daño; siendo de especial interés la búsqueda de biomarcadores, los cuales se constituyen en indicadores más confiables de lesión neuronal, debido a su contexto molecular y su expresión temprana.

La investigación en este campo ha aumentado de forma exponencial en los últimos 20 años, con la mayoría de las publicaciones sobre el tema en los últimos 10 años. La mayor parte de los marcadores están asociados con el daño celular.

En la tabla 1 se presenta un resumen de los marcadores asociados a TCE más estudiados hasta la fecha, su naturaleza, localización ti-

sular, peso molecular, vida media, valores normales y connotación fisiopatológica.

Los principales mecanismos fisiopatológicos reflejados por los biomarcadores giales o neuronales son la disrupción de la barrera hematoencefálica (*Blood-brain barrier disruption*, BBBD) y la lesión neuronal, respectivamente. Teniendo en cuenta esta base, Mondello et al. proponen que sería ventajoso disponer de un panel de biomarcadores complementarios que muestren diferentes perfiles temporales y que reflejen distintas condiciones fisiopatológicas posteriores al TCE (9). De manera paralela, Papa et al. (9) proponen que un biomarcador ideal debería tener las siguientes características:

1. Demostrar alta sensibilidad y especificidad para la lesión cerebral.
2. Estratificar los pacientes según la gravedad de la lesión.
3. Tener rápida aparición en el líquido biológico accesible.
4. Proporcionar información sobre los mecanismos de lesión.
5. Tener propiedades biocinéticas bien definidas.
6. Monitorear el progreso de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.
7. Predecir el resultado funcional.
8. Medirse fácilmente mediante técnicas simples ampliamente disponibles.

En esta revisión presentamos un compendio de los biomarcadores más estudiados en el TCE, sus posibles aplicaciones y las técnicas actuales para su detección. El resumen de la evidencia para α II-espectrina y SBDPs (*productos de degradación de la α II-espectrina*) y para NSE (*enolasa neuronal específica*) se presenta en las tablas 5 y 6, respectivamente.

Tabla 1. Principales biomarcadores en TCE y sus propiedades

Biomarcador	Localización	PM (KDa)	Naturaleza	Vida media	Valor Normal en suero	Connotación
UCH-L1	Neuronal	20(36) 24(37)	Enzima de ubiquitinación	20 min(38)	0,12 ng/mL(39)	Lesión neuronal
NSE	Neuronal	90(40) 78(41)	Enzima	24hrs(41) 48hrs(36)	<12,5 ng/mL(42); ≤15 ng/mL(41)	Lesión neuronal
II-espectrina		280(36)		2,9hrs(43)		
SBDP	Neuronal	120(36)	Proteína componente del citoesqueleto	1,5 días(44)	-----	Apoptosis
		145(36)		1 día(44)		
		150(36)		1 día(44)		
S-100B	Glial (astrocitos)	21(45)	Proteína ligadora de calcio	97 min(42) 112min(46)	0,328-0,01 pg/mL(11)	BBBD
MBP	Glial (Oligodendrocitos y células de Schwann)	18,5(45)	Proteína componente de la vaina de mielina	12hrs(46)	<0,3ng/mL(45)	Lesión de la sustancia blanca
GFAP	Glial (astrocitos)	40-53(29)	Proteína componente del citoesqueleto	-----	<0.03 ng/mL (29)	BBBD y lesión neuronal

PROTEÍNA LIGADORA DE CA++ - S-100β

Es una proteína del sistema nervioso central (SNC), se encuentra predominantemente en astrocitos y es el biomarcador periférico de BBBD más estudiado. Aumenta y disminuye rápidamente después del trauma. En modelos celulares se ha demostrado su liberación tras 15 segundos posterior al trauma. En humanos, lo más temprano que se ha podido detectar es 30 minutos postrauma. La vida media aproximada es de 97 minutos (10). El pico se presenta en el día 0 y las concentraciones descienden hacia el sexto día tanto en LCR como en suero.

Goyal et al.(11) reportaron niveles basales de S-100β en controles sanos en LCR de 0.0754 - 0.0034 ng/mL y en suero de 0.328 -0.101 pg/mL.

Esta proteína ha sido estudiada ampliamente en el trauma craneoencefálico leve (TCEL), de manera que los niveles elevados en suero se asocian a un incremento en la incidencia del síndrome postconcusional (12) y disfunción neurológica. También existen varios estudios que han reportado una correlación entre los niveles séricos de S-100β y la presencia de hallazgos patológicos en la resonancia magnética nuclear (RMN) cerebral, así como

anormalidades en la exploración neuropsicológica posterior al TCEL.

La mayoría de los estudios muestran que la medición S-100 β puede distinguir pacientes lesionados de los no lesionados con un grado incierto de utilidad en la predicción de mortalidad ya sea de forma aguda o en varios puntos en el tiempo (13-15). Véase tabla 2.

En términos generales, S-100 β es un predictor sensible pero no específico de anomalías en el TAC. Usando bajos niveles séricos de corte, la sensibilidad oscila entre 90 % y 100 % con una especificidad entre el 4 al 65 %.

Muller et al.(13) reportaron una sensibilidad de 0.95 (95 % CI 0.76 a 1.0) para S-100 β medido dentro de las primeras 12 horas con una especificidad de 31 % (95 % CI 0.25 a 0.38) en relación con hallazgos anormales en la TAC de cráneo en un estudio de 226 pacientes adultos

admitidos al hospital con diagnóstico de TCE leve (GCS 13-15).

Biberthaler et al. (15) encontraron resultados similares utilizando un nivel de corte de S-100 β de 0.1 ng/mL, medido dentro de las 3 primeras horas postrauma en 1309 pacientes con TCE leve y relacionándolos con la TAC de cráneo. La sensibilidad fue de 99 % (95 % CI 0.96 a 1.0) y la especificidad de 30 % (95 % CI 0.29 a 0.31).

La utilidad de S-100 β como marcador no parece afectarse por el consumo concomitante de alcohol. Mussack et al. realizaron un estudio en el que incluyeron pacientes con TCE leve con niveles demostrados de alcoholemia (media=182 mg/dl), y encontraron que la sensibilidad de S-100 β en las primeras 3 horas postrauma fue de 100 % (95 % CI 0.83 a 1.0) y la especificidad fue del 50 % (95 % CI 0.41 a 0.59)(16).

Tabla 2. Resumen de la evidencia reportada en la literatura sobre biomarcadores en S-100B

Referencia	Método de detección	Muestra	Hallazgos
Goyal et al. (11)	ELISA	LCR y suero	Aumento en LCR y suero primeros 6 días postTCE. Correlación entre niveles séricos y en LCR disminuyó a través del tiempo. Nivel en LCR es potencial predictor de GOS y DRS. Media y pico son predictores de mortalidad en TCE severo.
Muller et al. (47)	Sistema LIAISON automatizado (AB DiaSorin, Bromma, Sweden)	Suero	Significativamente elevado en lesión intracraneana. No puede reemplazar el examen clínico o el uso de TAC en TCEL. Puede servir como soporte para la selección de pacientes para TAC. S: 90-100%, E: 4-65 %
Biberthaler et al. (15)	Elecsys S100 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)	Suero	Aumento se relacionó con hallazgos en la TAC. S: 99%, E: 30 %
Biberthaler et al. (48)	Long term and Rapid test	Suero	Concentraciones se correlacionaron significativamente usando las dos técnicas de medición. Punto de corte calculado: 0.18ng/mL. S: 100 %, E: 46 %
Bazarian, et al. (17)	ELISA	Suero	S 80%, E 40 %

Fuente: Datos tabulados por los autores.

Por otra parte, Bazarian et al. estudiaron 96 pacientes con TCE, GCS 13-15 que presentaban además trauma de localización extracraneana, y encontraron una sensibilidad del 80% (95% CI 0.36 a 0.96) y una especificidad del 40% (95% CI 0.01 a 0.09) para S-100 β con un punto de corte de 0.08 ng/mL (17).

De los estudios descritos se deduce que la sensibilidad aumenta a medida que disminuye el tiempo transcurrido entre el trauma y la toma de muestra (ventana) y que al aumentar el punto de corte se observa un aumento en la especificidad.

En contraste, las limitaciones del uso de S-100 β como marcador obedecen a la marcada disminución en la sensibilidad y especificidad en el contexto del paciente politraumatizado, ya que la presencia de trauma extracraneano concomitante también ocasiona la liberación y elevación plasmática de esta proteína.

La presencia de S-100 β se ha reportado en otros tejidos diferentes al nervioso, principalmente en el tejido adiposo (18). A partir de esta observación se espera un efecto negativo sobre la especificidad de este marcador, debido al aumento que se presentaría en el contexto de lesiones extracraneanas, tal como sucede en el paciente politraumatizado.

Pham et al. (18) caracterizaron la especificidad tisular de S-100 β y evaluaron las fuentes extracraneanas de este marcador y cómo estas afectan los niveles séricos del mismo. Para este propósito realizaron la extracción de proteínas de 9 tejidos humanos diferentes (hígado, vejiga, riñón, colon, pulmón, músculo, páncreas, tejido adiposo, cerebro, amígdalas, estómago y piel) y su posterior análisis a través de ELISA y Western blot en 200 sujetos que recibían quimioterapia para manejo de linfomas del SNC.

Se administró una dosis de manitol (1.4M) por vía intra arterial en la carótida o arteria vertebral, confirmándose posteriormente la presencia de interrupción de la barrera hematoencefálica por medio de TAC de cráneo realizado inmediatamente después de la quimioterapia.

Los resultados presentados en este estudio mostraron que las fuentes extracraneanas de S-100 β no afectan los niveles séricos. Por lo tanto, el valor diagnóstico y el valor predictivo negativo de S-100 β no están comprometidos en el contexto de pacientes con enfermedades neurológicas pero sin lesiones traumáticas, ya sean cerebrales o extracraneanas.

Goyal et al. (11) evaluaron S-100 β como biomarcador pronóstico en sujetos adultos con TCE severo (TCEs) mediante la comparación de los resultados con los perfiles temporales de S-100 β tanto en líquido cefalorraquídeo (LCR) (n = 138 sujetos) como en suero (n = 80 sujetos) durante 6 días.

Las variables utilizadas para evaluar las fuentes extracerebrales de S-100 β en suero fueron: fractura de huesos largos, *Injury Severity Score* (ISS) y el trauma de cráneo aislado.

Después del TCE, los niveles de S-100 β en LCR y suero se incrementaron respecto a los controles sanos durante los primeros 6 días después de la lesión cerebral traumática ($p \leq 0,005$ y $p \leq 0,031$).

Aunque los niveles en LCR y suero tuvieron una alta correlación en los puntos de tiempo tempranos post-TCE, esta asociación disminuyó con el tiempo.

El análisis bivariado mostró que los sujetos que tenían perfiles temporales en LCR con

mayores concentraciones de S-100B tuvieron mayor mortalidad aguda ($p < 0.001$) y peor Glasgow Outcome Scale (GOS; $p = 0,002$) y las puntuaciones de discapacidad (DRS) ($p = 0,039$) 6 meses después de la lesión.

Los perfiles temporales en suero se asociaron con la mortalidad aguda ($p = 0,015$); posiblemente como resultado de las fuentes extracerebrales de S-100 β en el suero, representado por altas puntuaciones ISS ($p = 0,032$).

Debido a su perfil temporal de elevación, y los mecanismos fisiopatológicos que originan su liberación hacia el suero, S-100 β se constituye en un excelente candidato como biomarcador temprano del TCE, con la posible limitación en pacientes con trauma concomitante en otros sitios que conduce a la elevación sérica de S-100 β desde fuentes extracranianas.

HIDROLASA C-TERMINAL DE UBIQUITINA - L1 (UCH-L1)

La hidrolasa C-terminal de ubiquitina - L1 (*Ubiquitin C-terminal Hydrolase-L1*, UCH-L1) es una enzima de conjugación E2 presente en el citoplasma de casi todas las neuronas (19) y ha sido usada previamente como un marcador histológico neuronal debido a su gran abundancia y expresión específica en estas células(20). Su localización también se ha mostrado en neuronas del sistema nervioso periférico, particularmente en la unión neuromuscular(21), así como en células del sistema neuroendocrino. Además, se ha demostrado la presencia de UCH-L1 en células endoteliales aórticas y en células de músculo liso y tumores(22). Esta enzima cumple la función de agregar y remover ubiquitina de las proteínas con el fin de promover su degradación por la vía proteasoma dependiente (19).

UCH-L1 es uno de los biomarcadores más recientes propuestos para el TCE, y por esta razón existen aún datos limitados que demuestren su utilidad (véase tabla 3).

Se han identificado tres isoenzimas de UCH (UCH-L1, UCH-L2 and UCH-L3), siendo UCH-L1 la única presente en altas concentraciones en el sistema nervioso central (19).

En un estudio prospectivo de casos y controles con 66 pacientes, Papa et al. (23) obtuvieron muestras de LCR ventricular para cada paciente tras 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, y 168 horas posterior al TCE para detección por medio de ELISA de UCH-L1. La severidad fue determinada por la escala de Glasgow (GCS) y hallazgos tomográficos. Se evaluó mortalidad y secuelas neurológicas a los 6 meses.

Los pacientes con TCE tuvieron una elevación significativa de los niveles de UCH-L1 en LCR en cada uno de los puntos en el tiempo frente a los controles, media total en pacientes con TCE = 44.2 ng/mL (± 7.9), en comparación con 2.7 ng/mL (± 0.7) en los controles ($p < 0.001$).

Se encontraron niveles significativamente elevados de UCH-L1 en los pacientes con un puntaje menor en el GCS a las 24 horas en aquellos que habían presentado complicaciones postrauma, en los que fallecieron dentro de las primeras 6 semanas y en aquellos con secuelas graves a los 6 meses.

Estos datos sugieren que este marcador resultaría útil en la determinación de la severidad en pacientes con TCE. Se requieren estudios similares con muestras más grandes para validar estos hallazgos.

Tabla 3. Resumen de la evidencia reportada en la literatura sobre UCH-L1

Referencia	Método de detección	Muestra	Hallazgos
Papa et al. (23)	ELISA	LCR	Aumento a las 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, y 168 h postTCE, $\bar{x} = 44.2$ ng/mL (± 7.9), frente a controles $\bar{x} = 2.7$ ng/mL (± 0.7) ($p < 0.001$). Elevado además cuando existe: menor GCS a las 24 horas, complicaciones postrauma, fallecidos en primeras 6 semanas, o secuelas graves a los 6 meses.
Brophy et al. (49)	ELISA	LCR y suero	Correlación significativa entre biocinética y medias de [UCH-L1] en LCR y suero en TCE grave ($r_s = 0.59$, $p < 0.001$) (AUC, $r_s = 0.3$, $p = 0.027$). Incremento < 24 h postrauma, estadísticamente significativo en la C_{max} (0-24 h) en LCR y suero en los que murieron.
Mondello et al.	ELISA tipo sandwich	LCR y suero	Permanece elevado hasta 7 días postTCE, AUC en suero y LCR estadísticamente significativos en todos los puntos de tiempo hasta 24 horas ($p < 0.001$). Niveles en < 12 horas en GCS 3-5 $>$ GCS 6-8 ($p = 0.07$ y $p = 0.02$, Mann-Whitney test, respectivamente). Niveles séricos y en LCR significativamente más altos y prolongados en no sobrevivientes. Un nivel > 5.22 ng/mL fue predictor de mortalidad (OR 4.8).
Papa et al.	ELISA	Suero	Elevado en GCS 15 vs. controles sin trauma (AUC 0.8) y controles con trauma. Elevación mayor en GCS 15 más TAC+ o requerimiento de intervención neuroquirúrgica. Aporta evidencia como potencial marcador de TCE leve.
Kou et al.	Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECL-IA)	Suero	Complementa a la RMN cerebral en la detección de lesión. Niveles significativamente elevados de en pacientes en el estado agudo de TCE leve.
Diaz-Arrastia et al.	ELISA tipo sandwich	Suero	Medición < 24 horas postrauma distinguió presencia y ausencia de lesiones intracraneeales (AUC de 0.713). No correlación entre los niveles en TCE leve y recuperación a 6 meses. Incremento significativo en los niveles en TCE moderado/severo comparados con TCE leve. Buena sensibilidad para discriminar entre TCE y controles (AUC 0.87). Combinación con GFAP mostró mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de TCE (AUC 0.94).
Puvenna et al.	ELISA	Suero	No hubo diferencias significativas entre los niveles de controles negativos y TCE < 6 horas postrauma, independiente de la TAC. Los niveles estuvieron elevados después de cada juego pero sin correlación con el número de impactos recibidos.

Fuente: Datos tabulados por los autores.

Trabajos adicionales han confirmado la correlación positiva entre las concentraciones de UCH-L1 a nivel de LCR y muestras séricas (24).

De manera similar, Mondello et al. (25) realizaron un estudio de casos y controles con 95 pacientes con TCE severo con el fin de

evaluar las concentraciones de UCH-L1 en LCR y suero por medio de ELISA tipo sandwich y su asociación con resultados clínicos. Se estudió el perfil temporal del marcador tanto en LCR como en suero durante los 7 primeros días siguientes al trauma y se compararon con controles.

Los niveles de UCH-L1 en LCR y suero se mostraron significativamente elevados respecto a los controles durante todo el período de 7 días; confirmándose además una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de TCE frente a los controles, con valores de AUC en suero y LCR estadísticamente significativos en todos los puntos de tiempo hasta 24 horas ($p < .001$).

Los niveles de UCH-L1 en las primeras 12 horas tanto en LCR como en suero en los pacientes con GCS 3-5 también fueron significativamente mayores que en aquellos con GCS 6-8. Además, los niveles de UCH-L1 en LCR y suero mostraron aparentemente distinguir entre los pacientes con TCE severo sobrevivientes y los no sobrevivientes dentro del estudio, de tal manera que aquellos que fallecieron tenían niveles de UCH-L1 séricos y en LCR significativamente más altos y además mayor persistencia de estos niveles en el tiempo.

En este estudio un nivel sérico de UCH-L1 >5.22 ng/mL fue un predictor de mortalidad (OR 4.8).

Papa et al. (20) analizaron UCH-L1 en suero tomado en las primeras 4 horas postrauma en pacientes con TCE leve ($n = 86$) y moderado ($n = 10$), así como en controles con trauma y controles sin trauma.

Para los pacientes con un GCS de 15, la UCH-L1 sérica estuvo significativamente elevada en comparación con los controles sin trauma, con un AUC de 0.87, y también en comparación con los controles con trauma, y estuvieron aún más elevados en aquellos pacientes con GCS de 15 que además tenían hallazgos positivos en la TAC o requirieron alguna intervención neuroquirúrgica.

Este estudio sugiere que UCH-L1 puede ser un potencial marcador de TCE leve.

De manera adicional, el 5 % de los pacientes con GCS de 15 (4/77) requirieron intervención neuroquirúrgica, lo cual fue mayor que en el 1 % encontrado en pacientes con GCS 14-15 reportados en el estudio de Jagoda et al., en el que las muestras se tomaron dentro de las primeras 24 horas postrauma. (10).

Se infiere de estos datos un aumento de la sensibilidad de este marcador entre más temprana sea su detección postrauma.

En un estudio más pequeño ($n=9$), la UCH-L1 en suero (tomada <6 hrs postrauma) se encontró elevada de manera significativa en pacientes con TCE leve (26).

En otro estudio de TCE de varios niveles de severidad, la UCH-L1 sérica medida antes de 24 horas postrauma pudo distinguir pacientes con lesiones intracraneanas de aquellos sin lesiones intracraneanas con un AUC de 0.713 (27).

Sin embargo, no hubo correlación entre los niveles de UCH-L1 en pacientes con TCE leve y la recuperación a los 6 meses medida por la escala GOSE. Mientras que sí existió un incremento significativo en los niveles de UCH-L1 en pacientes con TCE moderado/severo en comparación con TCE leve, los pacientes con TCE leve no fueron comparados con los controles.

En una investigación realizada en una escuela secundaria Puvanna et al. (12) seleccionaron 15 jugadores de fútbol americano; obtuvieron muestras séricas antes y después de cada uno de dos juegos diferentes. No observaron diferencias significativas entre los niveles de

UCH-L1 entre los controles negativos y los individuos positivos para TCE leve dentro de las primeras 6 horas postrauma, independientemente de si existían o no hallazgos tomográficos positivos. Adicionalmente a esto, no hubo correlación entre los niveles séricos de UCH-L1 y el número de impactos recibidos. Los niveles de UCH-L1 y S-100 β , marcadores de lesión neuronal y disrupción de la barrera hematoencefálica, respectivamente, estuvieron elevados ambos después de cada juego. Sin embargo, solamente S-100 β , a diferencia de UCH-L1, se correlacionó con el número de impactos recibidos y la elevación de UCH-L1 no se correlacionó con los incrementos de S-100 β .

Los autores sugieren que los niveles elevados de UCH-L1 posterior al juego pueden deberse a la liberación de esta proteína desde la unión neuromuscular.

Se puede concluir que existen datos muy divergentes respecto al uso de UCH-L1 como un biomarcador sérico de TCE leve. Algunos estudios sugieren que es un marcador prometedor, mientras que otros no encuentran una correlación con la lesión. La liberación desde fuentes diferentes al sistema nervioso central podría contribuir a la elevación de los niveles séricos.

LA PROTEÍNA GLIAL ÁCIDA FIBRILAR (GFAP)

La proteína glial ácida fibrilar (*Glial fibrillary acidic protein*, GFADP) es una proteína derivada de las células gliales, que hace parte filamento intermedio del citoesqueleto de los astrocitos donde es la proteína más abundante. Es considerado un marcador específico de enfermedades del SNC, y también está relacionado con varios procesos neuronales

nocivos que comprometen la integridad de la barrera hematoencefálica (28), y ha mostrado ser un biomarcador potencialmente útil para predecir resultados clínicos en el TCE. Su nivel normal en suero es <0.03 ng/mL (29), por lo que cualquier elevación del mismo indicará disrupción de la barrera hematoencefálica (véase tabla 4).

Debido a su gran inmunoreactividad ha sido usada como indicador de lesión cerebral en modelos experimentales de TCE leve (30).

La primera medición de GFAP en sangre humana realizada con éxito GFAP se hizo en 1999 en 12 de 25 pacientes con TCE severo (31).

Utilizando un modelo *weight drop* con ratones (32) para evaluar dos niveles de TCE leve, uno con hemorragia (TCE leve complicado) y otro sin hemorragia (TCE leve no complicado), Yang et al. (33) encontraron que la GFAP en suero estuvo significativamente elevada en ambos modelos de lesión a los 90 minutos y 6 horas después de la lesión, pero había vuelto a la normalidad a las 24 horas.

En otro estudio pequeño con nueve pacientes con TCE leve, Kou et al. (26) reportaron niveles séricos de GFAP sueros significativamente elevados en las primeras 24 horas postrauma; siendo aun más significativa esta elevación en aquellos con lesiones hemorrágicas; sin embargo, el tamaño reducido de la muestra no permite validar las conclusiones.

En otro estudio Mondello et al. (34) evaluaron si la relación entre un marcador neuronal (UCH-L1) y uno glial (GFAP) se correlaciona con la presencia de diferentes patologías intracraneales posteriores al trauma cerebral. Obtuvieron muestras séricas de 59 pacientes con TCE severo al ingreso al hospital y midieron los niveles de UCH-L1 y GFAP.

Tabla 4. Resumen de la evidencia reportada en la literatura sobre GFAP en TCE

Referencia	Método de detección	Muestra	Hallazgos
Kou et al. (26)	Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECL-IA)	Suero	Significativamente elevado en todos los casos de hemorragia intracraneana, con potencial capacidad de tamizaje. Tamaño reducido de la muestra no permite validar las conclusiones.
Mondello et al. (34)	ELISA tipo sandwich	Suero	Evalúa GNR (GFAP/UCH-L1): Mediana = 0.85, correlación positiva con edad ($R = 0.45$, $p = 0.003$). Mayor en lesiones focalizadas vs. lesión difusa (1,77 versus 0,48, respectivamente; $p = 0,003$). Diferencia tipo de lesión ($AUC = 0,72$; $p = 0,003$). Medición temprana más precisa (<12 hrs postrauma) vs. tardía ($AUC = 0,80$; $p = 0,002$). Asociación independiente con el tipo de lesión, pero no con el GCS. Predictor independiente de mortalidad.
Papa et al. (35)	ELISA	Suero	S-100B y GFAP elevados significativamente en todos los pacientes, más aun lesiones intracraneanas. Para GCS 14-15, $AUC = 0.82$ en identificación de lesiones intracraneanas para GFAP (0.77 para S-100B). Con lesiones extracraneanas y punto de corte de 0.067ng/mL, GFAP $S = 100\%$ y $E = 55\%$ para predecir lesiones intracraneanas. GFAP supera a S-100B en identificación de lesiones intracraneanas en TCE leve y moderado, incluso en presencia de lesiones extracraneanas.
Papa et al. (50)	ELISA	Suero	GFAP-BDP significativamente elevados en TCE leve vs. controles sin trauma o con trauma. $AUC = 0.88$ para identificar lesión cerebral en GCS 15. Niveles mayores en GCS 15 con TAC+.
Okonkwo et al. (51)	ELISA	Suero	GFAP-BDP < 24h postrauma distinguió entre TCE leve y moderado/severo (AUC de 0.87). No se incluyeron controles, no se comparó TCE leve versus moderado, y la mayor parte del análisis estadístico se hizo con todos los niveles de severidad al tiempo.

Fuente: Datos tabulados por los autores.

Tabla 5. Resumen de la evidencia reportada en la literatura sobre α II-espectrina y SBDP's

Referencia	Método de detección	Muestra	Hallazgos
Pineda et al. (52)	Western-blot	LCR	Niveles de SBDP mediados por calpaína y por caspasa-3 estuvieron significativamente elevados a las 6, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas postrauma vs. controles. El curso temporal de los fragmentos SBDP150 y SBDP145 (mediados por calpaína) difería del SBDP120 (mediado por caspasa-3) en el período postrauma evaluado. Los valores promedio por densitometría de SBDP medidos de manera temprana después del trauma se correlacionaron con la severidad de la lesión, la TAC, y los resultados a los 6 meses postrauma.
Siman et al. (53)	ELISA	Suero	El SNTF elevado en TCEL y pacientes con lesiones ortopédicas. Esta elevación se asoció con lesión axonal difusa. El aumento en TCEL con TAC negativo mostró $S = 100\%$ y $E = 75\%$ para predecir disfunción cognitiva a los 3 meses postrauma.
Siman et al. (54)	ELISA	Suero	Elevación de SNTF en jugadores de hockey, por encima de la media en pretemporada 12 y 144 horas postconcusión. Niveles significativamente más altos cuando síntomas demoraron > 6 días en desaparecer. $AUC = 0.87$ para diagnosticar concusiones con síntomas postconcusionales persistentes.
Berger et al. (55)	ELISA	Suero	Mediciones séricas SBDP < 24 horas postrauma en pacientes pediátricos con TCEL no mostraron diferencias significativas con el grupo control.

Fuente: Datos tabulados por los autores.

Tabla 6. Resumen de la evidencia reportada en la literatura sobre NSE

Referencia	Método de detección	Muestra	Hallazgos
Bandyopadhyay et al. (56)	Radioinmunoensayo estándar	Suero	Niveles aumentados en TAC+ vs. TAC normal (16,8 6±1,1ng/mL, 26.9 ±3,0 ng/mL ; p= 0,003). en GCS < 15 vs. GCS normal (16,7±1,2 ng/mL vs. 31,1±3.6 ng/mL; p = 0,001)y GOS anormal vs. GOS normal (46,4±12,7ng/mL; IC95 % 15 - 77 vs. 19,5±1,4ng/mL; IC 95 % 17-22). S 86%, E 74 % en predicción de pobres resultados. Mal predictor de TAC anormal (c estadística de 0,66).
Meric et al. (57)	Inmunoensayo automatizado	Suero	Diferencia significativa en niveles entre: Controles y TCE moderado TCE severo y controles (p<0,05) TCE leve y moderado (p<0,05) TCE moderado y severo (p=0,49) GCS de admisión en TCE leve (p<0,05) No diferencia significativa entre: TCE leve y controles (p >0,05) NSE y el GOS en el grupo de TCE leve (p> 0.05)

Fuente: Datos tabulados por los autores.

La relación glial/neuronal (GNR) se midió como el cociente entre las concentraciones de GFAP y UCH-L1.

Por medio del análisis de regresión logística se identificaron variables asociadas con el tipo de lesión.

El GNR tuvo una mediana de 0.85 y se correlacionó positivamente con la edad.

Al evaluar la TAC de cráneo al ingreso 29 pacientes presentaron lesión difusa y 30 lesión localizada.

El GNR fue significativamente mayor en el grupo con lesiones focalizadas en comparación con el grupo con lesión difusa.

El análisis ROC mostró que el GNR discriminó entre los dos tipos de lesión.

El GNR fue más preciso cuando se realizaba tempranamente que cuando se hacía tardíamente (véase tabla 4).

El incremento en el GNR se asoció de manera independiente con el tipo de lesión, pero no con la edad, el género, el GCS, o el mecanismo del trauma. Este cociente fue significativamente mayor en los pacientes que fallecieron, pero no fue un predictor independiente de mortalidad.

Estos datos indican que el GNR brinda información valiosa acerca de los diferentes tipos de lesión, lo cual es de gran utilidad clínica. Además, el GNR puede ayudar a identificar los mecanismos fisiopatológicos posteriores a los diferentes tipos de TCE; siendo esto de gran utilidad a la hora de implementar las medidas terapéuticas.

En una investigación realizada por Papa et al. (35) se comparó la capacidad de la GFAP tomada <4 hrs post TCE, para predecir lesiones intracraneanas en la TAC frente a S-100β. Aunque los pacientes presentaban GCS 9-15, solo 3 de 209 pacientes tenían GCS<13 y solamente el 10% presentó lesiones intracraneanas, tanto S-100β como GFAP estuvieron elevados de ma-

nera significativa en todos los pacientes, más aun en aquellos con lesiones intracraneanas.

Para aquellos pacientes con GCS 14-15, el AUC para la identificación de lesiones intracraneanas fue de 0.82 para GFAP y 0.77 para S-100β.

En presencia de lesiones extracraneanas y usando un punto de corte de 0.067ng/mL, GFAP fue 100 % sensible y 55 % específico en la predicción de lesiones intracraneanas. Con un punto de corte de 0.20ng/mL, S-100β también tuvo 100 % de sensibilidad pero solamente 5 % de especificidad.

Este estudio concluye que GFAP supera a S-100B en la identificación de lesiones intracraneanas en el TCE leve y moderado, incluso en presencia de lesiones extracraneanas.

De manera general, GFAP parece incrementarse en el TCE leve y pudiese representar un marcador más sensible que S-100β para la identificación de lesiones intracraneanas. No obstante, para su validación se necesitan más estudios que se enfoquen de manera específica en el TCE leve (GCS 13-15), que incluyan controles apropiados y comparaciones estadísticas adecuadas.

CONCLUSIONES

El estudio de la evidencia disponible sobre los diferentes marcadores séricos en trauma craneoencefálico presentado en esta revisión permite concluir que no existe en la actualidad un biomarcador único capaz de predecir el deterioro clínico de los pacientes con alta sensibilidad y especificidad. Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos de la lesión cerebral traumática sugieren que en lugar de ello se debe disponer de un panel de marcadores que reflejen diferentes aspectos de la injuria

traumática, incluyendo la disrupción de la barrera hematoencefálica y la lesión neuronal.

La literatura ha demostrado que la utilización conjunta de S-100β y GFAP o UCH-L1 representaría una valiosa herramienta de carácter pronóstico temprano y de seguimiento en el TCE de manera adicional al GCS y la TAC, guiando, de esa manera, las decisiones de manejo inicial e intervenciones agresivas.

Igualmente, dado que el perfil cinético de estos marcadores es diferente, pues presenta picos de aparición más tempranos que otros y distintos tiempos de permanencia en suero, su utilidad también estaría correlacionada con diferentes etapas postrauma, de manera que S-100B y UCH-L1 son mejores marcadores tempranos, mientras que GFAP es mejor predictor de lesiones en el TAC e intervenciones quirúrgicas en los primeros 7 días postrauma en el TCE leve y moderado.

Aunado a lo anterior, la literatura muestra también que estos biomarcadores están siendo medidos con técnicas que demandan el uso de equipos y procedimientos complejos (tales como ELISA) en los que se hace necesario el uso de moléculas marcadoras; evidenciando, de esta forma, la necesidad del desarrollo de técnicas rápidas y costo-efectivas que permitan la implementación de biomarcadores en el ámbito clínico.

Agradecimientos

El trabajo de investigación en el que se encuentra enmarcado el desarrollo de este artículo ha sido financiado por la Universidad de Norte (Cod.: 2014-0019) y Colciencias (contrato 680-2014).

Conflicto de intereses: ninguno.

Financiación: Universidad del Norte.

REFERENCIAS

1. Corrigan JD, Selassie AW, Orman J a L. The epidemiology of traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil* [Internet] 2010;25(2):72–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23192076>
2. Matis G, Birbilis T. The Glasgow Coma Scale –a brief review Past, present, future. *Acta Neurol Belg* [Internet] 2008;108(3):75-89. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19115670>
3. Forastero Fernández-Salguero P, Echevarria Ruiz de Vargas C, Barrera Chacón JM. Traumatismos craneoencefálicos. Escalas de valoración para la medida de resultados en rehabilitación. *Rehabilitación* [Internet] 2002 Nov 1; 36(06):408-17. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-rehabilitacion-120-articulo-traumatismos-craneoencefalicos-escalas-valoracion-medida-13040507>
4. Stocchetti N, Pagan F, Calappi E, Canavesi K, Beretta L, Citerio G et al. Inaccurate early assessment of neurological severity in head injury. *J Neurotrauma*. 2004;21(9):1131-40.
5. Livingston BM, Mackenzie SJ, MacKirby FN, Howie JC. Should the pre-sedation Glasgow Coma Scale value be used when calculating Acute Physiology and Chronic Health Evaluation scores for sedated patients? Scottish Intensive Care Society Audit Group. *Critical care medicine* 2000.
6. Mondello S, Muller U, Jeromin A, Streeter J, Hayes RL, Wang KKW. Blood-based diagnostics of traumatic brain injuries. *Expert Rev Mol Diagn* 2011;11(1):65-78.
7. American Association of Neurological Surgeons. *Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury*. 3^a Ed. A Joint Project of the Brain Trauma Foundation Improving the Outcome of Brain Trauma Patients Worldwide And American Association of Neurological Surgeons (AANS) Congress of Neuro. *J Neurotrauma* 2007 May;24(supplement 1): i -vi.
8. Zhang J, Puvenna V, Janigro D. Biomarkers of Traumatic Brain Injury and Their Relationship to Pathology [Internet]. *Translational Research in Traumatic Brain Injury*. CRC Press/Taylor and Francis Group; 2016 [cited 2016 May 11]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26583183>
9. Papa L, Robinson G, Oli M, Pineda J, Demery J, Brophy G, et al. *Use of biomarkers for diagnosis and management of traumatic brain injury patients. Expert Opinion on Medical Diagnostics*; 2008. p. 937-45.
10. Jagoda AS, Bazarian JJ, Bruns JJJ, Cantrill SV, Gean AD, Howard PK et al. Clinical policy: neuroimaging and decisionmaking in adult mild traumatic brain injury in the acute setting. *Ann Emerg Med* 2008 Dec;52(6):714-48.
11. Goyal A, Failla MD, Niyonkuru C, Amin K, Fabio A, Berger RP et al. S-100b as a Prognostic Biomarker in Outcome Prediction for Patients with Severe Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma* [Internet] 2013 Jun 1;30(11):946-57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3684103/>
12. Puvenna V, Brennan C, Shaw G, Yang C, Marchi N, Bazarian JJ et al. Significance of Ubiquitin Carboxy-Terminal Hydrolase L1 Elevations in Athletes after Sub-Concussive Head Hits. *PLoS One* [Internet] 2014 May 7;9(5):e96296. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0096296>
13. Müller K, Townend W, Biasca N, Undén J, Waterloo K, Romner B et al. S-100B serum level predicts computed tomography findings after minor head injury. *J Trauma*.2007;62(6):1452–6.
14. Ingebrigtsen T, Romner B, Marup-Jensen S, Dons M, Lundqvist C, Bellner J et al. The clinical value of serum S-100β protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study. *Brain Inj* 2000 Dec;14(12):1047-55.
15. Biberthaler P, Linsenmeier U, Pfeifer K-J, Kroetz M, Mussack T, Kanz K-G et al. Serum S-100β concentration provides additional information for the indication of computed

- tomography in patients after minor head injury: a prospective multicenter study. *Shock* 2006 May;25(5):446-53.
16. Mussack T, Biberthaler P, Kanz KG, Heckl U, Gruber R, Linsenmaier U et al. Immediate S-100B and neuron-specific enolase plasma measurements for rapid evaluation of primary brain damage in alcohol-intoxicated, minor head-injured patients. *Shock* 2002 Nov;18(5):395-400.
 17. Bazarian JJ, Beck C, Blyth B, von Ahsen N, Hasselblatt M. Impact of creatine kinase correction on the predictive value of S-100 β after mild traumatic brain injury. *Restor Neurol Neurosci* 2006;24(3):163-72.
 18. Pham N, Fazio V, Cucullo L, Teng Q, Biberthaler P, Bazarian JJ et al. Extracranial sources of S-100 β do not affect serum levels. *PLoS One* 2010;5(9)
 19. Papa L, Akinyi L, Liu MC, Pineda JA, Tepas JJ 3rd, Oli MW et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. *Crit Care Med* 2010 Jan;38(1):138-44.
 20. Papa L, Lewis LM, Silvestri S, Falk JL, Giordano P, Brophy GM et al. Serum levels of ubiquitin C-terminal hydrolase distinguish mild traumatic brain injury from trauma controls and are elevated in mild and moderate traumatic brain injury patients with intracranial lesions and neurosurgical intervention. *J Trauma Acute Care Surg* [Internet] 2012;72(5):1335-44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22673263>
 21. Chen F, Sugiura Y, Myers KG, Liu Y, Lin W. Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 is required for maintaining the structure and function of the neuromuscular junction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(4):1636-41.
 22. Campbell LK, Thomas JR, Lamps LW, Smoller BR, Folpe AL. Protein gene product 9.5 (PGP 9.5) is not a specific marker of neural and nerve sheath tumors: an immunohistochemical study of 95 mesenchymal neoplasms. *Mod Pathol* 2003;16(10):9639.
 23. Papa L, Akinyi L, Liu MC, Pineda JA, Tepas JJ, Oli MW et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. *Crit Care Med* [Internet] 2010 Jan;38(1):138-44. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3445330&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 24. Brophy GM, Mondello S, Papa L, Robicsek S a, Gabrielli A, Tepas J et al. Biokinetic analysis of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) in severe traumatic brain injury patient biofluids. *J Neurotrauma* 2011;28(6):861-70.
 25. Mondello S, Akinyi L, Buki A, Robicsek S, Gabrielli A, Tepas J et al. Clinical utility of serum levels of ubiquitin c-terminal hydrolase as a biomarker for severe traumatic brain injury. *Neurosurgery* [Internet]. 2012 Mar;70(3):666-75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3288385/>
 26. Kou Z, Gattu R, Kobeissy F, Welch RD, O'Neil BJ, Woodard JL et al. Combining biochemical and imaging markers to improve diagnosis and characterization of mild traumatic brain injury in the acute setting: Results from a pilot study. *PLoS One* 2013 Nov 19;8(11):e80296. doi: 10.1371/journal.pone.0080296. eCollection 2013
 27. Diaz-Arrastia R, Wang KKW, Papa L, Sorani MD, Yue JK, Puccio AM et al. Acute biomarkers of traumatic brain injury: relationship between plasma levels of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 and glial fibrillary acidic protein. *J Neurotrauma* [Internet] 2014;31(1):19-25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23865516>
 28. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res.* 2000 Oct;25(9-10):1439-51.
 29. Ingebrigtsen T, Romner B. Biochemical serum markers of traumatic brain injury. *J Trauma.* 2002 Apr;52(4):798-808.
 30. Saatman KE, Bolton AN, Saatman KE. Regional Neurodegeneration and Gliosis Are Amplified by Mild Traumatic Brain Injury Repeated at {24-Hour} Intervals. *J Neuro-*

- pathol Exp Neurol* [Internet] 2014;73(10):933. Available from: <http://jnen.oxfordjournals.org.ezp2.lib.umn.edu/content/73/10/933.abstract> \n<http://dx.doi.org/10.1097/NEN.0000000000000115>
31. Missler U, Wiesmann M, Wittmann G, Magerkurth O, Hagenström H. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clin Chem* 1999;45(1):138-41.
 32. Albert-Weissenberger C, Sirén A-L. Experimental traumatic brain injury. *Exp Transl Stroke Med* 2010;2(1):16.
 33. Yang SH, Gustafson J, Gangidine M, Stepien D, Schuster R, Pritts TA et al. A murine model of mild traumatic brain injury exhibiting cognitive and motor deficits. *J Surg Res* 2013 Oct;184(2):981-8.
 34. Mondello S, Jeromin A, Buki A, Bullock R, Czeiter E, Kovacs N et al. Glial Neuronal Ratio: A Novel Index for Differentiating Injury Type in Patients with Severe Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma* 2012;29(6):1096-104.
 35. Papa L, Silvestri S, Brophy GM, Giordano P, Falk JL, Braga CF et al. GFAP out-performs S-100 β in detecting traumatic intracranial lesions on computed tomography in trauma patients with mild traumatic brain injury and those with extracranial lesions. *J Neurotrauma* 2014 Nov;31(22):1815-22.
 36. Papa L, Brophy GM, Welch RD, Lewis LM, Braga CF, Tan CN et al. Time Course and Diagnostic Accuracy of Glial and Neuronal Blood Biomarkers GFAP and UCH-L1 in a Large Cohort of Trauma Patients With and Without Mild Traumatic Brain Injury. *JAMA Neurol* 2016 May;73(5):551-60.
 37. Kövesdi E, Lückl J, Bukovics P, Farkas O, Pál J, Czeiter E et al.. Update on protein biomarkers in traumatic brain injury with emphasis on clinical use in adults and pediatrics. *Acta Neurochirurgica* 2010; 152: 1-17.
 38. North SH, Shriver-Lake LC, Taitt CR, Liggler FS. Rapid Analytical Methods for On-Site Triage for Traumatic Brain Injury. *Annu Rev Anal Chem* [Internet] *Annual Reviews* 2012 Jun 18;5(1):35-56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-anchem-062011-143105>
 39. Papa L, Robinson G, Oli M, Pineda J, Demery J, Brophy G et al. Use of biomarkers for diagnosis and management of traumatic brain injury patients. *Expert Opin Med Diagn* 2008;2(8):937-45.
 40. Mondello S, Akinyi L, Buki A, Robicsek S, Gabrielli A, Tepas J et al. *NIH Public Access* 2013;70(3):666-75.
 41. Benito IH, Rodríguez JR. Determinación radioinmunométrica de la enolasa neuronal específica en humor acuoso y suero, en pacientes con retinoblastoma. *Rev Española* [Internet] 2000;7:472-8. Available from: <http://www.elsevier.es/es/revistas/revista-española-medicina-nuclear-e-imagen-molecular-125/determinacion-radioinmunometrica-enolasa-neuronal-especifica-humor-acuoso-10018517-originales-2000>.
 42. Mayo Clinic. Test 81796 : Neuron-Specific Enolase (NSE), Spinal Fluid Clinical Information [Internet] Available from: http://www.mayomedicallaboratories.com/interpretive-guide/?alpha=N&unit_code=81796
 43. Dash PK, Zhao J, Hergenroeder G, Moore AN. Biomarkers for the diagnosis, prognosis, and evaluation of treatment efficacy for traumatic brain injury. *Neurotherapeutics* 2010;7(1):100-14.
 44. Wang KK, Posmantur R, Nath R, McGinnis K, Whitton M, Talanian R V et al. Simultaneous degradation of alphaII- and betaII-spectrin by caspase 3 (CPP32) in apoptotic cells. *J Biol Chem* 1998;273(35):22490-7.
 45. Brophy GM, Pineda J a, Papa L, Lewis SB, Valadka AB, Hannay HJ et al. alphaII-Spectrin breakdown product cerebrospinal fluid exposure metrics suggest differences in cellular injury mechanisms after severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2009;26(4):471-9.
 46. North SH, Shriver-Lake LC, Taitt CR, Liggler FS. Rapid Analytical Methods for On-Site Triage for Traumatic Brain Injury. *Annu Rev Anal Chem. Annual Reviews* [In-

- ternet] 2012 Jun 18;5(1):35-56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-anchem-062011-143105>
47. Berger RP, Hymel K, Gao WM. The Use of Biomarkers After Inflicted Traumatic Brain Injury: Insight into Etiology, Pathophysiology, and Biochemistry. *Clin Pediatr Emerg Med* 2006;7(3):186-93.
 48. Biberthaler P, Mussack T, Wiedemann E, Kanz K-G, Mutschler W, Linsenmaier U et al. Rapid identification of high-risk patients after minor head trauma (MHT) by assessment of S-100 β : ascertainment of a cut-off level. *Eur J Med Res* 2002 Apr;7(4):164-70.
 49. Brophy GM, Mondello S, Papa L, Robicsek SA, Gabrielli A, Tepas J et al. Biokinetic analysis of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) in severe traumatic brain injury patient biofluids. *J Neurotrauma* 2011;28(6):861-70.
 50. Papa L, Lewis LM, Falk JL, Zhang Z, Silvestri S, Giordano P et al. Elevated levels of serum glial fibrillary acidic protein breakdown products in mild and moderate traumatic brain injury are associated with intracranial lesions and neurosurgical intervention. *Annals of Emergency Medicine* 2012; 59:471-83.
 51. Okonkwo DO, Yue JK, Puccio AM, Panczykowski DM, Inoue T, McMahon PJ et al. GFAP-BDP as an acute diagnostic marker in traumatic brain injury: results from the prospective transforming research and clinical knowledge in traumatic brain injury study. *J Neurotrauma* [Internet] 2013;30(17):1490-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23489259>
 52. Pineda JA, Lewis SB, Valadka AB, Papa L, Hannay HJ, Heaton SC et al. Clinical significance of alphaII-spectrin breakdown products in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2007;24(2):354-66.
 53. Siman R, Giovannone N, Hanten G, Wilde EA, McCauley SR, Hunter JV et al. Evidence that the blood biomarker SNTF predicts brain imaging changes and persistent cognitive dysfunction in mild TBI patients. *Front Neurol* 2013;4 Nov;4:1-8.
 54. Siman R, McIntosh TK, Soltesz KM, Chen Z, Neumar RW, Roberts VL. Proteins released from degenerating neurons are surrogate markers for acute brain damage. *Neurobiol Dis* 2004;16(2):311-20.
 55. Berger RP, Hayes RL, Richichi R, Beers SR, Wang KKW. Serum Concentrations of Ubiquitin C-Terminal Hydrolase-L1 and α II-Spectrin Breakdown Product 145kDa Correlate with Outcome after Pediatric TBI. *J Neurotrauma* 2012;29(1):162-7.
 56. Bandyopadhyay S, Hennes H, Gorelick MH, Wells RG, Walsh-Kelly CM. Serum neuron-specific enolase as a predictor of short-term outcome in children with closed traumatic brain injury. *Acad Emerg Med* 2005;12(8):732-8.
 57. Meric E, Gunduz A, Turedi S, Cakir E, Yandi M. The prognostic value of neuron-specific enolase in head trauma patients. *J Emerg Med* [Internet] 2010;38(3):297-301. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18499387>