



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Facultad de Ingeniería

Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

Determinación de saturación de oxígeno tisular mediante espectroscopía de reflectancia difusa

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestría en Ingeniería Mecánica con Orientación Terminal en
Termofluidos

Presenta:

Ing. Laura Lucia Sánchez Ramos

Asesor:

Dra. Beatriz Morales Cruzado

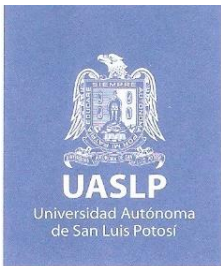
Co Asesor:

Dr. Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez

San Luis Potosí, S. L. P.

Febrero de 2022





19 de agosto de 2021

**ING. LAURA LUCIA SÁNCHEZ RAMOS
P R E S E N T E.**

En atención a su solicitud de Temario, presentada por los **Dres. Beatriz Morales Cruzado y Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez**, Asesora y Coasesor de la Tesis que desarrollará Usted, con el objeto de obtener el Grado de **Maestra en Ingeniería Mecánica con Orientación Terminal en Termofluidos**. Me es grato comunicarle que en la sesión del H. Consejo Técnico Consultivo celebrada el día 19 de agosto del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

TEMARIO:

“Determinación de saturación de oxígeno tisular mediante espectroscopía de reflectancia difusa”

Introducción.

1. Patología del pie diabético y técnicas de diagnóstico actuales.
2. Fundamentos y aplicaciones de oximetría.
3. Propagación de radiación óptica en piel humana.
4. Desarrollo de técnica experimental y algoritmo para obtención de saturación de oxígeno tisular.
5. Medición de saturación de oxígeno tisular *in vivo*.

Conclusiones.

Apéndices.

Referencias.

“MODOS ET CUNCTARUM RERUM MENSURAS AUDEBO”

A T E N T A M E N T E


DR. EMILIO JORGE GONZÁLEZ GALVÁN
DIRECTOR

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIRECCIÓN

www.uaslp.mx

Copia. Archivo
*etn.

Av. Manuel Nava 8
Zona Universitaria • CP 78290
San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826 2330 al39
fax (444) 826 2336



UASLP
Universidad Autónoma
de San Luis Potosí



FACULTAD DE
INGENIERÍA



CENTRO DE
**INVESTIGACIÓN
Y ESTUDIOS
DE POSGRADO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE INGENIERÍA

Área de Investigación y Estudios de Posgrado

Aclaración

El presente trabajo que lleva por título:

“Determinación de saturación de oxígeno tisular mediante espectroscopía de reflectancia difusa”

se realizó en el periodo enero de 2020 a enero de 2022 bajo la dirección de la Dra. Beatriz Morales Cruzado y del Dr. Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez.

Originalidad

Por este medio aseguro que he realizado este documento de tesis para fines académicos sin ayuda indebida de terceros y sin utilizar otros medios más que los indicados.

Las referencias e información tomadas directa o indirectamente de otras fuentes se han definido en el texto como tales y se ha dado el debido crédito a las mismas.

El autor exime a la UASLP de las opiniones vertidas en este documento y asume la responsabilidad total del mismo.

Este documento no ha sido sometido como tesis a ninguna otra institución nacional o internacional en forma parcial o total.

Se autoriza a la UASLP para que divulgue este documento de Tesis para fines académicos.

Laura Lucia Sánchez Ramos

RESUMEN

La oxigenación tisular es un parámetro que permite determinar el estado de salud de los seres humanos, en los pacientes diabéticos es particularmente importante evaluar este parámetro como indicativo de afectación microcirculatoria en las extremidades. En este trabajo de tesis se desarrolló una metodología para obtener la saturación de oxígeno tisular a partir de mediciones de reflectancia difusa realizadas con un arreglo experimental de esfera integradora. Se implementó un algoritmo computacional para automatizar la metodología con el objetivo de establecer una técnica de diagnóstico médico que sea no invasiva, de fácil aplicación y que requiera un menor tiempo de evaluación. Se realizaron mediciones de saturación de oxígeno tisular a un grupo de voluntarios a los que se aplicó una prueba de oclusión vascular y se observó que al incrementar la presión aplicada en el brazo de cada voluntario la saturación de oxígeno tisular disminuye progresivamente. Con esto podemos considerar que la técnica desarrollada puede ser un buen método para monitorear los cambios en la hemodinámica sanguínea de pacientes con algún tipo de patología en la que su oxigenación tisular se vea comprometida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi asesora la Dra. Beatriz Morales Cruzado y a mi co-asesor el Dr. Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez por su tiempo, dedicación y su orientación en la realización de este trabajo de tesis.

También agradezco al Dr. Dirk Frederik De Lange, al Dr. Ricardo Romero Méndez, a la Dra. Geydy Luz Gutiérrez Urueta y al Dr. Francisco Oviedo Tolentino por formar parte del comité evaluador, ya que sus comentarios y su retroalimentación han sido importantes en el desarrollo de la presente tesis.

Mi agradecimiento al Dr. Erick Sarmiento Gómez por su tiempo y ayuda en las dudas generadas respecto a la programación e impresión en 3D.

A todos mis profesores del posgrado en Ingeniería Mecánica les agradezco por compartir sus conocimientos y ser parte de la formación en mis estudios de maestría.

A mis compañeros del posgrado por su apoyo y compañía, especialmente a Diego, Gaby, Areli y Sergio.

A mi familia por su amor, apoyo y comprensión en cada etapa de mi vida.

Al CIEP por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría y al CONACYT por la beca otorgada.

DEDICATORIA

*“Porque el Señor da la sabiduría; conocimiento e inteligencia brotan de sus labios”.
Proverbios 2:6*

A Dios por acompañarme en cada paso de mi vida y permitirme alcanzar cada meta.

A mi padre por ser parte de cada logro en mi vida a pesar de la distancia.

A mi madre por su gran ejemplo de esfuerzo y por motivarme cada día a ser una mejor persona.

A mi hermana por su confianza y su apoyo incondicional.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	XV
LISTA DE FIGURAS.....	XVII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. PATOLOGÍA DEL PIE DIABÉTICO Y TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO ACTUALES.....	5
1.1 Factores de riesgo	5
1.2 Métodos de evaluación del pie diabético	6
1.2.1 Neuropatía sensorial periférica	6
1.2.1.2 Diapasón	7
1.2.1.3 Biotensiómetro	7
1.2.2 Enfermedad vascular periférica.....	8
1.2.2.1 Índice tobillo-brazo	8
1.2.2.2 Tensión de oxígeno transcutáneo (TcPO ₂)	9
1.2.2.3 Doppler	10
1.3 Microcirculación	11
1.3.1 Técnicas de evaluación clínicas	13
1.3.1.1 Capilaroscopia.....	13
1.3.1.2 Videocapilaroscopia.....	13
1.3.1.3 Flujometría láser Doppler	14
1.3.1.4 Termografía	14
1.3.1.5 Tensión de oxígeno transcutáneo (TcPO ₂)	15
1.3.2 Técnicas de evaluación en la investigación clínica	15
1.3.2.1 Fotopletismografía.....	15
1.3.2.2 Tomografía de coherencia óptica	16
1.3.2.3 Espectroscopía de polarización ortogonal.....	16
1.3.2.4 Espectroscopía de infrarrojo cercano.....	17
1.3.2.5 Espectrofotometría de reflectancia tisular.....	17
1.4 Resumen del capítulo	17
CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES DE OXIMETRÍA.....	19
2.1 Transporte de oxígeno	19
2.2 Saturación de oxígeno.....	20
2.3 Oximetría.....	21
2.4 Técnicas de medición	22

2.4.1	Oximetría de pulso	22
2.4.1.1	Aplicaciones de la pulsioximetría	24
2.4.1.2	Limitaciones de la pulsioximetría	25
2.4.2	Espectroscopía de infrarrojo cercano.....	25
2.4.2.1	Aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo cercano.....	26
2.4.2.2	Limitaciones de la espectroscopia de infrarrojo cercano.....	26
2.4.3	Espectrofotometría de reflectancia de luz blanca.....	27
2.4.3.1	Aplicaciones de la espectrofotometría de reflectancia de luz blanca.....	28
2.4.3.2	Limitaciones de la espectrofotometría de reflectancia de luz blanca.....	28
2.4.4	Oximetría venosa de fibra óptica	29
2.4.4.1	Aplicaciones de oximetría venosa de fibra óptica	30
2.4.4.2	Limitaciones de oximetría venosa de fibra óptica	30
2.5	Resumen del capítulo	30
CAPÍTULO 3. PROPAGACIÓN DE RADIACIÓN ÓPTICA EN PIEL HUMANA		33
3.1	Fisiología de la piel	33
3.1.1	Epidermis	33
3.1.2	Dermis.....	35
3.1.3	Tejido Subcutáneo	35
3.2	Radiación electromagnética.....	35
3.2.1	Espectro electromagnético.....	36
3.3	Propagación de radiación en piel.....	36
3.3.1	Absorción.....	37
3.3.2	Esparcimiento	39
3.3.3	Reflexión.....	43
3.3.4	Transmisión	44
3.4	Teoría de transporte radiativo	44
3.4.1	Ecuación de transferencia radiativa	44
3.4.2	Solución de la Ecuación de transferencia radiativa.....	46
3.5	Resumen del capítulo	51
CAPÍTULO 4. DESARROLLO DE TÉCNICA EXPERIMENTAL Y ALGORITMO PARA OBTENCIÓN DE SATURACIÓN DE OXÍGENO TISULAR.....		53
4.1	Método para la determinación de parámetros ópticos en piel humana.....	53
4.1.1	Método Adding Doubling	53
4.1.2	Inverse Adding Doubling.....	53

4.2	Arreglo experimental	56
4.2.1	Espectrofotómetro	57
4.2.2	Fibra óptica	59
4.2.3	Esfera integradora	60
4.2.4	Fuentes de luz.....	61
4.2.5	Otros componentes	61
4.3	Metodología experimental.....	62
4.3.1	Medición de reflectancia difusa en piel humana	64
4.4	Desarrollo de algoritmo computacional “OTOS: Obtaining tissue oxygen saturation” 66	
4.4.1	Funcionamiento del algoritmo	66
4.4.2	Interfaz gráfica del algoritmo	70
4.4.3	Aplicación del algoritmo para la obtención de StO ₂	71
4.5	Resumen del capítulo	71
CAPÍTULO 5. MEDICIÓN DE SATURACIÓN DE OXÍGENO TISULAR <i>IN VIVO</i>		73
5.1	Procedimiento de medición	73
5.1.1	Prueba de oclusión vascular	73
5.1.2	Número de voluntarios.....	74
5.1.3	Preparación para la prueba	76
5.2	Medición de los espectros de coeficiente de absorción <i>in vivo</i>	77
5.2.1	Factores que afectan las mediciones y sus efectos	78
5.2.2	Análisis por componentes principales	80
5.3	Medición de saturación de oxígeno tisular <i>in vivo</i> con algoritmo "OTOS"	82
5.3.1	Estudio de repetibilidad.....	89
5.3.2	Comparativa de resultados obtenidos vs literatura	92
5.3.3	Comparativa con técnica Monte Carlo Multi-Layered	95
5.4	Diseño de dispositivo de medición portátil.....	99
5.5	Resumen del capítulo	99
CONCLUSIONES		101
APÉNDICES.....		105
REFERENCIAS		115

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Relación entre los valores del ITB y la enfermedad vascular periférica.	9
Tabla 2. Esquema para recuperación de propiedades ópticas [79].	55
Tabla 3. Desviación estándar de muestra preliminar para cálculo de tamaño de muestra. El promedio de la desviación estándar es 2.65.	75
Tabla 4. Revisión de número de voluntarios en diversos estudios.	76
Tabla 5. Factores que influyen en las mediciones.	80
Tabla 6. Matriz de correlación entre principales cromóforos de la piel.	81
Tabla 7. Matriz de correlación entre Eigenvalores.	81
Tabla 8. Matriz de Eigenvectores.	81
Tabla 9. Características evaluadas de los voluntarios considerados.	83
Tabla 10. Valores de las pendientes obtenidas para cada voluntario mediante ajuste lineal entre 630-700 nm.	84
Tabla 11. Determinación de longitud de onda para cálculo de StO_2 (considerando el valor absoluto de la pendiente).	84
Tabla 12. Valores de StO_2 para cada voluntario y condición de presión.	85
Tabla 13. Pruebas estadísticas utilizadas para determinar confiabilidad [109].	90
Tabla 15. Valores de StO_2 obtenidos de 3 mediciones en condición normal.	92
Tabla 16. Estudios que evaluaron StO_2 para diferentes aplicaciones médicas.	94
Tabla 17. Valores de coeficientes de absorción empleados en modelo de 3 capas.	96
Tabla 18. Error porcentual de reflectancia difusa en modelo de 1 capa.	96
Tabla 19. Error porcentual de reflectancia difusa en modelo de 3 capas.	97
Tabla 20. Error porcentual obtenido incrementando el número de fotones en el cálculo con MCML.	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. La DM es responsable de una variedad de patologías del pie que contribuyen a las complicaciones de ulceración y amputación (imagen tomada y adaptada de [11]).....	5
Figura 2. Ilustración de la aplicación de la prueba de monofilamento de Semmes Weinstein. Los círculos oscuros representan los puntos donde se aplica el monofilamento y los círculos blancos representan otros puntos de prueba recomendados.....	7
Figura 3. Ilustración de la aplicación de la prueba de diapasón y descripción de los puntos de aplicación.....	7
Figura 4. Ilustración de la aplicación de prueba con biotensiómetro.....	8
Figura 5. Ilustración de la aplicación de la prueba de índice tobillo-brazo (ITB).	9
Figura 6. Ilustración de la aplicación de la técnica de TcPO ₂ y estructura interna del dispositivo de medición [13].....	10
Figura 7. Ilustración de medición con ultrasonido en modo B y con imagen Doppler color [14].	11
Figura 8. a) Unidad de microcirculación y b) microcirculación cutánea (imágenes tomadas y adaptadas de [16]).....	12
Figura 9. Forma y fases de onda de la fotopleletismografía (imagen tomada y adaptada de [16]).	16
Figura 10. Transporte y suministro de oxígeno desde los alvéolos pulmonares a las células de los tejidos.....	19
Figura 11. Molécula de Hemoglobina.....	20
Figura 12. Coeficientes de extinción molar de hemoglobina oxigenada (HbO ₂) y desoxigenada (Hb) (imagen tomada y adaptada de [33]).....	21
Figura 13. Principio de funcionamiento del pulsioxímetro (imagen tomada y adaptada de [33]).	23
Figura 14. Componentes de un pulsioxímetro (imagen tomada y adaptada de [33]).	24
Figura 15. Funcionamiento de la tecnología NIRS (imagen tomada de [43]).....	26
Figura 16. Principio de funcionamiento por espectrofotometría de reflectancia de luz blanca (imagen tomada y adaptada de [33]).....	28
Figura 17. Oxímetros intravenosos de fibra óptica de reflexión (izquierda) y transmisión (derecha). Las fibras ópticas se encuentran en gris y la pared del catéter en negro (imagen tomada de [31])......	29
Figura 18. Colocación de un catéter de oximetría venosa (sensor de fibra óptica) en la arteria pulmonar (imagen tomada y adaptada de [33]).	30
Figura 19. Estructura de la piel (imagen tomada y adaptada de [54]).....	33
Figura 20. Espectro de radiación electromagnética (imagen tomada y adaptada de [59]).	36

Figura 21. Propagación de radiación en un medio turbio (imagen tomada y adaptada de [69]).	37
Figura 22. Coeficiente de absorción de principales cromóforos en la piel (imagen tomada y adaptada de [67]).	38
Figura 23. Absorción de luz por un cromóforo (imagen tomada y adaptada de [68]).....	38
Figura 24. Clasificación del esparcimiento de acuerdo con la dimensión de los elementos esparcidos (imagen tomada y adaptada de [68]).	40
Figura 25. Esparcimiento de luz (imagen tomada y adaptada de [68]).	40
Figura 26. Esparcimiento de luz mediante una partícula esférica.	42
Figura 27. Refracción de luz en un medio.	43
Figura 28. Esquema de un elemento de volumen cilíndrico diferencial.	45
Figura 29. Arreglo experimental para medición de reflectancia difusa.	57
Figura 30. Componentes del espectrofotómetro USB4000 (imagen tomada de[81]).	57
Figura 31. Refracción en ángulo crítico (imagen tomada de[83]).	59
Figura 32. Propagación de un haz de luz en una fibra óptica (imagen tomada de[83]).	60
Figura 33. Esfera integradora Newport 819C-SF-6 (imagen tomada y adaptada de[84]).....	60
Figura 34. Lámpara de tungsteno halógena HL-2000 (imagen tomada y adaptada de[86]).	61
Figura 35. Láser infrarrojo modelo BWF-975-450E (imagen tomada y adaptada de[87]).	61
Figura 36. Coeficientes de extinción molar para Hb y HbO_2 [88].	63
Figura 37. Medición de reflectancia difusa con esfera integradora.....	65
Figura 38. Medición de R_0 , R_1 y RR para cálculo de MR	66
Figura 39. Diagrama de flujo de rutinas para obtención de la StO_2	69
Figura 40. Regiones de la interfaz gráfica.....	70
Figura 41. Fases de una prueba de oclusión vascular (imagen tomada y adaptada de [100]). ..	74
Figura 42. Colocación de esfigmomanómetro para mediciones de StO_2	76
Figura 43. Coeficientes de absorción de 7 voluntarios para cada condición de presión aplicada: a) V1(H), b) V2(H), c) V3(H), d) V4(H)), e) V5(M), f) V6(M) y g) V7(M).	78
Figura 44. Gráficas obtenidas del Análisis de Componentes Principales: a) Gráfica de sedimentación, b) Gráfica de influencias, c) Gráfica de doble proyección y d) Ampliación de gráfica de doble proyección.	82
Figura 45. Gráficas de valores de StO_2 obtenidos para cada condición de presión: a) femenino, b) masculino, c) 10-20 años, d) 20-30 años, e) 30-40 años, f) 90-104 mmHg, g) 105-114 mmHg y h) 115-130 mmHg.	87
Figura 46. Gráficas de valores de StO_2 obtenidos respecto al tiempo de prueba: a) femenino, b) masculino, c) 10-20 años, d) 20-30 años, e) 30-40 años, f) 90-104 mmHg, g) 105-114 mmHg y h) 115-130 mmHg.	89

Figura 47. Red vascular cutánea.....	95
Figura 48. Gráficas de convergencia de reflectancia difusa del voluntario V2(H) para: a) modelo 3 capas – 622 nm, b) modelo 3 capas – 975 nm, c) modelo 1 capa – 622 nm y d) modelo 1 capa – 975 nm.....	98
Figura 49. Prototipo de dispositivo de medición portátil.....	99

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas de salud que presenta mayor afectación a nivel mundial en la actualidad es la diabetes mellitus (DM). En el año 2019 la DM ingresó al top 10 de las principales causas de muerte a nivel mundial, debido a un incremento del 70% desde el año 2000 [1]. La DM se caracteriza por niveles anormales de glucosa en sangre, que a su vez conduce al deterioro a largo plazo de muchos órganos y tejidos en el cuerpo.

Una de las principales complicaciones de la DM es el síndrome de pie diabético el cual puede ser derivado de un deterioro microvascular y neurológico que provoca una afectación en la circulación periférica y una pérdida de sensibilidad. Esto da como resultado un mayor riesgo de que los pacientes con pie diabético desarrollen úlceras graves que en muchos casos requieren amputación parcial o total de la extremidad, constituyendo la principal causa de amputaciones no traumáticas. El síndrome del pie diabético causa ulceración en aproximadamente el 15% de los pacientes diabéticos y dicho deterioro conduce a la amputación en aproximadamente el 2.5% de los casos, disminuyendo su calidad de vida y generando costos extraordinarios para los pacientes y los sistemas de salud pública [2].

Entre los métodos de detección para un diagnóstico temprano que tienen el objetivo de tomar acciones preventivas se encuentran la evaluación podiátrica que consiste en una prueba subjetiva conocida como monofilamento de Semmes Weinstein, que evalúa el deterioro neurológico [3]. También se encuentra la prueba de índice tobillo braquial (ITB), que se utiliza para comparar el flujo sanguíneo en las arterias del brazo y el tobillo, y representa un indicador de deterioro vascular [4]. Otro método empleado para evaluar deterioro vascular es la ecografía Doppler, que emplea un transductor para emitir ondas sonoras que rebotan en los vasos sanguíneos y se reflejan para crear imágenes del estado de dichos vasos [5]. Aunque estos métodos pueden aportar información importante sobre la condición de los pacientes con pie diabético, generalmente requieren de un tiempo de prueba prolongado y en algunos casos como Semmes Weinstein no proporcionan un resultado cuantitativo de la condición analizada.

Las tecnologías ópticas están emergiendo actualmente como herramientas prometedoras para diagnóstico médico. La óptica tiene diversas ventajas como la radiación no ionizante, ser de bajo costo, así como tener alta especificidad molecular y bioquímica [6]. Una de las principales aplicaciones de las tecnologías ópticas es la oximetría, que se emplea para medir el nivel de oxigenación y se aplica extensamente en ámbitos clínicos. En oximetría, el grado de oxígeno en la sangre arterial y venosa se establece midiendo la saturación de oxígeno arterial (SaO_2) y la saturación de oxígeno venoso (SvO_2). Los niveles de oxígeno medidos en el tejido se pueden determinar midiendo la saturación de oxígeno del tejido (StO_2).

Dado que la microcirculación sanguínea se ve afectada en los pacientes que presentan síndrome de pie diabético, la oxigenación tisular es uno de los parámetros más relevantes

durante el proceso de la enfermedad. Debido a que las úlceras del pie ocurren cuando la falta de oxígeno tisular evita que se produzca regeneración celular, las mediciones cuantitativas no invasivas de la concentración de hemoglobina y la saturación de oxígeno tisular tienen el potencial de proporcionar información para la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas. En la actualidad no existe una técnica óptica que sea fácil de usar, confiable y económica para monitorear la oxigenación tisular, por lo que en este trabajo de tesis se presenta una propuesta que pueda satisfacer dichas necesidades.

La espectroscopía es una de las técnicas empleadas para la evaluación de la microcirculación sanguínea, ya que permite el análisis de las propiedades ópticas del tejido. Debido a que las moléculas biológicas tienen espectros de absorción únicos en función de la longitud de onda de la luz, es posible que puedan detectarse con una concentración precisa mediante espectroscopía. Se han desarrollado investigaciones aplicando diversas técnicas de espectroscopía óptica principalmente en etapas avanzadas del pie diabético; como imagen hiperespectral (HSI, por sus siglas en inglés) [7], onda difusa de densidad de fotones (DPDW, por sus siglas en inglés) [8], espectroscopía de infrarrojo cercano difuso del dominio de frecuencia (DNIRS, por sus siglas en inglés) [9], sistema de imágenes de infrarrojo cercano sin contacto [10] e imagen de reflexión de Terahertz [2].

La espectroscopía de reflectancia difusa (DRS, por sus siglas en inglés) es una técnica óptica no invasiva especialmente interesante debido a que el espectro adquirido al aplicar esta técnica presenta información acerca de los cromóforos (elementos de absorción) del tejido, y de su morfología. Debido a que la sangre es el absorbente de luz dominante en el intervalo de longitud de onda visible, tanto el contenido de sangre local como la saturación de oxígeno tisular se pueden extraer de la señal de luz reflejada.

En este sentido, con el presente trabajo se busca diseñar una técnica que permita al médico realizar un diagnóstico auxiliar en los pacientes con pie diabético, mediante el análisis de la saturación de oxígeno tisular, obtenido a partir de las mediciones de reflectancia difusa de las regiones del tejido biológico analizado.

Los objetivos planteados para la realización de este trabajo de tesis son los siguientes:

Objetivo general

Diseñar una técnica auxiliar para evaluar el diagnóstico temprano en pacientes con pie diabético, mediante la obtención de la saturación de oxígeno tisular, que permita al médico diseñar un plan de tratamiento y determinar si el paciente está en riesgo de ulceración.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de las características fisiológicas en la medición de los parámetros ópticos de un grupo de voluntarios.

- Evaluar la contribución de los diversos cromóforos en la obtención de la saturación de oxígeno tisular.
- Determinar un método óptimo de medición de saturación de oxígeno tisular, validando su efectividad.
- Generar un algoritmo que obtenga la saturación de oxígeno tisular a partir de las mediciones de reflectancia difusa para una aplicación clínica.

Para cumplir con estos objetivos el presente trabajo de tesis se encuentra organizado de la siguiente manera:

En el capítulo 1 se presenta el marco teórico de la patología del pie diabético, así como una breve descripción de las técnicas de diagnóstico empleadas actualmente para la valoración de este. Se presentan también las ventajas y desventajas de dichas técnicas de diagnóstico.

En el capítulo 2 se abordan los fundamentos de la oximetría y se hace una revisión de las principales aplicaciones de oximetría que se emplean en la actualidad.

En el capítulo 3 se exponen los principios de la interacción de la radiación electromagnética con el tejido biológico. También se presenta la ecuación de transferencia radiativa que es el modelo matemático que describe la propagación de la radiación electromagnética en medios turbios.

En el capítulo 4 se describe el desarrollo de la técnica para la obtención de la saturación de oxígeno tisular empleando Inverse Adding Doubling y se detalla la generación del algoritmo "OTOS: Obtaining tissue oxygen saturation".

En el capítulo 5 se reportan los resultados de la implementación y validación de la técnica de obtención de saturación de oxígeno tisular, también se describe una comparativa con la técnica Monte Carlo Multi-Layered.

Finalmente, se exponen las conclusiones que se han obtenido del desarrollo del presente trabajo de tesis.

CAPÍTULO 1. PATOLOGÍA DEL PIE DIABÉTICO Y TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO ACTUALES

El síndrome del pie diabético es una de las principales complicaciones que frecuentemente afecta en la calidad de vida de personas que tienen DM, dicho síndrome abarca una serie de signos y síntomas vinculados a diversas alteraciones vasculares, neurológicas e infecciosas. En el presente capítulo se describen dichas alteraciones que derivan en la patología de pie diabético, así como los métodos empleados en la práctica clínica actual para evaluarlas.

1.1 Factores de riesgo

El pie diabético abarca una diversidad de alteraciones en donde la presencia de neuropatía, isquemia¹ e infección generan úlceras y daño tisular, esto produce un incremento en la morbilidad y en muchos de los casos puede llegar a la amputación de la extremidad. La figura 1 ilustra los factores derivados de la DM que conducen a una ulceración de pie diabético y amputación.

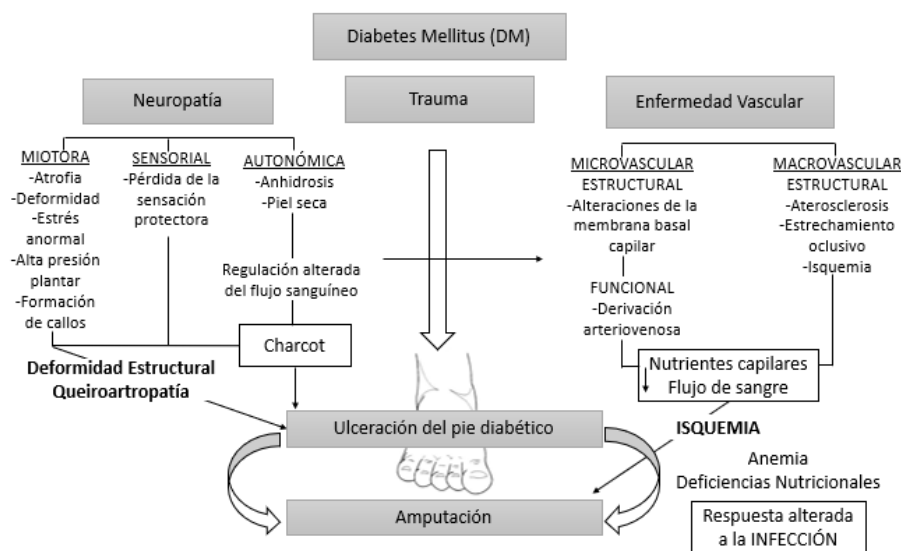


Figura 1. La DM es responsable de una variedad de patologías del pie que contribuyen a las complicaciones de ulceración y amputación (imagen tomada y adaptada de [11]).

La neuropatía sensorial periférica es una complicación a nivel microvascular que genera pérdida de sensibilidad y favorece una presión anormal en el pie, así como la aparición de deformidades, heridas y úlceras. La enfermedad arterial periférica es una afección circulatoria en la que el estrechamiento de las arterias reduce el flujo sanguíneo a las extremidades y se presenta en la mayor parte de los pacientes con pie diabético. La

¹ Disminución de flujo sanguíneo.

isquemia es producida por la enfermedad vascular periférica y a menudo se complica junto con la neuropatía en presencia de alguna infección.

Entre los factores de riesgo relacionados al desarrollo del pie diabético se encuentran principalmente, la enfermedad vascular periférica, neuropatía sensorial periférica, presión plantar elevada y deformidades en el pie. Otros factores de riesgo en el desarrollo de úlceras de pie diabético son tener úlceras previas, un tiempo considerable de evolución de la DM y un control glucémico deficiente.

1.2 Métodos de evaluación del pie diabético

Una adecuada clasificación de riesgo y medidas efectivas de tratamiento y prevención son esenciales para prevenir la aparición de las úlceras del pie diabético. A continuación se describen los métodos de evaluación del pie diabético, divididos en los diagnósticos enfocados a las dos principales complicaciones generadas por la DM, que son la neuropatía sensorial periférica y la enfermedad arterial periférica.

1.2.1 Neuropatía sensorial periférica

Siendo la neuropatía sensorial periférica uno de los principales factores de riesgo para la ulceración del pie diabético debe ser evaluada mediante estudios de conducción nerviosa, que se consideran como un estándar de referencia para el diagnóstico de neuropatía.

1.2.1.1 Monofilamento

Los médicos usan comúnmente la prueba de monofilamento Semmes Weinstein para identificar a pacientes que tienen un riesgo elevado de ulceración y/o amputación. Los monofilamentos son fibras de nylon que se calibran de manera que su aplicación sobre la piel corresponda a una fuerza anteriormente definida, independientemente de la curvatura producida al ejercer la presión. De esta forma los movimientos o pequeñas vibraciones provenientes de la mano del evaluador no contribuyen en la cantidad de fuerza que es ejercida. Los monofilamentos se identifican con números asignados por sus fabricantes que van de 1.65 a 6.65, estos números provienen de la aplicación de la ecuación 1:

$$\text{Valor nominal} = \log_{10}(\text{fuerza}[mg] \times 10) \quad (1)$$

donde la fuerza está dada en miligramos [*mg*]. La longitud de los monofilamentos Semmes Weinstein tiene un valor constante de 38 mm, en tanto que el diámetro toma valores entre 0.635 y 1.143 mm [3].

La prueba se realiza con un monofilamento Semmes Weinstein de 5.07/10 g que se presiona perpendicularmente sobre cuatro puntos plantares de cada pie: primer dedo (falange distal), y en la base del primer, tercer y quinto metatarsiano (ver figura 2); hasta que se dobla durante aproximadamente un segundo. Si los pacientes no detectan el monofilamento después de que se dobla, el sitio de prueba se considera insensible. La prueba se considera positiva cuando al menos hay un punto insensible.

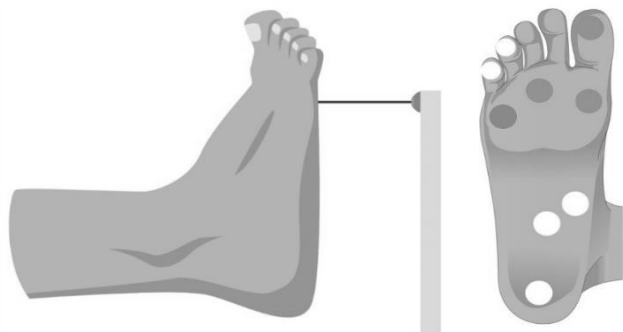


Figura 2. Ilustración de la aplicación de la prueba de monofilamento de Semmes Weinstein. Los círculos oscuros representan los puntos donde se aplica el monofilamento y los círculos blancos representan otros puntos de prueba recomendados.

Aunque es una prueba no invasiva, rápida y fácil de aplicar, una desventaja es que los métodos para realizar el examen varían mucho, con diferencias en el número de sitios y el umbral para definir la pérdida de sensación.

1.2.1.2 Diapasón

Es un método para medir la sensación vibratoria, aunque es sencillo y económico su desventaja es que presenta problemas de fiabilidad. Tiene una predicción de úlceras menos precisa que el monofilamento.

Se hace vibrar un diapasón y se coloca con una presión constante sobre la articulación interfalángica dorsal del primer dedo y también se puede aplicar en los maléolos peroneal y tibial, como se observa en la figura 3. El paciente debe indicar si percibe la vibración, la prueba se considera positiva si el paciente responde correctamente al menos a dos de tres aplicaciones.

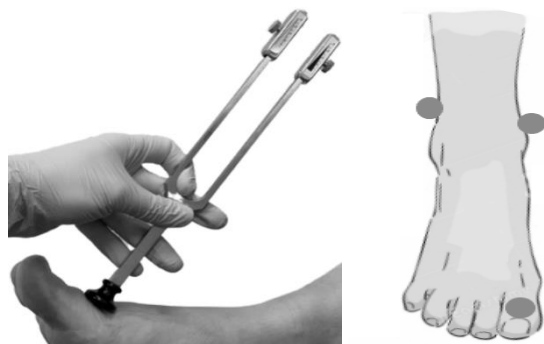


Figura 3. Ilustración de la aplicación de la prueba de diapasón y descripción de los puntos de aplicación.

1.2.1.3 Biotensiómetro

El biotensiómetro es un dispositivo electrónico con un cabezal de goma que vibra a 100-120 Hz. Se coloca perpendicularmente a la punta del primer dedo del pie y se va aumentando el voltaje hasta que el paciente indica el momento en el que percibe la vibración, como se muestra en la figura 4. El resultado está expresado por la diferencia de potencial, que es

proporcional a la amplitud liberada. Un umbral de vibración mayor de 25V tiene una sensibilidad² del 83% y una especificidad³ de 63%. Aunque supera las limitaciones de fiabilidad del diapasón al poder regular los diferentes umbrales vibratorios, tiene una baja especificidad en función de aspectos como adecuación de presión idéntica en el punto analizado, la cooperación del paciente y la variabilidad en la respuesta respecto de la edad.



Figura 4. Ilustración de la aplicación de prueba con biotensiómetro.

1.2.2 Enfermedad vascular periférica

La evaluación de la enfermedad vascular periférica es una de las complicaciones más comunes en pacientes con DM, su gravedad puede variar desde leves anomalías hasta obstrucciones severas de los vasos sanguíneos. En condición de isquemia crítica, cuando la reducción del flujo sanguíneo es severamente considerable, el paciente puede presentar dolor incluso en reposo. Es importante para determinar el grado de insuficiencia vascular generada por la disminución del flujo sanguíneo en las extremidades que incrementa el riesgo a desarrollar úlceras en los pies y amputaciones. Entre las pruebas arteriales no invasivas para determinar la perfusión de las extremidades inferiores se encuentran las que se mencionan a continuación.

1.2.2.1 Índice tobillo-brazo

Para la prueba de índice tobillo-brazo (ITB) se requiere un esfigmomanómetro y dispositivo de ultrasonido de onda continua con frecuencia de 8 a 9 MHz. El ITB indica la relación entre la presión sistólica (PAS) de la arteria pedis dorsal o tibial posterior y la presión sistólica (PAS) de la arteria humeral (ver figura 5). Este índice se calcula para ambos tobillos/brazos y se considera el valor menor entre el ITB derecho e izquierdo, según se indica en las Ecuaciones 2 y 3:

2 Probabilidad de que una persona enferma sea identificada correctamente, es decir, que tenga una prueba positiva.

3 Probabilidad de que una persona sana sea identificada correctamente, es decir, que tenga una prueba negativa.

$$ITB \text{ derecho} = \frac{PAS \text{ máxima pierna derecha}}{PAS \text{ máxima ambos brazos}} \quad (2)$$

$$ITB \text{ izquierdo} = \frac{PAS \text{ máxima pierna izquierda}}{PAS \text{ máxima ambos brazos}} \quad (3)$$

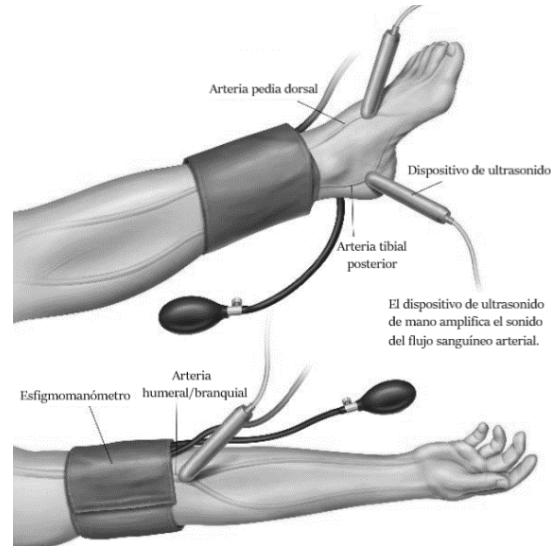


Figura 5. Ilustración de la aplicación de la prueba de índice tobillo-brazo (ITB).

La Tabla 1 detalla la interpretación del valor del ITB obtenido y su relación con el grado de afectación de la enfermedad vascular periférica [4].

Interpretación del ITB	
> 1.3	Calcificaciones arteriales
1 - 1.3	Normal
0.9 - 1	Enfermedad mínima (indica arteriosclerosis)
0.5 - 0.9	Enfermedad moderada (intervalo de claudicación)
0.3 - 0.5	Enfermedad severa (dolor en reposo)
< 0.3	Enfermedad crítica (dolor en reposo-gangrena)

Tabla 1. Relación entre los valores del ITB y la enfermedad vascular periférica.

Aunque la prueba de ITB es fácil de realizar puede dar resultados poco fiables cuando el valor del ITB se encuentra por encima de 1.3, ya que las presiones del tobillo pueden elevarse falsamente debido a la calcificación arterial medial (conocida como “calcificación de Monckeberg”) y la no compresibilidad de las arterias afectadas.

1.2.2.2 Tensión de oxígeno transcutáneo (TcPO₂)

Es una técnica que permite estimar la presión parcial de oxígeno transcutáneo en la superficie de la piel mediante el uso de un electrodo no invasivo. La prueba suele realizarse en el dorso del pie entre en primer y segundo metatarsiano, como se muestra en la figura 6. El procedimiento consiste en aplicar calor (entre 43 y 45°C), adherir a la piel un electrodo

empleando un anillo de plástico o goma en conjunto con una sustancia electrolítica y un medidor Clark de oxígeno. El calor produce una hiperemia⁴ local que provoca mayor difusión de O₂ y esto permite su evaluación en condiciones óptimas [12]. La TcPO₂ en individuos sanos debe ser mayor de 50 mmHg y en pacientes con pie diabético un valor de TcPO₂ menor de 30 mmHg es un indicativo de isquemia crítica [13].

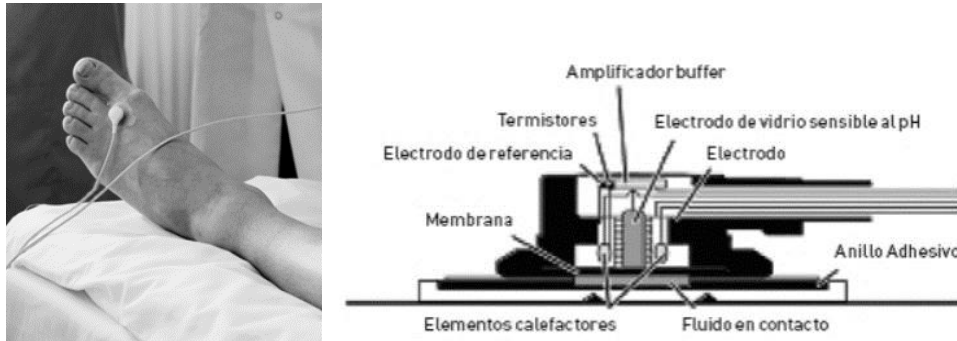


Figura 6. Ilustración de la aplicación de la técnica de TcPO₂ y estructura interna del dispositivo de medición [13].

La determinación de la TcPO₂ es una técnica no invasiva que refleja tendencias en los cambios de los gases presentes en la sangre arterial, proporcionando una evaluación indirecta de la oxigenación en los tejidos. Sin embargo su desventaja es que estos electrodos tienen una vida media corta, generalmente son muy costosos y pueden causar quemaduras en el paciente por la resistencia al calentamiento, esto hace que no se justifique de manera frecuente su uso.

1.2.2.3 Doppler

La ecografía Doppler es una técnica ultrasónica que utiliza ondas de sonido reflejadas (ecos) para generar imágenes y estudiar el flujo de distintos vasos sanguíneos. Se emplea para evaluar la ubicación y extensión de la enfermedad vascular, la hemodinámica arterial y la morfología de la lesión.

Las imágenes vasculares pueden ser obtenidas utilizando dos modos de ultrasonido: el modo B y el modo Doppler (modo B + detección de flujo Doppler = ecografía dúplex). Ambos modos de ultrasonido utilizan ondas de sonido pulsado, esta tecnología de onda pulsada emplea una fila de cristales que envían y reciben alternadamente trenes de pulsos de ondas de sonido. Las diferencias en tiempo e intensidad de las ondas de sonido que son recibidas y transmitidas se transforman en imágenes que muestran la intensidad y profundidad de cada cristal en la fila [5].

El sistema arterial de la extremidad inferior es sistemáticamente examinado por segmentos, se emplea el modo B para evaluar la pared de los vasos en cada segmento y determinar si

4 Aumento de flujo sanguíneo.

existe la presencia de placa aterosclerótica. El Doppler color permite evaluar las características del flujo y el Doppler de onda de pulso permite el análisis de la forma de onda espectral, determinar los picos y las velocidades telesistólicas (ver figura 7). La prueba empieza en la arteria femoral y se traslada a través de la arteria poplítea. También se pueden evaluar las arterias tibiales.

Las velocidades normales pueden variar dependiendo de la arteria que es examinada y van disminuyendo conforme se avanza distalmente en una extremidad. Las velocidades en la arteria femoral varían de 90-130 cm/s, en la arteria femoral superficial entre 75-105 cm/s, poplítea entre 55- 85 cm/s y tibial entre 40-80 cm/s. Las velocidades sistólicas máximas (VSM) del sistema arterial de las extremidades inferiores se encuentran en el intervalo desde 120 ± 20 cm/s en las arterias ilíacas, hasta 70 ± 10 cm/s en las arterias poplítea o tibioperonéa. La velocidad de flujo aumenta en las áreas de estenosis⁵. Cualquier área de estenosis es localizada inicialmente con el Doppler color, posteriormente se cuantifica y evalúa midiendo las velocidades Doppler. La relación de la VSM en un área de estenosis es comparada con la VSM en el vaso más próximo para determinar el nivel de estenosis [5].

La sensibilidad de la ecografía Doppler para detectar enfermedad vascular periférica está en el intervalo de 92-95% con una especificidad mayor a 97%. La ecografía Doppler se destaca en la evaluación no invasiva de la vasculatura periférica ya que supera las limitaciones de necesidad de contraste intravenoso, proporciona una localización anatómica y una clasificación precisa de la gravedad de la lesión. Una de las desventajas es que las velocidades del flujo en la ultrasonografía vascular pueden ser fácilmente sobreestimadas cuando las mediciones del ángulo Doppler no son evaluadas de forma correcta (idealmente son de 60 grados para los exámenes vasculares). Por esta razón la precisión de la ecografía depende de la experiencia del técnico en ecografías.



Figura 7. Ilustración de medición con ultrasonido en modo B y con imagen Doppler color [14].

1.3 Microcirculación

Como se mencionó en la sección 1.1 una de las principales complicaciones de la DM es la enfermedad vascular periférica, la cual presenta afectaciones en la circulación sanguínea. Estas afectaciones pueden representar estenosis, obstrucción o una anomalía

⁵ Estrechamiento de un vaso sanguíneo.

anatómica de los vasos sanguíneos. En estos casos se ve reflejada una disminución en el flujo sanguíneo y por consiguiente también disminuye el suministro adecuado de oxígeno a los tejidos, amenazando la capacidad celular de mantener las necesidades metabólicas mínimas del tejido, causando la muerte celular (necrosis tisular) y un elevado riesgo de pérdida de extremidad.

La insuficiencia circulatoria se asocia con un deterioro de la perfusión tisular que puede contribuir al desarrollo de disfunción orgánica. La monitorización hemodinámica global y los parámetros macrocirculatorios pueden ser insuficientes para detectar alteraciones en la perfusión y la oxigenación a nivel microcirculatorio. Debido a que el flujo sanguíneo microvascular es heterogéneo puede conducir a alteraciones en la extracción de oxígeno y zonas hipóxicas⁶ incluso cuando se conserva el flujo sanguíneo total al órgano [15].

La microcirculación incluye vasos sanguíneos con un diámetro inferior a 150 μm , es decir, arterias, venas pequeñas, vasos linfáticos y anastomosis arteriovenosas, que forman la unidad de microcirculación (ver figura 8a). Se emplea para intercambiar nutrientes y metabolitos entre la sangre y los tejidos, proteger contra fluctuaciones significativas en la presión hidrostática en la red capilar y disminuir la resistencia vascular periférica [16].

La microcirculación cutánea consta de dos plexos vasculares: el superficial a una profundidad de 400 a 500 μm y el profundo a 1.9 mm por debajo de la superficie de la piel. Las arteriolas ascendentes y las vénulas descendentes se emparejan ya que conectan los dos plexos mediante anastomosis arteriovenosas (ver figura 8b).

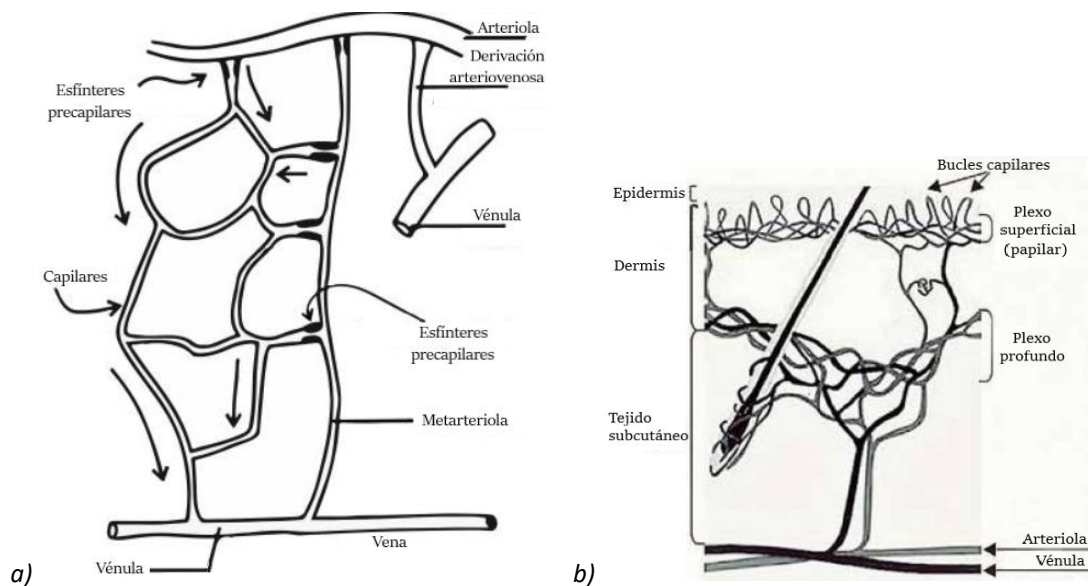


Figura 8. a) Unidad de microcirculación y b) microcirculación cutánea (imágenes tomadas y adaptadas de [16]).

6 Con ausencia o disminución de oxígeno.

La microcirculación cutánea también puede verse afectada por diversos factores como la temperatura, la presión arterial sistémica, el estado nutricional, el estrés, el uso de nicotina, la actividad física/mental y el envejecimiento. Algunos de los factores fisiológicos que influyen en los microvasos pueden utilizarse como pruebas de provocación; los más comunes son cambios en la posición del cuerpo para evaluar el reflejo venoarterial, calentamiento y enfriamiento para medir el intervalo de vasoconstricción/vasodilatación y compresión para determinar la hiperemia postoclusiva.

1.3.1 Técnicas de evaluación clínicas

Existen diferentes técnicas no invasivas para evaluar la microcirculación cutánea. Los dispositivos que se utilizan evalúan la microcirculación solo en el lecho vascular en el que se implementan. La capacidad de representar otros lechos depende de los mecanismos implicados en la enfermedad microvascular, de la arquitectura microvascular y de factores locales como la vasoconstricción [17].

Las técnicas empleadas en la evaluación de la microcirculación con mayor relevancia en la práctica clínica consisten en la capilaroscopia, videocapilaroscopia, flujometría láser Doppler, termografía y medición de oxígeno transcutáneo (TcPO₂) [16].

1.3.1.1 Capilaroscopia

La capilaroscopia se basa en la evaluación *in vivo* no invasiva de la microcirculación sanguínea dentro de la piel y las membranas mucosas. Evalúa la placa ungueal, la claridad de la piel, el número de capilares, su tamaño, forma y ubicación, el flujo sanguíneo a través de las asas capilares, la presencia de petequias⁷, deformidad capilar y plexos venosos subpapilares. Los capilares de la piel se examinan con un microscopio óptico con iluminación lateral, que permite un aumento de 20 a 100 veces las petequias. La capilaroscopia se aplica en cirugía vascular para evaluar la disfunción del flujo capilar en pacientes con microangiopatía⁸ diabética [18], insuficiencia venosa crónica e isquemia de miembros inferiores [19].

El resultado de la capilaroscopia se emplea para realizar un diagnóstico final y como complemento de las pruebas serológicas y del cuadro clínico. Sin embargo, la capilaroscopia requiere mucha experiencia al evaluar la imagen. También se debe tener en cuenta los efectos de medicamentos como los betabloqueadores que pueden provocar alteraciones en los vasos evaluados [16].

1.3.1.2 Videocapilaroscopia

7 Lesiones causadas por hemorragias subcutáneas.

8 Alteración de los capilares, arteriolas y vénulas ocasionada por el engrosamiento de la membrana capilar.

Se emplea un procedimiento similar al de la capilaroscopia para la visualización de la microcirculación, la evaluación de la morfología y la función en diversas partes del cuerpo, principalmente en el pliegue ungueal. Se realiza la evaluación de los bucles capilares mediante un cabezal móvil equipado con una fuente de luz y una cámara que transmite la imagen a un monitor de computadora [16].

La videocapilaroscopia permite examinar la dinámica de los cambios en la microcirculación en enfermedades reumatológicas, no reumatológicas, dermatológicas, neurológicas, así como en la hipertensión y diabetes. Una desventaja es que el estudio puede presentar dificultades en la piel con mucho pigmento.

1.3.1.3 Flujiometría láser Doppler

La flujometría láser Doppler es un método que permite el registro no invasivo en tiempo real de la microcirculación [20]. Utiliza un láser de helio-neón de 2 mW con un haz láser monocromático de banda infrarroja estrecha (con una longitud de onda de 633 nm), que penetra y se extiende dentro del tejido examinado a una profundidad de aproximadamente 1 mm. En el tejido analizado, algunos de los rayos láser se absorben, otros se reflejan en la materia inmóvil sin cambiar su frecuencia, mientras que el resto rebota en los glóbulos rojos en movimiento con frecuencia alterada debido al efecto Doppler. La intensidad de la señal es directamente proporcional al número y la velocidad de los glóbulos rojos en el área examinada. El dispositivo registra el suministro de sangre en el área analizada del tejido en la unidad de perfusión (PU) o en milivoltios (1 PU = 10 mV). La mayoría de los autores presentan los resultados como conductancia vascular cutánea (CVC), dividiendo el flujo sanguíneo por la presión arterial media (mV/mmHg).

La flujometría láser Doppler se emplea para evaluar la microcirculación en pacientes con diabetes tipo 1 y 2. Esta prueba es particularmente importante en este grupo de pacientes porque los cambios en la microcirculación suelen ocurrir antes de las lesiones microangiopáticas [21]. La mayor desventaja de la flujometría láser Doppler es su sensibilidad a condiciones de prueba inestables [22], también que solo se puede registrar un pequeño volumen de tejido y que los valores de flujo no se obtienen en unidades absolutas.

1.3.1.4 Termografía

La termografía es una prueba no invasiva que no requiere de mucha experiencia técnica y es fácil de usar. Permite el registro de la temperatura, creando una visualización del flujo de calor en la microcirculación de la piel. Se basa en el registro de imágenes digitales de la radiación infrarroja de la piel (termogramas) que proporcionan información sobre la distribución de la temperatura en la superficie de la piel. Por este motivo, la termografía solo permite una evaluación indirecta del flujo microcirculatorio cutáneo.

La termografía sirve como herramienta de diagnóstico y pronóstico en pacientes con DM, también se puede utilizar para diagnosticar una fase temprana de la neuropatía diabética [23]. Las principales desventajas de la termografía incluyen la medición solamente de las capas superficiales de la piel y el alto costo del equipo, lo que limita su disponibilidad.

1.3.1.5 Tensión de oxígeno transcutáneo (TcPO₂)

Corresponde a la técnica descrita en la sección 1.2.2.2. Sin embargo, cabe destacar que la medición de TcPO₂ se puede realizar en la piel de cualquier parte del cuerpo. Es un método relativamente económico en comparación con otros métodos de evaluación de la microcirculación. La medición no requiere de un alto grado de experiencia, por lo que puede ser realizada por un técnico capacitado. La principal desventaja de la medición de TcPO₂ es que el método necesita ser calibrado repetidamente, por lo que requiere mayor tiempo y toma alrededor de 15 minutos antes de la medición apropiada [24]. También la dependencia del resultado de las condiciones anatómicas de la piel y su respuesta a un aumento de temperatura son otras desventajas.

1.3.2 Técnicas de evaluación en la investigación clínica

Otras técnicas que también pueden utilizarse en la investigación clínica incluyen la fotopletismografía, tomografía de coherencia óptica, espectroscopía de polarización ortogonal, espectroscopia de infrarrojo cercano y espectrofotometría de reflectancia tisular [16].

1.3.2.1 Fotopletismografía

La fotopletismografía mide los cambios volumétricos de la sangre en la microcirculación periférica. Involucra una sonda equipada con una fuente de luz infrarroja y sensores ópticos. La luz infrarroja es absorbida por el tejido examinado y dependiendo del volumen de sangre en el fragmento de piel examinado, se absorbe más o menos luz. En consecuencia, la cantidad de luz transmitida se relaciona con los cambios puntuales en el volumen de sangre y por lo tanto las alteraciones en el flujo sanguíneo pueden registrarse como alteraciones en la intensidad de la luz.

La fotopletismografía muestra las alteraciones en el flujo sanguíneo mediante un gráfico en forma de onda que consta de dos fases: la fase anacrótica rápida y la fase catacrótica lenta (ver figura 9). La fase anacrótica está relacionada principalmente con la sístole, mientras que la fase catacrótica está relacionada con la diástole y los reflejos de la periferia. La reducción del flujo de microcirculación detectada puede mostrar un retraso del crecimiento, una parte superior redondeada y una disminución muy lenta sin la incisura dicota [25].

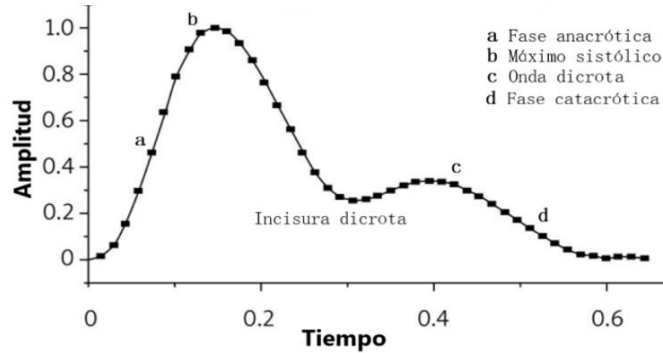


Figura 9. Forma y fases de onda de la fotopletismografía (imagen tomada y adaptada de [16]).

La fotopletismografía es un método simple, indoloro, económico y no requiere mucha experiencia de la persona que realiza la prueba. Sin embargo, las desventajas de este método son que es sensible a artefactos de movimiento, que solo permite una evaluación puntual de la microcirculación y que el resultado de la prueba no se da en unidades absolutas.

1.3.2.2 Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica es una técnica de formación de imágenes de alta resolución, que se utiliza principalmente en el diagnóstico médico. Utiliza el fenómeno de la interferometría de luz con los tejidos, permitiendo la penetración no invasiva en el tejido examinado. Esta técnica emplea fuentes de luz de coherencia espacial y un espectro de considerable amplitud espectral, la luz tiene una intensidad menor que un par de mV. Es análoga a la técnica ecográfica, con el uso de luz en lugar de sonido [26].

Las ventajas de la tomografía de coherencia óptica incluyen que no requiere preparación previa de un paciente, la obtención de imágenes en tiempo real y la capacidad de registro continuo. Una desventaja es que la técnica es más eficaz para la evaluación de tejidos ópticamente transparentes y se limita a obtener imágenes de solo 1 a 2 mm en la superficie del tejido.

1.3.2.3 Espectroscopía de polarización ortogonal

La espectroscopía de polarización ortogonal es una técnica relativamente nueva de obtención de imágenes de microcirculación sin utilizar tintes fluorescentes. Las imágenes de microcirculación son obtenidas cuando la luz polarizada con una longitud de onda de 548 nm se refleja del tejido examinado y es capturada por una cámara. La luz esparcida por la capa superficial de tejido es bloqueada en el proceso de segunda polarización y debido a que solo la luz que regresa de las capas más profundas de tejido es liberada por la segunda polarización se puede mejorar la visibilidad de los eritrocitos. El análisis del movimiento de los eritrocitos permite evaluar la perfusión, el diámetro de los vasos y la densidad capilar [27].

Las imágenes obtenidas muestran una amplia gama de aplicaciones clínicas con un fuerte énfasis en establecer el diagnóstico, el pronóstico y la implementación del tratamiento precisos. La espectroscopia de polarización ortogonal ofrece una visualización más objetiva de la microcirculación en pacientes críticamente enfermos en comparación con las técnicas de videocapilaroscopia y láser Doppler [28]. Una de las desventajas de esta técnica es que tiene una profundidad de penetración de solo 1 mm y que requiere de mucho tiempo de evaluación.

1.3.2.4 Espectroscopia de infrarrojo cercano

La espectroscopia de infrarrojo cercano utiliza luz infrarroja de 700 a 1000 nm que penetra en los tejidos blandos, se difunde y absorbe parcialmente por cromóforos como la hemoglobina, la mioglobina y el citocromo aa3. Posteriormente, se realiza la evaluación de la saturación de oxígeno de la hemoglobina tisular. Esta técnica se utiliza principalmente para medir el flujo sanguíneo a través del cerebro y el tejido muscular.

La técnica de espectroscopia de infrarrojo cercano también se reconoce actualmente como una buena herramienta para evaluar los tejidos superficiales, incluida la microcirculación cutánea. Hartwig *et al* [29] demostraron el uso clínico de la espectroscopia de infrarrojo cercano en la evaluación de la microcirculación cutánea en relación con las pruebas de oclusión vascular.

1.3.2.5 Espectrofotometría de reflectancia tisular

La espectrofotometría de reflectancia tisular se basa en la detección de luz retroesparcida en espectros de longitud de onda específicos para la hemoglobina oxigenada en dos picos (542 y 577 nm) y para la hemoglobina desoxigenada en un pico (556 nm). Esta técnica permite evaluar la saturación de oxígeno de la hemoglobina y la concentración de hemoglobina en los capilares para que refleje el funcionamiento de la microcirculación cutánea en tiempo real [30]. Las mediciones se pueden tomar en la superficie de la piel y la mucosa gástrica.

Las principales ventajas de esta técnica consisten en el reducido tiempo de evaluación, la expresión de los resultados en unidades absolutas y la posibilidad de realizar mediciones repetitivas. Una desventaja que tiene es el hecho de que el resultado depende de la presencia de cromóforos tisulares distintos de la hemoglobina, como la melanina, por lo que pueden producirse resultados erróneos en la medición del contenido sanguíneo y la oxigenación en personas con una pigmentación cutánea significativa.

1.4 Resumen del capítulo

En este capítulo se presentaron los factores de riesgo que conducen a la presencia del síndrome de pie diabético, destacando la neuropatía sensorial periférica y la enfermedad vascular periférica. También se presentaron los métodos de diagnóstico empleados en la

práctica clínica, así como su principales ventajas y desventajas. Se profundizó en la microcirculación que es una de las afectaciones derivadas de la enfermedad vascular periférica y se presentaron sus técnicas de evaluación. Entre estas técnicas la tensión de oxígeno transcutáneo, la espectroscopia de infrarrojo cercano y la espectrofotometría de reflectancia tisular se pueden aplicar en la evaluación de la microcirculación en pacientes con pie diabético mediante la obtención de oxigenación tisular. En el presente trabajo de tesis se desarrollará la técnica de espectrometría de reflectancia difusa, que como se observó en el punto 1.3.2.5 presenta cierta afectación en la medición en personas con una pigmentación cutánea significativa. Sin embargo, en este trabajo de tesis se presenta una alternativa para eliminar los efectos de dicha pigmentación (melanina). Por lo tanto, al considerar sus múltiples ventajas como requerir un menor tiempo de evaluación, ser no invasiva y de fácil aplicación, hacen que se convierta en una de las mejores alternativas para la obtención de saturación de oxígeno tisular.

CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES DE OXIMETRÍA

Tal como se revisó en la información del Capítulo 1, la DM acompañada de enfermedad vascular periférica ocasionan alteraciones en el flujo sanguíneo microcirculatorio que se caracterizan por una disminución de la densidad capilar y que resultan en una mayor distancia de difusión del oxígeno. Estas alteraciones tienen un papel importante en el desarrollo de disfunción orgánica y pueden conducir a alguna lesión celular, por lo cual se sugiere que dichas alteraciones microvasculares afectan directamente la oxigenación tisular [17]. El presente capítulo abordará la panorámica actual del uso de la oximetría como herramienta para el diagnóstico de enfermedades, así como las técnicas de oximetría más empleadas en la actualidad.

2.1 Transporte de oxígeno

El oxígeno es necesario para la nutrición de las células vivas en los tejidos humanos. En el sistema respiratorio, los humanos inhalan oxígeno y exhalan dióxido de carbono para mantener la función corporal normal. El suministro adecuado de oxígeno a los tejidos es esencial para el metabolismo celular, en el que las moléculas transportadoras de energía de ATP se producen a partir del oxígeno y nutrientes [31]. Dado que el oxígeno se transporta desde los alvéolos pulmonares a las células de los tejidos a través de la sangre arterial, el suministro adecuado de oxígeno a un tejido requiere suficiente flujo de sangre al tejido y suficiente contenido de oxígeno en la sangre arterial (ver figura 10). Este último está relacionado con la concentración de hemoglobina en sangre [Hb] y la saturación de oxígeno arterial SaO_2 .

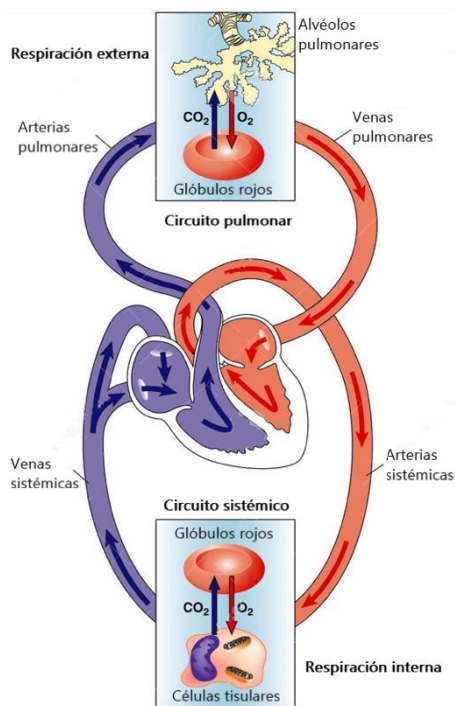


Figura 10. Transporte y suministro de oxígeno desde los alvéolos pulmonares a las células de los tejidos.

2.2 Saturación de oxígeno

La saturación de oxígeno es una medida de cuánta hemoglobina está unida al oxígeno en comparación con la cantidad de hemoglobina que permanece sin unir. A nivel molecular, la hemoglobina consta de cuatro subunidades de proteínas globulares. Cada subunidad está asociada con un grupo hemo (ver figura 11). Posteriormente, cada molécula de hemoglobina tiene cuatro sitios de unión al hemo disponibles para unirse al oxígeno. Por lo tanto, durante el transporte de oxígeno en la sangre, la hemoglobina es capaz de transportar hasta cuatro moléculas de oxígeno [32].

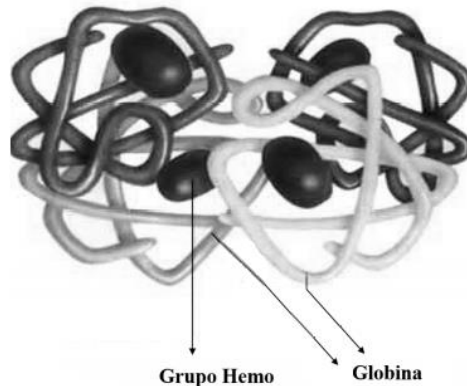


Figura 11. Molécula de Hemoglobina.

El oxígeno está estrictamente regulado dentro del cuerpo porque la hipoxemia (bajo nivel de oxígeno en la sangre) puede provocar muchos efectos adversos en sistemas y órganos como el cerebro, corazón y riñones. Debido a la naturaleza crítica del consumo de oxígeno de los tejidos en el cuerpo, la saturación de oxígeno es un elemento esencial del cuidado de pacientes y por ello en la actualidad se le considera como quinto signo vital [32].

La oxigenación sanguínea puede ser evaluada mediante el seguimiento de parámetros de concentración de hemoglobina oxigenada (HbO_2) y hemoglobina desoxigenada o reducida (Hb), que también son empleados para calcular el parámetro de saturación de oxígeno SO_2 como se expresa en la ecuación 4.

$$SO_2 = \frac{[HbO_2]}{[HbO_2] + [Hb]} \times 100\% \quad (4)$$

La saturación de oxígeno (SO_2) puede ser representada por distintas siglas de acuerdo con su definición, como se indican a continuación [31]:

- SO_2 (a: arterial) da un valor de la saturación de oxígeno a nivel de la circulación arterial y proporciona información sobre la adecuación de la respiración y la ventilación.
- SO_2 (v: venosa) especifica la saturación de oxígeno a nivel de la circulación venosa y está directamente relacionada con el suministro de sangre al tejido que es drenado por la vena e inversamente con su demanda de metabolismo.

- StO_2 (t: tisular) es la relación entre la hemoglobina oxigenada y la hemoglobina total en toda la sangre del tejido: arterial y venosa. Está directamente relacionada con el flujo sanguíneo tisular e inversamente relacionada con sus requerimientos de metabolismo, por lo que proporciona información sobre la idoneidad del suministro de sangre al tejido.
- SpO_2 (p: pulso) es la saturación de oxígeno obtenida mediante fotopletismografía⁹. En la sección 2.4.1 se describe a más detalle esta clase de saturación. El uso del pulsioxímetro se ha convertido en un estándar de atención clínica.

2.3 Oximetría

La oximetría es una técnica para la evaluación de la oxigenación de la sangre mediante medidas ópticas de transmisión/reflexión de luz a través de la sangre, que se basa en los diferentes espectros de absorción de la hemoglobina oxigenada (HbO_2) y desoxigenada (Hb). La figura 12 presenta los coeficientes de extinción molar (que se define como la constante de absorción específica) de HbO_2 y Hb en función de la longitud de onda, en las regiones de longitud de onda visible e infrarroja cercana.

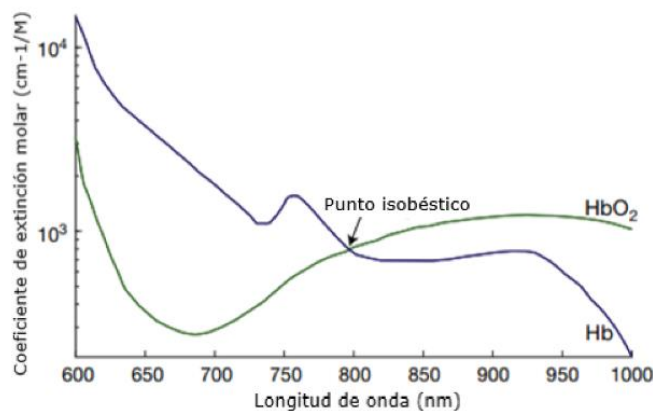


Figura 12. Coeficientes de extinción molar de hemoglobina oxigenada (HbO_2) y desoxigenada (Hb) (imagen tomada y adaptada de [33]).

Una gran diferencia entre los coeficientes de extinción de HbO_2 y Hb aparece para algunas longitudes de onda en la región visible, lo que motiva su uso para la evaluación oximétrica de la oxigenación sanguínea [31]. La región del infrarrojo cercano (entre 780 y 2500 nm) se emplea para medir la absorción de luz en tejidos más gruesos y la región visible (entre 380 y 780 nm) se emplea principalmente en modo de reflexión.

En la figura 12 también se puede observar que la HbO_2 y la Hb tienen una absorción diferente en todo el espectro, excepto a 805 nm, que es denominado punto isobéptico.

⁹ Técnica óptica que mide cambios en el volumen sanguíneo mediante cambios en la intensidad de luz.

Para longitudes de onda menores que la correspondiente al punto isobéptico, la absorción se debe principalmente a la Hb, mientras que para longitudes más grandes, la mayor parte de la absorción se debe a la HbO₂.

Para obtener el valor de la saturación de oxígeno mediante la ecuación 4, es necesario seleccionar al menos 2 longitudes de onda considerando tres criterios principales: En primer lugar, las longitudes de onda seleccionadas (λ_1 y λ_2) deben ser sensibles a cada uno de los principales absorbentes de la sangre, HbO₂ y Hb (generalmente opuestas al punto isobéptico). En segundo lugar, la diferencia de absorción entre HbO₂ y Hb en las longitudes de onda elegidas debería ser la mayor. Finalmente, los espectros de absorción en la región de las longitudes de onda elegidas deberían ser relativamente planos, lo que indica su proximidad en cuanto a magnitud de absorción [34].

2.4 Técnicas de medición

A partir del momento en que se establecieron los principios físicos de la transmisión de la luz en el tejido vascular y la absorción de luz por los cromóforos sanguíneos, se ha realizado un esfuerzo constante para desarrollar técnicas ópticas para medir la oxigenación de la sangre y de los tejidos. En la actualidad existe una variedad de técnicas ópticas que utilizan luz para medir el contenido de oxígeno en los tejidos o en la sangre; entre las cuales se encuentran la oximetría de pulso, espectroscopía de infrarrojo cercano, espectrofotometría de reflectancia de luz blanca y oximetría venosa de fibra óptica [33].

2.4.1 Oximetría de pulso

La oximetría de pulso o pulsioximetría es una técnica óptica no invasiva que se utiliza para la evaluación continua de la saturación arterial pulsátil de oxígeno (SpO₂). La pulsioximetría evalúa el nivel de SaO₂ mediante medidas de transmisión óptica en dos longitudes de onda, utilizando los diferentes espectros de absorción de HbO₂ y Hb, al igual que otras técnicas oximétricas. Para medir la saturación de oxígeno solo en la sangre arterial, la absorción de luz se mide en los incrementos sistólicos¹⁰ del volumen de sangre arterial después de la contracción ventricular, registrando las oscilaciones inducidas por el corazón en la absorción de luz empleando fotopleletismografía [31].

¹⁰ Cuando el tejido muscular del corazón se contrae produce el aumento de presión en la cavidad cardíaca y la expulsión del volumen sanguíneo contenido en ella.

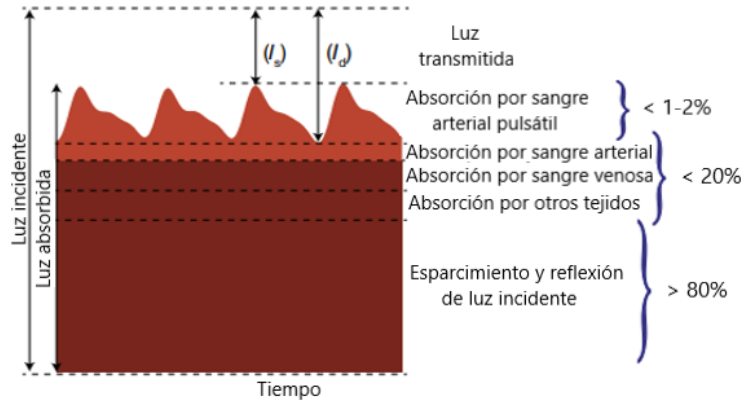


Figura 13. Principio de funcionamiento del pulsioxímetro (imagen tomada y adaptada de [33]).

En la figura 13 se observa la cantidad de luz absorbida y transmitida en tejidos vivos dentro de un ciclo cardíaco. La intensidad de la luz transmitida varía de I_d (máximo) a I_s (mínimo), debido a que durante la sístole se incrementa el volumen sanguíneo arterial y, por lo tanto, se absorbe más luz. El análisis de los pulsos de fotopleletismografía permite aislar la contribución de la sangre arterial a toda la absorción de luz. La cantidad de luz absorbida se correlaciona con la pulsación de la sangre arterial.

La absorción de la sangre arterial pulsátil se determina mediante la ley de Beer-Lambert, que establece que la absorción de luz a través de un medio es proporcional a la concentración de los absorbentes de luz presentes en la sustancia, las propiedades ópticas del absorbente de luz, y la trayectoria óptica recorrida por el haz de luz.

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda CL \quad (5)$$

donde A_λ es la absorbancia de la luz a una longitud de onda λ , ε_λ es el coeficiente de extinción molar de los absorbentes a una longitud de onda λ , C es la concentración del absorbente y L es la longitud de trayectoria óptica recorrida por la luz. Incluyendo la transmitancia basal (I_d) durante la diástole y la transmitancia pulsátil (I_s) durante la sístole (ver figura 13), la absorbancia de la sangre arterial se representa como:

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda CL = \ln\left(\frac{I_s}{I_d}\right) \quad (6)$$

Dado que la componente pulsátil (CA) de la señal transmitida representa la diferencia entre I_s e I_d y que la componente no pulsátil promedio (CD) que varía lentamente puede considerarse aproximadamente igual a I_d , la ecuación 6 puede escribirse como:

$$A_\lambda = \left(\frac{CA_\lambda}{CD_\lambda}\right) \quad (7)$$

La relación de absorción de luz en 2 longitudes de onda se emplea para definir el parámetro de calibración R y así determinar el valor correspondiente de SaO_2 .

$$R = \frac{(CA/CD)_{\lambda_1}}{(CA/CD)_{\lambda_2}} \quad (8)$$

La estructura de un oxímetro de pulso o pulsioxímetro convencional consta de un par de emisores de luz (las fuentes de luz más utilizadas son generalmente los LED) y un fotodetector (generalmente fotodiodos de silicio) de alta sensibilidad montado dentro de un clip de resorte protegido de la luz ambiental para el intervalo de longitudes de onda en que el fotodiodo es sensible [35]. Las dos longitudes de onda elegidas en la oximetría de pulso son típicamente 660 nm (en la parte roja del espectro visible) y 940 nm (en la parte infrarroja del espectro). Debido a que en cualquier longitud de onda por debajo de 600 nm, la melanina absorbe la mayor parte de la luz; y que para longitudes de onda mayores al punto isosbético (805 nm), la absorción entre HbO₂ y Hb es considerablemente diferente.

La figura 14 muestra la disposición de los componentes del pulsioxímetro. Los LED y el fotodiodo se colocan en lados opuestos del clip, donde la luz emitida por los LED se transmite a través de un lado del tejido vascular al fotodiodo del otro lado. Los pulsioxímetros son los que se utilizan con más frecuencia en el entorno clínico y generalmente se colocan en el dedo de la mano, el lóbulo de la oreja o el dedo del pie del paciente.

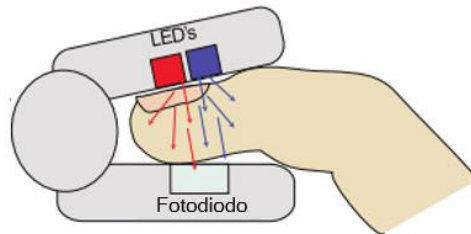


Figura 14. Componentes de un pulsioxímetro (imagen tomada y adaptada de [33]).

Los pulsioxímetros estiman la saturación de oxígeno arterial pulsátil (SpO₂) a partir de curvas calibradas empíricamente. El procedimiento de calibración implica la desaturación de voluntarios sanos que respiran mezclas de gases hipóxicos y posteriormente se recolectan mediciones ópticas de muestras de sangre a diferentes niveles de oxigenación en estado estacionario [36]. En cada nivel de oxigenación, el valor de SaO₂ medido se correlaciona con el valor medido por el pulsioxímetro. Se aplica el mismo procedimiento en un gran grupo de voluntarios y se obtiene una curva de calibración media. Esta curva se programa en el microprocesador digital dentro del pulsioxímetro y se utiliza para estimar la SpO₂. Los valores de SpO₂ medidos en individuos sanos oscilan entre el 95% y el 100% [33].

2.4.1.1 Aplicaciones de la pulsioximetría

El pulsioxímetro es un dispositivo no invasivo, fácil de usar y se usa regularmente en salas de anestesia, quirófanos, unidades de cuidados intensivos, ambulancias y en el monitoreo de rutina de los recién nacidos que proporciona una indicación en tiempo real de hipoxemia

(bajo nivel de oxígeno en la sangre). Avances tecnológicos recientes indican que los pulsioxímetros también pueden calcular la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, el índice de perfusión, el índice de reserva de oxígeno y la saturación de hemoglobinas disfuncionales [37]. El uso de los pulsioxímetros y la fotopleletismografía se extiende a la evaluación vascular y la función vasomotora que aún se encuentran en una etapa de investigación [38]. Otra área en la que los pulsioxímetros han obtenido gran interés es en el desarrollo de tecnología de sensores que utiliza componentes optoelectrónicos miniaturizados o fibras ópticas, para medir los cambios volumétricos directamente de órganos como el esófago, hígado, intestino, cerebro y otros tejidos vasculares [39].

2.4.1.2 Limitaciones de la pulsioximetría

A pesar de que los pulsioxímetros son en su mayoría precisos, se ha demostrado que numerosos factores afectan negativamente las características de absorbancia, la relación señal/ruido de las señales de fotopleletismografía y los valores estimados de SpO₂. Las principales limitaciones son los artefactos de movimiento, los supuestos de calibración, la perfusión periférica inadecuada, el uso de esmalte de uñas o colorantes, así como un conocimiento limitado de la técnica [40, 41].

2.4.2 Espectroscopía de infrarrojo cercano

La espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés) es una técnica óptica que puede medir de forma no invasiva la oxigenación en músculos y tejidos cerebrales, debido a que la luz infrarroja puede alcanzar mayor profundidad en el tejido [42]. NIRS consiste en la medición de la atenuación de luz en el espectro cercano al infrarrojo (entre 700-1000 nm) para determinar las concentraciones de cromóforos, principalmente hemoglobina oxigenada (HbO₂) y desoxigenada (Hb), así como la saturación de oxígeno (StO₂) en toda la sangre del tejido: arterial, venoso y capilar.

La tecnología NIRS se basa en un sensor emisor que proyecta un haz de luz hacia el tejido, un sensor receptor que recolecta la luz que retorna del tejido, y también un procesador que genera parámetros como la oxigenación y el contenido de hemoglobina del área sensada (ver figura 15). La señal de NIRS se obtiene de la hemoglobina contenida dentro de los vasos con un diámetro menor de 1 mm (arteriolas, capilares y vénulas) presentes en el volumen de tejido sensado [43].

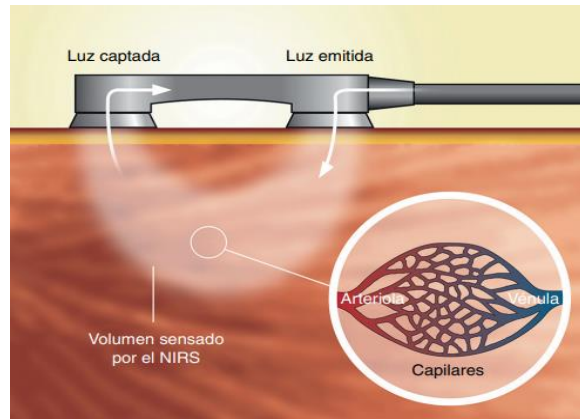


Figura 15. Funcionamiento de la tecnología NIRS (imagen tomada de [43]).

La distancia entre el sensor emisor y el detector puede determinar los cambios en la profundidad del tejido a la que se emite el haz de luz. Cuanto mayor sea la distancia entre el par de sensores (emisor/ detector), se examinará un tejido más profundo. Para determinar las concentraciones de los absorbentes tisulares mediante NIRS se emplea la ecuación 9, conocida como ley de Beer-Lambert modificada.

$$A_{\lambda} = (\varepsilon_{Hb(\lambda)}C_{Hb} + \varepsilon_{HbO_2(\lambda)}C_{HbO_2}) * d * DPF + G \quad (9)$$

donde A_{λ} representa la atenuación de la luz a través de un medio que es proporcional a la concentración de los absorbentes de luz presentes en el tejido (C_{Hb} , C_{HbO_2}) y las propiedades ópticas de dichos absorbentes ($\varepsilon_{Hb(\lambda)}$, $\varepsilon_{HbO_2(\lambda)}$). La ecuación 6 presenta parámetros adicionales a la ley de Beer-Lambert, DPF y G . El término $d * DPF$ representa la longitud de la trayectoria óptica, d es la distancia entre el emisor de luz y el detector, mientras que DPF se define como factor de longitud de trayectoria diferencial y representa el aumento en la longitud de trayectoria de la luz debido al esparcimiento [44]. El término final G representa las propiedades de esparcimiento del tejido.

2.4.2.1 Aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo cercano

Una de las principales aplicaciones de NIRS, tanto en el diagnóstico clínico como en la investigación, es la monitorización continua y no invasiva de la perfusión y oxigenación cerebrales debido a la capacidad que tiene la luz infrarroja cercana para penetrar en el cráneo [45]. NIRS se puede emplear también para evaluar el metabolismo oxidativo de músculos en reposo y/o ejercicio. Se realizan pruebas de oclusión vascular para evaluar el estado fisiológico del tejido [46]. Las respuestas dinámicas en las señales durante las oclusiones pueden ser utilizadas para diferenciar entre individuos sanos y enfermos, así como para evaluar el consumo de oxígeno de los músculos [47]. En cuidados intensivos, NIRS se puede emplear para detectar desequilibrios regionales de oxígeno que eventualmente pueden conducir a algún choque hemodinámico [48].

2.4.2.2 Limitaciones de la espectroscopia de infrarrojo cercano

Algunas limitaciones de NIRS se deben a que los algoritmos utilizados asumen que los únicos cromóforos que cambian de concentración en el tejido son la hemoglobina oxigenada y desoxigenada, que puede no ser adecuado para todas las aplicaciones. Es difícil distinguir la absorción de la mioglobina¹¹ en las mediciones de NIRS del músculo debido a los espectros superpuestos de mioglobina y hemoglobina [47, 48]. Algunos monitores NIRS basados en onda continua (CW, por sus siglas en inglés) o espectroscopia espacialmente resuelta (SRS, por sus siglas en inglés) asumen el mismo DPF en las diferentes longitudes de onda utilizadas, lo que puede introducir inexactitudes ya que el esparcimiento depende de la longitud de onda y puede causar diferencias en los caminos ópticos. Una fuerte limitación en el desarrollo de investigaciones se debe a la dificultad de comparar diferentes dispositivos debido a la falta de estandarización en los algoritmos, longitudes de onda y configuraciones de sensores [45].

2.4.3 Espectrofotometría de reflectancia de luz blanca

La espectrofotometría de reflectancia de luz blanca (WLRS, por sus siglas en inglés) es una técnica que aprovecha las propiedades de reflexión y absorción de la hemoglobina oxigenada (HbO₂) y desoxigenada (Hb) para el cálculo de la oxigenación tisular. A diferencia de la pulsioximetría o NIRS en donde solo se emiten pocas longitudes de onda discretas, la WLRS emite luz blanca (que es el intervalo de longitudes de onda del espectro visible) al tejido. En la WLRS el intervalo de irradiación puede variar según el dispositivo específico, pero comúnmente se encuentra entre 400 y 700 nm [49, 50].

WLRS considera que la HbO₂ y la Hb son los principales absorbentes presentes en el tejido y el espectro reflejado representa la absorción de luz dependiente de la longitud de onda de estos absorbentes. Para obtener los parámetros de oxigenación de un tejido se pueden emplear las características principales de los espectros de hemoglobina oxigenada y desoxigenada, como los picos de absorción, los puntos isosbéticos (longitudes de onda donde la HbO₂ y la Hb tienen la misma absorción) y obtenerse las concentraciones de la hemoglobina oxigenada C_{HbO_2} y desoxigenada C_{Hb} de los espectros reflejados, realizando procesos matemáticos entre el espectro reflejado del tejido y los espectros de referencia de la hemoglobina oxigenada ϵ_{HbO_2} y desoxigenada $\epsilon_{Hb(\lambda)}$ [49]. Es necesario conocer las propiedades básicas de absorción y esparcimiento del tejido que se examina para obtener los valores de C_{HbO_2} y C_{Hb} , así como para posteriormente poder calcular la saturación de oxígeno tisular (StO_2) aplicando la ecuación 4 [49]. Además, los instrumentos WLRS requieren calibración con espectros de referencia de muestras estándar para corregir otros absorbentes y el ruido. La figura 16 muestra un esquema del funcionamiento de la WLRS.

11 Proteína localizada en las células musculares que almacena oxígeno y tiene mayor afinidad por el mismo en comparación con la hemoglobina.

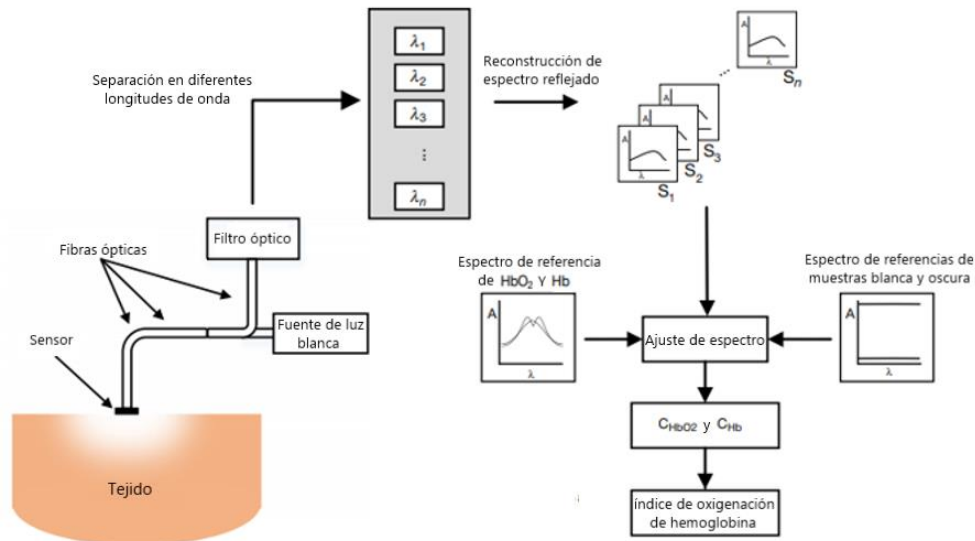


Figura 16. Principio de funcionamiento por espectrofotometría de reflectancia de luz blanca (imagen tomada y adaptada de [33]).

Generalmente, la fuente de luz empleada son lámparas de luz blanca y se utilizan fibras ópticas para transportar la luz al tejido. La luz blanca reflejada por el tejido es recogida por la fibra óptica y transportada al dispositivo de procesamiento para dividirse en las respectivas longitudes de onda [50]. Se emplean filtros ópticos, matriz CCD u otros detectores apropiados para realizar la división, cuyo objetivo es reconstruir un espectro reflejado en una región específica o intervalo de longitudes de onda de interés [50]. La resolución de la división en las longitudes de onda discretas puede variar entre instrumentos, para dispositivos avanzados se puede alcanzar una resolución hasta de 1 nm.

2.4.3.1 Aplicaciones de la espectrofotometría de reflectancia de luz blanca

La técnica WLRS se ha empleado para medir la oxigenación de tejidos internos como la mucosa del tracto gastrointestinal o del hígado [51], debido a que el uso de fibras ópticas para el transporte de luz al tejido permite la facilidad de implementación de catéteres para la medición en diversos órganos. La obtención de oxigenación de estos órganos en pacientes críticamente enfermos podría ofrecer un indicador importante para la identificación de choque séptico en insuficiencia multiorgánica. Los sensores empleados en WLRS transcutánea también han mostrado buenos resultados para la evaluación de enfermedades vasculares y para la monitorización perioperatoria de colgajos libres en una cirugía plástica [52].

2.4.3.2 Limitaciones de la espectrofotometría de reflectancia de luz blanca

El volumen muestreado por WLRS está restringido por la profundidad limitada de penetración de la luz blanca en el tejido, en comparación con NIRS y la corta distancia de separación entre las fibras ópticas. Se estima que la profundidad de penetración alcanza

hasta 1-2 mm, que corresponde a la microvasculatura de la piel o a la capa mucosa para aplicaciones gastrointestinales.

2.4.4 Oximetría venosa de fibra óptica

La oximetría venosa de fibra óptica es una técnica *in vivo* basada en un catéter que se utiliza para medir de forma continua la saturación de oxígeno en sangre venosa en pacientes críticamente enfermos. Esta técnica mide los niveles de oxígeno en sangre venosa en lugar de sangre arterial. Cuando la sangre arterial oxigenada llega a los tejidos, el oxígeno se libera a través de la microcirculación, donde se utiliza para la actividad metabólica de las células. Por lo tanto, la saturación de oxígeno medida de la sangre arterial SaO_2 , indica qué tan bien el cuerpo está perfundido con sangre oxigenada. Una vez que el oxígeno se difunde desde los capilares a través del tejido, ingresa a la circulación venosa y la saturación de oxígeno medida de la sangre venosa mixta SvO_2 refleja la cantidad de oxígeno que queda en la sangre, después de que éste sea absorbido [33]. La medición de SvO_2 proporciona una medida del equilibrio entre el suministro y el consumo de oxígeno, como se indica en la ecuación 10.

$$SvO_2 = SaO_2 - vO_2 \quad (10)$$

donde SaO_2 es la saturación de oxígeno arterial (suministro de oxígeno) y vO_2 representa el consumo de oxígeno.

Los sensores de oximetría SvO_2 están compuestos por un catéter hecho de plástico flexible con un extremo distal que consta de un pequeño globo inflable y un termistor, que se utilizan para medir el gasto cardíaco. La sonda oximétrica consta de dos fibras ópticas con un pequeño espacio entre sus puntas (ver figura 17). Una de las fibras transmite dos longitudes de onda de luz a la sangre en el espacio entre las fibras ópticas y la segunda fibra guía la luz transmitida al detector [31]. La luz detectada se convierte luego en una señal eléctrica utilizando el fotodetector ubicado en el módulo óptico. De manera similar a las técnicas anteriormente vistas, las diferentes propiedades de absorción de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada se pueden aprovechar para determinar el porcentaje de SvO_2 después de la transmisión de la luz de la sangre venosa [53].



Figura 17. Oxímetros intravenosos de fibra óptica de reflexión (izquierda) y transmisión (derecha). Las fibras ópticas se encuentran en gris y la pared del catéter en negro (imagen tomada de [31]).

La ubicación del sensor de oximetría es importante para la medición precisa de la saturación de sangre venosa. De particular importancia es la medición de SvO₂ en la arteria pulmonar que transporta la sangre venosa mixta (toda la sangre venosa que regresa de los órganos del cuerpo suministrados por la circulación sistémica) y en las venas yugulares, que drenan la sangre del cerebro. La SvO₂ en la arteria pulmonar y en la vena yugular está directamente relacionada con el gasto cardíaco y el suministro de sangre al cerebro, respectivamente, e inversamente relacionada con la demanda de oxígeno en el tejido respectivo [31].

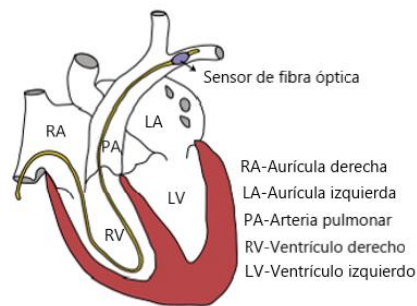


Figura 18. Colocación de un catéter de oximetría venosa (sensor de fibra óptica) en la arteria pulmonar (imagen tomada y adaptada de [33]).

El término “saturación venosa mixta” es empleado para describir estas medidas de SvO₂, ya que el lado derecho del corazón recoge sangre venosa de los diferentes órganos del cuerpo, provocando la “mezcla” de dicha sangre (ver figura 18).

2.4.4.1 Aplicaciones de oximetría venosa de fibra óptica

Debido a su fuerte relación con el consumo de oxígeno, la oximetría venosa se considera una técnica estándar para la evaluación continua de los desequilibrios de oxígeno. Un valor de SvO₂ entre el 60% y 80% indica un suministro de oxígeno suficiente disponible para los tejidos. Sin embargo, un valor bajo de SvO₂ destaca una situación en la que el suministro de oxígeno es insuficiente o la demanda (consumo) de oxígeno es elevada [33]. Esta medida puede ser de gran utilidad en pacientes hemodinámicamente inestables para detectar la aparición de complicaciones metabólicas (consumo anormal de oxígeno) como en estado de shock o fallas de múltiples órganos.

2.4.4.2 Limitaciones de oximetría venosa de fibra óptica

Al realizar la medición en la sangre venosa mixta, la técnica se considera una medida hemodinámica global, sin la capacidad de proporcionar una evaluación regional precisa. Por otra parte, debido a la delicada posición del sensor, la oximetría venosa solo se realiza en pacientes críticamente enfermos que han sido anestesiados, ya que el procedimiento es invasivo y podría derivar ciertas complicaciones.

2.5 Resumen del capítulo

En este capítulo se describió la primordial importancia de un aporte adecuado de oxígeno al cuerpo, por lo cual la evaluación clínica de la oxigenación sanguínea es fundamental, siendo considerada la saturación de oxígeno como 5° signo vital. Las tecnologías ópticas se han convertido en un componente integral en la evaluación del oxígeno tanto en sangre como en tejidos, debido a la naturaleza no invasiva de la propagación de la luz a través de los tejidos y a los diferentes espectros de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada. Dichas características estimularon el desarrollo de diversas técnicas oximétricas como la pulsioximetría, espectroscopía de infrarrojo cercano, espectrofotometría de reflectancia de luz blanca y oximetría venosa de fibra óptica. En la actualidad solo la pulsioximetría ha sido ampliamente aceptada como una herramienta de diagnóstico válida, por su precisión respecto a los requerimientos clínicos. Sin embargo, la pulsioximetría proporciona una medición global del suministro de oxígeno que no garantiza su entrega a los tejidos críticos del cuerpo. Por esta razón, es necesaria la evaluación de la oxigenación tisular que puede ser realizada mediante la técnica que se propone en el presente trabajo.

CAPÍTULO 3. PROPAGACIÓN DE RADIACIÓN ÓPTICA EN PIEL HUMANA

En el capítulo 2 se indicó que para obtener el valor de la saturación de oxígeno tisular es necesario determinar las concentraciones correspondientes a la hemoglobina oxigenada [HbO₂] y desoxigenada [Hb], las cuales pueden ser determinadas a partir de los coeficientes de absorción del tejido que se pretende analizar. En el presente capítulo se describen las características de la piel como tejido biológico, sus propiedades ópticas, así como los fundamentos de la interacción entre la radiación electromagnética y la piel.

3.1 Fisiología de la piel

La piel es el órgano más grande y extenso del cuerpo humano, se considera como el medio que separa al organismo del exterior. Entre sus principales funciones se encuentran la protección de los tejidos internos de la radiación ultravioleta (UV), de temperaturas extremas, así como de bacterias y toxinas localizadas en el medio ambiente. Considerando un punto de vista estructural, se observa que la piel se divide en dos capas principales (ver figura 19). La epidermis que es una capa superficial más fina y está compuesta por tejido epitelial. La capa más profunda y gruesa que se compone por tejido conectivo es la dermis. Debajo de la dermis se localiza el tejido subcutáneo, también llamado hipodermis, que sirve como almacenamiento de grasas y contiene numerosos vasos sanguíneos que irrigan la piel [54].

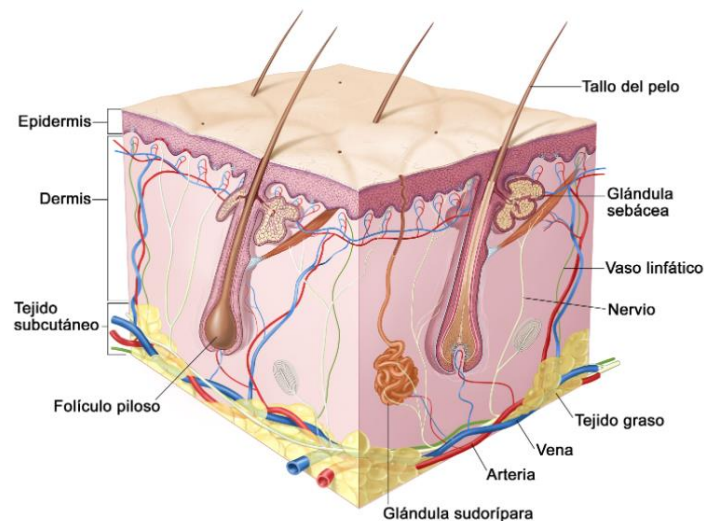


Figura 19. Estructura de la piel (imagen tomada y adaptada de [54]).

3.1.1 Epidermis

La epidermis está formada por un epitelio plano estratificado queratinizado y su grosor está comprendido generalmente entre 0.027 y 0.15 mm de espesor [55]. Contiene cuatro tipos principales de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.

- Alrededor del 90% de las células epidérmicas son queratinocitos, que se distribuyen en diferentes estratos y generan queratina (proteína fibrosa y resistente que protege la piel y los tejidos subyacentes del calor, microorganismos y agentes químicos).
- Cerca del 8% de las células epidérmicas son melanocitos que tienen la función de fabricar melanina. Sus largas y delgadas proyecciones se propagan entre los queratinocitos y les transmiten gránulos de melanina. Al estar dentro de los queratinocitos, los gránulos de melanina se unen generando un velo protector sobre el núcleo, hacia la superficie de la piel. La melanina es un pigmento que proporciona a la piel su color y tiene funciones fotoprotectoras, ya que absorbe los rayos UV nocivos. La melanina se almacena en un orgánulo citoplasmático oval con estructura filamentosa denominado melanosoma. Las variaciones de la pigmentación, incluidas las raciales, se deben a diferencias en la actividad del melanocito, condicionadas por factores genéticos y no por el número de melanocitos.
- Las células de Langerhans se derivan de la médula ósea y se mueven a la epidermis, donde constituyen una pequeña parte de las células epidérmicas. Participan en la respuesta inmunitaria que se desencadena contra los microorganismos que invaden la piel y resultan muy susceptibles a la luz UV.
- Las células de Merkel son las que se encuentran en menor cantidad en la epidermis. Se localizan en la capa más profunda, donde tienen contacto con las extensiones planas de las neuronas sensitivas (células nerviosas). Las células y los discos de Merkel discriminan diferentes aspectos de las sensaciones táctiles.

La epidermis está constituida por una serie de células ordenadas y distribuidas en diferentes estratos: córneo, granuloso, espinoso y basal [54].

- El estrato córneo tiene entre 25 y 30 hileras de queratinocitos muertos y aplanados que contienen queratina especialmente.
- El estrato granuloso presenta entre 3 y 5 capas de queratinocitos aplanados, en donde los orgánulos comienzan a degenerarse. Las células contienen la proteína queratohialina que cambia los tonofilamentos (filamentos intermedios) en queratina y gránulos lamelares, estos liberan una sustancia rica en lípidos repelentes del agua.
- El estrato espinoso tiene entre 8 y 10 capas de queratinocitos multifacetados con haces de tonofilamentos, incluye las proyecciones de los melanocitos y células de Langerhans.
- El estrato basal es la capa más profunda y está formada por una hilera de queratinocitos cilíndricos que contienen tonofilamentos dispersos. Las células madre se dividen para generar nuevos queratinocitos. Los melanocitos, las células de Langerhans y las células de Merkel que son asociadas a los discos táctiles, se encuentran dispersas entre los queratinocitos.

3.1.2 Dermis

La dermis está compuesta por un sistema de fibras entrelazadas que se encuentra inmerso en una sustancia mucopolisacarida amorfa constituida de agua, electrolitos y proteínas plasmáticas. Esta sustancia le proporciona elasticidad a la dermis y llena los espacios entre las fibras y células de la dermis. El espesor de la dermis varia de 1 a 4 mm según las regiones corporales.

Las células que integran la dermis se denominan fibroblastos, se constituyen principalmente en dos tipos de fibras: colágenas y elásticas. Los fibroblastos se encargan de producir los componentes del tejido conectivo de colágeno, laminina, fibronectina y vitronectina. En la dermis también se localizan los anexos cutáneos: córneos (pelos y uñas) y glandulares (glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas) [56].

La dermis también contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. La irrigación sanguínea está formada por dos plexos venosos paralelos entre sí: el plexo vascular profundo y el superficial, que están intercomunicados por ramas verticales. Los vasos sanguíneos por donde circula el 10 % del total de la sangre del cuerpo humano, tienen un papel primordial en la regulación de la temperatura corporal, el aporte de nutrientes y oxígeno a la piel [57]. También permiten eliminar toxinas y sustancias de desecho, por este motivo la vascularización es vital en la reparación de piel dañada.

3.1.3 Tejido Subcutáneo

El tejido subcutáneo también conocido como hipodermis es un tejido de tipo conectivo laxo constituido por grandes lóbulos de tejido graso y una numerosa cantidad de células adiposas. El adipocito es un tipo especial de célula conectiva y el principal elemento en esta capa. Las células grasas se organizan en lobulillos de aproximadamente 1 cm de diámetro que están separados por tabiques verticales de tejido conectivo. Los microlóbulos, que son subdivisiones de los lobulillos, están rodeados por tabiques más finos de fibras colágenas [56].

Además de sus propiedades mecánicas 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 el tejido subcutáneo.

3.2 Radiación electromagnética

La luz posee una doble naturaleza debido a que se comporta como onda electromagnética cuando viaja a través del espacio y como partícula debe su comportamiento a los procesos de absorción y emisión mediante los que transmite energía constantemente. Las partículas encargadas del transporte de energía no contienen masa y son denominadas fotones. La energía que lleva un grupo de fotones equivale a la energía que transmite una onda electromagnética [58].

3.2.1 Espectro electromagnético

Se conoce como espectro electromagnético a la distribución energética del conjunto de ondas electromagnéticas. El espectro electromagnético tiene un intervalo que va desde la radiación de menor longitud de onda, como los rayos gamma γ , hasta las ondas electromagnéticas de mayor longitud de onda, como son las ondas de radio. Como se observa en la figura 20 mientras más larga sea la longitud de onda, menos energía lleva.

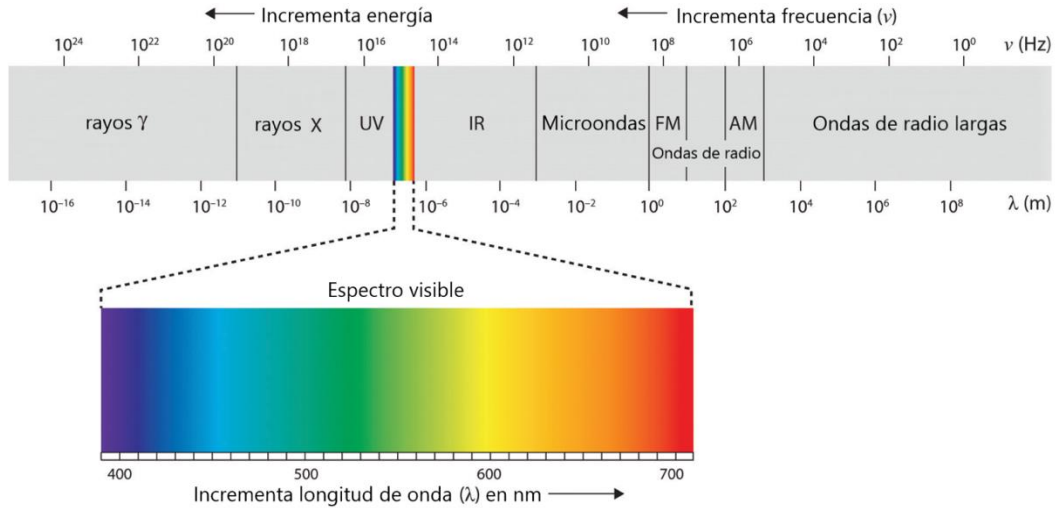


Figura 20. Espectro de radiación electromagnética (imagen tomada y adaptada de [59]).

El intervalo del espectro electromagnético en el que los tejidos tienen un nivel significativo de penetración de la luz para proporcionar información del estado de estos, pero sin causar un efecto nocivo a la salud se conoce como ventana terapéutica y se ubica entre las longitudes de onda de 600 a 1300 nm [60].

3.3 Propagación de radiación en piel

Las interacciones de la radiación electromagnética con la piel son gobernadas por las características fisiológicas, bioquímicas y morfológicas de la misma [61]. Se caracterizan por un fuerte esparcimiento óptico, debido al alto grado de inhomogeneidad causado por los orgánulos que contienen las células, los cuales tienen tamaños y composiciones diferentes, así mismo presentan un índice de refracción diferente al de la sustancia en la que están inmersas las fibras y células del tejido conectivo [62]. Por lo tanto la piel puede ser considerada como un medio turbio inhomogéneo.

Cuando la radiación electromagnética interactúa con la piel pueden presentarse diferentes fenómenos como se observa en la figura 21, una parte de la radiación es reflejada a causa de la diferencia entre los índices de refracción de la piel y el aire, el restante de radiación que atraviesa la frontera puede ser absorbida internamente o esparcida múltiples veces por el medio. Finalmente la radiación que experimentó múltiples eventos de esparcimiento puede ser transmitida o reflejada difusamente [63].

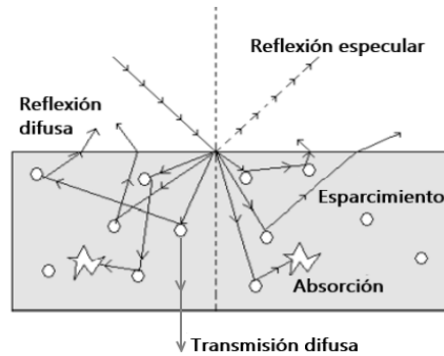


Figura 21. Propagación de radiación en un medio turbio (imagen tomada y adaptada de [69]).

Las propiedades ópticas más importantes para describir la propagación de radiación electromagnética en la piel son [64]:

- a) Coeficiente de absorción (μ_a)
- b) Coeficiente de esparcimiento (μ_s)
- c) Factor de anisotropía (g)
- d) Índice de refracción (n)

Como se revisó en la subsección 3.1, la piel humana es un tejido formado por diferentes capas que contienen una diversidad de estructuras no homogéneas. El estudio de la interacción de la radiación electromagnética con este medio se torna difícil debido a la diversidad en tamaños, formas, densidad e índice de refracción de estos componentes. Por lo que generalmente se realizan simplificaciones para su estudio y las estructuras se consideran partículas esféricas homogéneamente distribuidas [65].

3.3.1 Absorción

La absorción es un proceso atribuido a la extracción de energía de un haz de radiación por parte del medio a través del cual éste pasa [66]. Este proceso de absorción se debe a moléculas biológicas (hemoglobina, melanina, agua, etc.) presentes en la piel, conocidas como cromóforos. La figura 22 muestra los principales cromóforos presentes en la piel.

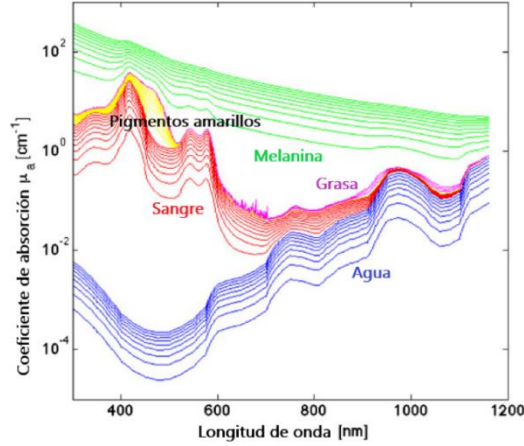


Figura 22. Coeficiente de absorción de principales cromóforos en la piel (imagen tomada y adaptada de [67]).

Considerando idealmente un cromóforo como una esfera con un tamaño geométrico particular, puede generarse el concepto de coeficiente de absorción, a partir de la sombra que se produce al incidir un haz de luz sobre un cromóforo [68]. El área de la sombra es representada por la sección transversal efectiva de absorción $\sigma_a [cm^2]$. La ecuación 11 permite obtener la sección transversal efectiva, donde Q_a es la eficiencia de absorción y $A [cm^2]$ es el tamaño geométrico del cromóforo (ver figura 23):

$$\sigma_a = Q_a A \tag{11}$$

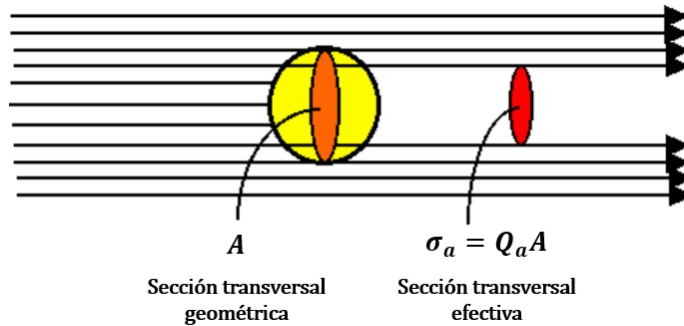


Figura 23. Absorción de luz por un cromóforo (imagen tomada y adaptada de [68]).

En un medio que contiene gran cantidad de cromóforos distribuidos de manera uniforme, el coeficiente de absorción $\mu_a [cm^{-1}]$ queda definido en términos de $\sigma_a [cm^2]$ y de la densidad de cromóforos $\rho_a [cm^{-3}]$ como lo expresa la ecuación 12:

$$\mu_a = \rho_a \sigma_a \tag{12}$$

El coeficiente de absorción es definido como la probabilidad de que un fotón sea absorbido en un medio por unidad de longitud. De acuerdo con la definición de coeficiente de absorción, la luz se atenúa al propagarse en un medio siguiendo la ecuación 13:

$$dl = -\mu_a l dl \tag{13}$$

donde dI es el cambio diferencial de la intensidad I de un haz de luz colimado que hace un recorrido infinitesimal dL a través de un medio homogéneo que tiene un coeficiente de absorción μ_a . Integrando la ecuación 13 sobre el espesor L , obtenemos la ecuación 14 conocida como ley de Beer-Lambert [59]:

$$I = I_0 \exp^{-\mu_a L} \quad (14)$$

La ecuación 14 también puede ser expresada como:

$$I = I_0 \exp^{-\varepsilon CL} \quad (15)$$

donde $\varepsilon[\text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}]$ es el coeficiente de extinción molar, $C[\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}]$ es la concentración molar y $L[\text{cm}]$ es el espesor [69].

3.3.2 Esparcimiento

Como se mencionó anteriormente la interacción de la radiación en medios biológicos está dominada por el proceso de esparcimiento debido a las inhomogeneidades presentes en la estructura celular. El esparcimiento es el cambio en la dirección inicial de la luz ocasionado por las diferencias entre los índices de refracción, dimensiones, morfología y estructura de las células y sus diversos componentes. El esparcimiento se clasifica en tres categorías de acuerdo con las dimensiones de los elementos esparcidos en relación con la longitud de onda [69]:

- a) Límite de Rayleigh, la dimensión del elemento que produce el esparcimiento es pequeña comparado con la longitud de onda;
- b) Régimen de Mie, la dimensión del elemento esparcido es comparable con la longitud de onda;
- c) Límite geométrico, la longitud de onda es mucho más pequeña que la dimensión del elemento esparcido.

La figura 24 indica el tipo de esparcimiento en relación con las dimensiones de los elementos que producen dicho esparcimiento [68].

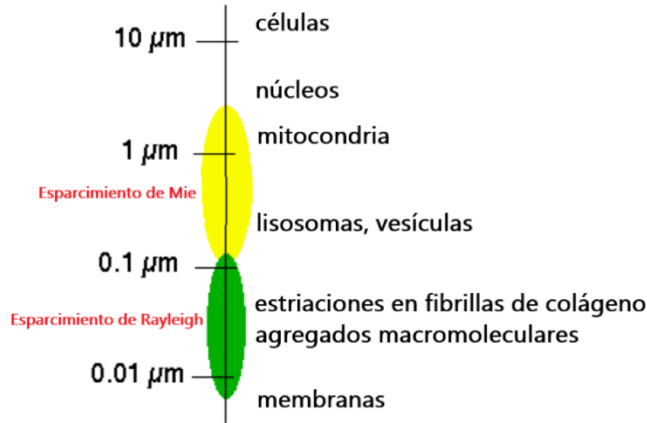


Figura 24. Clasificación del espaciamiento de acuerdo con la dimensión de los elementos esparcidores (imagen tomada y adaptada de [68]).

Al igual que en el proceso de absorción, se puede considerar un elemento esparcidor como una partícula esférica ideal con un área de sección transversal A [cm^2], que cambia la dirección de la luz incidente generando una sombra conocida como sección transversal efectiva de espaciamiento σ_s [cm^2] y está relacionada con la eficiencia de espaciamiento Q_s mediante la ecuación 16 (ver figura 25):

$$\sigma_s = Q_s A_s \quad (16)$$

El coeficiente de espaciamiento μ_s [cm^{-1}] puede ser obtenido en función de la densidad de los elementos esparcidores ρ_s [cm^{-3}] y de la sección transversal de espaciamiento σ_s [cm^2], como lo indica la siguiente ecuación:

$$\mu_s = \rho_s \sigma_s \quad (17)$$

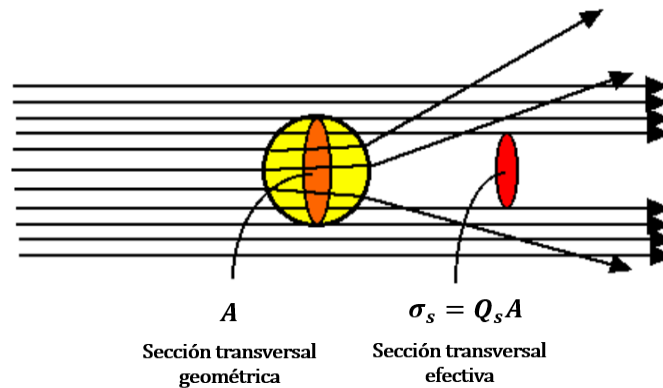


Figura 25. Espaciamiento de luz (imagen tomada y adaptada de [68]).

El coeficiente de espaciamiento es definido como la probabilidad de que un fotón sea esparcido en un medio por unidad de longitud y al igual que el coeficiente de absorción también puede ser determinado mediante la ley de Beer-Lambert, como se expresa en la ecuación 18 [59]:

$$I = I_0 \exp^{-\mu_s L} \quad (18)$$

donde I es la componente de luz no esparcida después de atravesar una muestra no absorbente de espesor L . El inverso del μ_s representa la distancia promedio que recorre un fotón dentro de un medio antes de sufrir un evento de esparcimiento [70].

Factor de anisotropía

El proceso de esparcimiento incluye el término función de fase $p(\vec{s}', \vec{s})$ que describe la probabilidad de que la luz que viaja en la dirección \vec{s}' sea esparcida en la dirección \vec{s} dentro del ángulo sólido $d\Omega$ [59]. Siempre se requiere que esta función cumpla con la condición de normalización, como se expresa en la ecuación 19:

$$\int_{4\pi} p(\vec{s}', \vec{s}) d\Omega = 1 \quad (19)$$

Se conoce como esparcimiento isotrópico cuando la luz se esparce uniformemente en todas las direcciones, ya que la luz tiene la misma probabilidad de ser esparcida en cualquier dirección. Se dice que el esparcimiento es anisotrópico cuando éste se da en una dirección determinada. La función fase de Henyey-Greenstein es aplicada generalmente para describir la distribución de la luz en tejidos biológicos y está definida como [71]:

$$p(\vec{s}', \vec{s}) = p(\theta) = \frac{1 - g^2}{4\pi(1 + g^2 - 2g\cos\theta)^{3/2}} \quad (20)$$

donde g es el factor de anisotropía del medio, que indica cuantitativamente que tan isotrópico o anisotrópico es un tejido:

$$g = \int_{4\pi} (\vec{s}', \vec{s}) p(\vec{s}', \vec{s}) d\Omega \quad (21)$$

Para tejidos biológicos se puede considerar que la probabilidad de distribución es una función que depende solamente del ángulo que se forma entre las direcciones del fotón incidente y del esparcido. Por consiguiente, la función de fase puede ser expresada como una función del coseno del ángulo de esparcimiento [72]:

$$p(\vec{s}', \vec{s}) = p(\vec{s}' \cdot \vec{s}) = p(\cos\theta) \quad (22)$$

El factor de anisotropía varía entre $-1 < g < 1$ [70]. Para $g = 0$ tenemos que el esparcimiento es perfectamente isotrópico, $g = 1$ indica que el esparcimiento es dirigido hacia adelante y es anisotrópico, $g = -1$ indica que el esparcimiento es dirigido hacia atrás y también es anisotrópico (ver figura 26). El tejido biológico tiene factores de anisotropía comprendidos entre 0.69 y 0.99 [73].

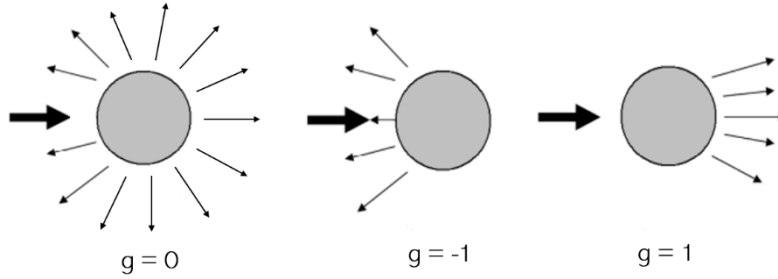


Figura 26. Esparcimiento de luz mediante una partícula esférica.

El factor de anisotropía también se emplea junto con el coeficiente de esparcimiento para definir el coeficiente de esparcimiento reducido $\mu'_s [cm^{-1}]$ y es obtenido mediante la siguiente relación [74]:

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (23)$$

La absorción y el esparcimiento se pueden combinar en un parámetro conocido como coeficiente de atenuación total $\mu_t [cm^{-1}]$ que representa la interacción total de la luz con el medio:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (24)$$

El inverso del coeficiente de atenuación total $1/\mu_t$ indica la distancia promedio que recorrerá libremente un fotón.

Considerando el coeficiente de esparcimiento reducido μ'_s y el coeficiente de absorción μ_a podemos obtener el coeficiente de transporte de atenuación $\mu_{tr} [cm^{-1}]$, de forma similar a la ecuación 24:

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu_s(1 - g) = \mu_a + \mu'_s \quad (25)$$

Las propiedades ópticas también pueden ser expresadas por cantidades adimensionales conocidas como espesor óptico (τ) y albedo (a) [74]:

$$\tau = L(\mu_a + \mu_s) \quad (26)$$

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (27)$$

donde L es el espesor físico de la muestra de tejido. El exponencial del valor negativo del espesor óptico ($e^{-\tau}$) representa el porcentaje de distancia que recorrerá probablemente la luz sin ser esparcida o absorbida. El albedo (a) toma valores entre 0 y 1, cuando $a = 1$ el tejido no absorbe luz y cuando $a = 0$ el tejido no esparce luz [72].

Índice de refracción

El índice de refracción es una propiedad fundamental de los medios homogéneos, describe sus propiedades ópticas lineales y se expresa en forma de número complejo [66]:

$$\tilde{n}(\lambda) = n(\lambda) + i\alpha(\lambda) \quad (28)$$

donde la parte imaginaria $\alpha(\lambda)$ representa la atenuación debido al proceso de absorción y esparcimiento cuando el medio es heterogéneo. La parte real $n(\lambda)$ es definida como la relación entre la velocidad de propagación de la luz en el vacío $c = 2.998 \times 10^8 \text{ m/s}$ y su velocidad en el medio $c_m(\lambda)$:

$$c_m(\lambda) = \frac{c}{n(\lambda)} \quad (29)$$

Una vez que la luz pasa de un medio que tiene un índice de refracción definido a un medio con distinto índice de refracción experimenta un cambio de dirección y velocidad (ver figura 27), este fenómeno es conocido como refracción y es explicado por la ley de Snell mediante la ecuación 30:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (30)$$

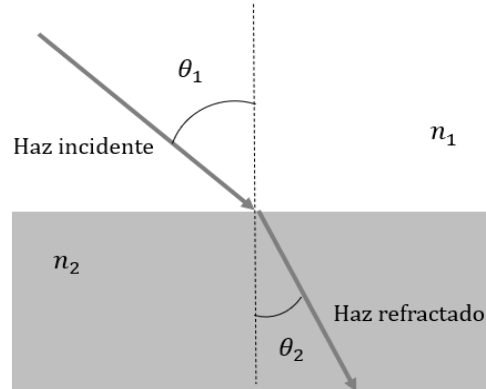


Figura 27. Refracción de luz en un medio.

3.3.3 Reflexión

La radiación reflejada por un medio es considerada como la suma de dos componentes: la reflexión especular y la reflexión difusa.

La reflexión especular viene descrita por las leyes de Fresnel y se debe a la diferencia entre los índices de refracción del aire y de la piel. Esta diferencia provoca un reflejo de la radiación hacia atrás y la cantidad de energía reflejada depende de la diferencia entre el índice de refracción y el ángulo de incidencia. Si el rayo tiene una incidencia normal a la superficie, la reflexión de Fresnel viene dada por la ecuación 31 [59]:

$$R_{Fresnel} = \frac{(n_1 - n_2)^2}{(n_1 + n_2)^2} \quad (31)$$

La reflexión difusa es aquella que logra entrar al tejido y que es retroesparcida por la piel después de experimentar múltiples eventos de absorción y esparcimiento. Se da en todas las direcciones de la superficie como consecuencia de los procesos de absorción y

esparcimiento, predomina cuando los materiales de la superficie reflectante son poco absorbentes en la longitud de onda incidente o cuando la penetración de la radiación es grande en relación con la longitud de onda [69].

3.3.4 Transmisión

La transmisión T es definida como la relación entre la intensidad de la luz transmitida a través del medio y la intensidad de la luz incidente sobre el mismo [59]:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (32)$$

La transmitancia difusa se da cuando la luz que pasa por un medio logra ser transmitida después de sufrir eventos de esparcimiento y cuando la luz pasa directamente sin sufrir esparcimiento, se trata de transmisión directa o colimada.

3.4 Teoría de transporte radiativo

Existen diferentes modelos matemáticos que han sido empleados para describir la propagación de radiación a través de tejidos biológicos. En el caso de la piel, como se mencionó anteriormente, el proceso de esparcimiento se convierte en predominante y los modelos matemáticos comúnmente aplicados se clasifican en dos: La Teoría Analítica y La Teoría del Transporte Radiativo.

La Teoría Analítica es descrita por las ecuaciones de Maxwell, pero no es tan factible debido a que suele ser más compleja porque puede incluir todos los efectos de la interacción de la luz con el tejido: esparcimiento múltiple, difracción, interferencia, etc [75].

Existen dos tipos de esparcimiento de un fotón por una molécula: el elástico y el inelástico. El esparcimiento Raman es inelástico y da información sobre la composición química y estructura molecular del tejido, mientras que el esparcimiento elástico revela el tamaño y distribución de los elementos esparcidores [70].

La Teoría de Transporte Radiativo considera que la única interacción de la luz con el medio es de tipo elástico, cambiando la distribución de energía de la luz incidente al pasar a través de dicho medio. Esta teoría no incluye los efectos de coherencia, polarización, interferencia y difracción. Su ecuación fundamental es la Ecuación de Transferencia Radiativa que resulta ser una ecuación íntegro-diferencial. La radiancia o intensidad específica es la magnitud incógnita en esta ecuación e incluye parámetros como los coeficientes de esparcimiento y absorción, y la función de fase del medio.

3.4.1 Ecuación de transferencia radiativa

La Ecuación de Transferencia Radiativa se basa en el principio de conservación y consiste en un balance de energía, como se describe en la ecuación 33 [70].

$$\frac{\partial L(\vec{r}, \hat{s}, t)/c}{\partial t} = -\hat{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, \hat{s}, t) - (\mu_a + \mu_s)L(\vec{r}, \hat{s}, t) + \mu_s \int_{4\pi} L(\vec{r}, \hat{s}', t)p(\hat{s}' \cdot \hat{s})d\Omega' + S(\vec{r}, \hat{s}, t) \quad (33)$$

donde:

- $L(\vec{r}, \hat{s}, t)$ representa la radiancia que fluye desde la posición \vec{r} en la dirección \hat{s} en un tiempo t y sus unidades son $[Wm^{-2}sr^{-1}]$
- μ_a es el coeficiente de absorción
- μ_s es el coeficiente de esparcimiento
- $p(\hat{s}', \hat{s})$ es la función de fase
- $d\Omega'$ es el ángulo sólido diferencial en la dirección \hat{s}'

Considerando un elemento diferencial de volumen, donde ds es un elemento de longitud diferencial a lo largo de la dirección de propagación de fotones \hat{s} , dA es un elemento de área diferencial perpendicular a la dirección \hat{s} . A continuación, consideramos todas las posibles contribuciones al cambio de energía en este elemento de volumen dentro del elemento de ángulo sólido diferencial $d\Omega$ alrededor de la dirección \hat{s} (ver figura 28).

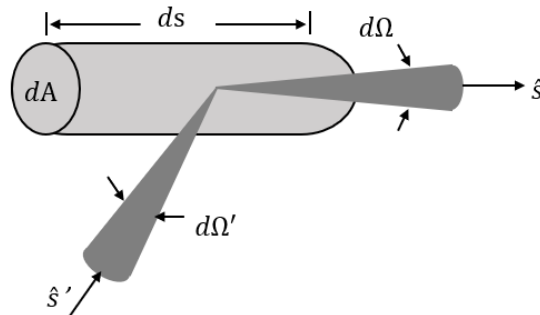


Figura 28. Esquema de un elemento de volumen cilíndrico diferencial.

El cambio de energía en el elemento de volumen se debe a 4 contribuciones de energía, 2 negativas y 2 positivas, cada término de contribución es descrito a continuación [70]:

$$dP = -dP_{div} - dP_{ext} + dP_{esp} + dP_{fuente} \quad (34)$$

a) Divergencia $dP_{div} = \hat{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, \hat{s}, t)$

Es una contribución negativa porque representa la energía perdida cuando el haz de luz incidente no está colimado y la divergencia es distinta de cero. La energía que diverge del elemento de volumen puede existir incluso en un medio sin esparcimiento.

b) Extinción $dP_{ext} = (\mu_a + \mu_s)L(\vec{r}, \hat{s}, t)$

Esta contribución también es negativa y representa la energía perdida debido a la absorción y esparcimiento de luz dentro del elemento de volumen.

c) Esparcimiento $dP_{esp} = \mu_s \int_{4\pi} L(\vec{r}, \hat{s}', t) p(\hat{s}' \cdot \hat{s}) d\Omega'$

Es una contribución positiva porque la energía entra al elemento de volumen desde cualquier otra dirección \hat{s}' y es esparcida en la dirección \hat{s} .

d) Fuente $dP_{fuente} = S(\vec{r}, \hat{s}, t)$

Esta contribución también es positiva porque se refiere a la energía producida por una fuente dentro del elemento de volumen y del ángulo sólido.

La Ecuación de Transferencia Radiativa asume que las partículas responsables de los procesos de absorción y esparcimiento se encuentran uniformemente distribuidas a través del medio y que no existe interacción entre ellas [76].

3.4.2 Solución de la Ecuación de transferencia radiativa

Para dar solución a la Ecuación de Transferencia Radiativa el principal problema que se presenta es la evaluación de la radiancia difusa, debido a que los fotones esparcidos no siguen una trayectoria determinada. Por este motivo se deben elegir aproximaciones y enfoques estadísticos adecuados, considerando principalmente el valor del albedo, es decir, si la absorción o el esparcimiento es el proceso dominante de atenuación.

Los métodos empleados generalmente son la teoría de Kubelka-Munk, la aproximación de difusión, el método de Monte Carlo o Inverse Adding-Doubling. Cada método se basa en ciertos supuestos con respecto a las condiciones iniciales y de contorno. En general, la complejidad de cualquiera de los enfoques está estrechamente relacionada con su precisión, pero también con el tiempo de cálculo necesario para dar solución [76].

Teoría de Kubelka-Munk

La teoría de Kubelka-Munk se clasifica dentro de los métodos indirectos para determinar los parámetros ópticos de los tejidos biológicos. Constituye un modelo simplificado de la Ecuación de Transferencia Radiativa, llamado modelo de 2 flujos, que conduce a una expresión analítica para la reflexión difusa de una muestra plana infinita de espesor L iluminada por una onda plana.

La teoría de Kubelka-Munk hace las siguientes suposiciones:

- Las inhomogeneidades de la muestra son pequeñas comparadas con su espesor.
- La radiación incidente es difusa.
- La reflexión regular en las fronteras de la muestra es despreciable.
- La radiación dentro de la muestra se compone de 2 flujos difusos opuestos.

La ventaja de este modelo es que los coeficientes de absorción y esparcimiento se expresan directamente en términos de la transmitancia y reflectancia [62].

$$S = \frac{1}{bL} \ln \left[\frac{1 - R_d(a - b)}{T_d} \right] \quad (35)$$

$$K = (a - 1)S \quad (36)$$

donde K y S son los coeficientes de Kubelka-Munk para la absorción y esparcimiento, respectivamente y sus unidades son [cm^{-1}].

$$a = \frac{1 + R_d^2 - T_d^2}{2R_d} \quad (37)$$

$$b = +\sqrt{a^2 - 1} \quad (38)$$

y

$$K = 2\mu_a \quad (39)$$

$$S = \frac{3}{4}\mu_s(1 - g) - \frac{1}{4}\mu_a \quad (40)$$

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (41)$$

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) > \mu_a \quad (42)$$

donde μ_t se determina de la transmitancia colimada, basándose en la ley de Beer-Lambert, esto permite encontrar los tres parámetros (μ_a , μ_s y g) de los datos experimentales: transmitancia difusa, transmitancia colimada y reflectancia difusa (T_d , T_c y R_d). La transmitancia total T_t es la suma de las transmitancias difusa y colimada [62].

La teoría de Kubelka-Munk es un caso especial de la llamada teoría de muchos flujos, donde la Ecuación de Transferencia Radiativa se convierte en una ecuación diferencial matricial considerando la radiancia en muchos ángulos discretos. Sin embargo, en general, todas estas teorías de flujo se limitan a una geometría unidimensional y al supuesto de que la luz incidente ya es difusa. Otra desventaja es que las suposiciones en las cuales se basa no se satisfacen realmente en la interacción de luz con tejidos, y suelen estar limitadas en su precisión.

Aproximación de difusión

La aproximación de la difusión es una versión simplificada de la Ecuación de Transferencia Radiativa que supone que la radiancia en un medio con albedo alto ($\mu_a \ll \mu_s$) se puede considerar isotrópica después de una cantidad suficiente de eventos de esparcimiento.

Se deben realizar dos aproximaciones para derivar la ecuación de difusión a partir de la Ecuación de Transferencia Radiativa [73]:

- El desarrollo de la radiancia está limitado a primer orden en armónicos esféricos.
- El cambio fraccional de la densidad de corriente en un camino libre medio de transporte es mucho menor que uno.

La ecuación de difusión obtenida al realizar las aproximaciones mencionadas se describe mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial \Phi(\vec{r}, t)}{c \partial t} + \mu_a \Phi(\vec{r}, t) - \nabla \cdot [D \nabla \Phi(\vec{r}, t)] = 0 \quad (43)$$

donde D es el coeficiente de difusión de fotones y equivale a:

$$D = \frac{1}{3(\mu_a + \mu'_s)} \quad (44)$$

Si el coeficiente de absorción es cero, la ecuación de difusión se reduce al análogo de la ecuación de difusión de calor. Si el coeficiente de difusión es constante, obtenemos una versión más simple de la ecuación de difusión:

$$\frac{\partial \Phi(\vec{r}, t)}{c \partial t} + \mu_a \Phi(\vec{r}, t) - D \nabla^2 \Phi(\vec{r}, t) = 0 \quad (45)$$

Al resolver esta ecuación diferencial se puede obtener el flujo de fotones $\Phi(\vec{r}, t)$ en el medio, y a partir de esto, se puede conocer su reflectancia y transmitancia. Se pueden considerar una variedad de soluciones a la ecuación de difusión, que pueden incluir efectos en la frontera. Sin embargo, al suponer que la radiancia es isotrópica se limita el intervalo de validez de la aproximación de difusión a medios con esparcimiento considerable y baja absorción.

Método de Monte Carlo

Las simulaciones de propagación de fotones por el método de Monte Carlo ofrecen un enfoque flexible pero riguroso hacia el transporte de fotones en medios turbios. El método establece como distribuciones de probabilidad las reglas locales de transporte de fotones que describen la distancia de propagación de fotones entre los sitios de interacción con el tejido y los ángulos de desviación en la trayectoria de un fotón, cuando ocurre un evento de esparcimiento [70].

En esencia el método de Monte Carlo consiste en simular las trayectorias de los fotones durante su interacción con los centros de absorción y esparcimiento del tejido. La simulación está basada en el uso de caminos aleatorios para dichas trayectorias y el registro de la ocurrencia de los eventos de absorción y escape de los fotones. Los caminos aleatorios son generados a través del muestreo aleatorio de las variables de propagación (longitud de trayectoria libre media, ángulo de esparcimiento y ángulo azimutal) mediante el uso de distribuciones de probabilidad.

El método Monte Carlo más sencillo propaga cada fotón con pequeños incrementos fijos. El tamaño del recorrido fijo Δs debe ser relativamente pequeño comparado al promedio de la longitud de camino libre medio de un fotón en el tejido. La longitud de camino libre medio es el inverso del coeficiente de transporte de atenuación.

$$\Delta s \ll \frac{1}{\mu_{tr}} = \frac{1}{\mu_a + \mu'_s} \quad (46)$$

donde μ_{tr} , μ_a y μ'_s son los coeficientes de transporte de atenuación, absorción y esparcimiento reducido, respectivamente. Si el tamaño de camino es demasiado pequeño el fotón raramente interactuará con el tejido y el método Monte Carlo será ineficiente, de manera inversa si es demasiado grande entonces la distancia que viaja un fotón resulta una aproximación pobre del fotón real [73].

Un método eficiente elige diferentes tamaños para cada paso del fotón. El tamaño del camino Δs se obtiene usando la ecuación 47 que representa la distancia que un fotón viajará antes de interactuar (a través de un evento de absorción o esparcimiento) con el tejido.

$$\Delta s = \frac{-\ln \xi}{\mu_{tr}} \quad (47)$$

donde ξ es un número aleatorio uniformemente distribuido entre 0 y 1.

Un fotón se describe por medio de cinco variables: tres coordenadas espaciales para la posición y dos ángulos para la dirección del viaje. Sin embargo, es conveniente describir la posición espacial del fotón con tres coordenadas cartesianas y la dirección de viaje con tres cosenos directores. Las direcciones de los cosenos se especifican tomando el coseno del ángulo que la dirección del fotón hace con cada eje. Éstos se especifican por μ_x , μ_y y μ_z que corresponden a los ejes x , y y z respectivamente. Las variables angulares que describen la dirección del fotón no cambian a menos que la dirección del fotón cambie. Para un fotón localizado en (x, y, z) viajando una distancia Δs en la dirección (μ_x, μ_y, μ_z) , las nuevas coordenadas (x', y', z') están dadas por

$$x' = x + \mu_x \Delta s \quad (48)$$

$$y' = y + \mu_y \Delta s \quad (49)$$

$$z' = z + \mu_z \Delta s \quad (50)$$

Puede ocurrir reflexión interna cuando el fotón llega a una interfase. La probabilidad de que suceda está dada por el coeficiente de reflexión de Fresnel $R(\theta_i)$

$$R(\theta_i) = \frac{1}{2} \left[\frac{\sin^2(\theta_i - \theta_t)}{\sin^2(\theta_i + \theta_t)} + \frac{\tan^2(\theta_i - \theta_t)}{\tan^2(\theta_i + \theta_t)} \right] \quad (51)$$

donde $\theta_i = \cos^{-1} \mu_z$ es el ángulo de incidencia y θ_t es el ángulo de transmisión.

El número aleatorio ξ se usa para decidir si el fotón es reflejado o transmitido. Si $\xi < R(\theta_i)$ entonces el fotón es reflejado internamente, en caso contrario el fotón sale del tejido y el evento se guarda como luz esparcida (cuando el fotón es retroesparcido) o luz transmitida (cuando el fotón avanza en la dirección de incidencia). Si el fotón se refleja internamente, entonces la posición y dirección del fotón se ajustan adecuadamente. Para un plano infinito en x y y con un espesor L en la dirección z , la posición del fotón internamente reflejado (x'', y'', z'') se obtiene cambiando únicamente la componente z de las coordenadas del fotón:

$$(x'', y'', z'') = \begin{cases} (x, y, -z) & , z < 0 \\ (x, y, 2t - z) & , z > L \end{cases} \quad (52)$$

La nueva dirección del fotón (μ_x', μ_y', μ_z') es

$$(\mu_x', \mu_y', \mu_z') = (\mu_x, \mu_y, -\mu_z) \quad (53)$$

donde μ_x y μ_y permanecen sin cambio.

A cada fotón se le asigna un peso ω cuando entra en el tejido. Después de cada paso que se propaga el paquete de fotones, éstos se dividen en dos partes (una fracción se absorbe y lo demás se esparce). La fracción absorbida se obtiene mediante:

$$\text{fracción absorbida} = 1 - \frac{\mu_s}{\mu_s + \mu_a} = 1 - a \quad (54)$$

donde a es el albedo de la partícula. En consecuencia, el peso del nuevo fotón ω' está dado por $\omega' = a\omega$, el cual representa la fracción del paquete de fotones que se esparce en este paso.

El evento de absorción requiere que tanto la localización como la cantidad de luz absorbida sean guardadas. Por ejemplo, el elemento de la matriz de absorción se incrementa por $(1 - a)\omega$. El número de lugares dentro de la matriz de absorción es determinado por la resolución espacial deseada. La razón de fluidez (número de partículas que intersectan una unidad de área) es obtenida dividiendo el valor final de cada elemento de la matriz por: el volumen espacial equivalente del elemento, el coeficiente de absorción, el número total de fotones propagados, y el peso inicial de cada fotón.

La absorción se contabiliza aplicando un peso a cada fotón y disminuyendo este peso durante toda la propagación. Si se produce esparcimiento, se elige una nueva dirección de propagación correspondiente con una función de fase dada y otro número aleatorio. Todo el procedimiento continúa hasta que el fotón sale del volumen considerado o hasta que su peso alcanza un valor de corte determinado.

Se debe considerar una gran cantidad de fotones en el cálculo para garantizar la convergencia a una solución real de la propagación de los fotones en el tejido. Por lo tanto,

el procedimiento toma bastante tiempo y se genera una marcada relación entre la exactitud de la simulación y el tiempo de cómputo.

Inverse Adding-Doubling

El método Inverse Adding Doubling proporciona una herramienta para la solución rápida y precisa del problema de esparcimiento de forma inversa. Adding Doubling se basa en el método general para la solución de la Ecuación de Transferencia Radiativa para capas planas y paralelas, sugerido por Van de Hulst e introducido a la óptica de tejidos biológicos por Prah [62].

El término "Inverse" en el nombre del método implica una inversión del proceso habitual de cálculo de reflectancia y transmitancia a partir de propiedades ópticas. El término "Doubling" significa que las estimaciones de reflexión y transmisión para una capa con ciertos ángulos de entrada y salida se pueden usar para calcular tanto la transmitancia como la reflectancia para una capa dos veces más gruesa mediante la superposición de una sobre otra y sumando las contribuciones de cada capa a la reflectancia total y la transmitancia. La reflexión y la transmisión en una capa que tiene un espesor arbitrario se calculan en orden consecutivo, primero para la capa delgada con las mismas características ópticas, luego por duplicación consecutiva del grosor, para cualquier capa seleccionada. El término "Adding" indica que el procedimiento de duplicación puede extenderse a capas heterogéneas para modelar tejidos multicapa o teniendo en cuenta las reflexiones internas relacionadas con el cambio abrupto en el índice de refracción [74].

Una ventaja importante del método IAD cuando se aplica a la óptica de tejido biológico es la posibilidad de obtener rápidamente soluciones iterativas. Además, es lo suficientemente flexible como para tener en cuenta la anisotropía de esparcimiento y la reflexión interna de los límites de la muestra.

3.5 Resumen del capítulo

En este capítulo se estudió la estructura de la piel, la cual contiene estructuras celulares que provocan el esparcimiento de la luz y elementos de absorción, llamados cromóforos, que producen absorción en función de la longitud de onda de la luz. Se abordaron los principios fundamentales de la interacción de la luz con la piel; el conocimiento de estos principios es importante, ya que debido a la naturaleza no invasiva de luz, es posible desarrollar técnicas de diagnóstico médico que no produzcan efectos secundarios sobre la salud. La Ecuación de Transferencia Radiativa es ampliamente usada para modelar la propagación de la luz en los tejidos biológicos y entre los métodos empleados para dar solución a la misma se encuentran la teoría de Kubelka-Munk que solo puede tratar con radiación difusa y se limita a aquellos casos en los que el esparcimiento domina sobre la absorción, la aproximación de difusión también se limita al esparcimiento predominante, el método de Monte Carlo brinda soluciones más precisas, aunque a menudo requiere tiempos de cálculo más prolongados. En el presente trabajo de tesis se considera el método Inverse Adding

Doubling como alternativa para dar solución a la Ecuación de Transferencia Radiativa de forma inversa que presenta la ventaja de obtener soluciones iterativas rápidamente y que será descrito a más detalle en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO 4. DESARROLLO DE TÉCNICA EXPERIMENTAL Y ALGORITMO PARA OBTENCIÓN DE SATURACIÓN DE OXÍGENO TISULAR.

En el capítulo 3 se describió que las propiedades ópticas, como el coeficiente de absorción, pueden ser obtenidas mediante la Ecuación de Transferencia Radiativa. También se comentó sobre algunos de los principales métodos empleados para dar solución a dicha ecuación, como Kubelka-Munk, aproximación de difusión, Monte Carlo e Inverse Adding Doubling. Estas soluciones normalmente relacionan las propiedades ópticas de la muestra en estudio en términos de su transmitancia y/o reflectancia. En este capítulo se detalla la metodología implementada para recuperar el coeficiente de absorción de la piel a partir de mediciones experimentales de reflectancia difusa, así como el algoritmo desarrollado para la obtención de la saturación de oxígeno tisular.

4.1 Método para la determinación de parámetros ópticos en piel humana

Los métodos para determinar los parámetros ópticos de los tejidos biológicos se pueden dividir en dos grandes grupos, métodos directos e indirectos [77]. Los métodos directos utilizan expresiones analíticas muy simples para el procesamiento de datos. Sus desventajas están relacionadas con la necesidad de cumplir estrictamente las condiciones experimentales dictadas por el modelo seleccionado (esparcimiento único en muestras delgadas, exclusión de los efectos de la polarización de la luz y la refracción en los bordes de la muestra, etc.). Los métodos indirectos obtienen la solución del problema de esparcimiento inversamente utilizando modelos teóricos de propagación de luz en un medio, se dividen en iterativos y no iterativos. En los métodos iterativos indirectos, las propiedades ópticas se definen implícitamente a través de los parámetros directamente relacionados con las cantidades medidas. Las cantidades que determinan las propiedades ópticas de un medio de esparcimiento se evalúan hasta que los valores estimados y medidos para la reflectancia y la transmitancia coinciden con la precisión deseada. Estos métodos incluyen la teoría de difusión, Inverse Adding Doubling (IAD) y Monte Carlo Inverso (IMC).

4.1.1 Método Adding Doubling

El método Adding Doubling (AD) fue propuesto por Van de Hulst para resolver numéricamente la Ecuación de Transferencia Radiativa para capas plano-paralelas. Este método presenta las ventajas de requerir únicamente la integración sobre ángulos, ser equivalente para esparcimiento isotrópico o anisotrópico, y obtener resultados para todos los ángulos de incidencia usados en la integración. Adding Doubling puede adaptarse adecuadamente para problemas iterativos porque es preciso en los cálculos de transmitancia y reflectancia con relativamente pocos puntos de integración. En el apéndice A se detalla la descripción del método Adding Doubling.

4.1.2 Inverse Adding Doubling

Inverse Adding Doubling (IAD) es una técnica desarrollada por el Dr. Prahel del Oregon Medical Laser Center (OMLC) que emplea el método Adding Doubling para resolver la Ecuación de Transferencia Radiativa de forma inversa obteniendo los valores de reflexión y transmisión iterativamente hasta que los valores calculados son igualados a los valores experimentales. Inverse Adding Doubling recupera las propiedades ópticas de absorción y esparcimiento de un medio turbio a partir de las mediciones de reflexión y transmisión [70]. Para un conjunto único de propiedades ópticas, existe un conjunto de mediciones de reflexión y/o transmisión; por lo que es posible determinar las propiedades ópticas en términos de la transmitancia y reflectancia de la muestra bajo estudio [74].

El método de iteración que emplea Inverse Adding Doubling para encontrar las propiedades ópticas utiliza un algoritmo de minimización N-dimensional que se basa en el método de Nelder y Mead [78]. Este método permite obtener una solución óptima para una función objetivo, al comparar los valores obtenidos en los vértices de un simplex (geometría que envuelve el conjunto de n+1 puntos independientes, donde el simplex con valor de n=2 equivale a un triángulo) de la función evaluada y reemplazando los valores deficientes obtenidos por nuevos vértices que generen un nuevo simplex hasta encontrar las coordenadas del punto mínimo [79].

Inverse Adding Doubling se aplica inicialmente a una muestra infinitamente delgada asumiendo un valor de reflexión y uno de transmisión; posteriormente se añaden las contribuciones de reflexión y transmisión de una muestra idéntica a la inicial, para conocer las propiedades ópticas de una lámina del doble de espesor [76]. La principal aproximación de Inverse Adding Doubling indica que la energía que entra a una muestra se atenúa un 50% al recorrer la mitad de su espesor, este es el motivo por el que esta técnica es computacionalmente rápida.

Para aplicar la técnica Inverse Adding Doubling se realizan los siguientes pasos [74]:

- a) Proponer un grupo de propiedades ópticas.
- b) Calcular la reflexión y transmisión mediante Adding Doubling.
- c) Comparar los valores de reflexión y transmisión calculados con los medidos.
- d) Repetir el procedimiento hasta que los valores calculados se asemejen con los medidos.

El conjunto de propiedades ópticas que generan valores de reflexión y transmisión que coinciden con los valores medidos se toma como las propiedades ópticas de la muestra.

Cuando se calculan la reflexión y la transmisión para un conjunto particular de propiedades ópticas, es necesario que se evalúe qué tan lejos están estos valores de los medidos. La ecuación 55 presenta la métrica que mejor funcionó y que está basada en una suma de errores relativos [74]:

$$M(a, \tau, g) = \frac{|R_{calc} - R_{meas}|}{R_{meas} + 10^{-6}} + \frac{|T_{calc} - T_{meas}|}{T_{meas} + 10^{-6}} \quad (55)$$

R_{meas} y T_{meas} son la reflexión y la transmisión medidas para la luz esparcida. Se incluye el factor de 10^{-6} para evitar la división por cero cuando la reflexión o la transmisión es cero.

Las mediciones de reflexión y transmisión (que normalmente son realizadas con una esfera integradora) se convierten en las propiedades ópticas de la muestra (esparcimiento, absorción y anisotropía) utilizando el programa IAD [79]. El código fuente del programa está disponible en: <http://omlc.org/software/iad/>. El programa IAD tiene una serie de parámetros que se pueden modificar para considerar diferentes situaciones experimentales. Se pueden usar una, dos o tres mediciones para determinar una, dos o tres propiedades ópticas; como se muestra en la siguiente tabla:

Propiedad óptica	Valores medidos	Comentarios
μ_a	M_R	Se supone que el espesor de la muestra es demasiado grueso para que pase la luz. Para estimar μ_a ; μ_s y g permanecen constantes.
μ_a, μ'_s	M_R, M_T, δ	g permanece constante.
μ_a, μ_s, g	M_R, M_T, M_C, δ	Se realizan tres medidas.

Tabla 2. Esquema para recuperación de propiedades ópticas [79].

Para usar el programa IAD es necesario crear un archivo de datos, cuya estructura básica consta de una sección de encabezado seguida de las mediciones de reflectancia y transmitancia. El encabezado describe los detalles del experimento: el espesor de la muestra, el diámetro del haz, los índices de refracción, el número y la geometría de las esferas utilizadas [79]. El formato del archivo de entrada se presenta a continuación:

```
IAD1 #Must be first characters

#Ejemplo de entrada con un único conjunto de coeficientes de esfera.
#El orden de las entradas es importante.
#Cualquier cosa después de un '#' se ignora, las líneas en blanco también se ignoran.

1.34 #Índice de refracción de la muestra
1.50 #índice de refracción de la celda superior e inferior

1.0 #[mm]Espesor de la muestra
1.0 #[mm]Espesor de las celda
5.0 #[mm]Diámetro del haz de iluminación
0.96 #Reflectancia del estándar de calibración

1 #Número de esferas usadas durante la medición

#Propiedades ópticas usadas para la medición de reflexión

203.2 #[mm]Diámetro de la esfera
25.4 #[mm]Diámetro del puerto de la muestra
12.7 #[mm]Diámetro del puerto de entrada
1.00 #[mm]Diámetro del detector
0.96 #Reflectancia de la pared de la esfera
```

#Propiedades ópticas usadas para la medición de transmisión

```
203.2 #[mm]Diámetro de la esfera
25.4  #[mm]Diámetro del puerto de la muestra
0.00  #[mm]Diámetro del puerto de la muestra
1.00  #[mm]Diámetro del detector
0.96  #Reflectancia de la pared de la esfera

2      #Número de mediciones, M_R, M_T

#lambda M_R M_T
970.04 0.52856 0.26479
972.03 0.37677 0.25530
```

El programa IAD se ejecuta desde la línea de comandos, al introducir el nombre del archivo de entrada junto con las propiedades ópticas requeridas de acuerdo con la cantidad de mediciones que se tienen disponibles. Si se tienen las mediciones de reflectancia y transmitancia, se pueden recuperar las propiedades ópticas de coeficiente de absorción y esparcimiento, por lo tanto el programa solo requiere como dato de entrada el factor de anisotropía -g. Cuando se cuenta con una sola medición, por ejemplo reflectancia, se deben introducir como datos de entrada el coeficiente de esparcimiento -F y el factor de anisotropía -g. A continuación se muestra el esquema de entrada en la línea de comando:

```
iad -g 0.93 -F 23.5 nombre.rxt
```

Al ejecutarse el programa IAD, se produce un archivo de salida con el mismo nombre que el archivo de entrada, pero con una extensión.txt. El archivo nombre.txt contiene un resumen de las condiciones experimentales, así como el conjunto de propiedades ópticas calculadas que corresponden a cada conjunto de mediciones (reflectancia y transmitancia) [79]. El archivo de salida contiene la siguiente información:

#	Meas	Fit	Meas	Fit	Estim	Estim	Estim	
##wave	M_R	M_R	M_T	M_T	mu_a	mu_s'	g	
#[nm]	[---]	[---]	[---]	[---]	1/mm	1/mm	[---]	
970.04	0.52856	0.52856	0.26479	0.26479	0.0367	0.9547	0.0000	##*
972.03	0.37677	0.37677	0.25530	0.25530	0.0824	0.9628	0.0000	##*

La columna 1 muestra la longitud de onda, las columnas 2 y 3 muestran el valor de la reflectancia medida y ajustada, las columnas 4 y 5 muestran el valor de la transmitancia medida y ajustada, la columna 6 muestra el valor del coeficiente de absorción calculado, la columna 7 muestra el valor del coeficiente de esparcimiento reducido, la columna 8 muestra el valor del factor de anisotropía y la columna 9 indica el estado de convergencia de la ejecución.

4.2 Arreglo experimental

Como se indicó en el capítulo 2, para obtener la saturación de oxígeno tisular es necesario obtener las concentraciones correspondientes a la hemoglobina oxigenada [HbO₂] y

desoxigenada [Hb]. Dichas concentraciones pueden ser determinadas a partir de los coeficientes de absorción del tejido que se pretende analizar. Los coeficientes de absorción son recuperados mediante Inverse Adding Doubling a partir de mediciones de reflectancia difusa realizadas con un arreglo experimental de esfera integradora (ver figura 29). El arreglo experimental se usa para medir la cantidad de luz que es reflejada por la muestra, posteriormente se normaliza y se utiliza como parámetro de entrada junto al coeficiente de esparcimiento y al factor de anisotropía [80]. A continuación, en la figura 29 se presenta una breve descripción de los elementos que componen dicho arreglo experimental.

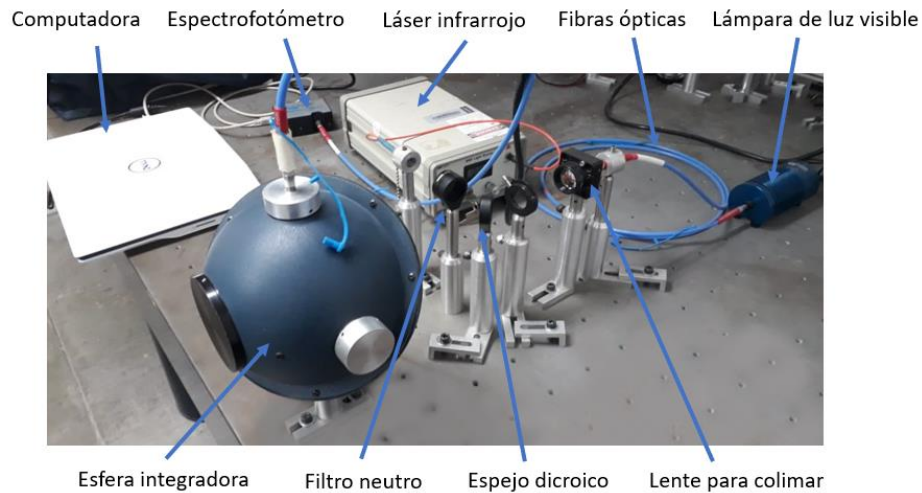


Figura 29. Arreglo experimental para medición de reflectancia difusa.

4.2.1 Espectrofotómetro

El espectrofotómetro usado en el arreglo experimental es modelo USB4000 Ocean Optics. Es un dispositivo óptico que divide la luz recibida a través de una fibra óptica en componentes espectrales por medio de una rejilla de difracción [81]. Los elementos que integran el espectrofotómetro son descritos según se observa en la figura 30.

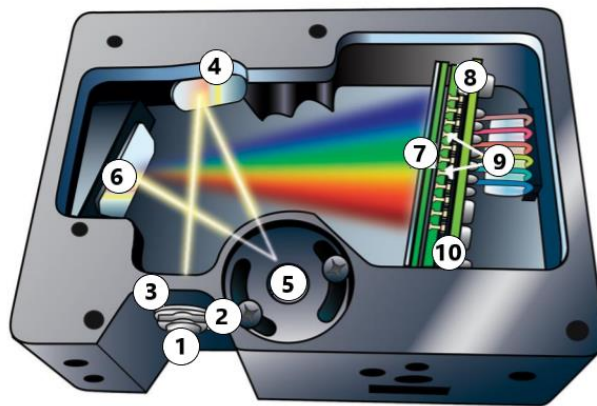


Figura 30. Componentes del espectrofotómetro USB4000 (imagen tomada de[81]).

- El conector SMA 905 (1) asegura la fibra de entrada que ingresa la luz al banco óptico, que es el lugar donde son alineados los componentes internos del espectrofotómetro.
- La rendija (2) es una pieza oscura que contiene una abertura rectangular que regula la cantidad de luz que ingresa al banco óptico y controla la resolución espectral.
- El filtro (3) restringe la radiación óptica a regiones de longitud de onda predeterminadas antes de entrar en el banco óptico.
- El espejo colimador (4) enfoca la luz que ingresa al banco óptico reflejándola hacia la rejilla del espectrómetro.
- La rejilla (5) difracta la luz proveniente del espejo colimador y la dirige hacia el espejo de enfoque dividiéndola en sus componentes espectrales a causa de las interferencias entre los frentes de onda y las líneas finas que permiten separar la luz en sus diferentes longitudes de onda.
- El espejo de enfoque (6) recibe la luz reflejada por la rejilla y enfoca los espectros de primer orden al plano del detector ultravioleta (250-400 nm) o visible (400-800 nm).
- La lente de colección del detector L4 (7) es un componente opcional que se conecta al detector para aumentar la eficiencia de recolección de luz.
- El detector ultravioleta o visible (8) recolecta la luz que recibe del espejo de enfoque o la lente de colección del detector L4 y convierte la señal óptica en una señal digital. El detector es de matriz CCD compuesta por 3648 píxeles sensibles a la luz, donde cada pixel responde a la longitud de onda de la luz incidente. Después, el espectrofotómetro transmite la señal digital a la aplicación de software.
- Los filtros OFLV (9) también son un componente opcional, se emplean para bloquear la luz de segundo y tercer orden.
- La ventana UV4 (10) es una actualización de la ventana estándar del detector que se reemplaza por una de cuarzo para mejorar el rendimiento del espectrómetro a longitudes de onda menores a 340 nm.

El espectrofotómetro abarca un intervalo de longitudes de onda de 200 a 1100 nm, tiene una resolución óptica de 0.1 a 10 nm, un tiempo de integración de 3.8 a 10 segundos y posee un microcontrolador que permite el control programático de parámetros operativos como los que son descritos a continuación:

Boxcar Width - El ancho Boxcar reduce el ruido en los valores de los píxeles del espectro, promediando un intervalo de píxeles contiguos juntos. Cada píxel del espectro se promedia con n píxeles de cada lado y se genera un nuevo espectro que contiene estos valores de los píxeles promediados [82].

Integration Time - El tiempo de integración es el período de tiempo durante el cual pasa la luz al detector del espectrofotómetro y sus unidades se especifican en microsegundos. El tiempo de integración puede ser alargado en condiciones de bajo nivel de luz, con el fin de obtener un espectro significativo. En cambio, puede ser acortado en condiciones de alto nivel de luz para evitar la saturación del detector. La saturación ocurre cuando uno o más

píxeles se han llenado completamente de fotones y han superado la capacidad del pozo, es decir el pixel polarizado. Cuando esto ocurre, los fotones adicionales que ingresan al pozo carecen de efecto y el espectro es distorsionado cada vez más [82].

Scans to Average - El escaneo de promedios es otro método utilizado para realizar la reducción de ruido en los espectros devueltos por un espectrofotómetro. Este parámetro promedia múltiples espectros secuenciales para producir un único espectro promediado. El algoritmo utiliza los píxeles correspondientes a cada espectro para calcular el promedio de un valor de píxel dado. El cálculo del espectro suavizado puede tomar un tiempo considerable cuando se ha especificado un gran número de escaneos para promediar o cuando se está utilizando un tiempo de integración relativamente largo [82].

Existen otros parámetros de adquisición que controlan aspectos de las condiciones en las que se adquiere un espectro, sin embargo los mencionados anteriormente son los parámetros configurables desde el algoritmo que recupera el coeficiente de absorción. Todos los espectrofotómetros admiten estos parámetros de adquisición.

4.2.2 Fibra óptica

En el arreglo experimental se emplearon fibras ópticas QP400-2-VIS-NIR que abarcan un intervalo de longitud de onda de 400 a 2100 nm. Las fibras ópticas son componentes ópticos que se emplean para conducir luz mediante núcleos de vidrio o polímeros acrílicos cubiertos por un revestimiento. El haz de luz se confina completamente y se propaga por el núcleo de la fibra en función de la reflexión total interna y de la ley de Snell. Donde el índice de refracción del núcleo debe ser mayor que el del revestimiento y la luz debe ser incidida en la interfase con un ángulo de refracción por encima del ángulo crítico para producir una reflexión total interna en la fibra óptica (ver figura 31). El ángulo crítico θ_c es el ángulo de incidencia mínimo en el que un haz de luz puede llegar a la interfase entre el núcleo-revestimiento para producir un ángulo de refracción de 90° o más [83].

$$\theta_c = \text{sen}^{-1} \frac{n_2}{n_1} \quad (56)$$

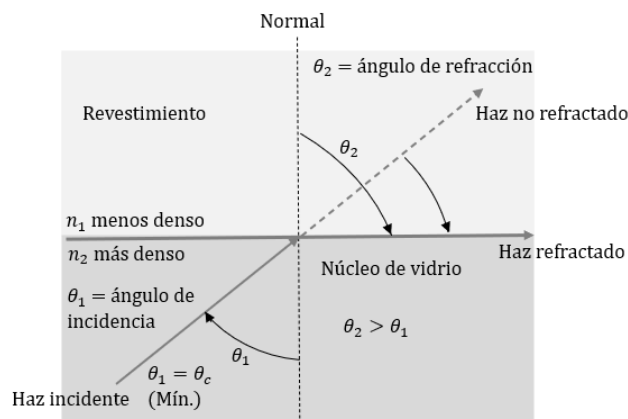


Figura 31. Refracción en ángulo crítico (imagen tomada de[83]).

La figura 32 representa un extremo del cable de fibra óptica que limita con el medio externo de índice de refracción n_o y donde a θ_{ent} se le llama ángulo de aceptación que define al ángulo máximo que puede formar el haz de luz externo al llegar a la interfase medio externo-fibra y que es necesario para la propagación de la luz por la fibra óptica [83].

$$\theta_{ent} = \text{sen}^{-1} \frac{\sqrt{n_1^2 - n_2^2}}{n_o} \quad (57)$$

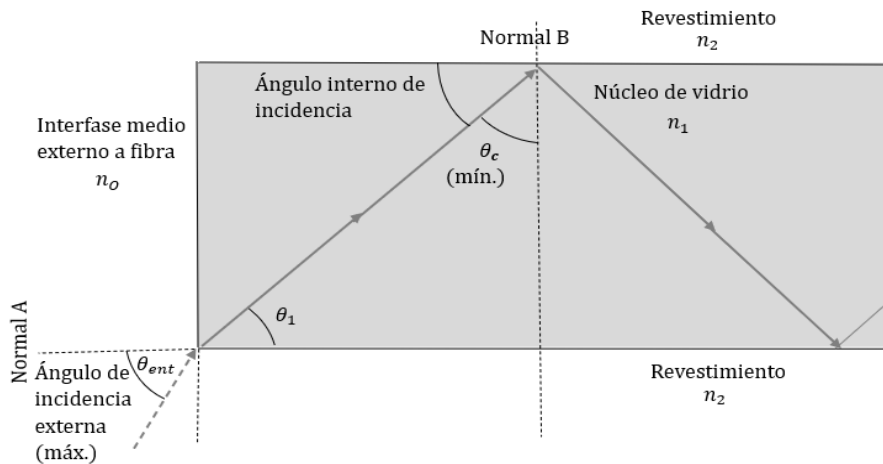


Figura 32. Propagación de un haz de luz en una fibra óptica (imagen tomada de[83]).

4.2.3 Esfera integradora

En el arreglo experimental se utilizó una esfera integradora marca Newport modelo 819C-SF-6. Una esfera integradora es un componente óptico que consta de una cavidad esférica hueca, tiene una superficie interna recubierta altamente reflectante que ayuda a distribuir la luz homogéneamente dentro de la esfera. El recubrimiento de la esfera integradora utilizada es Spectrafect (sulfato de bario), que tiene un intervalo espectral efectivo de 300 a 2400 nm y una reflectividad superior al 97% a 600 nm [84]. La esfera integradora está diseñada para un haz de entrada colimado, tiene 4 puertos que están distribuidos por la superficie de la esfera y un deflector que evita la saturación y el daño al detector, como se muestra en la figura 33.



Figura 33. Esfera integradora Newport 819C-SF-6 (imagen tomada y adaptada de[84]).

El uso de la esfera integradora ha tenido un papel importante en la comprensión de la interacción del tejido biológico para aplicaciones tanto de fotodiagnóstico como de fototerapia [85].

4.2.4 Fuentes de luz

En el arreglo experimental se utilizaron dos fuentes de luz; una lámpara de tungsteno halógena HL-2000 que proporciona radiación en el intervalo visible del espectro, cuya potencia de salida varía entre 8.8 y 4.5 mW (ver figura 34). La lámpara cuenta con un ventilador integrado que permite mantener una estabilidad en la temperatura y un soporte incorporado que acomoda filtros para acondicionar la luz.



Figura 34. Lámpara de tungsteno halógena HL-2000 (imagen tomada y adaptada de[86]).

También se empleó como fuente de luz un láser colimando de onda continua modelo BWF-975-450E (ver figura 35). El láser tiene una longitud de onda central de 975 nm, también cuenta con un puerto de modulación y una pantalla LCD que permite configurar la potencia de salida hasta 450 mW.



Figura 35. Láser infrarrojo modelo BWF-975-450E (imagen tomada y adaptada de[87]).

4.2.5 Otros componentes

En el arreglo experimental también se utilizaron otros componentes como una lente planoconvexa LA1708 que se emplea con el fin de colimar el haz de luz que entra a la esfera integradora y que tiene una distancia focal de 200 mm. La distancia focal de cada lente se puede calcular usando una ecuación de lente gruesa simplificada:

$$f = \frac{R}{n - 1} \quad (58)$$

donde n es el índice de refracción y R es el radio de curvatura de la superficie de la lente.

También se empleó en el arreglo experimental un filtro absorbente de densidad neutra NE10A con una densidad óptica de 1. La densidad óptica (OD) indica el factor de atenuación proporcionado por un filtro óptico, es decir, cuánto reduce la potencia óptica de un haz incidente y es obtenida por la siguiente ecuación:

$$OD = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) \quad (59)$$

donde T representa la transmisión y adquiere valores entre 0 y 1. La elección de un filtro con una densidad óptica más alta equivale a una transmisión más baja y una mayor absorción de la luz incidente.

Por último, se incluyó un espejo dicroico DMSP805 para combinar el haz de luz proveniente de la lámpara de luz visible y del láser infrarrojo. Tiene una longitud de onda de corte de 805 nm, donde por debajo de esta longitud de onda transmite un 90% y por encima de esta longitud refleja un 95% de la luz incida.

4.3 Metodología experimental

Como se revisó en el capítulo 2, la saturación de oxígeno tisular StO_2 puede ser obtenida mediante la relación entre las concentraciones de la hemoglobina oxigenada $[HbO_2]$ y la hemoglobina total $[HbT]$ en la sangre del tejido (tanto arterial como venosa), como se indica en la ecuación 4 presentada en el capítulo 2.

Considerando que el coeficiente de absorción del tejido μ_a equivale a la suma de los productos de los n coeficientes de extinción molar de los cromóforos significativos ε_i por sus respectivas concentraciones C_i , donde (λ) indica una dependencia de la longitud de onda, como se observa en la siguiente ecuación:

$$\mu_a(\lambda) = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i(\lambda) C_i \quad (60)$$

De la ecuación 60 podemos determinar que las concentraciones de la hemoglobina oxigenada HbO_2 y de la hemoglobina desoxigenada o reducida Hb pueden ser obtenidas a partir de los coeficientes de absorción μ_a del tejido y los coeficientes de extinción molar ε correspondientes a cada hemoglobina en 2 longitudes de onda λ_1 y λ_2 , como se indica en las ecuaciones 61 y 62.

$$[HbO_2] = \frac{\mu_a^{\lambda_2} \varepsilon_{Hb}^{\lambda_1} - \mu_a^{\lambda_1} \varepsilon_{Hb}^{\lambda_2}}{\varepsilon_{Hb}^{\lambda_1} \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_2} - \varepsilon_{Hb}^{\lambda_2} \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_1}} \quad (61)$$

$$[Hb] = \frac{\mu_a^{\lambda_1} \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_2} - \mu_a^{\lambda_2} \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_1}}{\varepsilon_{Hb}^{\lambda_1} \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_2} - \varepsilon_{Hb}^{\lambda_2} \varepsilon_{HbO_2}^{\lambda_1}} \quad (62)$$

La HbO_2 y Hb tienen espectros de absorción característicos, como se observa en la figura 36. Estos espectros corresponden a los coeficientes de extinción molar de la hemoglobina oxigenada ε_{HbO_2} y desoxigenada ε_{Hb} en función de la longitud de onda para las regiones visible e infrarroja cercana, donde el coeficiente de extinción molar se define como una constante de absorción por unidad molar.

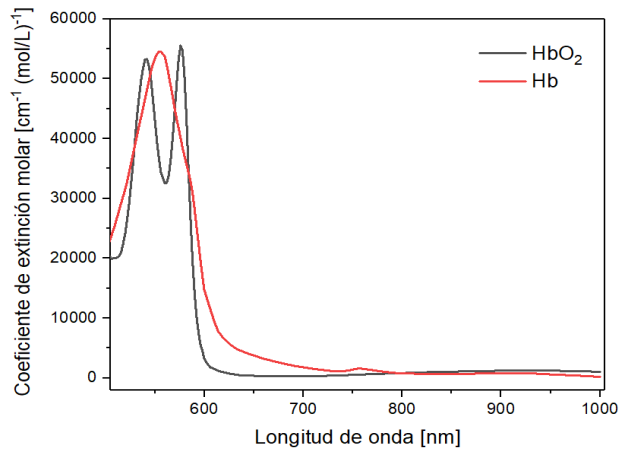


Figura 36. Coeficientes de extinción molar para Hb y HbO_2 [88].

Debido a la diferencia entre ε_{HbO_2} y ε_{Hb} que se identifica en la región visible e infrarroja cercana, se pueden emplear dichos coeficientes para la evaluación de la oxigenación sanguínea [31]. Los valores de ε_{HbO_2} y ε_{Hb} considerados en este trabajo son los reportados por el Dr. Prahl en el sitio: <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>.

Para el cálculo de la StO_2 es necesario emplear al menos 2 longitudes de onda, las cuales se seleccionan de forma que sean sensibles a estos cromóforos. Generalmente se utilizan longitudes de onda donde los espectros de la HbO_2 y Hb tienen una mayor separación [89] y donde pueden ser relativamente planos, lo que indica su proximidad en cuanto a magnitud de absorción [34]. Se puede establecer como referencia el punto isobéptico, que es la longitud de onda en la que tanto la HbO_2 como la Hb tienen el mismo coeficiente de extinción molar, este punto se ubica a una longitud de onda de 805 nm [33]. Las longitudes de onda seleccionadas para obtener la StO_2 en este trabajo fueron de 975 nm en la región del infrarrojo (debido a la disponibilidad del láser), así como una longitud de onda en la región visible posicionada a una distancia similar del punto isobéptico que el punto infrarrojo y que también presenta cambios significativos en la StO_2 .

Los coeficientes de absorción $\mu_a^{\lambda_1}$ y $\mu_a^{\lambda_2}$ que se indican en las ecuaciones 61 y 62 se obtienen a partir de la medición *in vivo* de la reflectancia difusa con el arreglo experimental de esfera integradora descrito en la sección 4.2 y siguiendo el procedimiento especificado en la subsección 4.1.2. Este procedimiento desarrollado por el Dr. Prahl ha sido implementado por autores como Kim & Jeong [90] que aplicaron IAD para determinar las propiedades

ópticas *in vitro* de piel porcina y evaluar el efecto de la temperatura en las mismas, Rehman et al. [91] que emplearon IAD para evaluar las propiedades ópticas de phantoms de tejido a una longitud de onda de 632.8 nm, Kara et al. [92] que evaluaron los cambios en las propiedades ópticas de una emulsión lipídica a diferentes temperaturas aplicando IAD y por B. Quistián [80] que empleó IAD para monitorear las propiedades ópticas de la piel humana *in vivo* como una herramienta útil en terapia fotodinámica.

Como se indicó en la tabla 2 de la subsección 4.1.2, para obtener el coeficiente de absorción μ_a se requieren como parámetros de entrada la medición de la reflectancia difusa M_R y la definición de las propiedades ópticas de coeficiente de esparcimiento μ_s y factor de anisotropía g de la piel. Como se revisó en el capítulo 3 dichas propiedades ópticas dependen de la composición bioquímica del tejido y de su estructura celular, así como de la longitud de onda.

Los valores de μ'_s en función de la longitud de onda se obtuvieron de Jacques [66] quien realizó una revisión de propiedades ópticas de tejidos biológicos y determinó que la ecuación 63 puede caracterizar el esparcimiento en siete grupos de tejidos: piel, cerebro, mama, hueso, tejidos blandos, tejidos fibrosos y tejidos grasos.

$$\mu'_s(\lambda) = a \left(\frac{\lambda}{500 \text{ nm}} \right)^{-b} \quad (63)$$

La ecuación anterior muestra que la longitud de onda λ se normaliza mediante la longitud de referencia de 500 nm y posteriormente se eleva a una potencia b , denominada "potencia de dispersión". El factor a es el valor de μ'_s correspondiente a la longitud de onda de 500 nm, que permite escalar el término dependiente de la longitud de onda. Los valores de a y b son obtenidos de un análisis de datos en la literatura para $\mu'_s(\lambda)$ presentados para diferentes tipos de tejidos, para el caso de la piel tienen valores de $a = 46 \text{ cm}^{-1}$ y $b = 1.421$.

Para definir $g(\lambda)$ como función de la longitud de onda, se determinó un polinomio de 6° orden que representa un ajuste polinomial de los valores obtenidos por Ma et al. [93] en un estudio realizado para determinar las propiedades ópticas de la piel y que son presentados en la revisión de Jacques [66]. La ecuación 64 muestra la función obtenida para $g(\lambda)$:

$$g(\lambda) = -5.603 + 3.61x10^{-2} \cdot \lambda - 8.17x10^{-5} \cdot \lambda^2 + 9.51x10^{-8} \cdot \lambda^3 - 5.92x10^{-11} \cdot \lambda^4 + 1.83x10^{-14} \cdot \lambda^5 - 2.11x10^{-18} \cdot \lambda^6 \quad (64)$$

El coeficiente de esparcimiento $\mu_s(\lambda)$ en función de la longitud de onda es obtenido de la relación entre $\mu'_s(\lambda)$ y $g(\lambda)$ por medio de la ecuación 19, vista en el capítulo 3.

4.3.1 Medición de reflectancia difusa en piel humana

La medición de la reflectancia se realiza colocando la palma de la mano en el puerto de salida de la esfera integradora, como se observa en la figura 37. La cantidad de luz reflejada

por el tejido es recolectada y guiada al espectrofotómetro por medio de una fibra óptica, el espectrofotómetro separa la luz reflejada en diferentes longitudes de onda y proporciona un espectro de la intensidad.



Figura 37. Medición de reflectancia difusa con esfera integradora.

Las mediciones de reflexión se normalizan respecto a la luz incidente, aplicando la ecuación 65 y también se les extrae el ruido electrónico generado del arreglo experimental:

$$M_R = r_{std} \cdot \frac{R_R - R_0}{R_1 - R_0} + R_{Fresnel} \quad (65)$$

De la ecuación anterior tenemos que r_{std} representa el factor de reflexión de la esfera integradora y del estándar de referencia, R_R es la reflexión medida de la palma de la mano, R_0 equivale a la mínima reflexión que puede ser medida y representa el ruido electrónico que se mide dejando el puerto de salida libre, y R_1 es la reflexión máxima que se puede medir y corresponde al espectro de la lámpara que se mide colocando la tapa estándar en el puerto de salida. El término $R_{Fresnel}$ se refiere a la reflexión de Fresnel (ecuación 31) o especular producida por la diferencia entre los índices de refracción del aire y la piel [58]. La figura 38 indica la forma como se deben tomar las medidas de R_0 , R_1 y R_R .

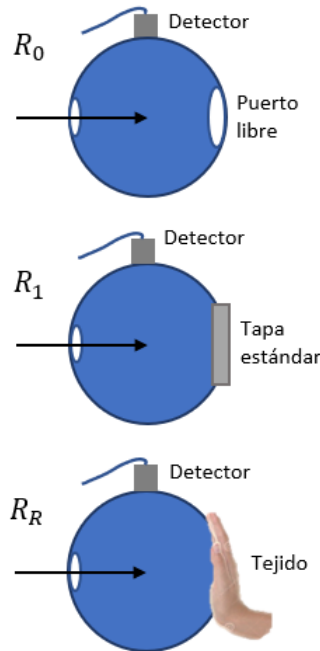


Figura 38. Medición de R_0 , R_1 y R_R para cálculo de M_R .

4.4 Desarrollo de algoritmo computacional “OTOS: Obtaining tissue oxygen saturation”

Se desarrolló un algoritmo para la obtención de la saturación de oxígeno tisular tomando como referencia el programa desarrollado por B. Quistián [80] llamado RDECA (“recuperación de espectros de coeficiente de absorción”), que emplea una serie de rutinas que van desde la lectura del espectrofotómetro hasta la recuperación de las propiedades ópticas de absorción o esparcimiento aplicando IAD.

RDECA fue implementado en mediciones *in vivo* para monitorear el coeficiente de absorción en tiempo real. En un estudio realizado para evaluar el efecto de la temperatura se obtuvieron resultados que demuestran una dependencia de la temperatura en las propiedades ópticas de la piel humana, lo cual es importante en la prescripción de dosis de luz basadas en propiedades ópticas. Estos resultados nos indican la factibilidad del uso de esfera integradora en mediciones de propiedades ópticas *in vivo* para monitorear el estado o condición de salud de las personas. Por otra parte, A. ul Rehman et al. [85] indicaron que el sistema de esfera integradora junto con el método IAD pueden diferenciar el tejido cutáneo normal y enfermo, basándose en el contraste en las propiedades de esparcimiento y absorción.

4.4.1 Funcionamiento del algoritmo

El algoritmo generado para la obtención de la saturación de oxígeno tisular emplea las rutinas para la lectura del espectrofotómetro, para la medición de R_0 , R_1 y R_R , el cálculo de M_R , la generación del archivo txt de entrada y para la ejecución de IAD de forma similar a RDECA. De acuerdo con los objetivos de este trabajo se definió el intervalo de longitud de

onda de 600 a 700 nm para la recuperación del coeficiente de absorción en la región visible del espectro, también se incluyeron rutinas para obtener el coeficiente de absorción en el punto infrarrojo a 975 nm. Posteriormente se implementó una rutina que obtiene la pendiente del espectro de absorción en el intervalo visible de 630 a 700 nm, la cual está relacionada con el contenido de la melanina presente en la piel, según lo demostrado por Kollias & Baqer [94] y Stamatias et al. [95]. También se generó una rutina para la lectura de los coeficientes de extinción molar de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada. Por último se creó una rutina para el cálculo de la saturación de oxígeno tisular. En el apéndice B se incluye el detalle del código fuente del algoritmo desarrollado.

La programación de las rutinas se realizó en Microsoft Visual Studio 2019, en donde se estableció la comunicación entre la computadora y el espectrofotómetro con el fin de obtener las mediciones de reflexión y poder así recuperar el coeficiente de absorción de la piel. Para establecer dicha comunicación fue necesaria la instalación de una serie de drivers y referencias que se encuentran en el portal: <http://oceanoptics.com/support/software-downloads/#omnidriver>.

Se definieron 24 rutinas en la programación del algoritmo que se muestran en el diagrama de flujo de la figura 39 y que son descritas a continuación:

- 1) Adquiere la información técnica de modelo y número de serie del espectrofotómetro, así como el número de espectrofotómetros conectados. Emplea las funciones de *numberOfSpectrometers* para obtener el número de espectrofotómetros que están conectados, *wrapper.getName(0)* para obtener el modelo del espectrofotómetro y *wrapper.getSerialNumber(0)* para el número de serie del espectrofotómetro [82].
- 2) Realiza el llenado automático de los parámetros para configurar el espectrofotómetro (como el tiempo de integración, ancho Boxcar y promedio de escaneo) y de las propiedades de la esfera integradora (como el diámetro de la esfera, los diámetros de los puertos de la muestra, entrada y detector, la reflectividad de la esfera, el diámetro del haz de luz y el número de esferas) que se encuentran predeterminados en la programación.
- 3) Obtiene el valor de R_0 para la región visible, para ello requiere la configuración del espectrofotómetro utilizando las funciones de *wrapper.setIntegrationTime (0, integrationTime)* que define el tiempo de integración en el espectrofotómetro, *wrapper.setCorrectForElectricalDark (0, Enabled)* que corrige los errores causados por fugas de luz en los pixeles que se han cubierto físicamente para impedir la entrada de luz en el detector, *wrapper.setCorrectForDetectorNonlinearity (0, Enabled)* que corrige la presencia de no linealidad en el detector, *wrapper.setScansToAverage (0, TextBox3.Text)* que promedia una serie de espectros secuenciados para suavizar los espectros adquiridos y evitar así errores generados por las fluctuaciones en la fuente de luz, *wrapper.setBoxcarWidth (0, TextBox2.Text)* que promedia un conjunto de pixeles con sus n pixeles vecinos en un espectro. Al terminar de configurar el

espectrofotómetro se utiliza la función *spectra=wrapper.getSpectrum(0)* para obtener el espectro y *wavelengths=wrapper.getWavelengths(0)* para las longitudes de onda correspondientes, se emplea *wrapper.closeAllSpectrometers(0)* para cerrar el espectrofotómetro al concluir la rutina [82].

- 4) Esta rutina obtiene el valor de R_1 para la región visible de forma similar a la rutina anterior.
- 5) Obtiene el valor de R_R para la región visible, realiza el cálculo de la reflexión especular (Fresnel) y obtiene los valores de M_R empleando la ecuación 65. Llama la rutina 12, que es una función llamada *ExelAD*, de donde obtiene los valores del coeficiente de absorción para el intervalo de 600 a 700 nm y posteriormente los muestra en un *ListBox* y en una gráfica de la interfaz.
- 6) Establece un ajuste lineal para obtener el valor de la pendiente de la recta del espectro de absorción generado en un intervalo entre 630 y 700 nm.
- 7) Obtiene los valores de los coeficientes de extinción molar de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada de un archivo .txt mediante la función *StreamReader* y los asigna a las variables *mueo* y *mueh*, respectivamente.
- 8) Esta rutina obtiene el valor de R_0 al igual que la rutina 3 para la región IR.
- 9) Esta rutina obtiene el valor de R_1 al igual que la rutina 4 para la región IR.
- 10) Esta rutina establece un procedimiento similar a la rutina 5 para obtener el valor de R_R , M_R y el coeficiente de absorción para la región IR.
- 11) Obtiene el valor de la saturación de oxígeno tisular empleando la metodología descrita en la sección 4.3.
- 12) Establece una función llamada *ExelAD* que se encarga de la generación del archivo .txt de entrada para ejecutar el algoritmo IAD. Almacena los valores obtenidos en una variable llamada *mua* y posteriormente genera un archivo de salida mediante la función *StreamReader* llamado *Absorption-coefficient* [96].
- 13) Esta rutina realiza una limpieza de los coeficientes de absorción y de la saturación de oxígeno tisular obtenidos para preparar la interfaz para un nuevo cálculo.
- 14) Esta rutina al igual que las siguientes evitan que se puedan generar errores de escritura como espacios entre los números, escribir más de un punto decimal o escribir dígitos no numéricos.

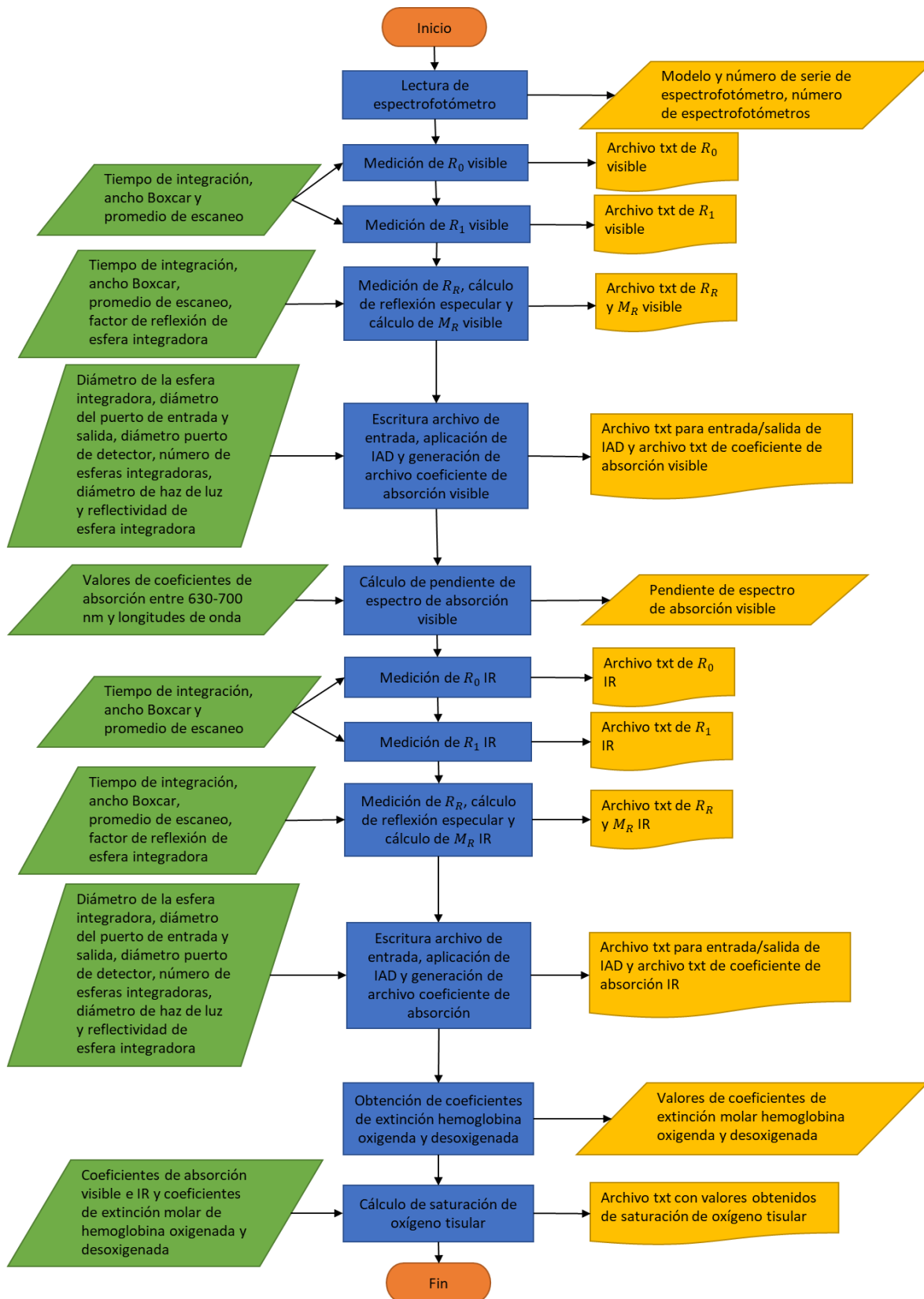


Figura 39. Diagrama de flujo de rutinas para obtención de la StO_2 .

La ejecución del algoritmo para obtener la saturación de oxígeno tisular requiere de la instalación de Microsoft Visual Studio Community 2019 que tiene una distribución de Microsoft .NET Framework, y también requiere agregar la referencia de OmniDriver que se obtiene de la carpeta OmniDriver\OOI_HOME en el directorio de Ocean Optics en Program Files y seleccionando el archivo NETOmniDriver-NET40.dll. Los archivos generados por el programa se almacenan en una carpeta ubicada en la siguiente ruta: Obtaining Tissue Oxygen Saturation>bin>Debug.

4.4.2 Interfaz gráfica del algoritmo

La interfaz gráfica permite que el usuario pueda definir los valores de entrada para la configuración del espectrofotómetro, así como las propiedades de la esfera integradora. También permite al usuario visualizar los valores de los coeficientes de absorción y el resultado de la saturación de oxígeno tisular obtenidos. Se establecieron 9 regiones para definir la interfaz gráfica como se muestra en la figura 40.

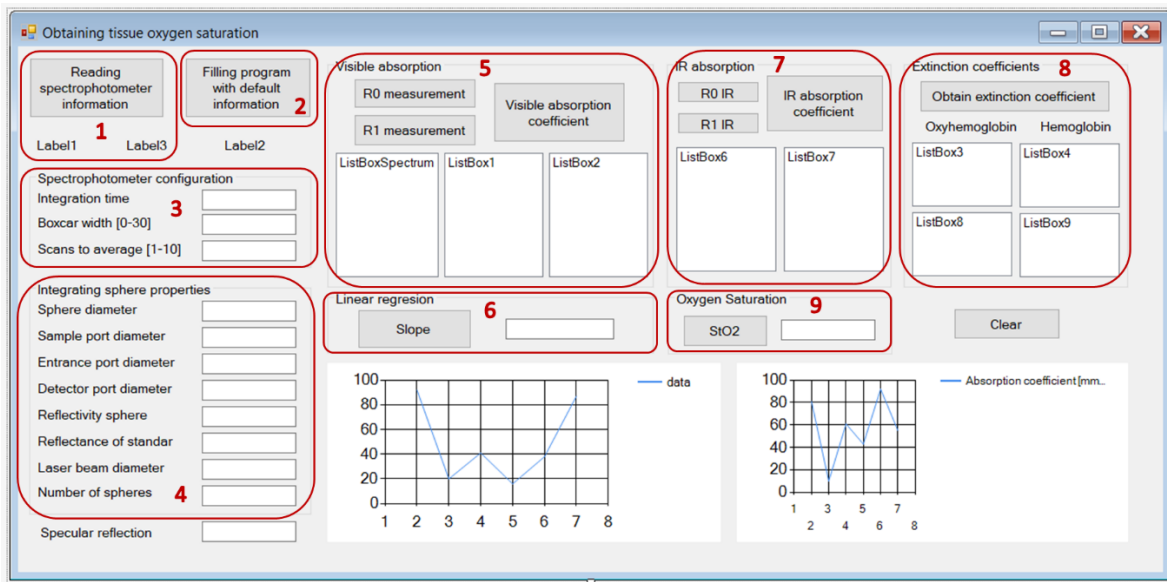


Figura 40. Regiones de la interfaz gráfica.

A continuación se describen las características que se evalúan en cada región de la interfaz:

- 1) Lectura del espectrofotómetro: En esta región se establece la conexión con el espectrofotómetro y se obtiene la información de este, como el modelo y el número de serie.
- 2) Llenado automático: En esta región se definen los valores predeterminados que corresponden a las regiones 3 y 4.
- 3) Configuración del espectrofotómetro: En esta región se configuran los parámetros que permiten mejorar la calidad de los espectros a recuperar como el tiempo de integración, ancho Boxcar y promedio de escaneo.

- 4) Propiedades de la esfera integradora: En esta región se definen las características y dimensiones de la esfera integradora como diámetro de la esfera, diámetro del puerto de la muestra, diámetro del puerto de entrada, diámetro del detector, reflectividad de la esfera integradora y del estándar (es la misma debido a que tanto la tapa como la esfera tienen el mismo recubrimiento).
- 5) Recuperación de coeficiente de absorción en el intervalo visible: En esta región se encuentran los botones que permiten medir los valores de R_0 y R_1 siguiendo los pasos que se indicaron en la figura 38. El botón *Visible absorption coefficient* permite medir el valor de R_R , calcular el valor de M_R y recuperar el espectro del coeficiente de absorción en el intervalo visible.
- 6) Obtención de pendiente: En esta región se obtiene la pendiente del espectro de absorción en el intervalo visible de 630 a 700 nm.
- 7) Recuperación de coeficiente de absorción en el intervalo infrarrojo: En esta región se efectúa el mismo procedimiento que en la región 5 pero para la región del infrarrojo.
- 8) Obtención de los coeficientes de extinción molar: En esta región se extraen los valores de los coeficientes de extinción molar de las hemoglobinas oxigenada y desoxigenada de un archivo .txt ubicado en la carpeta del programa.
- 9) Cálculo de la saturación de oxígeno tisular: En esta región se realiza el cálculo de la StO_2 a partir de los coeficientes de extinción molar de las hemoglobinas y de los coeficientes de absorción obtenidos.

4.4.3 Aplicación del algoritmo para la obtención de StO_2

El algoritmo desarrollado para obtener la saturación de oxígeno tisular permite automatizar las mediciones, ya que optimiza el tiempo de procesamiento entre cada medición. La implementación de la interfaz gráfica facilita la aplicación del algoritmo por parte de cualquier persona, debido a que no requiere de una capacitación técnica específica. De esta forma el algoritmo desarrollado proporciona una buena herramienta para su uso en la práctica clínica, como en consultas de rutina para control y seguimiento de pacientes diabéticos, donde se requiere de técnicas de diagnóstico médico que ocupen un menor tiempo de evaluación, que sean no invasivas y de fácil aplicación.

4.5 Resumen del capítulo

En este capítulo se abordaron los métodos para la determinación de parámetros ópticos en piel humana, siendo Inverse Adding Doubling una excelente opción ya que toma en cuenta la anisotropía del esparcimiento y la reflexión interna de los límites de la muestra, también permite obtener soluciones iterativas rápidamente. Si bien la principal restricción del método está asociada con posibles pérdidas de luz a través de las superficies laterales de una muestra cuando su tamaño es pequeño en comparación con el tamaño del haz incidente, en nuestro caso el diámetro del haz es menor comparado con la dimensión del tejido que se está midiendo y a su vez el algoritmo generado contempla una subrutina basada en el método Monte Carlo que considera las iteraciones basadas en la pérdida de

luz. Se detallaron las características del arreglo experimental que utiliza una esfera integradora para medir las propiedades de absorción de la piel. También se explicó la metodología utilizada para obtener la saturación de oxígeno tisular partiendo de los coeficientes de absorción de la piel obtenidos y de los coeficientes de extinción molar de las hemoglobinas tanto oxigenada como desoxigenada. Así mismo, se describió el algoritmo implementado para obtener la saturación de oxígeno tisular de forma rápida y sencilla, que permita su uso en aplicaciones clínicas.

CAPÍTULO 5. MEDICIÓN DE SATURACIÓN DE OXÍGENO TISULAR *IN VIVO*.

En el capítulo 4 se detalló la metodología implementada para obtener la saturación de oxígeno tisular, así como el algoritmo computacional “Obtaining Tissue Oxygen Saturation” desarrollado para optimizar sus mediciones. En el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos en experimentos realizados aplicando IAD junto con el arreglo experimental de esfera integradora directamente y los resultados de las mediciones realizadas en 27 voluntarios (13 hombres y 14 mujeres) aplicando el algoritmo desarrollado. Por otra parte se presenta un estudio de la repetibilidad de las mediciones y se describe una comparativa con la técnica Monte Carlo Multi-Layered.

5.1 Procedimiento de medición

Las pruebas experimentales fueron realizadas en voluntarios sanos, por este motivo fue necesario inducir una isquemia con el objetivo de simular la reducción de flujo sanguíneo que ocurre en los pacientes diabéticos que presentan enfermedad vascular periférica. La inducción se realizó mediante una prueba de oclusión vascular, que consiste en colocar un esfigmomanómetro e inflar el manguito a un valor de presión determinado para reducir el flujo sanguíneo progresivamente. La prueba de oclusión vascular ha sido empleada en diversos estudios como los realizados por Wang et al. [97] que aplicaron la prueba a voluntarios sanos para evaluar su dispositivo desarrollado en aplicación de diagnóstico de accidente cerebrovascular. Donati et al. [98] emplearon la prueba de oclusión en 27 voluntarios sanos para detectar alteraciones en la oxigenación tisular y en la reactividad microvascular con el objetivo de predecir el resultado en pacientes críticamente enfermos. Bezemer et al. [99] aplicaron la prueba a 8 voluntarios sanos para evaluar las posibles alteraciones metabólicas y microcirculatorias que pueden sufrir pacientes durante una sepsis o shock.

5.1.1 Prueba de oclusión vascular

La prueba de oclusión vascular ha sido utilizada para examinar la respuesta de la StO_2 a un breve periodo de isquemia, con el fin de obtener información sobre el desempeño del tejido. La oclusión vascular se realiza mediante un sistema de torniquete generalmente en el antebrazo hasta alcanzar un umbral isquémico determinado, y posteriormente se libera la oclusión. Esta prueba permite originar algunos parámetros dinámicos como la pendiente de desaturación de oxígeno (denominada DeO_2 y expresada en $\% \times tiempo^{-1}$) en la fase de isquemia y la pendiente de resaturación de oxígeno (denominada ReO_2 y expresada también en $\% \times tiempo^{-1}$) posteriormente a la liberación de la oclusión hasta que se estabilizan y recuperan los niveles de StO_2 iniciales (ver figura 41).

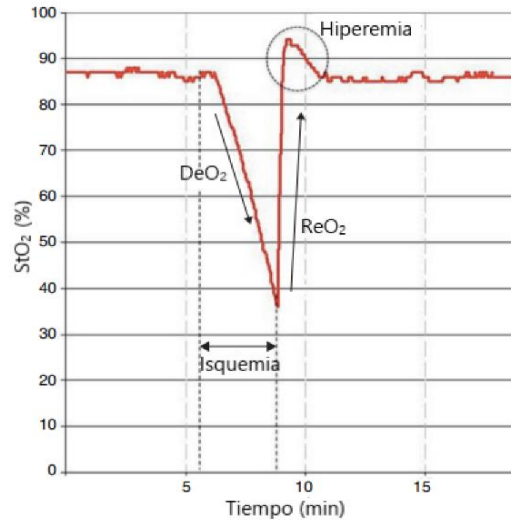


Figura 41. Fases de una prueba de oclusión vascular (imagen tomada y adaptada de [100]).

Dado que la DeO_2 representa la desaturación progresiva, se utiliza como un marcador de la extracción local de oxígeno. Por otra parte, ReO_2 refleja la resaturación que depende directamente de la entrada de sangre y el reclutamiento capilar después del estímulo hipóxico. En la fase de recuperación la StO_2 se puede elevar temporalmente por encima de los valores iniciales, indicando una vasodilatación post-isquémica que se denomina hiperemia reactiva (ver figura 41). Estas medidas derivadas de la StO_2 son importantes porque proporcionan información cuantitativa sobre el consumo metabólico local y la función microcirculatoria en tiempo real.

Aunque no existe un estándar sobre la realización de la prueba de oclusión vascular, en algunos estudios se han aplicado manteniendo un tiempo fijo de isquemia (entre 3-5 minutos) y en otros se aplican buscando un umbral isquémico (donde la StO_2 desciende hasta un valor específico). La falta de estandarización de la prueba de oclusión, junto con la variedad de profundidades muestreadas y sitios utilizados para medir la respuesta de la StO_2 a la isquemia han dificultado la comparación de los resultados entre diferentes estudios [101]. En el desarrollo del presente trabajo se determinaron 3 valores de presión para realizar la oclusión (60, 80 y 100 mmHg), esto con el fin de evaluar el efecto progresivo en las mediciones y a su vez no causar malestar en el umbral de dolor de los voluntarios considerados.

5.1.2 Número de voluntarios

Para realizar las pruebas experimentales es necesario considerar un tamaño de muestra que sea adecuado, ya que el considerar un tamaño de muestra muy grande puede implicar un desperdicio de recursos y un tamaño muy pequeño puede carecer de uso práctico. Por lo tanto, el número de voluntarios (n) fue obtenido a partir de la ecuación 66 que indica una relación entre la desviación estándar (σ), el grado de confiabilidad (z) y la dimensión del intervalo de confianza deseado (d):

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{d^2} \quad (66)$$

donde z dependerá del nivel de confianza $(1 - \alpha)$ y α representa el nivel de significancia. Por ejemplo, para un valor de $\alpha = 0.01$ el nivel de confianza equivale a 99% y su grado de confiabilidad será $z = 2.58$, donde z se obtiene de igualar el valor del nivel de confianza a $erf(z/\sqrt{2})$ siendo erf la función error de Gauss. El valor de σ se puede obtener a partir de una muestra preliminar (n_1) donde posteriormente se aplica un ajuste al tamaño de la muestra calculado (n) y se obtiene un número de observaciones necesarias para completar el requerimiento total del tamaño de la muestra (n_2), como lo indica la ecuación 67 [102]:

$$n - n_1 = n_2 \quad (67)$$

En este trabajo de tesis se consideró un nivel de confianza de 95% que proporciona un valor de $z = 1.96$, una dimensión del intervalo de confianza $d = 1$ y una desviación estándar $\sigma = 2.65$ (obtenida de una muestra preliminar de 64 mediciones con 16 voluntarios como se observa en la tabla 3). Por lo tanto, sustituyendo estos valores en la ecuación 66 se obtiene un tamaño de muestra $n = 26.97 \approx 27$ voluntarios.

Voluntario	StO ₂ (%)			
	0 mmHg	60 mmHg	80 mmHg	100 mmHg
V1	89.59	90.03	87.76	87.26
V2	97.33	96.87	94.68	92.97
V3	92.53	93.03	92.82	90.42
V4	93.06	94.10	93.51	92.81
V5	90.24	89.48	90.58	89.31
V6	98.48	98.09	94.08	93.01
V7	98.69	95.20	92.91	92.84
V8	99.76	98.91	94.80	94.05
V9	94.44	93.75	89.86	88.33
V10	94.94	95.99	93.58	91.62
V11	97.17	98.19	92.53	91.66
V12	92.38	91.47	88.74	85.93
V13	96.16	94.31	92.37	92.84
V14	95.80	96.89	92.96	90.95
V15	98.36	97.22	93.21	93.56
V16	99.18	97.08	94.10	92.49
Desviación estándar	3.205	2.905	2.088	2.392

Tabla 3. Desviación estándar de muestra preliminar para cálculo de tamaño de muestra. El promedio de la desviación estándar es 2.65.

Se comparó el número de voluntarios obtenido con otros estudios que también aplicaron una prueba de oclusión vascular a voluntarios sanos. La tabla 4 muestra la revisión del número de voluntarios que fueron empleados en dichos estudios, donde se puede observar que el número de voluntarios que consideramos en el presente trabajo se encuentra dentro del rango reportado.

Autor	Año	No. voluntarios
Abay et al. [103]	2016	19 voluntarios sanos
Donati et al. [98]	2016	27 voluntarios sanos
Hartwig et al. [104]	2016	12 voluntarios sanos
Boezeman et al. [105]	2015	8 voluntarios sanos
Fellahi et al. [106]	2014	20 voluntarios sanos
Bezemer et al. [99]	2009	8 voluntarios sanos

Tabla 4. Revisión de número de voluntarios en diversos estudios.

5.1.3 Preparación para la prueba

La preparación de los voluntarios para las pruebas experimentales consistió en pedirles que se sentaran cómodamente en una silla y que reposaran por 3 min. Durante este tiempo se les midió la presión arterial, la frecuencia cardiaca y la saturación de oxígeno pulsátil. Posteriormente se les colocó un esfigmomanómetro alrededor de la parte superior del brazo izquierdo para la inducción de las oclusiones vasculares y se colocó la palma de su mano izquierda en el puerto de la esfera integradora, como se observa en la figura 42.

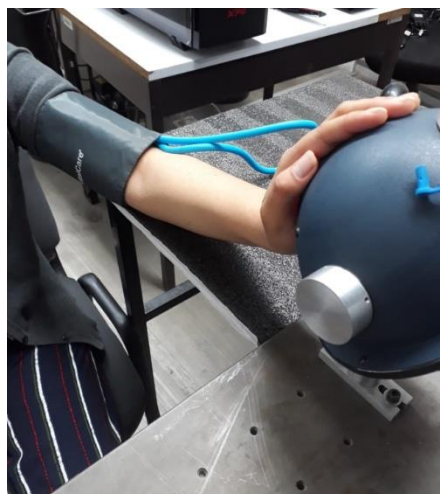


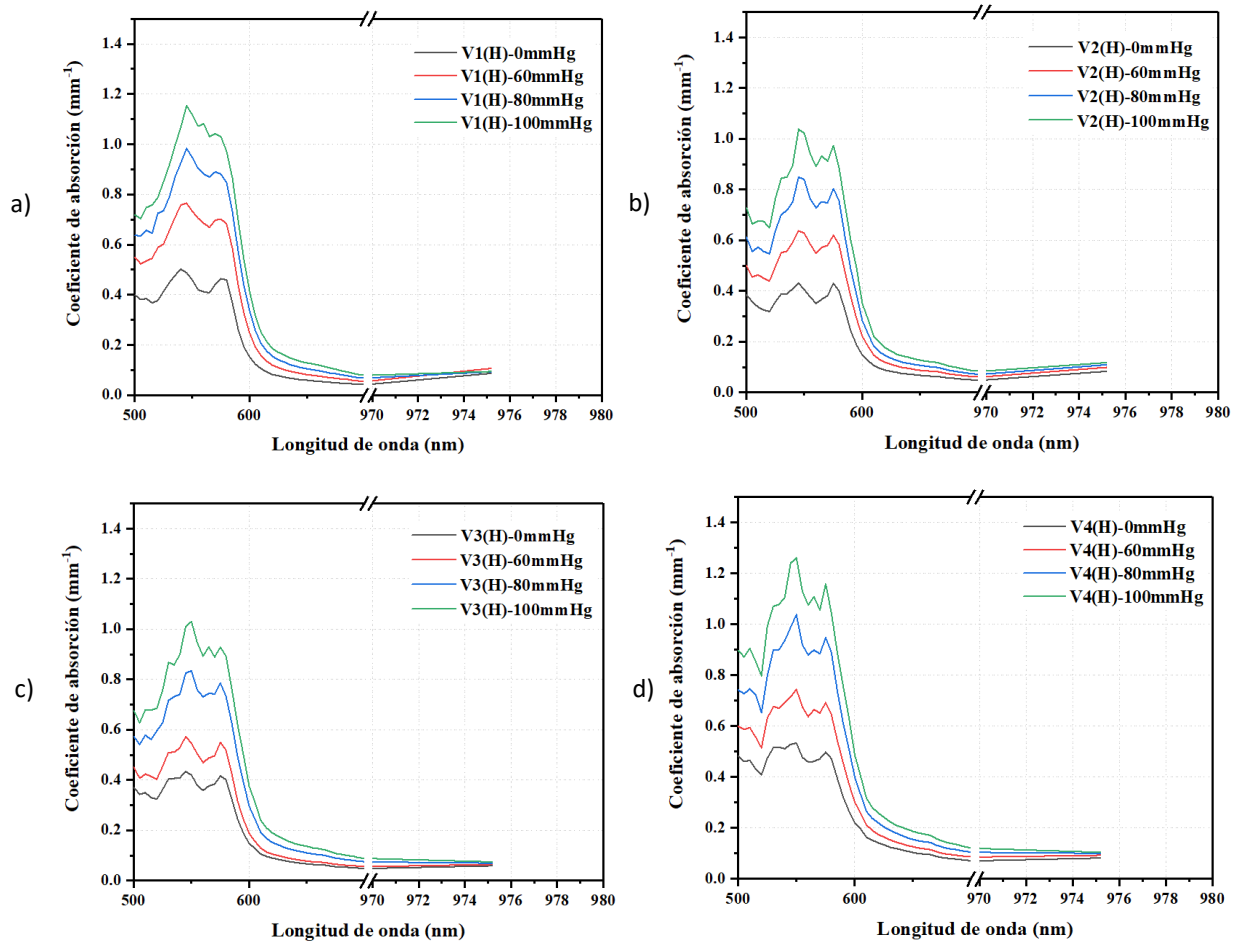
Figura 42. Colocación de esfigmomanómetro para mediciones de StO_2 .

Se realizaron 4 mediciones continuas a 0 mmHg, 60 mmHg, 80 mmHg y 100 mmHg a los 27 voluntarios considerados. Cada oclusión duró 1 minuto aproximadamente, al terminó de la medición de 100 mmHg se liberó la presión en el manguito y se realizaron mediciones en el período de recuperación al 1° y 2° minutos posteriores. Se evaluaron las características de los voluntarios como edad, presión arterial, frecuencia cardiaca, saturación de oxígeno

pulsátil y tipo de piel. La notación empleada para cada voluntario se realizó con una numeración consecutiva seguida de su género entre paréntesis.

5.2 Medición de los espectros de coeficiente de absorción *in vivo*

Tal como se detalló en el capítulo 4, los espectros de absorción son obtenidos de las mediciones de reflectancia difusa con el arreglo experimental y de la aplicación de la técnica IAD. En las gráficas de la figura 43 se muestran los espectros de los coeficientes de absorción de 7 voluntarios para cada condición de presión aplicada (0, 60, 80 y 100 mmHg) en ellas se observa como el coeficiente de absorción incrementa al aumentar la presión en el esfigmomanómetro, esto a causa de un aumento en la absorción de la hemoglobina desoxigenada (*Hb*). También se observa como al incrementar la presión aplicada, el patrón de doble pico característico de la hemoglobina oxigenada (*HbO₂*) va sustituyéndose por el patrón de un solo pico característico de la hemoglobina desoxigenada (*Hb*). Este comportamiento se aprecia mejor en la figura 43g correspondiente al voluntario V7(M).



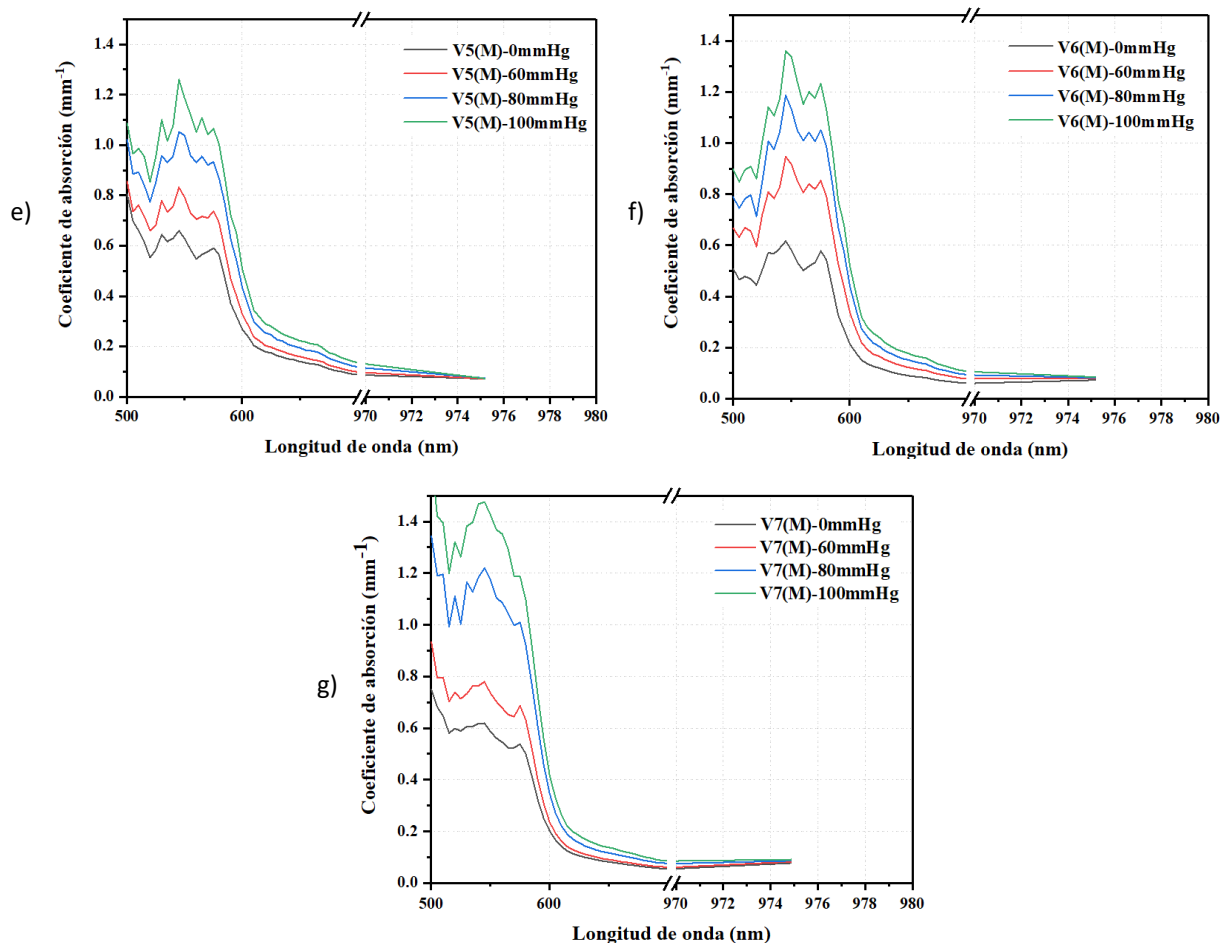


Figura 43. Coeficientes de absorción de 7 voluntarios para cada condición de presión aplicada: a) V1(H), b) V2(H), c) V3(H), d) V4(H)), e) V5(M), f) V6(M) y g) V7(M).

5.2.1 Factores que afectan las mediciones y sus efectos

Existen diversos factores que pueden afectar las mediciones, que pueden ser clasificados en anatómicos y fisiológicos, los cuales requieren de algún tipo de control que permita disminuir o eliminar su efecto sobre las mediciones. La tabla 5 muestra dichos factores considerados, así como el control aplicado.

Factor	Efecto	Control
Anatómico:		
Heterogeneidad del tejido	La heterogeneidad del tejido está relacionada con la cantidad de elementos absorbentes y esparcidos presentes en el tejido estudiado, así como su concentración.	Para controlar este factor se realizaron las mediciones sobre la misma región (palma de la mano) en todos los voluntarios. Por otra parte, en diversos estudios se ha identificado la región de

		eminencia tenar ¹² como un sitio confiable que presenta menores variabilidades inter e intraindividuales [101].
Grosor de tejido adiposo	El grosor del tejido adiposo produce un mayor o menor esparcimiento de luz dentro del tejido estudiado.	Al igual que el punto anterior se determina que la región seleccionada (palma de la mano) presenta una menor variabilidad inter e intraindividual.
Contenido de melanina en la piel	El contenido de melanina en la piel está relacionado con una mayor o menor absorción de la luz que es irradiada al tejido.	Dado que el contenido de melanina es un factor significativo, sobre todo en la región visible del espectro electromagnético, se ha considerado en cada una de las mediciones mediante su relación con la pendiente del espectro de absorción entre 630 y 700 nm [95].
Concentración de hemoglobina en la sangre	Al igual que el anterior una mayor cantidad de hemoglobina presente en la sangre producirá una mayor absorción de luz.	La concentración de la hemoglobina es el factor por evaluar mediante la aplicación de la prueba de oclusión vascular.
Edema tisular	El edema tisular está relacionado con una mayor cantidad de líquido presente en el tejido que produce un ligero incremento en la absorción de dicho tejido.	De todos los voluntarios considerados en las pruebas experimentales se observó que ninguno presentaba hinchazón en su palma de la mano izquierda ocasionada por edema tisular.
Fisiológico:		
Edad	La edad influye en algunas características fisiológicas como pueden ser la hidratación (absorción) y la cantidad/estructura de fibras de colágeno presentes en la piel (esparcimiento).	El rango de edad de los voluntarios considerados se encuentra entre 18 y 39 años, lo cual no representa una diferencia considerable respecto a grupos de edad (juventud-adulterz).

¹² Región de la palma de la mano que constituye la base del dedo pulgar y está compuesta por 4 músculos.

Temperatura corporal	La temperatura corporal está relacionada con la vasodilatación/vasoconstricción producidas por la termorregulación e influyen en un aumento/disminución del flujo sanguíneo a los tejidos.	La temperatura corporal fue estabilizada mediante el tiempo de reposo previo a las mediciones.
Perfusión regional	La perfusión regional puede verse afectada por enfermedad vascular que provoca una disminución del flujo sanguíneo hacia los diversos tejidos del cuerpo.	De todos los voluntarios considerados ninguno declaró presentar enfermedad vascular que afectará su nivel de perfusión sanguínea.
Demanda/consumo de oxígeno	La demanda/consumo de oxígeno se relaciona con actividades metabólicas cuyos requerimientos de oxígeno incrementan al realizarlas.	Todos los voluntarios permanecieron en reposo y por lo tanto sus demandas de oxígeno se mantuvieron estables durante el desarrollo de las pruebas.

Tabla 5. Factores que influyen en las mediciones.

5.2.2 Análisis por componentes principales

Como se revisó en el capítulo 3, existen diferentes cromóforos presentes en la piel (hemoglobina, melanina, agua, etc.) que tienen un espectro de absorción característico con respecto a la longitud de onda. Para transformar linealmente los datos de un sistema de coordenadas ortogonales se puede aplicar un análisis por componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés). Este procedimiento indica que los componentes principales correspondientes a los ejes del sistema se determinan como autovectores de la matriz de covarianza del conjunto de datos y sus autovalores correspondientes se refieren a la varianza capturada dentro de cada autovector [107]. Al efectuar un PCA sobre los principales cromóforos de la piel (considerando sus respectivos coeficientes de absorción) podemos evaluar su grado de correlación, como se observa en la tabla 6. También evaluamos el porcentaje de varianza correspondiente a los eigenvalores obtenidos (tabla 7), así como la matriz de los eigenvectores generados en el análisis (tabla 8).

	μ_a hemoglobina	μ_a oxihemoglobina	μ_a melanina	μ_a agua	μ_a grasa
μ_a hemoglobina	1	0.93262	0.73954	-0.22515	0.38807
μ_a oxihemoglobina	0.93262	1	0.69206	-0.17401	0.40172
μ_a melanina	0.73954	0.69206	1	-0.39583	0.72947

μ_a agua	-0.22515	-0.17401	-0.39583	1	0.24168
μ_a grasa	0.38807	0.40172	0.72947	0.24168	1

Tabla 6. Matriz de correlación entre principales cromóforos de la piel.

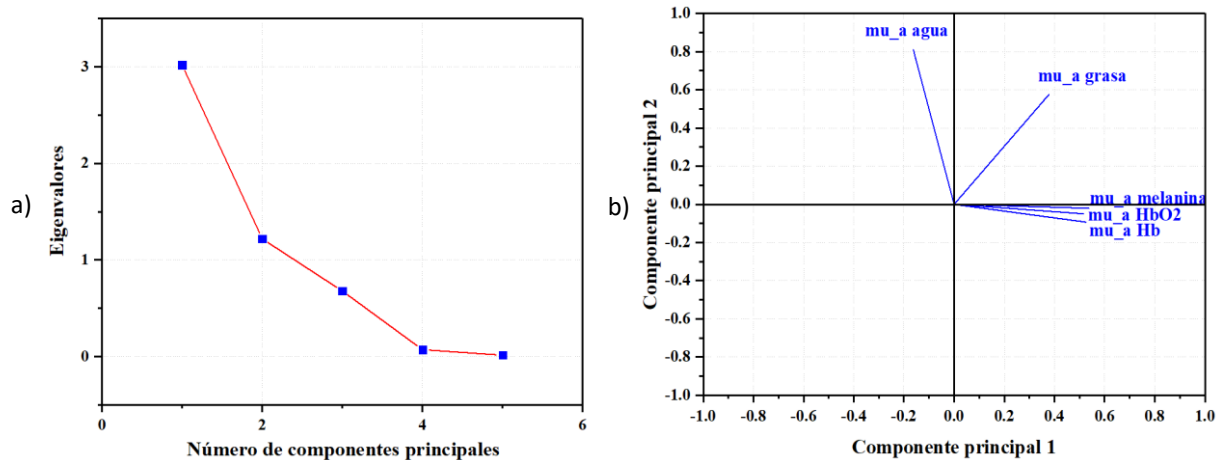
	Eigenvalor	Porcentaje de varianza	Acumulativo
1	3.02061	60.41%	60.41%
2	1.21777	24.36%	84.77%
3	0.67783	13.56%	98.32%
4	0.07021	1.40%	99.73%
5	0.01358	0.27%	100%

Tabla 7. Matriz de correlación entre Eigenvalores.

	Coefficientes de PC1	Coefficientes de PC2
μ_a hemoglobina	0.52539	-0.09314
μ_a oxihemoglobina	0.51568	-0.04944
μ_a melanina	0.53727	-0.02012
μ_a agua	-0.163	0.81085
μ_a grasa	0.37789	0.57532

Tabla 8. Matriz de Eigenvectores.

A continuación se presentan las gráficas generadas del PCA donde en la figura 44a se puede observar que los cromóforos que tiene mayor efecto sobre el coeficiente de absorción total son la hemoglobina oxigenada, desoxigenada y la melanina. En la figura 44b se observa que estos 3 cromóforos que tienen mayor aportación, también están más relacionados entre sí (debido a que presentan un ángulo pequeño entre sus vectores generados). La figura 44c muestra los vectores generados y su relación con la longitud de onda, donde podemos observar que la relación entre los 3 principales cromóforos mencionados se presenta en el intervalo de longitud de onda de 535 a 545 nm (ver figura 44d).



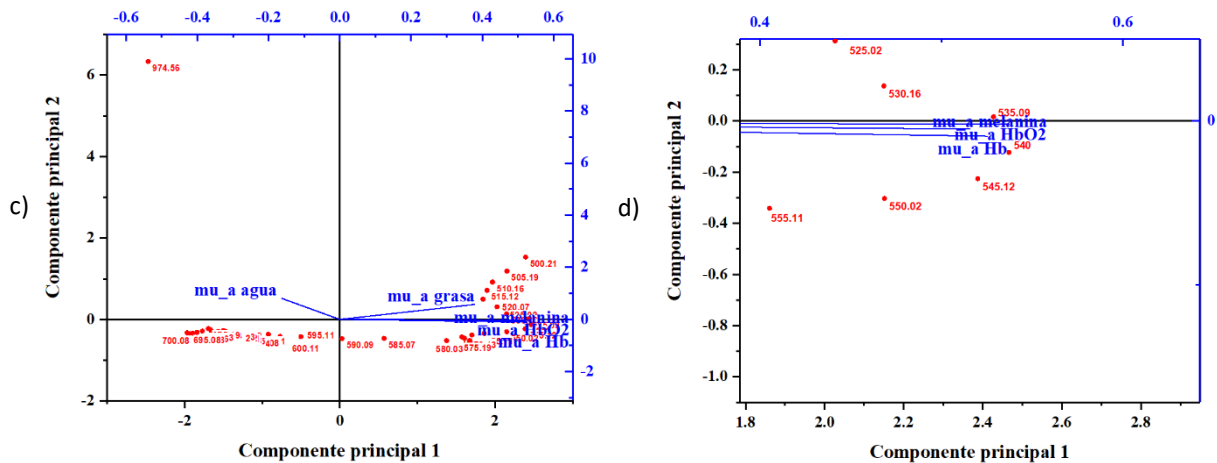


Figura 44. Gráficas obtenidas del Análisis de Componentes Principales: a) Gráfica de sedimentación, b) Gráfica de influencias, c) Gráfica de doble proyección y d) Ampliación de gráfica de doble proyección.

5.3 Medición de saturación de oxígeno tisular *in vivo* con algoritmo "OTOS"

Las mediciones de StO_2 fueron realizadas con el algoritmo computacional desarrollado y descrito en el capítulo 4. El tipo de piel se clasificó de acuerdo a 3 grupos: I – piel clara, II – piel intermedia y III – piel morena. La tabla 9 presenta las características evaluadas en los 27 voluntarios considerados. Para el voluntario V20(M) no se obtuvieron valores de frecuencia cardíaca y SpO_2 debido a que sus uñas tenían un grado elevado de pigmentación.

Voluntario	Edad (años)	Presión Arterial Sistólica (mmHg)	Presión Arterial Diastólica (mmHg)	Frecuencia Cardíaca (bpm)	SpO_2 (%)	Tipo de piel
V1(H)	19	108	64	67	95	I
V2(H)	39	104	80	77	94	I
V3(H)	21	100	64	85	93	I
V4(H)	22	105	76	65	93	II
V5(H)	25	100	72	71	97	II
V6(H)	22	118	84	64	96	II
V7(H)	23	118	75	72	96	II
V8(H)	19	128	78	80	94	III
V9(H)	23	90	60	65	95	I
V10(H)	27	100	70	73	94	I
V11(H)	24	120	78	72	97	II
V12(H)	30	110	80	82	98	II
V13(H)	23	110	80	96	95	II
V14(M)	23	104	72	78	95	I
V15(M)	23	112	78	69	96	I
V16(M)	23	95	68	98	99	I
V17(M)	23	98	72	88	96	I
V18(M)	34	100	64	76	88	I

V19(M)	18	108	70	113	95	II
V20(M)	22	114	78	*	*	II
V21(M)	38	95	62	89	96	III
V22(M)	19	100	76	88	93	I
V23(M)	18	92	65	110	95	I
V24(M)	32	122	80	68	96	II
V25(M)	23	116	78	102	97	II
V26(M)	20	107	80	119	93	II
V27(M)	19	115	80	119	96	II

Tabla 9. Características evaluadas de los voluntarios considerados.

Posteriormente se obtuvieron las mediciones de reflectancia difusa y los coeficientes de absorción para cada condición de presión (0, 60, 80 y 100 mmHg). Al obtener la medición de 0 mmHg (condición basal o de reposo) se realizó el cálculo de la pendiente del espectro de absorción entre 630-700 nm, ya que dicha pendiente está directamente relacionada con el contenido de melanina en la piel [95]. La pendiente obtenida para cada voluntario fue usada para poder discriminar la aportación de la melanina epidérmica al espectro de absorción. A partir del valor de la pendiente se seleccionó la primera longitud de onda necesaria para realizar el cálculo de la StO_2 , correspondiente a la región visible del espectro electromagnético. La segunda longitud de onda seleccionada, correspondiente a la región del infrarrojo cercano, fue 975 nm debido a la disponibilidad del láser IR. La tabla 10 muestra los valores de las pendientes obtenidas para cada voluntario, así como la longitud de onda seleccionada.

	Voluntario	Pendiente (mm^{-1}/nm)	Longitud de onda (nm)
1	V1(H)	-0.000286	622
2	V2(H)	-0.000319	622
3	V3(H)	-0.000490	622
4	V4(H)	-0.000536	624
5	V5(H)	-0.000548	624
6	V6(H)	-0.000695	624
7	V7(H)	-0.000772	624
8	V8(H)	-0.000833	626
9	V9(H)	-0.000394	622
10	V10(H)	-0.000476	622
11	V11(H)	-0.000594	624
12	V12(H)	-0.000537	624
13	V13(H)	-0.000506	624
14	V14(M)	-0.000333	624

15	V15(M)	-0.000433	622
16	V16(M)	-0.000464	622
17	V17(M)	-0.000483	622
18	V18(M)	-0.000500	622
19	V19(M)	-0.000538	624
20	V20(M)	-0.000684	624
21	V21(M)	-0.000806	626
22	V22(M)	-0.000362	622
23	V23(M)	-0.000364	622
24	V24(M)	-0.000519	624
25	V25(M)	-0.000521	624
26	V26(M)	-0.000533	624
27	V27(M)	-0.000648	624

Tabla 10. Valores de las pendientes obtenidas para cada voluntario mediante ajuste lineal entre 630-700 nm.

Los 3 grupos especificados para el tipo de piel se relacionan con el valor de la pendiente obtenida, esto porque el tipo de piel está directamente asociado al contenido de melanina en la piel. La tabla 11 muestra dicha clasificación, así como el intervalo del valor de la pendiente correspondiente para cada grupo.

Grupo	Tipo de piel	Valor absoluto de pendiente (mm^{-1}/nm)	Longitud de onda (nm)
I	Clara	pendiente $< 5 \times 10^{-4}$	622
II	Intermedia	$5 \times 10^{-4} < \text{pendiente} < 8 \times 10^{-4}$	624
III	Morena	$8 \times 10^{-4} < \text{pendiente}$	626

Tabla 11. Determinación de longitud de onda para cálculo de StO_2 (considerando el valor absoluto de la pendiente).

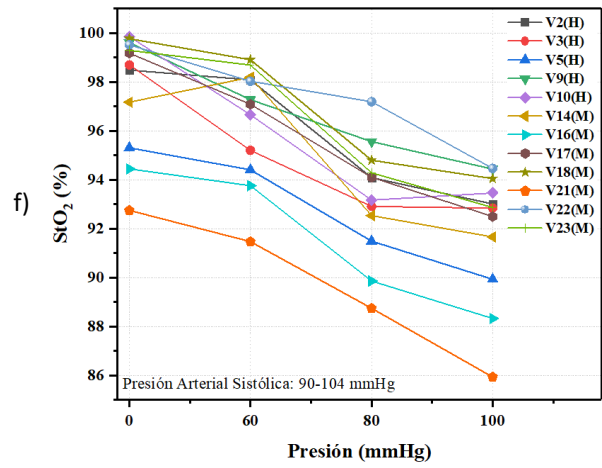
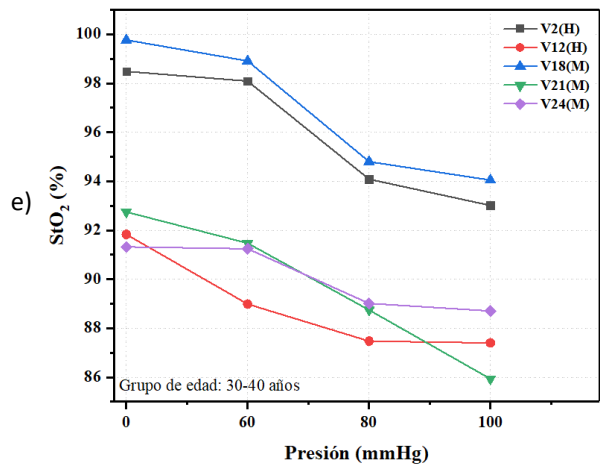
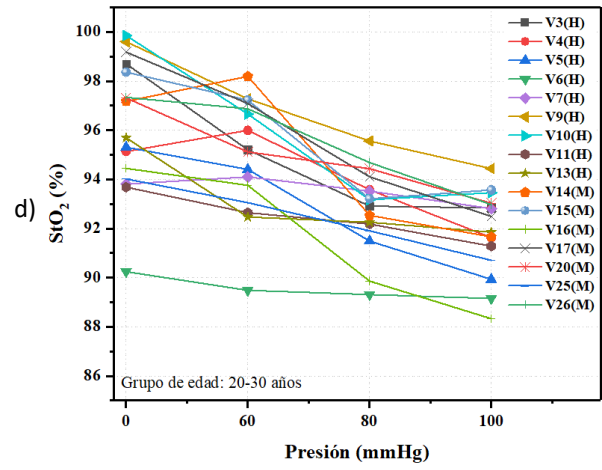
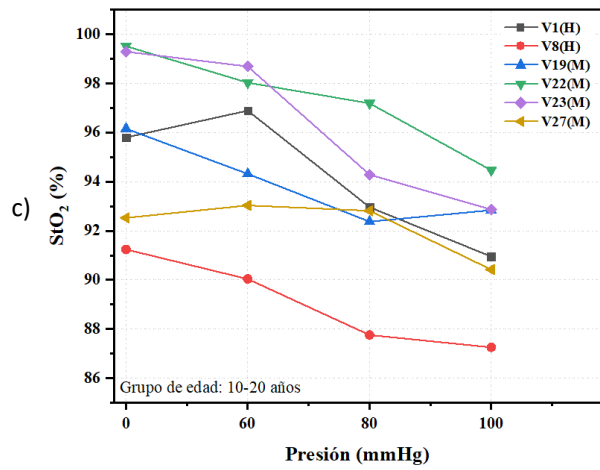
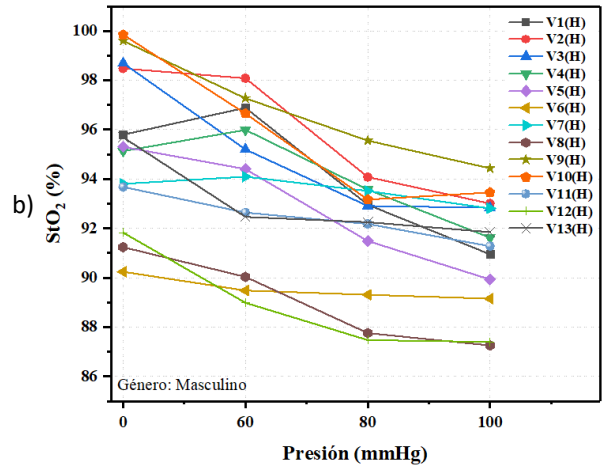
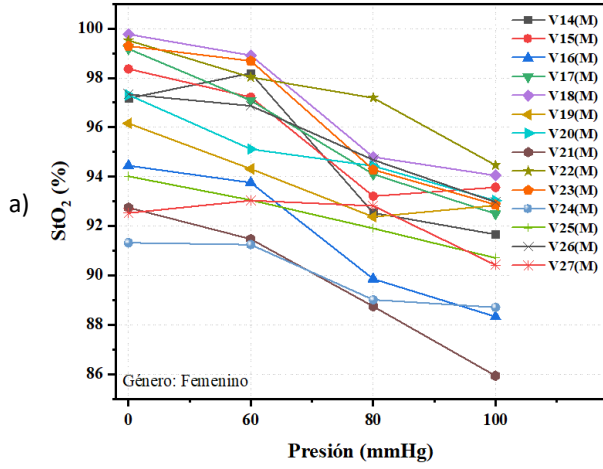
La consideración de asignar una longitud de onda para cada grupo de tipo de piel muestra un comportamiento como el señalado por Ferguson et al. [108] donde observaron que se presentó un cambio de longitud de onda en el cálculo del índice de oxigenación debido a la influencia de la melanina. Los valores obtenidos de StO_2 para cada condición de presión se muestran en la tabla 12, donde puede observarse como el valor de la StO_2 disminuye al incrementarse la presión aplicada.

		StO_2 (%)			
	Voluntario	0 mmHg	60 mmHg	80 mmHg	100 mmHg
1	V1(H)	95.80	96.89	92.96	90.95
2	V2(H)	98.48	98.09	94.08	93.01

3	V3(H)	98.69	95.20	92.91	92.84
4	V4(H)	94.94	95.99	93.58	91.62
5	V5(H)	95.31	94.40	91.49	89.93
6	V6(H)	90.24	89.48	90.58	89.31
7	V7(H)	93.06	94.10	93.51	92.81
8	V8(H)	89.59	90.03	87.76	87.26
9	V9(H)	99.60	97.27	95.56	94.44
10	V10(H)	99.85	96.66	93.17	93.46
11	V11(H)	93.68	92.64	92.18	91.28
12	V12(H)	91.83	88.98	87.47	87.40
13	V13(H)	95.69	92.47	92.25	91.85
14	V14(M)	97.17	98.19	92.53	91.66
15	V15(M)	98.36	97.22	93.21	93.56
16	V16(M)	94.44	93.75	89.86	88.33
17	V17(M)	99.18	97.08	94.10	92.49
18	V18(M)	99.76	98.91	94.80	94.05
19	V19(M)	96.16	94.31	92.37	92.84
20	V20(M)	96.24	95.11	94.43	93.03
21	V21(M)	92.38	91.47	88.74	85.93
22	V22(M)	99.52	98.03	97.19	94.46
23	V23(M)	99.29	98.69	94.28	92.86
24	V24(M)	91.20	91.24	89.01	88.70
25	V25(M)	93.19	93.05	90.71	91.90
26	V26(M)	97.33	96.87	94.68	92.97
27	V27(M)	92.53	93.03	92.82	90.42
	Promedio	95.69	94.78	92.45	91.46
	Desviación	3.107	2.871	2.325	2.274

Tabla 12. Valores de StO_2 para cada voluntario y condición de presión.

La figura 45 presenta las gráficas de las variaciones de la StO_2 respecto a la presión aplicada en mmHg. Las mediciones se clasificaron en grupos por género, edad y presión arterial sistólica correspondientes. El inciso a muestra los resultados pertenecientes al grupo de mujeres y el b corresponde a los hombres. El inciso c muestra los resultados para el grupo de edad de 10 a 20 años, el d para el grupo de 20 a 30 años y el e para el grupo de 30 a 40 años. El inciso f muestra los resultados para el grupo que presentó una presión arterial sistólica menor de 90 a 104 mmHg, el g corresponde al grupo con presión arterial de 105 a 114 mmHg y el inciso h para el grupo con presión arterial de 115 a 130 mmHg.



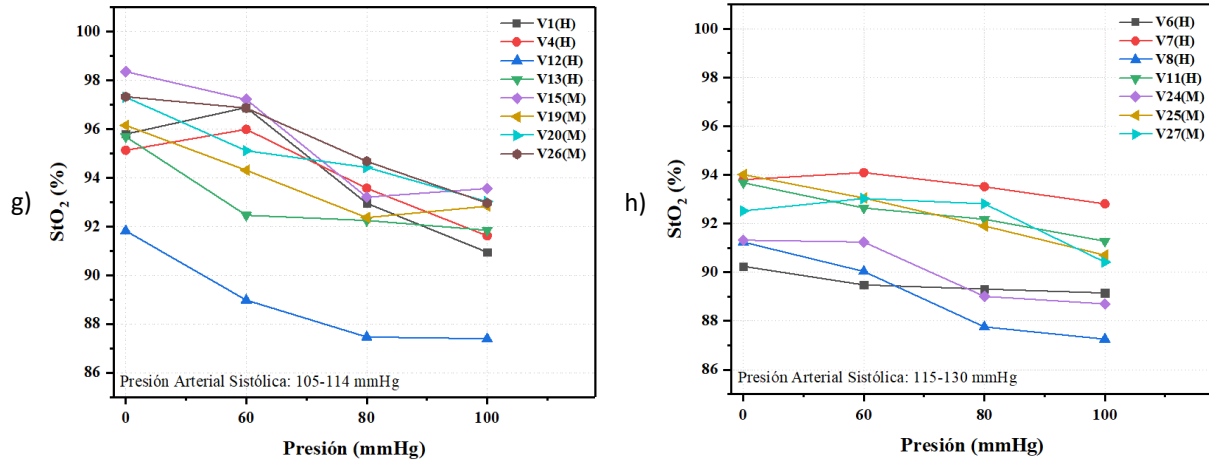
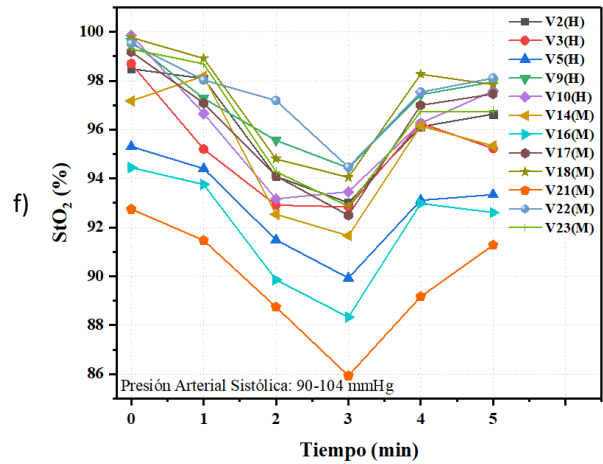
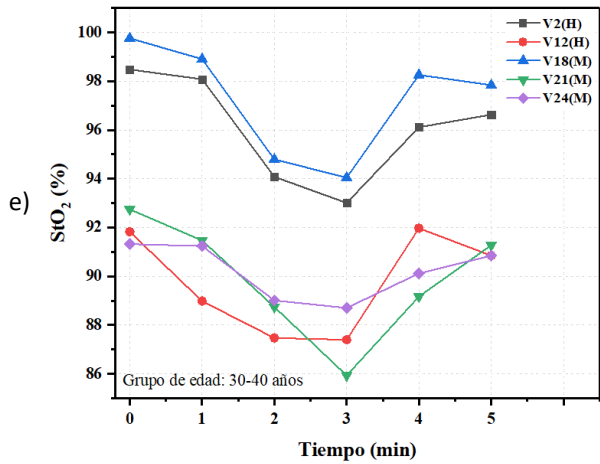
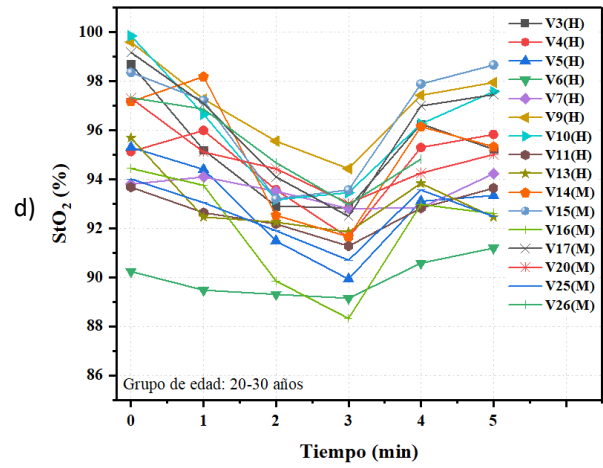
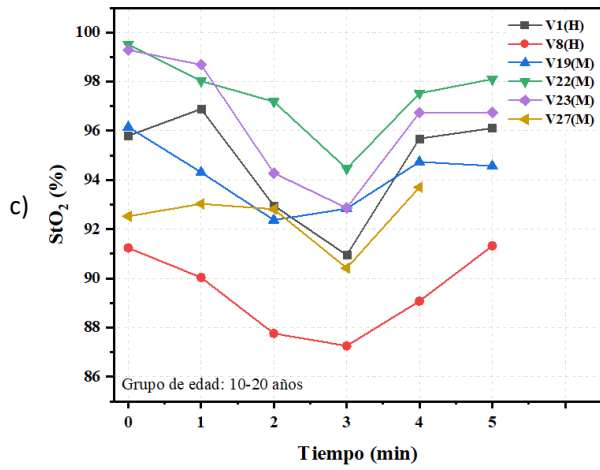
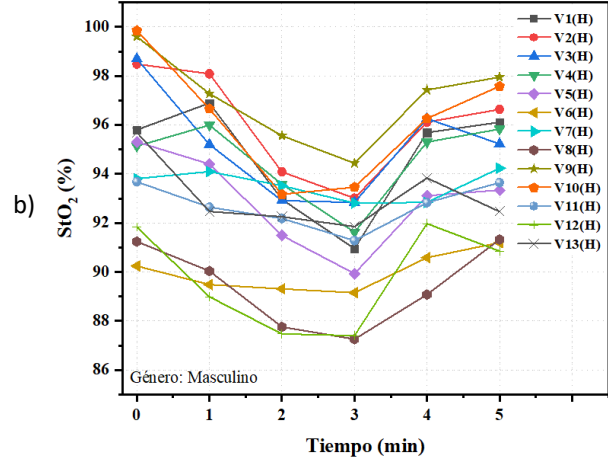
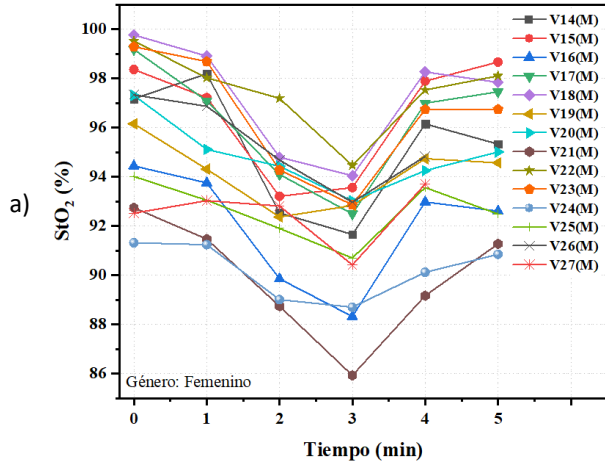


Figura 45. Gráficas de valores de StO_2 obtenidos para cada condición de presión: a) femenino, b) masculino, c) 10-20 años, d) 20-30 años, e) 30-40 años, f) 90-104 mmHg, g) 105-114 mmHg y h) 115-130 mmHg.

De las gráficas anteriores se puede observar que las clasificaciones por género y edad no presentan un patrón o comportamiento especial. Sin embargo, en la clasificación por grupo de presión arterial sistólica se observa como el grupo de presión arterial más baja (90-104 mmHg) presenta una caída en la StO_2 más pronunciada a diferencia del grupo de presión arterial más alta (115-130 mmHg). Este es un comportamiento esperado, puesto que los voluntarios con presiones sistólicas menores alcanzan prácticamente una situación de flujo sanguíneo nulo en la última presión aplicada (100 mmHg), por lo tanto presentan una mayor afectación. También se espera que en los espectros de absorción de este grupo de voluntarios se pierda más rápido el patrón de doble pico característico de la hemoglobina oxigenada, como es el caso del voluntario V21(M) de la figura 45f que corresponde al voluntario V7(M) de la figura 43g. En la figura 46 se presentan las gráficas de StO_2 respecto del tiempo en min, donde cada medición equivale a 1 min del tiempo total de la prueba. En estas gráficas también se presentan las mediciones correspondientes a la etapa de recuperación de StO_2 , es decir, después de evaluar los 100 mmHg inmediatamente se liberó la presión aplicada en el manguito del esfigmomanómetro y se realizaron 2 mediciones consecutivas.



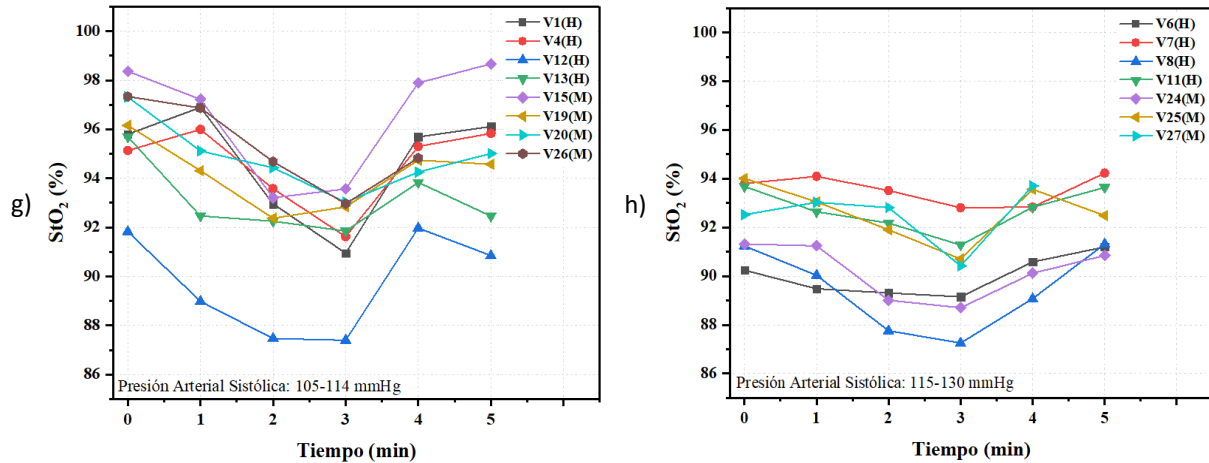


Figura 46. Gráficas de valores de StO_2 obtenidos respecto al tiempo de prueba: a) femenino, b) masculino, c) 10-20 años, d) 20-30 años, e) 30-40 años, f) 90-104 mmHg, g) 105-114 mmHg y h) 115-130 mmHg.

En las gráficas anteriores podemos observar como la StO_2 tiende a elevarse nuevamente en la etapa de recuperación, también puede observarse un comportamiento heterogéneo entre la recuperación de los diferentes voluntarios de cada grupo. Según las observaciones realizadas en diversos estudios, esta etapa de recuperación se considera como un reflejo de la función endotelial y también se ha correlacionado con la presión de perfusión; por lo que puede derivarse de la interacción entre la presión de perfusión y la integridad endotelial [101]. Sin embargo, los resultados obtenidos reflejan un desafío isquémico mucho menor que el de dichos estudios debido a que la presión máxima aplicada (100 mmHg) no fue tan elevada con respecto a la presión arterial sistólica y por lo tanto no presentan un buen grado de comparación. A pesar de ello se observó en los voluntarios V12(H) y V25(M), pertenecientes a los grupos de presión arterial media (105-114 mmHg) y alta (115-130 mmHg), que en la primera medición de la etapa de recuperación la StO_2 se elevó temporalmente por encima de los valores iniciales. Este comportamiento puede reflejar la condición conocida como hiperemia reactiva, indicada en la literatura, que representa vasodilatación post-isquémica y reclutamiento capilar [100, 101].

5.3.1 Estudio de repetibilidad

Una de las características principales que se debe de evaluar en cualquier tipo de medición realizada en un ensayo clínico es la confiabilidad, que también se refiere a la repetibilidad del valor observado cuando se repite la medición en el mismo sujeto o muestra [109]. Esta medida representa una estimación de la proporción de toda la variación que no se debe a un error de medición y que es obtenida a partir del cambio en el valor medio entre 2 o más ensayos de una prueba. Existen varias pruebas estadísticas que se pueden emplear para evaluar la confiabilidad en función de la aplicación de la prueba, como se muestra en la tabla 13.

Prueba estadística	Aplicación	Permite
Porcentaje de acuerdo	Confiabilidad entre observadores	Calcular porcentaje de acuerdo para cada fila de observaciones
Índice Kappa de Cohen	Confiabilidad inter e intra observador	Determinar concordancia entre observadores
Método de Bland y Altman	Confiabilidad entre instrumentos que tienen la misma escala de medición	Representar diferencias entre dos mediciones frente a su media
Índice κ de Fleiss	Confiabilidad inter observador (tres o más observadores)	Determinar concordancia entre observadores
Coefficiente de correlación (r de Pearson)	Intensidad de asociación lineal entre dos variables	Evaluar los rangos entre valores de dos variables
Coefficiente de correlación intraclase	Confiabilidad de la medición en sujetos con un grado de relación	Evaluar el comportamiento de variables en grupos de estudio
Coefficiente de correlación de rango (ρ de Spearman)	Comparación de rangos en cada grupo de sujetos	Evaluar los rangos entre valores de dos variables
Alpha de Krippendorff	Confiabilidad inter observador y múltiples observaciones	Determinar concordancia entre cualquier número de observadores

Tabla 13. Pruebas estadísticas utilizadas para determinar confiabilidad [109].

Como se observa en la tabla anterior, las diferentes pruebas estadísticas permiten evaluar la confiabilidad entre observadores, instrumentos o sujetos. Debido a la naturaleza de las pruebas experimentales desarrolladas en este trabajo, la prueba estadística más adecuada para evaluar la repetibilidad es el coeficiente de correlación intraclase (*CCI*). Dado que el *CCI* se utiliza para cuantificar el grado de confiabilidad de una medición en sujetos con un grado de relación y consiste en la proporción entre la varianza verdadera entre sujetos (σ_v^2) y la varianza total de las mediciones (σ_x^2), siendo esta última la suma de la varianza residual de los errores de medida (σ_e^2) y la varianza verdadera de los sujetos (σ_v^2).

$$CCI = \frac{\sigma_v^2}{\sigma_v^2 + \sigma_e^2} = \frac{\sigma_v^2}{\sigma_x^2} \quad (68)$$

La tabla 14 muestra la clasificación del *CCI* de acuerdo con el valor obtenido de la ecuación 68.

Valor CCI	Grado de confiabilidad
< 0.31	Mala o nula

0.31 - 0.50	Mediocre
0.51 - 0.70	Moderada
0.71 - 0.90	Buena
> 0.90	Muy buena

Tabla 14. Grado de confiabilidad en función del coeficiente de correlación intraclass [110].

Para evaluar la repetibilidad de las pruebas experimentales se obtuvieron 3 mediciones en la condición normal (0 mmHg) de 25 voluntarios (13 hombres y 12 mujeres) aplicando el mismo protocolo de medición y posteriormente evaluando el *CCI* de las mediciones realizadas. La tabla 15 presenta los valores de StO_2 obtenidos en cada medición para los 25 voluntarios considerados.

		StO_2 (%)		
	Voluntario	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
1	V1(H)	96.01	95.05	95.80
2	V2(H)	97.05	96.89	98.48
3	V3(H)	94.28	95.51	98.69
4	V4(H)	95.13	94.59	94.94
5	V5(H)	94.32	95.32	95.31
6	V6(H)	89.68	88.49	90.24
7	V7(H)	93.80	93.52	93.06
8	V8(H)	88.27	91.24	89.59
9	V9(H)	99.14	99.07	99.60
10	V10(H)	99.55	97.85	99.85
11	V11(H)	92.57	92.80	93.68
12	V12(H)	91.92	91.42	91.83
13	V13(H)	94.73	95.21	95.69
14	V14(M)	97.21	97.26	97.17
15	V15(M)	97.49	98.24	98.36
16	V16(M)	93.59	93.83	94.44
17	V17(M)	97.97	98.28	99.18
18	V18(M)	98.41	96.98	99.76
19	V19(M)	95.67	95.75	96.16
20	V20(M)	95.41	97.31	96.24
21	V21(M)	92.75	92.33	92.38
22	V22(M)	97.67	97.38	99.52
23	V23(M)	98.72	98.86	99.29
24	V24(M)	91.24	91.32	91.20

25	V25(M)	92.72	94.02	93.19
----	--------	-------	-------	-------

Tabla 15. Valores de StO_2 obtenidos de 3 mediciones en condición normal.

Para obtener el CCI aplicando la ecuación 68 es necesario obtener las varianzas entre sujetos (σ_v^2) y residual de los errores de medida (σ_e^2), de donde cada varianza se representa en las ecuaciones 69 y 70:

$$\sigma_v^2 = \frac{MS_M - MS_R}{2} \quad (69)$$

$$\sigma_e^2 = MS_R \quad (70)$$

Para obtener las medias cuadráticas (MS) se deben calcular sus respectivas sumas de cuadrados (SS) y sus grados de libertad (DF), como se muestra a continuación:

$$MS_M = \frac{SS_M}{DF_M} \quad (71)$$

$$MS_R = \frac{SS_R}{DF_R} \quad (72)$$

$$SS_M = \sum n_k (\bar{x}_k - \bar{x}_{total})^2 \quad (73)$$

$$SS_R = \sum (x_{ik} - \bar{x}_k)^2 \quad (74)$$

$$DF_M = \text{número de sujetos} - 1 \quad (75)$$

$$DF_R = DF_T - DF_M \quad (76)$$

$$DF_T = \text{número de mediciones total} - 1 \quad (77)$$

Aplicando las ecuaciones anteriores a los valores de StO_2 medidos y presentados en la tabla 13, obtenemos los valores que se presentan a continuación:

$$MS_M = \frac{619.4471}{24} = 25.8102 \quad (78)$$

$$MS_R = \frac{34.6007}{50} = 0.69201 = \sigma_e^2 \quad (79)$$

$$\sigma_v^2 = \frac{MS_M - MS_R}{2} = \frac{25.8102 - 0.69201}{2} = 12.5591 \quad (80)$$

$$CCI = \frac{\sigma_v^2}{\sigma_v^2 + \sigma_e^2} = \frac{12.5591}{12.5591 + 0.69201} = 0.947 \quad (81)$$

Al emplear el CCI para evaluar la repetibilidad se obtiene un valor de 0.947 que, de acuerdo con la clasificación presentada en la tabla 12, indica un grado de confiabilidad “muy bueno”.

5.3.2 Comparativa de resultados obtenidos vs literatura

Se realizó una revisión de diversos estudios existentes en la literatura para comparar los resultados obtenidos de las pruebas experimentales, con el fin de establecer una validación de estos. La tabla 16 muestra una serie de estudios en los que se evaluó la StO_2 en diferentes regiones del cuerpo para diversas aplicaciones médicas. La tecnología empleada en la mayoría de estos estudios fue espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés), que fue descrita en el capítulo 1. En esta tabla se puede observar que los valores de StO_2 varían considerablemente dependiendo de la zona del cuerpo que se mide, así como de la distancia de separación entre la iluminación y las fibras ópticas de detección. Esto puede verse reflejado en los resultados reportados por Bezemer et al. [99] quienes obtuvieron valores iniciales de StO_2 de $81\pm 10\%$ para el antebrazo con una separación de 15mm y de $87\pm 4\%$ para la eminencia tenar con la misma separación, respecto a la separación de 25 mm obtuvieron una StO_2 de $85\pm 7\%$ para el antebrazo y $87\pm 3\%$ para la eminencia tenar; los valores mínimos reportados después de una oclusión vascular de 3 minutos fueron de $60\pm 13\%$ para el antebrazo con una separación de 15mm y de $49\pm 8\%$ para la eminencia tenar con la misma separación, con respecto a la separación de 25 mm reportaron un valor de StO_2 de $54\pm 16\%$ para el antebrazo y $3\pm 5\%$ para la eminencia tenar.

Autor	Año	Objetivo	Número de Voluntarios	Zona de medición	Valor StO_2
D. Wang [97]	2019	Detectar accidente cerebrovascular	-	Antebrazo	Valor inicial = 63%, Valor mínimo = 51%
A. Donati [98]	2016	Detectar alteraciones en la oxigenación tisular o reactividad microvascular en pacientes críticamente enfermos	27 voluntarios sanos	Eminencia tenar	Primera medición = 78%, Valor promedio = 80%
V. Hartwig [104]	2016	Valorar e identificar alteraciones microcirculatorias	12 voluntarios sanos	Eminencia tenar y dedo medio	Eminencia tenar: valor inicial = 74.73%, valor mínimo = 45.07%. Dedo medio: valor inicial = 65.34%, valor mínimo = 41.8%
J. Fellahi [106]	2014	Comparar los parámetros NIRS en combinación con una prueba de oclusión vascular en un sitio	20 voluntarios sanos	Pierna derecha e izquierda y pie izquierdo	Sitio proximal (pierna) = $81\pm 9\%$, Sitio distal (pie) = $60\pm 5\%$

		proximal (pierna) y distal (pie)			
C. Mayeur [111]	2011	Cuantificar un marcador de reserva microvascular en pacientes sépticos	20 voluntarios sanos	Eminencia tenar	Valor inicial = $82 \pm 4\%$, Valor mínimo = $52 \pm 10\%$
R. Bezemer [99]	2009	Evaluar las posibles alteraciones metabólicas y microcirculatorias en pacientes críticos	8 voluntarios sanos	Antebrazo (A) y eminencia tenar (T)	Valores iniciales: $81 \pm 10\%$ para A15mm, $85 \pm 7\%$ para A25mm, $87 \pm 4\%$ para T15mm y $87 \pm 3\%$ para T25mm, Valores mínimos: $60 \pm 13\%$ para A15mm, $54 \pm 16\%$ para A25mm, $49 \pm 8\%$ para T15mm y $3 \pm 5\%$ para T25mm
D. Skarda [112]	2007	Evaluar el metabolismo del oxígeno en los tejidos periféricos en pacientes hemodinámicamente estables y con sepsis grave	9 voluntarios sanos y 10 pacientes con sepsis severa	Eminencia tenar	Voluntarios sanos = $87 \pm 6\%$, Pacientes con sepsis severa = $75 \pm 15\%$

Tabla 16. Estudios que evaluaron StO_2 para diferentes aplicaciones médicas.

Como se observó en estos resultados, la distancia de separación entre la fuente de iluminación y las fibras de detección es una variable que se presenta en la tecnología NIRS, debido a que esta influye en la profundidad de penetración de la luz en el tejido (ver figura 15). Esta situación, así como la variabilidad entre las zonas de medición dificultan la comparación de los resultados obtenidos.

Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis muestran concordancia con lo reportado por Tseng et al. [113] quienes realizaron un estudio aplicando la técnica de reflectancia difusa con fuentes de luz visible e infrarroja cercana para investigar las propiedades hemodinámicas y ópticas de la dermis superior e inferior. Utilizaron una sonda de difusión con una fibra de detección y cuatro fibras fuente colocadas a las distancias de 1.44, 1.92, 2.4 y 2.88 mm desde la fibra de detección, respectivamente. Realizaron un ajuste de dos regiones (500-600 nm y 600-1000 nm) para obtener los

espectros de absorción de la piel y encontraron que las propiedades ópticas de la piel obtenidas en longitudes de onda inferiores a 600 nm son más relevantes para la dermis superior y la epidermis, mientras que las obtenidas en longitudes de onda superiores a 600 nm son más relevantes para la dermis inferior. También encontraron que la saturación de oxígeno era aproximadamente del 60-70% en la dermis superior y del 97-99% en la dermis inferior; respaldando su hallazgo con el modelo cutáneo que asume que el diámetro de los vasos sanguíneos en el plexo superior es mucho menor que en el plexo inferior de la dermis, ya que en este último los vasos sanguíneos están conectados a las arterias que provienen de la capa de grasa subcutánea y muscular (ver figura 47).

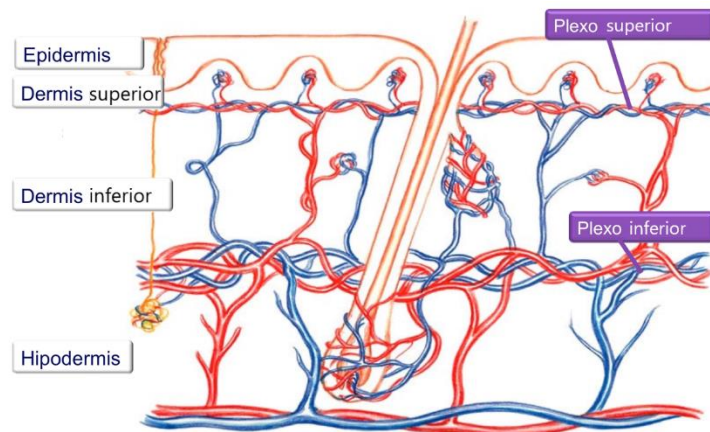


Figura 47. Red vascular cutánea.

5.3.3 Comparativa con técnica Monte Carlo Multi-Layered

Como parte de la validación de los resultados se realizó un análisis comparativo de los valores de reflectancia obtenidos por el método de Monte Carlo con los valores medidos y empleados en el cálculo con IAD, a partir de los coeficientes de absorción obtenidos por IAD se buscaron recuperar las reflectancias para modelos de 1 y 3 capas. Monte Carlo proporciona una solución a la Ecuación de Transferencia Radiativa realizando pruebas estadísticas, en donde las normas locales de transporte de fotones se muestran como distribuciones de probabilidad que detallan la distancia de propagación de los fotones y los ángulos de desviación en la trayectoria del fotón cuando se producen eventos de esparcimiento [73]. Monte Carlo tiene varias ventajas sobre otros métodos de solución porque puede tener en cuenta interfaces no coincidentes, pérdidas de luz en los bordes de la muestra, cualquier función de fase del medio, tamaño finito y distribución angular arbitraria del haz incidente. La mayor desventaja de este método es que requiere de un tiempo de cómputo elevado para garantizar una buena convergencia, ya que tiene un enfoque estadístico [77].

El análisis por Monte Carlo se realizó con el software Monte Carlo Multi-Layered (MCML) que fue desarrollado por L. Wang y S. Jacques [114]. Para implementar MCML en el modelo de 1 capa se consideraron los valores del μ_a obtenidos mediante IAD, así como las

propiedades de μ_s y g consideradas en el cálculo del μ_a . Estas propiedades se emplearon como parámetros de entrada en MCML para obtener valores de reflectancia difusa, que posteriormente fueron comparados con los valores de reflectancia medidos y empleados en IAD mediante el cálculo de su error porcentual. Para el modelo de 3 capas, se consideraron los valores de los μ_a obtenidos por IAD como un promedio de los μ_a de las 3 capas (epidermis, dermis y tejido subcutáneo). Estos valores de μ_a utilizados en el cálculo por MCML se muestran en la tabla 17 y coinciden con los valores considerados por Salomatina et al. [115] para una longitud de onda de 600 nm.

	μ_a (cm^{-1})					
	622-626 nm					
Capa	V1(H)	V2(H)	V3(H)	V4(M)	V5(M)	V6(M)
epidermis	2.73	2.65	3.31	3.76	4.65	3.9
dermis	1.37	1.46	1.95	2.4	3.3	2.54
tejido subcutáneo	1.2	1.29	1.78	2.23	3.13	2.37
promedio	1.767	1.800	2.347	2.797	3.693	2.937
	975 nm					
Capa	V1(H)	V2(H)	V3(H)	V4(M)	V5(M)	V6(M)
epidermis	1.15	1.33	1.35	1.28	1.5	1.425
dermis	1.45	1.63	1.65	1.58	1.8	1.725
tejido subcutáneo	1.55	1.73	1.75	1.68	1.9	1.825
promedio	1.383	1.563	1.583	1.513	1.733	1.658

Tabla 17. Valores de coeficientes de absorción empleados en modelo de 3 capas.

Los modelos de 1 y 3 capas se simularon para las 2 longitudes de onda consideradas en el cálculo de la StO_2 . La tabla 18 muestra los porcentajes de error obtenidos tomando como referencia los valores de reflectancia medidos y empleados en IAD para el modelo de 1 capa considerando 100,000 fotones y la tabla 19 para el modelo de 3 capas aplicando el mismo número de fotones en el cálculo.

100,000 fotones						
	622-626 nm			975 nm		
	MCML	IAD	% error	MCML	IAD	% error
V1(H)	0.3882	0.3913	0.81	0.3269	0.3268	0.04
V2(H)	0.3824	0.3837	0.34	0.3062	0.3075	0.40
V3(H)	0.3440	0.3473	0.97	0.3040	0.3057	0.54
V4(H)	0.3148	0.3160	0.38	0.3128	0.3138	0.31
V5(M)	0.2697	0.2720	0.86	0.2943	0.2952	0.31
V6(M)	0.3076	0.3097	0.70	0.2983	0.2994	0.37

Tabla 18. Error porcentual de reflectancia difusa en modelo de 1 capa.

100,000 fotones						
	622-626 nm			975 nm		
	MCML	IAD	% error	MCML	IAD	% error
V1(H)	0.3881	0.3913	0.83	0.3226	0.3268	1.29
V2(H)	0.3875	0.3837	0.99	0.3044	0.3075	1.00
V3(H)	0.3412	0.3473	1.75	0.3005	0.3057	1.70
V4(H)	0.3104	0.3160	1.75	0.3087	0.3138	1.64
V5(M)	0.2652	0.2720	2.51	0.2882	0.2952	2.38
V6(M)	0.3037	0.3097	1.96	0.2941	0.2994	1.79

Tabla 19. Error porcentual de reflectancia difusa en modelo de 3 capas.

Se realizó un análisis de convergencia para el voluntario V2(H) incrementando el número de fotones empleados en el cálculo de Monte Carlo y se observó que al considerar una mayor cantidad de fotones se alcanza una mayor precisión, como se muestra en la tabla 20 tanto para el modelo de 1 como el de 3 capas.

MCML – V2(H)						
No. Capas	Longitud de onda	No. Fotones	Tiempo (s)	Reflectancia MCML	Reflectancia IAD	% error
3 capas	622 nm	1,000	0	0.37608	0.38368	2.02
		10,000	2	0.38950	0.38368	1.49
		100,000	16	0.38749	0.38368	0.98
		1,000,000	160	0.38638	0.38368	0.70
		2,000,000	322	0.38599	0.38368	0.60
	975 nm	1,000	0	0.31599	0.30746	2.70
		10,000	1	0.30260	0.30746	1.60
		100,000	15	0.30219	0.30746	1.74
		1,000,000	150	0.30281	0.30746	1.54
		2,000,000	1642	0.30302	0.30746	1.47
1 capa	622 nm	1,000	0	0.38689	0.38368	0.83
		10,000	2	0.38096	0.38368	0.71
		100,000	15	0.38236	0.38368	0.34
		1,000,000	154	0.38220	0.38368	0.39
		2,000,000	309	0.38227	0.38368	0.37
	975 nm	1,000	0	0.30176	0.30746	1.89
		10,000	2	0.30514	0.30746	0.76
		100,000	21	0.30642	0.30746	0.34
		1,000,000	210	0.30583	0.30746	0.53

		2,000,000	418	0.30594	0.30746	0.50
--	--	-----------	-----	---------	---------	------

Tabla 20. Error porcentual obtenido incrementando el número de fotones en el cálculo con MCML.

En las gráficas de la figura 48 se presentan los valores de reflectancia difusa obtenidos por los métodos de IAD y MCML variando el número de fotones, se observa que el modelo de 1 capa tiende a converger con un menor número de fotones, debido a que no presenta las variaciones en los índices de refracción de las interfaces que el modelo de 3 capas presenta.

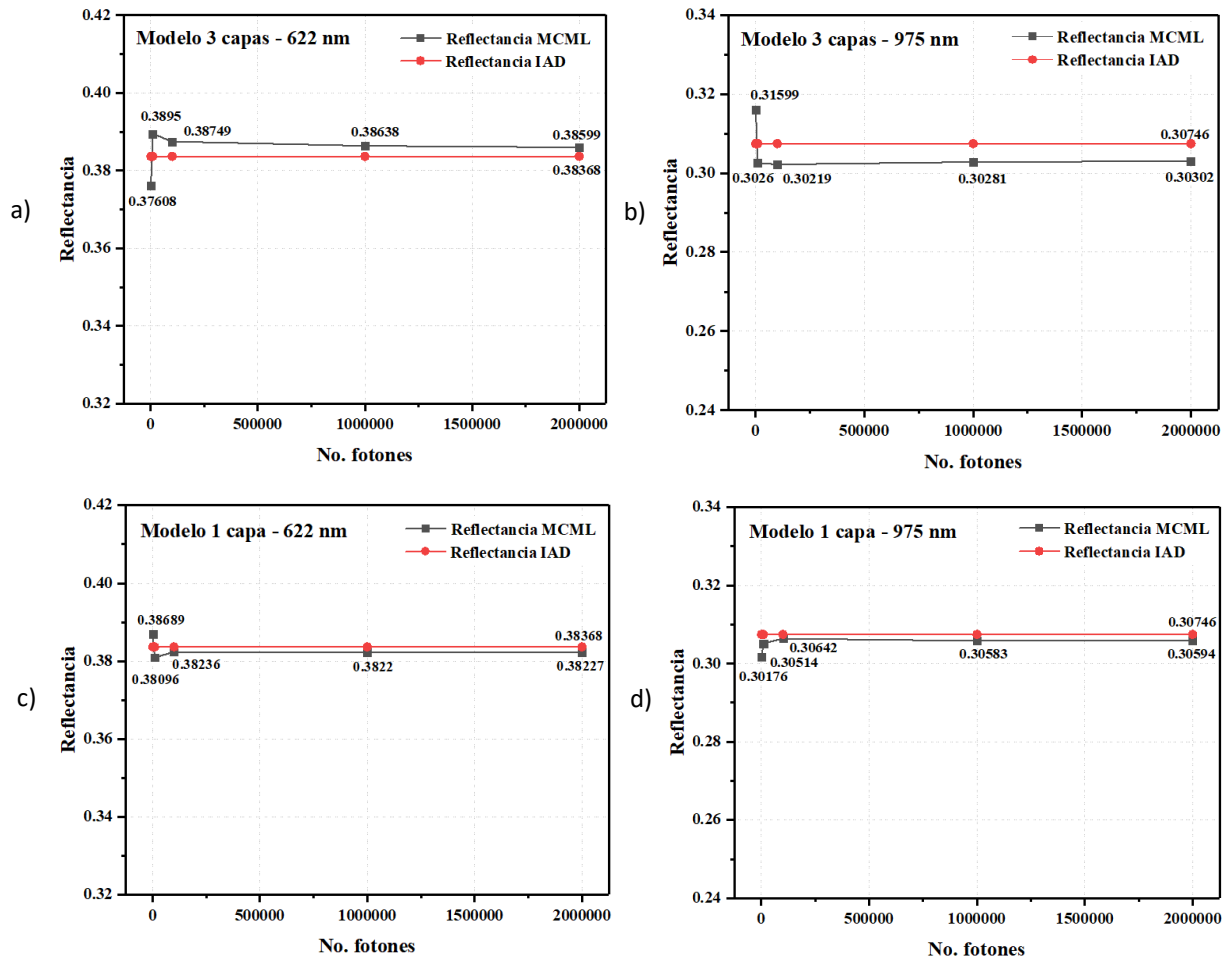


Figura 48. Gráficas de convergencia de reflectancia difusa del voluntario V2(H) para: a) modelo 3 capas – 622 nm, b) modelo 3 capas – 975 nm, c) modelo 1 capa – 622 nm y d) modelo 1 capa – 975 nm.

En el análisis realizado para comparar los valores de reflectancia difusa obtenidos por IAD y MCML se presentó un error máximo de 2.51% en el modelo de 3 capas, entre los 6 voluntarios evaluados, empleando 100,000 fotones para el cálculo. Se considera que este resultado indica un buen porcentaje, puesto que según Prahl un error del 3% o menos se considera aceptable al aplicar la técnica de IAD [77]. Por otra parte, Hamdy et al. [116] realizaron un estudio para estimar propiedades ópticas aplicando el método de Kubelka-Munk y posteriormente compararon sus valores de reflectancia difusa obtenidos con el método de Monte Carlo obteniendo un porcentaje de error mínimo de 4.12% para una

longitud de onda de 660 nm. Los porcentajes de error obtenidos en este trabajo presentan un menor grado de variación por lo que se consideran aceptables.

5.4 Diseño de dispositivo de medición portátil

Como parte de este trabajo de tesis se realizó el diseño de un dispositivo de esfera integradora. El objetivo de este dispositivo es permitir que las mediciones puedan ser realizadas de forma portátil, favoreciendo el acceso a diferentes partes del cuerpo y ampliando las zonas de medición. Esto facilitará también su uso en aplicaciones clínicas donde se requiere de técnicas que sean rápidas de evaluar, no invasivas y fáciles de aplicar. La figura 49 muestra el prototipo de esfera integradora para medición portátil.

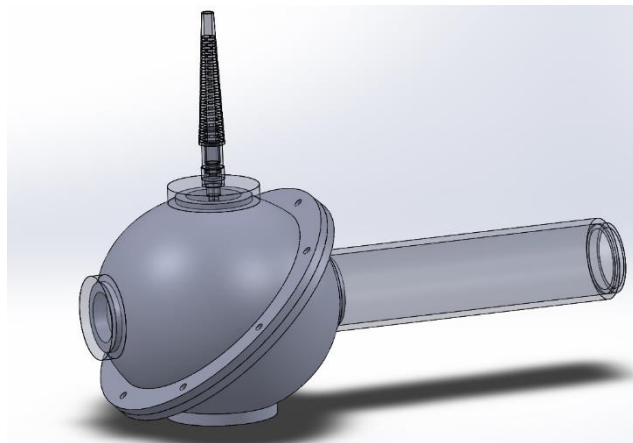


Figura 49. Prototipo de dispositivo de medición portátil.

5.5 Resumen del capítulo

En este capítulo se definieron los detalles del procedimiento de medición y también se revisaron los resultados de las mediciones de reflectancia difusa con el arreglo experimental de esfera integradora en conjunto con una prueba de oclusión vascular. Se presentaron los coeficientes de absorción obtenidos para un grupo de voluntarios, donde se observó que al incrementar la presión aplicada en el esfigmomanómetro se cambia el patrón de doble pico del espectro de absorción de la HbO_2 por el patrón de un solo pico del espectro de la Hb . Se realizó un análisis por componentes principales donde se observó que los cromóforos correspondientes a HbO_2 , Hb y melanina son los que tienen un mayor porcentaje de varianza del total de la absorción. En la implementación del algoritmo desarrollado para medir la StO_2 se obtuvieron resultados que demuestran que al incrementar continuamente la presión aplicada, la StO_2 disminuye progresivamente. Si bien en los grupos de segmentación por género y edad no se observó un comportamiento característico, para la segmentación por nivel de presión arterial sistólica se observó que en los voluntarios que tenían una presión menor, la caída de la StO_2 fue más marcada. Del estudio de repetibilidad desarrollado se obtuvo un valor de 0.947 que indica un grado muy bueno de confiabilidad. Los valores de StO_2 obtenidos mostraron conformidad con lo reportado por Tseng et al.,

quienes indicaron que para la región de 600 a 1000 nm la StO_2 se encuentra entre 97 y 99%. También se realizó un análisis comparativo con la técnica de Monte Carlo que mostró un porcentaje de error máximo de 2.51% en un modelo de 3 capas, de donde se consideran aceptables errores de 3% o menos en aplicaciones de IAD.

CONCLUSIONES

La diabetes mellitus es una enfermedad que presenta una tasa de crecimiento elevada en la actualidad y en muchos de los casos deriva en síndrome de pie diabético. Esta patología es causada principalmente por la enfermedad vascular periférica, ya que genera estrechamiento en los vasos sanguíneos y por lo tanto reduce la irrigación sanguínea a los miembros. Los métodos más utilizados en las consultas de seguimiento para evaluar a pacientes con riesgo a padecer pie diabético son el monofilamento de Semmes Weinstein y el índice tobillo braquial (ITB), aunque dichos métodos son sencillos de aplicar el monofilamento suele ser una prueba muy subjetiva para definir la pérdida de sensación y el ITB puede dar resultados poco fiables en valores por encima de 1.3 debido a la calcificación arterial y a la no compresibilidad de las arterias afectadas. Por otro lado, actualmente los métodos ópticos han sido ampliamente estudiados para aplicaciones de diagnóstico médico debido a su naturaleza no invasiva y su facilidad de aplicación. Aunque la mayoría de los estudios se centran en la implementación de la tecnología de espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS), esta presenta ciertas desventajas como el posicionamiento de las sondas ópticas y la separación entre emisor-receptor, ya que esta distancia de separación influye en la profundidad de penetración del haz de luz. Por lo tanto, se requiere de una técnica que pueda ser capaz de proporcionar una evaluación objetiva y cuantificable.

En el presente trabajo de tesis se desarrolló una técnica de medición de saturación de oxígeno tisular (StO_2) con el objetivo de monitorear los cambios microcirculatorios en pacientes con riesgo de padecer pie diabético. La técnica desarrollada emplea una esfera integradora como dispositivo de medición, la cual tiene una superficie interna altamente reflectante que permite distribuir homogéneamente la luz y conservar su potencia total. Por su forma geométrica reduce los problemas de posicionamiento y separación de sondas ópticas, por lo que constituye un método de medición portable y flexible en aplicación. El procedimiento desarrollado implica la medición de los espectros de reflectancia difusa de la piel y la aplicación del algoritmo Inverse Adding Doubling (IAD) para la obtención de los coeficientes de absorción con los que se obtiene la StO_2 . Se desarrolló el programa computacional "OTOS: Obtaining tissue oxygen saturation" para automatizar la metodología implementada y de esta manera facilitar su uso en aplicaciones clínicas.

Se aplicó el programa desarrollado OTOS en conjunto con una prueba de oclusión vascular para evaluar los cambios en la StO_2 de un grupo de voluntarios. La prueba de oclusión consistió en colocar un esfigmomanómetro en el brazo izquierdo de los voluntarios y aumentar la presión progresivamente a 0, 60, 80 y 100 mmHg mientras que se realizaron mediciones de los coeficientes de absorción en la palma de la mano izquierda. Los resultados obtenidos mostraron el comportamiento esperado de acuerdo con la información reportada en la literatura, esto es que al incrementar la presión aplicada en el brazo disminuyó también la StO_2 en un promedio de 95.69, 94.78, 92.45 y 91.46%

respectivamente. Se observó que los voluntarios con presiones sistólicas menores presentaron una caída mayor en la StO_2 , puesto que la presión aplicada de 100 mmHg se encontraba por encima de la presión arterial sistólica en algunos de los voluntarios. También se observó en la medición de los espectros de absorción que al incrementar la presión aplicada el patrón de doble pico característico de la hemoglobina oxigenada se sustituye por el patrón de un solo pico que caracteriza a la hemoglobina desoxigenada, este comportamiento indica que la sangre se comienza a desoxigenar y por lo tanto incrementa el coeficiente de absorción medido.

Se desarrolló un análisis por componentes principales en el que se observó que la hemoglobina oxigenada, desoxigenada y la melanina son los cromóforos más significativos del espectro de absorción en el intervalo de longitudes de onda en estudio. Sin embargo, el algoritmo desarrollado es capaz de eliminar el efecto de la melanina a través de correlacionar la pendiente del espectro de absorción en el intervalo de 630 a 700 nm con el contenido de melanina, por lo tanto el valor de StO_2 obtenido no depende del tipo de piel de la persona sobre la que se efectúa la medición.

La validación de los resultados obtenidos en comparación con valores tomados de la literatura se dificulta debido a que no existe un estándar definido y que los estudios realizados informaron diferentes resultados respecto a las zonas de medición, la separación entre las sondas ópticas y los algoritmos utilizados. Sin embargo nuestros resultados mostraron concordancia con los reportados por Tseng, donde realizaron mediciones de reflectancia difusa con luz visible e infrarroja cercana y determinaron 2 regiones para obtener la StO_2 . La región entre 500 y 600 nm proporciona valores de saturación entre 60 y 70% puesto que la profundidad de penetración es menor y las mediciones corresponden a los vasos sanguíneos de la dermis superior, en tanto que la región de 600 a 1000 nm proporciona valores de saturación de 97 a 99% al abarcar una mayor profundidad de medición en la zona de la dermis inferior. También fue evaluada la repetibilidad de las mediciones realizando el mismo procedimiento de medición se obtuvo un valor de coeficiente de correlación intraclase de 0.947 que indica un alto grado de confiabilidad.

De los resultados obtenidos podemos concluir que el método propuesto cumple las características necesarias para ser considerado como una técnica de obtención de StO_2 , ya que puede ser aplicable in vivo, de forma no invasiva, requiere un menor tiempo de evaluación y es capaz de proporcionar una evaluación objetiva y cuantificable. Para pacientes con riesgo a desarrollar pie diabético el método propuesto puede ayudar a cuantificar la disminución de la StO_2 como indicativo de la reducción en el flujo sanguíneo de los miembros durante las consultas de seguimiento.

Trabajo a futuro

Para la siguiente etapa de este trabajo de tesis se tiene contemplada la implementación del dispositivo portátil diseñado para aplicar la técnica en la práctica clínica, además este dispositivo tiene la ventaja de cambiar el tamaño del puerto y así poder medir zonas más pequeñas permitiendo la aplicación de la técnica a otros posibles padecimientos.

Otro punto es trabajar en la aplicación de la técnica en pacientes con pie diabético para establecer mediciones de sensibilidad que se refiere a la probabilidad de que el resultado de la medición sea positivo si el paciente realmente presenta la enfermedad y de especificidad que se refiere a la probabilidad de que los resultados sean negativos si el paciente no tiene la enfermedad.

Como parte del trabajo futuro se puede considerar la aplicación de la técnica en pacientes con otro tipo de patologías en las que también se ve comprometida la oxigenación tisular, como es el caso de tumoración o sepsis. La aplicación de la técnica también puede ser enfocada a evaluar diferentes tipos de tejidos y zonas de medición para establecer parámetros de estandarización.

APÉNDICES

Apéndice A. Método Adding Doubling

El método de Adding Doubling se aplica realizando las siguientes suposiciones: la reflexión en los límites está gobernada por la ley de Fresnel, la distribución de luz es independiente del tiempo, la geometría de las muestras es una lámina de caras plano-paralelas de espesor finito, las muestras tienen propiedades ópticas homogéneas e índice de refracción uniforme y la luz no está polarizada [A1].

Un haz de luz incidente en un ángulo v se reflejará o transmitirá en diferentes cantidades de luz dependiendo del ángulo de salida, suponiendo las funciones de reflexión $R(v', v)$ y de transmisión $T(v', v)$. La función de reflexión $R(v', v)$ se define como la radiación reflejada por una muestra en la dirección v para la luz incidente desde la dirección v' (ver figura 1). La función de reflexión se normaliza para un flujo difuso incidente y la función de transmisión se define de manera similar.

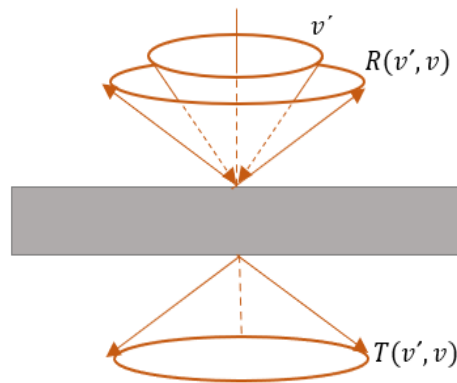


Figura 1. Luz incidente a un ángulo v' que es reflejada y transmitida por una lámina de caras plano-paralelas a un ángulo v (imagen tomada y adaptada de [A1]).

Con la definición de la función de reflexión establecida, se puede calcular la distribución de intensidad reflejada I_{ref} para una intensidad incidente independiente I_{in} de la siguiente manera:

$$I_{ref}(v) = \int_0^1 I_{in}(v') R(v', v) 2v' dv' \quad (a1)$$

A partir de $R(v', v)$ y $T(v', v)$ se puede calcular la reflectancia R_c y transmitancia T_c a radiación incidente colimada:

$$R_c = \int_0^1 R(1, v) 2v dv, \quad (a2)$$

$$T_c = \int_0^1 T(1, v) 2v dv, \quad (a3)$$

así como la reflectancia R_d y transmitancia T_d a radiación incidente difusa:

$$R_d = \int_0^1 \int_0^1 R(v', v) 2v' dv' 2v dv \quad (a4)$$

$$T_d = \int_0^1 \int_0^1 T(v', v) 2v' dv' 2v dv \quad (a5)$$

El método Adding Doubling consiste en la integración numérica de las funciones de reflexión y transmisión, por lo que las integrales de las ecuaciones a2-a5 pueden aproximarse usando cuadratura. Los métodos de cuadratura que se pueden emplear son: Gaussiana, Lobatto y Radau. El método seleccionado depende del intervalo de integración, así como de las condiciones de frontera [A1].

$$\int_0^1 f(v, v') dv' = \sum_{i=1}^N f(x_i) w_i \quad (a6)$$

Los valores de los puntos de cuadratura x_i y los pesos o coeficientes ponderados w_i se seleccionan de forma que la integración corresponda a un polinomio de orden $2N - 1$ (o posiblemente $2N - 2$ en función del método de cuadratura), N representa los puntos de cuadratura.

Con lo visto anteriormente, la ecuación a2 puede ser expresada de la siguiente manera:

$$R_c = \int_0^1 R(1, v) 2v dv \approx \sum_{i=1}^N 2v_i w_i R_{iN} \quad (a7)$$

Considerando una integral con dos funciones arbitrarias, ésta puede ser expresada como:

$$\int_0^1 A(v, v') B(v', v'') 2v' dv' \approx \sum_{j=1}^N A_{ij} 2v_j w_j B_{jk} \quad (a8)$$

Se muestra explícitamente una relación entre integración numérica y multiplicación matricial, en la que debe incluirse el factor $2v_j w_j$

$$AB_{ij} \equiv \sum_{j=1}^N A_{ij} 2v_j w_j B_{jk} \approx \int_0^1 A(v, v') B(v', v'') 2v' dv' \quad (a9)$$

Por lo que se emplea la matriz identidad E para la multiplicación de matrices de este tipo:

$$E_{ij} = \frac{1}{2v_i w_i} \delta_{ij} \quad (a10)$$

donde δ_{ij} es la función delta de Kronecker (toma valor de 0 cuando $i = j$ y 1 cuando $i \neq j$), v_i corresponde al ángulo de incidencia y w_i al peso que permite minimizar el error en las integrales para el método de cuadratura.

De la aproximación matricial de las funciones de reflexión y transmisión para un conjunto de ángulos elegidos de acuerdo con el método de cuadratura, se pueden definir R^{nm} y T^{nm} como los operadores de reflexión y transmisión para luz incidente en la frontera n que se mueve hacia la frontera m de una lámina [A1].

Para obtener la reflexión y la transmisión de una lámina arbitraria se calcula primero la reflexión y transmisión de una lámina delgada inicial con las mismas propiedades ópticas y se duplica sucesivamente hasta alcanzar el espesor deseado. La reflexión y la transmisión de una muestra dos veces más gruesa se encuentra por yuxtaposición de dos láminas idénticas sumando las contribuciones de reflexión y transmisión de cada una [A2].

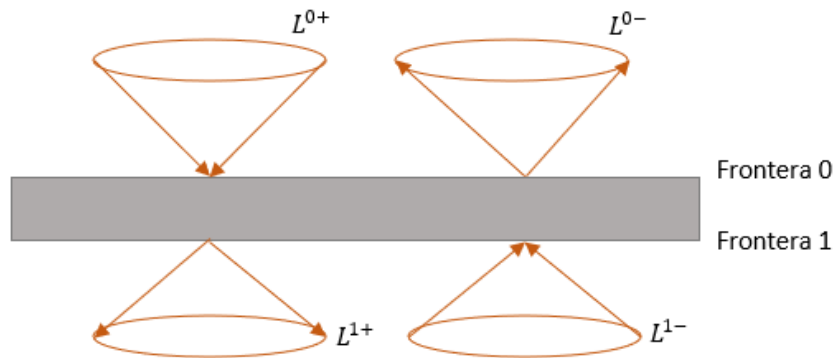


Figura 2. Esquema para derivación de las ecuaciones de Adding-Doubling (imagen tomada y adaptada de [A1]).

De acuerdo con la figura 2, se tiene una capa inicial en donde el vector L^{0+} es la radiancia incidente en la frontera 0 de la capa 01 en la dirección descendente (signo positivo) y el vector L^{1-} es la radiancia incidente en la frontera 1 de la capa 01 con dirección ascendente (signo negativo). De igual forma L^{0-} y L^{1+} son las radiancias en las fronteras 0 y 1 respectivamente, con sus direcciones correspondientes.

Las ecuaciones que permiten calcular los operadores de transmisión y reflexión de capas yuxtapuestas se pueden determinar aplicando el siguiente razonamiento: La radiancia descendente L^{1+} en la frontera 1 es la suma de la radiancia incidente transmitida desde la frontera 0 más la radiancia reflejada por la frontera 1

$$L^{1+} = T^{01}L^{0+} + R^{10}L^{1-} \quad (a11)$$

La radiancia ascendente L^{0-} de la frontera 0 es la suma de la radiancia transmitida de la frontera 1 más la radiancia reflejada por la frontera 0

$$L^{0-} = R^{01}L^{0+} + T^{10}L^{1-} \quad (a12)$$

Se aplican ecuaciones análogas para una capa con fronteras 1 y 2

$$L^{2+} = T^{12}L^{1+} + R^{21}L^{2-} \quad (a13)$$

$$L^{1-} = R^{12}L^{1+} + T^{21}L^{2-} \quad (a14)$$

La yuxtaposición de las capas 01 y 12 nos proporciona la capa 02, cuyas ecuaciones son

$$L^{2+} = T^{02}L^{0+} + R^{20}L^{2-} \quad (a15)$$

$$L^{0-} = R^{02}L^{0+} + T^{20}L^{2-} \quad (a16)$$

Empleando las ecuaciones anteriores, podemos obtener la transmitancia y reflectancia de una capa compuesta en términos de las capas individuales

$$T^{02} = T^{12}(E - R^{10}R^{12})^{-1}T^{01} \quad (a17)$$

$$R^{20} = T^{12}(E - R^{10}R^{12})^{-1}R^{10}T^{21} + R^{21} \quad (a18)$$

$$T^{20} = T^{10}(E - R^{12}R^{10})^{-1}T^{21} \quad (a19)$$

$$R^{02} = T^{10}(E - R^{12}R^{10})^{-1}R^{12}T^{01} + R^{01} \quad (a20)$$

Las ecuaciones a17-a20 definen los operadores de reflexión y transmisión para una capa combinada (T^{02} , R^{20} , T^{20} y R^{02}) en términos de los operadores para cada capa individual, considerando E como la matriz identidad correspondiente a la ecuación a10. Mediante el uso repetido de estas ecuaciones, podemos obtener la reflexión y transmisión de una muestra de espesor arbitrario.

La implementación del método Adding Doubling para el cálculo de la reflexión y transmisión en un medio con diferente índice de refracción consta de los siguientes pasos:

- a) Seleccionar el método de cuadratura.
- b) Generar capa inicial.
- c) Generar capas límite.
- d) Duplicación de capa inicial hasta alcanzar el espesor deseado.
- e) Agregar capas límite.
- f) Calcular la reflexión y la transmisión.

La mayoría de las integraciones que se utilizan en el método Adding Doubling se localizan en un intervalo de 0 a 1 ya que el ángulo varía de 0 a $\pi/2$, por lo tanto el coseno varía de 0

a 1. Las integrales se calculan usando la cuadratura numérica, y los ángulos de cuadratura están optimizados para este intervalo. Se debe incluir la reflexión interna en los límites añadiendo en el cálculo una capa adicional para cada límite cuando se tienen índices de refracción diferentes. La reflexión y transmisión de la capa límite son 1 y 0, para la luz incidente en ángulos superiores al ángulo crítico v_c de la reflexión total interna. Si la luz incidente supera el ángulo crítico v_c , entonces el intervalo efectivo de integración se reduce de v_c a 1. Para mantener la precisión de la integración, la integral se divide en dos partes y cada una es evaluada por la cuadratura sobre el subintervalo específico:

$$\int_0^1 A(v, v')B(v', v'')2v' dv' = \int_0^{v_c} A(v, v')B(v', v'')2v' dv' + \int_{v_c}^1 A(v, v')B(v', v'')2v' dv' \quad (a21)$$

$A(v, v')$ y $B(v', v'')$ representan las funciones de reflexión o transmisión y si una es igual a 0 para valores de v menores a v_c , el intervalo de integración se reduce. Se utiliza cuadratura Gaussiana para el intervalo de 0 a v_c , evitando así los cálculos en ambos extremos (particularmente el ángulo $v = 0$, que puede causar división por cero). La cuadratura de Radau se utiliza para el intervalo de v_c a 1, por lo que un ángulo de cuadratura $v = 1$ se puede especificar como un punto de cuadratura [A1]. Como la irradiancia normal corresponde a $v = 1$, si este ángulo se especifica entonces la interpolación entre los puntos de cuadratura no es necesaria, eliminando así esta fuente importante de error. Cada parte del intervalo de integración obtiene la mitad de los puntos de cuadratura; cuando no existe un ángulo crítico v_c , la cuadratura Radau se utiliza en todo el intervalo.

La cuadratura de Radau requiere encontrar las raíces (x_1, x_2, \dots, x_n) del polinomio de Legendre:

$$P_{n-1}(x_i) + \frac{x_i - 1}{n} P'_{n-1}(x_i) = 0 \quad (a22)$$

donde $P_n(x)$ es el n -ésimo polinomio de Legendre y $P'_{n-1}(x_i)$ es la primera derivada del $(n - 1)$ -ésimo polinomio de Legendre. Estas raíces son los puntos de cuadratura requeridos para el intervalo de integración -1 a 1 . Para modificar el intervalo v_c a 1 , se necesitan las siguientes relaciones para encontrar los ángulos de integración necesarios v_i y pesos w_i :

$$v_i = \frac{1 + v_c}{2} - \frac{1 - v_c}{2} x_i \quad (a23)$$

$$w_i = \frac{1 - v_c}{2(1 - x_i)[P'_{n-1}(x_i)]^2} \quad (a24)$$

Los puntos de integración de la cuadratura Gaussiana para el intervalo -1 a 1 corresponden a las raíces de:

$$P_n(x_i) = 0 \quad (a25)$$

Se realiza el ajuste requerido para el intervalo de integración de 0 a v_c en los ángulos v_i y pesos w_i necesarios:

$$v_i = \frac{v_c}{2} (1 - x_i) \quad (a26)$$

$$w_i = \frac{v_c}{(1 - x_i^2)[P'_n(x_i)]^2} \quad (a27)$$

Entre los métodos empleados para inicializar Adding Doubling se encuentran la inicialización de diamante, generador infinitesimal y esparcimiento sucesivo. Dichos métodos se basan en determinar operadores de reflexión y transmisión para una capa inicial delgada. Wiscombe descubrió que la inicialización del diamante era mejor método por aproximadamente dos tercios de tiempo [A3]. El espesor óptico para las capas iniciales varía con el ángulo de cuadratura más pequeño, por lo que se debe satisfacer:

$$\Delta\tau^* < v_1 \quad (a28)$$

Para emplear la inicialización de diamante es necesario reescribir la Ecuación de Transferencia Radiativa en forma unidimensional, promediada azimutalmente e independiente del tiempo:

$$v \frac{\partial L(\tau, v)}{\partial \tau} + L(\tau, v) = \frac{a^*}{2} \int_{-1}^1 h(v, v') L(\tau, v') dv' \quad (a29)$$

Posteriormente se describe en su forma discreta como:

$$\pm v_i \frac{\partial L(\tau_i, \pm v_i)}{\partial \tau} + L(\tau, \pm v_i) = \frac{a^*}{2} \sum_{j=1}^M w_j [h(v_i, v_j) L(\tau, \pm v_j) + h(v_i, -v_j) L(\tau, \mp v_j)] \quad (a30)$$

Para una capa muy delgada, la ecuación a30 se puede integrar de τ_0^* a τ_1^* y se obtiene la radiancia integrada $L_{1/2}(v)$, que está dada por:

$$L_{\frac{1}{2}}(v) = \frac{1}{\Delta\tau^*} \int_{\tau_0^*}^{\tau_1^*} L(\tau, v) d\tau \quad (a31)$$

donde $\Delta\tau^* = \tau_1^* - \tau_0^*$. La inicialización de diamante supone que esta integral se puede reemplazar por un promedio de radiancias en los límites superior e inferior de la capa:

$$L_{\frac{1}{2}}(v) = \frac{1}{2} [L(\tau_0^*, v) + L(\tau_1^*, v)] \quad (a32)$$

Después de manipulaciones algebraicas adecuadas, se puede utilizar la ecuación a31 para expresar la reflexión y la transmisión de una capa delgada con un espesor $\Delta\tau^*$ cómo se expresa a continuación [A1]:

$$R_{\Delta\tau^*} = 2GB(\delta_{ij} + A)^{-1} \quad (a33)$$

$$T_{\Delta\tau^*} = 2G - \delta_{ij} \quad (a34)$$

A, B y G equivalen a:

$$A = \left[\frac{1}{v_i} \delta_{ij} \right] \left(\delta_{ij} - \frac{a^*}{2} h^{++} c \right) \frac{\Delta\tau^*}{2} \quad (a35)$$

$$B = \frac{a^*}{2} \left[\frac{1}{v_i} \delta_{ij} \right] h^{+-} c \frac{\Delta\tau^*}{2} \quad (a36)$$

$$G = \left[\delta_{ij} + A - B(\delta_{ij} + A)^{-1} B \right]^{-1} \quad (a37)$$

y c equivale a:

$$c = [w_i \delta_{ij}] \quad (a38)$$

h representa la función de redistribución que establece la cantidad de luz esparcida desde el cono de luz incidente con ángulo v_i hasta el ángulo v_j . Los signos representan la dirección de los ángulos v_i y v_j , el primer signo denota la dirección del ángulo incidente mientras que el segundo denota la dirección de la luz esparcida.

En Adding Doubling las condiciones de frontera se implementan agregando una capa adicional que incluye las condiciones de frontera necesarias. Las matrices de reflexión y transmisión para esta capa límite dependen de la física de la interacción de la luz en la interfaz. Si $r(v_i)$ es la función de reflexión de Fresnel para luz no polarizada que incide de un medio con índice de refracción n_{01} a un medio con índice de refracción n_{12} , la representación matricial de la reflexión es [A1]:

$$R_{01}(v_i, v_j) = \frac{r(v_i)}{2v_i} \delta_{ij} \quad (a39)$$

y la representación matricial de la transmisión es:

$$T_{01}(v_i, v_j) = \frac{1 - r(v_i)}{2v_i} \left(\frac{n_{12}}{n_{01}} \right)^2 \delta_{ij} \quad (a40)$$

El delta de Kronecker δ_{ij} permite que ambas matrices sean diagonales, lo que asegura que la luz se refleje de forma especular en un ángulo igual al ángulo de incidencia. El cuadrado de la relación de los índices de refracción explica la diferencia de la radiancia a través de un límite no coincidente. Finalmente, el factor de $2v_i$ asegura la conformidad con la definición original de la función de reflexión [A1].

Apéndice B. Código Fuente “OTOS: Obtaining tissue oxygen saturation”

El programa computacional “OTOS: Obtaining tissue oxygen saturation” incluye la siguiente metodología para la obtención de la saturación de oxígeno tisular (StO_2).

1. Lectura de espectrofotómetro
2. Llenado de parámetros para configuración de espectrofotómetro y propiedades de esfera integradora
3. Medición de R_0 y R_1 para región visible
4. Medición de R_R , cálculo de M_R y reflexión especular para región visible
5. Ejecución de IAD y obtención de μ_a para región visible
6. Ajuste lineal para intervalo de 630-700 nm
7. Obtención de ε_{HbO_2} y ε_{Hb}
8. Medición de R_0 y R_1 para región infrarroja
9. Medición de R_R , cálculo de M_R y reflexión especular para región infrarroja
10. Ejecución de IAD y obtención de μ_a para región infrarroja
11. Cálculo de concentraciones de Hb y HbO_2
12. Obtención de StO_2

La programación se realizó en Microsoft Visual Studio 2019 que emplea el lenguaje de programación de Visual Basic, la versión utilizada fue Microsoft .NET Framework 4. Para ejecutar el algoritmo se requiere de la instalación de Microsoft Visual Studio Community 2019 y también requiere agregar la referencia al OmniDriver, que es el conjunto de drivers y referencias que permiten comunicar el hardware con el programa. La referencia puede obtenerse accediendo al portal: <http://oceanoptics.com/support/software-downloads/#omnidriver> y seleccionando la versión del sistema operativo de su computadora. Al tener la instalación realizada se debe abrir la interfaz para agregar la referencia al OmniDriver en la ventana de Explorador de soluciones – Referencias – Agregar referencia - Examinar y seleccionar el archivo NETOmniDriver-NET40.dll de la carpeta OmniDriver\OOI_HOME en el directorio de Ocean Optics en Program Files

El código fuente del programa se encuentra disponible en el sitio online: <https://sites.google.com/site/bettymoralescr/otos-program>.

REFERENCIAS

- [1] World Health Organization, [Online] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- [2] G. G. Hernandez-Cardoso et al., "Terahertz imaging for early screening of diabetic foot syndrome: A proof of concept", *Scientific Reports*, pp. 1, 2017.
- [3] Mendoza-Romo et al., "Sensibilidad y especificidad de un modelo de utilidad para la detección de neuropatía diabética", *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.*, vol. 51(1), pp. 34-41, 2013.
- [4] Sánchez Ruiz et al., "Utilidad del índice tobillo-brazo en atención primaria", *Elsevier*, vol. 31(11), pp. 533-535, 2005.
- [5] Panez Gallardo, "Correlación de la prueba índice tobillo-brazo vs ecografía Doppler arterial en el diagnóstico de enfermedad arterial periférica en pacientes de la unidad de pie diabético", Thesis, Universidad Ricardo Palma Facultad de Medicina Humana, 2018.
- [6] Robert G. Frykberg et al., "Diabetic Foot Disorders: a clinical practice guideline", *The journal of foot & ankle surgery*, pp. 4-6, 2006.
- [7] Robert L Greenman et al., "Early changes in the skin microcirculation and muscle metabolism of the diabetic foot", *Lancet*, vol. 366, pp. 1715–1717, 2005.
- [8] Elisabeth S. Papazoglou et al., "Noninvasive assessment of diabetic foot ulcers with diffuse photon density wave methodology: pilot human study", *Journal of Biomedical Optics*, vol. 14(6), pp. 064032, 2009.
- [9] Joshua A. Samuels et al., "Diffuse Near Infrared Spectroscopy Assessment of Diabetic Foot Ulcers: A Human Study", *Biomedical Optics and 3D Imaging OSA*, 2012.
- [10] A. Godavarty et al., "Non-contact optical imaging of healing and non-healing diabetic foot ulcers", *Optical Biopsy XIII SPIE*, vol. 9318, pp. 931802, 2015.
- [11] Robert G. Frykberg et al., "Diabetic Foot Disorders: a clinical practice guideline", *The journal of foot & ankle surgery*, pp. 4-6, 2006.
- [12] Pardo Ríos, "La presión transcutánea de oxígeno como factor pronóstico en la angioplastia transluminal percutánea: una solución a las limitaciones del índice tobillo brazo", PhD Thesis, Instituto Universitario de Investigación en Envejecimiento de la Universidad de Murcia, 2013.
- [13] Jiménez et al., "Valor pronóstico de la TcPO₂ en la cicatrización de lesiones en pie diabético tras revascularización", *Elsevier*, vol. 67(6), pp. 476-482, 2015.

- [14] Leoniuk et al., "Doppler Ultrasound Detection of Preclinical Changes in Foot Arteries in Early Stage of Type 2 Diabetes", *Polish Journal of Radiology*, vol. 79, pp. 283-289, 2014
- [15] Kanoore et al., "Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock", *Crit Care Med.*, vol. 40(5), pp. 1443-1448, 2012.
- [16] Neubauer-Geryk et al., "Current methods for the assessment of skin microcirculation", *Postepy Dermatol Alergol.*, vol. 36(3), pp. 247-254, 2019.
- [17] De Backer et al., "Monitoring the microcirculation", *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, vol. 26, pp. 361-366, 2012.
- [18] Neubauer-Geryk et al., "Decreased reactivity of skin microcirculation in response to L-arginine in later-onset type 1 diabetes", *Diabetes Care*, vol. 36, pp. 950-956, 2013.
- [19] Rossi et al., "Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease", *Biomed Pharmacother*, vol. 58, pp. 427-431, 2004.
- [20] Rajan et al., "Review of methodological developments in laser doppler flowmetry", *Lasers Med Sci.*, vol. 24, pp. 269-283, 2009.
- [21] Roustit et al., "Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry", *Microvasc Research*, vol. 79, pp. 102-108, 2010.
- [22] Stücker et al., "Differences in the two-dimensionally measured laser Doppler flow at different skin localizations", *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.*, vol. 14, pp. 44-51, 2001.
- [23] Balbinot et al., "Plantar thermography is useful in the early diagnosis of diabetic neuropathy", *Clinics*, vol. 67, pp. 1419-1425, 2012.
- [24] Fife et al., "Transcutaneous oximetry in clinical practice: consensus statements from an expert panel based on evidence", *Undersea Hyperb Med.*, vol. 36, pp. 43-53, 2009.
- [25] Kleinert & Gupta, "Pulse volume recording", *Hand Clin.*, vol. 9, pp. 13-46, 1993.
- [26] Fujimoto et al., "Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy", *Neoplasia*, vol. 2, pp. 9-25, 2000.
- [27] Cerný et al., "Orthogonal polarization spectral imaging", *Physiol Res.*, vol. 56, pp. 141-147, 2007.
- [28] De Backer & Dubois, "Assessment of the microcirculatory flow in patients in the intensive care unit", *Curr Opin Crit Care.*, vol. 7, pp. 200-203, 2001.
- [29] Hartwig et al. "Assessment of microvascular function using near-infrared spectroscopic 2D imaging of whole hand combined with vascular occlusion test", *J Med Biol Engineering*, vol. 36, pp. 87-95, 2016.

- [30] Knotzer & Hasibeder, "Microcirculatory function monitoring at the bedside—a view from the intensive care", *Physiol Meas.*, vol. 28, pp. R65-86, 2007.
- [31] Nitzan et al., "The various oximetric techniques used for the evaluation of blood oxygenation", *Sensors.*, vol. 20, pp. 17, 2020.
- [32] Hafen & Sharma, "Oxygen Saturation", *StatPearls*, 2021.
- [33] Kyriacou et al., "Optical techniques for blood and tissue oxygenation", *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, vol. 3, pp. 461-472, 2019.
- [34] Bowes et al., "Pulse oximetry: a review of the theory, accuracy, and clinical applications", *Obstetrics & Gynecology*, vol. 74(3), pp. 541-546, 1989.
- [35] Bencomo et al., "Design and construction of a pulse oximeter", *Revista Ingeniería UC*, vol. 23(2), pp. 162-171, 2016.
- [36] Aoyagi, "Pulse oximetry: Its invention, theory, and future", *Journal of Anesthesia*, vol. 17, pp. 259-266, 2003.
- [37] Thijssen et al., "Facing SpO₂ and SaO₂ discrepancies in ICU patients: is the perfusion index helpful?", *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, vol. 34, pp. 693-698, 2020.
- [38] Kwon & Lee, "Utility of digital pulse oximetry in the screening of lower extremity arterial disease", *Journal Korean Surgical Society*, vol. 82, pp. 94-100, 2012.
- [39] Kyriacou, "Direct pulse oximetry within the esophagus, on the surface of abdominal viscera, and on free flaps", *Anesthesia & Analgesia*, vol. 117(4), pp. 824-833, 2013.
- [40] Sinex, "Pulse oximetry: Principles and limitations", *The American Journal of Emergency Medicine*, vol. 17(1), pp. 59-67, 1999.
- [41] Jubran, "Pulse oximetry", *Critical Care*, vol. 19, pp. 272, 2015.
- [42] Jobsis-vanderVliet et al., "Biochemical and physiological basis of medical near-infrared spectroscopy", *Journal of Biomedical Optics*, vol. 4(4), pp. 397-402, 1999.
- [43] Gruartmoner et al., "Saturación tisular de oxígeno en el paciente crítico", *Medicina Intensiva*, vol. 38, pp. 240-248, 2013.
- [44] Rolfe, "*In vivo* near-infrared spectroscopy", *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 2(1), pp. 715-754, 2000.
- [45] Ferrari & Quaresima, "Near infrared brain and muscle oximetry: From the discovery to current applications", *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, vol. 20(1), pp. 1-14, 2012.

- [46] Abay & Kyriacou, "Comparison of NIRS, laser Doppler flowmetry, photoplethysmography, and pulse oximetry during vascular occlusion challenges", *Physiological Measurement*, vol. 37(4), pp. 503, 2016.
- [47] Hamaoka et al., "The use of muscle near-infrared spectroscopy in sport, health and medical sciences: Recent developments", *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, vol. 369(1955), pp. 4591-4604, 2011.
- [48] Scheeren et al., "Monitoring tissue oxygenation by near infrared spectroscopy (NIRS): Background and current applications", *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, vol. 26(4), pp. 279-287, 2012.
- [49] Buise et al., "Reflectance spectrophotometry and tissue oxygenation in experimental and clinical practice", *Intensive Care and Emergency Medicine*, pp. 553-563, 2003.
- [50] Wallace et al., "Reflectance spectroscopy", *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, vol. 19(2), pp. 233-242, 2009.
- [51] Benaron et al., "Continuous, noninvasive, and localized microvascular tissue oximetry using visible light spectroscopy", *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, vol. 100(6), pp. 1469-1475, 2004.
- [52] Fox et al., "White light spectroscopy for free flap monitoring", *Microsurgery*, vol. 33(3), pp. 198-202, 2013.
- [53] van Beest et al., "Clinical review: Use of venous oxygen saturations as a goal - a yet unfinished puzzle", *Critical care*, vol. 15, pp. 232, 2011.
- [54] Tortora & Derrickson, "Principios de Anatomía y Fisiología", Editorial médica panamericana, 11° ed.
- [55] Anderson & Parrish, "The optics of human skin", *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 77(1), pp. 13, 1981.
- [56] Atencio Delgado, "Análisis de la Piel Humana Mediante Espectroscopía de Reflexión Difusa", PhD Thesis, INAOE, 2007.
- [57] Nouri, "Skin Cancer", Mc. Graw Hill Medical, 2008.
- [58] Hecht, "Optics", Addison-Wesley, 4° ed., 2002.
- [59] Vo-Dinh, "Biomedical Photonics Handbook", Illustrate CRC Press, 2003.
- [60] Lu & Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review", *Journal of Biomedical Optics*, vol. 19(1), pp. 10901, 2014.
- [61] Ti & Lin, "Effects of probe contact pressure on in vivo optical spectroscopy", *Optics Express*, vol. 16, pp. 4250-4262, 2008.

- [62] Tuchin, "Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis", SPIE Press, 3^o ed., 2015.
- [63] Karsten et al., "Diffuse reflectance spectroscopy as a tool to measure the absorption coefficient in skin: system calibration", *Lasers in Medical Science*, vol. 28(2), pp. 437-444, 2013.
- [64] Welch et al., "Optical-Thermal Response of Laser Irradiated Tissue, Springer Science + Business Media, 1995.
- [65] Campoy et al., "Estudio del comportamiento óptico de pieles utilizando técnicas de Monte Carlo", *Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería*, vol. 31(3), pp. 161-170, 2015.
- [66] Mobley & Vo-Dinh, "Chapter 2 Optical Properties of tissue", *Biomedical Photonics Handbook*, CRC Press, 2003.
- [67] Jacques, "Corrigendum: Optical properties of biological tissues: a review", *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, pp. 5007-5008, 2013.
- [68] Jacques & PrahI, "ECE532 Biomedical Optics", Oregon Graduate Institute, 1998, <http://omlc.org/classroom/ece532/class3/index.html>.
- [69] Orozco Guillén, "Estudio de lesiones en piel mediante espectroscopía de reflexión difusa", PhD Thesis, INAOE, 2009.
- [70] Wang & Wu, "Biomedical optics: principles and imaging", Illustrate John Wiley & Sons, 2012.
- [71] Henyey & Greenstein, "Diffuse radiation in the galaxy", *J. Astrophys*, vol. 93, pp. 70, 1941.
- [72] PrahI, "Light transport in tissue", PhD Thesis, University of Texas at Austin, 1988.
- [73] Morales Cruzado, "Diagnósticos médicos no-invasivos usando radiación electromagnética", PhD Thesis, INAOE, 2012.
- [74] PrahI et al., "Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method", *Applied Optics*, vol. 32, pp. 559-568, 1993.
- [75] Ishimaru, "Wave Propagation and Scattering in Random Media", IEEE/OUP Series on Electromagnetic Wave Theory, Academic Press & Oxford University, 1997.
- [76] Markolf, "Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications", Springer, 4^o ed., 2019.
- [77] D. A. Boas, C. Pitris & N. Ramanujam, "Handbook of Biomedical Optics", CRC Press, 2011.

- [78] J. A. Nelder & R. Mead, "A Simplex Method for Function Minimization," *The Computer Journal*, vol. 7(4), pp. 308-313, 1965.
- [79] S. Prahl, "Everything I think you should know about Inverse Adding-Doubling", 2011.
- [80] B. Quistián, "Propiedades ópticas de piel humana *in vivo* como herramienta en tratamientos de cáncer", Thesis, UASLP, 2018.
- [81] Ocean Optics, "USB4000 Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual", 2008.
- [82] Ocean Optics, "Omni Driver Programming Guide", 2010.
- [83] W. Tomasi, "Sistemas de Comunicaciones Electrónicas", Pearson Educación, 4° edición, 2003.
- [84] Newport Corporation, "819C Spectraflex Integrating spheres", 2021, [Online] <https://www.newport.com/f/819c-spectraflex-integrating-spheres>
- [85] A. ul Rehman et al., "Biomedical Applications of Integrating Sphere: A Review", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 31, pp. 1-11, 2020.
- [86] Ocean insight, "Fuente luminosa con lámpara de tungsteno halógena HL-2000", 2021, [Online] <https://www.directindustry.es/prod/ocean-insight/product-18485-989491.html>
- [87] B&W Tek a Metrohm Group Company, "BWF1", 2021, [Online] <https://bwtek.com/products/bwf1/>
- [88] S. Prahl, "Optical Absorption of Hemoglobin", [Online] <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>
- [89] Murkin et al., "Near-infrared spectroscopy as an index of brain and tissue oxygenation", *British Journal of Anaesthesia*, vol. 103, pp. i3-i13, 2009.
- [90] S. Kim & S. Jeong, "Effects of temperature-dependent optical properties on the fluence rate and temperature of biological tissue during low-level laser therapy", *Lasers Med Sci*, Springer, 2013.
- [91] A. Rehman et al., "Optical properties measurement of highly diffusive tissue phantoms for biomedical applications", *Lasers Physics*, vol. 25, pp. 025605, 2015.
- [92] E. Kara et al., "Monitoring system for investigating the effect of temperature change on optical properties", *Lasers in Medical Science*, vol. 33, pp. 1763-1768, 2018.
- [93] Ma et al., "Bulk optical parameters of porcine skin dermis at eight wavelengths from 325 to 1557 nm", *Optics Letters*, vol. 30, pp. 413, 2005.
- [94] Kollias & Baqer, "Spectroscopic characteristics of human melanin *in vivo*", *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 85, pp. 38-42, 1985.

- [95] Stamatas et al., "In vivo measurement of skin erythema and pigmentation: new means of implementation of diffuse reflectance spectroscopy with a commercial instrument", *British Journal of Dermatology*, vol. 159, pp. 683-690, 2008.
- [96] Microsoft, "StreamReader Clase", 2021 [Online] <https://docs.microsoft.com/es-es/dotnet/api/system.io.streamreader?redirectedfrom=MSDN&view=net-6.0>
- [97] D. Wang et al., "Simultaneous in vivo measurements of the total hemoglobin, oxygen saturation, and tissue blood flow via hybrid near-infrared diffuse optical techniques", *AIP Advances*, vol. 9, pp. 065306, 2019.
- [98] A. Donati et al., "Near-infrared spectroscopy for assessing tissue oxygenation and microvascular reactivity in critically ill patients: a prospective observational study", *Critical Care*, vol. 20:311, pp. 1-10, 2016.
- [99] R. Bezemer et al., "Assessment of tissue oxygen saturation during a vascular occlusion test using near-infrared spectroscopy: the role of probe spacing and measurement site studied in healthy volunteers", *Critical Care*, vol. 13(5), pp. 1-7, 2009.
- [100] G. Gruartmoner et al., "Saturación tisular de oxígeno en el paciente crítico", *Medicina Intensiva*, vol. 38(4), pp. 240-248, 2014.
- [101] J. Mesquida et al., "Skeletal Muscle Oxygen Saturation (StO₂) Measured by Near-Infrared Spectroscopy in the Critically Ill Patients", *BioMed Research International*, vol. 2013, pp. 1-8, 2013.
- [102] Wayne W. Daniel, "Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud", Limusa Wiley, 4ta edición.
- [103] T. Abay & P. Kyriacou, "Comparison of NIRS, laser Doppler flowmetry, photoplethysmography, and pulse oximetry during vascular occlusion challenges", *Physiological Measurement*, vol. 37(4), pp. 1-12, 2016.
- [104] V. Hartwig et al., "Assessment of Microvascular Function Using Near-Infrared Spectroscopic 2D Imaging of Whole Hand Combined with Vascular Occlusion Test", *J. Med. Biol. Eng.*, pp. 1-9, 2016.
- [105] Boezeman et al., "In vivo measurements of regional hemoglobin oxygen saturation values and limb-to-arm ratios of near-infrared spectroscopy for tissue oxygenation monitoring of lower extremities in healthy subjects", *Medical Devices: Evidence and Research*, vol. 8, pp. 31-36, 2015.
- [106] J. Fellahi et al., "Lower limb peripheral NIRS parameters during a vascular occlusion test: An experimental study in healthy volunteers", *Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation*, vol. 33, pp. e9-e14, 2014.

- [107] Kainerstorfer et al., "Principal component model of multispectral data for near real-time skin chromophore mapping", *Journal of Biomedical Optics*, vol. 15(4), pp. 046007, 2010.
- [108] Ferguson et al., "An empirical technique to compensate for melanin when monitoring skin microcirculation using reflectance spectrophotometry", *Med. Eng. Phys.*, vol. 17, pp. 104-110, 1995.
- [109] C. Manterola et al., "Confiabilidad, precisión o reproducibilidad de las mediciones. Métodos de valoración, utilidad y aplicaciones en la práctica clínica", *Laboratorio e Infectología, Rev. Chilena Infectología*, vol. 35(6), pp. 680-688, 2018.
- [110] C. Gómez & J. F. Pérez, "Curso de introducción a la investigación clínica. Capítulo 8: Pruebas diagnósticas. Concordancia", *SEMERGEN, Elsevier*, vol. 33(10), pp. 509-519, 2007.
- [111] C. Mayeur et al., "Comparison of four different vascular occlusion tests for assessing reactive hyperemia using near-infrared spectroscopy", *Critical Care Med.*, vol. 39(4), pp. 695-701, 2011.
- [112] D. Skarda et al., "Dynamic near-infrared spectroscopy measurements in patients with severe sepsis", *Shock*, vol. 27(4), pp. 348-353, 2007.
- [113] S. Tseng et al., "Chromophore concentrations, absorption and scattering properties of human skin in-vivo", *Optics Express*, vol. 17(17), pp. 14599-14617, 2009.
- [114] L. Wang & S. Jacques, "Monte Carlo Multi-Layered (MCML)", [Online] <https://omlc.org/software/mc/mcml/index.html>
- [115] E. Salomatina et al., "Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range", *Journal of Biomedical Optics*, vol. 11(6), pp. 064026, 2006.
- [116] O. Hamdy, "Estimation of optical parameters and fluence rate distribution in biological tissues via a single integrating sphere optical setup", *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, vol. 140, pp. 1004-1009, 2017.
- [A1] S. A. Prahl, "The Adding-Doubling Method," in *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, Boston, MA: Springer US, 1995, pp. 101–129.
- [A2] H. C. van de Hulst, "Light Scattering by Small Particles", *Dover Publications, Inc.* New York, 1981.
- [A3] W. J. Wiscombe, "Doubling initialization revisited", *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, vol. 18, pp. 245-248, 1977.