
TEZĂ DE DOCTORAT

Rolul biomarkerilor în evaluarea pacienților cu traumatisme cranio-cerebrale

Doctorand: **Dana Florina Slăvoacă**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Fior Dafin Mureșanu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Traumatismele cranio-cerebrale: date generale	5
1.1. Traumatismele cranio-cerebrale – definiție, epidemiologie și clasificare	5
1.1.1. Definiție	5
1.1.2. Epidemiologie	5
1.1.3. Clasificare	5
1.2. Mecanisme patofiziologice ale traumatismelor cranio-cerebrale	6
1.2.1. Excitotoxicitatea și stresul oxidativ	7
1.2.2. Neuroinflamația și alterarea reacțiilor neuro-imune	8
1.2.3. Afectarea sinaptică și alterarea unității neuro-vasculare	8
1.2.4. Alterarea neuro-hormonală	9
1.3. Complicații pe termen mediu și lung al traumatismelor cranio-cerebrale	10
1.3.1. Disfuncția cognitivă	10
1.3.2. Patologia psihiatrică	11
1.3.3. Disfuncții neuro-oftalmologice	11
1.3.4. Dizabilitatea fizică	11
1.3.5. Epilepsia	11
1.3.6. Tulburările de somn	12
1.3.7. Patologia endocrină	12
1.3.8. Durerea cronică	12
1.3.9. Disfuncția sexuală	12
1.3.10. Incontinența urinară	12
2. Factorii de prognostic ai traumatismelor cranio-cerebrale	13
2.1. Factorii de prognostic individuali	13
2.1.1. GCS	13
2.1.2. Lipsa stării de conștiență	14
2.1.3. GOS și GOSE	14
2.1.4. Evaluarea imagistică	15
2.1.5. Biomarkeri din biofluide	16
2.1.6. Biomarkeri neurofiziologici	16
2.2. Modele prognostice	17
3. Biomarkeri din biofluide ca factori de prognostic in traumatismele cranio-cerebrale	19
3.1. Biomarkeri ca metodă de evaluare și de screening	19
3.2. Biomakeri ca factori de prognostic ai evoluției	21
3.3. Alte metode de abordare a biomarkerilor: biomarkeri noi, combinații între diferiți biomarkeri, sau combinarea între biomarkeri și alți factori de prognostic	23

3.3.1. Biomarkeri compoziți	23
3.3.2. Raporturi de biomarkeri	23
3.3.2. Combinația dintre biomarkeri și scale/semne clinice	24
3.3.3. Combinația dintre biomarkeri și fenotipul genetic	24
3.3.4. Analiza proteomică, metabolomică și de microARN	24
3.4. Biomarkeri ca factori de prognostic ai disfuncției cognitive	25
3.5. Biomarkeri-concluzii	25
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	29
2. Metodologie generală	30
3. Studiul 1 – Biomarkeri serici ca factori de prognostic ai traumatismelor cranio-cerebrale	48
3.1. Introducere	48
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	49
3.3. Material și metodă	50
3.4. Rezultate	53
3.5. Discuții	61
3.6. Concluzii	63
4. Studiul 2 – Analiza unui model prognostic multifactorial și statusul neuro-cognitiv la pacienții cu traumatism cranio-cerebral	64
4.1. Introducere	64
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	66
4.3. Material și metodă	67
4.4. Rezultate	72
4.5. Discuții	84
4.6. Concluzii	86
5. Studiul 3 – Rolul parametrilor analizei eye-tracking ca biomarkeri neurofiziologici ai severității traumatismelor cranio-cerebrale	87
5.1. Introducere	87
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	87
5.3. Material și metodă	88
5.4. Rezultate	93
5.5. Discuții	99
5.6. Concluzii	101
6. Discuții generale	102
7. Concluzii generale	106
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	108
REFERINȚE	110
ANEXE	125

Cuvinte cheie: traumatisme cranio-cerebrale, status neurocognitiv, biomarkeri serici, modele prognostice, eye-tracking

Introducere

Leziunile cerebrale primare, induse direct de impactul traumatic, determină la rândul lor, leziuni secundare caracterizate printr-o cascadă moleculară multi-dimensională. Aceasta implică procese precum neuroinflamație, excitotoxicitate, stres oxidativ, alterarea unității neuro-vasculare și a sinapsei multipartite în general, dezechilibre ale reacțiilor neuro-imune și neuro-hormonale. Rezultatul este dezechilibrarea relației dinamice între activitatea de apărare endogenă (neuroprotecție, neuroplasticitate, neurotroficitate și neurogeneză) și mecanismele lezionale, relație care în condiții fiziologice menține echilibrul între mecanismele moleculare care susțin supraviețuirea celulară și mecanismele moleculare care declanșează apoptoza.

Datorită complexității proceselor fiziopatologice și a heterogenității fenotipice ce caracterizează TCC, evaluarea prognosticului reprezintă o adevărată provocare, iar unica modalitate de a realiza acest lucru este printr-o abordare multidimensională. Evaluarea prognosticului este necesară pentru stabilirea unei strategii terapeutice adecvate, pentru optimizarea procesului de neuroreabilitare și pentru a comunica cu rudele pacienților. De asemenea, prognosticul este important în studiile clinice, deoarece prin utilizarea unor factori de risc care să ajute la stratificarea pacienților, se poate crește puterea statistică în cadrul analizei efectului terapeutic.

Metodologie generală

Scopul acestei lucrări de doctorat a fost analiza unei game variate de biomarkeri ai traumatismelor cranio-cerebrale (TCC) din punct de vedere al prognosticului neuro-cognitiv și emoțional. Au fost analizați biomarkeri serici, clinici, imagistici, neuro-fiziologici și genetici,

separat sau în formă compozită. Toate aceste date au fost înregistrate la prezentare/internare, iar prima recoltare a biomarkerilor serici a fost realizată în primele patru ore de la traumatism. Statusul neurocognitiv a fost evaluat la zece și nouăzeci de zile printr-un ansamblu de scale neuropsihologice – Early Rehabilitation Barthel Index (ERBI), Glasgow Outcome Scale-Extended (GOSE), Mini-Mental State (MMSE), Stroop Color-Word Test (STROOP), Processing Speed Index-Wechsler Adult Intelligence Scale (PSI). Statusul emoțional a fost evaluat doar la nouăzeci de zile prin scala Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

Analiza statistică a fost realizată diferit în funcție de obiectivele fiecărui studiu în parte. În total au folosite 4 tipuri principale de analiză: modelarea prin ecuații structural (SEM), regresia liniară multiplă ierarhică, regresia liniară simplă și testul non-parametric Mann-Whitney U.

Studiul I

În primul studiu al acestei lucrări de doctorat au fost testați biomarkerii serici ca factori de prognostic ai statusului neurocognitiv și emoțional. Au fost analizați doi biomarkeri frecvent utilizați în practica clinică – S100 și enolaza neuron-specifică (NSE). Datorită dinamicii temporale a concentrațiilor serice, am realizat o testare în două momente diferite în timp – la patru ore și la șaptezeci și două de ore. Statusul neurocognitiv a fost analizat ca un ansamblu unitar, iar cel emoțional separat. În conformitate cu datele din literatură, s-a observat că evoluția neuropsihologică a pacienților a urmat un trend crescător, cu rezultate net superioare la 90 de zile față de 10 zile pe scalele neurocognitive. Biomarkerii NSE și S100 au prezentat un trend descrescător, cu valori semnificativ mai scăzute la 72h față de 4h. Spre deosebire de NSE care și-a normalizat valorile la 72h, biomarkerul S100 a continuat să prezintă valori crescute. Aceste date au oferit informații asupra dinamicii serice a celor doi biomarkeri, sugerând o fereastră mai îngustă pentru NSE. În raport cu statusul neurocognitiv, am găsit o relație semnificativă din punct de vedere statistic între NSE la 4h și evoluția pacienților atât la 10 cât și la 90 de zile. De asemenea, am găsit o relație semnificativă între NSE 4h și scorul de anxietate la 90 de zile.

Studiul II

Scopul celui de-al doilea studiu a fost analiza unui model prognostic constituit din mai mulți biomarkeri (model prognostic multivariat) în raport cu evoluția neurocognitivă. În acest studiu am aplicat o metodologie complexă, împărțindu-l în mai multe etape. Într-o primă etapă am analizat

modelul prognostic Baseline Prognostic Risk Factor (BPRS) care constă într-o asociere de factori demografici, clinici și imagistici. Acesta a dovedit o capacitate predictivă semnificativă statistic față de statusul neurocognitiv pe termen scurt și mediu. În etapa a doua am urmărit să aflăm dacă prin extinderea acestui model prognostic se poate crește suplimentar valoarea sa predictivă. Am adăugat treptat încă trei tipuri de biomarkeri - evoluția în dinamică a scorurilor Glasgow Coma Scale (Δ GCS), evaluate în primele 4h și la 72h, NSE evaluat la 4h și polimorfismul genetic APOE ϵ 4. Acest tip de analiză a fost realizat pe fiecare scală neurocognitivă în parte. Atât Δ GCS cât și NSE4h au dovedit o creștere a puterii prognostice a BPRS în relație cu scalele GOS-E și ERBI. Nu s-a observat un efect semnificativ pe scalele cognitive. Nu s-a constatat nici un efect al polimorfismului genetic APOE ϵ 4 la nici una dintre vizite – 10 și 90 de zile.

Studiul III

În cel de-al treilea studiu am analizat parametrii dinamicii oculomotorii evaluați prin tehnica de Eye-Tracking (ET) la 10 zile de la traumatism. Pacienții au fost examinați prin două teste, primul pentru analiza sacadelor reflexive și al doilea pentru analiza antisacadelor. Parametrii analizați în cazul sacadelor au fost: durata, latența, amplitudinea, viteza medie, viteza maximă și raportul dintre amplitudinea mișcării oculare și cea a stimulului prezentat. Parametrii analizați în cazul antisacadelor au fost: latența antisacadelor corecte, numărul procentual de antisacade corecte, latența sacadelor corective și numărul procentual de antisacade corective. Comparativ cu un grup control format din subiecți fără patologie medicală cunoscută, s-au obținut valori modificate doar în cazul numărului procentual de antisacade corecte. La corelația cu valorile modelului BPRS (scorul de prognostic nefavorabil) s-au obținut modificări tot în cazul antisacadelor și anume: numărul procentual de antisacade corecte, latența sacadelor corective și numărul procentual de antisacade corective.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Prin studiile analizate am dorit să introducem o metodă inovativă de abordare a evaluării pacienților cu TCC, care să ofere o viziune de ansamblu asupra severității și a riscului de apariție a complicațiilor cronice.

Am evaluat pacienții în dinamică, atât în stadiul acut, cât și ulterior, pentru monitorizarea evoluției. Biomarkerii serici au fost testați, atât în primele 4h, cât și la 72h de la traumatism. GCS a fost evaluată de asemenea, în primele 4h și la 24h, iar evaluarea neurocognitivă a fost realizată la 10 și 90 de zile.

Evaluarea, atât cea a biomarkerilor, cât și cea a statusului neuropsihologic, a fost multidimensională. După cum am menționat anterior, am analizat o mare diversitate de biomarkeri: clinici, imagistici, serici, neurofiziologici și genetici. Evoluția a fost testată prin scale clinice care să reflecte atât statusul neurologic general (GOS-E, ERBI) cât și scale specializate pe domenii cognitive și emoționale precum funcția executivă, memoria de lucru, viteza de procesare, inhibiția răspunsului, capacitatea de percepție, atenția selectivă și susținută, anxietatea și depresia (MMSE, PSI-SS, PSI-SC, Stroop Word, Stroop Dots, Stroop Colors, HADS).

Pentru prima dată raportată în literatură, a fost evidențiată legătura dintre anumiți factori prognostici, precum NSE sau Δ GCS (4, 24h) și evoluția neuropsihologică.

Este pentru prima dată când un model prognostic, precum BPRS, validat anterior intern și extern, în relație cu mortalitatea și prognosticul nefavorabil evaluat prin GOS-E, a fost analizat ca predictor al evoluției cognitive.

Alte aspecte inovative ce trebuie menționate sunt includerea polimorfismului genetic în analiza extinderii unui model prognostic și testarea relației dintre BPRS (scorul de prognostic nefavorabil) și parametrii ET ca biomarkeri neurofiziologici.

Pentru a putea pune în evidență complexitatea relațiilor dintre acești factori de prognostic și evoluția neuropsihologică, au fost folosite 4 metode principale de analiza statistică.

Am folosit modelarea matematică de tip SEM pentru a capta întregul status neurocognitiv. Este pentru prima dată când această metodă a fost folosită pentru analiza biomarkerilor individuali (NSE, S100, Δ GCS) sau a celor compoziți (BPRS) în raport cu evoluția pacienților.

Pentru a evidenția potențialele efecte de valoare adăugată asupra capacității prognostice a BPRS a celorlalte factori de prognostic analizați, a fost utilizată metoda de regresie ierarhică.

Pentru analiza dintre biomarkerii serici și statusul emoțional, ca și dintre parametrii ET și BPRS s-a folosit metoda de regresie simplă. Iar pentru analiza comparativă a parametrilor ET între grupul TBI și grupul control a fost utilizat testul non-parametric Mann-Whitney U.

Scopul final al acestei lucrări de doctorat a fost acela de a crea o legătură suplimentară între medicina bazată pe dovezi și medicina personalizată. Prin studiile efectuate s-a creat posibilitatea selectării pacienților expuși riscului apariției disfuncției cognitive. În acest fel, această categorie de pacienți ar putea beneficia de o abordare personalizată a strategiei terapeutice încă din faza acută/subacută. Biomarkerii analizați sunt accesibili financiar și ușor de utilizat în practica clinică. Modelul prognostic BPRS este de asemenea, ușor de calculat pe baza datelor obținute la internare. Metoda ET oferă un plus de valoare prognostică, printr-o abordare neurofiziologică de obiectivare a integrității circuitelor cerebrale implicate în oculomotricitate. Aceasta analiza este non-invazivă, non-iradiantă și mult mai ieftină decât imagistică prin rezonanța magnetică.

Totodată, rezultatele acestor studii oferă informații valoroase cu privire la posibilitatea stratificării pacienților și astfel, pot ajuta la organizarea metodologică a următoarelor studii de cercetare pe pacienții cu TBI, farmacologice sau non-farmacologice.

The Role of Biomarkers in the Assessment of Patients with Traumatic Brain Injury.

PhD student: **Dana Florina Slăvoacă**

PhD coordinator: **Prof. Dr. Fior Dafin Mureșanu**



Iuliu Hațieganu University
of Medicine and
Pharmacy

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	1
CURRENT STAGE OF KNOWLEDGE	
1. Traumatic brain injuries: general information	5
1.1. Traumatic brain injuries – definition, epidemiology and classification	5
1.1.1. Definition	5
1.1.2. Epidemiology	5
1.1.3. Classification	5
1.2. Physiopathological mechanisms of traumatic brain injuries	6
1.2.1. Excitotoxicity and oxidative stress	7
1.2.2. Neuroinflammation and the alteration of neuro-immune reactions	8
1.2.3. Synaptic and neurovascular unit dysfunction	8
1.2.4. Neuro-endocrine disbalances	9
1.3. Medium and long-term complications of traumatic brain injuries	10
1.3.1. Cognitive dysfunction	10
1.3.2. Psychiatric pathology	11
1.3.3. Neuro-ophthalmological dysfunctions	11
1.3.4. Physical impairment	11
1.3.5. Epilepsy	11
1.3.6. Sleep problems	12
1.3.7. Endocrine pathology	12
1.3.8. Chronic pain	12
1.3.9. Sexual dysfunction	12
1.3.10. Urinary incontinence	12
2. Prognostic factors of traumatic brain injury	13
2.1. Individual prognostic factors	13
2.1.1. GCS	13
2.1.2. Loss of consciousness	14
2.1.3. GOS and GOSE	14
2.1.4. Imaging assessment	15
2.1.5. Biofluid biomarkers	16
2.1.6. Neurophysiological biomarkers	16
2.2. Prognostic models	17
3. Biofluid biomarkers as prognostic factors in traumatic brain injury	19
3.1. Biomarkers as assessment and screening tool	19
3.2. Biomarkers as outcome prognostic factors	21
3.3. New approaches regarding novel biomarkers the combination of different biomarkers and comparison of biomarkers with other prognostic factors	23
3.3.1. Composite biomarkers	23

3.3.2. Biomarkers ratio	23
3.3.2. Combination between biomarkers and clinical scales	24
3.3.3. Combination between biomarkers and genetical phenotype	24
3.3.4. Proteomic, metabolomic and microARN analysis	24
3.4. Biomarkers as prognostic factors of cognitive dysfunctions	25
3.5. Biomarkers - conclusions	25

PERSONAL CONTRIBUTION

1. Hypotheses/Objectives	29
2. General methodology	30
3. Study 1 – Serical biomarkers as prognostic factors of traumatic brain injury	48
3.1. Introduction	48
3.2. Hypotheses/Objectives	49
3.3. Material and methods	50
3.4. Results	53
3.5. Discussions	61
3.6. Conclusions	63
4. Study 2 – The analyses of a multifactorial prognostic model and neuro-cognitive status in patients with traumatic brain injury	64
4.1. Introduction	64
4.2. Hypotheses/ Objectives	66
4.3. Material and methods	67
4.4. Results	72
4.5. Discussions	84
4.6. Conclusions	86
5. Study 3 – The role of eye-tracking parameters as neurophysiological biomarkers of the severity of traumatic brain injury	87
5.1. Introduction	87
5.2. Hypothesis/Objectives	87
5.3. Material and methods	88
5.4. Results	93
5.5. Discussions	99
5.6. Conclusions	101
6. General discussions	102
7. General conclusion	106
8. Originality and the innovative contributions of the PhD thesis	108
References	110
ANNEXES	125

Keywords: traumatic brain injury, neurocognitive status, seric biomarkers, prognostic models, eye-tracking

Introduction

The primary lesions induced by the traumatic impact generate secondary lesions, which are characterized by a multidimensional molecular cascade. This cascade implies mechanisms such as neuroinflammation, excitotoxicity, oxidative stress, alteration of the neuro-vascular unit and multipartite synapse, imbalance of neuro-immune and neuro-endocrine reactions. The result is the imbalance of the dynamic relationship between the endogenous defence activity (neuroprotection, neuroplasticity, neurotrophicity and neurogenesis) and the lesional mechanisms. Under physiological circumstances, this relationship balances molecular mechanisms that support cell survival and those that trigger cellular death mechanisms.

Because of the complexity of the pathophysiological mechanisms and the phenotypic heterogeneity characterizing TBI, the prognosis's evaluation represents a real challenge. The only way to achieve this is by a multidimensional approach. The prognosis evaluation is useful for establishing a therapeutical strategy, optimizing the process of neurorehabilitation, and communicating with patients and their relatives. Also, the prognosis is essential in clinical studies for patients stratification, which can help increase the statistical power of the therapeutical effect analyses.

General methodology

This PhD thesis's objective was to analyze a wide range of biomarkers that can be used as prognostic factors for cognitive dysfunction in TBI. There were analyzed seric, clinical, imagistic, neurophysiological, and genetic biomarkers as an individual or a composite prognostic factor. All the data were recorded at admission, and the first analyses of seric biomarkers were done in the first 4h post-TBI. The neurocognitive status was assessed at 10 and 90 days, by an ensemble of neuropsychological tests - Early Rehabilitation Barthel Index (ERBI), Glasgow Outcome Scale-Extended (GOSE), Mini-Mental State (MMSE), Stroop Color-Word Test (STROOP), Processing

Speed Index-Wechsler Adult Intelligence Scale (PSI). The emotional status was assessed at 90 days by the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS).

The statistical analyses were achieved by different methods, depending on the specific objectives of the studies. There were four main types of analyses: structural equation modelling (SEM), multiple hierarchical linear regression, simple linear regression and the non-parametric Mann-Whitney U test.

Study I

In the first study, there were tested seric biomarkers as prognostic factors of neurocognitive and emotional status. There were analyzed 2 frequently used biomarkers in clinical practice – S100 and neuron-specific enolase (NSE). Due to the temporal dynamics of the seric concentrations, we tested them in two different moments– at 4 and 72h. The neurocognitive status was analyzed as a unitary ensemble and the emotional one, separately. Similar to the results of other published studies, the patients' neuro-psychological evolution followed an ascending course, with better results at 90 days compared with 10 days. NSE and S100 biomarkers presented a descendent evolution, with significantly lower values at 72h in comparison with 4h. Unlike the NSE biomarker, which normalized its value, NSE continued to have increased values. These data give information about the seric dynamics of these two biomarkers, suggesting a more narrow window for NSE analyses. Related to the neurocognitive status, we found a significant statistical relationship between NSE at 4h and the patients' evolution at both 10 and 90days. Also, we found a significant relationship between NSE at 4h and the anxiety levels at 90 days.

Study II

The second study's objective was to analyze a prognostic model composed of several biomarkers (multivariate prognostic model) concerning neurocognitive evolution. In this study, we used a complex methodology, splitting it into several steps. In the first step, we analyzed the prognostic model Baseline Prognostic Risk Factor (BPRS), which encompasses several demographic, clinical and imagistic factors. Our results showed a statistically significant predictive capacity of BPRS in relationship with the neurocognitive status in the short and medium-term. In the second step, we aimed to test if it is possible to increase the predictive value of BPRS by extending it. We added gradually other 3 different types of biomarkers – the dynamical evolution

of Glasgow Coma Scale (Δ GCS), assessed in the 4h and at 72h, NSE at 4h and the genetic polymorphism APOE ϵ 4. This analyze was done in relationship with each neurocognitive scale. Both Δ GCS and NSE4h proved an increase in the prognostic value of BPRS, related to GOSE and ERBI scales. There was no effect on cognitive scales. Also, there was no statistical power improvement by adding genetical polymorphism APOE ϵ 4, neither at 10 or 90 days.

Study III

In the third study, we analysed the oculomotor dynamics parameters, assessed by Eye-Tracking (ET) technique, 10 days after the traumatic injury. The patients were examined by two tests. The first one was designed for the analyse of the reflexive saccades and the second one for the analyse of the antisaccades. The saccadic parameters analysed were: duration, latency, amplitude, average speed, the maximum speed and gain (the ratio between the amplitude of the ocular movement and the amplitude of the stimuli). The antisaccades parameters analysed were: the latency of the correct antisaccades, the percentage number of the correct antisaccades, the latency of the corrective saccades and the percentage number of the corrective saccades. Compared with a control group composed of healthy subjects, there were obtained modified values just in the percentage number of the correct saccades. In relationship with BPRS (the unfavourable prognostic score), there were obtained changes in the following antisaccades' parameters: the percentage number of correct antisaccades, the latency of the corrective saccades and the percentage number of the corrective saccades.

The originality and the innovative contributions of the thesis

By these three studies included in the PhD thesis, we aimed to introduce an innovative method of TBI patients' evaluation, which can offer an overall view on the severity and the risk of development of chronic complications.

We dynamically evaluated patients in several moments in time. The seric biomarkers were assessed in the 4h and at 72h after the traumatic injury. GCS was also assessed in the first 4h and at 24h, and the neurocognitive tests were performed at 10 and 90 days.

The assessment, both of biomarkers and the neuropsychological status, was multidimensional. As early mentioned, we analyzed a wide diversity of biomarkers: clinical, imagistic, seric, neurophysiological and genetical. The evolution was tested both by clinical scales to reflect the general neurological status (GOSE, ERBI) and by specialized scales on different cognitive and emotional domains: executive function, working memory, processing speed, response inhibition, perception capacity, selective and sustained attention, anxiety and depression (MMSE, PSI-SS, PSI-SC, Stroop Word, Stroop Dots, Stroop Colors, HADS).

The first time, there was highlighted the relationship between specific biomarkers such as NSE, or Δ GCS (4, 24h) and neuropsychological outcome.

It was the first time a prognostic model, such as BPRS, which was previously validated both internally and externally, was analyzed as a predictor of cognitive outcome.

Other innovative aspects include the inclusion of the genetic polymorphism in the analyses of the extension of a prognostic model and the relationship between BPRS and ET parameters as neurophysiological biomarkers.

There were used four main statistical analyses methods for highlighting the complexity of the relationship between the prognostic factors and the neuropsychological outcome.

- We used the SEM mathematical modelling for capturing the whole neurocognitive status. It is the first time in literature when this method was used to analyze individual biomarkers (NSE, S100, Δ GCS) or composite ones (BPRS) in relationship with patients' evolution.
- For highlighting the potential increase of statistical power of the prognostic capacity of BPRS, we used the statistical method of hierarchical regression.
- For analyzing the relationship between seric biomarkers and emotional status and between ET parameters and BPRS, we used the method of simple regression.
- Also, for the comparative analyses of ET parameters between the control and TBI groups, the non-parametric Mann-Whitney U test was used.

This PhD thesis's main objective was to create a supplementary link between evidence-based medicine and personalized medicine. These three studies created the possibility to select the patients prone to later-on development of cognitive dysfunction. In this way, this category of

patients may benefit from a personalized approach of the therapeutic strategy from the acute/subacute stage. The biomarkers tested are financially accessible and easy to use in daily clinical practice. BPRS prognostic model is also easy to be calculated based on admission data. ET method offers an additional prognostic value by a neurophysiological method of testing the cerebral circuits' integrity involved in oculomotricity. This type of analyze is non-invasive, non-irradiant, and much cheaper than magnetic resonance imaging.

Also, these studies' results offer valuable information regarding the possibility of stratifying the patients and, therefore, can help to organize the methodology of future research studies on TBI patients, either pharmacological or non-pharmacological.