

ESTUDIO DE LESIONES EN PIEL MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA DE REFLEXIÓN DIFUSA.

por

M.C. Eber Enrique Orozco Guillén

Tesis sometida como requisito parcial para

obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS EN LA ESPECIALIDAD DE ÓPTICA

en el

Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y

Electrónica

JUNIO 2009

Tonantzintla, Puebla

Supervisada por:

Dr. Sergio Vázquez y Montiel

Dr. José Alberto Delgado Atencio

©INAOE 2009 El autor otorga al INAOE el permiso de reproducir y distribuir copias en su totalidad o en partes de esta tesis



¿Por qué esta magnífica tecnología científica, que ahorra trabajo y nos hace la vida más fácil nos aporta tan poca felicidad? La respuesta es esta, simplemente: porque aún no hemos aprendido a usarla con tino?.

Albert Einstein

La investigación de las enfermedades ha avanzado tanto que cada vez es más difícil encontrar a alguien que esté completamente sano.

Aldous Huxley

Dedicatoria

A Dios

Ante todas las cosas, por acompañarme siempre en todo momento de dificultad y permitirme alcanzar satisfactoriamente otra de mis metas.

A Yamileth, mi esposa

Fuente de mi inspiración y motivación para superarme cada día más y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor. Gracias por tiempo el amor, el cariño, la confianza, el apoyo, pero sobre todo por la paciencia....

A Elba Rosa y Omar Enrique, mis Padres

Quienes con cariño, amor, sacrificios y con mucho, pero mucho esfuerzo me brindaron una educación y por cuya existencia vale la pena trabajar duramente día con día, con todo el aprecio del mundo, esto es para ustedes mis viejos.

A Cristian, Michell, Cinthya y Oriana mis Sobrinos

Porque los niños son la esperanza del mundo, son la alegría de la familia, son el futuro.

Agradecimientos

A los **Dres. Sergio Vázquez y José Alberto Delgado**, por su incondicional apoyo, por la amistad, el respeto y por sus enseñanzas en todo este proceso, así como también por sus comentarios y sugerencias para mejorar la presentación y calidad del trabajo.

Al **INAOE**, por abrirme sus puertas para brindarme la oportunidad de adquirir conocimiento. A la **Universidad de Carabobo**, por el apoyo institucional y económico.

A los Sinodales Dr. Fermín Granados, Dr. Agustín Santiago, Dr. Jorge Castro, Dr. Omar García y Dr. Francisco Gutiettrez, por sus acertados comentarios y sugerencias.

Al **Dr. Arturo Olvera**, por el apoyo constante e incondicional en los aspectos computacionales. A la Sra. **Elvia Kuri Rojas y Familia**, por su amistad, cariño y apoyo siempre.

Al Sr. **Israel** y la Sra. **Reina** e hijas, por brindarme el calor de su hogar, por cada palabra de aliento y por su cariño infinito, muchas gracias.

Al **personal del taller mecánico** del INAOE y al Ing. **Javier Arriaga**, por su colaboración en la construcción de los implementos necesarios para el sistema experimental.

A Mario, Joel, Adan, Armando, Adrian, Betty, Carlock, Margarita y Felix, compañeros y amigos, por todos los momentos y anécdotas vividos.

A Paty, Eicela y Aurora, por su tiempo y su apoyo siempre.

A mis **Compañeros del INAOE** porque juntos hemos recorrido este camino, aprendiendo y dando cada uno algo para lograr nuestro objetivo.

A mis **Compañeros y amigos de la UC especialmente Orlando Álvarez, Rafael Muñoz, Angel Rivas, Aaron Muñoz, Ivelisse Lozada e Iliana Álvarez** por todo el apoyo brindado durante estos años.

Al equipo médico, los **Dres. Jose Luis Gutiérrez y Francisco Gutiérrez**, muchas gracias por la colaboración brindada.

Resumen

La determinación del espectro de reflexión difusa de la piel humana en el rango espectral de 400nm-1000nm empleando espectrómetros de fibras ópticas es una técnica no invasiva ampliamente usada para estudiar los parámetros ópticos de este órgano, provee información sobre las propiedades de absorción y esparcimiento de la luz que pueden ser empleadas para estudiar la morfología y fisiología del tejido de forma tal que se puedan detectar y diagnosticar enfermedades de la piel en su etapa inicial. En este trabajo se ha realizado un estudio para evaluar las diferencias entre la señal espectral correspondiente a luz reflejada en forma difusa de un tejido sano y uno lesionado, también se ha llevado a cabo un estudio sobre el efecto que produce la presión aplicada sobre el tejido al momento de colectar los espectros y por último se propone un algoritmo computacional empleando máquinas de soporte vectorial que permiten llevar a cabo tareas de clasificación para diferenciar tejido sano de tejido lesionado con una exactitud superior al 85 %.

Abstract

The determination of diffuse reflection spectrum on human skin in the spectral range from 400nm-1000nm using an optical fiber spectrometers is a non-invasive technique widely used to study the optical parameters of the tissue, it provides information about the absorption and scattering properties of light that can be employed to study the morphology and physiology of the tissue to detect and diagnose skin diseases in early stages. In this work a study was undertaken to assess the spectral differences between the signal corresponding to reflected light in a diffuse form of an injured and healthy tissue, has also conducted a study on the effects of pressure applied to the tissue at the time of collecting the spectra and Finally we propose a computational algorithm using Support Vector Machines allowing tasks classification to differentiate healthy tissue from damaged tissue with an accuracy over 85 %.

Índice general

De	edicat	oria						IV
Ag	grade	cimiento	05					V
Re	esume	en						VI
Ab	ostrac	t						VII
Ínc	dice c	le figura	IS					XI
Íno	dice c	le tabla	S				2	KVI
Pr	ólogo)					X	VII
1.	Intro	oducció	1					18
	1.1.	Histolo	gía Vs Espectroscopía					19
	1.2.	Organi	zación de la tesis	•••	•	• •	•	20
2.	Fund	damento	os teóricos					21
	2.1.	Óptica	de los tejidos biológicos				•	21
		2.1.1.	Fisiología de la piel					21
		2.1.2.	Interacción de la luz con los tejidos biológicos				•	25
	2.2.	Model	os teóricos					33
		2.2.1.	Teoría de transporte radiativo					34
		2.2.2.	Ecuación transferencia radiativa					34

	2.2.3. Ecuación de la difusión	. 41
	2.2.4. Formulación de Farrel	. 46
2.3	. Espectroscopía y lesiones de la piel	. 48
2.4	. Espectroscopía de reflexión difusa	. 50
2.5	. Modelo de la piel	. 51
3. Ac	tividad Experimental	54
3.1	. La espectroscopía	. 54
3.2	. Sistema Experimental	. 55
3.3	. Espectrómetro	. 56
3.4	. Sonda de fibra óptica	. 57
3.5	. La fuente de luz	. 59
3.6	. El software SpectraSuite	. 64
3.7	. Aditamentos de la Fibra	. 65
3.8	. Reflexión difusa en piel humana	. 67
	3.8.1. Estudios en el HBUAP	. 68
	3.8.2. Estudios en el CEPREC	. 74
4. Sis	tema de Clasificación	77
4.1	. Máquinas de Soporte Vectorial (MSV)	. 78
	4.1.1. MSV para clasificación binaria	. 80
	4.1.2. MSV para clasificación multiclase	. 85
4.2	. Ventajas de las MSV	. 86
4.3	. Pre-Procesado de los Datos	. 87
4.4	. Entrenamiento y prueba de las MSV	. 90
4.5	Clasificación	. 91
4.6	. MSV mediante una Interfaz Gráfica	. 92
5. Re	sultados y Discusiones	94
Conclusiones 117		
Referencias 121		
Apéndice A: Divulgación de resultados 129		

Apéndice B: Programa empleado en la simulación	132
Apéndice C: Programa Clasificación	135
Apéndice D: Programa Interfaz Gráfica	138

Índice de figuras

2.1.	Corte transversal de la piel	22
2.2.	Espectro de radiación electromagnética y radiación ultravioleta	26
2.3.	Ilustración del proceso de interacción de la luz con el tejido biológico	27
2.4.	Esparcimiento Mie y Rayleigh de acuerdo al tamaño de los componentes del	
	tejido	30
2.5.	Esparcimiento de luz mediante una partícula esférica	32
2.6.	Onda plana que incide sobre una partícula	35
2.7.	Representación esquemática de la intensidad especifica	37
2.8.	Flujo a través de un diferencial de área en una superficie A	37
2.9.	Elemento de volumen cilíndrico	39
2.10). Intensidad difusa $I_d({f r},{f \hat s})$ para la aproximación de la ecuación de difusión $\ . \ .$	42
2.11	. Representación esquemática donde se indican los parámetros y relaciones	
	geométricas del modelo propuesto por Farrell	47
2.12	2. Criterio ABCDE, para el diagnóstico de lesiones en piel	49
2.13	B. Esquema del proceso de reflexión difusa como consecuencia del esparcimien-	
	to y la absorción	50
2.14	. Modelo de dos capas para la piel	52
3.1.	Espectro electromagnético donde se destaca región visible	54
3.2	Sistema Experimental donde se puede apreciar la sonda de fibra óptica con	0.
5.2.	los respectivos aditamentos, así como también la configuración empleada para	
	ios respectivos autamentos, así como también la configuración empleada para	
	enviar y colectar la luz	55

3.3.	Esquema del Espectrómetro USB4000	56
3.4.	Estructura del ensamble de la fibra óptica	58
3.5.	Atenuación espectral de la fibra	58
3.6.	Detalles de la sonda de fibra óptica: (a) Fibra original, (b) Fibra modificada,	
	son mostrados los aditamentos b1 y b2 para controlar la presión en	
	la superficie de la piel y proteger la fibra original de daños y posible	
	contaminación, (c) vista lateral de la geometría de la fibra	59
3.7.	Medidor de Potencia Óptica	61
3.8.	Esquema del experimento realizado para estudiar el comportamiento espectral	
	de la lámpara HL2000	62
3.9.	Potencia espectral en función de la longitud de onda	63
3.10.	Interfaz gráfica del software SpectraSuite	64
3.11.	Detalles de los accesorios metálicos colocados a la sonda de fibra óptica	65
3.12.	Esquema del sistema de suspensión y curva de calibración para estudiar el	
	efecto de la presión aplicada sobre el tejido.	66
3.13.	Espectros de reflexión difusa para el teflon, referido a si mismo y para la piel	
	de un voluntario referido al teflon	67
3.14.	Sistema experimental instalado en el HBUAP	69
3.15.	Sitios corporales sanos de referencia, de izquierda a derecha, zona exterior	
	del brazo, zona interior del brazo y frente	69
3.16.	Distribución de la muestra por (a) sexo, (b) edad	71
3.17.	Espectros de reflexión difusa para la frente de un voluntario	71
3.18.	Espectros de reflexión difusa para los sitios de referencia de un voluntario	72
3.19.	Espectros de reflexión difusa para los sitios de referencia de un voluntario	73
3.20.	Fotografía donde se puede apreciar el efecto producido por la presión sobre	
	el tejido	73
3.21.	Efecto de la presión sobre el tejido	74
3.22.	Distribución de los voluntarios CEPREC por (a) sexo, (b) edad	75
3.23.	Fotografía con espectro de reflexión difusa de un voluntario	75
3.24.	Fotografía con espectro de reflexión difusa de un voluntario	76
4.1.	Hiperplano separador	79
4.2.	MSV con margen máximo, vectores de soporte en gris	82

4.3.	Conjunto de datos no separables linealmente	84
4.4.	Espacio de características.	84
4.5.	Contenido de un archivo obtenido con el espectrómetro USB 4000	87
4.6.	(a) Gráfico sin procesar, (b) Gráfico pre-procesado	88
4.7.	Esquema general del pre-procesado de los datos	88
4.8.	Esquema general de una archivo .arff para ser utilizado en Weka	90
4.9.	Algoritmo para el entrenamiento de la MSV	91
4.10.	. Interfaz gráfica diseñada para la clasificación de espectros de reflexión difusa	92
4.11.	Carga espectros de sitios de referencia	93
4.12.	Carga espectros de lesión	93
5.1.	Espectro de Reflexión difusa comparando la señal espectral de la zonas	
	interior (BI) y exterior del brazo (BE) en el intervalo comprendido entre	
	$400 \ nm \ y \ 600 \ nm$.	95
5.2.	Espectro de Reflexión difusa comparando la señal espectral de la zonas	
	interior (BI) y exterior del brazo (BE) en el intervalo comprendido entre	
	400 nm y 1000 nm	95
5.3.	Espectro de Reflexión difusa comparando la señal espectral de la zonas	
	interior (BI) y la frente (Fr)	96
5.4.	Espectro de Reflexión difusa comparando (BI) y (Fr)	97
5.5.	Espectro de Reflexión difusa comparando (BI) y (Fr)	97
5.6.	Espectro de Reflexión difusa donde se pueden apreciar variaciones debido al	
	posicionamiento de la fibra	98
5.7.	Fotografía donde es mostrado el efecto producido por la presión	98
5.8.	Espectro de reflexión difusa obtenido: (a) Por un operador con experiencia,	
	(b) Operador sin experiencia	99
5.9.	Espectro de reflexión difusa al aplicar presión sobre la piel. (a) Voluntario Piel	
	Morena (b) Voluntario Piel Clara	100
5.10.	Comportamiento del espectro de reflexión difusa al aplicar presión sobre la	
	piel, (a) Punto Pivote (b) Curvas Paralelas.	100
5.11.	Simulación del espectro de Reflexión difusa, (a) Punto Pivote, (b) Curvas	
	paralelas	102

5.12.	Efecto de la presión ejercida por la sonda de fibra óptica sobre los vasos
	sanguíneos(círculos en estado normal ó elipses bajo el efecto de la presión)
	y fibras de colágeno (líneas curvas) para los casos simulados. (a) Vasos
	sanguíneos y fibras de colágeno en estado normal. (b) Fracción volumétrica
	de sangre f_{bl} y parámetro A_s bajo el efecto de la presión. (c) Únicamente el
	parámetro de esparcimiento A_s es afectado durante la compresión de la piel
	mientras los vasos sanguíneos conserva su forma y dimensión 102
5.13.	Espectro de reflexión difusa para un Lipoma
5.14.	Espectro de reflexión difusa de una lesión correspondiente a un paciente de 47
	años de edad (femenino)
5.15.	Espectro de reflexión difusa de una lesión correspondiente a un paciente de 88
	años de edad (femenino)
5.16.	Resultados de Biopsia en paciente femenino de 88 años de edad $\ \ldots\ \ldots\ \ldots\ 105$
5.17.	Espectro de reflexión difusa de una lesión correspondiente a un paciente de 44
	años de edad (femenino)
5.18.	Espectro de reflexión difusa para una lesión en paciente femenino de 55 años
	de edad
5.19.	Resultados de Biopsia en paciente femenino de 55 años de edad 106
5.20.	Espectro de reflexión difusa para una lesión en paciente femenino de 58 años
	de edad
5.21.	Resultados de Biopsia en paciente femenino de 58 años de edad 107
5.22.	Preparación de datos para emprender la clasificación
5.23.	Exactitud de la clasificación en función del parámetro C
5.24.	Evaluación del algoritmo para diferentes valores del parámetro C con K =
	10. (a) $\gamma = 0.1$, (b) $\gamma = 1.0$, (c) $\gamma = 10.0$, (d) $\gamma = 100.0$
5.25.	Atributos relevantes (Puntos Gris) seleccionados empleando el algoritmo
	Best-First
5.26.	Reflexión para tres voluntarios con diferente color de piel
5.27.	Densidad óptica para tres voluntarios en la zona exterior del brazo, se indican
	las regiones de estudio
5.28.	Pendiente obtenida a partir del espectro de densidad óptica en la zona interna
	y externa del brazo en: (a) Zona propuesta por Kollias ($620 nm$ - $720 nm$) (b)
	Zona propuesta en este trabajo (750 nm-850 nm)

- 5.29. Correlación entre las pendientes de las regiones espectrales en estudio. 114
- 5.30. Clasificación de los voluntarios según su tipo de piel. (a)Pendientes en región espectral 620 nm-720 nm, (b)Pendientes en región espectral 750 nm-850 nm 115
- 5.31. Interfaz gráfica para simular parámetros ópticos con fines académicos . . . 116

Índice de tablas

3.1.	Especificaciones técnicas de la fibra
3.2.	Especificaciones técnicas de la fuente de luz
3.3.	Especificaciones técnicas del medidor de potencia óptica 61
3.4.	Especificaciones técnicas del detector 818-UV
3.5.	Especificaciones técnicas del monocromador DMC1-02 de la empresa
	Optometrics Corp
5.1.	Presión aplicada sobre la piel
5.2.	Parámetros empleados en la simulación para el punto pivote 101
5.3.	Parámetros empleados en la simulación para las curvas paralelas 102
5.4.	Exactitud de la clasificación
5.5.	Resultados evaluación del sistema de clasificación
5.6.	Evaluación del algoritmo para diferentes funciones del kernel 111
5.7.	Evaluación del algoritmo empleando el método de selección de atributos 112

Prólogo

L A óptica biomédica es un campo interdisciplinario de las ciencias que ha contribuido con la creación y desarrollo de métodos y dispositivos que pueden se empleados en la asistencia médica de diferentes especialidades como la oftalmología, la dermatología, la oncología, la radiología, etc. Todas y cada una de estas especialidades pueden apoyarse en las ventajas que brindan las diferentes técnicas y métodos ópticos como por ejemplo, la cirugía láser, la termografía óptica, la tomografía óptica y de imágenes, la terapia fotodinámica, la espectroscopía de reflexión difusa y raman, etc.

En la Coordinación de Óptica del Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica (INAOE) se ha establecido la *BIOFOTONICA* como como área estratégica de investigación y se ha formado el Grupo de Investigación en Óptica Biomédica (GIOB) que tiene como objetivo fundamental colaborar en la solución de problemas de salud de la sociedad mexicana, específicamente en el diagnóstico y tratamiento de lesiones mediante la aplicación de métodos ópticos entre los cuales se destaca la Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD), que es una técnica óptica no invasiva que permite estudiar la interacción de la luz con el tejido biológico. El objetivo general de este proyecto ha sido caracterizar y adecuar un sistema experimental de ERD para estudiar lesiones en piel, así como también desarrollar un algoritmo computacional que permita diferenciar de forma no invasiva tejido sano de tejido lesionado a partir de los

Este proyecto de tesis fue realizado dentro del programa de Doctorado en Ciencias en la Especialidad de Óptica del INAOE, con el apoyo económico de la ilustre Universidad de Carabobo (Valencia-Venezuela) y fue desarrollado fundamentalmente en la Unidad de Oncología del Hospital Universitario de la Benemérita Autónoma de Puebla, en el Centro de Estudios y Prevención del Cancer (CEPREC) en Juchitan de Zaragoza Oaxaca y en las instalaciones del GIOB en el INAOE.

espectros de reflexión difusa.

Introducción

El desarrollo de métodos ópticos en la medicina moderna en áreas como el diagnóstico, la terapia y la cirugía han estimulado la investigación de las propiedades ópticas de los tejidos biológicos. Los procesos de interacción de la luz con la piel humana tienen fundamental importancia en las ciencias biomédicas, estudiando los procesos de absorción y esparcimiento de la luz con el tejido biológico; se pueden desarrollar protocolos que permitan establecer técnicas no invasivas para diagnosticar lesiones de piel en sus estados iniciales.

En las últimas dos décadas se han desarrollado una cantidad importante de estudios experimentales [1–5] y teóricos [6–12] con la finalidad de explorar la posibilidad de desarrollar herramientas de diagnóstico óptico para detectar y tratar diferentes enfermedades, entre estas, las de la piel.

La Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD) es una técnica óptica no invasiva particularmente interesante debido a que el espectro obtenido mediante esta técnica contiene información sobre los cromóforos del tejido así como de su morfología [13–15], además una de las aplicaciones con más potencial es la detección y diagnóstico de cancer [16, 17].

En este trabajo se estudia un sistema experimental de espectroscopía de reflexión difusa, que consta básicamente de un espectrómetro comercial (USB400-Ocean Optics), una sonda de fibra óptica bifurcada(R600/7/VIS/125F) con un arreglo hexagonal que transmite en la región visible del espectro electromagnético y una fuente de luz halógena (HL2000). Además fueron diseñados y construidos algunos accesorios para adecuar el sistema de forma tal que se puedan realizar medidas de espectroscopía de reflexión difusa en piel humana.

El estudio realizado demuestra que existen diferencias importantes entre los espectros correspondientes a un lugar sano y uno lesionado, en el estudio realizado para analizar los efectos producidos al aplicar presión sobre el tejido, se encontraron dos comportamientos bien definidos que se han denominado, "punto pivote" y "curvas paralelas" y que fueron simulados numéricamente empleando la teoría de la difusión con la aproximación de Farrell, logrando reproducir los dos comportamientos.

La segunda parte del trabajo corresponde con la implementación de un sistema de clasificación empleando las Máquinas de Soporte Vectorial (MSV) que permite diferenciar la señal espectral de un sitio sano y uno lesionado, arrojando resultados con una exactitud superior al 85 %.

1.1. Histología Vs Espectroscopía

El método más ampliamente usado para la detección y diagnóstico de lesiones en tejidos biológicos precancerosos es el examen microscópico. Este proceso inicia con la biopsia, en la cual unos pocos milímetros de órgano o tejido son removidos del cuerpo con el material quirúrgico diseñado para tal fin. Posteriormente el patólogo analiza las muestras bajo el microscopio en busca de algún patrón conocido. La biopsia se mantiene como la regla de oro para el análisis y diagnóstico de tejido lesionado, por lo tanto permite determinar el plan terapéutico a seguir. Sin embargo esta técnica tiene sus limitaciones; primero es completamente invasiva pues es necesario remover tejido lo que implica un riesgo de complicación. Además el diagnóstico depende en gran medida de la experiencia del patólogo y toma algunos días obtener los resultados.

La espectroscopía, por su parte, puede proveer información de la estructura del tejido lo que permitiría hacer diagnósticos de forma no invasiva y sin causar dolor o daño alguno al tejido en estudio, se puede enviar y colectar luz al tejido por medio de fibras ópticas y analizar los resultados en tiempo real, pero lo más importante es que la información

obtenida es cuantitativa.

1.2. Organización de la tesis

En el capítulo 2 se discuten los fundamentos teóricos de la interacción de luz con el tejido biológico, así como también se desarrolla la teoría matemática correspondiente al transporte de luz en tejidos con el propósito de aplicar la aproximación de Farrell para resolver la ecuación de difusión numéricamente.

La descripción del sistema experimental y el procedimiento mediante el cual fueron obtenidos los espectros es discutido en el capítulo 3.

La descripción del sistema de clasificación, implementado con las máquinas de soporte vectorial y el desarrollo de una interfaz gráfica es presentada en el capítulo 4.

Los resultados obtenidos y las respectivas discuciones son mostradas en el capítulo 5.

Finalmente se presentan las conclusiones y posibles líneas de trabajo que se pueden desarrollar en el futuro.

En los apéndices se pueden ver los algoritmos computacionales implementados.

Fundamentos teóricos

2.1. Óptica de los tejidos biológicos

Desde el punto de vista de la óptica, los tejidos biológicos y los fluidos (sangre, saliva, humor acuoso, orina, semen, etc) pueden ser separados en dos grupos, en el primero se tienen los tejidos y fluidos con fuerte esparcimiento como la piel, el cerebro, la sangre, etc., el segundo consiste de tejidos y fluidos transparentes o con esparcimiento débil como la cornea, el cristalino, el humor vitreo y acuoso, etc. Las propiedades ópticas de estos tejidos y fluidos pueden se descritas dentro del marco de la teoría del esparcimiento por un medio (isotrópico o anisotrópico) con centros de absorción y esparcimiento [18]. A continuación se describen los aspectos biológicos del tejido humano, así como los fundamentos matemáticos para estudiar la interacción de la radiación electromagnética con los tejidos.

2.1.1. Fisiología de la piel

La piel es el órgano más grande y versátil de cuerpo humano, tiene muchas funciones importantes como la protección de los tejidos internos de la radiación ultravioleta, temperaturas extremas, bacterias y toxinas [19], además debe considerarse como la frontera que separa nuestro medio interno del mundo exterior. Se trata de un sistema heterogéneo constituido por dos tejidos, uno epitelial que recibe el nombre de epidermis y uno conjuntivo especializado que recibe el nombre de dermis. Debajo de éstos, se encuentra el tejido subcutáneo o hipodermis, que es otra variedad de tejido conjuntivo especializado en el que predominan los adipocitos [20]. En el caso de un adulto, la piel tiene una área aproximada de 630 cm^2 , pesa más de 3 kg, comprende más de 300 millones de células, tiene alrededor de 10 tipos de pelo, 15 glándulas sebáceas, 100 glándulas de sudor y una cantidad importante de vasos sanguíneos por pulgada cuadrada de piel [21]. En la figura 2.1 se observa una sección transversal de la piel.



Figura 2.1: Corte transversal de la piel.

La Epidermis

La epidermis es el tejido más externo de la piel y tiene numerosas funciones como las mencionadas anteriormente, pero una de las más importantes es la generación del estrato córneo. El grosor de la epidermis esta comprendido entre 0.027-0.15 *mm* de espesor. [22, 23].

La epidermis está formada por tejido epitelial, plano, estratificado y queratinizado, derivado del ectodermo embrionario y está constituida por una serie de células ordenadas y distribuidas en distintas capas o estratos que, por sus distintas características se agrupan en dos zonas diferentes:

a) La más externa es la epidermis muerta que constituye el estrato córneo y tiene aproximadamente de 0.01-0.02 mm de espesor [22, 23]. El espesor del estrato

córneo varía de unas zonas a otras del cuerpo humano; en zonas muy expuestas a rozamiento, como pueden ser la palma de las manos y las plantas de los pies, el espesor es mayor.

 b) El resto de estratos se agrupan en la denominada epidermis viva que se encuentra inmediatamente debajo del estrato anterior y que como indica su nombre, está formada por células vivas.

El origen de las células de la epidermis radica en la lámina basal que se encuentra en la unión dermis-epidermis viva. En esta capa hay melanocitos, células de Langerhans y de Merkel y dos clases de queratinocitos; unos tienen como única función la división celular y producir nuevas células (queratinocitos), la función de los otros es servir de anclaje entre la epidermis y la membrana basal [24].

La membrana basal está formada por dos capas: la lámina densa y la lámina lúcida y está compuesta principalmente por colágeno tipo IV y laminina (proteínas). El colágeno es el responsable de la estabilidad mecánica de la membrana basal, mientras la laminina está implicada en el proceso de anclaje de los queratinocitos basales a la membrana basal. En el estrato basal se encuentran además de queratinocitos y otros tipos de células; las células de Langerhans que son células dendríticas que carecen de melanina, contienen gránulos de Langerhans y tienen funciones relacionadas con el sistema inmunológico cutáneo [25].

En las dendritas se encuentran los melanosomas que se transfieren a los queratinocitos suprabasales, cediendo la melanina a la epidermis. El número de melanocitos de un negro africano y de un blanco escandinavo es el mismo, pero sus melanosomas son dos veces más grandes y aparecen en un número mayor o equivalentemente, en una fracción volumétrica mayor. [26]

La melanina es un pigmento que proporciona a la piel su color y tiene funciones protectoras contra las radiaciones U.V. del sol. Los melanocitos, tienen pocos microfilamentos internos y presentan en su citoplasma melanosomas [27], por tanto, los melanocitos actúan como una glándula exocrina que suministra pigmentos (melanina) que sólo se sintetiza en el interior de los melanosomas. La población de melanocitos se renueva lentamente mediante divisiones mitóticas.

En el estrato basal también se pueden encontrar las Células de Merkel que tienen el citoplasma claro, un núcleo hendido, un complejo de Golgi prominente y numerosas vesículas densas.

La Dermis

La dermis, es un tejido resistente, flexible y muy elástico, con un espesor variable de 1 a 4 mm según la región corporal. Está compuesta por una matriz densa de tejido conectivo o conjuntivo que posee fibras de colágeno, elásticas, reticulares, y células como los fibroblastos, mastocitos, leucocitos y melanocitos [19]. Esta matriz está embebida en una sustancia mucopolisacárida amorfa que le proporciona elasticidad a la dermis al contener las distintas fibras.

Las células que forman principalmente la dermis se denominan fibroblastos que son los encargados de producir los componentes del tejido conectivo de colágeno, laminina, fibronectina y vitronectina. En la dermis se encuentran también los anexos cutáneos, que son de dos tipos: corneos (pelos y uñas) y glandulares (glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas) [26].

La dermis, es un componente sustancial de nuestro cuerpo, ya que no sólo es el sostén de la epidermis, la que le proporciona nutrientes y sistemas tanto de soporte como inmunológico a través de la fina capa papilar adyacente a la epidermis, sino que además juega un papel importante en la regulación de la temperatura , presión y dolor de nuestro organismo.

La dermis también contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Los vasos sanguíneos por donde circula el 10% del total de la sangre del cuerpo humano, juegan un papel muy importante en la regulación de la temperatura corporal, aporte de nutrientes y oxígeno a la piel [19, 26]; además, sirve para eliminar productos de desecho y toxinas; la vascularización es vital para reparar la piel dañada.

La hipodermis o tejido subcutáneo

En muchas regiones del organismo este tejido celular es de tipo conectivo laxo y contiene numerosas células adiposas. El adipocito, es el elemento básico de esta capa. Las células grasas están organizadas en lobulillos de aproximadamente 1 *cm* de diámetro separados por tabiques de tejido conectivo, en su mayoría verticales. Los microlóbulos, que son subdivisiones de los lobulillos, a su vez están rodeados por tabiques más finos de fibras colágenas [26].

Además de sus propiedades mecánicas, como amortiguador de los traumatismos, y de su capacidad para almacenar energía, esta capa es un importante aislante térmico. La mayor parte de las terminaciones nerviosas cutáneas, vasos sanguíneos y órganos de presión sensorial se encuentran en la hipodermis [20].

2.1.2. Interacción de la luz con los tejidos biológicos

Aunque las radiaciones del espectro electromagnético presentan grandes similitudes entre sí, la forma de interacción de las distintas longitudes de onda es muy variable y depende de las características de las ondas. Existen radiaciones de alta energía que son muy penetrantes como los rayos γ (originados por desintegraciones nucleares) o los rayos X (por las oscilaciones de los electrones cercanos al núcleo). Con este tipo de ondas se produce gran absorción, ya que su energía es comparable a la de los electrones de los átomos, o a la energía de los átomos en las moléculas, sin embargo otras ondas como las de radio no tienen ningún poder de penetración.

La radiación ultravioleta (UV) tiene una energía similar a la de muchas reacciones químicas, lo que explica sus efectos sobre la materia. Tiene cierta capacidad de penetración, interactuando con los átomos y los enlaces químicos por lo que produce iones, modifica moléculas y propicia algunas reacciones químicas. La radiación UV esta comprendida entre 100 nm y 400 nm. De acuerdo con la CIE (Commission International de IÉclairage), dicha radiación se divide en tres bandas;(UVA) (315 nm-400 nm), UVB (280 nm-315 nm) y UVC (100 nm-280 nm). En la figura 2.2 es mostrado el espectro electromagnético indicando la región UV.



Figura 2.2: Espectro de radiación electromagnética y radiación ultravioleta

La atmósfera terrestre absorbe parte de esta radiación, de forma que la proporción de radiación que llega a la superficie de la Tierra varía según la longitud de onda de la radiación [28,29]:

- La radiación UVC es completamente absorbida por el oxígeno y el ozono de la atmósfera, por lo que no llega a la superficie terrestre. La radiación por debajo de 175 nm es absorbida por el oxígeno en las capas altas de la atmósfera, por encima de los 100 Km. La radiación entre 175 nm y 290 nm es filtrada por la capa de ozono de la estratosfera y por el vapor de agua y dióxido de carbono.
- La radiación UVB es parcialmente absorbida por la capa de ozono, llegando a la superficie terrestre un 5 % de la radiación emitida por el sol. Entre 300 y 350 nm la absorción de la radiación por parte del ozono decrece exponencialmente al aumentar la longitud de onda. Por ello se produce un rápido incremento en la radiación solar que llega a la superficie terrestre a medida que aumenta la longitud de onda de la radiación UVB entre 290 nm y 315 nm.
- La radiación UVA es muy poco absorbida por la capa de ozono, llegando a la

superficie terrestre hasta un 95 % de la radiación emitida por el sol. La absorción por parte del ozono tiene muy poco impacto en la intensidad de la radiación que llega a la superficie terrestre en el rango de longitudes altas del UVA.

En los últimos años se ha demostrado científicamente que la disminución de la capa de ozono hace que aumente la radiación ultravioleta que llega a la tierra ya que el ozono es un absorbente muy efectivo de este tipo de radiación sobretodo en la zona de los UVB, por ello la intensidad de la radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra es mucho mayor ahora que hace unos años, lo que significa que en las mismas horas de exposición al sol nuestra piel recibe hoy mucha más radiación.

Cuando la radiación electromagnética interactúa con la materia pueden ocurrir los fenómenos físicos de reflexión, absorción, esparcimiento y transmisión, en la figura 2.3 se ilustra el proceso.



Figura 2.3: Ilustración del proceso de interacción de la luz con el tejido biológico

En cuanto a las interacciones de la luz con el tejido biológico, estas son gobernadas por las características fisiológicas, bioquímicas y morfológicas del mismo [30] y son caracterizadas por un fuerte esparcimiento óptico, debido al alto grado de inhomogeneidad causado por los orgánulos que contiene la célula, los cuales tienen tamaño y composición diferente, así como también presentan un índice de refracción diferente al de la materia básica en la cual están inmersas las fibras y células de tejido conectivo entre otras partículas [18]. Por lo tanto el tejido puede considerarse como un medio turbio

inhomogeneo.

Las cuatro propiedades ópticas más importantes para describir la propagación de la luz en el tejido son [31, 32] :

- 1. Coeficiente de Absorción (μ_a)
- 2. Coeficiente de Esparcimiento (μ_s)
- 3. Factor de Anisotropía o función de fase (g)
- 4. Índice de refracción (n)

Los objetos materiales están constituidos por cargas eléctricas las cuales se ponen en movimiento al ser excitadas por el campo variable de una onda electromagnética incidente, disminuyendo la energía que transporta la onda en una cantidad equivalente a la que adquieren las las cargas en movimiento. En la teoría cuántica, esta disminución de energía corresponde con una menor cantidad de fotones en la onda una vez que ha superado el objeto, exactamente el mismo número que han sido absorbidos [33]. Esta energía que ha sido obtenida por las cargas puede dar origen a dos procesos diferentes, la absorción y el esparcimiento.

Absorción

El coeficiente de absorción μ_a es definido como la probabilidad de absorción de un fotón en un medio por unidad de longitud y sus unidades generalmente son cm^{-1} . La absorción es un proceso que incluye la extracción de energía de un haz de radiación por parte de los elementos que componen el objeto a través de cual éste pasa [34].

El proceso de absorción se puede caracterizar utilizando el concepto de sección transversal de absorción, σ_a mediante la siguiente expresión:

$$\sigma_a = \frac{P_{abs}}{I_0} \tag{2.1}$$

donde P_{abs} [W], es la energía absorbida debido a la irradiancia I_0 [W/cm²] sobre la sección transversal. Así un medio con una distribución uniforme de partículas absorbentes idénticas, puede ser caracterizado por el coeficiente de absorción;

$$\mu_a = \rho \sigma_a \tag{2.2}$$

donde ρ es la densidad del número de partículas que producen la absorción. El inverso de 2.2,

$$l_a = \frac{1}{\mu_a} \tag{2.3}$$

es el camino libre medio de absorción y representa la distancia media que recorre un fotón antes de ser absorbido. Para un medio, el coeficiente de absorción puede ser definido mediante la siguiente relación:

$$dI = -\mu_a I dz \tag{2.4}$$

donde dI es el cambio diferencial de intensidad I de un haz de luz colimado al atravesar un espesor infinitesimal dz por un medio homogéneo con coeficiente de absorción μ_a . Integrando 2.4 sobre el espesor z encontramos la ley de Beer-Lambert;

$$I = I_0 e^{-\mu_a z} \tag{2.5}$$

La cual también puede ser expresada como:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon_\lambda az} \tag{2.6}$$

donde $\varepsilon_{\lambda} [cm^2.mol^{-1}]$ es el coeficiente de extinción molar a la longitud de onda λ , $a [mol.cm^{-3}]$ es la concentración molar y z [cm] es el espesor.

Otra cantidad comúnmente usada es la transmitancia T, definida como la relación entre la intensidad transmitida I y la intensidad incidente I_0 :

$$T = \frac{I}{I_0} \tag{2.7}$$

La atenuación, también llamada absorbancia (A) o densidad óptica (OD) de un medio es dada por:

$$A = OD = log(\frac{I_0}{I}) = -log(T)$$
(2.8)

Coordinación Óptica

Esparcimiento

Como fue mencionado anteriormente la propagación de radiación en los tejidos biológicos esta gobernada por el esparcimiento, el estudio de este fenómeno es importante en las aplicaciones ópticas para llevar a cabo actividades de diagnóstico de enfermedades. El esparcimiento depende del tamaño, morfología y estructura de los componentes del tejido, variaciones en estos componentes debido a enfermedades pueden afectar las propiedades de esparcimiento [34].

En la práctica, el esparcimiento es clasificado en tres categorías definidas por el tamaño del objeto que lo produce en relación con la longitud de onda:

- 1. *Límite de Rayleigh*, el tamaño del objeto que produce el esparcimiento es pequeño comparado con la longitud de onda;
- 2. *Régimen de Mie*, donde el tamaño del objeto es comparable con la longitud de onda;
- 3. *Límite geométrico*, donde la longitud de onda es mucho más pequeña que el objeto.

En la figura 2.4 se indica el tipo de esparcimiento que corresponde con las dimensiones características de los elementos que componen el tejido y producen el fenómeno [35].



Figura 2.4: Esparcimiento Mie y Rayleigh de acuerdo al tamaño de los componentes del tejido

Coordinación Óptica

El coeficiente de esparcimiento μ_s de forma análoga al coeficiente de absorción es definido como la probabilidad de esparcimiento de un fotón en un medio por unidad de longitud y se puede determinar empleando la Ley de Beer-Lambert:

$$T = e^{-\mu_s z} \tag{2.9}$$

De forma general los procesos de absorción y esparcimiento están presentes en la interacción de la radiación con la materia, por ello se utiliza el término coeficiente de extinción μ_t , también referido como el coeficiente de interacción total dado por [36]:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \tag{2.10}$$

Función de fase

Cuando ocurre el esparcimiento de la luz, la energía de ésta es redistribuida en todo el espacio; la función $p(\vec{s}, \vec{s'})$ describe esta redistribución. En efecto, la función de fase media representa la probabilidad de que un flujo de energía que llega a un elemento de volumen dV a través de un ángulo sólido $d\omega'$ cuyo eje es paralelo a la dirección $\vec{s'}$ sea difundido hacia el ángulo sólido $d\omega$ con eje paralelo a la dirección \vec{s} [37]. Siempre se exige que esta función cumpla con la condición de normalización,

$$\frac{1}{4\pi} \int_0^{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') d\omega' = 1$$
 (2.11)

La función de esparcimiento que es aplicada generalmente para describir la distribución de la luz en tejidos biológicos es la función de fase de Henyey-Greenstein [38],

$$p(\vec{s}, \vec{s}') = p(\theta) = \frac{1 - g^2}{2(1 + g^2 - 2g\cos\theta)^{3/2}}$$
(2.12)

donde g es el factor de anisotropía del medio, que se puede calcular a partir de la expresión:

$$g = \overline{\cos \theta} = \int \cos \theta p(\theta) 2\pi \sin \theta d\theta \qquad (2.13)$$

El factor de anisotropía varía entre -1 < g < 1 [36], si el esparcimiento es isotrópico g = 0, para g = 1 el esparcimiento es dirigido hacia adelante y para g = -1 es dirigido hacia atrás. En la figura 2.5 es ilustrado el proceso.



Figura 2.5: Esparcimiento de luz mediante una partícula esférica

La combinación del coeficiente de esparcimiento μ_s y el factor de anisótropa g permiten definir el coeficiente de esparcimiento reducido $\mu'_s(\lambda)$ $[cm^{-1}]$ mediante la siguiente relación:

$$\mu'_s = \mu_s (1 - g) \tag{2.14}$$

Índice de Refracción

El índice de refracción es una propiedad fundamental de los medios homogéneos y describe sus propiedades ópticas lineales, y su forma general es [34]:

$$\tilde{n}(\lambda) = n(\lambda) + i\alpha(\lambda)$$
(2.15)

donde la parte imaginaria, $\alpha(\lambda)$, es la atenuación de la onda debido al proceso de absorción (esparcimiento si el medio es heterogéneo). Para referirse a la parte real del índice de refracción 2.15, es empleada la siguiente notación:

$$Re[\tilde{n}(\lambda)] = n(\lambda) \tag{2.16}$$

La parte real del índice de refracción es definida en términos de la velocidad de fase la luz en el medio,

$$c_m(\lambda) = \frac{c}{n(\lambda)} \tag{2.17}$$

donde $c = 2.998 \times 10^8 m/s$ es la velocidad de la luz en el vacío. La longitud de la onda en el medio λ_m es dada en términos de la longitud de onda en el vacío como:

$$\lambda_m = \frac{\lambda}{n(\lambda)} \tag{2.18}$$

Aun cuando la velocidad de fase y la longitud de onda de luz dependen del índice de refracción, la frecuencia de la onda,

$$\nu = \frac{c}{\lambda} = \frac{c_m}{\lambda_m} \tag{2.19}$$

y la magnitud de la energía del fotón, $E = h\nu$, siempre son la misma en el vacío.

2.2. Modelos teóricos

La construcción de modelos matemáticos es una herramienta ampliamente usada para estudiar problemas en medicina, fisiología, biología, epidemiología, bioquímica, etc., sus objetivos fundamentales son describir, explicar y predecir fenómenos; sin embargo para aplicar algún modelo teórico es necesario conocer sus limitaciones para poder interpretar los resultados obtenidos.

La propagación de la radiación electromagnética a través de los tejidos biológicos puede ser aproximada usando diferentes teorías y modelos matemáticos. En la óptica biomédica la interacción de la luz con los tejidos puede ser modelada por medio de la teoría analítica y empleando la teoría de transporte.

La teoría analítica, permite describir la propagación de la radiación electromagnética a través del tejido empleando las ecuaciones de Maxwell con las adecuadas condiciones de frontera, sin embargo, la complejidad matemática, la estructura y propiedades de la piel hacen difícil la tarea con este modelo.

Actualmente, la teoría de transporte o transferencia radiativa es la más empleada para estudiar la interacción de la radiación electromagnética con los tejidos biológicos. A continuación se describen los aspectos físicos y matemáticos más importantes de esta teoría, así como también se hace énfasis en la aproximación de la difusión como una solución a la ecuación de transporte.

2.2.1. Teoría de transporte radiativo

Esta describe el transporte de energía a través de un medio que contiene partículas, esta teoría heurística que no incluye los efectos de interferencia y difracción, asumiendo que no hay correlación entre los campos, fue iniciada en 1903 por Schuster. La ecuación diferencial básica es llamada *la ecuación de transferencia* y es equivalente a la ecuación de Boltzman utilizada en teoría cinética de gases y transporte de neutrones [39]. En las siguientes secciones se presentan los aspectos y consideraciones matemáticas para estudiar las características de propagación de una onda electromagnética en presencia de partículas distribuidas aleatoriamente, para ello se ha seguido el texto *Wave propagation and scattering in random media* [39].

2.2.2. Ecuación transferencia radiativa

Para obtener la ecuación de transferencia radiativa, es necesario presentar algunas definiciones importantes.

Sección transversal y amplitud de esparcimiento

Cuando una partícula es iluminada por una onda, una parte de la energía incidente es esparcida y otra parte es absorbida por la partícula, la característica de estos dos fenómenos pueden ser expresadas considerando una onda plana, linealmente polarizada, propagándose en un medio con constante dielectrica ε_0 y permeabilidad μ_0 , para la cual el campo esta dado por:

$$\mathbf{E}_{i}(\mathbf{r}) = \hat{\mathbf{e}}_{i} \exp(ik\hat{\mathbf{i}} \cdot \mathbf{r})$$
(2.20)

donde la amplitud del campo $|E_i|$ es unitaria y sus unidades están en (V/m), $k = \omega \sqrt{\mu_0 \varepsilon_0} = 2\pi/\lambda$ es el número de onda, λ la longitud de onda en el medio, $\hat{\mathbf{i}}$ el vector unitario en la dirección de propagación y $\hat{\mathbf{e}}_i$ es un vector unitario en la dirección de polarización.

Coordinación Óptica



Figura 2.6: Onda plana $\mathbf{E}_i(\mathbf{r})$ que incide sobre un centro de absorción y esparcimiento dieléctrico y produce un campo de esparcimiento $\mathbf{E}_s(\mathbf{r})$ en la dirección $\hat{\mathbf{0}}$ a un distancia R

La constante dieléctrica de la partícula esta dada por:

$$\varepsilon_r(\mathbf{r}) = \frac{\varepsilon(\mathbf{r})}{\varepsilon_0} = \varepsilon'_r(\mathbf{r}) + \mathrm{i}\varepsilon''_r(\mathbf{r}),$$
(2.21)

 $\varepsilon_r(\mathbf{r})$ es en general un número complejo y esta dado en función de la posición, mientras el campo a una distancia R de un punto de referencia en la partícula, en la dirección de $\hat{\mathbf{0}}$, consiste del campo incidente \mathbf{E}_i y el campo esparcido por la partícula \mathbf{E}_s , en la figura 2.6 es mostrado el proceso.

Para una distancia $R < D^2/\lambda$ (D es el diámetro de la partícula) el campo \mathbf{E}_s tiene variaciones en la amplitud y la fase complicadas por las contribuciones de la interferencia entre las diferentes partes de la partícula. Para el caso cuando $R > D^2/\lambda$ el campo esparcido se comporta como una onda esférica y esta dado por:

$$\mathbf{E}_{s} = \mathbf{f}(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}}) \frac{e^{(ikR)}}{R}$$
(2.22)

 $f(\hat{0}, \hat{i})$ representa la amplitud, fase y polarización de la onda esparcida en el campo cercano en la dirección de $\hat{0}$, cuando la partícula es iluminada con una onda plana en la dirección \hat{i} con amplitud unitaria.

Si consideramos el flujo de densidad de energía esparcida S_s a una distancia R de la partícula en la dirección $\hat{\mathbf{0}}$, causada por el flujo de densidad de energía S_i . La sección transversal del esparcimiento se define por:

$$\sigma_d(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}}) = \lim_{R \to \infty} [R^2 S_s / S_i] = |\mathbf{f}(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}})|^2 = (\sigma_t / 4\pi) p(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}})$$
(2.23)

donde S_i y S_s representan la magnitud del vector de densidad de flujo de energía incidente y esparcido, los cuales están expresados por:

$$\mathbf{S}_{i} = \frac{1}{2} (\mathbf{E}_{i} \times \mathbf{H}_{i}^{*}) = \frac{|E_{i}|^{2}}{2\eta_{0}} \hat{\mathbf{i}}$$

$$\mathbf{S}_{s} = \frac{1}{2} (\mathbf{E}_{s} \times \mathbf{H}_{s}^{*}) = \frac{|E_{s}|^{2}}{2\eta_{0}} \hat{\mathbf{i}}$$
(2.24)

donde $\eta_0 = (\mu_0/\varepsilon_0)^{1/2}$ es la impedancia característica del medio. Si ahora consideramos la energía total esparcida para todos los ángulos que rodean la partícula tenemos:

$$\sigma_s = \int_{4\pi} \sigma_d dw = \int_{4\pi} |\mathbf{f}(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}})|^2 dw = \frac{\sigma_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}})$$
(2.25)

donde dw es el diferencial del ángulo sólido. La relación W_0 de la sección transversal del esparcimiento y la sección transversal total es llamado albedo de una partícula y esta dado por:

$$W_0 = \frac{\sigma_s}{\sigma_t} = \frac{1}{\sigma_t} \int_{4\pi} |\mathbf{f}(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}})|^2 dw = \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{0}}, \hat{\mathbf{i}}) dw$$
(2.26)

De forma análoga podemos considerar la energía absorbida por la partícula en una sección transversal σ_a , la suma de la sección transversal de esparcimiento y absorción es llamada sección transversal total;

$$\sigma_t = \sigma_a + \sigma_s \tag{2.27}$$

Intensidad especifica

En la teoría de transporte las cantidades importantes son; intensidad especifica, flujo, densidad de energía e intensidad promedio.

Consideremos el flujo de energía de una onda en punto r en un medio aleatorio, para una dirección definida por un vector unitario \hat{s} , se puede encontrar la densidad de flujo promedio dentro de una banda de frecuencia unitaria, centrada en la frecuencia ν
dentro de un ángulo sólido unitario. La cantidad $I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ es llamada intensidad especifica (también irradiancia o brillo) y es medida en $\mathrm{Wm}^{-2}\mathrm{sr}^{-1}\mathrm{Hz}^{-1}$.



Figura 2.7: Representación esquemática de la intensidad especifica

La cantidad de energía dP fluyendo a través de un ángulo sólido dw por un elemento de area da orientado en la dirección del vector unitario \hat{s}_0 en un intervalo de frecuencia $(\nu, \nu + d\nu)$ esta dado por la expresión 2.28, en la figura 2.7 es mostrada una representación esquemática.

$$dP = I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) \cos\theta dadw d\nu \quad (W) \tag{2.28}$$

Consideremos ahora el flujo total pasando a través de una pequeña area da en una superficie A. Sea \hat{s}_0 , un vector unitario, normal a la superficie da como es mostrado en la figura 2.8.



Figura 2.8: Flujo a través de un diferencial de área en una superficie A

Este flujo se puede obtener integrado la ecuación 2.28 sobre el ángulo sólido 2π en el rango hacia adelante $0 \le \theta \le \pi/2$ y se puede escribir como F_+da donde, F_+ es la densidad de flujo hacia adelante y es definida por:

$$F_{+}(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}_{0}}) = \int_{(2\pi)+} I(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}}) \mathbf{\hat{s}} \cdot \mathbf{\hat{s}_{0}} d\omega, \quad \mathbf{\hat{s}} \cdot \mathbf{\hat{s}_{0}} = \cos\theta$$
(2.29)

de forma análoga para F_{-} se tiene,

$$F_{-}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}_{0}) = \int_{(2\pi)^{-}} I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) \hat{\mathbf{s}} \cdot (\hat{-\mathbf{s}}_{0}) d\omega$$
(2.30)

donde la integración es sobre el ángulo sólido 2π en el rango $\pi/2 \le \theta \le \pi$. Ambos F_+ y F_- son medidos en Wm⁻²Hz⁻¹. La densidad de flujo total puede ser expresada como la componente de la densidad de flujo vectorial $\mathbf{F}(\mathbf{r})$ a lo largo de $\hat{\mathbf{s}}_0$ de la siguiente forma:

$$F_{+}(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}_{0}}) - F_{-}(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}_{0}}) = \mathbf{F}(\mathbf{r}) \cdot \mathbf{\hat{s}_{0}}, \quad \mathbf{F}(\mathbf{r}) = \int_{4\pi} I(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}}) \mathbf{\hat{s}} d\omega$$
(2.31)

Consideremos la densidad de energía $u(\mathbf{r})$ en \mathbf{r} . La cantidad de energía en un tiempo dt saliendo de un area pequeña da en una dirección normal, en un ángulo sólido dw y un intervalo de frecuencia $(\nu, \nu + d\nu)$ es $Idad\omega d\nu dt$. Esta energía debe ocupar un volumen dacdt, donde c es la velocidad de propagación de la onda, por lo tanto la densidad de energía $du(\mathbf{r})$ en un intervalo de frecuencia unitario esta dado por:

$$du(\mathbf{r}) = \frac{I da d\omega d\nu dt}{da c dt d\nu} = \frac{I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{c} d\omega$$
(2.32)

Sumando la energía debida a la radiación en todas las direcciones, tenemos la densidad de energía

$$u(\mathbf{r}) = \frac{1}{c} \int_{4\pi} I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) d\omega$$
 (2.33)

En algunos casos es conveniente definir la intensidad de energía promedio $U(\mathbf{r})$ como:

$$U(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} \int I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) d\omega \qquad (2.34)$$

Coordinación Óptica



Figura 2.9: Elemento de volumen cilíndrico

Consideremos la intensidad especifica $I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ incidiendo sobre un diferencial de volumen cilíndrico con sección transversal unitaria da y longitud ds, en la figura 2.9 es ilustrada la situación física. El volumen ds contiene ρds partículas, donde ρ es el número de partículas en un volumen unitario. Cada partícula absorbe la energía $\sigma_a I$ y esparce $\sigma_s I$, por lo tanto disminuye la intensidad específica $dI(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ por el volumen ds y se puede expresar de la siguiente forma:

$$dI(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) = -ds(\sigma_a + \sigma_s)I = -\rho ds\sigma_t I.$$
(2.35)

Ahora la densidad de flujo incidente a través de de un pequeño ángulo sólido $d\omega'$ esta dado por:

$$S_i = I(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}}') d\omega' \tag{2.36}$$

y la densidad de flujo esparcida S_s por una partícula en la dirección ŝ, a una distancia R de la partícula se expresa por:

$$S_s = \left[\frac{|f(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')|^2}{R^2}\right] S_i \tag{2.37}$$

donde $f(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')$ es la amplitud de esparcimiento, de acuerdo con 2.23 y con 2.36 tenemos:

$$S_s R^2 = |f(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')|^2 I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}') d\omega'$$
(2.38)

Agregando las contribuciones del flujo incidente en todas las direcciones \hat{s}' , la intensidad específica esparcida por ρds partículas en el volumen ds esta dada por:

$$\int_{4\pi} \rho ds |f(\mathbf{\hat{s}}, \mathbf{\hat{s}}')|^2 I(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}}') d\omega'$$
(2.39)

Empleando la ecuaciones 2.23 y 2.26 se puede escribir:

$$p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') = \frac{4\pi}{\sigma_t} |f(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')|^2, \qquad \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') d\omega = W_0 = \frac{\sigma_s}{\sigma_t}$$
(2.40)

donde W_0 es conocido como el albedo de la partícula. También es importante considerar que la intensidad específica puede aumentar debido a a una fuente de emisión dentro del volumen ds; si denotamos a $\varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ como la radiación de energía emitida por unidad de volumen, por unidad de ángulo sólido y por unidad de frecuencia en la dirección $\hat{\mathbf{s}}$, el aumento de la intensidad específica esta dada por:

$$ds\varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}).$$
 (2.41)

Sumando y organizando las expresiones 2.35, 2.39, 2.40 y 2.41 se obtiene la *ecuación de transferencia*:

$$\frac{dI(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}})}{ds} = -\rho\sigma_t I(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}) + \frac{\rho\sigma_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}},\hat{\mathbf{s}}')I(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}')d\omega' + \varepsilon(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}).$$
(2.42)

El término de la izquierda de 2.42 también se puede escribir empleando los operadores gradiente o divergencia de la siguiente forma:

$$\frac{dI(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{ds} = \hat{\mathbf{s}} \cdot \nabla I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) = \nabla \cdot [I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})]$$
(2.43)

La ecuación 2.42, como se puede apreciar es integro-diferencial y para obtener una solución analítica es necesario hacer una cantidad de aproximaciones importantes, las soluciones propuestas con mayor frecuencia son:

- La aproximación de la difusión y
- El método de Monte Carlo

Para efectos de este trabajo solamente será desarrollada la aproximación de la difusión para obtener la respectiva ecuación.

2.2.3. Ecuación de la difusión

En la ecuación 2.42, la densidad y medida de las partículas puede ser diferente en diferentes localizaciones, por lo tanto $\rho\sigma_t$ y *p* pueden ser funciones de r. Algunas veces es conveniente medir la distancia en términos de una cantidad adimensional definida por:

$$\tau = \int \rho \sigma_t ds \tag{2.44}$$

Si se divide la ecuación 2.42 por el término $\rho\sigma_t$ se obtiene:

$$\frac{dI(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{\rho \sigma_t ds} = -I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) + \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}') d\omega' + \frac{\varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{\rho \sigma_t}$$
(2.45)

De acuerdo con 2.44 la ecuación 2.45 se puede escribir como;

$$\frac{dI(\tau, \hat{\mathbf{s}})}{d\tau} = -I(\tau, \hat{\mathbf{s}}) + \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') I(\tau, \hat{\mathbf{s}}') d\omega' + J(\tau, \hat{\mathbf{s}})$$
(2.46)

donde $J(\tau, \hat{\mathbf{s}}) = \frac{\varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{\rho \sigma_t}$ es llamada la función fuente.

Generalmente es conveniente dividir la intensidad total $I(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) = I_{ri}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) + I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ en dos partes, la intensidad reducida I_{ri} y la intensidad difusa I_d de forma tal que se satisface la ecuación 2.42, por lo tanto se tiene para la intensidad reducida:

$$\frac{I_{ri}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{ds} = -\rho \sigma_t I_r i(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$$
(2.47)

y para la intensidad difusa:

$$\frac{I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})}{ds} = -\rho\sigma_t I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) + \frac{\rho\sigma_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}') d\omega' + \varepsilon_{ri}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) + \varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$$
(2.48)

con $\varepsilon_{ri}(\mathbf{r}, \mathbf{\hat{s}})$ como la función de fuente equivalente:

$$\varepsilon_{ri}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) = \frac{\rho \sigma_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') I_{ri}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}') d\omega'$$
(2.49)

Para obtener la ecuación de difusión se realizan las siguientes aproximaciones:

1. La relación entre el volumen ocupado por las partículas y el volumen total del medio es mucho mayor que el 1 %.

- 2. En la función de esparcimiento $p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')$ se asume que las partículas son esféricas y pequeñas en comparación con la longitud de onda incidente.
- 3. La intensidad I_d que se encuentra con muchas partículas y se esparce casi uniformemente en todas las direcciones tiene una magnitud ligeramente mayor en la dirección del flujo neto hacía adelante como es mostrado en la figura 2.10



Figura 2.10: Intensidad difusa $I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ para la aproximación de la ecuación de difusión

Matemáticamente esta situación se describe asumiendo que $I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ se puede aproximar mediante la siguiente expression:

$$I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) \simeq U_d(\mathbf{r}) + c \mathbf{F}_d(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{s}}$$
(2.50)

donde *c* es una constante, $\mathbf{F}_{\mathbf{d}}(\mathbf{r})$ es el vector de flujo según la dirección de propagación dada por el vector unitario $\hat{\mathbf{s}}_{\mathbf{f}}$, el cual es expresado por:

$$\mathbf{F}_{\mathbf{d}}(\mathbf{r}) = \int_{4\pi} I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) \hat{\mathbf{s}} d\omega = F_d(\mathbf{r}) \hat{\mathbf{s}}_{\mathbf{f}}$$
(2.51)

y $U_d(\mathbf{r})$ es la intensidad difusa promedio dada por 2.34, de forma tal que:

$$U_d(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} \int I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) d\omega$$
 (2.52)

donde $I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}})$ esta dada por 2.50. La constante *c* en 2.50 puede ser encontrada por:

$$F_d(\mathbf{r}) = \mathbf{F}_d(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{s}}_f = \int_{4\pi} I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) \hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}_f d\omega$$
(2.53)

Coordinación Óptica

42

Sustituyendo la ecuación 2.50 en 2.53 se puede determinar que $c = \frac{3}{4\pi}$ y por lo tanto la aproximación de la difusión de la intensidad difusa esta dada por:

$$I_d(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) = U_d(\mathbf{r}) + \frac{3}{4\pi} \mathbf{F}_d(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{s}}$$
(2.54)

Ahora se procede a derivar la ecuación de difusión basada en la aproximación 2.54, para ello se integra la ecuación 2.42 sobre todo el ángulo sólido 4π y se obtiene la siguiente relación,

$$\nabla \cdot \mathbf{F}_d(\mathbf{r}) = -4\pi\rho\sigma_a U_d(\mathbf{r}) + 4\pi\rho\sigma_s U_{ri}(\mathbf{r}) + E(\mathbf{r})$$
(2.55)

donde,

$$U_{ri}(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} I_{ri}(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) d\omega$$
(2.56)

у

$$E(\mathbf{r}) = \int_{4\pi} \varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) d\omega \qquad (2.57)$$

Ahora sustituyendo 2.50 en 2.48 y haciendo uso de 2.43 se obtiene:

$$\hat{\mathbf{s}} \cdot \nabla U_d(\mathbf{r}) + \frac{3}{4\pi} \hat{\mathbf{s}} \cdot \nabla (\mathbf{F}_d(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{s}}) = -\rho \sigma_t U_d(\mathbf{r}) - \frac{3}{4\pi} \rho \sigma_t \mathbf{F}_d(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{s}} + \rho \sigma_s U_d(\mathbf{r}) + \frac{3}{4\pi} \rho \sigma_t \mathbf{F}_d(\mathbf{r}) \cdot \hat{\mathbf{s}} p_1 \quad (2.58) + \varepsilon_{ri} + \varepsilon$$

donde,

$$\sigma_s = \frac{\sigma_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\mathbf{\hat{s}}, \mathbf{\hat{s}}') d\omega'$$
(2.59)

y p_1 esta dado por:

$$p_1 = \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\mathbf{\hat{s}}, \mathbf{\hat{s}}') \mathbf{\hat{s}} \cdot \mathbf{\hat{s}}' d\omega'$$
(2.60)

esta expresión representa el promedio del esparcimiento hacia adelante $(\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}' > 0)$ menos el esparcimiento hacia atrás $(\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}' < 0)$ de una partícula. En muchos casos es conveniente escribir $p_1 = W_0 \bar{\mu}$, donde W_0 es el albedo de una partícula definido en 2.40 y $\bar{\mu}$ es el promedio del coseno del ángulo de esparcimiento θ dado por:

$$\bar{\mu} = g = \frac{\left(\int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') \mu d\omega'\right)}{\left(\int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') d\omega\right)}$$
(2.61)

donde $\mu = \cos \theta = (\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}')$. La función de fase $p(\mu) = p(\cos \theta)$ puede ser aproximada incluyendo la función de Henyey-Greeinstein presentada en 2.12 de la siguiente forma;

$$p(\cos\theta) = W_0 \frac{1 - \bar{\mu}^2}{(1 + \bar{\mu}^2 - 2\bar{\mu}\mu)^{3/2}}$$
(2.62)

Si ahora se multiplica la ecuación 2.58 por \hat{s} y se integra sobre 4π se obtiene:

$$\nabla U_d(\mathbf{r}) = -\frac{3}{4\pi}\rho\sigma_t(1-p_1)\mathbf{F}_d + \frac{3}{4\pi}\int_{4\pi}\varepsilon_{ri}(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}})\hat{\mathbf{s}}d\omega + \frac{3}{4\pi}\int_{4\pi}\varepsilon(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}})\hat{\mathbf{s}}d\omega.$$
 (2.63)

La cantidad $\sigma_t(1-p_1)$ se conoce como sección transversal de transporte, e indica, que sí el esparcimiento es anisotrópico, la sección transversal total se reduce en un factor $1-p_1$ del caso isotrópico, por lo tanto la sección transversal de transporte también se puede escribir como:

$$\sigma_{tr} = \sigma_t (1 - p_1) = \sigma_s (1 - \bar{\mu}) + \sigma_a \tag{2.64}$$

Ahora, si la densidad de partículas se incrementa, la sección transversal de esparcimiento decrece un factor 1 - H, es decir, $\sigma_s \rightarrow \sigma_s(1 - H)$, donde H es la relación entre el volumen ocupado por las partículas que producen el esparcimiento y el volumen total. Además H en términos de la densidad ρ y el volumen V_e de una partícula esparcidora esta dado por:

$$H = \rho V_e$$

por lo tanto la sección transversal de transporte con alta densidad esta dado por:

$$\sigma_{tr} \to \sigma_s (1-H)(1-\bar{\mu}) + \sigma_a$$

Despejando \mathbf{F}_d de la ecuación 2.63 y sustituyendo en 2.55 se obtiene la siguiente ecuación diferencial para $U_d(\mathbf{r})$,

$$\nabla^{2}U_{d}(\mathbf{r}) - \kappa_{d}^{2}U_{d}(\mathbf{r}) = - 3\rho\sigma_{s}\sigma_{tr}U_{ri}(\mathbf{r}) - \frac{3}{4\pi}\rho\sigma_{tr}E(\mathbf{r}) + \frac{3}{4\pi}\nabla\cdot\int_{4\pi}\varepsilon_{ri}(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}})\hat{\mathbf{s}}d\omega$$
(2.65)
+ $\frac{3}{4\pi}\nabla\cdot\int_{4\pi}\varepsilon(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}})\hat{\mathbf{s}}d\omega$

donde $\kappa_d^2 = 3\rho\sigma_a\rho\sigma_{tr}$. La ecuación 2.65 corresponde a la *ecuación de difusión en estado estacionario* para la intensidad difusa $U_d(\mathbf{r})$, la cual con las condiciones de frontera apropiadas constituyen la descripción completa de la aproximación de difusión.

Ecuación de difusión para una fuente puntual

Consideremos una fuente puntual localizada en el origen radiando con potencia P_0 uniformemente en todas las direcciones en un espacio infinito que contiene centros de esparcimiento distribuidos aleatoriamente, el término de la fuente es expresada por:

$$\varepsilon(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}) = \frac{P_0}{4\pi} \delta(\mathbf{r}) \tag{2.66}$$

Aplicando las condiciones de frontera apropiadas, la ecuación 2.65 se puede aproximar a la siguiente expresión:

$$\nabla^2 U_d(\mathbf{r}) - \kappa_d^2 U_d(\mathbf{r}) = -\left(\frac{3}{4\pi}\right) \rho \sigma_{tr} P_0 \delta(\mathbf{r})$$
(2.67)

La solución de 2.67 esta dada por:

$$U_d(\mathbf{r}) = \frac{e^{-\kappa_d r}}{4\pi r} \left[\frac{3}{4\pi} \rho \sigma_{tr} P_0 \right]$$
(2.68)

Las ecuaciones 2.67 y 2.68 se pueden escribir en función del coeficiente de absorción, esparcimiento y factor de anisotropía, dados por las ecuaciones 2.2, 2.14 y 2.64 de la siguiente forma:

$$\nabla^2 U_d(\mathbf{r}) - \frac{\mu_a}{D} U_d(\mathbf{r}) = -\frac{P_0}{4\pi} \frac{\mu_{eff}^2}{\mu_a} \delta(\mathbf{r})$$
(2.69)

y la solución esta dada por:

Coordinación Óptica

$$U_d(\mathbf{r}) = \frac{P_0}{4\pi} \frac{e^{-\mu_{eff}r}}{4\pi Dr}$$
(2.70)

donde,

$$\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$$
(2.71)

У

$$D = \frac{1}{3[\mu_a + \mu_s(1-g)]}$$
(2.72)

Si se define el ritmo de fluencia $\phi(\mathbf{r}) = 4\pi U_d(\mathbf{r})$, la ecuación 2.70 se puede reescribir como:

$$\phi(\mathbf{r}) = \frac{P_0}{4\pi D} \frac{e^{-\mu_{eff}r}}{r}$$
(2.73)

2.2.4. Formulación de Farrel

Diferentes modelos físicos [40–44] han sido empleados para determinar expresiones que permitan estudiar la dependencia de la reflexión difusa a una distancia r de la fuente, la cual puede ser empleada para determinar μ_a y μ'_s . En este trabajo emplearemos la formulación de Farrell [44] para simular la interacción de la luz con el tejido empleando una configuración similar a la experimental.

Farrell y colaboradores proponen un modelo basado en la teoría de la difusión para un estado estacionario, en este modelo se considera un haz de luz que incide normalmente de un medio de con índice de refracción n_a sobre la superficie de un tejido semiinfinito homogéneo con índice de refracción n_t y parámetros ópticos μ_a y μ'_s . El modelo empleado consiste de un único centro de esparcimiento en el cual todas las interacciones del haz original tienen lugar en solamente en un sitio de interacción localizado a una posición Z_0 de la superficie del tejido. Z_0 es equivalente al inverso del coeficiente de transporte μ_{tr} y esta dado por:

$$Z_0 = \frac{1}{\mu_{tr}} = \frac{1}{\mu_a + \mu'_s} \tag{2.74}$$

El ritmo de fluencia descrito en 2.73 para una fuente puntual de 1W de potencia, localizada en r_1 esta dado por:

$$\phi(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi D} \frac{e^{-\mu_{eff}r}}{r_1}$$
(2.75)

donde

$$r_1 = \sqrt{(Z - Z_0)^2 + r} \tag{2.76}$$

El ritmo de fluencia $\phi(\mathbf{r})$ se considera cero en una frontera extrapolada localizada en $Z = Z_b = -2AD$, donde D esta dado por 2.72. El parámetro A esta relacionado con la uniformidad de la radiación difusa en la interface aire-tejido, este parámetro es una función del índice de refracción relativo $n_{rel} = n_t/n_a$, Groenhius y colaboradores [40] han desarrollado empíricamente una aproximación para determinar el valor de A, por medio de la siguiente expresión:

$$A = \frac{1 + r_i}{1 - r_i}$$
(2.77)

donde

$$r_i = 0.668 + 0.0636n_{rel} + 0.710n_{rel}^{-1} - 1.440n_{rel}^{-2}$$
(2.78)



Figura 2.11: Representación esquemática donde se indican los parámetros y relaciones geométricas del modelo propuesto por Farrell

Considerando ahora que el ritmo de fluencia debido a una fuente puntual de esparcimiento isotrópico dentro de un medio semi-infinito se puede hacer cero sobre un plano, introduciendo una fuente imagen negativa como es mostrado en el esquema que se presenta en la figura 2.11, se tiene para una fuente colocada a una profundidad

 Z_0 de la superficie del tejido, que la distancia a la frontera extrapolada será $Z_0 + Z_b$, por lo tanto la fuente imagen debe colocarse a una distancia $Z_0 + Z_b$ con respecto a la frontera extrapolada. De la figura 2.11 se puede deducir que la fuente imagen esta colocada a una distancia $Z_0 + 2Z_b$ de la superficie del tejido.

El planteamiento anterior permite calcular la intensidad difusa promedio para un fuente puntual en un medio semi-infinito como la suma de la intensidad promedio de la fuente y su imagen, la solución esta dada por:

$$\phi(r, Z_0) = \frac{1}{4\pi D} \left(\frac{e^{-\mu_{eff}r_1}}{r_1} - \frac{e^{-\mu_{eff}r_2}}{r_2} \right)$$
(2.79)

donde r_1 esta dado por 2.76 y para r_2 se tiene:

$$r_2 = \sqrt{(Z + Z_0 + 2Z_b)^2 + r^2} \tag{2.80}$$

La luz que es reflejada en forma difusa a una distancia r en la superficie del tejido (Z=0) esta dada por [45]:

$$R(r) = -D\nabla\phi(r, Z)|_{Z=0}$$
(2.81)

Combinando las ecuaciones 2.79 y 2.81 se puede derivar la función de Green para la reflexión difusa como:

$$R_d(r) = \frac{a'}{4\pi} \left[\frac{1}{\mu_t'} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_1} \right) \frac{e^{-\mu_{eff}r_1}}{r_1^2} + \left(\frac{1}{\mu_t'} + 2Z_b \right) \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_2} \right) \frac{e^{-\mu_{eff}r_2}}{r_2^2} \right]$$
(2.82)

2.3. Espectroscopía y lesiones de la piel

El diagnóstico diferencial de lesiones de piel pigmentadas puede resultar una labor difícil, incluso para dermatólogos experimentados [46]. El criterio clínico para el diagnostico de lesiones en la piel, se basa en la apreciación visual del conocido método **ABCDE** (asimetría, borde, color, dimension, elevación) de las lesiones [47–49], principalmente el color y el borde, en la figura 2.12 es mostrado el criterio. Pero la biopsia(diagnóstico histopatológico) se mantiene como el método standard a la hora de contar con un diagnóstico fiable. Las fallas en el diagnóstico de este tipo de lesiones tiene serias implicaciones en la supervivencia de los pacientes, por ello se han estado realizando diversos estudios con el objetivo de desarrollar técnicas y/o métodos no

Coordinación Óptica

invasivos para un diagnóstico clínico diferencial y objetivo de las lesiones de la piel pigmentadas.



Figura 2.12: Criterio ABCDE, para el diagnóstico de lesiones en piel.

Se han implementado diverso métodos ópticos con el fin de ayudar a los médicos en el diagnóstico *in vivo* de diferentes patologías en los tejidos cutáneos. Entre estas herramientas se encuentran la *microscopía de epiluminiscencia* (microscopía superficial cutánea o dermoscopía) que puede proporcionar información auxiliar muy útil en el diagnóstico clínico del melanoma. La *dermoscopía* permite el conocimiento *in vivo* de la microarquitectura de la lesión cutánea pigmentada, pero con una interpretación subjetiva, como cualquier observación visual, lo cual requiere de mucha preparación previa así como también de experiencia. El análisis de la información es exclusivamente visual, sobre todo de color, es insuficiente para extraer información consistente con fines de diagnóstico y que se relacione con la estructura interna de la lesión.

El desarrollo de herramientas clínicas que faciliten el diagnóstico de cáncer de piel ha experimentado un crecimiento vertiginoso en los últimos años, utilizando imágenes a color y sistemas de análisis para la evaluación objetiva del **ABCDE**.

El análisis de la imagen incluye la segmentación y la extracción de signos o rasgos. La segmentación consiste en identificar la lesión dentro de la imagen(Separar la lesión del

fondo, de la piel sana) y la extracción de signos o rasgos es la identificación y determinación de las características o estructuras de la lesión que son importantes para el diagnóstico. Diferentes autores, han realizado análisis de imágenes obtenidas con un CCD y una serie de filtros de forma tal que pueden apreciar aspectos importantes de la imagen para el diagnóstico. Pero debido a la gran variabilidad de las lesiones cutáneas pigmentadas, la implementación de métodos exactos de segmentación de imágenes es una tarea difícil en la que aún se esta trabajando.

Ahora entre los métodos ópticos no invasivos que podrían mejorar la precisión en el diagnóstico clínico se encuentra la **espectroscopía de reflexión difusa**. Esta técnica es particularmente interesante debido a que el espectro de reflexión obtenido contiene información sobre los cromóforos de los tejidos así como de su morfología.

2.4. Espectroscopía de reflexión difusa

La radiación reflejada por una muestra tiene dos componentes: la especular y la difusa. El objeto de estudio de la espectroscopía de reflexión difusa es precisamente el análisis espectral de la componente reflejada difusamente por la muestra.





La reflectancia especular viene descrita por las leyes de Fresnel y predomina cuando el material sobre el que se produce la reflexión tiene valores altos de los coeficientes de

absorción para la longitud de onda incidente; cuando la penetración de la radiación es muy pequeña en comparación con la longitud de onda y cuando las dimensiones de la superficie reflectante son mucho mayores que la longitud de onda.

La reflexión difusa tiene lugar en todas las direcciones de la superficie como consecuencia de los procesos de absorción y esparcimiento (Figura 2.13) y predomina cuando los materiales de la superficie reflectante son débilmente absorbentes a la longitud de onda incidente y cuando la penetración de la radiación es grande en relación a la longitud de onda.

Las medidas de reflexión, en condiciones normales contienen las dos componentes de la reflexión. La componente especular contiene muy poca información de la composición, por lo que su contribución a las medidas se minimiza con la posición del detector respecto a la muestra; mientras que la componente difusa es la que aporta información útil acerca de la muestra, por ello es la base de las medidas que se realizan con está técnica.

Las propiedades de absorción y esparcimiento de los tejidos dependen de su composición bioquímica, estructura celular y longitud de onda. Se ha demostrado que las propiedades ópticas de los tejidos malignos difieren de los tejidos sanos y normales.

Como norma general, la reflexión difusa en piel sana obtenida con una configuración de fibras ópticas tiende a aumentar conforme aumenta la longitud de onda, desde el visible hasta el infrarrojo cercano.

Un experimento típico para medir la reflectancia difusa de un tejido biológico incluye una fuente de luz, un espectrómetro y una sonda de fibra óptica para enviar y colectar la luz.

2.5. Modelo de la piel

El modelo de piel que será empleado consiste de dos capas, la epidermis con un espesor denotado por t_{epi} y la dermis considerada como un medio semi-infinito.

La epidermis es considerada, en un primera aproximación como un medio absorbente donde predomina la absorción debido a la melanina. En la dermis se produce absorción debido principalmente a la presencia de sangre (oxy-hemoglobina y deoxyhemoglobina) y esparcimiento causado por la fibras de colágeno. En la figura 2.14 se presenta un esquema de la piel, indicando los parámetros biológicos del modelo en cada capa.



Figura 2.14: Modelo de dos capas para la piel

La expresión empleada para el coeficiente de absorción en la epidermis μ_{aE} fue propuesta por S. Jaques [50] y esta dada por:

$$\mu_{aE} = f_{me}\mu_{a_me}(\lambda) + (1 - f_{me})\mu_{a_base}(\lambda)$$
(2.83)

donde f_{me} es la fracción volumétrica de melanosomas en la epidermis, el coeficiente de absorción de los melanosomas $\mu_{a.me}$ es aproximado por:

$$\mu_{a_me}(\lambda) = 6.6 \times 10^{11} \lambda^{-3.33} \tag{2.84}$$

El coeficiente de absorción μ_{a_base} en la epidermis y en la dermis es el mismo y esta dado por:

$$\mu_{a_base}(\lambda) = 0.244 + 83.5e^{\frac{\lambda - 154}{66.6}} \tag{2.85}$$

El coeficiente de absorción en la dermis, μ_{aD} , incluye la fracción volumétrica de sangre f_{bl} y el contenido de agua W, la expresión matemática que describe este parámetro es dada por [50]:

$$\mu_{aD}(\lambda) = f_{bl}\mu_{a_blood}(\lambda) + (1 - f_{bl})\mu_{a_base}(\lambda) + W\mu_{aW}$$
(2.86)

Coordinación Óptica

52

El coeficiente de absorción de la sangre μ_{a_blood} se expresa mediante:

$$\mu_{a_blood}(\lambda) = S\mu_{a_oxy}(\lambda) + (1-S)\mu_{a_deoxy}(\lambda)$$
(2.87)

donde S representa la saturación de oxígeno y es un parámetro de la simulación, μ_{a_oxy} y μ_{a_deoxy} son los coeficientes de absorción de la molécula oxy-hemoglobina y deoxy-hemoglobina respectivamente.

El coeficiente de esparcimiento en la dermis μ_{aD} empleado fue formulado por S. Jaques [51]:

$$\mu_{aD}' = A_s \mu_{sREF}'(\lambda) \tag{2.88}$$

donde,

$$\mu'_{sREF}(\lambda) = \mu'_{sRayleigh}(\lambda) + \mu'_{sMie}(\lambda) = 1.74 \times 10^{12} \lambda^{-4} + 4.59 \times 10^{3} \lambda^{-0.913}$$
(2.89)

 μ'_{sREF} es un espectro de referencia obtenido a partir de medidas ex-vivo realizadas en piel, el cual puede se escalado por medio del parámetro A_s para ajustar el espectro de esparcimiento encontrado en medidas in-vivo.

Actividad Experimental

El área científica y tecnológica se distingue de otras áreas por su carácter eminentemente experimental, práctico y deductivo; siendo sin duda alguna el trabajo experimental, la herramienta más valiosa que puede tener un científico, en este caso se explora la posibilidad de diagnosticar lesiones en piel empleando una técnica óptica no invasiva, específicamente la Espectroscopía de Reflexión Difusa (ERD).

3.1. La espectroscopía

La espectroscopía óptica se encarga fundamentalmente del estudio generalizado de las estructuras químicas y dinámicas de una muestra por medio del análisis de los procesos de la absorción, emisión y esparcimiento de la radiación electromagnética de átomos o moléculas [52]. En este trabajo nos centramos en el uso de la (ERD) en aplicaciones biomédicas estudiando el comportamiento de la interacción de la luz con el tejido humano. Aunque los principios básicos de la espectroscopía son validos en toda la región espectral que incluye desde Rayos-X hasta ondas de radio [53], nuestro estudio esta restringido a una región del espectro electromagnético comprendida entre 400 nm y 1000 nm. En la figura 3.1 es mostrado el espectro electromagnético con la región visible.



Figura 3.1: Espectro electromagnético donde se destaca región visible

La ERD puede proveer información detallada sobre la composición bioquímica del tejido, la luz incidente puede ser parcialmente absorbida por los cromóforos y esparcida por las células, organelos y fibras presentes en el tejido. Basados en la reflexión difusa, varios cromóforos de tejidos biológicos como la melanina [54], bilirubina [55] y la hemoglobina en sus formas oxigenada y de-oxigenada pueden ser valorados cuantitativamente [17,56].

3.2. Sistema Experimental

El sistema experimental empleado para obtener los espectros mediante ERD es mostrado en la figura 3.2, consta básicamente de una fuente de luz, un espectrómetro con su respectivo detector, un computador y una sonda de fibra óptica que permite enviar y colectar luz. A continuación se describe el sistema experimental en detalle.



Figura 3.2: Sistema Experimental donde se puede apreciar la sonda de fibra óptica con los respectivos aditamentos, así como también la configuración empleada para enviar y colectar la luz.

3.3. Espectrómetro

El espectrómetro empleado es el modelo USB4000 de Ocean Optics, el cual contiene una red de difracción de 600 líneas por milímetro para separar la luz que incide sobre un detector lineal.



Figura 3.3: Esquema del Espectrómetro USB4000

Para el USB4000 existen 14 redes de difracción y para cada caso existe un rango espectral óptimo, lo que implica que el espectrómetro subreporta algunas longitudes de onda [57], por ello lo ideal es usar un estándar de reflectancia para corregir las medidas del espectrómetro.

Otra consideración importante es la intensidad de luz, el USB4000 tiene seis aperturas disponibles (5, 10, 25, 50, 100, $200\mu m$). Es claro que las aplicaciones con baja intensidad requieren de aperturas grandes y viceversa. En nuestro caso el espectrómetro tiene instalada la apertura de $50\mu m$

El USB4000 esta conformado por un avanzado detector que consta de 3648 elementos, un obturador y un sistema electrónico de alta velocidad, el intervalo de respuesta espectral abarca desde 200*nm* hasta 1100*nm*. Para más detalles y especificaciones técnicas del espectrómetro puede consultarse en el manual de instalación y operacion [58].

En cuanto a la resolución del sistema esta depende fuertemente de la red de difracción, así como del tamaño de la rendija. Para determinar la resolución óptica se hace uso de las expresiones matemáticas suministradas por el fabricante para tal fin [59]. A continuación las ecuaciones que permiten efectuar el cálculo de la dispersión (D) y la resolución (R).

$$D = \frac{R_e}{N_{ed}} \tag{3.1}$$

Coordinación Óptica

donde R_e , es el intervalo espectral de la red de difracción y N_{ed} es el número de elementos del detector. Para la resolución se tiene que:

$$R = D * Rp \tag{3.2}$$

En este caso Rp es la resolución del pixel. En nuestro caso particular tenemos:

- Resolución espectral [60] para la red de difracción #3 Re = 650 nm
- Número de elementos en el detector $N_{ed} = 3648$
- Resolución del pixel para una rendija de $50\mu m$ [61] Rp = 11.6

Empleando la ecuación (3.1) se puede determinar la dispersión D, luego sustituyendo el valor obtenido en la ecuación (3.2) se obtiene la resolución óptica, la cual en nuestro caso es:

$$R = 2.067nm$$
 (3.3)

Para la mayoría de análisis espectroscópicos, se necesita una radiación constituida por un grupo limitado, estrecho y continuo de longitudes de onda denominado banda. Un ancho de banda estrecho aumenta la sensibilidad de las medidas de absorbancia y puede proporcionar selectividad tanto a los métodos de absorción como a los de emisión [62].

En investigaciones realizada para determinar el espectro de reflexión difusa en la piel humana [63], se ha determinado que el ancho de banda espectral que presentan los tejidos con lesiones es superior a los 2nm, por lo tanto nuestro sistema experimental cuenta con suficiente resolución espectral para ser empleado en el estudio de lesiones en piel.

3.4. Sonda de Fibra Óptica (R6007VIS125F)

Esta sonda de fibra óptica esta conformada por seis fibras que iluminan el objeto de estudio y una fibra que permite colectar la luz reflejada difusamente.

Las características de la fibra R6007VIS125F son presentadas en la tabla 3.1: En la figura 3.4 es mostrado en detalle la estructura del ensamble de la fibra.

Diámetro del Núcleo	600µm
Revestimiento	Silica
Conjunto de la fibra	6 iluminación, 1 colección
Rango de trabajo	400-2100 <i>nm</i>
Apertura numérica	0.22
Rango de Temperatura	-20°C a 80°C
Longitud de la fibra	2m

Tablas 3.1: Especificaciones técnicas de la fibra



Figura 3.4: Estructura del ensamble de la fibra óptica

En la figura 3.5 es mostrado el espectro de atenuación suministrado por el fabricante para el tipo de fibra empleado.



Figura 3.5: Atenuación espectral de la fibra

Para realizar los estudios de ERD en la piel humana, fue necesario colocar un aditamento a la punta de la sonda de fibra óptica, este consta de un cilindro metálico

con una ventana de vidrio y un sistema para estudiar el efecto de la presión que se ejerce sobre el tejido al momento de realizar las medidas espectrales, además de proteger la fibra garantizar la no contaminación entre pacientes. En la figura 3.6 es mostrada la modificación realizada.



Figura 3.6: Detalles de la sonda de fibra óptica: (a) Fibra original, (b) Fibra modificada, son mostrados los aditamentos b1 y b2 para controlar la presión en la superficie de la piel y proteger la fibra original de daños y posible contaminación, (c) vista lateral de la geometría de la fibra

3.5. La fuente de luz

El sistema experimental cuenta con una fuente de luz halógena de tungsteno, la HL2000 (Ocean Optics, EU). Este tipo de lámparas tienen un filamento helicoidal montado en una ampolla de cristal de cuarzo relleno con un gas inerte (normalmente criptón o xenón) mezclado con trazas de un elemento halógeno (normalmente bromo o yo-

do) [64].

En condiciones normales este tipo de lámparas generan corrientes de convección entre el filamento caliente y las paredes de la lámpara que están a una temperatura más baja. Esta mezcla de gas circulante provoca el "ciclo de halógeno" en el que las moléculas de tungsteno vaporizadas del hilo incandescente son absorbidas por el gas halógeno y circulan a través del filamento. El calor del filamento hace que se separen el tungsteno y el halógeno y que el tungsteno vuelva a depositarse en el filamento (en general en las partes menos calientes). Por lo tanto, la ampolla de vidrio se mantiene relativamente limpia.

En cuanto a los aspectos de seguridad relacionados con las lámparas halógenas de tungsteno se pueden mencionar los siguientes [64]:

- Las temperaturas de funcionamiento son muy altas y hay que esperar el tiempo suficiente para que las lámparas se enfríen una vez apagadas.
- Existe riesgo de que se produzcan daños oculares por deslumbramiento o emisiones ultravioletas:
 - Los elevados valores medios de luminancia (hasta 3,000 cd/cm² en el filamento) pueden provocar problemas de deslumbramiento. Asimismo, no se deben exponer los ojos al portalámparas sin protección.
 - Según el voltaje aplicado y la temperatura de color, una lámpara halógena de tungsteno con ampolla de cristal de cuarzo emitirá aproximadamente de 0,2 % a 0,3 % de la potencia eléctrica en forma de radiación ultravioleta (es decir, por debajo de los 380 nanómetros).
 - En la medida de lo posible, la lámpara halógena de tungsteno sólo se debe sujetar por la base. Las huellas dactilares en el cristal de cuarzo se queman cuando se pone en funcionamiento la lámpara, causando una recristalización del vidrio. Ello puede hacer que se vuelva opaco, reduciendo la consistencia del vidrio y aumentando el riesgo de ruptura de la ampolla.

Las características de la Fuente HL2000 suministradas por el fabricante [65] son mostradas en la tabla 3.2:

Intervalo de longitud de onda	360 <i>nm</i> -2000 <i>nm</i>
Tiempo de estabilización	5min
Temperatura de color de la lámpara	2960°K
Temperatura del ambiente de trabajo	5°C a 35°C
Humedad	5-95 %
Tiempo de vida	1500 horas

Tablas 3.2: Especificaciones técnicas de la fuente de luz

Para determinar el comportamiento espectral de la fuente HL2000 fue utilizado un medidor de potencia óptica (Optical Power Meter, 1830C Newport, UK), un detector modelo 818-UV con un atenuador óptico OD-3 de la misma firma comercial y un monocromador modelo DMC1-02 de la empresa Optometrics Corp. En la figura 3.7 es mostrada una imagen de medidor de potencia óptica con su respectivo detector.



Figura 3.7: Medidor de Potencia Óptica

A continuación se presentan las características básicas del funcionamiento del medidor de potencia óptica suministradas por el fabricante.

Intervalo de longitud de onda	190 <i>nm</i> -1800 <i>nm</i>
Unidades de Medida	W, dBm
Intervalo de medida de potencia Óptica	1fW-2W
Temperatura del ambiente de trabajo	0°C a 40°C
Humedad	<70 %
Ajuste de la longitud de onda	1nm

Tablas 3.3: Especificaciones técnicas del medidor de potencia óptica

En cuanto al detector las especificaciones técnicas más importantes son mostradas en

la tabla 3.4:

Intervalo espectral	200 <i>nm</i> -1100 <i>nm</i>
Potencia máxima con atenuador	$200 mW/cm^2$
Area activa	$1cm^2$
Linealidad	$\pm 0.5\%$
Uniformidad	$\pm 2\%$
Responsitividad	$\geq 0.09A/W$
	(250nm - 1000nm)

Tablas 3.4: Especificaciones técnicas del detector 818-UV



Figura 3.8: Esquema del experimento realizado para estudiar el comportamiento espectral de la lámpara HL2000.

Como se puede apreciar en la figura 3.2 para llevar la luz desde la fuente hasta la muestra en estudio es empleada un fibra óptica, la cual a su vez tiene acoplada en la punta un aditamento metálico con una ventana de vidrio que tiene por finalidad proteger la fibra óptica (Este aditamento se puede cambiar de un paciente a otro). Por ello para estudiar el comportamiento espectral de la fuente HL2000 fue realizado el montaje experimental que se presenta en la figura 3.8, la medida fue realizada en el intervalo de longitudes de onda comprendido entre 400nm y 860nm con un incremento de 20nm, las unidades del medidor de potencia óptica son reportadas en nW/cm^2 , las medidas fueron repetidas 5 veces con una máxima desviación standard de $0.63 nW/cm^2$ demostrando que existe muy poca dispersión en la medidas realizadas

con respecto al valor promedio. En la tabla 3.5 se presentan las características del monocromador empleado para estudiar el comportamiento espectral del sistema fibrafuente.

Intervalo espectral	200 <i>nm</i> -800 <i>nm</i>
Abertura de entrada y salida	$300 \mu m$
Area de la red	$2cm^2$
Temperatura de operación	$-20^{\circ}C \ a \ 80^{\circ}C$
Resolución	2.22nm
Numero F	3.9
Exactitud de longitud de onda	2

Tablas 3.5: Especificaciones técnicas del monocromador DMC1-02 de la empresa Optometrics Corp.

En la figura 3.9 son mostrados los resultados obtenidos, en (a) Las curvas experimentales de las cinco medidas realizadas, (b) Promedio de las medidas. Es importante mencionar que los valores obtenidos para la potencia espectral son escalados por un factor que depende de las características de arreglo óptico empleado, por ello las gráficas mostradas son solamente una referencia que permiten observar el comportamiento espectral de lámpara en función de la longitud de onda.



Figura 3.9: Potencia espectral en función de la longitud de onda

3.6. El software SpectraSuite

SpectraSuite es un software basado en Java que funciona con los sistemas operativos Windows 98/Me/2000/XP, Mac OSX y Linux. Este software permite controlar los espectrómetros y dispositivos USB de Ocean Optics e incluso otros dispositivos USB con los drivers apropiados.

 Characterization
 Image: constraint

 Characterization
 Society Soc

El software SpectraSuite, permite guardar archivos en los siguientes formatos [66]:

Figura 3.10: Interfaz gráfica del software SpectraSuite

- ASCII, El código ASCII (The American Standard Code for Information Interchange) es un formato de almacenamiento general que guarda los datos mediante texto simple.
- xls, Archivo para leer en Excel.
- doc, Archivos para ser leidos en Word.
- JCAMP-DX, es un formato independiente y ampliamente utilizado, muchos programas analíticos ofrecen la posibilidad de exportación en este formato.
 JCAMP es un estándar para datos de los espectros (IR y NMR).
- Archivos para GRAMS/32, este nombre proviene de Graphic Relational Array Management System y se refiere tanto a espectrogramas como a cromatogramas, el numero 32 indica que esta optimizado para computadores de 32bits. Los

archivos de datos se pueden traducir desde y hasta estos formatos de archivo, que incluyen el formato ASCII.

Sobre el proceso de instalación, uso y manejo del software para las distintas aplicaciones se puede consultar el manual de operación [66]. En la figura 3.10 es mostrada la interfaz gráfica del SpectraSuite.

3.7. Aditamentos de la sonda de fibra óptica



Figura 3.11: Detalles de los accesorios metálicos colocados a la sonda de fibra óptica

Como fue mencionado anteriormente en la punta de la sonda de fibra óptica fueron colocados algunos accesorios metálicos con con la finalidad de proteger la fibra de cualquier daño y con la intención de estudiar el efecto producido al aplicar presión sobre el tejido al momento de realizar las medidas espectrales. Estos accesorios fueron

construidos en taller mecánico del INAOE

En la figura 3.11 es mostrada una fotografía con un esquema donde se indican los detalles de los accesorios metálicos colocados en la punta de la fibra óptica.

El efecto producido al aplicar presión sobre el tejido fue analizado con un sistema piston-resorte como es mostrado en la figura 3.11, para determinar la presión aplicada, el sistema fue previamente calibrado, comprobando que la relación entre la fuerza aplicada al piston y el desplazamiento es lineal, en la figura 3.12 es mostrada la curva de calibración. Para realizar este estudio fue necesario construir un arreglo experimental para analizar la relación entre la fuerza aplicada por cada desplazamiento y su correspondiente valor de presión. El arreglo consiste de un sistema de suspensión por medio de cuerdas elásticas y una balanza que permite medir el peso para cada desplazamiento. En la figura 3.12 es mostrado un esquema del sistema experimental y su correspondiente curva de calibración.



Figura 3.12: Esquema del sistema de suspensión y curva de calibración para estudiar el efecto de la presión aplicada sobre el tejido.

3.8. Reflexión difusa en piel humana

En cuanto al proceso de medida es necesario tomar el espectro de una muestra o patrón de referencia, en este trabajo la muestra de referencia es un disco de teflón blanco de 38mm de diámetro y 13.3mm de espesor colocado dentro de un soporte diseñado para tal fin, este patrón permite establecer una relación con la señal espectral obtenida para cada longitud de onda. La expresión matemática que permite obtener la reflexión difusa esta dada por [46]:

$$R(\lambda) = \frac{S(\lambda) - D(\lambda)}{Ref(\lambda) - D(\lambda)}$$
(3.4)

donde $S(\lambda)$ es la señal del medio analizado(Piel) para cada longitud de onda (λ) , $D(\lambda)$ es la señal oscura y $Ref(\lambda)$ es la muestra de referencia.



Figura 3.13: Espectros de reflexión difusa para el teflon, referido a si mismo y para la piel de un voluntario referido al teflon.

En el sistema experimental empleado la señal registrada por el espectrómetro corresponde al porcentaje de luz que es reflejada en forma difusa por la piel y colectada

por la sonda de fibra óptica, el software SpectraSuite calcula automáticamente estos valores empleando la siguiente expresión [66].

$$\% R(\lambda) = \frac{S(\lambda) - D(\lambda)}{Ref(\lambda) - D(\lambda)} \times 100\%$$
(3.5)

En la figura 3.13 son mostrados los espectros de reflexión difusa para la muestra de referencia (teflón) y la piel humana. Como se puede apreciar en el gráfico para el teflón la reflexión es del 100 % debido a que se esta estudiando como muestra el patrón de referencia, en el caso de la piel se puede observar el cambio en la reflexión para diferentes longitudes de onda.

La actividad experimental fue desarrollada fundamentalmente en dos lugares:

- El Hospital de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (HBUAP), específicamente en la Unidad de Oncología, bajo al supervisión médica del director de la Unidad de Oncología, Dr. José Luis Gutiérrez y con la autorización del comité de ética de la institutción.
- El Centro de Prevención de Cancer (CEPREC), ubicado en la Ciudad de Juchitan de Zaragoza, en el estado de Oaxaca, con la supervisión médica del Dr. Francisco Gutiérrez, director del CEPREC y con la aprobación del comité de ética del CEPREC.

Además de los lugares mencionados anteriormente, en el INAOE se realizaron estudios en un grupo de voluntarios que acudieron a la invitación realizada vía correo electrónico y a través de un poster que fue colocado en carteleras y lugares visibles del INAOE, también se realizaron todas las pruebas de ajuste y calibración del sistema experimental.

3.8.1. Medición in-vivo del espectro de reflexión difusa de sitios sanos y lesiones de la piel humana (estudios en el HBUAP)

Los estudios realizados en el HBUAP se llevaron a cabo entre los meses de febrero y agosto del año 2008, con dos sesiones de 4 horas de trabajo por semana. Los participantes en el estudio son pacientes que asisten a consulta médica en la unidad de oncología del hospital y fueron invitados a participar en el estudio.

Para realizar los estudios en el hospital fue necesario diseñar un sistema portátil para transportar el espectrómetro, con la fuente y la sonda de fibra de óptica de forma segura, en la figura 3.14 es mostrada un fotografía del sistema experimental en una caja de madera de $35 \times 44 \times 10cm$ y del lugar de trabajo habilitado en el HBUAP.



Figura 3.14: Sistema experimental instalado en el HBUAP

Las personas que participaron en el estudio fueron medidas en tres sitios sanos de referencia;

- 1. Zona interna del brazo
- 2. Zona externa del brazo
- 3. Frente

Con el propósito de estudiar el espectro de reflexión difusa para diferentes zonas corporales con distinto grado de exposición a la radiación solar. Además fueron capturados los espectros de las zonas con algún tipo de lesión indicados por el médico. En la figura 3.15 es mostrada una fotografía de cada caso.



Figura 3.15: Sitios corporales sanos de referencia, de izquierda a derecha, zona exterior del brazo, zona interior del brazo y frente.

Coordinación Óptica

Con la finalidad de capturar todos los espectros bajo las mismas condiciones experimentales, los parámetros de adquisición requeridos por la interfaz gráfica del software SpectraSuite fueron fijados para todas las medidas con la siguiente asignación: Dark Spectrum Present: Yes Reference Spectrum Present: Yes Number of Sampled Component Spectra: 1 Spectrometers: USB4C02265 Integration Time (usec): 9000 (USB4C02265) Spectra Averaged: 20 (USB4C02265) Boxcar Smoothing: 2 (USB4C02265) Correct for Electrical Dark: No (USB4C02265) Strobe/Lamp Enabled: No (USB4C02265) Correct for Detector Non-linearity: No (USB4C02265) Correct for Stray Light: No (USB4C02265) Number of Pixels in Processed Spectrum: 3648 Es importante mencionar que cada una de las zonas corporales estudiadas (referencia o

lesión indicada por el médico) fue medido cinco veces con el objeto de promediar las medidas en cada sitio corporal. El tiempo promedio para capturar los cinco espectros es de 40s.

En el HBUAP fueron estudiadas 124 personas en total, en la figura 3.16 son mostrados los histogramas de distribución por sexo y edad de la muestra estudiada.



Figura 3.16: Distribución de la muestra por (a) sexo, (b) edad

En total fueron medidos 2816 espectros, incluyendo las tres zonas de referencia y las lesiones indicadas por el personal médico.



Figura 3.17: Espectros de reflexión difusa para la frente de un voluntario

En la figura 3.17 es mostrada una gráfica del porcentaje de reflexión difusa (R_d) en función de la longitud de onda (λ) para un voluntario en la misma zona de referencia, es decir, se coloca suavemente sin presionar la punta de la sonda sobre la piel y se procede a capturar los cinco espectros presentados en el gráfico.

En la figura 3.18 son mostrados los espectros de R_d para las tres zonas de referencia estudiadas en un mismo voluntario, es importante resaltar que cada un de las curvas mostradas corresponde al promedio de las 5 medidas realizadas.



Figura 3.18: Espectros de reflexión difusa para los sitios de referencia de un voluntario

En la figura 3.19 se pueden observar los espectros de R_d correspondientes a una zona con lesión y una zona circundante sin lesión, nuevamente en esta caso cada curva corresponde al promedio de las 5 medidas realizadas.


Figura 3.19: Espectros de reflexión difusa para los sitios de referencia de un voluntario



Figura 3.20: Fotografía donde se puede apreciar el efecto producido por la presión sobre el tejido

Como fue mencionado en la sección 3.7 se ha estudiado el efecto producido por la presión de la sonda de fibra óptica sobre el tejido, en la figura 3.20 es mostrada una

fotografía con la depresión producida por la sonda al aplicar presión. El estudio fue realizado en 46 voluntarios, y la región corporal seleccionada para llevar a cabo el estudio, por comodidad para el voluntario, fue la zona interna del antebrazo. En la figura 3.21 se presenta una gráfico con las curvas para diferentes valores de presión aplicados al tejido.



Figura 3.21: Efecto de la presión sobre el tejido

3.8.2. Medición in-vivo del espectro de reflexión difusa en piel humana, estudios en el CEPREC

Los estudios realizados en el CEPREC ubicado en la ciudad de Juchitan de Zaragoza en el estado de Oaxaca, México fueron realizados en el marco de una campaña gratuita de prevención de cáncer de piel desde el día 29 de septiembre hasta el 11 de octubre de 2008, con una jornada de trabajo de 9 horas diarias. En este caso los pacientes medidos con la técnica de ERD, son pacientes remitidos por el personal médico, después de haber sido evaluados visualmente empleando el método ABCDE descrito anteriormente.



Figura 3.22: Distribución de los voluntarios CEPREC por (a) sexo, (b) edad

En el CEPREC fueron estudiados 91 pacientes y fueron medidos 1851 espectros de reflexión difusa en total, en la figura 3.22 se presenta un histograma com la distribución por edad y sexo de los pacientes estudiados.



Figura 3.23: Fotografía con espectro de reflexión difusa de un voluntario

En la figura 3.23 es mostrada una imagen de un paciente donde se indica el lugar donde fueron capturados los cinco espectros de reflexión difusa para una zona con lesión y la zona circundante sin lesión, en la imagen también se incluyen los espectros de reflexión difusa en función de longitud de onda, en el gráfico se puede apreciar la poca variación en las cinco medidas realizadas en cada zona.

En la figura 3.24 es mostrada la fotografía y el espectro de reflexión difusa de otro paciente, donde se indican las zonas donde fueron capturados los espectros de reflexión difusa.



Figura 3.24: Fotografía con espectro de reflexión difusa de un voluntario

Toda las fotografías fueron tomadas con un cámara KODAK, modelo P880, de 8.3MP y zoom óptico de 5.8 aumentos. El computador empleado para registrar los datos adquiridos por el USB4000 es una portátil VAIO modelo VGN-250FFJ.

En capítulo 5 serán discutidos en detalle los resultados obtenidos de los estudios realizados en el HBUAP y el CEPREC.

Sistema de Clasificación

El reconocimiento de patrones es una área de la tecnología conocido como Aprendizaje de Maquinas (Machine Learning) o Aprendizaje Automático. El único propósito de este método es el clasificar un grupo de patrones conocido como conjunto de pruebas en dos o mas clases de categorías. Esto es logrado al calcular las categorías del conjunto de prueba comparándolo con un conjunto de entrenamiento. Un clasificador mide la distancia entre varios puntos dados, para saber cuales puntos son mas cercanos a la meta en un modelo parametizado [67].

Parte de este trabajo se puede considerar dentro del área de reconocimiento de patrones [68] y entre las técnicas empleadas para tal fin se pueden mencionar:

- Técnicas clásicas de discriminación, basadas en el índice de discriminación de Fisher, estas técnicas tiene el inconveniente de ser aplicables a conjuntos de rasgos linealmente separables.
- Técnicas Bayesianas, en este caso se supera la limitación anterior. Sin embargo, un defecto de este enfoque reside en la necesidad de postular una densidad de probabilidad multivariante de los rasgos, para lo cual la información usual no es suficiente.
- Redes neuronales, algunas redes neuronales, tales como el preceptor multicapa y las funciones de base radial, son altamente idóneas para propósitos de clasificación. Tienen además la ventaja de acoplarse bien con las técnicas Bayesianas, por lo que a sus estimaciones se les puede dar una interpretación probabilista.

 Máquinas de soporte vectorial (MSV), esta técnica presenta la ventaja de no requerir ningún tipo de hipótesis sobre la densidad de probabilidad de los rasgos, mientras que sobre las redes neuronales ofrecen la prerrogativa de ser convenientes en términos de la dimensionalidad del problema.

Existen diversos tipos de máquinas de aprendizaje, de las cuales, las que más destacan son las Máquinas de Aprendizaje Supervisadas y las No Supervisadas [67].

En una máquina Supervisada, se tiene un conjunto de X objetos; y el objetivo es construir una regla de clasificación que prediga la clase a la cual pertenece un objeto. En las máquinas No Supervisadas, a diferencia de las mencionadas anteriormente, estas no tienen valores de salida esperados en el entrenamiento. Estas a partir de los datos ingresados encuentran características comunes, agrupando o separando los objetos o datos de acuerdo a dichas características en diferentes grupos o clases. Esto puede tomarse como el caso de la clusterización.

Entre las máquinas supervisadas se destacan las redes neuronales y las máquina de soporte vectorial. Una red neuronal artificial es un procesador distribuido en paralelo de forma masiva que tiene una tendencia natural para almacenar conocimiento de forma experimental y lo hace disponible para su uso. Las máquinas de soporte vectorial, a diferencia de las redes neuronales, abstraen el problema desde un espacio de atributos a un espacio de patrones de características, con mayor dimensión para ser separadas por un hiperplano, son consideradas un efectivo clasificador discriminante capaz de minimizar el margen de error, ya que pueden lidiar con ejemplares con una dimensionalidad muy alta.

4.1. Máquinas de Soporte Vectorial (MSV)

Las máquinas de soporte vectorial surgieron como un método de clasificación basado en la teoría de minimización del riesgo estructural de Vapnik [69]. En la actualidad MSV, tienen numerosas aplicaciones debido a su versatilidad y a sus prestaciones, se han utilizado con éxito en campos como la recuperación de información, la categorización de textos, Clasificación de bioseñales, clasificación de imágenes, etc.

Clasificar involucra necesariamente el concepto de conjunto; de manera general el proceso de clasificación consiste en realizar una separación de los elementos de un conjunto X en diferentes subconjuntos X_i , i = 1, ..., P, denominados clases, con base en la medición de las características que los elementos de X poseen [70]. Una vez que se determinan las propiedades de los subconjuntos en los que se va a clasificar el conjunto original (modelos), los elementos de éste son comparados con cada uno de los modelos, para establecer a cual de ellos pertenecen. Matemáticamente este proceso puede entenderse como una función que mapea el conjunto C al conjunto de clases $\{X_i\}_{i=1}^{P}$. Se parte de la hipótesis de que, sin importar la naturaleza del conjunto X, sus elementos pueden ser representados de forma numérica.

Para poder clasificar con las MSV, se comienza realizando una etapa de aprendizaje, esta consiste en encontrar el hiperplano h(x) = 0 que mejor separe un conjunto de datos $X \in \Re^d$ según la clase $Y \in \{-1, 1\}$ a la que pertenecen. Dicho hiperplano corresponde con aquel que maximiza la distancia al punto más próximo de cada clase, por lo tanto, estará a la misma distancia de los ejemplos más cercanos entre ellos de cada categoría.



Figura 4.1: Hiperplano separador

Según la teoría de Vapnik, el separador lineal que maximiza el margen (2 veces la dis-

tancia al punto más próximo de cada clase) es el que nos da la mayor capacidad de generalización, es decir, la capacidad de distinguir características comunes de los datos de cada clase que permitan clasificar objetos que no sean las del conjunto de entrenamiento. A los datos que se utilizan para hallar la frontera de decisión (hiperplano), se les conoce como vectores de entrenamiento o de aprendizaje. En la figura 4.1 es mostrado el hiperplano de separación para un conjunto de datos mediante MSV.

A partir de unos datos de entrada x_i las MSV nos proporcionarán su clase según la regla de clasificación, $f(x_i) = \text{signo}(h(x_i))$.

Una vez ejecutada la fase de aprendizaje, se comprueba el error cometido tomando otra muestra de datos (denominados conjunto de prueba o validación) y comparando la salida obtenida con su clase real. Generalmente de un conjunto de datos son tomados el 75% para el entrenamiento y el restante se utiliza para realizar las pruebas y comprobar la fiabilidad de las fronteras de decisión.

4.1.1. Máquinas de soporte vectorial para clasificación binaria

En los procesos de clasificación binaria sólo existen dos clases, una es considerada como positiva (y = 1) y la otra como negativa (y = -1). Es posible que los datos no sean linealmente separables o que exista un cierto nivel de ruido, según esto se pueden emplear distintos tipos de MSV [71]:

- MSV lineal con margen máximo
- MSV para la clasificación no lineal o SVM con margen blando

MSV lineal con margen máximo

Sólo se debe emplear cuando los datos son linealmente separables, es decir, cuando se puede usar como frontera de decisión un hiperplano h(x) tal que:

$$h(x) = \boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x} + b = 0 \tag{4.1}$$

donde $\boldsymbol{\omega}$ y $\boldsymbol{x} \in \Re^d$, siendo d la dimensión del espacio de entrada.

Supongamos que se tiene un conjunto de n datos linealmente separables $\{(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)\}$ donde $x_i \in \Re^d$ e $y_i \in \{-1, 1\}$. Entonces, según el lado en el

que se encuentren respecto del hiperplano, se debe cumplir:

$$\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_i} + b > 0, \text{ para } y_i = 1, \ i = 1, ..n$$
(4.2)

$$\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_i} + b < 0, \text{ para } y_i = -1, \ i = 1, ..n$$
(4.3)

Ahora las ecuaciones (4.2) y (4.3) se pueden reducir a la siguiente expresión:

$$y_i(\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_i} + b > 0), \ i = 1, ..n$$

$$(4.4)$$

En la solución del problema se considera que los puntos más cercanos al hiperplano, denominados vectores soporte, cumplen:

$$h(x_i) = 1, \text{ para } y_i = 1$$
 (4.5)

$$h(\boldsymbol{x_i}) = -1, \text{ para } y_i = -1 \tag{4.6}$$

Ahora, dentro del margen no puede haber datos del conjunto de aprendizaje, por lo tanto la ecuación (4.4) queda de la siguiente forma

$$y_i(\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_i} + b \ge 1), \ i = 1, ..n \tag{4.7}$$

La distancia de un punto a un hiperplano $d_{hp}(h, x)$ esta dada por:

$$d_{hp}(h, \boldsymbol{x}) = \frac{|h(\boldsymbol{x})|}{\|\boldsymbol{\omega}\|}$$
(4.8)

como los puntos más cercanos al hiperplano cumplen con (4.5) y (4.6) se puede afirmar que $|h(\boldsymbol{x})| = 1$, por lo tanto la distancia al hiperplano se puede escribir como:

$$d_{hp}(h, \boldsymbol{x}) = \frac{1}{\|\boldsymbol{\omega}\|} \tag{4.9}$$

Para encontrar la frontera de decisión que mejor separa un conjunto de puntos según las MSV, se resuelve un problema de optimización que consiste en maximizar la distancia (4.9) entre el hiperplano y el punto de entrenamiento más próximo, es decir,

Maximizar
$$\frac{1}{\|\boldsymbol{\omega}\|}$$
 (4.10)

sujeto a (4.7). También se posible demostrar que al minimizar $\frac{\|\boldsymbol{\omega}\|}{2}$ se obtiene la misma solución que al maximizar $\frac{1}{\|\boldsymbol{\omega}\|}$. En la figura 4.2 se presenta un esquema de la MSV con margen máximo.



Figura 4.2: MSV con margen máximo, vectores de soporte en gris

El problema se puede expresar en su formulación dual que es más fácil de resolver. Para ello, se utiliza la ecuación de Lagrange y las condiciones de Karush-Kuhn-Tucker [72]:

$$L(\boldsymbol{\omega}, b, \alpha) = \frac{1}{2} \|\boldsymbol{\omega}\|^2 + \sum_{i=1}^n \alpha_i (1 - y_i (\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_i} + b))$$
(4.11)

$$\frac{\partial L(\boldsymbol{\omega}, b, \alpha)}{\partial \boldsymbol{\omega}} = 0 \to \boldsymbol{\omega} = \sum_{i=1}^{n} y_i \alpha_i \boldsymbol{x_i}$$
(4.12)

$$\frac{\partial L(\boldsymbol{\omega}, b, \alpha)}{\partial b} = 0 \to \sum_{i=1}^{n} y_i \alpha_i = 0$$
(4.13)

$$\alpha_i(1 - y_i(\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x}_i + b)) = 0 \quad 1 \le i \le n$$
(4.14)

$$1 - y_i(\boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x}_i + b) \le 0 \quad 1 \le i \le n$$
(4.15)

$$\alpha_i \ge 0 \quad 1 \le i \le n \tag{4.16}$$

Las condiciones de Karush-Kuhn-Tucker implican que, sólo en el caso en el que los datos no son vectores soporte, $\alpha_i = 0$. Sustituyendo (4.12) y (4.13) en (4.11) se obtiene la función objetivo de formulación dual,

$$L(\boldsymbol{\omega}, b, \alpha) = \sum_{i=1}^{n} \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^{n} y_i y_j \alpha_i \alpha_j \boldsymbol{x}_i^T \boldsymbol{x}_j$$
(4.17)

Ahora es necesario maximizar,

$$\sum_{i=1}^{n} \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^{n} y_i y_j \alpha_i \alpha_j \boldsymbol{x}_i^T \boldsymbol{x}_j$$
(4.18)

sujeto a,

$$\sum_{i=1}^{n} y_i \alpha_i = 0 \quad \text{con} \quad \alpha_i \ge 0 \quad 1 \le i \le n$$
(4.19)

La solución al problema esta dada por (4.12), sustituyendo esta ecuación en (4.1) se obtiene la expresión que representa el hiperplano o frontera de decisión,

$$h(\boldsymbol{x}) = \boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x} + b = \sum_{i=1}^n y_i \alpha_i \boldsymbol{x}_i^T \boldsymbol{x} + b$$
(4.20)

donde,

$$b = -\frac{1}{2} (\max_{y_i=-1} \{ \boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_j} \} + \min_{y_i=1} \{ \boldsymbol{\omega}^T \boldsymbol{x_j} \})$$
(4.21)

En la ecuación 4.20 se puede observar que el hiperplano h(x) sólo depende de los vectores soporte ya que el resto de los puntos cumplen $\alpha = 0$, esto quiere decir que si se vuelve a calcular la frontera de decisión únicamente con los vectores soporte, se obtiene la misma solución.

MVS para la clasificación no lineal



Figura 4.3: Conjunto de datos no separables linealmente.

En el caso de que los datos no sean linealmente separables en el espacio de entrada, como es mostrado en la figura 4.3 existe la posibilidad de transformar los datos a un espacio de mayor dimensión \Im , en el cual, si es posible separar los datos por un hiperplano en la figura 4.4 es ilustrado el proceso. Para transformar a un espacio de mayor dimensión se utiliza una función Φ ,

$$\Phi: \Re^D \to \Im$$

$$x \to \phi(x)$$
(4.22)
$$F_{\text{pacto de Entrada}}$$

$$F_{\text{pacto de Entrada}}$$

$$(4.22)$$

Figura 4.4: Espacio de características.

Para encontrar la frontera de decisión para la MSV no lineal, se sustituye el producto vectorial del espacio de entrada $x_i^T x$ en la ecuación 4.20 por el del espacio de características que corresponde con la función núcleo de la siguiente forma:

$$h(\boldsymbol{x}) = \sum_{i=1}^{n} y_i \alpha_i \boldsymbol{K}(\boldsymbol{x}_i, \boldsymbol{x}) + b$$
(4.23)

Las funciones empleadas para realizar esta transformación se llaman funciones núcleo o kernels y representan el producto vectorial en el espacio de características. Algunos ejemplos de funciones núcleo que han sido sugeridas o empleadas en problemas de clasificación son las siguientes [73,74]:

• Lineal:

$$\boldsymbol{K}(x_i, x_j) = x_i^T x_j \tag{4.24}$$

Polinomial:

$$\boldsymbol{K}(x_i, x_j) = (\gamma x_i^T x_j + \mathbf{r})^{\mathrm{d}}, \quad \gamma > 0, \quad \mathrm{r}, \ \mathrm{d} \in \Re$$
(4.25)

• Función de base radial: (Radial Basis Function (RBF))

$$\mathbf{K}(x_i, x_j) = C.e^{-\gamma ||x_i - x_j||^2}, \quad \gamma > 0, \quad C \in \Re$$
(4.26)

• Sigmoide:

$$\boldsymbol{K}(x_i, x_j) = tanh(\gamma x_i^T x_j + \mathbf{r}), \quad \gamma, \ \mathbf{r} \in \Re$$
(4.27)

Aunque existen diferentes funciones núcleo, es común el uso de la Función de Base Radial, por los resultados obtenidos durante la clasificación [73, 75]. Sin embargo es posible optar por el uso de otros núcleos dependiendo de los resultados obtenidos para un caso particular.

4.1.2. MSV para clasificación multiclase

Las MSV se usan habitualmente para resolver problemas de tipo binario pero cuando el problema tiene más de dos clases es posible convertirlo en varios problemas binarios [71]. Para ello, existen 2 métodos distintos:

- 1. *Clasificación 1-v-r (del inglés one-versus-rest)*: en cada uno de los problemas se considera una clase positiva y las demás negativas, por lo que habrá que hallar tantos hiperplanos como clases existan.
- 2. *Clasificación 1-v-1 (del inglés one-versus-one)*: para cada problema se toman 2 clases de las *K* totales. Se compara cada clase con cada una de las restantes.

4.2. Ventajas de las MSV

Las MSV tienen ciertas características que las han puesto en ventaja respecto a otras técnicas populares de clasificación y/o regresión. Una de estas es que las mismas pertenecen a las disciplinas de aprendizaje automático o aprendizaje estadístico. La idea que hay detrás de este tipo de aprendizaje es la de hacer que las máquinas puedan ir aprendiendo, a través de ejemplos, las salidas correctas para ciertas entradas. Cuando los ejemplos son pares de entrada/salida el aprendizaje es conocido como aprendizaje supervisado. Dichos pares generalmente reflejan una relación funcional que mapea las entradas a las salidas. Los ejemplos que se utilizan para "enseñar" a la máquina se co-nocen como conjunto de entrenamiento. La metodología de aprendizaje permite que las MSV puedan resolver problemas sin necesidad de conocer la distribución o naturaleza de los datos con los que se desea trabajar. Además, esta característica permite obviar gran parte del trabajo del diseño y programación inherente a ciertas metodologías tradicionales.

Por otra parte, algunos autores [76] afirman que las MVS están ganando popularidad debido a sus tantas características atractivas, entre las cuales destaca la incorporación del principio de Minimización de Riesgo Estructural [69], el cual ha demostrado ser superior al principio tradicional de Minimización de Riesgo Empírico, empleado por las redes neuronales y otros métodos lineales convencionales.

En secciones anteriores se han desarrollado los aspectos teóricos relativos a las MSV, a continuación se describe la metodología empleada para llevar a cabo el proceso de clasificación de los espectros de reflexión difusa en piel humana (en el capítulo anterior fue descrito el proceso de adquisición de los espectros) empleando las MSV. La metodología para llevar a cabo el proceso consta fundamentalmente de tres partes; pre-procesado de los espectros, entrenamiento de las MSV y clasificación.

4.3. Pre-Procesado de los Datos

Como fue mencionado en el capítulo 3, en cada sitio corporal estudiado fueron colectados 5 espectros (con el arreglo experimental mostrado en la figura 3.2), el espectrómetro USB 4000 permite guardar los datos en un archivo con formato ".txt", en la figura 4.5 es mostrado el contenido de un archivo, el cual contiene un encabezado con información sobre los parámetros con los que fue capturado el espectro, dos columnas con valores numéricos, una correspondiente a la longitud de onda y otra al porcentaje de luz reflejada por la muestra en estudio.



Figura 4.5: Contenido de un archivo obtenido con el espectrómetro USB 4000

Como se puede apreciar en la figura 4.5 la columna correspondiente a la longitud de onda inicia en 345.79 nm y termina en 1037.84 nm, si se hace un gráfico del porcentaje

de reflexión difusa en función de la longitud de onda para este rango no se puede apreciar con claridad la información contenida en esta, por ello es necesario redefinir el rango de trabajo entre 400 nm y 1000 nm, en la figura 4.6 se puede apreciar este aspecto.



Figura 4.6: (a) Gráfico sin procesar, (b) Gráfico pre-procesado

Redefinido el rango de trabajo entre 400 *nm*-1000 *nm* para cada uno de los cinco espectros medidos en cada sitio corporal, se procede a eliminar la columna que contiene los valores correspondientes a la longitud de onda, esto se hace debido a que la información es redundante para el proceso de clasificación ya que los valores son exactamente iguales en todos los casos; luego se determina el promedio de las cinco columnas correspondientes al % de luz reflejada en forma difusa, obteniendo así una sola columna para cada una de los sitios corporales medidos, está última columna, que contiene 3161 elementos es normalizada. En la figura 4.7 se describe el proceso.



Figura 4.7: Esquema general del pre-procesado de los datos

La preparación o preprocesamiento de datos engloba a todas las técnicas que permiten mejorar la calidad de un conjunto de datos, de modo que los métodos de extracción de conocimiento puedan obtener mayor y mejor información [77].

Aunque es posible entrenar y posteriormente clasificar con el total de datos correspondientes a cada sitio estudiado (3161 elementos), lo ideal es reducir el número de elementos o atributos con la finalidad de disminuir el tiempo empleado computacionalmente para entrenar, clasificar y a la vez mejorar la exactitud en la clasificación.

Para reducir el número de elementos o atributos de cada espectro, se ha empleado el programa Weka en su version 3.6.0, la cual es una implementación en Java de varios algoritmos de clasificación, regresión, clustering, asociación y visualización. Weka tiene grandes ventajas entre las cuales se encuentra que es de fácil implementación debido a su interfaz gráfica y es de libre distribución y difusión. Además, Weka "es independiente de la arquitectura, ya que funciona en cualquier plataforma sobre la que se haya una máquina virtual Java disponible" [78].

Los archivos que recibe Weka son en formato ".arff" por sus siglas en inglés Attribute Relation File Format, el cual es un archivo texto que describe una lista de instancias que comparten un conjunto de atributos. Estos tipos de archivos fueron desarrollados por el Proyecto de Aprendizaje de Máquinas en el Departamento de Ciencias de la Computación de la Universidad de Waikato para su uso con el software de aprendizaje de máquina Weka. Dichos archivos se conforman de tres partes:

- 1. Cabecera, donde se define el nombre de la relación,
- 2. Declaraciones de atributos, donde se declaran los atributos que componen el archivo junto a su tipo, el cual puede ser real, entero, fecha o categórico,
- 3. Datos, donde se declaran todos los datos de la muestra separando con comas los atributos y con saltos de línea las relaciones o instancias de la muestra.

En la figura 4.8, es mostrado el formato de datos de un archivo ".arff" para ser utilizado en Weka.

ereration (aau		
ØATTRIBUTE	1	RE.	AL
@ATTRIBUTE	2	RE.	AL
@ATTRIBUTE	з	RE.	AL
ØATTRIBUTE	4	RE.	AL
ØATTRIBUTE	5	RE.	AL
•	·		
•	•		
•	•		
@ATTRIBUTE	315	55	REAL
@ATTRIBUTE	313	56	REAL
@ATTRIBUTE	315	57	REAL
ØATTRIBUTE	315	58	REAL
@ATTRIBUTE	315	59	REAL
@ATTRIBUTE	31	50	REAL
@ATTRIBUTE	31	51	REAL
@ATTRIBUTE	cla	ass	{1,2}
0			

11.1944, 11.152, 11.1274, 10.9028, 9.9662, 9.4516, 9.3612, 9.4174, 9.4592, 10.001, 10.1368, 9.9098, 10.0472, 9.4304, 9.2624, 9.3134, 9.1786, 8.985, 14.565, 14.565, 14.7062, 13.8066, 13.7224, 14.1538, 14.0486, 13.9686, 14.156, 13.6196, 12.7654, 12.6198, 12.5082, 12.7398, 13.12, 13.1284, 13.2464, 12.7746, 14.4622, 14.6782, 15.4628, 15.5462, 14.6646, 14.5524, 14.4168, 14.0116, 14.6412, 14.754, 14.7614, 14.1514, 14.7772, 14.328, 14.4, 14.0952, 14.7262, 4.8636, 9.1096, 5.5772, 5.0938, 6.5146, 6.51, 5.1284, 5.5182, 5.5448, 5.011, 5.59778, 5.5198, 6.3038, 5.5704, 5.5045, 5.2421, 5.57, 12.612, 0.71767, 0.8, 1.297, 1.3997, 2.043, 2.173, 2.0663, 1.9287, 2.1005, 1.4195, 1.5247, 1.7352, 2.0122, 1.8178, 2.00985, 1.895, 1.5383, 1.5957, 1.5922, 2.56448, 6.011, 5.59776, 2.2816, 2.232, 2.4372, 2.7878, 2.7878, 2.7878, 2.7864, 5.5046, 5.5046, 5.5046, 5.504, 5.5045, 5.5045, 5.5045, 5.5045, 5.5045, 5.5045, 5.5045, 5.4805, 5.5368, 5.4805, 5.526, 5.51262, 5.5438, 5.5045, 5.5046, 5.5

Figura 4.8: Esquema general de una archivo .arff para ser utilizado en Weka

Para transformar todos los datos al formato Weka y poder utilizar un algoritmo para reducir la cantidad de atributos fue necesario elaborar un programa en Matlab® que lee los archivos en formato ".txt" después de haber sido normalizados y los transforma al formato ".arff", ya que se tienen los datos en el formato adecuado se procede a utilizar un algoritmo para seleccionar los atributos más relevantes. El algoritmo empleado para seleccionar los atributos más relevantes fue el Best-First (para detalles sobre el algoritmo consultar [78]), logrando reducir la cantidad de atributos de 3161 a 14 para cada espectro.

4.4. Entrenamiento y prueba de las MSV

El entrenamiento consiste en presentar una serie de datos para que el método "aprenda" a partir de ejemplos. En nuestro caso el entrenamiento fue implementado con el SPRToolbox [79] de Matlab®, para entrenar se necesita el vector de atributos de cada uno de los objetos a clasificar y el proceso se hace de la siguiente forma:

- Los datos de entrada que pertenecen a una cierta clase, es decir los respectivos vectores de atributos, se colocan en una matriz.
- Se deben colocar los datos que pertenecen a una clase y después todos los que pertenecen a la siguiente clase.

 A cada dato de entrada le corresponde una salida, por lo tanto se debe indicar al método cual es la salida que le corresponde a cada entrada.

La función del Toolbox empleada para entrenar los datos es **oaasvm** (uno contra todos), en la figura 4.9 es mostrado el algoritmo básico para tal fin.

```
load ('dat_train'); % Carga los datos de entrada
options.solver = 'smo'; % Margen de optimización de secuencia miníma
options.ker = 'rbf'; % Kernel (función de base radial)
options.arg = 1; % Argumento del kernel
options.C = 0.8; % Cosntante de regularización
model = oaasvm(dat_train,options); % Entrenamiento
save('modelo', 'model'); % Guarda la función para clasificar
```

Figura 4.9: Algoritmo para el entrenamiento de la MSV

En la fase de prueba es necesario colocar en el sistema ejemplos que no sean conocidos por la MSV, pues la idea es evaluar el desempeño de la misma ante ejemplos desconocidos. Para evaluar el sistema se ha empleado la validación cruzada, para la cual se debe especificar el número k de pliegues en los cuales se quiere dividir la muestra total, de forma tal que el entrenamiento se realiza con k - 1 pliegues y la prueba con el pliegue restante. Esto se hace k veces para todas las posibles combinaciones y el error de clasificación se obtendrá mediante el promedio de las k pruebas.

4.5. Clasificación

Una vez realizado el entrenamiento, el siguiente paso es clasificar los nuevos datos y una buena clasificación depende del entrenamiento, es decir, si el vector de atributos de cada objeto es diferente, entonces la clasificación será correcta.

El núcleo utilizado para la clasificación es la **función de base radial** (ecuación 4.26), cuyos parámetros C y γ pueden ser ajustados para mejorar los porcentajes de acierto en la clasificación. En la figura 4.8 se puede observar que la función model, contiene la información de los datos entrenados y será empleada para llevar a cabo las tareas de clasificación. Es importante mencionar que una vez que se han entrenado los datos y se ha generado la función no es necesario entrenar nuevamente, pues esta función contiene la información de cada una de las clases con las cuales ha sido entrenado el sistema y es capaz de asignar una clase a un nuevo objeto.

4.6. Implementación de las MSV mediante una Interfaz Gráfica

Con la intención de facilitar el proceso de clasificación de lesiones en piel, así como de implementar en forma práctica y sencilla la técnica de espectroscopía de reflexión como una posible herramienta de diagnóstico no invasiva, se ha diseñado un interfaz gráfica para facilitar el trabajo.Para el diseño de la interfaz gráfica de usuario (GUI), se ha utilizado el GUIDE, que es un diseñador de GUIs de Matlab, la interfaz permite al usuario cargar los espectros de ERD correspondientes a los sitios de referencia y lesión, como fue mencionado anteriormente en cada caso se deben capturar 5 espectros. En la figura es mostrada la interfaz gráfica.



Figura 4.10: Interfaz gráfica diseñada para la clasificación de espectros de reflexión difusa

En las figuras 4.11 y 4.12 son mostradas las etapas para cargar los datos al sistema de clasificación de la interfaz gráfica. Es importante mencionar que se cargan los datos tanto del sitio de referencia como de la lesión, pero al momento de clasificar con el botón diseñado para tal fin, solamente son utilizados los espectros correspondientes a

la lesión. Como fue mencionado en la sección 4.7 a los cinco espectros capturados se les elimina la columna correspondiente a la longitud de onda y posteriormente son promediados, el espectro resultante es normalizado y de este último solo son empleados los elementos o atributos más relevantes.



Figura 4.11: Carga espectros de sitios de referencia



Figura 4.12: Carga espectros de lesión

Los archivos fuente se adjuntan en los Apéndices C y D.

Resultados y Discusiones

La caracterización del sistema experimental es sin lugar a dudas un aspecto muy importante de este trabajo, pues de ello dependen los resultados espectrales obtenidos. En el capítulo 3 se describe en detalle cada una de las partes del sistema experimental, son mostrados los aditamentos agregados a la fibra óptica original, la curvas de calibración y se describen los instrumentos empleados para realizar los experimentos.

Como fue mencionado en el capítulo 3, uno de los estudios realizado corresponde a los espectros de reflexión difusa en tres sitios de referencia; zona interior y exterior del brazo y en la frente.

Para cada voluntario se compara la señal espectral de la zona interior del brazo(BI) con la zona exterior (BE), así como también se compara la zona interior del brazo (BI) con la frente (Fr).

En la figura 5.1 se presentan los resultados obtenidos al comparar la señal espectral de las zonas interior y exterior del brazo en el intervalo espectral comprendido entre 400 nm y 600 nm, observando siempre, que en esta zona espectral el porcentaje de luz reflejada en forma difusa, en la zona interior del brazo siempre es mayor que el obtenido en la zona exterior del brazo. Este comportamiento se puede explicar considerando que la zona exterior del brazo es más pigmentada que la zona interior, es decir que tiene un mayor contenido de melanina, lo que produce mayor absorción de la luz enviada al tejido y por consiguiente una menor cantidad de luz reflejada.

CAPÍTULO 5.



Figura 5.1: Espectro de Reflexión difusa comparando la señal espectral de la zonas interior (BI) y exterior del brazo (BE) en el intervalo comprendido entre 400 nm y 600 nm.

Si ahora se estudia el espectro en todo el intervalo espectral medido, es decir para $400 \ nm < \lambda < 1000 nm$ se han encontrado al menos dos comportamientos que son mostrados en la figura 5.2:



Figura 5.2: Espectro de Reflexión difusa comparando la señal espectral de la zonas interior (BI) y exterior del brazo (BE) en el intervalo comprendido entre 400 nm y 1000 nm.

Estos comportamientos son

1. En la figura 5.2 (**a**), la señal espectral de la zona interior del brazo (BI) siempre es mayor que la señal espectral de la zona exterior del brazo, las causas de este comportamientos fueron mencionadas al analizar la figura 5.1.

2. En la figura 5.2 (b) Las señales correspondientes a la zona interior y exterior del brazo se cruzan en un punto, y este punto de cruce siempre se produce para longitudes de onda mayores que 600 nm. Este punto de corte se puede explicar considerando que para $\lambda > 600 nm$ la influencia de la sangre sobre el espectro de reflexión difusa son despreciables, es decir, se produce menos absorción.

Cuando se compara la señal espectral correspondiente a la cara interior del brazo (BI) y la frente (Fr) se observan cuatro comportamientos de los cuales los dos primeros son equivalentes a los casos explicados anteriormente mediante las figuras 5.1 y 5.2. Los comportamientos observados son los siguientes:

- 1. Cantidad de luz reflejada en BI es mayor que en Fr.
- 2. Los espectros BI y Fr se cruzan en un punto.
- 3. La señal espectral correspondiente a BI es igual a Fr.
- 4. La cantidad de luz reflejada por Fr es mayor que en BI.



Figura 5.3: Espectro de Reflexión difusa comparando la señal espectral de la zonas interior (BI) y la frente (Fr)

En la figuras 5.3 y 5.4 son mostrados los gráficos donde se compara BI con Fr. En la figura 5.3 (a) y (b) son mostrados los comportamientos correspondientes a los aspectos 1 y 2 descritos anteriormente.

CAPÍTULO 5.



Figura 5.4: Espectro de Reflexión difusa comparando (BI) y (Fr)

En la figura 5.4 son presentados los comportamientos correspondientes a los aspectos 3 y 4, los cuales se pueden atribuir, cuando BI=Fr, los niveles de pigmentación en las zonas estudiadas son similares 5.4 (a) y para el caso cuando BI > Fr, este comportamiento se debe a un mayor nivel de pigmentación en la frente causado por la exposición solar 5.4 (b).



Figura 5.5: Espectro de Reflexión difusa comparando (BI) y (Fr)

En la figura 5.5 es mostrado el espectro de reflexión difusa de la zona interior del brazo para tres voluntarios con diferentes tonalidades de piel, según la clasificación realizada

por el personal médico al momento de tomar la medida espectral. En el gráfico se puede apreciar que el porcentaje de luz reflejada en forma difusa disminuye de acuerdo al nivel de pigmentación de la piel. Sin embargo la determinación del tipo de piel es realizada por el personal médico de forma subjetiva, por ello más adelante se presenta un estudio sobre el contenido de melanina en la piel.



Figura 5.6: Espectro de Reflexión difusa donde se pueden apreciar variaciones debido al posicionamiento de la fibra

En vista de las posibles variaciones en el espectro de reflexión difusa, como es mostrado en la figura 5.6, fue realizado un estudio para analizar el efecto producido por la presión aplicada sobre el tejido con la punta de la fibra óptica, en la sección 3.8 fue descrito el sistema experimental empleado para tal fin. En la figura 5.7 es mostrada una fotografía donde se puede observar la depresión producida al aplicar presión sobre la piel.



Figura 5.7: Fotografía donde es mostrado el efecto producido por la presión



Figura 5.8: Espectro de reflexión difusa obtenido: (a) Por un operador con experiencia, (b) Operador sin experiencia

Empleando el sistema experimental mostrado en la figura 3.12 fue estudiado el efecto del posicionamiento de la fibra sobre la piel en el plano XY y en profundidad debido a que se ejerce diferente presión. Es importante resaltar que este efecto se hace despreciable cuando el operador del sistema ha adquirido experiencia, en la figura 5.8 se presentan dos gráficos donde se pueden comparar las variaciones de un operador experimentado y uno que se inicia en el manejo del sistema experimental al capturar los cinco espectros en un voluntario. La presión aplicada en cada caso es mostrada en la tabla 5.1.

Presión	N/m ²
P0	0.000
P1	0.202
P2	0.388
P3	0.576
P4	0.787
P5	0.933

Tablas 5.1: Presión aplicada sobre la piel

En los espectros de reflexión difusa obtenidos al aplicar presión sobre la piel, se observan el patrón "W" correspondiente a la molécula de la oxy-hemoglobina, con

mínimos alrededor de 540 nm y 578 nm, es importante resaltar que la "W" para una persona de piel morena es menos pronunciada que en el caso de la piel clara, en la figura 5.9 se observa este comportamiento.



Figura 5.9: Espectro de reflexión difusa al aplicar presión sobre la piel. (a) Voluntario Piel Morena (b) Voluntario Piel Clara.

Cuando se analizan los espectros en detalle para describir el comportamiento que presentan debido a la presión aplicada se han encontrado las siguientes situaciones:



Figura 5.10: Comportamiento del espectro de reflexión difusa al aplicar presión sobre la piel, (a) Punto Pivote (b) Curvas Paralelas.

1. Se presenta un punto pivote al aumentar la presión sobre la piel, es decir que existe una longitud de onda pivote (λ_{piv}), para la cual, al aumentar la presión

para $\lambda > \lambda_{piv}$ el porcentaje de luz refleja en forma difusa disminuye y para $\lambda < \lambda_{piv}$ este porcentaje se incrementa, en la figura 5.10(a) es mostrado este comportamiento.

2. El espectro de reflexión difusa presenta una disminución en el porcentaje de luz reflejada a medida que se aumenta la presión, es decir, las curvas presentan un comportamiento paralelo, como se puede apreciar en la figura 5.10(**b**)

$f_{bl}(\%)$	A_s
3.0	3.0
2.4	3.5
1.8	4.0
1.2	4.5
0.6	5.0
0.3	5.5

Tablas 5.2: Parámetros empleados en la simulación para el punto pivote

Estos dos comportamientos han sido simulados numéricamente en Matlab \mathbb{R} , para ello se ha empleado la formulación de Farrell mediante la ecuación 2.82 y el modelo de la piel descritos en el capitulo 2 sección 2.2.4. Los algoritmos desarrollados en Matlab son mostrados en el Apéndice B y los parámetros empleados en la simulación para obtener el punto pivote son los siguientes; fracción volumétrica de sangre (*fbl*) y amplitud de esparcimiento (A_s), en la tabla 5.2 se indican los valore numéricos. En el caso de las curvas paralelas los valores usados se presentan en la tabla 5.3.

La figura $5.11(\mathbf{a})$ muestra los resultados obtenidos de la simulación para el punto pivote y en $5.11(\mathbf{b})$ para el caso de las curvas paralelas.

$f_{bl}(\%)$	A_s
1.0	3.0
1.0	3.5
1.0	4.0
1.0	4.5
1.0	5.0
1.0	5.5

Tablas 5.3: Parámetros empleados en la simulación para las curvas paralelas



Figura 5.11: Simulación del espectro de Reflexión difusa, (a) Punto Pivote, (b) Curvas paralelas

La figura 5.12 ilustra de forma esquemática el efecto producido por la fibra al aplicar presión sobre la piel, para cada uno de los casos mencionados anteriormente.



Figura 5.12: Efecto de la presión ejercida por la sonda de fibra óptica sobre los vasos sanguíneos(círculos en estado normal ó elipses bajo el efecto de la presión) y fibras de colágeno

CAPÍTULO 5.

(líneas curvas) para los casos simulados. (a) Vasos sanguíneos y fibras de colágeno en estado normal. (b) Fracción volumétrica de sangre f_{bl} y parámetro A_s bajo el efecto de la presión. (c) Únicamente el parámetro de esparcimiento A_s es afectado durante la compresión de la piel mientras los vasos sanguíneos conserva su forma y dimensión.

Los resultados obtenidos al estudiar el efecto de presión sobre la piel están en desacuerdo con los resultados reportados por Randeberg [80], este autor indica, que al aplicar presión sobre el tejido la intensidad de la reflexión difusa aumenta. Esta diferencia se puediera explicar considerando las diferencias en la geometría de iluminación y colección de la luz. Randeberg emplea un sistema con esferas integradoras y en este trabajo se han utilizado fibras ópticas.

Los resultados reportados por Chan [81] y Reif [82] para un estudio similar estan de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, Chan reporta que al aplicar presión sobre el tejido la intensidad de la reflexión difusa disminuye como es mostrado en la figura 5.10 (**b**), para Reif el coeficiente de esparcimiento se incrementa producto de la presión aplicada como se puede observar en la figura 5.10 (**a**) a partir de los 600 nm aproximadamente. En cuanto al punto pivote, hasta donde conocemos, no hay reportes en la literatura que hagan mención a este comportamiento.



Figura 5.13: Espectro de reflexión difusa para un Lipoma

En cuanto a las lesiones estudiadas se han encontrado importantes diferencias en la señal espectral del lugar de la lesión y su correspondiente sitio de referencia en la figura 5.13 se pueden apreciar estas diferencias. El espectro del Lipoma, aunque visualmente se puede apreciar la lesión, presenta el patron "W" muy pronunciado, lo cual es característico de un alto contenido de sangre en comparación con la piel normal En las siguientes figuras se presentan los espectros para diferentes lesiones acompañados de una fotografía. En cada figura es mostrada la curva con la señal espectral en el sitio de referencia (sin lesión) y la lesión, de forma tal, que se pueden apreciar las diferencias entre las mismas.



Figura 5.14: Espectro de reflexión difusa de una lesión correspondiente a un paciente de 47 años de edad (femenino)

En el gráfico mostrado en la figura 5.14 se puede ver como disminuye la reflexión difusa en la lesión y desaparece el patron correspondiente a la "W', en la fotografía se puede apreciar que la lesión muy pigmentada por lo que absorbe más luz que el sitio de referencia



Figura 5.15: Espectro de reflexión difusa de una lesión correspondiente a un paciente de 88 años de edad (femenino)

En la figura 5.15 es mostrada una lesión, carcinoma basocelular según los resultados de la biopsia mostrados en la figura 5.16. En este caso la curva correspondiente a la lesión presenta una disminución en la reflexión, aunque el patrón correspondiente a la "W" no desaparece.

UCION ESTUDI EDAD SEXO CIBE UN HUSO DE PIEL IRS 0.5cm, AL CORTE LA SUPER TCLE ES DE LA MISMA CAR -08. 88 dues (Pa, Dassectula

Figura 5.16: Resultados de Biopsia en paciente femenino de 88 años de edad



Figura 5.17: Espectro de reflexión difusa de una lesión correspondiente a un paciente de 44 años de edad (femenino)

CAPÍTULO 5.

Nuevamente se puede observar en la figura 5.17 como disminuye la reflexión difusa y como desaparece la "W".



Figura 5.18: Espectro de reflexión difusa para una lesión en paciente femenino de 55 años de edad

()	Analuac Su, Col, Su México Tetra	D.F.	
	1015-		
			B-2009-112
	PRESENTE	FECHA RUC	19-01-2009
OMBRE DEL PACIENT	TE .	PELENA INF	21-01-2009
SPEEDMEN ENVIADO)		
0106 CLINICOS V DIAGNO	> 1 LESION DE PIEL DE REGION P > 2 LESION DE PIEL DE REGION E	ALPEBRAL IZQUIER XTERNA DEL TOBILI	DA. LO IZQUIERDO.
	> PACIENTE DE 55 AÑOS DE EDAD	ų.	
	> DX PROB, NEVOS.		
	DESCRIPCION MACROSCO	PICA:	
gris blanca hor	2 cm., con epidermis cafe grisacea granular lige mogènea y ahutada.	ramente elevada. Al	corte la dermin es
gris blanca hor Se incluye tota 2,- "LESION mide 0.9 x 0. homogénea y Se incluye tota	2 cm., con epidermis café grisacea granular lige mogénea y alutudati. limente seccionado como No.1 DE: REGION EXTERNA DEL TOBILLO IZQU 8 x 0.3 cm., con epidermis café clara granular ahulada. limente neccionada como No 2	remente elevada. Al ERIDO'': Es un fragn fina. Al corte la dem	corte la dermis es nento de piel que nis es gris blanca
gris blanca hor Se incluye tota Z-, "LESION mide 0.9 x 0. homogénea y Se incluye tota	2 cm., con epidermis cafe grissicea granular lige mogénea y atuiadat. Immete seccionado como No.1 DE REGION EXTERNA DEL TOBILIO IZQUI 8 x 0.3 cm., con epidermis café clara granular ahulada. Immete seccionada como No.2 <u>DESCRIPCION MICROSCO</u>	ramente elevada. Al ERIDO": Es un fragn fina. Al corte la dem PICA:	corte la dermis es nento de piel que nis es grin blanca
gris blance hou Se incluye tota 2,- "LESION mide 0.9 x 0.0 homogénea y Se incluye tota En los cortes i No. 1 fragmer No. 2 guestner No hay signos	2 cm., con epidermis cate grasacea granular lige mogénea y atuiadat. Immete seccionado como No.1 DE REGION EXTERNA DEL TOBILO IZQU 8 x 0.3 cm., con epidermis café clara granular ahulada. Immete seccionada como No.2 DESCRIPCION MICROSCO histológicos examinados, microscópicomente se to de piel con queratosis seborreica acendolica de malginidad.	ramente elevada. Al ERDO": Es un fragn fina. Al corte la dem PICA: observan en la lamin con áreas pigmentas el y fibrocis subdérmic	corte la dermis es nento de piel que nis es gris blanca illa marcada como las, en la laminilla a
gris blance hou Se incluye tota 2,- "LESION mide 0.9 x 0.0 homogénes y Se incluye tota En los cortes - Ne. 1 frágmer Ne. 1 frágmer Ne. hay signos	2 cm., con epidermis cate grasacea granular lige mogénea y atuiada. Imente seccionado como No.1 DE REGON EXTERNA DEL TOBILO IZQUI 8 x 0.3 cm., con epidermis caté clara granular atulada. Imente seccionada como No.2 DESCRIPCION MICROSCO histológicos examinados, microscópicamente se to de piel con queratosis seborreica acantolica de hay piel con áreas de metanosis de capa tras de malignidad. DIAGNOSTICO:	ramente elevada. Al ERIDO ¹ : Es un fragn fina. Al corte la dem PICA: observan en la lamin con áreas pigmentas al y fibrocie subdérmic	corte la dermis es nento de piel que nis es gris blanca ulla marcada como las, en la laminilla z
gis blanch hor Sie incluye tola 2 "LESIOM mide 0.9 x 0. homogenea y: Se incluye tola En los cortes 1 No. 1 fragmer No. 2 igualmer No hay signos > 1 PIEL ACANTOT > 2 PIEL D C.APA BA:	2 cm., con epidermis cate grassices granular ligr mogénes y atuitada. Imente seccionado como No. 1 DE REGION EXTERNA DEL TOBILLO IZQUI 8 x 0.3 cm., con epidermis caté clara granular ahulada. Imente seccionada como No 2 DESCRIPCION MICROSCO histológicos examinados, microscópicamente es do de piel con áreas de metanosis de capa tras- de malginidad. DIAGNOSTICO: DE REGION PARPEBRAL IZQUIERDA ICA CON AREAS PIGMENTADAS, TOTALMEP E REGION EXTERNA DEL TOBILLO IZQUIER	ramente elevada. Al ERIDO": Es un fragn fins. Al corte la dem PICA: observan en la lamini con áreas pigmentas el y fibroeis subdémic CON QUERATOSE ITE RESECADA. IDO CON FOCOS DE	corte la dermis es rento de piel que nis es gris blanca lla marcada como las, en la laminilla z. S SEBORREICA S MELANOSIS DE

Figura 5.19: Resultados de Biopsia en paciente femenino de 55 años de edad

En las figuras 5.18 y 5.19 son mostrados los resultados espectrales y de la biopsia

CAPÍTULO 5.

realizada donde se indica una lesión de Queratosis Seborreica Acantotica sin signos de malignidad.



Figura 5.20: Espectro de reflexión difusa para una lesión en paciente femenino de 58 años de edad

SUPP DE DIAGNOS	000	Dra. ANATOM	OPATOLOGA		
	Madero c	ol. sur TEL.		, , Ver.	
Nomb Mater Mèdic	ore: ial: Lesión di co: DR.JOS	e parpado inferior c E MONTERO AÑO	58 años lerecho RVE	FECHA: 21-10-08 R: 08/1166	
DESC	RIPCION MA	CROSCOPICA			
Se rei irregu	cibe fragmente lar de consiste	o en huso de piel q encia blanda, al cor	ue mide 1x0.4 c te blanco nacar	m., la epidermis cafè-gris ado.	3,
DESC	RIPCION MIC	CROSCOPICA:			
Los c	Los cortes histológicos examinados muestran neoplasia formada por células				
epiteli	oides que se	disponen en parch	es o nidos con	formación de empalizad	а
perifé	rica, hay infilt	rado inflamatorio li	nfocitario y tejio	do adiposo maduro en e	əl
lecho	quirúrgico.				
DIAG	NOSTICO	CARCINOMA BA DE PARPADO IN SIN LESION EN I	SOCELULAR DE FERIOR DEREC BORDES NI LEC	e Tipo Sólido Cho Cho Quirúrgico.	
		ATEM			

Figura 5.21: Resultados de Biopsia en paciente femenino de 58 años de edad

En las figuras 5.20 y 5.21 son mostrados los resultados espectrales y de la biopsia realizada donde se indica un Carcinoma Basocelular de tipo sólido. En la gráfica

mostrada en 5.20 se puede apreciar que la reflexión disminuye considerablemente para el caso de la lesión.

Otro aporte importante de este trabajo consiste en el sistema de clasificación, que permite evaluar al paciente/voluntario de acuerdo a la señal espectral obtenida. Para ello, se ha creado con las herramientas descritas en el capitulo 4, una interfaz gráfica mediante la cual se pueden cargar los datos correspondientes al sitio lesionado y de referencia.

La interfaz gráfica mostrada en la figura 4.10 se encarga de evaluar mediante una base de datos previamente codificada con información de espectros de sitios sanos y con lesiones. La evaluación se hace mediante una función que permite asignar una clase ("Sano" o "Lesionado") a la señal espectral que se quiere estudiar.



Figura 5.22: Preparación de datos para emprender la clasificación

Para emprender la clasificación, inicialmente fue considerado todo el espectro en el intervalo espectral comprendido entre 400 *nm* y 1000 *nm*, como fue mencionado anteriormente en cada uno de los sitios medidos se capturan cinco espectros, cada espectro esta conformado por dos columnas como es mostrado en la figura 4.5, la columna correspondiente a la longitud de onda es la misma para los 5 espectros y para el caso de la respuesta espectral (columna con porcentaje de luz reflejada) se tienen cinco columnas, de las cuales se hace un promedio, de tal forma, que para cada sitio medido tenemos dos columnas, una correspondiente a la longitud de onda y otra con la respuesta espectral promedio. Cada una de estas columnas es normalizada y posteriormente la columna con la respuesta espectral se coloca justo debajo de columna con la longitud de onda,
en la figura 5.22 se ilustra el proceso.

Finalmente la nueva columna con 6322 elementos representa nuestro espectro, a cada uno de estos espectros se le asigna una clase "+1" para una espectros correspondiente a un sitio sano y "-1" para una espectro con lesión.

Se realizaron diferente experimentos para evaluar el sistema de clasificación, en un caso se consideraron 115 espectros para entrenar el sistema y 20 para realizar las pruebas (10 corresponden a sitio sano y 10 a lesion). Los espectros con los cuales se realizaron las pruebas no fueron considerados en el entrenamiento, esto con la finalidad de probar el sistema ante nuevos casos.

La capacidad predictiva de las MSV fue evaluada empleando la validación cruzada con los métodos conocidos como "Leave-On-Out Cross-Validation" y "K-Fold Cross-Validation" con K=10. En la tabla 5.4 son mostrados los resultados obtenidos en cada caso.

Cross-Validation				
Leave-one-out	K-fold ($k = 10$)			
(86.95%)	(87.19%)			

Tablas 5.4: Exactitud de la clasificación



Figura 5.23: Exactitud de la clasificación en función del parámetro C

Como fue mencionado en el capítulo 4 sección 4.5 el parámetro C de la función del Kernel (ecuación 4.26) puede ser ajustado para obtener una mejor exactitud en la clasificación. Ajustando el parámetro γ a uno y variando C, los mejores resultados se obtiene con C=0.8. En la figura 5.23 es mostrado el comportamiento de C en función de la exactitud empleando "K-Fold Cross-Validation"

Si se considera implementar un sistema para clasificar lesiones en la piel a partir de espectros de reflexión difusa, es necesario evaluar la validez de la prueba, para ello se emplean la sensibilidad (proporción de individuos con la enfermedad que presentan un resultado positivo) que indica qué tan buena es una prueba para identificar a las personas enfermas y la especificidad (proporción de individuos sin la enfermedad que presentan un resultado negativo) indica en qué medida es buena la prueba para identificar a los individuos que no tienen la enfermedad. La relación matemática que las define esta dada por:

Sensibilidad =
$$\frac{VP}{VP + FN}$$
, Especificidad = $\frac{VN}{VN + FP}$,

donde VP son los verdaderos positivos, FN son los falsos negativos, VN son los verdaderos negativos, y FP son los falsos positivos. Los resultados obtenidos para clasificar los 20 espectros destinados a la prueba son mostrados en la tabla 5.5.

	Sensibilidad	Especificidad	Exactitud
Algoritmo	(%)	(%)	(%)
Nonlinear SVM (RBF)	81.81	88.88	85
$C = 0.8, \gamma = 1.0$			

Tablas 5.5: Resultados evaluación del sistema de clasificación

En una segunda etapa para mejorar el sistema de clasificación se consideraron 327 espectros 157 correspondientes a sitios sanos y 170 a lesiones, en este caso se han evaluado con diferentes valores, la constante de regularización (C), el argumento del kernel (γ) y el número de particiones, buscando la mejor combinación con mayor exactitud en la clasificación.

En la figura 5.24 se presentan los resultados obtenidos para las diferentes combinacio-

$K = 10, \gamma = 0.1 \qquad K =$		K = 1	$= 10, \gamma = 1.0$		$K = 10, \gamma = 10.0$		$K = 10, \gamma = 100.0$	
С	Exactitud	С	Exactitud		С	Exactitud	С	Exactitud
0.2	82.5189	0.2	84.3501		0.2	51.9602	0.2	51.9602
0.4	82.2254	0.4	84.6591		0.4	76.3542	0.4	51.9602
0.6	82.8504	0.6	84.6591		0.6	84.3371	0.6	51.9602
0.8	83.7595	0.8	85.2746		0.8	84.9621	0.8	51.9602
1.0	84.3655	1.0	84.9716		1.0	84.6591	1.0	51.9602
10.0	84.7064	10.0	84.6591		10.0	84.6686	10.0	51.9602
100.0	83.7784	100.0	85.2746		100.0	85.2652	100.0	84.3466
(a) (b)		-	((c)		(d)		

nes estudiadas. Como se puede apreciar la mejor combinación corresponde a C = 0.8, $\gamma = 1.0 \text{ con } K = 10$.

Figura 5.24: Evaluación del algoritmo para diferentes valores del parámetro C con K = 10. (a) $\gamma = 0.1$, (b) $\gamma = 1.0$, (c) $\gamma = 10.0$, (d) $\gamma = 100.0$

También fueron evaluadas diferentes funciones para el Kernel, en la tabla 5.6 se presentan los resultados y se puede apreciar la función de base radial (RBF) es la más eficiente.

$K = 10, \gamma = 1.0 \ C = 0.8$				
Función	Exactitud			
Lineal	85.2652			
RBF	85.2746			
Polinomial	85.2652			
Sigmoide	65.3406			

Tablas 5.6: Evaluación del algoritmo para diferentes funciones del kernel.

Otro aspecto importante en la clasificación son los tiempos empleados para llevar a cabo el proceso. En ese sentido se ha implementado un algoritmo de selección de atributos (Best-first) para disminuir la dimensionalidad del problema. El vector que representa un espectro consta de 3161 elementos pero aplicando este método de selección de atributos se reduce a 14 sin comprometer la exactitud en la clasificación y los tiempos de cálculo

$K = 3, \gamma = 1.0 C = 0.8$					
Atributos	Tiempo (s)	Exactitud			
Todos	549.3281	82.6389			
14 (Best-First)	14.1250	85.2746			

se reducen considerablemente. En la tabla 5.7 son mostrados los resultados y en la figura 5.25 se indican los atributos seleccionados.

Tablas 5.7: Evaluación del algoritmo empleando el método de selección de atributos



Figura 5.25: Atributos relevantes (Puntos Gris) seleccionados empleando el algoritmo Best-First.

La investigación detallada de la melanina es de vital importancia, ya que la valoración del color de la piel para el estudio de diversas condiciones patológicas como el Albinismo, Vitíligo, Melasma, Lentigo y Melanoma están asociados con la cantidad de melanina presente en la piel [83]. Con la espectroscopía de reflexión se pueden hacer estudios para cuantificar melanina, Kollias y Baqer [84, 85] indican que debido a la influencia mínima de la hemoglobina en la región espectral del infrarrojo cercano, entre 620 nm-720 nm el contenido de melanina en la epidermis es directamente proporcional a la pendiente de la densidad óptica de la piel en esta región. Como parte de este trabajo se ha realizado un *estudio preliminar* del contenido de melanina en la zona interior y exterior del brazo.

En la figura 5.26 son mostrados los espectros para tres voluntarios donde se puede apreciar como cambia la pendiente de un tipo de piel a otro.



Figura 5.26: Reflexión para tres voluntarios con diferente color de piel

A partir del espectro de reflexión difusa fue determinada la densidad óptica empleando la expresión 2.8 en términos de la reflexión difusa. En la figura 5.27 son mostradas las curvas de densidad óptica en función de la longitud de onda para tres voluntarios con diferente color de piel, es importante mencionar que el color de piel indicado fue evaluado por el personal médico que apoyo la investigación. En la figura 5.27 se indica la zona propuesta por Kollias para estudiar el contenido de melanina, así como también la región que propone en este trabajo.



Figura 5.27: Densidad óptica para tres voluntarios en la zona exterior del brazo, se indican las regiones de estudio

Coordinación Óptica

En la figura 5.28 son mostradas los gráficos de las pendientes obtenidas en las zonas de interés, en estas se puede observar una clara diferencia entre la zona interna y externa del brazo debido al nivel de pigmentación de la piel.



Figura 5.28: Pendiente obtenida a partir del espectro de densidad óptica en la zona interna y externa del brazo en: (a) Zona propuesta por Kollias (620 nm-720 nm) (b) Zona propuesta en este trabajo (750 nm-850 nm)

En la figura 5.29 se presenta un gráfico de la correlación entre las pendientes obtenidas en las zonas espectrales estudiadas, como se puede apreciar existe una buena correlación entre las dos regiones espectrales donde fueron calculadas las pendientes de la densidad óptica, por lo tanto también es posible utilizar la zona espectral propuesta en este trabajo para estudiar en el nivel de pigmentación de la piel, en la zona espectral comprendida entre 750 nm-850 nm los efectos de absorción debido a la presencia de hemoglobina son despreciables.



Figura 5.29: Correlación entre las pendientes de las regiones espectrales en estudio.

CAPÍTULO 5.

Si se hace un gráfico de la pendiente obtenida en las zonas de estudio a partir de las curvas de densidad óptica, es posible clasificar empíricamente a cada voluntario en uno de los tres tipos de piel(Claro, Moreno Claro, Moreno) indicados por el médico al momento de efectuar las medidas espectrales. En la figura 5.30 se presentan los resultados para las dos regiones espectrales analizadas, los cuales se han organizado de la siguiente forma; en el eje horizontal se han colocado los voluntarios de acuerdo al color de piel asignado por el personal médico y en el eje vertical el valor de pendiente obtenido. Las líneas verticales que aparecen en el gráfico separan los voluntarios de acuerdo al color de piel asignado por el personal médico. Las líneas horizontales separan a los voluntarios de acuerdo al valor de pendiente obtenido (La posición de la línea horizontal es colocada empíricamente).



Figura 5.30: Clasificación de los voluntarios según su tipo de piel. (a)Pendientes en región espectral 620 nm-720 nm, (b)Pendientes en región espectral 750 nm-850 nm

En la figura 5.30 se pueden apreciar tres recuadros a lo largo de la diagonal, si suponemos que las líneas horizontales efectivamente separan a los voluntarios según su nivel de pigmentación en la piel, entonces se puede concluir que todos aquellos voluntarios que estén dentro de estos recuadros han sido clasificados correctamente por el personal médico y los que están fuera del recuadro no se corresponden con el tipo de piel asignada. Como se puede apreciar el mayor nivel de confusión esta entre el tipo de piel "Moreno Claro" y "Moreno". Este resultado es muy natural debido a que el personal médico realiza una clasificación basada en la apreciación visual.



Figura 5.31: Interfaz gráfica para simular parámetros ópticos con fines académicos

El estudio y simulación del comportamiento de los parámetros ópticos es de vital importancia en el área de la óptica biomédica, por ello se ha desarrollado en Matlab \mathbb{R} , con fines académicos una interfaz gráfica que permite simular algunos parámetros ópticos. En la figura 5.31 es mostrada la Interfaz que permite simular el coeficiente de extinción molar propuesto por diferente autores, el coeficiente de absorción y esparcimiento, la dependencia de los parámetros ópticos con el factor de anisotropía "g", y la reflexión difusa en función de la longitud de onda empleando la teoría de la difusión con la aproximación de Farrell.

Conclusiones

La investigación desarrollada en este proyecto de tesis ha permitido caracterizar un sistema experimental para llevar a cabo estudios de espectroscopía de reflexión difusa en piel humana, con la finalidad de abordar el diagnóstico de lesiones en piel con técnicas ópticas no invasivas.

El sistema experimental para adquirir los espectros de reflexión difusa en piel humana se ha organizado en un portafolio de madera con la finalidad de poder trasladarlo a los sitios de trabajo que generalmente son hospitales. También se han diseñado algunos accesorios como el aditamento metálico colocado en la punta de la sonda de fibra óptica, el sistema para medir la presión aplicada sobre el tejido, el cilindro metálico que permite obtener con exactitud el espectro del patron de referencia que en este caso es un cilindro de teflón blanco y algunos accesorios que permiten transportar y medir con la sonda de fibra óptica bifurcada en forma segura.

En cuanto a la actividad experimental se ha establecido un formato de trabajo que permite organizar la información obtenida, es decir, al momento de capturar el espectro de un paciente se deben colectar algunos datos importantes como el nombre, la edad, sexo, color de piel, ocupación, exposición solar diaria en promedio, también se toman fotografías de la lesión y el rostro del paciente (cuando este lo permite) con la finalidad de construir una base de datos.

En los resultados presentados se ha demostrado que:

1. La resolución del sistema permite obtener sin dificultad el patrón "W" correspondiente a la absorción de la sangre.

- 2. Existen diferencias entre los espectros de reflexión difusa correspondientes a un sitio sano y a una lesión.
- 3. Un alto nivel de pigmentación en la piel produce un espectro con poca reflexión difusa.
- 4. La presión aplicada sobre el tejido con la sonda de fibra óptica afecta la señal espectral obtenida por ello es recomendable que el operador del sistema sea entrenado previamente.
- 5. Al estudiar el efecto de la presión sobre el tejido se han encontrado dos comportamientos bien definidos a los cuales se ha denominado como "punto pivote" y "curvas paralelas", los cuales han sido simulados numéricamente, empleando la teoría de la difusión con la aproximación de Farrel.
- 6. Se ha implementado un sistema de clasificación que permite diferenciar la señal espectral de una lesión y un sitio sano, para ello se ha implementado un algoritmo basado en las Máquinas de Soporte Vectorial logrando obtener una exactitud en la clasificación del orden del %85 con una sensibilidad y especificidad superior al 80
- 7. Se ha desarrollado una interfaz gráfica que permite cargar datos espectrales y comparar con una base de datos para asignar una etiqueta a la señal espectral en estudio de acuerdo a las reglas de clasificación definidas.
- 8. Se ha implementado un método de selección de atributos para reducir la dimensionalidad de los datos, de forma tal que se reduce el tiempo empleado para llevar a cabo la clasificación y se mantiene la exactitud, se ha logrado disminuir la cantidad de elementos o atributos de 3161 a 14 solamente, esto sin comprometer la exactitud de la clasificación.
- 9. Se ha realizado un estudio preliminar para estudiar el contenido de melanina en la piel.
- 10. Se ha desarrollado un interfaz gráfica con fines académicos que permite simular parámetros ópticos.

Es importante resaltar que los sitios denominado lesiones en este trabajo, se derivan de las apreciaciones visuales del personal médico de apoyo, de los 215 de pacientes/voluntarios medidos solamente fueron realizadas 8 biopsias, por lo que no fue posible realizar una correlación entre las señal espectral y el diagnóstico obtenido con la biopsia. También vale la pena destacar que las biopsias indicadas fueron por decisión única y exclusiva del médico, en ningún momento se ha sugerido por los resultados obtenidos mediante la técnica de espectroscopía de reflexión difusa que se pratique la biopsia a alguna de las personas que participaron en el estudio.

Trabajo Futuro

Realizar investigación para fines de diagnóstico médico con técnicas ópticas no invasivas como la espectroscopía de reflexión de difusa requiere de personal mutidisciplinario como todas las ciencias hoy día, además estudiar el comportamiento de lesiones en piel es complejo, pues son muchas las variables de las cuales no se tiene control por ello se recomienda para trabajos futuro los siguientes aspectos.

- Garantizar mediante proyecto o subsidio que todas las personas a las cuales el personal médico les solicite una biopsia le sea realizada sin costo alguno para el paciente y posteriormente realizar un estudio espectral.
- Realizar algoritmos computacionales que permitan extraer parámetros ópticos a partir del espectro de reflexión difusa obtenidos con el sistema de fibras ópticas.
- Realizar un algoritmo computacional que permita agrupar automáticamente los espectros en grupos de lesiones, esto podría implementarse con técnicas de agrupamiento de minería de datos en clusters, de tal forma que los objetos de un cluster tengan una similaridad alta entre ellos, y baja con objetos de otros clusters.
- Implementar diferentes geometrías en el arreglo de fibras ópticas para capturar la luz que emerge del tejido.
- Emplear un sistema de esferas integradoras para colectar la luz reflejada en forma difusa.

- Realizar experimentos en phantoms para establecer criterios claros que permitan cuantificar la concentración de melanina.
- Realizar un estudio en personas con el mismo color de piel, pero de diferentes edades, con la finalidad de evaluar las propiedades de esparcimiento de la piel en función de las propiedades mecánicas de la piel.

Referencias

- [1] N. Ramanujam "Fluorescence spectroscopy of neoplastic and non-neoplastic tissues". Neoplasia 2, 89 (2000).
- [2] M. G Muller., I. Georgakoudi, Q. Zhang ,J. Wu,M. Feld . "Intrisic fluorescence spectroscopy in turbid media: disentangling effects of scattering and absorption". Appl Opt 40, 4633 (2001).
- [3] M. C. Skala, G. M. Palmer, C Zhu, Q. Liu et al. "Investigation of fiber-optic probe designs for optical spectroscopic diagnosis of epithelial pre-cancers". Lasers Surg Med. 34, 25 (2004).
- [4] M. S. Patterson, B. Chance, B. C. Wilson. "Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurements of optical properties". Appl Opt. 28, 2331(1989).
- [5] A. Dizem, R. A. Schwarz, S. K. Chang, and R. Richards-Kortum. "Reflectance spectroscopy for diagnosis of epithelial precancer: model-based analysis of fiberoptic probe designs to resolve spectral information from epithelium and stroma". Appl Opt. 42, 4291 (2005)
- [6] R. A. J. Groenhuis, H. A. Ferwerda, and J. J. Ten Bosch. "Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements. 1: Theory". Appl Opt. 22, 2456 (1983).
- [7] R. Rox Anderson. ann Jhon A. Parrishd. "The optics human skin". Journal of Investigative Dermatology, 77, 13 (1981).

- [8] S. R. Arridget, M. Copet and D. T. Delpyi. "The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis" Phys. Med. Biol. 37, 7, 1531 (1992).
- [9] B. W. Pogue. and M. S. Patterson. "Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry". J. Biomed. Opt. 11, 41102 (2006).
- [10] A. Kienle, M. S. Patterson et al. "Noninvasive determination of the optical properties of two-layered turbid media". Appl Opt. 37,779 (1998).
- [11] S. A. Prahl, M. Keijzer, S. L. Jacques, A. J. Welch. "A Monte Carlo Model of Light Propagation in Tissue" SPIE Institute Series Vol. IS 5, 102 (1989).
- [12] A. D. Klose and E. W. Larsen. "Light transport in biological tissue based on the simplified spherical harmonics equations". Journal of Computational Physics 220, 441 (2006).
- [13] J. R. Mourant, I. J. Bigio, J. Boyer, R. L. Conn, T. M. Johnson, and T. Shimada, Spectroscopic diagnosis of bladder cancer with elastic light scattering, Laser Surg. Med. 17, 350-357 (1995).
- [14] G. Zonios and A. Dimou, "Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties", Opt. Express 14, 8661-8674 (2006)
- [15] I. J. Bigio and J. R. Mourant, Ultraviolet and visible spectroscopies for tissue diagnostics: fluorescence spectroscopy and elastic-scattering spectroscopy, Phys. Med. Biol. 42, 803-813 (1997).
- [16] Y. N. Mirabal, S. K. Chang, E. N. Atkinson, A. Malpica, M. Follen and R. Richards-Kortum, Reflectance spectroscopy for in vivo detection of cervical precancer, J. Biomed. Opt. 7, 587 (2002).
- [17] G. Zonios, L. T. Perelman, V. M. Backman, R. Manoharan, M. Fitzmaurice, J. Van Dam, and M. S. Feld, Diffuse reflectance spectroscopy of human adenomatous colon polyps in vivo, *Appl. Opt.* 38, 6628-6637 (1999).

- [18] V. V. Tuchin, "Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis". 2nd Edit. Spie Press, Washington USA. (2007).
- [19] K. Nouri, Skin Cancer, Mc. Graw Hill Medical. New York. (2008).
- [20] A. C. Williams , B. W., Barry. "Skin absorption enhancers", *Critical Rev. in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 9, 3, 350. (1992).
- [21] G. Murphy, K. Sellheyer, M. Mihm . *The Skin. Pathologic Basis of Disease 7th ed.* Elsevier. Pennsylvania. Saunders. (2005).
- [22] R. Anderson and J. Parrish. "The optics of human skin". *Journal of Investigative Dermatology* 77, 1, 13.(1981).
- [23] I. Meglinsky and S. Matcher, "Modelling the sampling volume for skin blood oxygenation". *Medical & Biological Engineering & Computing* 39, 44. (2001).
- [24] R. M. Lavker, T. Sun, "Heterogeneity in epidermal basal keratinocytes: morfologycal and functional correlations". Science, 215, 1239. (1982).
- [25] M. B. Teunissen, "Dinamic nature and function of epidermal Langerhnas in vivo and in vitro: a review, with emphasis on human Langerhans cells". Histochem J. 24, 697. (1992).
- [26] J. A. Atencio Delgado "Análisis de la Piel Humana Mediante Espectroscopía de Reflexión Difusa", Tesis de Doctorado, INAOE, (2007).
- [27] P. L. Ochaíta, "Dermatología: texto y atlas". Gráficas Reunidas, Madrid (1993).
- [28] World Health Organization; United Nations. Protecting Workers from Ultraviolet Radiation http://www.who.int/uv/publications/protect_workers/en/index.html [Consultado: 25/02/2009]
- [29] World Health Organization; United Nations. Global Solar UV Index http://www.who.int/uv/publications/en/GlobalUVI.pdf [Consultado: 25/02/2009]

- [30] Y. Ti and W. C. Lin, "Effects of probe contact pressure on in vivo optical spectroscopy". Opt. Express 16, 4250-4262 (2008).
- [31] A. J. Welch, M. J. C. van Gemert et al. *Optical-Thermal Response of Laser Irradiated Tissue*, Plenum, New York, USA. (1995).
- [32] D. Sharma , A. Agrawal, L. S. Matchette and T. J. Pfefer, "Evaluation of a fiberoptic-based system for measurement of optical properties in highly attenuating turbid media", BioMedical Engineering OnLine 2006, 5,49. (2006).
- [33] J. M. Cabrera , F.J. López , y F. Agulló-López , Optica Electromagnética (Fundamentos), Adison-Wesley Iberoamericana, Wilmington, Delaware, (1993).
- [34] J. Mobley , T. Vo-Dinh "Chapter 2 Optical Properties of tissue", en Biomedical Photonics Handbook, CRC Press, Washington. (2003).
- [35] S. Prahl y S.L. Jacques , "Some Biological Scatterers". http://omlc.ogi.edu/classroom/ece532/class3/scatterers.html [Consultado: 30/03/2009]
- [36] L. V. Wang and Hsin-i Wu, Biomedical Optics: Principles and Imaging, John Wiley & Sons. New Jersey, USA. (2007).
- [37] J. González Trujillo, M. Pérez Cortés, J. Méndez Gamboa, "Simulación del esparcimiento de la luz en medios biológicos mediante el método Monte Carlo". Rev. Ingeniería Univ. Autónoma de Yucatán, 12, 2 (2008).
- [38] L. G. Henyey and J. L. Greenstein "Diffuse radiation in the galaxy". J. Astrophys, 93, 70 (1941).
- [39] A. Ishimaru, "Wave Propagation and Scattering in Random Media". Reiussed by IEEE Press and Oxford University Press, New York. (1997).
- [40] R. A. J. Groenhuis, H. A. Ferwerda and J. J. T. Bosch., "Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements. 1: theory". App. Opt, 22, 2456 (1983).
- [41] J. M. Schmitt. G. X. Zhou, E. C. Walker and R. T. Wall, "Multilayer model of photon diffusion in skin". J. Opt. Soc. Am. A., 7,2141 (1990).

- [42] J. M. Steinke and A. P. Sheperd, "Diffuse reflectance of whole blood: Model for a divergin light beam". IEEE Trans. Biomed. Eng., 34, 826 (1986).
- [43] M. S. Patterson, E. Schwartz and B. C. Wilson., "Quantitative reflectance spectrophotometry for the non-invasive measurement of photon sensitizer concentration in tissue during photodynamic therapy". Proc. SPIE, 1065, 115 (1989).
- [44] T. J. Farrel, M.S Patterson, B. Wilson, "A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo". Med. Phys. 19, 879 (1992).
- [45] J. J. Duderstdat and L. J. Hamilton, *Nuclear reactor analysis*. John Wiley & Sons, New York, USA. (1976).
- [46] M. Cordo, J. R. Sendra et al. Diferenciación de piel sana y lesiones cutáneas pigmentadas mediante espectroscopía de reflectancia óptica difusa. Opt.Pura Apl.39(4)341-354 (2006).
- [47] V. Gutierrez, M. Rosa "Cancer de Piel". Rev. Fac. Med. UNAM, 46, 4 (2003).
- [48] A. W. Kopf. "Chapter 1.2 Clinical Examination of Melanocytic Neoplasms Including ABCDE Criteria" en Color Atlas of Melanocytic Lesions of the Skin, Springer-Verlag, Berlin (2007).
- [49] P. Hazen Brent, C. Bhatia Ashish , Z. Tarif and R. T. Brodell "The Clinical Diagnosis of Early Malignant Melanoma: Expansion of the ABCD Criteria to Improve Diagnostic Sensitivity". Dermatology Online Journal.5 (2) (1999).
- [50] S. L. Jacques "Skin Optics" (1998) http://omlc.ogi.edu/news/jan98/skinoptics.html[Consultado: 18/07/2008]
- [51] S.L. Jacques "Spectroscopy Determination of Tissue Optical Properties Using Optical Fiber spectrometer". Special Lecture presented at SPIE Photonics West 2005.
- [52] J. Michael Hollas, *Modern Spectroscopy 4th ed.*, John Wiley & Sons. LTD. The Atrium, Southem Gate, England. (2004)

Coordinación Óptica

- [53] D. W. Ball, *The basics of spectroscopy*, SPIE Press, Bellingham, Washington. (2001).
- [54] G. Zonios, J. Bykowski, and N. Kollias, Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy, *J. Invest. Dermatol.* 117, 1452-1457 (2001).
- [55] V. K. Bhutani, G. R. Gourley, S. Adler, B. Kreamer, C. Dalin, and L. H. Johnson, Noninvasive measurement of total serum bilirubin in a multiracial predischarge newborn population to assess the risk of severe hyperbilirubinemia, *Pediatrics*. 106, 17 (2000).
- [56] S. Friedland, D. Benaron, I. Parachikov, and R. Soetikno, Measurement of mucosal capillary hemoglobin oxygen saturation in the colon by reflectance spectrophotometry, *Gastrointest. Endosc.* 57, 492-497 (2003).
- [57] D. Riddle , Revisión de Producto: Espectrometros
 Ocean Optics y Software, Advanced Aquarist's Online
 Magazine.(http://www.advancedaquarist.com/2006/6/review-es)
- [58] Oceans Optics, USB4000 Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual, Document Number 211-00000-000-02-0606.
- [59] http://www.oceanoptics.com/technical/opticalresolution.asp
- [60] http://www.oceanoptics.com/Products/bench_grating_usb.asp
- [61] http://www.oceanoptics.com/products/benchoptions_usb4.asp
- [62] Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman. Principios de análisis instrumental, 5ª edición. McGraw-Hill/Interamericana de España, 2001.
- [63] G. Zonios and A. Dimou, Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties, Opt. Express 14, 8661-8674 (2006)
- [64] Association of Internationale de Signalisation Maritime, On Light Sources used in Visual Aids to Navigation, Guideline No. 1043.

- [65] Oceans Optics, Halogen Light Source Installation and Operation Manual, Document Number 000-10000-050-02-0505.
- [66] Oceans Optics, SpectraSuite Installation and Operation Manual, Document Number 000-20000-300-02-0607.
- [67] R. O. Duda, P. E. Hart, D. G. Stork, Pattern Classification, John Wiley and Sons, New York, EE.UU.(2001).
- [68] B. G. Batchelor, "Practical Approach to Pattern Classification". Plenum Press, New York, EE.UU. (1974).
- [69] V. Vapnik, "The Nature of Statistical Learning Theory", Springer-Verlag, New York, EE.UU. (1995, 2000).
- [70] C. M. Bishop, "Neural network for pattern recognition", Oxfor University Press, New York. (2005)
- [71] B. Smola, "Learning with Kernels support vector machines, regularization, optimization and beyond". MIT Press, Cambridge, (2002).
- [72] W. Karush "Minima of Functions of Several Variables with Inequalities as Side Constraints". M.Sc. Dissertation. Dept. of Mathematics, Univ. of Chicago, Chicago, Illinois (1939).
- [73] H. Chi-Wei, Ch. Chih-Chung, L. Chih-Jen, A Practical Guide to Support Vector Classification, http://www.csie.ntu.edu.tw/~cjlin/papers/guide/guide.pdf
- [74] A., Shigeo., "Support Vector Machines for Pattern Classification (Advances in Pattern Recognition)", Springer-Verlag New York, USA, (2005).
- [75] Burges C.J., "A Tutorial on Support Vector Machines for Pattern Recognition", Data Mining and Knowledge Discovery, Kluwer Academic Publishers, 2, 2, 121, (1998).
- [76] S. Gunn, Support Vector Machines for classification and regression, University of Southampton, United Kingdom.(1998).

- [77] S. Zhang, C. Zhang, y Q. Yang. Data preparation for data mining. Applied Artificial Intelligence, 17, 5, 375, (2003).
- [78] M. D. García., Manual de Weka. http://www.metaemotion.com/diego.garcia.morate/download/weka.pdf[Consultado: 14/01/2009]
- [79] Vojtech F. and Václav H. Statistical pattern recognition toolbox for matlab user's guide. Center for Machine Perception, Department of Cybernetics, Faculty of Electrical Engineering, Czech Technical University Technicka 2, 166 27 Prague 6, Czech Republic. 2004. http://cmp.felk.cvut.cz
 [Consultado: 25/06/2008]
- [80] L.L. Randeberg. Diagnostic Applications of Diffuse Reflectance Spectroscopy. Doctoral thesis, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway, 2005.
- [81] E. K. Chan., B. Sorg., D. Protsenko et al. "Effect of compression on soft tissue optical properties". IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron. 2, 943 (1996).
- [82] Reif R., Amorosino Mark S., Calabro Katherine w. et al. "Analysis of changes in reflectance measurements on biological tissues subjected to different probe pressure", Journal Biomed. Opt. 13(1) 10502 (2008).
- [83] G. Zonios , D. Aikaterini , I. Bassukas et al. "Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection" J. Biomed. Opt. 13, 014017 (2008).
- [84] N. Kollias and N. A Baqer, "On the assessment of melanin human skin in vivo" Photochem. Photobiol. Vol 43. pp. 49-56(1988)
- [85] N. Kollias and N. A Baqer, "Spectroscopic characteristic of human melanin in vivo", J. Invest. Dermatol. Vol 85, pp 38-42(1985)

Apéndice A Divulgación de resultados

Una parte importante de la labor científica es la divulgación de los resultados, para que sean objeto de estudio y crítica por parte de otros investigadores, y sirvan de avance para el desarrollo de conocimientos.

Parte de los resultados mostrados en este trabajo han sido presentados en congresos científicos nacionales e internacionales vinculados con el área de trabajo, así como también se han publicado resultados en revistas de circulación internacional. A continuación se indican las publicaciones y eventos en los cuales se ha participado.

Artículos

- J.A. Delgado Atencio, E.E. Orozco-Guillén, S. Vázquez y Montiel, M. Cunill Rodríguez, J. Castro Ramos, J.L. Gutiérrez, F. Martínez."Influence of probe pressure on human skin diffuse reflectance spectroscopy measurements". Optical Memory and Neural Networks, Vol. 18, No. 1, (2009)
- J. A. Delgado Atencio, M. Cunill Rodríguez, S. Vázquez y Montiel, J. L. Gutiérrez, F. Martínez, B. Gutiérrez, E.E. Orozco-Guillén, J. Castro, and A. Cornejo Rodríguez. "Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Skin Using a Commercial Fiber Optic Spectrometer", AIP Conference Proceedings. 1032, 107 (2008).

- E.E. Orozco-Guillén, J. A. Delgado Atencio, S. Vázquez y Montiel, M. Cunill Rodríguez, J. Castro. "Review of Current Techniques to Analyze Diffuse Reflectance Spectra for Diagnosis of Skin Lesions", AIP Conference Proceedings 1032, 262 (2008).
- E. E. Orozco-Guillén, J. A. Delgado-Atencio, S.Vázquez-Montiel, J. Castro-Ramos, M. Cunill-Rodríguez(1;3), J. L. Gutiérrez, F. Martínez." Classification of spectra obtained by means of diffuse reflectance for diagnosis on skin lesions with support vector machine (SVM)", ICO-21 Congress Proceedings. ISBN 0858258153, pp. 41 (2008).
- E. E. Orozco-Guillén, J. A. Delgado-Atencio, S. Vázquez-Montiel, J. Castro-Ramos, A. E. Villanueva-Luna, F. Gutiérrez-Delgado. "Diagnóstico de lesiones en piel a partir de espectros de reflexión difusa empleando algoritmos computacionales: un estudio preliminar". Proceedings Tecnoláser 2009, ISBN 978-959-7139-88-1,pp 294(2009).
- 6. J. A. Delgado Atencio, S. Vázquez y Montiel, **E. E. Orozco Guillén**, M. Cunill Rodríguez, J. Castro Ramos. "Espectroscopía de reflexión difusa de la piel humana: análisis de la validez de la aproximación de la difusión". En arbitraje.
- A. Villanueva-Luna1, J. Castro-Ramos, S. Vázquez-Montiel, A. Flores-Gil1, J.A Delgado-Atencio, E. E Orozco-Guillén. "Fluorescence and noise subtraction of Raman spectrums using wavelets". En arbitraje.
- 8. **E. E. Orozco-Guillén**, J. A. Delgado-Atencio, S.Vázquez-Montiel, J. Castro-Ramos, M. Cunill-Rodríguez, J. L. Gutiérrez. "Estudio del contenido de melanina en la piel humana mediante espectroscopía de reflexión difusa". En preparación.

Asistencia a congresos y eventos

- 1. Espectroscopía de reflexión difusa de la piel humana: análisis de la validez de la aproximación de la difusión. Tecnolaser La Habana-Cuba. (2009).
- 2. Diagnóstico de lesiones en piel a partir de espectros de reflexión difusa empleando algoritmos computacionales: un estudio preliminar. Tecnolaser La

Habana-Cuba. (2009)

- Estudio del contenido de melanina en la piel humana mediante espectroscopía de reflexión difusa. LI Congreso Nacional de Física II Congreso Latinoamericano de Física. Zacatecas-México.(2008)
- Obtención de espectros de la piel mediante espectroscopía Raman. LI Congreso Nacional de Física II Congreso Latinoamericano de Física. Zacatecas-México.(2008)
- Influence of probe pressure on human skin diffuse reflectance spectroscopy measurements. Topical Meeting on Optoinformatics 2008, Saint Petesburg-Rusia. (2008)
- Classification of spectra obtained by means of diffuse reflectance for diagnosis on skin lesions with support vector machine (SVM), ICO-21 Congress 2008, Sydney-Australia. (2008).
- Reflectancia difusa en piel humana, Semana de la Investigación Científica y Tecnológica, Benemérita Autónoma Universidad de Puebla, Puebla-México. (2008).
- Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Skin Using a Commercial Fiber Optic Spectrometer,X Mexican Symposium on Medical Physics, CINVESTAV, Mexico DF. (2008)
- Review of current techniques to analyze diffuse reflectance spectra for diagnosis of skin lesions, X Mexican Symposium on Medical Physics, CINVESTAV, DF-México.(2008)

Apéndice B

Programa empleado en la simulación

% Simulación Reflectancia difusa % Modelo de Farrell % Por Eber E. Orozco G. format long clear var clear all %Parámetros Variables S=90/100; % Saturación de Oxígeno fme=25/100; % Fracción Volumetrica de melanosomas lm=2;Fbl=2/100; % Fracción Volumetrica de Sangre SA=1.5; % Factor de esparcimineto color='bgkrmc';color=color(lm); Coefmolar= load('CoefMolar.txt'); lambda=Coefmolar(:,1); HbO2=Coefmolar(:,2); Hb=Coefmolar(:,3); CHb=150;

```
muaoxy=CHb*log(10)*(HbO2)/64500; %OK
muadoxy=CHb*log(10)*(Hb)/64500; %OK
mua.skinbaseline=0.244+85.3*exp(-(lambda-154)./(66.2)); %0k
muamel=(6.6)*10^(11)*(lambda.^(-3.33));
muaepidermis=fme.*muamel+(1-fme).*mua.skinbaseline; %OK
muasangre=S*muaoxy+(1-S)*muadoxy;
%musprima
musp_Mie.fibers=(4.59*10^3)*(lambda.^(-0.913));
musp_Rayleigh=(1.74*10^12)*(lambda.^(-4));
musp_total=musp_Mie.fibers+musp_Rayleigh; %OK
musprima=SA.*musp_total;
%muadermis
muadermis=Fbl*(muasangre)+(1-Fbl)*mua.skinbaseline;%OK
mua=muadermis:
albedo=musprima./(mua+musprima);%OK
% mutprima
mutprima=musprima+mua;%OK
% muef
muef=sqrt(3.*mua.*mutprima); %OK
```

```
nt=1.4; nv=1; nrel=nt/nv;
rd=((-1.44)/(nrel^2))+(0.710)/(nrel)+0.668+0.0636*nrel;
A=(1+rd)/(1-rd);
zo=1./(mutprima);%OK
zb=(2.*A)./(3.*mutprima);%OK
rho=0.0720;
r1=sqrt(zo.^2+rho.^2); %OK
r2=sqrt((zo+2*zb).^2+rho.^2); %OK
Coef1=(albedo./(4.*pi));%OK
B1=(1./mutprima.*(muef+1./r1));
B2=(1./mutprima+2.*zb).*(muef+1./r2);
E1=(exp(-(muef.*r1))./(r1.^2)); E2=(exp(-(muef.*r2))./(r2.^2));
Rd=Coef1.*(B1.*E1+ B2.*E2); %OK
L=2*60*10<sup>(-4)</sup>; %(La luz pasa por la epidermis dos veces)
F=exp(-muaepidermis.*L);%OK
RD=Rd.*F;
figure(1) plot(lambda,RD,color); axis([530 900 0 5])
xlabel('Wavelength [nm]'); ylabel('Rd [ua]');
% xlim([400 1000])
hold on
```

Apéndice C Programa Clasificación

```
%Programa que permite clasificar espectros mediante SVM%
clc;
tiempo=cputime;
k=5;
     %valor de k-fold
columnas=3161; % numero de filas que tiene el espectro
sanos=157; % Cantidad de espectros, sitios de referencia Sanos
lesion=170;
numesp=sanos+lesion; % Total de Espectros.
datos=zeros(sanos+lesion,columnas+1);
extension='.txt';
cad='Sano0'; %cargar datos de ejemplos sanos
for i=1:sanos
file=strcat(cad,int2str(i)); file=strcat(file,extension);
```

```
datos(i,1:columnas)=load(file)';
   datos(i,columnas+1)=1; %clase 1 = sano
end;
cad='Lesion0'; %cargar datos de ejemplos sanos
for i=1:lesion; file=strcat(cad,int2str(i));
file=strcat(file,extension);
   datos(i+sanos,1:columnas)=load(file)';
   datos(i+sanos,columnas+1)=2; %clase 2 = lesion
end;
%Normalizando la matriz de datos
mx=max(datos(:,1:columnas));
for r=1:columnas
   datos(:,r)=datos(:,r)/mx(r);
end
tamdatos=size(datos);
indicesFold=rem(randperm(tamdatos(1)),k)+1;
options.solver = 'smo'; % use SMO solver
options.ker = 'rbf'; % usa el Kernel RBF
options.arg = 1; % Argumento del Kernel
options.C = 0.8; % Constante de Regularización
precis_prom=0;
%validación cruzada con k particiones-pliegues%
for j=1:k
   j
```

```
%%crear conjunto de prueba
test=find(indicesFold==j);
conjPrueba=datos(test,1:tamdatos(2)-1)';
%%clases reales
clasespr=datos(test,tamdatos(2))';
train=find(indicesFold~=j);
conjEntr=datos(train,1:tamdatos(2)-1)';
```

% Entrenar clasificador

```
dat_train.X=conjEntr;
dat_train.y=datos(train,tamdatos(2))';
t=cputime;
model = oaasvm(dat_train,options); % Entrenamiento
tiempo_empleado = cputime-t
save('modelo', 'model');
% clasesprueba=clasificar los de prueba
dat_prueba.X=conjPrueba; %conjunto de prueba
clases = svmclass(dat_prueba.X,model) %clase que se asigna a prueba
```

% contabilizar porcentajes de presición para la i-esima partición

```
dif=clases-clasespr;
```

```
aciertos=find(dif==0);
precis_prom=precis_prom+ (length(aciertos)*100/length(test));
tiempo_empleado = cputime-t
```

end

```
disp('precision promedio:') disp(precis_prom/k);
e=cputime-tiempo
```

Apéndice D

Programa Interfaz Gráfica

```
function varargout = Interfaz150209(varargin)
gui_Singleton = 1; gui_State = struct('gui_Name', mfilename,
. . .
                   'gui_Singleton', gui_Singleton, ...
                   'gui_OpeningFcn', @Interfaz150209_OpeningFcn, ...
                   'gui_OutputFcn', @Interfaz150209_OutputFcn, ...
                   'gui_LayoutFcn', [], ...
                   'gui_Callback', []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end
if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
function Interfaz150209_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles,
```

varargin)

```
stprpath; axes(handles.logo) a=imread('inaoe.jpg'); imshow(a); axis
off handles.output = hObject; guidata(hObject, handles);
function varargout = Interfaz150209_OutputFcn(hObject, eventdata,
handles) varargout{1} = handles.output; function
referencia_Callback(hObject, eventdata, handles)
title = 'Referencia'; prompt = {'Nombre archivo', 'Ruta de acceso'
          = {'Voluntario125L10', 'F:\Doctorado...
}; def
\JuchitanEspectros\1_Sept29092008\Voluntario125\'}; lineNo = 1; g =
inputdlg(prompt,title,lineNo,def);
%Cargar Datos
for i=1:5
      archivo=[g{1},int2str(i),'.txt'];
       switch i
       case 1
           ruta=strcat(g{2},archivo);
           [A]=textread(ruta,'%s');
             case 2
             ruta=strcat(g{2},archivo);
           [B]=textread(ruta, '%s');
       case 3
             ruta=strcat(g{2},archivo);
           [C]=textread(ruta,'%s');
       case 4
             ruta=strcat(g{2},archivo);
           [D]=textread(ruta,'%s');
       case 5
             ruta=strcat(g{2},archivo);
           [E]=textread(ruta,'%s');
```

```
end
  end
for k=1:5
 switch k
     case 1
       i=1;
       %Busca el inicio de los datos
       while strcmp(A(i),'Data<<<<')==0</pre>
        i=i+1;
       end
       %Salta la basura
       i=i+509;
       data1=[];
       j=0;
       %Busca el final de los datos
       while j<=3160
         j=j+1;
         %Transformar valores en numeros
         data1(j,1)=str2double(A(i));
         i=i+1;
         data1(j,2)=str2double(A(i));
         i=i+1;
       end
     case 2
       i=1:
       %Busca el inicio de los datos
       while strcmp(B(i),'Data<<<<')==0</pre>
        i=i+1;
       end
       %Salta la basura
       i=i+509;
       data2=[];
```

```
j=0;
 %Busca el final de los datos
 while j<=3160
    j=j+1;
    %Transformar valores en numeros
    data2(j,1)=str2double(B(i));
    i=i+1;
    data2(j,2)=str2double(B(i));
    i=i+1;
  end
case 3
 i=1;
 %Busca el inicio de los datos
  while strcmp(C(i),'Data<<<<')==0</pre>
  i=i+1;
  end
 %Salta la basura
  i=i+509;
 data3=[];
 j=0;
 %Busca el final de los datos
 while j<=3160
    j=j+1;
    %Transformar valores en numeros
    data3(j,1)=str2double(C(i));
    i=i+1;
    data3(j,2)=str2double(C(i));
    i=i+1;
  end
case 4
```

```
i=1;
 %Busca el inicio de los datos
  while strcmp(D(i),'Data<<<<')==0</pre>
   i=i+1;
  end
 %Salta la basura
  i=i+509;
 data4=[];
  j=0;
 %Busca el final de los datos
  while j \le 3160
    j=j+1;
    %Transformar valores en numeros
    data4(j,1)=str2double(D(i));
    i=i+1;
    data4(j,2)=str2double(D(i));
    i=i+1;
  end
case 5
  i=1;
  %Busca el inicio de los datos
 while strcmp(E(i),'Data<<<<')==0</pre>
   i=i+1;
  end
 %Salta la basura
  i=i+509;
  data5=[];
  j=0;
  %Busca el final de los datos
```

```
while j<=3160
           j=j+1;
           %Transformar valores en numeros
           data5(j,1)=str2double(E(i));
           i=i+1;
           data5(j,2)=str2double(E(i));
           i=i+1;
           end
   end
 end
%Imprime los primeros y últimos valores para verificar
x=data1(:,1); y1=data1(:,2); y2=data2(:,2); y3=data3(:,2);
y4=data4(:,2); y5=data5(:,2);
datosn=[y1 y2 y3 y4 y5];% matriz que carga los datos
datosmedia=mean(datosn'); datos=datosmedia';
normalizado=datos./max(datos); handles.xdata=x; handles.y1data=y1;
guidata(hObject,handles)
function lesion_Callback(hObject, eventdata, handles)
title = 'Lesion'; prompt = {'Nombre archivo', 'Ruta de acceso' };
def
       = {'Voluntario125S10', 'F:\Doctorado...
\JuchitanEspectros\1_Sept29092008\Voluntario125\'}; lineNo = 1; g =
inputdlg(prompt,title,lineNo,def);
%Cargar Datos
for i=1:5
      archivo=[g{1},int2str(i),'.txt'];
       switch i
       case 1
           ruta=strcat(g{2},archivo);
           [A]=textread(ruta,'%s');
```

```
case 2
           ruta=strcat(g{2},archivo);
         [B]=textread(ruta,'%s');
     case 3
           ruta=strcat(g{2},archivo);
         [C]=textread(ruta,'%s');
     case 4
           ruta=strcat(g{2},archivo);
         [D]=textread(ruta,'%s');
     case 5
           ruta=strcat(g{2},archivo);
         [E]=textread(ruta,'%s');
    end
  end
for k=1:5
 switch k
     case 1
       i=1;
       %Busca el inicio de los datos
       while strcmp(A(i),'Data<<<<')==0</pre>
        i=i+1;
       end
       %Salta la basura
       i=i+509;
       data1s=[];
       j=0;
       %Busca el final de los datos
       while j<=3160
         j=j+1;
         %Transformar valores en numeros
         data1s(j,1)=str2double(A(i));
         i=i+1;
```
```
data1s(j,2)=str2double(A(i));
    i=i+1;
  end
case 2
 i=1;
 %Busca el inicio de los datos
 while strcmp(B(i),'Data<<<<')==0</pre>
  i=i+1;
  end
 %Salta la basura
  i=i+509;
 data2s=[];
 j=0;
  %Busca el final de los datos
 while j<=3160
    j=j+1;
    %Transformar valores en numeros
    data2s(j,1)=str2double(B(i));
    i=i+1;
    data2s(j,2)=str2double(B(i));
    i=i+1;
  end
case 3
 i=1;
 %Busca el inicio de los datos
 while strcmp(C(i),'Data<<<<')==0</pre>
  i=i+1;
  end
 %Salta la basura
  i=i+509;
```

```
data3s=[];
  j=0;
  %Busca el final de los datos
  while j \le 3160
    j=j+1;
    %Transformar valores en numeros
    data3s(j,1)=str2double(C(i));
    i=i+1;
    data3s(j,2)=str2double(C(i));
    i=i+1;
  end
case 4
  i=1;
  %Busca el inicio de los datos
 while strcmp(D(i),'Data<<<<')==0</pre>
   i=i+1;
  end
  %Salta la basura
  i=i+509;
  data4s=[];
  j=0;
  %Busca el final de los datos
 while j<=3160
    j=j+1;
    %Transformar valores en numeros
    data4s(j,1)=str2double(D(i));
    i=i+1;
    data4s(j,2)=str2double(D(i));
    i=i+1;
  end
```

```
case 5
         i=1;
         %Busca el inicio de los datos
         while strcmp(E(i),'Data<<<<')==0</pre>
          i=i+1;
         end
         %Salta la basura
         i=i+509;
         data5s=[];
         j=0;
         %Busca el final de los datos
         while j<=3160
           j=j+1;
           %Transformar valores en numeros
           data5s(j,1)=str2double(E(i));
           i=i+1;
           data5s(j,2)=str2double(E(i));
           i=i+1;
           end
   end
 end
%Imprime los primeros y últimos valores para verificar
y1s=data1s(:,2); y2s=data2s(:,2); y3s=data3s(:,2); y4s=data4s(:,2);
y5s=data5s(:,2);
datosn=[y1s y2s y3s y4s y5s];% matriz que carga los datos
datosmedia=mean(datosn'); datos=datosmedia';
normalizado=datos./max(datos); dat=normalizado; handles.dat=dat;
handles.y1datas=y1s; guidata(hObject,handles)
```

```
function graficar_Callback(hObject, eventdata, handles)
```

```
datx=handles.xdata; daty1=handles.y1data; datys=handles.y1datas;
axes(handles.graficas) plot(datx,daty1,datx,datys); grid on
title('Sitos de Referencia y Lesion') xlabel('Longitud de Onda
(nm)')
ylabel('Reflexión (%)')
legend('Sitio con Lesion','Sitio de Referencia')
```

```
% -----
function documento_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
function ayuda_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
function espectroscopia_Callback(hObject, eventdata, handles)
winopen('buildgui.pdf');
% -----
function clasificacion_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
function Sexp_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
function como_cargar_datos_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
function Untitled_6_Callback(hObject, eventdata, handles)
% ------
function impresultados_Callback(hObject, eventdata, handles)
% ------
function version_Callback(hObject, eventdata, handles)
```

function Clasificar_Callback(hObject, eventdata, handles)

load modelo;

Coordinación Óptica

```
load atributos;
datclasificar=handles.dat;
an=datclasificar; atributos=[[an(selec(1)) an(selec(2)) an(selec(3))
an(selec(4)) an(selec(5)) an(selec(6)) an(selec(7)) an(selec(8))
an(selec(9)) an(selec(11)) an(selec(12)) an(selec(13))]];
clase=svmclass(atributos',model); handles.clase=clase; if clase==1
    a='SANO';
else
    a='ENFERMO';
end
set(handles.Salida, 'String', a);
function Salida_Callback(hObject, eventdata, handles)
function Salida_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),
get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end
function figure1_CloseRequestFcn(hObject, eventdata, handles)
opc=questdlg(';Desea Salir del Programa?', 'SALIR', 'SI', 'NO', 'NO');
if strcmp(opc,'NO')
    return
end
```

```
delete(hObject);
```