



U

P

T

Estudios Preliminares Para la Evaluación del Tejido Cutáneo y Úlceras del Pie Diabético Mediante Técnicas Ópticas

Tesis que presenta:
Ing. Juan Estrada Berni

Para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS

En la especialidad de:
COMPUTACIÓN ÓPTICA

Asesor de tesis:
Dr. José Alberto Delgado Atencio

Co-asesora de tesis:
Dra. Margarita Cunill Rodríguez

**Tulancingo de Bravo, Hidalgo
Agosto 2020**

©UPT 2020

El autor otorga a la UPT el permiso de reproducir y distribuir copias en su totalidad o en partes de esta tesis

Dedicatoria

*A **mí querida hermana Alicia**, porque su ejemplo de virtud ha motivado en mí el deseo de superar los obstáculos y llegar a la conclusión de esta obra, y porque su legado de fe, fortaleza, perseverancia, integridad, sabiduría y amor, inspira en mí a seguir la admonición de Pablo: “si hay virtud alguna, si existe algo digno de alabanza en esto pensad”. Su recuerdo perdurará en mi corazón más allá del tiempo, con la esperanza de nuevamente volver a verla.*

*A **mis padres Alicia y Francisco**, porque todo lo que son y lo que han tenido me lo han dado.*

*A **mi esposa Fátima**, por su apoyo incondicional, comprensión y sobre todo su amor, que me ha sostenido en todo momento.*

*A **mis hijas Dayra y Leah**, porque representan lo mejor de mí y son la luz que ilumina mi existencia.*

*A **mis hermanos Pepe, Anabelly y Efraín**, por todo su apoyo aún en las situaciones más adversas.*

Agradecimientos

A mi Amoroso Padre Celestial, por ser paciente y tolerante con mis errores, defectos y por su infinita misericordia.

A Cristo mi Señor, por ser la fuente de luz que me inspira a buscar el camino más excelente.

*A mis asesores: **Dr. José Alberto Delgado Atencio y Dra. Margarita Cunill Rodríguez**, por compartir sus conocimientos, por confiar en mí, porque ambos son un ejemplo de rectitud, esfuerzo y disciplina, pero sobre todo por su amistad.*

*A mis **profesores y compañeros** de generación de la Maestría en Computación Óptica (MCO) de la Universidad Politécnica de Tulancingo (UPT), porque de todos he recibido una enseñanza.*

*A la **Universidad Politécnica de Tulancingo (UPT)**, por recibirme con los brazos abiertos y darme una nueva visión del conocimiento.*

*Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca otorgada, sin la cual no hubiera sido posible realizar mis estudios de maestría.*

*“Y la verdad es el conocimiento de las cosas como son,
como eran y como han de ser”.*

D. y C. 93:24

Resumen

Solo mencionar el nombre ‘diabetes mellitus’ produce en cualquier individuo una sensación de nerviosismo, ansiedad y en muchos casos temor. Esto debido a que dicha enfermedad rápidamente se ha situado como una de las que presentan uno de los índices de mayor crecimiento entre la población mundial, y junto a sus complicaciones han probado ser uno de los mayores problemas socio-económicos que afectan de forma considerable a la población. De entre las varias complicaciones de la diabetes, *el pie diabético*, es una de las más alarmantes de este grave problema, ya que los pacientes diabéticos presentan un riesgo latente de desarrollar úlceras en las extremidades inferiores; siendo estas úlceras la principal causa de amputaciones no traumáticas en el mundo. Como es el caso de otras enfermedades crónicas, el diagnóstico precoz del pie diabético previene que esta complicación derive en una indeseada amputación.

Los métodos y técnicas empleadas tradicionalmente por personal médico para diagnosticar el pie diabético están limitadas a la agudeza visual, al tacto del médico tratante y a instrumentación con cierto grado de imprecisión y poca exactitud, pues están basados principalmente en la observación y la palpación físicas con dichos instrumentos.

El presente trabajo pretende hacer un aporte a la solución de este problema obteniendo información diagnóstica de apoyo, mediante el uso de técnicas ópticas tradicionales y modernas como lo son la microscopía y la espectroscopía de reflexión difusa (ERD), el desarrollo de un sistema óptico-computacional que contempla la implementación de un prototipo experimental para la documentación y registro de imágenes a color de sitios corporales en riesgo de sufrir una lesiones.

Además, la solución al problema identificado contempla el uso de software óptico comercial y el desarrollo de software propio para la validación de datos obtenidos a partir del estudio realizado.

Abstract

Just mentioning the name "diabetes mellitus" produces in any individual a feeling of nervousness, anxiety and in many cases fear. This is because this disease has quickly positioned itself as one of those with the highest growth rates among the world population, and together with its complications, they have proven to be one of the biggest socio-economic problems that significantly affect the population. Among the various complications of diabetes, diabetic foot is one of the most alarming of this serious problem, since diabetic patients have a latent risk of developing ulcers in the lower extremities, these ulcers being the main cause of amputations in the world. As is the case with other chronic diseases, the early diagnosis of the diabetic foot allows taking the necessary measures to prevent this complication resulting in an unwanted amputation.

The methods and techniques traditionally used by medical personnel to diagnose diabetic foot are limited to visual acuity, to the touch of the treating physician and instrumentation with a certain degree of imprecision and little accuracy, as they are mainly based on physical observation and palpation with said instruments.

The present work aims to make a contribution to the solution of this problem by obtaining supportive diagnostic information, through the use of traditional and modern optical techniques such as microscopy and diffuse reflection spectroscopy (DRS), the development of an optical computational-system that contemplates the implementation of an experimental prototype for the documentation and registration of color images of body sites at risk of injury.

In addition, the solution to the problem identified includes the use of commercial optical software and the development of its own software for the validation of data obtained from the study carried out.

Índice general

Capítulo 1.....	18
INTRODUCCIÓN.....	18
RESUMEN.....	18
1.1 ANTECEDENTES.....	19
1.2 MOTIVACIÓN.....	22
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	22
1.4 OBJETIVOS.....	23
1.4.1 Objetivo General.....	23
1.4.2 Objetivos Particulares.....	23
1.5 PROPUESTA DE SOLUCIÓN.....	24
1.6 REFERENCIAS.....	25
Capítulo 2.....	26
MÉTRICA DE VASOS CAPILARES SUPERFICIALES EN MUESTRAS DE TEJIDOS EX-VIVOS ANIMALES A PARTIR DE IMÁGENES ÓPTICAS DIGITALES, ADQUIRIDAS CON UN SISTEMA MICROSCÓPICO SIMPLE.....	26
2.1 INTRODUCCIÓN.....	26
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
2.2.1 Preparación de un patrón de referencia.....	28
2.2.2 Preparación de las muestras biológicas.....	30
2.2.3 Arreglo óptico-computacional.....	31
2.2.4 Documentación fotográfica de las muestras.....	35

2.3 RESULTADOS	37
2.3.1 Imágenes microscópicas. Patrón de referencia.....	37
2.3.2 Imágenes microscópicas. Zonas y secciones de cada muestra	37
2.4 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	40
2.4.1 Zonas y secciones más representativas de cada muestra.....	40
2.4.2. Resultados de medición	45
2.5 CONCLUSIONES.....	46
2.6 REFERENCIAS	47
Capítulo 3	48
EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE LA PIEL HUMANA A PARTIR DE ESPECTROS SINTÉTICOS DE REFLEXIÓN DIFUSA	48
3.1 INTRODUCCIÓN.....	48
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
3.2.1 Modelo óptico de la piel	51
Propiedades ópticas (un solo absorbente).....	51
Modelo de reflexión difusa.....	52
3.2.2 Espectros sintéticos	53
3.2.3 Algoritmo de extracción	54
Descripción del algoritmo	54
Evaluación del desempeño del algoritmo.....	55
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
3.3.1 Espectros sintéticos generados	56
3.3.2 Algoritmo de extracción	57

3.3.3 Desempeño del algoritmo de extracción.....	57
3.4 CONCLUSIONES	59
3.5 REFERENCIAS.....	60
Capítulo 4.....	62
DOCUMENTACIÓN EN HUMANOS: ANÁLISIS DE ZONAS DE TEJIDO EN RIESGO EN UN GRUPO DE VOLUNTARIOS	62
4.1 INTRODUCCIÓN	62
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	66
4.2.1 Documentación con Espectros de Reflexión Difusa (EsRD)	66
Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD)	66
Arreglo óptico-computacional para la adquisición de EsRD.....	67
Adquisición de un EsRD con el arreglo óptico-computacional.....	70
Protocolo experimental y mediciones de ERD	73
Consideraciones médicas	73
4.2.2 Documentación con imágenes digitales macroscópicas	77
Imágenes digitales.....	77
Arreglo óptico-computacional para la adquisición de imágenes macroscópicas.....	78
Software de adquisición (algoritmo propio)	83
Metodología para la adquisición de imágenes digitales macroscópicas .	84
Protocolo experimental y sensado de imágenes digitales macroscópicas	88
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	90
4.3.1 Espectros de reflexión difusa (EsRD).....	90

4.3.2 Imágenes Digitales de Zonas de Interés	93
4.4 CONCLUSIONES.....	103
4.5 REFERENCIAS	104
Capítulo 5	106
CONCLUSIONES GENERALES	106
APÉNDICES	109
Apéndice A.....	109
Programa que realiza la adquisición de imágenes digitales mediante un sensor óptico.....	109
Apéndice B	110
Programa que determina las dimensiones físicas de un objeto o zona de interés a partir de su imagen digital.	110
Apéndice C	113
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN.....	113
Apéndice D.....	118
Cuestionario Para Estudio de Investigación	118
Apéndice E	120
Algoritmo de adquisición de Imágenes Digitales.....	120

Índice de figuras

Figura 2.1. a) Patrón de referencia confeccionado y b) micrómetro utilizado (modelo SOMET) para medir el diámetro del objeto que conforma el patrón de referencia.	28
Figura 2.2. Muestra confeccionada con una sección de piel de pollo, fijada al porta muestras de vidrio mediante bandas elásticas.	31
Figura 2.3. Representación esquemática del arreglo óptico-computacional implementado para la adquisición y análisis de imágenes ópticas digitales correspondientes a objetos microscópicos, se divide en los siguientes bloques: B1) Sistema de iluminación mediante fibra óptica, B2) Porta muestra mecánico con ajuste micrométrico xyz, B3) Sistema formador de imagen del tipo objetivo-cámara, B4) Sistema de adquisición y análisis de imágenes digitales.	32
Figura 2.4. Imagen microscópica a color del patrón de referencia. El segmento de alambre de cobre utilizado para confeccionar el patrón de referencia fue extraído de la bobina de un reloj de pared convencional.....	37
Figura 2.5. Dimensiones del patrón de referencia en pixeles, valor promedio = 287.65 pixeles.	40
Figura 3.1. Geometría de la sonda óptica bifurcada (de dos fibras) para la cual se simulan los espectros sintéticos utilizando el modelo de reflexión difusa espectral resuelta radialmente, $R(\rho)$, y las PO definidas en el modelo óptico de la piel (sección 3.2.1).	52
Figura 3.2. Espectros sintéticos típicos generados con el modelo de reflexión y los parámetros ópticos descritos en las subsecciones 3.2.1 y 3.2.2 de la sección MATERIALES Y MÉTODOS de este capítulo.	56
Figura 3.3. Interface gráfica mediante la cual se realiza el proceso de ajuste con el algoritmo descrito en la sección 3.2.3 de esta sección. Nótese que se ha realizado el ajuste para el espectro representado en color rojo de la Figura 3.2.	57

Figura 4.2. Representación esquemática del arreglo experimental espectroscópico para mediciones de reflexión difusa. 67

Figura 4.3. Captura de pantalla típica de la interfaz del software SpectraSuite, donde se observan la distribución, y ubicación de los principales controles gráficos (íconos), también muestra un espectro de referencia (línea roja) como ejemplo, obtenido seleccionando el ícono a partir de una fuente de iluminación dada. 69

Figura 4.4. El **operador uno** se prepara realizando movimientos de prueba colocando la punta de la sonda en la zona de interés, antes de realizar la medición de los ERD en un **voluntario**..... 72

Figura 4.5. Antes de realizar la medición de los ESRD, se practicó un chequeo médico así como la aplicación de un cuestionario médico a cada **voluntario**. 74

Figura 4.6. Zona de interés en la palma de la mano izquierda de un voluntario, para la medición de los espectros de reflexión difusa (ESRD). 76

Figura 4.7. Sistema óptico para la formación de una imagen [10]..... 77

Figura 4.8. Representación esquemática de un sistema óptico-computacional para la adquisición de imágenes macroscópicas en zonas de riesgo en voluntarios. Se muestran dos vistas laterales: a) **Superior**, disposición para medición en *zona plantar*, y b) **Inferior**, disposición para medición de la *zona del tobillo*..... 79

Figura 4.9. Prototipo óptico-mecánico para la generación de imágenes en voluntarios sin cubierta. 81

Figura 4.10. Prototipo óptico-mecánico para la adquisición de imágenes digitales en zonas de riesgo en voluntarios con cubierta. 82

Figura 4.11. Mesa exploración con cubierta de 3 secciones (respaldo, asiento y piecera) con bastidor de madera. Estructura y puertas corredizas en lámina de acero. [12]. 83

Figura 4.12. Postura del **Voluntario** sobre la Mesa de exploración..... 88

Figura 4.13. Zonas de interés para la adquisición de imágenes macroscópicas, a) Plantar y b) Tobillo.....	89
Figura 4.14. EsRD del voluntario No.1. a) <i>Con ruido</i> , intervalo espectral 178-900nm (izquierda). b) <i>Sin ruido</i> , intervalo espectral 450-700nm (derecha).....	90
Figura 4.15a. Se muestran los EsRD de los voluntarios V1, V2, V7 y V5 en orden de mayor a menor grado de pigmentación, el punto en color naranja en la imagen (derecha) indica la zona en la que fue medido el EsRD	91
Figura 4.15.b. Se muestran los EsRD de los voluntarios V6, V8, V3 y V4 en orden de mayor a menor grado de pigmentación, el punto en color naranja en la imagen (derecha) indica la zona en la que fue medido el EsRD	92
Figura 4.16.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: <i>metatarsiano 1</i> (MT1) correspondientes a los voluntarios V1, V2, V3 y V4 . Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ' <i>natural</i> ' y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ' <i>modificada</i> ', descritas en la sección Metodología para la adquisición de imágenes digitales	94
Figura 4.16.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: <i>metatarsiano 1*</i> (MT1) correspondientes a los voluntarios V5, V6, V7 y V8 . Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ' <i>natural</i> ' y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ' <i>modificada</i> ', descritas en la sección Metodología para la adquisición de imágenes digitales	95
Figura 4.17.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: <i>metatarsiano 5*</i> (MT5) correspondientes a los voluntarios V1, V2, V3 y V4 . Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ' <i>natural</i> ' y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ' <i>modificada</i> ', descritas en la sección Metodología para la adquisición de imágenes digitales	96

Figura 4.17.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *metatarsiano 5°* (MT5) correspondientes a los voluntarios **V5, V6, V7 y V8**. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**...... 97

Figura 4.18.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: **calcáneo** (C) correspondientes a los voluntarios **V1, V2, V3 y V4**. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**...... 98

Figura 4.18.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *calcáneo* (C) correspondientes a los voluntarios **V5, V6, V7 y V8**. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**...... 99

Figura 19.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *tobillo* (T) correspondientes a los voluntarios **V1, V2, V3 y V4**. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de Imágenes Digitales**...... 100

Figura 19.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *tobillo* (T) correspondientes a los voluntarios **V5, V6, V7 y V8**. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen

'modificada', descritas en la sección **Metodología para la adquisición de Imágenes Digitales**.101

Índice de tablas

Tabla 2.1. Muestras preparadas para el estudio documentadas mediante un teléfono celular.....	36
Tabla 2.2. Imágenes microscópicas a color de las muestras M1 y M2 , se exhiben dos zonas y dos secciones. de estas.....	38
Tabla 2.3. Imágenes microscópicas a color de las muestras M3 y M4 , se exhiben dos zonas y dos secciones. de estas.....	38
Tabla 2.4. Imágenes microscópicas a color de las muestras M5 y M6 , se exhiben dos zonas y dos secciones.	39
Tabla 2.5. Imágenes microscópicas a color de las muestras M7 y M8 , se exhiben dos zonas y dos secciones para M7 , para la muestra M8 solo una zona y una sección.	39
Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas.	41
Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas. Continuación... ..	42
Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas. Continuación... ..	43
Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas. Continuación... ..	44
Tabla 2.7. Datos variabilidad de las dimensiones de los vasos sanguíneos en cada muestra. Se muestra el intervalo promedio en el que oscilaron las mediciones y el error (σ) de medición.	45
Tabla 4.1. Relación de voluntarios participantes indicando los parámetros médicos básicos y condición física respecto a diagnóstico de diabetes al momento de realizar el estudio.	75

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

RESUMEN

Una de las complicaciones más preocupantes derivada de la diabetes es el *pie diabético*, este padecimiento ha ido en aumento afectando a un número cada vez mayor de pacientes diabéticos en el mundo [1].

En el campo de la óptica desde hace algunas décadas las investigaciones realizadas se han orientado también a resolver problemas intrínsecos de la medicina; de forma particular se han llevado a cabo diversos trabajos para detectar de forma precoz lesiones en uno de los tantos órganos que existen en el cuerpo humano, específicamente en la piel humana. En este contexto podemos hallar técnicas y métodos óptico-computacionales como la espectroscopía de reflexión difusa (ERD), microscopía e imágenes multiespectrales así como el procesamiento digital de imágenes entre otras que asisten a los métodos tradicionales en la detección del pie diabético.

Existen trabajos de ERD para monitorear la úlcera de pie diabético como el de Anand *et al.* [2], o como el de Yang H. *et al.* [3] para determinar las propiedades ópticas de un tejido, sin embargo en estos trabajos las técnicas se usan de forma aislada. No existe un procedimiento o sistema que considere de forma integral el uso de estas diferentes técnicas en conjunto, esta parte del trabajo de tesis abordará la descripción para la posterior implementación de un sistema integral con base en diferentes técnicas ópticas antes mencionadas así como el desarrollo de un prototipo que permita el monitoreo y documentación de zonas corporales de tejido en riesgo de sufrir ulceración en pacientes diabéticos.

1.1 ANTECEDENTES

La diabetes mellitus (DM) es considerada actualmente por la OMS (Organización Mundial de la Salud) como una epidemia, afectando según sus estimaciones del año 2014 a 422 millones de adultos en el mundo [4], en México la ENSANUT MC 2016 (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino) reporta que existen cerca de 11 millones de mexicanos que padecen esta enfermedad [5], la diabetes mellitus es la segunda causa de muerte en México solo por debajo de las enfermedades del corazón y de acuerdo al INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) en 2017 murieron 106 525 mexicanos debido a la diabetes. Estimaciones muestran que cerca de un 15 % de las personas con DM presenta pie diabético en algún momento de su padecimiento y 5 % concluyen en amputación de alguna extremidad inferior, asociado a este hecho se ha observado que el riesgo de mortalidad en pacientes diabéticos que ha experimentado una amputación se duplica en relación con pacientes que no desarrollan este tipo de lesiones [6].

Se ha observado que una detección anticipada de las alteraciones que sufre el pie en pacientes con diabetes es crítica debido a que más de la mitad de ellos no presentan síntomas, con lo que se incrementa el riesgo de desarrollar úlceras, infección y amputación. La metodología tradicional para la exploración del pie diabético contempla en un primer paso la elaboración de un historial clínico (Anamnesis), y como segundo paso la inspección /palpación de la zona en riesgo.

Para realizar este segundo paso suele utilizarse una metodología que implica: a) inspección periódica y b) un examen de riesgo. La inspección periódica básicamente consiste en examinar a los pacientes diabéticos al menos una vez al año y a pacientes con riesgo confirmado al menos una vez cada 6 meses o menos, por su parte el examen de riesgo contempla: 1) la Exploración neurológica para determinar la pérdida sensorial (presión, vibración, tacto y reflejos), para ello se utilizan diversas técnicas e instrumentos manuales como el Monofilamento de Semmens-Weinstein entre otros, 2) la Exploración osteoarticular con la cual se realiza una radiografía

simple para poder determinar la existencia de posible destrucción ósea en la zona en riesgo y finalmente 3) la Exploración vascular que detecta cambios en la morfología vascular, inducida posiblemente por un deterioro de las paredes arteriales [7].

No obstante en el campo de la óptica y específicamente en la óptica biomédica, actualmente se utilizan diversas técnicas ópticas no invasivas como métodos de detección de anomalías en tejidos. En algunos casos para comprobar la presencia de estas, resulta importante determinar el valor de ciertos parámetros como son: cantidad, velocidad y flujo de ciertos fluidos como por ejemplo la sangre, el nivel de oxigenación de ciertas zonas corporales, o incluso dimensión de ciertos órganos internos del cuerpo humano. El aumento o disminución de estos parámetros suelen ser bajo ciertas circunstancias, indicadores del inicio y desarrollo de algún padecimiento.

La SEACV (Sociedad Española de Angiología y Cirugía Vascular) ha emitido ciertas recomendaciones sobre las zonas que deben explorarse con regularidad en el pie de los pacientes diabéticos con el fin de identificar factores de riesgo. Algunas de estas recomendaciones son: a) Exploración vascular en las áreas tibial posterior, pedio, poplíteo y femoral del pie para descartar posible arteriopatía que esté ligada al pie diabético, y b) determinación de la temperatura y coloración de la piel en las áreas antes mencionadas; estos índices pueden revelar algún grado de isquemia. La SEACV expresa que estas zonas corporales están relacionadas directamente a la aparición de lesiones, incluso personal médico experimentado en el ámbito del pie diabético confirma estas recomendaciones [1]. En este tenor la microscopía óptica permite documentar de forma detallada mediante imágenes de gran calidad y alta amplificación ciertas modificaciones o alteraciones en zonas corporales específicas, así como la vasculatura presente en estas, aunado a esta técnica el procesamiento digital de imágenes representa otra potente herramienta en la detección de anomalías en estas zonas de riesgo. A través del análisis mediante algoritmos computacionales diseñados especialmente para tal propósito, es posible estimar distintas

características de estas regiones como el color de la piel, temperatura incluso dimensiones de elementos inmersos en ellas.

Existen otras técnicas como la ERD (espectroscopía de reflexión difusa) mediante la cual es posible obtener información del nivel de oxigenación presente en zonas de tejido en riesgo de sufrir lesiones que pueden evolucionar hacia una ulceración y lamentablemente en una amputación. Los datos de saturación de oxígeno obtenidos mediante esta técnica pueden con el análisis de médicos especialistas detectar cambios de forma temprana en la zona analizada, que indiquen que dicha zona de tejido comienza a comprometerse y que está propensa a evolucionar hacia el desarrollo de una úlcera. De este modo el médico tratante puede actuar en consecuencia y tomar las medidas preventivas pertinentes que impidan el desarrollo de una lesión mayor.

Con todo lo anterior sin embargo, es de suma importancia poder verificar la validez de los datos obtenidos al realizar un estudio de esta naturaleza, por lo cual se hace necesario diseñar métodos y procedimientos que permitan realizar esta comprobación.

En el campo de la ERD se analiza la interacción de la luz con medios turbios a través de la obtención del espectro de reflexión difusa (EsRD) de dicho medio. A partir del EsRD es posible extraer los parámetros ópticos que caracterizan al objeto de estudio, con estos datos se realiza la interpretación para la toma de decisiones que conduzcan a un apropiado diagnóstico o en su defecto a un adecuado tratamiento de un paciente que muestra evidentes factores de riesgo. No obstante como se indicó es importante validar los resultados obtenidos en la extracción de los parámetros ópticos, esta validación con frecuencia se realiza mediante el uso de los llamados imitadores de tejido o phantoms [8].

1.2 MOTIVACIÓN

Para la definición de este trabajo de tesis se consultó al sector salud de la región de Tulancingo, Hgo., específicamente al Hospital General Tulancingo, en su departamento de Enseñanza e Investigación, y en reuniones con personal médico dedicado al tratamiento de pacientes diabéticos, se concluyó que los métodos tradicionales utilizados para el diagnóstico del pie diabético en regiones sub-urbanas como lo es Tulancingo, son todavía en la actualidad relativamente y hasta cierto punto rudimentarios pues implican únicamente la anamnesis del paciente, la exploración visual y táctil mediante instrumentación que en muchos casos carece de precisión y exactitud para la valoración de zonas con riesgo de lesiones y en el mejor de los casos se emplean estudios clínicos costosos, que si se emplean con frecuencia representan una carga económica fuerte para el paciente si es que este no cuenta con algún tipo de seguro de salud. El aporte propuesto en este trabajo de tesis representa una opción menos costosa y más accesible para la población de ésta región, además supone una herramienta moderna e innovadora que pretende proporcionar apoyo al personal médico que procura un diagnóstico temprano, preciso y acertado del pie diabético.

1.3 JUSTIFICACIÓN

El trabajo que aquí se presenta tiene como propósito principal el uso de las técnicas de microscopía óptica, espectroscopía de reflexión difusa y procesamiento digital de imágenes todas no invasivas, mediante las cuales se aspira a proporcionar información valiosa al momento de realizar la evaluación del estado de salud de zonas de tejido en riesgo de sufrir lesiones o que en su defecto ya presentan una lesión, esto debido a la capacidad y alcance visual y cuantitativa que los sistemas ópticos involucrados poseen. Información visual y cuantitativa que la percepción del ojo humano no puede identificar ni registrar, y que sin embargo es posible obtener mediante dispositivos ópticos para dicho propósito.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Hacer uso de las técnicas de microscopía óptica y espectroscopía de reflexión difusa (ERD) en combinación con algoritmos de procesamiento digital de imágenes y de extracción de los parámetros fisiológicos para evaluar la salud de tejido cutáneo y ulcerado en pie de pacientes diabéticos.

1.4.2 Objetivos Particulares

Desarrollar sistemas de documentación y análisis a través de la adquisición de imágenes digitales microscópicas, macroscópicas y su procesamiento.

- Desarrollo de programas en el software MATLAB, que realicen la adquisición de imágenes digitales capturadas con sensores bidimensionales o cámaras digitales e instrumentación de microscopía.
- Implementación de un algoritmo en el software MATLAB para obtener las dimensiones físicas reales de objetos, a partir del procesamiento digital de las imágenes microscópicas de dichos objetos.

Desarrollo de algoritmos computacionales para la extracción de los parámetros fisiológicos de interés diagnóstico, como son:

- Saturación de oxígeno, fracción volumétrica de sangre y otros a considerar.
- Revisar y asimilar el marco teórico relacionado al transporte de luz en medios turbios, por el hecho de contener diversos modelos de la distribución de luz en función de los parámetros ópticos.

Crear una base de datos de referencia con valor diagnóstico, con los resultados del estudio y análisis a un grupo de control conformado por voluntarios, que implica la realización de mediciones de ERD y la adquisición de imágenes macroscópicas en zonas corporales de interés.

1.5 PROPUESTA DE SOLUCIÓN

La solución del problema central de este trabajo de tesis de maestría en computación óptica es de naturaleza teórico-experimental y se aborda empleando técnicas ópticas tradicionales y modernas.

En el Capítulo 2 se hace uso de la microscopía óptica y el procesamiento digital de imágenes, en este capítulo se describe la implementación de un arreglo óptico-computacional que contempla la documentación y análisis de zonas de interés del pie diabético en un nivel microscópico a través de la obtención de imágenes digitales. Se diseñó un algoritmo que realiza el procesamiento digital de dichas imágenes y permite obtener las dimensiones físicas de vasos capilares, se probó a nivel laboratorio en un modelo biológico sencillo y semejante al tejido humano.

En el Capítulo 3 se realizó un análisis del desempeño de un algoritmo que determina los parámetros fisiológicos de tejido biológico, para lo cual se utilizaron espectros sintéticos de prueba. Estos espectros se simularon en relación a modelos ópticos con diferente nivel de complejidad y que muestran características similares a los medidos experimentalmente, como el nivel de ruido que estos presentan.

En el Capítulo 4 se describe la implementación de un sistema de documentación que contempla la toma de imágenes digitales de calidad, así como el registro del espectro de reflexión difusa (EsRD) de zonas de interés. Con lo cual se pretende identificar anticipadamente alteraciones importantes en la estructura biológica de los tejidos y así proporcionar información diagnóstica al personal médico a cargo. Se estableció inicialmente un grupo de control de estudiantes voluntarios no diabéticos para contrastar los datos procedentes de estos voluntarios “sanos”, con datos relacionados a pacientes diabéticos en riesgo de desarrollar una lesión.

Finalmente en el Capítulo 5 se presentan las conclusiones generales de este trabajo de tesis.

1.6 REFERENCIAS

- [1] Abdón Toledo, *et al.*, “Pie Diabético: De la fisiopatología a la clínica”, Diabetes Internacional, Volumen I, N° 3. Año 2009.
- [2] Suresh Anand, *et al.*, “Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer – A pilot study”, Biomedical Engineering Group, Department of Applied Mechanics, Indian Institute of Technology Madras, Chennai 600036, India, & 2013ElsevierLtd.
- [3] Yang H., Xie S., Li H., Lu Z., “Determination of human skin optical properties in vivo from reflectance spectroscopic Measurements”, March 10, 2007 / Vol. 5, No. 3 / CHINESE OPTICS LETTERS.
- [4] OMS (Organización Mundial de la Salud), “Informe Mundial Sobre La Diabetes”, Resumen de Orientación, World Health Organization 2016, WHO/NMH/NVI/16.3, www.who.int/diabetes/global-report
- [5] ENSANUT MC 2016 (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016), Informe final de resultados, Instituto de Salud Pública, SECRETARÍA DE SALUD.
- [6] Cisneros-González N, Ascencio-Montiel IJ, Libreros-Bango VN, Rodríguez-Vázquez H, Campos-Hernández Á, Dávila-Torres J, Kumate-Rodríguez J, Borja-Aburto VH. Índice de amputaciones de extremidades inferiores en pacientes con diabetes. Rev Med Inst Mex Seg Soc 2016; 54(4):472-9.
- [7] Mompeán Oliva F., *et al.*, “Diagnóstico y Tratamiento del pie diabético, úlceras por presión y úlceras venosas”, Documentos clínicos de interés, Servicio de Cirugía General, Hospital Universitario Virgen Macarena y Área, Servicio Andaluz de Salud, CONSEJERÍA DE SALUD.
- [8] Zhang L., “Determination of optical coefficients of biological tissue from a single integrating-sphere”, Journal of Modern Optics, Vol. 59, No. 2, 20 January 2012.

Capítulo 2

MÉTRICA DE VASOS CAPILARES SUPERFICIALES EN MUESTRAS DE TEJIDOS EX-VIVOS ANIMALES A PARTIR DE IMÁGENES ÓPTICAS DIGITALES, ADQUIRIDAS CON UN SISTEMA MICROSCÓPICO SIMPLE

2.1 INTRODUCCIÓN

Diversas técnicas ópticas de carácter *no-invasivo* que conllevan la medición de distintos parámetros que proveen información de carácter diagnóstico en el ámbito de la medicina, han sido desde hace tiempo objeto de gran interés para muchos investigadores en el campo de la óptica. Tal es el caso que involucra la determinación de las dimensiones físicas de elementos presentes en órganos y estructuras internos del cuerpo humano.

El valor de estos parámetros puede ser un indicativo de que un paciente padece cierta patología o simplemente que está en riesgo de desarrollarla. En este contexto la estimación del diámetro de los vasos sanguíneos ha sido objeto de estudio en diferentes trabajos de investigación.

Postnov *et al.* propusieron un algoritmo computacional mediante el cual se obtiene una máscara dinámica de los vasos sanguíneos a partir de la técnica *laser-speckle* de adquisición de imágenes, el cual traduce los cambios relativos de la velocidad de la sangre en la dinámica relativa del flujo de sangre obteniendo así una máscara binaria dinámica del vaso junto con su diámetro y el perfil del vaso [1], en este contexto Shams Kazmi *et al.*, en su análisis del contraste en imágenes mediante la técnica *speckle* revelaron que el contraste de flujos vasculares típico obtenido

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

mediante ésta técnica no representa ni la medida del flujo volumétrico ni la velocidad de las partículas, sino el producto de la velocidad y diámetro del vaso [2].

Watkins *et al.* realizaron un estudio sobre la función vascular en vivo, usando una plataforma optimizada de imágenes de alta velocidad para obtener información cuantitativa en tiempo real, siendo este el objetivo general de su trabajo, sin embargo, uno de los objetivos particulares fue la determinación del diámetro de los vasos sanguíneos [3].

Kandanih *et al.* implementaron un sistema de micro-detección altamente fiable mediante la captura de imágenes digitales y su procesamiento [4].

El objetivo de esta sección es la implementación de un arreglo óptico-computacional para la documentación y análisis de zonas de interés en el pie de pacientes diabéticos a nivel microscópico y el desarrollo de un algoritmo para la extracción de información de valor diagnóstico.

Específicamente, el arreglo propuesto se ha probado a nivel de laboratorio mediante el uso de un modelo biológico relativamente sencillo que tiene una estructura básica y centros de absorción y esparcimiento semejantes a los del tejido humano. Este modelo incluye tejido subcutáneo de espesor variable en el cual tiene lugar la absorción y el esparcimiento de la luz, así como elementos “puramente absorbentes” (la hemoglobina contenida en los capilares). Aunque, el modelo no refleja en su totalidad la estructura y composición de las zonas clásicamente afectadas por la diabetes, sí nos permite extraer conclusiones relevantes de cómo realizar la tarea de medición de los vasos sanguíneos a partir de imágenes digitales. A continuación se describen los detalles de este estudio.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Preparación de un patrón de referencia

Se confeccionó un patrón de referencia utilizando el segmento de un objeto (alambre de cobre magneto) de forma cilíndrica con diámetro conocido. El segmento de este objeto fue cortado a una longitud aproximada de 25 mm, colocado, alineado de forma concéntrica y fijado a un vidrio (del tipo usado para la elaboración de ventanas) de dimensiones 40mmx30mmx3mm como se aprecia en la [Figura 2.1](#).

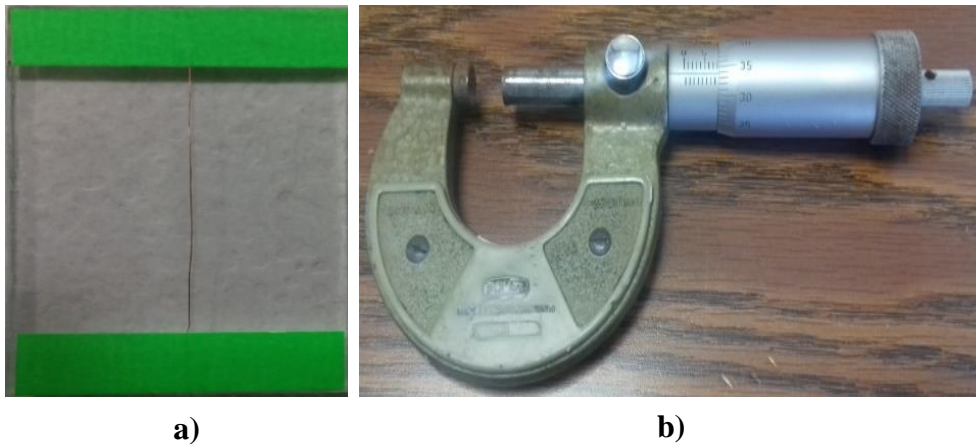


Figura 2.1. a) Patrón de referencia confeccionado y b) micrómetro utilizado (modelo SOMET) para medir el diámetro del objeto que conforma el patrón de referencia.

El diámetro de este objeto fue medido previamente usando un micrómetro (modelo SOMET, que tiene un error asociado de 10 μm) obteniendo el valor de: 110 μm +/- 0.9679. El valor para $\sigma=0.9679$ se obtuvo a partir de la ecuación (2.1) que se muestra en la siguiente página, considerando como entrada los valores de 20 mediciones subsecuentes del patrón de referencia.

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (2.1)$$

donde

σ : Es la desviación estándar

n : Es el número de mediciones

x_i : Son los valores observados en las mediciones

\bar{x} : Es el valor medio de las mediciones

Se decidió utilizar la expresión (2.1) debido a que el número de mediciones es un número finito; cabe mencionar que la desviación estándar (σ), en metrología con estudios de incertidumbre aleatoria representa el nivel de precisión obtenido: mide que tan dispersos están los datos alrededor del valor medio de estos, es decir, que un valor pequeño de σ se traduce en mayor repetibilidad y por ende en un elevado nivel de precisión del resultado [5].

En relación al número de mediciones elegido, no es posible recomendar un número ideal de mediciones n : este depende de cada medición específica y sus condiciones y exigencias particulares. Sin embargo se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- Para minimizar el efecto de los errores aleatorios en las mediciones, se recomienda realizar el mayor número de mediciones posible, no obstante, son muchos los casos donde es necesario realizar el mínimo de repeticiones requeridas, de otro modo aumenta el tiempo de medición y puede resultar contraproducente.
- Son pocos los casos donde es recomendable considerar n mayor de 10, salvo cuando se caracterizan instrumentos o patrones, o se hacen mediciones o calibraciones de alta exactitud [6].

Por lo anterior se eligió $n = 20$, debido a que no implicó un tiempo elevado en la medición y permite disminuir la incertidumbre aleatoria.

2.2.2 Preparación de las muestras biológicas

Las muestras se confeccionaron a partir de piezas de pollo (generalmente el muslo) obtenidas a partir de proveedores de un mercado local de la ciudad de Tulancingo, Hidalgo, México. El tiempo transcurrido desde el sacrificio del animal hasta el inicio de la preparación de la muestra oscila en el intervalo 4 - 7 horas para todas las muestras estudiadas. Antes de proceder a la separación de la piel de la pieza de pollo, ésta se enjuaga con agua común del grifo y es secada con toallas adecuadas o espontáneamente mediante evaporación. Para la separación de la piel, se coloca la pieza de pollo sobre una tabla de corte y posteriormente se desprende la piel sujetando un extremo de la piel con una mano mientras que con un instrumento de corte (cutter) se realizan cortes finos entre la superficie del musculo y el tejido conectivo de la piel procurando no dañar la misma.

Una vez retirada la piel, se selecciona una zona de la superficie interna (hipodermis) sobre la que visualmente se observen capilares, debido a que estos elementos son los principales objetos de interés en este estudio. Los capilares identificados son usados como puntos de referencia central para que a partir de ellos se marque y corte una porción de tejido de dimensiones aproximadas de 35mmx25mm (alto, ancho). Esta sección de tejido se coloca sobre una placa de vidrio de bajo costo de dimensiones 40mmx30mmx3mm la cual se usa como porta muestras.

Las dimensiones de la muestra y el porta muestras han sido seleccionadas considerando el espacio destinado a la ubicación de ellos en el arreglo óptico y a que la extensión de la muestra sea adecuada para cumplir el objetivo planteado en esta sección de la tesis. Finalmente, la muestra de tejido extraído se sujeta a la placa de vidrio usando bandas elásticas (ligas) como se observa en la [Figura 2.2](#).

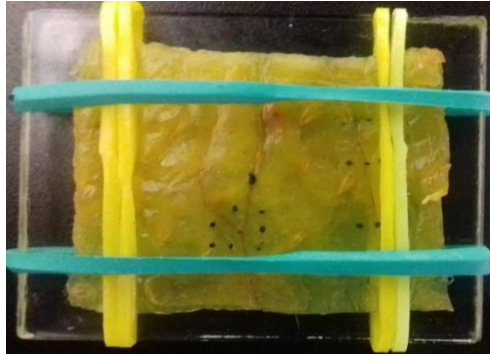


Figura 2.2. Muestra confeccionada con una sección de piel de pollo, fijada al porta muestras de vidrio mediante bandas elásticas.

2.2.3 Arreglo óptico-computacional

Se montó un arreglo óptico computacional con el fin de realizar la adquisición y análisis de imágenes con información microscópica de zonas seleccionadas de la muestra.

En la [Figura 2.3](#) se aprecia el esquema del arreglo óptico computacional utilizado para la adquisición y análisis de imágenes con información microscópica de zonas seleccionadas de la muestra.

El arreglo consta de los bloques principales:

- **B1)** Sistema de iluminación mediante fibra óptica.
- **B2)** Porta muestras mecánico con ajuste micrométrico xyz.
- **B3)** Sistema formador de imagen del tipo *objetivo-cámara*.
- **B4)** Sistema de adquisición y análisis de imágenes.

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

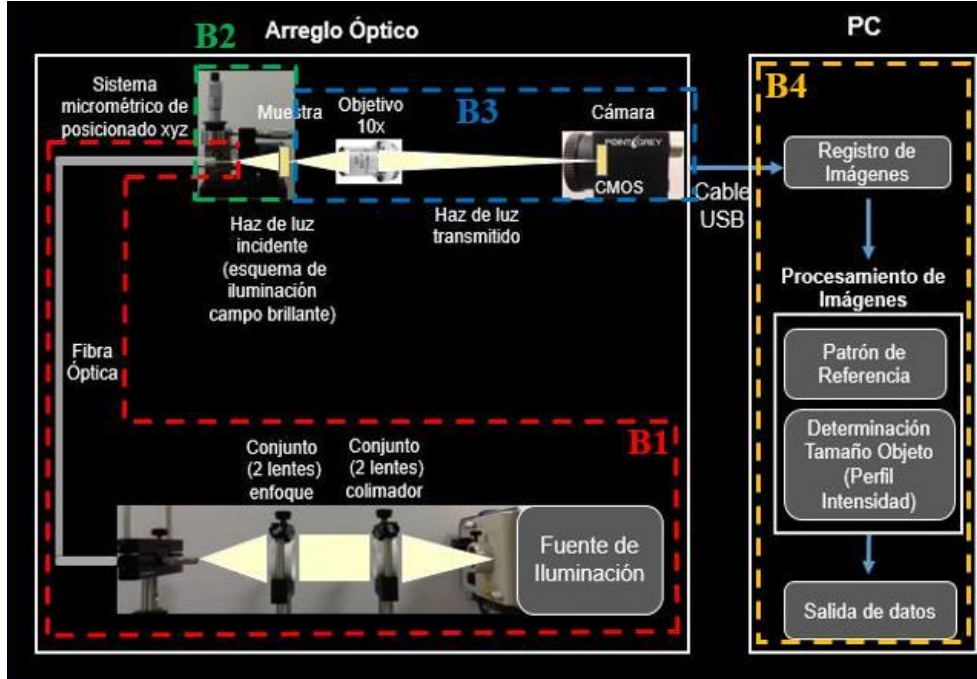


Figura 2.3. Representación esquemática del arreglo óptico-computacional implementado para la adquisición y análisis de imágenes ópticas digitales correspondientes a objetos microscópicos, se divide en los siguientes bloques: **B1)** Sistema de iluminación mediante fibra óptica, **B2)** Porta muestra mecánico con ajuste micrométrico xyz, **B3)** Sistema formador de imagen del tipo objetivo-cámara, **B4)** Sistema de adquisición y análisis de imágenes digitales.

1) *Sistema de iluminación mediante fibra óptica:* está compuesto por una fuente de iluminación de halógeno de 150 watts de consumo eléctrico (DC-950 Fiber-Lite®, Dolan-Jenner) que concentra mediante un espejo elíptico la imagen del foco luminoso. El haz luminoso divergente desde esta zona es colimado mediante un conjunto de dos lentes (cada lente es de una lupa de cristal, ALIAMEX 40 mm de diámetro) de distancia focal equivalente $f = 85.0$ mm colocadas dentro de una montura de plástico. Un segundo conjunto de dos lentes idéntico al anterior se ha colocado a una distancia de 86.5 mm del primer conjunto de lentes con el objetivo de hacer converger el haz luminoso sobre un extremo de la fibra óptica multifibra (B472-002112007072, Dolan-Jenner) de un diámetro útil $D = 6.35$ mm. El espacio comprendido entre ambos conjuntos de lentes se reserva para colocar un filtro

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

espectral (VariSpec™ VIS, Perkin Elmer) que se usa en otros estudios de esta tesis. El otro extremo de la multifibra se utiliza para iluminar a la muestra desde atrás mediante el conocido *esquema de iluminación posterior*.

2) *Porta muestra mecánico con ajuste micrométrico xyz*. Consiste en realizar una modificación reversible ligera a un sistema de posicionado micrométrico para pinhole (Filtro espacial 900, Newport) que permite mover al porta muestras de vidrio en un plano *xy* perpendicular al eje óptico y a lo largo del éste según el eje *z*. La precisión del desplazamiento en cualquiera de los tres ejes coordenados es de 10 μm .

3) *Sistema formador de imagen del tipo objetivo-cámara*: como su propio nombre lo indica, este es un sistema de microscopio relativamente simple que consta de un objetivo para formar una imagen real e invertida y del sensor bidimensional de una cámara digital que registra los niveles de intensidad de la imagen formada. El objetivo usado es del tipo *conjugado finito* (M-10x, Newport) y tiene los siguientes parámetros: amplificación 10x, apertura numérica $NA = 0.25$ y distancia de trabajo $WD = 5.5$ mm. Este objetivo pertenece a la norma alemana DIN por lo que su distancia tubo óptica es de 160 mm. La cámara digital utilizada es del tipo CMOS (Flea®3 FL3-U3-13S2C-CS 1/3" Color USB 3.0, POINT GREY) que cuenta con un tamaño del sensor de 1/3 pulgadas, un número de pixeles de 1328×1048 (horizontalxvertical) y un tamaño de los mismos de $3.63 \mu\text{m} \times 3.63 \mu\text{m}$. El sistema se caracteriza por un campo visual de 846.66 μm atendiendo a la determinación de este parámetro según la fórmula (3):

$$FOV_{\text{cámara-objetivo}} = \text{dimensión del sensor de la cámara} / \text{Amplificación del objetivo} \quad (2.2)$$

4) *Sistema de adquisición y análisis de imágenes digitales*. El sistema de adquisición y análisis de imágenes digitales microscópicas esencialmente lo constituyen dos algoritmos computacionales implementados en el software de programación MATLABB (R2014a 8.3.0.532) denominados como: *Algoritmo de*

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

adquisición de imágenes y *Algoritmo de análisis de imágenes* y sus scripts de MATLAB son respectivamente: *Captura_Imágenes_PointGrey.m* y *Cuantifica_Imágenes01.m*. A continuación se describe cada uno de estos dos scripts:

Captura_Imágenes_PointGrey.m: el script tiene una estructura sencilla: tiene un número pequeño de líneas de código, no incluye estructuras de control y se ejecuta de forma secuencial. El programa se ejecuta en el siguiente orden: 1) se establece la comunicación entre el sensor CMOS y la computadora, usando el comando ‘`video input`’, en esta parte del programa se definen las características del sensor CMOS, resolución, modo y canal en el que trabaja el sensor, 2) se previsualiza la imagen digital en una ventana con el comando ‘`preview`’ en tiempo real (ya sea del patrón de referencia o la muestra a estudiar), enseguida se le indica al usuario mediante un mensaje, que es momento de enfocar manualmente la imagen del objeto en el sensor con el movimiento axial de la muestra con respecto al objetivo, 3) la captura y registro de la imagen se lleva cabo empleando los comandos: ‘`imshow`’ e ‘`imwrite`’, estos permiten visualizar la imagen adquirida en una ventana distinta a la inicial y almacenarla en el instante en que el usuario pulsa la tecla ‘`enter`’. Los archivos se guardan en la misma carpeta donde se aloja el archivo de adquisición con el nombre y extensión que previamente han sido definidos por el usuario. Los detalles de este script se encuentran en el Apéndice A de este trabajo.

Cuantifica_Imágenes01.m: La ejecución de este script se realiza en dos etapas principales: a) Determinación de la relación de equivalencia entre la dimensión física y la dimensión en píxeles del patrón de referencia a partir de su imagen microscópica digital, y b) Determinación de las dimensiones físicas de un objeto de interés a partir de su imagen microscópica digital y la relación de equivalencia previamente establecida. A fin de cumplir las dos etapas anteriores en el script, se verifican los siguientes pasos: 1) en primer lugar se visualiza la imagen microscópica adquirida del objeto de interés (patrón de referencia) a través de las sentencias de MATLAB ‘`imread`’ e ‘`imshow`’, esta visualización también implica seleccionar la zona de interés de la imagen, recortarla y amplificarla usando el comando ‘`imcrop`’, 2) A

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

continuación dentro de dicha zona se elige la sección que se desea medir y se determina su dimensión física de la siguiente manera: se emplea el comando 'ginput', el cual muestra en pantalla un elemento gráfico en forma de cruz, y se escoge el punto inicial (P_o) y final (P_f) de dicha sección. 3) Con estos datos se usa del concepto de distancia euclídea y se determina la distancia en pixeles (unidad básica de la imagen digital) de la sección en cuestión, y 4) Se establece la relación de equivalencia entre la dimensión física real conocida de dicho objeto y su equivalente en pixeles que se ha calculado, en este punto se ha cumplido la primer etapa del algoritmo.

Una vez establecida la relación de equivalencia con el patrón de referencia (1ª etapa), se repiten los pasos 1-4 para la imagen digital de nuestro objeto de interés (vaso capilar) y se cumple la 2ª etapa del análisis, con ello se obtienen las dimensiones físicas del vaso capilar presente en la imagen digital microscópica a estudiar. Se pueden revisar los detalles de este script en el Apéndice B de este trabajo.

2.2.4 Documentación fotográfica de las muestras

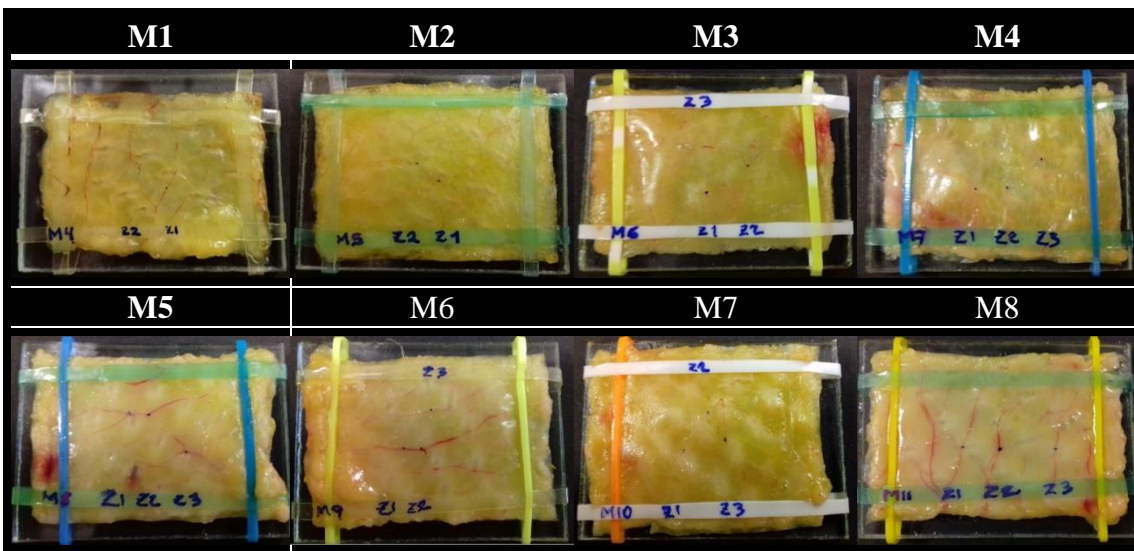
Se prepararon 8 muestras de piel de pollo y se estudiaron utilizando el arreglo óptico computacional descrito en la sección anterior con el fin de determinar la variabilidad del diámetro de los vasos sanguíneos en cada muestra. Las muestras fueron documentadas mediante un teléfono celular (Galaxy J3-6, SAMSUNG) para brindar una imagen de campo amplio de la zona de interés. Las muestras con la piel de pollo se colocaron en el porta muestras (B2) del arreglo óptico y se enfocó la imagen de los vasos sanguíneos sobre el sensor de la cámara CMOS. En seguida se adquirieron las imágenes digitales para cada zona de interés usando el código *Captura_Imágenes_PointGrey.m*, posteriormente fueron procesadas y analizadas con el programa de MATLAB *Cuantifica_Imágenes01*.

En la [Tabla 2.1](#) se muestran las imágenes a color típicas obtenidas con la cámara del teléfono celular de las 8 muestras ya mencionadas, todas las imágenes se tomaron a una distancia aproximada de 5,5 cm del plano de la superficie de la muestra hasta

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

el plano de la cámara del teléfono celular para garantizar la misma condición de enfoque. En cada una de las imágenes se aprecia la presencia de los vasos sanguíneos objetos de interés y como éstos se encuentran embebidos en el tejido hipodérmico de la muestra. Además, se observa a simple vista que existe una ligera variación del diámetro de estos vasos, y que en algunas muestras hay una mayor presencia de vasos sanguíneos respecto a otras muestras.

Tabla 2.1. Muestras preparadas para el estudio documentadas mediante un teléfono celular.



2.3 RESULTADOS

2.3.1 Imágenes microscópicas. Patrón de referencia

La [Figura 2.4](#) muestra una imagen microscópica del patrón de referencia, adquirida con el arreglo óptico computacional implementado. El segmento de alambre de cobre utilizado para elaborar el patrón de referencia, fue extraído de la bobina de un reloj convencional de pared.

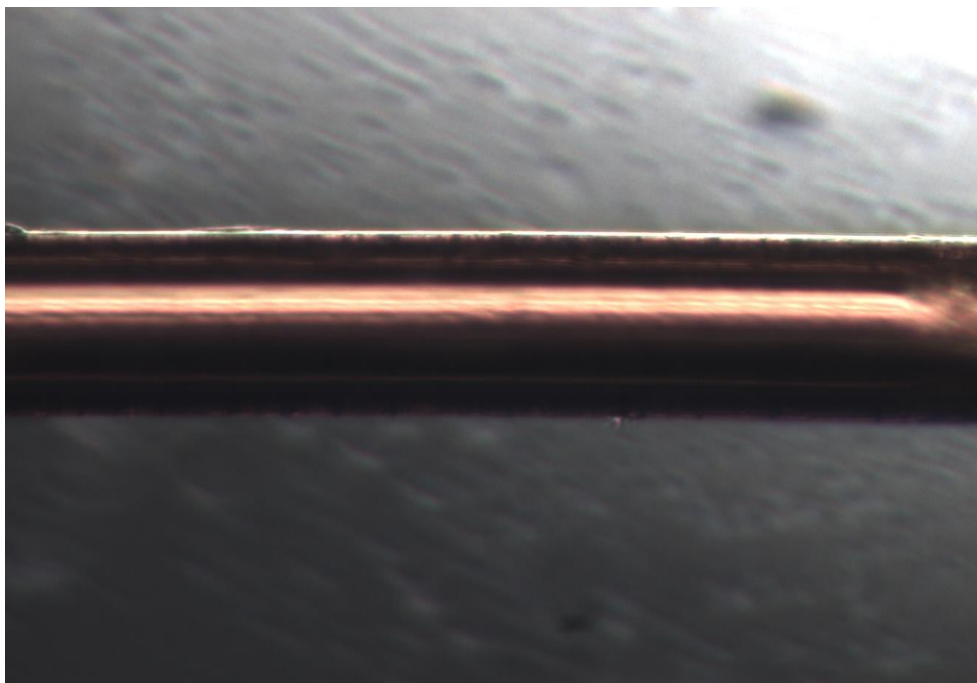


Figura 2.4. Imagen microscópica a color del patrón de referencia. El segmento de alambre de cobre utilizado para confeccionar el patrón de referencia fue extraído de la bobina de un reloj de pared convencional.

2.3.2 Imágenes microscópicas. Zonas y secciones de cada muestra

En las [Tablas 2.2-2.5](#) se muestran las imágenes microscópicas a color obtenidas de las 8 muestras mediante el arreglo óptico-computacional descrito en el apartado **2.2.3**. En cada tabla se observan en escala microscópica 2 diferentes zonas de cada muestra, también de cada zona se visualizan 2 secciones; las zonas y secciones han

Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

sidio elegidas estratégicamente para analizar los capilares (objetos de interés de este estudio) presentes en cada muestra.

Tabla 2.2. Imágenes microscópicas a color de las muestras **M1** y **M2**, se exhiben dos zonas y dos secciones.

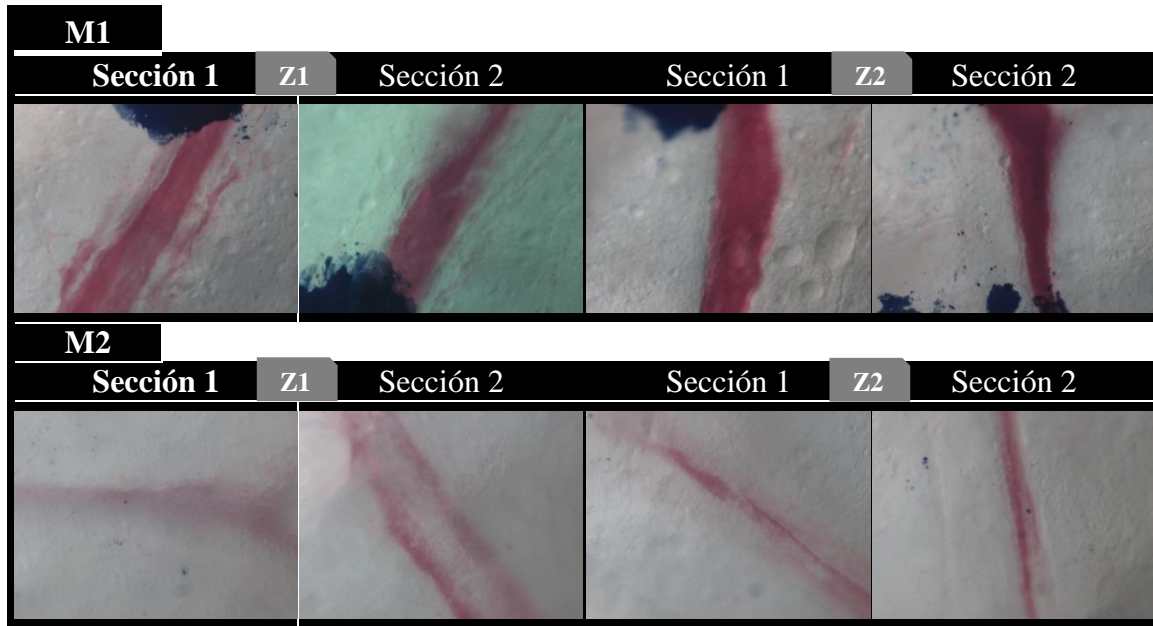
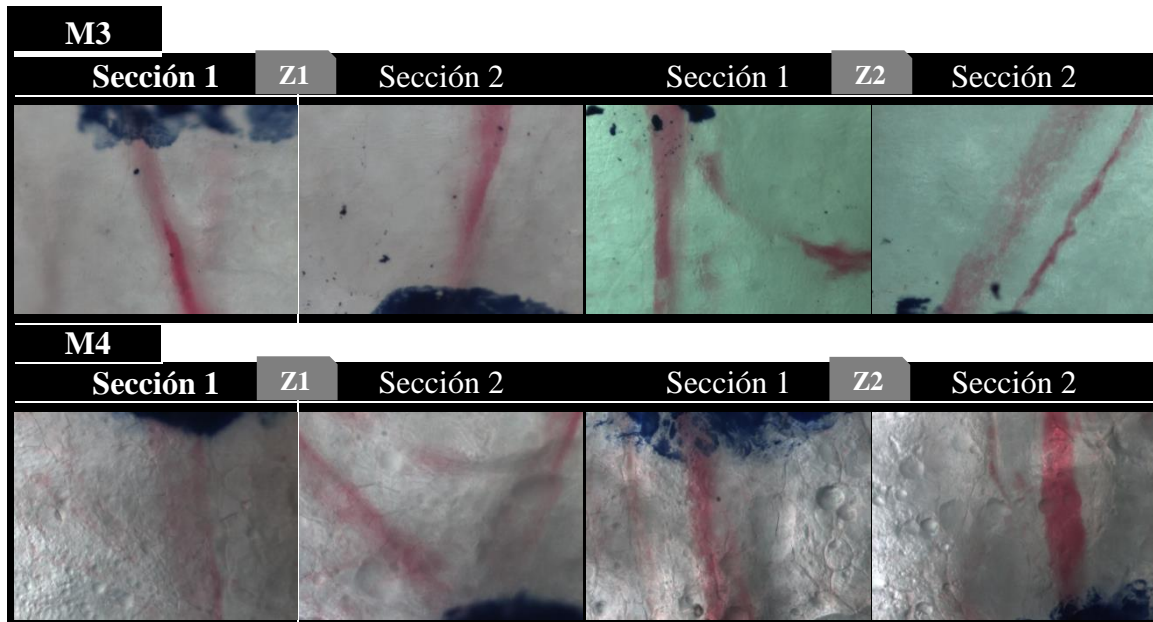


Tabla 2.3. Imágenes microscópicas a color de las muestras **M3** y **M4**, se exhiben dos zonas y dos secciones.



Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

Tabla 2.4. Imágenes microscópicas a color de las muestras **M5** y **M6**, se exhiben dos zonas y dos secciones.

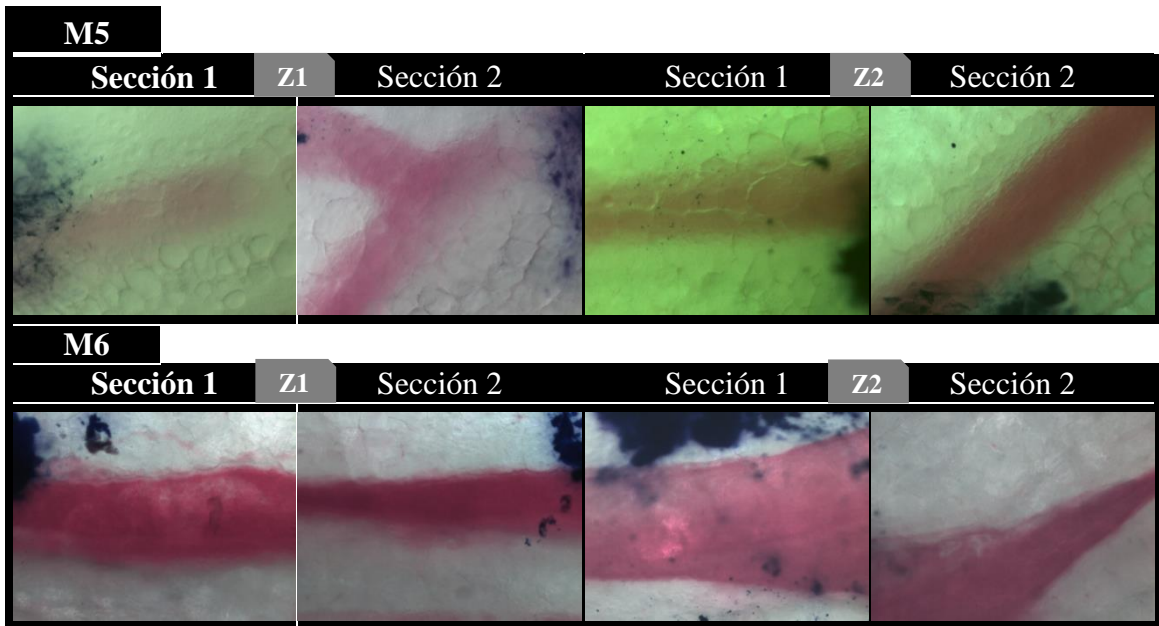
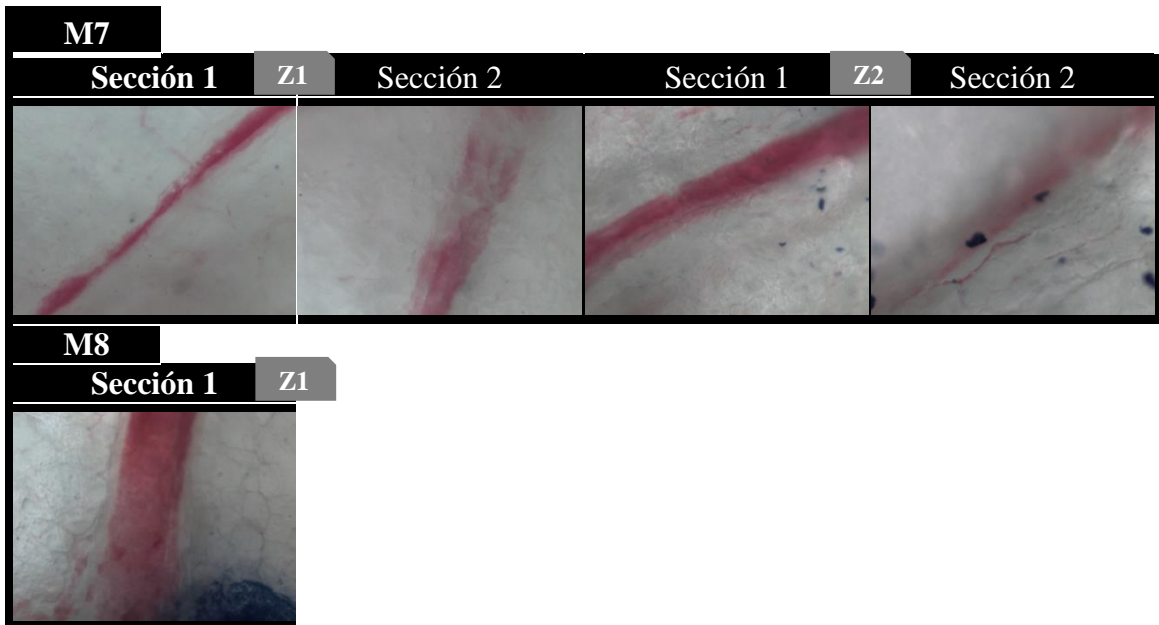


Tabla 2.5. Imágenes microscópicas a color de las muestras **M7** y **M8**, se exhiben dos zonas y dos secciones para **M7**, para la muestra **M8** solo una zona y una sección.



2.4 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

En la [Figura 2.5](#) se muestra el resultado del valor promedio de 20 mediciones del patrón de referencia.

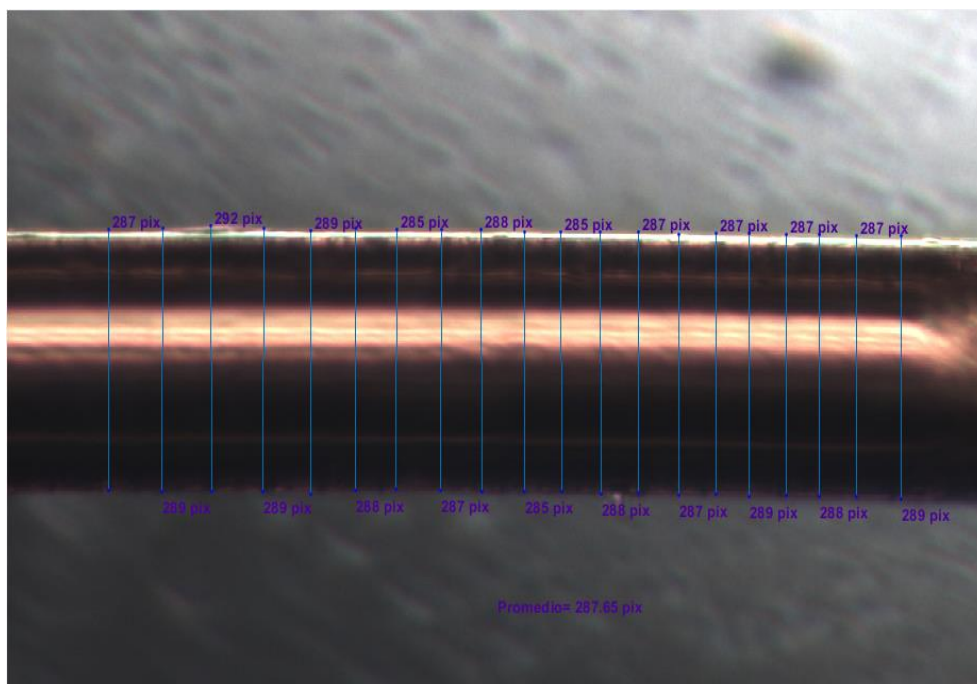


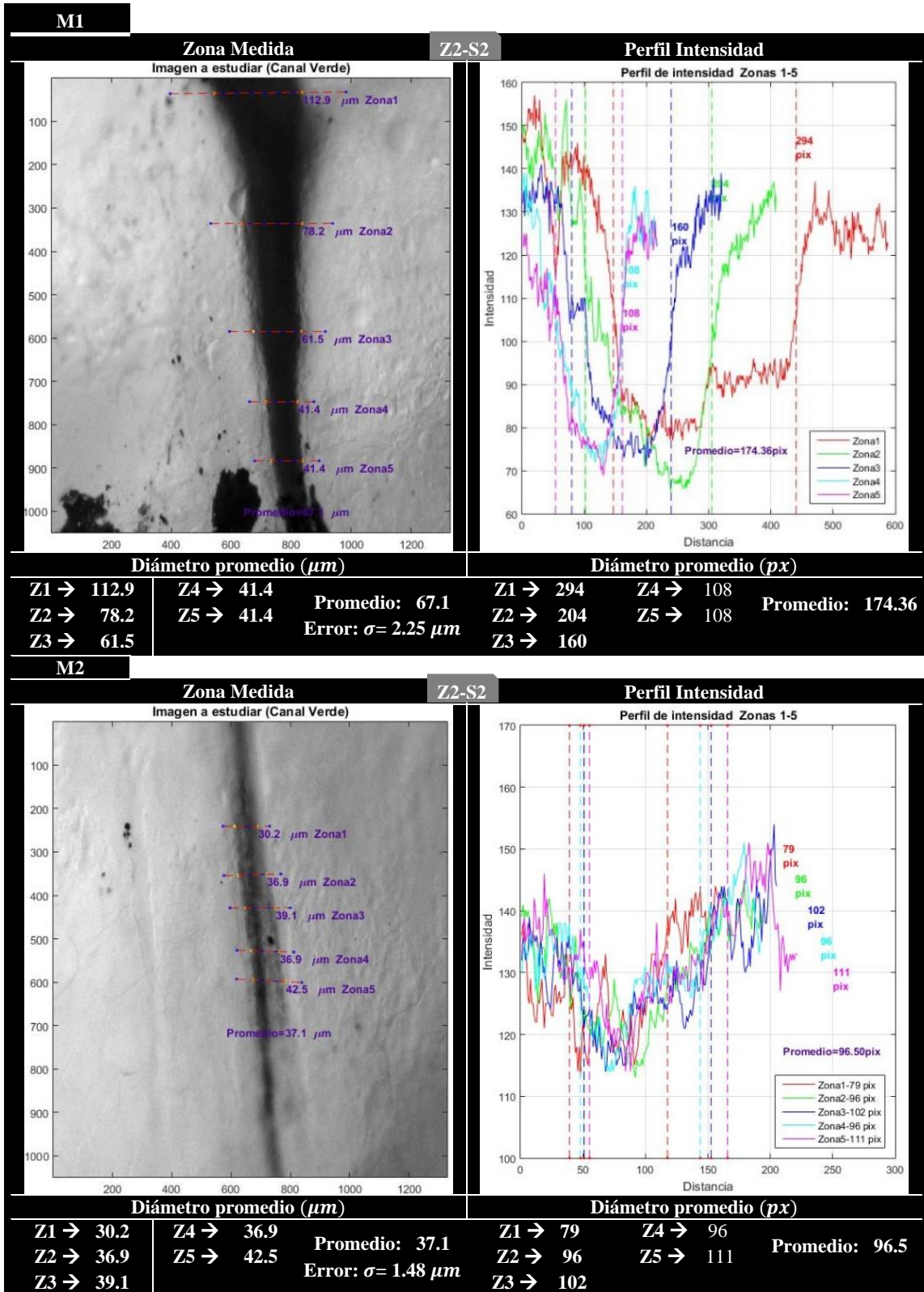
Figura 2.5. Dimensiones del patrón de referencia en pixeles, valor promedio = 287.65

2.4.1 Zonas y secciones más representativas de cada muestra

En la [Tabla 2.6](#) se muestran los resultados obtenidos del análisis de las diferentes zonas y secciones más representativas de cada muestra analizada. Se incluye en la tabla la imagen microscópica (en escala de grises) de las zonas y secciones medidas, el perfil de intensidad, el valor promedio de la dimensión del capilar expresado en dos unidades: micrómetros (μm) y pixeles (px), y el error de medición.

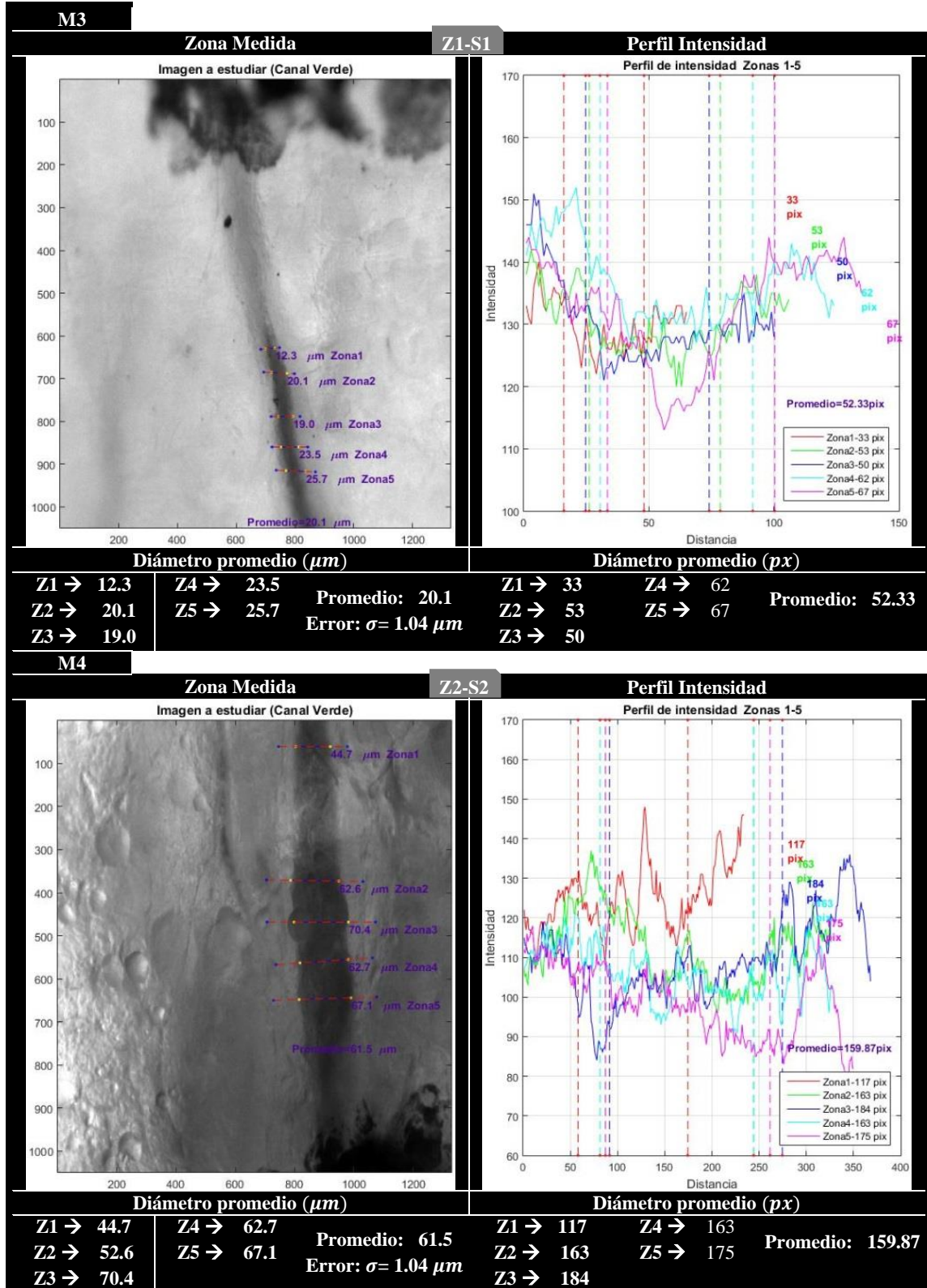
Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas.



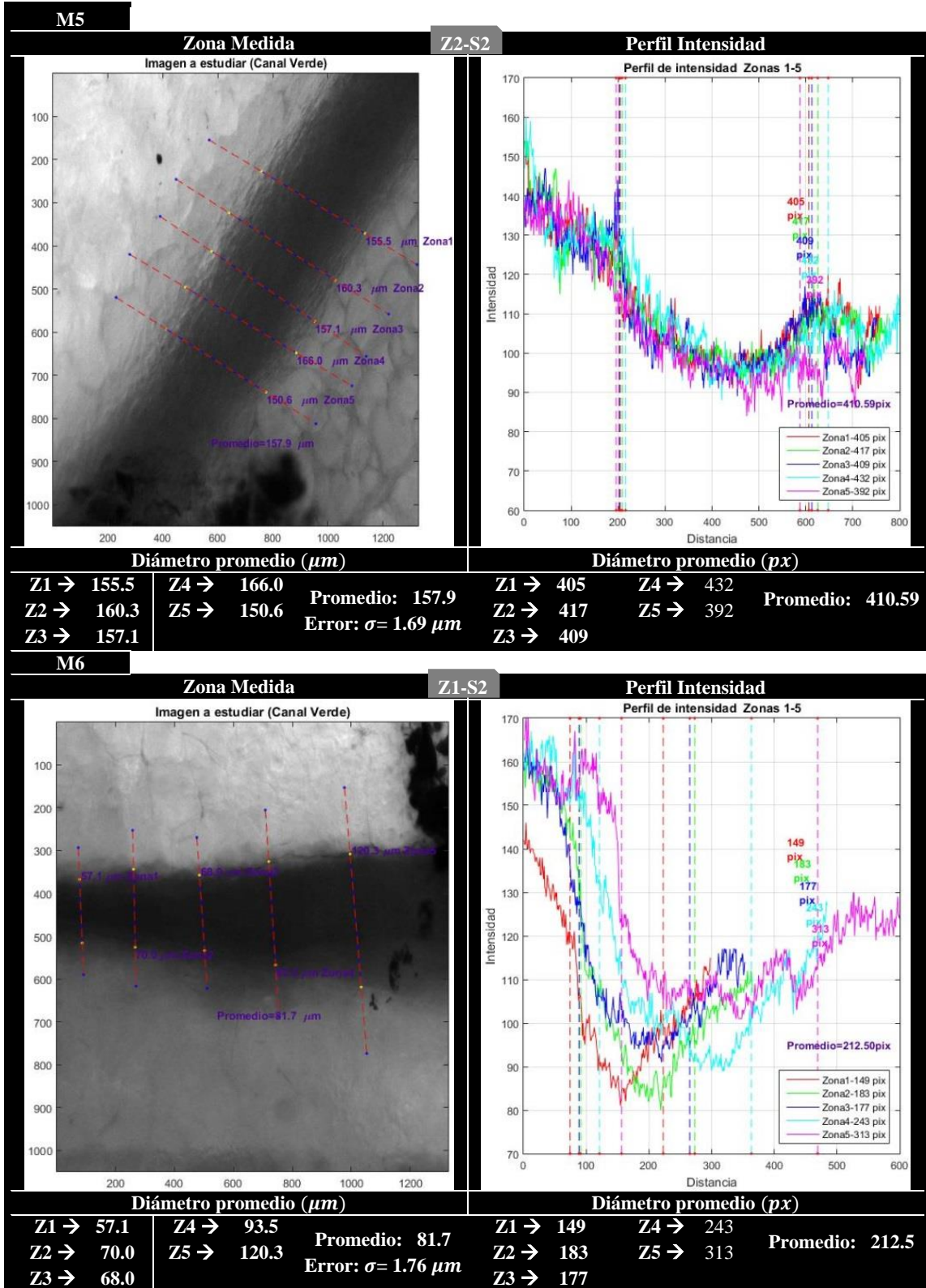
Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas. Continuación...



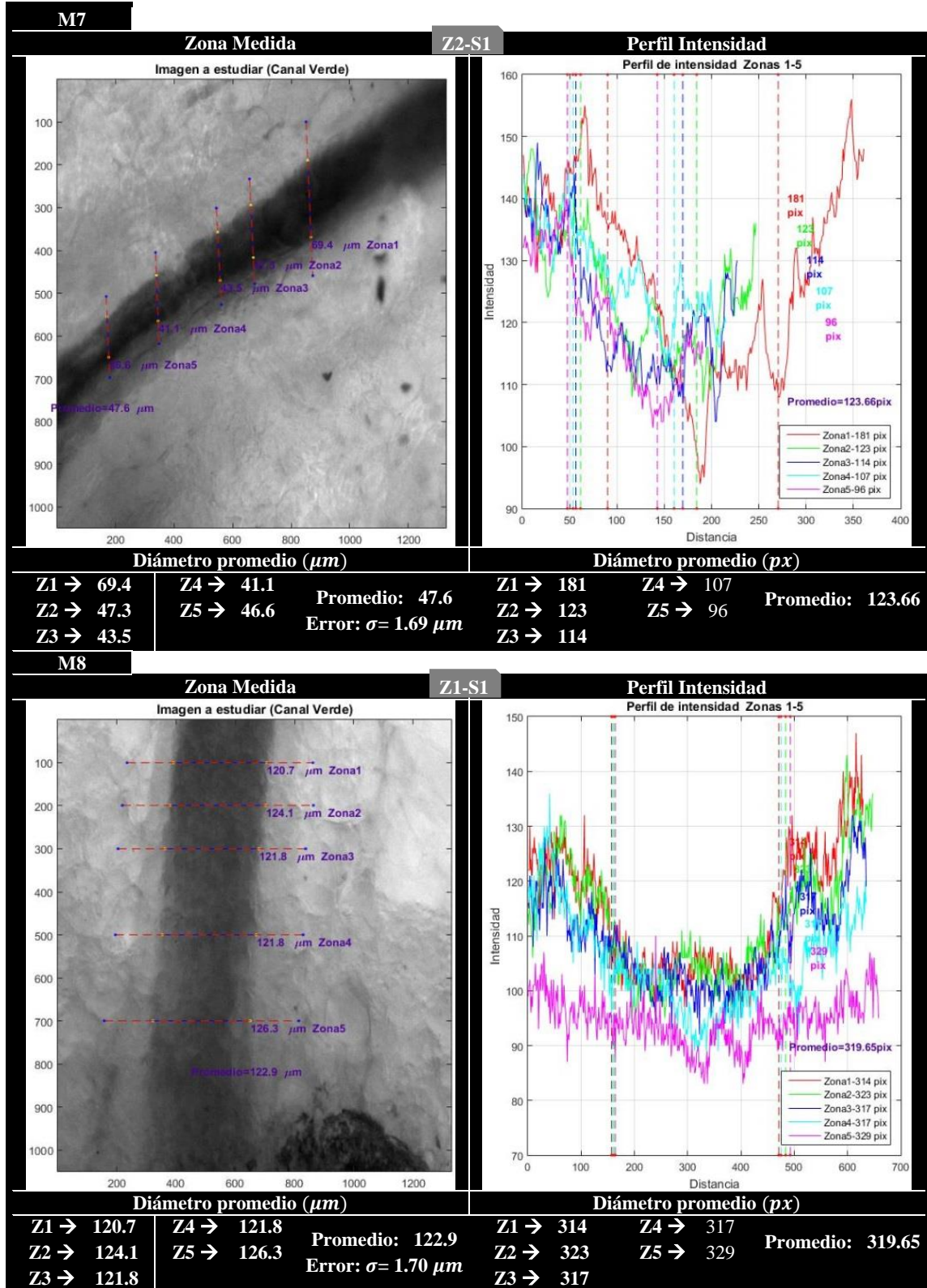
Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas. Continuación...



Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

Tabla 2.6. Datos de análisis de las muestras más representativas. Continuación...



Capítulo 2. Métrica de vasos capilares superficiales en muestras de tejidos ex-vivos animales a partir de imágenes ópticas digitales, adquiridas con un sistema microscópico simple

2.4.2. Resultados de medición

En la [Tabla 2.7](#) se muestran los datos que indican la variabilidad de las dimensiones de los vasos sanguíneos en cada muestra, se expresan mediante un intervalo en el que oscilaron las dimensiones de estos, el intervalo se definió tomando como extremos el menor y mayor promedio de 5 mediciones hechas en cada sección de las 2 zonas consideradas en cada muestra. El error de medición se determinó realizando 15 mediciones continuas de un mismo segmento en cada muestra analizada.

Visualmente se ha observado una variación en la forma y tamaño de los vasos capilares analizados, al igual que cambios en el nivel de contraste que estos presentan de una muestra a otra.

Ciertas muestras presentan mayor vascularización que otras, el contraste en apariencia aumenta y disminuye debido a la mayor o menor concentración de material sanguíneo (hemoglobina) absorbente de luz.

Tabla 2.7. Datos variabilidad de las dimensiones de los vasos sanguíneos en cada muestra. Se muestra el intervalo promedio en el que oscilaron las mediciones y el error (σ) de medición.

Muestra	Intervalo (μm)	Error σ (μm)
1	69.1 - 107.5	2.25
2	41.2 - 121	1.48
3	41.4 - 98.6	1.04
4	61.5 - 91.4	1.04
5	147.1 - 168.4	1.69
6	86.1 - 232	1.76
7	7.5 - 110.8	1.69
8	121.9 - 134.2	1.70

2.5 CONCLUSIONES

Mediante el estudio realizado se ha logrado cuantificar la variación en las dimensiones de los vasos capilares, en la muestra 7 se logró determinar un valor promedio de 7.5 μm (el menor obtenido) y en la muestra 6 de 232 μm como el valor máximo de todos. Para las mediciones se calculó un error promedio de 1.58 μm , el cual es relativamente bajo.

Existen patologías como la arteriopatía periférica en las piernas que puede presentar un estrechamiento (modificación en la dimensión) y endurecimiento en los vasos sanguíneos que irrigan los diferentes tejidos del cuerpo, ocasionando disminución en el flujo sanguíneo que de ocurrir causan lesiones tanto en tejidos y nervios de estas extremidades.

Por lo anterior la determinación de la variabilidad en las dimensiones de los diferentes vasos sanguíneos presentes en un zona de tejido biológico en riesgo es importante y de gran interés, puede ser una herramienta eficaz que provea información de tipo diagnóstico para la determinación de signos condicionantes del desarrollo de este tipo de enfermedades en el pie diabético.

2.6 REFERENCIAS

- [1] Postnov D. D., “Estimation of vessel diameter and blood flow dynamics from laser speckle images”, © 2016 Optical Society of America.
- [2] Shams Kazmi S. M. *et al.*, “Flux or speed Examining speckle contrast imaging of vascular flows”, ©2015 Optical Society of America.
- [3] Watkins S. C. *et al.*,” High Resolution Imaging of Vascular Function in Zebrafish”, PLOS | One, Agosto 2012.
- [4] KANDANI H. *et al.*, “Development of blood vessel searching system for HMS”, 2008 SPIE Digital Library.
- [5] W. D. Cooper, A. D. Helfrick, *Instrumentación Electrónica Moderna*, Edo. De México, México: Prentice Hall, 1991.
- [6] W. A. Schmid, R. J. Lazos, “Guía para Estimar la Incertidumbre de la Medición”, Centro Nacional de Metrología (CENAM), El Marqués, Qro., México, < <http://www.cenam.mx>>, mayo 2000.

Capítulo 3

EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE LA PIEL HUMANA A PARTIR DE ESPECTROS SINTÉTICOS DE REFLEXIÓN DIFUSA

3.1 INTRODUCCIÓN

La interacción de luz con un medio turbio como lo es un tejido biológico se determina mediante el conocimiento de las propiedades ópticas o parámetros ópticos (PO) del tejido, la geometría del haz de iluminación y la geometría del tejido mismo, lo cual se conoce como problema directo en la teoría del transporte radiativo [1]. De este modo, el conocimiento de las propiedades ópticas -índice de refracción $n(\lambda)$, coeficiente de absorción $\mu_a(\lambda)$, coeficiente de esparcimiento $\mu_s(\lambda)$ y el factor de anisotropía $g(\lambda)$, donde λ representa la longitud de onda de la radiación que se propaga en el tejido- es indispensable para el uso de técnicas ópticas modernas en diferentes entornos clínicos que comprenden el diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades [2].

La obtención de los PO, se puede realizar ya sea in-vivo o ex-vivo y por diversos métodos ópticos que implican tanto la medición monocromática de estos parámetros hasta su medición en una región espectral relativamente amplia [3-4]. Lo ideal es realizar una medición in-vivo y no invasiva de los PO [6-7] con el fin de diagnosticar o aplicar terapia al tejido lesionado.

En particular, a partir de la medición de la luz que reemerge por determinada zona localizada de un tejido biológico, luego que ésta se ha hecho penetrar al tejido, es posible obtener lo que se denomina su espectro de reflexión difusa, $R(\lambda)$. Este

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

espectro queda determinado en gran medida por la dependencia espectral de los parámetros ópticos.

Los parámetros ópticos contienen la información de los parámetros fisiológicos del tejido [8]. Por ejemplo, el coeficiente de absorción total de un tejido, en una buena aproximación, queda determinado por la fracción volumétrica de sangre, B , la saturación de oxígeno, S , y el contenido de agua, W [7]. Por otra parte, el coeficiente de esparcimiento contiene información de la densidad volumétrica de las partículas o estructuras responsables del esparcimiento óptico [7].

Todos los parámetros anteriores se pueden extraer a partir del espectro de reflexión difusa medido experimentalmente mediante un algoritmo de recuperación que hace uso de un modelo de transporte de la luz en el tejido. Este problema se clasifica como un problema inverso en la teoría del transporte radiativo [9].

Varios autores han desarrollado y probado algoritmos para realizar la extracción de los parámetros ópticos a partir del espectro de reflexión difusa medido en el tejido ya sea utilizando modelos de transporte deterministas o analíticos, como la aproximación de la difusión o estocásticos como el método Monte Carlo [10]. Algunos autores han desarrollado también modelos de transporte empíricos que facilitan esta tarea [11]. Por ejemplo, Yang H. *et al.* [7], extrajeron las propiedades ópticas de la piel in vivo con un algoritmo que utiliza la expresión analítica de la reflexión difusa resuelta espacialmente según el modelo de Farrell *et al.* [5]. Reif *et al.* [12] determinan las propiedades ópticas de imitadores de tejido (phantoms) mediante un algoritmo que incorpora la codificación del método Montecarlo MCML modificando una sonda de 2 fibras ópticas. Usualmente la mayoría de los trabajos anteriores validan el algoritmo de obtención de los parámetros ópticos al usar imitadores de tejido biológico con propiedades ópticas conocidas [13] y muy pocos emplean espectros sintéticos para este fin [14].

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

En este estudio se evaluó el desempeño de un algoritmo para la determinación de los parámetros fisiológicos de tejido biológico (piel humana) utilizando espectros sintéticos de prueba. Estos espectros simulan el espectro de reflexión difusa de la piel medido experimentalmente con una sonda de fibras ópticas formada por una fibra fuente y una fibra detectora separadas entre sí pocos milímetros.

Los espectros se simulan para modelos ópticos de la piel con diferente grado de complejidad, dada por la cantidad de elementos absorbentes y generadores de esparcimiento considerados. Además la simulación garantiza la generación de espectros con la presencia de ruido semejante al que aparece en los ERD medidos experimentalmente. El análisis del desempeño del algoritmo para diferentes modelos ópticos de la piel y diferente nivel de ruido, mostró una mejor comprensión de la influencia de estos factores en la calidad del algoritmo de extracción de los parámetros fisiológicos.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Modelo óptico de la piel

Propiedades ópticas (un solo absorbente)

Este modelo simple considera a la piel como un medio turbio con propiedades de absorción y esparcimiento homogéneas en todo el volumen. Se considera a la sangre como el único elemento absorbente y a las fibras de colágeno como las responsables del esparcimiento. Los parámetros fisiológicos del tejido son: 1) la fracción volumétrica de sangre, B , 2) la saturación de oxígeno, S , y 3) el coeficiente de amplitud, A , del esparcimiento reducido genérico [6]. De esta manera, el coeficiente de absorción total, $\mu_{aT}(\lambda)$, y el coeficiente de esparcimiento reducido total, $\mu'_{sT}(\lambda)$ del modelo se calcularán mediante las expresiones 1-4, respectivamente:

$$\mu_{aT}(\lambda) = B * \{S * \mu_{aHbO_2}(\lambda) + (1 - S) * \mu_{aHb}(\lambda)\}, \quad (3.1)$$

donde los coeficientes $\mu_{aHbO_2}(\lambda)$ y $\mu_{aHb}(\lambda)$ están dados por las siguientes

expresiones:

$$\mu_{aHbO_2}(\lambda) = \ln 10 * C * \varepsilon_{HbO_2}(\lambda)/64500, \quad (3.2)$$

$$\mu_{aHb}(\lambda) = \ln 10 * C * \varepsilon_{Hb}(\lambda)/64500, \quad (3.3)$$

$$y \mu'_{sT}(\lambda) = A * \{\mu'_{sRayleigh}(\lambda) + \mu'_{sRayleigh}(\lambda)\}. \quad (3.4)$$

donde “ C ” es la concentración de sangre que tiene un valor típico de 150 g/L. El factor, $\varepsilon(\lambda)$, de las expresiones (3.2) y (3.3) es el coeficiente de extinción molar para la hemoglobina en su estado oxigenado (HbO_2), así como no oxigenado (Hb), respectivamente. Los valores para $\varepsilon(\lambda)$ son tomados de Prahl [15].

Modelo de reflexión difusa

Nos interesa modelar la reflexión difusa espectral que una fibra óptica detectora recolecta cuando una fibra óptica emisora idéntica, separada una distancia de 2.43 mm de la primera fibra, inyecta luz a la piel como se observa en la [Figura 3.1](#).

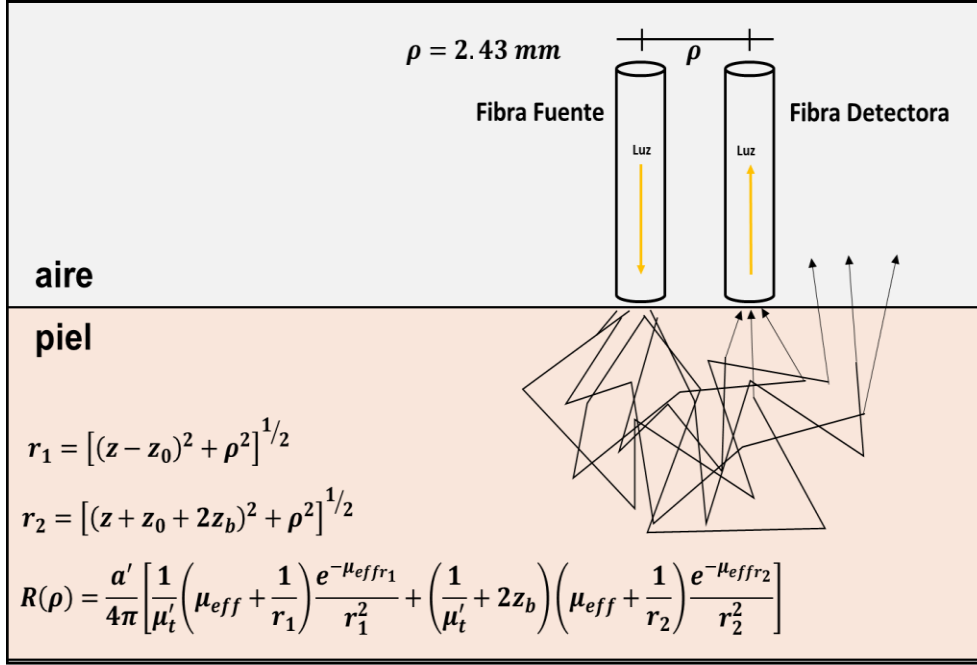


Figura 3.1. Geometría de la sonda óptica bifurcada (de dos fibras) para la cual se simulan los espectros sintéticos utilizando el modelo de reflexión difusa espectral resuelta radialmente, $R(\rho)$, y las PO definidas en el modelo óptico de la piel (sección 3.2.1).

Se adoptó al igual que otros autores [4,7], como modelo de transporte radiativo, el propuesto por Farrell *et al.* [5] para la reflexión difusa resuelta radialmente, $R(\rho) = F(\rho, n_{rel}, \mu_a, \mu_s)$, con $n_{rel} = n_s/n$, donde n es el índice de refracción del tejido y n_s el índice de refracción del medio exterior.

$$R(\rho) = \frac{a'}{4\pi} \left[\frac{1}{\mu'_t} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_1} \right) \frac{e^{-\mu_{eff} r_1}}{r_1^2} + \left(\frac{1}{\mu'_t} + 2z_b \right) \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_2} \right) \frac{e^{-\mu_{eff} r_2}}{r_2^2} \right] \quad (3.5)$$

donde

$R(\rho)$: Es la descripción teórica de la reflectancia difusa radialmente dependiente

a' : Es el albedo de transporte de luz

μ'_t : Es el coeficiente de interacción total

μ_{eff} : Es el coeficiente de atenuación o coeficiente de transporte efectivo

$$r_1 = [(z - z_0)^2 + \rho^2]^2$$

$$r_2 = [(z + z_0 + 2z_b)^2 + \rho^2]^{1/2} \text{ [5,7].}$$

3.2.2 Espectros sintéticos

Los espectros sintéticos o simulados se generaron mediante el modelo de reflexión anterior donde se utilizaron como datos las expresiones espectrales de los PO para valores de entrada específicos de los parámetros fisiológicos (B, S, A) y del factor de escala, Const, que considera el aspecto geométrico entre la fibra-fuente y la fibra-detectora de la sonda de medición [6]. Este factor (Const) de escala desempeña el mismo rol que el parámetro “G” -factor de proporcionalidad que contempla factores como el diámetro de la fibra óptica, la apertura numérica (NA) y la eficiencia de acoplamiento de la luz en la piel que es relativamente constante con respecto a la longitud de onda- empleado por Yang H *et al.* [7], para el ajuste de espectros de reflexión difusa medidos experimentalmente. Los parámetros fisiológicos en cada espectro generado fueron seleccionados aleatoriamente y restringidos a estar contenidos en los siguientes intervalos:

$$0.0001 \leq B \leq 0.005, \tag{3.6}$$

$$0.5 \leq S \leq 0.95, \tag{3.7}$$

$$0.5 \leq A \leq 1.25 \tag{3.8}$$

$$\text{y } 0.5 \leq Const \leq 1.25. \tag{3.9}$$

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

que se corresponden bastante bien con valores razonables reales para estos parámetros. El modelo de reflexión difusa espectral así resultante, fue codificado en el lenguaje de programación MATLAB^(R). En cada corrida se generaron tres espectros individuales y cada uno de ellos se guardó en un archivo con extensión .txt. La estructura del archivo es con un encabezado de los valores B, S, A y Const que está seguido por el espectro de reflexión difusa que se guardó ordenado en dos columnas (λ , R). Además, se añadió ruido blanco a los espectros para que simularan mejor los espectros experimentales. El ruido utilizado fue del tipo blanco Gaussiano por medio de la función propia de MATLAB^(R), awgn.m.

Se generaron 20 espectros sintéticos para el estudio, los cuales fueron analizados con el algoritmo de extracción que a continuación se describe. Los “valores verdaderos” de los parámetros del modelo que encabezan el archivo del espectro sintético, son denotados como: (B_{ver} , S_{ver} , A_{ver} , $Const_{ver}$).

3.2.3 Algoritmo de extracción

Descripción del algoritmo

Las ecuaciones (3.1-3.5) son las ecuaciones subyacentes en las que el algoritmo de extracción se basa. El ajuste se realiza mediante la implementación de un método manual de ajuste del modelo al espectro sintético mediante la modificación de los parámetros, (B, S, A, Const), del modelo teórico hasta lograr una igualación visual con el espectro sintético.

El algoritmo de extracción desarrollado incorpora los elementos anteriores que fueron codificados en una interfaz gráfica de usuario (GUI) de MATLAB^(R). Mediante la interfaz se realiza el ajuste del modelo teórico al espectro mediante controles deslizables (sliders) que varían los valores de los parámetros del modelo (B, S, A, Const) en un orden específico. Los pasos del algoritmo se describen a continuación:

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

Paso 1. Selección del espectro sintético mediante la exploración de la carpeta de la PC que contiene los espectros simulados.

Paso 2. Mover el control deslizable correspondiente al parámetro “Const” con el objetivo de igualar aproximadamente el valor del espectro modelado, $R_{\text{model}}(\lambda)$, al del espectro sintético, $R_{\text{sint}}(\lambda)$, en la zona espectral 650-800 nm.

Paso 3. Mover el control deslizable correspondiente al parámetro “B” con el objetivo de igualar aproximadamente el valor del espectro modelado, $R_{\text{model}}(\lambda)$, al del espectro sintético, $R_{\text{sint}}(\lambda)$, en la zona espectral 450-650 nm.

Paso 4. Mover el control deslizable correspondiente al parámetro “S” con el objetivo de igualar aproximadamente el valor del espectro modelado, $R_{\text{model}}(\lambda)$, al del espectro sintético, $R_{\text{sint}}(\lambda)$, en la zona espectral 450-650 nm. Específicamente se busca igualar la forma “W” del espectro en dicha región espectral.

Paso 5. Mover el control deslizable correspondiente al parámetro “A” con el objetivo de igualar aproximadamente el valor del espectro modelado, $R_{\text{model}}(\lambda)$, al del espectro sintético, $R_{\text{sint}}(\lambda)$. De forma particular se desea ajustar “la altura” del espectro $R_{\text{model}}(\lambda)$ en la zona espectral de 450-650 nm al del espectro sintético, $R_{\text{sint}}(\lambda)$.

Paso 6. Una vez que logremos una “buena” coincidencia visual entre ambos espectros, procedemos a salvar en un archivo .txt los parámetros del modelo. Estos “valores extraídos” de los parámetros del modelo los denotamos como: (B_{ext} , S_{ext} , A_{ext} , $\text{Const}_{\text{ext}}$).

Evaluación del desempeño del algoritmo

La evaluación del desempeño del algoritmo se realiza mediante la comparación de los valores verdaderos y los valores extraídos de los parámetros fisiológicos y geométricos del modelo. La comparación se realiza cualitativamente mediante la observación visual de la distribución de los puntos (P_{ver} , P_{ext}) de los parámetros P de este problema.

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

La distribución ideal es sobre una línea recta que divide el primer cuadrante del sistema cartesiano en dos zonas iguales (recta con una inclinación de 45°). La evaluación cuantitativa del desempeño de los parámetros se realizó mediante el valor del coeficiente de correlación lineal, R, de los datos (P_{ver} , P_{ext}) que debe ser cercano a uno; y mediante el error relativo porcentual de extracción que se define como:

$$\varepsilon \% = \frac{P_{ver} - P_{ext}}{P_{ver}} * 100 \%. \quad (3.10)$$

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Espectros sintéticos generados

En la [Figura 3.2](#), se muestra el resultado típico de una corrida del programa de MATLAB^(R) que genera tres espectros sintéticos simultáneamente. Obsérvese que los espectros presentan ruido blanco Gaussiano añadido que tiene un nivel semejante al que se presenta en un espectro medido experimentalmente, en este caso con un espectrómetro USB 4000 (Ocean Optics). Los valores de los parámetros (B, S, A, Const) para cada espectro aparecen en la leyenda del gráfico.

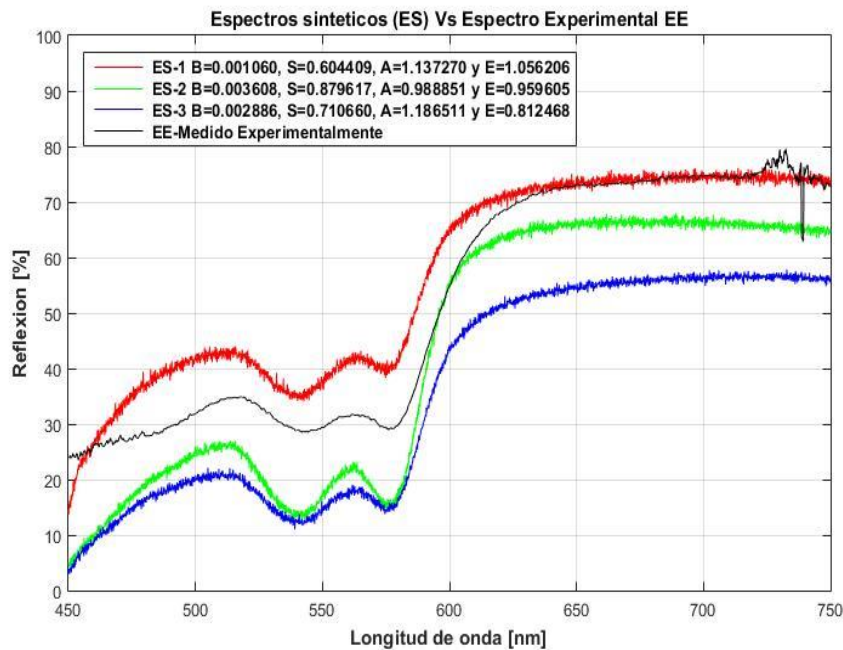


Figura 3.2. Espectros sintéticos típicos generados con el modelo de reflexión y los parámetros ópticos descritos en las subsecciones 3.2.1 y 3.2.2 de la sección MATERIALES Y MÉTODOS de este capítulo.

3.3.2 Algoritmo de extracción

La [Figura 3.3](#) muestra una copia de pantalla de la interfaz gráfica, la cual muestra un espectro sintético y su correspondiente espectro simulado que produce un ajuste visual adecuado del espectro sintético. En el recuadro de la derecha de la interfaz gráfica, resaltado en un marco de color rojo, se muestra los valores extraídos de los parámetros para este espectro.

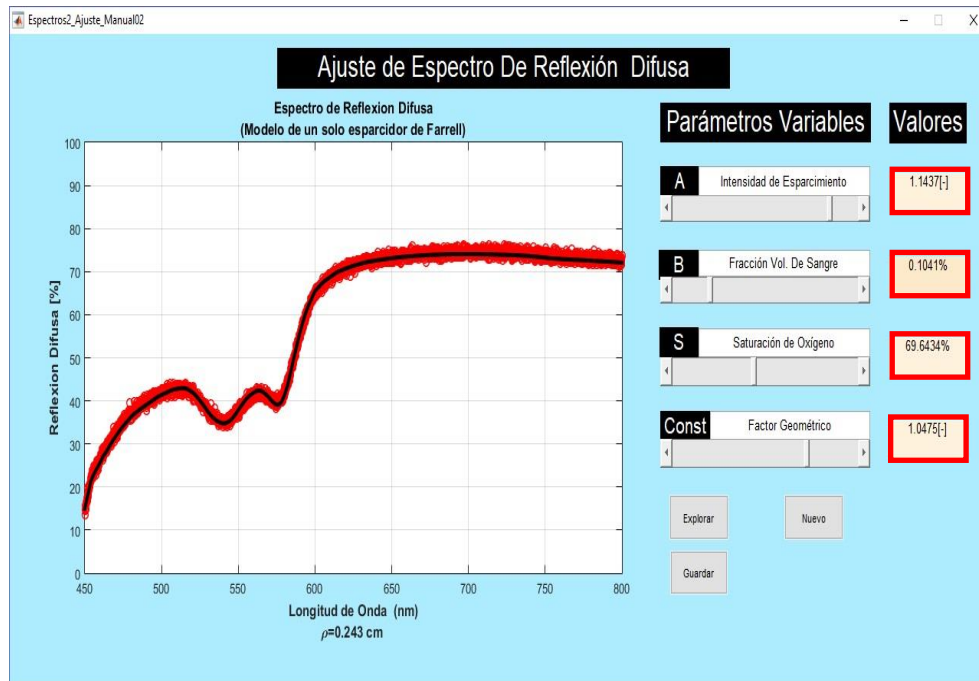


Figura 3.3. Interface gráfica mediante la cual se realiza el proceso de ajuste con el algoritmo descrito en la sección 3.2.3 de esta sección. Nótese que se ha realizado el ajuste para el espectro representado en color rojo de la [Figura 3.2](#).

3.3.3 Desempeño del algoritmo de extracción

En la [Figura 3.4](#) aparecen los gráficos de la dependencia de los parámetros extraídos contra los parámetros verdaderos del espectro sintético para los cuatro parámetros del modelo. Como puede observarse se ha obtenido una distribución de los puntos (P_{ver} , P_{ext}) muy cercana alrededor de la línea recta, la cual sería la distribución de puntos para un algoritmo con un desempeño ideal. A simple vista podemos observar que el parámetro “Const” se recupera muy bien por el algoritmo

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

en comparación con los demás parámetros del modelo, ya que se puede observar que el valor de R_{Const} (coeficiente de correlación del parámetro Const) es el más cercano a 1, siendo este el valor esperado e ideal para R (coeficiente de correlación lineal). El análisis de la regresión lineal de la distribución de cada parámetro resultó tener un coeficiente de correlación R de valor $R_B = 0.9981$, $R_S = 0.9885$, $R_A = 0.9939$ y $R_{\text{Const}} = 0.9999$ para la fracción volumétrica de sangre (B), la saturación de oxígeno (S), el coeficiente de intensidad del esparcimiento reducido (A) y la constante geométrica (Const), respectivamente.

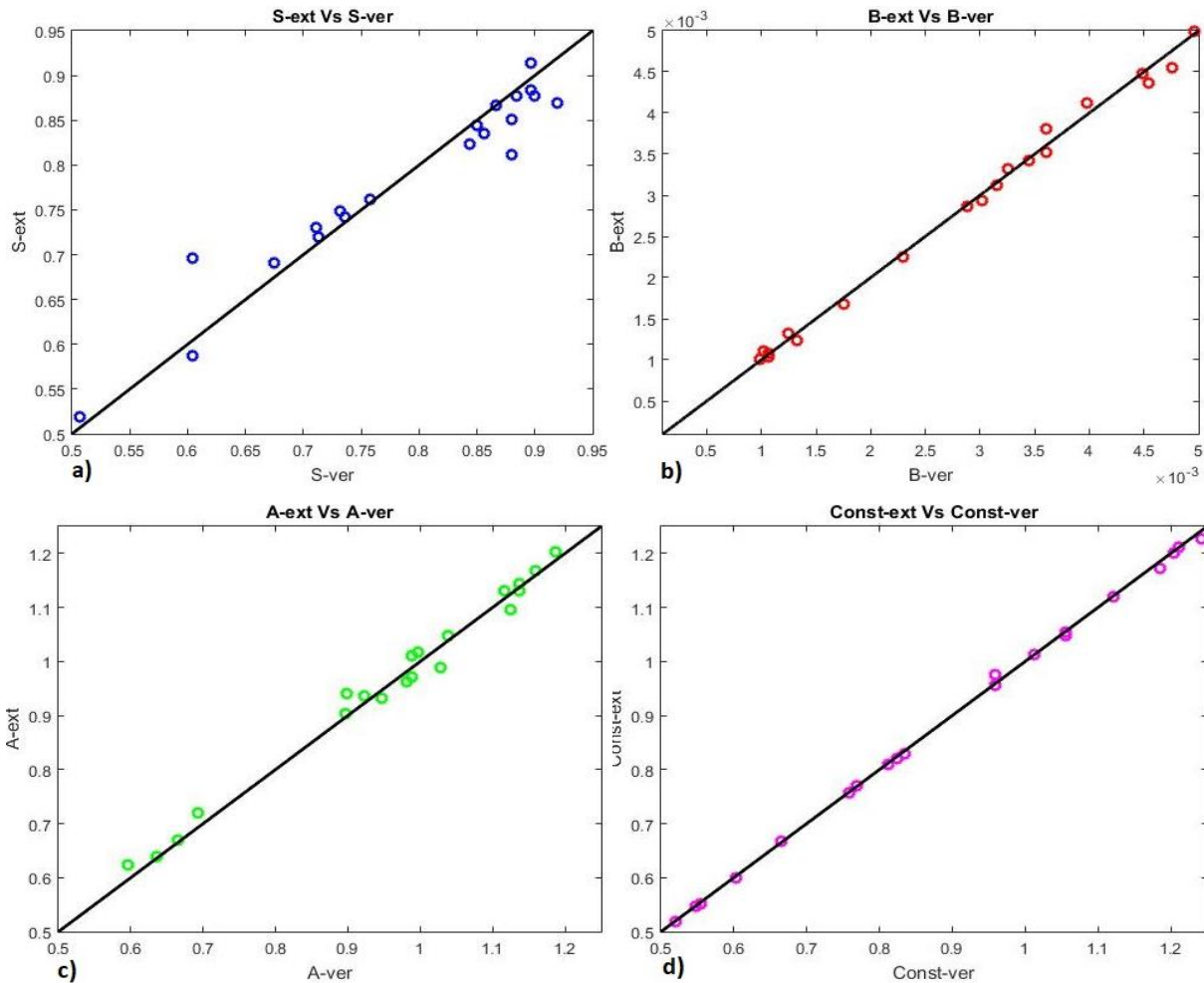


Figura 3.4. En los gráficos a), b), c) y d) se muestra la dependencia de los parámetros extraídos contra los parámetros verdaderos del espectro sintético para los cuatro parámetros (B, S, A, Const) del modelo.

3.4 CONCLUSIONES

Se ha mostrado que el algoritmo de recuperación de los parámetros fisiológicos tiene un desempeño adecuado cuando se utilizan espectros sintéticos de prueba. En la literatura existente consultada se ha observado que se reporta el uso de phantoms (simuladores del tejido biológico con PO conocidos), como una herramienta importante para la validación de algoritmos de extracción de dicha información.

La propuesta de este trabajo consiste en un algoritmo de extracción de los parámetros fisiológicos de un tejido biológico basado en la manipulación controlada de los parámetros del modelo de transporte dentro de un rango de variación apropiado. Esta investigación por lo tanto, nos muestra una vía teórica de comprobación del desempeño de los algoritmos desarrollados con el propósito de determinar los parámetros fisiológicos de un tejido a partir de su espectro de reflexión difusa experimental.

Sin embargo, debemos destacar que el algoritmo es factible de modificarse incluyendo otros elementos absorbentes presentes en la piel como lo es la melanina, la cual puede ser de influencia crucial en la determinación exacta de los parámetros fisiológicos. Al agregar más elementos generadores de esparcimiento y absorción de luz que con frecuencia se encuentran en un medio, se tendría un modelo más completo con el cual poder validar de forma más exacta nuestro algoritmo de extracción de las propiedades ópticas de un tejido.

3.5 REFERENCIAS

- [1] Cheong W.F., Prah S. A., Welch A.J., “A Review of the Optical Properties of Biological Tissues”, IEEE JOURNAL OF QUANTUM ELECTRONICS, VOL. 26. NO. 12, DECEMBER 1990.
- [2] Pickering J. W., Bosman S., Posthumus P., Blokland P., Beek J. F. , van Gemert M. J. C., “Changes in the optical properties (at 632.8 nm) of slowly heated myocardium”, 1993/ Vol. 32, No. 4/ APPLIED OPTICS.
- [3] Kim A., Wilson B. C., “Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue. Chapter 8 (p-267). Measurement of Ex Vivo and In Vivo Tissue Optical Properties: Methods and Theories”, Ashley J., Welch M. J.C., van Gemert Editors, 2nd ed.: © Springer Science + Business Media B.V. 2011.
- [4] Bargo P. R., Prah S. A. , Goodell T. T. , Slevin R. A., Koval G. , Blair G. , Jacques S. L., “In vivo determination of optical properties of normal and tumor tissue with white light reflectance and an empirical light transport model during endoscopy”, Journal of Biomedical Optics 10(3), 034018 (May/June 2005).
- [5] Farrell T.J., Patterson M. S., Wilson Brian, “A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo”, Med. Phys. 19(4), Jul/Aug 1992.
- [6] Jacques S. L., “Spectroscopic determination of tissue optical properties using optical fiber spectrometer”, Conferencia especial presentada en SPIE Photonics West 2005, Ingeniería Biomédica y Dermatología, Universidad de Ciencias y Salud de Oregón (OHSU), Portland, Oregón, EE. UU., <https://omlc.org/news/feb06/skinspect/index.html>.
- [7] Yang H., Xie S., Li H., Lu Z., “Determination of human skin optical properties in vivo from reflectance spectroscopic Measurements”, March 10, 2007 / Vol. 5, No. 3 / CHINESE OPTICS LETTERS.
- [8] Qiu Z., Yao G., Chen D., Wang Y, Gu Y., Li B., “Determination of Optical and Microvascular Parameters of Port Wine Stains Using Diffuse Reflectance

Capítulo 3. Extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de espectros sintéticos de reflexión difusa

Spectroscopy”. Chapter 47 (p-359)”, Luo Q., Li L. Z., Harrison D. K. Shi H., Bruley D. F. Editors. “Oxygen Transport to Tissue XXXVIII, Advances in Experimental Medicine and Biology, © Springer International Publishing Switzerland 2016.

[9] Qiu Z., Chen D., Wang Y., Gu Y., Ying Gu., Li B.,” Monitoring blood volume fraction and oxygen saturation in port-wine stains during vascular targeted photodynamic therapy with diffuse reflectance spectroscopy: Results of a preliminary case study”. *Photon Lasers Med* 2014; 3(3): 273–280.

[10] Wang L, Jacques S. L., “Hybrid model of Monte Carlo simulation and diffusion theory for light reflectance by turbid media”, 1746 *J. Opt. Soc. Am. A*/Vol. 10, No. 8/August 1993

[11] Calabro K. W., Aizenberg E., Bigio I. J., "Improved empirical models for extraction of tissue optical properties from reflectance spectra", *Proc. SPIE 8230, Biomedical Applications of Light Scattering VI*, 82300H (2 February 2012); doi: 10.1117/12.906753; <http://dx.doi.org/10.1117/12.906753>.

[12] Reif R., “Analytical model of light reflectance for extraction of the optical properties in small volumes of turbid media”, © 2007 Optical Society of America, 10 October 2007/Vol. 46, No. 29/ *APPLIED OPTICS*.

[13] Zhang L., “Determination of optical coefficients of biological tissue from a single integrating-sphere”, *Journal of Modern Optics*, Vol. 59, No. 2, 20 January 2012.

[14] Weber C. R., et al., “ Model-based analysis of reflectance and fluorescence spectra for in vivo detection of cervical dysplasia and cancer ”, © 2008 Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, *J Biomed Opt.* Author manuscript; available in PMC 2009 June 24.

[15] Prahl S., “Optical Absorption of Hemoglobin”, <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.html>.

Capítulo 4

DOCUMENTACIÓN EN HUMANOS: ANÁLISIS DE ZONAS DE TEJIDO EN RIESGO EN UN GRUPO DE VOLUNTARIOS

4.1 INTRODUCCIÓN

Actualmente, en el ámbito médico moderno se han desarrollado mejoras en el tratamiento de úlceras en el pie diabético como el método desarrollado por Almeida Nunes, *et al.* [1], que implementaron un sistema consistente de dos elementos principales: a) Un dispositivo luminoso que incorporó una matriz de diodos emisores de luz (LEDs) con una longitud de onda específica ($\lambda=635$ nm) y b) Una plantilla hecha de latex natural con el propósito de favorecer una rápida regeneración tisular en la zona de la lesión. O como el trabajo desarrollado por Tardivo Joao *et al.* [2], método basado en la conocida Terapia Fotodinámica (TFD), que conlleva aplicar un elemento foto sensibilizador que reacciona con luz de longitud de onda $\lambda=640$ nm para generar radicales libres de oxígeno en el sitio de interés, que pueden causar la muerte celular de células anormales y bacterias.

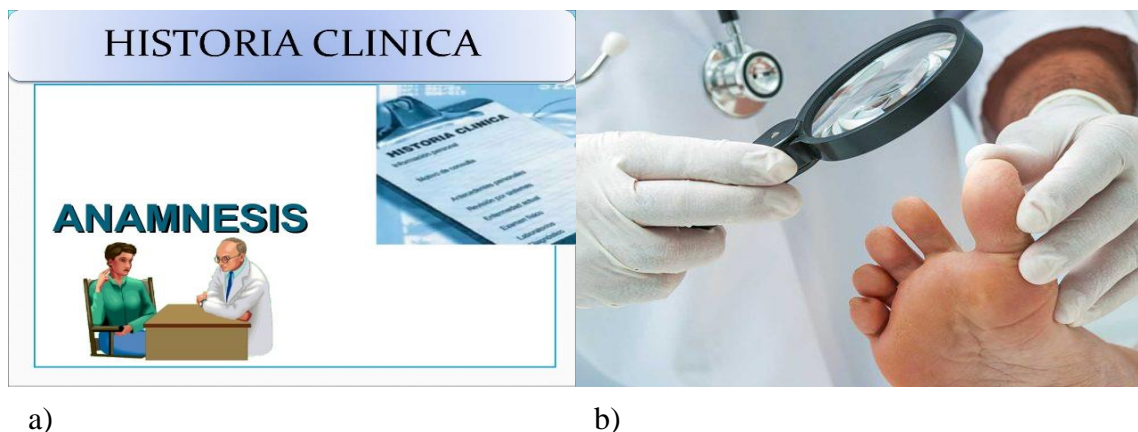
La aplicación temprana de estos avances promueve la pronta cicatrización de la herida y por tanto evitan una muy probable amputación de la extremidad e incluso el riesgo de mortalidad en el paciente. Debido a lo anterior, un diagnóstico precoz de úlceras en pacientes diabéticos es uno de los principales desafíos que el personal médico tratante de esta afectación enfrenta hoy en día [3].

De acuerdo a la literatura consultada y a la comunicación personal con los médicos especialistas que colaboran en este proyecto por parte del Hospital General de Tulancingo, es conocido que se identifican diversos factores que favorecen el desarrollo de este tipo de lesiones, siendo algunos de los principales: la neuropatía y

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

la angiopatía diabética, los cuales se traducen en importantes pérdidas motoras y sensitivas en extremidades, así como la afectación vascular periférica que induce isquemia (disminución del riego sanguíneo de una determinada zona), comprometiendo de esta manera el suministro de oxígeno a las zonas en riesgo, que es indispensable para la buena salud de los tejidos biológicos [4].

La determinación de la existencia de los factores de riesgo antes mencionados en el paciente, usualmente se realiza a partir del historial clínico del paciente que incluye la anamnesis y la exploración física en el paciente [Figura 4.1](#); cuando se realizan periódicamente y sistemáticamente de forma estricta, resultan ser herramientas importantes para determinar la presencia de lesiones así como verificar la posibilidad de una extremidad en riesgo.



a)

b)

Figura 4.1. Métodos tradicionales para el diagnóstico del pie diabético: a) Historial clínico (incluida la anamnesis y b) Exploración física [5,6].

No obstante aun cuando estas herramientas pueden significar un gran apoyo para obtener información diagnóstica importante se ha identificado que estas presentan algunas debilidades. Por ejemplo, el historial clínico del paciente, en muchos casos todavía se registra de forma física en archiveros; con escasos datos en forma de texto y no se incorporan “imágenes de alta calidad” que documenten sistemáticamente las zonas de tejido en riesgo o la evolución de una lesión ya existente.

También, la exploración física, en donde principalmente se explora la sensibilidad perceptiva, la sensibilidad térmica y la sensibilidad al dolor con el uso del

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

monofilamento de Semmens-Weinstein presenta limitaciones como el hecho de no añadirse un instrumento que proporcione información sobre los cambios vasculares que pudiera experimentar un área en riesgo [2]. Por lo tanto, es importante desarrollar nuevos métodos no invasivos que presenten un mayor nivel de precisión en la determinación del pie diabético, ya sean con carácter preventivo o de seguimiento del estado de salud de determinadas lesiones existentes. Con el propósito de contribuir al desarrollo de tales métodos hemos propuesto dos arreglos ópticos: a) un arreglo fotográfico digital y b) un arreglo espectroscópico de reflexión difusa) para monitorear zonas de riesgo. Estas zonas fueron definidas por un médico experimentado en diabetes, específicamente la Dra. Nadia López Flores, responsable de la clínica de diabetes del Hospital General Tulancingo (HGT). A partir de la experiencia de la Dra. Nadia en el tratamiento de pacientes diabéticos, nos indica que existen tres zonas principales donde los factores de riesgo antes mencionados suelen manifestarse con mayor frecuencia a saber: a) la cavidad poplítea (depresión anterior a la rodilla), b) la zona del tobillo, y c) la zona plantar (específicamente 1°, 5° metatarsianos y talón).

En el presente trabajo se propone la implementación de un sistema de documentación que contempla la toma de imágenes digitales de calidad, así como el registro del espectro de reflexión difusa (EsRD) de las áreas en riesgo descritas anteriormente, con el objetivo de identificar de forma precoz cambios importantes en la estructura biológica de los tejidos y así proporcionar información diagnóstica al personal médico a cargo. En este estudio, se ha llevado a cabo en una primera etapa el establecimiento de un grupo de control conformado por un conjunto de estudiantes voluntarios no diabéticos, su edad osciló entre los 20 a 35 años y en los cuales, en general su condición física se considera libre de enfermedad alguna. Este estudio nos permite crear las bases para el posterior desarrollo del proyecto a nivel clínico, así como la creación de una base de datos inicial que permita contrastar los datos procedentes de estos voluntarios “sanos”, con datos concernientes a pacientes diabéticos en riesgo de desarrollar una lesión.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

Nota aclaratoria: A continuación se definen ciertas abreviaciones para hacer referencia a la técnica de espectroscopía de reflexión difusa y espectro de reflexión difusa. En lo sucesivo durante este capítulo se utilizarán dichas abreviaciones para hacer referencia a los mencionados términos.

- ERD : Espectroscopía de reflexión difusa
- EsRD : Espectro o Espectros de reflexión difusa

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Documentación con Espectros de Reflexión Difusa (EsRD)

Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD)

Cuando un haz de luz incide sobre un medio turbio como lo es un tejido biológico, la fracción de luz que se transmite al interior de éste experimenta múltiples eventos de esparcimiento y absorción. Una parte de la luz que sufre estos procesos, reemerge por la superficie del tejido en todas las direcciones posibles, dando origen a lo que se denomina luz difusa y el proceso: reflexión difusa volumétrica. La cantidad de luz difusa recolectada por un “detector puntual”, por ejemplo una fibra óptica, dependerá de la longitud de onda del fotón u onda electromagnética que se propaga en el interior del tejido. A la huella espectral de un tejido obtenida mediante la técnica de espectroscopía de reflexión difusa se le llama espectro de reflexión difusa (EsRD) y depende de las propiedades ópticas del tejido (coeficiente de absorción, coeficiente de esparcimiento y factor de anisotropía) [7], la geometría de la sonda de emisión-detección, etc.

El espectro de reflexión se expresa como un porcentaje (% R_λ) de la reflexión de la muestra M_λ , respecto a la reflexión Std_λ , de un patrón de referencia:

$$\%R_\lambda = \frac{M_\lambda - D_\lambda}{Std_\lambda - D_\lambda} \quad (4.1)$$

donde

M_λ : Es la señal registrada por el sistema espectroscópico a la longitud de onda λ cuando está presente la muestra.

Std_λ : Es la señal registrada por el sistema espectroscópico a la longitud de onda λ cuando está presente el patrón de reflexión difusa.

D_λ : Es la señal registrada por el sistema espectroscópico a la longitud de onda λ cuando la luz de medición está obstruida y no llega a la muestra [8].

En el siguiente apartado se describe el arreglo óptico experimental y el software de adquisición que hemos usado para sensar los EsRD en los voluntarios de este estudio.

Arreglo óptico-computacional para la adquisición de EsRD

El arreglo óptico-computacional para la adquisición de espectros de reflexión difusa (EsRD) de sitios corporales de interés de los voluntarios se observa en la [Figura 4.2](#).

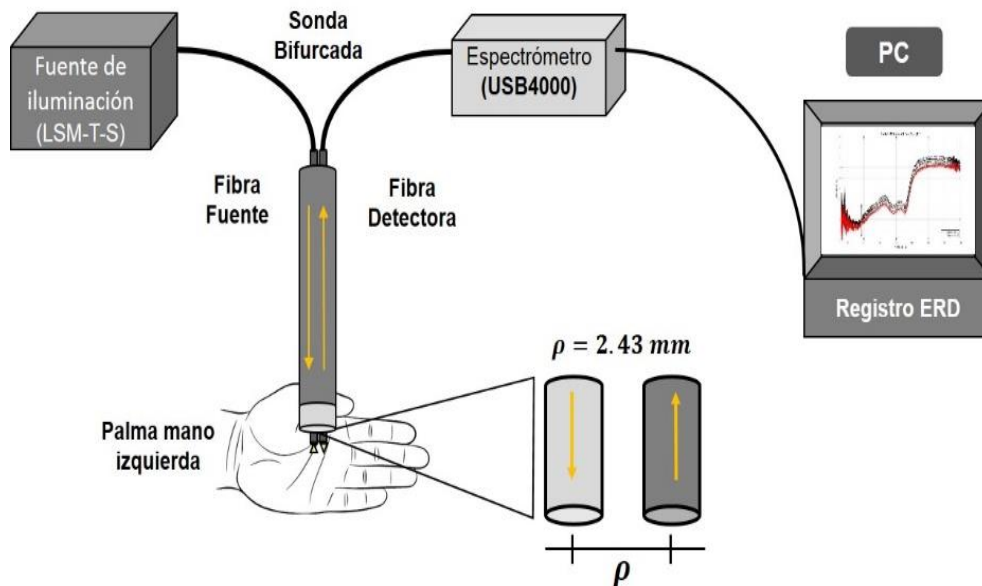


Figura 4.2. Representación esquemática del arreglo experimental espectroscópico para mediciones de reflexión difusa.

La implementación consta de los siguientes elementos principales: 1) *fuentes de iluminación de halógeno* de consumo eléctrico de 12 watts (modelo LSM-T-S Newport), 2) *sonda bifurcada de fibra óptica* (fibras ESKA® de Mitsubishi suministradas por Edmund Optics), 3) *mini espectrómetro de fibra óptica* (USB4000 Ocean Optics Inc.) con rango espectral de 200-1100 nm y 4) *computadora de escritorio Acer*, (Sistema Operativo Windows Vista 6.1 x86).

La sonda de fibra óptica fue fabricada de forma artesanal en nuestro laboratorio y consta de un pequeño tubo de acero inoxidable que contiene dos fibras con núcleo de polímero acrílico (PMMA) con diámetro interior de 240 μm de índice de refracción 1.492, ángulo de aceptación de 61° y apertura numérica de 0.51. Este núcleo está envuelto en una fina capa de polímero de flúor (“cladding”) con índice de refracción 1.402 de diámetro exterior de 250 μm , ambas fibras suministran y colectan luz respectivamente. El haz se introduce en la sonda a través de la fibra fuente, se propaga en el interior de ésta mediante reflexión total interna, suministrando en la superficie del sitio corporal de interés (la palma de la mano izquierda) un haz luminoso blanco ligeramente divergente. Durante la medición y calibración el extremo común de la sonda de medición se pone ligeramente en contacto con la superficie de la piel para evitar que se genere una alta presión mecánica de contacto que altere el estado vascular localmente. En este extremo común la fibra fuente y la fibra colectora se encuentran separadas una distancia de 2.43 mm entre sí. Cierta fracción de la luz difusa es recogida por la fibra colectora de la sonda y dirigida al espectrómetro, el cuál sensa los EsRD en el rango de 200-1100 nm. Este dispositivo está acoplado a una computadora de escritorio mediante un puerto USB, ubicado en forma lateral. El software SpectraSuite® (Java HotSpot-TM-Client VM 1.6.0 _03-b05) forma parte de este instrumento comercial, que permite visualizar y registrar los espectros de reflexión difusa del sitio de interés.

Software de adquisición (SpectraSuite®)

La adquisición de los EsRD se realizó mediante el software de operación del espectrómetro USB4000 llamado SpectraSuite®, que puede realizar en general tres experimentos básicos de espectroscopia: *emisión*, *absorción* y *reflexión*. El Software SpectraSuite® presenta una interfaz gráfica con una serie de controles en forma de íconos y botones, principalmente se describirán los controles relacionados al sensado de la reflectancia y cómo usarlos. La calibración del espectrómetro para la adquisición de los EsRD se realiza mediante dicha interfaz como se muestra en la [Figura 4.3](#).

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

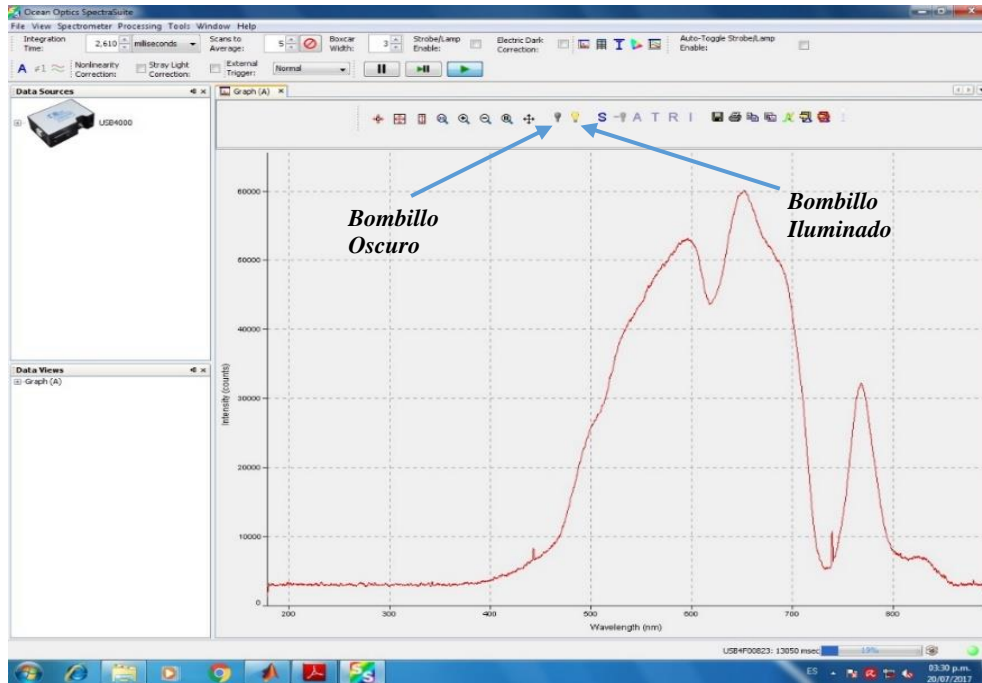


Figura 4.3. Captura de pantalla típica de la interfaz del software SpectraSuite, donde se observan la distribución, y ubicación de los principales controles gráficos (íconos), también muestra un espectro de referencia (línea roja) como ejemplo, obtenido seleccionando el ícono a partir de una fuente de iluminación dada.

Los parámetros relevantes de la barra de herramientas de adquisición son: a) *tiempo de integración*, b) *número de escaneos promedio*, que determina el número de escaneos que van a ser promediados por el dispositivo para producir la señal a mostrar y c) *ancho de 'cuadro' (boxcar width)* que está relacionado al suavizado de señales a través de cierto tipo de promediado espacial que puede aplicarse a un espectro. Este procesamiento elimina el ruido promediando los valores de píxeles adyacentes y por lo tanto mejora la relación señal-ruido a expensas de la resolución óptica. El establecimiento de una combinación adecuada de estos parámetros se traduce en un tiempo de adquisición relativamente bajo y una calidad aceptable del EsRD adquirido.

Los parámetros anteriores en este estudio tomaron los siguientes valores: tiempo de integración=2300 milisegundos, número de escaneos promedio=1 y ancho de

‘cuadro’=2. Después de la definición de los parámetros de adquisición el siguiente paso a seguir es el registro de los espectros de referencia (iluminado y oscuro). Se selecciona el modo *scope* (ícono **S**) de la barra de herramientas de procesamiento. A continuación se obtienen los dos espectros: a) *iluminado*, seleccionando el ícono *bombillo iluminado* y b) *oscuro* seleccionando el ícono *bombillo oscuro* (ver [Figura 4.3](#)) en la sección herramientas de almacenamiento de espectro, cuando la sonda de medición está detectando la señal que proviene del estándar de reflexión (Std). Específicamente, en este estudio usamos el programa SpectraSuite® en el modo de medición de reflexión difusa al seleccionar el ícono **R** de la barra de tareas después de los pasos previos de calibración en el modo *quick view* o *scope*.

Es necesario realizar la calibración adecuada del sistema espectrométrico antes de medir a cada voluntario, incluso tal vez sea necesario recalibrar el sistema durante una medición en curso con el fin de desprejar luz parásita y obtener datos más precisos, sobre todo si la medición se prolonga por más de 10 minutos.

Adquisición de un EsRD con el arreglo óptico-computacional

La medición de los EsRD en general implica los pasos siguientes: 1) Incidir un haz de luz proveniente de una fuente con un espectro de emisión conocido, sobre el medio que se desea analizar, 2) Recoger selectivamente la fracción de luz que ha sido reemitida difusamente después de haber interactuado con el tejido, y 3) Registrar el EsRD mediante un dispositivo espectral adecuado. Esta componente difusa espectral es de gran interés para el estudio no-invasivo de los tejidos biológicos, debido a que los fotones que la componen han experimentado absorción y esparcimiento en el interior del tejido y por ende traen consigo información de la composición y la estructura del mismo [9]. Es importante resaltar que a pesar de que se señaló previamente que el espectrómetro USB4000 puede operar en el rango espectral de 200 a 1100 nm según datos del fabricante, los valores de reflexión reales medidos de los EsRD de los participantes, estuvieron comprendidos en el intervalo desde los 178 a 900nm aproximadamente.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

Considerando los puntos anteriores se diseñó un algoritmo para la adquisición de los EsRD, el cual incluye en el proceso a tres participantes principales indentificados de la siguiente manera: 1) *operador uno*, su función es medir el EsRD, lo hace poniendo en contacto (ligeramente y sin presionar) la punta de la sonda con el tejido de la zona corporal seleccionada, debe procurar siempre mantener un pulso firme y relajado en la mano que efectúa la medición para que de este modo se obtenga una medición precisa y exacta, con el fin de lograr “repetibilidad” en las mediciones; 2) *operador dos*, su labor consistirá en calibrar el sistema antes de medir a cada voluntario y registrar en el equipo de cómputo el EsRD que el *operador uno* esté sensando justo en el momento en que este se lo indique, deberá crear un archivo de datos y asignarle un nombre específico al mismo; 3) *voluntario*, en primer lugar debe otorgar su consentimiento informado para la participación en el estudio y seguir las instrucciones que el *operador uno* le indique durante el estudio. Será a quien se le realicen mediciones para obtener los EsRD. La acción conjunta de medir (*operador uno*) y almacenar (*operador dos*) los datos de reflexión, deberá realizarse de forma coordinada y sistemática en un orden específico. A continuación se indican los pasos del algoritmo para la adquisición de los EsRD:

Paso 1. El *operador uno* da la bienvenida al *voluntario* y le indica que se siente en una silla que está ubicada a un costado de la mesa sobre la cual se ha hecho el montaje del sistema, después apaga la luz de la habitación y toma él mismo su lugar en otra silla colocada frente al *voluntario*.

Paso 2. El *operador uno* pronuncia la frase “*inicia calibración*”, entonces el *operador dos* comienza la calibración del sistema mientras el *operador uno* le pide al *voluntario* que coloque su mano izquierda sobre la mesa con la palma extendida hacia arriba y que la mantenga relajada, así como el resto de su cuerpo y espere el inicio de la medición.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios


Paso 3. El *operador dos* termina de calibrar el sistema e indica al *operador uno* con la señal audible “*calibración terminada*” que se encuentra preparado para registrar la medición cuando éste lo indique.

Paso 4. Una vez concluida la calibración del sistema el *operador uno* toma la sonda, localiza la zona de interés en la mano del *voluntario* y se prepara para realizar la medición haciendo de tres a cinco movimientos de prueba en cuanto a la colocación correcta de la sonda sobre el sitio de interés (ver [Figura 4.4](#)). Al terminar esta práctica el *operador uno* le da la instrucción al *voluntario* de mantener su mano inmóvil por los siguientes cinco minutos, entonces dice la palabra audible “*comenzamos*”.



Figura 4.4. El *operador uno* se prepara realizando movimientos de prueba colocando la punta de la sonda en la zona de interés, antes de realizar la medición de los ERD en un *voluntario*.

Paso 5. El *operador uno* ubica la zona de interés y coloca la sonda manteniéndola firme en su sitio y pronuncia la palabra “*listo*”.

Paso 6. Al escuchar esta palabra el *operador dos* hace click en el ícono en  la interfaz gráfica, selecciona el formato .txt, y asigna un nombre al archivo que contiene el espectro registrado. Para el nombre escribe la letra ‘M’ seguida del número de medición que se está realizando, para crear una secuencia en los archivos. Después elige la ubicación donde se almacenarán los mismos y concluye el registro pulsando el botón <aceptar> en el cuadro de dialogo que el software de adquisición

ha mostrado. Inmediatamente después pronuncia la palabra “*siguiente*” para indicar al *operador uno* que se encuentra preparado para registrar del mismo sitio otros espectros con fines estadísticos.

Paso 7. Se repiten los pasos 5 y 6 hasta medir el número de espectros deseados en un mismo sitio corporal de interés. Una vez almacenado el último EsRD el *operador dos* pronuncia la palabra “*concluido*”, indicando que el proceso de medición ha finalizado.

Paso 8. Si se desean medir otros sitios corporales de interés se deben repetir los pasos 1 a 7.

Protocolo experimental y mediciones de ERD

Consideraciones médicas

Los EsRD se tomaron a ocho voluntarios (prueba a nivel laboratorio) seleccionados entre compañeros integrantes de la maestría en computación óptica (docentes y alumnos) del área de posgrado de la Universidad Politécnica de Tulancingo, Hidalgo, México. Los individuos incluidos en el estudio se reclutaron explicándoles detalladamente los procedimientos, y el propósito del protocolo del estudio. Se les pidió leer el formato de consentimiento informado de este proyecto que se titula: “*Documentación y caracterización de zonas de tejido biológico mediante imágenes ópticas macroscópicas a color y espectros de reflexión difusa*”, en cual se describe y especifica la participación de los voluntarios. Ellos dieron su aprobación por escrito en el referido documento. Al concluir la lectura del formato de consentimiento informado se les solicitó decidir si aceptaban o no participar en el estudio. Ellos dieron su aprobación por escrito en el referido documento.

Para verificar que el grupo de control estuviera conformado por personas sanas; antes de cada medición espectral se practicó un chequeo médico básico que consistió en el registro de signos vitales del individuo como: presión arterial, temperatura corporal, reflejos, etc. Como parte complementaria del chequeo, se diseñó un cuestionario breve con preguntas específicas y directas para obtener datos sobre el

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

historial médico del sujeto, tales como: a) el posible padecimiento de enfermedades del tipo crónico, b) consumo de fármacos, c) presencia de alergias, en general factores que pudieran influir en los EsRD. El chequeo médico, así como la aplicación del cuestionario fueron realizados por el Dr. Cristóbal Arni Ramírez Ocádiz médico de la UPT (ver [Figura 4.5](#)), quien proporcionó su apoyo para determinar la participación de los voluntarios en el estudio. Los documentos *consentimiento informado*, y *cuestionario* se pueden revisar con más detalle en los Apéndices C y D.



Figura 4.5. Antes de realizar la medición de los EsRD, se practicó un chequeo médico así como la aplicación de un cuestionario médico a cada **voluntario**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

La **Tabla 4.1** muestra los parámetros médicos básicos a considerar de los participantes: 1) *sexo*, se eligieron a cuatro voluntarios mujeres y cuatro voluntarios hombres manteniendo la igualdad numérica entre ambos sexos, 2) *edad*, la cual estuvo comprendida entre los 20 y 35 años, con una media (\bar{x}) y desviación estándar (σ) de 26.62 y 3.16 años respectivamente, 3) *condición de salud* en cuanto a diabetes se refiere, ninguno de los voluntarios refirió haber sido diagnosticado con anticipación con dicha enfermedad, y 4) la *estatura* se ubicó en una media (\bar{x}) y desviación estándar (σ) de 164.5 y 8.95 cm respectivamente. En cuanto al tipo de piel, es importante mencionar que todos los voluntarios presentaban diferentes características en el grado de pigmentación y textura.

Tabla 4.1. Relación de voluntarios participantes indicando los parámetros médicos básicos y condición física respecto a diagnóstico de diabetes al momento de realizar el estudio.

ID	SEXO	EDAD (años)	DIAGNÓSTICO DE DIABETES (Si / No)	ESTATURA (cm)
VUPT001	Hombre	24	No	*155
VUPT002	Mujer	28	No	*158
VUPT003	Hombre	28	No	*168
VUPT004	Mujer	27	No	*163
VUPT005	Mujer	23	No	153
VUPT006	Hombre	22	No	178
VUPT007	Hombre	28	No	165
VUPT008	Mujer	33	No	162

*Este dato fue proporcionado por el voluntario.

Se consideró, con el propósito de explicar los resultados espectrales, el monitoreo de *la saturación de oxígeno* y *la frecuencia cardiaca* al inicio de la toma de los EsRD. Estos parámetros se sensaron con un oxímetro óptico del tipo pinza. Los datos tomados para los parámetros referidos para 4 de los 8 voluntarios fueron: 99%/84; 97/56; 98/58; y 98/68.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

Se tomaron 11 espectros en el mismo sitio corporal de interés a cada voluntario, de acuerdo a la metodología descrita en el algoritmo de adquisición. De los 11 espectros medidos a cada participante se descartaron 3, estos fueron los que presentaban una mayor tendencia a separarse del promedio en cuanto a los datos se refiere, de tal modo que para mostrar los resultados solo se consideraron 8 espectros de los 11 iniciales. Para el análisis final se creó una gráfica por cada voluntario, que incluyó los espectros de las 8 mediciones además de un espectro promedio generado a partir de dichas mediciones.

En este punto cabe destacar que inicialmente las zonas de interés para obtener los datos espectrales sugeridas por nuestro médico asesor fueron: a) la cavidad poplítea (depresión anterior a la rodilla), b) la zona del tobillo, y c) la zona plantar (específicamente 1°, 5° metatarsianos y talón) en el pie, sin embargo se optó por realizar las mediciones de ERD en una zona de la palma de la mano izquierda como se muestra en la [Figura 4.6](#).

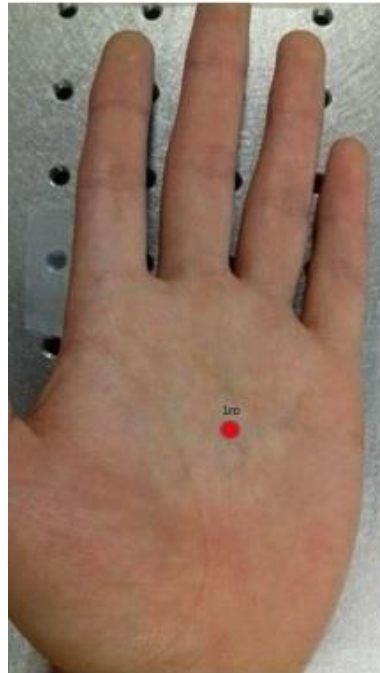


Figura 4.6. Zona de interés en la palma de la mano izquierda de un voluntario, para la medición de los espectros de reflexión difusa (ESRD).

Lo anterior debido a que en una primera fase de las mediciones de ERD se observó era indispensable ganar experiencia por parte del *operador uno* y este sitio corporal resultaba de más fácil acceso y presentaba mayor facilidad para realizar las mediciones.

4.2.2 Documentación con imágenes digitales macroscópicas

Imágenes digitales

Una imagen es una representación de la realidad, se forma cuando un detector (una cámara o el ojo humano) registra la radiación que ha interactuado con ciertos objetos físicos [Figura 4.7](#).

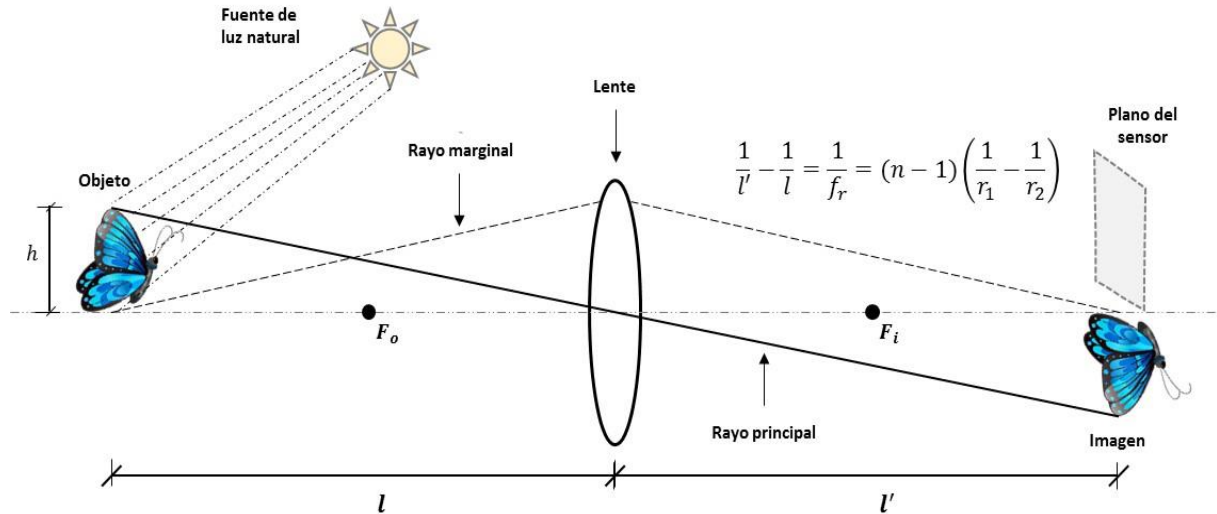


Figura 4.7. Sistema óptico para la formación de una imagen [10].

La imagen que obtiene el sensor puede ser concebida como una función bidimensional, donde la función se relaciona con un valor de brillantez en cada punto de la imagen, que es proporcional a la que existe en cada punto del objeto. Una función de la imagen es una representación matemática de la imagen, la cual generalmente es una función de dos variables espaciales (x, y) [10].

La imagen digital se visualiza y manipula normalmente en un ordenador con la ayuda de diferentes programas destinados a tal función. Considerando este punto de vista es posible destacar y determinar ciertas características importantes que la

definen como son: 1) Proceden de una fuente digital (cámara fotográfica o escáner), 2) Es posible visualizarla en un monitor (pantalla), 3) Es posible procesarla con un tipo especial de software, 4) Es posible registrarla en algún dispositivo de almacenamiento masivo (USB, disco duro, CD o DVD, etc.) y 5) Es posible imprimirlas.

Las imágenes digitales se pueden catalogar en dos grupos principales:

1) Mapa de bits. Se forman a partir de matrices de puntos o bits, resulta de yuxtaponer puntos o píxeles, es decir cada uno de los puntos de los que se compone la matriz de la imagen. El píxel es la unidad mínima de visualización de la imagen digital, y 2) Imágenes vectoriales. Formadas por elementos geométricos, como el punto, líneas recta o curva y polígonos. Una de las principales ventajas de este tipo de imágenes es que al modificar una imagen vectorial esta no se distorsiona (o como se dice comúnmente no se “píxelea”) [11].

Arreglo óptico-computacional para la adquisición de imágenes macroscópicas

En la [Figura 4.8](#) podemos encontrar la representación esquemática del arreglo óptico-computacional con el cual registramos las imágenes macroscópicas de sitios corporales de interés en los voluntarios. Como se observa el sistema está compuesto principalmente por: a) Un *dispositivo óptico-mecánico*, el cual está integrado por 1) un anillo de LEDs, 2) un lente formador de imagen, 3) una cámara fotográfica y 4) una base trípode. A continuación se escriben los elementos que componen a este dispositivo.

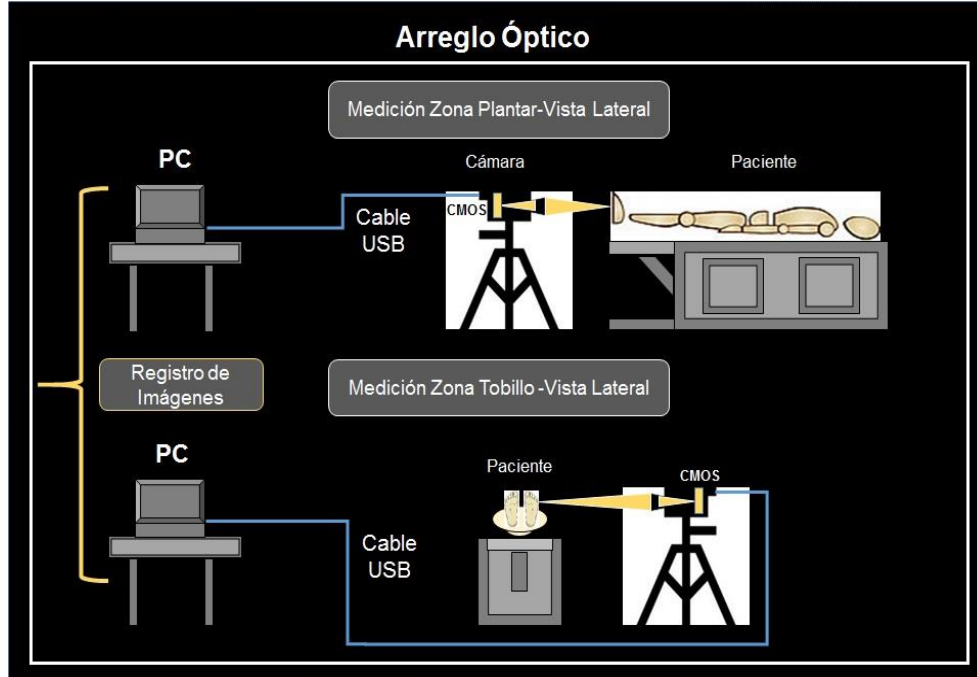


Figura 4.8. Representación esquemática de un sistema óptico-computacional para la adquisición de imágenes macroscópicas en zonas de riesgo en voluntarios. Se muestran dos vistas laterales: a) **Superior**, disposición para medición en *zona plantar*, y b) **Inferior**, disposición para medición de la *zona del tobillo*.

1) El anillo de LEDs de la casa Advanced Illumination (Ai®), modelo RL4260, funge como fuente de iluminación de luz blanca. Cuenta con un convertidor de corriente y disipador de calor, tiene un diámetro interno de 5.55 cm, y diámetro externo 10 cm; 2) El lente es de la firma Computar, modelo COM M2514-MP2 acoplado a la cámara mediante montura tipo C con distancia focal de 25 mm, formato 2/3”, apertura F1.4 con iris manual, bloqueo de iris y enfoque, 1.5 megapíxeles nominal; 3) La cámara es del tipo científico a color ‘ultra’ compacta y muy ligera con dimensiones 29mmx29mmx30mm en su cubierta metálica, de 1.3 MP de resolución (modelo FL3-U3-13S2C-CS) de la firma FLIR FLEA®3 USB3 VISION, con sensor CMOS (Sony IMX035) y ‘barrido de obturador’ (rolling shutter), distancia mínima de trabajo 11.3 cm y área de visión 4.32 cm² y 4) El trípode es un soporte para cámara fotográfica con altura de trabajo variable desde 60 hasta 120 cm y peso aproximado de 0.5 kg.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

Otros elementos importantes del arreglo óptico-computacional son b) *Una computadora portátil* tipo laptop para la adquisición de las imágenes digitales, es de la marca lenovo modelo Z50 que tiene un procesador Intel CORE i5 (1.70 GHz, 2.40 GHz), 8.00 GB de memoria RAM, 891 GB en disco duro y sistema operativo Windows 8 de 64 bits y c) *Una mesa de exploración* modelo futuro (tipo diván) de uso genérico en un consultorio médico. Esta mesa presenta las siguientes características generales: fabricada con lámina de acero y terminada en pintura de esmalte. Sus dimensiones son: 80 cm. de alto, 53 cm. de ancho, 120 cm. de largo. Otras características son: plancha acojinada, respaldo de posiciones variables mediante sistema manual de cremallera. Piecera de posiciones variables mediante sistema manual de cremallera. Banqueta integrada cubierta de hule natural de 3 mm. Dos puertas corredizas para acceso al espacio de almacenaje [12].

El conjunto óptico-mecánico fue denominado con el nombre de ‘Polifemo’ por su analogía estructural con el ser mitológico de modo que en adelante también podremos referirnos al mencionado dispositivo con éste nombre. ‘Polifemo’ se implementó colocando la fuente de iluminación, el lente y la cámara sobre la base (trípode), usando para su fijación accesorios de sujeción de la firma Edmund Optics como se aprecia en la [Figura 4.9](#).

El anillo de LEDs suministra luz hacia la zona de interés y mantiene igualdad de condiciones de iluminación sobre dicha área durante todo el estudio, este conjunto se implementó en un arreglo compacto.



Figura 4.9. Prototipo óptico-mecánico para la generación de imágenes en voluntarios sin cubierta.

En la [Figura 4.10](#) se muestra la versión modificada de ‘Polifemo’ después de incorporar alrededor del anillo de LEDs una cubierta en forma ‘tubular’ o cilíndrica de fabricación artesanal, hecha de papel grueso (tipo cartulina) oscuro con una longitud de 11.3 cm, parámetro que representa la distancia mínima de trabajo (enfoque) del dispositivo óptico y un diámetro que se corresponde con el diámetro externo del anillo de LEDs. Esta protección cubre el espacio físico entre el plano frontal del anillo y la región de análisis evitando la incorporación de luz externa que contamine la imagen adquirida. En el sensor CMOS se forma la imagen a partir de la fracción de luz que el lente de enfoque ha recogido y que se ha reflejado de la superficie de la zona de interés. La cámara está acoplada a la computadora portátil a través de puerto USB del que dispone en la parte posterior. Durante la captura de imágenes el programa de adquisición ‘Captura_Ima_PGrey_Basico.m’ permite visualizar y registrar las imágenes digitales del sitio de interés.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

La imagen sensada se registra en un archivo con extensión ‘.png’ de dimensiones 1328x1048 pixeles en la misma dirección de memoria donde se encuentra almacenado el algoritmo. El algoritmo, no forma parte de este instrumento comercial.



Figura 4.10. Prototipo óptico-mecánico para la adquisición de imágenes digitales en zonas de riesgo en voluntarios con cubierta.

La mesa de exploración se considera solo un elemento complementario del sistema de adquisición de imágenes (Figura 4.11), durante la realización del estudio se le pide al voluntario que se acueste sobre ésta en posición decúbito dorsal o supina (‘boca arriba’).



Figura 4.11. Mesa exploración con cubierta de 3 secciones (respaldo, asiento y piecera) con bastidor de madera. Estructura y puertas corredizas en lámina de acero. [12].

Software de adquisición (algoritmo propio)

El programa de adquisición de imágenes digitales denominado 'Captura_Ima_PGrey_Basico.m' fue escrito en el Software MATLAB 2015Ra y si se desea se puede revisar en el Apéndice E. Se implementó en base a una estructura simple y cuenta con solo 35 líneas de código. Consta de tres bloques principales: a) *Conexión*, b) *Adquisición* y c) *Detención*. En seguida se describen estos bloques:

a) *Conexión*. Se crea un objeto de video con el propósito de controlar la cámara CMOS a través MATLAB 2015Ra mediante el comando 'videoinput', con esto se establece la comunicación entre ambos elementos respectivamente; dispositivo y software. Con la ejecución de este comando se despliega en pantalla una ventana que muestra la imagen en tiempo real que ha sido capturada por el sensor, enseguida aparece el mensaje: 'Puede enfocar...', el cual se muestra por al menos un segundo y luego desaparece haciendo una pausa antes de continuar con la ejecución

de las siguientes instrucciones. En este punto el usuario enfoca la zona de interés al realizar los ajustes apropiados en el lente de la cámara hasta que obtiene una imagen de calidad.

b) *Adquisición*. Para realizar esta etapa se definió un bucle con dieciséis iteraciones debido a que son cuatro las zonas de interés y se desea registrar cuatro imágenes por cada una. En cada iteración se ejecutan secuencialmente las instrucciones de captura, visualización y registro de la imagen. Cada imagen digital se almacena en la misma dirección de memoria donde se encuentra almacenado el archivo de instrucciones o script de MatLab. El bucle inicia su ejecución en el momento en que el usuario presiona la tecla ‘enter’ y después de realizar una repetición completa hace una pausa entre cada iteración, así el programa permite que el usuario se prepare para iniciar la siguiente repetición presionando de nueva cuenta la tecla ‘enter’. El ciclo completo concluye cuando se ha realizado la adquisición de la imagen número dieciséis.

c) *Detención*. En esta etapa el programa a través de las instrucciones ‘stoppreview(vid)’, ‘closepreview(vid)’ y ‘delete(vid)’ se detiene, se cierra la ventana de video y se borra el objeto de video respectivamente, objeto que fue creado en la etapa de conexión. Esta etapa tiene como función principal liberar el espacio de memoria reservado durante la ejecución de ‘Captura_Ima_PGrey_Basico.m’.

Metodología para la adquisición de imágenes digitales macroscópicas

Se ha indicado previamente que el proceso de adquisición de una imagen digital consiste principalmente en: 1) *Generar la imagen*, un dispositivo óptico (ojo o lente) forma la imagen de un objeto de interés en el plano espacial imagen como se observa en la [Figura 4.7](#) del apartado ‘**Imágenes digitales**’, a partir de luz difusa que ha interactuado con el objeto de interés y ha sido reflejada por este, y 2) *Registrar la imagen*, para ello se coloca un sensor óptico (cámara) en el plano imagen del sistema formador, dicho sensor está acoplado y controlado por un equipo de cómputo

mediante el cual se adquiere y almacena la imagen que se formó en el plano espacial imagen.

Para la adquisición de imágenes digitales se definieron dos modalidades: *i) Natural*. En esta modalidad se adquiere una imagen del sitio corporal de interés sin modificar su condición inicial de forma alguna. *ii) Modificada*. En esta se modifica la condición inicial del mismo sitio al aplicar una delgada capa de aceite del tipo ‘para bebé’ que tiene índice de refracción (n) cercano a $n=1.5$, entonces se deja actuar el aceite durante cinco minutos y se adquiere la imagen del sitio referido. Lo anterior se realizó al suponer que las propiedades de dicha sustancia podrían modificar el índice de refracción del tejido en la zona de interés una vez que ha actuado sobre esta; permitiendo de esta manera una mayor penetración de la luz incidente sobre el tejido, lo que implicaría que la luz que emerge del tejido traerá consigo mayor información de su estructura interna, y al ser reflejada difusamente, podrá ser registrada por el sensor óptico y de este modo obtener una imagen del sitio corporal de interés de mejor calidad.

Considerando los puntos anteriores se planteó el siguiente procedimiento para realizar la adquisición de imágenes digitales en voluntarios, el cual contempla, principalmente, las etapas de: a) *Montaje y calibración* del sistema óptico, y b) *Adquisición de imágenes*.

a) *Montaje y calibración*, En este punto cabe aclarar que ‘Polifemo’, ha sido ensamblado previamente a la realización del estudio de imágenes digitales como se describió en la sección **Arreglo óptico-computacional para la adquisición de imágenes macroscópicas**. Debido a esto el día del estudio el *operador* solo coloca sobre el piso a ‘Polifemo’ de frente a la piecera de la mesa de exploración y en seguida desplaza únicamente el cabezal óptico (cámara-lente-fuente de iluminación) de éste en forma vertical, hasta una altura inicial aproximada de 85 cm, medida desde el nivel del piso hasta el eje óptico de la cámara y lo fija en esa posición.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

A continuación mueve el dispositivo completo en forma horizontal hacia atrás una distancia de 11.3 cm, medida desde el plano vertical del borde de la piecera de la mesa hasta el plano mecánico del lente de enfoque en la cámara.

En cuanto al equipo de cómputo que controlará la cámara, se coloca una mesa rectangular de dimensiones 90cmx60cmx72cm a un costado del trípode, la cual servirá como soporte a dicho equipo. Enseguida, el *operador*, acopla la cámara al equipo de cómputo mediante cable USB e inicializa el arreglo (cámara-computadora-software MATLAB R2015a). Cuando el sistema está en funcionamiento, el *operador* ejecuta el programa de captura de imágenes '*Captura_Ima_PGrey_Basico.m*' para controlar la cámara digital, con la ejecución del programa se deberá mostrar en pantalla una ventana de pre-visualización en modo video de la cámara como señal de que la conexión cámara-equipo de cómputo ha sido exitosa, el procedimiento completo ya ha sido descrito en el apartado: **Software de adquisición.**

Una vez montado el dispositivo el *operador* calibra la cámara equilibrando el color de la imagen en los tres canales básicos rojo, verde y azul (RGB), debido a que en la imagen inicial que genera la cámara y que se muestra en la ventana de visualización en el ordenador predomina el canal verde (G). Para ajustar el color de la imagen que genera la cámara se coloca un objeto de prueba frente a la cámara, dicho objeto deberá tener armonía en los colores que lo componen, el operador lo hará coincidir con el plano vertical de la 'piecera' (plano objeto) de la mesa de exploración, entonces en la pantalla de la computadora se observará como en la imagen de dicho objeto se ajusta el color gradualmente hasta mostrarse proporcionada. Para concluir el *operador* manipula con finos movimientos el mecanismo de la lente para lograr un enfoque adecuado y deja el sistema listo para la adquisición de imágenes.

b) *Adquisición de imágenes*

Paso 1. El *operador* le da la bienvenida al *voluntario* y le indica que se recueste en la mesa de exploración en posición decúbito dorsal (boca arriba) en una postura relajada, también que se quite el calzado y descubra su pie izquierdo. El *operador* ayuda al *voluntario* para reacomodarse y que éste pueda colocar su pie en forma vertical en el borde de la piecera y le da la indicación de que lo mantenga en esa posición e inmóvil durante el tiempo que dura el estudio (ver [Figura 4.12](#)).

Paso 2. En seguida el *operador* adapta y fija la altura y posición de ‘Polifemo’ (dispositivo óptico-mecánico) enfocando la zona del ‘*1er metatarsiano*’ en la planta del pie del *voluntario*, a continuación adquiere la imagen de esta zona al presionar una vez la tecla ‘enter’. Se realizan dos capturas de esta área en modalidad *Natural*.

Paso 3. Concluido el Paso 2 el *operador* aplica el aceite para bebé en la misma zona como se ha descrito previamente en esta misma sección y espera cinco minutos hasta que éste actúe, pasado este intervalo de tiempo adquiere dos imágenes más de la misma zona ahora en modalidad *Modificada*. Después de capturar la segunda imagen él *operador* concede al *voluntario* entre 30 y 60 segundos para que descanse de la posición que ha mantenido antes de continuar.

Paso 4. El *operador* repite los pasos 2 y 3 en la zona del ‘*5° Metatarsiano*’ del pie del *voluntario*.

Paso 5. El *operador* repite los pasos 2 y 3 en la zona del ‘*Calcáneo*’ del pie del *voluntario*.

Paso 6. El *operador* reproduce los pasos 2 y 3 en la zona del ‘*Tobillo*’ del pie del *voluntario*.

Cuando se adquiere la imagen número 16 el algoritmo pasa de la fase de adquisición a la de detención y con ello concluye el sensado de imágenes en el *voluntario*. Si se desea medir otro *voluntario* se deben repetir los pasos 1 a 6.

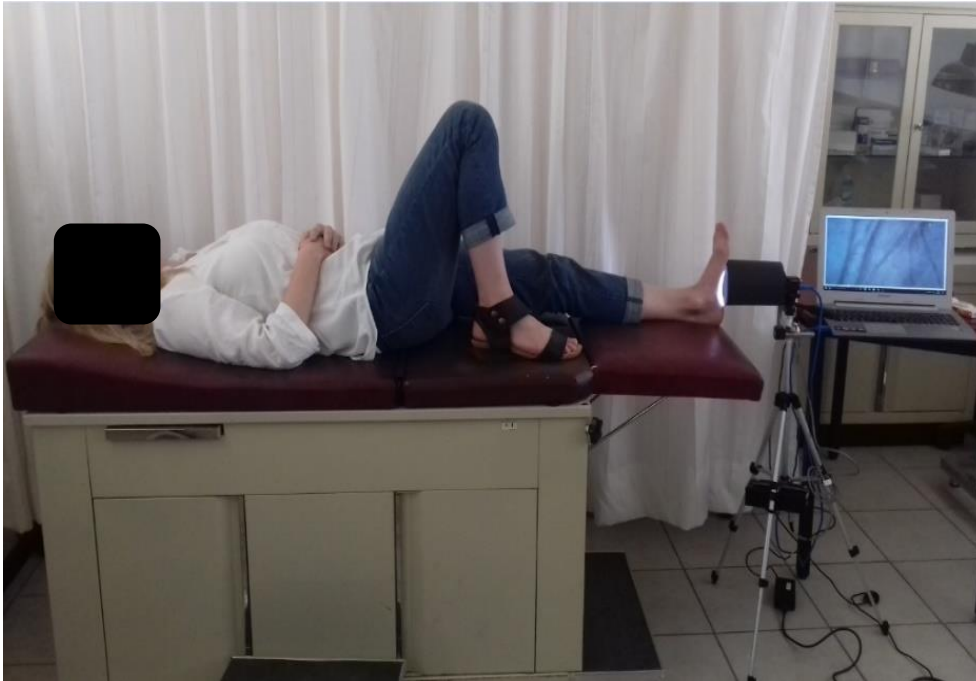


Figura 4.12. Postura del *Voluntario* sobre la Mesa de exploración.

Protocolo experimental y sensado de imágenes digitales macroscópicas

En el apartado **Protocolo experimental y mediciones de ERD** se describe y especifica: número de voluntarios participantes, procedimiento de reclutamiento, condiciones a cumplir para su aceptación y participación, así como los instrumentos de control (chequeo médico y cuestionario médico) aplicados para verificar que el estado de salud de cada voluntario fuera adecuado; lo anterior aplica también a esta sección por lo tanto se evita mencionarlo nuevamente.

Cabe destacar que se tomaron un total de 16 imágenes por cada voluntario, 4 imágenes por región de interés siguiendo la metodología descrita previamente. Sin embargo del total de 16 imágenes por voluntario después de una inspección visual se descartaron 8 y se consideraron para su análisis únicamente 8, las que se consideraron de mejor calidad visualmente, es decir 2 imágenes por región de interés (una *Natural*, y una *Modificada*).

Las zonas de interés para obtener las imágenes digitales fueron las sugeridas por nuestro médico asesor: a) Plantar (específicamente 1°, 5° metatarsianos y Calcáneo),

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

b) Tobillo y c) Cavidad poplítea (depresión anterior a la rodilla). Se aclara que esta última aunque también fue sugerida, por razones de simplificación del procedimiento en esta primera etapa se decidió descartarla. Las regiones consideradas se muestran en la [Figura 4.13](#).

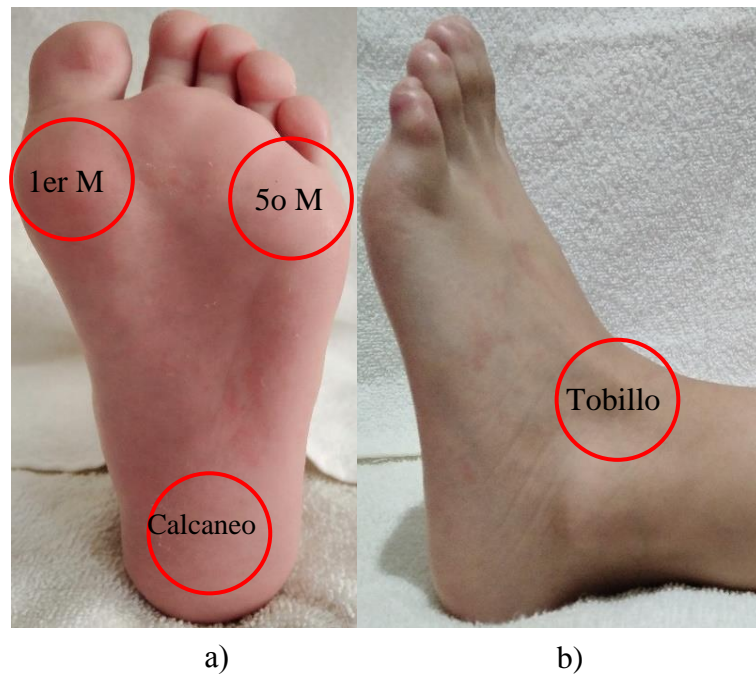


Figura 4.13. Zonas de interés para la adquisición de imágenes macroscópicas, a) Plantar y b) Tobillo.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 Espectros de reflexión difusa (EsRD)

El análisis de los espectros registrados en la palma de la mano para los 8 voluntarios participantes, nos indica que para longitudes de onda fuera del intervalo espectral 450-700 nm, los EsRD presentan niveles de ruido inaceptables. Por lo tanto durante el análisis de tales espectros presentamos las curvas de reflexión difusa solo en el rango indicado anteriormente. En la [Figura 4.14](#) se muestra de forma comparativa los datos espectrales correspondientes al voluntario 1, tanto para toda la región espectral medida 178-900nm indicada previamente, como para la zona espectral reducida de 450 a 700nm.

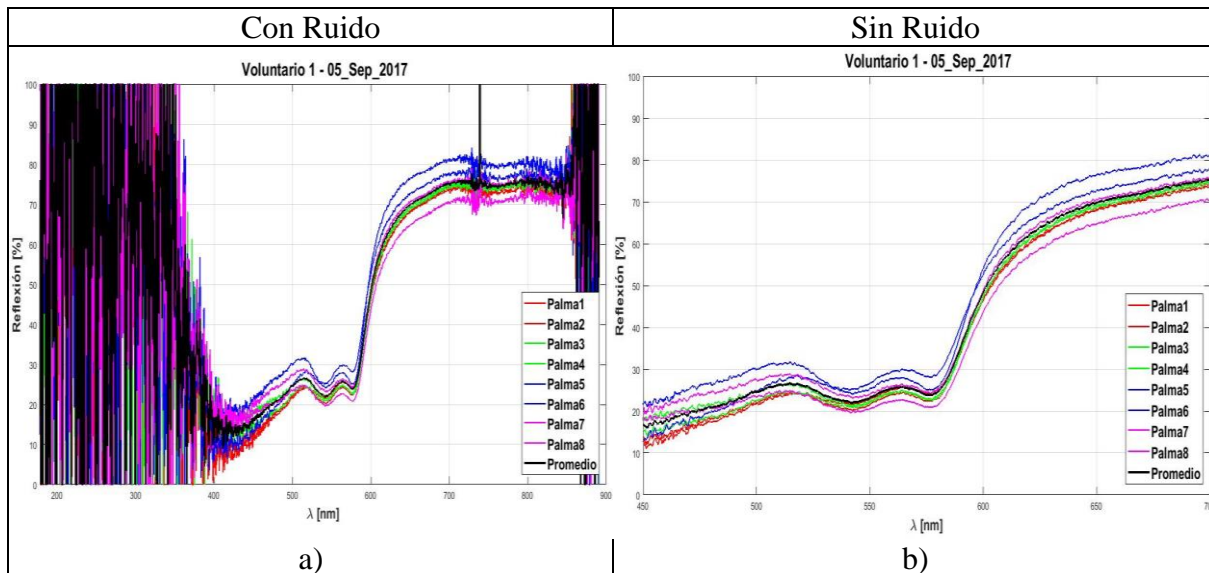


Figura 4.14. EsRD del voluntario No.1. a) *Con ruido*, intervalo espectral 178-900nm (izquierda). b) *Sin ruido*, intervalo espectral 450-700nm (derecha).

Los EsRD de cada voluntario se presentan en la [Figura 4.15](#) en orden de mayor a menor grado de pigmentación, es decir del tono más oscuro al más claro, de la primer fila a la última de cada subfigura ([Figura 4.15.a](#), [Figura 4.15.b](#)).

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

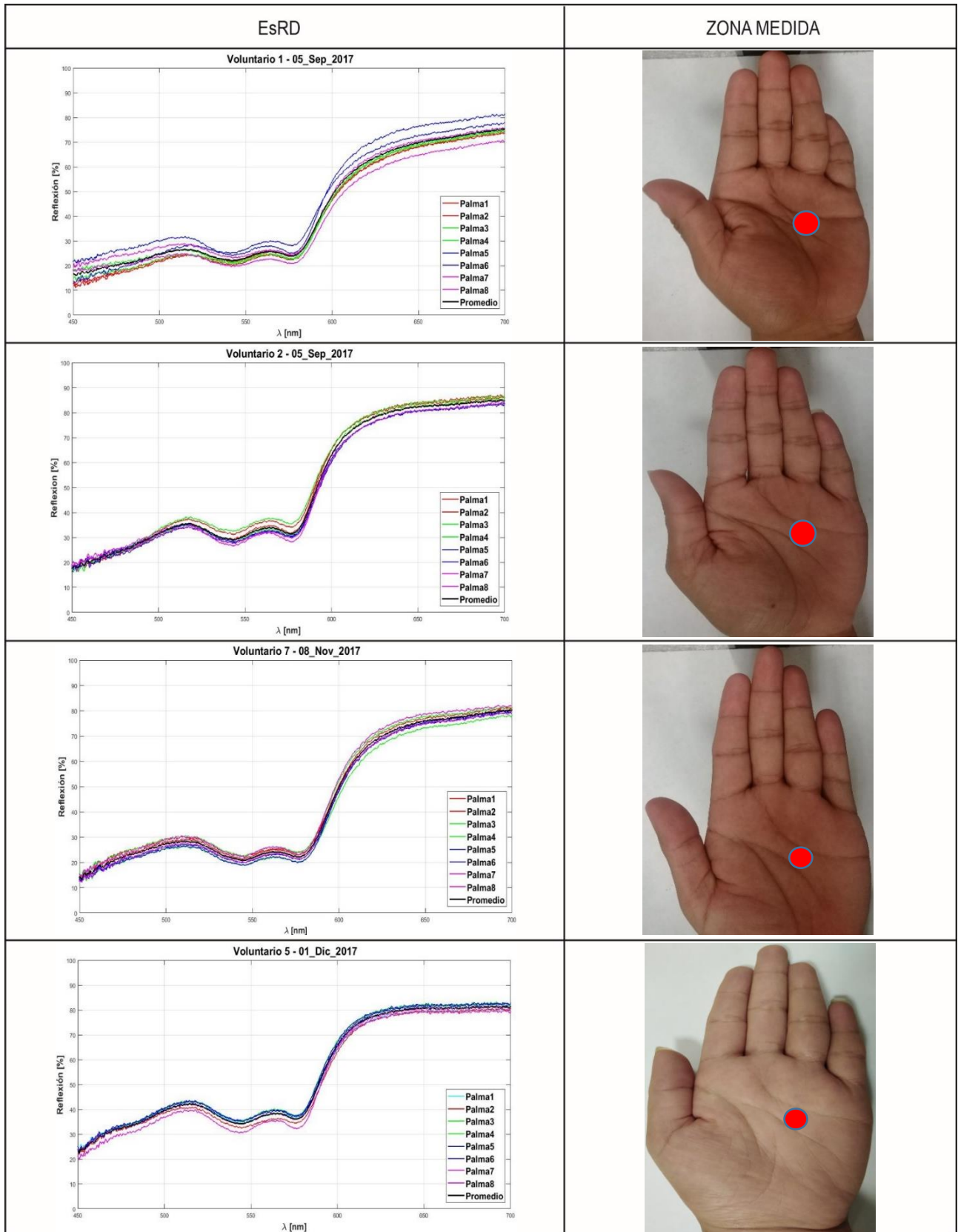


Figura 4.15a. Se muestran los EsRD de los voluntarios V1, V2, V7 y V5 en orden de mayor a menor grado de pigmentación, el punto en color naranja en la imagen (derecha) indica la zona en la que fue medido el EsRD.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

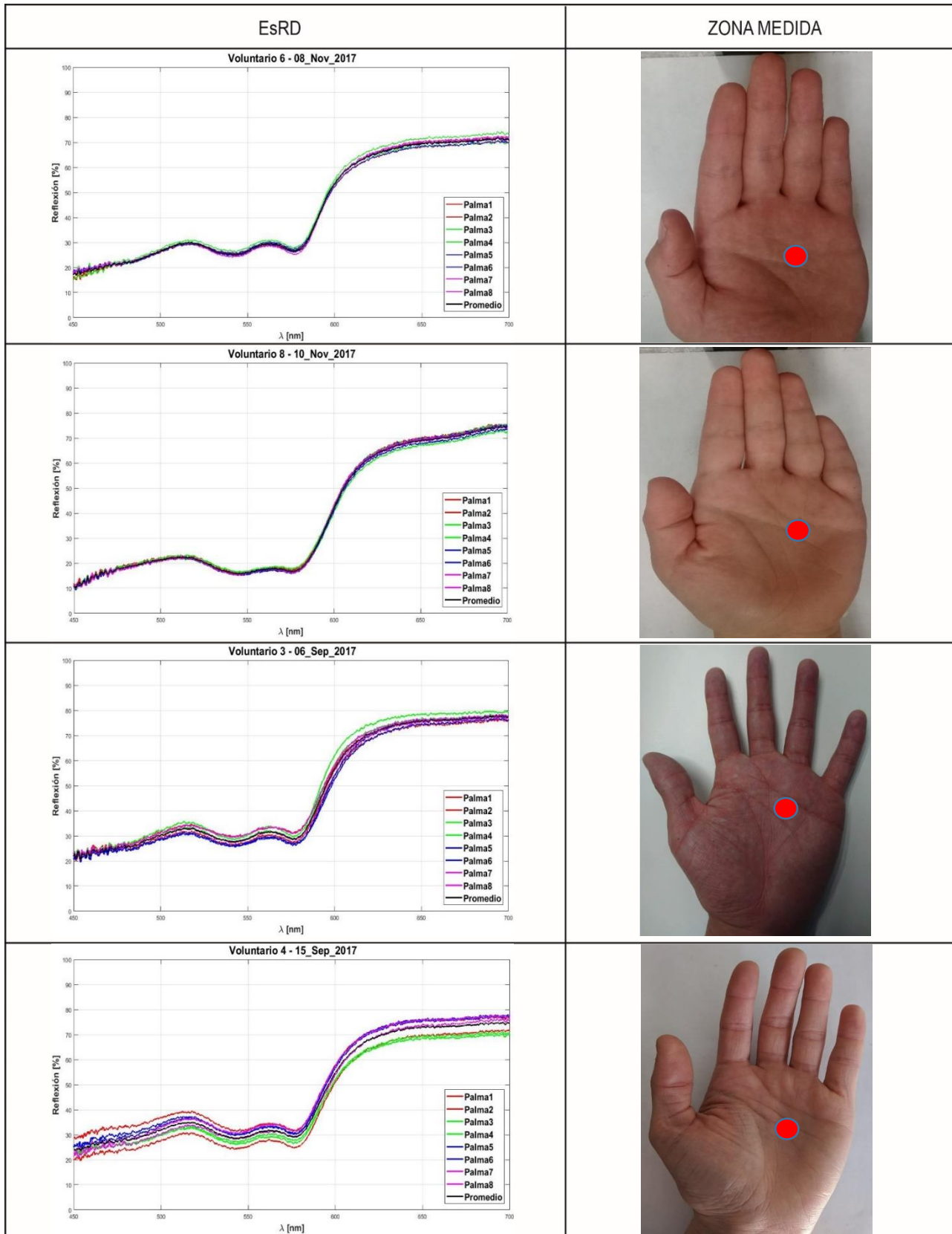


Figura 4.15.b. Se muestran los EsRD de los voluntarios V6, V8, V3 y V4 en orden de mayor a menor grado de pigmentación, el punto en color naranja en la imagen (derecha) indica la zona en la que fue medido el EsRD.

Es conocido que el grado de pigmentación de la piel debido a la melanina presente en la epidermis, influye notablemente en la forma y nivel de la señal de reflexión difusa espectral que capta una sonda de fibras ópticas [13, 14 y 15]. La pigmentación determina la pendiente de la curva de reflexión difusa en la región espectral de los 600-700 nm.

Un análisis inicial de los EsRD advierte que la reflexión difusa en el rango visible es fuertemente influenciada por la presencia de hemoglobina (Hb), donde resalta el patrón característico ‘W’ de absorción de la hemoglobina oxigenada (HbO₂) en las bandas 542 y 578 nm, como se observa en las gráficas de los voluntarios de la [Figura 4.15](#), lo que se encuentra en correspondencia con lo reportado por diferentes autores [7, 16, 17].

4.3.2 Imágenes Digitales de Zonas de Interés

En las [Figuras 4.16-4.19](#) se muestran las imágenes digitales macroscópicas de las zonas de interés en el área del pie de los 8 participantes, sin embargo a diferencia de los EsRD, las imágenes se muestran en el orden de participación de cada voluntario, en el estudio.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

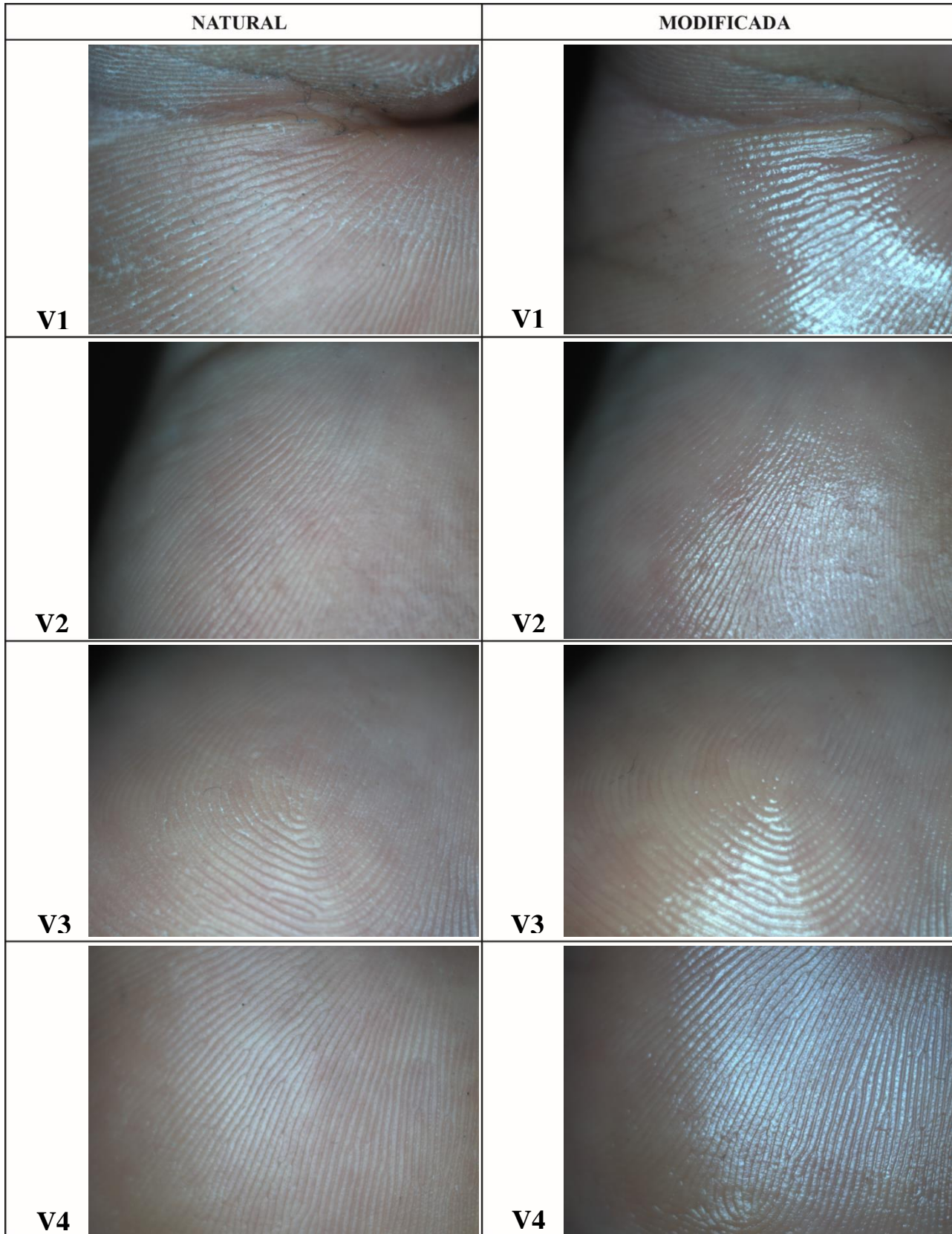


Figura 4.16.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *metatarsiano 1* (MT1) correspondientes a los voluntarios V1, V2, V3 y V4. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

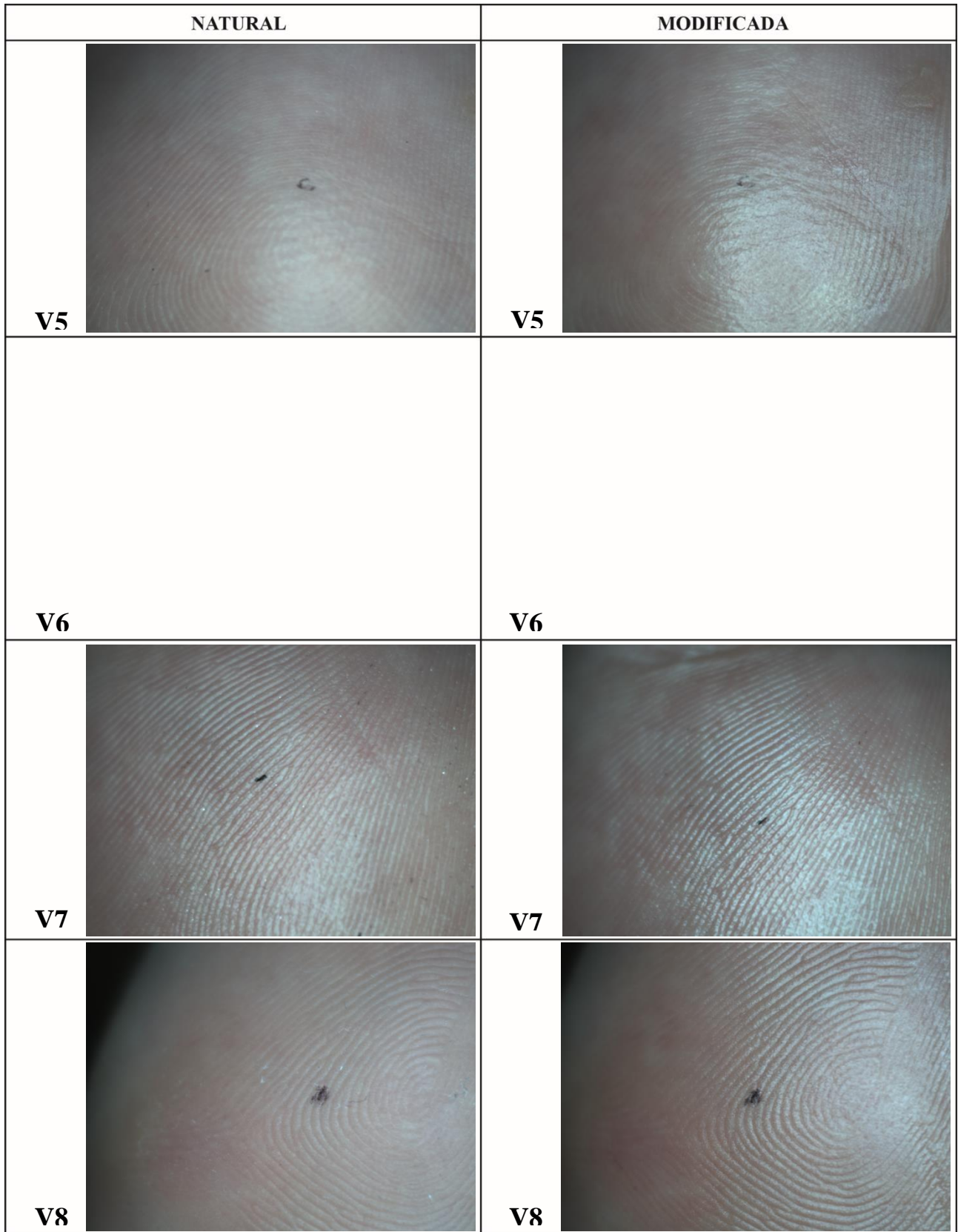


Figura 4.16.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *metatarsiano 1** (MT1) correspondientes a los voluntarios V5, V6, V7 y V8. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen '*natural*' y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen '*modificada*', descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

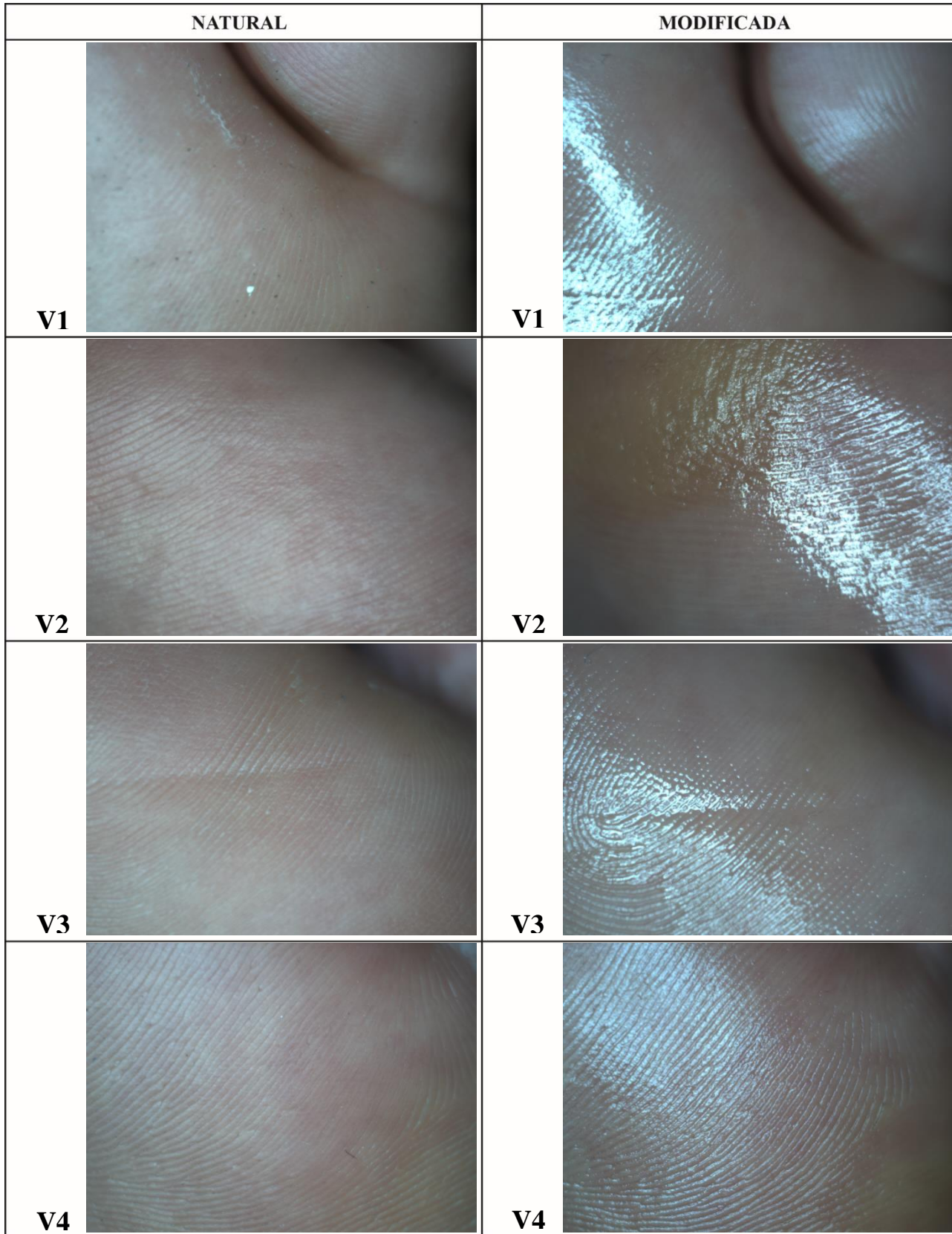


Figura 4.17.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *metatarsiano 5** (MT5) correspondientes a los voluntarios V1, V2, V3 y V4. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

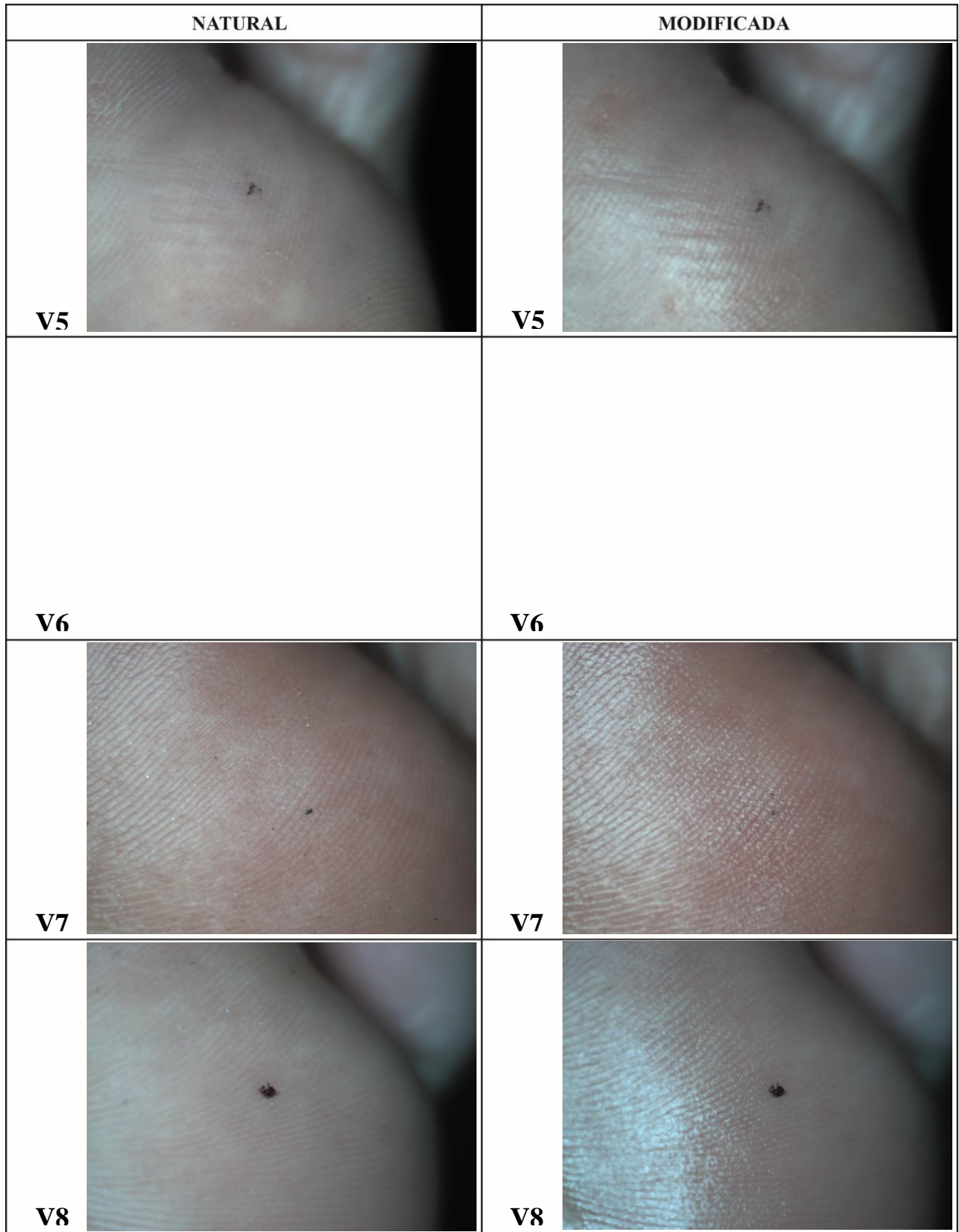


Figura 4.17.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *metatarsiano 5** (MT5) correspondientes a los voluntarios V5, V6, V7 y V8. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen '*natural*' y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen '*modificada*', descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

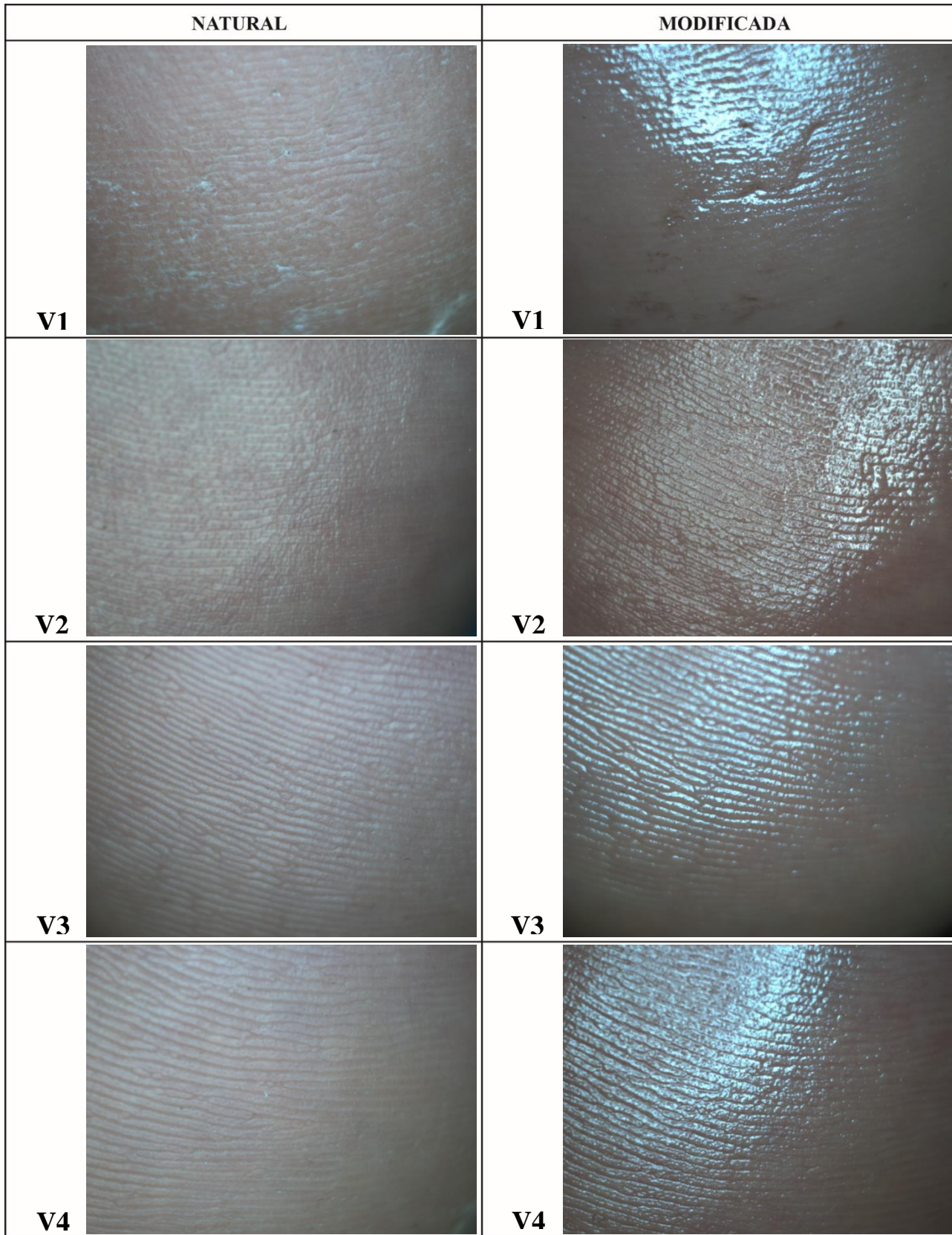


Figura 4.18.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: **calcáneo (C)** correspondientes a los voluntarios **V1, V2, V3** y **V4**. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘natural’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘modificada’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

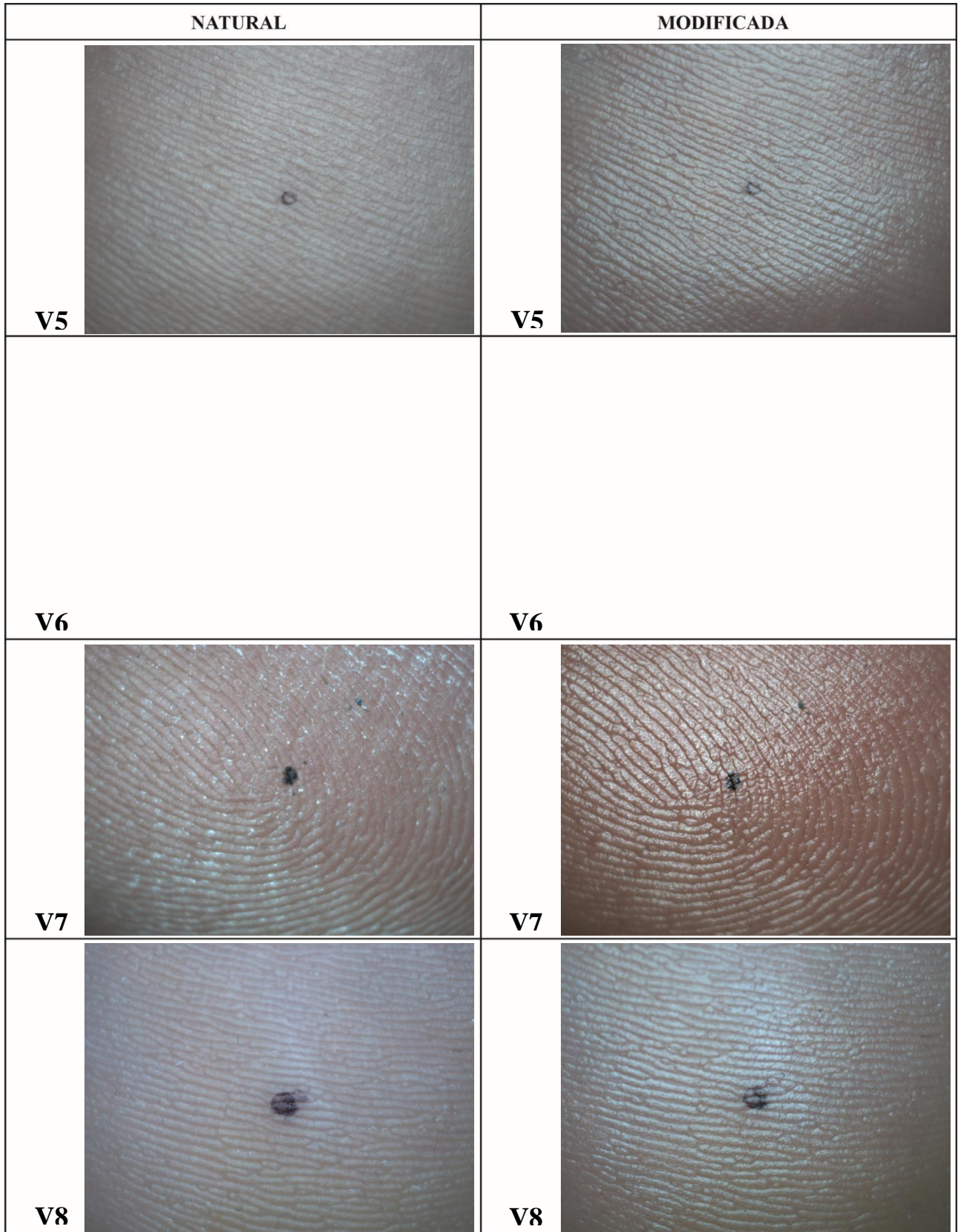


Figura 4.18.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *calcáneo* (C) correspondientes a los voluntarios V5, V6, V7 y V8. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de imágenes digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

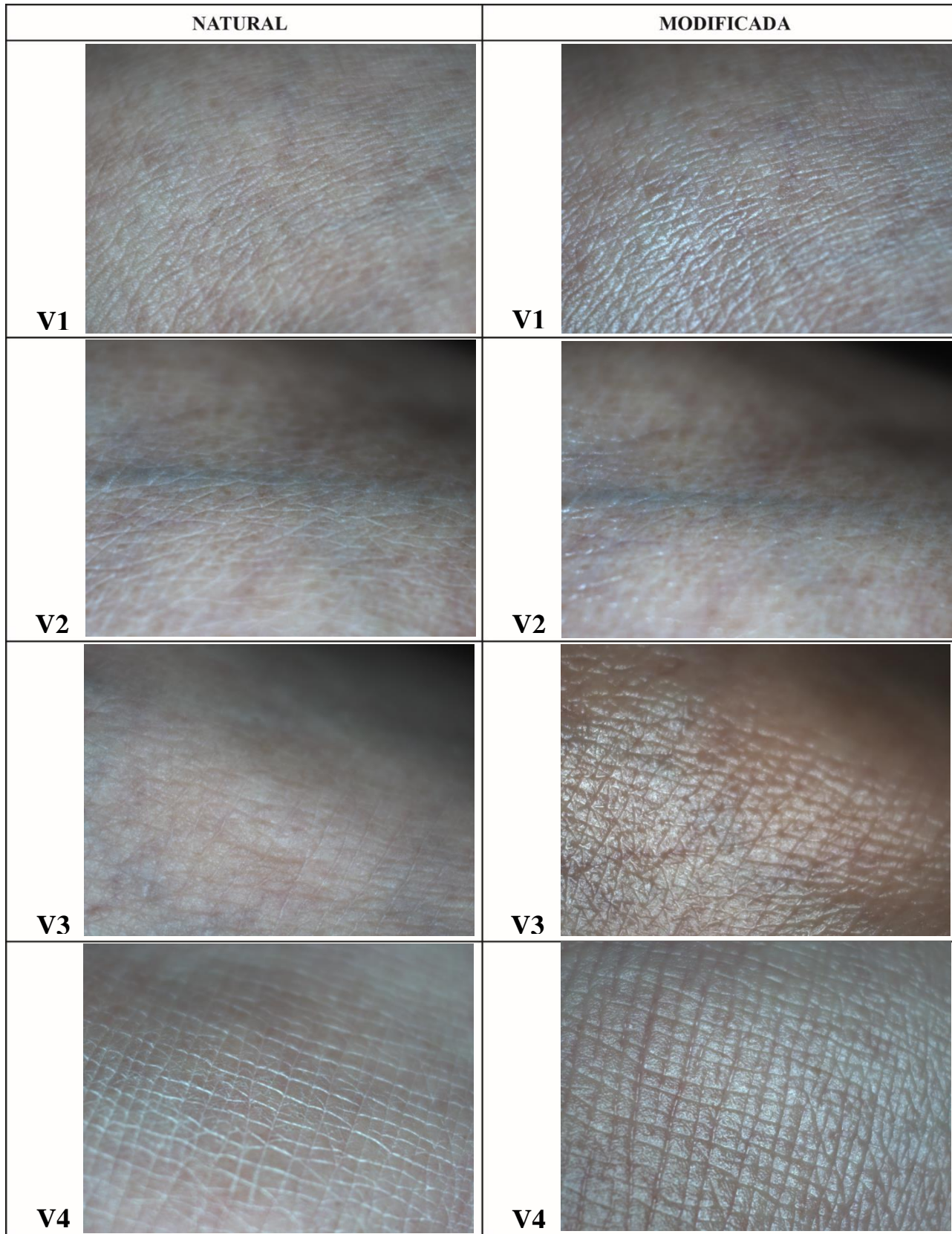


Figura 19.a. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *tobillo* (T) correspondientes a los voluntarios V1, V2, V3 y V4. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de Imágenes Digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

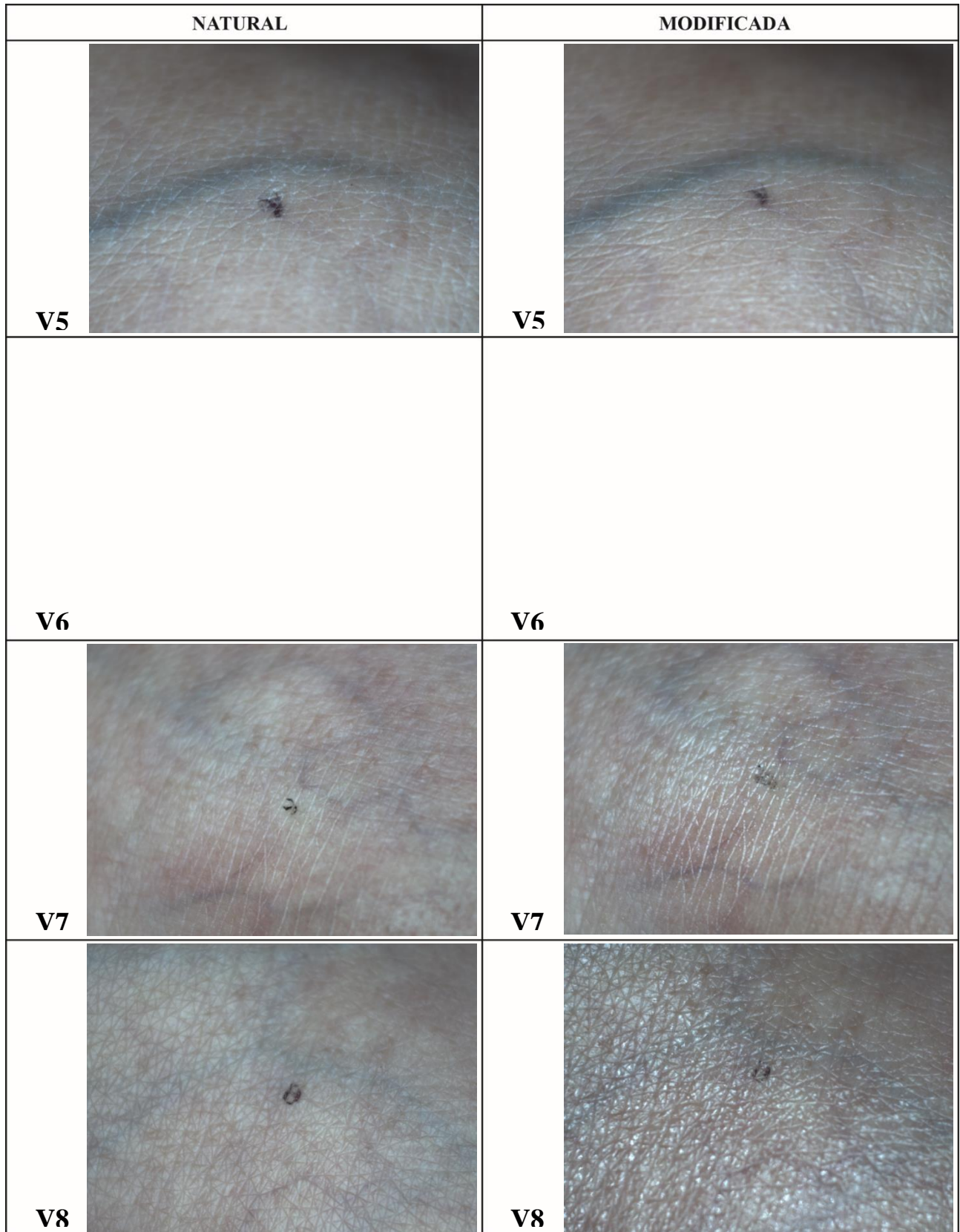


Figura 19.b. Imágenes digitales macroscópicas del sitio de interés: *tobillo* (T) correspondientes a los voluntarios V5, V6, V7 y V8. Se muestran en el orden de participación de cada uno de forma secuencial, en la columna izquierda se muestra el tipo de imagen ‘*natural*’ y en la columna derecha se muestra el tipo de imagen ‘*modificada*’, descritas en la sección **Metodología para la adquisición de Imágenes Digitales**.

Capítulo 4. Documentación en humanos: análisis de zonas de tejido en riesgo en un grupo de voluntarios

Se puede observar en las imágenes de los voluntarios 1 y 2 que aun cuando ellos presentan el tono más oscuro de piel se advierte una transparencia uniforme de tonalidad ‘rosada’ que indica buena irrigación sanguínea y una condición equilibrada la cual resulta ser una constante en el resto de los voluntarios.

Cabe mencionar que un inconveniente presente en las imágenes ‘modificadas’ fue la saturación del sensor en algunas áreas generada por la reflexión especular. Un exceso del aceite para bebé durante su aplicación sobre el tejido, pudo ser la causa de este efecto no deseado.

4.4 CONCLUSIONES

La ERD es una técnica óptica que ha sido utilizada durante ya bastante tiempo en diversos campos del conocimiento, como en la agroindustria, las ciencias forenses, la química incluso la medicina. En la medicina comúnmente se ha empleado para obtener información del tipo diagnóstico a partir de los EsRD en la piel del ser humano. Actualmente es una técnica ampliamente explorada en el ámbito médico y sigue representando una herramienta importante en el diagnóstico temprano de padecimientos dermatológicos, como lo son las úlceras en personas que tienen diabetes.

Las imágenes digitales de alta calidad son un instrumento que permite documentar y monitorear de forma apropiada diversos sucesos y procedimientos, incluso la evolución de complejas enfermedades del tipo crónico.

En el presente estudio se empleó de manera conjunta la ERD y la adquisición de imágenes digitales para documentar zonas de piel que presentan la tendencia a desarrollar lesiones.

Considerando el desarrollo del presente estudio, hemos concluido que las capacidades de la ERD -para detectar de forma precoz importantes cambios en la estructura fisiológica de los tejidos biológicos, lo que comúnmente se traduce en posibles lesiones en los sitios de medición- al combinarse con otra técnica como la adquisición de imágenes digitales, se complementan tan eficazmente que los resultados obtenidos con ambas mejoran de forma considerable.

4.5 REFERENCIAS

- [1] De Almeida Nunes G. A. M., *et al.*, “A system for treatment of diabetic foot ulcers using led irradiation and natural latex”, *Research On Biomedical Engineering*, rbejournal.org, Volume 32, Number 1, p. 3-13, 2016, Original Article, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2446-4740.0744>.
- [2] Tardivo J. P., “A clinical trial testing the efficacy of PDT in preventing amputation in diabetic patients”, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (2014) 11, 342—350, 9 May 2014, www.sciencedirect.com, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt.
- [3] Abdón Toledo, *et al.*, “Pie Diabético: De la fisiopatología a la clínica”, *Diabetes Internacional*, Volumen I, N° 3. Año 2009.
- [4] Garrido AM, Cía. Blasco P, Pinós PJ. “El pie diabético”. *Med Integral* 2003; 41(1):8-17.
- [5] PABLO, “Historia clínica ANAMNESIS“, <https://es.slideshare.net/ECONOMIASANITARIA/historia-clnica-2014-1>.
- [6] Redacción Onmeda, “Hongos en las uñas (onicomicosis)”, (3 de Julio de 2017), https://www.onmeda.es/enfermedades/hongos_en_las_unas.html, © iStock.
- [7] Anand S., *et al.*, “Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer – A pilot study”, *Optics and Lasers in Engineering* 53 (2014).
- [8] Ocean Optics, “Spectra Suite® Spectrometer Operating Software, Installation and Operation Manual”, Document Number 000-20000-300-02- 201110, 830 Douglas Ave., Dunedin, FL, USA 34698.
- [9] De la cadena P-G. A., “Estudio de la Reflexión Óptica Difusa en Tejido Biológico”, IPN 2012.
- [10] Sucar E. L., “Visión Computacional”, Instituto Nacional de astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE), Puebla, México.

- [11] Depto. Tecnología IES La Cabrera, “La Imagen Digital”, Informática 4º, ESO, 2012.
- [12] Mobiliario Médico de México, “Mesa de exploración modelo ECONÓMICA”, Copyright © 2018 Mobiliario Medico MX, <http://mobiliario-medico.mx/mesa-exploracion-gabinete-modelo-economica-p-170.html>
- [13] Liu Z., Zerubia J., “Melanin and Hemoglobin Identification for Skin Disease Analysis”, Asian Conference on Pattern Recognition (ACPR), Nov 2013, Okinawa, Japan, hal-00872331.
- [14] Zonios G., *et al.*, “Skin Melanin, Hemoglobin, and Light Scattering Properties can be Quantitatively Assessed In Vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy “, Copyright # 2001 by The Society for Investigative Dermatology, Inc.J
- [15] Norvang L.T., *et al.*, “Skin Pigmentation Characterized by Visible Reflectance Measurements”, Lasers in Medical Science 1997, 12:99-112.
- [16] Vivas S. *et al.*, “Método Diagnóstico no Invasivo en Dermatología: Espectrofotometría de Reflexión Difusa “, INFORMED Vol. 17, N° 2, 2015.
- [17] Delgado A., “Influence of probe pressure on human skin diffuse reflectance spectroscopy measurements”, Article in Optical Memory and Neural Networks · March 2009, DOI: 10.3103/S1060992X09010020.

Capítulo 5

CONCLUSIONES GENERALES

En esta tesis se han presentado varias metodologías que comprenden diferentes técnicas ópticas, la implementación de arreglos óptico-computacionales que incluyen un prototipo experimental mecánico-óptico y el desarrollo de algoritmos computacionales. A partir de estas es posible analizar zonas de tejido biológico del pie en pacientes diabéticos y extraer información sobre el estado de salud que guardan estas zonas de interés que están en riesgo de sufrir lesiones, como lo son las úlceras. Esta información de carácter diagnóstico puede representar un apoyo importante para la toma de decisiones que realiza el personal médico que atiende la complicación del pie diabético, en cuanto a la prevención y tratamiento del mismo se refiere.

El arreglo óptico computacional presentado en el capítulo 2 permitió medir la dimensión del diámetro de los vasos capilares presentes en un modelo de tejido biológico que se elaboró a partir de una porción de piel de pollo. Esto se logró a partir del análisis de imágenes digitales microscópicas de zonas de interés que contenían a estos vasos; la adquisición de las imágenes se realizó por medio de un arreglo óptico microscópico y se analizaron a través de un algoritmo computacional diseñado específicamente para extraer los datos de la dimensión de estos vasos sanguíneos.

El modelo biológico propuesto, presenta ciertas bondades como ser de fácil acceso y manipulación, características que permitieron elaborar un conjunto de muestras que mostraron bastante correspondencia, con el modelo al cual representan.

Cada muestra presentó una estructura con centros de absorción y esparcimiento similares a los de la piel humana, sin embargo se observaron diferentes relieves en la superficie de cada una de estas, también se detectaron distintos niveles de vascularización. No obstante lo anterior, fue posible determinar las dimensiones de vasos capilares cuyos valores oscilaron en un intervalo promedio entre los 7.5 μm y los 232 μm . Este hecho resulta por demás interesante debido a que si se compara este dato con el de un cabello humano, cuyo diámetro se encuentra en el orden de los 100 μm , se lograron obtener mediciones muy por debajo de este valor.

Se puede afirmar que es un método bastante útil y práctico para medir las dimensiones de vasos capilares, el algoritmo de análisis es parcialmente automático ya que el punto inicial y final de medición se determinan de forma manual. En este sentido es susceptible de mejorar, utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes (PDI).

Consideramos que el resultado obtenido, puede representar una solución práctica y menos costosa a la tarea de determinar las dimensiones físicas de objetos microscópicos inmersos en entornos biológicos.

El algoritmo computacional presentado en el capítulo 3 en la forma de interfaz gráfica de usuario (GUI), supone un método alternativo eficaz para validar los resultados que se obtienen con algoritmos computacionales destinados a la extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana a partir de EsRD. Se utilizaron EsRD sintéticos de prueba con propiedades ópticas conocidas, como sustitutos de los imitadores de tejido denominados phantoms, tan amplia y comúnmente utilizados.

Cabe señalar que existen algoritmos que posibilitan la extracción de los parámetros fisiológicos de la piel humana de forma automática, sin embargo este algoritmo representa una propuesta novedosa en el sentido de que permite su extracción de forma manual, dando la oportunidad al usuario de la aplicación, interactuar con el proceso de extracción y mejorando su comprensión del mismo. En este sentido también provee un mecanismo de aprendizaje práctico, para la asimilación de la teoría de transporte de luz o teoría de transporte radiativo

El sistema de documentación del capítulo 4 contempló la obtención de EsRD e imágenes digitales macroscópicas de áreas en un tejido biológico que es vulnerable a lesiones de pie diabético.

Los EsRD se obtuvieron utilizando un arreglo que incorpora una sonda de doble fibra óptica (fuente-detector), un espectrómetro y un equipo de cómputo; con la ayuda de este último se registró y almacenaron dichos EsRD. Las imágenes se adquirieron mediante un arreglo óptico-computacional que incluyó el prototipo óptico-mecánico denominado ‘Polifemo’.

Se propuso un estudio en el que se usaron de forma combinada los sistemas anteriores permitiendo documentar y analizar zonas específicas de tejido biológico en un grupo de control conformado por individuos sanos (no diabéticos). Este estudio representó la etapa preliminar de una investigación más completa, que contempla como segunda etapa realizar dicha documentación y análisis en pacientes diabéticos propensos a desarrollar la complicación del pie diabético.

En este trabajo se reportaron únicamente los resultados de la etapa preliminar, que representan la obtención de una base de datos que nos permitirá contrastar datos de personas sanas con los de pacientes con diabetes.

En general se concluye que las diferentes metodologías y técnicas ópticas tradicionales y modernas expuestas, así como los dispositivos y arreglos ópticos-computacionales implementados representan un sistema biomédico integral que puede coadyuvar en la evaluación del estado de salud de tejido biológico en riesgo en el pie diabético.

APÉNDICES

Apéndice A

Programa que realiza la adquisición de imágenes digitales mediante un sensor óptico.

(script)

```
% Las imágenes se guardan donde se encuentra almacenado este script
% Realizado por Ing. Juan Estrada Berni
% Mayo_2017.
```

```
clear all
close all
clc
```

```
vid = videoinput('pointgrey', 1, 'F7_RGB_1328x1048_Mode7'); % Se
establece la comunicación con el sensor CCD
```

```
imaqhwinfo (vid) % Se muestra la información del driver
```

```
preview (vid) % Se previsualiza la imagen en tiempo real
hmsg = msgbox('Puede enfocar...'); % Indica al usuario mediante
un mensaje que puede enfocar la imagen
pause(1); % hace una pausa...
delete (hmsg);
pause
```

```
sample = getsnapshot(vid); % Captura la imagen
figure (1)
```

```
imshow(uint16 (sample)); % Muestra la imagen capturada
pause(1)
```

```
imwrite
((sample), 'MH_Planta_Ima07_31_May_2017_BFD16cm_FFD5_5mm_M10x.png');
% Almacena la imagen capturada
stoppreview (vid); % Detiene el video
closepreview (vid); % Cierra el video
delete (vid); % Borra y libera el objeto creado
```

Apéndice B

Programa que determina las dimensiones físicas de un objeto o zona de interés a partir de su imagen digital.

```
(script)
/* El proceso se realiza estableciendo inicialmente y también a
partir de su imagen digital una relación de equivalencia entre el
tamaño en pixeles de un objeto conocido (patrón de referencia) y sus
dimensiones físicas reales. A continuación se determinan las
dimensiones físicas del objeto o zona de interés de estudio
utilizando la relación de equivalencia establecida.*/
%% Realizado por Ing. Juan Estrada Berni
%% Mayo de 2017

close all
clear all
clc

format shortEng % Define el formato de visualización de los datos
format compact

%% PATRÓN DE REFERENCIA

% Define el nombre de la imagen del patrón de referencia
N1='MMayPR02_22_May_2017_BFD16cm_FFD5_5mm_M-10x_P2.png';

A=imread(N1); % Lee la imagen del patrón de referencia

% A0=rgb2gray(A);

% Visualiza la imagen a color del patrón de referencia
figure('Name','1','Position',[0 0 300 300]);
imshow(uint16(A),impixelinfo,title('Patron de Referencia'));
[yf,xc]=size(A); % Calcula el tamaño de la imagen del
patrón de referencia
xc=xc/3
yf

A1= imcrop(A); % Recorte y amplificación de una zona de interés
% del patrón de referencia
% Muestra la imagen del segmento recortado del patrón de referencia
figure('Name','2','Position',[0 0 500 500]);
imshow(A1), impixelinfo,title('Patron de Referencia');
```

```

% Obtiene las coordenadas de los puntos inicial y final de la medición
[yf1,xc1]=size (A1);

xc1=xc1/3
yf1

% zoom on;
% pause()
% Puedes hacer zoom al tamaño deseado con el mouse
% y a continuación presionar cualquier tecla
% zoom off;
% Salir del modo zoom

z=ginput(2);
% zoom out;
% Ir al tamaño original de tu imagen

% Determina los valores máximos y mínimos de las coordenadas
% de los puntos inicial y final de la medición
ZX2max=max(z(:,1))
ZY2max=max(z(:,2))
ZX1min=min(z(:,1))
ZY1min=min(z(:,2))

% Determina el tamaño en pixeles del objeto de referencia
zd=sqrt((ZX2max-ZX1min)^2+ (ZY2max-ZY1min)^2)

%% IMAGEN A ESTUDIAR
% Visualiza la imagen a estudiar
N2='MMayPP03_25_May_2017_BFD16cm_FFD5_5mm_M-10x_P2_Z2.png';

% Lee la imagen a estudiar
A2=imread(N2);
% A22=rgb2gray(A2);

% Visualiza la imagen a estudiar a color
figure('Name','3','Position',[0 0 500 500]);
imshow(A2),impixelinfo,title('Zona de Interés');

% Obtiene las coordenadas de los puntos inicial y final de la
%medición.
% zoom on; % pause()
% Puedes hacer zoom al tamaño deseado con el mouse
% y a continuación presionar cualquier tecla
% zoom off; % Salir del modo zoom

p=ginput(2);
% zoom out; % Ir al tamaño original de tu imagen

% Determina los valores máximos y mínimos de las coordenadas
% de los puntos inicial y final de la medición
PX2max=max(p(:,1));

```

```

PY2max=max(p(:,2));
PX1min=min(p(:,1));
PY1min=min(p(:,2));

% Dibuja una línea entre el punto inicial y final de la medición
% acotando la zona u objeto de interés

x1=PX1min;    y1=PY1min;
x2=PX2max;    y2=PY2max;

X=[x1 x2];
Y=[y1 y2];

line(X,Y,'color',[0.83 0.42 0.12'],'LineWidth',2)
hold on
plot(X,Y,'y o','LineWidth',2)

%% EQUIVALENCIA
% zd pixeles --> 110 um

% Determina el tamaño en pixeles del objeto o zona de interés
pd=sqrt((PX2max-PX1min)^2+(PY2max-PY1min)^2)

% Determina las dimensiones reales del objeto o zona de interés
MR=(pd*(110*1e-6))/zd

% Visualiza sobre la imagen las dimensiones
% reales del objeto o zona de interés

PX2max=PX2max+15;
PY2max=PY2max+5;
txt2=['\color{rgb}{0.3,0,0.6}','\bf','\fontsize{20}',num2str(MR/1e-
6),' \um'];
text(PX2max,PY2max,txt2)

```


Apéndice C

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN.

(Para voluntarios de la UPT, Tulancingo, Hidalgo, México)

Título: Documentación y caracterización de zonas de tejido biológico mediante imágenes ópticas macroscópicas a color y espectros de reflexión difusa.

Investigador principal: - Dr. José Alberto Delgado Atencio (UPT)

Co-Investigadores: - Ing. Juan Estrada Berni (Estudiante de Maestría en Computación Óptica, UPT).

- Dra. Margarita Cunill Rodríguez (UPT)

- Dra. Nadia López Flores (HGT)

- Dr. Cristóbal Arni Ramírez Ocádiz (UPT)

Antecedentes y objetivo

Este estudio tiene por objetivo obtener información básica mediante la adquisición de imágenes macroscópicas a color y/o espectros de reflexión difusa en zonas de la piel que son de interés diagnóstico con el fin de contribuir a desarrollar técnicas ópticas no invasivas para la detección temprana de úlceras en las extremidades de pacientes diabéticos.

Usted ha sido invitado a participar en este estudio de investigación debido a que en el mismo hemos considerado variables que pueden influir en la información adquirida, tales como son: edad, condición física, y tipo de piel de los participantes, por lo que al pertenecer usted a un grupo de edad joven contribuye a que dispongamos de un *grupo de control* lo cual es imprescindible en este tipo de investigación.

Procedimiento de medición

La metodología de adquisición de espectros de reflexión difusa (ERD) implica la colocación del extremo común de una sonda bifurcada de fibras ópticas en contacto con la zona de interés. El extremo común de la sonda de fibra óptica contiene dos fibras ópticas, una que funciona como fuente y otra como detector. La fibra- fuente ilumina el tejido debido que en su otro extremo está acoplada con una fuente de iluminación comercial de halógeno-tungsteno que emite luz blanca. El extremo de la fibra-detectora que no está en contacto con la piel se acopla a la entrada de un espectrómetro comercial de fibras ópticas donde se registra el espectro de la fracción de luz recolectada por la fibra de detección que está en contacto con la piel. Mediante puertos USB el espectrómetro y una laptop son acoplados y por medio del software comercial SpectraSuite se visualizan y registran los espectros de reflexión difusa de las zonas de interés.

La metodología de adquisición de imágenes consiste en ubicar la zona de interés a medir frente a un sistema de adquisición de imágenes del tipo cámara + lente de enfoque que tiene incorporado una fuente luminosa formada por un anillo de LEDs que emite luz blanca. Como parte del estudio con imágenes se hará uso de aceite corporal del tipo usado para ‘bebé’ como elemento que mejora la penetración de la luz en la piel con el fin de mejorar la visualización de estructuras subsuperficiales de la epidermis humana.

Se han seleccionado dos zonas de interés a medir las cuales son: a) la zona central de la palma de la mano izquierda y b) el tobillo del pie izquierdo. Para la adquisición de imágenes se han determinado dos modalidades las cuales son: 1) sin aplicación de aceite y 2) con aplicación de aceite en la zona a medir, de tal manera que se adquieren 2 imágenes por zona de interés. Específicamente, después de adquirir la imagen sin aceite se aplica una fina capa de éste y se espera un lapso de 5 minutos antes de tomar la imagen con aceite.

Todo el procedimiento de medición puede tomar entre 10 y 30 minutos, aunque se espera que la mayoría de las mediciones sean concluidas en aproximadamente 20 minutos como promedio.

Riesgos Potenciales y efectos secundarios

Es poco probable que se manifiesten reacciones secundarias al aceite corporal aplicado en la zona de interés, sin embargo si se padece algún tipo de alergia a los compuestos de dicha sustancia debe informarse de inmediato durante la entrevista o en su defecto al leer este formato. Consideramos que el riesgo de que la instrumentación utilizada sufra avería alguna en el momento del estudio y cause afectaciones a los participantes, es prácticamente nulo.

Información General

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

Beneficios y Alternativas

Su participación es voluntaria y no recibirá ningún tipo de beneficio (académico, económico o social). Este estudio recaba información que puede conducir a realizar diagnósticos médicos más efectivos (no invasivos, a distancia, más rápidos, indoloros, menos costosos, etc.) de algunas enfermedades del tejido humano como la piel y otros órganos. Específicamente este estudio pretende evaluar y adquirir una mejor comprensión de las variables que intervienen en el diagnóstico temprano y no invasivo de úlceras en el pie de pacientes diabéticos.

Confidencialidad

Los datos proporcionados por usted serán manejados con discreción y confidencialidad estricta. Su nombre no será revelado 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 durante el tiempo en que adquirimos sus datos usted sufre alguna molestia o llegara a sentirse indispuesto, las instalaciones médicas de la universidad están disponibles para brindarle el servicio acostumbrado por el personal médico de la misma. Las molestias que usted refiera se anotarán en el cuaderno de trabajo de esta investigación y usted será acompañado a la enfermería de nuestra universidad por uno de los integrantes del proyecto.

Información Nueva

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 su participación, deberá informarlo y se le retirará del estudio.

Preguntas/Dudas

Cualquier duda o pregunta sobre el presente estudio será resuelta por el Dr. José Alberto Delgado Atencio en jose.delgado@upt.edu.mx, el ingeniero Juan Estrada Berni juam.estrada@upt.edu.mx, la Dra. Margarita Cunill Rodríguez margarita.cunill@upt.edu.mx.

Consentimiento del voluntario

Se me ha dado la oportunidad de realizar preguntas acerca del presente estudio. He leído el presente formato de consentimiento y mis preguntas y dudas han sido respondidas a mi completa satisfacción.

Mi firma registrada en la parte de abajo significa que estoy libremente de acuerdo en tomar parte en este estudio de investigación y que las condiciones establecidas en este formato de consentimiento son aceptables para mí. Recibiré una copia firmada de este consentimiento.

Firma del voluntario: _____

Nombre impreso del voluntario: _____

Fecha: _____

Apéndice D

Cuestionario Para Estudio de Investigación

Correspondiente al consentimiento informado que
lleva por título:

“Documentación y caracterización de zonas de tejido biológico
mediante imágenes ópticas macroscópicas a color y espectros de
reflexión difusa.”

1.- Nombre: _____

2.- Edad: _____ 3.- Sexo: _____

4.- ¿Padece alguna enfermedad crónica? Sí No

(En caso afirmativo seleccione si se trata de alguna de las siguientes)

Hipertensión Diabetes Lupus Cardíaca Artritis

VIH Otra (describir): _____

5. ¿Se le administra algún tipo de fármaco o medicamento? Sí No

En caso afirmativo especifique de cual se trata:

6.- ¿Fuma? Sí No

En caso afirmativo indique con qué frecuencia:

7.- ¿Ingiere bebidas alcohólicas? Sí No

En caso afirmativo indique con qué frecuencia: _____

8.- ¿Es alérgico al aceite para bebé? Sí No

Apéndice E

Algoritmo de adquisición de Imágenes Digitales

```

% Programa que realiza la adquisición de imágenes digitales
% Las imágenes se guardan donde se encuentra almacenado este script
% Realizado por Ing. Juan Estrada Berni
% Mayo_2017.

clear all
close all
clc

vid=videoinput('pointgrey', 1, 'F7_RGB_1328x1048_Mode7'); % Se
establece la

comunicación con el sensor CCD
    imaqhwinfo (vid) % Se muestra la información del driver
    preview (vid) % Se previsualiza la imagen en tiempo real
    hmsg = msgbox('Puede enfocar...'); % Indica al usuario mediante
un mensaje que                                     puede enfocar la imagen
Y...
    pause(1); % hace una pasusa...
    delete(hmsg);
    pause
    for i=1:16
        pause;
        sample = getsnapshot(vid); % Captura la imagen
        figure (1)
        imshow(uint8(sample)); % Muestra la imagen capturada
        pause(1)
        imwrite ((sample),['Im0',num2str(i),'V3_05_Sep_2017.png']); %
Almacena la imagen capturada
    end

stoppreview (vid); % Detiene el video
closepreview (vid); % Cierra el video
delete (vid); % Borra y libera el objeto creado

```