



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

RESPUESTA HEMODINÁMICA A UN MOVIMIENTO PASIVO DE LA MANO,
MEDIDA A TRAVÉS DE NIRS EN RECIÉN NACIDOS

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:
FRIDERIEKE HANNAH CHRISTINA KOSANKE

TUTOR O TUTORES PRINCIPALES
DRA. THALIA HARMONY BAILLET
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM
EN SU CASO, MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. LUIS CONCHA LOYOLA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM
DRA. GLORIA ADELINA OTERO OJEDA
FACULTAD DE MEDICINA,
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

MÉXICO AGOSTO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Neurobiología

Los miembros del jurado del examen certificamos que la tesis elaborada por: Friderieke Hannah Christina Kosanke, cuyo título es: “Respuesta hemodinámica a un movimiento pasivo de la mano, medida a través de NIRS en recién nacidos” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firma

Presidente

Dra. Manuel Salas Alvarado

Secretario (Tutor)

Dr. Thalía Harmony Baillet

Vocal

Dr. Rogelio Cruz Martínez

Suplente

Dr. Luis Concha Loyola

Suplente

Dra. Magdalena Giordano Noyola

Aprobado por el Comité Académico

Coordinador del Programa

RESUMEN

Este proyecto investiga el estado de la lateralización en bebés recién nacidos sanos y bebés prematuros. Para investigar el desarrollo de la lateralización del sistema sensoriomotor se realizó una estimulación pasiva de la muñeca en bebés recién nacidos sanos, en bebés prematuros recién nacidos (<37 semanas) y en bebés prematuros con una edad corregida igual a la de los bebés recién nacidos sanos al día del estudio (>37 semanas). Se midió la actividad cerebral a través de la respuesta hemodinámica, la cual a su vez fue medida utilizando la técnica de rayos infrarrojos cercanos (NIRS). La respuesta cerebral en los bebés recién nacidos sanos mostró una lateralización al movimiento de la mano derecha en el lado contralateral. Pero en los dos grupos de bebés prematuros se mostraron activaciones bi- ipsi- y contralaterales. El segundo grupo de bebés prematuros (EG 26.4-35), con una edad corregida al día del estudio igual a la de los bebés sanos, no mostró una actividad más lateralizada que la de los bebés prematuros (EG 28-34) recién nacidos. En conclusión, los bebés sanos a término presentaron una lateralización adecuada de los movimientos con la mano derecha, sin embargo esto no se observó en los bebés prematuros, probablemente debido a una deficiencia en la maduración. Este proyecto es importante porque se analiza por primera vez la respuesta hemodinámica a una estimulación sensoriomotora en recién nacidos a un nivel grupal por eso se puede considerar como un proyecto pionero en el análisis y en la comparación del grupos de bebés recién nacidos con la técnica NIRS.

SUMMARY

The mature response to a passive motor stimulation is the activation of the contralateral sensory motor cortex. To investigate the lateralization of the sensory motor system in neonates, the wrist was passively moved while the hemodynamic response in the cortex of the babies was measured by NIRS. Three groups of neonates were registered: full term healthy neonates and two groups of premature born babies. The premature babies were divided into a group with a postconceptional age minor to 37 weeks at the day of the study and premature babies, which had already reached term (> 37 weeks). The latter served as an age-matched group for the healthy neonates. As a measure for the response, the magnitude of the highest peak as well as the lateralization of the response was evaluated. The healthy neonates showed a lateralized response to the movement of the right wrist in the contralateral side of stimulation, where the premature babies did not show a clearly lateralized response. The age-matched premature babies did neither show a lateralized response and had a smaller magnitude of the mean peak than the healthy neonates. This project is the first, which realized a group analysis of sensorimotor stimulation in neonates measured by NIRS and therefore it is an important advancement in the highly active field of NIRS research.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Dr. Miguel Colmenero y a la Dra. Lourdes Cubero Reyó por el valioso apoyo brindado durante el desarrollo del presente proyecto así como durante los registros.

A la Dra. Treicy Evelyn López Anaya por buscar y proveer los datos clínicos de los bebés registrados. A la enfermera Delia Figueroa por su ayuda durante los registros. Al técnico académico Ing. Héctor Belmont Tamayo por mantener y reparar la máquina de NIRS. Y finalmente también quiero agradecer a todas las mamás y a sus bebés por participar en el estudio.

Agradecimientos: Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología Becario No: 422908

A la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM Becario No. 512451596

Unidades de Apoyo:

- Hospital del Niño y Mujer, Querétaro, Qro
Jefe de Enseñanza: Dr. Jorge Barón Sevilla
- Unidad de Investigación en Neurodesarrollo del Instituto de Neurobiología, Juriquilla UNAM
- Unidad de Videoconferencia del Instituto de Neurobiología, Juriquilla UNAM
Lic. Lourdes Lara Ayala

INDICE

RESUMEN	3
SUMMARY	4
1 - Introducción	8
1.1 - La espectroscopía próxima a rayos infrarrojos (NIRS)	8
1.2 - Bebés prematuros y con una edad gestacional normal	10
1.3 – Daño cerebral	11
1.4 - Lateralización del sistema somatosensorial en el recién nacido	12
1.5 – La respuesta hemodinámica en recién nacidos	14
2 - Antecedentes	15
3 - Justificación	20
4 - Hipótesis	20
5 - Objetivos	21
6 - Sujetos, material y Métodos	22
6.1 - Sujetos de Estudio	22
6.2 - Material y Métodos	23
6.2.1 - Registro con la NIRS	23
6.2.2 - Procedimiento de la estimulación somatosensorial	24
6.3 - Estadística	24
6.3.1 - NIRS-SPM	25
6.3.1.1 - Colocación de los optodos	25
6.3.1.2 - Preprocesamiento	26
6.3.1.3 - Matriz del diseño y GLM	28
6.3.1.4 - Contrastes de T	28
6.3.1.5 - Límites de NIRS-SPM	29
6.3.2 - Análisis del curso de tiempo con Matlab con los datos filtrados de NIRS-SPM	29
7 - Resultados	30
7.1 - Sujetos registrados	30
7.2 – Contrastes de NIRS-SPM	31
7.3 - Análisis de las Amplitudes del pico máximo de la respuesta hemodinámica	33

7.3.1 – Comparaciones intergrupales	34
7.3.1.1 - Hemoglobina oxigenada	35
7.3.1.1.2 - Hemoglobina desoxigenada	36
7.3.2 – Comparaciones interhemisféricas	37
7.3.3 - Latencia del pico máximo	39
7.3.3.1 – Comparaciones interhemisféricas	39
7.3.3.2 – Comparaciones intergrupales	41
7.3.3.2.1 - Hemoglobina oxigenada	41
7.3.3.2.2 - Hemoglobina desoxigenada	41
8 – Discusión	41
9 – Conclusiones	43
10 - Referencias	44
Lista de Figuras	48
Lista de Tablas	49
Apéndices	50
Apéndice 1 Estadística de ETG 4000 y Homer 2:	50
1 - Análisis con el sistema de Hitachi ETG 4000	50
1.1 - Metodología de Filtros	50
1.2 - Análisis de las ondas	50
1.3 - Análisis de los componentes principales	51
2 - HomER	52
Apéndice 2a: “integral.m”	53
Apéndice 2b: “mean_std.m”	55
Apéndice 3a: “searchmax.m”	56
Apéndice 3b: “max_latency.m”	57
Apéndice 4: Tablas de los datos clínicos de los bebés registrados	59

1 - Introducción

En el presente proyecto se investigará en los recién nacidos los cambios hemodinámicos dentro de la corteza sensoriomotora durante el curso de un movimiento pasivo de las muñecas. El principal objetivo es poder discriminar las diferentes respuestas entre recién nacidos bajo circunstancias normales y en recién nacidos prematuros. Para poder investigar estas diferencias, se usará una técnica basada en imágenes de luz infrarroja que permita cuantificar los cambios de oxigenación en la sangre.

1.1 - La espectroscopía próxima a rayos infrarrojos (NIRS)

La espectroscopia próxima a rayos infrarrojos, o también conocida como “Near Infrared Spectroscopy” (NIRS, por sus siglas en inglés), es una técnica no invasiva que se utiliza para medir la respuesta hemodinámica de la actividad cerebral (Gervain et al. 2011). Durante la actividad neuronal el flujo de sangre aumenta y cambia su oxigenación. Estos cambios pueden ser medidos cuantificando la absorción de luz infrarroja. Utilizando dos longitudes de onda diferentes, se puede medir y distinguir los diferentes niveles de hemoglobina oxigenada y desoxigenada. La unión de oxígeno a la molécula de hemoglobina provoca un cambio conformacional de estado en la hemoglobina, dando como resultado que esta absorba una longitud de onda diferente antes y después de adquirir el oxígeno. Este cambio en las propiedades de absorción de la luz, permite distinguir entre la hemoglobina oxigenada y la desoxigenada. (Schmidt, 2005) Es importante mencionar que la molécula de hemoglobina solamente existe en dos estados conformacionales; uno sin la unión con otra molécula, como en este caso el oxígeno, y otro con la unión de una a cuatro moléculas diferentes, ya sean de oxígeno u otros compuestos.

Es importante comentar, que utilizando la técnica de Imágenes por Resonancia Magnética funcional (IRMf) también se puede medir la respuesta hemodinámica, pero

no se puede distinguir entre la hemoglobina oxigenada y la desoxigenada.

La NIRS tiene una mejor resolución temporal que el IRMf. Sin embargo, un gran problema es la pobre resolución espacial que tienen tanto la NIRS como la Electroencefalografía (EEG), en comparación al IRMf. Tanto la NIRS como la EEG, solamente miden las señales superficiales de la cabeza, y es por esta misma razón que utilizando estas dos técnicas no se puede decir con precisión a qué profundidad fue generada la señal. Es importante hacer hincapié, en que NIRS no mide la actividad eléctrica a diferencia de la EEG, sino que mide la actividad cerebral indirectamente basándose en los cambios hemodinámicos.

La técnica NIRS usa cierto tipo de optodos que emiten luz infrarroja, de la cual cierta cantidad es absorbida por el tejido, y posteriormente otro optodo diferente, detecta y registra la cantidad de luz que fue absorbida.

Utilizando la ley modificada de Beer-Lambert, se pueden cuantificar los cambios en las concentraciones de oxigenación de la hemoglobina dentro del tejido, el cual fue sometido a la luz infrarroja. La absorción dependerá de la distancia transversal respecto a la dirección de la luz, así como del coeficiente de extinción de cada tejido (Strangmann et al., 2002).

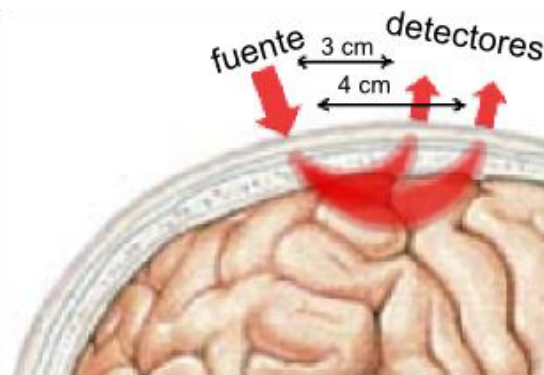


Figura 1: Ilustración de transmisión de la luz infrarroja.
Modificado de Gervain et al. (2011).

La técnica de NIRS es particularmente útil en experimentos con niños y bebés, debido a que su cráneo y piel son más delgados que en otras edades. Debido a estas razones, se logran evitar inconvenientes potenciales para la absorción y medición de la luz infrarroja.

Como se puede observar en la Figura 1, la profundidad depende de la distancia entre la fuente y el detector. El cráneo más delgado de los bebés permite una penetración dentro del cerebro de hasta 15 mm, teniendo una distancia entre la fuente y el detector de 3 cm. Utilizando esta misma distancia en adultos solamente se logra una penetración cerebral de 3 a 5mm (Gervain et al., 2011).

NIRS es una técnica inofensiva, relativamente barata y flexible. Los sujetos pueden

moverse y no estar fijos en una posición específica debido a que los optodos se colocan directamente sobre el cráneo. Al contrario de la IRMf, NIRS se puede utilizar en recién nacidos sin sedación. Del mismo modo, NIRS se puede combinar fácilmente con EEG, para así poder obtener un panorama más completo de la actividad cerebral.

1.2 - Bebés prematuros y con una edad gestacional normal

La edad gestacional (EG), abarca desde la fecha de la última menstruación, o sea aproximadamente 14 días antes de que el óvulo haya sido fertilizado, hasta el nacimiento del bebé. Una edad gestacional normal es aproximadamente entre 37 y 42 semanas. Los bebés que nacen de manera prematura tienen una edad gestacional menor a 37 semanas. Debido a que los bebés prematuros tienen un tiempo menor de gestación, no están completamente desarrollados al momento de su nacimiento. Por esta razón, tienen un mayor riesgo de desarrollar leucomalacia periventricular así como otros daños en la sustancia gris y blanca del cerebro (Volpe & Khawa, 2008) lo cual les puede generar un retraso tanto en su desarrollo general, como en su desarrollo cognitivo y asimismo, les puede ocasionar problemas locomotrices (Rezale y Dean, 2002).

Algunos de los factores que llevan a un parto prematuro son: la ruptura prematura de las membranas ovulares e inducción del parto prematuro debido a indicadores presentes en la madre o en el niño (El-Sayed & Druzin, 2003). Otras razones por las cuales un bebé puede ser prematuro son: estatus económico bajo, edad de la madre menor de 25 ó mayor de 35 años (en su primer embarazo), una nutrición pobre, anomalías del útero, hemorragia de la placenta durante el primer y tercer trimestre, abuso de drogas o alcohol, un historial de partos prematuros, infecciones urinarias, restricción del crecimiento en el útero y un factor negativo de RH de la madre entre otros (El-Sayed & Druzin, 2003) .

1.3 – Daño cerebral

Existen varias causas para que un bebé recién nacido sufra de un daño cerebral. Es importante resaltar que muchos factores de riesgo que causan prematuridad son también factores de riesgo para sufrir daño cerebral. Las causas pueden ser pre-, peri- y postnatales.

Los factores prenatales más importantes son: alteraciones genéticas, desnutrición severa, deficiencia de yodo, abuso de estimulantes y alcohol, diabetes de la madre no tratada, enfermedades infecciosas (como rubéola, varicela o toxoplasmosis etc.), uso de medicamentos como corticoesteroides, diazepam, clorpromazina, fenobarbital, etc. (Harmony, 1996).

El factor perinatal más importante es la falta de oxígeno durante el parto, como por ejemplo, en el caso de una circular del cordón umbilical (Harmony, 1996). Por otro lado existen factores postnatales que influyen en el desarrollo del sistema nervioso central como infecciones del sistema nervioso o desventajas socioculturales (Harmony, 1996). Sin embargo, estos factores no son tan importantes para el presente experimento porque en este se evalúa al recién nacido en una ventana del tiempo y no su desarrollo en general. La encefalopatía hipóxica-isquémica (EHI) es el daño más frecuente en bebés prematuros pero se puede encontrar también en bebés a término. Algunos factores de riesgo de EHI son:

- **Antes del parto** Algunas condiciones de la madre pueden ser: enfermedad de la tiroides, pre-eclampsia severa, infecciones virales tratadas y diabetes no controlada. Algunas complicaciones que el bebé puede llegar a sufrir son: restricción del crecimiento fetal intrauterino, anomalías de la placenta y malformaciones congénitas.
- **Factores generales:** Deficiente posición socioeconómica, edad materna avanzada, pobreza extrema, historial de la familia de anomalías

neurológicas y tratamientos para tratar la infertilidad (Sunshine, 2009).

1.4 - Lateralización del sistema somatosensorial en el recién nacido

Hasta este momento hace falta información acerca de cómo se realiza la lateralización del sistema somatosensorial en un recién nacido. Mc Cartney et al. (1999) observaron que embriones de 12 a 17 semanas mostraron una preferencia al movimiento de las extremidades hacia de un lado específico. Las del lado derecho tuvieron un porcentaje de preferencia del 88% mientras que las del lado izquierdo obtuvieron un 12%. Estos resultados se pueden interpretar como un primer signo de preferencia por un lado, ya sea diestro o zurdo. Estos resultados son muy interesantes, pero probablemente sean debidos a un control espinal de reflejos y no a un control supraespinal. Estudiar la lateralización somatomotora en embriones dentro del útero es prácticamente imposible.

En un estudio de IRMf (Arichi et al., 2010) se encontró una respuesta en la corteza somatosensorial contralateral, provocada por la estimulación de un movimiento pasivo de la mano en recién nacidos prematuros, 33 semanas de edad corregida al día de estudio (EC), así como en recién nacidos sanos a término. La edad corregida son las semanas de gestación más las semanas desde el nacimiento del bebé hasta el día del estudio. Algunos autores también se refieren a la edad postconcepcional como la edad corregida.

Además de estos dos grupos, Arichi et al. (2010) también evaluaron la respuesta hemodinámica en un segundo grupo de bebés prematuros que llegaron a término al día de estudio (edad corregida al día de estudio promedio de 42 semanas de gestación). En este grupo todos los bebés mostraron una respuesta en la corteza somatosensorial contralateral, y además 10 de los 18 bebés de este grupo tuvieron una respuesta bilateral más compleja en las dos cortezas somatosensoriales.

Estos resultados se explican no sobre el hallazgo de que los bebés prematuros que llegaron a término al día de estudio desarrollaron una respuesta más compleja durante su tiempo extrauterino, y por lo tanto tuvieron una respuesta distinta a la de los bebés prematuros que todavía no llegaban a término.

Otro estudio con IRMf de Erberich et al. (2006) mostró activaciones bilaterales,

ipsilaterales y contralaterales en bebés recién nacidos sanos así como en bebés prematuros. En dicho estudio se concluyó que la lateralización es un proceso de desarrollo que tiene lugar durante los primeros meses de vida y que no se ha completado en todos los bebés al momento de su nacimiento. En el mismo estudio (Erberich et al. 2006), bebés control con una edad entre 3 y 9 meses mostraron una activación unilateral y contralateral respecto del lado de la estimulación.

Dos estudios de Magnetoencefalografía (MEG) de Nevalainen et al. (2008 y 2012) observaron potenciales magnéticos en las cortezas somatosensoriales 1 y 2 en los lados ipsi- y contralateral en bebés recién nacidos, como respuesta a un estímulo táctil. Dichos potenciales fueron diferentes según el estado de sueño y la frecuencia de la estimulación. Otro estudio del mismo grupo de Lauronen et al. (2006) mostró una activación diferente entre recién nacidos, bebés de seis meses de edad y un grupo de adultos, en todos los grupos se encontraron potenciales en sus cortezas somatosensoriales, pero los dos grupos de bebés mostraron un potencial de polaridad opuesto al de los adultos.

Una revisión de casos clínicos de Staudt (2010) concluye que el sistema motor tiene proyecciones bilaterales durante el último trimestre del embarazo y en caso de que llegase a ocurrir una lesión unilateral pre- o perinatal, el hemisferio contralateral puede encargarse del control del lado afectado. Sin embargo Staudt (2010) concluyó que no existe una representación ipsilateral en el caso del sistema somatosensorial durante el desarrollo, sino solamente representaciones contralaterales. Como la estimulación de movimientos pasivos no es completamente somatosensorial se espera también una activación del sistema motor.

En conclusión no parece existir una lateralización del sistema sensoriomotor desarrollado en bebés recién nacidos.

1.5 – La respuesta hemodinámica en recién nacidos

Durante la actividad cerebral ante una tarea existe una mayor demanda de oxígeno y de glucosa, y debido a esto el flujo sanguíneo aumenta. En los primeros segundos la hemoglobina oxigenada disminuye y después aumenta con el flujo sanguíneo. Al mismo tiempo los niveles de hemoglobina desoxigenada disminuyen. Cuando

termina la actividad cerebral, los niveles de hemoglobina y el flujo de sangre regresa a sus niveles basales.

Esta respuesta hemodinámica está bien descrita para adultos, y la Figura 2 muestra una respuesta clásica en un adulto en una tarea del movimiento del dedo medida a través de la NIRS. Sin embargo, la respuesta hemodinámica en recién nacidos no necesariamente sigue este modelo. Por ejemplo algunos estudios reportaron un aumento de la hemoglobina desoxigenada y no de la hemoglobina oxigenada (Hintz, 2001 & Arichi, 2010). Dos estudios recientes intentan describir la respuesta hemodinámica en recién nacidos. En un estudio de Roche-Labarbe et al. (2013) seis bebés prematuros con una edad gestacional de 33-34 semanas fueron estudiados en sus primeros 2.5 semanas del nacimiento utilizando la NIRS. Estos autores encontraron una respuesta hemodinámica que presentó un pico máximo más lento que la esperada para los adultos. Sin embargo, la forma de la onda y las características de los cambios de hemoglobina oxigenada y desoxigenada fueron iguales a de los adultos. Ellos explicaron esta respuesta más lenta con base en que la formación de los vasos sanguíneos cerebrales todavía no ha llegado a completarse y por eso el tránsito de la sangre entre los vasos arteriales y venosos es más lenta. En otro estudio de

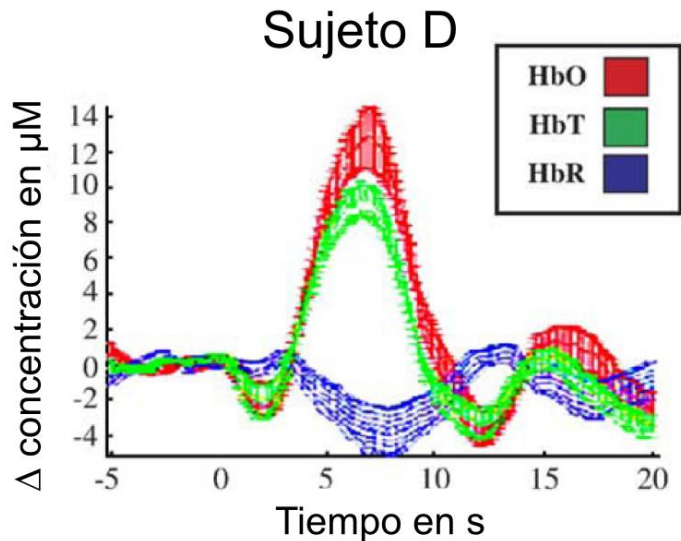


Figura 2: Promedio de la respuesta hemodinámica al movimiento de un dedo (2 s) en las regiones de interés de un sujeto modificado de Huppert et al. (2006) para los niveles de la hemoglobina oxigenada (HbO), hemoglobina desoxigenada (HbR) y hemoglobina total (HbT).

Zimmermann et al. (2012) se observó una respuesta hemodinámica invertida en algunos ensayos durante una estimulación auditiva con un incremento de la hemoglobina desoxigenada y una disminución de la hemoglobina oxigenada en bebés prematuros de 3-8 semanas después del parto. En este periodo los niveles de hemoglobina así como los valores del hematocrito fueron más bajos que en las semanas previas, y ellos explicaron este fenómeno por el cambio de hemoglobina fetal a la hemoglobina del adulto. Zimmermann et al. (2012) concluyeron que en este periodo la hemoglobina oxigenada no es suficiente para satisfacer la demanda de oxígeno durante la activación cerebral y por eso se observó un incremento en los niveles de hemoglobina desoxigenada. Zimmermann et al. (2012) proponen para el futuro el desarrollo de un modelo matemático para explicar este fenómeno. Un modelo matemático para comprender la respuesta hemodinámica en los recién nacidos, es importante para aproximar adecuadamente la respuesta en tareas de estimulación, pero hasta el momento no existe este modelo.

En conclusión la respuesta hemodinámica en los recién nacidos depende mucho del desarrollo de los vasos sanguíneos cerebrales, y de alteraciones en la demanda cerebral y el cambio de la hemoglobina fetal a la hemoglobina del adulto. Todavía esta temática es un campo abierto para investigaciones futuras y se faltan estudios con mayor número de sujetos para desarrollar bases de datos que normen la respuesta hemodinámica.

2 - Antecedentes

Actualmente, existen múltiples estudios que miden los cambios de la hemodinámica en la corteza somatosensorial en adultos utilizando la técnica de la NIRS. En varios de dichos estudios, se pudieron observar diferentes niveles de activación frente a diferentes intensidades de un mismo estímulo (Shibusawa et al., 2009) o entre estímulos nociceptivos versus táctiles (Becerra et al., 2008 ; Franceschini et al., 2003).

En una revisión de Leff et al. (2011) se compararon cómo varios estudios analizaron la activación cerebral a través de la NIRS durante diferentes tareas motoras en adultos.

Leff et al. (2011) concluyeron que la localización y el curso temporal de los cambios hemodinámicos, son confiables y robustos durante dichos experimentos.

Leff et al. (2011) reportaron que durante una estimulación motora hubo una activación en las áreas motoras, caracterizada por incremento en el nivel de hemoglobina oxigenada y en la cantidad de la hemoglobina total. Después de uno o dos segundos de que sucedió el incremento en la hemoglobina oxigenada, le siguió un

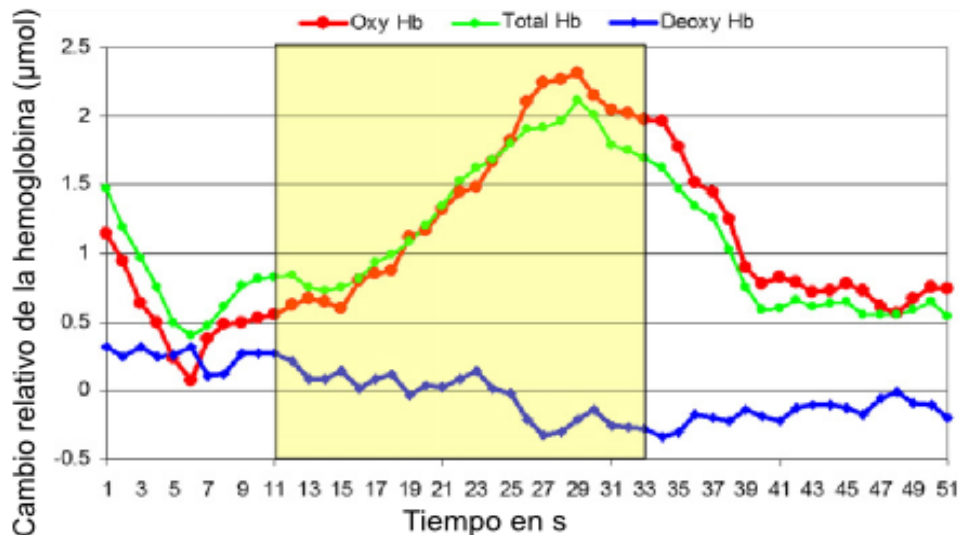


Figura 3: Respuesta hemodinámica típica a una estimulación motora en adultos modificado de Leff et al. (2011) para la hemoglobina oxigenada (Oxy Hb), hemoglobina desoxigenada (Deoxy Hb) y la hemoglobina total (Total Hb).

decremento en el nivel de hemoglobina desoxigenada en las mismas áreas.

La Figura 3 muestra una respuesta típica observada en adultos para una estimulación motora en una prueba con diseño en bloques.

La columna amarilla en esta Figura limita el tiempo que duró la estimulación. La revisión de Leff et al. (2011) ayuda a comprender mejor las características de la respuesta hemodinámica medida a través de la NIRS para una estimulación motora en un cerebro adulto.

Es digno de mencionarse un estudio realizado por Bartocci et al. (2006) con bebés prematuros, casi inmediatamente después de su nacimiento entre sus primeras 25 a 42 horas de nacidos, en el cual se pudo observar solamente en los bebés de género masculino, un incremento significativo de la hemoglobina oxigenada durante tres

diferentes estados; el bebé en estado basal, el bebé frente a un estímulo táctil y el bebé durante una venopunción. El estudio mencionado anteriormente, muestra que es viable poder hacer mediciones en bebés prematuros tan jóvenes utilizando la NIRS.

Ozawa et al. (2011) también investigaron la respuesta hemodinámica a un estímulo nociceptivo en bebés sanos a término de 4 a 6 días después de nacidos. Fueron 40 bebés a los cuales Ozawa et al. (2011) les tomaron muestras de sangre de sus manos, 21 bebés fueron de la mano derecha y 19 de la mano izquierda. Después de este estímulo se analizaron los cambios de los niveles de hemoglobina en la corteza prefrontal. Los resultados fueron que los bebés a los cuales se les tomó la sangre de la mano derecha mostraron un mayor aumento en hemoglobina oxigenada, en comparación a los bebés a los cuales les fue estimulada la mano izquierda. La conclusión a la que Ozawa et al. (2011) llegaron fue que desde recién nacidos los bebés ya contaban con una mano predeterminada para ser la mano del uso principal. Este estudio es interesante porque incluyó una muestra grande de bebés recién nacidos y hacen un análisis grupal acerca de los niveles de hemoglobina oxigenada. Sin embargo los resultados no son del todo satisfactorios, ya que en el caso de una estimulación como la que se usó en el experimento, la primera región de interés debió de haber sido la corteza somatosensorial y no la corteza prefrontal. También en dicho estudio se usaron solamente dos optodos, lo cual es una cantidad pequeña de optodos para un estudio.

Existen otros dos estudios sobre bebés, los cuales utilizan como estímulos movimientos pasivos. Hintz et al. (2001) usa un movimiento pasivo del brazo como estímulo para bebés prematuros de diferentes edades en dos estudios diferentes. En el primer estudio, se pudo observar actividad en la corteza motora contralateral de la hemoglobina oxigenada. Y en el segundo, se observó un incremento en la hemoglobina desoxigenada, tanto en la corteza motora contralateral así como en la ipsilateral.

En otro estudio realizado por Isobe et al. (2001) se examinaron recién nacidos durante su primera semana de vida. Básicamente, se tuvieron como sujetos de estudio a siete bebés, dos con edad gestacional normal y cinco prematuros. En ambos grupos se utilizó como estímulo movimientos pasivos de la rodilla. En este estudio se obtuvo un incremento en el nivel de hemoglobina oxigenada y en la cantidad de total de

hemoglobina, sobre la corteza somatosensorial contralateral durante la estimulación. Ambos estudios son bastante interesantes debido a las metodologías que se utilizaron. Sin embargo, en ambos casos el tamaño de la muestra fue muy pequeño por lo que los resultados finales no son muy concluyentes, ya que no se puede hacer ninguna generalización.

En el año 2006, Gibson et al. realizaron un estudio con 6 bebés prematuros estimulándolos mediante movimientos pasivos del brazo con una duración de 15 segundos. Posterior a la estimulación transcurrieron 10 segundos para regresar al nivel basal. En este estudio los 6 bebés prematuros tenían una edad gestacional promedio de 28 semanas y cinco días. Dichos bebés fueron investigados aproximadamente un mes después de haber nacido. Dos bebés fueron excluidos y en 6 de las 8 mediciones (dos por cada bebé, una vez brazo izquierdo y otra vez el brazo derecho) hubo un aumento de hemoglobina oxigenada así como de la hemoglobina desoxigenada cerca de la corteza motora contralateral. Lo interesante de este estudio fue que se realizaron imágenes en 3D con NIRS para localizar el origen de la respuesta. Como en los estudios de Hintz et al. (2001) y Isobe et al. (2001) el grupo experimental fue bastante pequeño.

Erberich et al. (2006) tampoco encontraron una lateralización de la respuesta hemodinámica a un estímulo somatosensorial en bebés con una edad postconcepcional de 42 semanas. Sin embargo, sí se observó lateralización en su grupo de niños sanos de tres a nueve meses. Erberich et al. (2006) usaron IRMf para evaluar la respuesta hemodinámica a una flexión y extensión pasiva de la mano con la ayuda de una pelota. Se estudiaron 42 bebés en total, incluyendo bebés a término así como bebés prematuros. Sin embargo, solamente 24 de esos bebés fueron estudiados y los bebés con anomalías en regiones somatosensorial fueron excluidos. Las respuestas fueron mixtas con activaciones contra-, bi- e ipsilaterales. Cabe mencionar que en este estudio se tuvo una mayor cantidad de bebés en la muestra.

En otro estudio con IRMf de Arichi et al. (2010), en el cual se utilizó como estímulo un movimiento pasivo de la mano, se encontró una respuesta en la corteza somatosensorial contralateral en bebés prematuros con una edad gestacional menor de 37 semanas al día de estudio y bebés sanos con una edad gestacional entre 37 y 42

semanas al día de estudio. También se tuvo una respuesta bilateral en algunos bebés (8 de los 18 sujetos) de un segundo grupo de bebés prematuros con una edad postconcepcional de alrededor de 42 semanas al día de estudio. Un análisis de tractografía probabilística con tensores de difusión (DTI) en un subconjunto de los bebés, se mostró que existen tractos de la región ipsilateral de la corteza motora hacia el tallo cerebral a través del tracto corticoespinal ipsilateral. Los bebés prematuros con una edad alrededor de la de a término también tenían conexiones interhemisféricas a nivel de la corteza somatosensorial que no estaban presentes en los bebés prematuros con una edad corregida menor a 37 semanas. La anisotropía fraccional va incrementando con la edad a través de los diferentes grupos, el grupo con el menor valor es el de los bebés prematuros recién nacidos, le sigue el grupo de los bebés sanos y el grupo con el mayor valor es el de los bebés prematuros con una edad postconcepcional de alrededor de 42 semanas. Sin embargo, no se puede concluir si estas diferencias fueron significativas porque se usaron muy pocos bebés para hacer la tractografía y no se hicieron comparaciones estadísticas. Esto sugiere que la conectividad se desarrolla con la edad y que el ambiente extrauterino ayuda a los bebés prematuros a desarrollarla. Este estudio es muy interesante por las siguientes razones: porque utiliza IRMf en una población no muy estudiada, por su análisis de los tractos y por sus grupos experimentales.

Finalmente, existe otro estudio japonés de NIRS de Nishida et al. (2008) en donde se comparó la latencia del valor al pico máximo de un grupo de bebés prematuros contra un grupo de bebés sanos a término con la misma edad gestacional corregida al día de estudio. Este estudio fue un protocolo lingüístico y se encontró que los bebés prematuros tenían una latencia al pico máximo menor a la de los bebés sanos cuando escucharon un cuento japonés. Los investigadores explicaron esto con la idea de que los bebés prematuros tuvieron la ventaja de aprender la prosodia del lenguaje japonés durante su vida extrauterina, y por eso respondieron más rápido al estímulo del cuento japonés. Este estudio es interesante por la manera cómo realizaron el análisis grupal, ya que a partir de él se basó el análisis intergrupar del presente proyecto.

3 - Justificación

Hasta este momento no se ha logrado encontrar ningún estudio, en el cual se comparen los efectos de los movimientos pasivos de la muñeca entre bebés prematuros y bebés sanos con una edad gestacional normal.

En el presente estudio se desea comparar el efecto de la prematurez sobre la respuesta hemodinámica medida por la técnica NIRS a una estimulación pasiva de la muñeca al compararla con la respuesta de bebés con una edad gestacional normal y sin factores de riesgo de daño cerebral. También se quiere investigar si los bebés prematuros con una edad similar a los bebés a término todavía muestran diferencias en sus respuestas. Esto ayudará a definir si la prematurez permanece e influye en el desarrollo de dicha respuesta. Cabe mencionar que muchos bebés prematuros tienen factores de riesgo de daño cerebral sumados a su prematurez, por lo que los dos grupos de bebés prematuros son muy heterogéneos y tal vez se requiera crear subgrupos más homogéneos.

Tomando como base los dos estudios mencionados anteriormente, Hintz et al. (2001) e Isobe et al. (2001), se puede inferir que al momento de aplicar un estímulo de tipo movimiento pasivo tanto en bebés prematuros como en no prematuros, se podrán observar cambios en la hemodinámica de la corteza somatosensorial. Normalmente, se espera un aumento de hemoglobina total y oxigenada durante la estimulación, así como una disminución de la hemoglobina desoxigenada.

4 - Hipótesis

- 1) Al momento de aplicar el estímulo de un movimiento pasivo, se observarán cambios en la hemodinámica de la corteza sensoriomotora en los bebés recién nacidos sanos, en los bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio < 37 semanas y en los bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio > 37 semanas.

- 2) Se encontrarán diferentes niveles de hemoglobina oxigenada y desoxigenada entre los tres grupos. Esta diferencia en los niveles de hemoglobina tendrá una relación directa a los diferentes niveles de desarrollo de cada grupo así como al daño cerebral correspondiente.
- 3) Se observará una mayor activación en los recién nacidos a término en comparación a los dos grupos de prematuros.
- 4) El grupo de los bebés prematuros con una edad corregida similar a los a término tendrá una respuesta diferente en comparación a los bebés prematuros que todavía no han llegado a las 37 semanas.

5 - Objetivos

El objetivo general del presente estudio es poder determinar si existen diferencias en los niveles de la hemoglobina oxi- y desoxigenada, tanto durante una tarea sensoriomotora como durante un estado basal de reposo en bebés recién nacidos.

En especial se quiere determinar si existen diferencias en las respuestas hemodinámicas de la corteza sensoriomotora, entre los tres diferentes grupos de estudio. Dichos grupos han sido clasificados según su edad gestacional y su edad corregida al día de estudio en: bebés sanos con un edad gestacional normal, bebés prematuros con más de 37 semanas y bebés prematuros con menos de 37 semanas al día del estudio.

Otro objetivo importante es poder definir si la técnica de NIRS es la más adecuada para el desarrollo de este estudio. Al finalizar el presente estudio y en caso de que se obtengan resultados satisfactorios en los objetivos, se esperará haber podido lograr un estudio base, así como haber creado un estándar de valores. - De la misma forma el presente estudio es importante para poder obtener más experiencia en la Unidad de Neurodesarrollo acerca de la técnica de NIRS.

6 - Sujetos, material y Métodos

6.1 - Sujetos de Estudio

Los sujetos de estudio fueron bebés recién nacidos dentro de la unidad pediátrica del Hospital de Especialidades del Niño y la Mujer, el cual está localizado en la ciudad de Querétaro, Qro.



Figura 4: Diferentes grupos de sujetos

Como se explicó anteriormente, se tuvieron tres grupos de recién nacidos:

- El primer grupo fue el grupo de bebés recién nacidos a término sanos.
- Un grupo de bebés prematuros con un edad corregida al día de estudio de más de 37 semanas.
- Un grupo de bebés prematuros con una edad corregida al día del estudio menor a 37 semanas.

Cada uno de los grupos de bebés tuvo 10 sujetos de estudio. Los bebés prematuros que tuvieron una edad corregida menor de 37 semanas al día de estudio fueron registrados lo más pronto posible después de haber nacido, sin embargo y debido a razones obvias, no formaron parte del estudio hasta que fueron dados de alta de la unidad de cuidados intensivos. La muestra fue constituida tanto por bebés femeninos como por bebés masculinos y los padres dieron su consentimiento informado para permitirles participar en el estudio. El estudio fue realizado en el laboratorio de la unidad de Neurodesarrollo de la UNAM ubicado dentro del hospital del Niño y la Mujer.

6.2 - Material y Métodos

El estudio se realizó una vez que los bebés se encontraron en sus cunas. Esto es con el objetivo de poder propiciar un estado tranquilo en los bebés. Ningún tipo de sedante fue utilizado, sin embargo, los bebés podrán estar durmiendo. Se trató de evitar hacer mediciones cuando los bebés se encuentren en un estado muy agitado; ya sea llorando o muy inquietos, para poder disminuir al máximo el margen de error debido a estimulaciones ajenas a las utilizadas en el estudio. De igual forma se trató de que los bebés hayan sido alimentados previamente a ser realizado el estudio.

6.2.1 - Registro con la NIRS

Para registrar la actividad cerebral se utilizó el equipo Hitachi ETG 4000 de ondas continuas (Hitachi LTD, Japón). Del mismo modo, como referencia para la colocación de los optodos sobre la cabeza de los bebés, se usó el estándar internacional 10/20. Este estándar sirve como guía para posicionar los electrodos requeridos para realizar un estudio de EEG. Se pusieron 18 optodos sobre las áreas centrales de las cabezas de los bebés. Se tuvieron optodos que únicamente enviaron la luz infrarroja, y de igual forma, se tuvieron optodos que solamente registraron la reflexión de la luz. La distancia entre los optodos que envían la luz y los que la detectan fue aproximadamente de 3 cm. Cabe mencionar, que se midieron los niveles de hemoglobina oxigenada utilizando una longitud de onda de $830\text{nm} \pm 30 \text{ nm}$ y los de hemoglobina desoxigenada utilizando una longitud de onda de $690\text{nm} \pm 30 \text{ nm}$.

6.2.2 - Procedimiento de la estimulación somatosensorial

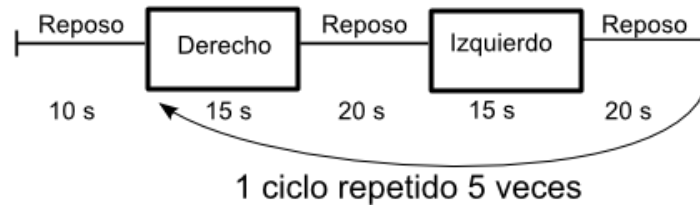


Figura 5: Procedimiento del experimento

Para realizar el estudio se usó un diseño de bloques, el cual tuvo tres condiciones diferentes. Antes del primer bloque, se midieron por 15 segundos los niveles de hemoglobina sin estimulación somatosensorial. Esto es para poder obtener un estado basal sin estimulación. El primer bloque, fue la estimulación de la mano izquierda. Durante este bloque se flexionó la muñeca aproximadamente 18 veces en un periodo de 15 segundos. Posteriormente hubo un tiempo de reposo para permitir que la señal regresará a un nivel normal, y en el último bloque, se flexionó la muñeca de la mano derecha aproximadamente 18 veces durante 15 segundos. Este ciclo fue repetido 5 veces.

La actividad medida durante el estado basal, se restó de la actividad adquirida durante los diferentes bloques en movimiento. De esta forma se pudo evaluar los cambios en la hemodinámica inducidos por el movimiento de la muñeca.

6.3 - Estadística

Para poder realizar el análisis estadístico, se probaron varios programas diferentes para adecuar los valores de las muestras a un programa particular aunque ninguno de ellos funcionó satisfactoriamente. El apéndice 1 contiene información acerca de los programas probados pero no utilizados. Para la análisis de los datos de este estudio se usó NIRS-SPM así como código de Matlab desarrollado para este estudio. Para el análisis de los datos de la NIRS no existe un estándar, y muchos laboratorios usan su propio código para analizar los datos. Lo común en todos los análisis estadísticos, es

que antes de analizar los datos se depuran éstos, para quitar artefactos de movimiento, el ritmo cardiaco y la respiración. Particularmente el análisis grupal de la NIRS no es realizado muy seguido. Existen dos formas de analizar la información, se pueden analizar las formas de la onda, los picos de amplitud máximo o mínimo y las latencias de estos picos, o se puede analizar la actividad promedio sobre una etapa de interés. En cualquier punto de la prueba que se comparen las muestras, se necesitan analizar de forma separada los niveles de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada, así como los niveles de hemoglobina total. Cabe mencionar que debido a que los niveles de hemoglobina total son solamente la suma de los otros dos niveles, no es tan importante analizar a gran detalle dicha medición. Hasta este momento no se ha podido determinar cuál de los tres niveles mencionados anteriormente predicen mejor la actividad cerebral en los recién nacidos.

6.3.1 - NIRS-SPM

NIRS-SPM es un Plugin para SPM desarrollado por un grupo coreano del “Department of Bio and Brain engineering” del “Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST)”. Se puede utilizar NIRS-SPM con SPM 8. SPM es un programa para analizar datos de PET, EEG y IRMf basado en el modelo general lineal (GLM). La documentación de este programa (Tak, 2011) es excelente y es muy fácil de usar.

6.3.1.1 - Colocación de los optodos

NIRS-SPM requiere una localización de los optodos en un cerebro de referencia. Esto se puede hacer manualmente o con coordenadas conocidas. Para colocar los optodos se utilizó un cerebro de referencia de un bebé de tres meses de edad, ya que no se encontró un cerebro de referencia de un bebé recién nacido. Las posiciones en la imagen son solamente una aproximación, ya que las posiciones reales no son perfectamente constantes en los registros.

Esto se debe a que los bebés tienen cabezas con formas y tamaños diferentes, y así mismo, no se tienen las coordenadas utilizadas para el registro. La Figura 6 muestra las posiciones de los optodos en un esquema bidimensional. La Figura 7 muestra a un bebé en un registro de NIRS para un estudio acerca de la percepción auditiva realizado en el mismo laboratorio que se utilizó para este proyecto. El ambiente y la posición del bebé es comparable con las condiciones del presente estudio.

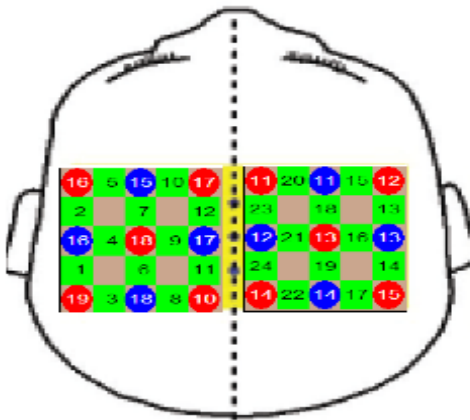


Figura 6: Posiciones aproximadas de los optodos (fuentes azul; detectores rojo) y canales



Figura 7: Ambiente y posición del bebé durante un estudio de la percepción auditiva

6.3.1.2 - Preprocesamiento

Para remover ruido y artefactos, NIRS-SPM realiza una atenuación de las ondas “*smoothing*” y remueve las ondas de altas frecuencias “*detrending*”. Para remover artefactos fisiológicos extracerebrales NIRS-SPM ofrece dos posibilidades de detrending. La primera es un algoritmo clásico de la función transformada coseno discreta “*Discrete cosine transform*” (DCT) y la segunda es una técnica desarrollada por NIRS-data que es un algoritmo llamado “*Wavelet minimum description length*” (MDL). MDL descompone la señal en dos tendencias globales, la señal hemodinámica y el componente de ruido no correlacionado a distintas escalas. El MDL está basado en el

principio de “Occam’s razor” y busca la solución más simple que sea consistente con la señal observada. Jang et al. (2009) muestran que el MDL es la mejor metodología de “detrending” para NIRS, en comparación con otros métodos convencionales incluyendo DCT y frecuencias de corte. Del mismo modo MDL es la mejor técnica para evitar “over-” y “underfitting”. Para evaluar la eficacia de MDL, Jang et al. (2009) utilizaron datos simulados así como resultados de una tarea de “finger-tapping” en adultos.

NIRS-SPM ofrece además dos técnicas para quitar ruido de baja frecuencia en la señal del suavizamiento temporal “temporal smoothing”. La primera es una función de la respuesta hemodinámica “HRF basis function” aproximada a la relación del diseño del experimento, y la segunda es una aproximación de un filtro gaussiano. Ye et al. (2009) demostraron que un filtro con la función de HRF es superior al filtro gaussiano para datos de NIRS en un diseño de bloques. También demostraron que la técnica de atenuamiento temporal (metodología de precoloración) generalmente produce mejores resultados que la técnica antagonista de correlación serial (metodología de preblanqueo). Debido a estas razones, cuando se preprocesaron los datos se utilizó MDL para el detrending y el filtro de HRF para la precoloración y no la técnica de preblanqueo. A parte del sistema de filtraje de Hitachi, se encontraron diversos estudios que investigaban diferentes metodologías para determinar cuál algoritmo es el más adecuado para remover ruido de la respuesta hemodinámica. En estos estudios se argumentaba que también los filtros convencionales podrían cortar partes de las frecuencias bajas o altas de la respuesta hemodinámica causando que información importante pueda ser perdida.

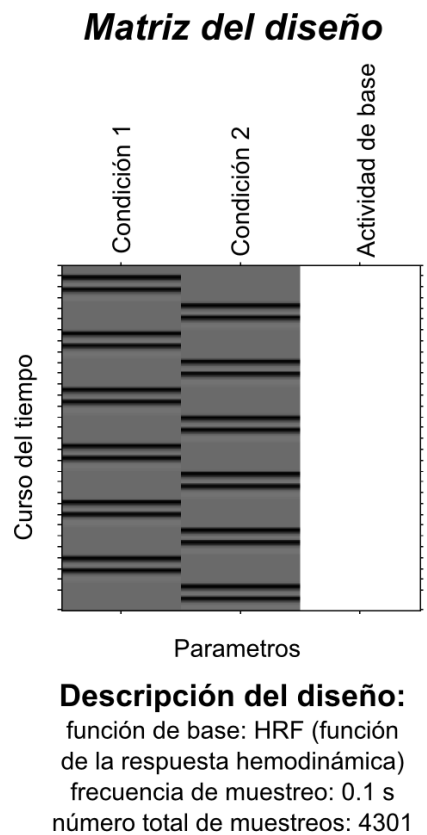


Figura 8: Matriz de diseño del experimento, la condición 1 se refiere al movimiento derecho y la condición 2 al movimiento izquierdo.

6.3.1.3 - Matriz del diseño y GLM

La matriz del diseño contiene toda la información relacionada a los diferentes estímulos y aproxima la respuesta hemodinámica con la función canónica de HRF. La matriz puede ser determinada manualmente con los marcadores de estimulación o bien, también puede ser determinada con los marcadores que son extraídos del archivo de los datos de NIRS. La Figura 8 muestra la matriz del diseño para este experimento.

La primera columna contiene la respuesta aproximada para el movimiento de la mano derecha y la segunda columna para el movimiento de la mano izquierda. La función de HRF predice una onda con dos picos, debido a esto tenemos dos líneas negras muy cercanas una de la otra para cada periodo de estimulación. La tercera columna representa la actividad basal la cual es constante e independiente de los bloques de experimentación.

El modelo lineal general es una función lineal que describe los datos observados con una combinación de la matriz del diseño multiplicada por un vector que contiene los valores de β , que expresan la diferencia entre la matriz de diseño y la matriz de los valores observados. Para considerar los posibles errores hay un término de error ε (Lazar, 2008).

$$\text{Activación observada} = X\beta + \varepsilon$$

Ecuación 1: Modelo general lineal.

El modelo general lineal de NIRS-SPM esta basado en la función canónica de la respuesta hemodinámica.

6.3.1.4 - Contrastes de T

Para determinar diferencias entre las diferentes condiciones intragrupalas, SPM utiliza contrastes de F o de T. Para el experimento actual se calcularon los contrastes para: la diferencia entre la actividad basal y la actividad durante la estimulación de la mano

derecha [1 0] y el contraste entre la actividad basal y la actividad durante la estimulación de la mano izquierda [0 1].

6.3.1.5 - Límites de NIRS-SPM

En NIRS-SPM no se ofrece un análisis intergrupar y no se pueden quitar los canales ruidosos de forma manual. Cabe mencionar que la representación de las regiones de interés que ofrece NIRS-SPM, es una representación de mapa y no una representación de los canales.

6.3.2 - Análisis del curso de tiempo con Matlab con los datos filtrados de NIRS-SPM

Para aprovechar la metodología de filtrado de NIRS-SPM, primeramente se filtraron los datos y después se exportaron a Matlab para poder continuar su análisis. Debido a esto se desarrolló un script en Matlab que puede promediar la respuesta de todos los bloques de una condición para cada canal de cada sujeto, dicho script está en el apéndice 2a. Este script, así como todos los otros scripts que fueron desarrollados, aceptan matrices de datos que pueden incluir datos perdidos o faltantes. Gracias a esto es posible quitar canales ruidosos de forma total o parcial si es que existen lapsos específicos durante el registro que presentaron mucho ruido.

Se desarrolló un script que determina la desviación estándar y la respuesta promedio, para cada canal específico de un grupo de sujetos (apéndice 2b). También se desarrolló otro script que busca el pico máximo en una fila específica de una matriz, y regresa el valor del pico máximo menos el valor inicial de la fila así como la latencia en segundos. Por ejemplo, esto es útil para encontrar el pico máximo en un canal de un sujeto (apéndice 3a). En este experimento cada fila representa un bloque, es decir el tiempo de una estimulación más el tiempo del siguiente reposo, debido a esto es posible determinar el cambio relativo máximo en μmol de la concentración de hemoglobina desoxi- y oxigenada de cada bloque.

Por último se desarrolló un script que guarda las amplitudes del pico máximo en una matriz y sus latencias en otra, en las cuales las columnas son los diferentes canales y cada fila representa un sujeto diferente del grupo en análisis. Si no existe un pico en un canal de un sujeto se regresa un “NaN” (un dato perdido) en esa localidad específica de la matriz. Esto es útil para poder realizar un análisis estadístico futuro (apéndice 3b).

Para hacer las comparaciones intra- e intergrupales, se usaron las amplitudes y las latencias promedio en cada hemisferio de cada sujeto.

Se comparó de una manera intragrupal por hemisferios con una prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, por cada condición y tipo de hemoglobina. Y de una manera intergrupala con una prueba U de Mann-Whitney los hemisferios de cada condición y tipo de hemoglobina de los bebés sanos contra los bebés prematuros.

Estas pruebas fueron también realizadas en el estudio de Nishida et al. (2008). Esto es una comparación burda pero viable porque no es por canales sino por hemisferios. La comparación no es afectada por la variabilidad de las áreas medidas en cada bebé dependientes de su forma y tamaño de la cabeza.

7 - Resultados

7.1 - Sujetos registrados

Se registraron 18 bebés sanos, 11 bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio < 37 semanas y 12 bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio > 37 semanas. Se excluyeron 3 bebés prematuros, dos de ellos porque ya que tenían una edad corregida muy cercana a las 37 semanas (36.8 y 37.1 respectivamente), y el tercero porque su archivo se dañó.

El registro de los bebés sanos fue muy difícil y lamentablemente se perdieron datos parciales de dos bebés. Asimismo, se excluyeron 6 bebés sanos debido a datos ruidosos causados por intervalos de llanto o por mala conectividad. Al final solamente se tuvieron 10 bebés por cada grupo.

En el grupo de bebés sanos, la edad gestacional promedio fue de 39.05 (± 1.12 , min.=37 máx.=40) y la edad corregida promedio al día de estudio fue de 40.96 (± 1.62 , min.=39 y máx.=44.7).

En el grupo de bebés prematuros con una edad mayor a 37 semanas, la edad gestacional promedio fue de 32.4 (± 3.4 min.=26.4 máx.=35) y la edad corregida promedio al día de estudio fue de 40.4 (± 2.6 , min.=37.6 y máx.=46).

En el grupo de bebés prematuros con una edad menor a 37 semanas sea, la edad gestacional promedio fue de 31.2 (± 1.9 min.=28 y máx.=34) y la edad corregida promedio al día de estudio fue de 34.8 (± 1 , min.=33.4 y máx.=36.1).

7.2 – Contrastes de NIRS-SPM

Se encontraron diferencias significativas para múltiples contrastes en todos los grupos con una $p < 0.05$ no corregida en comparaciones múltiples para la hemoglobina oxigenada así como para la hemoglobina desoxigenada entre la actividad de base y el movimiento. Los resultados de los contrastes de NIRS-SPM se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Resultados de NIRS-SPM que muestran si el cambio de la activación durante el movimiento fue significativo o no ($p < 0.05$)

Grupo / Tipo de hemoglobina	Movimiento contra la actividad de base	Hemisferio derecho	Hemisferio izquierdo
Sanos / Oxi	derecho	--	*
Sanos / Oxi	izquierdo	--	--
Sanos / Desoxi	derecho	*	--
Sanos / Desoxi	izquierdo	*	--
Prematuros < 37 semanas /Oxi	derecho	*	*
Prematuros < 37 semanas /Oxi	izquierdo	--	--
Prematuros < 37 semanas /Desoxi	derecho	--	--
Prematuros < 37 semanas /Desoxi	izquierdo	--	--
Prematuros > 37 semanas /Oxi	derecho	--	--
Prematuros > 37 semanas /Oxi	izquierdo	--	--
Prematuros > 37 semanas /Desoxi	derecho	--	--
Prematuros > 37 semanas /Desoxi	izquierdo	--	*

Los bebés sanos a término mostraron un cambio en la actividad significativa en el hemisferio izquierdo para el movimiento de la mano derecha en la hemoglobina oxigenada. Pero no hubo cambios significativos en ningún hemisferio para el movimiento de la mano izquierda en la hemoglobina oxigenada.

En la hemoglobina desoxigenada se encontraron activaciones ipsilaterales en el caso del movimiento derecho y activaciones contralaterales durante el movimiento de la mano izquierda. En el grupo de bebés prematuros < 37 hubo una activación bilateral para el movimiento de la mano derecha contra la actividad de base. No hubo más efectos significativos.

En el grupo de bebés prematuros con una edad corregida mayor a 37 semanas la única diferencia significativa fue en la hemoglobina desoxigenada al movimiento izquierdo en el lado ipsilateral. Sin embargo las diferencias en las edades gestacionales en este grupo fueron muy grandes. Por esta razón se clasificaron a estos bebés en un grupo de 7 bebés con una edad gestacional > 33 semanas. Los restantes tres bebés se analizaron individualmente. La Tabla 2 muestra estos resultados. Los bebés del primer

subgrupo con una edad gestacional mayor a 33 semanas mostraron activaciones ipsilaterales para los dos movimientos. En los resultados individuales de los prematuros con una edad gestacional menor a 30 semanas, solamente el bebé que nació con la edad gestacional menor (26.4 semanas) tuvo una activación contralateral para el movimiento de la mano izquierda y una activación bilateral para el movimiento de la mano derecha. Los otros bebés mostraron activaciones ipsi- y bilaterales hacia ambos movimientos.

Tabla 2: Resultados de NIRS-SPM de los subgrupos de bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio > 37 semanas

Sujetos / Tipo de hemoglobina	Movimiento contra la actividad de base	Hemisferio derecho	Hemisferio izquierdo
Bebés con EG > 33 semanas / Oxi	derecho	*	--
Bebés con EG > 33 semanas / Oxi	izquierdo	--	*
Bebés con EG > 33 semanas / Desoxi	derecho	--	--
Bebés con EG > 33 semanas / Desoxi	izquierdo	--	--
Bebé con EG 29.6 y EC 37.8 / Oxi	derecho	*	--
Bebé con EG 29.6 y EC 37.8 / Oxi	izquierdo	*	*
Bebé con EG 29.6 y EC 37.8 / Desoxi	derecho	--	--
Bebé con EG 29.6 y EC 37.8 / Desoxi	izquierdo	--	--
Bebé con EG 28 y EC 46 / Oxi	derecho	--	--
Bebé con EG 28 y EC 46 / Oxi	izquierdo	*	*
Bebé con EG 28 y EC 46 / Desoxi	derecho	--	*
Bebé con EG 28 y EC 46 / Desoxi	izquierdo	*	*
Bebé con EG 26.4 y EC 40.1 / Oxi	derecho	*	*
Bebé con EG 26.4 y EC 40.1 / Oxi	izquierdo	*	--
Bebé con EG 26.4 y EC 40.1 / Desoxi	derecho	*	*
Bebé con EG 26.4 y EC 40.1 / Desoxi	izquierdo	*	--

7.3 - Análisis de las Amplitudes del pico máximo de la respuesta hemodinámica

La amplitud se midió en cambios relativos al punto de inicio de la estimulación en la concentración de hemoglobina en μmol .

7.3.1 – Comparaciones intergrupales

La Tabla 3 muestra el promedio de la amplitud del pico máximo y su desviación estándar por hemisferio y grupos así como los valores de p para las comparaciones intergrupales de la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon de la hemoglobina oxigenada.

Tabla 3: Promedio de amplitudes por hemisferio y valores de probabilidad (p) de las comparaciones intergrupales para la hemoglobina oxigenada

Movimiento/ Hemisferio	Sanos (amplitud)	Prematuros edad<37sem (amplitud)	Prematuros edad>37sem (amplitud)	Sanos Vs Prematuros edad<37 sem (p)	Sanos Vs Prematuros edad>37sem (p)	Prematuros edad< 37sem Vs Prematuros edad>37sem
derecho/ derecho	0.272 ± 0.37	0.322 ± 0.318	0.2107 ± 0.31	<0.0001	<0.0001	<0.0001
derecho/ izquierdo	0.3957 ± 0.5	0.2938 ± 0.26	0.21 ± 0.19	0.465	<0.0001	<0.0001
izquierdo/ derecho	0.2516 ± 0.31	0.2744 ± 0.2735	0.1845 ± 0.29	0.0007	<0.0001	<0.0001
izquierdo/ izquierdo	0.2426 ± 0.32	0.237 ± 1.71	0.1498 ± 0.25	0.0067	<0.0001	<0.0001

7.3.1.1 - Hemoglobina oxigenada

Diferencias Intergrupales de la amplitud del pico máximo en la hemoglobina oxigenada

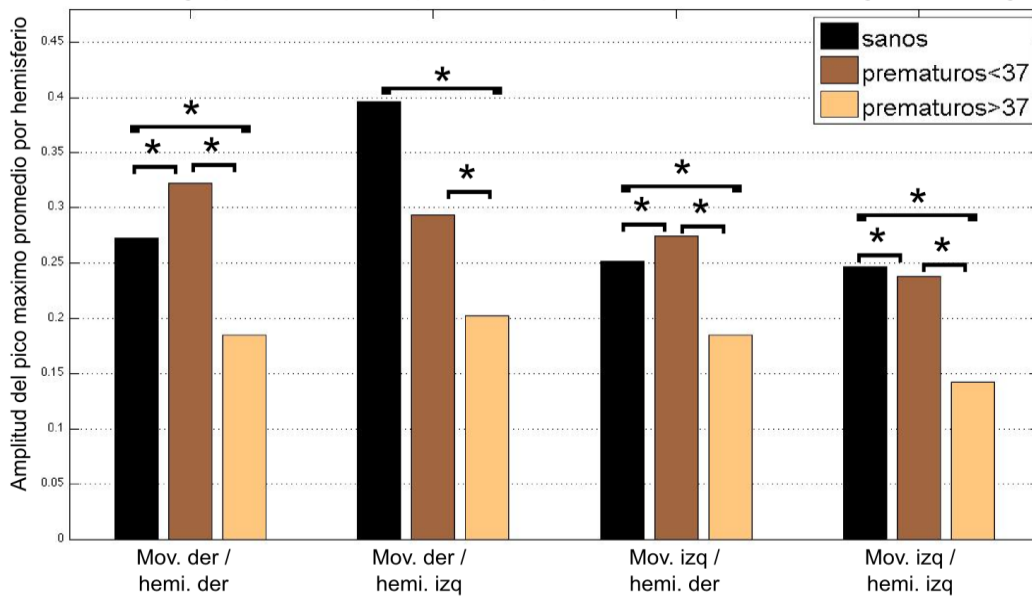


Figura 9: Amplitud del pico máximo promedio medido en μmol para los diferentes hemisferios cerebrales y tipo de movimiento en los diferentes grupos de bebés para la hemoglobina oxigenada. La primera barra negra representa a los bebés sanos, la segunda barra café oscuro representa a los bebés prematuros con EC < 37 semanas y la tercera barra café claro representa a los bebés prematuros con un EC > 37 semanas. Los asteriscos indican una diferencia significativa de $p < 0.00001$.

Los bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio mayor a 37 semanas muestran un pico máximo menor de los bebés prematuros con una edad gestacional menor a 37 semanas al día de estudio por todos los lados y movimientos. Aparte del lado izquierdo durante el movimiento de la mano derecha, el pico máximo de la activación en los bebés prematuros con una edad mayor a 37 semanas al día de estudio es también menor que en los bebés sanos. Los bebés prematuros con una edad menor de 37 semanas al día de estudio tienen un pico máximo promedio mayor al lado ipsilateral que los bebés sanos durante el movimiento de la mano derecha. Todos los picos máximos promedios y los valores de probabilidad están en la Tabla 3. La Figura 9 muestra las amplitudes del pico máximo promedio de los grupos diferentes y las diferencias significativas entre ellos para la hemoglobina oxigenada.

El subgrupo de bebés prematuros con una edad gestacional mayor a 33 semanas y una edad corregida al día de estudio mayor a 37 semanas no tiene un pico máximo diferente del grupo sano en la hemoglobina oxigenada. Pero dicho subgrupo tiene un pico

máximo menor que los bebés prematuros con una edad corregida menor de 37 semanas al día de estudio en todos los lados aparte del lado izquierdo durante el movimiento de la mano izquierda.

7.3.1.1.2 - Hemoglobina desoxigenada

Tabla 4: Promedio de Amplitudes por Hemisferio y Valores de probabilidad para las comparaciones intergrupales de la hemoglobina desoxigenada

Movimiento/ Hemisferio	Sanos (amplitud)	Prematuros edad<37sem (amplitud)	Prematuros edad>37sem (amplitud)	Sanos Vs Prematuros edad<37 sem (p)	Sanos Vs Prematuros edad>37sem (p)	Prematuros edad< 37sem Vs Prematuros edad>37sem
derecho/ derecho	0.298 ± 0.42	0.301 ± 0.31	0.2107 ± 0.3	0.009	<0.0001	<0.0001
derecho/ izquierdo	0.41 ± 0.52	0.312 ± 0.29	0.21 ± 0.2	0.49	<0.0001	<0.0001
izquierdo/ derecho	0.311 ± 0.399	0.2644 ± 0.27	0.1892 ± 0.3	<0.0001	<0.0001	<0.0001
izquierdo/ izquierdo	0.277 ± 0.4	0.24 ± 0.19	0.1498 ± 0.25	0.0011	<0.0001	<0.0001

Las diferencias para la hemoglobina desoxigenada fueron en los mismos grupos y mismos lados diferentes. Los valores de p de las pruebas de Mann Whitney U así como los picos máximos promedios se indican en la Tabla 4. La Figura 10 muestra los amplitudes del pico máximo promedio de los grupos diferentes y las diferencias significativas entre ellos.

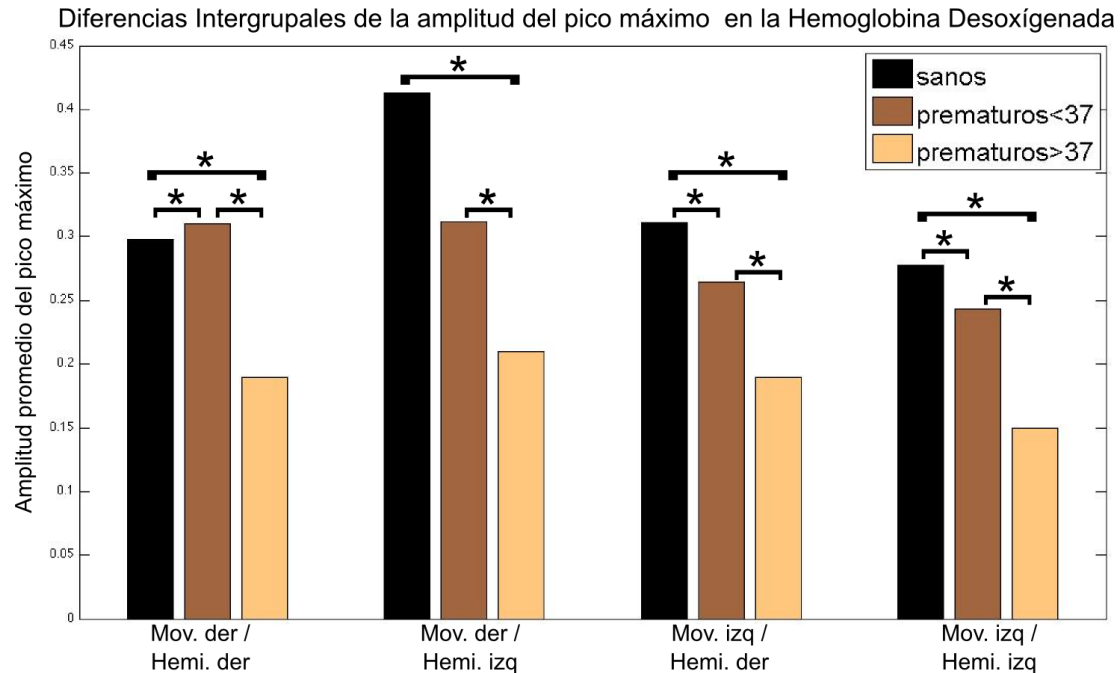


Figura 10: Amplitud del pico máximo promedio medido en μmol para los diferentes hemisferios cerebrales medido y tipo de movimiento en los diferentes grupos de bebés para la hemoglobina desoxigenada. La barra negra representa a los bebés sanos, la segunda barra café oscuro representa a los bebés prematuros con EC < 37 semanas y la tercera barra café claro representa a los bebés prematuros con un EC > 37 semanas. Los asteriscos indican una diferencia significativa de $p < 0.01$.

El subgrupo de bebés prematuros con una edad gestacional mayor a 33 semanas y una edad corregida al día de estudio mayor a 37 semanas tiene solamente un pico máximo promedio menor que los bebés sanos en el lado izquierdo durante el movimiento de la mano derecha. Pero dicho subgrupo tiene un pico máximo menor que los bebés prematuros con una edad corregida menor de 37 semanas al día de estudio en todos los lados aparte del lado izquierdo durante el movimiento de la mano izquierda.

7.3.2 – Comparaciones interhemisféricas

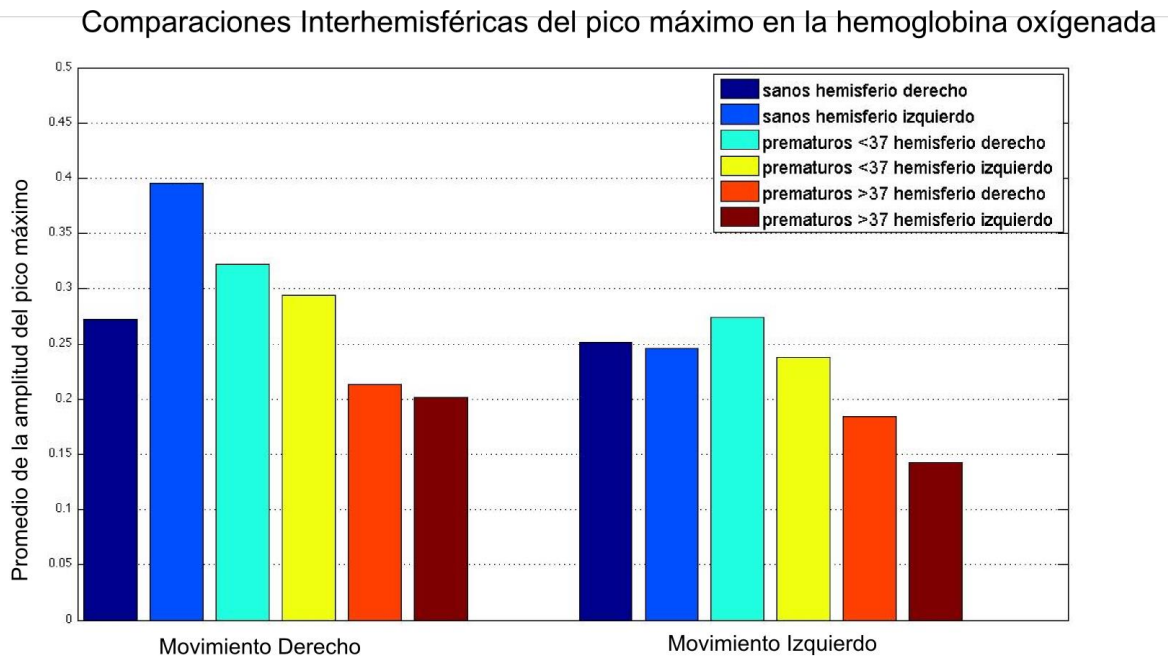


Figura 11: Amplitud del pico máximo de la hemoglobina oxigenada por hemisferios y grupos experimentales.

En las comparaciones interhemisféricas solamente los bebés sanos mostraron diferencias para el movimiento de la mano derecha. Dichos bebés muestran un pico con una mayor amplitud en el lado contralateral al de la estimulación tanto para la hemoglobina oxigenada ($p=8.1 \cdot 10^{-14}$) como para la hemoglobina desoxigenada ($p=7.4 \cdot 10^{-21}$) en la prueba de signos de Wilcoxon. La Figura 11 muestra los promedios de la amplitud de los picos máximos para la hemoglobina oxigenada organizado por hemisferios y grupos experimentales.

La Figura 12 muestra los promedios de la amplitud de los picos máximos para la hemoglobina desoxigenada organizados por hemisferios y grupos experimentales.

Comparaciones Interhemisféricas del pico máximo
en la hemoglobina desoxigenada

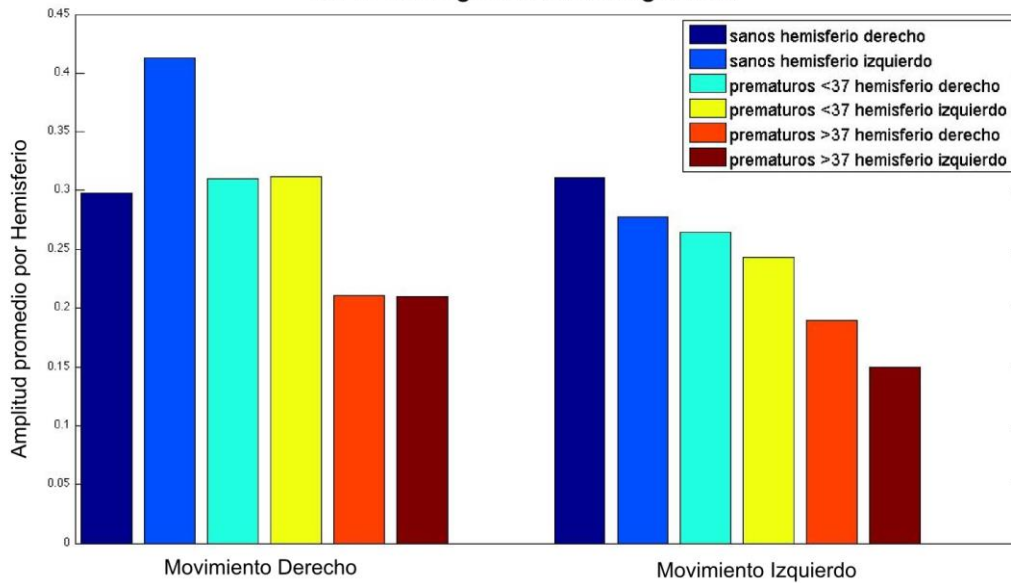


Figura 12: Amplitud del pico máximo de la hemoglobina desoxigenada por hemisferios y grupos experimentales. El asterisco marca las diferencias significativas.

7.3.3 - Latencia del pico máximo

Por el momento se utiliza también la latencia de la onda promedio de cada hemisferio para poder comparar los diferentes grupos.

7.3.3.1 – Comparaciones interhemisféricas

Tanto en la hemoglobina oxigenada así como en la hemoglobina desoxigenada hubo diferencias en las latencias en los bebés sanos durante el movimiento izquierdo con una latencia menor en el lado ipsilateral (oxigenada: $p=3.4 \cdot 10^{-4}$ y desoxigenada: $p=1 \cdot 10^{-4}$). También los bebés prematuros con una edad > 37 semanas mostraron una latencia menor en el lado ipsilateral durante el movimiento izquierdo en la hemoglobina oxigenada ($p=0.0259$). Todas las latencias de la hemoglobina oxigenada están en la Figura 13 y las latencias de la hemoglobina desoxigenada se pueden observar en la Figura 14. Cabe mencionar que la estimulación finalizó en el segundo 15.

Latencia del inicio de la estimulación hasta el pico máximo de la hemoglobina oxigenada

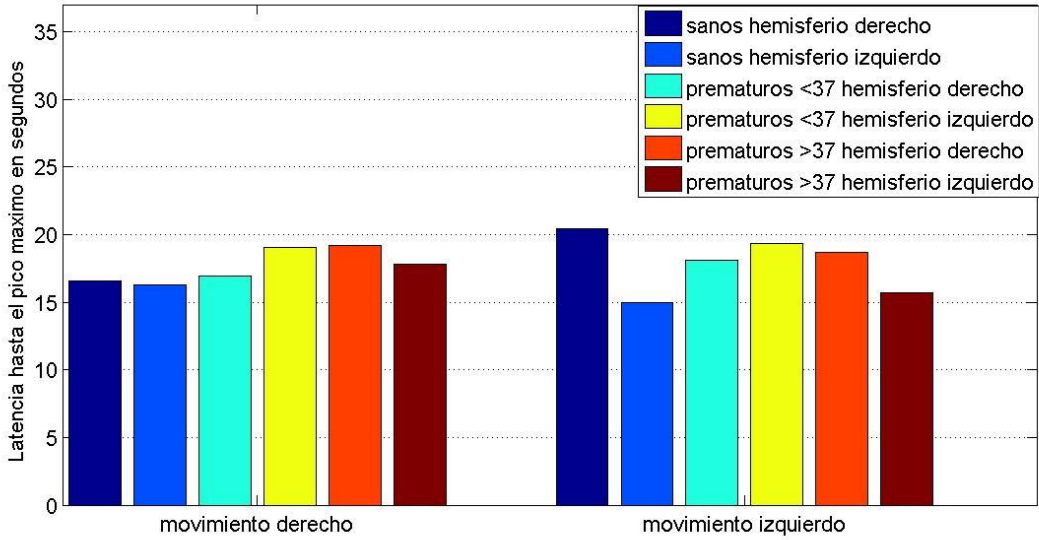


Figura 13: Latencia hasta el pico máximo separado por hemisferios y grupos experimentales de la hemoglobina oxigenada (diferencias significativas marcados por el asterisco).

Latencia del inicio de la estimulación hasta el pico máximo en la hemoglobina desoxigenada

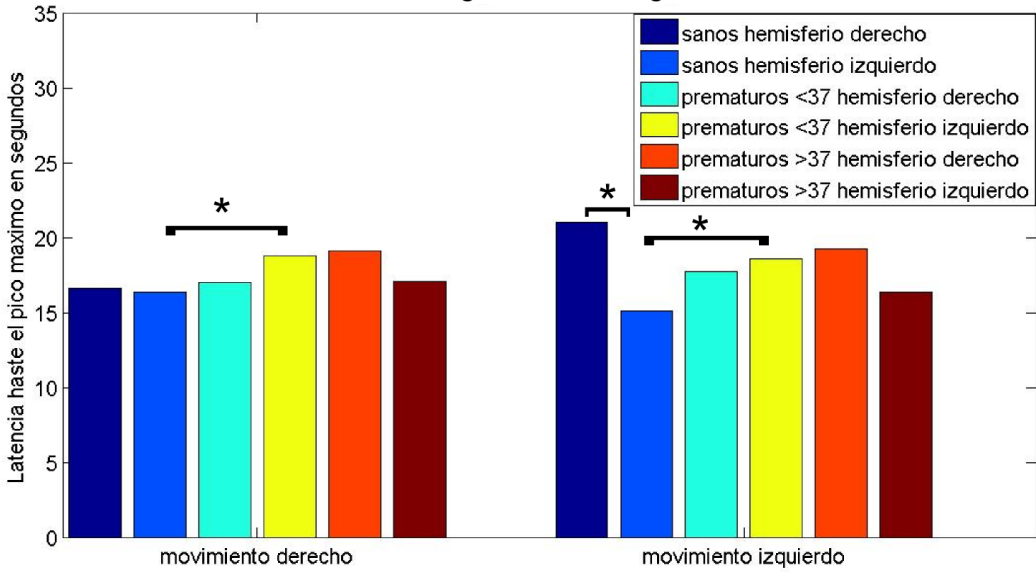


Figura 14: Latencia hasta el pico máximo separado por hemisferios y grupos experimentales de la hemoglobina desoxigenada

7.3.3.2 – Comparaciones intergrupales

7.3.3.2.1 - Hemoglobina oxigenada

Solamente hubo diferencias en el hemisferio izquierdo entre los bebés sanos y los bebés prematuros con una edad < 37 semanas, en donde los bebés sanos tuvieron una latencia menor que la de los bebés prematuros con una edad < 37 semanas (movimiento derecho: $p=0.02$ y movimiento izquierdo: $p=0.002$).

7.3.3.2.2 - Hemoglobina desoxigenada

Unicamente hubo diferencias en el hemisferio izquierdo entre los bebés sanos y los bebés prematuros con una edad < 37 semanas, en donde los bebés sanos tuvieron una latencia menor que la de los bebés prematuros con una edad < 37 semanas durante el movimiento derecho ($p=0.01$) y una latencia mayor durante el movimiento izquierdo ($p=0.008$).

8 – Discusión

Los resultados concuerdan en gran parte con las hipótesis. Se observaron cambios en la hemodinámica de todos los grupos. Los bebés sanos mostraron un incremento en la hemoglobina oxigenada en el hemisferio cerebral contralateral para el movimiento de la mano derecha, pero no se observaron cambios significativos para el movimiento de la mano izquierda.

Los dos grupos de bebés prematuros (así como los subgrupos de los bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio mayor a 37 semanas) mostraron activaciones bi-, ipsi- y contralaterales en la hemoglobina oxigenada. Esto sugiere un retraso en el desarrollo de la lateralización del sistema sensoriomotor en estos bebés.

En los bebés recién nacidos sanos la lateralización a la respuesta de un movimiento de la mano derecha esta completada, sin embargo la lateralización de la respuesta a un movimiento de la mano izquierda no esta completamente desarrollada. Esto puede ser explicado gracias a la evidencia de que la mano izquierda no es la mano preferida para la mayoría de los humanos. Debido a esto el presente estudio demuestra que los bebés recién nacidos sanos ya tienen una mano del uso preferida, tal y como es sugerido por Ozawa et al. (2011) y Mc Cartney et al. (1999).

En las comparaciones intergrupales de las amplitudes del pico máximo, en general las amplitudes fueron mayores en el grupo de bebés sanos que las de los otros dos grupos de bebés prematuros.

Los bebés prematuros con un edad >37 semanas al día del estudio tuvieron una amplitud menor en todas las comparaciones respecto al grupo de los bebés prematuros con una edad <37 semanas al día del estudio. Esto puede significar que en el grupo de bebés prematuros con una edad >37 semanas al día del estudio, su sistema sensoriomotor no haya madurado adecuadamente a pesar de tener mayor edad gestacional, posiblemente debido a que en esta muestra solo existían tres bebés con una gran prematuridad. Cuando en esta muestra sólo se consideraron bebés prematuros con una edad gestacional mayor a 33 semanas y una edad corregida al día de estudio mayor a 37 semanas, no se observaron diferencias en las amplitudes respecto a las de los bebés sanos. Sin embargo, este subgrupo mostró un pico máximo menor que el de los bebés prematuros con una edad corregida menor a 37 semanas. Estos resultados pudieran ser explicados por el cambio de la hemoglobina fetal a la hemoglobina de adulto como describieron Zimmermann et al. (2012). Estos autores estudiaron longitudinalmente de 1 a 11 semanas después del nacimiento a siete bebés prematuros. Reportaron que en 11 de 13 ensayos en los bebés prematuros registrados de 3-8 semanas después del nacimiento existía una respuesta hemodinámica alterada (invertida), posiblemente asociada a un incremento de la demanda metabólica con la edad, y que la hemoglobina existente durante el período de un bajo hematocrito no es suficiente para cubrir este aumento en la demanda durante la activación neuronal. Ellos proponen desarrollar un modelo que explique estos cambios.

Roche-Labarbe et al. (2013) midieron el flujo cerebral relativo en la corteza

somatosensorial de 6 bebés prematuros a la estimulación táctil pasiva y observaron que aumentaba inmediatamente después de la presentación del estímulo y regresaba a la línea base antes que el volumen sanguíneo cerebral, lo que explicaron por una dilatación de las arteriolas precapilares locales que conducían a un incremento del volumen sanguíneo cerebral total por la pasiva dilatación de capilares y venas para acomodar el exceso de sangre. Por otra parte, explican una respuesta hemodinámica de la hemoglobina oxigenada más lenta debido a la inmadurez de los vasos cerebrales, y proponen que deben crearse modelos de la respuesta neurovascular en los prematuros y en general de los neonatos. Hasta el momento no existen modelos matemáticos que expliquen adecuadamente la respuesta hemodinámica típica en prematuros.

9 – Conclusiones

1. En este sentido, los resultados obtenidos en esta tesis, aunque con limitaciones por el tamaño de las muestras, profundizan el conocimiento actual sobre esta temática.
2. Es necesaria la creación de valores normativos para las distintas edades gestacionales por medio del registro de un gran número de recién nacidos, para poder desarrollar un modelo adecuado de la respuesta hemodinámica en los recién nacidos en general y así poder realizar comparaciones que permitan una evaluación cuantitativa de la respuesta en nuevos sujetos. Sin un modelo adecuado de la respuesta hemodinámica en estas edades, un análisis utilizando un modelo general lineal basado en la respuesta hemodinámica de adultos es subóptimo.
3. Como este proyecto fue el primer proyecto de esta naturaleza en el que se realiza un análisis por grupos y entre grupos, se puede considerar como un proyecto pionero en el estudio de bebés recién nacidos utilizando la técnica NIRS.

10 - Referencias

- Arichi T, Moraos A, Meléndez V.D, Grupo M, Merchant N, Coombs, S, Burdel, E, Laraña, DJ, Consuelo, SJ, Beck Mann, C.F. & Edwards A.D.,2010, Somatosensorial cortical activation identified by functional MRI in preterm and term infants. *NeuroImage* 49 (3): 2063-2071.
- Bartocci M, Bergqvist L, Lagercrantz H & Anand K. 2006. Pain activates cortical areas in the preterm newborn baby. *Pain* 122 (1-2): 109-117.
- Becerra L, Harris W, Joseph D, Huppert T, Boas D & Borsook D. 2008. Diffuse optical tomography of pain and tactile stimulation: Activation in cortical sensory and emotional systems. *NeuroImage* 41 (2): 252-259.
- El-Sayed Y & Druzin M.L 2003. Prematurity and Complications of Labor, Cause and Delivery. En: Stevenson D.K, Sunshine P, Benitz WE (Eds.). *Fetal and Neonatal Brain Injury* (3rd ed.). Cambridge, UK:Cambridge University Press: 129-145.
- Erberich S.G, Panigrahy A, Friedlich P, Seri I, Nelson M.D & Gilles F. 2006. Somatosensory Lateralization of the Newborn Brain. *NeuroImage* 29 (1): 155-161.
- Franceschini M, Fantini S, Thompson J, Culver J & Boas D. 2003. Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging. *Psychophysiology* 40 (4): 548-560.
- Gervain J, Mehler J, Werker J, Nelson C, Csibra G, Lloyd-Fox S, Shukla M & Aslin R. 2011. Near-infrared spectroscopy: A report from the McDonnell infant methodology consortium. *Dev Cogn Neurosci*.1 (1):22-46.
- Gibson AP, Austin T, Everdell N.L, Schweiger M, Arridge S.R, Meek J.H, Wyatt J.S, Delpy D.T & Hebden JC. 2006. Three-dimensional whole-head optical tomography of motor evoked responses in the neonate. *NeuroImage* 30 (2): 521-528.
- Harmony T. 1996. Capítulo 8 Factores que inciden en el desarrollo del sistema nervioso del niño. En: Corsi Cabrera M. *Aproximaciones de las neurociencias a*

la conducta. Ciudad de México, México: UNAM: 213-234.

- Hintz S, Benaron D, Siegel A, Zourabian A, Stevenson D & Boas D. 2001. Bedside functional imaging of the premature infant brain during passive motor action. *J Perinat Med.* 29 (4):335-343.
- Huppert T.J & Boas D. 2005. HomER Hemodynamic Evoked Response NIRS data analysis GUI Program User's Guide. Charlestown, USA: Harvard.
- Huppert T.J, Hoge R.D, Diamond S.G, Franceschini M.A & Boas D.A. 2006. A temporal comparison of BOLD, ASL, and NIRS hemodynamic responses to motor stimuli in adult humans. *NeuroImage* 29 (2): 368-382.
- Huppert T.J, Diamond S.G, Franceschini M. A & Boas D.A. 2009. HomER: a review of time-series analysis methods for near-infrared spectroscopy of the brain. *Appl Opt.*48(10): D280-298.
- Isobe K, Kusaka T, Nagano K, Okubo K, Yasuda S, Kondo M, Itoh S & Onishi S. 2001. Functional imaging of the brain in sedated newborn infants using near infrared topography during passive knee movement. *Neurosci Lett.* 299 (3): 221-224.
- Jang K.E, Tak S, Jung J. & Jang J. 2009. Wavelet minimum description length detrending for near-infrared spectroscopy. *J Biomed Opt.* 14 (3): 034004-1 – 034004-12.
- Lauronen L, Nevalainen P, Wikstrom H, Parkkonen L, Okada Y & Pihko E. 2006. Immaturity of somatosensory cortical processing in human neonates. *NeuroImage* 33 (1): 195–203.
- Lazar N.A. 2008. Chapter 5 Basic Statistical Analyses. En *The Statistical Analysis of Functional MRI Data*. New York, USA:Springer: 65-92.
- Leff D.R, Orihuela-Espina F, Elwell C.E, Athanasiou T & Delpy D.T. 2011. Assessment of the cerebral cortex during motor task behaviours in adults: A systematic review of functional near infrared spectroscopy (fNIRS) studies. *NeuroImage* 54 (4): 2922-2936.
- Manly B.F.J. 2005. Chapter 6 Principal Component Analysis. En: *Multivariate Statistical Methods A Primer (3rd Ed)*. USA: Chapman&Hall/CRC: 75-90.
- Mc Cartney G & Hepper P.1999. Development of lateralized behaviour in the

- human fetus from 12 to 27 weeks' gestation. *Dev Med Child Neurol.* 41 (2): 83-86.
- Nevalainen P, Lauronen L, Sambeth A, Wikström H, Okada Y & Pihko E. 2008. Somatosensory evoked magnetic fields from the primary and secondary somatosensory cortices in healthy neonates. *NeuroImage* 40 (2): 738-745.
 - Nevalainen P, Pihko E, Metsäranta M, Sambeth A, Wikström H, Okada Y, Autti T & Lauronen L. 2012. Evoked magnetic fields from primary and secondary somatosensory cortices: A reliable tool for assessment of cortical processing in the neonatal period. *Clin Neurophysiol.* 123 (12): 2377-83.
 - Nishida T, Kusaka T, Isobe K., Ijichi S, Okubo K, Iwase T, Kawada K, Namba M, Imai T & Itoh S. 2008. Extrauterine environment affects the cortical responses to verbal stimulation in preterm infants. *Neurosci Lett.* 443 (1): 23-6.
 - Ozawa M, Kanda K, Hirata M, Kusakawa I, Suzuki C. 2011. Effect of gender and hand laterality on pain processing in human neonates. *Early Hum Dev.* 87 (1): 45-48.
 - Rezale P & Dean A. 2002. Periventricular leukomalacia, inflammation and white matter lesions within the developing nervous system. *Neuropathology* 22 (3): 106-132.
 - Roche-Labarbe N, Fenoglio A, Radhakrishnan H, Kocienski-Filip M, Carp S.A, Dubb J, Boas D.A, Grant P. E & Franceschini M.A. 2013. Somatosensory evoked changes in cerebral oxygen consumption measured non-invasively in premature neonates. *NeuroImage*. Versión disponible en línea (28 de enero, 2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.01.035>.
 - Schmidt W.2005. Chapter 5.1 Absorption properties of molecules. En *Optical Spectroscopy in chemistry and life sciences*. Weinheim. Alemania: Wiley-VCH: 160-170.
 - Shibusawa M, Takeda T, Nakajima K, Ishigami K & Sakatani K. 2009. Functional near-infrared spectroscopy study on primary motor and sensory cortex response to clenching. *Neurosci Lett.* 449 (2): 98-102.
 - Staudt M.2010. Reorganization after pre- and perinatal brain lesions. *J Anat.* 217(4): 469-74.
 - Strangmann G, Boas D & Sutton J. 2002 Non-Invasive Neuroimaging Using Near-

Infrared Light. *Biol Psychiatry* 52 (7):679-93.

- Sunshine P. 2009. Neonatal Encefalopathy epidemiology and overview. En: Stevenson D.K, Benitz W.E, Sunshine P, Hintz S.R & Druzin M.L (Eds.). *Fetal and Neonatal Brain Injury*. Cambridge (4th ed.). UK:Cambridge University Press: 1-13.
- Tak S. 2011. *NIRS-SPM: Statistical Parametric Mapping for Near-Infrared Spectroscopy Version 4*. Korea: KAIST.
- Volpe J & Khawa O. 2008. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 93 (2): F153-161.
- Ye J.C, Tak S, Jang K.E, Jung J & Jang J. 2009. NIRS-SPM: Statistical Parametric Mapping for near-infrared-spectroscopy. *NeuroImage* 44 (2): 428-447.
- Zimmermann B.B, Roche-Labarbe N, Surova A, Boas D.A & Franceschini M.A. 2012. The confounding effect of systemic physiology on the hemodynamic response in newborns. *Adv Exp Med Biol.* 737: 103-109.

Lista de Figuras

FIGURA 1: ILUSTRACIÓN DE TRANSMISIÓN DE LA LUZ INFRARROJA. MODIFICADO DE GERVAIN ET AL. (2011).	9
FIGURA 2: PROMEDIO DE LA RESPUESTA HEMODINÁMICA AL MOVIMIENTO DE UN DEDO (2 S) EN LAS REGIONES DE INTERÉS DE UN SUJETO MODIFICADO DE HUPPERT ET AL. (2006) PARA LOS NIVELES DE LA HEMOGLOBINA OXIGENADA (HbO), HEMOGLOBINA DESOXIGENADA (HbR) Y HEMOGLOBINA TOTAL (HbT).	14
FIGURA 3: RESPUESTA HEMODINÁMICA TÍPICA A UNA ESTIMULACIÓN MOTORA EN ADULTOS MODIFICADO DE LEFF ET AL. (2011) PARA LA HEMOGLOBINA OXIGENADA (Oxy Hb), HEMOGLOBINA DESOXIGENADA (DEOXY Hb) Y LA HEMOGLOBINA TOTAL (TOTAL Hb).	16
FIGURA 4: DIFERENTES GRUPOS DE SUJETOS.....	22
FIGURA 5: PROCEDIMIENTO DEL EXPERIMENTO.....	24
FIGURA 6: POSICIONES APROXIMADAS DE LOS OPTODOS (FUENTES AZUL; DETECTORES ROJO) Y CANALES	26
FIGURA 7: AMBIENTE Y POSICIÓN DEL BEBÉ DURANTE UN ESTUDIO DE LA PERCEPCIÓN AUDITIVA.....	26
FIGURA 8: MATRIZ DE DISEÑO DEL EXPERIMENTO, LA CONDICIÓN 1 SE REFIERE AL MOVIMIENTO DERECHO Y LA CONDICIÓN 2 AL MOVIMIENTO IZQUIERDO.	27
FIGURA 9: AMPLITUD DEL PICO MÁXIMO PROMEDIO MEDIDO EN μMOL PARA LOS DIFERENTES HEMISFERIOS CEREBRALES Y TIPO DE MOVIMIENTO EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE BEBÉS PARA LA HEMOGLOBINA OXIGENADA. LA PRIMERA BARRA NEGRA REPRESENTA A LOS BEBÉS SANOS, LA SEGUNDA BARRA CAFE OSCURO REPRESENTA A LOS BEBÉS PREMATUROS CON $\text{EC} < 37$ SEMANAS Y LA TERCERA BARRA CAFE CLARO REPRESENTA A LOS BEBÉS PREMATUROS CON UN $\text{EC} > 37$ SEMANAS. LOS ASTERISCOS INDICAN UNA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA DE $P < 0.00001$	35
FIGURA 10: AMPLITUD DEL PICO MÁXIMO PROMEDIO MEDIDO EN μMOL PARA LOS DIFERENTES HEMISFERIOS CEREBRALES MEDIDO Y TIPO DE MOVIMIENTO EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE BEBÉS PARA LA HEMOGLOBINA DESOXIGENADA. LA BARRA NEGRA REPRESENTA A LOS BEBÉS SANOS, LA SEGUNDA BARRA CAFE OSCURO REPRESENTA A LOS BEBÉS PREMATUROS CON $\text{EC} < 37$ SEMANAS Y LA TERCERA BARRA CAFE CLARO REPRESENTA A LOS BEBÉS PREMATUROS CON UN $\text{EC} > 37$ SEMANAS. LOS ASTERISCOS INDICAN UNA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA DE $P < 0.01$	37
FIGURA 11: AMPLITUD DEL PICO MÁXIMO DE LA HEMOGLOBINA OXIGENADA POR HEMISFERIOS Y GRUPOS EXPERIMENTALES.	38
FIGURA 12: AMPLITUD DEL PICO MÁXIMO DE LA HEMOGLOBINA DESOXIGENADA POR HEMISFERIOS Y GRUPOS EXPERIMENTALES. EL ASTERISCO MARCA LAS DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.	39
FIGURA 13: LATENCIA HASTA EL PICO MÁXIMO SEPARADO POR HEMISFERIOS Y GRUPOS EXPERIMENTALES DE LA HEMOGLOBINA OXIGENADA (DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS MARCADOS POR EL ASTERISCO).....	40
FIGURA 14: LATENCIA HASTA EL PICO MÁXIMO SEPARADO POR HEMISFERIOS Y GRUPOS EXPERIMENTALES DE LA HEMOGLOBINA DESOXIGENADA.....	40

Lista de Tablas

TABLA 1: RESULTADOS DE NIRS-SPM QUE MUESTRAN SI EL CAMBIO DE LA ACTIVACION DURANTE EL MOVIMIENTO FUE SIGNIFICATIVO O NO ($P < 0.05$)	32
TABLA 2: RESULTADOS DE NIRS-SPM DE LOS SUBGRUPOS DE BEBÉS PREMATUROS CON UNA EDAD CORREGIDA AL DÍA DE ESTUDIO > 37 SEMANAS	33
TABLA 3: PROMEDIO DE AMPLITUDES POR HEMISFERIO Y VALORES DE P DE LAS COMPARACIONES INTERGRUPALES PARA LA HEMOGLOBINA OXIGENADA	34
TABLA 4: PROMEDIO DE AMPLITUDES POR HEMISFERIO Y VALORES DE P PARA LAS COMPARACIONES INTERGRUPALES DE LA HEMOGLOBINA DESOXIGENADA.....	36
TABLA 5: DATOS CLÍNICOS DE LOS BEBÉS SANOS	59
TABLA 6: DATOS CLÍNICOS DE LOS BEBÉS PREMATUROS CON UNA EDAD CORREGIDA AL DÍA DE ESTUDIO DE < 37 SEMANAS DE LA MUESTRA	60
TABLA 7: DATOS CLÍNICOS DE LOS BEBÉS PREMATUROS CON UNA EDAD CORREGIDA AL DÍA DE ESTUDIO DE > 37 SEMANAS	61

Apéndices

Apéndice 1 Estadística de ETG 4000 y Homer 2:

1 - Análisis con el sistema de Hitachi ETG 4000

El sistema Hitachi ETG 4000 ofrece la posibilidad de poder analizar los datos de la técnica NIRS. Dicho sistema ofrece el análisis de las ondas, de las regiones de interés así como el análisis de los componentes principales. Aunado a esto, el sistema Hitachi ofrece una visualización de los cambios en los niveles de la hemoglobina durante la estimulación. Sin embargo, estadísticamente esto no tiene valor alguno. Lamentablemente no es posible exportar los pesos del análisis de los componentes principales para poder compararlos entre grupos o entre condiciones diferentes.

1.1 - Metodología de Filtros

El sistema Hitachi ofrece un filtro para bajas y altas frecuencias, así como un filtro para remover artefactos de movimiento. Los filtros de bajas y altas frecuencias, simplemente cortan la onda sobre un umbral fijo que puede ser variado de forma manual. Existe el riesgo de que algunas partes de la respuesta hemodinámica hayan sido cortadas durante la filtración. En los estudios de NIRS no existe un estándar de frecuencias de corte ni para bebés ni para adultos, sin embargo, normalmente se utilizan frecuencias entre 1 Hz y 1.2 Hz para las frecuencias altas, y entre 0.1 Hz y 0.3 Hz para las frecuencias bajas.

1.2 - Análisis de las ondas

El sistema Hitachi ofrece la posibilidad de poder analizar diferentes características de la onda, tales como su máximo, su mínimo y la desviación estándar de los cambios en la

hemoglobina. Dichas características se pueden obtener para la onda total, para segmentos específicos de intervalos de tiempo, para una onda resultante de promediar diferentes partes de dicha, o para diferentes ondas.

Es posible elegir las regiones de interés o también que el sistema Hitachi ofrece hacerlo automáticamente. También se pueden comparar los promedios de una onda, de un grupo contra otro, o contra una prueba T.

Como resultado de una prueba T, se obtiene una gráfica para cada uno de los canales. Dicha gráfica contiene una onda con los valores de T, así como dos líneas horizontales que son dos umbrales diferentes. El umbral rojo es para $p=0.01$ y el umbral azul es para $p=0.05$. Esta gráfica nos permite determinar cuándo el valor de T es significativo para un punto específico del tiempo.

1.3 - Análisis de los componentes principales

El sistema Hitachi ofrece un análisis de los componentes principales, en donde las variables son reducidas a combinaciones lineales de ellas, las cuales representan las principales tendencias de los datos (Manly, 2005). Las variables que teníamos al principio desaparecen, y lo que obtenemos al final son unas nuevas series de variables que se llaman "Componentes principales". Este tipo de análisis es bastante útil ya que reduce las variables iniciales a unas cuantas tendencias principales.

Lamentablemente durante este tipo de análisis, se pierde la información que teníamos al principio. Además en el sistema Hitachi solamente se puede realizar un análisis cualitativo ya que no es posible comparar diferentes grupos en el análisis de los componentes principales. Otros sistemas diferentes permiten comparar grupos en su análisis de los componentes principales mediante la combinación de todos los datos de todos los grupos, para después calcular sus componentes principales, y finalmente poder comparar los pesos de las variables iniciales de los dos diferentes grupos. El sistema Hitachi calcula en su análisis de los componentes principales, el porcentaje de activación que está representado por cada componente principal, la participación de cada canal (basándose en los pesos calculados) y genera un mapa topográfico de la

hemoglobina.

2 - HomER

El sistema HomER (“Hemodynamic Evoked Response”) fue creado en el 2005 por el “Optical Imaging Lab” de David Boas en Harvard. Este sistema es utilizado de forma frecuente en la comunidad de NIRS. Es un Plugin para Matlab y debido a esto ofrece la oportunidad de cambiar y añadir código de Matlab. HomER ofrece: preprocesamiento de los datos de NIRS, diferentes técnicas de filtrado, análisis de regiones de interés (ROI) basado en una ANOVA y análisis del curso de tiempo (Huppert et al., 2009).

Para poder utilizar el sistema HomER se necesita escribir un script que convierta los datos de Hitachi a un formato requerido por HomER. Lamentablemente el manual de HomER no está completo (Huppert & Boas, 2005). Por ejemplo, hay un capítulo de análisis de datos y este capítulo está básicamente vacío ya que solamente se tiene una nota que menciona que dicho capítulo está en construcción. Debido a los muchos problemas encontrados para poder utilizar HomER, fue que se decidió buscar otras opciones y se encontró la NIRS-SPM.

En mayo de 2012 se publicó una nueva versión que se llama HomER 2. Como NIRS-SPM, HomER 2 integra un modelo general lineal (GLM) para representar los datos. Además, HomER 2 ofrece análisis intergrupales. También es posible remover manualmente canales individuales con mucho ruido. Estas mejoras son bastante interesantes, pero no se sabe si cuando se vaya a utilizar HomER 2 se presenten muchos problemas como sucedió con su antecesor. Lamentablemente, HomER 2 tampoco ofrece un manual completo y muchas funciones no están desarrolladas completamente así como el modelo GLM. Si no se escriben ciertas funciones extras en Matlab, no es posible aprovechar todas las funciones de HomER 2.

Apéndice 2a: “integral.m”

```
for i=1:10 % número del grupo a analizar para caminar a través de los sujetos
    currentSubject=['Sub',num2str(i),'.mat']; load(currentSubject());% carga los datos del
    sujeto inmediato
```

```
current_matrix = nirs_data.oxyData' ; % carga los datos de hemoglobina oxigenada
for j=1:24 %índices de los 24 canales oxigenados, cargando el canal “i”
```

```
    all_blocks_right=[ %matriz que contiene todos los bloques del movimiento
derecho%
```

```
        curr_mat (j,100:449); %puntos del tiempo que corresponde a la estimulación
de la mano derecha y el tiempo de reposo%
```

```
        curr_mat (j,800:1149);
        curr_mat (j,1500:1849);
        curr_mat (j,2200:2549);
        curr_mat (j,2900:3249);
        curr_mat(j,3600:3949) ] ;
```

```
    avgright(j,:)=nanmean(all_blocks_right); % promediar los bloques del movimiento
derecho %
```

```
    all_blocks_left = [%matriz que contiene todos los bloques del movimiento
izquierdo%
```

```
        curr_mat(j,450:799);
        curr_mat(j,1150:1499);
        curr_mat(j,1850:2199);
        curr_mat(j,2550:2899);
        curr_mat(j,3250:3599);
        curr_mat(j,3950:4299)];
```

```
    avgleft(j,:)= nanmean(all_blocks_left); %promediar los bloques del movimiento
derecho%
```

```
end
```

```
eval(sprintf('oxy_avg_right_prema_Sub0%d = avgright', i));
```

```
eval(sprintf('oxy_avg_left_prema_Sub0%d = avgleft', i));
```

```
%repetir todo para los datos desoxigenados%
```

```
curr_mat = nirs_data.dxyData';
```

```
for j=1:24
```

```
    all_blocks_right=[
        curr_mat(j,100:449);
    curr_mat (j,800:1149);
        curr_mat (j,1500:1849);
```

```

curr_mat (j,2200:2549);
curr_mat (j,2900:3249);
curr_mat(j,3600:3949) ;

avgright(j,:)=nanmean(all_blocks_right);

all_blocks_left = [
    curr_mat(j,450:799);
    curr_mat(j,1150:1499);
    curr_mat(j,1850:2199);
    curr_mat(j,2550:2899);
    curr_mat(j,3250:3599);
    curr_mat(j,3950:4299)];
avgleft(j,:)= nanmean(all_blocks_left);
end

eval(sprintf('deoxy_avg_right_prema_Sub0%d = avgright', i));
eval(sprintf('deoxy_avg_left_prema_Sub0%d = avgleft', i));
save integral_prema *avg_*; %guardar todas las ondas promedias en el directorio
integral_prema%
end

```

Apéndice 2b: “mean_std.m”

```
load integral_at % carga arreglo del integral_at.mat%
for i=1:10 %N del grupo

d= eval(sprintf('oxy_avg_left_atermino_Sub0%d',i)); %leer los archivos del promedio de
cada sujeto de los bloques del movimiento izquierdo%

    for j=1:24 %indice de los canales
        eval([sprintf('channel%d(i,:) = d(j,:)', j)]); % dividir los matrices en matirces de
canales y llenar las filas con diferentes sujetos%
    end

end
for k=1:24
    avg_all_sub_left_oxy(k,:) = nanmean(eval(sprintf('channel%d', k))); %matriz contiene
valores promedios de todos los sujetos. Cada fila contiene el promedio de un canal a
través del tiempo%
    std_all_sub_left_oxy(k,:) = nanstd(eval(sprintf('channel%d', k))); %matriz contiene
desviación estandar de los sujetos y bloques. Cada fila contiene la desviación estándar
de un canal a través del tiempo%
end

%repetir todo para los bloques del movimiento derecho%

for i=1:10

d= eval(sprintf('avg_right_atermino_Sub0%d',i)); %

    for j=1:24
        eval([sprintf('channel%d(i,:) = d(j,:)', j)]);
    end

end
for k=1:24
    avg_all_sub_right_oxy(k,:) = nanmean(eval([sprintf('channel%d', k)]));
std_all_sub_right_oxy(k,:) = nanstd(eval([sprintf('channel%d', k)]));
end

%repetir algoritmo para los datos de hemoglobina desoxigenada%

for i=10

d= eval([sprintf('deoxy_avg_left_atermino_Sub0%d',i)]);

    for j=1:24
```



```

        eval(sprintf('channel%d(i,:) = d(j,:)', j));
    end

end
for k=1:24
    avg_all_sub_left_deoxy(k,:) = nanmean(eval(sprintf('channel%d', k)));
    std_all_sub_left_deoxy(k,:) = nanstd(eval(sprintf('channel%d', k)));
end
for i=1:10

d= eval([sprintf('avg_right_atermino_Sub0%d', i)]);

    for j=1:24
        eval([sprintf('channel%d(i,:) = d(j,:)', j)]);
    end

end
for k=1:24
    avg_all_sub_right_deoxy(k,:) = nanmean(eval([sprintf('channel%d', k)]));
    std_all_sub_right_deoxy(k,:) = nanstd(eval([sprintf('channel%d', k)]));
end
save mean_std_atermino avg_all* std*; % guarda los matrices del grupo en el arreglo
"mean_std_atermino"%

```

Apéndice 3a: "searchmax.m"

```

function [amplitude,latency] = searchmax(X,i) %necesita como entrada matriz el número
de fila de interés%
[maxima,lat]=findpeaks(X(i,:)); %función findpeaks encuentra todos los picos y regresa
los índices "lat" y el valor "maxima" de cada pico%
[blub,late]=max(maxima); %regresa el index y el valor del pico máximo%
amplitude=(max(maxima))-X(i,1); %calcula la amplitud
latency = lat(late)/10; %calcula la latencia en segundos%
if isempty(maxima)==1 %si no encuentra un pico máximo, anota un dato perdido
para la amplitud y la latencia%
    amplitude=NaN;
    latency=NaN;
else %si hay un pico máximo, regresa la amplitud y la latencia del pico máximo%
end

```

Apéndice 3b: “max_latency.m”

```
load integral.mat % carga arreglo del analisis integral de la hemoglobina oxigenada
for j=1:10 %N del grupo
d=eval(sprintf('oxy_avg_right_sanos_Sub0%d',j)); %leer los matrices del promedio de
los bloques del movimiento derecho de cada sujeto después de cada uno%

    for i=1:24 %indice de los canales
[blubb,bla]=searchmax(d,i); %usa searchmax.m

        amplitud(i)=blubb; %pone amplitud actual en vector de las amplitudes por todos
los canales%

        latency(i)=bla; %pone latencia actual en vector de las latencias por todos los
canales%
    end
    amplitud_sanos_right_oxy(j,:)=amplitud; %guarda vectores de las amplitudes
de cada sujeto en una matriz común%

    latency_sanos_right_oxy(j,:)=latency; %guarda vectores de las amplitudes de
cada sujeto en una matriz común%

end
%repite para los bloques del movimiento izquierdo%

for j=1:10
d=eval(sprintf('oxy_avg_left_sanos_Sub0%d',j));
    for i=1:24
[blubb,bla]=searchmax(d,i);
        amplitud(i)=blubb;
        latency(i)=bla;
    end
    amplitud_sanos_left_oxy(j,:)=amplitud;
    latency_sanos_left_oxy(j,:)=latency;
end

%repetir algoritmo para los datos de hemoglobina desoxigenada%

for j=1:10
d=eval(sprintf('deoxy_avg_right_sanos_Sub0%d',j));
    for i=1:24
        [blubb,bla]=searchmax(d,i);
        amplitud(i)=blubb;
        latency(i)=bla;
```

```

end
amplitude_sanos_deoxy_right(j,:)=amplitude;
latency_sanos_right_deoxy(j,:)=latency;
end

for j=1:10
d=eval(sprintf('deoxy_avg_left_sanos_Sub0%d',j));
for i=1:24
[blubb,bla]=searchmax(d,i);
amplitude(i)=blubb;
latency(i)=bla;
end
amplitude_sanos_left_deoxy(j,:)=amplitude;
latency_sanos_left_deoxy(j,:)=latency;
end

save sanos_amp_lat amplitude_sanos* latency_sanos*
% guarda los matrices del grupo en el arreglo "sanos_amp_lat"%

```

Apéndice 4: Tablas de los datos clínicos de los bebés registrados

Tabla 5: Datos Clínicos de los bebés sanos.

Número de Sujeto	Edad Gestacional	Edad al día de estudio	Peso al nacer en gramos	♀/♂	Diagnostico
Sub01	38	39.7	2700	fem	sano
Sub02	40	40.3	3328	mas	sano
Sub03	37	39.7	3400	mas	sano
Sub04	38.5	39.5	3350	fem	sano
Sub05	40	42.1	3550	mas	sano
Sub06	40	44.5	3450	mas	sano
Sub07	40	41.9	3450	mas	sano
Sub08	38	39.7	2650	fem	sano
Sub09	39	42	2900	fem	sano
Sub010	40	40.2	3050	fem	sano
Promedio	39.05	40.96	3182	5 ♂ y	----
	± 1.12	± 1.62	± 331	5 ♀	

Tabla 6: Datos clínicos de los bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio de < 37 semanas de la muestra.

Número de Sujeto	EG	EC	Peso al nacer en gramos	♀/♂	Diagnóstico
Sub01	30	33.7	1475	fem.	Posible encefalopatía de recién nacido prematuro
Sub02	33	34.9	1850	masc.	Madre con preclampsia severa, líquido amniótico anormal, asistencia ventilatoria; SDR; tono muscular anormal
Sub03	31	33.7	1350	fem.	HIV Grado 1; A los 5 meses: se diagnóstica epilepsia con crisis convulsivas tónico-clónicas generalizadas
Sub04	28	36.1	1025	masc.	HIV Grado 1
Sub05	34.5	35.7	1650	masc.	Retraso en el crecimiento intrauterino, Anemia, Desnutrición
Sub06	29	34.3	1100	fem.	Madre con preeclampsia, ruptura prematura de membranas de 2 días de evolución, Hiperbilirrubinemia multifactorial
Sub07	32.4	33.4	1900	masc.	retraso en el crecimiento intrauterino
Sub08	33.5	34.5	1850	masc.	gemelo, aparentemente sano
Sub09	32	36.1	2150	masc	gemelo, madre con preeclampsia severa, asfixia perinatal, sepsis, encefalopatía grado 2, hipotonía
Sub010	32	36.1	1500	masc	gemelo, sepsis, madre con preeclampsia severa, asistencia ventilatoria,
Promedio	31.5 ± 2.04	34.8 ±1.08	1585 ± 363	7 ♂ y 3 ♀	

Tabla 7: Datos clínicos de los bebés prematuros con una edad corregida al día de estudio de > 37 semanas.

Número de Sujeto	EG	EC	Peso al nacer en gramos	♀/♂	Diagnostico
Sub01	29.4	37.8	1460	masc.	HIV grado 2 / sepsis
Sub02	26.4	40.1	1000	masc.	gemelo; sepsis temprano, hiperbilirrubinemia (multifact.), SDR -> asistencia ventilatoria
Sub03	28	46	1500	masc	trillizo, preeclampsia, SDR
Sub04	34	38.5	2150	masc.	gemelo; madre preecláptica; hiperbilirrubinemia (multifact.)
Sub05	34	38.5	2150	masc.	gemelo; madre preecláptica; hiperbilirrubinemia (multifact.)
Sub06	34.5	41.5	1850	fem.	gemelo; madre preecláptica; hiperbilirrubinemia (multifact.)
Sub07	34.5	41.5	1675	fem.	gemelo; madre preecláptica; hiperbilirrubinemia (multifact.); sepsis;
Sub08	35	43	2075	masc	HIV Grado 1
Sub09	35	39.5	2380	fem.	gemelo; aparentemente sano – falta de datos clínicos completos, porque nació en hospital privada
Sub010	33	37.6	1750	fem.	madre con hipertension crónica y preeclámpsia, liquido amniotico anormal, ictericia
Promedio de todos	32.4 ±3.4	40.4 ±2.6	1799 ± 411	6 ♂ y 4 ♀	_____