

**EVIDENCIA SOBRE LA UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES DE DAÑO
CEREBRAL EN HIPOXIA PERINATAL EN NEONATOS A TERMINO**

Jhosep Enmanuel Ávila Ruiz

Trabajo de grado para optar al título de Especialista en Pediatría

Asesor temático

Dr. Dairo Cera Cabarcas

Asesor metodológico

Dra. Mariana Villaveces



Universidad De Nuestra Señora Del Rosario
Escuela De Medicina y Ciencias De La Salud
Bogotá Mayo de 2020

AUTOR

Jhosep Enmanuel Ávila Ruiz

Médico cirujano Universidad del Rosario

Estudiante Especialización en Pediatría

Universidad del Rosario

Email josh580@msn.com

Instituciones participantes

Colegio Mayor Universidad Nuestra Señora del Rosario

Nota de responsabilidad institucional

“La Universidad del Rosario, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

Dedicatoria

Este trabajo esta dedicado a mis padres y a mi pareja, que me han acompañado en mi proceso de formación como individuo inculcándome el valor de ser una persona integral y de aprender a levantarme luego de cada caída que sufra en la vida

Agradecimientos

Queremos agradecer a todas las personas que hicieron parte de este trabajo de investigación y de mi formación como médico y especialista, que me han enseñado a tener un criterio propio como profesional y que me han provisto de las herramientas necesarias para enfrentarme a un mundo con nuevos retos en mi vida personal y profesional.

De igual forma a mis padres por todo el apoyo que me han brindado todos estos años desde que decidí partir de casa a crear mi propio futuro.

Gracias a nuestros compañeros residentes, a la Dra. Mariana Villaveces, al Dr. Dairo Cera y a la Dra. Lilia del Riesgo mi primera tutora por su apoyo incondicional en la redacción y elaboración de este trabajo.

Tabla de contenido

1. Introducción	12
2. Planteamiento del problema.....	14
Pregunta de investigación	15
4. Marco teórico	17
4.1 Epidemiología.....	17
4.2 Definiciones.....	17
4.3 Biomarcadores Inflamatorios (Citoquinas).....	20
4.4 Marcadores Específicos De Daño Neuronal.....	21
4.4.1 Proteína Glial Acida Fibrilar (GFPA).....	21
4.4.2 Ubiquitin Carboxil-Terminal Estearasa L1 (Uch-L1)	22
4.4.3 Enolasa Específica Neuronal (Nse)	23
4.4.4. Proteína S100B	24
4.5 Estado del arte.....	24
5. Objetivos	26
5.1 Objetivo General.....	26
5.2 Objetivos específicos	26
6. Metodología	27
6.1 Tipo y diseño de estudio	27
6.2 Estrategia PICOT.....	28
6.3 Población de referencia y muestreo	28
6.4 Diagrama del protocolo	29
6.5 Fuentes de información y recolección de datos.....	29
6.5.1 Estrategia de búsqueda para la identificación de estudios.....	29
6.5.2 Bases de datos.....	30
6.5.3 Identificación de los estudios.....	30
6.6 Criterios de selección.....	31
6.7 Variables.....	31
6.8 Control de errores y calidad de los datos.....	32
6.9 Plan de análisis	32
6.10 Extracción de los datos	33

8. Consideraciones éticas	34
9. Aspectos administrativos	35
9.1 Cronograma	35
9.2 Recursos y presupuesto.....	37
9.3 Organigrama	37
10. Resultados	38
11. Discusión.....	44
14. Conclusiones y recomendaciones	48
Bibliografía	49

Lista de Tablas

	pág.
Tabla 1 <i>Estrategia de búsqueda</i>	29
Tabla 2. <i>Clasificación de las recomendaciones en función del nivel de evidencia disponible.</i>	33
Tabla 3 <i>Resultados de la búsqueda en la literatura por bases de datos.</i>	38
Tabla 4 <i>Causas de exclusión por bases de datos</i>	39

Lista de Figuras

Figura 1 <i>Relación de niveles de GFAP en cordón umbilical y encefalopatía en neonatos</i>	22
Figura 2 <i>Diagrama del protocolo de estudio</i>	28
Figura 3 <i>Flujograma Prisma</i>	38
Figura 4. <i>Año de publicación de los artículos</i>	39

Lista de siglas

Enolasa Específica	NSE
Factor de Necrosis Tumoral	TNF
Interleucinas	IL
Interferón	INF
Proteína Acida Glial Fibrilar	GFAP
Ubiquitin-carboxil-terminal estearasa	L1UCH-L1

Resumen

Introducción: La encefalopatía neonatal, secundaria a daño hipóxico isquémico durante el nacimiento tiene graves consecuencias, y hasta la fecha no está claro el papel de los marcadores tales como SB 100, GFAP, diferentes IL y la enolasa específica neuronal. El objetivo del presente estudio fue evaluar la evidencia científica disponible en la literatura relacionada con la utilidad de los biomarcadores de daño cerebral.

Metodología: Se realizó una revisión sistemática de la literatura en las principales bases de datos pubmed, embase, LILACS, Dare y trip medical database; incluyendo estudios; observacionales que evaluaran diferentes marcadores (Enolasa específica, GFAP, SB 100, IL 1, IL 6 IL 16 entre otros) en neonatos a término con hipoxia perinatal. Se extrajo la evidencia respecto a su papel como biomarcador para la identificación y severidad de encefalopatía hipóxico-isquémica y se presentan los resultados.

Resultados: La búsqueda arrojó un total de 2.910 artículos, de los cuales 18 cumplieron criterios de inclusión, 1203 pacientes en total. El marcador más utilizado en los diferentes estudios fue SB 100, y entre todos los marcadores evaluados se encontró que la enolasa específica, la SB100, FASL, la copeptina, la IL-6 e IL-16, y proteína 181mRNA sirven para la identificación y severidad de la encefalopatía hipóxico isquémica con resultados significativos.

Conclusión: Los marcadores séricos de enolasa específica, la SB100, FASL, la IL-6 e IL-16 mostraron la mayor confiabilidad en los resultados como marcadores para severidad, pronóstico y/o seguimiento en pacientes a término con encefalopatía hipóxico-isquémica.

Palabras clave: *Encefalopatía hipoxia-isquema, biomarcadores, neonatos, a término, severidad.*

Background: Neonatal encephalopathy, secondary to ischemic hypoxic damage at birth, has serious consequences for life, and to date the role of markers such as SB 100, GFAP, different ILs and neuronal specific enolase is unclear. The objective of the present study was to evaluate the scientific evidence available in the literature related to the usefulness of biomarkers of brain damage

Methods: A systematic review of the literature was performed, searching in the main databases: pubmed, embase, LILACS, and tripdata medical base; we included analytical, observational studies that evaluated different markers (specific Enolase, GFAP, SB 100. IL 1, IL 6 IL 16 among others) in neonates with perinatal hypoxia. The whole evidence regarding their role as a biomarkers for the identification and severity of hypoxic-ischemic encephalopathy was extracted and the results are presented.

Results: The search yielded a total of 2,910 articles, of which 18 were selected for meeting inclusion criteria, 1203 patients in total. The most used marker in the different studies was SB 100, and among all the evaluated markers it was found that specific enolase, SB100, FASL, copeptin, IL-6 and IL-16, and 181mRNA protein have clear results as biomarkers, for the identification and severity of hypoxic ischemic encephalopathy with significant results.

Conclusion: Serum specific enolase markers, SB100, FASL, IL-6 and IL-16 showed the highest reliability in the results as markers for severity, prognosis and / or follow-up in term patients with hypoxic-ischemic encephalopathy.

Key words: Hypoxia-ischemia encephalopathy, biomarkers, newborn, term birth, severity.

1. Introducción

La encefalopatía neonatal, resulta del daño hipóxico isquémico durante el nacimiento y es secundaria a múltiples causas prenatales, perinatales y posnatales, su resultado final es una disminución de la cantidad de oxígeno disponible a nivel neuronal con la consiguiente muerte celular y compromiso del estado general. Esta es una complicación cada vez más relevante ya que tiene un alto impacto en cuanto a secuelas, morbilidad y mortalidad infantil (1); se presenta pese a que existen cada día nuevos métodos y técnicas de reanimación y de soporte vital avanzados, los cuales garantizan la posibilidad de vida a individuos que de otra manera no lo hubieran alcanzado.

La incidencia de esta condición es muy variable, pues depende no solo de los recursos que provea cada país o localidad en cuanto a insumos y materiales, que aseguren el adecuado estudio e intervención con la tecnología más avanzada, sino también del conocimiento y la capacidad humana para realizar dichas intervenciones. Es de tener en cuenta que en estos casos, es una situación de medios, además de resultados, ya que en cuanto a las terapias que se aplican, es muy difícil predecir la supervivencia y la calidad de vida de los sujetos que son sometidos a estas (2).

En general, se acepta que en los países del primer mundo, esta complicación tiene lugar alrededor del 1.5 por cada 1000 nacidos vivos, con una alta tasa de mortalidad en aquellos que presentan mayor severidad (3) ; los que sobreviven quedan con incapacitantes secuelas a largo plazo como lo es la parálisis cerebral y la discapacidad cognitiva severa; por otra parte aquellos con menores niveles de severidad, tendrán mayor probabilidad de vivir pero es en estos pacientes donde se desconoce cuál será el nivel de discapacidad motora, visual, cognitiva, alteración en la actividad escolar, social, la hiperactividad y en general las complicaciones resultantes de esta complicación (4).

En la mayoría de los pacientes es muy difícil conocer cuál ha sido el tiempo en el que se ha establecido un daño neuronal y, si este se da antes, durante o después del nacimiento, para lo cual se han creado diferentes escalas clínicas que ayudan a describir esta severidad de acuerdo a criterios clínicos y paraclínicos, que en muchos casos puede que no sean específicos para definir daños y desenlaces específicos a nivel encefálico pero que se han ido complementado con los hallazgos que han ido saliendo a la luz en los últimos años, (5) con el fin de ayudar al clínico a establecerse metas más acordes a la realidad de cada paciente y poder informar con mejor manejo de la información,

a las personas que pertenecen al entorno del paciente las cuales de esta manera pueden plantearse expectativas más cercanas al posible desarrollo futuro de los individuos que son el centro de estas terapias.

Los biomarcadores de daño cerebral, son biomoléculas que resultan de las alteraciones neuronales debidas a la afectación metabólica secundaria a la hipoxia, siendo el reflejo del daño de la unidad neurovascular, (5) por lo que podrían ser medidas y variar según las intervenciones terapéuticas que se apliquen a los pacientes. En este momento, se encuentran en estudio muchos biomarcadores, pero gran parte de ellos no son específicos del daño cerebral, sino que se podrían considerar como secundarios al daño en otro sistema del organismo (5); sin embargo se cuenta en este momento, con un grupo muy importante de proteínas específicas de daño del sistema nervioso central dentro de las cuales encontramos la proteína S100B, la proteína ácida glial fibrilar (GFAP), la ubiquitin-carboxil-terminal esterasa L1 (UCH-L1) y la enolasa específica neuronal (NSE) (1) que son las que han sido reportadas en estudios con mejor evidencia de su asociación con el daño neuronal y de las que se disponen métodos de determinación rápidos en cualquier laboratorio (5).

2. Planteamiento del problema

Las medidas sanitarias a nivel mundial han ayudado a disminuir la mortalidad infantil considerablemente en los últimos años, según las estadísticas mundiales de la OMS tuvo una caída aproximada del 40% entre 1990 y 2011(6), con una mejoría significativa en todos los países del mundo, de hecho se estima que ha tenido una disminución de 2,5% por año en este período. Sin embargo, aun fallecen al día 7000 recién nacidos por cada millón de habitantes en el primer día de vida (2)

El 75% de las muertes en niños menores de 5 años se concentran en seis problemas de salud mundial (2,6): causas neonatales, neumonía, diarrea, VIH/SIDA, malaria y sarampión; siendo la prematuridad y sus complicaciones la segunda causa de muerte después de la neumonía y el principal factor relacionado con esta alta mortalidad, las cuales se estiman que han cobrado más de un millón de nuevas vidas en la última década, a pesar de que, en una gran proporción, las medidas terapéuticas que se aplican logran evitar la muerte.

En nuestro medio según datos del Ministerio de Salud (7), se estima que cerca del 63% de las muertes ocurre en los primeros 28 días de vida, siendo máxima en los primeros 7 días de vida, con una tasa de 15 muertes por cada 1000 nacidos vivos entre 1990-2012; entre estos casos, la encefalopatía neonatal, la cual es un desorden secundario a los procesos de hipoxia/isquemia tiene una alta morbimortalidad con una incidencia estimada en 1.5 por 1000 nacidos vivos en neonatos a término, según algunos reportes (3), las altas tasas de mortalidad en casos muy severos y con importantes secuelas en los sobrevivientes, las cuales pueden ir desde la parálisis cerebral (en algunos artículos conocida como insuficiencia motora de origen central) hasta el retardo mental, dirigen la terapia e intervenciones terapéuticas que se realizan en estos pacientes, y están encaminadas a mejorar la supervivencia con el menor número de secuelas.

De igual forma es importante entender que, así sea una patología que se trata todos los días en la práctica clínica, no existe un criterio unificado con relación a cómo se define la instauración del daño en sistema nervioso, el grado de severidad y de cómo se correlacionan las intervenciones terapéuticas (8) con las secuelas neurológicas que podría tener el paciente a mediano y largo plazo

En los últimos años, intentando encontrar herramientas para la valoración oportuna de todo paciente que nace con hipoxia perinatal o sospecha de la misma, se ha realizado mediciones de diferentes sustancias corporales para encontrar asociaciones con la enfermedad. De esta forma, algunas interleucinas, o moléculas como SB100 o Fasligand se han encontrado relacionadas con el seguimiento de la enfermedad, con el fin de evitar secuelas en todo neonato con asfixia.

La hipoxia perinatal, se convierte en un verdadero reto para el clínico, ya que implica encontrar métodos objetivos que reflejen de una manera cuantitativa, verídica, reproducible, de seguimiento y pronóstica, los factores asociados a la extensión del daño o la progresión del mismo en el paciente, así como a la efectividad de las medidas terapéuticas que se aplican en la práctica clínica. Es en este punto, cuando los biomarcadores de hipoxia perinatal entran a tener un papel central, pues el conocimiento e implementación de estos exámenes constituyen herramientas necesarias en la práctica clínica moderna que, cada vez más, nos exige contar con métodos cuantitativos para el diagnóstico, tratamiento, pronóstico e intervención temprana, con el fin de mejorar la calidad de vida y evitar el desarrollo de complicaciones en los neonatos.

2.1 Pregunta de investigación

¿Cuál es la evidencia acerca de la utilidad de los diferentes biomarcadores de daño cerebral y el grado de daño, pronóstico y seguimiento de la hipoxia perinatal en neonatos a término, según una revisión sistemática de literatura realizada con información de los últimos cinco años?

3. Justificación

Se conocen cuáles son las consecuencias de manejos fútiles en los pacientes que han estado expuestos a noxas hipóxico-isquémicas, durante el periodo neonatal, (8) y el rol de las diferentes intervenciones que se aplican para tratar de modificar los desenlaces, por otra parte el real conocimiento del estado metabólico cerebral y sistémico de estos niños, hasta el momento, no está apoyado por evidencia objetiva, si hubo daño permanente cerebral, no solo de trastornos motores evidentes sino además, de la esfera cognoscitiva, sensorial y conductual, entre otras. Por estas razones este estudio podría aportar herramientas al personal de las Unidades de Neonatología y Pediatría que manejan a pacientes recién nacidos expuestos a diferentes situaciones en su proceso de transición a la vida extrauterina, a conocer mejor la utilidad de estos biomarcadores, al momento de establecer intervenciones en cada individuo.

Disponer de las herramientas necesarias para definir si un paciente con factores de riesgo prenatales, perinatales o posnatales, ha estado expuesto a una situación de hipoxia cerebral es necesario para tomar conductas, y en estos casos, determinar los niveles séricos, en orina o en líquido cefalorraquídeo de biomarcadores que nos puedan indicar la presencia de daño, la posible extensión y marcar el pronóstico del individuo en cuanto a mortalidad y secuelas, ayudará a identificar en qué pacientes se deben instaurar las medidas de intervención terapéuticas para disminuir la extensión del daño y mejorar sus desenlaces neurológicos y morbimortalidad en el corto, mediano y largo plazo. De igual forma definir en cuáles de estos pacientes instaurar dichas intervenciones disminuiría el riesgo de efectos adversos por encima de los potenciales beneficios y en aquellos en que dichos manejos serían una intervención fútil, por tanto, desde el punto de vista ético se deberían considerar otras opciones.

Con la realización de este estudio, se espera definir cuál es la evidencia actual acerca de la relevancia de los biomarcadores, que se están utilizando para definir esos escenarios en el grupo de pacientes de nuestro interés, además cuál es la factibilidad de su uso en un tiempo a corto o largo plazo en nuestros escenarios de práctica, conociendo los niveles de corte propuestos y cómo deberían ser interpretados sus resultados de acuerdo a cada escenario, en aras de obtener una adecuada actualización aportando evidencia que permita pensar en la implementación de estas herramientas en nuestros sitios de práctica clínica diaria.

4. Marco teórico

4.1 Epidemiología

La mortalidad infantil es el principal factor determinante del desarrollo de un país, esta se debe clasificar en aquellas muertes que ocurren en el periodo neonatal (desde el nacimiento hasta los 28 días de vida) y el posnatal (después de los 28 días hasta el año), siendo el primer periodo el crucial en las estadísticas sanitarias pues hasta dos tercios de las muertes ocurren en este lapso de tiempo, debida a complicaciones tales como la prematuridad, malformaciones congénitas, condiciones maternas, complicaciones del trabajo de parto y las dificultades en el acceso al sistema de salud (2). Según el Ministerio de Salud de Colombia(7), se estima que cerca del 63% de las muertes ocurre en los primeros 28 días de vida, siendo máxima en los primeros siete días de vida, con una tasa de 5,57 muertes por cada 1000 nacidos vivos entre 2005-2011. Entre estos casos, la encefalopatía neonatal, desorden secundario a los procesos de hipoxia-/isquemia, la cual, de acuerdo a datos de Kurinczuk et al.(1) tiene una alta morbimortalidad con una incidencia estimada en 1.5 por 1000 nacidos vivos en neonatos a término.

En estudios prospectivos realizados en países como Estados Unidos, (9) la principal causa de mortalidad es la prematuridad y el bajo peso al nacer, seguidas por la sepsis, la enterocolitis necrotizante, la hipoplasia ventricular, la hemorragia intraventricular, la dificultad respiratoria neonatal; la encefalopatía hipóxico-isquémica, mirada como un síndrome aislado, se ha estimado que puede corresponder a un 6,1% de los pacientes seguida de otras causas (9). Sin embargo, es de considerarse que gran parte de estas patologías, no funcionan como una única causa de muerte en los pacientes, de hecho se debería tener en cuenta que la mayoría de estas podrían llevar a diferentes estados de hipoperfusión tisular y disfunción orgánica múltiple (9).

4.2 Definiciones

La encefalopatía neonatal, es un síndrome que se caracteriza por una alteración en la función neurológica durante los primeros días de vida en los recién nacido a término, caracterizada usualmente por dificultad respiratoria que se manifiesta en los minutos posteriores al nacimiento y que se perpetua durante las primeras horas de vida, asociado a un estado de alteración del tono y los reflejos motores, alteración del estado de conciencia y con cierta frecuencia convulsiones (1,4)

En la práctica clínica, la estadificación de Sarnat (9) permite acercarnos al posible pronóstico neurológico a corto y largo plazo de los pacientes que presentan este grupo de síntomas, agrupándolos de acuerdo al estadio clínico:

- Estadio 1: Pacientes con encefalopatía leve que no suelen tener secuelas significativas a largo plazo
- Estadio 2: Pacientes con encefalopatía moderada, grupo con espectro muy variado de síntomas clínicos que pueden ir desde muy buen pronóstico neurológico a largo plazo hasta discapacidad que interfiere en el desarrollo normal del niño, que puede ir desde déficit motor hasta alteraciones cognitivo-conductuales.
- Estadio 3: Pacientes con encefalopatía severa, con una alta tasa de mortalidad a corto plazo que se caracteriza por una disfunción orgánica múltiple con ausencia de respuestas neurológicas y un trazo electroencefalográfico deprimido o plano. Este grupo suele tener muy alta mortalidad en las horas siguientes al inicio de los síntomas con un grupo pequeño de supervivientes con severas secuelas neurológicas como cuadriparesia espástica, discapacidad cognitiva severa, etc.

Esto deja ver, que existe un grupo de pacientes en los que no estaría indicado realizar intervenciones terapéuticas para intentar establecer medidas de neuroprotección pues tienen un excelente pronóstico neurológico (Estadio 1). Que existe otro grupo, en el que realizar intervenciones de reanimación avanzada como la hipotermia está indicado como parte del manejo de resucitación de pacientes gravemente afectados pero que podrían llegar a ser fútiles, debido a la extensión del daño que ya pueda estar establecido (Estadio 3). Quedando un limbo (Estadio 2), en el cual existen muchos pacientes que podrían beneficiarse de estas intervenciones para controlar y disminuir el daño neuronal, mientras que otros de estos no la requerirían; esto deja ver que muchas veces se podrían establecer medidas innecesarias en pacientes sin indicación mientras que en otros casos no las reciben siendo candidatos a su aplicación ya que podrían beneficiarse de las mismas.

Es por lo anterior, que en la búsqueda de un método objetivo con el fin de diferenciar estos grupos de pacientes, se han usado técnicas como el estudio electroencefalográfico y los potenciales evocados que han demostrado ser útiles en la predicción de resultados al realizarse en las primeras 6 horas luego del episodio hipóxico-isquémico, sin embargo estos recursos no están siempre disponibles en el momento indicado y/o no se cuenta con el personal calificado para su interpretación en el momento justo.

En los últimos años, se ha extendido la utilización de la resonancia magnética y el spect como herramientas útiles en la predicción de desenlaces así como secuelas motoras y discapacidad cognitiva en los pacientes en las primeras dos semanas de vida ; sin embargo, este recurso no siempre está disponible en las primeras 24 horas de vida, tiempo en el que se suelen tomar decisiones para la implementación de medidas de intervención que impacten favorablemente en la evolución de los pacientes, sin embargo, es una técnica que se utiliza para evaluar daños ya establecidos, por lo que nuevamente nos encontramos con la necesidad de tener un recurso objetivo más accesible y con menor costo para nuestro medio¹¹. Un aspecto a tener en cuenta es el intervalo conocido como “ventana terapéutica” igualmente sin un consenso general, en el cual deberían aplicarse las medidas de neuroprotección ya que determinadas zonas del sistema nervioso podrían rescatarse del daño si se conoce la extensión y severidad del mismo de forma inmediata al evento hipóxico (11).

La hipotermia es una de las intervenciones que ha demostrado un significativo efecto neuroprotector en los pacientes con encefalopatía moderada, pero nuevamente el clínico se debe enfrentar a esclarecer la delgada línea que identifique estos pacientes, de una forma objetiva, rápida, económica, fácil de interpretar y disponible (12).

En este momento no existe ningún biomarcador en líquido cefalorraquídeo, sangre u orina que se encuentre en uso en la práctica clínica, (13) siendo la inclusión de estos de vital importancia ya que en muchos pacientes la instauración del daño es heterogénea y por tanto difícil de identificar, de igual forma, se requiere disminuir la probabilidad de establecer medidas fútiles o innecesarias que puedan tener efectos adversos, en aquellos en los cuales no estarían recomendadas.

Para que sea un biomarcador que impacte en la práctica clínica, se requiere evidencia de su utilidad para identificar aquellos pacientes que cursan con daño neuronal, que permita establecer la extensión del mismo, que sirva como medida de seguimiento del impacto de la intervención que se instaure y que nos ayude a predecir desenlaces a corto y largo plazo en los pacientes. De igual forma debe ser una medida que idealmente, ayude a establecer si el tiempo de instauración del daño corresponde a un proceso de isquemia aguda o crónica e igualmente su determinación sea rápida y aporte información en un corto plazo. (8)

Para entender un poco mejor el contexto de estas sustancias, tenemos que entender las características de un componente muy importante del sistema nervioso central, como lo es la barrea

hematoencefálica, que es la membrana de interface entre los componentes celulares y moleculares del cerebro, específicamente el líquido intersticial, y la sangre. Un sistema que funciona mediante una íntima comunicación entre neuronas, las células gliales y el compartimento vascular, siendo especialmente cercana entre los astrocitos y el endotelio, funcionando de forma dinámica, sufriendo modificaciones cuando existen sustancias circulantes, secretadas desde órganos distantes y transferidas a esta o bien, secretadas por las células mencionadas (14).

Para conocer mejor los biomarcadores, que reflejan daño de la barrera hematoencefálica y por tanto, del tejido neuronal, se dividirán en dos grupos: el primero las citoquinas inflamatorias y el segundo, los biomarcadores específicos neuronales.

4.3 Biomarcadores Inflamatorios (Citoquinas)

En este amplio grupo se pueden encontrar una gran variedad de proteínas como lo son las interleucinas (IL), factores estimulantes de colonias, interferones (INF), factor de necrosis tumoral (TNF) y quimiocinas, que intervienen de forma conjunta para comunicar el sistema neural, endocrino e inmune (15). Estas sustancias pueden producirse bien en el sistema nervioso central o ser transportadas a él luego de una disrupción en la integridad de la barrera hematoencefálica, pudiendo ser antiinflamatorias o pro inflamatorias. Los estímulos para su secreción pueden ser diversos, en nuestro grupo de interés específicamente, se han relacionado con episodios de hipoxia-asfíxia y/o infección.

Las que se han relacionado directamente con potencial daño neural han sido la IL-1, IL-6 e IL-8, además se ha visto que los niveles de éstas tienden a descender tras establecerse medidas terapéuticas como la hipotermia. Se han medido en líquido cefalorraquídeo de neonatos asfixiados a término y tienden a aumentar a medida que aumenta la encefalopatía (16). De igual forma, el interferón y el factor de necrosis tumoral elevados y en aumento progresivo, medido entre las 6 y las 24 horas del evento hipóxico, se han asociado con peores resultados y mayores secuelas. Estos compuestos podrían ser factores que ayuden a determinar el tiempo de evolución de la noxa, ya que se han encontrado elevadas en líquido amniótico y sangre de cordón umbilical en pacientes con parálisis cerebral, específicamente la IL-1B, IL-6 y TNF α . (15)

Como parte de la futura evaluación clínica de estas citoquinas en el estudio de la asfíxia perinatal y el daño neuronal, se podrían generar estudios que ayuden a relacionar la IL-1B sérica, IL-6 sérica y la IL-1b en líquido cefalorraquídeo como predictores de malos desenlaces cuando se toman antes de las 96 horas de vida en pacientes con diagnóstico de encefalopatía (15).

4.4 Marcadores Específicos De Daño Neuronal

4.4.1 Proteína Glial Ácida Fibrilar (GFAP)

Es una proteína que hace parte del filamento intermedio del citoesqueleto de los astrocitos, se libera a la sangre tras la muerte celular, (17) y se ha relacionado con pobres desenlaces, considerándose marcador de mortalidad y secuelas neuronales en niños sometidos a membranas de oxigenación extracorpórea y en pacientes con accidente cerebrovascular, paro cardíaco y trauma craneoencefálico severo.

Acerca de sus niveles séricos, algunos estudios (17) han puesto un punto de corte de 0,08 ng/ml para distinguir aquellos con encefalopatía moderada a severa; de igual forma en el momento de la admisión a la unidad de cuidados intensivos, los pacientes que presentaron niveles iguales o superiores a 0,15 ng/ml se consideraron predictores de alteraciones importantes en la resonancia cerebral magnética, a pesar del manejo con hipotermia terapéutica, permaneciendo elevados en neonatos con daño moderado a severo que fueron llevados a hipotermia en comparación con aquellos que tenían solo alteración leve, sin tener un nuevo aumento durante el recalentamiento del paciente. Por lo que se podría pensar en el valor predictivo de daño cerebral perinatal de este biomarcador al ser tomado de muestra de cordón umbilical. Cabe destacar que en los estudios que se hicieron estas mediciones, se tomaron muestras seriadas a las 6 y 24 horas, 48, 72 y 78 horas de vida, siguiéndose posteriormente la cohorte para evaluar el neurodesarrollo utilizando las escalas de Bailey para lactantes y niños a los 18 y 24 meses de vida, presentando aquellos pacientes con concentraciones más elevada de esta proteína mayores secuelas neurológicas en cuanto a retraso en el desarrollo psicomotor y alteraciones motoras permanentes.(5)

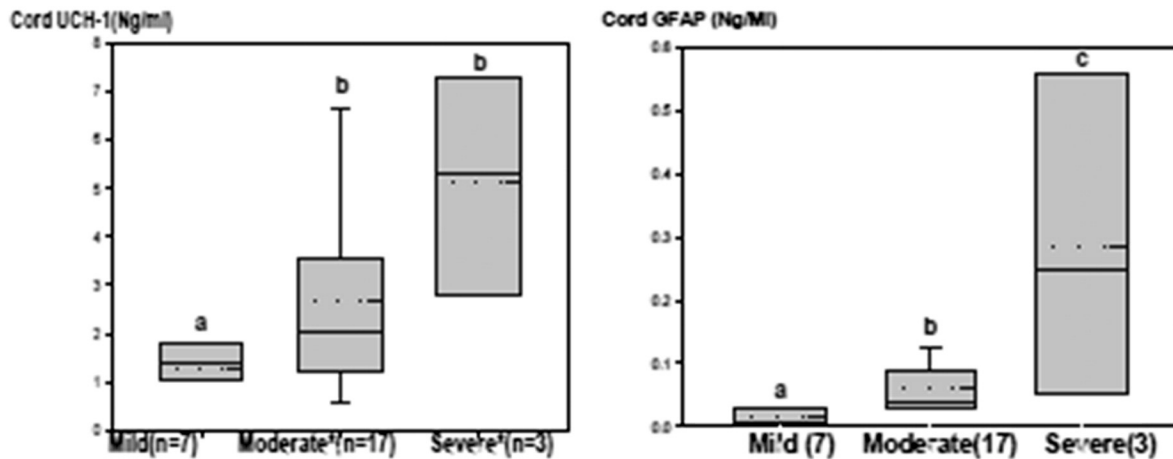
De hecho, hay estudios prospectivos que analizan cohortes de pacientes en los cuales se han identificado niveles de GFAP en cordón umbilical para correlacionarlo con la severidad de la encefalopatía neonatal como único marcador, con niveles muy elevados en pacientes que se presentan con un nivel de severidad que va de moderado a severo comparado con aquellos que tienen una encefalopatías leve (11).

Es importante mencionar, que la correlación de estos hallazgos con la elevación de otros marcadores pro-inflamatorios tales como la IL-6, IL-8 IL-1 y TNF α a las 6 y 24 horas tienen una mayor fuerza predictiva de daño neuronal y un nivel superior a 0.05 ng/ml de la GFAP mas allá de las 72 horas de vida se ha relacionado con mayores secuelas neurológicas a los 24 meses de vida (11).

Al nacer los niveles de GFAP aumentan de acuerdo a la severidad de la encefalopatía (Fig. 1), manteniéndose elevados en neonatos con nivel de severidad de moderado a severo que fueron

llevados a hipotermia terapéutica comparados con aquellos clasificados como leves, sin evidenciarse un aumento en sus niveles luego de recalentar al paciente (16).

Figura 1. Relación de niveles de GFAP en cordón umbilical y encefalopatía en neonatos



Esta grafica muestra los niveles de GFAP en cordón umbilical y la severidad de la encefalopatía al nacer, reportada como ng/ml. Incluyendo en el análisis del estudio, neonatos con nivel leve (n:7), moderada (n:17) y severa (n:3) de encefalopatía. Con una p=0.001 para GFAP y de 0.03 para Ubiquitin Carboxil-Terminal Estearasa L1 UCH-1

Gráfica tomada de Jonckheere-Terpstra Chalak Lina. Inflammatory Biomarkers Of Birth Asphyxia. Clin Perinatol. 2016. (16)

4.4.2 Ubiquitin Carboxil-Terminal Estearasa L1 (Uch-L1)

Es una enzima neuronal que se encuentra concentrada en el citoplasma de las dendritas y es un marcador de apoptosis, siendo un reflejo muy fiable de la extensión del daño celular ya que se libera al torrente sanguíneo una vez existe una alteración en la homeostasis de la barrera hematoencefálica. Inicialmente fue estudiada en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con trauma craneoencefálico y paro cardiaco inducido durante el arresto circulatorio, en los últimos años se ha medido en suero (11).

Específicamente en neonatos, se encontraron niveles séricos superiores a 100 ng/ml en pacientes con encefalopatía que murieron al poco tiempo de la medición, de igual forma se encontraron elevados en muestras de arteria umbilical y luego de 72 horas de hipotermia terapéutica en pacientes con daño neuronal versus aquellos con desenlaces favorables, disminuyendo su concentración desde las 6 hasta las 24 horas luego del inicio del tratamiento. Esto aporta su valor promisorio en el terreno de los biomarcadores siendo necesario establecer el tiempo óptimo de

medición para que sea un reflejo fiable del daño establecido y del impacto de las medidas terapéuticas (11).

Hay un estudio que reporta que los niveles séricos de esta proteína se encontraron elevados en neonatos con encefalopatía hipóxico-isquémica durante las primeras 24 horas de vida, en comparación con aquellos que se encontraban hospitalizados en la unidad neonatal que no tenían otros antecedentes (18).

4.4.3 *Enolasa Específica Neuronal (Nse)*

Pertenece a una gran familia de enzimas, que se encuentran en todos los tejidos de los organismos capaces de realizar glicolisis, la que es específica de las neuronas se encuentra en el citoplasma de estas y de las células neuroendocrinas, siendo inicialmente estudiadas como marcadores de pobre pronóstico en pacientes con accidente cerebrovascular, paro cardíaco, pacientes pediátricos con trauma craneoencefálico y en nuevos estudios, en neonatos que fueron llevados a cirugía cardíaca y tuvieron malos desenlaces. En cuanto a la asfixia-hipoxia perinatal, un pequeño estudio que evalúa su concentración sérica se ha asociado con mal pronóstico tomando como punto de corte 45,4 μ g/L, diferenciando aquellos con pobre pronóstico de los que tuvieron resultados favorables (19).

Como características relevantes, esta es una proteína dimérica que contiene dos subunidades gamma, siendo muy soluble y estable en fluidos tales como el suero, sin verse afectada por factores como la hiperbilirrubinemia o la lipemia, tampoco presenta reacciones inmunológicas cruzadas con las enolasas que no pertenecen al grupo de las no neuronales. La mayoría de los estudios reportados en la literatura han usado la lectura de esta proteína en fluidos como el líquido cefalorraquídeo en pacientes con diagnóstico de asfixia, convirtiéndose en un marcador muy confiable de daño neuronal y por tanto indicador de secuelas neurológicas a largo plazo (20).

Uno de los grandes problemas con la medición de esta proteína, era que inicialmente solo se realizaba en líquido cefalorraquídeo lo que representaba un gran inconveniente, ya que muchas veces en los pacientes asfixiados luego del nacimiento existían importantes contraindicaciones para la realización de una punción lumbar y no se contaba con el escenario adecuado para la toma de dichas muestras; Ya hay estudios, que han demostrado la capacidad predictiva de la enolasa específica neuronal como marcador de encefalopatía hipóxico-isquémica en pacientes que tendrán pobres desenlaces más que para su clasificación en moderado o severo, lo que se suele conseguir solo con la clínica y las imágenes. Pero se requiere de estudios que ayuden a identificar cuál es la sensibilidad en la medición de este biomarcador en suero (19).

4.4.4. Proteína S100B

Es una proteína dependiente de calcio que se encuentra en el citosol de múltiples tipos celulares, especialmente en las células gliales, la gran ventaja de esta molécula es que ya se cuenta con kits de inmunoensayo comercialmente disponibles que pueden detectarla en muestras de orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, saliva y líquido amniótico. Se ha encontrado, que pacientes con encefalopatía hipóxico-isquémica tienen niveles muy elevados de esta proteína en la muestra de primera diuresis luego del nacimiento versus controles, bien sean pretérmino o a término (21). Esta proteína tiene forma de doble hélice con un giro entre ambas, tiene una vida media de 1 hora y se excreta principalmente en orina, se considera un excelente biomarcador de daño neuronal al medirse en suero y líquido cefalorraquídeo. De igual forma se ha encontrado elevada en neonatos que sufrirán hemorragia intraventricular, lo que apoya su importancia como una excelente opción para evaluar a los neonatos a término con riesgo de hipoxia cerebral (22).

En estudios realizados en muestras de cordón umbilical en pacientes con encefalopatía versus controles, se ha determinado que niveles superiores a 2.02 $\mu\text{g/L}$ tiene una sensibilidad del 86,7% con una especificidad del 88% para predecir un daño de moderado a severo, de hecho existe un estudio que muestra que niveles superiores a 0,41 $\mu\text{g/L}$ tiene una sensibilidad del 91,3% con especificidad del 94,6% para predecir el desarrollo de encefalopatía hipóxico isquémica de cualquier grado, de hecho estos valores aumentan al 100% y 98,8%, respectivamente cuando se complementa con su determinación en muestras de orina tomadas a las 4 y 72 horas de vida (23). Esta proteína también puede ser un importante marcador de mortalidad ya que niveles superiores a 1 $\mu\text{g/L}$ predecía mortalidad con una sensibilidad y especificidad del 100%, en un estudio que incluyó 32 neonatos con encefalopatía hipóxico-isquémica (19)

Existen modelos experimentales y humanos que señalan a la proteína S100B, como una citoquina neurotrófica con efectos fisiológicos a niveles normales y citotóxica al estar en concentraciones muy elevadas, lo cual se deriva del daño en el parénquima neuronal que sufren los pacientes expuestos a hipoxia-isquemia, sin embargo la mayor limitante es la medición extracelular en los tejidos expuestos al daño en el momento específico de su instauración (20)

4.5 Estado del arte

La introducción de la hipotermia terapéutica con el estándar de manejo de la encefalopatía hipóxico isquémica, ha generado un reto para el profesional de la salud, para realizar un abordaje temprano del grado de lesión hipóxico isquémica que se ha establecido, la severidad de la encefalopatía y su relación con los desenlaces a corto y largo plazo en los recién nacidos. En el momento no existe

ningún biomarcador con la evidencia científica lo suficientemente robusta para predecir este daño y los desenlaces específicos en el paciente (24)

Sin embargo, el estudio en este campo se ha aumentado de forma significativa en los últimos diez años. Ahora sabemos que esta noxa se asocia con alteraciones predecibles en la expresión de un gran número de proteínas inflamatorias, proteínas específicas de sistema nervioso, vías metabólicas y microRNA. Estas alteraciones tienen una evolución rápida durante los primeros minutos luego del nacimiento hasta varios días de vida posnatal, el valor predictivo de estas mediciones varía de acuerdo al momento en el cual son medidas, el tipo de muestra y la cohorte que fue evaluada (41). Probablemente la combinación de estas mediciones, es la vía más segura y eficiente para una adecuada detección y predicción de estos desenlaces en los pacientes expuestos a encefalopatía hipóxico isquémica (24)

La búsqueda de un biomarcador con el potencial para guiar la terapéutica en pacientes con hipoxia cerebral aún es una utopía, el desarrollo de los análisis de muchos de estos biomarcadores, en algunos casos de forma simultánea, e inclusive en muestras tan pequeñas como 100 μ mol del suero, ofrece un potencial gigante para el futuro (43). Sin embargo la probabilidad de tener falsos positivos es aun alta, por lo que se requiere reducir la variación pre analítica, estandarizar los tiempos de toma y procesamiento, y repetir la validación de estos resultados. Esto asegura que el marcador candidato sea robusto y confiable, antes de poder guiar la terapéutica y estimar desenlaces (24).

Por tanto los marcadores que podrían ser evaluados, relacionados con la hipoxia cerebral serían las citoquinas, la NSE, la proteína S100B, la UCH-L1 y la GFAP.

5. Objetivos

5.1 *Objetivo General*

Evaluar la evidencia científica disponible en la literatura relacionada con la utilidad de los biomarcadores de daño cerebral en neonatos a término con hipoxia perinatal, mediante una revisión sistemática de la literatura, en las principales bases de literatura médica, por los últimos cinco años.

5.2 *Objetivos específicos*

- Evaluar la relación entre los biomarcadores (Gfap, NSE, proteína S100B y la UCH-L1) de daño cerebral en hipoxia perinatal, por separado y su relación con la evaluación de la morbimortalidad y seguimiento de los pacientes.
- Determinar la relación entre los niveles séricos, en orina o líquido cefalorraquídeo de los biomarcadores (Gap, NSE, proteína S100B y la UCH-L1) y las potenciales secuelas que puedan desarrollar los pacientes en corto y largo plazo.

6. Metodología

6.1 Tipo y diseño de estudio

El presente estudio se configuró como una revisión sistemática de la literatura. La naturaleza de este proceso de revisión hace referencia al diseño de un estudio secundario a través de estudios primarios que son analizados de forma cuidadosa utilizando una metodología científica previamente establecida.

La revisión sistemática de literatura se realizó por medio de una búsqueda exhaustiva en bases de datos centrada en estudios de tipo observacionales, con corte analítico, relacionados con biomarcadores de daño cerebral en hipoxia perinatal en neonatos a término.

Se incluyeron solo aquellos estudios que reportaran datos relacionados con las variables de interés evaluando su calidad por medio de la escala de evidencia de Oxford y sintetizando sus resultados mediante una metodología científica.

Las Bases de datos que se usaron fueron Pubmed/Medline, Embase, Medline, Tripdatabase, LILACS, Scielo, al igual se complementó la búsqueda de forma manual y electrónica, con literatura gris, también en formato de bola de nieve. De igual forma, se realizó una suscripción mensual a pubmed para recibir los estudios más recientes de este tema.

Los términos MesH utilizados en cada una de las bases de datos fueron (*"biomarker"[MeSHTerms] AND "cerebral hypoxia"[AllFields]) OR "hypoxic-ischemic"[AllFields]) AND neonatal encephalopathy [AllFields]) AND ("2015/01/01"[PDat]: "2020/01/1"[PDat])* durante un periodo de cinco años.

El presente estudio establece como criterios de inclusión artículos científicos en lengua inglesa y española con recorte temporal de enero de 2015 a enero de 2020

Previo al análisis de la evidencia se clasificaron los estudios seleccionados durante la revisión según los niveles de evidencia, y se trazó un análisis exhaustivo de los datos obtenidos, en cada uno de los estudios seleccionados, teniendo en cuenta como principal objetivo analizar detalladamente la evidencia en cuanto a biomarcadores de daño cerebral en hipoxia perinatal en neonatos a término

6.2 Estrategia PICOT

Tipo de participantes

Artículos que muestren resultados de estudios de los biomarcadores en neonatos a término que han estado expuestos a estados de hipoxia en el periodo perinatal, sin restricciones de raza, nacionalidad o sexo.

Tipo de intervención

Evaluación de la presencia sérica o en LCR de los biomarcadores en neonatos: Proteína glial ácida fibrilar, enolasa específica neuronal, proteína S100B y la Ubiquitin-carboxil-terminal Estearasa L1, al igual que Interleucinas y PCR entre otras.

Comparación

Determinación de niveles de los diferentes biomarcadores, a nivel sérico, orina o LCR según sea el caso

Tipo de exposición

Presencia de Hipoxia neonatal, Isquemia cerebral y/o asfixia en el parto.

Tipo de desenlaces

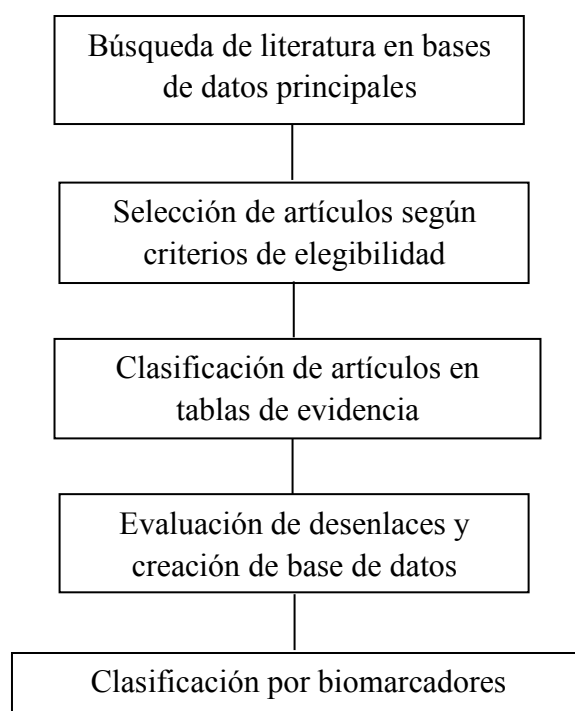
Se incluirán todos los estudios observacionales, experimentales relacionados con el tema de interés, buscando determinar la utilidad de los biomarcadores mencionados en predecir el potencial daño neuronal, pronóstico y seguimiento y la relación de esta con las secuelas de los pacientes en el corto y largo plazo

6.3 Población de referencia y muestreo

La población son todos los estudios referidos en los artículos en el periodo de búsqueda: enero 1 de 2015 a enero 1 de 2020 en las bases de datos establecidas previamente. Se decidió tomar este periodo de tiempo para tomar la evidencia reciente más relevante y con mayor relevancia clínica, ya que datos previos pudieron haberse replanteado dada la nueva evidencia disponible en la literatura. Adicionalmente se realizó una búsqueda en formato de bola de nieve y literatura gris.

Se realizó una selección de estudios con base en los criterios de inclusión pues al tratarse de una revisión sistemática de la literatura, la definición formal de una muestra no aplica para la realización de este trabajo.

6.4 Diagrama del protocolo



6.5 Fuentes de información y recolección de datos

Los datos fueron tomados de los artículos encontrados en las bases de datos señaladas, teniendo en cuenta los niveles de los diferentes biomarcadores de daño cerebral en hipoxia perinatal en neonatos a término encontrados en el periodo comprendido entre enero de 2015 y enero de 2020 y los resultados se organizarán en tablas para su ulterior análisis.

6.5.1 Estrategia de búsqueda para la identificación de estudios

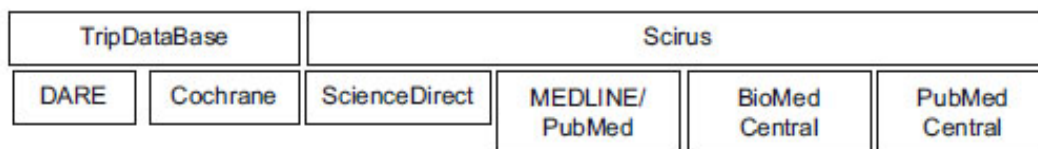
Para identificar estudios de investigación para esta revisión de literatura, se elaboraron estrategias de búsqueda detalladas en las bases de datos MEDLINE con los descriptores o términos MESH mencionados

Tabla 1. Estrategia de búsqueda

Combinaciones	Resultados
("biomarker"[MeSHTerms] AND "cerebral anoxia"[AllFields])	1330
"hypoxic-ischemic"[AllFields]) AND neonatal encephalopathy [MeSH terms])	1582
“hipoxic ischemic” [AllFields]) AND “neonatal encephalopathy” MeSH terms] AND biomarker	354

Para COCHRANE, EMBASE, LILACS se realizaron adaptaciones de esta misma estrategia. Se realizarán búsquedas mensuales en MEDLINE para la identificación de artículos recientes. También se hizo una búsqueda complementaria con Google académico para la identificación de literatura gris.

6.5.2 Bases de datos



- Pubmed central/Medline
- Embase
- LILACS
- Scielo
- DARE

Metabuscadores

- Biblioteca CochraneThe Cochrane Central Register of ControlledTrials (CENTRAL).
- Tripdatabase
- Sistema integrado de búsqueda de la Universidad del Rosario

Las bases de datos se revisaron a través de la biblioteca virtual de la Universidad de El Rosario desde las sedes de esta universidad o por medio de acceso remoto con licencia académica de la Universidad.

6.5.3 Identificación de los estudios

Los límites de la estrategia de búsqueda fueron:

- Estudios realizados en humanos.
- Sin restricción de género, nacionalidad y raza.
- Publicaciones en idioma inglés, portugués y español
- Publicaciones en los últimos 5 años (desde 01/01/2015 hasta 01/01/2020).

La identificación de los estudios que cumplieron con los criterios de selección fueron revisados por dos evaluadores, autor y asesores. La selección inicial de los artículos fue a partir del título, posteriormente se evaluará la pertinencia con el tema, evidencia, calidad del estudio, luego se

procederá a la selección, se realizó la revisión de los resúmenes y a partir de éstos, los textos completos, esta revisión de los artículos será realizada por el autor del trabajo de investigación.

6.6 Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- Estudios originales que reportaran datos acerca de los biomarcadores de daño cerebral en hipoxia perinatal
- Estudios en idioma inglés, portugués y español

En cuanto a los criterios de selección que hacen referencia a los pacientes elegibles en los estudios evaluados están:

- Neonatos a término: Aquellos cuya edad gestacional fue definida como entre 37 semanas y 41 semanas de gestación
- Hipoxia Perinatal: Definida como el estado de hipoxemia dada por los gases sanguíneos
- Encefalopatía neonatal: Definida como destrucción neuronal con evidencia en las imágenes diagnósticas o las alteraciones eléctricas en el electroencefalograma

Criterios de exclusión

- Narraciones, monografías, trabajos de grado, cartas al editor
- Ensayos científicos o cualquier formato que no corresponda con un formato de artículo original

En cuanto a los pacientes elegibles dentro de los artículos se excluirán los siguientes:

- Pacientes con alteraciones congénitas mayores: alteraciones cromosómicas, trastornos de la formación del sistema nervioso central, cardiovasculares, pulmonares o metabólicos.
- Producto de embarazos múltiples

6.7 Variables

- *Interleucinas*: Proteínas secretadas por células que median la respuesta inflamatoria y anti-inflamatoria en el cuerpo (linfocitos, células endoteliales, macrófagos, hepatocitos, etc.)
- *Interferón*: Proteína sintetizada por células de la respuesta inmune que se encargan de modular principalmente la inmunidad celular
- *Factor de necrosis tumoral alfa*: Proteína secretada por células de la respuesta inmune, uno de los principales marcadores de inflamación

- *Proteína Glial Acido Fibrilar*: Proteína del citoesqueleto de las células gliales que se libera tras la muerte celular de estas células
- *Ubiquitin Carboxil-Termina Estearasa L1*: Enzima encargada de procesos en el citosol de las dendritas neuronales, secretada en apoptosis
- *Enolasa especifica Neuronal*: Enzima encargada del glicolisis a nivel glial
- *Proteína S-100B*: Proteína presente en el sistema nervioso central(SNC) con funciones neurotróficas en concentraciones fisiológicas y efectos neurotóxicos en la encefalopatía hipóxico isquémica y otras situaciones de hipoxia perinatal.

6.8 Control de errores y calidad de los datos

Todos los artículos fueron clasificados por evidencia previo a su análisis mediante la lectura crítica de todos los artículos encontrados por el autor. Se tuvo en cuenta el tipo de estudio, rigor metodológico con el que fue realizado y la integridad del estudio.

Para evadir el sesgo de publicación, se incluyeron la totalidad de los artículos para su lectura con el fin de incluir la mejor evidencia disponible. Con el fin de disminuir el sesgo de investigador se incluyeron la totalidad de los estudios, con cualquier tipo de resultados relevantes para el tema.

6.9 Plan de análisis

El análisis de los datos consta de dos partes. Inicialmente se realizó la búsqueda de los artículos en las bases de datos ya descritas y los datos específicos de cada estudio, fueron transcritos por parte del autor, en un formato diseñado para tal fin; se incluyeron los datos de codificación, nombre del autor, año de publicación, revista, tipo de estudio, nivel de evidencia, resultado, observaciones y número de pacientes. Ver anexo 2

Posteriormente, estos artículos fueron clasificados de acuerdo a los diferentes biomarcadores de daño cerebral en hipoxia perinatal en neonatos a término, para su análisis y resumen. Se clasificaron en tablas de evidencia, siendo analizados según la clasificación de la evidencia de US Agency for Health care Research and Quality (Oxford). (Ver tabla 2)

Se hizo un análisis narrativo de los principales desenlaces relacionados con cada marcador por separado, teniendo en cuenta además la cantidad de pacientes que habían sido evaluados en los artículos.

Tabla 2. *Clasificación de las recomendaciones en función del nivel de evidencia disponible.*

Ia	La evidencia científica procede de meta análisis de ensayos clínicos controlados y con asignación aleatoria.
Ib	La evidencia científica procede de al menos un ensayo clínico controlado y con asignación aleatoria.
IIa	La evidencia científica procede de al menos un estudio prospectivo controlado, bien diseñado y sin asignación aleatoria.
IIb	La evidencia científica procede de al menos un estudio cuasi experimental, bien diseñado.
III	La evidencia científica procede de estudios descriptivos no experimentales, bien diseñados como estudios comparativos, de correlación o de casos y controles.
IV	La evidencia científica procede de documentos y opiniones de expertos y/o experiencias clínicas de autoridades de prestigio.

Tomado de: US Public Health Agency Oxford University, 1995

6.10 Extracción de los datos

Se escogieron todos los artículos que estuvieran relacionados con los biomarcadores de daño cerebral en hipoxia perinatal en neonatos a término.

- Diseño del estudio
- Nombre del artículo, revista de publicación y año
- Resultados principales (p, asociaciones, OR, datos estadísticos).
- Inclusión de los participantes

8. Consideraciones éticas

En la presente investigación no se llevará a cabo ninguna intervención, se realizará una recolección de información basada en registros de estudios publicados.

A lo largo de los años se ha reconocido que los estudios clínicos que permiten el descubrimiento de nuevas técnicas diagnósticas, tienen un impacto positivo e importante sobre la calidad de vida de la población, basados en los principios éticos: beneficencia, no maleficencia, justicia y respeto por las personas.

Según la resolución 008430 (1993) (25) y 002378 de 2008 del Ministerio de Protección Social de la República de Colombia, sin riesgo, riesgo mínimo o un riesgo mayor que el mínimo).

Categoría de este estudio: esta investigación se considera una investigación sin riesgo; no implica ningún tipo de riesgo para la población en estudio, debido a que no se realizará ningún tipo de intervención médica ni quirúrgica, y los datos se tomarán de bases de datos electrónicas y literatura gris; y por lo tanto contribuyeron al descubrimiento de la mejor evidencia en cuanto a los métodos que se puedan utilizar para el diagnóstico del daño cerebral en la hipoxia perinatal.

Se cuenta con la aprobación de la universidad desde el inicio del trabajo, por la naturaleza del estudio no se requiere la presentación ante comité de ética por no haber intervención alguna con pacientes o modificación de los datos en pro de la academia.

9. Aspectos administrativos

9.1 Cronograma

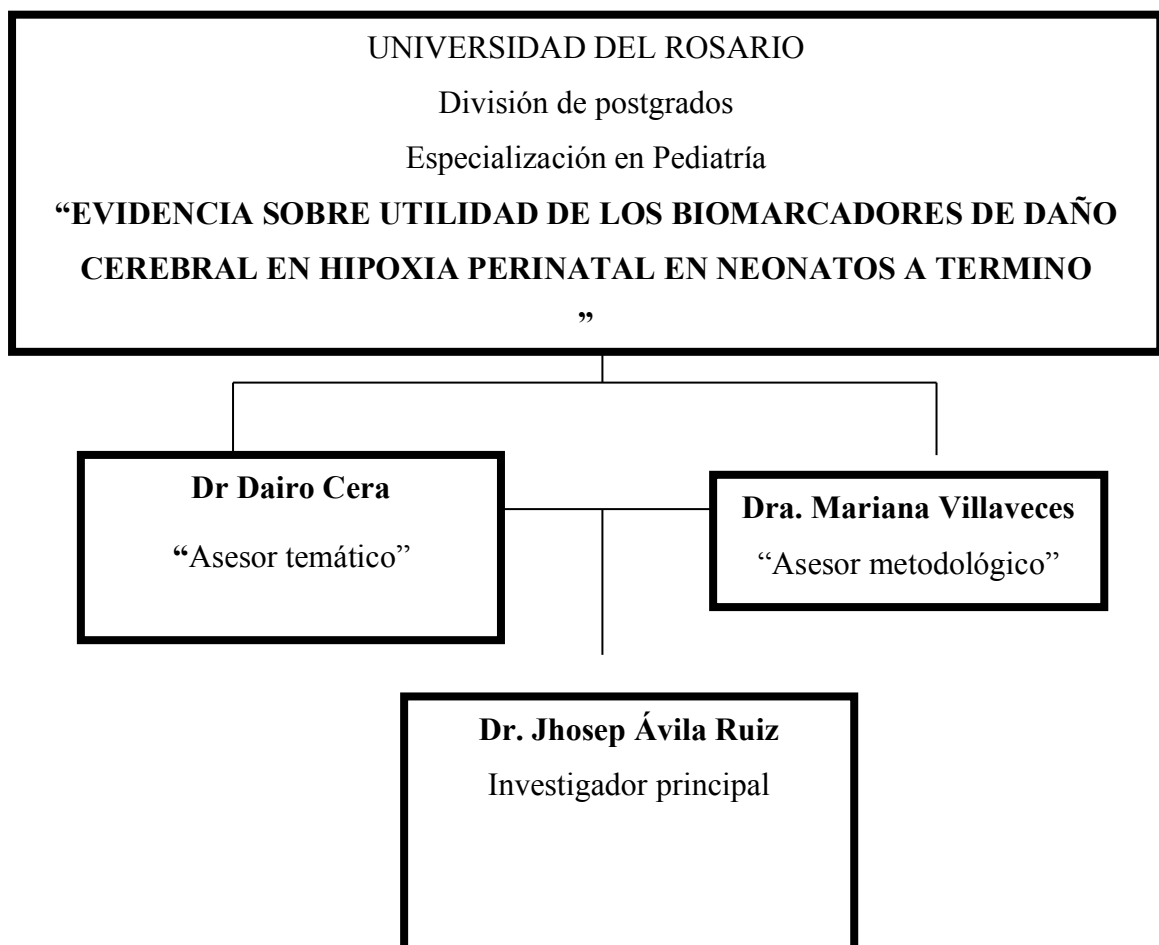
Tabla 2. Cronograma

ETAPAS Y ACTIVIDADES	AÑO 2018												AÑO 2019												AÑO 2020											
	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10								
Selección del tema y elaboración de la pregunta de la investigación	█	█	█	█																																
Elaboración de protocolo					█	█	█		█	█																										
Presentación y aprobación de protocolo UR									█																											
Búsqueda de artículos en bases de datos										█	█	█	█	█																						
Presentación de segundo avance UR															█																					
Clasificación de los artículos e																█	█	█																		

9.2 Recursos y presupuesto

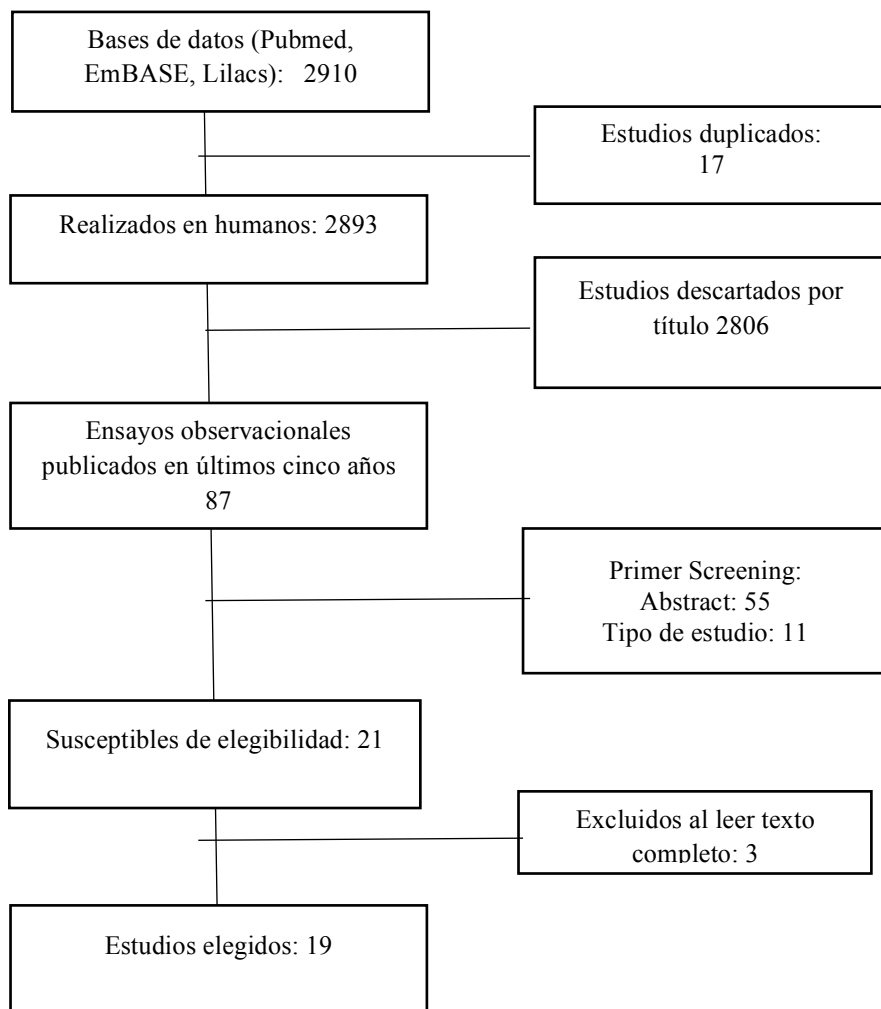
	GASTOS (pesos)
RECURSO HUMANO	
Investigadores	1.000.0000
Recolección de pacientes	0
RECURSOS TECNICOS	
Computadores portátiles y/o escritorio (1)	3.000.000
INSUMOS	
Papelería, fotocopias, lapiceros	250.000
Transporte a destino de trabajo	200.000
MATERIAL BIBLIOGRÁFICO	
Información en bases de datos	200.000
TOTAL	3.650.000

9.3 Organigrama



10. Resultados

Figura 3. Diagrama según declaración Prisma (colaboración Cochrane®)(26)



Para la identificación de los artículos escogidos se hizo la búsqueda en las principales bases de datos, con el fin de escoger los que cumplieran criterios para su escogencia.

Tabla 3. Resultados de la búsqueda en la literatura por bases de datos.

Base de datos	Encontrados	Seleccionados	Duplicados	Incluidos
Pubmed	1455	15	2	13
EMBASE	941	2	3	2
COCHRANE	18	0	2	0
Tripdatabase	470	3	10	2

LILACS	26	1	0	1
DARE	0	0	0	0

Fuente: Autor, 2020

La principal base de datos fue pubmed seguida de EMBASE y trip data medical base.

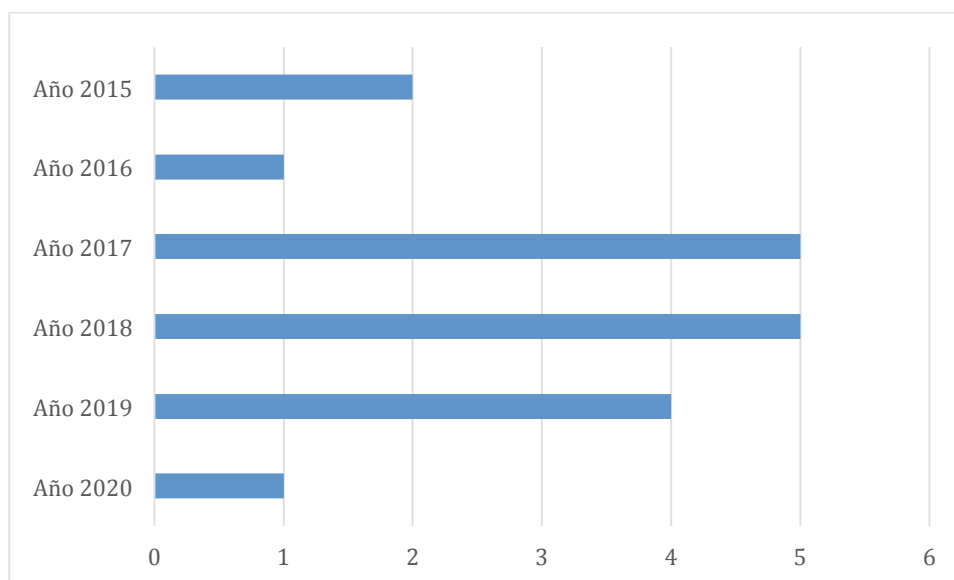
Tabla 5. Causas de exclusión por bases de datos

Causas de exclusión	n
Excluidos por duplicidad	17
Excluidos por pertinencia en título	2806
Excluidos por pertinencia en resumen	55
Excluidos por tipo de estudio	11
Por falta de pertinencia en tema	3

Fuente: Autor, 2020

La principal causa de exclusión de los artículos fue por título.

Figura 1. Año de publicación de los artículos



Los años en los que más se realizaron publicaciones sobre el tema fueron: 2017 y 2018 con cinco artículos, seguido de 2019 con cuatro artículos, dos artículos en 2015 y un artículo en 2016 y 2020. (Ver figura 1)

Todos los artículos escogidos fueron de tipo observacional analítico, entre los cuales 7 (%) fueron de tipo cohorte y 11 (%) de tipo casos y controles. ensayos clínicos, todos incluyeron neonatos a término con un total de 1240 pacientes evaluados en los 18 estudios. La evidencia que aportan los estudios es de tipo III por ser analíticos con adecuado rigor metodológico.

Para la evaluación de la calidad de los estudios, con respecto a la escala de Oxford, se clasificaron los estudios como evidencia III, por ser la mayoría observacionales analíticos de casos y controles y/o tipo cohorte de seguimiento. Ver anexo, libro Excel “estudios incluidos”.

Nota: Al ser la escala RoB Cochrane ® (de acceso público para su uso), una escala para control de sesgos específica para estudios de tipo experimentales, se tomaron tan solo algunas preguntas de esta escala, las que estuvieran relacionadas con estudios observacionales analíticos tipo cohorte y de casos y controles, para evaluar la calidad de los estudios, por no poder “contestar” preguntas que no aplicaran por la naturaleza de cada estudio.

SB100

Seis artículos (27–32), que evaluaron un total de 545 pacientes, encontró que la S100B es un marcador independiente y muy confiable para severidad, pronóstico y malos desenlaces en pacientes con encefalopatía hipóxica. En un estudio (31) mostró una sensibilidad 100% y especificidad 100% para “malos desenlaces”.

Un estudio evaluó los niveles en orina (29), demostrando que pacientes con asfixia perinatal presentaban niveles en orina más altos, y estableció que sirve para predecir mortalidad en los primeros días de vida, con una S 83% y especificidad de 70%, punto de corte 0.66 mgL. Otros cuatro evaluaron niveles séricos (27,28,30,32) demostrando que el aumento de niveles séricos es factor pronóstico para determinar severidad, y sirven como seguimiento y respuesta al manejo con hipotermia terapéutica. ($p < 0.05$). Incluso uno de estos estudios (30) demostró que los niveles elevados en pacientes con encefalopatía hipoxico isquémica sarnat II-III en el nacimiento, estuvieron asociados con la severidad y el riesgo de sufrir secuelas en neurodesarrollo y muerte $p= 0.056$; se relacionó con acidosis metabólica en cordón $p= 0.046$, alteración en el EEG $p= 0.03$, severidad de encefalopatía $p= 0.027$ y secuela a 6 años/muerte $p= 0.027$. Todos datos significativos. (n=34)

Otro estudio diferente evaluó los niveles en saliva (31) encontrando que los niveles de proteína S100B después del nacimiento son una herramienta útil para determinar neonatos asfixiados con riesgo de secuelas neurológicas, siendo más altos ($p < 0.001$) que en neonatos sanos con resultados

altamente significativos; también demostraron que puede ser usado como único marcador para malos desenlaces neurológicos y severidad de la alteración. Es la serie con mayor número de pacientes (n=292)

Se puede concluir que la proteína S100B, es un marcador confiable y significativo para evaluar pronóstico y seguimiento al manejo de pacientes con encefalopatía hipóxico isquémica.

Enolasa específica

Se encontraron un total de 3 artículos (32–34) , que evaluaron 114 pacientes.

Dos de ellos (33,34) (n=84) evaluaron la NSE en líquido cefalorraquídeo encontrando que los niveles de NSE fueron mayores en pacientes con isquemia cerebral, con resultados significativos. Ambos estudios demostraron que su elevación fue pronóstico de peores secuelas neurológicas y/o severidad de la isquemia.

El artículo que evaluó los niveles en suero (32), encontró niveles significativamente más elevados en neonatos con asfixia perinatal comparado con los controles ($p < 0.05$).

Por tanto, se demuestra la NSE se comporta como un marcador para daño cerebral, pronóstico y severidad.

FASL

Se encontró tan solo un artículo (35) (n=44 pacientes) relacionó la severidad de la encefalopatía con los niveles de Fas-ligando encontrando un resultado de área bajo la curva por encima de 0.90 y $p < 0.0001$. También demostraron que el nivel en cordón umbilical es más sensible que niveles séricos.

Por tanto, este marcador puede ser de gran utilidad en definir la severidad de forma temprana.

GFAP

Se encontraron un total de 3 artículos (17,36,37) , que evaluaron 233 pacientes.

En dos estudios (36,37) no se elevaron los niveles de GFAP en pacientes con asfixia, al compararlos con pacientes sanos, mientras que en otro estudio (17) si mostraron niveles superiores en pacientes con hipoxia, sin ser un marcador confiable para hipoxia neonatal ni su pronóstico.

pNF

Se encontró solo un artículo (36) relacionado con los niveles de pNF en 26 pacientes a término con hipoxia, y encontró que no hay aumento en los niveles de esta molécula, por tanto no sirve como marcador.

Proteína 181b miRNA

Un estudio con 131 pacientes (38) evaluó la presencia de proteína miRNA-181b para predecir la severidad de la encefalopatía hipóxico-isquémica, Hubo una regulación a la baja de miR-181b en neonatos con moderada a severa encefalopatía hipóxico isquémica en comparación a los otros grupos: 0.25 vs 0.61 $p=0.027$ con validación de 0.33 vs 1.2. El ratio de expresión de RNA a la proteína se disminuyó en neonatos con encefalopatía moderada a severa en ambas cohortes 0.23 vs 1.59 con validación de 0.41 vs 1.38. Lo que demuestra una alteración en la expresión en estos pacientes lo que tiene el potencial de ser una guía en el manejo de los pacientes

UCHLI

Se encontraron un total de 4 artículos (17,28,36,38), un total de 114 pacientes.

Tres artículos (17,36,38) no encontraron cambios en los niveles de UCH en pacientes con hipoxia vs pacientes sanos, incluso mostraron niveles menores al GFAP por lo cual concluyen que no sirve como marcador. Otro artículo (28) si mostró niveles superiores pero aclaran que no es específico para hipoxia neonatal.

La UCH no sirve como marcador para hipoxia neonatal.

Copeptina

Tan solo un artículo evaluó la copeptina (39) como marcador en 75 pacientes con hipoxia neonatal. Los niveles de copeptina (y NSE) fueron significativamente mayores en neonatos con pobre desenlace a corto plazo luego de encefalopatía hipóxico isquémica $R=0,28$ a 6hrs, $R=0.47$ a 12 hrs, $R=0.3$ a 24 hrs, $R=0.032$ a 48 hrs y $R= .3$ a 72 hrs). Los niveles de copeptina fueron menores en neonatos llevados a hipotermia.

Se considera un marcador confiable en la evaluación de la hipoxia perinatal tanto para el diagnóstico inicial como para seguimiento después de manejo con hipotermia terapéutica.

Interleucinas

En cuatro artículos (28, 35, 40–42) se evaluó el papel de las citoquinas, con un total de 163 pacientes.

En tres de ellos se evaluaron los niveles de interleucinas en suero (28,41,42), encontrando que IL-6, IL-8, IL-10, e IL-13 se asociaron a peor daño cerebral comparándolo con RNM; mientras que otro estudio evaluó IL-6 e IL16 encontrando que las de mayor confiabilidad para severidad o seguimiento fueron estas dos últimas (datos consistentes en los tres estudios que evaluaron niveles en suero).

En otro estudio (35) se evaluaron los niveles en IL-6 en el líquido cefalorraquídeo, de forma temprana, prediciendo así la severidad de la encefalopatía y los desenlaces a largo plazo en neonatos asfixiados mejor que los biomarcadores estándar; con resultados $p < 0.000$.

Lactosa deshidrogenasa y aspartato amino transferasa

Un artículo (43) evaluó 41 pacientes evidenciando que los valores de estas determinaciones enzimáticas contribuyen a describir desde el punto de vista bioquímico el cuadro del neonato con asfixia perinatal. Todos presentaron elevaciones a las 24 y 72 horas ($p: 0.0002$), sin variación entre 24 y 72 horas ($p: 0.8871$). Existe correlación entre los niveles de enolasa y LDH. (42)

TNF alfa

Tan solo un artículo (32) menciona el TNF alfa como marcador, en conjunto con otras citoquinas pro inflamatorias como indicadores tempranos de encefalopatía. Evaluó 30 pacientes encontrando los niveles séricos de citoquinas proinflamatorias, NSE y S100B estuvieron significativamente elevadas en neonatos con asfixia comparados con los controles ($p < 0.05$)

Puntos de corte

Con el fin de aportar la mayor información posible sobre los marcadores más representativos, se resume a continuación la información sobre los puntos de corte que permiten ofrecer una utilidad en el manejo y/o seguimiento de estos pacientes.

Uno de los estudios encontró valores al 5° día de vida que se relacionaba de forma significativa con cambios en resonancia magnética y por tanto, con el desenlace neurológico al año de vida (44) fueron los siguientes.

- Proteína s100B es de 0.41 pg/ml
- UCH UCH L1 de 0.23 pg/ml
- Tau 0.27 pg/ml
- NSE 45.4 pg/ml
- Il-1b 0.18 pg/ml
- IL-6 de 5.6 pg/ml

11. Discusión

La encefalopatía hipóxico isquémica es un problema de salud pública a nivel mundial dadas sus grandes implicaciones a corto plazo, en relación con la mortalidad infantil y a largo plazo, por las secuelas neurológicas y valor socioeconómico que implica la rehabilitación integral de estos individuos. Existen estrategias terapéuticas que buscan disminuir estos desenlaces, pero es vital identificar e implementar medidas que ayuden a identificar los individuos objeto de estas intervenciones y determinar de manera objetiva la severidad del daño instaurado, así establecer metas terapéuticas reales y éticas; en el momento contamos con medidas de medición que si bien ayudan a establecer el riesgo, son inespecíficas y no necesariamente se relacionan con el nivel de encefalopatía en el paciente. Es por lo anterior que establecer cuál es el mejor biomarcador, su nivel en fluidos corporales y su relación con los desenlaces, un tema que ha surgido con fuerza en los últimos años en la literatura médica como un elemento novedoso y de gran ayuda para vencer esta brecha clínica, ayudando a objetivizar esta relación clínica y a definir que pacientes son realmente candidatos a intervenciones clínicas que busquen yugular estos desenlaces, y por tanto mejorar la calidad de vida de estos individuos, pero también a disminuir la realización de intervenciones fútiles, es decir, tendrán un papel central en la definición y estaficación, guiando la conducta clínica (24).

Esta revisión sistemática de la literatura, evaluó la evidencia científica publicada de estos biomarcadores en los últimos 5 años, se decidió tomar este periodo de tiempo para tomar la evidencia reciente mas relevante y con mayor relevancia clínica, ya que datos previos pudieron haberse replanteado dada la nueva evidencia disponible en la literatura. Se evidenció que, si existe utilidad de biomarcadores siendo el principal publicado la proteína S100B, que es un marcador muy confiable para severidad, pronóstico y malos desenlaces en pacientes con encefalopatía hipóxico isquémica; se presentaron niveles más altos en estos pacientes, con punto de corte en orina mayor a 0.66 mg/dl (27) ayudan como predictor de mortalidad en los primeros días de vida. De igual manera los niveles séricos actúan como factor pronóstico de mortalidad y sirven para realizar el seguimiento a los pacientes que son llevados a hipotermia terapéutica. Sus niveles se encontraron elevados en pacientes con hipoxia clasificada como Sarnat II-III con mayor mortalidad, correlacionándose con acidosis metabólica en cordón y secuelas en neurodesarrollo. De igual forma, existen formas de medición menos invasivas de esta proteína que incluye la saliva, relacionándose como único marcador de desenlace neurológico y severidad (28).

La enolasa específica neuronal medida en líquido cefalorraquídeo tuvo resultados mayores en pacientes con isquemia cerebral y con asfixia perinatal, siendo de valor pronóstico con valores por encima de 0.45 ng/ml en cuanto a peores secuelas neurológicas, por lo que es un marcador de daño cerebral, pronóstico y severidad. El FAS ligando tomado en cordón umbilical, más que en su nivel sérico, se muestra como un marcador de gran utilidad para predecir de forma temprana la severidad de la encefalopatía establecida. Los niveles de coceptina fueron mayores en neonatos con peor pronóstico a corto plazo correlacionándose con los niveles de NSE, con niveles menores en aquellos que fueron llevados hipotermia, siendo un marcador confiable tanto para el diagnóstico de la encefalopatía como para el seguimiento luego de que se inicia la hipotermia terapéutica (33).

En cuanto al papel de las interleucinas, la IL6 y la IL 16 en suero, tuvieron la mayor evidencia en su relación con el daño cerebral, evidenciado en la resonancia magnética cerebral, siendo marcador confiable de severidad y seguimiento. El hallazgo elevado de la IL6 en líquido cefalorraquídeo de forma temprana, es predictor de severidad de la encefalopatía y desenlaces a largo plazo en los neonatos asfixiados, con mejor desempeño que otros marcadores estándar (42). Su punto de corte se considera de 5.6 pg/ml

Otros marcadores encontrados durante la revisión la proteína 181b miRNA presentó una regulación a la baja de su expresión en neonatos con encefalopatía moderada a severa en relación con los controles, con una disminución en el radio de expresión, lo que demuestra una alteración en la expresión en estos pacientes con potencial para ser una guía en el seguimiento, pero no es conclusivo si sirve como marcador (38). El lactato deshidrogenasa y aspartato amino transferasa ayudan a contribuir en la evaluación de la evolución bioquímica del neonato con asfixia, correlacionándose entre sí, pero no son de utilidad como biomarcador (43).

El factor de necrosis tumoral alfa no presentó resultados conclusivos como marcador aislado, los estudios lo evaluaron en conjunto con otras citoquinas proinflamatorias, NSE y proteína S100B estado elevadas en neonatos con asfixia (32).

En cuanto los marcadores que no demostraron tener evidencia y por tanto no sirven como biomarcadores en neonatos con asfixia perinatal encontramos la GFAP que no mostró variación en pacientes con asfixia en comparación con pacientes sanos (36) y en otro mostro niveles superiores (17), por lo que no es un marcador confiable para hipoxia o su pronóstico. La UCH L1 no mostró cambios en sus niveles en pacientes con hipoxia, inclusive mostro niveles menores por lo que se

concluyó que no sirve como marcador específico (28). Otro encontrado fue la proteína NF que no mostro elevación en sus niveles, por lo que tampoco sirve como marcador (36).

Estos resultados nos muestran, en especial con la proteína S100B y la enolasa específica neuronal, que si existen biomarcadores que pueden ser utilizados en la práctica clínica, teniendo en cuenta que ya tienen niveles validados en los diferentes estudios que se relacionan tanto con la extensión del daño, el seguimiento a la respuesta terapéutica, la mortalidad y el pronóstico neurológico del paciente, la sumatoria de estas mediciones seguramente aumentara el valor predictivo de estos análisis generando una medición objetiva que ayude a orientar el manejo médico que se hace a estos pacientes, seguir realizando estudios analíticos ayudaran a mejorar la evidencia y probablemente nuevas proteínas que sirvan para realizar este análisis objetivo de nuestros pacientes.

Desde un principio este estudio nos enfrentamos a un área novedosa de la medicina (24), probablemente extendiendo el tiempo en el cual se realizaron los estudios evaluados en esta revisión sistemática se podrán encontrar artículos que indiquen si hay mayor evidencia científica de estos biomarcadores, aún son muy pocos en un área con una gran cantidad de pacientes que a diario están expuestos a la noxa hipóxico isquémica a nivel mundial. Sin duda alguna este esfuerzo, ayudará a buscar la implementación de estas estrategias diagnosticas en nuestra práctica clínica diaria, que nos ayuden a desprendernos de las mediciones un poco inespecíficas que usamos actualmente y poder ofrecer una medición más novedosa, objetiva y relacionada tanto con el estado actual del paciente como de su pronóstico a corto y largo plazo.

Entre las limitaciones del presente estudio se encontraron algunas relacionadas con el tipo de estudio realizado, y la no disponibilidad de valores o puntos de corte estandarizados para todos los países; no hay mucha evidencia disponible sobre algunos marcadores como la proteína Glial, el TNF alfa, o LDH; y si bien se realizó una búsqueda exhaustiva en múltiples bases de datos, la sensibilidad de los términos podría modificar la búsqueda de la totalidad de los artículos encontrados.

Ahora, es nuestro papel como personal médico, empezar a implementar la medición rutinaria y realizar estudios de estas mediciones en nuestra población para evaluar tanto la utilidad como el impacto clínico extrapolado, que permitan ayudar a implementarla en nuestras guías de práctica clínica y que las autoridades sanitarias se den cuenta de la importancia y sirvan para que puedan ser realizadas de forma más generalizada.

Se considera que los biomarcadores de hipoxia perinatal son el futuro del abordaje diagnóstico y de seguimiento de los pacientes que están expuestos a hipoxia perinatal, nos ayudaran a definir que pacientes requerirán intervenciones terapéuticas como la hipotermia y en que pacientes estos procedimientos no generaran ningún beneficio clínico, ayudando a evaluar la respuesta terapéutica y de esta forma de alguna manera impactar en la economía de nuestro sistema de salud y orientar intervenciones asertivas.

Es importante realizar estudios de estos biomarcadores, en especial de proteína S100B, IL6 y enolasa específica neuronal, en población colombiana para poder validar los datos en nuestros pacientes y generar evidencia científica robusta que permita aplicarla de forma sistemática.

14. Conclusiones y recomendaciones

- La proteína S100B es un marcador muy confiable para severidad, pronóstico y malos desenlaces en pacientes con encefalopatía hipóxico isquémica; se presentaron niveles más altos en estos pacientes y ayuda como predictor de mortalidad en los primeros días de vida.
 - La enolasa específica neuronal es un marcador de daño cerebral, pronóstico y severidad.
 - La GFAP no es un marcador confiable para hipoxia perinatal o su pronóstico.
 - La UCH L1 no sirve como marcador específico de hipoxia perinatal.
 - No hay estudios en población colombiana sobre estos biomarcadores en la literatura reciente
-
- Se recomienda realizar estudios clínicos en especial en nuestra población que ayuden a mejorar la evidencia científica disponible y validar estos resultados en los recién nacidos a término con encefalopatía hipóxico isquémica
 - Se recomienda realizar un estudio en población colombiana teniendo en cuenta la proteína S100B con punto de corte para predicción de mal pronóstico 0.66 mg/ml
 - Se recomienda realizar estudios con enolasa específica neuronal en población colombiana
 - Se recomienda realizar estudios en población colombiana que evalúen la evolución del nivel de citoquinas como la IL-1 y la IL-6, en plasma luego del nacimiento para evaluar su correlación con hallazgos de encefalopatía hipóxico isquémica

15. Bibliografía

1. Kurinczuk JJ, White-Koning M BN. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev* Jun. 2010;86(6):329–38.
2. Prevention CC for DC and. CDC Grand Rounds: public health approaches to reducing U.S. infant mortality. *MMWR MorbMortal Wkly Rep*. 2013;62(31):628–28.
3. V. Alvarez; S. Guzmán CM. Análisis de Situación de Salud (ASIS) Colombia, 2016. *Dir Epidemiol y Demogr Minist Salud y Protección Soc.* :1–163.
4. Ahearne CE. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: An update. *World J Clin Pediatr*. 2016;5(1):67.
5. Al. RV et. Systematic Review of Biomarkers of Brain Injury in Term Neonatal Encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2009;40:215–26.
6. Salud. OOM de la. Estadísticas Sanitarias Mundiales 2013: Una Mina de Información sobre Salud Publica. 2013;
7. Social EM protección. Analisis de la situación de salud Colombia ASIS. *Minist Protección Soc.* 2015;
8. Mir I CL. Serum Biomarkers to evaluate the integrity of the neurovascular unit. *Early Hum Dev*. 2009;90(10):707–11.
9. Jacon J. KM et al. Etiologies of NICY deaths. *Pediatrics*. 2015;135(1):776–8.
10. Sarnat HB SM. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol*. 1976;33:696–705.
11. Ennen CS, Huisman TA, Savage WJ, Northington FJ, Jennings JM, Everett AD et al. Glial fibrillary acidic protein as a biomarker for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy treated with whole-body cooling. *Am J Obs Gynecol*. 2011;205(3):251–7.
12. Barkovich AJ, Miller SP, Bartha A et al. MR imaging, MR spectroscopy, and diffusion tensor imaging of sequential studies in neonates with encephalopathy. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27:533-47.
13. Ramaswamy V, Horton J, Vandermeer B, Buscemi N, Miller S YJ. Systematic review of biomarkers of brain injury in term neonatal encephalopathy. *Pediatr Neurol Mar*. 2009;40(3):215–26.
14. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA et al. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med*. 2005;353:1574–84.
15. Savman K, Blennow M, Gustafson K, Tarkowski E HH. Cytokine response in cerebrospinal

- fluid after birth asphyxia. *Pedia Res Jun.* 1998;43(6):746–51.
16. Imran N CL. Serum Biomarkers to evaluate the integrity of the neurovascular unit. *Ear Hum Devel.* 2014;90(10):707–11.
 17. Mir IN, Steven Brown L, Rosenfeld CR CL. Placental clearance/synthesis of neurobiomarkers GFAP and UCH-L1 in healthy term neonates and those with moderate-severe neonatal encephalopathy. *Pediatr Res.* 2019;
 18. Douglas-Escobar M, Yang C, Bennett J, Shuster J, Theriaque D, Leibovici A et al. A pilot study of novel biomarkers in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr Res Dec.* 2010;68(6):531–6.
 19. Celtik C, Acunas B, Oner N PO. Neuron-specific enolase as a marker of the severity and outcome of hypoxic ischemic encephalopathy. *Brain Dev.* 2004;26(6):398–402.
 20. Thornberg E, Thiringer K, Hagberg H KI. Neuron specific enolase in asphyxiated newborns: association with encephalopathy and cerebral function monitor trace. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 1995;72:39–42.
 21. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Bruschetti M, Kornacka M, Lituania M et al. Urinary S100B protein measurements: A tool for the early identification of hypoxic-ischemic encephalopathy in asphyxiated full-term infants. *Crit Care Med Jan.* 2004;32(1):131–6.
 22. Risso FM, Serpero LD, Zimmermann LJ, GavilanesAW, Frulio R, Michetti F et al. Urine S100 BB and A1B dimers are valuable predictors of adverse outcome in full-term asphyxiated infants. *Acta Paediatr.* 2013;102(10):e467-72.
 23. Hu J, Ferreira A VEL. S100b induces neuronal death through nitric oxide release from astrocytes. *J Neurochem.* 1997;69:2294–301.
 24. Murray DM. Biomarkers in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy-Review of the literature to date and future directions for research. *hand clin neurol.* 2019;162:281–93.
 25. Sistema General de Seguridad Social en Salud M de S y de la PS. Republica de Colombia. Resolucion 8430 de 1993. Republica Ministerio de Salud. 1993. p. 1–19.
 26. Welch V, Petticrew M, Tugwell P, Moher D, Neill JO, Waters E, et al. Extensión PRISMA-Equidad 2012 : guías para la escritura y la publicación de revisiones sistemáticas enfocadas en la equidad en salud *. *Rev Panam Salud Pública.* 2013;34(4):60–8.
 27. Bersani I, Ferrari F, Lugli L, Ivani G, Conio A, Moataza B, Aboulgar H, Mufeed H, Iskander I, Kornacka M, Gruzfeld D, Dotta A, Savarese I CN et al. Monitoring the effectiveness of hypothermia in perinatal asphyxia infants by urinary S100B levels. *Clin Chem Lab Med.* 2019;
 28. Massaro AN1, Wu YW, Bammler TK, Comstock B, Mathur A, McKinsty RC, Chang T,

- Mayock DE MS et al. Plasma Biomarkers of Brain Injury in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *J Pediatr*. 2018;
29. Alshweki A, Pérez-Muñuzuri A, López-Suárez O, Baña A CM. Relevance of urinary S100B protein levels as a short-term prognostic biomarker in asphyxiated infants treated with hypothermia. *Med*. 2017;
 30. Zaigham M, Lundberg F OP. Protein S100B in umbilical cord blood as a potential biomarker of hypoxic-ischemic encephalopathy in asphyxiated newborns. *Early Hum Dev*. 2017;
 31. Gazzolo D, Pluchinotta F, Bashir M, Aboulgar H, Said HM, Iman I, Ivani G, Conio A, Tina LG NF. Neurological abnormalities in full-term asphyxiated newborns and salivary S100B testing: the “Cooperative Multitask against Brain Injury of Neonates” (CoMBINE) international study. *PLoS One*. 2015;
 32. Chaparro-Huerta V, Flores-Soto ME, Merin Sigala ME, Barrera de León JC, Lemus-Varela ML, Torres-Mendoza BM B-ZC. Proinflammatory Cytokines, Enolase and S-100 as Early Biochemical Indicators of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Following Perinatal Asphyxia in Newborns. *Pediatr Neonatol*. 2017;
 33. Arca G, Arnaez J , Agut T, Núñez C, Stephan-Otto C, Valls A G-AA. Neuron-specific enolase is correlated with lesion topology, relative infarct volume and outcome of symptomatic NAIS. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2020;
 34. JuanArnaezPhD CME-P ;Thais A. Neuron-Specific Enolase in Cerebrospinal Fluid Predicts Brain Injury After Sudden Unexpected Postnatal Collapse. *Pediatr Neurol*. 2019;
 35. Leifsdottir K1, 2, Mehmet H3, 4, Eksborg S1 HE. Fas-ligand and interleukin-6 in the cerebrospinal fluid are early predictors of hypoxic-ischemic encephalopathy and long-term outcomes after birth asphyxia in term infants. *J Neuroinflammation*. 2018;
 36. Patil UP, Mally PV WE. Serum biomarkers of neuronal injury in newborns evaluated for selective head cooling: a comparative pilot study. *J Perinat Med*. 2018;
 37. Ann-Marie Looney, Caroline Ahearne, Geraldine B. Boylan and DMM. Glial Fibrillary Acidic Protein Is Not an Early Marker of Injury in Perinatal Asphyxia and Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Front Neurol*. 2015;
 38. Looney AM, O’Sullivan MP, Ahearne CE, Finder M, Felderhoff-Mueser , Boylan GB, Hallberg B MD. Altered Expression of Umbilical Cord Blood Levels of miR-181b and Its Downstream Target mUCH-L1 in Infants with Moderate and Severe Neonatal Hypoxic-Ischaemic Encephalopathy. *Mol Neurobiol*.
 39. Kelen D, Andorka C, Szabó M1, Alafuzoff A Kaila K SM. Serum copeptin and neuron specific enolase are markers of neonatal distress and long-term neurodevelopmental

outcome. PLoS One.

40. CE A. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: An update. *World J Clin Pediatr.* 2016;5(1):67.
41. Ahearne CE, Chang RY, Walsh BH, Boylan GB MD. Cord Blood IL-16 Is Associated with 3-Year Neurodevelopmental Outcomes in Perinatal Asphyxia. *Dev Neurosci.* 2017;
42. Orrock JE, Panchapakesan K, Vezina G, Chang T, Harris K, Wang Y, Knobloch S MA. Association of brain injury and neonatal cytokine response during therapeutic hypothermia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* 2016;
43. González-Losada, Cristóbal; Dorta-Contreras AJ. Marcadores moleculares de la asfixia perinatal / Molecular markers of perinatal asphyxia. *Rev Cuba pediatr.* 2018;
40. Chalak Lina. Inflammatory Biomarkers Of Bith Asphyxia. *Clin Perinatol.* 2016; 43:501-510
41. Murray Dm. Biomarkers in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy-Review of the literature to date and future directions for research. *Handb Clin Neurol.* 2019;162:281-293.
42. González-Losada, Cristóbal; Dorta-Contreras, Alberto Juan. Marcadores moleculares de la asfixia perinatal / Molecular markers of perinatal asphyxia. *Rev. cuba. Pediatr.* 2018;90 (1)
43. Fisher P. In search of biomarkers for HIE. *J. Pediatr.* 2018: 194 (3).
44. Massaro A, Wu Y, Bammler T, Comstock B. Plasma Biomarkers Of Brain Injury in Neonatal Hypoc –Ischemic Encephalopaty. *J. Pediatric*;2018: 194 (68)