

Caracterización de lesiones cutáneas benignas mediante espectroscopía de reflexión difusa

Tesis que presenta

Sonia Buendia Aviles

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN COMPUTACIÓN ÓPTICA

Director de tesis:

Dra. Margarita Cunill Rodríguez

Codirector de tesis:

Dr. José Alberto Delgado Atencio

Tulancingo de Bravo, Hidalgo Diciembre 2019

©UPT 2019

Derechos reservados El autor otorga a la UPT el permiso de reproducir y distribuir copias en su totalidad o en partes.

"Hay dos maneras de difundir la luz. Ser la lámpara que la emite, o el espejo que la refleja."

Yutang Lin

"¡Caer está permitido; levantarse es obligatorio!"

Proverbio ruso

"Lo importante en la ciencia no es tanto obtener nuevos datos, sino descubrir nuevas formas de pensar sobre ellos".

William Lawrence Bragg

Dedicatoria

Me gustaría dedicar esta Tesis a toda mi familia.

A mis padres, por estar conmigo, por enseñarme a crecer y a que si caigo debo levantarme, por apoyarme y guiarme, por ser las bases que me ayudaron a llegar hasta aquí. Me han enseñado a encarar la adversidad sin perder nunca la esperanza, confianza y dignidad. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño. Pero sobre todo gracias a mi madre por su comprensión y ayuda en todo momento, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años.

A mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome y por todo el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida.

A todas las personas que me han apoyado y han hecho que este trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que me abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos conmigo.

Agradecimientos

Primero y más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi directora y tutora de Tesis, la Dra. Margarita Cunill Rodríguez, por su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y sobre todo su motivación, que han sido fundamentales para mi formación. También me gustaría agradecer a mi codirector de tesis, el Dr. José Alberto Delgado Atencio, por sus orientaciones, indicaciones y consejos recibidos a lo largo de este trabajo.

A la Universidad Politécnica de Tulancingo por darme la oportunidad de continuar mis estudios de maestría y por brindar profesores e instalaciones de calidad para desarrollarme profesionalmente de manera adecuada. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) le agradezco la beca recibida durante mis estudios de maestría, así como el apoyo para la estancia de investigación realizada en la Universidad de Cantabria en Santander España.

Agradezco de manera especial al Dr. José Luis Arce Diego y al Dr. Félix Fanjul Vélez, del grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas de la Universidad de Cantabria, en Santander, España, por su amabilidad y disponibilidad durante mi estancia en su grupo de investigación, durante la cual tuve todo el soporte profesional y logístico para alcanzar los objetivos perseguidos. Muchas gracias por permitirme vivir una experiencia tan importante para mi formación como investigador.

Asimismo, agradezco a mis compañeros del grupo de Óptica Biomédica por su apoyo personal y humano, especialmente a la maestra Alejandra Cárdenas Rosales y el ingeniero Luis Rodolfo Castelán Olvera con quienes he compartido proyectos e ilusiones durante estos años.

A mis Sinodales Dr. Enrique González Gutiérrez, M. en C. Magda Muñoz Pérez, Dr. José Alberto Delgado Atencio y Dra. Margarita Cunill Rodríguez, por sus acertados comentarios y sugerencias.

Al médico Cristóbal Arni Ramírez por sus aportaciones a esta investigación.

De igual manera quisiera agradecer a mis profesores de materia por su trato humano y su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, que de una manera u otra han aportado su granito de arena a mi formación como persona e investigador. Aprovecho para agradecer a mis compañeros de generación por brindarme la oportunidad de compartir tantos momentos gratos, especialmente a quienes se convirtieron en mis amigos.

Resumen

El cáncer de piel es una enfermedad silenciosa y mortal especialmente en el caso del melanoma, si bien es sabido que en México el número de casos reportados hasta el momento no son tantos, en comparación con aquellos reportados en otros países, no deja de preocuparnos el hecho indiscutible, de que esta neoplasia ha incrementado su incidencia en todo el mundo y nuestro país no es la excepción. No obstante, es fundamental considerar que si una persona es diagnosticada con melanoma en las primeras etapas (estadios I y II) la tasa de supervivencia se incrementa de manera considerable, por lo tanto, es indispensable realizar un diagnóstico oportuno.

Por otra parte, en el año 2016 un grupo de investigadores, corroboro mediante un barrido electroquímico que la enzima tirosinasa es un buen biomarcador para determinar el grado de metástasis del melanoma, además de entablar una estrecha relación con la presencia de la misma enzima en las manchas marrones que surgen en la piel del plátano con el proceso de maduración de la fruta. Por lo anterior en este trabajo se implementó la técnica óptica de espectroscopía de reflexión difusa, con el objetivo de estudiar los espectros de las manchas en la piel del plátano, con la intención de encontrar un patrón que nos permita encontrar una relación entre la enzima tirosinasa en dicha fruta y aquella presente en lesione pigmentadas de la piel como los nevos, de forma no invasiva.

Además, considerando que la regla "ABCDE" es el método de autoinspección, más implementado tanto por médicos especialistas y comunidad en general, en este proyecto de tesis se hace especial énfasis en los criterios de color y tamaño, para lo cual se implementó una interfaz gráfica de usuario en MATLAB, capaz de determinar los diámetros de las manchas y los nevos, cuyos resultados nos permitieron realizar una primera comparación entre ambas.

Índice general

| | 3.1 | Intr | oducción | | |
|--------------------------|------------|-------------------|---|--|--|
| | 3.2 | A: E | studio de la Evolución del ERD de Plátanos fruta realizados en la UPT | | |
| | 3 | .2.1 M | ateriales y métodos 42 | | |
| | | 3.2.1. | 1 Sistema para la adquisición de espectros de reflexión difusa | | |
| | | 3.2.1. | 2 Selección de las muestras 43 | | |
| | | 3.2.1. | 3 Adquisición de espectros de reflexión difusa43 | | |
| | 3.2.2 | | Resultados y discusión 44 | | |
| | 3.3 | B: Estu | dio de la Influencia de la distancia en la toma de espectros de reflexión difusa 50 | | |
| | 3.3.1 | | Materiales y métodos 51 | | |
| | | 3.3.1. | 1 Sistema para la adquisición de espectros de reflexión difusa | | |
| | | 3.3.1. | 2 Selección de las muestras | | |
| | | 3.3.1. | 3 Adquisición de espectros de reflexión difusa 52 | | |
| | 3 | .3.2 | Resultados y discusión | | |
| | 3.4 | Con | clusiones | | |
| | Сар | oítulo IN | /. Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD | | |
| | 4.1 | Intr | oducción | | |
| | 4.2 | Afe | cciones de la piel | | |
| | 4.3 | A: I | nvestigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD en voluntarios | | |
| UP | T | 65 | | | |
| | 4 | .3.1 | Materiales y métodos | | |
| | | 4.3.1. | 1 Sistema de adquisición de espectros de reflexión difusa | | |
| | _ | 4.3.1. | 2 Captura de espectros | | |
| | 4 | .3.2 | Resultados y discusión | | |
| | 4.4 | B: lı 72 | nvestigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD en voluntarios UC | | |
| | 4 | .4.1 | Materiales y métodos 72 | | |
| | | 4.4.1. | 1 Sistema de adquisición de espectros de reflexión difusa | | |
| | | 4.4.1. | 2 Captura de espectros73 | | |
| | 4 | .4.2 | Resultados y discusiones75 | | |
| | 4.5 | Con | clusiones | | |
| de | Cap una | itulo V regiór | . Desarrollo de una Interfaz gráfica de Usuario GUI, para diferenciar tamaños y tonos de la piel | | |
| | 5.1 | Introd | ucción | | |
| 5.2 Materiales y métodos | | | | | |

| 5.2.1 Metodología | |
|---|-----|
| 5.2.2 Descripción de la interfaz gráfica implementada | |
| 5.3 Resultados y discusión | |
| 5.4 Conclusiones | 111 |
| Capítulo VI. Conclusiones Generales | 115 |
| 6.1 Conclusiones Generales | 116 |
| Anexo A | 118 |
| Anexo B | |
| Anexo C | 127 |
| Anexo D | 129 |
| Anexo E | |
| Anexo F | 133 |
| Anexo G | 139 |
| Glosario | |

Índice de figuras

Capítulo I. Introducción

Figura 1. 1: Distribución geográfica sobre la incidencia del cáncer de piel del tipo melanoma. El mapa muestra una tasa estandarizada por cada 100000 habitantes conforme a los valores establecidos en la escala de color de la izquierda. Por ejemplo, en el caso de México, está representado por un color azul cuyo valor es de 2.1-5.6 y considerando que la población mexicana aproximada es de 130 millones de habitantes, esto quiere decir que la incidencia del melanoma se estima en un aproximado entre 2730 a 7280 casos al año [5]......2 Figura 1. 2: Criterio de la regla "ABCDE", para diferenciar el melanoma del nevo. Imagen tomada de la infografía elaborada para la campaña de prevención contra el cáncer de piel del tipo melanoma, efectuada en Figura 1. 3: Esquema representativo del criterio "asimetría" de la regla ABCDE, para un nevo y un melanoma. Figura 1. 4: Esquema representativo del criterio "borde", de la regla ABCDE, para un nevo y un melanoma. Se puede apreciar una finalización abrupta para el caso del melanoma......7 Figura 1. 5: Esquema representativo del criterio "color2 de la regla ABCDE, de un nevo y un melanoma. Se puede apreciar que el melanoma llega a tener distintos tonos de color en la misma lesión.7 Figura 1. 6: Esquema representativo del criterio "diámetro" de la regla ABCDE, de un nevo y un melanoma. Se Figura 1. 7: Tasas de supervivencia a 10 años para el cáncer de piel tipo Melanoma de acuerdo a la

Capítulo II. Fundamentos teóricos

| Figura 2. 1: Esquema representativo de la estructura básica del sistema tegumentario [7] |
|---|
| Figura 2. 2: Esquema representativo de algunos de los procesos ópticos que sufre un haz de luz (representado |
| aquí con tres rayos) debido a la absorción y el esparcimiento una vez que interactúa con la piel |
| Figura 2. 3 : Espectros de absorción de los principales cromóforos de la piel, en un ranao espectral de los 300 |
| nm a los 20000 nm [12] |
| Figura 2 4 : Imagen representativa sobre el proceso de producción de melanina, en el estrato corneo de la |
| enidermis [14] |
| Figura 2 5: Imagen representativa sobre las áreas involucradas de la piel al padecer melanoma [17] |
| Figura 2. 5: Imagen representativa de la tonglidad más acertada para cada fototipo de piel, de gauerdo a la |
| elacificación do Eitzpatrick [21] |
| |
| Figura 2. 7: Imagen representativa que hace alusión a las principales variantes de plátano existentes en |
| territorio Mexicano [24] |
| Figura 2. 8: Esquema de a estructura interna de un plátano fruta |
| Figura 2. 9: Resultados obtenidos por Chuanqi Xie y colaboradores [30], en un estudio para determinar el |
| estado de maduración de una serie de plátanos, la figura muestra el promedio y la desviación estándar |
| obtenidos |
| Figura 2. 10: Espectros ordenados de acuerdo al grado de maduración de la piel del plátano, conforme a los |
| resultados obtenidos por Nan-Nan Wang y colaboradores [31] |
| Figura 2. 11: Imagen representativa del espectro de absorción de la clorofila tipo "a" en color verde, mientras |
| aue la clorofila tipo "b", se encuentra representado por el color roio, podemos observar un pico de absorción |
| a los 680 nm. para la clorofila "a", mismo aue veremos como un valle de reflexión en los espectros capturados |
| con nuestro sistema [34] |
| Figura 2. 12 : Espectro de absorción del ácido ascórbico en presencia de (a) tirosinasa libre λ max = 289 nm (b) |
| $TE(A \) max = 290 \ nm (2011) [28] $ |
| 1257 $(110x - 250)$ (111) (2011) (50) |
| Figura 2. 13: Esquema representativo, sobre la relacion entre la enzima tirosinasa de las manchas marrones |
| de la piel del plàtano y los melanomas de la piel humana [49] 33 |

Figura 3. 1: Esquema del arreglo experimental de Espectroscopia de Reflexión Difusa, implementado en el laboratorio de Óptica biomédica de la Universidad Politécnica de Tulancingo, para la toma de espectros Figura 3. 2: Escala para la clasificación de los diferentes estados de madurez de los plátanos, asociados a los Figura 3. 3: Espectros típicos, del ciclo de maduración de una muestra de Musa Cavendishii analizada en el laboratorio de óptica biomédica de la UPT. Los espectros fueron obtenidos durante una semana para una misma región sin manchas. Nota: SM es un acrónimo para referirnos a zona sin manchas en la piel del plátano. Figura 3. 4: Espectros típicos, del ciclo de maduración de una muestra de Musa Cavendishii analizada en la Figura 3. 5: Caso atípico del proceso de maduración de un plátano. Los ERD fueron obtenidos de la región sin manchas para la muestra correspondiente a la cuarta semana de experimentación analizada en la UPT..... 48 Figura 3. 6: Caso atípico del proceso de maduración de un plátano. Los ERD fueron obtenidos a partir de una misma mancha para la muestra correspondiente a la cuarta semana de experimentación analizada en la UPT. Figura 3. 7: Imagen correspondientes a 3 muestras de plátano; de izquierda a derecha tenemos a las muestras Figura 3. 8: Espectros de reflexión difusa para cada una de las muestras analizadas durante 6 semanas, medidas correspondientes al octavo día de mediciones. Las curva para las muestras analizadas en las semanas 1, 3 y 6, muestran una menor reflexión al resto de las demás muestras, esto se debe principalmente que la Figura 3. 9: ERD respectivos a la zona con mancha para cada una de las muestras empleadas en las seis semanas de experimentación, en la leyenda se muestran las dimensiones para cada una de las manchas finales medidas, sin embargo, se debe aclarar que aquellas con medidas superiores a los 5 milímetros se tratan de la unión de varias manchas como una sola, lo anterior se debe al alto arado de maduración de la piel de la fruta Figura 3. 10: Esquema del arreglo de espectroscopia de reflexión difusa implementado en el laboratorio de Ingeniería Biomédica del Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas (TOA) de la Universidad de Cantabria (UC), España, para la toma de espectros en la piel del plátano, a diversas distancias "sonda-muestra"...... 51 Figura 3. 11: Fotografías tomadas a dos muestras de plátano empleadas en el estudio de la influencia de la distancia "sonda-muestra". El par de plátanos de la izquierda corresponde al día en que se adquirieron las muestras y al primer día de mediciones, las imágenes de la derecha pertenecen al mismo par de plátanos Figura 3. 12: Resultados obtenidos para las curvas espectrales analizadas en contacto, en las zonas de interés Figura 3. 13: Imagen correspondiente a las zonas medidas para la muestra uno, el plátano denota una coloración amarilla predominantemente. Nótese que la mancha 1 (M1), se encuentra rodeada por una región con un fondo de color marrón claro, por lo que en la Figura 3 era de esperar que fuera la de menor reflexión. Figura 3. 14: Resultados obtenidos para las curvas espectrales analizadas en contacto, en las zonas de interés

| de color amarillo, mientras que los otros tres puntos se encuentran rodeados por zonas en una | tonalidad verde, |
|---|------------------|
| por lo que en la Figura 5 esta zona es la que presenta una mayor reflexión | 54 |
| Figura 3. 16: Imagen del arreglo experimental implementado en la Universidad de Cantabria, | mediante el cual |
| modificamos la distancia sonda-muestra | 55 |
| Figura 3. 17: Fotografía para la piel de plátano de la muestra 3, analizada en la UPT, en | su tercer día de |
| mediciones, el círculo de color blanco señala la mancha estudiada con ERD | 58 |

Capítulo IV. Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD

| <i>Figura 4. 1:</i> Esquema experimental de ERD empleado en la Universidad Politécnica de Tulancingo, para la toma de espectros en los nevos de voluntarios |
|---|
| <i>Figura 4. 2:</i> Espectros típicos, del comportamiento de un nevo y una región sin nevo o piel sana, en todo el rango espectral visible |
| Figura 4. 3: Error relativo porcentual obtenido respecto de los valores registrados para un nevo |
| Figura 4. 4: Imágenes correspondientes a las zonas de interés medidas en las figuras anteriores (Voluntario 6: Caso atípico, Voluntario 10: caso típico) |
| <i>Figura 4. 5</i> : Espectros atípicos, del comportamiento de un nevo y una región sin nevo o piel sana, en todo el rango espectral visible |
| Figura 4. 6: Error relativo porcentual obtenido para un caso atípico |
| Figura 4. 7 : Esquema del montaje experimental de espectroscopía de reflexión difusa implementado en el laboratorio del Grupo de Técnicas ópticas Aplicadas de la Universidad de Cantabria, para realizar las mediciones en phantoms de plastilina |
| Figura 4. 8: Imágenes referentes a los cilindros de plastilina empleados para las mediciones de espectroscopia |
| de reflexión difusa en él laboratorio del Grupo de Técnicas Ópticas aplicadas de la Universidad de Cantabria. |
| Figura 4. 9: Espectros típicos, del comportamiento de las diferencias entre un nevo y la piel sana, en todo el rango espectral |
| Figura 4. 10: Error relativo porcentual obtenido respecto de los valores registrados para un nevo |
| Figura 4. 11: Espectros atípicos, del comportamiento de las diferencias entre un nevo y la piel sana, en todo el rango espectral |
| Figura 4. 12: Error relativo porcentual obtenido para un caso atípico |
| Figura 4. 13: Espectros típicos de la piel sana en todo el rango espectral, con la sonda colocada a 0 y 10 grados, respectivamente |
| Figura 4. 14: Error relativo porcentual obtenido para la influencia del ángulo en una misma zona |
| Figura 4. 15: Espectros obtenidos para la plastilina de color roja, en tres ángulos de incidencia, para un mismo. |
| Figura 4. 16: Error relativo porcentual obtenido para 5° y 10° respectó de los valores a 0°, para la plastilina de color rojo |
| Figura 4. 17: Espectros obtenidos para dos phantoms de plastilina, en tres ángulos de incidencia, para un mismo punto |

Capítulo V. Desarrollo de una Interfaz gráfica de Usuario GUI, para diferenciar tamaños y tonos de una región de la piel

| Figura 5. 4: Imagen correspondiente a la zona de estudio con la técnica óptica de espectroscopia de reflexión |
|--|
| difusa, para una muestra de plátano en el octavo día de medición. Esta imagen fue seleccionada para probar |
| inicialmente la eficiencia de los algoritmos para detectar bordes |
| <i>Figura 5. 5:</i> Resultados obtenidos al aplicar cada uno de los operadores para detección de borde, en la muestra de estudio del plátano |
| Figura 5. 6: Resultados obtenidos de la aplicación de los operadores de bordes con la técnica de dilatación, en |
| la muestra de estudio del plátano |
| Figura 5. 7: Funcionamiento básico de la interfaz gráfica de usuario, desarrollada para el conteo de las manchas en la piel del plátano, a partir de una imagen digital |
| <i>Figura 5. 8:</i> Resultado del conteo de objetos en una imagen de diseño propio, mediante el uso del operador Sobel |
| <i>Figura 5. 9:</i> Conteo de manchas para una imagen referente a la piel del plátano con un grado de maduración considerable |
| Figura 5. 10: Imagen del nevo de uno de los voluntarios. Para la medición del diámetro del nevo se empleó |
| como referencia a uno de los vellos presentes cerca de la zona de interés |
| <i>Figura 5. 11: Ejemplo de la ventana principal de la App de MapViewer disponible en Matlab R2016a 111</i> |
| Figura 5. 12: Valores correspondientes a la región seleccionada en la figura 11, mediante el Inspect pixel values |
| y la opción de Crop Image111 |

Índice de tablas

Capítulo I. Introducción

| Tabla 1. 1 : Tasa de supervivencia a 5 años del melanoma, después del diagnóstico por etapas según la base de datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER). Información recaba de [12]. iError! Marcador no definido. |
|--|
| Tabla 1. 2 : Regla "ABCD" para la diferenciación dermatoscópica entre lesiones melanocíticas benignas y malignas, [20] jError! Marcador no definido. |
| Capítulo II. Fundamentos teóricos |
| Tabla 2. 1 Fototipos de piel de acuerdo a la clasificación de Fitzpatrick, considerando la respuesta a la radiación [20]24 |
| Tabla 2. 2: Comparación de los principales componentes presentes en un plátano maduro y en uno verde [25] |
| Tabla 2. 3: Principales aportaciones nutrimentales de un plátano maduro [29]. |
| Capítulo III. Investigación del Espectro de Reflexión Difusa de las Manchas Color Café en la Piel de Plátanos Fruta |
| Tabla 3. 1: Proceso típico de maduración para una muestra de plátano de la especie Musa Cavedishii, con un estadio de maduración 2, durante una semana |
| Tabla 3. 2: ERD obtenidos a partir de variar la distancia muestra-sonda. Los espectros se muestran en la región espectral entre los 400 nm y 750 nm |
| Tabla 3. 3: Curvas espectrales correspondientes al estudio realizado en la UPT, para evaluar la influencia de la "sonda-muestra". 58 |
| Tabla 3. 4: Comparación de los espectros obtenidos en la UPT y UC, para evaluar la influencia de la distancia muestra-sonda en la toma de ERD. |
| Canítulo IV. Investigación óntica de los lunares en la niel humana mediante FRD |
| Tabla 4.1: Imágenes de la región de interés para los voluntarios de la Universidad Politécnica de Tulancingo. |
| Tabla 1 2: Análisis de la curva de error nara la Piel sana vs Nevo |
| Tabla 4.2. Analisis de la carva de error para la Piersana vs Nevo |
| Tabla 4.3: Zonus de Interes medidas |
| Tabla 4.5: Resultados obtenidos para el cálculo del error relativo para una zona de piel sana a 0° y 10° 80 |
| Tabla 4.6: Análisis de la curva de error para los phantoms de plastilina empleados. 84 |
| Capítulo V. Desarrollo de una Interfaz gráfica de Usuario GUI, para diferenciar tamaños y tonos de una región de la piel |
| Tabla 5. 1: Diámetros registrados en los nevos de los voluntarios de la Universidad Politécnica de Tulancingo, |
| medidos con una regla, el pie de rey, y la interfaz gráfica de usuario GUI, implementada |
| Tabla 5. 2: Seguimiento fotográfico de la evolución de las muestras de la piel de los plátanos, empleadas en |
| los estudios de espectroscopia de reflexión difusa103 |
| Tabla 5. 3: Diámetros obtenidos mediante la aplicación de la GUI, para las distintas manchas analizadas |
| con ERD 105 |
| Tabla 5. 4: Nevos y manchas seleccionados para su respectiva comparación, mediante la similitud de |
| diámetros |
| Tabla 5. 5: Comparación por el color y el espectro de reflexión difusa para algunas de las manchas de la piel |
| del plátano más relevantes |

Capítulo I

Introducción

1.1 Introducción

El cáncer de piel es una neoplasia cutánea que en los últimos años ha incrementado su porcentaje de incidencia a nivel mundial, entre los principales tipos se encuentran el carcinoma basocelular, el carcinoma espinocelular o de células escamosas y el melanoma. Este último, si bien representa un porcentaje aproximado de tan solo un 4% de las neoplasias malignas de la piel, es el responsable del 80% de las muertes por cáncer cutáneo [1].

El melanoma es un tumor de alta malignidad derivado de la proliferación de los melanocitos patológicos atípicos, con o sin la facultad de producir pigmentos, caracterizado por su gran capacidad de metástasis. Los melanocitos también pueden formar crecimientos benignos conocidos como lunares o nevos [2]. El melanoma se ha clasificado según su color, forma y localización en el cuerpo destacándose los siguientes: de extensión superficial, nodular, lentigo maligno y acral lentiginoso [3].

Como se mencionó anteriormente, el melanoma posee un alto porcentaje de metástasis por lo que es de vital importancia una detección temprana y oportuna, dado que esto afecta la probabilidad de que un tratamiento sea eficiente para su control, extendiendo el tiempo de la calidad de vida de la persona afectada, en comparación a un diagnóstico en fases terminales, es por esto que un diagnóstico oportuno continúa siendo un reto para el médico especialista, ya que no siempre es posible distinguir a simple vista un nevo o lunar común de un melanoma en sus fases iniciales.

Por las razones expuestas, la presente investigación se enfoca en la caracterización de los nevos (lunares comunes) mediante el uso de la técnica óptica no invasiva, la espectroscopía de reflexión difusa (ERD), para establecer un patrón que nos permita diferenciar un nevo de un melanoma en fases tempranas, brindando la posibilidad de que el médico especialista determine, de forma no invasiva, el tipo de lesión y aplique un tratamiento más efectivo.

1.1.1 Estadísticas del melanoma en el mundo y en México

Según estudios realizados sobre la susceptibilidad al cáncer de piel y al índice del tratamiento socioeconómico de la población de cada país, reportado por la plataforma derma.plus [4], Nueva Zelanda es el país en el que existen más nuevos casos de cáncer de piel, tal como se observa en la Figura 1.1, donde se muestra una distribución de los países con poblaciones más propensas a padecer el cáncer de piel del tipo melanoma cuyo color azul intenso indica aquellos con mayor incidencia, en contraste un color azul pálido como

en el caso de la India, Egipto, Iraq y Bangladesh nos indica que su población es menos propensa a padecer esta patología.



Figura 1. 1: Distribución geográfica sobre la incidencia del cáncer de piel del tipo melanoma. El mapa muestra una tasa estandarizada por cada 100000 habitantes conforme a los valores establecidos en la escala de color de la izquierda. Por ejemplo, en el caso de México, está representado por un color azul cuyo valor es de 2.1-5.6 y considerando que la población mexicana aproximada es de 130 millones de habitantes, esto quiere decir que la incidencia del melanoma se estima en un aproximado entre 2730 a 7280 casos al año [5].

Específicamente para el melanoma cutáneo, la Organización Mundial de la Salud en el año 2005 [6] reportó cerca de 132 mil nuevos casos, mientras que para el año 2012 hubo un aumento de esta cifra a 100 mil por año [7], por lo que es de suponer que para el 2020 la cifra reportada sea mayor a la considerada inicialmente [8].

Conforme a lo reportado por Herrera González y Aco Flores (2010) [9], el melanoma en México ha ido en aumento, especialmente en las últimas décadas (500%), esto se debe a diversos factores tal como ejecutar actividades que requieren de una prolongada exposición a la radiación ultravioleta, aunado al hecho de que la población no toma las precauciones suficientes para su prevención. Además, se piensa erróneamente que esta neoplasia es exclusiva de determinadas regiones del planeta, donde predominan los individuos de piel muy blanca (individuos caucásicos), sin embargo en México, a pesar que los fototipo de piel III y IV (piel oscura) son los más representativos, en el último año (2018) el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) reportó un total de 3079 nuevos casos de melanoma y se estima un incremento a 9081 casos en un periodo no mayor a cinco años [10], siendo el melanoma acral lentiginoso el de mayor incidencia en nuestro país. Conforme a los datos recabados por la plataforma derma.plus, México se posiciona en el lugar 48 de 62 países encuestados, con una puntuación de 1.26 en cuanto a casos de cáncer

de piel del tipo melanoma; entre los países encuestados con mayor puntaje se encuentran: Nueva Zelanda, 10; Australia, 9.67; Suiza, 5.89; Suecia, 5.79; Noruega, 5.71; Países Bajos, 5.6; Dinamarca, 5.57; Eslovenia, 5.19; Estados Unidos, 4.62; y Reino Unido con 4.60 puntos, estos puntajes corresponden con las tonalidades para cada país, tal como se muestra en la Figura 1.1, en cuanto a la distribución de países con mayor índice de estas neoplasias.

1.1.2 Tasas de supervivencia para el cáncer de piel del tipo melanoma por etapas

Las tasas de supervivencia proporcionan información referente al porcentaje de personas con una misma enfermedad que continúan vivas durante cierto tiempo después de ser diagnosticadas. Estas tasas varían según el país, la edad del individuo o la etapa en la cual la enfermedad ha sido detectada, por lo que no son un certero indicador de cuantos años vivirá aún una persona en específico [11], sin embargo, brindan un escenario realista de la gravedad de la misma y sobre todo acerca de la importancia de asistir a un médico especialista ante cualquier alarma o síntoma que lo amerite.

Conocer la etapa de desarrollo de cualquier enfermedad es fundamental ya que nos permite conocer el avance de la misma, en el caso del melanoma cutáneo existen diversas clasificaciones tanto clínicas como patológicas, la más conocida de ellas es el sistema de estadificación TNM propuesto por la *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) y el *International Union for Cancer Control* (UICC), como un recurso para que los médicos puedan determinar la etapa de diferentes tipos de cáncer bajo determinadas normas, este sistema actualmente clasifica al melanoma patológicamente en: Estadio 0 o *in situ*, y en los estadios IA, IB, IIA, IIB, IIC, IIIA, IIIB, IIIC, IIID y IV [12].

En el sistema TNM, a cada cáncer se le asigna una letra o un número para describir el tumor, los ganglios, y las metástasis. La letra T se refiere al tumor original (primario), N se refiere a los ganglios linfáticos (nódulos) que indica si el cáncer se ha propagado a los ganglios linfáticos cercanos y la letra M se refiere a la metástasis.

En la Tabla 1.1 se muestra la tasa relativa de supervivencia a 5 años del cáncer de piel del tipo melanoma, basado en las personas diagnosticadas con melanoma entre 2008 y 2014 en Estados Unidos. Sin embargo, la base de datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER de las siglas en inglés *Surveillance, Epidemiology and Final Results Program*), no agrupa a los cánceres según el sistema de estadificación TNM, en su caso los divide en etapas localizadas, regionales y distantes, como se explica a continuación.

1.1.2.1 Etapas de la clasificación SEER:

Localizado: en esta etapa no hay signos de que el cáncer se haya propagado fuera de la piel donde se originó. Esto incluiría a los cánceres en las etapas I y II del AJCC.

Regional: el cáncer se ha propagado fuera de la piel donde se originó, alcanzando algunas de las estructuras o ganglios linfáticos cercanos. Esto incluiría principalmente a cánceres en la etapa III del sistema AJCC.

Distante: el cáncer se ha propagado a partes más distantes del cuerpo, incluyendo algunos órganos tales como a los pulmones, el hígado o a otras regiones de la piel. Esto incluiría a cánceres en la etapa IV [11].

Tabla 1. 1: Tasa de supervivencia a 5 años del melanoma, después del diagnóstico por etapas según la base de datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER). Información recaba de [12].

| Etapas | Tasa relativa | |
|------------|----------------------|--|
| · | de supervivencia a 5 | |
| | años | |
| Localizado | 98% | |
| Regional | 64% | |
| Distante | 23% | |
| Combinadas | 92% | |

1.2 Técnicas tradicionales de detección del melanoma cutáneo

El diagnóstico oportuno es vital, para el cáncer de piel del tipo melanoma, como ya se mostró, su detección es aún más importante dado que la esperanza de vida es proporcional a los estadios de desarrollo del mismo. Existen criterios bien determinados conocidos como técnicas tradicionales, donde los especialistas pueden argumentar si un individuo padece de algún tipo de melanoma, entre las que se encuentran el criterio dermatoscópico y la biopsia, las cuales se explican a continuación.

1.2.1 Criterios dermatoscópicos

Actualmente la regla "ABCDE" es internacionalmente una de las más empleadas en la inspección visual de las lesiones en la piel por el médico especialista. Originalmente conocida como regla "ABCD", fue propuesta por Friedman *et al.*, en el año 1985 [13] para realizar el diagnóstico clínico de lesiones melanocíticas. Sin embargo, tomó más fuerza en 1994 al ser retomada por Stolz y Nachbar [14, 15] con la finalidad de mejorar y facilitar la diferenciación entre las lesiones melanocíticas benignas (MN) y el melanoma maligno (MM), mediante un análisis semicuantitativo de cuatro características extraídas, las cuales

son: asimetría, borde, color y diferencias estructurales o diámetro; siendo posteriormente modificada por Abbasi, N. R. *et al.*, en el año 2004 [16], al añadirse el criterio de evolución (E) para evaluar el desarrollo de la lesión en el tiempo. Estos criterios establecidos constituyen una herramienta no solo para los dermatólogos, sino para cualquier individuo común, cuya autoinspección de su cuerpo es fundamental para determinar cualquier crecimiento o desarrollo anómalo de un nevo y así prevenir un posible cáncer de piel. Una propuesta detallada de cómo realizar un autoestudio de la piel es descrita por Friedman *et al., (1985)*. Desde entonces a la fecha, son innumerables las campañas educativas y preventivas a nivel mundial sobre el cáncer de piel del tipo melanoma.

Los lunares pueden ser congénitos o aparecer a lo largo de la vida y la exposición a la radiación solar es uno de los factores que pueden incidir en su cambio de estado. Por ello, es importante conocer cuándo este puede evolucionar hacia un melanoma como se muestra en la Figura 1.2 donde ha sido aplicada la regla "ABCDE", y en el caso de reconocer algunas de ellas poder acudir al especialista en busca de un diagnóstico preciso. Esta figura fue tomada de la infografía realizada como parte de este trabajo de tesis para la campaña permanente contra el melanoma (ver Anexo C) con la finalidad de concientizar a nuestra comunidad estudiantil de la importancia de su prevención; cabe señalar que todas las imágenes fueron tomadas de la internet.



Figura 1. 2: Criterio de la regla "ABCDE", para diferenciar el melanoma del nevo. Imagen tomada de la infografía elaborada para la campaña de prevención contra el cáncer de piel del tipo melanoma, efectuada en la Universidad Politécnica de Tulancingo, misma que se e encuentra en el Anexo C.

Las buenas prácticas para el cuidado de la piel como el uso de bloqueadores, el empleo de lentes de sol, sombrilla o gorra; son algunas de las recomendaciones a seguir para evitar daños severos. No obstante, durante el verano es especialmente importante tomar en cuenta estas medidas dado que la radiación ultravioleta proveniente del sol, tiende a aumentar de forma considerable. De acuerdo con la Agencia Internacional de investigación contra el Cáncer: "El índice de radiación ultravioleta mide la intensidad de los rayos UV que causan quemaduras solares al alcanzar la superficie de la Tierra en una escala de 1 (baja) a 11+ (extrema) y varía con la latitud, altitud, hora del día, año, nubosidad y contaminación del aire" [5].

Como es conocido, el dermatólogo es el especialista capacitado para dictaminar las lesiones cutáneas, sin embargo, el mantener un control visual de las lesiones en nuestro cuerpo es el primer paso para un diagnóstico preventivo. Por tal motivo, se explicará con más detalles cada criterio de la regla "ABCDE" (mostrada en la Figura 1.2).

Asimetría: la gran mayoría de las lesiones benignas, como los lunares, presentan una forma geométrica bien definida, por lo regular suelen asemejarse a un círculo o a un óvalo, mientras que los melanomas suelen ser asimétricos, es decir la mayoría de ellos presentan un grado de deformación, esto es apreciable al tratar de dividir la lesión en partes geométricamente iguales [17], como se observa en la Figura 1.3.



Figura 1. 3: Esquema representativo del criterio "asimetría" de la regla ABCDE, para un nevo y un melanoma.

Borde: el borde de un nevo es regular, en cambio el borde de un melanoma es irregular tal como se aprecia en la Figura 1.4. Se entiende por un borde irregular aquel que puede variar en grosor, en largo, en color o en delimitación; su función principal es el señalamiento del espacio donde termina la figura u objeto, aunque en algunos casos puede servir también como elemento contenedor [18].



Figura 1. 4: Esquema representativo del criterio "borde", de la regla ABCDE, para un nevo y un melanoma. Se puede apreciar una finalización abrupta para el caso del melanoma.

Color: el color de los melanomas es uno de sus rasgos más importantes y distintivos debido a que presentan una heterogeneidad con varios tonos que oscilan desde el rojo al negro, pasando por toda la gama de marrones [19], tal como se aprecia en la Figura 1.5, donde son notables pequeñas áreas con una pigmentación más concentrada que el resto, mientras que para el lunar se observa una misma tonalidad en toda el área que este abarca.



Figura 1. 5: Esquema representativo del criterio "color2 de la regla ABCDE, de un nevo y un melanoma. Se puede apreciar que el melanoma llega a tener distintos tonos de color en la misma lesión.

En cuanto al cuarto criterio según el contexto del análisis de la regla, se refiere a diferencias estructurales (propuesta por Stolz *et al.*, [14]) o al diámetro de la lesión tal como lo propusieron Friedman *et al.*, [12] siendo este el mayormente empleado, cada uno significa lo siguiente:

Diferencias estructurales: se hace énfasis en cada patrón estructural presente en la lesión. Las posibilidades son: red pigmentada, áreas homogéneas, manchas, glóbulos, y streaks (proyecciones radiales pigmentadas).

Diámetro: los nevos en su mayoría suelen ser menores a 6 mm, mientras que los melanomas generalmente alcanzan diámetros superiores a este [19], tal como como se aprecia en la Figura 1.6.



Figura 1. 6: Esquema representativo del criterio "diámetro" de la regla ABCDE, de un nevo y un melanoma. Se puede observar que el melanoma puede llegar a tener diámetros apreciables mayores a 6 mm.

Evolución: se refiere a un lunar cuando se observa que comienza a cambiar en el tiempo en cuanto a su tamaño, forma o color.

1.2.1.1 Análisis semicuantitativo de las cuatro características extraídas

A partir de la observación de las características o criterios de la regla ABCD explicadas en la sección anterior se le asigna a la lesión una puntuación semicuantitativa que permite determinar con bastante precisión si se trata de un melanoma o de una lesión benigna. Dado que es una técnica fácil de aprender y rápida de calcular, tanto expertos como principiantes (con limitada experiencia en dermastoscopía) pueden aplicarla empleando la ecuación 1.1, conocida como índice dermatoscópico total TDS (*total dermoscopy score*) [20].

$$TDS = A * 1.3 + B * 0.1 + C * 0.5 + D * 05$$
(1.1)

Los valores empleados en la ecuación anterior se obtienen de las puntuaciones asignadas a cada criterio que serán multiplicados por los correspondientes parámetros conocidos como factor de corrección.

En la Tabla 1.2 se muestra un ejemplo del uso de la regla ABCD para la diferenciación dermatoscópica entre lesiones melanocíticas benignas y malignas [Zaballos P. *et al.*,]. De acuerdo con este ejemplo, el índice dermatoscópico total se interpreta como sigue: si es menor que 4.75 la lesión se considera benigna; si se obtiene un resultado entre 4.8 y 5.45 la lesión se considera sospechosa y se recomienda su extirpación o un seguimiento minucioso en cortos periodos de tiempo; y por último, si el resultado es mayor que 5.45, la lesión se considera altamente sospechosa de ser un melanoma [20].

| Criterio dermatoscópico | Puntuación | Factor de corrección | |
|----------------------------------|------------|-------------------------|--|
| Asimetría | 0 a 2 | *1.3 | |
| Bordes | 0 a 8 | *0.1 | |
| Color | 1 a 6 | *0.5 | |
| Estructuras dermatoscópicas | 1 a 5 | *0.5 | |
| TDS- Índice dermatoscópico total | | | |
| < 4.75 | 4.8 - 5.45 | > 5.45 | |
| Benigna | Sospechosa | Maligna | |

Tabla 1. 2: Regla "ABCD" para la diferenciación dermatoscópica entre lesiones melanocíticas benignas y malignas, [20].

1.2.2 Biopsia

La palabra Biopsia se deriva de los vocablos griegos: Bios = vida y Opsis = visión. Según el Instituto Nacional del Cáncer en línea (*National Cancer Institute at the National Institutes of Health*), "la biopsia es la extracción de células o tejidos para ser examinados por un patólogo. Es posible que el patólogo estudie el tejido con un microscopio o realice otras pruebas con las células o el tejido. Hay muchos tipos diferentes de biopsias. Los tipos más comunes son los siguientes: 1) biopsia por incisión, en la que se extrae solo una muestra del tejido; 2) biopsia por escisión, en la que se extrae por completo una masa o un área dudosa, y 3) biopsia con aguja, en la que se extrae una muestra de tejido o líquido con una aguja. Cuando se usa una aguja ancha, el procedimiento se llama biopsia por aspiración con aguja fina" [21]. Como se puede inducir, se trata de un procedimiento doloroso e invasivo, además de ser costoso, sin embargo, sigue siendo actualmente la "regla de oro" que posibilita un diagnóstico confiable y certero.

1.3 Técnicas ópticas no invasivas para la detección del melanoma cutáneo

En las últimas décadas, las técnicas ópticas no invasivas han desarrollado un papel importante en el sector de la salud a nivel mundial, al incorporarse equipos que potencializan la eficiencia de la detección del cáncer de piel tales como los dermatoscopios, los cuales permiten observar detalladamente estructuras de la epidermis y de la dermis porque amplifican la imagen *in-vivo* a través de un microscopio de epiluminiscencia y que mediante el "ojo desnudo" no es factible determinar si se trata por ejemplo de un melanoma. Actualmente se comercializan dermatoscopios como el FotoFinder[®], DermaMedical[®], MelaFind[®], SIAscopy[®], entre otros, que se han especializado en el desarrollo de dermatoscopios de video [22]; estos equipos, actualmente son muy caros en el mercado mundial (superiores a 4455 USD, dependiendo de la empresa encargada de su fabricación), por lo que se continúan buscando alternativas que resulten ser más económicas y no invasivas para diferenciar un melanoma de lesiones melanocíticas benignas.

Entre las técnicas ópticas actuales no invasivas se encuentran: las imágenes ópticas multiespectrales e hiperespectrales [23, 24]; la tomografía de coherencia óptica (OCT) [25]; la espectroscopía Raman [26]; la espectroscopía de reflexión difusa (ERD) [27], entre otras; siendo esta última la que se ocupa en este proyecto de tesis por su facilidad de implementación y por ser relativamente económica.

1.3.1 Espectroscopía de reflexión difusa

La palabra espectroscopía o espectroscopia, etimológicamente, proviene del latín *spectrum* (imagen que se produce al paso de la luz, por su descomposición en los diferentes colores) y del griego *skopeín* que significa observar. Se define como la rama de la ciencia que estudia la interacción de la radiación electromagnética con la materia, con absorción o emisión de la energía radiante, y cuya distribución de las intensidades con la longitud de onda se le conoce como espectro [28]. Es una técnica ampliamente usada en distintas ramas de la ciencia como la astronomía, la física, la química, la biología, entre otros.

En particular, la espectroscopía de reflexión difusa (ERD) es ampliamente usada en aplicaciones biomédicas por ser una técnica óptica no invasiva, cuya distribución de la intensidad de la luz reflejada difusamente por el tejido biológico cuando esta incide sobre el mismo, trae la información de los cromóforos como la sangre, la melanina, las fibras de colágenos, entre otras, lo que permite que un análisis espectral ("huella espectral") sirva como patrón para el diagnóstico y clasificación de enfermedades, así como también para su tratamiento. Esto se debe gracias a que la luz incidente puede someterse a diversos procesos de absorción y esparcimiento una vez que penetra dentro del tejido.

Entre las aplicaciones médicas que se han reportado en la literatura se encuentran: la medición del flujo sanguíneo; la detección de distintos cánceres como el de piel y de mama; la clasificación entre tejidos sanos y enfermos, entre otros [27].

La ERD es una técnica óptica relativamente fácil de implementar, que utiliza, en general, una sonda de fibras ópticas con determinadas configuraciones geométricas tanto para "conducir" la luz al tejido, como para "recoger" la que se refleja difusamente e introducirla dentro de un espectrómetro, mismo que despliega los espectros de la región de estudio.

1.4 Planteamiento del problema

Como se explicó en los epígrafes 2 y 3, continúa creciendo el número de personas que padecen de cáncer de piel a nivel mundial. Lo alarmante de las cifras presentadas, es el número de personas que tristemente perecen debido a la desinformación de la importancia de realizar estudios de la piel ante la más mínima sospecha. La AJCC Melanoma Staging Database en 2008 [29] mostró que el porcentaje de supervivencia a 10 años de una persona con melanoma detectado en la primera fase de desarrollo es casi del 95%, mientras que para los casos detectados en etapas posteriores (etapa IV) el porcentaje de supervivencia es menor al 15% tal como se muestra en la Figura 1.7. Estos datos estadísticos refuerzan la necesaria detección en etapas tempranas del melanoma para su debido tratamiento.



Figura 1. 7: Tasas de supervivencia a 10 años para el cáncer de piel tipo Melanoma de acuerdo a la Asociación Americana Contra el Cáncer [8], imagen tomada de [30].

Por lo anterior, es fundamental realizar un diagnóstico más eficiente. Mientras más temprano se detecte el melanoma, aumentan las posibilidades de recuperación; de lo contrario, las probabilidades de muerte se incrementan de manera considerable mientras más tarde sea el diagnóstico. Desafortunadamente, las técnicas actuales para el diagnóstico y confirmación del melanoma son invasivas, dolorosas y costosas.

1.5 Objetivos

Objetivo general

Caracterización espectral de lesiones pigmentadas benignas como los nevos mediante la técnica de ERD, para encontrar un patrón o huella espectral, en voluntarios con distintos fototipos de piel. Esto facilitará el proceso discriminativo entre los nevos y los melanomas en sus primeras fases de desarrollo, en un futuro cercano.

Objetivos específicos

- Obtener los espectros de reflexión difusa característicos de un conjunto de nevos o lunares comunes en voluntarios de diferentes fototipos de piel, con vista a establecer criterios de valor discriminativo entre ellos.
- II. Adquirir los espectros de reflexión difusa de las manchas color café de la piel del plátano fruta para su comparación con los obtenidos de aquellos nevos similares en cuanto a su color y diámetro.
- III. Desarrollar una interfaz gráfica de usuario, en MATLAB, que facilite tanto el conteo de las manchas de color café de una imagen digital de la piel del plátano fruta, como la medición de sus diámetros, ambos con el objetivo de relacionarlas adecuadamente con las imágenes de los nevos de los voluntarios.
- IV. Elaborar una carta de Consentimiento Informado para la inclusión en este estudio de voluntarios de la UPT; así como también una infografía sobre la campaña contra el cáncer del melanoma.
- V. Implementar un instrumento de clasificación para establecer los fototipos de piel de los voluntarios, basada en la escala de Fitzpatrick.

1.6 Justificación

En los últimos años el adelanto científico y tecnológico se ha enfocado, en gran medida, a la investigación y creación de herramientas de diagnóstico no invasivo, con la finalidad de explorar las diversas posibilidades de desarrollar tratamientos personalizados y más eficientes. Además, se busca reemplazar el uso de los métodos tradicionales invasivos (biopsia) y costosos empleados en la detección de diversas patologías. Entre estas se encuentran las técnicas ópticas como la espectroscopia de reflexión difusa para el diagnóstico de diferentes enfermedades, tales como el cáncer de piel.

La presente investigación se enfoca en la caracterización de los nevos mediante el uso de la ERD, para establecer un patrón que nos permita diferenciar entre el tejido sano y el tejido melanocítico benigno (lunares).

Además, estudios recientes para un diagnóstico oportuno del melanoma, se han enfocado en la detección de la enzima tirosinasa, cuya función es la de catalizar la producción de la melanina y otros pigmentos. De acuerdo con lo reportado, las manchas negras que se forman en la piel de las bananas poseen esta enzima que también desarrollan en mayor proporción quienes sufren cáncer de piel del tipo melanoma [31]. Este hecho justifica que en este trabajo se investiga el grado de correlación entre los ERD de lo nevos o lunares comunes y las manchas color café del plátano.

1.7 Conclusiones

En la literatura científica existen reportes que aseguran que el melanoma cutáneo es el responsable del 80% de las muertes por cáncer de piel a pesar de que él representa solamente el 4% de las neoplasias malignas de este órgano. En México, el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) ha reportado más de 3000 nuevos casos de melanoma en el año 2018 y ha estimado un incremento superior a los 9000 casos para un periodo inferior a los 5 años. El melanoma acral lentiginoso es de los tipos de melanomas, el que tiene la más alta incidencia en la población mexicana. La base de datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER de las siglas en inglés *Surveillance, Epidemiology and Final Results Program*) de Estados Unidos indica que la tasa relativa de supervivencia a 5 años para la etapa localizada del melanoma cutáneo es del 98%.

Hemos identificado en la bibliografía consultada que se manejan criterios bien establecidos para el diagnóstico del melanoma cutáneo. De estos criterios o técnicas tradicionales resaltamos el criterio dermatoscópico (inspección visual mediante la denominada regla "ABCDE") y la biopsia. El índice dermatoscópico total es un parámetro semicuantitativo que permite realizar la diferenciación dermatoscópica entre lesiones melanocíticas benignas y malignas a partir de los criterios "ABCD". La biopsia, por otra parte, continúa ocupando el roll de la "regla de oro" para realizar un diagnóstico confiable, aunque tiene ciertas desventajas como son: 1) proceso invasivo, 2) muchas veces doloroso, 3) tardado, etc. Estas desventajas de la biopsia, han generado la propuesta de variadas técnicas ópticas no invasivas para diagnosticar el melanoma cutáneo. En este trabajo de tesis implementamos la denominada espectroscopia de reflexión difusa (ERD) la cual ha sido ampliamente utilizada para realizar la discriminación del melanoma cutáneo respecto a lesiones pigmentadas de la piel. El objetivo fundamental de esta tesis es la caracterización espectral de lesiones pigmentadas benignas (nevos) mediante la ERD, para encontrar un patrón o huella espectral, en voluntarios con distintos fototipos de piel con el fin de encontrar en un futuro cercano, algoritmos de discriminación entre los nevos y los melanomas cutáneos en sus primeras fases de desarrollo.

Referencias

[1] SINAIS-SINAVE-DGE-SALUD (2011). Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México.

[2] De la Fuente. G. A. y Ocampo C. J. (2010). Melanoma cutáneo. Gac. Méd. Méx. Vol. 146 No. 2.

[3] MedlinePlus (2019). Melanoma. Información recuperada el día 16 de octubre de 2018 de: <u>https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000850.htm</u>

[4] Derma.plus (2018). Índice de cáncer de piel 2018. Recuperado el día 16 de Octubre de 2018 de: <u>https://derma.plus/en/skin-cancer-index-2018/</u>

[5] Atlas del Cáncer (2019). ULTRAVIOLET RADIATION: Skin cancers are caused by ultraviolet radiation and can be prevented by sun protection and banning sunbeds. Información recuperada de: <u>http://canceratlas.cancer.org/risk-factors/ultraviolet-radiation/?map=12388</u>

[6] CAC, (2017). Boletín de información Técnica Especializada de la Cuenta de Alto Costo, Volumen 3, número 11. Bogotá DC.

[7] Who.int. (2018). OMS La Organización Mundial de la Salud desaconseja el uso de camas solares a las personas menores de 18 años. Recuperado el 29 de agosto de 2018, de http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2005/np07/es/

[8] Cancer.org. (2018). Tasas de supervivencia para el cáncer de piel de tipo melanoma por etapas. Recuperado el 28 de agosto de 2018 de: <u>https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/tasas-de-supervivencia-para-el-cancer-de-piel-de-tipo-melanoma-por-etapas.html</u>

[9] Herrera González N. E, Aco Flores A. Y (2010). "El melanoma en México". Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas 2010; 15(3):161-164.

[10] Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer, Globocan 2018, Hoja informativa sobre el cáncer en la población Méxicana.

[11] Sociedad Americana Contra El Cáncer (2019). Tasas de supervivencia del cáncer de piel tipo melanoma. Información recuperada en junio de 2019 de: <u>https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/deteccion-diagnostico-</u> clasificacion-por-etapas/tasas-de-supervivencia-para-el-cancer-de-piel-de-tipo-melanoma-por-

etapas.html

[12] Sociedad Americana Contra el Cáncer (2018). Etapas del cáncer de piel tipo melanoma. Recuperado en octubre de 2018 de: <u>https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/clasificacion-por-etapas-el-cancer-de-piel-tipo-melanoma.html</u>

[13] R. J. Friedman, *et al.*, (1985). "Early detection of malignant melanoma: the role of physician examination and self-examination of the skin," CA – A Cancer Journal for Clinicians, vol. 35, no. 3, pp. 130 – 151, May/June.

[14] Asunción Batugo Gertrudis Katerin (2012). Tesis de Ingeniería Técnica Industrial: Electrónica Industrial Y Automatización. Universidad Carlos III De Madrid, Leganes.

[15] F. Nachbar, W. Stolz, *et al.*, (1994). "The ABCD rule of dermatoscopy: High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions," Journal of the American Academy of Dermatology, vol. 30, no. 4, pp. 551 – 559, April.

[16] Abbasi Naheed R. *et al.*, (2004). Early Diagnosis of Cutaneous Melanoma Revisiting the ABCD Criteria, JAMA, December 8, 2004—Vol 292, No. 22.

[17] Glosario gráfico, (2018). Asimetría, Información obtenida de: <u>http://www.glosariografico.com/asimetria</u>

[18] definicionabc (2018). Definición de Borde. Acceso desde https://www.definicionabc.com/general/borde.php

[19] Gómez Martín B., et al., (2003). Melanoma: criterios diagnóstico en podología. El Peu 2003;
23(1):8-20 Obtenido de <u>https://www.researchgate.net/publication/28107305</u>

[20] Zaballos P., *et al.*, (2004). Criterios dermatoscópicos para el diagnóstico del melanoma ,Colegio Ibero-Latino-Americano de dermatología; 32(1): 3-17.

[21] Instituto Nacional del Cáncer. Diccionario del cáncer: biopsia, información recuperada de: <u>https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/biopsia</u>

[22] Alises Pérez, L. T. (2017). Tesis: Estudio de la viabilidad económica para el desarrollo e introducción en el mercado de un nuevo modelo de dermatoscopio. Universidad politécnica de Madrid.

[23] Ilze Diebele, et al., (2011). Melanoma-nevus differentiation by multispectral imaging.

[24] Pelagotti A., *et al.*, (2013). Noninvasive inspection of skin lesions via multispectral imaging, Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering.

[25] Mette Mogensen, *et al.*, (2009). OCT imaging of skin cancer and other dermatological diseases, J. Biophoton. 2, No. 6–7, 442–451.

[26] Sigurdur Sigurdsson, *et al.*, (2004). Detection of Skin Cancer by Classification of Raman Spectra. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, No 10, Vol. 51

[27] Eber Enrique Orozco Guillén, (2009).Diagnóstico de lesiones en la piel a partir de espectros de reflexión difusa empleando algoritmos computacionales: un estudio preliminar, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica.

[28] Técnico Especialista en Radiodiagnóstico Del Servicio Vasco de Salud, segunda edición, editorialMAD,España,obtenidode:

https://books.google.com.mx/books?id=ucVkotD0qA8C&pg=PA288&lpg=PA288&dq=spectrum++i magen+que+se+produce+al+paso+de+la+luz,+por+la+descomposici%C3%B3n+de+la+misma+y+del +griego+skope%C3%ADn+que+significa+observar&source=bl&ots=ts5bY22X90&sig=ACfU3U0M5e AGqptMdY5BqaZRTv1T_5slKg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiWy-

[29] Sociedad Americana Contra El Cáncer (2018). Tasas de supervivencia para el cáncer de piel de tipo melanoma por etapas. Información recuperada en octubre de 2018 de: <u>https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/deteccion-diagnostico-</u>

<u>clasificacion-por-etapas/tasas-de-supervivencia-para-el-cancer-de-piel-de-tipo-melanoma-por-</u> <u>etapas.html</u>

[30]https://www.google.com.mx/search?biw=1366&bih=657&tbm=isch&sa=1&ei=ZSLgXbaoNaKA tgXc1bJo&q=melanoma+por+niveles&oq=melanoma+por+niveles&gs_l=img.3...44396.46852..469 52...0.0..0.82.1055.15.....0...1..gws-wiz

[31] Tzu-En Lin,*et al.*,(2016). Monitoring Tyrosinase Expression in Non-metastatic and Metastatic Melanoma Tissues by Scanning Electrochemical Microscopy.

Capítulo II

Fundamentos teóricos

2.1 La piel

La piel o sistema tegumentario es el órgano más grande, pesado y visible que tiene el cuerpo humano, se trata de una membrana dura, flexible y permeable [1] la cual ocupa una extensión de 2 m² y un peso aproximado de 4.1 kg en el caso de un adulto, lo que supone aproximadamente un 6% o 7% del peso corporal total [2]. Las características como el grosor, textura y color varían en dependencia de su localización, a las modificaciones en la circulación y a los distintos grados de oxigenación de la hemoglobina. Un ejemplo de piel fina es aquella que recubre los testículos con aproximadamente 0.5 mm, de igual forma tenemos la piel que se encuentra en los párpados y talones con un grosor de 4 mm aproximadamente, mientras la piel más gruesa se localiza en la nuca, la parte superior del tronco así como en las plantas de los pies y palmas de las manos llegando a medir 1 cm, es por ello que aún expuestas a la radiación solar, rara vez se queman o broncean [3] y [4].

En general la piel es un órgano complejo y heterogéneo del cual dependen varias actividades fisiológicas, entre estas podemos destacar las siguientes:

Protectora: la piel funge la labor de ser la primera barrera que nos protege contra agresiones mecánicas, químicas, tóxicos, calor, frío, radiaciones ultravioletas y microorganismos patógenos [2].

Termorreguladora: el cuerpo humano debe mantenerse dentro de estrictos límites de temperatura entre los 36.5 y los 37 °C, a pesar de los variados cambios de la temperatura ambiental, esto es posible gracias a una serie de tareas que involucran la dilatación y contracción de los vasos sanguíneos, así como la presencia de glándulas sudoríparas [5].

Excreción y absorción de sustancias: El almacenamiento de agua, grasas y otras sustancias es necesario para prevenir la deshidratación y garantizar que determinadas tareas se cumplan en nuestro cuerpo, sin embargo, tal como es necesario retener ciertas sustancias, también es necesario desechar algunas otras, el sudor es la principal sustancia que el cuerpo humano secreta [2].

Sensibilidad: la piel es un órgano sensorial que nos permite obtener información externa, gracias a la existencia de numerosas terminales nerviosas que contiene receptores que son estimuladas al entrar en contacto con la piel. Algunas de estas terminales son los receptores de tacto (Corpúsculos de Meissner y Merkel), calor (Corpúsculos de Ruffini), frio (Corpúsculos de Krause), presión (Corpúsculos de Pacini) y dolor [6].

2.1.1 Estructura y composición

La piel se conforma por una serie de estructuras que podemos englobar en tres capas principales: la epidermis, la dermis e hipodermis, además de una serie de apéndices como las uñas, el pelo y las glándulas sebáceas, sudoríparas y mamarias tal como se aprecia en la Figura 2.1 [6].



Figura 2. 1: Esquema representativo de la estructura básica del sistema tegumentario [7].

Cada una de las capas mencionadas anteriores posee características y funciones determinantes y únicas que son capaces de desarrollar gracias a su estructura, a continuación se menciona de manera breve a cada una de ellas.

2.1.1.1 Epidermis

Es la capa superior de la piel que cubre casi en su totalidad al cuerpo humano, se trata de es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado conformado especialmente por cuatro tipos de células diferentes organizadas en cuatro o cinco capas (dependiendo de la zona del cuerpo) llamadas estratos. Presenta un espesor variable, con un valor promedio de 0,1mm, pudiendo alcanzar espesores de hasta 1 ó 2 mm [2,5,6].

El tipo celular más abundante que la compone son los queratinocitos, estos se crean en la parte más profunda de la epidermis y gradualmente se van empujando hasta que llegan al exterior (desde su formación suelen ser de 25 a 45 días). La maduración normal de las células debilita las uniones al llegar a la superficie y favorece la descamación para dar paso a las nuevas células que se han creado en las profundidades de la epidermis, eso significa que millones de células muertas se eliminan todos los días [8].

Aunque los queratinocitos constituyen el 80% de las células epidérmicas, también se encuentran otras como [2]:

a) Los melanocitos: suponen alrededor del 10% de las células epidérmicas y son las encargadas de la síntesis de melanina, pigmento que da color a la piel, su función es actuar como barrera para evitar que no pasen las radiaciones a las capas internas de la piel. A mayor cantidad de melanina, mayor pigmentación.

b) Células de Langerhans: pertenecen a un grupo de células llamadas macrófagos (glóbulos blancos). Se originan en la médula ósea y migrar a la epidermis, donde reconocen sustancias extrañas, juegan un papel importante de inmunidad.

c) Células de Merkel: se encuentran presentes en la unión epidérmica-dérmica, se asocian con las terminaciones nervio sensorial situado en el estrato basal para transmitir información de tacto además carece de vasos sanguíneos.

2.1.1.2 Dermis

La dermis es la capa que constituye la mayor parte la piel y su grosor máximo es de unos 5 mm. Es una estructura que brinda soporte, resistencia y elasticidad al cuerpo humano, está formada básicamente de tejido conectivo fibroelástico, difiere de la epidermis al contener receptores sensoriales, vasos sanguíneos, folículos pilosos, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas [2].

Las células del tejido conectivo son escasas y comprenden básicamente a los fibroblastos, macrófagos, mastocitos o células cebadas, linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y monocitos. Los fibroblastos sintetizan y liberan los precursores del colágeno y elastina para construir la matriz extracelular la cual contiene una elevada proporción de estas fibras especialmente de colágeno (>75%) [6].

Histológicamente, se divide en dos capas, que desde el exterior al interior son:

- La capa papilar (stratum papillare).
- La capa reticular (stratum reticulare)

2.1.1.3 Hipodermis o capa de grasa subcutánea

La dermis se integra con la capa de tejido subcutáneo no teniendo un límite definido. Esta capa está formada de tejido conectivo laxo y muchas de sus fibras se fijan a las de la dermis, formando franjas de anclaje, fijando así la piel a las estructuras subyacentes. Si estas franjas de retención están poco desarrolladas, la piel se mueve en su sustrato formando plegamientos. Si están muy desarrolladas o son muy numerosas, como es el caso de la planta de los pies o del cuero cabelludo, la piel es casi inamovible. El espesor de la hipodermis es muy variable dependiendo de la localización, el peso corporal, el sexo o la edad. Está formada por tejido adiposo (de ahí las denominaciones de grasa subcutánea o panículo adiposo) que forma lobulillos separados por tabiques de tejido conectivo, continuación del conectivo de la dermis reticular y por donde discurren vasos y nervios. El tejido subcutáneo sirve de almacén de energía, además de aislante térmico y de protector mecánico frente a golpes [6,8].

2.1.2 Interacción de la luz con la piel

La piel, es la primera barrera física de protección frente a los cambios que sufre nuestro entorno, por lo tanto, recibe directamente la radiación electromagnética, ya sea proveniente del sol o de una fuente artificial. Si bien la luz solar es elemental para todas las formas de vida, hay que tener en cuenta que el estar expuestos a ella por lapsos prolongados, desencadena efectos perjudiciales e incluso potencialmente letales en diversas células del cuerpo humano [9].

La piel humana es un tejido compuesto por diferentes capas por lo cual es un considerado un medio biológico altamente heterogéneo, cuya constitución física le confiere determinadas propiedades ópticas que al interactuar con un rayo luminoso, da lugar a una serie de procesos ópticos como el esparcimiento, absorción, dispersión, refracción y transmisión. Gran parte de estos procesos van a depender de la cantidad de energía incidente, por lo que no todas las radiaciones van a tener la misma propiedad de penetración en la piel [9]. Aunque frecuentemente se tiende a realizar simplificaciones para un estudio, más práctico de la misma.

La Figura 2.2 muestra de manera esquemática los fenómenos ópticos que ocurre cuando un haz de luz incide sobre la piel, es en la epidermis donde prácticamente se absorbe la mayor cantidad de luz y apenas existe esparcimiento. Sin embargo, la luz que logra alcanzar la epidermis es esparcida en varias ocasiones, esto gracias a la presencia de las fibras de colágeno y es absorbida por la hemoglobina.



Figura 2. 2: Esquema representativo de algunos de los procesos ópticos que sufre un haz de luz (representado aquí con tres rayos) debido a la absorción y el esparcimiento una vez que interactúa con la piel.

Como se puede observar en la Figura 2.2, los fotones (Partícula mínima de energía luminosa) presentes en el haz incidente pueden sufrir los siguientes procesos fundamentales [10]:

Reflexión: por las características estructurales de cada una de las capas que componen al sistema tegumentario, se presenta principalmente reflexión difusa la reflexión, ocurre debido al fenómeno de esparcimiento a nivel de la capa epidérmica en el estrato corneo. Mientras que las reflexiones que no sufre esparcimiento son llamadas reflexiones especulares.

El esparcimiento es un fenómeno fundamental para un gran número de técnicas de diagnóstico no invasivo, esto se debe a la presencia de fibras de colágeno, la densidad de las membranas en las células, el tamaño de los núcleos y el estado de hidratación del tejido. Las principales partículas esparcidoras en la piel son los lípidos, las proteínas, la queratina y la melanina en la epidermis, mientras que en la dermis son las fibras de colágeno y la elastina.

Además del esparcimiento causado por la reflexión y la refracción de la luz en las interfaces celulares, existen otros dos tipos de esparcimiento dentro de las capas de la piel: el de Mie que tiene lugar gracias a la presencia de las fibras macroscópicas de colágeno y el de Rayleigh, que debe su presencia a las pequeñas fibras de colágeno y otras estructuras de escala microscópica [11].

Absorción: es el principal proceso implicado en la extinción de las diferentes longitudes de onda, tiene lugar gracias a la presencia de los diversos cromóforos (parte de una molécula orgánica responsable de su color) situados en las distintas capas, cada uno características ópticas de absorción en distintas. Teniendo en cuenta las regiones visibles del espectro electromagnético, la piel tiene dos absorbentes principales: la hemoglobina (oxihemoglobina y desoxihemoglobina) y la melanina, la Figura 2.3 muestra las principales bandas de absorción pertenecientes a los cromóforos que están mayormente presentes en la piel [9,11].


Figura 2. 3: Espectros de absorción de los principales cromóforos de la piel, en un rango espectral de los 300 nm a los 20000 nm [12].

Transmisión: corresponde a la fracción de distingas longitudes de onda capaces de penetrar a través de las subcapas.

Dispersión: fenómeno que sufre parte de la radiación en el paso por el tejido como consecuencia de fenómenos a pequeña escala reflexión y refracción con las estructuras celulares. Dicho fenómeno se da principalmente a nivel del estrato corneo, sobre todo de la fracción UVB.

Refracción: que es el cambio de trayectoria que sufre la luz al atravesar la interface entre distintos medios.

2.1.3 La melanina y el cáncer de piel

El nombre de melanina se deriva de la palabra griega "melanos" que significa "oscuro" [13]. La melanina es producida por un grupo de células especializadas, los melanocitos, tal como se aprecia en la Figura 2.4, localizadas en la capa basal de la epidermis y en la matriz del folículo piloso.



Figura 2. 4: Imagen representativa, sobre el proceso de producción de melanina, en el estrato corneo de la epidermis [14].

La melanina es uno de los pigmentos más comunes y de mayor distribución en la naturaleza. Es responsable de la coloración de plantas y animales; se encuentra en los ojos, el cabello, la piel, el plumaje de las aves, la cutícula de los insectos, entre otros. Las alteraciones en su producción, como la sobre acumulación de la melanina pueden llevar al origen de enfermedades, como albinismo, melanoma (Figura 2.5), melasma y vitíligo [15].

El melanoma es un tumor de alta malignidad derivado de la proliferación de melanocitos patológicos atípicos, con o sin la capacidad de producir pigmentos, caracterizado por su gran capacidad de metástasis [16]. El melanoma, es el tipo más grave de cáncer de piel, sin embargo, también puede manifestarse en los ojos y, rara vez, en los órganos internos, como los intestinos. La causa exacta sobre el origen de este padecimiento aún no es exacta, pero la exposición a la radiación ultravioleta (UV) de la luz solar o de las camas solares aumenta el riesgo de padecer melanoma.



MELANOMA

Figura 2. 5: Imagen representativa sobre las áreas involucradas de la piel, al padecer melanoma [17].

2.1.4 Fototipos de piel

El color de la piel es una característica distintiva de los seres humanos, que nos permite diferenciar una etnia de otra, siendo un indicador confiable, en el campo de la medicina no es suficiente cuando se trata de clasificar el tipo de piel. No es hasta 1975 [18] cuando surge la necesidad de clasificar la piel de las personas, por su respuesta a la reactividad solar, con el fin de seleccionar de forma correcta la dosis adecuada de luz ultravioleta A (UVA) que debía ser aplicada para el tratamiento de la psoriasis, mediante un test propuesto por el Dr. Thomas Fitzpatrick, mismo que categoriza la piel, de acuerdo a una serie de aspectos como la tez, color de cabello, propensión al bronceado y su tolerancia cutánea a la luz ultravioleta; surgiendo de esta forma los llamados fototipos cutáneos [18] quien los valora del 1 al 6, hasta la fecha es una de las clasificaciones más empleadas para determinar el fototipo de piel de una persona, incluso sin la necesidad de consultar un especialista ya que su índice de confiabilidad es bastante bueno.

De acuerdo con Deiry Marín "El fototipo, es la capacidad de adaptación al sol que tiene cada persona desde que nace, es decir, el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no, y cómo y en qué grado lo hace. Cuanto más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de las radiaciones solares en la piel" [19].

A continuación, en la Tabla 2.1 presentan las características de cada uno de los Fototipos de piel, conforme a la clasificación de Fitzpatrick:

| Fototipo | Acción del sol sobre la piel (no protegida) | Características pigmentarias | | |
|--------------|--|---|--|--|
| Fototipo I | Presenta intensas quemaduras | Individuos de piel muy clara, ojos | | |
| | solares, casi no se pigmenta nunca | azules, pelirrojos y con pecas en la piel. | | |
| | y descama de forma ostensible. | Su piel, habitualmente, no está expuesta | | |
| | | al sol y es de color blanco-lechoso. | | |
| Fototipo II | Se quema fácil e intensamente, | Individuos de piel clara, pelo rubio, | | |
| | pigmenta ligeramente y descama | ojos azules y pecas, cuya piel, que no está | | |
| | de forma notoria. | expuesta habitualmente al sol. | | |
| Fototipo III | Se quema moderadamente y se | Razas caucásicas (europeas) de piel | | |
| | pigmenta correctamente. | blanca que no está expuesta | | |
| | | habitualmente al sol. | | |
| Fototipo IV | Se quema moderada o | Individuos de piel morena o | | |
| | mínimamente y pigmenta con | ligeramente amarronada, con pelo y ojos | | |
| | bastante facilidad y de forma | oscuros (mediterráneos, mongólicos, | | |
| | inmediata al exponerse al sol. | orientales). | | |
| Fototipo V | Raramente se quema, pigmenta | Individuos de piel amarronada | | |
| | con facilidad e intensidad (siempre | (indígenas americanos, indostánicos, | | |
| | presenta reacción de pigmentación | árabes e hispanos). | | |
| | inmediata). | | | |
| Fototipo VI | No se quema nunca y pigmenta | Individuos con ascendencia de piel | | |
| | intensamente (siempre presentan | oscura (razas negras). | | |
| | reacción de pigmentación | | | |
| | inmediata). | | | |

Tabla 2. 1 Fototipos de piel de acuerdo a la clasificación de Fitzpatrick, considerando la respuesta a la radiación [20].

Para brindar una mejor idea acerca del color de piel de cada uno de los Fototipos de piel según la clasificación de Fitzpatrick, en la Figura 2.6 se muestra un ejemplo muy generalizado de cómo sería aproximadamente el tono de piel de cada fototipo.



Escala de Fitzpatrick

Figura 2. 6: Imagen representativa, de la tonalidad más acertada para cada fototipo de piel, de acuerdo a la clasificación de Fitzpatrick [21].

aceitunado

bronceado

ligeramente marrón

2.2 La piel del plátano

El plátano fruta o banaba (Musa paradisiaca) es una de las frutas más comercializadas a nivel mundial, y en México se ha convertido en uno de los cultivos más importantes en la agricultura llegando a ocupar el segundo lugar de la producción en frutas tropicales [22]. Muy distinto a lo que muchos piensan el plátano no es un árbol es más bien una planta gigante la cual llega a medir desde los 3.5 m hasta los 7.5 m de altura. Pertenece a la familia de las Musáceas, crece en regiones que tienen buena luminosidad, bastante humedad y una temperatura promedio de 25°C [23].

Actualmente el plátano es parte fundamental de la dieta de miles de personas gracias a su bajo costo, sabor agradable, disponibilidad todo el año, su alto valor nutritivo en potasio, hierro y vitamina K. Estas y otras cualidades lo hacen unos de los alimentos básicos, especialmente en algunas regiones de América e India, es empleado en la preparación de diversos platillos y no solo como un complemento alimenticio [22].

El plátano es un cultivo proveniente del sudeste asiático, los comerciantes inicialmente lo llevaron a África Ecuatorial, a Guinea y a las islas Canarias. Posteriormente con el descubrimiento de América, llegó a las zonas tropicales de nuestro continente, donde se encuentran algunos de los países que producen más plátanos (Brasil, Ecuador, Costa Rica, Colombia, México, Panamá, entre otros) en el mundo, solo por debajo de la India que es el principal consumidor y productor. En México los principales estados productores de plátano son: Chiapas, Tabasco, Veracruz, Colima y Jalisco, que en conjunto aportan cerca del 85 % de la producción nacional, entre las variantes cosechadas en territorio nacional podemos apreciar en la Figura 2.7, solo las más destacadas [22].



Figura 2. 7: Imagen representativa que hace alusión a las principales variantes de plátano existentes en territorio Mexicano [24].

Antes de su consumo son necesarios varios meses (de 3-10 desde su emergencia) para que un racimo de plátanos alcance el estado de corte, además se debe considerar el tiempo empleado en su embalsado y transportación, antes de llegar a los mercados, regularmente el tamaño de los racimos es variable, pero en los cultivares comerciales por lo regular pertenecientes al grupo Cavendish, cada unidad alcanza aproximadamente los 200 g.

2.2.1 Estructura y composición de un plátano

La composición y estructura química del plátano estará estrechamente relacionada con el estado de maduración de la fruta. Se destaca por contener porciones de proteínas y lípidos que superan a las de otras frutas, no obstante, estas cantidades no superan el 1.5% de su constitución. Entre sus componentes destaca su riqueza en hidratos de carbono (20%), en los plátanos inmaduros (verdes) el almidón es el hidrato más abundante, pero a medida que madura, este se va convirtiendo en azúcares sencillos como sacarosa, glucosa y fructosa. Por ello, el plátano es una fruta suave y bastante digerible siempre que esté maduro. La Tabla 2.2 muestra a grandes rasgos, las principales diferencias entre un plátano maduro y un plátano verde en cuanto a sus componentes básicos.

Tabla 2. 2: Comparación de los principales componentes presentes en un plátano maduro y en uno verde [25].

| Tipo de | Componentes (g) | | | | | |
|---------|-----------------|----------|---------|----------|----------|-------|
| plátano | Agua | Azucares | Almidón | Fibra | Proteína | Grasa |
| | | | | dietaría | | |

| Maduro | 75.1 | 20.9 | 2.3 | 3.1 | 1.2 | 0.3 |
|------------|------|------|------|-----|-----|-----|
| (Amarillo) | | | | | | |
| Inmaduro | 67.5 | 5.7 | 23.7 | 2.3 | 1.1 | 0.3 |
| (verde) | | | | | | |

La estructura anatómica del plátano fruta, se caracteriza por estar conformada principalmente de una pulpa cremosa y una piel ligeramente gruesa dependiendo de la variante, que sirve para protegerla del exterior, aunque más detalladamente Esau en 1982 [26] definió los elementos que constituían el fruto de la Musa acuminata, tal como se muestra en la Figura 2.8.





Figura 2. 8: Esquema de a estructura interna de un plátano fruta.

Lóculo ocluido: se trata de una cavidad del ovario o del fruto en la que están dispuestas las semillas [26].

Aerénquima: es una alineación de los órganos que facilita el intercambio gaseoso. Estructuralmente es un tejido muy eficiente, porque permite la flotación de determinados órganos, además de lograr su robustez con una cantidad mínima de células [27].

Tubo floral: Estructura tubular que rodea el pistilo en flores períginas y epíginas, puede estar. Constituido por el receptáculo y/o por la adnación de los otros verticilos florales.

El Haz vascular: es Conjunto formado por los tejidos vasculares, xilema y floema, en un vegetal, incluyendo a veces tejidos mecánicos asociados [28].

Pulpa: se refiere a todo aquel tejido interno de las frutas, las plantas y la carne. Comúnmente se le vincula a la fruta, refiriéndose a la zona fibrosa de esta.

Si bien el plátano es una buena fuente de potasio que contribuye al funcionamiento normal de los músculos y cuyas vitaminas contribuyen al funcionamiento normal del sistema nervioso. Este alimento cuenta con varias otras aportaciones nutricionales, las más destacadas se presentan a continuación en la Tabla 2.3.

| Composición | Por ración | Composición | Por ración |
|---------------------|------------|-------------------|------------|
| nutricional | (160 g) | nutricional | (160 g) |
| Energía (Kcal) | 99 | Fósforo (mg) | 29.6 |
| Proteínas (g) | 1.3 | Selenio (µg) | 1.1 |
| Lípidos totales (g) | 0.3 | Tiamina (mg) | 0.06 |
| Hidratos de | 21.1 | Riboflavina (mg) | 0.07 |
| carbono | | Niacina (mg) | 0.8 |
| Fibra (g) | 3.6 | Vitamina b (mg) | 0.54 |
| Agua (g) | 79.3 | Folatos (µg) | 23.2 |
| Calcio (mg) | 9.5 | Vitamina B12 (µg) | 0 |
| Hierro (mg) | 0.6 | reVitamina C (mg) | 10.6 |
| Yodo (µg) | 2.1 | Vitamina A: Eg. | 19 |
| Magnesio (mg) | 40.1 | Retinol (µg) | |
| Zinc (mg) | 0.2 | Vitamina D (µg) | 0 |
| Sodio (mg) | 1.1 | Vitamina E (mg) | 0.2 |
| Potasio (mg) | 370 | | |

Tabla 2. 3: Principales aportaciones nutrimentales de un plátano maduro [29].

2.2.2 Espectros característicos

En años recientes se han realizado investigaciones que implementan técnicas no invasivas enfocadas principalmente en emplear el color de las frutas como un indicador confiable para determinar el del grado de maduración, su tiempo de vida útil o firmeza. Ejemplo de ello es el estudio efectuado por Chuanqi Xie [30] y colaboradores (Figura 2.9), quienes, con la ayuda de imágenes hiperespectrales, lograron clasificar una serie de plátanos en maduros o verdes.



Figura 2. 9: Resultados obtenidos por Chuanqi Xie y colaboradores [30], en un estudio para determinar el estado de maduración de una serie de plátanos, la figura muestra el promedio y la desviación estándar obtenidos.

Otro estudio relevante que nos permite analizar los espectros tomados en muestras de plátano con diferentes niveles de maduración, se refiere a la investigación realizada por Nan-Nan Wang [31] y colaboradores, donde se clasificó el grado de maduración del mismo en cuatro marcadores, tal como lo muestra la Figura 2.10.



Figura 2. 10: Espectros ordenados de acuerdo al grado de maduración de la piel del plátano, conforme a los resultados obtenidos por Nan-Nan Wang y colaboradores [31].

Los resultados obtenidos por los autores mencionados anteriormente nos presentan una visión general, del comportamiento de un haz de luz, al interactuar con la piel de plátano en diferentes estadios de maduración, donde se aprecian valles que corresponden a la presencia de clorofila tipo "a", tan solo en la región visible del espectro electromagnético. Al ampliar el espectro de la piel del plátano mediante los resultados obtenidos por Xie [30] y colaboradores en la región del infrarrojo cercano, se hace posible identificar la presencia de agua y azúcar, tal como lo había reportado anteriormente Subedi y Walsh [32].

Otro de los espectros característicos importantes a considerar a lo largo de este estudio es el espectro correspondiente a la clorofila tipo "a", mismo observa en la Figura 2.11. Anteriormente Meng Li [33] y colaboradores realizaron un estudio en 1996, donde implementaron un sistema óptico para determinar la cantidad de clorofila presente en la piel de los plátanos, con el objetivo de clasificar la madurez de la fruta, en los resultados obtenidos durante los estudios experimentales de esta tesis (Capitulo III) se puede apreciar un valle de reflexión 680 nm, que corresponde a la presencia de clorofila en la piel del plátano, entre menos madura se encuentra la fruta mayor es el valle de reflexión, por lo que conforme madura la presencia de clorofila va disminuyendo.



Figura 2. 11: Imagen representativa del espectro de absorción de la clorofila tipo "a" en color verde, mientras que la clorofila tipo "b", se encuentra representado por el color rojo, podemos observar un pico de absorción a los 680 nm, para la clorofila "a", mismo que veremos como un valle de reflexión en los espectros capturados con nuestro sistema [34].

La clorofila pertenece a una familia de pigmentos de color verde que se encuentra presente en las cianobacterias y en todos aquellos organismos que contienen cloroplastos en sus células (plantas y protistas), es fundamental para realizar el proceso de fotosíntesis, mediante este proceso se permite a los organismos absorber energía a partir de la luz solar y transformarla en compuestos orgánicos y oxígeno [35].

Algunos investigadores han realizado estudios referentes a los beneficios que la clorofila ofrece a la salud, afirmando que es beneficiosa en los siguientes campos [36]:

- Purifica la sangre y el organismo, limpiándolo de toxinas.
- Desintoxica el hígado.
- Limpia los intestinos.
- Ayuda a combatir la anemia.
- Ayuda a rejuvenecer y energizar el cuerpo.
- Estimula el sistema inmunológico.
- Contrarresta la picazón de la piel.
- Normaliza la presión arterial.
- Elimina hongos del cuerpo, combate el mal olor y el mal aliento debido a si contenido de magnesio.

2.2.4 La enzima tirosinasa

La tirosinasa es una enzima cuprífera presente en tejidos de plantas y animales que cataliza la producción de melanina y otros pigmentos de la tirosina por oxidación, como el ennegrecimiento de una patata pelada o cortada expuesta al aire [37], conforme a lo

mostrado en la Figura 2.12, el pico de absorción máximo de la tirosinasa se encuentra en la región del ultravioleta a los 289 nm.

Sin embargo en las últimas décadas el estudio de esta enzima ha tomado mayor relevancia en el campo médico y nutricional debido a su presencia en el proceso de producción de la melanina, el cual es uno de los pigmentos estrechamente ligados en el estudio del cáncer de piel tipo melanoma.



Figura 2. 12: Espectro de absorción del ácido ascórbico en presencia de (a) tirosinasa libre λ max = 289 nm (b) TESA λ max = 290 nm (2011) [38].

Diversos estudios bioquímicos han demostrado que la tirosinasa es la enzima responsable de la síntesis de melanina en tejidos de condiciones normales [39,40]. Sin embargo, en décadas anteriores aún era desconocido si esta también era responsable de la pigmentación de los melanocitos malignos, por lo que surgieron posturas que asumieron la posibilidad de que la peroxidasa fuese la enzima responsable de esto [41,42]. No obstante, Hearing y Ekel (1975) determinaron que la tirosinasa es la enzima responsable de la mayor parte de la formación de melanina en el melanocito maligno [43].

Posteriormente en 1994 los doctores Jorge Falco y Pablo Curutchet [44], al estudiar las muestras de los ganglios centinelas de pacientes con melanoma cutáneo maligno, hallaron que la misma enzima que participa en el primer paso de la producción de la melanina era un indicador efectivo de la presencia de metástasis oculta; es decir, aquella que los estudios de rutina no lograban identificar en los dos primeros estadios de la enfermedad. Esto fue corroborado en el año 2001 por Ujvari y colaboradores [45] donde se demostró que la forma mayoritaria de la tirosinasa presente en células de melanoma es la que tiene 6 N-glicanos (glicanos: proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula) mientras que en los melanocitos normales, predomina la forma de 7 sitios de glicosilación.

Estudios recientes para el diagnóstico del melanoma se han enfocado en la detección de biomarcadores tal como la presencia de la enzima tirosinasa [46-48]. Entre ellos destaca lo reportado por Girault y colaboradores [49] quienes afirman que manchas marrones que

se forman en la piel de las bananas poseen determinadas cantidades de la enzima tirosinasa al igual que aquellos que desarrollan cáncer de piel del tipo melanoma (Figura 2.13).



Figura 2. 13: Esquema representativo, sobre la relación entre la enzima tirosinasa de las manchas marrones de la piel del plátano y los melanomas de la piel humana [49].

2.3 Espectroscopía de reflexión difusa

La espectroscopía en técnica ampliamente utilizada en el campo de la ciencia, dependiendo de las características del medio de aplicación y los objetivos deseados, se determina el tipo de espectroscopía que se aplica, esta puede ser: Raman, difusa, infrarroja, de fluorescencia, de absorción, entre muchas otras. Sin embargo, debido a los objetivos de este trabajo nos enfocaremos en el estudio de la Espectroscopía de reflexión difusa (ERD).

ERD es una técnica óptica, no invasiva que nos brinda información acerca de la estructura y composición de los medios en estudio a partir de los espectros medidos [50]. La luz incidente sobre una muestra sufre varios procesos ópticos (reflexión especular, la refracción, la absorción y el esparcimiento) que en conjunto con la estructura y composición de la muestra, determinan la distribución de la luz re-emitida por la superficie de la muestra sobre la cual penetró una fracción de la luz incidente. La medición de una fracción de esta luz re-emitida, por ejemplo mediante una sonda de fibra óptica, nos permite registrar el espectro de reflexión difusa de la muestra, la combinación con ciertos algoritmos nos permite, diagnosticar, clasificar y desarrollar tratamientos médicos más precisos y no invasivos [51].

Uno de los aspectos fundamentales que se han estudiado en los diversos estudios de ERD, se refiere al arreglo de la punta de exploración de la sonda de fibra óptica implementado para la medición de los espectros, el caso más simple se refiere a una fibra emisora y una fibra receptora [52], no obstante, las fibras comercializadas comúnmente presentan arreglos con 6 fibras emisoras alrededor de una receptora o viceversa, aunque algunos otros autores han diseñado sus propios arreglos y modelos de estudio [53].

2.3.1 Modelo para reflectancia difusa local resuelta espacialmente

Es común utilizar la teoría de la aproximación de la difusión para demostrar matemáticamente la dependencia de la reflexión difusa, a una distancia "r" de la fuente, especialmente cuando se trata de medios turbios, como es el caso de la piel, ya que al tratarse de un medio biológico altamente esparcidor, es complicado aplicar las leyes de la óptica geométrica conocida.

Dada la estructura de la punta de exploración de nuestra sonda de fibra óptica, nos enfocamos en explicar de manera somera la propuesta de Farrell [52] y colaboradores, ya que no es nuestro objetivo el realizar simulaciones ni encontrar parámetros ópticos por el momento. La propuesta sugiere un modelo basado en la teoría de la difusión que plantea una solución analítica de la reflexión difusa de la luz en un medio homogéneo, semi-infinito iluminado por una fuente de luz puntual, tal como se plantea en la Figura 2.14.



Figura 2. 14: Esquema propuesto por Farrell y colaboradores [52], para explicar la reflectancia difusa local resuelta espacialmente en un medio turbio.

$$R_{d}(r) = \frac{a'}{4\pi} \left[Z_{0} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_{1}} \right) \frac{e^{(-\mu_{eff} r_{1})}}{r_{1}^{2}} + (Z_{0} + 2Z_{b}) \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_{2}} \right) \frac{e^{(-\mu_{eff} r_{2})}}{r_{2}^{2}} \right]$$
(2.1)

Donde:

a' : es el transporte del albedo.

 Z_0 : es la distancia entre la fuente y el tejido de muestra.

 μ_{eff} : es el coeficiente de atenuación efectivo.

 ho_1 : es la distancia entre la fuente positiva y r

 ρ_2 : es la distancia entre la fuente negativa y r

D: es la constante de difusión

Este modelo considera a un haz de luz que incide normalmente un medio con índice de refracción n_1 , sobre la superficie de un tejido semi-infinito homogéneo con índice de refracción n_2 y los parámetros ópticos μ_a y μ'_s . Se trata de un modelo simplificado que realiza un análisis de un único centro de esparcimiento en el cual todas las interacciones del haz original tienen lugar, en una posición Z_0 en la superficie del tejido.

Donde Z_0 es equivalente al inverso del coeficiente de transporte, mismo que puede definirse de la siguiente manera: $Z_0 = \frac{1}{\mu'_t} = \frac{1}{\mu_a + \mu'_s}$ (2.2)

 $\mu_a = Coeficiente \ de \ absorción$

 μ'_{s} = Coeficinete esparcimiento reducido

 μ'_t = Coeficiente de trasporte

Puesto que el modelo considera una fuente puntual localizada a una distancia r, podemos describir el flujo de la misma como: $\varphi(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi D} \frac{e^{-\mu eff\mathbf{r}}}{r_1}$ (2.3)

Donde la distancia está dada por:

$$r_1 = \sqrt{(Z - Z_0)^2} + r$$
 (2.4)

Una consideración importante que se debe mencionar sobre el modelo de Farrel, es el flujo que la fuente, en el caso de una frontera extrapolada esta es cero en $Z = Z_b = -2AD$

Donde:

$$D = \frac{1}{3[\mu_a + \mu'_s(1-g)]}$$
 (2.5)

g= factor de anisotropía

Mientras que A, hace referencia al parámetro de reflexión interna del medio y se expresa como: $A = \frac{1+rd}{1-rd}$ (2.6)

Sin embargo, si se tiene una fuente colocada a una profundidad Z_0 de la superficie del tejido, la distancia a la frontera extrapola está dada por: $Z_0 + Z_b$, por lo tanto la fuente imagen debe colocarse a una distancia $Z_0 + Z_b$, con respecto a la frontera extrapolada, lo

anterior permite calcular la intensidad promedio para la fuente puntual un medio semiinfinito, como la suma de la intensidad promedio de la fuente y su imagen:

$$\varphi(\mathbf{r}, \mathbf{Z}_0) = \frac{1}{4\pi D} \left(\frac{e^{-\mu \text{effr 1}}}{r_1} - \frac{e^{-\mu \text{effr 2}}}{r_2} \right) (2.7)$$

Donde r_1 esta dada por la encuación 2.4, mientras que r_2 este dado por:

$$r_2 = \sqrt{(Z + Z0 + 2Z_b)^2 + r^2}$$
 (2.8)

Por último, tomando en cuenta que la luz reflejada difusamente en una distancia r de la superficie del tejido está dada por:

$$R(r) = -D\nabla \varphi(r, Z)|z = 0$$
 (2.9)

Podemos derivar la ecuación 2.1, la cual nos expresa la reflectancia difusa local resuelta espacialmente para el caso de dos fibras.

2.4 Conclusiones

En este Capítulo II nos hemos enfocado en ofrecer una visión general de los elementos básicos que se tratan a lo largo de este trabajo de tesis, como lo es la estructura, dimensiones y composición de la piel humana, tejido biológico de nuestro especial interés dado que en él se presentan una gran diversidad de fenómenos ópticos, especialmente, esparcimiento debido a su arquitectura intrínsecamente estratificada, da lugar a la reflexión difusa.

De manera homologa se describió la estructura y composición básica de la piel del plátano, fruta que se plantea como un posible phantom, para estudiar la presencia de la enzima tirosinasa con el objetivo de hallar patrones de referencia que nos permitan establecer una relación con la presencia de melanoma en fases iniciales.

Además de ello se presentó de manera superficial, el marco teórico base para explicar la interacción luz-piel.

Referencias

[1] Larralde Margarita, La piel: conoce el órgano más grande de tu cuerpo, consultado en noviembre de 2019, obtenido de <u>https://www.hospitalaleman.org.ar/mujeres/la-piel-conoce-el-organo-mas-grande-de-tu-cuerpo/</u>

[2] Merino Pérez J. y Noriega Borge, M. J., (2011). Fisiología general. La piel: estructura y funciones, Universidad de Cantabria.

[3] feandalucia.ccoo.es. (Mayo de 2009). *Federación de Enseñanaza de CC.OO de Andalucía.* Recuperado el 20 de Junio de 2019, de Estudio e identificación de los distintos tipos de piel.

[4] Palastanga, N. &. (2000). *Anatomia y movimiento humano. Estructura y funcionamiento.* Barcelona, España: Paidotribo. Recuperado el 21 de Junio de 2019, de: <u>https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=a5iSQyjVBPkC&oi=fnd&pg=PA11&dq=anatom</u> %C3%ADa+y+estructura+de+la+piel+humana&ots=gs0BeX8prL&sig=g7lu-2naGixOwlljwtX-

mSlqQgo#v=onepage&q=anatom%C3%ADa%20y%20estructura%20de%20la%20piel%20humana& f=false

[5] Stanfors, Childen's Health. (2019). Anatomía de la piel, información consultada en noviembre de 2019, obtenida de: <u>https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=anatomadelapiel-85-</u> P04436

[6] Ligth Douglas, 2004. Cells, Tissues, asd Skin. Chelsea House, New York.

[7] Ruiz L. (2017). Cuáles son las capas de la piel, información consultada en octubre de 2019, obtenida de: <u>https://educacion.uncomo.com/articulo/cuales-son-las-capas-de-la-piel-42826.html</u>

[8] Montaga W. y Parakkal P.F., (1974). The structure and function of skin, Beaverton, Oregon.

[9] Aguilera Arjona, J. y Victoria de Gálvez, M., (2013). El sol y la piel: Interacción de la radiación solar en la piel humana, aspectos biológicos.

[10] Arenas Heredia N. Y., (2007), Construcción de un sistema óptico no invasivo basado en Speckle para la medición de flujo sanguíneo In-Vitro e In-Vivo. Tesis de la Universidad de las Américas Puebla.

[11] B. Morales Cruzado y S. Vázquez y Montiel. (2011). Obtención de los parámetros ópticos de la piel usando algoritmos genéticos y MCML. Revista Mexicana de Física.

[12] Shore Laser, (2014). Relative Absorption of Light by Biological Tissues - Units of Measure. Información obtenida de: https://www.yumpu.com/en/document/view/27617406/relativeabsorption-of-light-by-biological-tissues-units-of-measure.

[13] Cantabria labs, Heliocare. (2018), ¿Qué es la melanina?. Información conaultada en noviembre de 2019, obtenida a partir de: <u>https://www.heliocare.es/2013/03/12/que-es-la-melanina/</u>

[14]PNGGURU.com, ().Melanin Skin Tyrosinase Biological pigment, Pigments transparent background PNG clipart. Información consultada en octubre de 2019, obtenida de: <u>https://www.pngguru.com/free-transparent-background-png-clipart-izuyw</u>

[15] Stanfors, Childen's Health. (2019). Trastornos de la pigmentación de la piel, información consultada en noviembre de 2019, obtenida de: https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=skin-pigment-disorders-85-P03423

[16] Epidemiologiatlax.files.wordpress.com. Perfil epidemiológico de tumores malignos, información consultada en octubre de 2019, obtenida de: <u>https://epidemiologiatlax.files.wordpress.com/2012/10/p epi de los tumores malignos mc3a9</u> <u>xico.pdf</u>

[17] Frisneda P.F., (2015). Melanoma: un tumor agresivo que se esparce rápidamente. Información consultada en junio de 2019, obtenida de: <u>https://laopinion.com/2015/08/26/melanoma-un-tumor-agresivo-que-se-esparce-rapidamente/</u>

[18] Sánchez, Guillermo; Nova, John Confiabilidad y reproducibilidad de la escala de fototipos de Fitzpatrick antes y después de un ejercicio de estandarización clínica Biomédica, vol. 28, núm. 4, diciembre, 2008 Instituto Nacional de Salud Bogotá, Colombia.

[19] Deiry Marína, Alfonso del Pozoa.2005 Fototipos cutáneos. Conceptos generales, Unidad de Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona.

[20] Denis Andrea Guavita Ávila Técnica profesional en estética facial y corporal. Egresada del Programa de Estética Cosmetológica, Fundación Universitaria del Área And.

[21] freenpng.es.El Color De La Piel Humana, La Piel Humana, Escala De Fitzpatrick PNG. Información consultada en junio de 2019, obtenida de: <u>https://www.freepng.es/png-25cmuk/</u>

[22] García Mata, R., *et al.*, (2013). El mercado del plátano (Musa paradisiaca) en México, 1971-2017.Economía. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.

[23] Ecured.cu, (2012). Plátano. Información consultada en junio de 2018, obtenida de: <u>https://www.ecured.cu/Pl%C3%A1tano</u>

[24] SAGARPA, Siaprendes.siap.gob.mx, (2012). Oro no es, plata no es: ¿Cuántos tipo de plátanos conoces?, Información consultada en mayo de 2018, obtenida de: http://siaprendes.siap.gob.mx/contenidos/2/04-platano/contexto-4.html#

[25] Rosales Reynosa, O. L., (2012). Caracterización física y química de plátanos de postre y cocción cultivados en México.

[26] Esau Katherine. (1982). Anatomía Vegetal, Tercera edición, ediciones Omega.

[27] Biologia.edu.ar, (2002). Parénquima: Aerénquima y Parénquima, asociado a los tejidos de conducción. Información consultada de noviembre de 2019, obtenida de: <u>http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema11/11-4aerenquima.htm</u>

[28] Biologia.edu.ar, (2002). Morfología de plantas vasculares: Anatomía floral. Información consultada en noviembre de 2019, obtenida de: http://www.biologia.edu.ar/botanica/print/Tema22.pdf

[29] Organización Española de Nutrición. (2013). Plátano: Tablas de Composición de Alimentos.

[30]Chuanqi Xie, et al. 2017- Prediction of banana color and firmness using a novel wavelengths selection method of hyperspectral imaging.

[31] Nan-Nan Wang, *et al*.(2014)-Shelf-Life Prediction of 'Gross Michel' Bananas with Different Browning Levels Using Hyperspectral Reflectance Imaging.

[32]Subedi, P.P. and Walsh, K. B. 2009. Non-invasive techniques for measurement of fresh fruit firmness.Postharvest Biology and Technology 51: 297-304.

[33] Li Meng. (1997). Optical chlorophyll sensing system for banana ripening, Biological and Agricultural Engineering Department, Uni6ersity of California, Da6is, CA 95616, USA.

[34] es.quora, (2008). ¿Por qué las plantas, hojas y vegetación en general tienden a ser de color verde? Información consultada en noviembre de 2018, obtenida de: <u>https://es.quora.com/Por-gu%C3%A9-las-plantas-hojas-y-vegetaci%C3%B3n-en-general-tienden-a-ser-de-color-verde</u>

[35] Cofes.org. Cuantificación de clorofila "a". Información consultada en noviembre de 2019, obtenida de: <u>http://www.cofes.org.ar/descargas/relas/7_jornada/6_CLOROFILA.pdf</u>

[36] Departamento de agriculrura de Carolina del Norte. ¿Por qué la clorofila es saludable?.

[37] uaz.edu, Tirosinsa. Información consultada en septiembre de 2018, obtenida de <u>https://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/Wiki/Tirosinasa.pdf</u>

[38] Sani, Nor & Nazlan Mohd Muhid, Mohd & Hamdan, Halimaton. (2011). Design, synthesis and activity study of tyrosinase encapsulated silica aerogel (TESA) biosensor for phenol removal in aqueous solution. Journal of Sol-Gel Science and Technology. 59. 7-18. 10.1007/s10971-011-2454-3.

[39] Hearing VJ: Mammalian melanogenesis: tyrosinase versus peroxidase involvement, and activation mechanisms. Arch Biochem Biophys 158:720-725, 1973

[40] Hearing VJ: Tyrosinase activity in subcellular frac- tions of black and albino mice. Nature (Lond) 245:81-83, 1973.

[41] Adachi K; Enzyme activities in mammalian pigment cells, Advances in Biology of Skin. Edited by W Montagna, F Hu. New York, Pergamon, 1967, pp 223-240.

[42] Hearing VJ, Eppig JJ Jr: Biochemical aspects of melanogenesis in normal and melanoma murine tissue. J Cell Biol 59:137a, 1973.

[43] A Vincent J. Hearing y Thomas M. Ekel, (1975). Involvement of Tyrosinase in Melanin Formation in Murine Melanom, the journal investigative dermatology, 64;80-85.

[44] Hallan cómo prevenir las metástasis de melanoma, obtenido de: <u>https://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoid=44311</u>

[45] Olivares Sanchez. C. (2003). Determinantes estructurales de procesamiento y la actividad catalitiza de la tirosinasa, Tesis doctoral, Universidad de Murcia.

[46] Guerra, Liliana Noemí (1991) Estudios biológicos, bioquímicos y genéticos de la línea IIB-MELI como modelo para el melanoma humano. Facultad de Ciencias Exantas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[47] Molgó-Novell M, Reyes-Baraona F, Sazunic-Yáñez I. Melanoma amelanótico en una paciente con enfermedad de Parkinson. Dermatol Rev Mex 2013;57:202-205.

[48] Adina L. Milac and Gabriela Negroiu (December 20th 2017). The Multiple Roles of Tyrosinase-Related Protein-2/L- Dopachrome Tautomerase in Melanoma: Biomarker, Therapeutic Target, and Molecular Driver in Tumor Progression, Human Skin Cancers - Pathways, Mechanisms, Targets and Treatments, Miroslav Blumenberg, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.70513. obtenido de: <u>https://www.intechopen.com/books/human-skin-cancers-pathways-mechanisms-targets-andtreatments/the-multiple-roles-of-tyrosinase-related-protein-2-l-dopachrome-tautomerase-inelanoma-biomarker-th</u>

[49] Tzu-En Lin,*et al.*, (2016). Monitoring Tyrosinase Expression in Non-metastatic and Metastatic Melanoma Tissues by Scanning Electrochemical Microscopy.

[50] Orozco Guillén, E.E. (2009). Diagnóstico de lesiones en la piel a partir de espectros de reflexión difusa empleando algoritmos computacionales: un estudio preliminar, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica.

[51] Pérez Gallardo A. de la C., (2012). Estudio de la reflexión óptica difusa en el tejido biológico. Instituto Politécnico Nacional: Escuela superior de ingeniería mecánica y eléctrica, unidad Zacatenco.

[52] Thomas J. Farrell, Michael S. Patterson. (1992). "A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo". Medical Physica Volumen 19.

[53] Pérez Gallardo, A. C., (2012). Estudio de la reflexión óptica difusa en tejido biológico, tesis para obtener el grado en maestro en ciencias en ingeniería electrónica.

Capítulo III

Investigación del Espectro de Reflexión Difusa de Manchas Color Café en la Piel de Plátanos Frutas

3.1 Introducción

El propósito principal de este capítulo es estudiar la evolución del espectro de reflexión difusa de las manchas de color café que presenta el plátano Musa Cavendish durante su proceso de maduración, específicamente desde la aparición de las primeras manchas casi imperceptibles hasta que éstas alcanzaron dimensiones máximas aproximadas a 5 mm de diámetro antes de fusionarse con manchas semejantes a esta. Los estudios experimentales aquí presentados, se enfocan al registro, procesamiento y caracterización de la firma espectral de las manchas de color café generadas por la maduración en la piel del plátano. La finalidad de este estudio es establecer las bases para el posterior análisis de la correlación entre el espectro de reflexión difusa de las manchas de color café en esta variedad de plátano y el espectro de reflexión difusa en los nevos o lunares de voluntarios humanos. La hipótesis de esta posible correlación está basada en que ha sido reportada la presencia y producción de la enzima tirosinasa tanto en las manchas de la piel del plátano como en las lesiones pigmentadas de la piel humana [1].

Adicionalmente, se profundizo en conocer cómo influye en la toma de ERD, la altura entre la muestra y el tejido, con el objetivo de considerar algunos de los errores más comunes en un ambiente clínico, dichas consideraciones fueron implementadas en un estudio adicional realizado durante la estancia de investigación a la Universidad de Cantabria, por tal razón este capítulo III, se divide en dos secciones, A: Estudio de la Evolución del ERD de Plátanos fruta realizados en la UPT y B:Estudio de la Influencia de la distancia en la toma de espectros de reflexión difusa.

3.2 A: Estudio de la Evolución del ERD de Plátanos fruta realizados en la UPT

3.2.1 Materiales y métodos

3.2.1.1 Sistema para la adquisición de espectros de reflexión difusa

La Figura 3.1 muestra la configuración experimental empleada para la toma de espectros de reflexión difusa en muestras de plátano. El sistema se compone de una fuente de luz de halógeno tungsteno (Mini Light Source Tungsten Halogen, Newport LSM-T-S), que emite entre 300-1700 nm, conectada a una sonda de fibra óptica bifurcada de elaboración casera que usa como elemento básico una fibra modelo 02-356 de Edmund Optics. La sonda está constituida por una fibra emisora y una fibra receptora dispuestas paralelamente entre sí, cada una con un núcleo de 1000 µm de diámetro y separadas por una distancia de 2.5 mm medida de centro a centro de los núcleos de cada fibra. Las fibras fueron encapsuladas en un contenedor de acrílico de 6mm de diámetro. El sistema espectrométrico también

comprende un mini-espectrómetro (USB4000-Ocean Optics) para fibras ópticas que tiene un detector lineal CCD Toshiba TCD1304AP de 3648 píxeles.



Figura 3. 1: Esquema del arreglo experimental de Espectroscopia de Reflexión Difusa, implementado en el laboratorio de Óptica biomédica de la Universidad Politécnica de Tulancingo, para la toma de espectros realizados a las diferentes muestras de plátano.

3.2.1.2 Selección de las muestras

El tipo de plátanos frutas elegidos para este estudio fue la Musa paradisiaca en su especie Musa Acuminata Colla (Musa cavendishii Lamb. ex Paxton, 1837) [2], especialmente en su presentación denominada plátano tabasco, la cual proviene del estado con el mismo nombre. Además, derivado de la estancia de investigación al laboratorio de Ingeniería Biomédica del Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas (TOA) de la Universidad de Cantabria (UC), España, fue realizado un estudio complementario que tal como se comentó al inicio de este capítulo, con plátanos de la misma especie cultivados en la Isla Gran Canaria.

3.2.1.3 Adquisición de espectros de reflexión difusa

Para cada una de las muestras seleccionadas anteriormente se escogieron dos zonas de interés: 1) zona de la piel del plátano que no contiene manchas y 2) zona de la piel del plátano que contiene manchas, con el objetivo de establecer una relación entre los espectros de reflexión difusa de ambas zonas para diferentes estadios del proceso de maduración del plátano. Con estos espectros y con la realización de un estudio semejante en la piel humana, pretendemos valorar la posible semejanza entre los espectros de la zona con manchas color café de las muestras de plátanos y los espectros de reflexión difusa de la piel humana que contiene nevos de diferentes dimensiones. Lo anterior cobra sentido debido a que es conocido que tanto en las manchas color café de la piel del plátano como en los melanomas cutáneos en humanos se encuentra presente la enzima tirosinasa [1].

Las mediciones en cada una de las muestras de plátano se efectuaron durante 6 semanas en el laboratorio de Óptica Biomédica de la UPT, para cada una de las semanas se adquiría un racimo nuevo de plátanos Musa Cavendishii, con un color característico entre verde claro y amarillo (estadios 2 y 3 de maduración, Figura 3.2 clasificación propuesta por Escalante-Minakata, *et al.*, 2013) [3], de los cuales se seleccionaba un ejemplar para realizar el registro del espectro de reflexión difusa durante su proceso de maduración, así mismo, se realizó un seguimiento fotográfico digital de las zonas seleccionadas, del cual hablaremos a detalle en el epígrafe 3 del Capítulo V de este trabajo de tesis. Las mediciones de los espectros se realizaban siempre sobre las mismas zonas seleccionadas, con el objetivo de observar la evolución espectral de un mismo sitio de la muestra durante un mismo tiempo de maduración.



Figura 3. 2: Escala para la clasificación de los diferentes estados de madurez de los plátanos, asociados a los cambios de color de la cáscara, propuesta por Escalante-Minakata, Pilar et al., 2013 [3].

3.2.2 Resultados y discusión

Se realizó la medición del ERD para cada muestra de plátano durante cinco días de manera continua, en además de una medición extra después de dos días. Esto se muestra en la Figura 3.3.

El proceso implementado para la toma de ERD se encuentra documentado en el Anexo A de este trabajo de tesis.



Figura 3. 3: Espectros típicos, del ciclo de maduración de una muestra de Musa Cavendishii analizada en el laboratorio de óptica biomédica de la UPT. Los espectros fueron obtenidos durante una semana para una misma región sin manchas. Nota: SM es un acrónimo para referirnos a zona sin manchas en la piel del plátano.

La Figura 3.3 muestra los resultados obtenidos para la muestra de plátano, medida durante una semana a excepción de los días sábado y domingo, en una misma zona en contacto sin presión. Podemos apreciar que las curvas espectrales que corresponden a los primeros días de medición y las curvas obtenidas para el cuarto y quinto día son análogas a las reportadas por Xie y colaboradores (2017) [4], mediante el uso de otra técnica óptica no invasiva como lo son las imágenes hiperespectrales, cuyo estudio reporta la firmeza de los plátanos fruta, en dos etapas: maduro e inmaduro. En la Figura 3.3 se observa que al inicio, cuando los plátanos tiene una coloración predominantemente verde, existe un mínimo de reflexión difusa espectral aproximadamente en $\lambda = 680$ nm (λ =longitud de la onda) que se corresponde con una de las zonas de máxima absorción que aparecen en el espectro de absorción de la clorofila "a".

La Tabla 3.1 muestra una secuencia temporal de fotografías correspondientes al ciclo de maduración de la muestra analizada. En ellas hemos representado las zonas de medición (a la izquierda: zona con mancha y a la derecha: zona sin mancha) con círculos blancos. Obsérvese que al final de la secuencia, la zona que inicialmente era una zona sin manchas, ya comienza a presentar una cantidad de manchas apreciables, lo cual explica el cambio cualitativo de las curvas de la Figura 3.3 al octavo día (segundo lunes de la leyenda).



Tabla 3. 1: Proceso típico de maduración para una muestra de plátano de la especie Musa Cavedishii, con un estadio de maduración 2, durante una semana.

En la Figura 3.4 se puede observar la evolución temporal de los espectros de reflexión difusa para una muestra de plátano, durante una semana, en una zona que inicialmente contiene una mancha. Podemos apreciar que para los primeros dos días de mediciones el espectro de reflexión difusa se ve afectado por el color verde de los alrededores de la mancha presente en la fruta, sin embargo, el porcentaje de reflexión obtenido es mucho menor al de una zona sin manchas, tal como se esperaba, así mismo apreciamos que para el resto de las mediciones en el tiempo, el valle o mínimo de reflexión difusa a 680 nm correspondiente a la clorofila tipo "a" va desvaneciéndose.



Figura 3. 4: Espectros típicos, del ciclo de maduración de una muestra de Musa Cavendishii analizada en la UPT. Los espectros fueron obtenidos durante una semana para una misma mancha. Nota: La letra M se refiere a una forma de abreviar que se trata de una zona con mancha en la piel del plátano.

El comportamiento anterior fue típico para cinco de las muestras estudiadas en las seis semanas de estudio a excepción de la muestra correspondiente a la cuarta semana, tal como se muestra en la Figura 3.5 y Figura 3.6, para ambas zonas de estudio. Dicha muestra, presentó un proceso de maduración atípico que consideramos se debió, a que durante el tiempo que permaneció dentro de la cámara de gas (empleada para acelerar la maduración de los plátanos antes de ser distribuidos en los mercador y adquiridos por el consumidor final) no tuvo contacto alguno con el gas empleado, quizás pudo haber sido protegido (prácticamente encapsulado) por el resto de los plátanos, almacenados en el mismo compartimiento, lo que provocó una ulterior maduración heterogénea en la fruta.



Figura 3. 5: Caso atípico del proceso de maduración de un plátano. Los ERD fueron obtenidos de la región sin manchas para la muestra correspondiente a la cuarta semana de experimentación analizada en la UPT. Nota: Las letras SM se refiere a una forma de abreviar, que se trata de una zona sin mancha en la piel del plátano.



Figura 3. 6: Caso atípico del proceso de maduración de un plátano. Los ERD fueron obtenidos a partir de una misma mancha para la muestra correspondiente a la cuarta semana de experimentación analizada en la UPT. Nota: La letra M se refiere a una forma de abreviar que se trata de una zona con mancha en la piel del plátano.

Cabe mencionar que esta muestra aún se conservaba en buen estado físico después de 26 días en comparación con las muestras de otras semanas, las cuales se observaban mucho más maduras como se aprecia en la Figura 3.7.



Figura 3. 7: Imagen correspondientes a 3 muestras de plátano; de izquierda a derecha tenemos a las muestras de la semana 4, 5 y 6, empleadas en este estudio.

En la Figura 3.8 y la Figura 3.9 se muestran los espectros de reflexión difusa para cada una de las muestras medidas durante 6 semanas, durante el octavo día del experimento, observándose mayor diferencia para las curvas registradas en la zona sin manchas, respecto de las curvas para la zona con manchas.



Figura 3. 8: Espectros de reflexión difusa para cada una de las muestras analizadas durante 6 semanas, medidas correspondientes al octavo día de mediciones. Las curva para las muestras analizadas en las semanas 1, 3 y 6, muestran una menor reflexión al resto de las demás muestras, esto se debe principalmente que la zona inicialmente sin manchas, ahora presenta manchas.

Nota: Las letras SM en la parte superior de la gráfica, se refiere a la abreviación para indicar que el área medida es una zona sin manchas en la piel del plátano, mientras que las letras en la leyenda, M1...M6, enumeran a las muestras por semana, es decir M1 se refiere a la muestra de la semana 1, así mismo: L,ML y OB, explican que en la zona donde inicialmente no había manchas, ahora debido al proceso de maduración de la fruta ha adquirido manchas en diferentes grados, por ejemplo M: ahora existe una mancha, ML: se refiere a una mancha ligeramente café y OB: nos indica de un ligero oscurecimiento en la zona, pero sin embargo, no se trata de una mancha.



Figura 3. 9: ERD respectivos a la zona con mancha para cada una de las muestras empleadas en las seis semanas de experimentación, en la leyenda se muestran las dimensiones para cada una de las manchas finales medidas, sin embargo, se debe aclarar que aquellas con medidas superiores a los 5 milímetros se tratan de la unión de varias manchas como una sola, lo anterior se debe al alto grado de maduración de la piel de la fruta en la zona de medición.

Nota: Las letra M en la parte superior de la gráfica, se refiere a una abreviación para indicar que el área medida es una zona con manchas en la piel del plátano, mientras que las letras en la leyenda, M1...M6, enumeran a las muestras por semana, es decir M1 se refiere a la muestra de la semana 1, así mismo se colocó el diámetro en mm y cm obtenidos para cada mancha, mismos que fueron obtenidos con ayuda de la GUI diseñada en el capítulo V de esta tesis.

3.3 B: Estudio de la Influencia de la distancia en la toma de espectros de reflexión difusa

En la presente sección de este capítulo, se describen los resultados obtenidos para el estudio de la influencia de la distancia "sonda-muestra", en la toma de espectros de reflexión difusa, este trabajo fue desarrollado durante la estancia de investigación, en la Universidad de Cantabria.

Se realizó un estudio semejante en la UPT, sin embargo, en aquel primer estudio solo se evaluaron distancias en la escala de milímetros, en tanto en esta ocasión se utilizaron medidas en el orden de las micras y milímetros, para la medida de los ERD en dos muestras de plátano, con el objetivo de reproducir parte de los errores que se presentan en un ambiente clínico. Observando las principales diferencias entre los espectros capturados en contacto de aquellos tomados a diferentes distancias.

3.3.1 Materiales y métodos

3.3.1.1 Sistema para la adquisición de espectros de reflexión difusa

En la Figura 3.10 se muestra la configuración experimental empleada para la toma de espectros de reflexión difusa en la piel de plátano, durante la estancia en el Laboratorio del Grupo de Técnica Ópticas Aplicada de la Universidad de Cantabria, donde se estudió fundamentalmente la variabilidad de las curvas características de los espectros para una misma zona a diferentes distancias.





El sistema consta de una fuente de luz de deuterio-tungsteno (Hamamatsu L10671, Hamamatsu Photonics) que emite entre 200-1600 nm, conectada a una sonda (R600-8-UVVIS-SR, StellarNet Inc) y un espectrómetro (BLK-CXR-SR-50, StellarNet Inc.), con una resolución óptica de 0,5 nm y un detector CCD / PDA de 2048 píxeles con 14x200 µm / pixel.

3.3.1.2 Selección de las muestras

El tipo de plátanos frutas elegidos en este estudio fue la Musa paradisiaca en su especie Musa Acuminata Colla, por lo que se trata de la misma variante de plátano empleado para las mediciones efectuadas en el Laboratorio de Óptica Biomédica de la Universidad Politécnica de Tulancingo, para este caso en particular los plátanos fueron cultivados en la Isla Gran Canaria, además de ello el arreglo en la punta de exploración de la fibra implementada, en esta ocasión es de seis fibra colectoras alrededor de una fibra emisora.

3.3.1.3 Adquisición de espectros de reflexión difusa

Para la toma de espectros se seleccionaron dos muestras de plátano, en cada una de ellas se obtuvieron los espectros correspondientes a 4 zonas de interés: 1) dos manchas para cada muestra de plátano y 2) dos zonas que no contuvieran manchas, pero que fueran relativamente cercanas (1 cm de distancia) a la mancha seleccionada previamente. Posteriormente la distancia sonda-muestra fue variada en las siguientes distancias: a 30 µm, 60 µm,100 µm, 500 µm y 2 mm, con el objetivo de estudiar uno de los errores más comunes en la práctica clínica, respecto de la medida obtenida en contacto y de comparar las curvas obtenidas para cada uno de ellos.

3.3.2 Resultados y discusión

Las mediciones de ERD se realizaron dos días, durante el primer día de mediciones las muestras de plátano mostraban un color verde intenso y verde-amarillo, respectivamente, posteriormente pasaron dos días hasta las próximas mediciones, para este momento la tonalidad de la piel de las muestras se mostraba de color verde-amarillo y amarillo, tal como se aprecia en la Figura 3.11. En este caso en particular nos concentraremos en las mediciones tomadas en un segundo momento, puesto que deseamos conocer la influencia de la distancia sonda-muestra, todas las curvas deben pertenecer al mismo día, otro factor que hemos considerado al elegir esta serie de mediciones, es la presencia de la enzima tirosina, ya que es de suponer que al tratarse de una enzima catalizadora por oxidación influiría de manera proporcional de acuerdo con la etapa de maduración de la fruta es decir cuanto más inmadura se encuentra la piel del plátano esta contiene una mayor concentración de clorofila y menores cantidades de tirosinasa tal es el caso de las primeras mediciones [5].



Figura 3. 11: Fotografías tomadas a dos muestras de plátano empleadas en el estudio de la influencia de la distancia "sonda-muestra". El par de plátanos de la izquierda corresponde al día en que se adquirieron las muestras y al primer día de mediciones, las imágenes de la derecha pertenecen al mismo par de plátanos después de dos días sin mediciones.

Los resultados obtenidos para todas las zonas de medición, de una misma muestra, se graficaron en una misma figura, de esta forma se puede realizar comparaciones de los resultados obtenidos para una misma muestra, por ejemplo en la Figura 3.12 se aprecian las cuatro curvas espectrales, de las zonas analizadas en contacto, en la muestra denominada "plátano 1", mismas que se encuentran señalizadas, en la Figura 3.13.

La muestra presentó una tonalidad amarilla fase 5, bastante homogénea, al momento de las mediciones, lo que nos permitió observar un punto en común para todas las curvas, aproximadamente a los 680 nm, que coincide con la banda de absorción de la clorofila "a", de acuerdo con lo obtenido se induce que la fruta aún le faltaba un mínimo grado de maduración necesario antes de su consumo.



Figura 3. 12: Resultados obtenidos para las curvas espectrales analizadas en contacto, en las zonas de interés seleccionadas en el plátano 1.



Figura 3. 13: Imagen correspondiente a las zonas medidas para la muestra uno, el plátano denota una coloración amarilla predominantemente. Nótese que la mancha 1 (M1), se encuentra rodeada por una región con un fondo de color marrón claro, por lo que en la Figura 3 era de esperar que fuera la de menor reflexión.

En la Figura 3.14 se contemplan las respuestas espectrales de las cuatro zonas seleccionadas en el plátano 2, mismas que se señalizan en la Figura 3.15. A diferencia de las curvas presentadas en la Figura 3.12, se puede notar una mayor diferencia entre los 500 y 700 nm, esto se debe a que esta muestra presentaba un color verde-amarillo, fase 2 al momento de la tomar los ERD, indicando que la fruta es lo bastante inmadura para su consumo, no obstante se puede notar que entre los 700 y 1100 nm las curvas registran valores semejantes unas de otras.



Figura 3. 14: Resultados obtenidos para las curvas espectrales analizadas en contacto, en las zonas de interés seleccionadas del plátano, notablemente se trata de una muestra aún inmadura.



Figura 3. 15: Imagen correspondiente a las zonas medidas para la muestra dos, el plátano manifiesta una coloración verdeamarilla. Nótese que la zona sin mancha 2 (SM2), se encuentra en una región con un fondo de color amarillo, mientras

que los otros tres puntos se encuentran rodeados por zonas en una tonalidad verde, por lo que en la Figura 5 esta zona es la que presenta una mayor reflexión.

En la Tabla 3.2 se observan todos los resultados obtenidos para cada una de las distancias preestablecidas, las curvas espectrales se obtuvieron después de realizar la calibración oportuna con la misma referencia empleada en estudios previamente realizados en la UPT.

Podemos apreciar una mayor diferencia entre los espectros obtenidos para el plátano 1, especialmente en el punto que corresponde a la mancha 1, esto se puede explicar como resultado de la posición en la que se localiza la mancha, como se había comentado anteriormente se encuentra rodeada por una región con tonalidad predominantemente marrón claro. En el caso de los resultados alcanzados para la muestra 2, notamos que tres de las curvas espectrales coinciden en el intervalo espectral de los 500 nm a los 700 nm, a excepción de la curva representativa de la zona sin mancha 2.

De las distancias estudiadas se percibe un mejor resultado para las curvas de ambas muestras en contacto, a 100 µm y 2mm, permitiendo apreciar mejor los cambios en las bandas para la clorofila (680 nm), la concentración de azúcar (840) y la concentración de agua a (970 nm) [6-8], no obstante, para esta última distancia se obtiene un porcentaje de reflexión mucho menor. Los resultados de la Tabla 3.2 abarcan desde los 400 nm a los 750 nm con la finalidad de observar picos y valles en un rango espectral similar al analizado hasta el momento, sin embargo, si se desea observar los resultados obtenidos en un rango espectral más amplio, estos se encuentran en el a Anexo E, donde se pueden visualizar los resultados obtenidos a partir de los 220 nm hasta los 1100 nm, esto gracias al sistema de la Figura 3.16, que fue implementado en la UC.



Figura 3. 16: Imagen del arreglo experimental implementado en la Universidad de Cantabria, mediante el cual modificamos la distancia sonda-muestra.



Tabla 3. 2: ERD obtenidos a partir de variar la distancia muestra-sonda. Los espectros se muestran en la región espectral entre los 400 nm y 750 nm.



Para poder realizar un breve análisis entre los estudios realizados tanto en la UPT como en la UC, se graficaron las curvas espectrales obtenidas para el tercer día de mediciones de la muestra 3, de aquellas analizadas en la UPT. Tal como se puede observar el la Figura 3.17,

la muestra seleccionada se encuentra en una fase de maduración similar a la muestra uno, empleada en la UC.



Figura 3. 17: Fotografía para la piel de plátano de la muestra 3, analizada en la UPT, en su tercer día de mediciones, el círculo de color blanco señala la mancha estudiada con ERD.

Los resultados del estudio para evaluar la influencia de la distancia realizados en la UPT se pueden observar en la Tabla 3.3, en esta ocasión se realizaron las mediciones durante una semana completa, sin embargo, para ser contundentes en no introducir más variables que la distancia sonda-muestra, se decidió mostrar las curvas que corresponden solo al tercer día de mediciones en la muestra previamente mencionada.

Tabla 3. 3: Curvas espectrales correspondientes al estudio realizado en la UPT, para evaluar la influencia de la "sondamuestra".





550

450

500

600

650

700

750

Plátano correspondiente a la tercera semana en su 3 día de mediciones con ERD a 3 mm de distancia

550

Longitud de onda

600

650

700

500

450

400

75(


Para los resultados presentados en la Tabla 3.2 y 3.3, solo es posible analizar aquellas curvas obtenidas en contacto y a 2mm, como se comentó en la introducción las distancias consideradas inicialmente en la UPT se encuentran en el orden de los milímetros y las evaluadas en la UC son distancias en el orden de las micras, en su gran mayoría. Los resultados obtenidos para la muestra analizada en la UPT en contacto, detalla una mayor diferencia para las zonas analizadas. En cambio, el porcentaje de reflexión para ambas manchas es semejante, destacando la presencia de un valle a los 680 nm, mismo que se observa en las figuras de la Tabla 3.4, aunque en menor medida para el plátano de la UC. Las curvas tomadas a 2 mm de distancia, el nivel de reflexión se vio mermado, como en el caso de los resultados de la UC, en cambio en los resultados de la UPT se observa un incremento en el porcentaje de reflexión para la mancha, esto puede explicarse por la falta de precisión de la distancia en los ERD capturados en la UPT.



 Tabla 3. 4: Comparación de los espectros obtenidos en la UPT y UC, para evaluar la influencia de la distancia muestrasonda en la toma de ERD



3.4 Conclusiones

Sección A:

Se estudió la evolución temporal del espectro de reflexión difusa de 6 muestras de plátanos de la variedad Musa Cavedishii mediante ERD implementada con una sonda de fibras ópticas y un mini espectrómetro compatible con la sonda. Hemos encontrado un comportamiento característico para la evolución temporal de los espectros de reflexión difusa medidos tanto en las zonas con manchas color café como en las zonas sin estas manchas. Se ha verificado, mediante los espectros de reflexión difusa de la zona sin manchas color café que su espectro tiene un comportamiento semejante en la región espectral de 400-750 nm al comportamiento reportado por Subedi y Walsh [9] en esta misma región espectral para el plátano del tipo Musa sp., Cavendish. Por ejemplo, en λ = 680 nm encontramos un mínimo de reflexión que se debe a una de las bandas de absorción de la molécula de clorofila-a presente en esta fruta. Por otra parte, hemos encontrado que los espectros de reflexión difusa para ambas zonas de la piel del plátano (con manchas y sin manchas) al séptimo día de iniciadas las mediciones, presentan valores de la reflexión difusa que se incrementan con el aumento de la longitud de onda en la región espectral de 475-725 nm como fue presentado en la Figura 8 y 9 de esta investigación. Los resultados reportados en las figuras anteriores juegan un papel determinante para realizar, en el capítulo "V" de este trabajo de tesis, el análisis de la correlación entre el ERD difusa de las manchas de color café en esta variedad de plátano y el ERD en los nevos o lunares de voluntarios. Además, los espectros obtenidos para la zona sin manchas durante los diferentes estadios de maduración nos permiten establecer un límite de tiempo oportuno para realizar mediciones confiables, dado que los resultados obtenidos para el octavo día son poco fiables al contar con un alto grado de maduración la mancha inicialmente medida se fusiona con otras.

Sección B:

A partir de los espectros obtenidos del estudio sobre la influencia de la distancia en la toma de ERD, notamos que tanto las curvas espectrales registradas para la zona con manchas como las tomadas en la zona sin mancha son bastante similares en contacto, sin embargo, a 30 micras se muestra una gran diferencia entre las mismas. Lo anterior se debe a que la sonda cuenta con un recubrimiento que no nos permite saber si realmente estamos tomando la curva en la mancha, aspecto que mejora conforme aumentamos la distancia.

Para los espectros obtenidos con la sonda UPT, se logra eliminar la incertidumbre de si se mide o no en la zona deseada.

Con la sonda UC, se esperaba visualizar algún valle en la región del ultravioleta que correspondiera a lo reportado en la literatura sobre la tirosinasa, lo cual no fue posible, esto puede deberse a que el estado de maduración de la fruta en el momento de las mediciones no era el oportuno.

Referencias

[1] Tzu-En Lin, Alexandra Bondarenko, Andreas Lesch, Horst Pick, Fernando Cortes-Salazar, and Hubert H. Girault (2016). Monitoring Tyrosinase Expression in Non-metastatic and Metastatic Melanoma Tissues by Scanning Electrochemical Microscopy

[2] CONABIO. (s.f.). Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM), Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad.

[3] Escalante-Minakata, et al. (2013). Optimización de la extracción enzimática de jugo de banano a partir de los cultivares enano gigante, FHIA-17 y FHIA-23. Universidad y ciencia, 29(1), 01-09.

[4] Chuanqi Xie, et al. 2017- Prediction of banana color and firmness using a novel wavelengths selection method of hyperspectral imaging

[5] Concepto de: Tirosinasa, información recuperada de: https://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/Wiki/Tirosinasa.pdf

[6] Subedi, P.P. and Walsh, K. B. 2009. Non-invasive techniques for measurement of fresh fruit firmness.Postharvest Biology and Technology 51: 297-304.

[7] Wang N. N., *et al.*, (2015) Shelf-Life Prediction of 'Gros Michel' Bananas with Different Browning Levels Using Hyperspectral Reflectance Imaging, Food Anal. Methods (2015) 8:1173–1184.

[8] Chuanqi Xie, et al. 2017- Prediction of banana color and firmness using a novel wavelengths selection method of hyperspectral imaging

Capítulo IV

Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD

4.1 Introducción

El principal objetivo de este capítulo IV, se enfoca en la caracterización de nevos (lunares comunes) mediante el uso de ERD, con la finalidad de establecer un patrón que nos permita diferenciar un nevo de un melanoma en sus primeras fases de desarrollo, incrementando así la posibilidad de que el médico especialista determine de forma no invasiva el tipo de lesión y aplique un tratamiento más efectivo. Por tal motivo, se llevó a cabo la toma de mediciones de ERD, en una serie de nevos, en un grupo de voluntarios pertenecientes a la universidad Politécnica de Tulancingo, para su clasificación como primer paso en la caracterización del melanoma cutáneo respecto a lesiones cutáneas benignas como los lunares.

Adicionalmente, se profundizo en conocer cómo influye el ángulo de incidencia de la luz en la toma de ERD, este estudio fue elaborado en el laboratorio del Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas (TOA), durante la estancia de investigación a la Universidad de Cantabria, por tal razón este capítulo IV, se divide en dos secciones, A: Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD en voluntarios UPT y B: Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD en voluntarios UC

4.2 Afecciones de la piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, que entre otras funciones, sirve como capa protectora para el resto de los órganos internos [1]. Sin embargo, casi nunca se le presta la atención y cuidados que demanda, viéndose reflejado en el constante incremento de enfermedades cutáneas durante los últimos años, especialmente en los distintos tipos de cáncer de piel.

Como se mencionó anteriormente, las afecciones de la piel han ido incrementándose, pero a pesar de ello, en su mayoría no suelen ser graves ni peligrosas para la salud con los cuidados pertinentes, sin embargo, los síntomas y reacciones derivadas de algunas de ellas llegan a ser molestos, sin considerar los daños en el estado anímico de quienes las padecen. Entre las afecciones más comunes se encuentran: el acné, la psoriasis, dermatitis, eccema, urticaria, verrugas y los diversos tipos de cáncer de piel [2].

Es de suma importancia poder identificar lesiones cancerígenas de forma no invasiva para el paciente, y poderlas diferenciar de aquellas lesiones benignas, siendo de nuestro interés lograr identificar sus firmas espectrales, así como, las principales diferencias entre los nevos (o lunares comunes como se les conoce coloquialmente) y la piel sana como un primer paso, para su posterior clasificación y caracterización, respecto de las lesiones cancerígenas. Los nevos son lesiones benignas pigmentadas, que la gran mayoría de las personas poseen, estos se presentan como una mancha de color marrón obscuro (este color se debe a la presencia de melanina) aunque existe una gran variedad de presentaciones que difieren con esta descripción. De manera semejante, existen lesiones que pueden parecerse a un nevo, por ello se recomienda que ante cualquier cambio de estas lesiones (color, tamaño, volumen) así como la presencia de dolor, o cualquier sospecha de malignidad, se acuda al médico especialista para su evaluación y prevenir complicaciones futuras.

4.3 A: Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD en voluntarios UPT

4.3.1 Materiales y métodos

4.3.1.1 Sistema de adquisición de espectros de reflexión difusa

La Figura 4.1 muestra la configuración experimental empleada para la toma de espectros de reflexión difusa en los voluntarios UPT que participaron en este estudio, misma que se empleó en las mediciones en las muestras de plátano.



Figura 4. 1: Esquema experimental de ERD empleado en la Universidad Politécnica de Tulancingo, para la toma de espectros en los nevos de voluntarios.

El sistema se compone de una fuente de luz de halógeno tungsteno (Mini Light Source Tungsten Halogen, Newport LSM-T-S), que emite entre 300-1700 nm, conectada a una sonda de fibra óptica bifurcada de elaboración propia empleando la fibra 02-356 de Edmund Optics (una fibra colectora y una receptora paralelas de 1000 μ m, separadas por 2500 μ m y encapsuladas en un contenedor de 6mm) y un espectrómetro (USB4000-Ocean Optics) con un detector CCD Toshiba TCD1304AP 3648 píxeles.

4.3.1.2 Captura de espectros

Las mediciones en los nevos y la piel sana se efectuaron en contacto a un grupo de 10 voluntarios (alumnado de la UPT), en un rango de edad entre los 18 y 30 años, mismos que avalaron su participación en dicho estudio mediante la firma del documento de consentimiento informado, el cual se encuentra, en el Anexo B. Este documento fue elaborado por el grupo de óptica biomédica de la UPT. Igualmente, los voluntarios participaron en el llenado de una encuesta (Anexo D) para la clasificación de su fototipo de piel, cuyo resultado fue corroborado mediante la valoración del médico encargado de la UPT.







Nota. La letra V, se refiere al orden y número de voluntarios que participaron en el presente estudio.

4.3.2 Resultados y discusión

La Figura 4.2 muestra los resultados obtenidos para uno de los diez voluntarios UPT, para el trazo de cada curva se promediaron 5 mediciones realizadas en cada una de las zonas de interés (un nevo y una zona sin nevo cercana a este), obteniendo en un 90% de ellos, una menor reflectancia en la zona pigmentada, tal como se encuentra reportado en la literatura, indistintamente del fototipo de piel del voluntario.



Figura 4. 2: Espectros típicos, del comportamiento de un nevo y una región sin nevo o piel sana, en todo el rango espectral visible.

La Gráfica 4.1 muestra las respuestas obtenidos de la aplicación de la encuesta propuesta por Silonie Sachdeva [3] para la clasificación del fototipo de piel de una persona, basada en la escala de Fitzpatrick, misma que se explica a detalle en el epígrafe 1.4 del Capítulo I de esta tesis. Dicha escala clasifica, a la piel en seis Fototipos principales, de acuerdo al puntaje alcanzado en la encuesta mencionada inicialmente. A su vez el instrumento aplicado se subdivide en tres áreas importantes: la disposición genética, la reacción a la exposición solar y los hábitos de bronceado del encuestado, el total de puntos sumados de las tres secciones nos permitirá conocer el fototipo de piel de un individuo.





Se puede observar que el fototipo de piel predominante en los voluntarios que participaron en este estudio poseen un Fototipo III, el cual se caracteriza por ser un tono café claro o bronceado, resistente a la exposición solar y que algunas veces se quema o broncea de manera gradual, en menor medida tenemos sujetos con Fototipos I, II, y IV. Los resultados obtenidos de la encuesta concuerdan con la valoración realizada por el médico de esta institución.

En la Figura 4.3 se muestra el error correspondiente para los espectros de la Figura 4.2, donde se aprecia una máxima diferencia entre la zona con nevo y la zona sin nevo a 513 nm con un valor de (-42.45%), mientras que el mínimo error se encuentra a 749 nm (-20.70%). Para el resto de los voluntarios se obtuvieron resultados similares al mostrado salvo algunas excepciones donde una corta región del espectro mostraba un comportamiento contrario (Voluntarios 1 y 3). Sin embargo, también se presentó un caso atípico (voluntario 6) en

cuanto a esta tendencia. La Figura 4 muestra las curvas espectrales obtenidas para este caso en particular.



Figura 4. 3: Error relativo porcentual obtenido respecto de los valores registrados para un nevo.

Las imágenes presentadas en la Figura 4.4 corresponden a los nevos analizados en las Figuras 4.2 y 4.5, para un caso típico y atípico, podemos apreciar que existe una notable diferencia en la tonalidad y dimensiones para ambos nevos.



Figura 4. 4: Imágenes correspondientes a las zonas de interés medidas en las figuras anteriores (Voluntario 6: Caso atípico, Voluntario 10: caso típico).

La Figura 4.5 muestra un caso de comportamiento atípico para los espectros tomados en una zona no pigmentada y un nevo común, a diferencia del resto de las gráficas procesadas (ir a Anexo F para visualizar los resultados obtenidos para cada voluntario), se aprecia que la diferencia, entre la respuesta de cada zona en muy limitada, además las regiones entre los 570 a 590 y de 704 a 750, muestran que la región con nevo registra un

mayor porcentaje de reflexión, contrario a lo esperado, esto puede deberse, posiblemente a que el tono del nevo medido en cuestión es bastante similar a la piel sana, de igual manera consideramos el tamaño del nevo como otro factor que interviene en este resultado.



Figura 4. 5: *Espectros atípicos, del comportamiento de un nevo y una región sin nevo o piel sana, en todo el rango espectral visible.*

Como se aprecia en la Figura 4.6, podemos observar el máximo error entre la zona con nevo y la zona sin nevo a 581 nm, para este caso en particular, fue de 4.71%, como era de esperarse, se trata de un valor positivo, mientras que el mínimo error se encontró a 454 nm siendo de -3.61%.



Figura 4. 6: Error relativo porcentual obtenido para un caso atípico.

A partir de los resultados mostrados en la Tabla 4.2, sobre las mediciones recabadas en los voluntarios y su respectiva curva de error relativo de una zona sana en comparación a una zona con nevo podemos apreciar que, para un 70% de los voluntarios obtuvimos un porcentaje de reflexión difusa visiblemente menor a la piel sana, en un 20% de los voluntarios se obtuvo un mayor porcentaje de reflexión que la zona sana y un solo caso atípico en donde se presentó un comportamiento totalmente opuesto al esperado. Además de ello se puede apreciar que la mayoría de los espectros tiene su máximo error en la región de las bajas frecuencias, contrario a lo obtenido para los voluntarios UC, mientras que los mínimos de error se encontraron en valores de lambdas cercanas al ultravioleta entre los 400 y 500 nm.

| V | Tendencia $(R_n(\lambda) < R_s(\lambda))$ | Observaciones | <i>ε_{min}λ</i> | $_n\lambda$ $\varepsilon_{max}\lambda$ | | tipo piel |
|----|---|--|-------------------------|--|-----|--------------|
| 1 | Sí | De 400 nm a 436 nm $R_n(\lambda) \cong R_s(\lambda)$ | -42.91% (450 nm) | -16.15% (747.2 nm) | III | |
| 2 | Sí | En todo el espectro | -64.41% (457.27 nm) | -19.12% (741 nm) | III | |
| 3 | Sí | De 400 nm a 443 nm $R_n(\lambda) \cong R_s(\lambda)$ | -26.98% (546.4 nm) | -3.05% (450.4 nm) | II | |
| 4 | Sí | En todo el espectro | -89.88% (546 nm) | -38.7% (749.7 nm) | II | |
| 5 | Sí | En todo el espectro | -67.61% (453.8 nm) | -34.81% (450.8 nm) | V | |
| 6 | No | De 570 a 590 nm $R_n(\lambda) > R_s(\lambda)$ De 704 a 750 nm $R_n(\lambda) > R_s(\lambda)$ | -3.61% (454.2 nm) | 4.74% (581.7 nm) | I | |
| 7 | Sí | En todo el espectro | -53.67% (545.6 nm) | -25.08% (746.4 nm) | | |
| 8 | Sí | En todo el espectro | -72.61% (543.5 nm) | -25.52% (451.8 nm) | IV | |
| 9 | Sí | En todo el espectro | -98.91% (464.4 nm) | -2.70% (749.3 nm) | | |
| 10 | Sí | En todo el espectro | -42.45% (513.1 nm) | -20.70% (749.3 nm) | IV | |

Tabla 4. 2: Análisis de la curva de error para la Piel sana vs Nevo.

Nota 1. La letra V, hace referencia al número de voluntario, mientras que el (*), indica que los resultados fueron obtenidos a partir de las respuestas dadas en la encuestas aplicada.

Nota 2. R_n , se refiere a la respuesta espectral de la piel con nevo, mientras que R_s se refiere a la respuesta a espectral en la zona sin nevo, además λ , nos indica la longitud de onda en el espectro electromagnético.

Nota 3. $\mathcal{E}_{min}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error mínimo , $\mathcal{E}_{max}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error máximo.

4.4 B: Investigación óptica de los lunares en la piel humana mediante ERD en voluntarios UC

4.4.1 Materiales y métodos

4.4.1.1 Sistema de adquisición de espectros de reflexión difusa

La Figura 4.7 muestra la configuración experimental empleada para la toma de ERD en los phantoms (phantoms o fantomas: elemento utilizado para el calibrado que contiene, en su interior, elementos de características similares a los de un tejido u organismo deseado) de plastilina, que servirán para comprar un medio inerte, sin variables dependientes, contario a los voluntario. Así mismo para la toma de espectros en voluntarios se utilizó otra fuente de luz, sin composición espectral apreciable en la región ultravioleta para evitar daños a la piel de los mismos.



Figura 4. 7: Esquema del montaje experimental de espectroscopía de reflexión difusa implementado en el laboratorio del Grupo de Técnicas ópticas Aplicadas de la Universidad de Cantabria, para realizar las mediciones en phantoms de plastilina.

El sistema se compone de una fuente de luz de deuterio-tungsteno (Hamamatsu L10671, Hamamatsu Photonics para los phantoms y la fuente QTH 66499, Newport, para mediciones en voluntarios), que emite entre 200-1600 nm, conectada a una sonda (R600-8-UVVIS-SR, StellarNet Inc) y un espectrómetro (BLK-CXR-SR-50, StellarNet Inc.), con una resolución óptica de 0,5 nm y un detector CCD / PDA de 2048 píxeles con 14x200 µm / pixel.

El ángulo entre la sonda de fibra óptica y la normal a la superficie se estableció a 0 °, 5° y l0° para los phantoms a base de plastilina, mientras que para los voluntarios participantes en este estudio se capturaron espectros a 0° y a 10°.

4.4.1.2 Captura de espectros

Se emplearon tres muestras de material plástico para modelar (plastilina), con los colores correspondientes al sistema sistema RGB (Rojo, Verde y Azul). Se moldearon 3 cilindros de aproximadamente 180 gramos, con una altura y diámetro de 6 cm x 3.5 cm, tal como se muestran en la Figura 4.8.



Figura 4. 8: Imágenes referentes a los cilindros de plastilina empleados para las mediciones de espectroscopia de reflexión difusa en él laboratorio del Grupo de Técnicas Ópticas aplicadas de la Universidad de Cantabria.

Las mediciones en los nevos y la piel sana, se efectuaron en una serie de 10 voluntarios, (entre personal docente y alumnado de la Universidad de Cantabria) en la Tabla 4.3 se muestran cada una de las zonas de medición, mismos que avalaron su participación en dicho estudio mediante la firma del documento de consentimiento informado elaborado por el grupo de óptica biomédica de la Universidad Politécnica de Tulancingo y modificado por el Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas de la Universidad de Cantabria, para dichas mediciones. Además, los voluntarios participaron en el llenado de una encuesta dirigida a que profundizáramos más acerca de los fototipos de piel de los voluntarios.



Tabla 4.3: Zonas de interés medidas.

| 2 | 7 | |
|---|----|--|
| 3 | 8 | |
| 4 | 9 | |
| 5 | 10 | |

Nota. La letra V, hace referencia al número de voluntario en este estudio.

4.4.2 Resultados y discusiones



Figura 4. 9: Espectros típicos, del comportamiento de las diferencias entre un nevo y la piel sana, en todo el rango espectral.

La Figura 4.9 muestra los resultados obtenidos para uno de los voluntarios, para cada uno de ellos se realizaron mediciones en dos zonas de interés (un nevo y una zona sin nevo cercana a este), obteniendo en la mayoría de ellos una menor reflectancia en la zona pigmentada, tal como se encuentra reportado (nevo o lunar), indistintamente del fototipo de piel del voluntario.

$$Error\% = \left(\frac{VM - VV}{VV}\right) * 100$$
 (4.1)

VM=Espectro obtenido en la piel con nevo

VV=Espectro obtenido en una zona de piel sin nevo o piel sana

Posteriormente se calculó el error relativo porcentual [4] con la fórmula 4.1, con la finalidad de observar las regiones espectrales donde se presenta mayor diferencia entre el nevo y la piel sana, en la región espectral de 400 nm a 750 nm, para este caso omitimos el cálculo en valores absolutos para lograr una mejor apreciación de la tendencia.



Figura 4. 10: Error relativo porcentual obtenido respecto de los valores registrados para un nevo.

En la Figura 4.10 se muestra el error correspondiente para los espectros de la Figura 4.8, donde se aprecia una máxima diferencia entre la zona con nevo y la zona sin nevo a 445 nm con un valor de (-69.75%), mientras que el mínimo error se encuentra a 750 nm (-13.70%). Para el resto de los voluntarios se obtuvieron resultados similares al mostrado. Sin embargo, también se presentaron algunos casos atípicos (voluntarios 8 y 10) en cuanto a esta tendencia. En la Figura 4.11 se muestra el comportamiento de los espectros de la zona sana y pigmentada que resulta atípico a los ya mostrados anteriormente.



Figura 4. 11: Espectros atípicos, del comportamiento de las diferencias entre un nevo y la piel sana, en todo el rango espectral.

Se puede observar en dicha figura que muestra una diferencia notable en comparación con el resto de los voluntarios, al presentar intervalos con una mayor reflexión para la zona pigmentada (nevo), contrario a lo esperado, esto puede deberse, posiblemente a que el tamaño del nevo medido en cuestión (3 mm y 1.8 mm), es notablemente mucho menor que el valor del diámetro de la sonda empleada (6.35 mm, con una fibra emisora de 600 μ m y 6 colectoras de 400 μ m). Por otra parte, también consideramos la presencia de vello como otro factor que puede influir notablemente en las mediciones realizadas debido a que, este puede obstruir de forma apreciable el área de las fibras ópticas de la sonda de medición, particularmente si se está enfocando el área deseada o no, como se había comentado anteriormente la sonda cuenta con un recubrimiento que no nos permite asegurar que las mediciones en contacto estén totalmente centradas en el área deseada.



Figura 4. 12: Error relativo porcentual obtenido para un caso atípico.

Como se aprecia en la Figura 4.12, ahora se observan, contrario a la Figura 4.9, valores positivos para el error relativo definido previamente. Los errores entre la zona con nevo y la zona sin nevo a 443 nm, para este caso en particular, fue de -8.10%, mientras que el mínimo error se encontró a 400 nm siendo de 16.15%.

| V | Tendencia ($R_n(\lambda) < R_s(\lambda)$) | Observaciones | $arepsilon_{min}\lambda$ | $\varepsilon_{max} \lambda$ | Tamaño (mm) * |
|---|--|---------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------|
| 1 | Sí | En todo el espectro | -69.75% (445nm) | -13.70% (750nm) | 3 |

Tabla 4.4: Análisis de la curva de error para la Piel sana vs Nevo.

| 2 | Sí | En todo el espectro | -45.60% (425.5nm) | 6.95% (750nm) | 3.5 |
|----|----|---|-----------------------|---------------------|-----|
| 3 | Sí | $R_n(400-435)$ > $R_s(400-435)$ | -10.48% (623.5nm) | 68.13% (400nm) | 2.8 |
| 4 | Sí | $R_n(400 - 426) = R_s(400 - 426)$ | -100% (400nm) | -33.53% (750nm) | 3.1 |
| 5 | Sí | En todo el espectro | 56.82% (400nm) | -1.4% (600nm) | 1.3 |
| 6 | Sí | $R_n(400 - 403) > R_s(400 - 403)$ | -55.03% (430.5nm) | 18.61% (400nm) | 4 |
| 7 | Sí | En todo el espectro | -100% (400nm) | -20.15% (750nm) | 1.9 |
| 8 | No | De 400 a 427nm R_n es mayor a R_s De 430 a 554nm es normal De 555 a 568 $R_n = R_s$ De 569nm a 750nm R_n y R_s son muy semejantes | -3.74% (464.5nm) | 1.74% (414.5nm) | 3 |
| 9 | Sí | $R_n(400 - 406) = R_s(400 - 406)$ | -13.98% (575nm) | 0.98% (407nm) | 5.1 |
| 10 | No | De 400 a 429nm R_n es mayor a R_s De 430 a 600nm el comportamiento es el esperado (normal) De 610 a 750 R_n es mayor a R_s | -8.095% (443nm) | 16.15% (400nm) | 1.8 |

Nota 1. La letra V, hace referencia al número de voluntario, mientras que el (*), indica que los resultados fueron obtenidos con ayuda de la GUI.

Nota 2. R_n , se refiere a la respuesta espectral de la piel con nevo, mientras que R_s se refiere a la respuesta a espectral en la zona sin nevo, además λ , nos indica la longitud de onda en el espectro electromagnético.

Nota 3. $\varepsilon_{min}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error mínimo , $\varepsilon_{max}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error máximo.

A partir de los resultados mostrados en la Tabla 4.4, sobre las mediciones recabadas en los voluntarios pudimos apreciar que la gran mayoría de los ERD presentan una notable diferencia entre ambas zonas de la piel analizadas, obteniéndose un máximo error relativo en la región de altas frecuencias correspondientes a valores de λ entre los 400 – 450 nm (V1-69.75% a 445 nm, V2-45.60% a 425.5 nm, V5-56.82% a 430.5 nm, V6-55.03% a 400 nm), mientras que los mínimos de error se encontraron a valores de λ cercanas al infrarrojo (V1-13.70% a 750 nm, V2-6.95% a 750 nm, V4-33.53% a 750 nm, V5-1.64% a 600 nm).



Figura 4. 13: Espectros típicos de la piel sana en todo el rango espectral, con la sonda colocada a 0 y 10 grados, respectivamente.

En la Figura 4.13 se muestran los espectros obtenidos para una misma zona de la piel de un voluntario (piel sin nevo), medidos a dos ángulos de incidencia (0° y 10°), siendo este tipo de comportamiento el representativo para los 10 voluntarios estudiados. Como se puede notar, la forma de los espectros es la misma, pero con una menor reflectancia para el ángulo mayor. Para evitar la influencia propia de la presencia del nevo, en esta parte del estudio no se realizaron mediciones sobre dicha zona de la piel de los voluntarios.



Figura 4. 14: Error relativo porcentual obtenido para la influencia del ángulo en una misma zona.

En la Figura 4.14 se presenta el error relativo porcentual entre ambos espectros. Como se puede observar se alcanza un máximo error de -17.08% a 400 nm y un mínimo error a 439 nm de -5.30%, así mismo podemos notar que para el resto del espectro, este error tiende a permanecer prácticamente constante en el intervalo espectral de 600-750 nm.

| Tabla 4.5: Resultados obtenidos para el cálculo del error relativo para una zona de piel sana a 0° y 10°. | - |
|---|---|
|---|---|

| V | Tendencia $(R_{s(10^\circ)}(\lambda) < R_{s(0^\circ)}(\lambda))$ | Observaciones | ε _{min} λ | <i>ε_{max}λ</i> | Fototipo de piel (*) |
|---|--|---|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | Sí | En todo el espectro | -21% (400nm) | -8% (750nm) | II |
| 2 | No | $R_{s(10^\circ)} > R_{s(0^\circ)}$ en todo el espectro | -22.49% (402nm) | 8.07% (750nm) | 111 |
| 3 | No | $R_{s(10^\circ)} > R_{s(0^\circ)}$ en todo el espectro | 3.60% (750nm) | 100% (400nm) | IV |
| 4 | Sí | De 400 a 429 $R_{s(0^\circ)} = R_{s(10^\circ)}$ | -100% (411nm) | 100% (412nm) | III |
| | | La gráfica del error es irregular en los primeros valores de lambda | -97.8% (427.5nm) | -1.60% (750nm) | |

| Capít | ulo IV. | Investigació | n óptica | de los | lunares en | la pie | l humana | mediante E | RD. |
|-------|---------|--------------|----------|--------|------------|--------|----------|------------|-----|
| | | | | | | | | | |

| 5 | Sí | En todo el espectro | -100% | -4.080% | II |
|----|----|--|----------|-------------|-----|
| | | | (400nm) | (440nm) | |
| | | | | | |
| 6 | Sí | De 400nm a 600nm | -18.96% | 5.40% | IV |
| | | $R_{s(0^\circ)} > R_{s(10^\circ)}$ | (404nm) | (680.5nm) | |
| | | De 600nm a 750nm | | | |
| | | $R_{s(0^{\circ})} < R_{s(10^{\circ})}$ | | | |
| | | | | | |
| 7 | Sí | De 527nm a 600nm | -45.29% | 3.25% | IV |
| | | $R_{s(0^\circ)} < R_{s(10^\circ)}$ | (401nm) | (575.5nm) | |
| 8 | Sí | En todo el espectro | -17.08% | -5.30% | III |
| | | | (400nm) | (439nm) | |
| 9 | No | $R_{c(10^\circ)} > R_{c(0^\circ)}$ en todo | 0% | 61.72% | |
| - | - | $\mathbf{S}(\mathbf{IO}) = \mathbf{S}(\mathbf{O})$ | (750mm) | (402 Frm) | |
| | | el espectro | (750111) | (402.51111) | |
| 10 | No | $R_{s(10^\circ)} > R_{s(0^\circ)}$ en todo | 4.877 | 25.21% | IV |
| | | el espectro | (649nm) | (407nnm) | |
| | | • | | | |

Nota 1. La letra V, hace referencia al número de voluntario, mientras que el (*), indica que los resultados fueron obtenidos a partir de la encuesta.

Nota 2. $R_{s(10^\circ)}$, se refiere a la respuesta espectral de la piel sin nevo, obtenida cuando la luz se incidió a 10° , $R_{s(0^\circ)}$.nos indica la respuesta espectral de la piel sin nevo, obtenida cuando la luz se incidió a 0° , mientras que indica λ , se refiere a la longitud de onda en el espectro electromagnético.

Nota 3. $\mathcal{E}_{min}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error mínimo , $\mathcal{E}_{max}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error máximo.

La Tabla 4.5 muestra un resumen detallado sobre las mediciones recabadas en los voluntarios, para la curva de error obtenida de una misma zona de interés, medida a 0° y 10°, pudimos apreciar que la gran mayoría de los espectros de reflexión difusa medidos a cero grados presentan un mayor porcentaje de reflexión, sin embargo para algunos de ellos existe una excepción para determinadas lambdas del espectro (V6, de 600nm a 750nm $R_{s(0^\circ)} < R_{s(10^\circ)}$), mientras que algunos otros casos encontramos comportamientos totalmente contrarios a lo esperado, dado que se muestra un mayor porcentaje de reflexión para los valores tomados a 10°. Dado que todas las mediciones fueron realizadas en una zona considerada como sana o sin áreas pigmentadas como nevos, por lo que esperaría un comportamiento más homogéneo en los resultados de todos ellos. Sin embargo, aún debemos considerar algunas variantes que intervienen y no podemos controlar, como el flujo sanguíneo, los movimientos por reflejos automotriz, la temperatura corporal, entre muchas otras.

Tal como se comentó en la introducción de este trabajo se realizaron medidas similares a las realizadas en los voluntarios a los phantoms de plastilina, para visualizar las diferencias entre las mediciones realizadas a una muestra inerte en la cual tenemos un mayor control de las variantes que intervienen en su respuesta, caso contrario a los voluntarios donde existe un mayor número de factores que influyen en la medición espectral como son: el tamaño del nevo, el fototipo de la piel, el flujo sanguíneo y los movimientos involuntarios, entre otros.



Figura 4. 15: Espectros obtenidos para la plastilina de color roja, en tres ángulos de incidencia, para un mismo.

En la Figura 4.15 se muestra, a modo de ejemplo para la plastilina de color rojo, el resultado de la comparación de los espectros medidos a diferentes ángulos de la sonda óptica respecto a la normal de la superficie de los phantoms de plastilina. El comportamiento espectral para cada uno de los tipos de plastilina medidos fue único.



Figura 4. 16: Error relativo porcentual obtenido para 5° y 10° respectó de los valores a 0°, para la plastilina de color rojo.

También se puede observar en la Figura 4.15 que la forma del espectro se mantiene independientemente de la inclinación de la sonda, al menos para los ángulos a los que se realizó la medición (0, 5 y 10 grados). Mientras que en la Figura 4.16 se aprecia la curva error obtenida para 5° y 10° respecto de la respuesta a 0°, mientras que las mediciones para 5° registraron una mayor diferencia entre los 500 y 600 nm, las medidas recabadas para 10° nos muestran un comportamiento hasta determinado punto estable de 400 a 550 nm, longitud en la que se muestra un cambio abrupto para continuar constante.



Figura 4. 17: Espectros obtenidos para dos phantoms de plastilina, en tres ángulos de incidencia, para un mismo punto.

En la Figura 4.17 tenemos las gráficas correspondientes a los resultados obtenidos para los phantoms de plastilina color verde y azul. Las curvas para cada caso son únicas tal como se comentó anteriormente, sin embargo podemos apreciar que en caso de las plastilinas roja y verde se obtuvo un porcentaje de reflexión difusa por debajo del 100%, mientras que para el caso de la plastilina azul no se cumple esta condición, especialmente para valores de lambda entre los 400 nm y los 550 nm.

En cuanto a la forma del espectro, esta se mantiene independiente del ángulo a la que sea capturada, contrario a ello, el porcentaje de reflexión dado que para determinados valores de lambda es bastante singular la respuesta obtenida, contraria a la respuesta esperada.

| Color de | Ángulo | Tendencia | Observaciones | $\varepsilon_{min}\lambda$ | ε_{max} λ |
|------------|------------|---|--|----------------------------|-----------------------|
| la | de | $(R_{p(5^{\circ}y \ 10^{\circ})}(\lambda) < $ | | | |
| plastilina | incidencia | $R_{p(0^\circ)}(\lambda))$ | | | |
| | | | | | |
| Roja | 5° | Sí | En todo el espectro | -63.47% | -6.13% |
| | | | | (407nm) | (643nm) |
| Roja | 10° | No | R _{p(10°}} de 499 a 575 | -46.62% | 9.31% |
| | | | es mayor $R_{p(0^\circ)}$ | (457nm) | (530.5nm) |
| Verde | 5° | Sí | En todo el espectro | -57.52% | -15.47 |
| | | | | (406.5nm) | (528nm) |
| Verde | 10° | No | $R_{p(10^{\circ})}$ de 565 a 750 | -51.14% | 231.80% |
| | | | es mayor $R_{p(0^\circ)}$ | (487nm) | (652nm) |
| | | | | | 100% |
| | | | | | (749 y |
| | | | | | 560nm) |
| Azul | 5° | No | $R_{p(0^{\circ})}$ < $R_{p(5^{\circ})}$ en | 7.84% | 205.60% |
| | | | todo el intervalo | (494nm) | (620.5nm) |
| | | | | | 99.25% |
| | | | | | (572nm) |
| Azul | 10° | No | De 550nm a 750 | -48.17% | 231% |
| | | | $R_{p(0^{\circ})} < R_{p(10^{\circ})}$ | (451nm) | (631.5nm) |
| | | | | | 100% |
| | | | | | (577.5nm) |
| | | | | | |

 Tabla 4.6: Análisis de la curva de error para los phantoms de plastilina empleados.

Nota 1. $R_{p(5^\circ y \ 10^\circ)}(\lambda)$, se refiere a la respuesta espectral de la plastilina obtenida cuando la luz se incidió a 5° y 10° mientras que $R_{p(0^\circ)}$.nos indica la respuesta espectral de la plastilina, obtenida cuando la luz se incidió a 0°, en cuanto a λ , se refiere a la longitud de onda en el espectro electromagnético.

Nota 3. $\mathcal{E}_{min}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error mínimo , $\mathcal{E}_{max}\lambda$, nos indica en que lambda se obtuvo el error máximo.

4.5 Conclusiones

Sección A:

Considerando los resultados obtenidos en el presente estudio sobre los espectros de reflexión difusa en ambas zonas de interés (Nevo y piel sana), podemos garantizar adecuadamente la caracterización espectroscópica en la región de 400-750 nm, donde se encuentra contenida la información fisiológica importante de la piel humana y otros tejidos biológicos.

Los espectros con mayor porcentaje de reflexión, fueron aquellos que corresponden a los voluntarios con un fototipo de piel bajo II (Voluntarios 3 y 4) y como era de esperarse conforme incrementa el nivel de melanina presente en la piel, la forma característica de la hemoglobina oxigenada se pierde. De igual manera el espectro de la piel sana y del nevo se asemejan, algo similar se presenta cuando la tonalidad del nevo es bastante clara.

Sección B:

Consideramos que a partir de los resultados obtenidos en el estudio de la influencia del ángulo de medición sobre los espectros de reflexión difusa, es razonable asumir que el margen de error permitido al momento de la colocación de la sonda de fibras ópticas durante aplicaciones clínicas de esta técnica, debe restringirse a valores de ángulos menores a 5°. Este aspecto debe ser objeto de estudio en un futuro inmediato mediante el uso de un instrumento que permita realizar una medición más precisa del ángulo establecido, lo cual no fue posible en esta investigación. Por otra parte, del estudio comparativo entre los espectros tomados en voluntarios a un ángulo de cero grado para zonas pigmentadas y zonas normales de la piel, nos indica que el tamaño excesivo de la sonda de medición (6.35 mm) en comparación con la zona pigmentada a medir (1.3 a 5.2 mm de dimensión lineal) es una muy probable fuente de error en la determinación absoluta de las diferencias espectrales entre ambas zonas. Por lo tanto, consideramos que una mejor comparación de ambas zonas se podría realizar con una sonda de elaboración propia que garantice una mayor confiabilidad en cuanto a la precisión de la zona de medición, siendo posible abarcar lesiones pequeñas de una forma más eficiente. Por ejemplo, una sonda de dos fibras ópticas de dimensiones inferiores a las 400 micras de diámetros colocadas paralelamente entre sí, y encapsuladas en un contenedor de diámetro del orden de 1 mm podría ser una buena opción a esta problemática.

Referencias

[1] Advancing Science Serving Society. (s.f.). *Sistema tegumentario*. Recuperado el 21 de Junio de 2019, de http://sciencenetlinks.com/student-teacher-sheets/integumentary-system/

[2] Durocher LP. Enfermedades de la piel, enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. https://www.insst.es/documents/94886/161958/Cap%C3%ADtulo+12.+Enfermedades+de+la+piel

[3] Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2009;75:93-6.

[4] lifeder. ¿Qué es el Error Porcentual y Cómo se Calcula? 10 Ejemplos. Información consultada en septiembre de 2019, obtenida de: <u>https://www.lifeder.com/error-porcentual/</u>

Capítulo V

Desarrollo de una interfaz gráfica de usuario GUI, para diferenciar tamaños y tonos de una región de la piel

5.1 Introducción

El tratamiento de las imágenes digitales o procesamiento digital de imágenes (PDI), está conformado por una serie de técnicas especializadas con el objetivo de descubrir o hacer resaltar información contenida en una imagen, especialmente se basa en el mejoramiento de la calidad de la información, con el fin de que esta pueda ser interpretada de una forma más concreta, antes de tomar cualquier decisión [1]. Es muy útil en diferentes áreas tales como: en la medicina para el análisis de radiografías y conteo de células; en la astronomía analizando y determinando el número de meteoritos que puedan estar cerca del planeta y saber sus dimensiones; en la investigación militar, para detectar enemigos por imágenes vía satelital, entre otras [2].

En este capítulo se presenta una interfaz gráfica de usuario GUI (del inglés *graphical user interface*) para el análisis de las fotografías tomadas tanto para la piel del plátano (zona con y sin manchas) como para las tomadas a los nevos de los voluntarios, cuyas regiones fueron estudiadas con la técnica de ERD y presentadas en los capítulos II y III de este proyecto de tesis. Las imágenes se analizan por medio del software Matlab R2016a, mediante la implementación de operadores enfocados en la extracción de bordes, como paso previo necesario para realizar el conteo de elementos, con ello se logra obtener el número de manchas que se encuentra en cada una de ellas. Otra de las funciones de la GUI, es la opción de medir el diámetro (calcular distancias) de un elemento de nuestro interés con la ayuda de un parámetro de referencia conocido, realizando un simple cálculo de proporcionalidad o regla de tres.

Los resultados obtenidos mediante la GUI, a partir del análisis de las manchas en la piel del plátano, es primordial para establecer un primer punto de comparación con los nevos de los voluntarios UPT, en cuanto a sus dimensiones a fin de reducir el número de elementos que se someterán a una valoración básica de color, con el objetivo de evaluar similitudes entre las lesiones de la piel del plátano (mancha) y la piel humana (lunares).

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Metodología

La GUI desarrollada en este capítulo se clasifica bajo la combinación de dos modelos: 1) modelo por etapas y 2) sistema de desarrollo de aplicaciones rápidas (RAD, de sus siglas en inglés *Rapid Application Development*) [3]. Es relevante mencionar las etapas empleadas por cada modelo y sus especificaciones. En el caso del modelo por etapas se basa principalmente en: la especificación conceptual, el análisis de requisitos, un diseño inicial,

útil en la codificación y depuración; mientras que el modelo DRA se enfoca en 5 etapas o fases: modelado de gestión, modelado de datos, modelado del proceso, generación de aplicaciones y pruebas antes de la entrega [4,5]. Ambas estructuras poseen similitudes bajo las cuales fue posible el desarrollo de esta GUI, enfatizando principalmente en que el código del programa cumpliera correctamente las funcionalidades principales mencionadas en la introducción, esto gracias a que RAD permite crear pequeñas aplicaciones completamente prácticas en periodos de tiempo cortos.

5.2.2 Descripción de la interfaz gráfica implementada

El procesamiento digital de imágenes suele ser complejo debido a que una imagen puede contar con varias irregularidades, tales como el tener un mayor contraste en determinadas zonas, poseer bastante brillo en otras, disponer de ruido u objetos extraños que no deben ser considerados en el procesamiento (artefactos). Cuando se analizan las imágenes, estas deben pasar por distintas etapas como la conversión a escala de grises y la binarización antes de arrojar un resultado. Por lo expuesto anteriormente, el código implementado en nuestra interfaz se encarga de delimitar los objetos que se encuentran dentro de las imágenes mediante la obtención de bordes, además del uso de operaciones morfológicas que ayudan a mejorar esta tarea, para posteriormente etiquetar los objetos por separado, logrando con ello obtener el número de objetos localizados, específicamente en nuestro trabajo se obtiene el número de manchas en dichas imágenes.

En la Figura 5.1 se muestra un esquema del arreglo experimental implementado para la toma de las imágenes digitales a color de las zonas de interés de estudio en las muestras de plátanos y voluntarios de la UPT, usadas en la interfaz desarrollada. El sistema óptico está conformado por una cámara CMOS (Cámara Point Grey Color FL3-U3-13S2C-CS) con una lente de enfoque (lente de 16 mm VIS-NIR - Edmund Optics), siendo operada a través de su propio software (Point Grey FlyCap2) para la captura de las fotografías.



Figura 5. 1: Esquema del arreglo experimental implementado para la captura de las fotografías digitales en las muestras empleadas en los estudios de espectroscopia de reflexión difusa de este proyecto de tesis.

Con el objetivo de explicar con detalles los algoritmos implementados para la detección de los bordes y conteo de las manchas color café de la piel del plátano, así como para medir sus diámetros y el de los lunares de los voluntarios, se han dividido en dos fases para facilitar su comprensión.

Fase 1: Detección de bordes y conteo de manchas

Un borde típico se refiere a aquellas variaciones fuertes de la intensidad que corresponden a las fronteras de los objetos visualizados, estos pueden ser ideales o de tipo rampa, los primeros suelen formar un camino de un pixel de ancho, mientras los segundos forman un conjunto de pixeles conexos en los que se produce en una determinada dirección una variación gradual [6]. Por ejemplo, un borde puede ser la división entre un bloque de un color verde y otro de color azul o bien, una recta con una pequeña cantidad de pixeles para la cual usualmente se detectan dos bordes, uno a cada lado de la misma [6]. Para lo cual se han desarrollado una vasta variedad de algoritmos que ayudan a solucionar la detección de bordes. Algunos de estos algoritmos fueron analizados para determinar la mejor opción en la detección de los bordes de las manchas de color café de la piel del plátano y la de los nevos, entre ellos se encuentran los operadores: Roberts, Sobel, Prewit, Canny, Zerocros y Log.

La importancia de aplicar diversos operadores de bordes en el procesamiento digital de las imágenes, recae en la tarea de realzar y delimitar correctamente los bordes de una figura, dado que otros algoritmos requieren que se demarquen los objetos que están contenidos en una imagen para poder desempeñar apropiadamente su función. A continuación se listan algunas de las aplicaciones más importantes que requieren de esta operación como paso previo [6]:

- 1. Conteo de objetos.
- 2. Localización de objetos.
- 3. Medición de las características métricas de los objetos.
- 4. Determinación de las características geométricas de los objetos. Discriminación por tamaño o forma de objetos.
- 5. Reconocimiento óptico de caracteres (OCR, Optical Character Recognition).

Normalmente, en las imágenes, los bordes marcan el paso de una intensidad a otra, sin embargo, la transición de una intensidad baja a una de intensidad alta no está bien definida, sino que presenta una rampa. El objetivo del PDI consiste en localizar aquellos límites generados por elementos de la escena y no por ruido, por lo que se debe tener en cuenta las siguientes características de las mismas [7]:

- 1. Son discretas, codifican el nivel mediante un número entero entre 0 y 255. Por lo tanto, al no ser continuas, los cambios entre un punto y otro no son suaves, son escalonados.
- 2. No son nítidas, sino que presentan ruido que puede provocar cambios de intensidad o alteraciones en los niveles de grises.

Al intentar detectar bordes, se generan determinados errores, como los siguientes que se deben de minimizar:

- 1. Errores de detección: bordes falsos.
- 2. Errores de localización: desplazamiento de la posición real.
- 3. Errores de amplificación.

Las imágenes a procesar, son seleccionadas a partir de las fotografías tomadas durante las semanas de experimentación para las muestras de plátanos y los nevos de los voluntarios descritos en los capítulos anteriores. La GUI nos permite seleccionar un archivo localizado en cualquier ubicación, para posteriormente elegir uno de los diferentes algoritmos de obtención de bordes con los que cuenta, esto permite que el usuario aplique diversos operadores de bordes. Cada vez que se ejecute un algoritmo diferente, se muestra el resultado de su aplicación en el archivo seleccionado, pudiendo el usuario elegir el de su preferencia. Posteriormente este será empleado en la etapa de conteo de objetos, para finalmente mostrar el número de objetos (manchas) que se lograron localizar en la imagen.

Fase 2: Medición de Diámetros

Para poder calcular el diámetro del elemento (nevo o mancha) de nuestro interés, el programa se basa en la medida de un parámetro de referencia, en nuestro caso se emplearon dos parámetros, uno para las muestras de plátanos y otro para los nevos. El primero de ellos corresponde a la imagen de una regla graduada, tomada a la misma distancia donde se encuentra ubicado el plátano de la zona de estudio, mientras que para el caso de los nevos se tomó como referencia el grosor de uno de los vellos localizados en la fotografía tomada para cada voluntario, considerando que un vello tiene un valor promedio de 100 µm.

En la GUI primeramente se selecciona la imagen correspondiente al patrón de referencia, en ella se toma una distancia conocida, y posteriormente se selecciona la imagen donde se encuentra nuestro objeto de interés. Una vez seleccionado el objeto a comparar, se realiza una regla de tres mediante la cual se obtiene la medida esperada (ver Anexo G).

5.3 Resultados y discusión

Para llevar a cabo el reconocimiento de los bordes de los objetos en una imagen, primeramente se probaron cada uno de los algoritmos en un archivo obtenido de la web (Figura 5.2) a quien llamamos imagen sintética, con la finalidad de comprobar su eficiencia en esta, y poderlas aplicar correctamente en las fotografías digitales obtenidas de nuestro estudio.



Figura 5. 2: magen sintética descargada de la web, para probar seis algoritmos de reconocimiento de bordes.

Como se puede apreciar en la Figura 5.3, los seis operadores, mencionados en el epígrafe 2.2, Fase 1, aplicados para la detección de los bordes en la imagen sintética, distinguen de manera correcta los bordes de las cinco figuras geométricas de distintos colores dispuestas en la misma, siendo además muy bien definidos. Este resultado se logra, como era de esperar, sin la necesidad de implementar algún otro procedimiento digital, como la dilatación o erosión en la imagen.



Figura 5. 3: Diferencias entre los seis algoritmos implementados para la detección de los bordes en la imagen sintética elegida de la web, para su selección antes de proceder al desarrollo de la GUI.

En la Figura 5.4 se muestra una de las imágenes a procesar, referida a una de las zonas de estudio en uno de los plátanos medidos con la técnica de ERD. Esta fue empleada para realizar una primera prueba con los seis operadores seleccionados para la detección de bordes, con el objetivo de definir con cuál de ellos se aprecia mejor los bordes de las manchas de color café. Estos resultados se observan en la Figura 5.5, donde se notan bordes poco definidos en las manchas que se desean resaltar, antes de proseguir con el conteo. Es por esta razón la necesidad de implementar operaciones morfológicas como la dilatación o erosión.



Figura 5. 4: Imagen correspondiente a la zona de estudio con la técnica óptica de espectroscopia de reflexión difusa, para una muestra de plátano en el octavo día de medición. Esta imagen fue seleccionada para probar inicialmente la eficiencia de los algoritmos para detectar bordes.



Figura 5. 5: Resultados obtenidos al aplicar cada uno de los operadores para detección de borde, en la muestra de estudio del plátano.

Después de aplicar el operador morfológico de dilatación a la imagen de la Figura 5.4, se observa una mejor definición de los bordes (ver Figura 5.6), en contraste con el resultado mostrado en la Figura 5.5; no obstante, claramente se puede apreciar que Roberts, Sobel y Prewit, tienen un mejor desempeño en el reconocimiento de bordes, caso contrario con Canny, Zerocross y Log, cuyos valores obtenidos tienden a la confusión. Por lo tanto, al implementar la operación morfológica, que nos permitiera una mejor delimitación de los bordes, se decidió incluir solo los operadores: Roberts, Sobel y Prewit, en la interfaz gráfica final.


Figura 5. 6: Resultados obtenidos de la aplicación de los operadores de bordes con la técnica de dilatación, en la muestra de estudio del plátano.

Para comprender mejor el funcionamiento general de la GUI desarrollada en este capítulo, se realizó un diagrama de flujo (Figura 5.7), donde se muestra de forma sintetizada los procesos fundamentales que se llevan a cabo con las imágenes, y los resultados que se desean obtener con cada uno de ellas.



Figura 5. 7: Funcionamiento básico de la interfaz gráfica de usuario, desarrollada para el conteo de las manchas en la piel del plátano, a partir de una imagen digital.

En las Figuras 5.8 y 5.9, se muestran el resultado de implementar la GUI en dos imágenes, la primera de ellas de elaboración propia en PowerPoint 2013, con un total de 17 elementos, mientras que para la segunda se empleó la imagen referida en la Figura 5.4. En cada una de ellas se puede apreciar el trabajo realizado por parte de los operadores de bordes seleccionados, con la finalidad de obtener el número de elementos presentes en ambas imágenes.



Figura 5. 8: Resultado del conteo de objetos en una imagen de diseño propio, mediante el uso del operador Sobel.

El resultado del procesamiento correspondiente a la imagen elaborada en PowerPoint (Figura 5.8) señala un buen rendimiento del algoritmo, al dar el número exacto de elementos presentes. Sin embargo, el número que arroja la aplicación de este algoritmo sobre la imagen real (63 manchas contadas) mostrado en la Figura 5.9, no asegura un 100% de eficiencia, en gran parte esto se debe a que las manchas individuales se encuentran demasiado cercanas unas de otras, hasta el punto de formar regiones completamente marrones, imposible de distinguir la individualidad de cada una de ellas.



Figura 5. 9: Conteo de manchas para una imagen referente a la piel del plátano con un grado de maduración considerable.

En la Figura 5.10 se muestra una de las imágenes que fueron tomadas para el registro de los nevos de los voluntarios. A cada lunar le fueron medidos sus diámetros ϕ con una regla graduada en mm; un pie de rey; y a través de la GUI implementada para este fin, usando como referencia a uno de los vellos cercanos a esta lesión benigna. Estas medidas se realizaron tanto en la dirección horizontal H, como en la vertical V, presentados sus resultados en la Tabla 5.1. Como se puede observar, los diámetros obtenidos con el algoritmo implementado son muy similares en ambas direcciones, respecto de los medidos con los instrumentos. Pensamos que se pueden lograr resultados más precisos si se pudiera contar con un patrón de referencia comercial idóneo para las dimensiones de los objetos de estudio.



Figura 5. 10: Imagen del nevo de uno de los voluntarios. Para la medición del diámetro del nevo se empleó como referencia a uno de los vellos presentes cerca de la zona de interés.

Es importante resaltar que según los valores medidos del diámetro de cada lunar, encontramos dimensiones lineales tan grandes como 7.4 mm (voluntario 4) por lo que este acudió al dermatólogo siendo su lesión benigna. No obstante, la mayoría de las dimensiones son pequeñas, entre 1.2 y 2 mm.

En la Tabla 5.1 se incluyeron también las fotografías de los nevos de los 10 voluntarios, así como el fototipo de piel para cada uno de ellos, obtenidos como resultado de la aplicación del instrumento de clasificación basada en la escala de Fitzpatrick, descrito en el capítulo III de este proyecto de tesis.

| Ν | Foto | Fototipo | φ del | φ del | φ del nevo |
|---|---------|----------|---------|---------|------------------|
| | | de piel | nevo | nevo | (obtenida por la |
| | | | (regla) | (pie de | GUI) |
| | | | [mm] | rey) | [mm] |
| | | | | [mm] | |
| 1 | D. CALL | III | 2.0 H | 1.91 H | 2.0 H |
| | | | 2.7 V | 2.92 V | 2.8 V |
| 2 | | III | 2.0 H | 1.72 H | 1.4 H |
| | | | 2.0 V | 1.90 V | 1.7 V |
| 3 | MAN XX | II | * | 1.20 H | 1.2 H |
| | | | | 1.60 V | 1.7 V |
| 4 | | II | 6.5 H | 6.60 H | 7.4 H |
| | • | | 8.0 V | 8.56 V | 7.3 V |
| | | | | 4.22.11 | |
| 5 | | V | 1.0 H | 1.23 H | 1.37 H |
| | | | 1.8 V | 2.02 V | 1.99 V |

Tabla 5. 1: Diámetros registrados en los nevos de los voluntarios de la Universidad Politécnica de Tulancingo, medidos con una regla, el pie de rey, y la interfaz gráfica de usuario GUI, implementada.

| 6 | | I | 1.5 H | 1.62 H | 1.53 H |
|---|--------------------|-----|-------|--------|--------|
| | | | 1.5 V | 1.61 V | 1.58 V |
| 7 | | III | 2.0 H | 1.90 H | 1.94 H |
| | | | 2.5 V | 2.45 V | 2.39 V |
| 8 | | IV | 1.3 G | 1.42 H | 1.6 H |
| | | | 1.3 V | 1.45 V | 1.3 V |
| 9 | | III | 2.0 H | 2.22 H | 1.9 H |
| | | | 2.0 V | 2.22 V | 2.1 V |
| 1 | Des and the second | IV | 2.0 H | 1.90 H | 1.9 H |
| 0 | | | 2.0 V | 1.90 V | 2.1 V |

Nota. H y V se refieren a la medida horizontal y vertical del nevo, respectivamente; N al número del voluntario incluido en el estudio; * a que no se cuenta con el dato y $\boldsymbol{\varphi}$ al diámetro del nevo.

En la Tabla 5.2 se muestran las imágenes correspondientes al seguimiento fotográfico realizado para cada una de las muestras de plátanos empleadas en las mediciones del capítulo II, durante cinco días consecutivos en cada uno de ellos, a excepción de la muestra 6 donde se carece de la foto correspondiente al segundo día de medición. A partir de estas imágenes podemos visualizar las etapas de maduración comunes de esta fruta, sin embargo, en el caso de la muestra 4 se observa un comportamiento atípico de maduración al mantener su tonalidad verde durante todos los días de su evaluación temporal. Del

conjunto de estas imágenes se obtendrá el diámetro de las manchas color café a las que se les midieron sus espectros, de manera semejante a como se realizó con los nevos, con la finalidad de poder correlacionarlas entre ellas en cuanto a su diámetro, color y espectros

| S | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
|---|-------------------------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | M1 M2 M3 | | | | |
| 2 | 0 | | | | |
| 3 | • | | | | N. |
| 4 | $\overline{\mathbf{O}}$ | | | | Y |

Tabla 5. 2: Seguimiento fotográfico de la evolución de las muestras de la piel de los plátanos, empleadas en los estudios de espectroscopia de reflexión difusa.



Nota 1. S se refiere al número de semanas; * a que no se cuenta con la información correspondiente

Nota 2. Las manchas de nuestro interés estudiadas con ERD, se encuentran dentro de un pequeño círculo blanco. Se indican con M1, M2 Y M3 en la semana 1, que se analizaron 3 manchas, tal como se muestra en esa imagen.

En la Tabla 5.3 se muestran las medidas para cada una de las manchas analizadas mediante ERD en micras a excepción de aquellas en milímetros que se encuentran especificadas dentro de la tabla, para poder identificar rápidamente las que son semejantes con los nevos. Se puede apreciar que la gran mayoría de las manchas seleccionadas son bastante pequeñas en un inicio mostrando un aumento progresivo, especialmente para el cuarto y quinto día de las mediciones. En algunas de las muestras nos fue imposible calcular sus diámetros para el último día de las mediciones, debido a que la zona donde se encontraban, se apreciaba como una enorme mancha marrón haciendo imposible distinguir una mancha de otra, para estos casos en la tabla se colocó una serie de asteriscos o una serie de signos para aquellas medidas con las que no contamos.

| | | | | Diámet | ros | |
|----------|-----------|-------|-------|--------|---------|--------|
| Semana | Posición | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
| Semana 1 | Mancha 1H | 608 | 653 | 668 | 878 | 892 |
| _ | Mancha 1V | 546 | 626 | 668 | 767 | 789 |
| _ | Mancha 2H | 208 | 261 | 506 | 625 | * |
| _ | Mancha 2V | 435 | 508 | 533 | 580 | * |
| _ | Mancha 3H | 304 | 334 | 334 | 479 | * |
| _ | Mancha 3V | 304 | 334 | 334 | 367 | * |
| Semana 2 | Н | 529 | 585 | 779 | 792 | 863 |
| | V | 471 | 554 | 689 | 734 | 802 |
| Semana 3 | Н | 392 | 440 | 562 | 1.12 mm | 1.2 mr |
| | V | 463 | 570 | 712 | 1.9 mm | 3 mm |
| Semana 4 | Н | 559 | 670 | 785 | 975 | 1 mm |
| | V | 523 | 631 | 715 | 788 | 862 |
| Semana 5 | Н | 474 | 552 | 630 | 649 | 710 |
| | V | 427 | 551 | 630 | 651 | 684 |
| Semana 6 | Н | 718 | 0 | 720 | 789 | 2 mm |
| | V | 448 | 0 | 476 | 525 | 1.2 mr |

Tabla 5. 3: Diámetros obtenidos mediante la aplicación de la GUI, para las distintas manchas analizadas con ERD.

Nota. El símbolo * se refiere a información que fue imposible de calcular debido al proceso de maduración. La individualidad de cada mancha se ha perdido al formar una región mucho mayor. El ° se refiere a la información con la que no se cuenta. **H** y **V** se refieren a la medida horizontal y vertical del nevo, respectivamente.

De los resultados obtenidos se seleccionaron aquellas imágenes cuyas dimensiones lineales de la mancha fueran superiores a 1 mm (ver Tabla 5.4) y poder comparar su tamaño con los lunares de los voluntarios.

| S Día | Imagen de la mancha | Diámetro | V Fototi | po Imagen del nevo | Diámetro |
|-------|---------------------|---|----------|--------------------|----------------------|
| | del plátano | [mm] | de pie | l | [mm] |
| 1 5 | 0 | Sección marrón formada por la unión de las manchas 2 y 3 | 4 | | 7.4 mm x 7.3 mm |
| 3 4 | 0 | 1.12 mm x 1.9 mm | 5 | V | 1.37 mm x 1.99 mm |
| 3 5 | | 1.2 mm x 3 mm | 7 | | 1.94 mm x 2.39 mm |

 Tabla 5. 4: Nevos y manchas seleccionados para su respectiva comparación, mediante la similitud de diámetros.

| 4 5 | | 1 mm x 862 μm | 3 | II | | 1.2 mm x 1.7 mm |
|-----|---|---------------|---|-----|---|--------------------|
| 4 5 | | 1 mm x 862 μm | 8 | IV | | 1.6 mm x 1.3 mm |
| 6 5 | 0 | 2 mm x 1.2 mm | 1 | III | O | 2 mm x 2.8 mm |
| 6 5 | 0 | 2 mm x 1.2 mm | 2 | III | 0 | 1.4 mm x 1.7 mm |

Nota: La letra V, hace referencia al número de voluntarios.

El resultado obtenido de realizar la comparación por el color, comentada anteriormente, se muestra en la Tabla 5.5, así como también la comparación espectral entre las manchas y los nevos seleccionados de la Tabla 5.4, los cuales fueron elegidos debido a sus dimensiones. A través de la herramienta de MapViewer de MatlabR2016a, se realizó esta primera comparación respecto al color, dado que MapViewer nos permite obtener información sobre una imagen gracias a que cuenta con un visor de mapas y datos geoespaciales en las coordenadas (xy). Específicamente, para visualizar la información de cada pixel de la zona deseada empleamos el Inspector de Valores de Pixel, después de haber empleado la opción de Crop Image, para delimitar el área que el Inspector mostrará en pantalla.

El área seleccionada para el análisis por el color corresponde a $0.159 mm^2$ aproximadamente, la cual es un área muy pequeña en comparación con el área total de ambas lesiones (nevos y manchas) al igual que el área analizada por la sonda (28.27 mm^2).



Tabla 5. 5: Comparación por el color y el espectro de reflexión difusa para algunas de las manchas de la piel del plátano más relevantes.





Tomando como criterio inicial el tamaño de los nevos y manchas en la piel del plátano se obtuvo como resultado el concentrado de las imágenes y diámetros de la Tabla 5.4, que posteriormente se comparó brevemente por su color. No obstante también se realizó la comparación para sus curvas espectrales, donde en 6 de los casos analizados en la Tabla 5.5 podemos notar que el nevo presenta una reflexión mayor entre los 600 nm a los 750 nm respecto a la mancha con la que se compara, además entre los 400 nm a los 500 nm las curvas de todos las comparaciones muestran gran similitud. Lo anterior no hace plantearnos la necesidad de contar con una base de imágenes mucho mayor sobre nevos y manchas, para realizar una comparación más detallada.

Las Figuras 5.11 y 5.12 muestran parte del proceso empleado para obtener la información acerca del color. Inicialmente se selecciona una imagen desde la App de MapViewer de MatlabR2016a y se realiza un corte a la misma para delimitar el área a comparar, especialmente seleccionaremos zonas centrales tanto para el nevo y la mancha, para después aplicar el visor de valores de pixel tal como se muestra en la imagen de la Figura 5.12.



Figura 5. 11: Ejemplo de la ventana principal de la App de MapViewer disponible en Matlab R2016a.

| Pixel Re | nion (Image | Tool 1) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | - | a x |
|-----------|-------------------------|---------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------------|
| File Edit | Window | Help | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| `m `m 🕈 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B: 43 | 8: 49 | 81.55 | B: 51 | 5: 44 | 8: 41 | 8: 38 | 8: 41 | B: 47 | 8: 35 | 8: 50 | B: 90 | B: 56 | 8: 30 | B: 99 | 8: 57 | 81.20 | B1 04 | B: 67 | B: 56 | B: 18 | 5: 44 | 81 42 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R: 89 G: 63 B: 60 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:107 G: 78 B: 75 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:102 G: 73 B: 79 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:102 G: 74 B: 67 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:100 G: 70 B: 54 |
| | R: 79 G: 53 B: 44 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:100 G: 68 B: 54 |
| | R: 78 G: 51 B: 43 | | R: 80 G: 56 B: 45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R: 97 G: 67 B: 55 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Figura 5. 12: Valores correspondientes a la región seleccionada en la figura 11, mediante el Inspect pixel values y la opción de Crop Image.

5.4 Conclusiones

Fueron empleados varios operadores para la detección de bordes en los objetos de interés (lunares en los voluntarios y manchas color café en los plátanos), determinándose que los operadores: Sobel, Prewit y Roberts, son los más apropiados para esta aplicación. Por esta razón, son los candidatos para utilizar en la interfaz gráfica final que se diseñe como primera versión de prototipo funcional para uso clínico.

El algoritmo para el conteo de objetos con características específicas en una imagen, funciona correctamente para el caso de imágenes sintéticas, sin embargo presenta algunos inconvenientes al realizar el conteo en imágenes reales como las correspondientes a la piel del plátano. Consideramos que un factor responsable de este fallo es que durante el proceso de maduración de la fruta se presentan zonas donde el borde de las manchas independientes se une llegando a formar zonas de mayor proporción que el algoritmo interpreta como una sola mancha, arrojando un resultado poco confiable en estos casos.

El algoritmo empleado para medir los diámetros de nevos y manchas, opera correctamente, siempre que garanticemos que el objeto usado como "patrón de tamaño" se encuentre en el mismo plano conjugado que la mancha a medir. En estas condiciones para ambos objetos se obtendrá la imagen en el mismo plano del sensor de la cámara. Por lo tanto, es necesario realizar el proceso de calibración con meticulosidad estricta. Por otra parte, este procedimiento se vería ampliamente beneficiado por el uso de un patrón de dimensiones microscópicas profesional y mesas de micro posicionado, aspecto que no fue posible garantizar por razones de carencia en la infraestructura de nuestro laboratorio. En cuanto a la parte del algoritmo computacional en la cual realizamos manualmente la selección de los límites del objeto a medir, consideramos que debe ser sustituida por un procedimiento automático que evite errores asociados al operario con un consecuente aumento en el grado de confiabilidad de las mediciones de los diámetros.

La comparación, en cuanto a color, de las manchas de la piel del plátano y los nevos al realizarse con las herramientas disponibles en el software MATLAB R2016a, arrojó que la mayoría las manchas de la piel del plátano analizadas, alcanzan una tonalidad muy semejante en sus centros, a diferencia de la tonalidad en sus extremos donde es mucho más suave, pasando de un marrón claro en las orillas a un marrón oscuro en el centro. En los nevos, se obtuvo un resultado diferente: el color es mucho más homogéneo en toda el área que estos abarcan. Es importante enfatizar que la zona extensa de la mancha o el nevo se explora mediante esta herramienta (MapViewer: Inspector de Valores de Pixel) similarmente a un proceso de escaneo debido a lo reducido del área de exploración (20x10 pixeles) que brinda la misma.

En cuanto a la comparación de las curvas espectrales de los nevos y manchas seleccionas por tamaño y color, concluimos se puede hablar de cierta similitud en la forma espectral solamente para la región espectral de longitudes de onda más bajas (400-500 nm), mientras que para la región de longitudes de onda mayores (500-650 nm) la similitud es muy poca. Consideramos que este estudio se debe continuar para incrementar la cantidad de espectros comparados y contar así con una base de datos espectrales mucho más rica y variada tanto para nevos como manchas color café en los plátanos y garantizar una comparación exhaustiva de las características espectrales y su similitud para ambos objetos de estudio.

Referencias

[1] Domínguez Torres, A., Procesamiento digital de imágenes Perfiles Educativos, núm. 72, abriljunio, 1996 Instituto de Investigaciones sobre la Universidad y la Educación Distrito Federal, México

[2] Alcaraz Avendaño, C. M., Flores Vázquez, J.M., (2013). Conteo de Objetos en una Imagen, Pistas Educativas No. 106, diciembre 2013. México, Instituto Tecnológico de Celaya.

[3] Arbeláez Salazar, O., Medina Aguirre, F. A., Chaves Osorio, J.A., Herramientas para el desarrollo rápido de aplicaciones web Scientia Et Technica, vol. XVII, núm. 47, abril, 2011, pp. 254-258 Universidad Tecnológica de Pereira Pereira, Colombia

[4] EcuRed, (2019). Modelo de desarrollo rápido de aplicaciones, información recuperada de <u>https://www.ecured.cu/Modelo de desarrollo r%C3%A1pido de aplicaciones</u>

[5] El conspirador (2013). Modelos de desarrollo de software, información obtenida de: <u>https://www.elconspirador.com/2013/08/19/modelos-de-desarrollo-de-software/</u>

[6] Gonzalez, R., y Woods, R. (2011). Digital Image Processing Using MATLAB. Second edition. Boston MA: Addison_Wesley.

[7] Cauich, C. (2018). Detección de Bordes Visión Artificial 13/03/2012. Obtenido de: https://www.academia.edu/24190825/Detecci%C3%B3n_de_Bordes_Visi%C3%B3n_Artificial_13_03_2012?auto=download

Capítulo VI

Conclusiones Generales

6.1 Conclusiones Generales

Conforme a la literatura analizada, el melanoma cutáneo es el responsable del 80% de las muertes por cáncer de piel a pesar de que él representa solamente el 4% de las neoplasias malignas de este órgano. Entre los criterios que se manejan para su diagnóstico destacan la regla "ABCDE" y la biopsia, la cual continúa ocupando el roll de la "regla de oro" para realizar un diagnóstico confiable, aunque tiene ciertas desventajas como son: 1) proceso invasivo, 2) muchas veces doloroso, 3) tardado, etc. Estas desventajas de la biopsia, han generado la propuesta de variadas técnicas ópticas no invasivas para diagnosticar el melanoma cutáneo.

En este trabajo de tesis implementamos la denominada espectroscopia de reflexión difusa (ERD) la cual ha sido ampliamente utilizada para realizar la discriminación del melanoma cutáneo respecto a lesiones pigmentadas de la piel. El objetivo fundamental de esta tesis fue la caracterización espectral de lesiones pigmentadas benignas (nevos) mediante la ERD, en voluntarios con distintos Fototipos, así como él estudió de la evolución temporal del ERD de distintas muestras de plátanos de la variedad Musa Cavedishii, resultados que posteriormente fueron analizados y comparados.

De lo anterior se pudo garantizar adecuadamente la caracterización espectroscópica en la región de 400-750 nm, rango que nos permitió observar el comportamiento de la melanina presente en la piel, así como la forma característica de la hemoglobina oxigenada. En cuanto a los resultados obtenidos para la piel del plátano, se logró reproducir espectros semejantes en la región espectral de 400-750 nm al comportamiento reportado por Subedi y Walsh. Por ejemplo, en λ = 680 nm encontramos un mínimo de reflexión que se debe a una de las bandas de absorción de la molécula de clorofila-a presente en esta fruta.

De manera conjunta, se realizaron medidas de ERD con dos sondas distintas, para lo cual se simuló algunos de los errores más comunes, de un entorno clínico, al evaluar la influencia de la distancia en la toma de ERD, donde fue posible notar que tanto las curvas espectrales registradas para la zona con manchas como las tomadas en la zona sin mancha son bastante similares en contacto, sin embargo conforme la distancia incrementa se muestra una gran diferencia entre las mismas. Además, otro aspecto estudiado fue la influencia del ángulo de, cuyos resultados nos permiten asumir, un margen de error, restringible a valores de ángulos menores a 5°. Este aspecto debe ser objeto de estudio en un futuro inmediato mediante el uso de un instrumento que permita realizar una medición más precisa del ángulo establecido, lo cual no fue posible en esta investigación.

Uno de los objetivos de emplear dos sondas diferentes fue tratar de obtener algún valle en la región de UV, que correspondiera a la presencia de la enzima tirosinasa, sin embargo, este objetivo no fue alcanzado, debido a diversas limitaciones, no obstante, este estudio es fundamental por lo que se desea dar continuación al mismo.

En cuanto al desarrollo de una GUI para la detección de bordes, conteo de objetos y medición de los diámetros de nevos y manchas, se logró, que esta operara correctamente, siempre que garanticemos que el objeto usado como "patrón de tamaño" se encuentre en el mismo plano conjugado que la mancha a medir. Por lo tanto, es necesario realizar el proceso de calibración con meticulosidad estricta. Por otra parte, este procedimiento se vería ampliamente beneficiado por el uso de un patrón de dimensiones microscópicas profesional y mesas de micro posicionado, aspecto que no fue posible garantizar por razones de carencia en la infraestructura de nuestro laboratorio. Así mismo consideramos que la selección manual de los límites, para medir los diámetros debe ser sustituida por un procedimiento automático que evite errores asociados al operario con un consecuente aumento en el grado de confiabilidad de las mediciones de los diámetros. Por último, la comparación, en cuanto a color, de las manchas de la piel del plátano y los nevos al realizarse con las herramientas disponibles en el software MATLAB R2016a, arrojó que la mayoría las manchas de la piel del plátano analizadas, alcanzan una tonalidad muy semejante en sus centros, a diferencia de la tonalidad en sus extremos donde es mucho más suave, pasando de un marrón claro en las orillas a un marrón oscuro en el centro. En los nevos, se obtuvo un resultado diferente: el color es mucho más homogéneo en toda el área que estos abarcan. Es importante enfatizar que la zona extensa de la mancha o el nevo se explora mediante esta herramienta (MapViewer: Inspector de Valores de Pixel) similarmente a un proceso de escaneo debido a lo reducido del área de exploración (20x10 pixeles) que brinda la misma.

En cuanto a la comparación de las curvas espectrales de los nevos y manchas seleccionas por tamaño y color, concluimos se puede hablar de cierta similitud en la forma espectral solamente para la región espectral de longitudes de onda más bajas (400-500 nm), mientras que para la región de longitudes de onda mayores (500-650 nm) la similitud es muy poca. Consideramos que este estudio se debe continuar para incrementar la cantidad de espectros comparados y contar así con una base de datos espectrales mucho más rica y variada tanto para nevos como manchas color café en los plátanos y garantizar una comparación exhaustiva de las características espectrales y su similitud para ambos objetos de estudio.

Anexo A

A continuación se describe el proceso de calibración, empleado para la toma de espectros de reflexión difusa mediante el uso del software, SpectraSuite.

Los elementos involucrados en el sistema de espectroscopía de reflexión difusa se describen en la figura 3.1 de esta tesis.

Paso 1:

Primeramente, se debe tener todo conectado correctamente, en cada puesto correspondiente, para nuestro sistema, hacemos uso del espectrómetro USB 4000 y una sonda de fibra óptica de elaboración propia. Para comenzar nuestro proceso de calibración correspondiente es necesario, contar con un espacio de trabajo con poca iluminación evitando cualquier fuente que pueda alterar los resultados.

Dicho esto, el paso uno es contar con un entorno apropiado donde realizar las mediciones.

Paso 2:

Ingresar a la pantalla principal de nuestro software SpectraSuite.



Figura 1. Pantalla principal del software SPECTRA SUITE.

El software cuenta con diversas funcionalidades sin embargo en este caso es de nuestro interés dar una guía rápida, sobre el proceso de calibración, antes de realizar cualquier medición de reflexión difusa. Para cada parámetro que se desee obtener se debe seguir un proceso en específico al pie de la letra ya sea transmisión, reflexión u absorción.

Paso 3:

Familiarizarnos con nuestro entorno, entre los aspectos fundamentales que debemos conocer de esta interfaz, son la barra de herramientas de adquisición, que se encuentra en un rectángulo color rojo. Posteriormente tenemos la parte de controle se indicadores, marcado en un rectángulo color azul, en la parte inferior de esta barra encontramos un panel, que nos muestra de forma gráfica el espectro del elemento en cuestión, remarcada en un color amarillo, así mismo contamos con varios otros elementos que nos brindan información y/o acciones complementarias.

Paso 4:

Coloque el software SpectraSuite en modo "Scope" haciendo clic en el icono "S" en la barra de herramientas, desde donde modificaremos los parámetros en la barra de herramientas de adquisición. Para nuestro caso se empleo un cilindro de teflón blanco, como elemento de calibración debido a su alto grado de reflexión. Los elementos esenciales que modificaremos serán el tiempo de integración, mismo que dependerá directamente del tipo y potencia de la fuente empleada en las mediciones. Además del número de escaneos a realizar, entre más escaneos realicemos mas limpia será la señal del espectro resultante, sin embargo esto es acosta de tiempo.

| Tiempo de integración | Tiempo de integración, expresado en micro o mili segundos | Integration Time: | 100 milliseconds |
|--------------------------|--|----------------------|------------------|
| Escaneos promedio | Número de escaneos realizados y promediados. Entre más escaneos, más demora el arrojar el resultado, sin embargo muestra más limpia la señal. | Scans to Average | |

Tabla 1. Barra de herramientas de adquisición.

Paso 5:

Toma de los espetcros de referencia:

A.- Haga clic en el icono Almacenar espectro de referencia (¹) en la barra de herramientas, posteriormente, simplemente se almacena el espectro de referencia en la memoria.

B.- Después de debe bloquear la trayectoria de la luz hacia el espectrómetro, seguido

de ello se toma un espectro oscuro haciendo clic en el Icono Dark Spectrum () en la barra de herramientas. Este comando simplemente almacena un espectro oscuro en la memoria.



Figura 2. El espectro mostrado en la parte izquierda, es aquel tomado como referencia de la fuente, mientras que el espectro mostrado a la izquierda, es el espectro de referencia oscuro.

Después de ello se debe seleccionar el modo de procesamiento "Reflexión" bajo el icono
 R). Obteniendo el siguiente resultado en nuestro caso.



Figura 3. Espectro de reflexión difusa obtenido del proceso de calibración, con ayuda de un cilindro de teflón blanco.

Finalmente podemos comenzar a realizar las mediciones en el área que deseamos, guardando el resultado de cada una de ellas como un archivo de texto, que posteriormente graficaremos.

La formula matemática que el software emplea para calcular la reflecixión difusa, es la misma que emplea en la captura de espectros de transmisión, para espectroscopía de transmisión, ya que la matemática necesaria para calcular la transmisión es idéntica a la requerida

para reflexionar

Debe tomar referencia y espectros oscuros en modo Alcance antes de poder acceder al modo Reflexión.

SpectraSuite calcula el reflejo de una solución utilizando la siguiente ecuación:

$$\% T_{\lambda} = \frac{S_{\lambda} - D_{\lambda}}{R_{\lambda} - D_{\lambda}} * 100\%$$
 (1)

Dónde:

 S_{λ} = Intensidad de la muestra en la longitud de onda (λ)

 D_{λ} = intensidad oscura en la longitud de onda (λ)

 R_{λ} = Intensidad de la referencia en la longitud de onda (λ)

Nota: Información obtenida del manual de usoo del software: SpecraSuite, en la página: https://mmrc.caltech.edu/Biologic%20Stopped%20Flow/Manuals/Ocean%20Optics/SpectraSuite. pdf#page=56&zoom=100,0,488

Anexo B

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título de la Investigación: Caracterización de nevos o lunares comunes mediante espectroscopía de reflexión difusa e imágenes digitales a color.

Investigador principal: Dra. Margarita Cunill Rodríguez

Co-Investigadores: Sonia Buendia Aviles (Estudiante de Maestría en Computación Óptica); Dr. José Alberto Delgado Atencio; Dr. Cristóbal Arni Ramírez Ocádiz.

Lugar: Laboratorio de Óptica Biomédica de la Universidad Politécnica de Tulancingo (UPT). Tulancingo, Hidalgo, México.

Grupo de Investigación de Óptica Biomédica: Dr. José A. Delgado Atencio, Dra. Margarita Cunill Rodríguez, alumnos de la Maestría en Computación Óptica y del doctorado en Optomecatrónica.

Participantes: Estudiantes de la Universidad Politécnica de Tulancingo.

INTRODUCCIÓN

Usted ha sido invitado a participar en este estudio de investigación debido a que en el mismo hemos considerado las variables que pueden influir en la información adquirida, tales como: edad, condición física y fototipo de piel de los participantes, por lo que al pertenecer usted a una muestra de población con una edad comprendida entre los 18 y 30 años, contribuye a que dispongamos de un *grupo de control* lo cual es imprescindible en este tipo de investigación.

El contenido de esta carta de Consentimiento Informado, puede no ser totalmente entendido, por lo que se sugiere preguntar a cualquiera de los investigadores del estudio para que le explique claramente lo que usted no entendió antes de tomar la decisión de participar.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO

El diagnóstico del melanoma sigue siendo un reto para el médico especialista, pues no siempre se puede distinguir a simple vista un lunar común de un melanoma en sus fases iniciales, lo que ha dado pauta al desarrollo e innovación de técnicas ópticas que puedan ser útiles en su detección, en una forma no invasiva, esto es, sin el uso de muestras o biopsias para su análisis con los procedimientos tradicionales. Entre esas técnicas no invasivas se destaca la espectroscopia de reflexión difusa (ERD) para caracterizar y diferenciar lesiones cutáneas benignas y malignas.

El presente estudio tiene por objetivo obtener información básica en regiones de la piel de interés diagnóstico, a partir del análisis de los espectros de reflexión difusa tomados en lunares o nevos comunes, con el fin de contribuir al uso y desarrollo de técnicas ópticas no invasivas para la caracterización y detección temprana del cáncer de piel del tipo melanoma. Además, se tomarán imágenes macroscópicas a color (fotografías) de la región de la piel que se pretende estudiar.

PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN

Los espectros de reflexión difusa (ERD) serán adquiridos, colocando la zona a medir delante de un sistema conformado por una sonda bifurcada de fibra óptica que se encuentra acoplada a un espectrómetro óptico y una fuente de iluminación del tipo halógeno que emite luz blanca. Todas las mediciones se realizarán en contacto con la piel, pero sin ejercer presión sobre la misma. El espectrómetro en particular mide las propiedades de la fracción de luz recogida por el sistema quedando expresada estas mediciones en un gráfico llamado espectro de reflexión difusa.

La toma de las imágenes macroscópicas a color (fotografías) consiste en ubicar la zona de interés a medir frente a un sistema de adquisición de imágenes constituido por una cámara más una lente de enfoque que se puede operar a través de su propio software, siendo iluminada esa región, con una fuente de luz adicional para obtener un buen contraste.

Serán seleccionadas dos regiones de interés a medir: a) lunares comunes que se encuentren entre la zona del brazo y antebrazo y b) la zona central del dorso de la mano. Se tomarán espectros de control en regiones libres de lunares (piel sana) próximas a las zonas mencionadas anteriormente.

Se espera que todo el procedimiento de las mediciones demore aproximadamente entre 10 y 20 minutos por persona.

RIESGOS Y EFECTOS SECUNDARIOS

Es poco probable que se manifiesten reacciones secundarias a las mediciones efectuadas debido a que la intensidad de la luz blanca transmitida a través de la fibra óptica es muy baja. Además, el riesgo producido por la instrumentación utilizada en caso de sufrir alguna avería en el momento del estudio, y que cause afectaciones a los participantes, es prácticamente nulo.

INFORMACIÓN GENERAL

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Usted es libre de decidir participar o no, sin que ello represente algún tipo de afectación a su situación personal, académica y económica, en modo alguno.

BENEFICIOS Y ALTERNATIVAS

Debe quedar claro que su participación es voluntaria y no recibirá ningún tipo de beneficio (académico, económico o social).

Su participación será una contribución para el desarrollo de la ciencia y el conocimiento debido a que en este estudio se espera obtener información útil para el mejoramiento de las técnicas tradicionales empleadas en el diagnóstico del cáncer de piel, que pudieran ser efectivas o de uso colateral en la clasificación y detección de enfermedades cutáneas, en forma no invasiva e indolora; y que a su vez permita optimizar los costos y tiempos empleados por las técnicas actuales. Específicamente, se pretende evaluar y adquirir una mejor comprensión de las variables que intervienen en el diagnóstico temprano del cáncer de piel del tipo melanoma cutáneo usando la ERD.

CONFIDENCIALIDAD

Los datos proporcionados por usted serán manejados con estricta discreción y confidencialidad. Su nombre, así como otros datos personales, no serán revelados de ninguna manera. Sin embargo, los resultados de este estudio pueden ser objeto de publicación en reportes técnicos, tesis de grado y artículos científicos.

RESPONSABILIDAD

Si por coincidencia durante el momento en que se esté realizando la adquisición de sus datos, usted presenta alguna molestia, o llegara a sentirse indispuesto, la instalación médica de la universidad está disponible para brindarle el servicio acostumbrado por el doctor a su cargo. Las molestias que usted refiera se anotarán en el cuaderno de trabajo de esta investigación y usted será acompañado a la enfermería de la universidad por uno de los integrantes del proyecto.

DERECHO A RETIRARSE DEL ESTUDIO

Si en algún momento, a pesar de haber consentido su participación, usted considera, que tomar parte en este estudio ya no es de su interés o simplemente decidió no continuar con su participación, deberá informarlo y se le retirará del estudio, sin que exista alguna repercusión.

PREGUNTAS/DUDAS:

Cualquier duda o pregunta sobre el presente estudio serán resueltas por la Dra. Margarita margarita.cunill@upt.edu.mx.; Cunill Rodríguez: la Ing. Sonia Buendia Aviles: sonia.buendia.1731023@upt.edu.mx; Alberto el Dr. José Delgado Atencio: jose.delgado@upt.edu.mx; y el Dr. Cristóbal Arni Ramírez Ocádiz: Cristobal.ramirez@upt.edu.mx

CONSENTIMIENTO DEL VOLUNTARIO

Manifiesto que he leído el presente formato de Consentimiento Informado y que todas mis preguntas y dudas han sido respondidas y aclaradas a mi completa satisfacción.

Declaro que mi firma registrada en la parte de abajo significa que de manera libre y voluntaria estoy de acuerdo en tomar parte en este estudio de investigación, y que todas las condiciones establecidas en este formato de consentimiento son aceptables para mí.

Nombre completo del voluntario:

Firma del voluntario:

Fecha de consentimiento:



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE TULANCINGO

TARJETA INFORMATIVA

| PARA | Dr. Alfonso Padilla Vivanco. Secretario Académico de la UPT. |
|--------|--|
| DE | Dra. Margarita Cunill Rodríguez y Dr. José Alberto Delgado Atencio. PTC de la UPT |
| ASUNTO | Caracterización de nevos o lunares comunes usando la Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD) e Imágenes Digitales a color, a los estudiantes de la UPT que deseen participar en el estudio. Grupo de Óptica Biomédica de la UPT. Tiempo estimado: 2 meses |
| FECHA | Del 13 de mayo al 12 de julio de 2019 |

Por medio de la presente me permito hacer de su conocimiento que a partir del día lunes 6 de mayo de 2019, la Ing. Sonia Buendia Aviles, estudiante de la maestría en Computación Óptica, incorporada en el grupo de Óptica Biomédica, comenzará a realizar las mediciones correspondientes de Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD) sobre los nevos (lunares comunes) de alumnos voluntarios de la UPT, con la intención de procesar e incorporar la información obtenida a su trabajo de tesis.

El proceso de selección de los voluntarios se realizará bajo la supervisión del médico de la institución: Dr. Cristóbal Ami Ramírez Ocádiz; y la toma de los espectros de reflexión difusa e imágenes digitales a color se realizará en el Laboratorio de Óptica Biomédica, con el apoyo del grupo de investigación y según lo establecido y fundamentado en el documento: Carta de Consentimiento Informado.

Hemos considerado además, llevar a cabo una campaña preventiva contra el cáncer de piel a nuestra comunidad universitaria a través de una infografía colocada en los murales y páginas sociales de la UPT.

Finalmente, se elaborará un informe técnico que contemple los aspectos más relevantes del estudio y se entregará a la dirección de Investigación y Posgrado de la UPT para su uso pertinente a los niveles requeridos.

Cordialmente,

Dra. Margarita Cunill Rodríguez y Dr. José Alberto Delgado Atencio, asesor y co-asesor, respectivamente, de la tesis de maestría de la Ing. Sonia Buendia Aviles.

Dra. Margarita Cunill Rodriguez



Anexo C

MELANOMA

¡Prevenir es curar, cuida tu piel!



23 de Mayo Día mundial contra el Melanoma

MELANOMA

Es uno de los tres tipos principales de cáncer de piel y el causante de la mayoría de las muertes por este tipo de neoplasia, por ello su detección en etapas tempranas es determinante para un tratamiento oportuno. Éste se origina a partir de los melanocitos, las células que producen el pigmento marrón que le da a la piel su color. Los melanocitos también pueden formar crecimientos benignos conocidos como lunares o nevos.



Los hombres son más propensos que las mujeres

FACTORES DE RIESGO



Frecuente exposición solar. Antecedentes



familiares (genética).



Poseer gran cantidad de lunares.





cámaras de bronceado.

Tener piel clara (Fototipos I y II) incrementa las posibilidades, sin embargo todos son susceptibles a padecer cáncer de piel.

Trabajar o hacer deporte en horas de mayor radiación solar sin protección.

Ante cualquier duda no dudes en consultar a un médico especialista.

TIPOS DE CÁNCER DE PIEL





Células Escamosas

Melanoma

Basocelular ¿CÓMO DETECTAR EL MELANOMA?

Realiza una autoinspección a tu piel, en lunares con las siguientes características:



Evitar la exposición principalmente entre las 11 y las 16 horas, incluso estando nublado el día.



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE TULANCINGO

TARJETA INFORMATIVA

| PARA | Dr. Alfonso Padilla Vivanco. Secretario Académico de la UPT. |
|--------|--|
| DE | Dra. Margarita Cunill Rodríguez y Dr. José Alberto Delgado Atencio. PTC de la UPT |
| ASUNTO | Campaña preventiva contra el cáncer de piel en nuestra comunidad universitaria mediante una infografía colocada en los murales y páginas sociales de la UPT. Grupo de Óptica Biomédica de la UPT. Tiempo estimado: 2 meses |
| FECHA | Del 22 de mayo al 12 de julio de 2019 |

Como parte de la campaña preventiva contra el cáncer de piel (23 de mayo día mundial contra el melanoma) hemos considerado realizar una Infografía, con la finalidad de ser colocada en los murales de los principales edificios de esta casa de estudios; y en las páginas sociales de la UPT. Para ello deberemos contar con el apoyo de los compañeros del área de divulgación de la UPT, de ser posible con la impresión a color de 8 infografías con una dimensión de 27,94 X 43,17 cm de ancho por largo, respectivamente.

Cabe destacar que esto forma parte del trabajo de tesis de maestría de la Ing. Sonia Buendia Aviles titulado: "Caracterización del Melanoma Cutáneo Mediante Espectroscopía de Reflexión Difusa"; y que se describió con más detalles en la Tarjeta Informativa entregada en Secretaría Académica con fecha 8 de mayo de 2019.

Cordialmente,

Dra. Margarita Cunill Rodríguez y Dr. José Alberto Delgado Atencio, asesor y co-asesor, respectivamente, de la tesis de maestría de la Ing. Sonia Buendia Aviles.

Dra. Margarita Cunill Rodríguez

1

Dr. José Alberto Delgado Atencio

Vo. Bo. When Jud Conwacho B. Dr. Césur Jud Conwacho B.

Anexo D

Propuesta del instrumento a aplicar a voluntarios de la UPT

Estudio: Caracterización de nevos o lunares comunes mediante espectroscopía de reflexión difusa e imágenes digitales a color.

Fecha: / /

| Nombre del voluntario: | |
|------------------------|--|
| Edad: | |
| Genero: | |

A continuación se plantean una serie de preguntas, para lo cual se le solicita de la forma más amable sea lo más sincero en sus respuestas. Las siguientes preguntas que se plantean, forman parte del instrumento propuesto por Silonie Sachdeva, para la clasificación del fototipo de piel de una persona, basada en la escala de Fitzpatrick, para lo cual a cada respuesta se le asigna un puntaje correspondiente, la suma de los puntos, nos permite clasificar su fototipo de piel en uno de los 6 planteados en la escala de Fitzpatrick.

| | Encuesta p | oara la clasificaci | ión del fototipo | de piel | |
|-------------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------|-------------|
| PREGUNTAS VALOR | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Disposición genética | | | | | |
| Cuál os al salar da | Azul clara gric | Azul gric o | A 711 | Cafá clara | Cafá |
| tus aias2 | Azul Claro, gris | Azul, gris o | Azui | Cale claro | |
| | 0 verue | verue | | | Negro |
| ¿Cuál es el color | Roio castaño/ | Rubio | Café claro / | Café oscuro | Negro |
| natural de tu cabello? | Rojo cobrizo | | Rubio oscuro | | -0 |
| | _ | | | | |
| ¿Cuál es el color de tu | Rojiza | Muy pálida | Pálida con | Café claro | Café |
| piel cuando no está | | | tinte beige/ | | oscuro |
| bronceada (zonas no | | | durazno | | |
| expuestas a radiación | | | | | |
| 50101)! | | | | | |
| ¿Cuántas pecas | Muchas | Varias | Pocas | Algunas | Ninguna |
| tienes en tu piel de | | | | _ | _ |
| manera natural en | | | | | |
| zonas no expuestas a | | | | | |
| radiación solar? | | | | | |
| Reacción a la exposició | n solar | | | | |
| ¿Qué sucede cuando | Enrojecimiento | Ampollas | Quemaduras | Rara vez se | Nunca se |
| tu piel se expone por | doloroso, | seguidas de | y a veces | quema | quema |
| demasiado tiempo al | ampollas y | descamación | descamación | | |
| sol/ categoría que | descamación | | | | |
| describe mejor su | | | | | |
| potencial de | | | | | |
| de exponerse al soll? | | | | | |
| ¿En qué medida su | Apenas o nada | Poco un | Bronceado | Bronceado muy | Se vuelve |
| piel se broncea/ | en absoluto | bronceado | razonable | fácil | café oscuro |
| potencial de | | muy claro | | | rápidamente |
| bronceado de tu piel? | | | | | |

| ¿Se broncea después de varias horas de exposición solar? | Nunca | Raramente | A veces | Frecuentemente | Siempre | |
|--|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|---------------------------------|--|
| ¿Cómo reacciona la piel de tu rostro a la exposición solar? | Muy sensible | Sensible | Normal | Muy resistente | Nunca tuve algún problema | |
| Hábitos de bronceado | | | | | | |
| ¿Cuándo fue la última vez que se bronceo (naturalmente/ artificialmente con lámpara solar/ crema bronceadora) | Hace más de 3 meses | Hace 2-3 meses | Hace 1-2 meses | Hace menos de un mes | Hace menos de 2 semanas | |
| ¿Se broncear al sol de manera regular? | Nunca | Casi nunca | Algunas veces | Frecuentemente | Siempre | |
| TOTAL | | | | | | |

| Puntuación total correspondiente al tipo de piel de Fitzpatrick | | | |
|---|---------------------------|--|--|
| Fototipo de piel correspondiente | Total de puntos obtenidos | | |
| I | 0-7 | | |
| I | 8-16 | | |
| III | 17-25 | | |
| IV | 26-30 | | |
| V y VI | Más de 30 | | |

Fototipo de piel del voluntario como resultado de la encuesta:______

Fototipo de piel conforme a la observación de:

Médico de la UPT _____
Anexo E

Espectros de reflexión difusa obtenidos para dos muestras de plátano, estudiadas en el laboratorio del Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas de la Universidad de Cantabria, en Santander España.

Las gráficas siguientes muestran los resultados obtenidos en un rango espectral desde los 220 nm hasta los 1100 nm, para una serie de distancias entre la sonda y la muestra de medición.

Tabla 2. Resultados obtenidos para las todas las distancias implementadas en el estudio de la variabilidad de la distancia "sonda-muestra" en un rango espectral de 220 nm a 1100 nm.





132

Anexo F

Espectros de reflexión difusa obtenidos para cada uno de los voluntarios que participaron en este estudio, pertenecientes a la Universidad Politécnica de Tulancingo. Los resultados se encuentran ordenados por número de voluntario iniciando en 1 hasta el 10.









Espectros de Reflexión difusa Error porcentual

















Espectros de Reflexión difusa Error porcentual





Anexo G

Códigos implementados en MATLAB, para el conteo de manchas, medición de los diámetros, reconocimiento de bordes, los códigos mostrados posteriormente fueron incluidos en una interfaz gráfica de usuario que fuera más amigable de implementar y no solo texto plano, sin embargo por comodidad se explica con texto plano el funcionamiento de cada uno de ellos. Además se incluye un pequeño ejemplo de uso de la herramienta MapViewer, de MATLAB 2016^a.

Detectar bordes

En la parte inferior se muestran algunos de los operadores para detectar bodes implementados:

```
clear all
```

```
[Nombre Archivo0
Ruta0]=uigetfile({'*.PNG;*.JPG;*.JPEG;*.GIF;*.TFF;*.BMP'},'TRATAMIENTO DE
IMAGENES'); %%Línea que nos permite abrir imágenes en los
                                                            formatos
anteriores.
  isequal (Nombre Archivo0, 0)
  imagen=imread(strcat(Ruta0,Nombre Archivo0)); %% Lee la ruta donde se
encuentra el archivo
  subplot(2,1,1); %% Muestra la imagen en un plot dividido.
  imshow(imagen);%% Visualización de la imagen original
  title('Imagen Original');%% Título de la imagen
  grayImage= rgb2gray(imagen); %%Imagen en escala de grises
  afterFilter = edge(grayImage, 'Roberts'); %%Aplicación del operador para
reconocer bordes "Roberts"
      subplot(2,1,2);
  imshow(afterFilter);
  %%Otros operadores de bordes son:
  XB = edge(XG, 'sobel');
  ୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫୫
  edge(grayImage, 'prewitt')
  Im edge general=edge(Im gray, 'canny');
  edge(grayImage, 'zerocross');
```

Los ejemplos del uso de estos operadores se encuentran en el capítulo V.

Contar objeto presentes en una imagen

```
clc,clear all
  [Nombre Archivo0
                                                  Ruta0]=uigetfile({'*.PNG;
*.JPG;*.JPEG;*.GIF;*.TFF;*.BMP'},'TRATAMIENTO DE IMAGENES');
  isequal(Nombre Archivo0,0)
  imagen=imread(strcat(Ruta0,Nombre Archivo0));
  Im R=imagen(:,:,1);
  Im G=imagen(:,:,2);
  Im B=imagen(:,:,3);
  [m,n,p]=size(imagen);
  m = 1280;
  n=960;
  p=3;
  Im_gris=rgb2gray(imagen);
  Im bin=im2bw(imagen,0.21);
  imshow(Im_bin);
  Im etiqueta=bwlabel(Im bin,8);
  total objetos=max(max(Im etiqueta));
  disp('El número total de objetos en la imagen es:')
  disp(total objetos)
  hold on
```



El número total de objetos en la imagen es:

3



Medir distancias

```
clear all
  [Nombre Archivo0
                                                 Ruta0]=uigetfile({'*.PNG;
*.JPG;*.JPEG;*.GIF;*.TFF;*.BMP'},'TRATAMIENTO DE IMAGENES');
  isequal(Nombre Archivo0,0)
  imagen=imread(strcat(Ruta0,Nombre Archivo0));
  imshow(imagen);
  title('Imagen Original');
  msgbox('Haga 2 click: para una distancia correspondiente a 1cm', 'Patrón
de referencia'); %%Para esta ocasión estamos declarando desde un inicio que
el objeto tomado como referencia debe de contar con una longitud de 1 cm.
  pause (2)
  [x y]=ginput(2);
  x1=x(1); x2=x(2);
  y1=y(1); y2=y(2);
  d=sqrt((x1-x2)^{2}+(y1-y2)^{2});
  Patron3cm=d;
  [Nombre Archivo0
                                                 Ruta0]=uigetfile({'*.PNG;
*.JPG;*.JPEG;*.GIF;*.TFF;*.BMP'},'TRATAMIENTO DE IMAGENES');
   isequal(Nombre Archivo0,0)
  imagen1=imread(strcat(Ruta0,Nombre Archivo0));
  imshow(imagen1);%%Selección de la imagen que contiene el objeto al que
nos interesa conocer su diámetro.
  title('Imagen Original');
  while 1
   %disp('Haga
                   click para medir distancia (doble click
                2
                                                                      para
terminar)...');
```

```
msgbox('Haga 2 click: para medir distancia (doble click para terminar)..
...', 'Patrón de referencia');
  pause (2)
   [x y]=ginput(2);
   x1=x(1); x2=x(2);
   y1=y(1); y2=y(2);
  if (x1==x2) & (y1==y2), break;end;
   d=sqrt((x1-x2)^{2}+(y1-y2)^{2});
   Xcm=(3/Patron3cm) *d;
   mm=Xcm*10;
   mc=Xcm*10000;
   nm=Xcm*1000000;
   format long
  a=Xcm, disp('en Centimetros');
  b=mm, disp('en Milímetros');
  c=mc, disp('en Micras');
  d=nm, disp('en Nanometros');
   end;
  disp('fin');
```



Uso de la herramienta MapViewer

Primero que nada se debe corroborar la versión con que se trabaja en MATLAB, dado que algunas versiones son mas actuales y poseen mejores herramientas, sin embargo, contraste a ello también existen versiones pasadas que carecen de algunas de las nuevas funciones.

En cuanto a lo que se realizó anteriormente en el capitulo V para observar el color, fue trabajar con la APP de MapViewer de MATLAB, seleccionar el área de interés y obtener el mapa de estas, como se muestra a continuación.



| Pixel Region (Image Tool 1) File Edit Window Help | | | | | | | | | | | | | | | × | | | | | | |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 4 2 | R:53 G:35 B:33 | R:53 G:35 B:33 | R:53 G:35 B:33 | R:54 G:36 B:34 | R:54 G:36 B:34 | R:55 G:37 B:33 | R:55 G:37 B:33 | R:56 G:38 B:34 | R:56 G:38 B:34 | R:57 G:40 B:33 | R:58 G:41 B:34 | R:60 G:41 B:35 | R:60 G:41 B:35 | R:67 G:47 B:40 | R:67 G:47 B:40 | R:68 G:48 B:39 | R:69 G:49 B:40 | R:72 G:49 B:41 | R:74 G:51 B:43 | R:74 G:51 B:43 | R:75 G:52 B:44 |
| 3 5 3 | R:53 G:35 B:33 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:75 G:52 B:44 |
| 4 6 4 | R:54 G:36 B:34 | | R:55 G:37 B:35 | | R:56 G:38 B:36 | R:59 G:41 B:37 | R:58 G:40 B:36 | | | | | | | | | | | | | | R:75 G:52 B:44 |
| 5 7 5 | R:55 G:37 B:35 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R:75 G:52 B:44 |
| 5 7 3 | R:56 G:38 B:34 | | R:59 G:41 B:37 | | R:60 G:42 B:38 | R:63 G:44 B:40 | R:64 G:45 B:41 | | R:63 G:44 B:40 | | | | R:66 G:45 B:40 | | | | | | | | R:77 G:52 B:45 |
| 6 8 4 | R:57 G:39 B:35 | | | | | | | | R:63 G:44 B:40 | | | | | | | | | | | | R:77 G:52 B:45 |
| 8 0 6 | R:59 G:41 B:37 | | | | R:62 G:44 B:40 | | | | | | | | | | | | | | | | R:77 G:52 B:45 |
| 9 1 7 | R:60 G:42 B:38 | | R:62 G:44 B:40 | | R:63 G:45 B:41 | R:63 G:42 B:39 | R:64 G:43 B:40 | | | | | R:65 G:41 B:37 | R:67 G:43 B:39 | R:68 G:45 B:39 | | | R:70 G:45 B:38 | | | | R:77 G:52 B:45 |
| 1 4 7 | R:61 G:44 B:37 | | R:63 G:46 B:39 | | R:63 G:46 B:39 | R:62 G:41 B:38 | R:63 G:42 B:39 | | | | | R:65 G:41 B:37 | R:67 G:43 B:39 | R:69 G:44 B:39 | | | R:70 G:45 B:38 | | | | R:77 G:52 B:45 |
| 1 | R:61 G:44 | R:62 G:45 | R:62 G:45 | R:63 G:46 | R:63 G:46 | R:62 G:41 | R:63 G:42 | R:63 G:42 | R:62 G:41 | R:63 G:39 | R:63 G:39 | R:64 G:40 | R:66 G:42 | R:69 G:44 | R:69 G:44 | R:69 G:44 | R:70 G:45 | R:74 G:47 | R:76 G:49 | R:78 G:51 | R:77 G:52 * |

Glosario

En este apartado se presentan algunos de los conceptos fundamentales que son necesarios conocer para comprender algunos de los aspectos que se menciona en esta tesis.

Melanoma: es un tumor de alta malignidad derivado de la proliferación de melanocitos patológicos atípicos, con o sin la capacidad de producir pigmentos, caracterizado por su gran capacidad de metástasis.

Metástasis: proceso de propagación de un foco canceroso, es decir diseminación del cáncer de una parte del cuerpo a otra. Cuando ocurre una metástasis, las células cancerosas se separan del tumor original (primario), viajan a través del sistema sanguíneo o linfático y forman un tumor nuevo en otros órganos o tejidos del cuerpo.

Espectroscopia: una técnica óptica, no invasiva que nos brinda información acerca de la estructura y composición de los medios en estudio a partir de los espectros medidos. La luz incidente sobre una muestra sufre varios procesos ópticos (reflexión especular, la refracción, la absorción y el esparcimiento) que en conjunto con la estructura y composición de la muestra, determinan la distribución de la luz re-emitida por la superficie de la muestra sobre la cual penetró una fracción de la luz incidente.

Fototipo de piel: El fototipo es la capacidad de adaptación al sol que tiene cada persona desde que nace, es decir, el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no, y cómo y en qué grado lo hace. Cuanto más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de las radiaciones solares en la piel.

Criterio dermatoscópico: son una serie de estructuras cutáneas profundas no visibles a simple vista, que determinan la gravedad de una lesión.

Biopsia: procedimiento bajo el cual se extraen células o tejidos de un cuerpo. El médico especialista encargado de ello es el patólogo, quien se encarga de examinar las células o tejidos bajo un microscopio para verificar si hay daños o enfermedad, o bien aplicar otras técnicas para evaluar el tejido extraído.

Epiluminiscencia: es el método más moderno y preciso para detectar cambios en las lesiones pigmentadas cutáneas, permite estudiar las estructuras de la piel y los patrones de pigmentación invisibles a simple vista in vivo, es decir, sin necesidad de extraer muestras de la piel del paciente. Consiste en realizar una exploración microscópica de toda la superficie cutánea, localizar las lesiones, fotografiarlas y representarlas en mapas corporales completos.

Dermatoscopio: es una herramienta que permite realizar exámenes médicos de la piel mediante la visualización detallada de las lesiones pigmentadas bajo iluminación y ampliación.

Imagen multiespectral: conjunto de imágenes haciendo en diferentes frecuencias del espectro electromagnético. Las imágenes no se limitan únicamente al espectro de la luz visible (la que percibe el ojo humano), sino que puede obtener diferentes imágenes según el tipo de onda a lo largo del espectro electromagnético.

Tomografía de coherencia óptica (OCT): es una técnica de diagnóstico, control y seguimiento, que nos permite el estudio de cortes histológicos en vivo es una prueba rápida y carece de efectos secundarios.

Espectroscopía Raman: es una técnica fotónica de alta resolución que proporciona en pocos segundos información química y estructural de casi cualquier material o compuesto orgánico y/o inorgánico permitiendo así su identificación.

Tirosinasa: es una enzima que cataliza la oxidación de fenoles (como la tirosina) y está extendida en plantas y animales. La tirosinasa es una enzima cuprífera presente en tejidos de plantas y animales que cataliza la producción de melanina y otros pigmentos de la tirosina por oxidación, como el ennegrecimiento de una patata pelada o cortada expuesta al aire.

Enzima: Una enzima es un catalizador biológico. Es una proteína que acelera la velocidad de una reacción química específica en la célula. La enzima no se destruye durante la reacción y se utiliza una y otra vez. Una célula contiene miles de diferentes tipos de moléculas de enzimas específicos para cada reacción química particular.

Fantoma o phantom: aparato o elemento software utilizado para el calibrado de equipos de imagen que contiene, en su interior, elementos de características similares a las del organismo en las propiedades que se estén calibrando.

Espectro: en el campo de la física se le conoce así al modo en que se distribuye la intensidad de una radiación de acuerdo a una cierta magnitud, como la energía o la longitud de onda, comúnmente se expresa con la letra λ . También se denomina espectro a la representación gráfica de dicha distribución.

Clorofila: pigmento fotorreceptor responsable de la primera etapa en la transformación de la energía de la luz solar en energía química (fotosíntesis) y consecuentemente la molécula responsable de la existencia de vida superior en la Tierra.

Melanina: es una sustancia natural encargada de dar color (pigmentar) a nuestra piel. Este pigmento se encuentra en la mayoría de los seres vivos, en los humanos lo podemos encontrar en los ojos, el cabello y la piel, también se encarga de proteger nuestra piel de la incidencia de los rayos solares ultravioletas.

Hemoglobina: proteína que se encuentra al interior de los glóbulos rojos que transporta oxígeno desde los pulmones a los tejidos y órganos del cuerpo; además, transporta el dióxido de carbono de vuelta a los pulmones.

Cromóforos: es la parte o conjunto de átomos de una molécula responsable de su color, cuando una molécula absorbe ciertas longitudes de onda de luz visible y transmite o refleja otras, la molécula tiene un color. Un cromóforo es una región molecular donde la diferencia de energía entre dos orbitales atómicos cae dentro del rango del espectro visible. La luz visible que incide en el cromóforo puede también ser absorbida excitando un electrón a partir de su estado de reposo.

GUI: acrónimo de Graphical User Interface que se traduce como interfaz gráfica de usuario, como su nombre lo dice es una interfaz de usuario que usa ventanas, iconos y menús emergentes.

Nevo o lunar: consiste en una mancha pequeña, redondeada, frecuentemente de color marrón, a veces ligeramente abultada, que sale en la piel del cuerpo humano debido a un exceso de pigmentación.

Coeficiente de Esparcimiento (μ_s **):** Fracción de la energía incidente esparcida en un medio, correspondiente a la unidad del camino recorrido.

Coeficiente de Absorción (μ_a **):** determina hasta qué punto una luz de una longitud de onda particular puede penetrar en el material antes de ser absorbido.

Fotón: en la teoría electromagnética es empleada para designar a una partícula de luz, o un cuanto de energía electromagnética.

Transmisión: La transmisión ocurre cuando la luz atraviesa una superficie u objeto. Hay 3 tipos de transmisión: directa, difusa o selectiva.

Reflexión: La reflexión es cuando la luz llega a un objeto y rebota o refleja, en parte o en su totalidad, de ese objeto. La luz puede ser reflejada de manera especular (directa) o difusa.