

# Informe final publicable de proyecto

## Nuevas tecnologías para el monitoreo del paciente neurocrítico luego de un trauma craneoencefálico

Código de proyecto ANII: FSS\_X\_2019\_1\_155350

Fecha de cierre de proyecto: 01/10/2024

**GRILLE DEL CASTILLO, Pedro Miguel** (Responsable Técnico - Científico)

**KASEK, Ingrid** (Investigador)

**MALACRIDA RODRIGUEZ, Leonel Sebastian** (Investigador)

**MAURO CROSARA, Soffa Martina** (Investigador)

**PELUFFO ZAVALA, Hugo** (Investigador)

**SALLE, Federico** (Investigador)

**SILVEIRA BRUSSAIN, Alicia Mabel** (Investigador)

---

ADMINISTRACIÓN DE SERVICIOS DE SALUD DEL ESTADO (Institución Proponente) \\

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE MEDICINA \\

EMPRESA PÚBLICA. BANCO DE SEGUROS DEL ESTADO

## Resumen del proyecto

El traumatismo encefalocraneano (TEC) constituye un problema sustancial de la Salud Pública en la era moderna. Objetivos: desarrollo de nuevas tecnologías de neuromonitoreo no invasivo en pacientes que sufren un TEC moderado o grave (TECmg) y que son asistidos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). Metodología: estudio observacional, longitudinal en pacientes que presenten TECmg que requieran internación en UCI. Se realizó neuromonitoreo no invasivo ultrasonográfico mediante Doppler transcraneano y estudio del diámetro de la vaina del nervio óptico, correlacionando sus medidas con el neuromonitoreo invasivo, la evolución clínica de los pacientes a 12 meses y la determinación de 4 biomarcadores cerebrales plasmáticos. Se inició el desarrollo de un dispositivo de espectroscopia cercana al infrarrojo (NIRS) cerebral. Resultados: se incluyeron 75 pacientes, con una mortalidad de 14.2% y 21.3% para el TEC moderado y grave, respectivamente. La discapacidad funcional disminuyó significativamente a los 12 meses en ambos grupos. Se realizó neuromonitoreo ultrasonográfico no invasivo en 65% de los pacientes, obteniendo una buena correlación con los registros invasivos de presión intracraneal y presión de perfusión cerebral, así como con la evolución clínica de los pacientes. Se realizó la determinación plasmática de 4 biomarcadores cerebrales (NF-L, GFAP, UCH-L1 y TAU total) en 17 pacientes con TECmg y en 8 controles, estableciéndose sus perfiles temporales, su correlación con el pronóstico neurológico de los pacientes a largo plazo y con la severidad de las lesiones. Conclusiones: se realizó el primer estudio reportado en nuestro medio de seguimiento clínico y funcional, de pacientes con TECmg a largo plazo. Se desarrollaron e implementaron 2 técnicas ultrasonográficas de neuromonitoreo no invasivo, cuyos hallazgos se correlacionaron significativamente con los obtenidos en el neuromonitoreo invasivo de la presión intracraneal y con el pronóstico de los pacientes. Se realizó, por primera vez a nivel clínico en nuestro medio, la determinación plasmática de 4 biomarcadores cerebrales, estableciéndose su correlación con la evolución neurológica, la severidad y patrones lesionales cerebrales. Se generó un banco de datos de muestras plasmáticas de pacientes y controles para futuros estudios. Se inició el desarrollo y construcción nacional de un equipo de NIRS destinado a estudiar la oxigenación cerebral y características tisulares en TEC. Se establecieron vínculos científicos con instituciones nacionales que permitirán continuar con la investigación del TEC en nuestro país.

**Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Clínica / Medicina Crítica y de Emergencia / Neurotrauma**

**Palabras clave:** trauma craneoencefálico / biomarcadores / monitoreo no invasivo /

**Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.**

Antecedentes: En el trauma encefalocraneano (TEC) confluyen una serie de procesos patológicos complejos, heterogéneos y dinámicos. Estos se inician con el evento traumático inicial y se continúan con múltiples mecanismos de lesión encefálica tales como inflamación, hemorragia, coagulopatía, neurotoxicidad, edema e isquemia cerebral, entre otros. Todos ellos contribuyen en diferente grado y dinámica temporal al neurodeterioro de los pacientes (1, 2, 3, 4). La monitorización de estos procesos es crucial en el manejo de los pacientes que sufren un TEC moderado o grave pues permite: detectar precozmente el neurodeterioro (dado que la clínica es poco sensible y específica), medir los insultos encefálicos secundarios (neurológicos y sistémicos), así como comprender mejor los mecanismos patogénicos de un paciente individual posibilitando un tratamiento más personalizado y dirigido (5, 6, 7, 8). Existen muchas técnicas de neuromonitoreo aplicables a los pacientes neurocríticos, sin embargo, subyacen varios puntos que son aún materia de discusión y debate entre ellos podemos encontrar: qué proceso monitorizar, cuál es el

mejor monitor, qué información derivada de uno o la combinación de varios monitores describe mejor la evolución y/o se asocia al pronóstico de este tipo de pacientes, y por último, qué grado de invasividad se asocia a una mejor relación costo-beneficio. Tratando de sistematizar el estudio de esta “caja negra” (como algunos llaman al cráneo y su contenido encefálico), el consenso de la Neurocritical Care Society y la European Society of Intensive Care Medicine del año 2014, constituye un resumen de la evidencia de las diversas tecnologías de neuromonitorización y plantea algunas de estas incertidumbres (9, 10). En dicho consenso, los diferentes expertos en el tema, acuerdan que el neuromonitoreo multimodal se acerca en forma más precisa a los complejos fenómenos encefálicos mencionados y abren una puerta a las técnicas de neuromonitoreo no invasivo que están apareciendo en los últimos años (11, 12).

La pupilometría cuantitativa infrarroja es una de estas herramienta emergentes que estudia la respuesta pupilar a la emisión de luz infrarroja y permite medir objetivamente su respuesta utilizando una cámara digital y computarizada para adquirir imágenes. Evalúa el reflejo de luz pupilar, diámetro y forma de la pupila, latencia de inicio, velocidades de contracción y de dilatación, así como el porcentaje de reducción de la relación en amplitud. El pupilómetro es un dispositivo portátil, no invasivo, fácil de usar, automatizado, accesible a todo el personal de salud y económico, con la capacidad para realizar mediciones reproducibles, precisas, cuantitativas y repetidas en el tiempo. Existe evidencia preliminar que resalta su aplicación en: detección de cambios pupilares antes que ojo clínico (herramienta objetiva de neurodeterioro), diagnóstico no invasivo de hipertensión intracraneana, detección de nivel de sedación y analgesia, monitorización de osmotherapia, indicador pronóstico, siendo además una tecnología costo – efectiva (13).

El ecodoppler transcraneano es otra de estas tecnologías, que mide las velocidades de los eritrocitos intravasculares en las arterias intracraneanas en tiempo real, mediante el estudio ultrasonografico de las ondas acústicas de alta frecuencia (2 MHz). Tiene varias aplicaciones en la monitorización del paciente con neurotrauma grave, como: evaluación de los patrones hemodinámicos intracraneanos, estimación no invasiva de la PIC y PPC, diagnóstico de vasoespasma cerebral, medida de la autorregulación cerebral, así como de paro circulatorio cerebral. Su utilidad ha sido reportada en varios trabajos clínicos en pacientes neurocríticos aunque con diferencias y discrepancias entre ellos (14, 15).

Recientemente, la ultrasonografía transorbitaria para estudiar el diámetro de la vaina del nervio óptico, ha sido correlacionada con la PIC en forma preliminar, no invasiva y tomando como punto de corte un valor de 5.5 mm (16)

El monitoreo electroencefalográfico continuo es un método digital mediante el cual se puede registrar continuamente la actividad cortical cerebral con alta resolución temporal. Mediante el procesamiento numérico de los datos obtenidos por transformaciones rápidas de Fourier y análisis de wavelet, se pueden construir pantallas cuantitativas como espectrogramas de color y de potencia en bandas de frecuencia específicas. Se ha utilizado en varios tipos de neuroinjurias graves como el TEC, para evaluar la disfunción cerebral aguda, detectar actividad epiléptica y obtener información pronóstica (17).

La tecnología conocida como “espectroscopia de luz infrarroja cercana” o NIRS tiene la versatilidad de generar información muy valiosa del estado del cerebro con relativamente buena resolución espacial (centimetros) y particularmente con un rango dinámico en la resolución temporal permitiendo captar tanto señales lentas (como lo son los cambios hemodinámicos, NIRS-funcional, fNIRS) así como señales rápidas tales como las señales ópticas relacionadas a eventos (EROS) (18). Un punto importante a destacar de la tecnología NIRS es su característica no invasiva en el monitoreo, lo cual resulta sumamente útil y potente en la evaluación cerebral del

paciente crítico. El fNIRS se basa el uso de láseres a 690 y 830 nm para estudiar las propiedades de la superficie cortical del cerebro.

Dado la absorción y dispersión típica de la piel/cuero cabelludo, cráneo y capa cortical este tipo de iluminación puede penetrar unos 2-3 cm dentro del tejido cerebral cuando la fuente de luz se posiciona a 3

cm de la detección (19, 20). De esta manera se pueden explorar diferentes regiones del cerebro para así poder evaluar al paciente y su evolución (21,22). Los láseres antes mencionados se usan para determinar la concentración de oxi-hemoglobina (HbO<sub>2</sub>) y desoxi-hemoglobina (Hb). Además de esto el agua, el contenido graso y citocromo oxidasa también contribuyen con la absorción de la luz y al mismo tiempo a la difusión de la misma a través del tejido. Dado las características de absorción y dispersión del tejido cerebral es posible explorar cómo cambios bioquímicos y físicos del tejido afectan la migración de los fotones a través del tejido. Utilizando distancias crecientes entre la fuente luz y la detección es posible evaluar las propiedades de absorción y dispersión del tejido. La EROS es una aplicación de la fNIRS que en lugar de obtener parámetros hemodinámicos se focaliza en inferir la respuesta a estímulos y procesar los datos temporales de arribos de fotones para interrogar qué está sucediendo en tiempo real en la corteza cerebral (24). Se especula que los cambios en el componente de dispersión de luz son debidos a alteraciones del tejido neurológico; modificaciones en la inflamación, dinámica del agua o iones en las neuronas podrían afectar los parámetros ópticos (25). Por este motivo, la aplicación de EROS se focaliza en la actividad celular dado su resolución temporal en milisegundos y espacial de milímetros. A partir del posicionamiento de varias fuentes de luz y detectores es posible realizar un mapa espacial y temporal de las diferentes regiones de la corteza cerebral (fNIRS imaging) (26). Para el análisis de estos datos es necesario un complejo procesamiento y modelado, haciendo dificultoso su realización e interpretación. Dado que las herramientas utilizadas en la fluorescencia resultantes en el tiempo y el dominio de la frecuencia son comunes con esta tecnología, nos planteamos aplicar el “know-how” sobre los gráficos de fasores para el análisis de los datos de migración de fotones como herramienta fundamental para la comprensión de los resultados. Esto además de novedoso es extremadamente potente dado que elimina la necesidad de algoritmos y modelos de compleja interpretación para su análisis y utiliza un sistema de representación gráfica basado en la transformación de los datos al espacio Fourier y aplica las propiedades de vectores para su interpretación (27, 28, 29).

A pesar de la gran riqueza de información y baja invasividad que han demostrado estas tecnologías, todavía faltan conocimientos y capacidades para su implementación efectiva y con su máximo potencial. Como se señaló anteriormente, uno de los principales retos en el tratamiento de los pacientes con neurotrauma es su amplísima heterogeneidad. Esto se debe a la gran variedad de posibles insultos que pueden causar un neurotrauma, generando daños focales o difusos, leves, moderados o graves, y con afectación únicamente del SNC o lo más frecuente, con politraumas y afectaciones sistémicas. Los grandes estudios clínicos como el CENTER-TBI (29, 30) han sido enfocados justamente en intentar estratificar mejor a los pacientes, como punto crítico para mejorar los tratamientos. La utilización de biomarcadores en el área de neurotrauma ha experimentado un avance muy significativo en los últimos años, y todo indica que ocuparán un lugar central en los procesos de estratificación de los pacientes y la aplicación de estrategias de Medicina de Precisión. Se han postulado que diversas moléculas podrían detectarse en el suero de pacientes, contribuyendo a un mejor diagnóstico, a mejorar la predicción de la evolución, y por tanto determinar las medidas terapéuticas necesarias (30, 31, 32). Entre estos biomarcadores, se encuentran: la proteína de neurofilamento ligero (NF-L), Glial fibrillary acidic protein (GFAP), Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1), y TAU o proteína asociada a los microtúbulos axonales. Uno de los problemas importantes todavía no explorados en profundidad se encuentra en la utilización de únicamente un grupo control consistente en personas sanas. Dado que el trauma de regiones corporales que no afecten al SNC desencadena reacciones inflamatorias, se observarán aumentos sistémicos de diferentes citoquinas pro y anti-inflamatorias, y tal vez incluso de NFL si se afectan algún nervio voluminoso. Es por esto que en el presente trabajo se propone la evaluación de posibles biomarcadores en diseños que incluyen controles sanos y controles con trauma sin afectación del SNC, así como la estratificación de los pacientes por edad y etnia.

Objetivo general: desarrollo de nuevas tecnologías de neuromonitoreo no invasivo en pacientes que sufren un TEC moderado o grave (TECmg) y que son asistidos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).

Objetivos específicos: a) Desarrollar nuevos métodos y aplicaciones de NIRS para la medida del nivel de oxigenación cerebral no invasiva en diferentes regiones encefálicas, contenido de agua y migración de fotones como medidas de los cambios físicos del tejido cerebral en pacientes con TEC. b) Evaluar la utilidad de integrar las medidas de EEG continuo, pupilometría cuantitativa, Doppler transcraneano y NIRS en el neuromonitoreo de los pacientes como posibles herramientas que determinen un mejor manejo de estos pacientes. c) Correlacionar los resultados del neuromonitoreo no invasivo con las mediciones del neuromonitoreo invasivo en aquellos pacientes que lo presenten. d) Correlacionar los resultados del neuromonitoreo no invasivo con la medida de biomarcadores en sangre (NF-L, GFAP, UCH-L1, TAU total) y la evolución de los pacientes a 12 meses del TEC.

Justificación: Los resultados de este proyecto de investigación podrán tener una aplicación directa y práctica en el manejo de los pacientes neurocríticos que sufrieron TEC moderado o grave. En primer lugar, las técnicas de neuromonitorización estudiadas aportarán información diagnóstica en tiempo real y sin invasividad, acerca del neurodeterioro de estos pacientes. En segundo lugar, dicha información puede generar cambios en el tratamiento de los mismos, como decisión de tratar la hipertensión intracraneana o evacuar quirúrgicamente una lesión ocupante de espacio no objetivada por otros métodos. En tercer lugar, los datos aportados por este tipo de neuromonitorización podrán complementar aquellos obtenidos por métodos invasivos o imagenológicos, contribuyendo a una mejor comprensión de los procesos patológicos del TEC. Por último, la correlación de los datos del neuromonitoreo no invasivo con los biomarcadores sanguíneos y la evolución clínica de los pacientes, podrá generar métodos o escores pronósticos vitales y funcionales

válidos para este tipo de pacientes en nuestro medio.

#### **Metodología/Diseño del estudio**

Estudio observacional, longitudinal en pacientes que presenten TEC grave y moderado que requieran internación en UCI y en controles de personas sanas. Los criterios de inclusión serán: pacientes con TEC grave (GCS 3-8) y moderado (GCS 9-13) y que no se encuentren en fase de reanimación cardio-respiratoria.

Criterios de exclusión: pacientes menores de 18 años o aquellos que ingresen en reanimación continua con una expectativa de vida de menos de 24 hs.

En los pacientes con TECmg se registraron todas las variables clínicas y demográficas establecidas en los protocolos de la UCI del Hospital Maciel. A esto se le sumó la medida de biomarcadores en sangre, así como las variables obtenidas mediante neuromonitoreo no invasivo: EEG continuo, pupilometría cuantitativa (estas 2 tecnologías finalmente no se pudieron aplicar debido a problemas ajenos al presente proyecto, los cuales se detallan en Resultados), Doppler transcraneano y ecografía de la vaina del nervio óptico (DVNO). En los pacientes con monitorización invasiva, se registró también los valores de PIC, PPC y oximetría del golfo de la vena yugular. SE dosificaron los 4 biomarcadores cerebrales en sangre: NF-L, GFAP, UCH-L1, TAU total.

En los pacientes politraumatizados graves sin TEC, esto es, trauma que no incluye afectación del sistema nervioso central (control politraumatizado sin TEC) se registraron las variables clínicas y demográficas establecidas en los protocolos de la UCI del Hospital Maciel, así como la determinación de los mismos biomarcadores en sangre. En los individuos sanos (controles sanos): se les registraron las variables clínicas y demográficas establecidas en los protocolos de la UCI del Hospital Maciel. Se sumó la medida de biomarcadores en sangre: NF-L, GFAP, UCH-L1, TAU total

Desarrollo de un dispositivo NIRS: se comenzó la implementación del dispositivo de NIRS capaz de medir cambios en HbO<sub>2</sub>, HHb y oxCCO. Para esto, se inició el análisis de las medidas con gráficos de fasores y la implementación de algoritmos y códigos de fuente abierta. Así mismo, se inició la evaluación de fantasmas

que remedan el tejido cerebral mediante variables de absorción y dispersión.

**Análisis estadístico:** se realizó un análisis descriptivo para la distribución de frecuencias absolutas y relativas de las variables cualitativas. Las variables cuantitativas se expresaron mediante medidas descriptivas como mediana y rango intercuartílico, dada la distribución no normal de la muestra. Para el análisis de asociación de variables categóricas se realizó el test de chi cuadrado o test exacto de Fisher cuando correspondía y para la comparación de medianas entre grupos se aplicó una prueba de rangos con test de Wilcoxon. Se consideró estadísticamente significativo un valor  $p < 0,05$ . El procesamiento estadístico se realizó en el programa Statistical Package for the Social Sciences (IBMSPSS Statistics), versión 23.0.

## **Resultados, análisis y discusión**

I) Se incluyeron en el estudio 75 pacientes con TEC moderado y grave. Se realizó el seguimiento a 12 meses del trauma en 96 % de los casos (en 3 pacientes se perdió el seguimiento a largo plazo). La mortalidad global para TEC grave fue del 16.3% al egreso hospitalario, mientras que la mortalidad acumulada a los 12 meses fue del 21.3%. Dicho valor de mortalidad se aproxima al valor predicho de mortalidad a los 12 meses por el score TBI-IMPACT (International Mission for Pognosis and Analysis of Clinical Triaos in Traumatic Brain Injury), que a nivel global tiene una media de 21.3%. La mortalidad del TEC moderado fue de 14.2 % a los 12 meses.

En cuanto a la escala GOSE (Glasgow Outcome Score Extended), aquellos pacientes que egresaron de UCI con un valor referido a mala evolución (GOSE menor o igual a 4) representan un 40%, mientras que a los 12 meses este porcentaje se reduce al 26.6%, siendo más notorio en los TEC graves.

La evaluación funcional y de discapacidad se realizó mediante DRS (Disability Rating Scale). A los 12 meses del TEC, aproximadamente un 28% de los pacientes habían fallecido, se encontraban en estado vegetativo o con una discapacidad severa con altos requerimientos de asistencia por parte de terceros (DRS de 12 a 30 puntos). Por otro lado, cerca del 53% tuvieron una discapacidad parcial o ninguna a los 12 meses (DRS de 0 a 11 puntos), siendo aún mayor el porcentaje en aquellos con TEC moderado (80%).

Destacamos que este seguimiento a largo plazo en pacientes con TECmg, con evaluación del estado neurológico y discapacidad funcional, no ha sido reportado hasta el momento en nuestro país.

II) Se realizó neuromonitoreo invasivo de la presión intracraneana (PIC) en el 43% de los pacientes. El método usado para monitorización fue en 81% de los casos el catéter subdural, y en 37.5% tornillo subdural, subrayando que en 6 pacientes se utilizaron ambos métodos. En 18 pacientes (56%) se realizó el cálculo de la carga de PIC, calculado como el porcentaje (del tiempo en horas) en que la PIC se presentó por encima de 20 mmHg del tiempo total en que se monitorizó la misma. La media de la carga de PIC fue de 21.8%, siendo de 29,9% para los pacientes fallecidos y de 19.6% para los vivos, si bien esto no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p: 0.43$ ).

III) Se realizó neuromonitoreo no invasivo ultrasonográfico en 49 pacientes (65%), de los cuales a 25 se les realizó la medida del diámetro de la vaina del nervio óptico ultrasonográfica (DVNO) y a todos, estudio de Doppler transcraneano (DTC). La correlación entre los métodos (PIC invasiva vs. PIC estimada por DTC) se realizó mediante el coeficiente de correlación de concordancia (coeficiente de Lin). Se utilizó la curva característica operativa del receptor (ROC) para evaluar la precisión diagnóstica del DVNO. No se encontraron diferencias significativas entre la mediana de la PIC invasiva versus la estimada por DTC (16,07 vs. 15,03 mmHg) ( $p = 0,001$ ). Se halló un coeficiente de Lin de 0,9603 (IC 95%: 0,9199 a 0,9806). El DVNO presentó un área bajo la curva ROC = 0,843 ( $p = 0,003$ ). El valor de corte de 5,00 mm determinó una sensibilidad de 80% y una especificidad de 80% para predecir hipertensión intracraneana. Concluimos que

para nuestra población de pacientes, el DTC y el DVNO representan métodos con una precisión diagnóstica significativa para la estimación no invasiva de la PIC.

Se identificaron 2 patrones hemodinámicos intracraneos de: 1) Patrón de alta resistencia (definido por índice de pulsatilidad mayor a 1.2 en el Doppler transcraneano y por DVNO mayor a 5.5 mm en la ecografía ocular); y 2) Patrón de hipoperfusión cerebral (definido por velocidades de flujo diastólicas en arteria cerebral media, cuantificadas por Doppler transcraneano, menores a 20 cm/seg). Los dos se asociaron a desarrollo de hipertensión intracraneana, mayor necesidad de neurocirugía descompresión y peor evolución neurológica a los 12 meses del TECmg.

IV) Se rediseñó el desarrollo de la tecnología NIRS, debido a las dificultades en la implementación de la pasantía de ingeniería en el exterior (USA, a lo que se sumó el diagnóstico reciente de enfermedad delicada del profesor extranjero referente en el tema y jefe de dicho laboratorio en el exterior. En este sentido, se comenzó la implementación del dispositivo de NIRS capaz de medir cambios en HbO<sub>2</sub>, HHb y oxCCO. Para esto, se inició el análisis de las medidas con gráficos de fasores y la implementación de algoritmos y códigos de fuente abierta. Así mismo, se inició la evaluación de fantasmas que remedan el tejido cerebral mediante variables de absorción y dispersión. El dispositivo en desarrollo, está integrado por 3 bloques: iluminación, pad de apoyo sobre el tejido (incluye fibras ópticas para dirigir luz al tejido y colección desde el tejido) y detección. Para coleccionar los espectros, se utilizó como punto de partida la librería Seabreeze en lenguaje Python que permite la comunicación con el detector HR4000 y la obtención de los datos espectrales. Posteriormente, y en base a esto, se comenzó a programar los algoritmos de análisis y procesamiento de estos datos con ayuda de la librería Phasorpy desarrollada en la Unidad de Biomagenología Avanzada. Se obtuvo así, la versión preliminar del diseño del instrumento, y se inició la etapa de testeo, mediante 4 tipos de pruebas: linealidad y aditividad del phasor, solución con scattering, evaluación en phantoms que tengan scattering, y pruebas en tejido post mortem de modelos experimentales. Es importante destacar que esta actividad contribuye al desarrollo de la tesis de maestría de PRO.IN.BIO de la Ing. Micaela Lopassio, denominada: "Desarrollo de un dispositivo NIRS basado en detección espectral y gráficos de fasores para el estudio de la oxigenación y metabolismo celular en pacientes con lesión cerebral", cuyo Director Académico es el Prof. Leonel Malacrida.

V) Se adquirieron los 2 equipos de pupilometría cuantitativa infrarroja (Npi-300 y accesorios Smart Guard-200, de NeurOptics Inc.) en USA. Debido a importantes demoras en los trámites para su registro en el Ministerio de Salud Pública (dado que se trata de equipamiento médico nuevo en nuestro país), la neuromonitorización con dicha técnica pupilométrica no se pudo realizar en nuestros pacientes.

Cabe mencionar, que al cierre del presente proyecto, se recibieron finalmente los equipos de pupilometría adquiridos, los que se utilizarán para continuar con la investigación planteada.

VI) El monitoreo electroencefalográfico continuo no se pudo instrumentar en nuestro proyecto debido a que dicho instrumental iba a ser adquirido por el Hospital Maciel (ASSE), lo cual finalmente no se concretó por dos razones: cambio de autoridades nacionales y hospitalarias; y la pandemia por COVID-19, que obligó a redireccionar las prioridades sanitarias y de adquisición de tecnología médica hacia las pacientes con patología respiratoria grave.

VII) Determinación plasmática de biomarcadores cerebrales:

a) Se realizó la determinación de los 4 biomarcadores en 17 pacientes con TEC moderado y grave (TECmg) ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Maciel, en 3 pacientes politraumatizados sin TEC (control sin TEC) y en 5 adultos sanos de edad similar a la media de los pacientes con TEC, así como de igual sexo y etnia (controles sanos).

b) Perfil temporal de biomarcadores:

- Se encontraron diferentes perfiles temporales entre los 4 biomarcadores en los pacientes con TECmg, lo cual se correlaciona con el hallazgo de los recientes estudios multicéntricos internacionales (Figura 1)
- GFAP: sus niveles son máximos en el momento del ingreso de los pacientes a la UCI y luego descienden progresivamente.
- UCH-L1: sus niveles son máximos también en el momento del ingreso de los pacientes a la UCI. Luego descienden progresivamente si bien se mantienen elevados hasta los 30 días de evolución.
- NF-L: sus niveles son bajos al ingreso a la UCI, luego aumentan progresivamente, llegando a su pico plasmático en el día 14 de evolución. Posteriormente descienden progresivamente, si bien se mantienen elevados aún a los 12 meses del TEC en los pacientes que se logró hacer su seguimiento a largo plazo.
- TAU: si bien sus valores impresionan ser máximos al ingreso de los pacientes, se mantienen elevados hasta los 30 días de evolución sin un descenso significativo en este período de tiempo. A los 12 meses, se identifica persistencia de niveles elevados de este biomarcador en los pacientes estudiados a largo plazo.

c) Comparación de los niveles de biomarcadores entre TECmg y controles:

- Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles al ingreso de GFAP ( $p = 0.015$ ) y UCH-L1 ( $p = 0.0009$ ) de los pacientes con TECmg con relación a los controles sanos y a los pacientes politraumatizados sin TEC (Figura 2).
- Los niveles plasmáticos de NFL de los pacientes con TECmg al ingreso son mayores en forma estadísticamente significativa con los de los controles sanos ( $p < 0.0001$ ). Esto no ocurrió entre los niveles de NF-L al ingreso y los de los pacientes politraumatizados sin TEC. Tomando en cuenta el comportamiento temporal de NF-L, sus niveles fueron mayores en forma estadísticamente significativa en el día 14 de evolución con la de los pacientes politraumatizados sin TEC.
- Los niveles de TAU al ingreso de los pacientes con TECmg no se diferenciaron significativamente con los de los controles sanos y de pacientes politraumatizados sin TEC.

d) Comparación de los niveles de biomarcadores entre pacientes con TEC moderado (GCS al ingreso entre 9 y 13) y aquellos con TEC grave (GCS al ingreso entre 3 y 8):

- No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de ninguno de los 4 biomarcadores al ingreso entre los pacientes con TEC moderado vs los que presentaron TEC grave. Si bien el subgrupo de nuestros pacientes con TEC moderado fue pequeño, esto ha sido mostrado por otros estudios clínicos, apoyando el concepto que el TEC es una entidad muy heterogénea y que la clasificación operativa entre moderado y grave definida por el puntaje en la GCS no refleja la patología en sí misma de los TECmg, pudiendo existir lesiones más graves, o que progresen significativamente en la evolución, en el subgrupo de pacientes con TEC moderado en relación al subgrupo de TEC grave.

e) Correlación entre los niveles de biomarcadores y pronóstico neurológico de los pacientes con TEC a los 12 meses del trauma:

- Los niveles al ingreso de UCH-L1 fueron mayores en forma estadísticamente significativa en los pacientes con TECmg que tuvieron mala evolución neurológica (GOSE: 1-4) con relación a aquellos que tuvieron buena evolución (GOSE: 5-8), a los 12 meses del trauma ( $p = 0.039$ ). (Figura 3)
- Los niveles de GFAP y NF-L al ingreso fueron mayores en los pacientes que presentaron mala evolución neurológica con respecto a los que tuvieron mala evolución a los 12 meses, si bien esto no mostró una significancia estadística.
- Tomando en cuenta el perfil temporal de NF-L, sus niveles medidos al día 14 de evolución fueron mayores en los pacientes con TECmg que presentaron mala evolución con respecto a los que presentaron buena evolución (1075 pg/ml vs 472 pg/ml), sin alcanzar niveles de significancia estadística ( $p = 0.08$ ).
- Los niveles de TAU al ingreso fueron similares en los pacientes que presentaron mala y buena evolución neurológica a los 12 meses del trauma.

f) Correlación entre los niveles plasmáticos de biomarcadores cerebrales y diferentes patrones tomográficos lesionales de los pacientes con TECmg:

- No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de los 4 biomarcadores y los patrones lesionales tomográficos en los pacientes con TECmg (por ejemplo, considerando los pacientes con lesión axonal difusa predominante, contusiones encefálicas o hematomas intracraneanos extra axiales). Es importante destacar que de acuerdo al número de nuestra muestra, la subdivisión en varios grupos limita su análisis estadístico.

- De cualquier manera, en el subgrupo de pacientes con patrón tomográfico de lesión axonal difusa (sin evidencia de otras lesiones tomográficas), los niveles de NF-L iniciales y en la evolución fueron mayores que en los pacientes que presentaron otro tipo de lesiones en forma predominante.

g) Generación de banco de muestras para futuros estudios:

Se ha generado un banco de muestras de plasma de pacientes y controles. Se ha obtenido plasma con EDTA o heparina, y directamente con tubos PAXGene, que permiten conservar el RNA intacto, incluso a temperatura ambiente por 48 horas. De esta forma, se podrán utilizar estas muestras para estudios futuros y en curso. Por ejemplo, en colaboración con el grupo del Dr. Juan Pablo Tosar del Institut Pasteur de Montevideo y de la Facultad de Ciencias de la UDELAR nos encontramos evaluando cual de los tres métodos es el mejor para la obtención de pequeños ARN para su secuenciación. Una vez determinado el mejor tipo de muestra, procederemos a la secuenciación de pequeños ARN con el objetivo de evidenciar posibles nuevos biomarcadores.

## **Conclusiones y recomendaciones**

En este estudio prospectivo de pacientes con TEC moderado y grave ingresados a UCI, se logró realizar un seguimiento clínico y funcional a 12 meses, lo cual no ha sido reportado hasta el momento en nuestro medio. Se desarrollaron 2 técnicas ultrasonográficas de neuromonitoreo no invasivo: Doppler transcraneano y medida de la vaina del nervio óptico por ecografía ocular. Esto incluyó: capacitación y entrenamiento del personal técnico, instrumentación, protocolización, aplicación clínica de dichas herramientas no invasiva y su inclusión en el algoritmo de toma de decisiones de los pacientes neurocríticos que sufrieron TECmg asistidos en nuestra UCI. Se correlacionaron los hallazgos de la neuromonitorización ultrasonográfica no invasiva con aquellos obtenidos con el neuromonitoreo invasivo de PIC y PPC, así como con la evolución neurológica de los pacientes. Se realizó, por primera vez a nivel clínico en nuestro medio, la determinación plasmática de 4 biomarcadores cerebrales claves en la evaluación lesional y pronóstico de pacientes con TECmg, estableciendo la correlación de sus niveles con la evolución y pronóstico neurológico, la severidad de las lesiones y sus patrones tomográficos. Se generó un banco de datos de muestras plasmáticas de pacientes y controles para futuros estudios, entre los que se destacan la secuenciación de pequeños ARN. Se inició el desarrollo y construcción nacional de un equipo de NIRS destinado a estudiar la oxigenación cerebral y características tisulares en TEC. Este equipo es único y pionero en nuestro país y representa un gran potencial para el estudio de esta patología. Finalmente, se establecieron vínculos científicos con instituciones nacionales como el Instituto Pasteur de Montevideo, así como las Facultades de Medicina y de Ciencias de la UdelAR, que permitirán continuar con el desarrollo de varias líneas de investigación en el contexto del TEC, entidad que continúa siendo un problema grave de salud en nuestro país.

## Referencias bibliográficas

- 1) Agoston DV. Bench to Bedside and Bedside Back to the Bench; Seeking a Better Understanding of the Acute Pathophysiological Process in Severe Traumatic Brain Injury. *Front Neurol*. 2015; 6:47
- 2) Maas AIR, Menon DK, Adelson PD. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research. *Lancet Neurol*. 2017 Dec;16(12):987-1048.
- 3) Menon DK, Ercole A. Critical care management of traumatic brain injury. *Handb Clin Neurol*. 2017;140:239-274
- 4) Stocchetti N, Carbonara M, Citerio G, Ercole A, Skrifvars MB, Smielewski P, Zoerle T, Menon DK. Traumatic brain injury: targeted management in the intensive care unit. *Lancet Neurol*. 2017 Jun;16(6):452-464.
- 5) Volovici V, Steyerberg EW, Cnossen MC, Haitsma IK, Dirven CMF, Maas AIR, Lingsma HF. Evolution of Evidence and Guideline Recommendations for the Medical Management of Severe Traumatic Brain Injury. Authors. *J Neurotrauma*. 2019 Jul 31. doi: 10.1089/neu.2019.6474.
- 6) Grille P, Puppo C, Biestro A. Trauma encefalocraneano en la UCI. En: *Trauma. La Enfermedad del Nuevo Milenio*. Juambeltz C, Machado F, Trostchansky J eds. Editorial ARENA. Diciembre 2005, ISBN 9974-648-33-5. Capítulo 68: 777-802.
- 7) Grille P, Tommasino N. Decompressive craniectomy in severe traumatic brain injury: prognostic factors and complications. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2015; 27(2): 113-118.
- 8) Vinciguerra L, Bosel J. Noninvasive neuromonitoring: current utility in subarachnoid hemorrhage, traumatic brain injury, and stroke. *Neurocrit Care* 2017; 27(1): 122-140.
- 9) Le Roux P, Menon DK, Citerio G, et al. Consensus summary statement of the International Multidisciplinary Consensus Conference on Multimodality Monitoring in Neurocritical Care: a statement for healthcare professionals from the Neurocritical Care Society and the European Society of Intensive C. *Neurocrit Care*. 2014;21(Suppl 2):S1–26.
- 10) Le Roux P, Menon DK, Citerio G, et al. The International Multidisciplinary Consensus Conference on Multimodality Monitoring in Neurocritical Care: a list of recommendations and additional conclusions: a statement for healthcare professionals from the Neurocritical Care Society and the European. *Neurocrit Care*. 2014;21(Suppl 2):S282–96.
- 11) Al-Mufti F, Sursal T, Kim M, Menjivar AM, Cole C, Chandy D, Schmidt M, Bowers C, Gandhi CD. Noninvasive Multimodality Cerebral Monitoring Modalities in Neurosurgical Critical Care. *World Neurosurg*. 2019; 121:249-250.
- 12) Stover JF. Actual evidence for neuromonitoring-guided intensive care following severe traumatic brain injury. *Swiss Med Wkly*. 2011; 21(141):w13245.
- 13) Phillips SS, Mueller CM, Nogueira RG, Khalifa YM. A Systematic Review Assessing the Current State of Automated Pupillometry in the NeuroICU. *Neurocrit Care*. 2019; 31(1): 142-161.
- 14) Naqvi J, Yap KH, Ahmad G, Ghosh J. Transcranial Doppler ultrasound: a review of the physical principles and major applications in critical care. *Int J Vasc Med*. 2013; 2013:629378.
- 15) Robba C, Cardim D, Sekhon M, Budohoski K, Czosnyka M. Transcranial Doppler: a stethoscope for the brain-neurocritical care use. *J Neurosci Res*. 2018; 96 (4):720-730.
- 16) Lochner P, Czosnyka M, Naldi A, Lyros E, Pelosi P, Mathur S, Fassbender K, Robba C. Optic nerve sheath diameter: present and future perspectives for neurologists and critical care physicians. *Neurol Sci*. 2019 Jul 31. doi: 10.1007/s10072-019-04015-x.
- 17) Gue´rit JM, Amantini A, Amodio P, et al. Consensus on the use of neurophysiological tests in the intensive

- care unit (ICU): electroencephalogram (EEG), evoked potentials (EP), and electroneuromyography (ENMG). *Neurophysiol Clin.* 2009;39(2):71–83.
- 18) Ferrari M, Quaresima V. A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application. *Neuroimage.* 2012 Nov 1;63(2):921-35.
  - 19) Chance, B., Anday, E., Nioka, S., Zhou, S., Hong, L., Worden, K., Li, C., Murray, T., Ovetsky, Y., Pidikiti, D., Thomas, R., A novel method for fast imaging of brain function, non-invasively, with light. *Opt. Express* 1998: 411–423.
  - 20) Chance, B., Cope, M., Gratton, E., Ramanujam, N., Tromberg, B. Phase measurement of light absorption and scatter in human tissue. *Rev. Sci. Instrum.* 1998: 69, 3457–3481.
  - 21) Maki, A., Koizumi, H., 1996. Reconstructing absorber images in a three-dimensional scattering medium by using photon-path data. *OSA Trends in Optics and Photonics on Advances in Optical Imaging and Photon Migration*, 2. Optical Society of America, Washington, DC, pp. 299–304.
  - 22) Gratton, G., Corballis, P.M., Cho, E., Fabiani, M., Hood, D.C., 1995. Shades of gray matter: noninvasive optical images of human brain responses during visual stimulation. *Psychophysiology* 32, 505–509.
  - 23) Gratton G, Low KA, Maclin EL, Brumback CR, et al. Time course of activation of human occipital cortex measured with the event-related optical signal (EROS), in *Biomedical Optics, Technical Digest (CD)* (Optical Society of America, 2006), paper MD4.23.
  - 24) Malacrida L, Gratton E, Jameson DM. Model-free methods to study membrane environmental probes: a comparison of the spectral phasor and generalized polarization approaches. *Methods Appl Fluoresc.* 2015 Nov 12;3(4):047001.
  - 25) De Blasi, R.A., Fantini, S., Franceschini, M.A., Ferrari, M., Gratton, E., 1995. Cerebral and muscle oxygen saturation measurement by frequency-domain near-infra-red spectrometer. *Med. Biol. Eng. Comput.* 33, 228–230.
  - 26) Malacrida L, Astrada S, Briva A, Bollati-Fogolín M, Gratton E, Bagatolli LA. Spectral phasor analysis of LAURDAN fluorescence in live A549 lung cells to study the hydration and time evolution of intracellular lamellar body-like structures. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Nov;1858(11):2625-2635.
  - 27) Malacrida L, Jameson DM, Gratton E. A multidimensional phasor approach reveals LAURDAN photophysics in NIH-3T3 cell membranes. *Sci Rep.* 2017 Aug 23;7(1):9215.
  - 28) Malacrida L, Gratton E. LAURDAN fluorescence and phasor plots reveal the effects of a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bolus in NIH-3T3 fibroblast membranes dynamics and hydration. *Free Radic Biol Med.* 2018 Nov 20;128:144-156.
  - 29) Maas AI, et al. (2015) Collaborative European NeuroTrauma Effectiveness Research in Traumatic Brain Injury (CENTER-TBI): a prospective longitudinal observational study. *Neurosurgery* 76(1):67-80.
  - 30) Helmrich IRAR, Czeiter E, Amrein K, et al. Incremental prognostic value of acute serum biomarkers for functional outcome after traumatic brain injury (CENTER-TBI): an observational cohort study. *Lancet Neurol.* 2022; 21(9):792-802.
  - 31) Korley FK, Jain S, Sun X, et al. Prognostic value of day-of-injury plasma GFAP and UCH-L1 concentrations for predicting functional recovery after traumatic brain injury in patients from the US TRACK-TBI cohort: an observational cohort study. *Lancet Neurol.* 2022; 21(9):803-813.
  - 32) Wilson L, Newcombe VFJ, Whitehouse DP, Mondello S, Maas AIR, Menon DK; CENTER-TBI participants and investigators. Association of early blood-based biomarkers and six-month functional outcomes in conventional severity categories of traumatic brain. injury: capturing the continuous spectrum of injury. *EBioMedicine.* 2024; 107:105298.

## Licenciamiento

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)