



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

RESONANCIA MAGNÉTICA EN ESTADO DE REPOSO DE LACTANTES
PREMATUROS CON ANORMALIDADES EN LA SUSTANCIA BLANCA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:
ASTRID CAROLINA CANCINO BRICEÑO

TUTORES PRINCIPALES
DRA. THALÍA HARMONY BAILLET INB
DR. JORGE BOSCH BAYARD INB

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DRA. IRMA YOLANDA DEL RIO PORTILLO FP
DR. SARAEL ALCAUTER SOLÓRZANO INB

Querétaro, Octubre de 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

En la población prematura el seguimiento basado en Resonancia magnética funcional en estado de reposo ha sido escaso y en periodos muy acotados de vida. Este estudio es un seguimiento longitudinal de la Conectividad Funcional (CF) en lactantes prematuros con diferentes grados de Anormalidad en la sustancia Blanca (ASB) durante el primer año de vida. Se registraron Imágenes de Resonancia Magnética funcional en estado de reposo (rs-fmri) de 17 lactantes que ingresaron a la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo durante los años 2015-2018. Las ASB se clasificaron de acuerdo con la escala de Woodward et.al. (2006), los resultados se agruparon de la siguiente forma: 4 normales, 9 leves, 2 moderadas y 2 severas. Cada participante tuvo 3 estudios a las edades de : 0-2 meses, 6 meses y 12 meses. El análisis de la CF se centró en la Red Sensorimotora (RSM) y la Red Neural Basal (RNB). Se utilizó la metodología de conectividad basada en semillas. Para preprocesar las imágenes de los lactantes se tuvo que recurrir a la implementación de una secuencia de pasos que permitieron utilizar los principales softwares enfocados a la población adulta y lograr que nuestras imágenes desafiantes tanto por la edad como por las alteraciones estructurales cumplieran con los criterios básicos para asegurar la calidad de los datos. Los resultados obtenidos nos permitieron relacionar el grado severo de ASB con una disminución de la conectividad funcional específicamente en la RSM y RNB.

SUMMARY

In the premature population, the follow-up based on resting state functional Magnetic Resonance Imaging (rs-fMRI) has been scarce and in very limited periods of life. This study is a longitudinal follow-up of Functional Connectivity (FC) in premature infants with different degrees of White Matter Abnormality (WMA) during the first year of life. The record of rs-fMRI of 17 premature babies born with less than 32 weeks of gestational age admitted to the Unidad de Investigación en Neurodesarrollo (UIND) during the years 2015-2018 were used. WMA were classified according to the Woodward et.al. (2006), the results were grouped as follows: 4 normal, 9 mild, 2 moderate and 2 severe. Each participant had 3 studies at the ages of: 0-2 months, 6 months and 12 months. The CF analysis focused on the Sensorimotor Network (SMN) and Default Mode Network (DMN). The methodology of seed-based connectivity was used. In order to preprocess the images of the infants, it was necessary to resort to the implementation of a sequence of steps that allowed us to use the main softwares focused on the adult population and to make our images challenging both by age and by structural alterations to comply with the basic cri to ensure the quality of the data. The results obtained allowed us to relate the severe degree of WMA a decrease in functional connectivity specifically in SMN and DMN.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Becario No: 612338

Un especial agradecimiento a mis tutores, la Dra. Thalia Hrmomy por toda su trayectoria que es y seguirá siendo una inspiración para los que estamos comenzando en esta aventura de la Investigación. Al Dr, Jorge Bosch a quien le debo agradecer su dedicación y preocupación en todo momento por este proyecto. Al comité tutor integrado por la Dra. Irma del Rio Portillo y el Dr. Sarael Alcauter.

A las familias de la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo, A Tere, Elsita, al Ing. Hector Belmont, a mis compañeros Jerónimo y Hector. .

A La Unidad de Resonancia Magnética y a Manuel Hinojosa por haber realizado la clasificación de Anormalidad de Sustancia Blanca.

A la Unidad de Posgrado a Lupita, Carmen y Leo.

A Lulú y la Unidad de Videoconferencia

Al Proyecto CONACYT 4971 y PAPIIT IN 2009.

ÍNDICE

Resumen	ii
Summary	iii
Agradecimientos	iv
Introducción	1
Antecedentes	
1- Nacimiento a término y pretérmino.	5
2- Desarrollo intrauterino del sistema nervioso	5
3- Desarrollo Posnatal del sistema nervioso	7
4- Alteraciones en el desarrollo cerebral y factores de riesgo	8
5- Clasificación Anormalidad de Sustancia Blanca	10
6- Resonancia Magnética funcional y señal BOLD	12
7- Conectividad funcional en menores de 2 años	14
Justificación	17
Hipótesis y Objetivos	19
Participantes, materiales y métodos	20
Resultados	29
Discusión	44
Conclusiones	51
Referencias	52
Lista de tablas y figuras	57
Apéndice	60

INTRODUCCIÓN

El número de nacimientos prematuros ha aumentado en los últimos 20 años. Las causas descritas siguen siendo muy variadas y multifactoriales con componentes que se extienden desde lo biológico hasta lo social. En los países de ingresos bajos, una media del 12% de los niños nace antes de tiempo, frente al 9% en los países de ingresos más altos. Según el reporte del Instituto Mexicano del Seguro Social del periodo 2007-2012, el número de nacidos prematuros, es decir antes de cumplir las 37 semanas de gestación, fue de un 13,7% en las Unidades Médicas de Alta Especialidad (Minguet-Romero et al. 2014).

Con los avances tecnológicos en el área neonatal, la tasa de sobrevivencia de los nacidos prematuramente ha aumentado considerablemente con el paso de los años. Actualmente los recién nacidos de pretérmino logran una tasa del 50% de sobrevivencia desde las 24 Semanas de Edad Gestacional (SEG) (Stoll et al. 2010). En las últimas 2 décadas se ha mejorado el nivel de sobrevivencia sobre las 25 SEG. Los bebés nacidos antes de las 32 SEG son clasificados como muy prematuros y en diversos estudios se describe que presentan un alto riesgo de alteraciones en su neurodesarrollo (Keunen et al. 2017). Se han realizado variados estudios de seguimiento longitudinal en diversos países y todos dan a conocer altas tasas de comorbilidad asociadas de manera inversamente proporcional a las SEG (Anderson et al. 2015). Un 35% de los prematuros extremos tendrán a largo plazo alteraciones en su desarrollo cognitivo incluyendo problemas de atención (de Jong et al., 2015), conductual y mayor tasa de fracaso escolar (He et al. 2015).

El cerebro en desarrollo es altamente susceptible a sufrir alteraciones, particularmente de la sustancia blanca. La Anormalidad de la Sustancia Blanca (ASB) tiene un grado variable de manifestaciones, lo que permitiría entender la gama de alteraciones diferentes que pueden presentar los niños prematuros, incluso con características similares al momento de nacimiento, en su evolución posterior. Las alteraciones motoras y cognitivas son las principales repercusiones de este tipo de alteración del cerebro en desarrollo (Gano 2016; He et al. 2015).

Con el escenario actual nos enfrentamos a una realidad en aumento de los nacimientos antes de término en su gran mayoría con comorbilidades asociadas a su lábil condición de nacimiento. La evaluación e historia clínica es el principal medio para sospechar un curso alterado del neurodesarrollo, los estudios complementarios de rutina a nivel neonatal y hospitalario son el ultrasonido y en ocasiones que lo amerite un estudio de Resonancia Magnética. El ultrasonido es altamente sensible para hemorragias intraventriculares, ventriculomegalias, y leucomalacia

periventricular focal, pero tiene una sensibilidad muy baja detectando lesiones de sustancia blanca comparada con la resonancia magnética (Kwon et al. 2014). Se ha descrito en diferentes publicaciones y revisiones que las imágenes por resonancia magnética a la Edad Equivalente a Término (EET) permiten mejorar y complementar la capacidad de detectar lesiones cerebrales y alteraciones del desarrollo cerebral y sus evoluciones a largo plazo (Vant’Hooft et al. 2015; Anderson et al. 2015), permitiendo estratificar a los niños de alto riesgo para mantenerlos bajo vigilancia (Keunen et al. 2017). Los avances en la neuroimagen funcional la han posicionado en los últimos años en el ámbito de investigación como una técnica no invasiva que permite tener información in vivo del desarrollo cerebral y su conectividad. Los estudios de resonancia magnética funcional en estado de reposo han mostrado ventajas en la población pediátrica al no tener que solicitar la ejecución de tareas de manera activa, tema que por la edad es imposible en recién nacidos. En diversos estudios se han podido describir redes de conectividad funcional y su desarrollo durante los dos primeros años en niños sanos (Gao et al. 2011; Gao et al. 2015). Los estudios en poblaciones prematuras hasta la fecha se han realizado sólo en edades equivalentes a término o en poblaciones adultas con antecedentes de prematurez.

El objetivo de este trabajo es describir el desarrollo de la conectividad funcional durante el primer año en lactantes prematuros, previamente estratificados según el grado de alteración de la sustancia blanca.

ANTECEDENTES

1- Nacimiento a término y pretérmino.

El parto prematuro se define como el nacimiento de un producto vivo antes de completar las 37 semanas de edad gestacional (SEG). El rango de tasas de nacimientos prematuros está entre un 5-18%, de acuerdo con un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) basado un estudio que incluyó 184 países reportado en Blencowe et al. 2012, en este estudio se describe la tasa de nacimientos prematuros según el nivel de ingreso económico, posicionando a los países de más bajos ingresos con las mayores tasas (11,8%) y los de menores ingresos con las menores tasas (9,3%). A pesar de lo anterior también describen que países como Estados Unidos y Austria tienen tasas de 12% y 10,9% respectivamente, haciendo una contribución importante a la mortalidad infantil y morbilidad de esos países.

Actualmente se plantea que de todos los nacidos prematuros aproximadamente el 85% corresponde a prematuros moderados (32 0/7 - 33 6/7 semanas) y tardíos (34 0/7 y 36 6/7 semanas), el 10% eran muy prematuros (28 0/7 - 31 6/7 semanas) y el 5% eran prematuros extremos (<28 semanas) (Torchin et al. 2016).

La prematuridad es actualmente la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años y la causa directa más importante de muerte en el primer mes de vida. En el estudio metaanálisis de Blencowe y colaboradores del año 2013 estimaron que de 15 millones de nacimientos antes de tiempo en el año 2010 aproximadamente 13 millones sobrevivían. De los datos que obtuvieron de países con baja mortalidad, los nacidos entre las 28-31SEG, un 12.2% (calculado en base a 3 estudios (6.1-18.2%) tuvieron un deterioro moderado a severo del neurodesarrollo y un 16.5% (13.6-19.3%) un deterioro leve del neurodesarrollo. De los países con alta mortalidad para los nacidos con menos de 32 SEG, encontraron una gran variación en los riesgos de deterioro moderado o severo del neurodesarrollo, que oscilaron entre 11.7 y 45.0% y los valores para el deterioro leve un 32.4%. Los principales riesgos de alteraciones del neurodesarrollo son motoras, sensoriales, cognitivas, respiratorias, conductuales y del lenguaje, en distintos grados.

2- Desarrollo intrauterino del sistema nervioso.

El desarrollo temprano del cerebro humano constituye una secuencia de procesos intrincados que dan lugar a la ontogenia de circuitos neurales funcionales.

Las trayectorias del desarrollo temprano cerebral están genéticamente programadas y pueden ser modificadas por influencias epigenéticas y ambientales. Tales alteraciones pueden ejercer profundos efectos sobre el desarrollo neurológico, que pueden persistir durante toda la vida (Keunen et al. 2017). El sistema nervioso tiene origen en la capa germinal ectodérmica, desde ese momento hasta el final de la gestación, todas las estructuras precursoras del sistema nervioso se diferencian y van dando origen a diversas organizaciones celulares.

En la Tabla 1 se describen los principales eventos y periodos de las etapas del desarrollo cerebral (Volpe 1995, 2017).

Tabla 1: Principales eventos del neurodesarrollo del cerebro humano

Eventos principales en el desarrollo del Cerebro Humano	
Eventos	Tiempo Máximo de Ocurrencia
Neurulación	3-4 semanas de gestación
Desarrollo Prosencefálico	2-3 meses de gestación
Proliferación Neural	3-4 meses de gestación
Migración Neuronal	3-5 meses de gestación
Organización	5 meses de gestación y años postnatales
Mielinización	Nacimiento hasta años postnatales

Cualquier alteración que suceda en alguna de estas etapas, podrá provocar diversos grados de alteraciones en el funcionamiento normal del cerebro. La literatura clásica describe entre 38 y 40 semanas de gestación para completar el proceso de desarrollo embrionario, tiempo teórico que asegura que todos los sistemas estén listos para el nacimiento y enfrentar la interacción con el ambiente extrauterino.

La siguiente descripción de las etapas del desarrollo se hace necesaria para entender el desarrollo cerebral hipotético en el cual nuestro sujeto prematuro se vio “obligado biológicamente” a nacer y las repercusiones que pudiera traer al funcionamiento y las redes cerebrales.

Luego de la gastrulación y neurulación tendremos las estructuras que serán precursoras de todo el sistema nervioso. Durante el desarrollo de las estructuras prosencefálicas tendremos las siguientes etapas:

a.- Proliferación Neural

Entre el segundo y cuarto mes de gestación, con un máximo entre el tercer y cuarto mes. Comienza la proliferación derivada de la zona ventricular y subventricular, se puede dividir en dos etapas: 1° generación de la glía radial y proliferación neural y 2° multiplicación de glía. En esta etapa la proliferación del árbol vascular es muy importante y es un proceso activo (Volpe 1995; Rodríguez et al., 2015).

b.- Migración

Como su nombre lo describe, este es el proceso por el cual las células nerviosas que previamente proliferaron comenzarán su camino desde el sitio de origen ventricular o subventricular hasta su lugar en las distintas capas de la futura corteza. El máximo de este periodo es entre el tercer y quinto mes de gestación. Alrededor de las semanas 20-24, la corteza cerebral ya completó el número de neuronas que va a tener (Volpe 1995; Rodríguez et al., 2015).

c.- Organización

Esta etapa ocurre desde el quinto mes de desarrollo y se extiende hasta edades postnatales. Esta etapa es determinante en el establecimiento de la compleja circuitería que distingue al cerebro humano.

Las principales características son: 1° establecimiento y diferenciación de las neuronas de la subplaca, 2° alineación, orientación y estratificación de las neuronas corticales, 3° generación de ramificaciones dendríticas y axonales, 4° establecimiento de contactos sinápticos, 5° muerte celular y eliminación selectiva de sinapsis, 6° proliferación y diferenciación de la glía (Volpe 1995; Rodríguez et al., 2015).

d.- Mielinización

La etapa de mielinización se caracteriza por la adquisición de una membrana de mielina altamente especializada alrededor de los axones. El período de mielinización en el ser humano es largo, comenzando en el segundo trimestre de embarazo y continuando en la vida adulta. La progresión en el prosencéfalo es más rápida después del nacimiento. El proceso de la mielinización se describe en dos fases: 1° proliferación y diferenciación de oligodendroglía, y 2° la deposición de mielina alrededor de los axones (Volpe 1995; Rodríguez et al., 2015).

3- Desarrollo Posnatal del Sistema Nervioso

El desarrollo Posnatal del cerebro en términos estructural y funcional es progresivo y continúa rápidamente los primeros años de vida. Después del nacimiento la corteza evoluciona, se pliega sobre si misma y va desarrollando la topología característica. El aumento de dendritas, espinas y sinapsis existentes va acompañado de un proceso simultáneo de poda neuronal, ambos procesos son muy activos en este periodo y permiten la remodelación sináptica en respuesta o influenciada por la actividad neuronal preferente (Tau y Peterson 2010). Posteriormente, continúa el desarrollo cerebral regional específico, inicialmente las cortezas primarias como la somatosensorial y visual (Huttenlocher y Dabholkar 1997). Estos cambios proporcionan un nuevo sustrato anatómico para la evolución de la actividad electrofisiológica (Smyser et al. 2011).

4- Alteraciones en el desarrollo cerebral y factores de riesgo

El cerebro prematuro de manera teórica, según lo descrito anteriormente, tendrá factores de riesgo en su desarrollo, principalmente en la etapa de organización cerebral y mielinización. Durante estas etapas los axones que conforman la sustancia blanca están en un proceso de crecimiento, especialmente en el sentido longitudinal para alargar sus proyecciones y poder establecer sinapsis con sus objetivos. Posteriormente se realizan las podas neuronales respectivas para mejorar la conectividad sináptica. Los principales cruces de proyecciones axonales se encuentran en las zonas periventriculares, sitios vulnerables y frecuentemente relacionados a las alteraciones de sustancia blanca en prematuros, lo que implica un factor de riesgo para la formación y calidad de las conexiones a nivel sináptico. Estas anomalías podrían manifestarse en déficits motores, cognitivo, visuales, conductuales y del lenguaje (Kinney et al. 2012, Gano 2016, Gano 2015).

La principal entidad clínica que se relaciona con el nacimiento prematuro es la Encefalopatía del Prematuro, un concepto global que involucra alteraciones en la sustancia blanca periventricular y lesiones neuronales, afectando el tálamo, los ganglios basales, la corteza cerebral, el tronco encefálico y el cerebelo (Volpe 2009).

La encefalopatía del prematuro es un término acuñado por Joseph Volpe, para caracterizar las lesiones en el cerebro prematuro que reflejan una combinación de los siguientes elementos: alteraciones en el curso normal del desarrollo cerebral, lesiones adquiridas (infartos, hemorragias, etc.) y fenómenos de reorganización plástica. La encefalopatía del prematuro está asociada especialmente con hemorragias en la matriz germinal, zona subventricular y leucomalacia

periventricular, las que generan importantes déficits neurológicos (Volpe 2009). El riesgo de hemorragia intraventricular (HIV) tiene una relación inversamente proporcional a la edad gestacional y el peso al nacer. El 45% de los neonatos que pesan 500-750 g al nacer desarrollan HIV. Los vasos sanguíneos inmaduros en la matriz germinal, una región altamente vascular del cerebro, combinada con un pobre soporte vascular del tejido, predisponen a los recién nacidos prematuros a la hemorragia (Volpe 2009).

La leucomalacia periventricular (LPV) es una lesión de la sustancia blanca cerebral que ocurre hasta en el 50% de los recién nacidos con pesos de nacimiento inferiores a 1.500 g (Volpe et al. 2011). La LPV se asocia con una disminución en el volumen de la corteza, el tálamo y los ganglios basales y según estudios del 2011 es probable que esta lesión represente el 90% de los déficits neurológicos, incluyendo parálisis cerebral, déficit cognitivo, conductual y de atención de los neonatos prematuros sobrevivientes (Volpe et al. 2011).

Los recién nacidos prematuros son altamente susceptibles a sufrir anomalías en la sustancia blanca (ASB) debido a la vulnerabilidad de este tejido en condiciones como hipoxia, isquemia e inflamación (Gano et al. 2016). En la génesis de la leucomalacia periventricular juega un rol importante la susceptibilidad del proceso de mielinización a la hipoxia, acidosis, hipoglicemia, inestabilidad cerebrovascular y a lesiones por isquemia y reperfusión. Estas agresiones generan una cascada de procesos celulares que desencadenan la liberación de una mayor cantidad de radicales libres, lo que genera un ambiente excitotóxico poniendo en riesgo el balance celular, afectando principalmente a los oligodendrocitos de la sustancia blanca en desarrollo deteniendo la maduración celular, provocando muerte celular y falla en la mielinización (Gano et al. 2016).

Complejas interacciones de factores relacionados con la inmadurez cerebrovascular predisponen a la sustancia blanca del cerebro de pretérmino a la lesión hipóxica-isquémica. Uno de estos factores que influye es la autorregulación cerebral, la cual se refiere al mantenimiento del flujo sanguíneo cerebral (FSC) constante ante una serie de cambios en la presión arterial o en la perfusión cerebral para asegurar los requerimientos de oxigenación. Se ha descrito que en los prematuros la autorregulación no es funcional en las edades de pretérmino muy tempranas y el flujo es dependiente de manera pasiva de la presión arterial media del sistema, en donde cualquier variación a nivel sistémico (sepsis, alteraciones respiratorias o metabólicas) que puedan alterar la presión arterial y el nivel de oxigenación de la sangre, pone al sistema en riesgo de una hipoxia o, en su otro extremo, de una hemorragia. El cerebro, por tener una alta tasa metabólica, con un

alto requerimiento de oxígeno, tiene una baja tolerancia a la privación de este, cuando el suministro de oxígeno es menor a la demanda del tejido, las posibilidades de dañar el tejido cerebral serán mayores.

La vasculatura cerebral y su desarrollo en la región periventricular, es un punto lábil en el bebé prematuro, tanto para una ASB como para una hemorragia en la matriz germinal o en los ventrículos. La sustancia blanca periventricular tiene dos suministros sanguíneos importantes:

- i. Las arterias perforantes que se ramifican de las arterias leptomeníngicas, las cuales penetran en la corteza cerebral y terminan como capilares adyacentes a los ventrículos.
- ii. Las arterias coroideas y estriadas que proyectan hacia los ventrículos laterales y luego se desvían del ventrículo hacia su terminación final en los lechos vasculares capilares en la sustancia blanca periventricular.

Con relación a los lechos vasculares existe una hipótesis sobre la formación de zonas vasculares limítrofes, generando puntos de baja irrigación y particularmente propensa a los fenómenos de isquemia. Sin embargo, la existencia de estas zonas limítrofes sigue estando en controversia. La presencia de estas zonas limítrofes proporcionaría una explicación para la ASB, donde una baja del umbral crítico del flujo sanguíneo generaría una mayor susceptibilidad para una ASB en comparación con la corteza cerebral que cuenta con un riego sanguíneo más abundante (Back et al. 2014).

En un estudio de Back y colaboradores del año 2014 encontraron que la ASB fue el hallazgo más común con un 42,5% en población prematura menor de 32 SEG (Back et al. 2014). En otro estudio se consigna que el período de mayor riesgo para las ASB es de la 23-32 SEG (Indeer et al. 2003). El espectro de la patología de la sustancia blanca incluye tres formas principales: a) Necrosis focal quística, b) necrosis microscópica focal y, c) lesiones difusas no necróticas. Las lesiones necróticas quísticas son las más severas y han sido ampliamente consideradas desde las descripciones clásicas de Leucomalacia Periventricular (LPV) de Banker y Larroche en cerebros postmortem. La ASB quística o leucomalacia quística periventricular se refiere a áreas macroscópicas de necrosis y licuefacción de la sustancia blanca periventricular que evolucionan en múltiples quistes. La ASB no quística se caracteriza por áreas microscópicas focales de necrosis que pueden ser de origen isquémico o hemorrágico. En los estudios post mortem de recién nacidos pretérmino, la incidencia de ASB varía ampliamente y el riesgo es más alto cuando la hemorragia intraventricular está presente (Khwaja y Volpe 2008).

La ASB quística experimenta un patrón característico de evolución, después de un daño agudo, en el ultrasonido se ven durante 4 a 7 días áreas de mayor ecogenicidad y se convierten en lesiones quísticas después de dos a cuatro semanas. Los quistes son generalmente visibles sólo durante unas semanas en la ecografía craneal, luego aparece una dilatación ventricular, se presume que es debido a la atrofia de la sustancia blanca periventricular (Gano et al. 2016).

La ASB se asocia con anormalidades en el desarrollo motor, como la parálisis cerebral, así como un amplio espectro de déficits cognitivos. La localización y extensión de la ASB son consideraciones importantes en el pronóstico de los resultados del desarrollo en recién nacidos prematuros. Los déficits motores pueden ir desde una sutil anormalidad en el tono y la fuerza que no son funcionalmente limitantes, hasta la discapacidad funcional de la parálisis cerebral. La discapacidad intelectual también puede variar en gravedad. Además, los estudios han demostrado una asociación entre la ASB en recién nacidos prematuros y un mayor riesgo de déficits neurocognitivos y de comportamiento, incluyendo la falta de atención y la disfunción ejecutiva. (Gano et al. 2016)

En el estudio de Boardman et al. 2010 se describe un fenotipo característico de los niños nacidos de forma prematura en la RMN de cerebro, el cual comprende una lesión difusa de la sustancia blanca; específicamente reducción del volumen tisular en el núcleo dorsomedial del tálamo, el globo pálido, la sustancia blanca periventricular, la corona radiata y dentro de la región central semioval (Boardman et al. 2010). Este fenotipo junto con los descritos por Inder y Woodward en las publicaciones de 2003 y 2006, permiten avanzar en el planteamiento de biomarcadores y lograr tener una mejor idea del pronóstico y rehabilitación a mediano y largo plazo.

5- Clasificación estructural de Anormalidad de Sustancia Blanca (ASB)

El sistema que más se ha utilizado en publicaciones es el de Woodward y colaboradores del año 2006, basado en la clasificación de Inder del año 2003 (Vant'Hoff et al. 2015; Martinez-Biarge et al. 2016). Esta clasificación utiliza resonancias magnéticas pesadas a T1 y T2 en la edad equivalente a término (EET) y es de tipo cualitativa.

Clasificación de Woodward (Ver Anexo)

Se basa en un sistema de puntuación de 1 a 3 puntos por cada uno de ítems evaluados. Los primeros 5 ítems corresponden a las anomalías de la sustancia blanca y los siguientes 3 para la anormalidad de la sustancia gris.

Anormalidad de sustancia blanca:

- 1.- La naturaleza y extensión de la anomalía de la sustancia blanca.
- 2.- El volumen de la sustancia blanca periventricular.
- 3.- La extensión de cualquier anomalía quística.
- 4.- Dilatación ventricular.
- 5.- Adelgazamiento del cuerpo caloso.

Anormalidad de la sustancia gris:

- 1.- La extensión de la anomalía de la materia gris.
- 2.- La calidad de la maduración de los giros corticales.
- 3.- El tamaño del espacio subaracnoideo.

En la Figura 1 se muestra una resonancia magnética (con contraste T2) en corte coronal y vista radiológica, con los cuatro grados de anomalía ordenados de izquierda a derecha: sin, leve, moderado y severo. Con grado creciente de anomalía de la sustancia blanca, se evidencia el aumento del tamaño ventricular y disminución del volumen de la sustancia blanca periventricular.

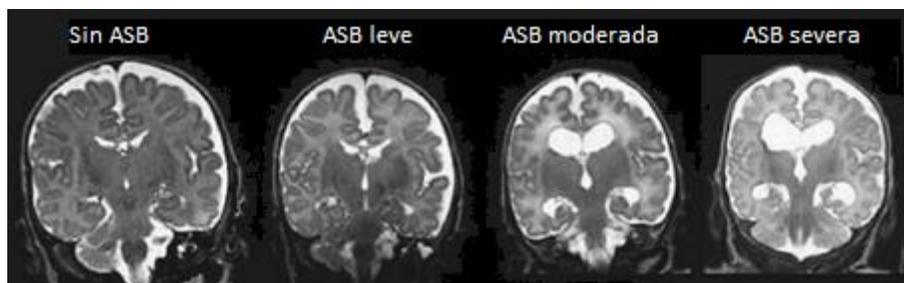


Figura 1: Ilustración de la clasificación de anomalía de la sustancia blanca (tomado de Woodward et al., 2006)

Esta clasificación, divide en 4 categorías el daño de la sustancia blanca según el puntaje obtenido en los ítems evaluados previamente y en 2 categorías el daño a la sustancia gris, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2: Clasificación de las sustancias blanca y gris de acuerdo con la clasificación de Woodward et al., 2006.

Clasificación de sustancia blanca	
Ausencia	5 a 6 puntos
Leve	7 a 9 puntos
Moderado	10 a 12 puntos
Severo	13 a 15 puntos
Clasificación de sustancia gris	
Normal	3 a 5 puntos
Anormal	6 a 9 puntos

RM Funcional y señal BOLD

La Resonancia Magnética desde sus orígenes, ha centrado su estudio en el hidrógeno, por su gran representación en el cuerpo humano y tener la propiedad de entregar una señal de buena calidad. La técnica se basa en el efecto de un campo magnético artificial (generado por el equipo de resonancia magnética) que interactúa con el protón de hidrógeno. La interacción del campo magnético con los hidrógenos y las características del ambiente químico que los rodea, generarán cambios en la señal recibida por el equipo y la imagen que finalmente se construirá. Modificando el campo magnético del equipo se pueden enfatizar diversos contrastes entre los tejidos de interés, como las imágenes ponderadas a T1, T2 o T2* que se relaciona con la señal BOLD.

En 1990 Ogawa y colaboradores describieron lo que sucedía fisiológicamente en el intercambio de oxígeno a nivel cerebral desde la oxihemoglobina a desoxihemoglobina mediante resonancia magnética. La oxihemoglobina normalmente diamagnética (repele el campo magnético) entrega su oxígeno, esta reducción química, generará desoxihemoglobina la cual es paramagnética (tiene mayor atracción con el campo magnético principal). La presencia de moléculas paramagnéticas en la sangre produce una diferencia en la susceptibilidad magnética entre el vaso sanguíneo y el tejido circundante. Esta diferencia de susceptibilidad es “percibida” tanto por las moléculas de hidrógenos en la sangre como por las del tejido circundante, este fenómeno reduce la intensidad de la señal y el vóxel aparece oscuro en la imagen (Ogawa et al. 1990). A esto se le denominó contraste

dependiente del nivel de oxigenación en la sangre, conocido como BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) por sus siglas en inglés.

Los resultados iniciales sugirieron que el contraste BOLD podría utilizarse para proporcionar mapas in vivo de la oxigenación sanguínea en el cerebro en condiciones fisiológicas normales (Ogawa et al. 1990). Estos cambios metabólicos de la sangre cerebral proporcionan un mecanismo intrínseco para el estudio de la activación cerebral.

Después de un aumento de la actividad neural cerebral, se genera un aumento muy grande del flujo sanguíneo y un aumento discreto del consumo y extracción de oxígeno, lo que genera poca hemoglobina desoxigenada en comparación a la hemoglobina oxigenada. Lo anterior genera que la señal de resonancia aumente ligeramente y se pueda medir. Este fenómeno vascular relacionado a la demanda neural nos permite evaluar de manera indirecta la actividad neural (Uludag et al., 2005).

6- Conectividad Funcional en estado de reposo

La conectividad funcional se define como la dependencia temporal de patrones de actividad neuronal de regiones del cerebro anatómicamente separadas entre sí (Friston et al. 1993). En 1995 Jim Hyde publicó en *Human Brain Mapping* que las fluctuaciones de baja frecuencia del contraste BOLD parecían estar correlacionadas con estructuras cerebrales relacionadas funcionalmente. En el mismo año Biswal, discípulo de Hyde, demostró por primera vez, un fenómeno en el que la señal era obtenida mientras los participantes estaban en reposo. Eso implicaba que el cerebro, aun cuando no realizaba activamente una tarea, mantenía una actividad significativa que podía medirse gracias al contraste BOLD (Biswal et al. 1995).

Estudios posteriores de Biswal en los años 1996 y 1998, comenzaron a sugerir que la conectividad funcional en estado de reposo no se debía únicamente a los efectos vasculares y que de alguna forma la conectividad en reposo y en tareas específicas estaban relacionadas (Lowe et al. 2012). Xiong y colaboradores en los años 1998 y 1999, fueron quienes observaron que en los análisis del estado de reposo las fluctuaciones fisiológicas revelaban muchas más conexiones que las reportadas en estudios de conectividad funcional con tareas. Lo que podría dar a conocer una subestimación de los mapas de activación obtenidos con tareas, minimizando el tamaño y el número de áreas funcionalmente conectadas y que las redes funcionales generadas mediante el análisis de conectividad en estado de reposo entregarían una mejor imagen de las conexiones funcionales latentes del cerebro (Van den Heuvel et al. 2010).

Desde el año 2005 se ha documentado un amplio uso de técnicas de Resonancia Magnética funcional en estado de reposo (RMf-er) para mapear la función cerebral humana. Se sabe que esta técnica no mide directamente la función cerebral, y se continúa el estudio para mejorar las bases fisiológicas de esta modalidad. Hasta ahora, el contraste BOLD se ha relacionado con un acoplamiento que va más allá de lo netamente vascular y se ha propuesto una interacción vasculonerviosa (Buxton 2013, Pekar 2016).

7- Conectividad Funcional en Menores de 2 años

7.1 Redes en estado de reposo

En los estudios realizados en menores de 2 años se han utilizado las redes descritas para adultos (Smith et al. 2009) como referencia. Se realizaron las comparaciones y se describieron las redes que desde el nacimiento se parecen a las del adulto y las más complejas que se integran durante los primeros años de vida: La red primaria Visual fue descrita en los trabajos de Fransson et al 2007, Lin et al. 2008 y Doria et al. 2010; la red Sensoriomotora por Lin et al. 2008 y Doria et al. 2010; la red Neural Basal por Gao et al. 2009, Fair et al. 2008 y Doria et al. 2010 y la red Dorsal de Atención por Gao et al. 2012.

En 2011 Wei Gao y colaboradores, describieron la evolución temporal y espacial en una población sana de menores de dos años mediante RMf-er; en este estudio los principales hallazgos fueron: Desde las 3 semanas hasta el año de vida se presenta un desarrollo cerebral continuo, estableciendo particularmente conexiones de larga distancia que conducen a mejoras significativas en la topología de las redes. Después del año aparecen mejoras más regionales que globales sugiriendo una especialización funcional (Gao et al. 2011).

En la Figura 2 se muestra la evolución de 3 redes durante el primer año y la comparación con la conectividad de la edad adulta. Tanto la red Sensoriomotora como la Visual han sido descritas como redes primarias presentes desde el nacimiento e incluso a edades de pretérmino. La red Neural Basal durante el primer año de vida muestra un incremento en su complejidad.

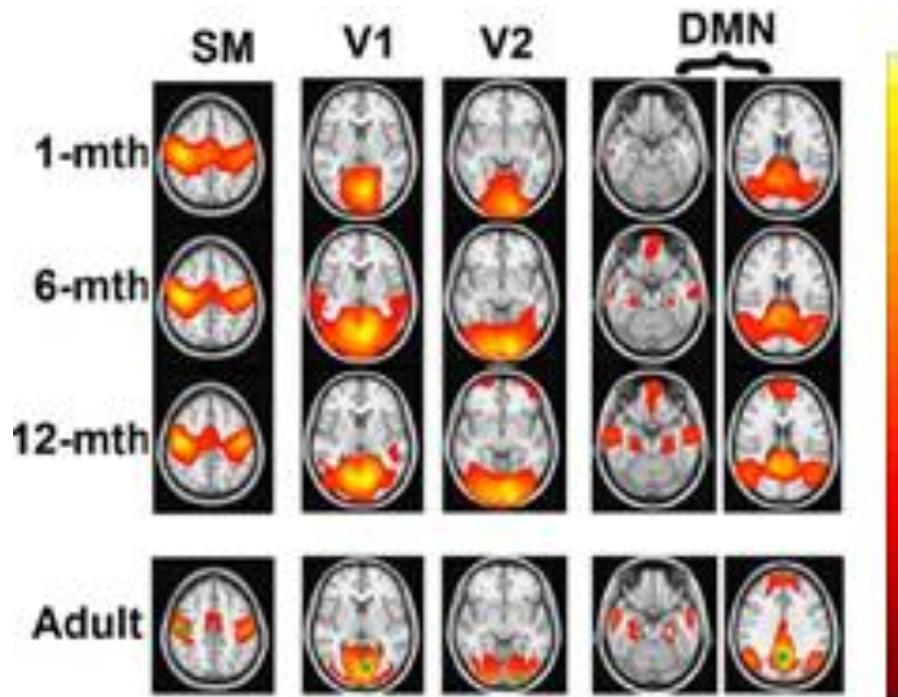


Figura 2: Desarrollo de las redes de conexión funcional del cerebro durante el primer año de vida. En los mapas estadísticos la barra de color indica la intensidad de la correlación, siendo la más fuerte representada por el color amarillo. SM = red Sensorimotora; V1, V2, = redes Visuales occipital medial y polos occipitales; DMN = (default-mode network en inglés) Red Neural Basal (Adaptado en Gao et al., 2017).

7.2 Conectividad funcional en prematuros

El primer estudio con población prematura (<28 SEG) y RMf-er fue de Fransson y colaboradores en 2007, los prematuros extremos fueron escaneados aproximadamente a las 41 SEG, los resultados de Fransson demostraban que nacer antes de tiempo es un factor de riesgo mayor para un desarrollo anormal de la conectividad funcional. (Kwon et al. 2015; Smyser et al. 2010; Gao et al. 2017).

El grupo liderado por Smyser en diferentes publicaciones desde 2010 hasta 2015, reportó diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de las redes en estado de reposo y en su configuración, entre los prematuros sin anomalía de sustancia blanca en su edad equivalente a término y los controles nacidos a término. Otro de los hallazgos que generó un gran interés fue la alteración en la formación de conexiones tálamo-corticales, las cuales se creen que son las responsables de la organización cortical global. Estos hallazgos son consistentes con investigaciones

previas en esta población (Kostovic 2006; Dickstein et al. 2010; Di Martino et al. 2010; Fair et al. 2010).

En 2015 se describe el impacto funcional en la vida temprana de la ASB difusa y el efecto negativo en las redes involucradas en procesos cognitivos (atencionales y ejecutivos), pero no en las redes Sensoriomotoras. La autora postula que la conectividad funcional de esas redes en específico y la cuantificación volumétrica de ASB difusa podrían ser utilizadas como un biomarcador para los déficits posteriores (He et al. 2015).

Los estudios descritos previamente ha sido realizados en modelo transversal y algunos con seguimiento longitudinal entre 2 meses (Smyser et al. 2013) y 5 meses (He et al. 2016) de edad corregida. Por lo que se hace de vital importancia poder tener un estudio que nos permita conocer la evolución de la conectividad funcional en el primer año de vida.

7.3 Vínculo entre la red Motora y la red Neural Basal

A fines de 2017 se presentó un artículo con la conectividad funcional (CF) en menores de 2 años (con alto y bajo riesgo familiar para el desorden del espectro autista) y su relación con el caminar y la función motora gruesa. En este artículo se describe la gran relación entre las redes motoras y las de mayor jerarquía cognitiva (Marrus et al. 2018). Hallazgos confirmados por los estudios específicos del sistema motor, específicamente en estudios con humanos y primates, han descrito que el comportamiento motor involucra áreas motoras primarias y otras ampliamente distribuidas en el cerebro como la corteza premotora, cíngulo dorsal, y regiones parietales, así como el cerebelo (Hanakawa et al. 2003). El complemento del sistema motor contribuye directamente en la planeación, ejecución, aspectos de percepción y cognición importantes para la función motora, las cuales se van especializando durante los primeros años de vida. La gran mayoría de los niños sanos logran adquirir la marcha de manera independiente a los 12 meses, esta habilidad se perfecciona durante los primeros 3 años donde se logra un patrón similar al del adulto.

Las relaciones reportadas por Marrus y colaboradores de la red Motora que involucran a la Red Neural Basal (RNB), observadas tanto en el análisis de la marcha como en el motor grueso, fueron inesperadas. A los 12 meses, la CF interna de la RNB-temporal se asoció negativamente con caminar y la función motora gruesa, mientras que la CF entre la RNB-temporal y la red Motora fue positivamente asociado con caminar y la función motora gruesa. Por lo tanto, la RNB-temporal demostró tener un patrón de conectividad interno negativo y entre redes positivo a la relación

con la actividad motora, por lo que un aumento de CF interno de RNB-temporal se asoció con una función motora menos avanzada, mientras que el aumento de CF entre el RNB-temporal y las redes motoras se asociaron con una función motora más avanzada.

Las asociaciones de la RNB con la función motora son infrecuentes en la literatura, a diferencia de las asociaciones del procesamiento autorreferenciales de Raichle desde el 2015. Las teorías de desarrollo ecológico y del desarrollo perceptual han propuesto una interrelación entre el desarrollo motor temprano y la autopercepción, al postular que las habilidades motoras gruesas como caminar, explorar el entorno requieren de la autopercepción durante el proceso de exploración (Gibson y Pick 2000). Por lo tanto, estos hallazgos de alta conectividad entre la RNB y la red motora pueden reflejar un vínculo de desarrollo entre la adquisición de las habilidades motoras básicas y aspectos de procesamiento autorreferencial necesario para explorar el entorno y aprender a caminar.

JUSTIFICACIÓN

La variedad de alteraciones cognitivas y motoras en los prematuros, y sus consecuencias en su vida ulterior, han aumentado el interés por el estudio de las anomalías que ocurren durante la maduración cerebral de estos lactantes. En las últimas décadas, los recién nacidos prematuros tenían un alto riesgo de lesiones cerebrales muy destructivas de la sustancia blanca y degeneración de la sustancia gris cortical y subcortical secundaria. Sin embargo, en los últimos años han aumentado los estudios que reportan un cambio en la presentación de las lesiones: actualmente se evidencia un patrón de lesiones crónicas con menor destrucción de tejido cerebral. Sin embargo, estas formas menos destructivas de lesión también se asocian con una reducción del crecimiento cerebral y alteraciones en habilidades motoras, cognitivas y conductuales, definiendo un patrón de trastorno del desarrollo cerebral primario del prematuro (Back et al. 2014), el cual puede ser más difícil de detectar en una etapa inicial si no se usan las herramientas adecuadas.

La RMf-er ha mostrado ventajas en la población infantil sobre la modalidad relacionada a eventos, principalmente por el hecho de que el paciente no está condicionado a realizar una tarea, lo que facilita la exploración en el recién nacido y población pediátrica mientras se puedan mantener durmiendo tranquilos. De tal manera que podamos obtener un mapa de conectividad cerebral funcional que permita obtener una nueva visión en condiciones patológicas o de riesgo neurológico (Smyser et al. 2010; Ye et al. 2015).

La maduración de las redes funcionales se ha descrito como un fenómeno no lineal y susceptible a periodos críticos o a la interrupción de procesos estructurales claves. Se ha demostrado que la lesión cerebral moderada a severa tiene una correlación negativa con el desarrollo de las redes neuronales en estado de reposo, especialmente con la conectividad interhemisférica y que la alteración es dependiente de la proximidad al sitio de la lesión y a la gravedad de la lesión (Smyser et al. 2013).

Queda aún por determinar la capacidad plástica del cerebro para recuperarse una vez que ha ocurrido la perturbación inicial, ya sea espontáneamente o a través de terapias neuroprotectoras o entrenamiento intensivo. El grupo de estudio liderado por la doctora Thalía Harmony demostró, en un estudio longitudinal reciente, los efectos positivos de la terapia neurorehabilitatoria Katona en una población prematura con factores de riesgo de daño neurológico, logrando promover el adecuado neurodesarrollo cerebral (Harmony et al. 2016).

Por lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación relacionada a la conectividad funcional: ¿Cuál será el impacto de las anomalías de sustancia blanca en el nivel de conectividad funcional de niños nacidos antes de las 32 semanas de gestación que asisten a terapia neurohabilitatoria durante el primer año de vida?

HIPÓTESIS

La maduración de la conectividad funcional durante el primer año de vida es diferente de acuerdo a la severidad de la lesión de la sustancia blanca, en los niños prematuros nacidos con menos de 32 semanas de gestación, que asisten a la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo.

OBJETIVO GENERAL

Describir la conectividad funcional de los lactantes prematuros que asisten a la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo, según el grado de afectación de la sustancia blanca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Elaborar y estandarizar un procedimiento para el preprocesamiento de las imágenes anatómicas de resonancia magnética, que funcione de manera adecuada en los lactantes durante el primer año de vida, especialmente durante los primeros 6 meses, y facilite su posterior segmentación y parcelación.
- II. Elaborar y estandarizar un procedimiento para el preprocesamiento de las imágenes funcionales de resonancia magnética, que funcione de manera adecuada en los lactantes durante el primer año de vida, y facilite el posterior cálculo de la conectividad funcional a partir ellas.
- III. Clasificar y describir a los participantes del estudio según su nivel de anormalidad de la sustancia blanca.
- IV. Describir la conectividad funcional de manera longitudinal durante el primer año de vida de niños prematuros que reciben de manera regular tratamiento neurohabilitatorio durante el primer año de vida en la UIND.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

De los menores de 1 año que asistieron a la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo (UIND) entre el periodo 2015-2018, se seleccionaron los candidatos según los criterios de inclusión y exclusión (ver Tabla 3). Todos los tutores de los participantes previamente firmaron un consentimiento informado para que los datos de los estudios realizados a sus hijos puedan ser utilizados en investigaciones de la unidad. Se obtuvieron los estudios de imágenes funcionales en estado de reposo y las anatómicas en T1 y T2. Esta investigación es parte del protocolo global de la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo y cumple con los principios éticos para la investigación médica en seres humanos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (World Medical Association, 1964), el protocolo Global fue aprobado por el comité de bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM.

Tabla 3: Criterios de inclusión y exclusión del estudio.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Nacidos antes de las 32 SEG.	Síndrome de Down y otras cromosomopatías.
Contar con al menos 3 estudios de RM funcional en estado de reposo y secuencias t1, y t2, durante los primeros 12 meses de edad.	Alteraciones metabólicas.
Tener factores de riesgo de daño neurológico.	Malformaciones óseas que puedan alterar el rendimiento motor.

Descripción de la muestra

17 participantes cumplieron los criterios de inclusión al estudio, 11 participantes masculinos y 6 femeninos. La clasificación de anormalidad de sustancia blanca según Woodward generó 4 grupos: sin anormalidad (n=3), anormalidad leve (n=10), anormalidad moderada (n=2), anormalidad severa (n=2). Todos los participantes tienen al menos 3 estudios durante el primer año de vida, los cuales fueron organizados en 3 grupos de diferentes edades: 2 meses; 6 meses y 12 meses. Esto nos permitió realizar un estudio descriptivo longitudinal.

De las edades de gestación al momento de nacer, el rango de semanas de gestación está entre 27 y 31 semanas. Toda la muestra es clasificada como prematuros extremos, divididos de la siguiente manera: Nacidos de 27 semanas un 5.8% n=1, de 28 semanas un 17,7% n=3, de 29 semanas un 17,7% n=3, de 30 semanas 17,7% n=3, de 31 semanas un 41.1% n=7. La Figura 3 ilustra gráficamente la distribución de la muestra de acuerdo con este criterio.

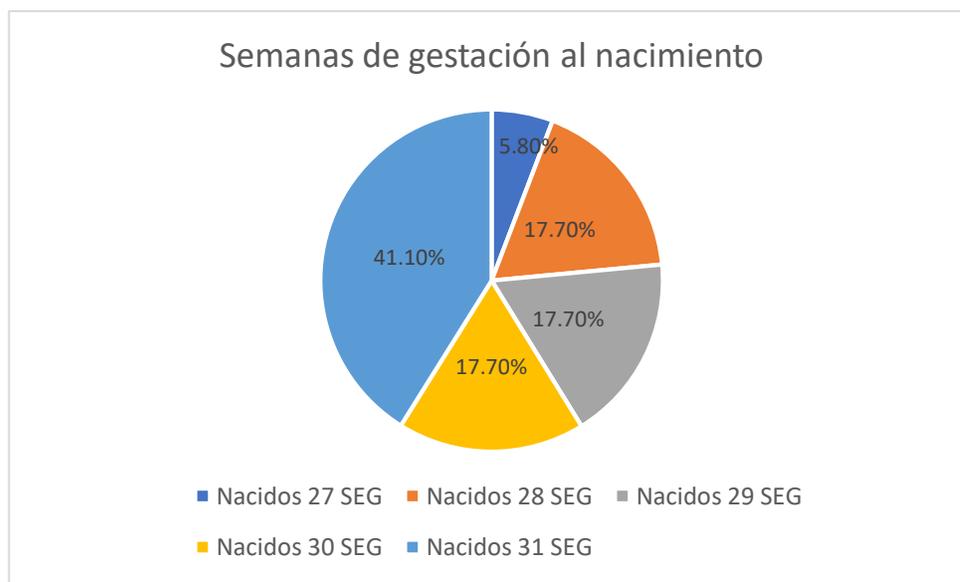


Figura 3: Distribución de la muestra de acuerdo con las semanas de gestación al nacimiento.

VARIABLES

Anormalidad de la Sustancia Blanca, ésta es una variable independiente de tipo ordinal. Según Woodward y colaboradores (Woodward et al. 2006), las categorías son: sin alteración y con alteración leve, moderada y severa. La puntuación se hace en función de una resonancia magnética estructural T1. Idealmente es en la resonancia equivalente a término. En este estudio se realizará con la primera resonancia comprendida en un rango no mayor a 3 meses.

Conectividad funcional, ésta será la variable dependiente, la cual se presentará en valores z correspondientes a la transformación Z de Fisher de los coeficientes de correlación, mapas probabilísticos, medidas de grafos y nodos durante el desarrollo.

Terapia neurohabilitatoria, es una variable controlada, ya que todos los participantes de la muestra son pacientes que acuden a la Unidad de Investigación en Neurodesarrollo, los que cumplen de manera muy estricta y sistemática las citas

para recibir la terapia, se considera de esta forma debido a que no otorgarles una intervención conociendo que se han demostrado efectos positivos con ella, sería éticamente y moralmente incorrecto.

EQUIPO PARA ADQUISICIÓN DE IMÁGENES

Para todas las imágenes se usó el resonador General Electric MR730 de 3 Teslas, de la unidad de Resonancia Magnética de la UNAM campus Juriquilla, denominado Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética (LANIREM).

Como parte del Protocolo de la UIND, se realizaron los estudios clínicos de imagen por resonancia magnética, que incluyeron las siguientes secuencias mientras los lactantes se encontraban dormidos y con protección auditiva:

- Estudio Funcional en estado de reposo, pesados a T2, fueron obtenidos con una secuencia eco planar (EPI GRD) con tiempos de repetición (TR) de 2 segundos, tiempo de eco (TE) de 40 milisegundos, con 33 rebanadas por cada volumen, el tamaño de rebanada fue de 4mm y el tamaño de vóxel de 4x4x4 mm³. El tiempo total fue de 5 minutos y el número total de volúmenes fue de 150.
- Estudio Clínico anatómico pesado en T1 y T2; con TR de 6 segundos y TE de 2.4 segundos para las imágenes en T1, tamaño de vóxel de 0.5 mm x 0.89 mm x 0.89 mm.

PREPROCESAMIENTO DE IMÁGENES POR RESONANCIA MAGNÉTICA

La descripción detallada de todos los procedimientos realizados durante este trabajo para el preprocesamiento y el procesamiento estadístico de las imágenes por resonancia magnética, son descritos en un “Manual de Procedimientos” que se adjunta como Apéndice de esta.

Esto permite cumplir con uno de los principios de la investigación reproducible, que es proporcionar todos los medios y vías necesarios para que investigadores posteriores sean capaces de reproducir los resultados alcanzados, para garantizar que resultados posteriores sean comparables con los aquí mostrados.

En esta sección, por tanto, describiremos los procedimientos realizados de manera general, sólo como ilustración y formalización del procedimiento.

Imágenes Anatómicas

- Reorientación: Para asegurar que las imágenes tengan la correcta orientación y estén etiquetadas correctamente en izquierda/derecha para facilitar el Corregistro y Normalización.
- Normalización espacial: este proceso se realiza para poder utilizar entre un mismo grupo de estudio un cerebro de referencia para todos. Se utilizó la base de datos del trabajo de Fonov et al. 2011, que cuenta con templates desde 0 meses hasta los 5 años, para este trabajo se utilizó específicamente los de 0-2, 6 y 12 meses.
- Segmentación: se realizó la segregación de los diferentes tejidos; sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo. Estas segmentaciones serán utilizadas posteriormente en el preprocesamiento de las imágenes funcionales.
- Clasificación de Anormalidad de Sustancia Blanca

Las imágenes anatómicas de RM fueron revisadas y clasificadas por el médico (M.H.R.) con experiencia en la patología de ASB. Para todos los prematuros se evaluó la extensión y gravedad de ASB utilizando el sistema de Woodward (Woodward et al. 2006). Se conformaron 4 grupos: sin anomalía, anomalía leve, moderada y severa.

Imágenes Funcionales

Siguiendo las técnicas actuales sobre preprocesamiento, a los datos de RMf-er se les realizó los siguientes procedimientos:

- Corrección temporal (slice timing): es una corrección que se utiliza para corregir el hecho de que cada rebanada del volumen es registrada en un instante de tiempo diferente, lo que afecta la modelación posterior de la señal, si se utiliza, por ejemplo, la función de respuesta hemodinámica (HRF, por sus siglas en inglés). Es una corrección no aceptada por todos y en todas las condiciones, e incluso, el orden en que debe ser aplicada, si antes o después de la reorientación espacial de las rebanadas es controversial. Su importancia depende de muchos factores, tales como el tiempo de adquisición, el orden de adquisición y otros factores. El objetivo es ajustar la señal BOLD esperada en tiempo, como si todas las rebanadas hubieran sido tomadas simultáneamente. A pesar de las críticas, Sladky et al. (2011) han mostrado que en el peor de los casos esta corrección no cambia los resultados y en la mayoría de los casos los mejora.

- Correcciones espaciales
 - Reorientación. Las imágenes anatómicas y funcionales (EPI) deben estar en la misma orientación, para esto se realiza la reorientación en función de las etiquetas de posición (Izquierda/derecha Anterior/Posterior Superior e Inferior) de una imagen estándar del atlas de referencia.
 - Corrección del movimiento: este paso es fundamental para considerar el efecto del movimiento de la cabeza del participante durante el experimento, se realiza una corrección de cuerpo rígido, posteriormente se pueden utilizar esos valores como un regresor y disminuir su impacto en la señal de nuestro interés. Se estableció un límite máximo de movimiento de 0.3 mm y un mínimo de 120 volúmenes por cada participante luego del proceso de extracción de los volúmenes con exceso de movimiento. Lo anterior es un control de calidad de movimiento (Power et al. 2012).
 - Corregistro: consiste en superponer la imagen funcional sobre la imagen estructural a través de una transformación que logre una adecuada correspondencia entre ellas, para poder tener una referencia anatómica más precisa de la imagen funcional y mostrar

la información resultante de los análisis de imágenes funcionales sobre la referencia anatómica.

- Suavizado: Para mejorar la relación señal/ruido se realizará un suavizado con un valor de 3mm de FWHM (Full width at half maximum) para los meses 1 ,6 y 12 meses respectivamente, este fue un valor promedio entre los publicados en otros artículos (Gao et al. 2015).
- Filtrado temporal de frecuencias: para delimitar el rango de interés de la fluctuación en frecuencia de la señal BOLD, se consideró el default de CONN de $0.01 < f < 0.08$ hz.

- Denoising

Se utilizó la estrategia de aCompCor (Behzadi et al. 2007) mediante la regresión lineal de las variables confusorias para eliminar el ruido fisiológico transferido por la sustancia blanca, líquido cefalorraquídeo y los parámetros de movimiento de las series de tiempo de la señal BOLD. Lo anterior permite mejorar la relación señal/ruido y obtener medidas de conectividad funcional más limpias.

Softwares utilizados

Se utilizó una combinación de los procedimientos de Matlab 2015, spm12, CONN functional connectivity toolbox V.17e, iMagic PRO V.2.0 y FSL.

METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS

Análisis basado en semillas (SBC, por sus siglas en inglés: Seed Based Correlation) (Seed to Voxel):

Permite explorar la conectividad funcional de manera específica por regiones de interés (ROI), para facilitar su interpretación y aproximación clínica. Este tipo de análisis ha sido validado para población pediátrica por varios autores (Dosenbach et al., 2007; Smyser et al., 2010; Alcauter et al.,2014; Gao et al.,2015).

Correlación basada en semillas (SBC):

Los mapas SBC representan el nivel de conectividad funcional entre la semilla (circunferencia de 10mm) / ROI y cada ubicación en el cerebro (semilla o vóxel). SBC se define como los coeficientes de correlación transformados a Z de Fisher entre una

serie temporal BOLD de la región de interés (promediada en todos los vóxeles dentro de una ROI) y una serie temporal BOLD de vóxeles individuales (Manual CONN 2018). En la Figura4 se ilustra este tipo de análisis. Se muestra la señal BOLD en dos nodos semilla, uno en el nodo derecho de la red Sensorimotora y el otro, su homólogo en el hemisferio izquierdo y se ilustra la correlación entre ellos.

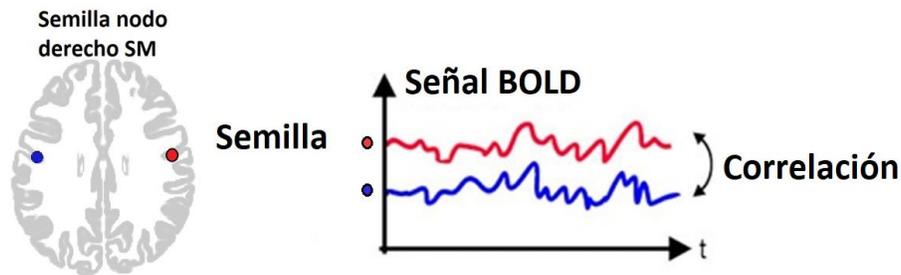


Figura4: Representación del proceso de correlación de la señal BOLD de la semilla del nodo derecho de la red Sensorimotora y la señal del nodo izquierdo de la misma red.

Medidas de ROI a ROI (ROI to ROI)

Las medidas de ROI a ROI se definen de la misma manera que las medidas de Semilla a Vóxel anterior, simplemente sustituyendo la señal BOLD en el tiempo del vóxel objetivo, por la señal promedio en el tiempo de todos los vóxeles que forman la ROI en cuestión. En particular en la correlación ROI-ROI (RRC): las matrices RRC representan el nivel de conectividad funcional entre cada par de ROI. RRC se define como los coeficientes de correlación transformados a Z de Fisher entre dos ROI y la señal BOLD en el tiempo (la señal BOLD de la ROI se calcula promediando las señales BOLD de todos los vóxeles dentro de cada ROI) (Manual CONN 2018).

Conectividad basada en semillas y regiones de interés

El análisis de primer nivel en la conectividad basada en semilla consiste en el cálculo de las matrices de conectividad a nivel individual, para cada uno de los participantes. En nuestro caso utilizamos las modalidades “Seed-to-Voxel” y “ROI-to-ROI” que ofrece el software CONN.

En esta etapa es fundamental extraer de la serie de tiempo de la señal BOLD, los efectos contaminantes del movimiento y ruido fisiológico (ver sección 6.1). Se basa en la correlación de la serie de tiempo de la señal BOLD de la semilla con otras ROIs o con cada vóxel de la imagen. Un vóxel (del inglés volumetric píxel) constituye

la mínima unidad procesable de la imagen. El resultado de la correlación se puede expresar en gráficas comparativas de los valores o en mapas de conectividad que muestra los puntajes Z de Fisher (transformación del coeficiente de correlación inicial) para cada vóxel, lo que refleja si existe correlación positiva, negativa o sin correlación entre la señal de la semilla y los diversos puntos de interés en el cerebro.

La transformación de los valores de correlación utilizando la función Z de Fisher se realiza para aproximar la distribución de estos valores a una distribución gaussiana, con lo cual se garantiza que se cumplan los supuestos de los análisis estadísticos.

Posterior a la obtención de la conectividad funcional de primer nivel de cada una de las semillas en todos los participantes, se pasa a la etapa de análisis de segundo nivel. En esta etapa agrupamos los estudios por edad en 3 grupos: 2, 6 y 12 meses. Luego se configuran los contrastes de las pruebas estadísticas para identificar si existen o no diferencias significativas en los grupos en función de la CF de las semillas de interés.

Se utilizó la conectividad HOMOTOPICA entre los nodos de las mismas redes interhemisféricas, así como nodos de diferentes redes HETEROTOPICA como métrica para cuantificar el desarrollo y los cambios en diferentes edades postnatales.

De acuerdo con la bibliografía disponible (Marrus et al., 2018) y para dar una respuesta acotada a nuestra hipótesis nos centramos en la red sensorimotora y la red neural basal utilizadas ampliamente en diversas publicaciones de poblaciones prematuras (Doria et al., 2010, Smyser 2010, Smyser 2013). De manera específica los nodos utilizados como semillas tienen las siguientes coordenadas MNI: Red sensorimotora nodos derecho (56,-10,29) e izquierdo (-55,-12,29), Red basal neural; nodo corteza medial prefrontal (1,55,-3), nodo parietal derecho (47,-67,29), nodo parietal izquierdo (-39,-77,33).

Exploración de medidas cuantitativas con Teoría de Grafos

Mediante el software CONN y el paquete connectivity toolbox (Ruvinov y Sporns 2009) se describe la topología de las redes en cada grupo según la clasificación de anormalidad de sustancia blanca.

Las Medidas de teoría de grafos al nivel de Regiones de interés, se calculan de acuerdo con las parcelaciones del software en los 32 componentes de las redes del estado de CONN.

Todas las medidas entre ROIs a continuación se basan en grafos no direccionales definidos por nodos (ROI), y bordes (conexiones supraumbrales). Para

cada sujeto se calcula una matriz de adyacencia de gráfico $A(i, j)$, que almacena el valor de correlación de la ROI i a la ROI j . Luego, a partir de los gráficos resultantes, las siguientes medidas se pueden calcular localmente para cada nodo (ROI) y agregarse globalmente en todos los nodos (ROIs).

- Grado y costo: Representan el número de conexiones existentes en un nodo. El grado permite determinar nodos superconectados y comparar las redes en base a un número total de conexiones.
- Distancia de ruta promedio: Es la distancia de ruta mínima promedio entre dos nodos. Esta medida caracteriza el grado de conexión global de cada nodo dentro del gráfico y es considerada una medida de interconexión.
- Coeficiente de Agrupamiento: El coeficiente de agrupamiento representa una medida de integración local, que caracteriza el grado de interconexión entre todos los nodos. Las redes eficientes se caracterizan por coeficientes de agrupamiento altos.
- Eficiencia global: La eficiencia global representa una medida de la centralidad del nodo dentro de una red, que caracteriza el grado de conexión global de cada ROI dentro del gráfico. Representa una medida de la interconexión de cada nodo.
- Eficiencia local: La eficiencia local representa una medida de integración local, que caracteriza el grado de interconexión entre todos los nodos dentro de un grupo específico.

RESULTADOS

Los participantes de la muestra fueron clasificados de acuerdo con el grado de anormalidad de la sustancia blanca (ASB) de la siguiente manera: sin ASB (n=3), ASB leve (n=10), ASB moderada (n=2), ASB severa (n=2). La Figura 5 ilustra la composición de la muestra de acuerdo con esta clasificación.

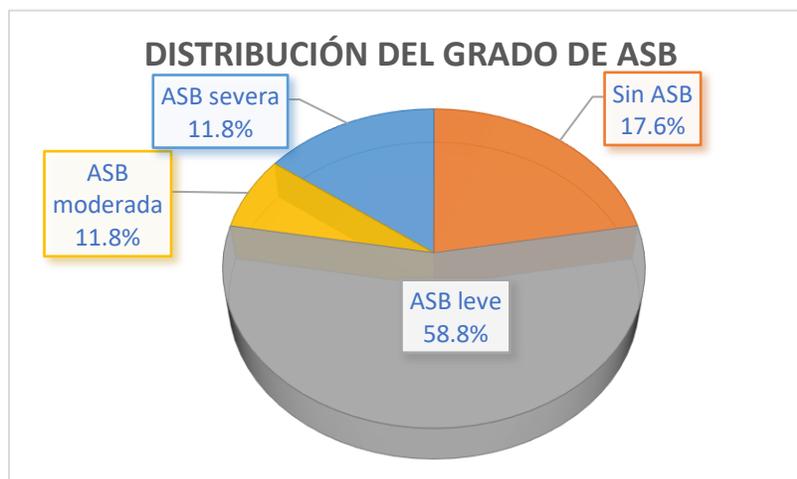


Figura 5: Descripción de los porcentajes de la muestra según el grado de Anormalidad de Sustancia Blanca (ASB).

En la Figura 6 se presentan los mapas de conectividad obtenidos en el análisis seed to voxel, poniendo la semilla en la red sensorimotora derecha (al igual que en la Figura 4). Se muestran los resultados en 4 participantes con distinto grado de ASB en las 3 edades del estudio. Esta imagen es solamente ilustrativa de las etapas de procesamiento de la señal de interés y el análisis basado en semillas.

Análisis de segundo nivel

En este análisis los contrastes utilizados fueron las diferentes edades (2, 6 y 12 meses), en función de semillas:

a) Red Sensorimotora y Visual primaria. La Figura 7 muestra los componentes bilaterales de la red Sensorimotora y la red Visual Primaria a los 2, 6 y 12 meses de edad.

b) Red neural basal. La Figura 8 muestra la red Neural Basal con sus tres componentes: corteza prefrontal medial (MPFC en inglés), parietal lateral (LP en

inglés) bilateral y corteza posterior el cíngulo (PCC en inglés). Se incluyen todos los participantes a las a las edades de 2, 6 y 12 meses.

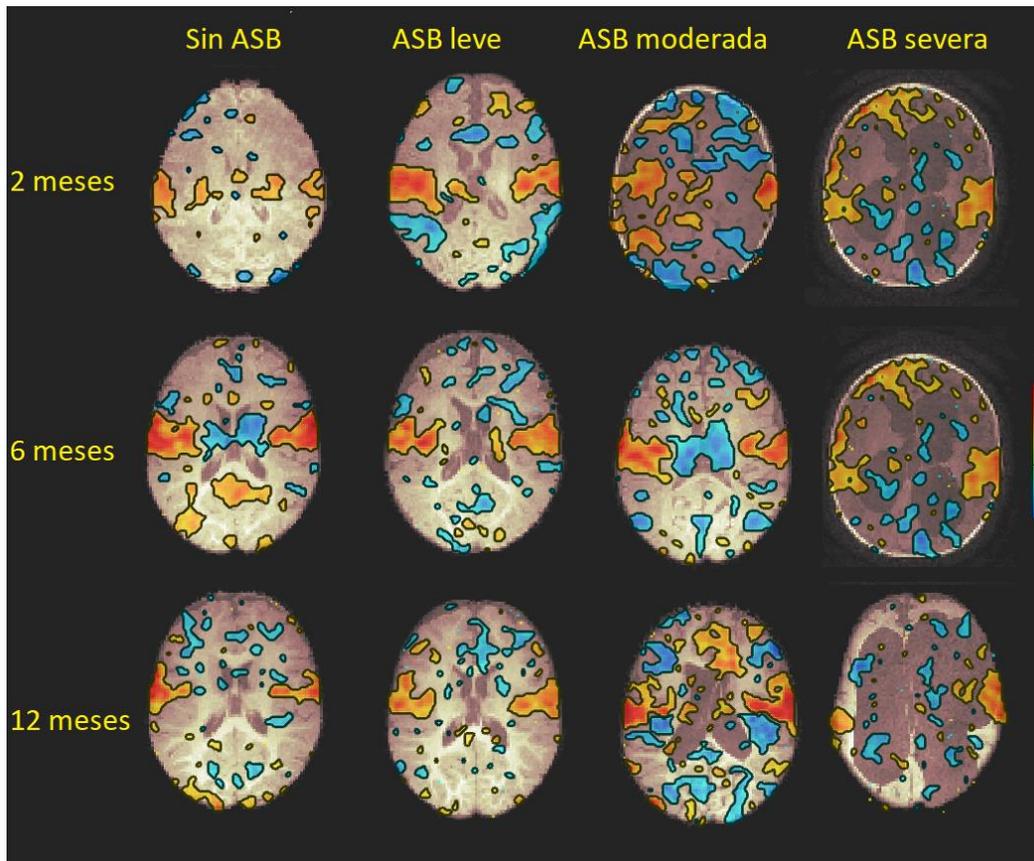


Figura 6: Mapa estadístico en vista neurológica utilizando un umbral de 0.25 para todos los participantes con distinto grado de Anormalidad de la Sustancia Blanca (ASB) en seguimiento longitudinal. Semillas en la Red sensoriomotora derecha.

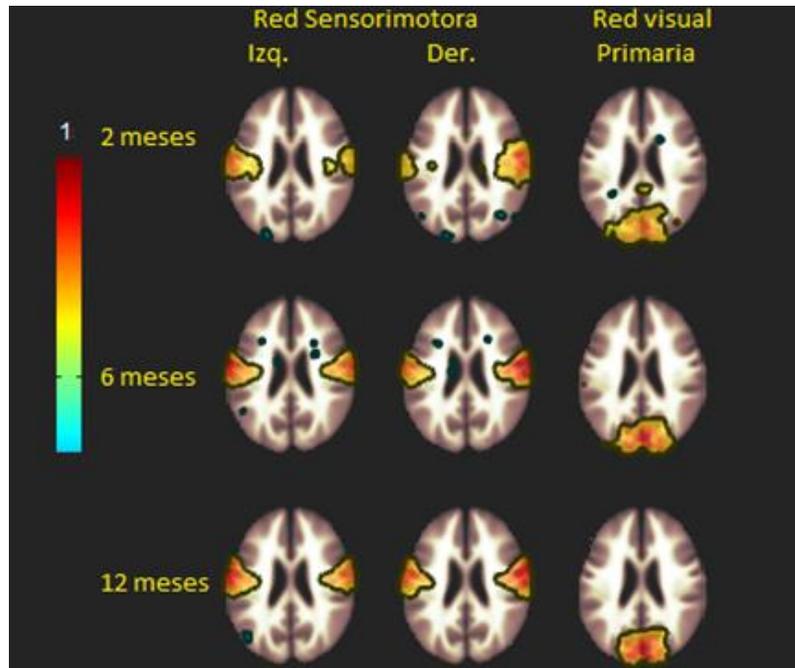


Figura 7: Mapas promedio que muestran la maduración de la conectividad funcional de las Redes Sensorimotora y Visual.

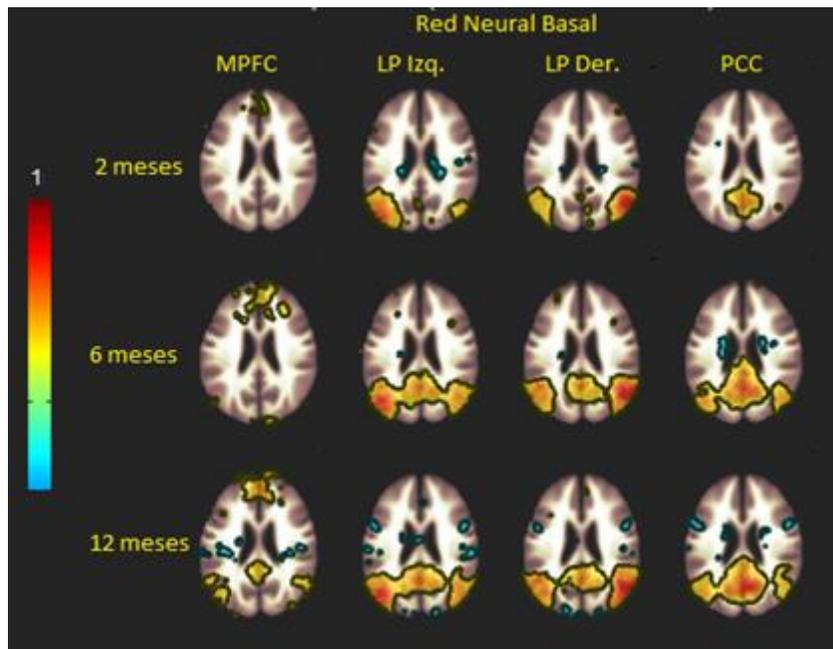


Figura 8: Red Neural Basal con sus 3 nodos (corteza prefrontal medial (mPFC en inglés), parietal lateral (LP en inglés) bilateral y corteza posterior el cíngulo (PCC en inglés)).

Conectividad funcional según el grado de anormalidad de sustancia blanca

I Se calculó la correlación homotópica entre los nodos de la red Sensorimotora, es decir, la correlación entre el nodo izquierdo y derecho de dicha red. La muestra se dividió de acuerdo con la clasificación de ASB, en las tres edades de estudio.

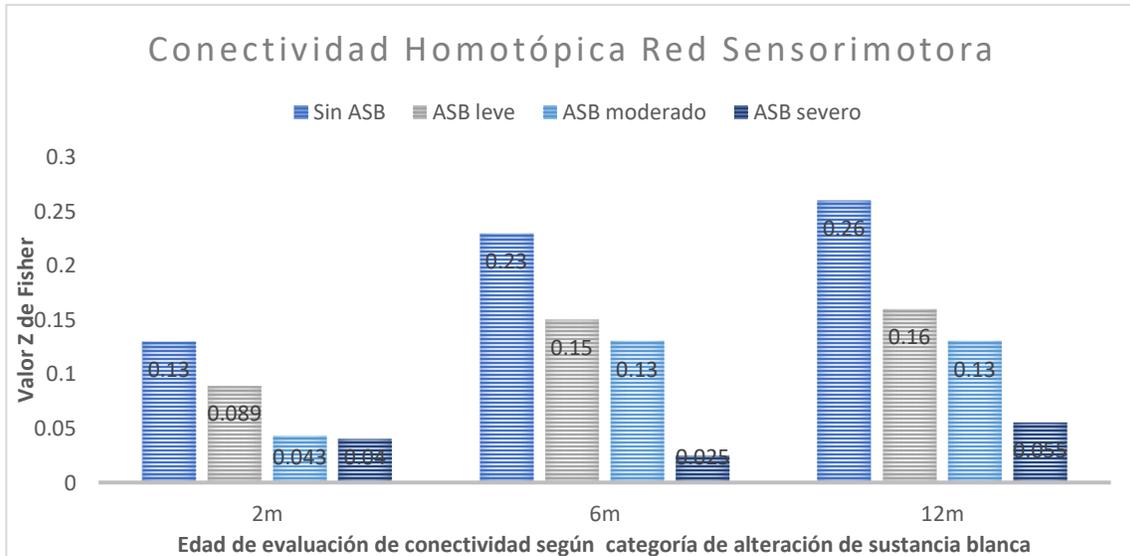


Figura 9: Conectividad Homotópica de los nodos de la red sensorimotora según el grado de ASB y los meses en estudio.

La Figura 9 muestra la conectividad Homotópica entre los nodos Sensorimotores izquierdo y derecho, según el grado de ASB a los 2, 6 y 12 meses del estudio, utilizando los valores de correlación transformados a valores Z-Fisher. De manera más específica, se determina una semilla en un nodo y se evalúan los vóxeles dentro de la máscara correspondiente al nodo contralateral. El número de participantes por cada categoría es el siguiente: Sin ASB n=3, ASB leve n=10, ASB moderada n=2 y ASB severa n=2. A pesar de que varias comparaciones estadísticas resultaron significativas en este análisis, no las reportamos debido a que los grupos más afectados estaban compuestos por solo 2 participantes.

Para tratar de atenuar el efecto del desbalance de la muestra y mejor ilustrar estas diferencias, agrupamos a los participantes en dos grupos: Menos Afectados (que comprende a los clasificados como Sin ABS y ASB Leves) (N=13) y los Más Afectados (que incluye a los ASB Moderados y ASB severos) (N=4) (Smyser et al., 2013).

En la Figura 10 se muestran los resultados para la red sensorimotora, utilizando este nuevo agrupamiento, en el cual se aprecian importantes diferencias en la conectividad entre ambos grupos. Dichas diferencias fueron significativas en las tres edades, con $p < 0.00001$.

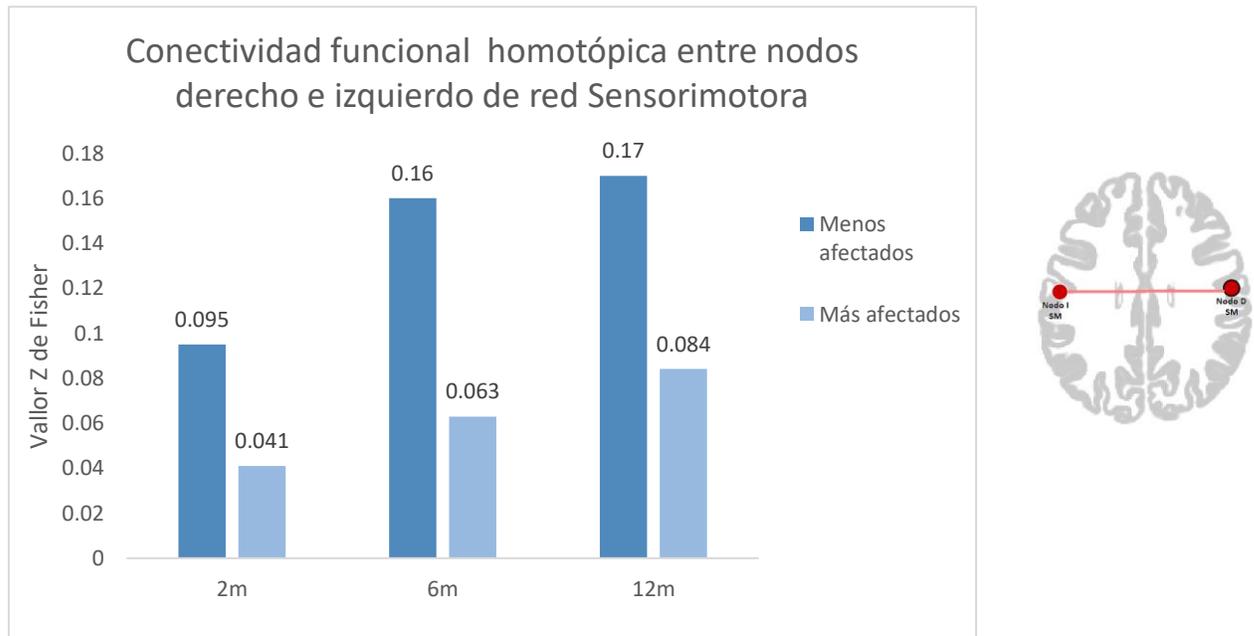


Figura 10: Conectividad Homotópica bilateral red Sensorimotora agrupada por menos afectados $n=13$ (sin ASB y ASB leves), con los más afectados $n=4$ (ASB moderados y ASB severos). En todas las edades evaluadas la diferencia fue estadísticamente significativa con una $p < 0.05$ y corrección por FDR. Cerebro de la derecha es la ejemplificación de los nodos evaluados.

Para tratar de atenuar el efecto del desbalance de la muestra y mejor ilustrar estas diferencias, agrupamos a los participantes en dos grupos: Menos Afectados (que comprende a los clasificados como Sin ABS y ASB Leves) ($N=13$) y los Más Afectados (que incluye a los ASB Moderados y ASB severos) ($N=4$) (Smyser et al., 2013).

En la Figura 10 se muestran los resultados para la red sensorimotora, utilizando este nuevo agrupamiento, en el cual se aprecian importantes diferencias en la conectividad entre ambos grupos. Dichas diferencias fueron significativas en las tres edades, con $p < 0.00001$.

La Figura 11 muestra la conectividad Homotópica entre los nodos laterales parietales de la red neural basal, las diferencias según el grupo más y menos afectados es estadísticamente significativa con una $p < 0.00001$.

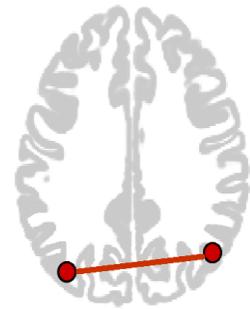
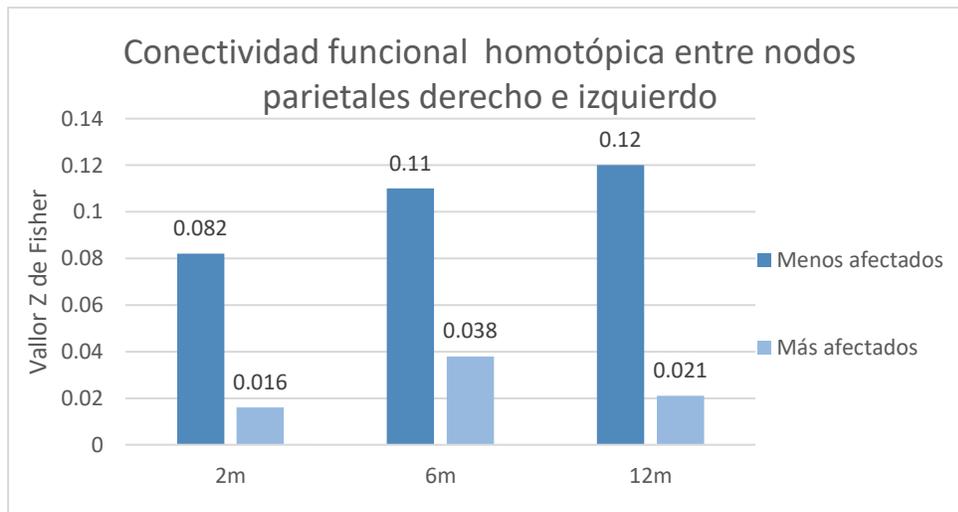


Figura 11: Conectividad Homotópica entre los nodos parietales derecho e izquierdo. Lado derecho se grafican los dos nodos parietales en color rojo.

II Se calculó la correlación Heterotópica con semillas en nodos de la red Sensoriomotora y red Neural Basal, comparando los grupos Menos Vs. Más afectados en diferentes Regiones de interés “objetivo” (targets en inglés).

Conectividad entre los nodos MPFC y PCC ambos de la red neural basal.

En la Figura 12 se muestran los resultados del análisis de conectividad entre los nodos parietales MPFC y PCC. La ubicación de estos nodos es mostrada a la derecha en la figura. Esta es una de las redes descritas como fragmentada o inactiva al momento del nacimiento (Doria et al.,2010).

Conectividad entre nodo derecho e izquierdo de la red sensorimotora y nodos de la red dorsal de atención (RDA) derecho e izquierdo frontal.

De manera exploratoria se pretende estudiar el comportamiento de la conectividad entre la red sensorimotora (función motora) con la red dorsal de atención (implicada en los procesos de atención) se seleccionaron los nodos derecho e izquierdo de las redes de interés y se calcularon las correlaciones entre ellos, de manera separada para los grupos Menos y Más Afectados. Esta relación podría ser el objetivo de un próximo estudio, debido a que clínicamente los prematuros más afectados tienden a tener alteraciones en la atención (Volpe et al., 2011; de Jong et al.,2015).

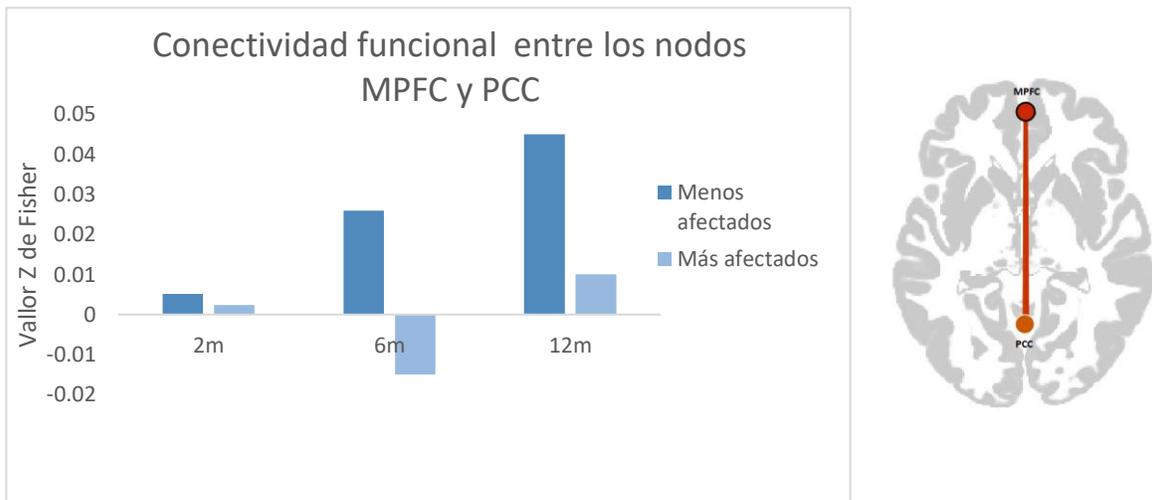


Figura 12: Conectividad entre los nodos parietales MPFC y PCC. A la derecha se grafican los dos nodos centrales en color rojo. Esta es una de las redes descritas como fragmentada o inactiva al momento del nacimiento (Doria et al.,2010)

La Figura 13 muestra el valor de las correlaciones entre los nodos izquierdos y derechos de las redes sensorimotora y de atención frontal respectivamente, a las tres edades del estudio, para los dos grupos de afectación de la sustancia blanca. Los valores de correlación fueron transformados a valores Z-Fisher. Las diferencias fueron estadísticamente significativas a los 6 meses tanto en el lado derecho como izquierdo y a los 12 meses sólo en el hemisferio derecho.

Conectividad entre el nodo izquierdo de la red sensorimotora y corteza opercular del mismo lado.

De la misma manera, se seleccionaron la red Sensorimotora izquierda y corteza opercular del mismo lado. La corteza opercular ha sido relacionada con un síndrome opercular de origen congénito debido a alteraciones de la migración neuroplástica durante la organización del cerebro (etapa comprendida desde los 5 meses de edad gestacional hasta la vida posnatal) (Vargas Diaz et al. 2012), que se manifiesta como una alteración en el lenguaje. El lenguaje es una de las funciones que aparece alterada en los niños con lesiones en la sustancia blanca, y ha sido una de las alteraciones presentes en los participantes de nuestra muestra. Se calculó la correlación entre ellos, a las tres edades del estudio y para cada grupo por afectación de sustancia blanca por separado. Las diferencias entre los grupos en las tres edades fueron significativas con $p < 0.0001$. Los resultados se muestran en la Figura 14.

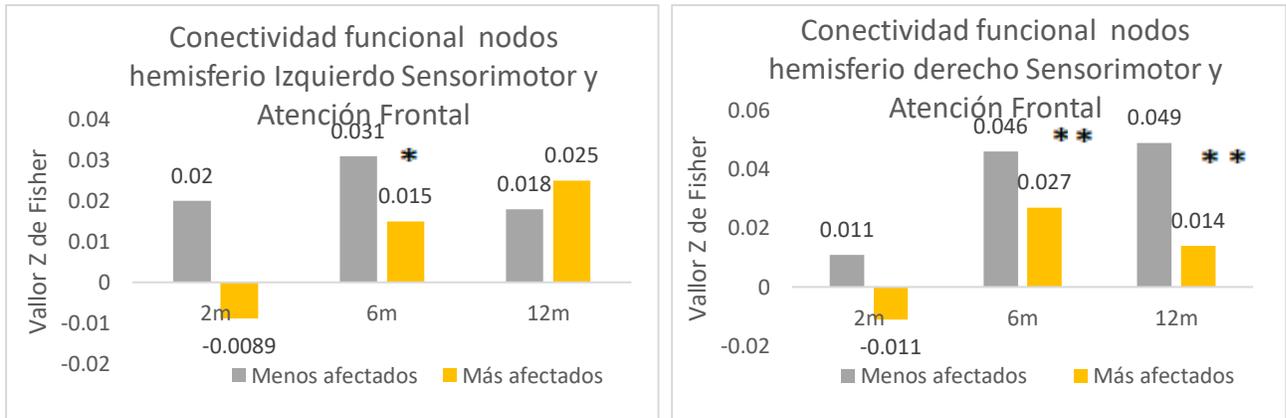
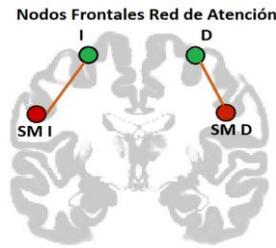


Figura 13: Correlaciones homotópicas de las redes sensorimotor y de atención frontal respectivamente, a las tres edades del estudio, para los dos grupos de afectación de la sustancia blanca. En gris, el grupo de los Menos Afectados; en amarillo el grupo de los Más Afectados. El asterisco (*) marca las medidas que fueron estadísticamente diferentes (** means $p < 0.0001$; * means $p < 0.01$).

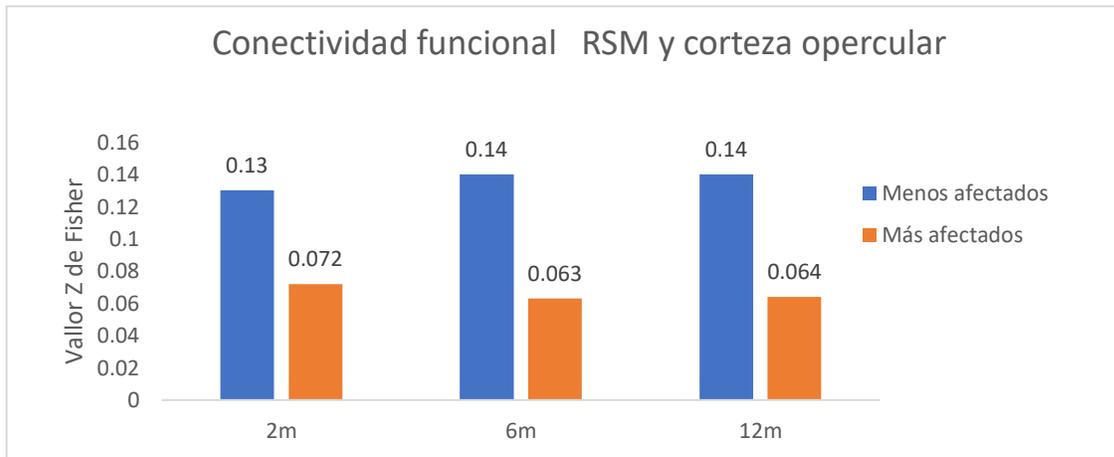


Figura 14: Valor de las correlaciones entre los nodos izquierdos de la red sensorimotor y la corteza opercular izquierda, a las tres edades del estudio, para los dos grupos de afectación de la sustancia blanca. En azul, el grupo de los Menos Afectados; en naranja el grupo de los Más Afectados. Las diferencias entre los grupos en las tres edades fueron significativas con $p < 0.0001$.

III Evolución de la conectividad homotopica y heterotopica en forma de trayectoria para los 17 participante en cada una de las edades.

En la Figura 15 se visualizan las trayectorias de las correlaciones entre los nodos de interes: Sensorimotor, Neural Basal y de Dorsal de Atención. La estimación lineal fue válida para la conectividad entre los nodos Sensorimotorez izquierdo y derecho con la corteza medial prefrontal (mPFC) y dentro de la red neural basal entre los nodos mediales de la corteza prefrontal y corteza posterior del cíngulo. El ajuste cuadrático fue el más adecuado para los valores de conectividad homotópica entre los nodos sensorimotorez y para la conectividad homolateral entre nodo sensorimotor y nodo de la red de atención frontal, tanto para el hemisferio izquierdo como derecho.

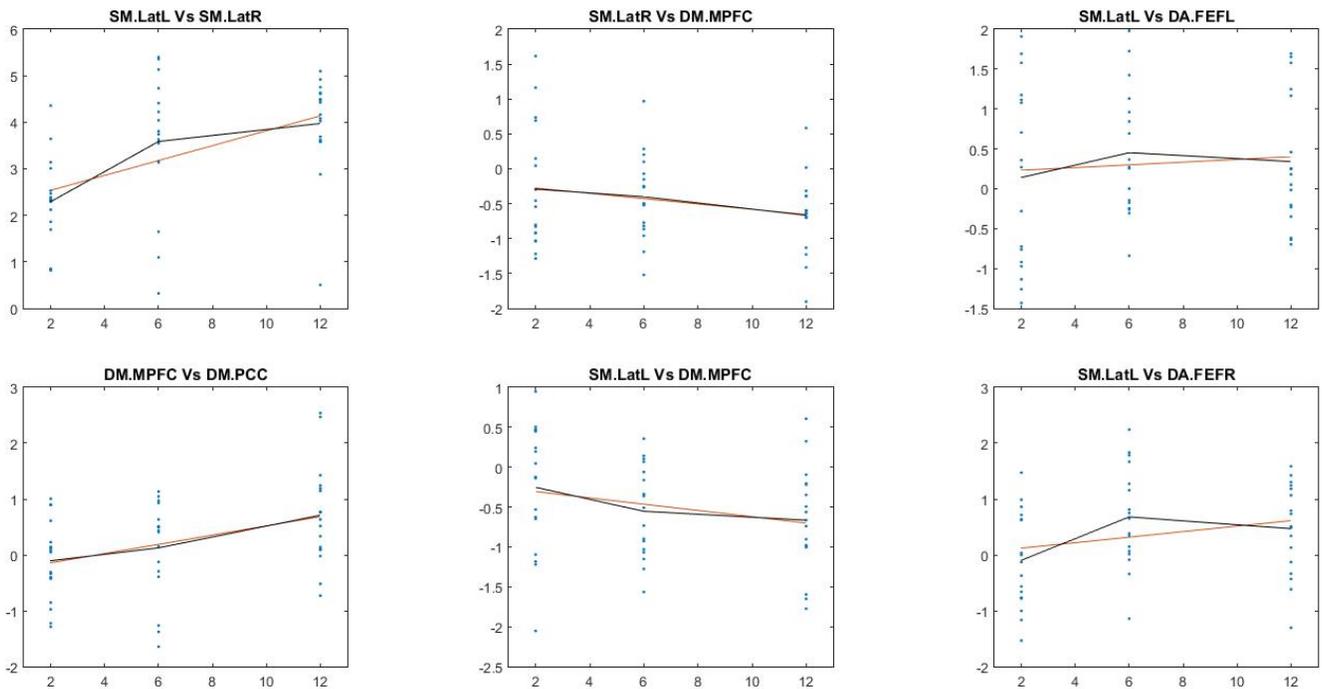


Figura 15: Trayectorias de evolución de las conexiones internodos desde los 2 meses hasta los 12 meses en todos los participantes de la muestra (17 puntos por cada edad de estudio). En cada gráfica se cuenta con una estimación lineal (en color naranja) y otra cuadrática (en color gris) para visualizar de mejor manera el comportamiento de los datos. SM lat L = nodo sensorimotor izquierdo; SM lat R = nodo sensorimotor izquierdo; DM MPFC = nodo medial de la corteza prefrontal de red Neural Basal; DA.FEF = nodo frontal de la red de Atención; DM PCC = nodo de la corteza posterior del cíngulo de la red Neural Basal.

IV Matrices Globales de correlación

El análisis a continuación fue realizado fuera del medio ambiente de CONN, por programas escritos en Matlab, utilizando datos generados como resultados parciales por CONN durante su funcionamiento. CONN es suficientemente flexible para permitir este tipo de interacción, en extremo útil, pues ahorra mucho esfuerzo de programación a la vez que permite estandarizar las herramientas de trabajo.

La razón fundamental para ello fue la necesidad de ajustar los análisis estadísticos a las necesidades del proyecto.

Debido a los tamaños de muestra, y para estandarizar los análisis estadísticos, en el estudio longitudinal se utilizó una prueba estadística de Friedman, que es el equivalente de la prueba de análisis de la varianza (ANOVA one-way) un grupo de participantes con dos o más medidas repetidas. Esta prueba se utiliza como una alternativa al ANOVA one-way para muestras repetidas, cuando el tamaño de las muestras es demasiado pequeño como para satisfacer la hipótesis de distribución gaussiana e igualdad de varianzas de estas.

Este análisis se hace solamente a modo de ilustración, debido al tamaño de la muestra de Más Afectados, y debería repetirse para validarlo cuando se cuente con una muestra más grande.

A modo de ilustración se muestran los cambios madurativos observados en la conectividad funcional de manera global, se tomaron los valores de correlación entre los 32 nodos disponibles en la parcelación de CONN y se construyeron las matrices para comparar según las edades de estudio y los grupos más y menos afectados por la ASB. En la Figura 16 se muestran las matrices del grupo de los Menos Afectados en 3 edades comparativas y en la Figura 17 se muestran las matrices de los Más afectados en las mismas 3 edades comparativas. En ambas figuras, las comparaciones estadísticas están hechas en el orden en que se indica en el título, es decir: 2 – 6 meses; 2 – 12 meses y 6 – 12 meses. En escala de colores se muestra el resultado de las diferencias, por tomar como referencia el mes inferior para realizar los cálculos, la forma de ver un incremento entre el mes de base y el siguiente es mediante el color azul que representa valores negativos.

En la Figura 16 del grupo menos afectado, las conexiones que presentan un aumento de sus valores de correlación fueron las relacionadas con procesos cognitivos superiores y de mayor complejidad como lo son la Red Neural Basal, Red Dorsal de Atención Frontal, Red de lenguaje, Saliente y Frontoparietales. Entre las 3 edades comparadas es de interés destacar que el número de redes con cambios

significativos fue mayor en la comparación entre 2 y 6 meses con 12 conectividades relevantes y entre los 2 y 12 meses las redes significativas son sólo mitad.

En la Figura 17 las principales diferencias entre el el grupo de los más afectados, a los 2 versus 6, 2 versus 12 y 6 versus 2, fueron más reducidas que en el grupo anterior y menos variadas. En este grupo no aparecen cambios en la Red Neural Basal ni la Red Sensorimotora, sólo aparecen cambios entre nodos de la red Saliente, un nodo de la Red de Atención, un nodo de la Red frontoparietal y un nodo de la red de lenguaje.

V Comparación de las diferentes medidas de grafos en las 32 redes disponibles según las edades de estudio.

En la Figura 18 se muestran los valores umbralizados de las medidas de teoría de grafos: Eficacia global y local, centralidad, costo, camino promedio, coeficiente de agrupamiento y grado. Se realizó la comparación por grupos de 2 - 6 meses y 6 - 12 meses con una prueba estadística no paramétrica con significancia < 0.01 , en código de colores se muestran las medidas, el punto de referencia es el mes inferior, por lo que un valor positivo quiere decir que la medida disminuye (color amarillo), por el contrario, un valor negativo quiere decir que el valor de la medida aumenta (color azul).

Las principales diferencias entre los 2 y 6 meses se reflejan en la Eficacia Local de la Red Sensorimotora (RSM) y la Red de Atención (RA), un aumento en el Tamaño de Cluster de la Red Frontoparietal y en el nodo PCC de la Red Neural Basal (RNB). La disminución de valor ocurre en la medida de Camino Promedio en la RNB los nodos parietales, Red Saliente y nodo Visual medial. La Eficacia Global aumenta en red SM, Visual, Saliente, Dorsal de Atención y Frontoparietal. Entre los 2 y 12 meses los cambios son más evidentes en todas las medidas de grafos, aparecen más Redes con cambios en todas las medidas conservando el patrón mostrado en la comparación anterior. El aumento de Costo fue significativo para las Redes: Frontoparietales, Dorsal de Atención, Saliente, Visual y Sensorimotora. El cambio de Camino Promedio disminuyó en las mismas redes que aumentó el costo.

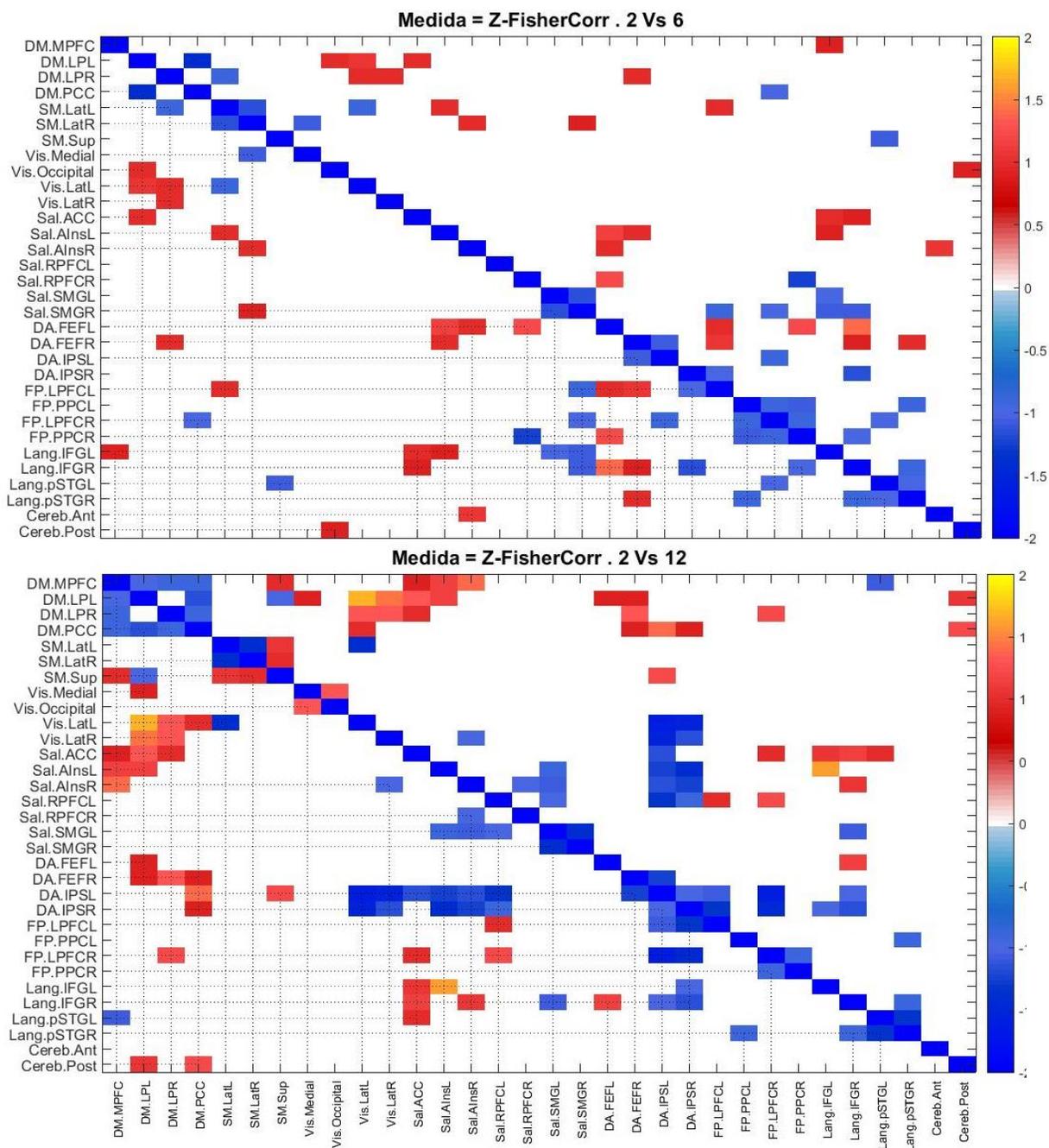


Figura 16: Matrices de correlaciones entre los 32 nodos de la parcelación por default de CONN para el grupo de los **menos afectados**. La Significancia fue evaluada con test de Friedman y una $p= 0.05$.

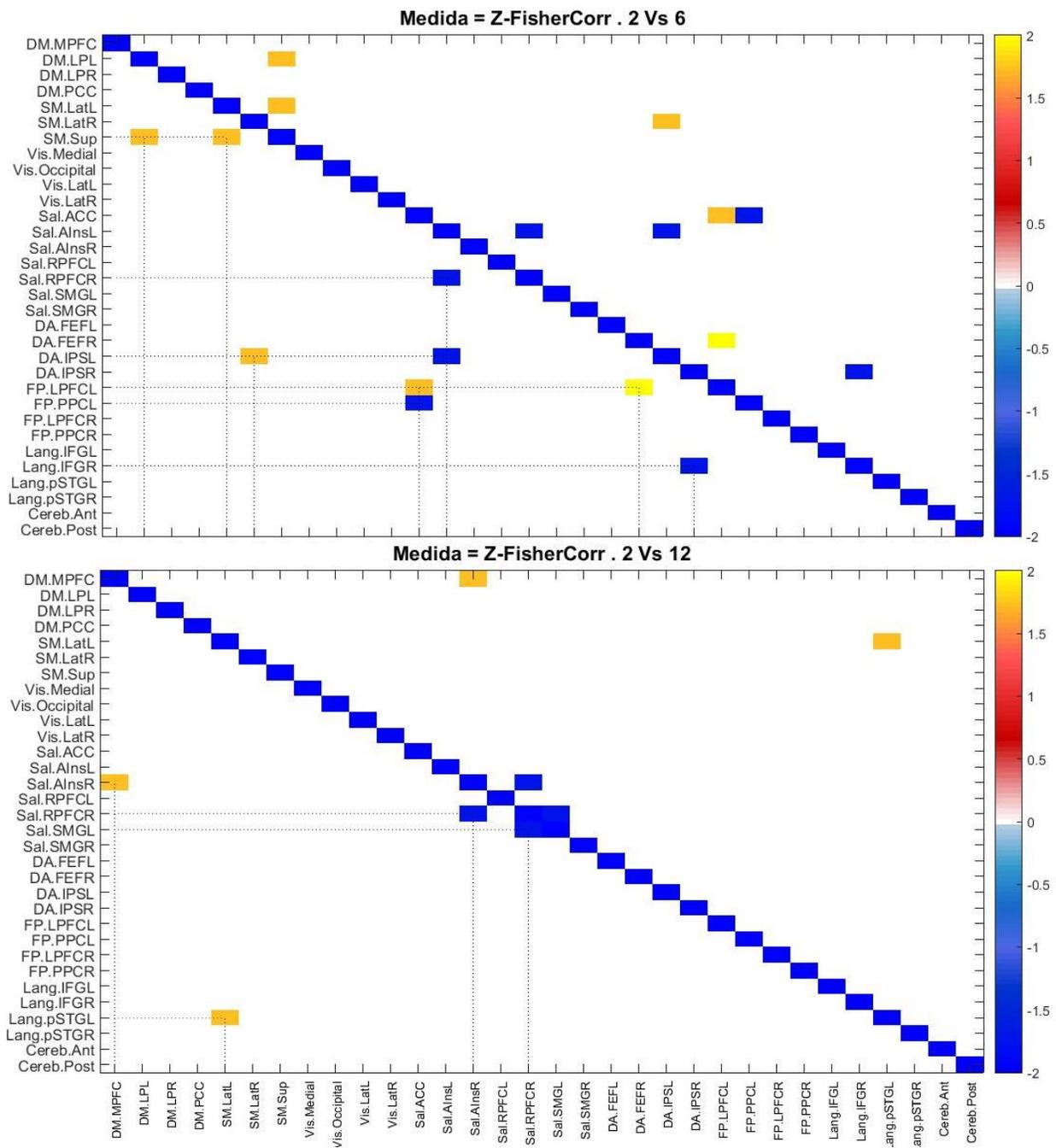


Figura 17: Matrices de correlaciones entre los 32 nodos de la parcelación por default de CONN en el grupo de los **más afectados**. La Significancia fue evaluada con test de Friedman y una $p= 0.05$.

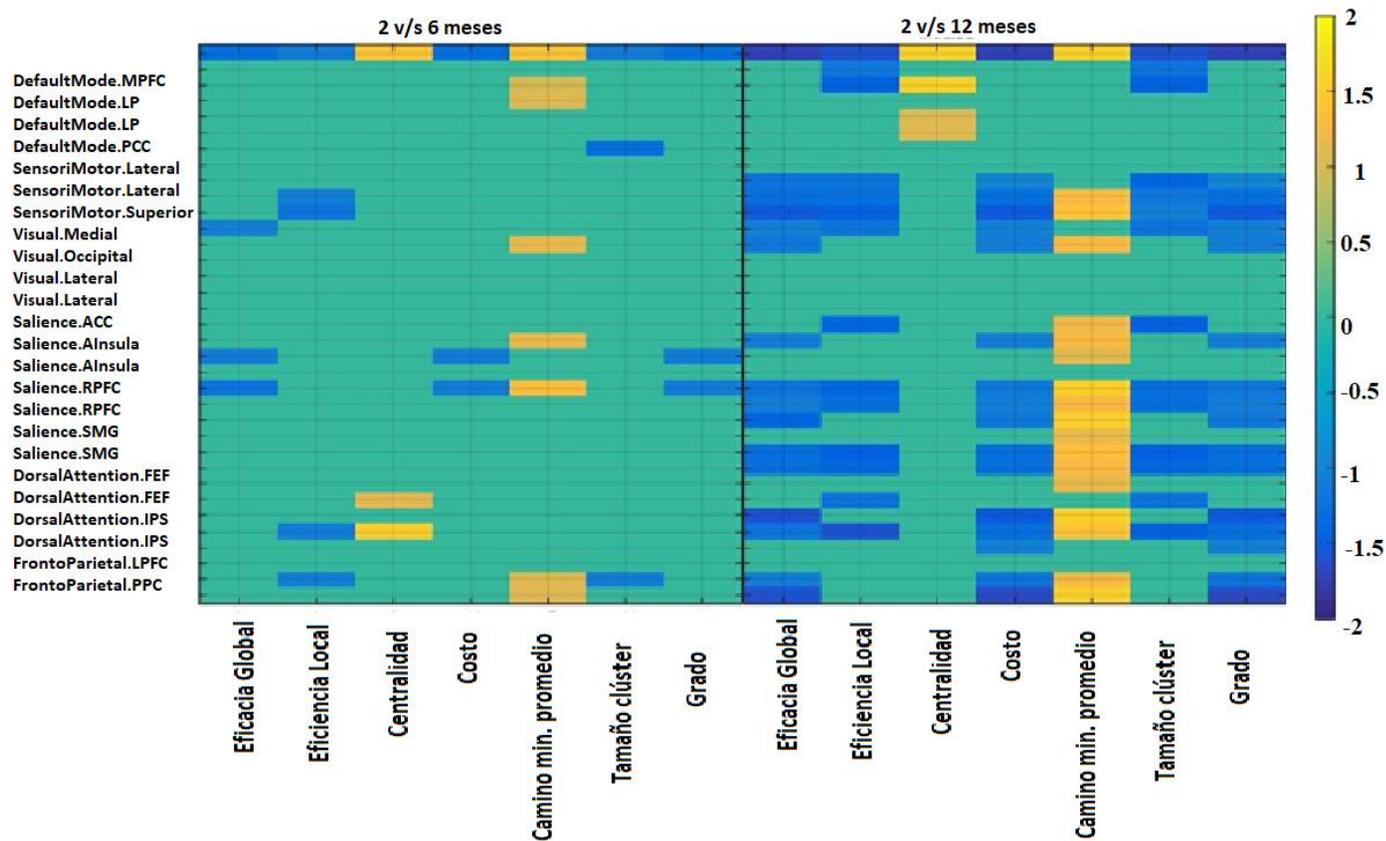


Figura 18: Matriz de los 32 nodos con las medidas de grafos calculadas en el programa CONN. Se realizó una comparación estadística para ver si las diferencias entre los valores de los grupos de edad son estadísticamente significativas, con una $p < 0.001$. No se realizó test por múltiples comparaciones. El color amarillo, que representa un valor positivo, quiere decir que la medida ha disminuido en comparación a los 2 meses. El color azul por el contrario muestra las medidas que han aumentado su valor desde los 2 meses.

DISCUSIÓN

El primer paso de esta tesis consistió en la elaboración de un método para el pre-procesamiento de las imágenes anatómicas y funcionales de resonancia magnética, que permite obtener una segmentación adecuada de la sustancia gris, blanca y líquido cefalorraquídeo desde los 2 meses de edad. También se elaboró un método para la parcelación de la sustancia gris, basado en un atlas segmentado de manera manual por el Dr. Eduardo Aubert Vázquez, del Centro de Neurociencias de Cuba, para bebés durante el primer año de vida. Dicho atlas está basado en la parcelación AAL, del atlas para adultos del Instituto Neurológico de Montreal. A partir de este atlas, y con una modificación realizada a la herramienta IBASPM (Aleman-Gomez et al., 2006) desarrollado en el Centro de Neurociencias de Cuba, se calcula el volumen cortical de las 90 estructuras del cerebro del lactante. De este procedimiento, también se obtiene el cálculo del volumen total del cerebro.

Otro programa desarrollado por el Dr. Aubert permite el cálculo de la circunferencia cefálica, a partir de las imágenes anatómicas del lactante. El programa funciona en modo automático y permite una revisión fuera de línea de sus resultados. En casos en que se detecte que el algoritmo automático ha cometido errores, se puede realizar un cálculo manual de la misma. De acuerdo a nuestra experiencia, más de los perímetros cefálicos calculados de manera automática, no necesitan ninguna corrección manual.

A partir de la segmentación del líquido cefalorraquídeo, con un programa adicional desarrollado por el Dr. Aubert, se realiza una separación de los ventrículos laterales, lo que permite calcular de manera automática el volumen de los ventrículos. Al restar el volumen de los ventrículos laterales del total del líquido cefalorraquídeo, queda un estimado tridimensional del espacio subaracnoideo.

La segmentación de la sustancia blanca puede ser usada además como restricción a priori, con las imágenes de difusión del agua, para dirigir el cálculo de la tractografía, cualquiera sea el método que se utilice. Esto evita que los métodos de tractografía, busquen tractos en la sustancia gris, mejorando y haciendo más eficientes sus resultados.

Toda la metodología descrita en esta tesis está enfocada en el concepto de investigación reproducible y de “provenance” (procedencia), elementos que muchos investigadores no toman en cuenta a la hora de realizar sus trabajos, lo que los hace difícilmente reproducibles y replicables. En esta tesis tratamos de establecer pautas

y elaborar estándares que faciliten el trabajo posterior, haciendo nuestra investigación reproducible. Ofrecemos de manera detallada todos los algoritmos y métodos utilizados, en forma de Manual de Procedimientos, con ejemplos de prueba que pueden ser seguidos de principio a fin.

El segundo paso abordó el análisis de la maduración de la conectividad funcional, basado en imágenes de fMRI en estado de reposo.

El estudio de la conectividad cerebral basada en resonancia magnética en estado de reposo es muy amplio, diverso, en ocasiones contradictorio y hasta controversial. No solamente existen distintas aproximaciones, sino también numerosas herramientas de software, elaboradas en distintos sistemas operativos, algunas de las cuales no se comunican entre sí. Cada una de ellas puede dar resultados diferentes y, para hacer más complicado el cuadro, no existe un consenso único en cuanto al número y forma de aplicación de los pre-procesamientos que se realizan al dato, todo lo cual puede también afectar el cálculo posterior de la conectividad. Como si fuera poco, el número de medidas de conectividad parece ser infinito y es difícil determinar cuáles de ellas resultarán las más apropiadas o brindarán la mejor información.

Para lidiar con este problema en esta tesis, utilizamos el programa CONN (Whitfield-Gabrieli y Nieto-Castanon 2012), que ha venido ganando popularidad y estabilidad en los últimos tiempos, CONN tiene además un buen soporte por parte de los autores y una amplia lista de discusión, que facilita el intercambio de opiniones. Algunos de los resultados intermedios de CONN fueron extraídos y procesados fuera de línea con otros algoritmos matemáticos de desarrollo propio, que permite realizar tareas no contempladas en CONN.

Dentro del diseño se considero tener 3 puntos de evaluación para determinar si el tiempo intermedio de los 6 meses pudiera brindarnos información relevante sobre el desarrollo de la conectividad. A los 6 meses comenzó a mostrarse una tendencia positiva en términos de la conectividad homotópica sensorimotora, esto pudiera ser relevante si se tuviera algún sistema de estandarización de los resultados y poder comparar distintas poblaciones y lograr valores de referencia.

Para poder restringir el análisis de la conectividad a aquellos que pudieran ser más relevantes a nuestro problema, nos basamos en los hallazgos más consistentes reportados en la literatura, como se ha explicado en la sección de Métodos. Ello nos permitió comparar nuestros resultados con los reportados en la literatura, lo que constituyó a su vez una validación de nuestra metodología.

De los resultados obtenidos en las distintas gráficas y análisis realizados, se mostró que el grado de Anormalidad de la Sustancia Blanca afecta negativamente el nivel de Conectividad Funcional entre las regiones homotópicas de la Red Sensorimotora (RSM) y Red Neural basal (RNB). De gran interés para este análisis resultó que los participantes del grupo menos afectados mostraron un patrón de evolución consistente con lo previamente descrito en la literatura tanto para bebés nacidos prematuros como niños sanos al año de vida, donde se ha demostrado que las Redes Primarias están presentes desde el nacimiento (Doria et al.,2010) y Redes de mayor complejidad se van organizando y sincronizando acercándose a los 12 meses (Gao et al.,2015). Esta RSM ha sido considerada como una de las redes primarias que desde el momento del nacimiento tienen una apariencia similar a la conectividad que se presenta en el adulto. A pesar de esos hallazgos en este estudio se pudo mostrar que en lo que respecta a los prematuros nacidos con menos de 32 SEG, durante el primer año de vida, se evidencia un incremento de los valores de conectividad funcional tomando como referencia el valor de correlación de los 2 meses. La propuesta de Doria et al. 2010 de la similitud de las Redes primarias del prematuro a las que se han descrito para el adulto, puede deberse al diseño de su estudio, siendo una gran limitante el modelo transversal cuando se sabe que durante el primer año de vida los cambios son críticos y relevantes en el futuro de cada niño.

El análisis de primer nivel permitió evidenciar la organización y maduración de las redes estudiadas a nivel individual. La Figura 6 muestra los resultados obtenidos para 4 niños con diferente grado de alteración de la sustancia blanca, a los 2, 6 y 12 meses, para la Red Sensorimotora. Puede observarse la presencia de dicha red desde los 2 meses, con un alto grado de organización que se mantiene hasta los 12 meses del estudio. Debe señalarse que, poniendo la semilla en la red sensorimotora izquierda los resultados fueron similares, por lo cual se omitió la figura.

El análisis de segundo nivel permitió confirmar estas observaciones a nivel muestral, para los 17 participantes, sin distinción del daño de la sustancia blanca: las Redes Sensoriomotora y Visual estuvieron presentes y con un alto grado de organización desde los primeros meses, sin cambios significativos durante el primer año, en concordancia con (Gao et al., 2015), como se muestra en la Figura 7. Obsérvese, que de manera visual las tres edades presentan una región Sensorimotora muy robusta desde los 2 meses de edad, es importante considerar que en esta gráfica están todos los participantes y no se aprecia el efecto de la ASB.

A diferencia de las redes primarias, la Red Neural Basal en la Figura 8 muestra la evolución de sus nodos durante el primer año, el nodo medial de la corteza

prefrontal (MPFC) comienza a ser visible a los 6 meses y 12 meses, el nodo de la corteza posterior del cíngulo (PCC) es visible de manera clara desde el comienzo y apoya la idea de que este nodo PCC es un organizador de la conectividad de su red. Esta evolución fue previamente descrita por Gao et al. 2009 en niños sanos entre 0 y 2 años.

Con relación a la clasificación de Anormalidad de Sustancia Blanca (ASB), de los resultados presentados, se puede mencionar que la presentación de las 4 categorías de ASB se relaciona bastante bien con las estadísticas que mencionan que en la actualidad el daño severo ha disminuido su manifestación (17%) y que el mayor predominio es del tipo leve (Gano et al. 2015). Por lo que nuestra muestra es un buen reflejo de la estadística actual. De la información y gráficas que relacionana el grado de ASB y conectividad homotópica en la RSM, se evidenció que si el daño es moderado o severo, se puede ver alterada la fuerza de conectividad en redes tan estables o consolidadas como la Sensorimotora, pero si el daño es leve, en términos cualitativos las gráficas se muestran bastante similares a las obtenidas por participantes sin ASB.

En la Figura 9 el gráfico nos muestra el valor Z de Fisher que corresponde a la fuerza de conectividad entre los nodos de la red sensorimotora y podemos describir la evolución de cada subgrupo de ASB desde los 2 hasta los 12 meses. De esta figura se pudo analizar lo siguiente: a los 2 meses entre las 4 categorías de anormalidad de sustancia blanca se mostró que existió una correlación directa y negativa entre la fuerza de la conectividad funcional y el grado de afectación de la ASB, teniendo mayor conectividad el grupo sin afectación de ASB y muy baja para el de ASB severa (sin ASB= 0.13, ASB leve= 0.089, ASB moderada=0.043 y ASB severa=0.04). A los 6 meses se mostró una tendencia al aumento en 3 grupos exceptuando al severo, el que incluso disminuyó sus valores (sin ASB= 0.23, ASB leve= 0.15, ASB moderada=0.13 y ASB severa=0.025). A los 12 meses los valores de conectividad muestran un discreto aumento especialmente en los grupos leve y moderado (sin ASB= 0.26, ASB leve= 0.16, ASB moderada=0.13 y ASB severa=0.055), lo cual podría indicar que es durante los primeros 6 meses de vida el periodo más crítico del desarrollo de la conectividad de esta red, al menos durante el primer año de vida en los participantes evaluados. Considerando los primeros 6 meses como vitales para los cambios relacionados al desarrollo, el aumento de los valores de conectividad de los 2 a los meses en el grupo de leves y moderado se pudiera apreciar el impacto positivo de la intervención neurohabilitatoria. Los valores se mantienen similares hasta los 12 meses, lo que pudiera apoyar los efectos

benéficos reportados por esta terapia en una población con alto riesgo de alteraciones del neurodesarrollo mostrados por Harmony et al. (2016).

Los participantes sin ASB tienen una mayor conectividad funcional homotópica entre los nodos de la red sensorimotora en cada edad evaluada. A los dos, seis y doce meses las pruebas estadísticas entre categorías de ASB arrojaron diferencias estadísticamente significativas con una $p < 0.05$. Se aplicó una corrección por $FDR < 0.05$ para corregir por el efecto por multicomparaciones. Las diferencias sólo fueron significativas entre el grupo ASB leve contra ASB severa y el grupo sin ASB, aunque los resultados no pueden ser considerados concluyentes debido al pequeño tamaño de la muestra. Para disminuir un poco el desbalance de la muestra, los participantes fueron divididos en dos grupos, de acuerdo a la severidad de la lesión de sustancia blanca: Menos afectados (sin ASB o Leve ASB) ($n=13$) y Más Afectados (Moderada y Severa ASB) ($n=4$).

Los resultados obtenidos de las pruebas estadísticas demuestran que efectivamente fue acertado considerar el estudio a los 6 meses, ya que se observó una maduración no lineal de la conectividad entre las diferentes redes, donde la mayor parte de los cambios se observaron durante los primeros meses, por ejemplo, los comentados acerca de la conectividad homotópica sensorimotora.

En la Figura 10 el agrupamiento por menos y más afectados refleja el efecto de la conectividad evidenciado previamente de manera separada por cada categoría (ver Figura 9). En cada edad evaluada las diferencias son estadísticamente significativas, los menos afectados presentan mayor fuerza de conectividad comparado con los más afectados en las 3 edades del estudio.

En la Figura 11 la tendencia de la conectividad en el grupo menos afectados es al aumento, en el grupo de los más afectados si bien hasta el mes 6 se observó un discreto aumento, es a los 12 meses donde se manifiesta un cambio en la tendencia y una ligera inflexión hacia valores más bajos que el periodo anterior. Esta disminución de la conectividad se podría relacionar con las alteraciones y conectividad aberrante descrita por Smyser et al. 2016, donde tanto la magnitud como la complejidad de las redes aparece afectada.

En la Figura 12 se evidencian los nodos de la Red Neural Basal donde la conectividad muestra una tendencia al incremento de sus valores entre los 2 y 12 meses. Esta Red se ha relacionado con procesos cognitivos superiores y autorreferenciales, por lo que no es difícil comprender el aumento de su conectividad desde los 2 hasta los 12 meses. Sin embargo, el grupo de los más afectados a los 6

meses presenta un brusco descenso en los niveles de conectividad lo que se puede explicar directamente, pero con la literatura disponible se pudiera considerar que la conectividad aberrante del grupo más afectado pudiera relacionar con las alteraciones cognitivas y conductuales comúnmente reportadas cercano a los 2 años o en la etapa escolar (He et al. 2015). Es importante resaltar que la diferencia a los dos meses es muy baja, lo que nos pudiera llevar a plantear cuál sería la edad óptima para evaluar las diferencias en valores de conectividad o qué redes serán las más sensibles o significativas para intentar determinar algún biomarcador de utilidad clínica o investigativa.

Tanto la Figura 13 como la Figura 14, fueron creadas para ver el comportamiento en nuestra muestra de resultados reportados previamente en la literatura, relacionados con antecedentes de las alteraciones de los niveles y habilidades de atención y lenguaje en algunos de los prematuros con mayor grado de ASB (de Jong et al. 2015; Gano et al. 2015). De la Figura 13 la conectividad entre las semillas de la Red Sensorimotora (RSM) y la Red Dorsal de Atención (RDA) frontal muestran una disminución de la conectividad en el grupo de los más afectados comparado con los menos afectados. A los 12 meses de edad, aparece un aumento en la conectividad de los nodos izquierdos, tanto de RSM y RDA del grupo más afectado muy distinto a lo esperado. Lamentablemente, con la información disponible es difícil poder dar una explicación a ese dato, pero se plantea un primer acercamiento y que se pueda retomar en un próximo estudio específico entre la RSM y las habilidades de atención y las alteraciones del lenguaje. Resultaría interesante correlacionar la conectividad funcional de estas redes con el desarrollo cognitivo y del lenguaje de los lactantes, especialmente al año de vida. Este es un objetivo que nos queda planteado para el futuro. Disponemos de las pruebas cognitivas de Bayley para los participantes en este estudio, pero algunos de ellos fueron evaluados con la versión II y otros con la versión III de la escala de Bayley, por lo que se hace necesario, como primer paso, la aplicación de una sola prueba.

En las matrices presentadas en la Figura 16 y Figura 17 se muestra la comparación estadística de la conectividad entre las redes en las tres edades del estudio. La mayor diferencia se encuentra entre los 2 y 6 meses de edad y en menor medida de 6 a 12. Las principales conexiones que permanecen con diferencias estadísticamente significativas representadas en color azul son las redes relacionadas con procesos de atención, frontoparietales y neural basal, todas ellas con abundantes referencias de procesos cognitivos complejos. El tipo de redes también se caracteriza por mostrar principalmente redes que presentan conexiones

de largo rango, lo que ha sido ampliamente descrito en relación al desarrollo de la conectividad con una evolución desde la conectividad de corta distancia a la de mayor distancia. Estas matrices muestran un comportamiento similar al descrito por Smyser et al., 2016 donde hace referencia que los prematuros tienen una disminución en la complejidad y magnitud de sus redes, dejando en evidencia la afectación en la conectividad funcional en el grupo de los más afectados.

Por último, de manera ilustrativa se presentan algunos resultados obtenidos del análisis de las medidas de grafo. En la Figura 18 se observa que los cambios de las medidas de grafos son consistentes con un proceso donde la integración funcional de las redes y la eficiencia en la comunicación de la información se hacen relevantes para el desarrollo de habilidades más complejas, a las que se enfrenta un lactante tanto en el área sensorial, motora, del lenguaje y cognitiva durante el primer año de vida. Se muestran las comparaciones entre los 2 y los 6 meses y entre los 2 y los 12 meses. Un cambio significativo se observa en la disminución del “camino promedio” entre prácticamente todas las redes entre los 2 y los 12 meses de edad. Esta medida se relaciona con la eficiencia de la red: a menor camino promedio, mayor es la eficiencia de la comunicación, es decir, a los 12 meses ha aumentado la eficiencia de la comunicación en el cerebro. La disminución de esta medida indica la sustitución de conexiones largas entre dos zonas alejadas en el cerebro por conexiones más cortas con estaciones de relevo. Esto pudiera relacionarse con las propiedades de pequeño mundo, donde las redes tienen valores bajos de camino promedio lo que permite que distintos nodos se conecten entre sí a través de un número pequeño de pasos o enlaces.

A los 12 meses se observan también incrementos significativos en varias medidas, como la Eficiencia Global y Local. También se incrementan el Costo y el Grado, que se refieren al número de conexiones de cada nodo, lo que indica que a los 12 meses el cerebro está más conectado.

En el futuro se plantea realizar un análisis más detallado de las medidas de grafo, que permita explorar las características topológicas de las redes y su evolución.

CONCLUSIONES

Se cumplió el objetivo principal del trabajo al realizar la clasificación de anormalidad de sustancia blanca de los participantes y relacionarla con sus niveles de conectividad funcional.

Se cumplieron además los objetivos específicos relacionados con la organización de una metodología para el preprocesamiento de las imágenes de resonancia magnética anatómicas y funcionales en niños durante el primer año de vida. Se desarrolló una metodología para la segmentación, parcelación, cálculo de volúmenes corticales, de circunferencia cefálica y otras medidas, que quedan a disposición de la UIND para trabajos futuros. Estos procedimientos son ofrecidos en forma de un Manual de Procedimientos.

Con la información analizada de los 17 participantes durante el primer año de vida se puede concluir que la hipótesis de este trabajo es aceptada al relacionar el grado de ASB con una maduración diferente principalmente en las 2 redes evaluadas junto con el análisis de la matriz de los 32 nodos.

La principal limitante de este estudio fue el bajo número de casos en las categorías de severo y moderado, lo cual dificultó el cumplimiento de los objetivos iniciales, pero constituye un punto de partida para estudios posteriores que puedan llegar a conclusiones más generales con una muestra grande. Ya que el mayor número de participantes fue categorizado con ASB leve, los resultados de este estudio describen fundamentalmente la maduración de la conectividad funcional durante el primer año en nacidos prematuros en condiciones de lesión leve de la sustancia blanca.

Como una proyección de este trabajo, se presenta la idea ampliar el rango de SEG y considerar a los muy prematuros y a los prematuros tardíos para poder tener un mayor número de candidatos y optar por una descripción de la población prematura en general, junto con explorar de manera específica alteraciones cognitivas, conductuales, del lenguaje y atención para su correlación con escalas estandarizadas.

REFERENCIAS

- Alemán-Gómez Y, Melie-García L, Valdés-Hernandez P (2006) IBASPM: toolbox for automatic parcellation of brain structures. Presented at the 12th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, 11–15 June 2006, Florence, Italy. Available on CD-Rom in NeuroImage, vol. 27, no. 1
- Alcauter S, Lin W, Smith K, Short S, Goldman D, Reznick S, Gilmore J, Gao W. Development of Thalamocortical Connectivity during Infancy and Its Cognitive Correlations. *The Journal of Neuroscience*, July 2, 2014, 34(27):9067–9075
- Back S. Cerebral White and Gray Matter Injury in Newborns: New Insights into Pathophysiology and Management. *Clin Perinatol* 41 (2014) 1–24
- Behzadi, Y., Restom, K., Liao, J. and Liu, T.T. (2007) A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *NeuroImage*, 37: 90-101.
- Biswal BB, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med*. 1995 Oct;34(4):537-41
- Boardman JP, Craven C, Valappil S, Counsell SJ, Dyet LE, Rueckert D, Aljabar P, Rutherford MA, Chew AT, Allsop JM, Cowan F, Edwards AD. A common neonatal image phenotype predicts adverse neurodevelopmental outcome in children born preterm. *Neuroimage* 2010 Aug 15;52(2):409-14. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.04.261. Epub 2010 May 6.
- Blencowe H, Cousens S, Oestergaard M, Chou D, Moller AB, Narwal R, Adler A, Garcia CV, Rohde S, Say L, Lawn JE. National, regional and world-wide estimates of preterm birth. *The Lancet*, June 2012. 9;379(9832):2162-72
- Buxton RB. The physics of functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Rep Prog Phys* 2013, 76:096601
- Doria V, Beckmann CF, Arichi T, et al. Emergence of resting state networks in the preterm human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:20015–20
- De Jong, M., Verhoeven, M., & Van Baar, A. L. (2015). Attention capacities of preterm and term born toddlers: A multi-method approach. *Early human development*, 91(12), 761-768.

- Fonov V, Evans AC, Botteron K, Almli CR, McKinstry RC, Collins DL; Brain Development Cooperative Group. Unbiased average age-appropriate atlases for pediatric studies. *Neuroimage*. 2011 Jan 1;54(1):313-27. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.07.033. Epub 2010 Jul 23.
- Friston KJ, Frith CD, Frackowiak RSJ. Time-dependent changes in effective connectivity measured with PET. *Hum. Brain Mapp* 1993. 1, 69–79. doi: 10.1002/hbm.460010108
- Gao W, Gilmore JH, Giovanello KS, Smith JK, Shen D, Zhu H, et al. Temporal and spatial evolution of brain network topology during the first two years of life. *PLoS One*. 2011;6:e25278
- Gao W, Alcauter S, Smith JK, Gilmore J, Lin W. Development of Human Brain Cortical Network Architecture during Infancy. *Brain Struct Funct*. 2015 March; 220(2): 1173–1186. doi:10.1007/s00429-014-0710-3.
- Gao W., Alcauter S., Elton A., Hernandez-Castillo C. R., Smith J. K., Ramirez J. Functional network development during the first year: relative sequence and socioeconomic correlations. *Cereb. Cortex* 2015. 25, 2919–2928. 10.1093/cercor/bhu088
- Gao W., Lin W., Grewen K., Gilmore H. Functional Connectivity of the Infant Human Brain: Plastic and Modifiable *The Neuroscientist* 2017, Vol. 23(2) 169–184
- Gano D, Sarah K. Andersen, J. Partridge C., Bonifacio S., Duan Xu, David V. Glidden, Donna M. Ferriero, A. James Barkovich, and Hannah C. Glass. Diminished White Matter Injury over Time in a Cohort of Premature Newborns. *The Journal of Pediatrics* 2015. Volume 166, Issue 1, 39 – 43 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.09.009>
- Gano D. White Matter Injury in Premature Newborns. *Neonatal Netw*. 2016;35(2):73-7. doi: 10.1891/0730-0832.35.2.73. Review.
- Harmony T, Barrera-Reséndiz J, Juárez-Colín ME, Carrillo-Prado C, Pedraza-Aguilar MC, Asprón Ramírez A, Hinojosa-Rodríguez M, Fernández T, Ricardo-Garcell J. Longitudinal study of children with perinatal brain damage in whom early neurohabilitation was applied: Preliminary report. *Neurosci Lett*. 2016 Jan 12; 611:59-67. Epub 2015 Nov 17.
- He L, Parikh N.A. Aberrant Executive and Frontoparietal Functional Connectivity in Very Preterm Infants with Diffuse White Matter Abnormalities. *2015 Pediatric Neurology* 53 (2015) 330e337

- He L, Parikh N.A. Brain functional network connectivity development in very preterm infants: The first six months. *Early Human Development* 98 (2016) 29–35
- Inder T, Scott J. Wells, Nina B. Mogridge, Spencer C., Volpe J. Defining the nature of the cerebral abnormalities in the premature infant. A qualitative magnetic resonance imaging study. *J Pediatr* 2003; 143:171-9
- Kinney HC, Haynes RL, Xu G, Andiman SE, Folkerth RD, Sleeper LA, Volpe JJ. Neuron Deficit in the White Matter and Subplate in Periventricular Leukomalacia. *Ann Neurol.* 2012 March; 71(3): 397–406. doi:10.1002/ana.22612.
- Keunen K, Counsell SJ, Benders MJ. The emergence of functional architecture during early brain development. *Neuroimage.* 2017 Jan 20. pii: S1053-8119 (17)30054-X.
- Khwaja O., Volpe J. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2008, Ed. Author manuscript; available in PMC Oct 17.
- Kwon SH, Vasung L, Ment LR, Huppi PS. The Role of Neuroimaging in Predicting Neurodevelopmental Outcomes of Preterm Neonates. *Clin Perinatol* 2014. 41 257–283
- Lowe MJ. The emergence of doing “nothing” as a viable paradigm design. *NeuroImage* 2012. 62 1146–1151
- Martinez-Biarge, M. et al. MRI Based Preterm White Matter Injury Classification: The Importance of Sequential Imaging in Determining Severity of Injury. *PloS ONE* 11, e0156245, doi: 10.1371/journal.pone.0156245 (2016).
- Minguet-Romero R, Cruz-Cruz PR, Ruíz-Rosas RA, Hernández-Valencia M. Incidencia de nacimientos pretérmino en el IMSS (2007-2012). *Ginecol Obstet Mex* 2014; 82:465-471.
- Pekar JJ. A Brief Introduction to Functional MRI. *IEEE ENG MED BIOL* 2016. 25(2):24-26 March/April.
- Power JD., Barnes KA, Snyder AZ, Schlaggar BL, Petersen SE. Spurious but systematic correlations in functional connectivity MRI networks arise from subject motion. 2012. *Neuroimage.* 2012 Feb 1;59(3):2142-54. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.10.018. Epub 2011 Oct 14.
- Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL, A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001. 98,676–682.

- Rodriguez, A. R., Domínguez, S., Cantín, M., Rojas, M., (2015). Embriología del sistema nervioso. *Int. J. Med. Surg. Sci*, 2(1), 385-400.
- Sladky, R., Friston, K., Trostl, J, Cunningham, R., Moser, E. & Windischberger, C. (2011). Slice-timing effects and their correction in functional MRI. *NeuroImage*, 58, 588-594
- Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, Filippini N, Watkins KE, Toro R, Laird AR, Beckmann CF. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009. 106(31):13040–13045.10.1073/pnas.0905267106
- Smyser CD, Inder TE, Shimony JS, Hill JE, Degnan AJ, Snyder AZ, Neil JJ. Longitudinal Analysis of Neural Network Development in Preterm Infants. *Cereb Cortex*. 2010. Dec;20(12):2852-62
- Smyser CD, Snyder AZ, Neil JJ. Functional Connectivity MRI in Infants: Exploration of the Functional Organization of the Developing Brain. *Neuroimage*. 2011 June 1; 56(3): 1437–1452. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.02.073.
- Smyser CD, Snyder AZ, Shimony JS, Blazey TM, Inder TE, Neil JJ. Effects of White Matter Injury on Resting State fMRI Measures in Prematurely Born Infants. *PLoSOne* 2013. Jul 9;8(7): e68098. doi: 10.1371/journal.pone.0068098.
- Smyser CD, Neil JJ. Use of resting-state functional MRI to study brain development and injury in neonates. *Semin Perinatol*. 2015 Mar;39(2):130-40. doi: 10.1053/j.semperi.2015.01.006.
- Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, Newman NS, Schibler K, Carlo WA, Kennedy KA, Poindexter BB, Finer NN, Ehrenkranz RA, Duara S, Sánchez PJ, O'Shea TM, Goldberg RN, Van Meurs KP, Faix RG, Phelps DL, Frantz ID, Watterberg KL, Saha S, Das A, Higgins RD. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network *Pediatrics* 2010. Sep;126(3):443-56. doi: 10.1542/peds.2009-2959.
- Uludag K, Dubowitz D, Buxton R. 2005. Basic Principles of Functional FMRI (pp.249-287).
- Van den Heuvel MP., Hulshoff HE. Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology* (2010) 20, 519–534

- Torchin H, Ancel PY. Epidemiology and risk factors of preterm birth. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2016. Oct 24. pii: S0368-2315(16)30114-4.
- Van'tHooft J, Van der Lee JH, Opmeer BC, Aarnoudse-Moens CS, Leenders AG, Mol BW, de Haan TR. Predicting developmental outcomes in premature infants by term equivalent MRI: systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews* (2015) 4:71
- Volpe, J. J. (1995). *Neurology of the newborn* 3rd ed. WB Saunders, Philadelphia, (s 765).
- Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. *Lancet Neurol*. 2009 Jan;8(1):110-24. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70294-1
- Whitfield-Gabrieli, S., Nieto-Castanon, A. (2012). Conn: A functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connectivity* doi:10.1089/brain.2012.0073
- Woodward L. Anderson P, Austin P, Howard K, Inder T. Neonatal MRI to Predict Neurodevelopmental Outcomes in Preterm Infants. *N Engl J Med*. 2006 Aug 17;355(7):685-94.

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Principales eventos del neurodesarrollo del cerebro humano

Tabla 2: Clasificación de las sustancias blanca y gris de acuerdo con la clasificación de Woodward et al., 2006.

Tabla 3: Criterios de inclusión y exclusión del estudio.

Figura 1: Ilustración de la clasificación de anormalidad de la sustancia blanca (tomado de Woodward et al., 2006)

Figura 2: Desarrollo de las redes de conexión funcional del cerebro durante el primer año de vida. En los mapas estadísticos la barra de color indica la intensidad de la correlación, siendo la más fuerte representada por el color amarillo. SM = red Sensorimotora; V1, V2, = redes Visuales occipital medial y polos occipitales; DMN = (default-mode network en inglés) Red Neural Basal (Adaptado en Gao et al., 2017).

Figura 3: Distribución de la muestra de acuerdo con las semanas de gestación al nacimiento.

Figura 4: Representación del proceso de correlación de la señal BOLD de la semilla del nodo derecho de la red Sensorimotora y la señal del nodo izquierdo de la misma red.

Figura 5: Descripción de los porcentajes de la muestra según el grado de Anormalidad de Sustancia Blanca (ASB). Error! Reference source not found.

Figura 6: Mapa estadístico en vista neurológica utilizando un umbral de 0.25 para todos los participantes con distinto grado de Anormalidad de la Sustancia Blanca (ASB) en seguimiento longitudinal. Semillas en la Red sensoriomotora derecha.

Figura 7: Mapas promedio que muestran la maduración de la conectividad funcional de las Redes Sensorimotora y Visual.

Figura 8: Red Neural Basal con sus 3 nodos (corteza prefrontal medial (mPFC en inglés), parietal lateral (LP en inglés) bilateral y corteza posterior el cíngulo (PCC en inglés).

Figura 9: Conectividad Homotópica de los nodos de la red sensorimotora según el grado de ASB y los meses en estudio.

Figura 10: Conectividad Homotópica bilateral red Sensorimotora agrupada por menos afectados n=13 (sin ASB y ASB leves), con los más afectados n=4 (ASB moderados y ASB severos). En todas las edades evaluadas la diferencia fue estadísticamente significativa con una $p < 0.05$ y corrección por FDR. Cerebro de la derecha es la ejemplificación de los nodos evaluados.

Figura 11: Conectividad Homotópica entre los nodos parietales derecho e izquierdo. Lado derecho se grafican los dos nodos parietales en color rojo.

Figura 12: Conectividad entre los nodos parietales MPFC y PCC. A la derecha se grafican los dos nodos centrales en color rojo. Esta es una de las redes descritas como fragmentada o inactiva al momento del nacimiento (Doria et al., 2010)

Figura 13: Correlaciones homotópicas de las redes sensorimotora y de atención frontal respectivamente, a las tres edades del estudio, para los dos grupos de afectación de la sustancia blanca. En gris, el grupo de los Menos Afectados; en amarillo el grupo de los Más Afectados. El asterisco (*) marca las medidas que fueron estadísticamente diferentes (** means $p < 0.0001$; * means $p < 0.01$).

Figura 14: Valor de las correlaciones entre los nodos izquierdos de la red sensorimotora y la corteza opercular izquierda, a las tres edades del estudio, para los dos grupos de afectación de la sustancia blanca. En azul, el grupo de los Menos Afectados; en naranja el grupo de los Más Afectados. Las diferencias entre los grupos en las tres edades fueron significativas con $p < 0.0001$.

Figura 15: Trayectorias de evolución de las conexiones internodos desde los 2 meses hasta los 12 meses en todos los participantes de la muestra (17 puntos por cada edad de estudio). En cada gráfica se cuenta con una estimación lineal (en color naranja) y otra cuadrática (en color gris) para visualizar de mejor manera el comportamiento de los datos. SM lat L = nodo sensorimotor izquierdo; SM lat R= nodo sensorimotor izquierdo; DM MPFC = nodo medial de la corteza prefrontal de red Neural Basal; DA.FEF = nodo frontal de la red de Atención; DM PCC = nodo de la corteza posterior del cíngulo de la red Neural Basal.

Figura 16: Matrices de correlaciones entre los 32 nodos de la parcelación por default de CONN para el grupo de los **menos afectados**. La Significancia fue evaluada con test de Friedman y una $p = 0.05$.

Figura 17: Matrices de correlaciones entre los 32 nodos de la parcelación por default de CONN en el grupo de los más afectados. La Significancia fue evaluada con test de Friedman y una $p= 0.05$.

Figura 18: Matriz de los 32 nodos con las medidas de grafos calculadas en el programa CONN. Se realizó una comparación estadística para ver si las diferencias entre los valores de los grupos de edad son estadísticamente significativas, con una $p<0.001$. No se realizó test por múltiples comparaciones. El color amarillo, que representa un valor positivo, quiere decir que la medida ha disminuido en comparación a los 2 meses. El color azul por el contrario muestra las medidas que han aumentado su valor desde los 2 meses.

APÉNDICE 1

Detalle de la Clasificación de Woodward, según cada ítem.

Puntuación o Grado 1 normal

Puntuación o Grado 2 anormalidad leve

Puntuación o Grado 3 anormalidad de moderado-severo

La naturaleza y extensión de la anomalía de la señal de la sustancia blanca.

En imágenes axiales ponderadas en T1 y T2 se podrán observar mejor las anomalías

Grado 1: señal normal T1 y T2 en la sustancia blanca.

Grado 2: regiones focales de alta señal ponderada en T1 o T2 (2 o menos regiones por hemisferio).

Grado 3: regiones múltiples de alta señal ponderada en T1 o T2 (más de 2 regiones por hemisferio).

Pérdida de volumen de la sustancia blanca periventricular. En imágenes axiales y sagitales, se utiliza combinación de T1 y T2 analizando la proporción de la sustancia blanca periventricular y la región ventricular.

Grado 1: volumen normal de la sustancia blanca periventricular usualmente asociado con ventrículos pequeños

Grado 2: reducción leve del volumen de la sustancia blanca con un aumento del tamaño ventricular leve a moderado.

Grado 3: marcada reducción en el volumen de la sustancia blanca que ocurre a menudo con marcado aumento en tamaño del ventrículo.

Anormalidades quísticas. Se evidencia en menos del 5%. Si existen son muy evidentes.

Grado 1: normal, sin anomalía quística.

Grado 2: quiste focal de menos de 2mm.

Grado 3: quistes múltiples o un único quiste focal mayor (2 mm o mayor).

Dilatación ventricular. En imágenes axiales y sagitales. Se utiliza una combinación de T1 y T2.

Grado 1: normal sin evidencia de dilatación ventricular.

Grado 2: agrandamiento moderado que resulta en un redondeo suave de los cuernos frontales, mínimo agrandamiento de los cuernos temporales y agrandamiento moderado de los cuernos occipitales.

Grado 3: ampliación más global de una naturaleza moderada a severa incluyendo agrandamiento de los cuernos frontal, temporal y occipital.

Adelgazamiento del cuerpo calloso. En corte sagital y coronal ponderado a T1.

Grado 1: normal, con grueso cuerpo calloso visible en todas las vistas.

Grado 2: adelgazamiento focal en el cuerpo calloso a menudo visible en la región media del cuerpo calloso en la imagen sagital.

Grado 3: adelgazamiento global en todo el cuerpo calloso.

La anomalía de la sustancia gris se clasifica utilizando tres escalas que evalúan:

Presencia de anomalía de la señal cortical de la sustancia gris. Se puntuó la alta intensidad de señal en la corteza en T1 axial y / o pérdida de la señal de la cinta cortical En la RM axial ponderada en T2.

Calidad de la maduración de los giros corticales. En imágenes axiales ponderada a T1 y T2. La evaluación de los giros se basa en el patrón de giros según las semanas de gestación:

34-36 semanas la presencia del giro paracentral con surcos secundarios presentes en los lóbulos frontales, superior y medio temporal, rolándica y occipital.

36-38 semanas el patrón debe incluir giro secundario adicional en el giro temporal transversal y temporal inferior y cingulado.

40 semanas de gestación, giro occipital terciario inferior y occipital inferior y surcos

Grado 1: normal, muestra patrón de las 40 semanas.

Grado 2: Retraso de 2 a 4 semanas de retraso en el desarrollo, es decir, muestra patrón de consistente con patrón de semana 36 a 38.

Grado 3: Retraso de más de 4 semanas, muestra patrón de 34 a 36 semanas.

Tamaño del espacio subaracnoideo. En imágenes T1 o T2 sagital o coronal.

Grado 1: pequeño espacio subaracnoideo que era apenas visible.

Grado 2: espacio ligeramente agrandado, aumenta la proporción de líquido céfalo raquídeo (LCR) con ampliación visible del espacio entre los surcos principales, el espacio interhemisférico y el espacio extracerebral.

Grado 3: espacio subaracnoideo sustancialmente agrandado de manera global con líquido cefalorraquídeo visible entre los surcos interhemisféricos.

Anexo

