



**TECNOLOGICO
DE MONTERREY®**

Campus Ciudad de México



**TECNOLOGICO
DE MONTERREY**

Biblioteca
Campus Ciudad de México

Proyecto Integrador

*“Evaluación y Caracterización de la Sustancia Nigra mediante Resonancia
Magnética como marcador biológico para la Enfermedad de Parkinson”*

por

Ileana Freige Retana

Asesor

Dr. Ernesto Roldán Valadez

Profesor del curso de Posgrado de Alta Especialidad en Resonancia Magnética, UNAM

Coordinador de Investigación en Resonancia Magnética

Noviembre de 2010

Tabla de contenido

RESUMEN	1
AGRADECIMIENTOS	2
INTRODUCCIÓN	3
Anatomía y Fisiología de la Sustancia nigra.....	4
Fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson.....	6
Fracción de Anisotropía.....	8
PROBLEMÁTICA	11
OBJETIVOS	12
JUSTIFICACIÓN	13
Megatendencia que avala la oportunidad.....	13
Análisis del crecimiento de la industria.....	14
Beneficiarios.....	16
Competidores.....	16
Productos Sustitutos y Complementarios.....	18
ESTADO DEL ARTE	19
DESCRIPCIÓN DE LA SOLUCIÓN	21
Protocolo de adquisición de imágenes de RM.....	21
Secuencias de RM para Sustancia Nigra.....	22
Fusión de Imágenes.....	23
Análisis Volumétrico de Sustancia nigra.....	25
Medición de la Fracción de Anisotropía.....	27
Cálculo de volúmenes cerebrales.....	28
RESULTADOS	31
CONCLUSIONES	34
TRABAJO A FUTURO	36
REFERENCIAS	38

RESUMEN

La Enfermedad de Parkinson es un proceso degenerativo que se presenta de forma generalmente esporádica. Fue descrita por primera vez por James Parkinson en 1817. La causa es desconocida, aunque probablemente es multifactorial, siendo los principales factores etiológicos de naturaleza genética y ambiental.

Contrario a la creencia, 40% de las personas que viven con este padecimiento son menores de 40 años. En México, de acuerdo a la Secretaría de Salud, la enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente. Se estima que medio millón de mexicanos con más de 60 años de edad viven con este padecimiento.

Es importante diagnosticar la enfermedad de Parkinson en sus primeras etapas, ya que si se comienza un tratamiento temprano y se mantiene el apego al medicamento, lo más probable es que el paciente pueda trabajar y seguir con su vida productiva durante muchos años en el futuro.

Cabe destacar que se han realizado importantes avances en el diagnóstico temprano de esta enfermedad gracias a las diferentes modalidades de imagen, sin embargo, hasta la fecha no existe un indicador que permita establecer un diagnóstico más temprano para la Enfermedad de Parkinson.

Conociendo que la lesión o característica fisiológica fundamental de la Enfermedad de Parkinson recae en la degeneración de la parte compacta de la Sustancia Nigra, este proyecto de investigación se centra en el estudio analítico de esta sustancia, con el fin de obtener imágenes por Resonancia Magnética con mejor definición para su evaluación, al igual que su caracterización estableciendo valores normales para su volumen y fracción de anisotropía.

I. INTRODUCCIÓN

La Sustancia Nigra mesencefálica (SN), es un centro de control de movimiento en el cerebro que se divide en dos principales porciones o partes, la porción compacta y la porción reticulada. En particular su porción o *pars compacta* (SNc), ha sido objeto de estudio en numerosas exposiciones en el campo de la neuroradiología, especialmente a través de Imágenes por Resonancia Magnética (IRM), dada la comprobada relación patológica existente entre la degeneración de las neuronas que la componen y la enfermedad de Parkinson.¹

En el año 1817 James Parkinson descubrió una nueva entidad nosológica caracterizada por temblor y disminución de la fuerza muscular, mientras que en 1841 Hall utilizó por primera vez el término “parálisis agitante”; hasta que en 1884 el cuadro caracterizado además por rigidez y aquinesia, fue denominado Enfermedad de Parkinson (EP) por Charcot².

El propósito de este proyecto es proporcionar un estudio por Resonancia Magnética para la mejor evaluación y caracterización de la Sustancia Nigra desde el punto de vista anatómico, funcional y estructural, en un grupo control de sujetos sanos a fin de establecer un marcador biológico para la Enfermedad de Parkinson, implementando la combinación de técnicas y secuencias utilizadas en IRM para poder cuantificar dicha sustancia y evaluar en forma comparativa los cambios morfológicos y estructurales de la misma en etapas tempranas de esta enfermedad neurodegenerativa.

1.1 Anatomía y Fisiología de la Sustancia Negra

La sustancia negra es un núcleo motor situado a lo largo del mesencéfalo entre el pie peduncular y el tegmento, ver figura 1a. Forma parte de los ganglios basales, ver figura 1b, y tiene una función importante en los movimientos motores³. Está compuesta por una *pars compacta* y una *pars reticulada*. Las neuronas dopaminérgicas de la *pars compacta* contienen en su citoplasma gran cantidad de gránulos de melanina, razón por la cual esta sustancia adquiere un color negro; mientras que la *pars reticulada* no tiene melanina y presenta un color café rojizo debido a la presencia de un pigmento que contiene hierro⁴.

La porción compacta sirve como una entrada al circuito de los ganglios basales, suministrando al cuerpo estriado con dopamina. En cambio la porción reticulada de la sustancia negra sirve principalmente como una salida, llevando impulsos nerviosos desde los ganglios basales hacia las otras estructuras nerviosas de la base del cerebro⁴.

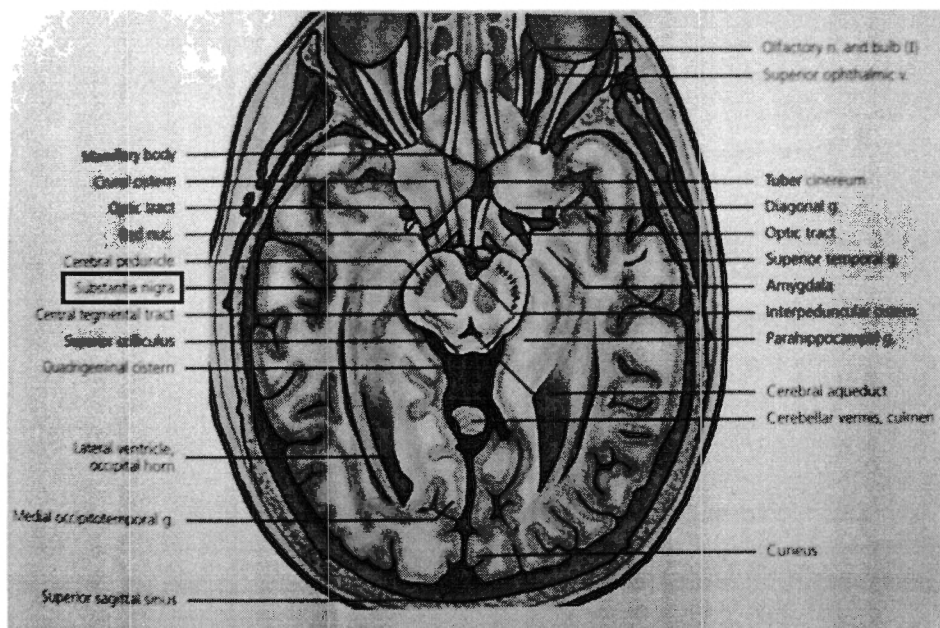
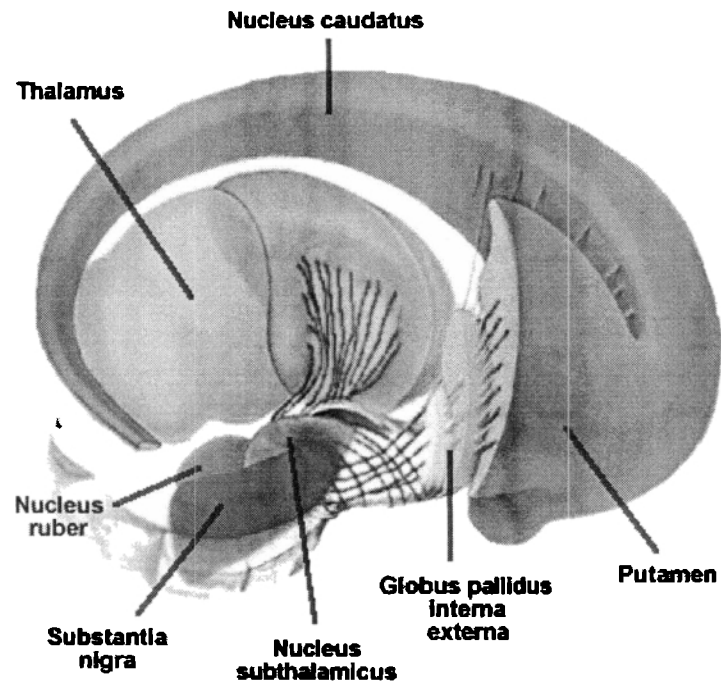


Figura 1a. Localización anatómica de la SN
[Imagen extraída de MRI Total Body Atlas Volume I]



*Figura 1b. Anatomía de los Ganglios basales
[Imagen extraída de Neuroanatomía clínica, Snell 5ª edición]*

La Sustancia nigra establece conexiones dopaminérgicas con la corteza cerebral, hipotálamo, núcleos basales y médula espinal. Se relaciona funcionalmente con el tono muscular; las células nerviosas en la sustancia nigra envían fibras a los tejidos localizados en ambos lados del cerebro y allí las células liberan neurotransmisores esenciales que ayudan a controlar el movimiento y la coordinación ⁵.

La degeneración de gran parte de este núcleo y, por consiguiente, la privación dopaminérgica del núcleo caudado a través del tracto nigroestriatal (vía transportadora de dopamina), explica la enfermedad de Parkinson ⁶, ver figura 1c.

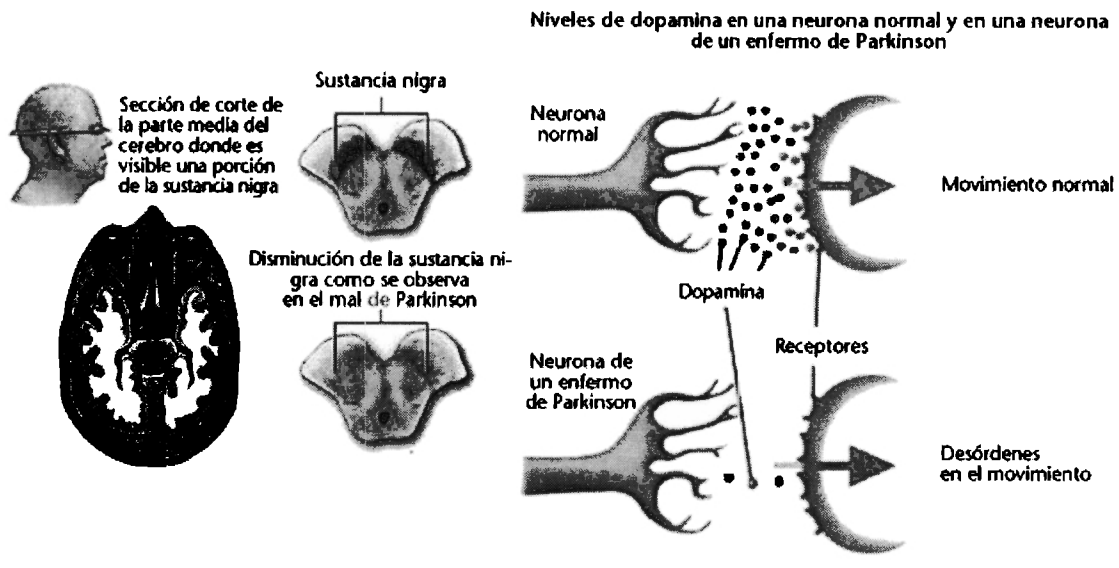


Figura 1c. Fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson
[Imagen extraída de ADAM Enciclopedia Multimedia]

I.II Fisiopatología de la Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson es un trastorno que afecta a células nerviosas, o neuronas, en una parte del cerebro que controla los movimientos musculares ². Los cuatro síntomas principales son temblor, en manos, brazos, piernas y mandíbula o cabeza; rigidez de las extremidades y el tronco; bradicinesia, o lentitud en los movimientos; e inestabilidad postural, o deterioro del equilibrio.

Desde el punto de vista histopatológico, la EP se caracteriza por la degeneración y muerte progresivas de las neuronas catecol y acetilcolinérgicas de los núcleos del tallo cerebral, de neuronas hipotalámicas, y particularmente de las neuronas dopaminérgicas de la *pars compacta* de la sustancia nigra mesencefálica ⁹. En este último núcleo, la pérdida neuronal se produce con un patrón temporoespacial relativamente específico y constante desde el sector ventrolateral hacia el ventromedial y dorsal ⁶.

Desde el núcleo caudado y el putamen, existe una vía hacia la sustancia nigra que segrega el neurotransmisor inhibitorio GABA (ácido gamma aminobutírico). A su vez, una serie de fibras originadas en la sustancia nigra envía axones al núcleo caudado y al putamen, segregando un neurotransmisor inhibitorio en sus terminaciones, la dopamina, ver figura 2a. Esta vía mutua mantiene cierto grado de inhibición de las dos áreas y su lesión provoca una serie de síndromes neurológicos, entre los que se encuentra la enfermedad de Parkinson.

Las fibras provenientes de la corteza cerebral segregan acetilcolina, neurotransmisor excitatorio, sobre el tracto nigroestriatal. Las causas de las actividades motoras anormales que componen la enfermedad de Parkinson se relacionan con la pérdida de la secreción de dopamina por las terminaciones nerviosas de la sustancia nigra sobre este tracto, al que deja de inhibirlo, ver figura 2b. De esta forma, predominan las neuronas que segregan acetilcolina, emitiendo señales excitatorias a todos los núcleos de la base, responsables en conjunto, del planeamiento motor y algunas funciones cognitivas ⁶.

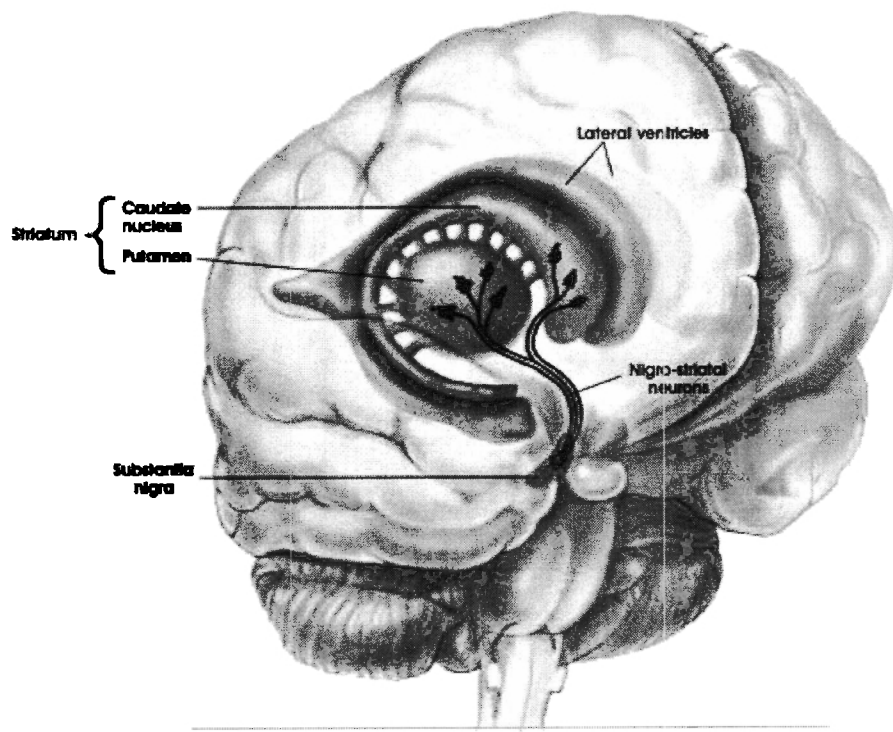


Figura 2a. Tracto nigroestriatal: relación fisiológica entre núcleo caudado, putamen y sustancia nigra

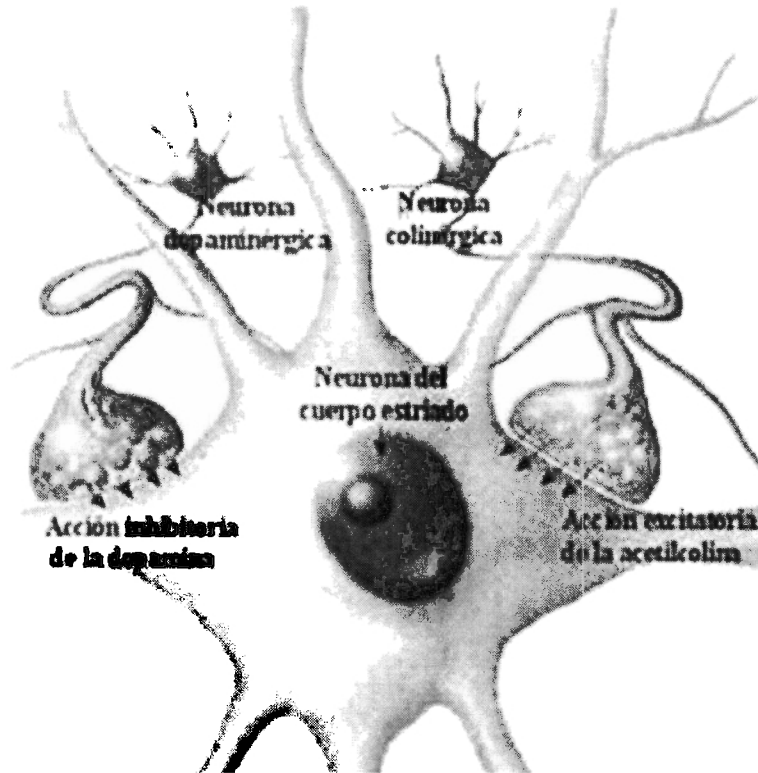


Figura 2b. Acción inhibitoria de la dopamina y excitatoria de la acetilcolina sobre las neuronas del tracto nigroestriatal. En la Enfermedad de Parkinson predomina la acción excitatoria de la acetilcolina al degenerarse las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra. [Imagen extraída de Neuroanatomía clínica, Snell 5ª edición]

I.III Fracción de Anisotropía

Otro parámetro importante para caracterizar a la sustancia nigra resulta ser la anisotropía fraccional que ésta presenta. Las imágenes con tensor de difusión (ITD) constituyen un método relativamente nuevo de Resonancia Magnética que permite cuantificar el grado de anisotropía de los protones de agua en los tejidos ¹⁷.

La anisotropía es la propiedad del tejido cerebral normal que depende de la direccionalidad de las moléculas del agua y de la integridad de las fibras de sustancia blanca. La *anisotropía fraccional* o *fracción de anisotropía* (FA), es una variable numérica

cuyos valores oscilan entre 0 (máxima isotropía, observada en espacios donde el agua se moviliza libremente) y 1 (máxima anisotropía por restricción en el movimiento del agua tisular)¹⁷.

Un *tensor* es un constructo matemático que describe las propiedades de un elipsoide en un espacio tridimensional, ver figura 8. En el *tensor de difusión (DTI)*, las propiedades de la difusión del agua son evaluadas usando las coordenadas espaciales x, y, z (eje z sobre el eje principal del campo magnético).

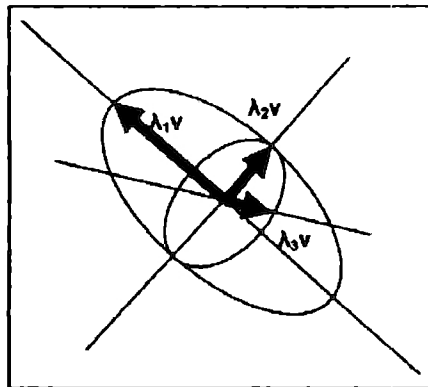


Figura 3. Ejemplificación de un tensor matemático

La matriz del tensor tiene 9 elementos, de los cuales 3 son iguales (tensor simétrico). Los otros 6 son calculados de 6 imágenes obtenidas de los gradientes de difusión no alineados. Tres de ellos son diagonales a lo largo del eje principal y se les denomina eigenvalores, estos reflejan los valores de la configuración del elipsoide y su sumatoria, la cual es independiente de la orientación del elipsoide y que refleja el tamaño del elipsoide. En el *DTI* los eigenvalores son caracterizados en cada voxel.

Adquisición de datos

El proceso de adquisición del DTI consiste en una codificación espacial en difusión, por lo tanto el DTI está influenciado por la fuerza, número y orientación (esquema de codificación del DTI) de los gradientes.

El DTI en cada voxel es diagonalizado para obtener los eigenvalores e eigenvectores para cada voxel. El eigenvector (v_1) asociado con el eigenvalor mayor (λ_1) es asociado para representar la dirección local de la fibra.

El mapa de anisotropía fraccional es calculado desde los eigenvalores en base a las siguientes fórmulas:

$$\sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - D)^2 + (\lambda_2 - D)^2 + (\lambda_3 - D)^2}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}}$$

FRACCIÓN DE ANISOTROPIA

$$\sqrt{\frac{1}{3}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - D)^2 + (\lambda_2 - D)^2 + (\lambda_3 - D)^2}{D}}$$

ANISOTROPIA RELATIVA

λ_1 , λ_2 y λ_3 son los eigenvalores del principal, medio y menor eigenvector, respectivamente. D es el trazo ($\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3$) del tensor de difusión.

Los eigenvalores y los eigenvectores generan el mapa de color, en los cuales la intensidad representa la anisotropía y el color representa la dirección. El mapa de color es creado en base a los 3 elementos vectoriales del eigenvector v_1 para cada voxel. El valor absoluto de estos elementos es asignado en color rojo (*elemento x*), en color verde

(*elemento y*) y en color azul (*elemento z*). La intensidad del color en cada voxel es asignada de acuerdo al grado de anisotropía fraccional.

Diversos autores sugieren el uso de imágenes con tensor de difusión como una medida indirecta de la degeneración dopaminérgica dentro de la sustancia nigra ^{16,17}, presumiblemente porque la pérdida de células nerviosas en la SN altera la integridad microestructural y difusividad de las moléculas de agua. Esta medida puede servir también como referencia para un diagnóstico temprano de la EP.

II. PROBLEMÁTICA

La enfermedad de Parkinson es una condición neurodegenerativa progresiva y común. Considerando el elevado costo tanto humano como socioeconómico de la misma, la detección temprana resulta ser altamente deseable.¹ La problemática actual reside en el hecho de recurrir al diagnóstico y seguimiento clínico como referencia estándar, dado que estudios recientes revelan evidencia de que al aparecer los primeros síntomas – que el clínico puede observar – la mayoría de las neuronas en la SNc se han degenerado (de un 60 a 90%). No existen pruebas fisiológicas o análisis de sangre para confirmar el diagnóstico y pruebas de diagnóstico neurológico con imágenes computarizadas resultan ser casi siempre poco reveladoras.

Actualmente, las técnicas de imagen más perceptivas al diagnóstico temprano de la enfermedad de Parkinson son la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) y la Tomografía Computarizada por Emisión de Fotones Individuales (SPECT).³ Sin embargo, a pesar de que la PET y la SPECT han demostrado sensibilidad superior (y que prometen su uso en la etapa preclínica), comparadas con la imagen por Resonancia Magnética, su disponibilidad actual es limitada y el costo para cada estudio es más elevado (es decir, en

México existen pocos hospitales equipados con PET/SPECT, sin embargo, la presencia de hospitales con equipo de RM se encuentra más difundida en nuestro país, contándose en la actualidad con diversos equipos de RM en las principales ciudades).³⁴

Con la Resonancia Magnética (RM) se han realizado numerosos estudios utilizando diferentes secuencias de pulso con el fin de demostrar cambios en la morfología o alteraciones de la Sustancia nigra^{1-6,15}. Sin embargo, hasta la fecha no se ha establecido una secuencia por Resonancia Magnética óptima para la evaluación, representación y cuantificación de la Sustancia nigra.

III. OBJETIVOS

Objetivo primario:

1. Demostrar la viabilidad de evaluar cuantitativamente la sustancia nigra a través de un pos proceso de fusión de dos secuencias de RM que permita la obtención de imágenes para una mejor definición de esta sustancia.

Objetivos secundarios:

2. Cuantificar el volumen comprendido por Sustancia Nigra dentro del mesencéfalo en sujetos sanos.
3. Cuantificar la fracción de anisotropía que presenta el área comprendida por Sustancia Nigra dentro del mesencéfalo en sujetos sanos.
4. Realizar un análisis estadístico que permita estandarizar valores normales de volumen y fracción de anisotropía para Sustancia Nigra.

IV. JUSTIFICACIÓN DE LA OPORTUNIDAD

IV.1 Megatendencia que avala la oportunidad

SALUD TECNOLÓGICA

El desarrollo tecnológico ha permitido que la salud sea una de las principales áreas beneficiadas y por ende la sociedad e individuos que la integramos. La esperanza y calidad de vida han mejorado en las últimas décadas, no sólo en los países industrializados, quienes han aplicado tecnologías para el beneficio de la salud y de las actividades cotidianas del hombre, sino también en los países en vías de desarrollo, quienes han aprovechado el dinamismo económico de la globalización y han sido receptores del desarrollo tecnológico de los primeros.¹⁰

Como resultado de lo anterior, el perfil de los sistemas de salud ha sufrido cambios bastante significativos, los cuales se muestran a continuación:

Sistema tradicional v.s. el nuevo enfoque en los sistemas de salud

Tradicional	Nuevo enfoque
Reactiva.- Su objetivo es el de sanar una enfermedad ya que ésta ha presentado síntomas y afectado la salud del paciente.	Pro-activa.- Su objetivo es el de prevenir enfermedades, así como el desarrollo de dispositivos y nuevas maneras de facilitar y mejorar la vida de los individuos, aún cuando no presenten enfermedad.
Diagnóstico y tratamiento.- Al tener como objetivo el curar enfermedades, el diagnóstico y tratamiento son sólo dos pasos principales de sus procesos.	Pronóstico, prevención promoción, anticipación y tratamiento.- Al ser ahora un enfoque pro-activo, estas actividades son vitales para adelantarse a las enfermedades existentes y evitar los daños de las enfermedades que podrían aparecer en el futuro.

De la tabla anterior se puede visualizar un nuevo enfoque centrado en nuevas estrategias de investigación para poder realizar un diagnóstico temprano a la vez que un

tratamiento anticipado. Así mismo, la fabricación de equipo, herramientas, dispositivos más sofisticados y precisos para el diagnóstico y cuidado de la salud, como el uso del láser para cortes de precisión o de aparatos de imagenología como el ultrasonido de tercera dimensión y la Resonancia Magnética, han incrementado, sin lugar a dudas, la eficiencia en el diagnóstico y tratamiento de pacientes.

La investigación y desarrollo que se ha realizado dentro de los diferentes ámbitos de la salud en los últimos años, ha sido estimulada en gran parte por importantes avances en diversas áreas, entre ellas el aumento en la calidad de la imagenología médica.

Existe una amplia variedad de líneas de investigación que se realiza en la actualidad, sin embargo, pocas son consideradas las más importantes por tener un mayor impacto en el corto y largo plazo sobre el bienestar de la población y en base a los retos actuales de salud. Una de ellas, elemento clave de esta megatendencia de salud tecnológica, corresponde al *Mapeo tridimensional*.¹⁰ En la actualidad los rayos X y los ultrasonidos son herramientas que han permitido visualizar el interior del cuerpo humano, sin embargo, se requieren de diagnósticos más efectivos para el monitoreo del comportamiento a tiempo real de estructuras internas; es aquí donde toman importancia equipos especializados como son la Resonancia Magnética, PET/SPECT y CT.

IV.II Análisis del Crecimiento de la Industria

La Resonancia Magnética (RM) se utilizó, primordialmente, en la espectroscopia, ciencia que trata sobre la energía que se transporta entre diferentes masas ante los fenómenos llamados cambios químicos.¹¹ Cuando los investigadores se dieron cuenta de que un núcleo atómico cambiaba su resonancia (la energía que emite) en diferentes entornos, la Resonancia Magnética se convirtió en una poderosa herramienta analítica.

En los últimos años, la Resonancia Magnética se ha convertido en una de las modalidades de imagen más utilizadas para el diagnóstico de distintas enfermedades. Es inocua e indolora y permite obtener detalladas imágenes de tejidos y órganos. Esta técnica ha destacado su aplicación principalmente en el área de la neurología, aparato musculoesquelético, y órganos sólidos del abdomen y la pelvis, para detectar tumores, infecciones, daños congénitos, etc.¹²

Actualmente la Resonancia Magnética ofrece una amplia gama de aplicaciones útiles en la ciencia y la medicina. Mientras ésta se vuelve más poderosa, ha ido reemplazando varios modelos de diagnóstico convencionales. De igual forma, diversos métodos se han desarrollado por Resonancia Magnética para proporcionar información fisiológica sobre diversos órganos y partes del cuerpo. Esta herramienta para el diagnóstico médico está incrementando significativamente la certeza, rapidez y confiabilidad en la evaluación y tratamiento de las enfermedades.

El uso de la RM, en cuanto a la evaluación de la Sustancia nigra, se ha convertido en un objetivo altamente deseable pero difícil de alcanzar. En la última década, se han realizado diversos esfuerzos para mostrar cambios en esta sustancia mediante la RM, éstos se han clasificado en 2 categorías: la primera está basada en cambios de señal asociados al aumento de depósito de hierro en la sustancia nigra *pars compacta* como ocurre en casos con Enfermedad de Parkinson^{35,36}. La segunda categoría consiste en la medición del espesor de la sustancia nigra utilizando imágenes ponderadas en T2.^{37,38}

Cabe mencionar que hoy en día se realizan más de 60 millones de exámenes anualmente alrededor del mundo y existen más de 22 mil resonadores.¹³ De igual importancia, en los últimos años se han perfeccionado los equipos de Resonancia

aumentando su teslaje (intensidad del campo magnético), lo que se ha traducido en estudios de mayor calidad en un plazo más breve.¹³

IV.III Beneficiarios

La Enfermedad de Parkinson es un trastorno neurodegenerativo de causa desconocida que afecta a ambos sexos por igual, con una edad promedio de comienzo de 58 años y una prevalencia de del 0.1% por encima de los 40 años ⁷. Se ha estimado además que hasta un 2.5% de la población mayor de 40 años desarrollará la enfermedad en algún momento de su vida ^{7,8}.

Los principales beneficiarios de este proyecto de investigación corresponden a médicos radiólogos que en conjunto con especialistas neurólogos serán capaces de establecer un diagnóstico temprano para la Enfermedad de Parkinson. Habiendo establecido esto, los siguientes beneficiarios directos serán mujeres, hombres y adultos mayores que conforman la sociedad que pueden llegar a presentar este tipo de enfermedad neurodegenerativa.

IV.IV Competidores

El desarrollo de las técnicas de neuroimagen funcional como la tomografía por emisión de positrones (PET) y la tomografía por emisión de fotón único (SPECT) también nos permiten hoy en día explorar la actividad del cerebro humano. El diagnóstico de la enfermedad de Parkinson es fundamentalmente clínico por lo que el interés por éstas técnicas de neuroimagen en el diagnóstico de esta enfermedad se centra en pacientes con síntomas muy iniciales, de inicio precoz, con síndromes incompletos o síntomas atípicos que plantean dudas diagnósticas al especialista.

A pesar de su mayor sensibilidad y especificidad al diagnóstico de Parkinson, como se mencionó previamente, el elevado costo de cada uno de estos estudios y su limitada disponibilidad, además del uso de radiación para su funcionamiento, hacen de la Resonancia Magnética su principal competencia. Hoy en día, diversos estudios con RM buscan mejorar y complementar a la PET/SPECT en el diagnóstico y desarrollo de diversas enfermedades. En lo referente al diagnóstico temprano de la enfermedad de Parkinson, las técnicas por RM han obtenido resultados satisfactorios ¹⁻³, y el avance de las mismas ha permitido obtener imágenes estructurales y funcionales similares a las obtenidas por lo PET/SPECT como se ilustra en las siguientes imágenes:

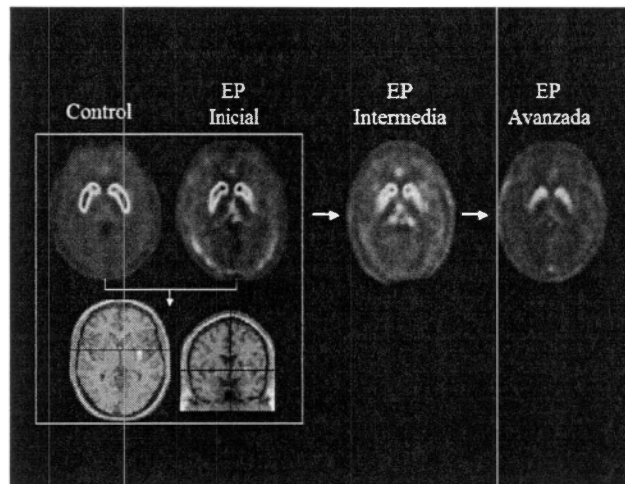


Figura 4a. Imágen obtenida con PET. A la izquierda se muestra el área de SNc de un paciente sano, comparada con un paciente con EP inicial. [Imagen extraída de Alvarez González et al. PET en la enfermedad de Parkinson y otros trastornos del movimiento. Revista Mexicana de Neurociencia 2001 2(3): 169-175

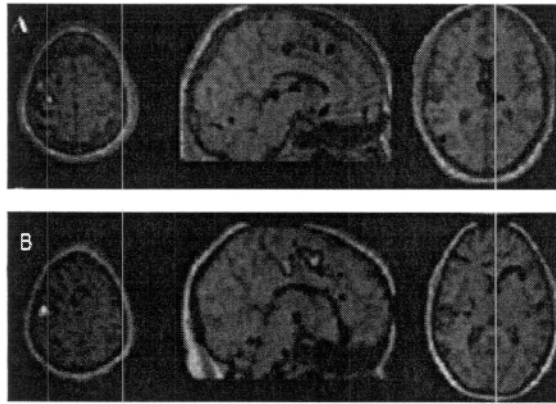


Figura 4b. Imágen obtenida con RM. En (A) se muestra el área de SNc de un paciente con EP, en (B) se muestra la misma área pero en un paciente sano. [Imagen extraída de <http://www.fedesparkinson.org/newsfep/>]

La Figura 4a muestra resultados obtenidos de la comparación de un paciente control con un paciente con Enfermedad de Parkinson con la técnica PET, de igual forma se puede observar cómo es que se visualiza el avance de esta enfermedad con la técnica y cómo es que se puede ver la disminución de sustancia nigra dentro del mesencéfalo. La Figura 4b muestra imágenes obtenidas mediante RM tanto en un paciente sano como en un paciente con Enfermedad de Parkinson; se puede observar también una disminución en el área de sustancia nigra (color rojo) relacionada a la imagen del paciente con Parkinson.

IV.V Productos Sustitutos y Complementarios

Diversas técnicas avanzadas de RM incluyendo volumetría por RM, la espectroscopia por RM, las imágenes de transferencia de magnetización, la difusión ponderada por RM, y el tensor de difusión de RM, son métodos prometedores y complementarios de la RM convencional que pueden ofrecer una elevada sensibilidad para la separación y diagnóstico de los síndromes parkinsonianos de la Enfermedad de Parkinson.¹⁴ Sin embargo, cabe mencionar que se necesitan más estudios para establecer la utilidad diagnóstica de estos métodos.

Anteriormente se mencionó el uso de técnicas PET y SPECT como principales competidores de la RM, sin embargo, al mismo tiempo constituyen estudios complementarios a ésta.

Para superar las desventajas de ambas tecnologías, tanto PET y RM, resulta interesante la combinación de los datos de las mismas como se hizo con la combinación PET/ TAC (Tomografía axial computerizada). En la actualidad el desarrollo de la combinación de imágenes PET/RM se encuentra en fase experimental ³⁹, pudiéndose establecer en un futuro como un método de adquisición de imágenes sustituto a estudios por PET y RM convencionales.

V. ESTADO DEL ARTE

En los últimos años, se han divulgado diversos proyectos de investigación relacionados con la evaluación de la Sustancia Nigra por medio de Resonancia Magnética con el fin de tener una mejor comprensión de la Enfermedad de Parkinson. Michael Hutchinson y Ulrich Raff en su artículo titulado *“Structural Changes of the Substantia Nigra in Parkinson’s Disease as Revealed by MR Imaging”*³ revelan el uso de combinaciones de secuencias de pulso para la cuantificación de la SNc, obteniendo resultados alentadores sobre el uso de esta técnica para la detección temprana del Parkinson; sin embargo, su trabajo requiere de más refinamiento y mejoramiento de la técnica.

Hirobumi Oikawa et al.¹⁵, utilizaron técnicas de difusión y perfusión, conocidas también como técnicas de Resonancia Magnética funcional, para el estudio de la localización de la Sustancia Nigra al igual que su cuantificación en pacientes con Enfermedad de Parkinson. Utilizando secuencias STIR y de Spin Eco potenciadas en

densidad protónica, lograron obtener una localización más rápida de la Sustancia Nigra, sin embargo llegaron a la conclusión de que no hay pérdida de volumen de la SNc visible mediante estos procedimientos.

Estudios del 2007 en adelante, realizados por L. Minati y colaboradores, han resultado en avances significativos para esta área; utilizando combinaciones de secuencias, como por ejemplo el uso de más de 2 secuencias de Inversión-Recuperación, y variando los tiempos de las mismas, en su artículo publicado *“Imaging Degeneration of the Substantia Nigra in Parkinson Disease with Inversion-Recovery MR Imaging”* ⁵ concluyen que este tipo de secuencias y técnicas aplicadas pueden llegar a ser una vía convincente para visualizar la degeneración de la Sustancia Nigra y así poder dar seguimiento tanto a la enfermedad como al tratamiento de la misma.

En la literatura existen estudios sobre la medición de sustancia nigra (espesor únicamente), fracción de anisotropía y volúmenes cerebrales relacionados con la Enfermedad de Parkinson ^{1-6,15-17}, sin embargo, no existe una publicación sobre los valores normales. De igual forma, el pos procesamiento de imágenes realizado en este proyecto no se ha documentado anteriormente.

A pesar del gran interés y desarrollo que se ha realizado dentro de este tema en los últimos años, cabe destacar que aún hay suficiente campo de experimentación y mejoramiento de técnicas previamente mencionadas, dejando espacio para la futura investigación que permita la optimización de las técnicas de Resonancia Magnética para el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson.

VI. DESCRIPCIÓN DE LA SOLUCIÓN

VI.I Protocolo de adquisición de Imágenes de RM

Las evaluaciones convencionales de RM para el cerebro se realizaron con un magneto de 3.0T de GE Signa HDxt (General Electric Healthcare, Milwaukee, WI). El protocolo incluyó tres planos de localización, todas las imágenes fueron adquiridas con una bobina de 12 canales de alta resolución "head-neck-spine" (HNS).

Cabe mencionar que antes de la prueba, la naturaleza del estudio y los procedimientos fueron explicados a cada voluntario, y su consentimiento informado fue obtenido. Los criterios de inclusión consideraron un cuestionario acerca de la historia médica, familiar y educativa del paciente. En cada voluntario no se registró evidencia de deficiencias en el desarrollo, anomalías educativas, médicas, psicológicas o psiquiátricas.

Las secuencias clínicas estándar consistieron de:

- Una secuencia *Fast Spin-Echo* (FSE) en plano sagital potenciada en T1 (TE / TR = 9,9 ms / 2500 ms) con un grosor de corte de 5 mm y 3 mm de separación entre cada corte, Matriz de 24 x 24 y un campo de visión de 24 cm.

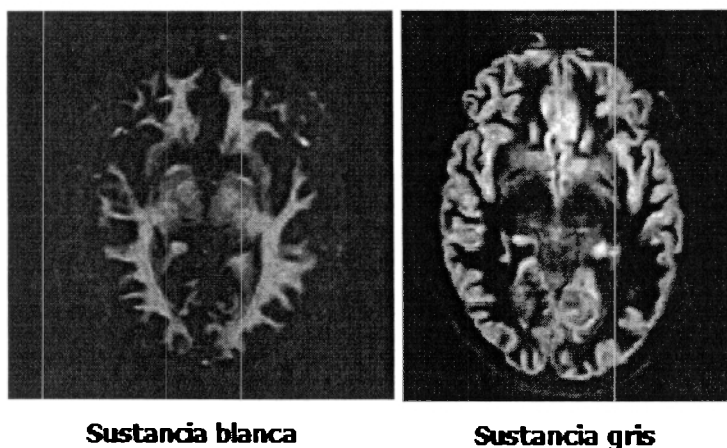
- Una secuencia *Fast Spin-Echo* (FSE) en plano coronal potenciada en T2 (TE / TR = 164.1 ms / 2617 ms) con un grosor de corte de 3 mm y 0 mm de separación entre cada corte, Matriz de 22 x 16 y un campo de visión de 22 cm.

- Una secuencia *Fluid Attenuated Inversion Recovery* (FLAIR) en plano axial (TE / TR = 115.8 ms / 11 002 ms) con un grosor de corte de 5 mm y 1 mm de separación entre cada corte, Matriz de 22 x 22 y un campo de visión de 22 cm.

VI.II Secuencias de RM para Sustancia Nigra

Para realizar la evaluación de sustancia nigra se llevaron a cabo dos secuencias de inversión-recuperación (IR) para cada paciente además de las secuencias estándar, una para sustancia blanca y otra para sustancia gris. Las secuencias de inversión-recuperación son interesantes porque permiten resaltar tejidos de forma selectiva. Se basan en suministrar pulsos de excitación de 180° en lugar de 90°. Esto provoca que, dependiendo del instante de adquisición, cambie la intensidad de gris e incluso se pueda suprimir algún tejido que dificulte el diagnóstico sobre la imagen, ver figura 4. Para nuestro caso se realizó una supresión de sustancia blanca y una de sustancia gris, con el fin de fusionar las imágenes obtenidas y evaluar de una mejor manera a la sustancia nigra.

La secuencia IR para sustancia blanca consistió de: TR: 3000 ms, TE: 14.3 ms, Tiempo de inversión (TI): 300 ms, con un campo de visión de 20 x 15 cm, grosor de corte 1.50 mm, separación entre cada corte de 0mm, 12 cortes, Matriz de adquisición: 320 x 192 pixeles, Número de excitaciones: 4.0 y tiempo de adquisición de 4:12 minutos. Para la secuencia de supresión de sustancia gris se utilizaron los mismos parámetros a excepción del TR (800 ms) y el tiempo de adquisición de 8:25 minutos.



*Figura 5. Ejemplificación de supresión de tejidos mediante inversión-recuperación
[Imagen extraída de IRM: Guía práctica en neuroradiología, 2009]*

La figura 5 permite ejemplificar la supresión de sustancia gris (imagen de lado izquierdo) para poder obtener una mejor visualización de la sustancia blanca, por el contrario, en la imagen de lado derecho se aprecia de una mejor manera el área de sustancia gris al suprimir la sustancia blanca. Es por esto que, basándonos en este principio, se realizó una supresión de ambas sustancias, quedando más visible y distinguible el campo de localización correspondiente a la sustancia nigra.

VI.III Fusión de Imágenes

Uno de los principales objetivos del presente proyecto corresponde a la evaluación de sustancia nigra a través de un pos proceso de las imágenes que permita la obtención de imágenes con una mejor definición de sustancia nigra en comparación con las obtenidas en estudios convencionales.

Utilizando la estación de trabajo (Radwork) de GE, se realizó la fusión de imágenes de las secuencias descritas anteriormente: la supresión de sustancia gris y supresión de sustancia blanca. Esta fusión fue posible mediante el uso de las aplicaciones

que contiene el software de la estación de trabajo GE, *Functool*, el cual provee pos procesamientos de imágenes avanzados utilizando 10 algoritmos diferentes. Para este propósito, se utilizó la aplicación *BIND* (fusión en inglés), la cual, como su nombre lo indica, realiza la fusión entre diferentes secuencias de interés. El resultado de este pos proceso se muestra en la figura 6.

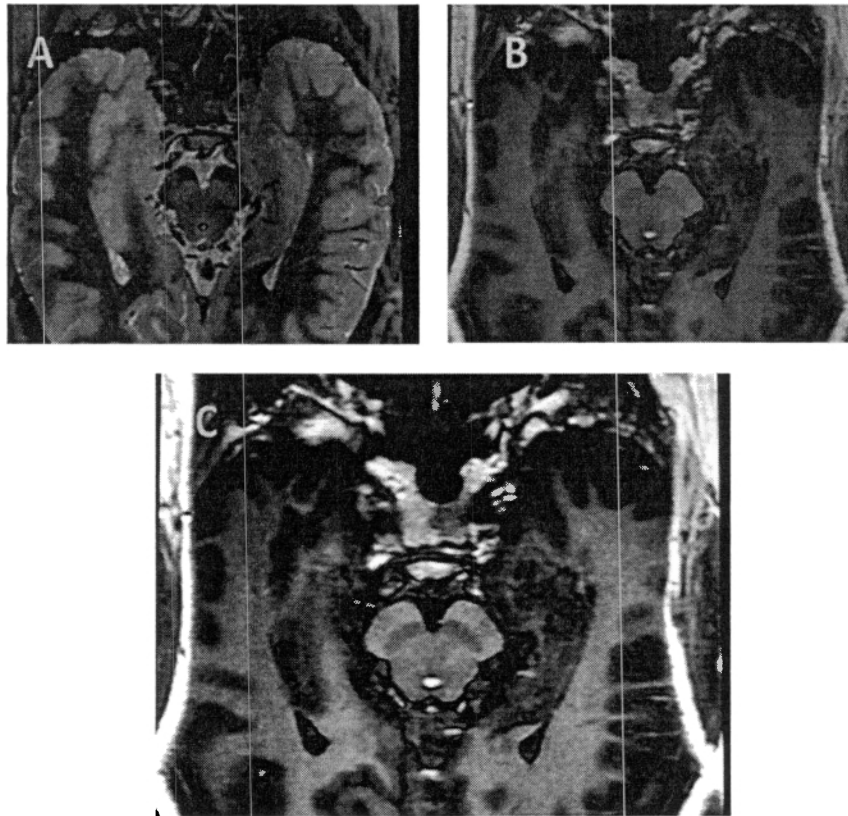
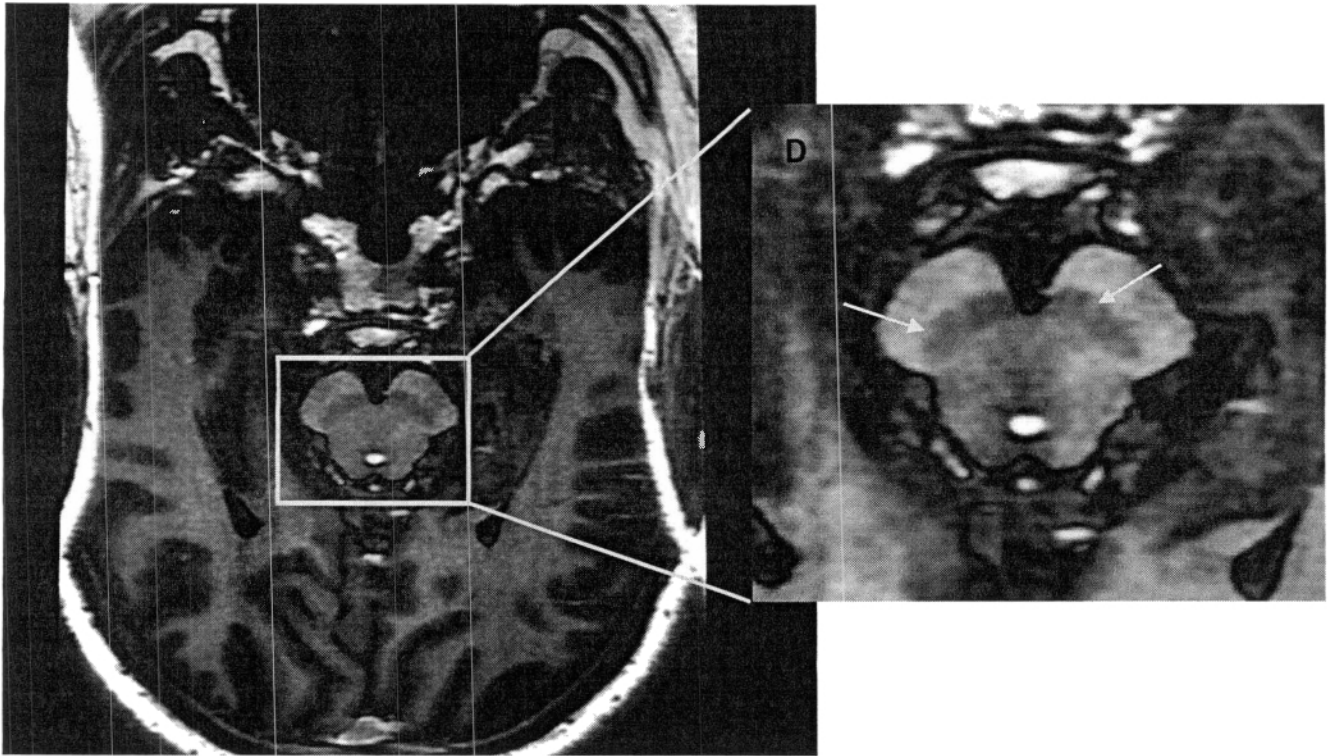


Figura 6. Postprocesamiento de imágenes. En (A) se muestra la imagen anatómica de la sustancia nigra obtenida al suprimir la sustancia blanca. En (B) se muestra la misma imagen, es decir el mismo corte, obtenido al suprimir la sustancia gris. En (C) se muestra la imagen resultante tras la fusión de ambas secuencias, pudiéndose observar una mejor definición de la sustancia nigra en esta última.

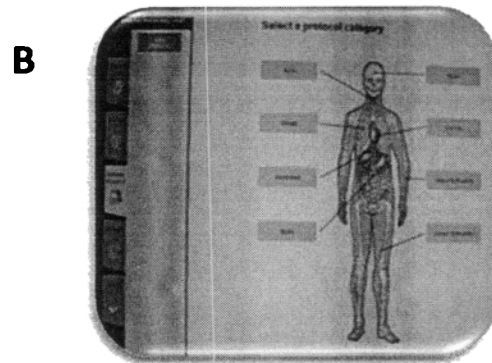
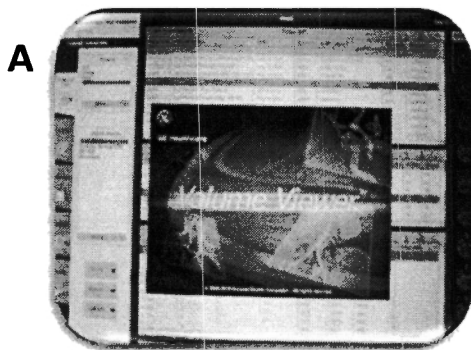
[Imagen extraída de Estación de Trabajo AW02 de la Unidad de Resonancia Magnética del Hospital Médica Sur.



En (D) se muestra el acercamiento de la imagen (C) (SN delimitada por las flechas)

VI.IV Análisis Volumétrico de Sustancia Nigra

Una vez realizada la fusión, las imágenes obtenidas fueron utilizadas para la medición de volúmenes tridimensionales de la sustancia nigra de manera bilateral, con ayuda de la aplicación *Volume Viewer*, obteniendo valores en centímetros cúbicos, ver figura 7.



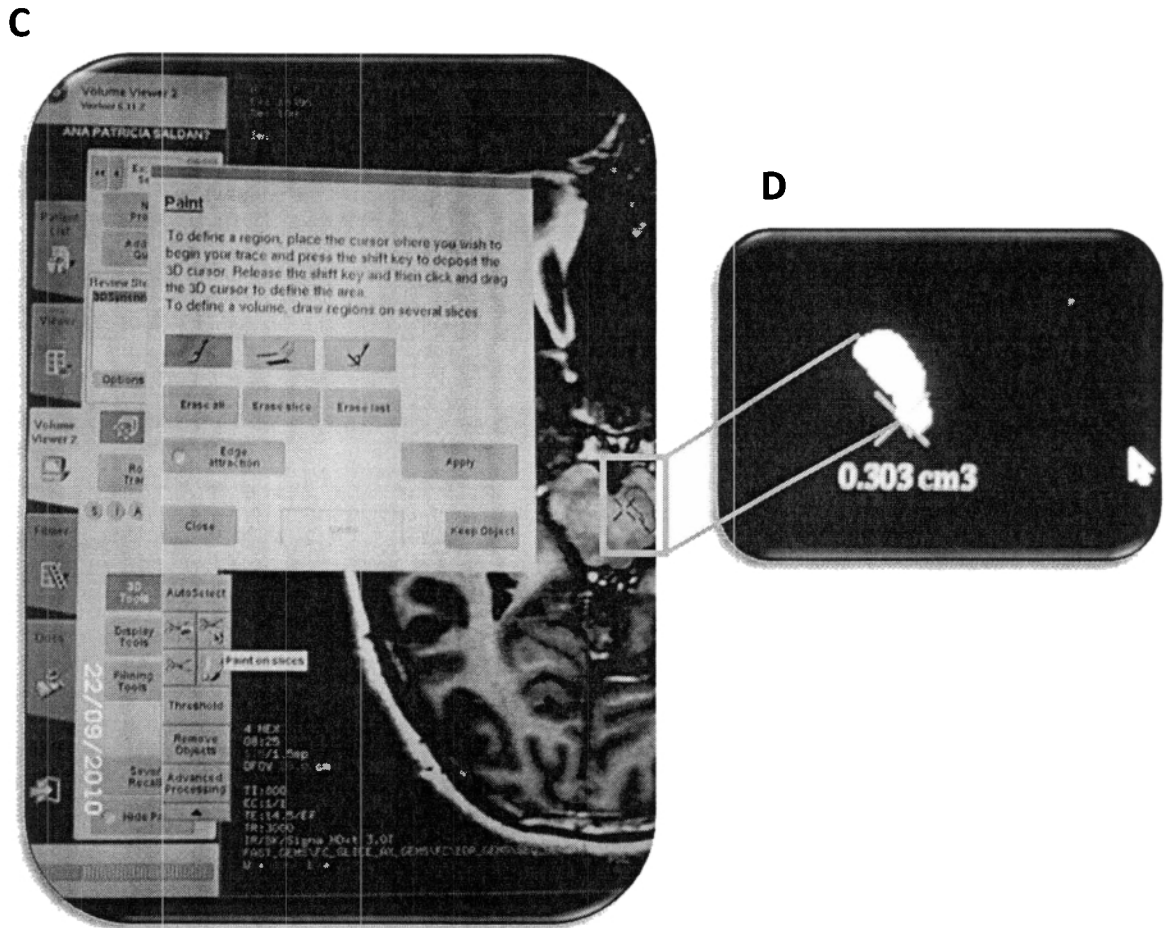


Figura 7. Proceso de medición de volúmenes de SN. En (A) se muestra la apertura de la aplicación Volume Viewer desde la estación de trabajo. En (B) se muestran las diferentes categorías de protocolo, para este caso se selecciona la opción HEAD. En (C) se muestran las herramientas de la aplicación utilizadas para segmentar la región de interés (sustancia nigra), y en (D) se muestra el valor final (en cm^3) tras finalizar el análisis volumétrico.

Para que el software pueda reconstruir y computar el volumen, se segmentó la región de interés, es decir, la sustancia nigra en 4 cortes diferentes tanto para lado derecho como para lado izquierdo. Dado que el proceso de medición se efectúa de forma manual, este mismo se realizó tres veces consecutivas con ayuda de un especialista, para así poder obtener el promedio (media) de los datos y el error estándar mediante un análisis estadístico confiable.

VI.V Medición de la Fracción de Anisotropía

Para la adquisición de la FA se realizó una secuencia de pulso Spin Echo- EPI (TR: 13400 ms, TE: 80.3 ms, grosor de corte = 2.6 mm, separación entre cortes = 0 mm, campo de visión = 25.6 x 26 cm, Matriz = 128 x 128 pixeles, número de excitaciones (NEX): 2, tiempo de adquisición 12:44 minutos) en el plano axial. Los mapas de anisotropía fraccional fueron calculados a partir del tensor de difusión, previa corrección de corrientes EDDY con el software *Functool*.

Se localizó la sustancia negra en los 24 pacientes en plano axial en tres niveles (cortes) diferentes para poder obtener tres mediciones de la FA y posteriormente obtener su media aritmética. Se colocaron regiones de interés (ROI's) abarcando un área de 10mm^2 aproximadamente: dos ROI's en ambos lados de la sustancia negra y dos en topografía de la vía piramidal para cada nivel, dando un total de 12 ROI's por paciente, ver figura 8. De manera simultánea se obtuvieron los valores de FA para cada ROI.

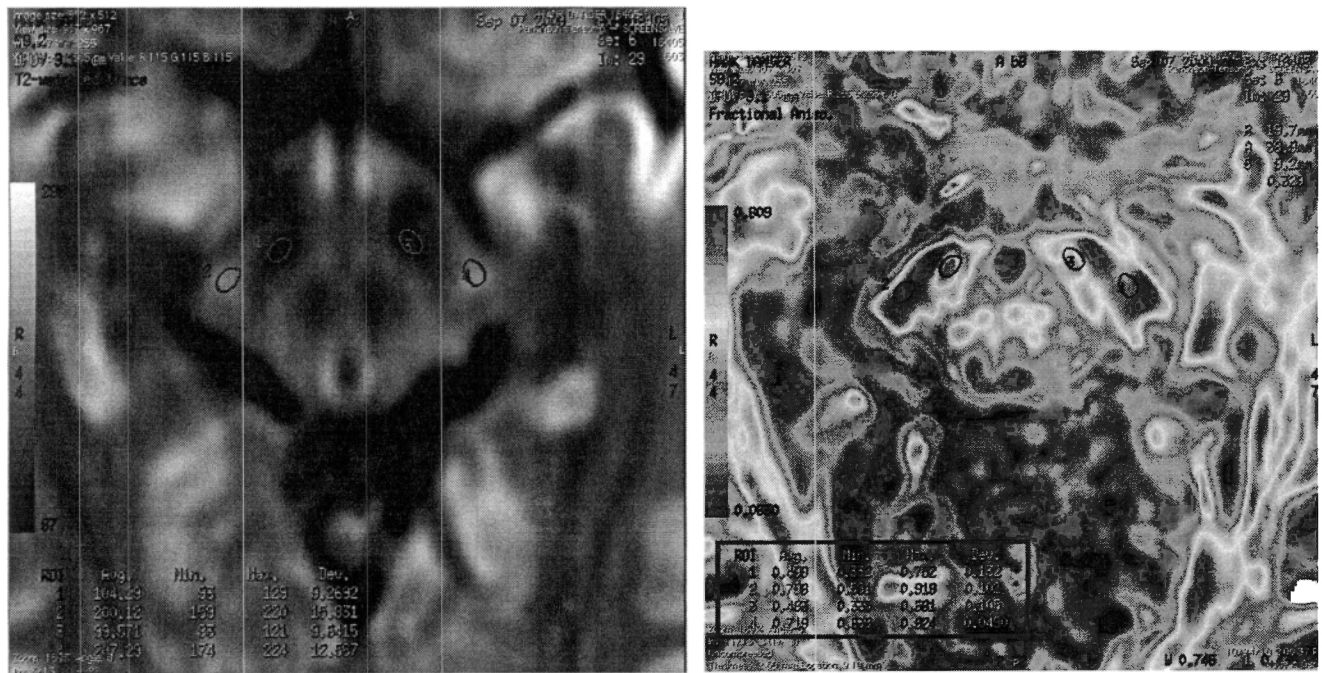


Figura 8a. Lado izquierdo: Ubicación de ROI's en área de SN y vía piramidal. Lado derecho: Mapa de color con valores de anisotropía fraccional en parte inferior.

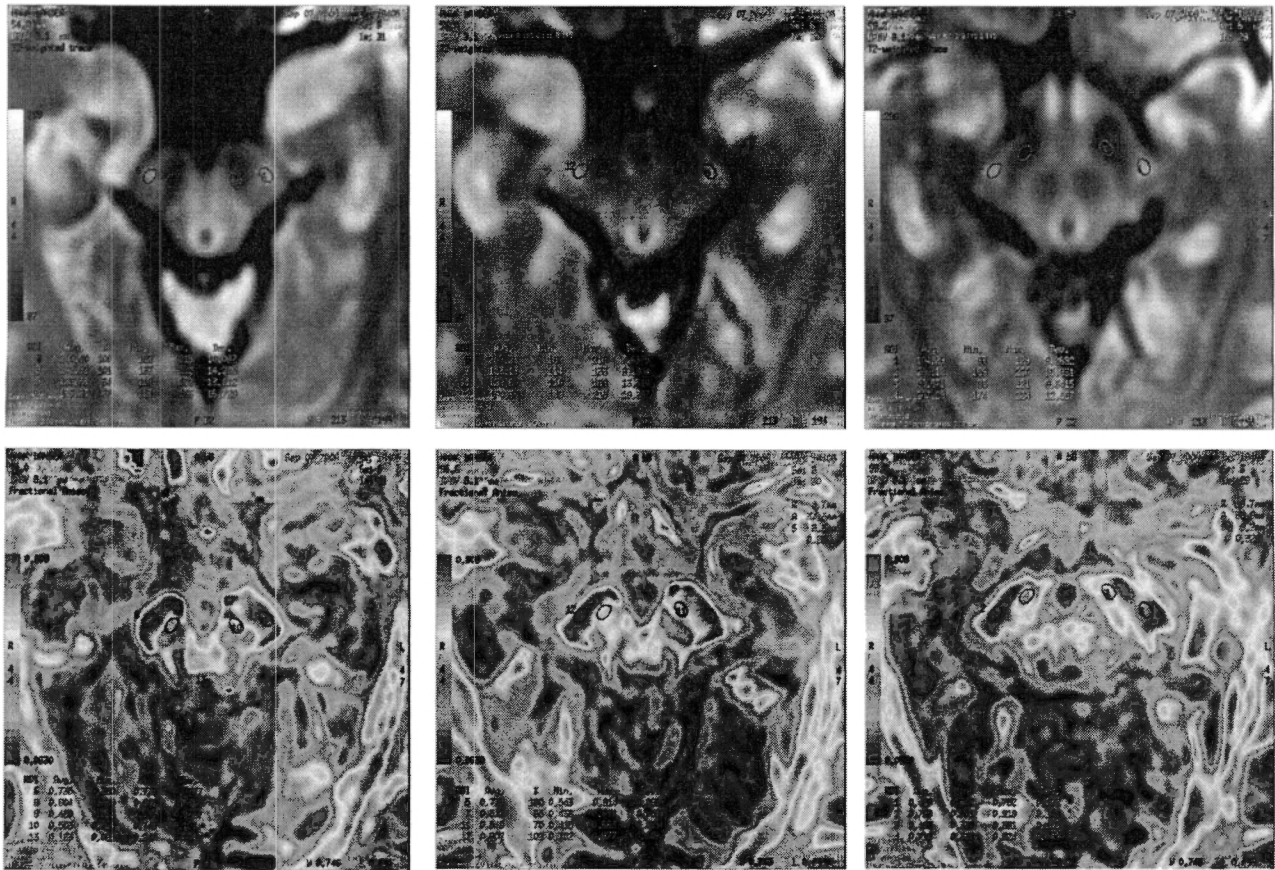


Figura 8b. 3 niveles o cortes utilizados en cada paciente, cada uno con su mapa de color correspondiente.

VI.VI Cálculo de Volúmenes Cerebrales

Como parte complementaria a este proyecto, se realizó el cálculo de los volúmenes cerebrales mediante imagen por Resonancia Magnética a cada paciente, parámetros de relevante importancia dado que el conocimiento del curso del desarrollo normal del cerebro y del envejecimiento constituye la base para el reconocimiento del desarrollo patológico del cerebro y su deterioro. La determinación de los parámetros volumétricos normales del cerebro permite la distinción entre las enfermedades patológicas, las etapas normales de desarrollo y comportamiento y la discriminación entre

las diferentes enfermedades ^{18,19}; es por esto que se buscó el obtener los valores normales y poder realizar así su análisis estadístico y estandarización.

El uso de la volumetría cerebral ha sido reportado en varias patologías que pertenecen a diferentes especialidades médicas, por ejemplo, la esclerosis múltiple ²⁰, alcoholismo ²⁰, Alzheimer y deterioro cognitivo leve ²¹, esquizofrenia ²¹⁻²³, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad²⁴⁻²⁶, síndrome de Tourette²⁴, el autismo²⁷⁻²⁹, el síndrome de Appert ³⁰, el síndrome de Down ³⁰, el síndrome de Rett ³¹, retardo del crecimiento intrauterino ³², y trastornos de conducta ³³.

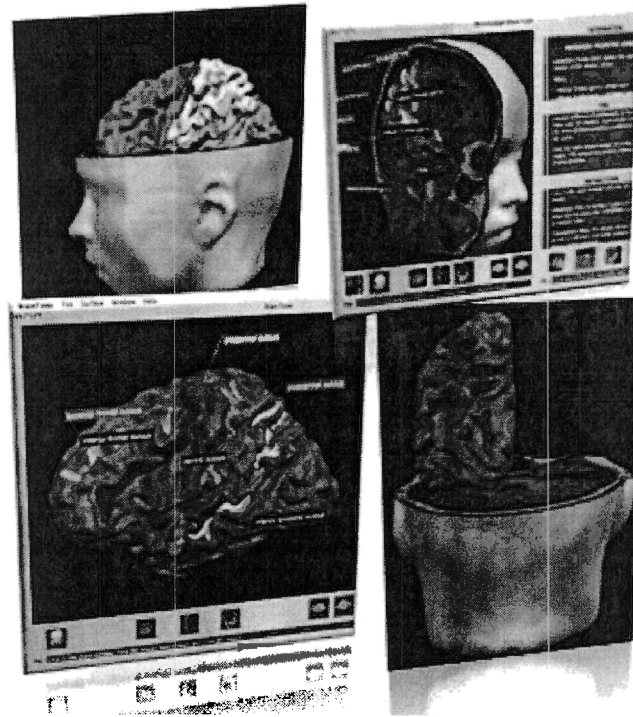
El cálculo de volúmenes cerebrales se realizó utilizando una secuencia SPGR (SPoiledGRAdient echo) en corte axial, dado que la base anatómica con la que el software IBASPM realiza los cálculos es también de corte axial. Este tipo de secuencias es muy útil para adquisiciones 3D, como es el caso para la determinación volumétrica de estructuras anatómicas. La secuencia consistió de un TE de 3.0 (ms), TI de 450.0 (ms), TR de 7.8 (ms), grosor 2.6 mm, una Matriz de 256 x 224 y un NEX de 1.00.

Análisis de Datos Volumétricos

Los datos de la RM fueron trasladados a las estaciones de trabajo, y para el análisis se utilizó el software *Individual Brain Atlases using Statistical Parametric Mapping* (IBASPM). IBASPM utiliza la metodología del Instituto Neurológico de Montreal (MNI) para obtener la matriz de transformación espacial; las imágenes individuales de resonancia magnética se segmentan en tres diferentes tejidos del cerebro: el líquido cefalorraquídeo, la sustancia gris y la sustancia blanca.

Como resultado, se obtuvo la segmentación del cerebro, el etiquetado y los volúmenes totales correspondientes a: volumen cerebral total (TBV), sustancia gris (GM),

sustancia blanca (WM) y líquido cefalorraquídeo (LCR), así como las proporciones de TBV / GM, TBV / WM, TBV / CSF y GM / WM, ver figura 9.



MEDIDAS VOLUMEN CEREBRAL							
BrainVol (cm ³)	GrayMVol (cm ³)	WhitMVol (cm ³)	CSFMVol (cm ³)	GrayMVol/BrainVol	WhitMVol/BrainVol	CSFMVol/BrainVol	GrayMVol/WhitMVol
1106.5463	563.1176	320.9856	301.1998	0.5089	0.2901	0.2722	1.7543

Figura 10. Obtención de volúmenes cerebrales mediante software especializado

VI.VII Análisis Estadístico

Todos los análisis se realizaron utilizando el software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). La significancia estadística fue indicada por $p < 0.05$ (dos colas). La presentación de los datos se realizó de acuerdo a las directrices de la Asociación Americana de Psicología.

VII. RESULTADOS

El estudio se realizó en 24 pacientes, 9 hombres (con edad media de 25.60 ± 2.55 años y un rango de 21-30 años) y 15 mujeres (con edad media de 25.47 ± 2.80 años y un rango de 20-30 años).

Comparación de medias

El volumen de sustancia nigra, anisotropía fraccional y volúmenes de cada hemisferio cerebral se analizaron mediante el test de Kolmogorov-Smirnov para la distribución normal y las estadísticas de Levene para homogeneidad de varianza. Se encontró una distribución normal para todas estas variables, permitiendo la aplicación de pruebas paramétricas.

La estadística descriptiva incluyó las medias y errores estándar de la media. Las medias se compararon entre hombres y mujeres y entre ambos lados del cerebro (derecho e izquierdo) mediante un t-test para muestras independientes.

Volumen de Sustancia Nigra

El volumen promedio de sustancia nigra en pacientes normales resultó tener diferencia significativa entre ambos lados, siendo de $0.25948 \text{ cm}^3 \pm 0.002813$ para el lado derecho y de $0.31331 \text{ cm}^3 \pm 0.002946$ para lado izquierdo, ver Tabla 1.

Fracción de Anisotropía

La Tabla 1 muestra los valores promedio así como el error estándar correspondientes a la fracción de anisotropía para sustancia nigra en lado derecho e izquierdo, las diferencias entre ambos lados no resultaron significativas ($p > 0.05$). En promedio, la fracción de anisotropía de sustancia nigra presenta un valor de $0.43808 \pm .011285$ para el lado derecho y de $0.43947 \pm .011079$ para lado izquierdo.

Tabla 1. Media aritmética para volumen y Fracción de Anisotropía de sustancia nigra

Variable	Lado Derecho		Lado Izquierdo		t	p
	Mean	Std. Error Mean	Mean	Std. Error Mean		
Volumen Sustancia Nigra	.25948	.002813	.31331	.002946	-13,216	<0.001
Fracción de Anisotropía Sustancia Nigra	.43808	.011285	.43947	.011079	-.088	.930

En la Tabla 2 se muestra el mismo análisis pero con distinción entre hombres y mujeres, en este caso las diferencias tampoco resultaron ser significativas entre ambos sexos.

Tabla 2. Media aritmética de Fracción de Anisotropía de sustancia nigra en hombres y mujeres

Variable	Hombres		Mujeres		t	p
	Mean	Std. Error Mean	Mean	Std. Error Mean		
Fracción de Anisotropía Sustancia Nigra	.42713	.014382	.44577	.009026	-1.157	.253

Volúmenes cerebrales

A partir del análisis volumétrico previamente descrito, se obtuvo un promedio de 682.13 ± 13.6 (cm³) para el volumen correspondiente a sustancia gris, un promedio de 383.37 ± 6.8 (cm³) para volumen de sustancia blanca y un promedio de 1297.28 ± 21.4 (cm³) para volumen cerebral total.

Regresión lineal múltiple

La regresión lineal se define como un procedimiento mediante el cual se trata de determinar si existe o no relación de dependencia entre dos o más variables. Es decir, conociendo los valores de una variable independiente, se trata de estimar los valores, de una o más variables dependientes. En este caso se realizó una regresión lineal múltiple para encontrar un modelo que prediga el valor de la fracción de anisotropía de sustancia nigra definida por 3 volúmenes: volumen de sustancia blanca, volumen de sustancia gris y volumen cerebral total. Esta regresión mostró influencia significativa del volumen de sustancia blanca sobre la fracción de anisotropía para sustancia nigra, esto quiere decir que la fracción de anisotropía para sustancia nigra se ve afectada si el volumen de sustancia blanca aumenta o disminuye. Esto es importante ya que, conociendo los volúmenes cerebrales normales, en específico el de sustancia blanca, se puede inferir un aumento o disminución en la FA de sustancia nigra correlacionado con la Enfermedad de Parkinson.

Análisis de regresión lineal múltiple adicionales revelaron que ni el volumen de sustancia gris, volumen cerebral total ni edad tienen una influencia directa o significativa sobre la fracción de anisotropía para sustancia nigra. La Tabla 3 presenta los resultados obtenidos del análisis de regresión.

Tabla 3. Regresión Lineal Múltiple

Fracción de anisotropía

	B	SE B	β
Constante	0.172	0.123	
Volumen de sustancia blanca	0.001	0.000	0.421*

Nota: $r = 0.421$, $r^2 = 0.177$, adjusted $r^2 = 0.139$, $*p = .041$

Variables excluidas

	B	SE B	β
Constante	0.006	0.160	**
Edad	0.008	0.004	0.383**
Volumen total cerebral	0.000	0.000	-0.470**
Volumen de sustancia gris	0.000	0.000	0.465**

** = p > .050

A partir de esta regresión lineal, se pueden estimar los coeficientes de la ecuación lineal, que mejor prediga el valor de la variable dependiente, en este caso, de la Fracción de anisotropía para sustancia nigra. La ecuación resultante se muestra a continuación:

$$\text{Fracción de Anisotropía} = 0.172 + 0.001 (\text{Volumen de Sustancia Blanca})$$

Esta ecuación permite aportar por primera vez un modelo matemático que prediga el valor de la fracción de anisotropía para Sustancia Nigra, a partir del volumen conocido de Sustancia Blanca. Esto se traduce en un diagnóstico más rápido y efectivo por parte del médico radiólogo al comparar el valor resultante con los valores normales previamente establecidos.

VIII. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que el pos procesamiento de imágenes mediante la fusión de dos secuencias IR mejora la definición del área comprendida por sustancia nigra, esto se comparó con aquellas presentadas en el reciente estudio de Michaux, R. ¹, en donde se realiza supresión de sustancia tanto blanca como gris, sin embargo, no realizan la fusión de ambas secuencias, mostrando una imagen con poca definición del área, ver figura 10.

La fusión de secuencias arrojó diferencias estadísticamente significativas en la determinación del volumen de la SN, lo cual puede ser eventualmente útil como herramienta diagnóstica.

Los datos estadísticos mostraron resultados confiables en cuanto al cálculo del volumen y fracción de anisotropía para Sustancia Nigra, pudiendo establecer valores normales para muestras más grandes. Se realizó la aportación de presentar por primera vez datos mexicanos de normalidad para esta estructura anatómica, incluyendo el concepto de normalidad del 2.5% al 97.5% de la distribución de valores de la población.

Dado que tanto el área y la fracción de anisotropía para Sustancia Nigra se encuentran disminuidas en la Enfermedad de Parkinson ^{1, 5, 16, 17}, es posible establecer los valores normales de estas variables como medio de diagnóstico temprano para la Enfermedad de Parkinson.

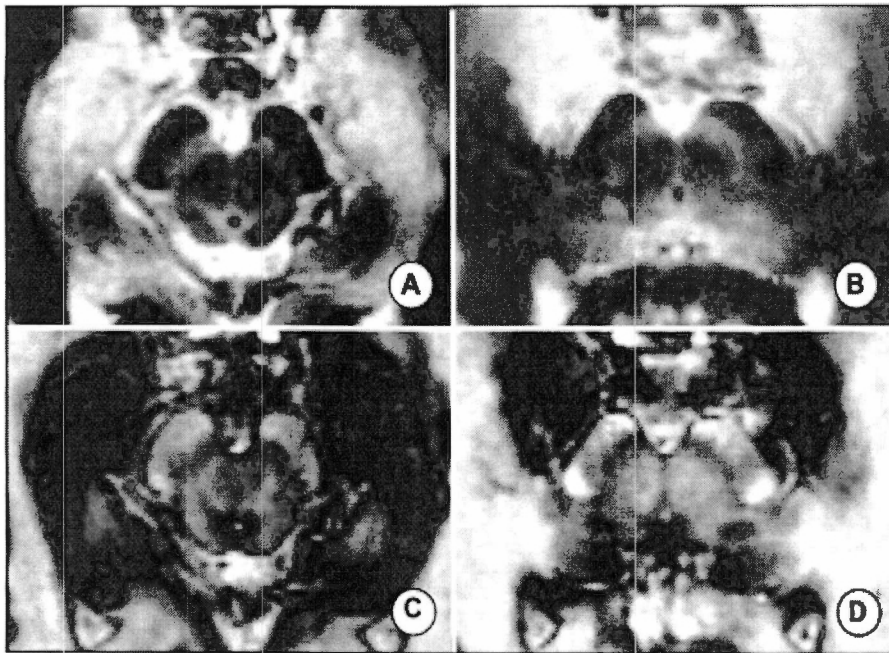


Figura 10. Imagen presentada en el artículo de Michaux, R. como resultado de su estudio. Figuras A-B corresponden a imágenes obtenidas tras la supresión de sustancia blanca, figuras C-D corresponden a imágenes obtenidas tras la supresión de sustancia gris en un voluntario normal.

IX. TRABAJO A FUTURO

Como trabajo a futuro queda la realización del mismo protocolo de investigación presentado en este reporte a pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Parkinson. Diversos estudios han calculado volúmenes cerebrales, fracción de anisotropía y espesor de sustancia nigra en pacientes con esta enfermedad, sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios que proyecten comparativamente los resultados obtenidos con valores normales.

Al realizar una comparación tanto numérica como morfológica de los parámetros utilizados siguiendo este protocolo, se podrán establecer a futuro condiciones tanto

cualitativas como cuantitativas que servirán para obtener un diagnóstico temprano de la Enfermedad de Parkinson.

X. REFERENCIAS

1. Michaux, R 2004, 'Sustancia negra mesencefálica y Enfermedad de Parkinson: diagnóstico por Resonancia Magnética'. *Rev. Argent. Radiol*, vol. 68, no. 11, pp. 49-52.
2. Adams, RA, Victor, M & Ropper, AH 1998 *Principios de Neurología*, 6a edición. McGraw Hill Interamericana.; Parte 4, pp. 925-932.
3. Hutchinson, M. & U. Raff 2000, 'Structural changes of the substantia nigra in parkinson's disease as revealed by MR imaging'. *AJNR*, vol. 21, pp.697-701.
4. Albin, R.I, Young, A. B. & Penney, J. B. 1989, 'The functional anatomy of basal ganglia disorders'. *Trends Neurosci*, vol. 12, no. 10, pp.366-375.
5. Minati, L., et al. 2007, 'Imaging degeneration of the substantia nigra in Parkinson disease with inversion-recovery MR imaging'. *AJNR Am J Neuroradiol*, vol. 28, no. 2, pp.309-13.
6. Gibb WRG, Less, AJ 1991, 'Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the susbtantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease'. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol. 54, pp.388-396.
7. Morens DAM, Davis JW, Grandinetti A, Ross GW, Popper JS & White LR 1996, 'Epidemiologic observations on Parkinson's disease: incidence and mortality in a prospective study of middle-aged men'. *Neurology*, vol. 46, pp. 1044-1050.
8. de Rijk MC, Tzourio C, Breteler MMB, et al. 1997, 'Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study'. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol. 62, pp.10-15.
9. Fearnley JM, Less AJ 1991, 'Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity'. *Brain*, vol.114, pp.2283-2301.
10. De la Peña, P, *Salud Tecnológica, Megatendencias Sociales*. Centro de Información del Observatorio Tecnológico. Recuperado el 27 de agosto de 2010 desde: <http://oet.itesm.mx/privado/centro/megatendencias/1.jsp>
11. Skoog, D 2008 *Principios de análisis instrumental*, 6ª edición. CENGAGE Learning, México.
12. American Society of Radiologic Technologists 2000, *Imágenes por Resonancia Magnética*. Recuperado el 1 de septiembre de 2010 desde: https://www.asrt.org/media/pdf/mr_span.pdf
13. Bartholdi, E. & R.R. Ernst, 2010 'Application to nuclear magnetic resonance'. *AIP The Journal of Chemical Physics*, vol. 64, pp. 18.
14. Stern, MB, Braffman, BH, Skolnick, BE, et al. 1989, 'La resonancia magnética en la enfermedad de Parkinson y los síndromes parkinsonianos'. *Neurology*, vol. 39, pp. 1524.

15. Hirobumi O, Makoto S, Yoshiharu T, Shigeru E and Koujiro T 2002, 'The Substantia Nigra in Parkinson Disease: Proton Density-Weighted Spin-Echo and Fast Short Inversion Time Inversion-Recovery MR Findings'. *American Journal of Neuroradiology*, vol. 23, pp.1747-1756.
16. Vaillancourt, D.E et al. 2007, 'High-resolution diffusion tensor imaging in the substantia nigra of de novo Parkinson disease'. *Neurosurgery*, vol. 60, pp.17-28.
17. Chan LL, Rumpel H, Yap K, et al. 2007, 'Case control study of diffusion tensor imaging in Parkinson's disease'. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, vol.78, pp. 1383-1386.
18. Matsumae M, Kikinis R, Morocz IA, et al. 1996, 'Age-related changes in intracranial compartment volumes in normal adults assessed by magnetic resonance imaging'. *J Neurosurg*, vol. 84, pp. 982-991.
19. Milhorat TH, Chou MW, Trinidad EM, et al. 1999, 'Chiari I malformation redefined: clinical and radiographic findings for 364 symptomatic patients'. *Neurosurgery*, vol. 44, pp. 1005-1017.
20. Ge Y, Grossman RI, Babb JS, et al. 2002, 'Age-related total gray matter and white matter changes in normal adult brain. Part I: volumetric MR imaging analysis'. *AJNR Am J Neuroradiol*, vol. 23, pp.1327-1333.
21. Fleisher AS, Sun S, Taylor C, et al. 2008, 'Volumetric MRI vs clinical predictors of Alzheimer disease in mild cognitive impairment'. *Neurology*, vol. 70, pp.191-199.
22. Jacobsen LK, Giedd JN, Berquin PC, et al. 1997, 'Quantitative morphology of the cerebellum and fourth ventricle in childhood-onset schizophrenia'. *Am J Psychiatry*, vol. 154, pp.1663-1669.
23. Schlaepfer TE, Harris GJ, Tien AY, et al. 1994, 'Decreased regional cortical gray matter volume in schizophrenia'. *Am J Psychiatry*, vol. 151, pp. 842-848.
24. Baumgardner TL, Singer HS, Denckla MB, et al. 1996, 'Corpus callosum morphology in children with Tourette syndrome and attention deficit hyperactivity disorder'. *Neurology*, vol. 47, pp. 477-482.
25. Berquin PC, Giedd JN, Jacobsen LK, et al. 1998, 'Cerebellum in attention-deficit hyperactivity disorder: a morphometric MRI study'. *Neurology*, vol. 50, pp.1087-1093.
26. Hynd GW, Semrud-Clikeman M, Lorys AR, et al. 1991, 'Corpus callosum morphology in attention deficit-hyperactivity disorder: morphometric analysis of MRI'. *J Learn Disabil*, vol. 24, pp.141-146.
27. Courchesne E, Yeung-Courchesne R, Press GA, et al. 1988, 'Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism'. *N Engl J Med*, vol. 318, pp.1349-1354.

28. Courchesne E, Saitoh O, Yeung-Courchesne R, et al. 1994, 'Abnormality of cerebellar vermal lobules VI and VII in patients with infantile autism: identification of hypoplastic and hyperplastic subgroups with MR imaging'. *AJR Am J Roentgenol*, vol.162, pp.123-130.
29. Gosain AK, McCarthy JG, Glatt P, et al. 1995, 'A study of intracranial volume in Apert syndrome'. *Plast Reconstr Surg*, vol. 95, pp.284-295.
30. Raz N, Torres IJ, Briggs SD, et al. 1995, 'Selective neuroanatomic abnormalities in Down's syndrome and their cognitive correlates: evidence from MRI morphometry'. *Neurology*, vol. 45, pp.356-366.
31. Reiss AL, Faruque F, Naidu S, et al. 1993, 'Neuroanatomy of Rett syndrome: a volumetric imaging study'. *Ann Neurol*, vol. 34, pp.227-234.
32. Toft PB, Leth H, Ring PB, et al. 1995, 'Volumetric analysis of the normal infant brain and in intrauterine growth retardation'. *Early Hum Dev*, vol. 43, pp.15-29.
33. Rumsey J, Thatcher RW, Lyon GR, et al. 1997, '*Developmental neuroimaging: mapping the development of brain and behavior*'. Academic Press, New York.
34. Redalyc, '40 Años de resonancia magnética nuclear en México'. *Journal of the Mexican Chemical Society*, num. julio-septiembre, pp. 277-283.
35. Helpern JA. 1995, 'Increased iron-related MRI contrast in the substantia nigra in Parkinson's disease'. *Neurology*, vol. 45, pp.1138-1143.
36. Ordidge RJ, Gorell JM, Deniau JC, Knight RA, Helpern JA 1994, 'Assessment of relative brain iron concentrations using T2- weighted and T2*-weighted MRI at 3 tesla'. *Magn Reson*, vol.32, pp.335-341.
37. Moriwaka F, Tashiro K, Itoh K, and Hamada T, Miyasaka K 1992, 'Magnetic resonance imaging in Parkinson's disease: the evaluation of the width of pars compacta on T2 weighted images'. *Rinsho Shinkeigaku*, vol.32, pp.8-12.
38. Coelho H & Sa J Martins A 1990, 'Importance of magnetic resonance in Parkinson disease: an analytic study of the pars compacta'. *Acta Med Port*, vol.3, pp.85-88.
39. Ministerio de sanidad y consumo, *Tomografía por emisión de positrones combinada con resonancia magnética (PET/RM)*. Informes, Estudios e Investigación, Andalucía 2006