



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ingeniería
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

**Propiedades ópticas de piel humana *in vivo* como
herramienta en tratamientos de cáncer.**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestría en Ingeniería Mecánica

Presenta:

Ing. Brenda Quistián Vázquez

Asesor:

Dra. Beatriz Morales Cruzado

Co. Asesor:

Dr. Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez

San Luis Potosí, S. L. P.

Febrero de 2018





UASLP

Universidad Autónoma
de San Luis Potosí

26 de octubre de 2017

**ING. BRENDA QUISTIÁN VÁZQUEZ
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 Co-asesor de la Tesis que desarrollará Usted, con el objeto de obtener el Grado de **Maestra en Ingeniería Mecánica**, me es grato comunicarle que en la Sesión del H. Consejo Técnico Consultivo celebrada el día 26 de octubre del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

TEMARIO:

"Propiedades ópticas de piel humana *in vivo* como herramienta en tratamientos de cáncer"

Introducción.

1. La luz como herramienta para diagnóstico y tratamiento de enfermedades.
 2. Terapia Fotodinámica para tratar cáncer de piel.
 3. Propiedades ópticas de los medios turbios y teoría del transporte radiativo.
 4. Desarrollo del algoritmo computacional "Recuperación de espectros de coeficiente de absorción (RDECA)"
 5. Monitoreo experimental del coeficiente de absorción *in vivo* e *in vitro*.
- Conclusiones.
Referencias.

"MODOS ET CUNCTARUM RERUM MENSURAS AUDEBO"

A T E N T A M E N T E

**M. I. JORGE ALBERTO PÉREZ GONZÁLEZ
DIRECTOR.**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIRECCION



**FACULTAD DE
INGENIERÍA**

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

Copia. Archivo.
*etn.



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:

“Propiedades ópticas de piel humana *in vivo* como herramienta en tratamientos de cáncer”

se realizó en el periodo enero de 2016 a febrero de 2018 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.

Nombre y Firma del autor

Resumen

En este trabajo de tesis se logró implementar una técnica para monitorear el coeficiente de absorción en tiempo real. La técnica tiene como fundamento el algoritmo Inverse Adding Doubling para recuperar el coeficiente de absorción y un arreglo experimental basado en una esfera integradora para medir la luz reflejada por la muestra. La técnica desarrollada permitirá monitorear la evolución de sistemas con propiedades de absorción cambiantes en el tiempo, por ejemplo, el proceso de fotoactivación de agentes fotosensibilizadores durante una sesión de terapia fotodinámica. De esta manera el médico tratante podrá garantizar que el químico fue eliminado completamente del paciente. Se presentan valores del coeficiente de absorción de piel de algunos voluntarios, así como de muestras *in vivo* y *ex vivo*, recuperados con el programa desarrollado.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mis asesores de tesis la Dra. Beatriz Morales Cruzado y el Dr. Francisco Pérez Gutiérrez por compartir conmigo sus conocimientos, experiencias y tiempo.

Al Dr. Erick Sarmiento Gómez por su ayuda en la aclaración de dudas para la programación de RDECA.

A mis sinodales de tesis Dra. Geydy Luz Gutiérrez Urueta, Dr. Ricardo Romero Méndez y Dr. Dirk Frederik De Lange por todas sus observaciones que permitieron mejorar la calidad de esta tesis.

Al Dr. Orlando Guarneros García por prestarme amablemente el equipo del laboratorio de metrología.

A mis papás Laura Vázquez y Javier Quistián por todo su apoyo, motivación, consejos y por creer en mí.

A mis compañeros de posgrado Rebeca, Aurora, Nancy, Antonio, Hugo, Pedro, Robert y Alberto quienes siempre me acompañaron y apoyaron durante esta etapa y de los cuales aprendí.

A mis hermanas Adriana y Jacqueline quienes fueron mi motivación durante esta etapa de mi vida y siempre estuvieron conmigo.

A mi tío Álvaro por su buen ejemplo y consejos.

A mis primos Berenice, Perla y Azael por su amistad, cariño y apoyo.

A CONACYT por el apoyo económico.

ÍNDICE

Lista de tablas.....	XIII
Lista de figuras	XV
Introducción	1
Capítulo 1. La luz como herramienta para diagnóstico y tratamiento de enfermedades.....	5
1.1 Tomografía óptica difusa (TOD)	5
1.2 Terapia láser de baja potencia (TLBP)	8
1.3 Terapia Fotodinámica (TFD)	11
1.4 Conclusiones del capítulo.....	13
Capítulo 2. Terapia fotodinámica para tratar cáncer de piel	15
2.1 Definición de terapia fotodinámica.....	15
2.2 Historia de la terapia fotodinámica.....	15
2.3 Aplicación clínica de la terapia fotodinámica y mecanismos de acción	16
2.4 Efectos biológicos de la terapia fotodinámica.....	18
2.4.1 Efectos Directos.....	19
2.4.2 Efectos inmunes	19
2.4.3 Efectos vasculares	20
2.5 Elementos de la terapia fotodinámica: fotosensibilizador, luz y oxígeno.	20
2.5.1 Oxígeno	20
2.5.2 Fotosensibilizador	21
2.5.3 Luz	22
2.6 Enfermedades tratadas con terapia fotodinámica.....	25
2.6.1 Queratosis actínica	25
2.6.2 Carcinoma basocelular	26
2.6.3 Enfermedad de Bowen.....	26
2.7 Dosimetría	26
2.7.1 Dosimetría del fotosensibilizador.....	27
2.8 Ventajas y desventajas de la terapia fotodinámica.....	29
2.9 Conclusiones de capítulo.....	30
Capítulo 3. Propiedades ópticas de los medios turbios y teoría del transporte radiativo.	31
3.1 Radiación electromagnética	31
3.2 Propiedades ópticas	32

3.2.1 Coeficiente de absorción.....	33
3.2.2 Coeficiente de esparcimiento.....	34
3.2.3 Factor de anisotropía	36
3.2.4 Otros coeficientes y parámetros adimensionales	37
3.2.5 Esparcimiento de Mie y Rayleigh	38
3.2.6 Refracción y Reflexión	41
3.2.7 Transmisión	42
3.3 Ecuación de transferencia radiativa	42
3.4 inverse adding doubling (IAD)	44
3.4.1 Adding Doubling	44
3.4.2 Funcionamiento IAD	52
3.4.3 Monte Carlo.....	55
3.4.4 Desempeño Monte Carlo vs IAD	56
3.5 Conclusiones de capítulo.....	58
Capítulo 4. Desarrollo del algoritmo computacional "Recuperación de espectros de coeficiente de absorción (RDECA)"	59
4.1 Arreglo experimental	59
4.1.1 Fibra óptica.....	60
4.1.2 Espectrofotómetro (USB4000 Ocean Optics).....	61
4.1.3 Lámpara.....	64
4.1.4 Esfera integradora	65
4.1.5 Medición de reflexión y transmisión	67
4.2 Algoritmo computacional "Recuperación de espectros de coeficiente de absorción (RDECA)".	69
4.2.1 Funcionamiento de algoritmo	69
4.2.2 Secciones de la Interfaz gráfica	76
4.2.3 Validación de funcionamiento de RDECA.....	79
4.2.4 RDECA en terapia fotodinámica (TFD).....	84
4.3 Conclusiones capítulo.....	85
Capítulo 5. Monitoreo experimental del coeficiente de absorción <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	87
5.1 Experimentos realizados utilizando directamente IAD para la recuperación de parámetros ópticos.....	87
5.1.1 Muestra de partículas de poliestireno estática en el tiempo.....	87
5.1.2 Clorofila	89

5.1.3 Variación del coeficiente de absorción en diferentes tipos de piel.....	92
5.1.4 Estudio del coeficiente de absorción de la piel en función de la temperatura	94
5.2 Experimentos realizados utilizando el programa RDECA para la recuperación de propiedades ópticas	97
5.2.1 Muestra variable en el tiempo	98
5.2.2 Estudio del coeficiente de absorción en dos tipos de piel mediante RDECA	102
5.2.3 Estudio del coeficiente de absorción de la piel en 20 voluntarios mediante RDECA	108
5.2.4 Estudio del efecto de la concentración de sangre en el coeficiente de absorción de la piel en 20 voluntarios mediante RDECA.....	114
5.3 Conclusiones de capítulo	116
Conclusiones	117
Referencias.....	121

LISTA DE TABLAS

TABLA 1.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS FOTOSENSIBILIZADORES UTILIZADOS CLÍNICAMENTE [27].	12
TABLA 3.1. DATOS PARA SIMULACIÓN EN MONTE CARLO.	56
TABLA 3.2. COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE IAD CONTRA TEÓRICOS.	57
TABLA 4.1. RESUMEN DE LAS RUTINAS USADAS EN EL PROGRAMA RDECA.	71
TABLA 4.2. CARACTERÍSTICAS INVOLUCRADAS EN LA RECUPERACIÓN DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN Y TIEMPO DE CÓMPUTO.	79
TABLA 4.3. DATOS PARA SIMULACIÓN EN RDECA E IAD.	80
TABLA 4.4. COMPARACIÓN DE MR OBTENIDA MEDIANTE RDECA Y MCML.	80
TABLA 4.5. COMPARACIÓN DE COEFICIENTE DE ABSORCIÓN OBTENIDO MEDIANTE RDECA E IAD.	81
TABLA 4.6. DATOS PARA SIMULACIÓN EN RDECA E IAD.	82
TABLA 4.7. COMPARACIÓN DE MR OBTENIDA MEDIANTE RDECA Y MCML.	82
TABLA 4.8. COMPARACIÓN DE COEFICIENTE DE ESPARCIMIENTO OBTENIDO MEDIANTE IAD Y RDECA.	83
TABLA 4.9. RESULTADOS DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN CONSIDERANDO Y SIN CONSIDERAR PERDIDAS DE LUZ POR ESCAPE LATERAL.	84
TABLA 5.1. DATOS DE LA MUESTRA DE AGUA CON PARTÍCULAS DE POLIESTIRENO.	88
TABLA 5.2. RESULTADOS OBTENIDOS DE IAD Y MIE.	89
TABLA 5.3. CLASIFICACIÓN DE TIPOS DE PIEL SEGÚN LA ESCALA DE FITZPATRICK [90].	93
TABLA 5.4. PROPIEDADES DE LA MUESTRA DE PARAFINA.	100

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1. GEOMETRÍAS USADAS EN LA TOD: (A) USADA PARA MAMOGRAFÍA ÓPTICA, (B) USADA EN TEJIDOS SUB-SUPERFICIALES (C) USADA PARA TEJIDOS MAMARIOS Y CEREBRALES (IMAGEN TOMADA Y ADAPTADA DE [10]).	5
FIGURA 1.2. APLICACIÓN DE LA TLBP. UNA GRAN CANTIDAD DE PORFIRINAS ES ALMACENADA Y SINTETIZADA POR EL BACILO PROPIONIBACTERIUM ACNÉS. CUANDO LA PORFIRINA ES EXPUESTA A IRRADIACIÓN AZUL ES QUÍMICAMENTE ACTIVA Y GENERA DAÑOS EN LA MEMBRANA. EL PROCESO INFLAMATORIO SE REDUCE MEDIANTE IRRADIACIÓN ROJA. (IMAGEN TOMADA Y ADAPTADA DE [20]).	8
FIGURA 1.3. ABSORCIÓN DE FOTOACEPTORES EN LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL (IMAGEN ADAPTADA DE [14]).	9
FIGURA 1.4. EFECTO CELULAR DE LA TLBP (IMAGEN ADAPTADA DE [18]).	10
FIGURA 1.5. APLICACIÓN TERAPIA FOTODINÁMICA PARA EL TRATAMIENTO DE ACNÉ A UNA LONGITUD DE ONDA DE 415 NM QUE ACTIVA PPIX. IMAGEN TOMADA Y ADAPTADA DE [26].	12
FIGURA 2.1. PASOS DE LA APLICACIÓN CLÍNICA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA (IMAGEN ADAPTADA DE [37]).	16
FIGURA 2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA QUE INCLUYE EL DIAGRAMA DE JABLONSKY (IMAGEN ADAPTADA DE [35]). O_2 OXÍGENO MOLECULAR, ERO ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO, $1O_2$ OXÍGENO SINGULETE, $O_2^{\cdot -}$ ANIÓN SUPERÓXIDO, H_2O_2 PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y $\cdot OH$ RADICAL HIDROXILO.	17
FIGURA 2.3. EFECTOS FOTODINÁMICOS (IMAGEN ADAPTADA DE [13]).	18
FIGURA 2.4. PENETRACIÓN DE LUZ EN UN TEJIDO BIOLÓGICO (IMAGEN ADAPTADA DE [100]).	23
FIGURA 2.5. EJEMPLO DE FUNCIONAMIENTO DE LÁMPARA DE FILAMENTO DE TUNGSTENO [31].	25
FIGURA 3.1. PROPAGACIÓN DE LUZ EN UN MEDIO TURBIO.	32
FIGURA 3.2. ABSORCIÓN DE LUZ POR UN CROMÓFORO (IMAGEN ADAPTADA DE [60]).	33
FIGURA 3.3. ESPARCIMIENTO DE LUZ (IMAGEN ADAPTADA DE [60]).	35
FIGURA 3.4. ESPECTROS DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO CERCANO (IMAGEN ADAPTADA DE [65]).	36
FIGURA 3.5. ESPARCIMIENTO DE LUZ POR UNA PARTÍCULA.	36
FIGURA 3.6. FACTOR DE ANISOTROPÍA.	37
FIGURA 3.7. REFRACCIÓN DE LUZ.	41
FIGURA 3.8. ESQUEMA DIFERENCIAL DE UN ELEMENTO DE VOLUMEN AL QUE SE LE HACE INCIDIR LUZ.	43
FIGURA 3.9. LUZ INCIDENTE EN UN ÁNGULO θ' QUE ES REFLEJADA Y TRANSMITIDA POR LA LÁMINA A UN ÁNGULO θ (IMAGEN ADAPTADA DE [68]).	45
FIGURA 3.10. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA INCIDENCIA DE RADIANCIA.	46
FIGURA 3.11. RADIANCIA HACIA DEBAJO DE LA FRONTERA 1.	47
FIGURA 3.12. RADIANCIA HACIA ARRIBA EN LA FRONTERA 0.	47
FIGURA 3.13. TRANSMITANCIA, REFLECTANCIA Y ABSORBANCIA CALCULADAS CON MONTE CARLO PARA DIFERENTE NÚMERO DE FOTONES.	57
FIGURA 4.1. ARREGLO EXPERIMENTAL PARA MEDIR REFLECTANCIA.	60
FIGURA 4.2. PROPAGACIÓN DE LUZ EN UNA FIBRA ÓPTICA (IMAGEN ADAPTADA DE [78]).	61
FIGURA 4.3. COMPONENTES DE UN BANCO ÓPTICO DEL ESPECTROFOTÓMETRO (IMAGEN ADAPTADA DE [79]).	63
FIGURA 4.4. LÁMPARA DE TUNGSTENO (IMAGEN EXTRAÍDA DE [81]).	64
FIGURA 4.5. ESPECTRO DE LA LÁMPARA DE TUNGSTENO HL-2000, LA INTENSIDAD ESTÁ DADA EN UNIDADES ARBITRARIAS.	65
FIGURA 4.6. ESFERA INTEGRADORA NEWPORT MODELO 819C-SF-6 (IMAGEN ADAPTADA DE [84]).	66
FIGURA 4.7. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LA ESFERA INTEGRADORA.	66

FIGURA 4.8. CELDA PARA MUESTRA.	68
FIGURA 4.9. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS NECESARIAS PARA MEDIR M_R Y M_T EN LAS ECUACIONES 1 Y 2.	68
FIGURA 4.10. INTERFAZ GRÁFICA DEL PROGRAMA RDECA.	69
FIGURA 4.11. DIAGRAMA DE RUTINAS PARA RECUPERAR EL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN A UNA LONGITUD DE ONDA EN EL TIEMPO.	75
FIGURA 4.12. SECCIONES DE LA INTERFAZ GRÁFICA.	76
FIGURA 4.13. ESCAPE DE LUZ LATERAL.	77
FIGURA 4.14. CONFIGURACIÓN GRÁFICA.	78
FIGURA 4.15. REFLEXIÓN MEDIDA POR ESPECTROFOTÓMETRO.	79
FIGURA 5.1. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LA CLOROFILA A Y B (IMAGEN EXTRAÍDA Y ADAPTADA DE [101]).	90
FIGURA 5.2. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA CLOROFILA SIN EXPONER AL SOL Y DESPUÉS DE 4 HORAS EXPUESTA AL SOL.	90
FIGURA 5.3. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA CLOROFILA A DIFERENTES TIEMPOS.	91
FIGURA 5.4. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN OBTENIDO MEDIANTE IAD Y GA-MCML.	92
FIGURA 5.5. ESPECTROS DE REFLECTANCIA DIFUSA DE 12 VOLUNTARIOS CON DIFERENTES TONOS DE PIEL. LA LETRA F ES PARA FEMENINO Y LA M PARA MASCULINO.	93
FIGURA 5.6. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE 12 VOLUNTARIOS CON DIFERENTES TONOS DE PIEL.	94
FIGURA 5.7. ESPECTROS DE REFLECTANCIA DIFUSA DE TRES VOLUNTARIOS: (A) TIPO I, (B) TIPO III AND (C) TIPO V SEGÚN LA ESCALA FITZPATRICK A DIFERENTES TEMPERATURAS, EN UN RANGO DE 14.9 TO 40 °C.	96
FIGURA 5.8. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE TRES VOLUNTARIOS: (A) TIPO I, (B) TIPO III Y (C) TIPO V ACORDE A LA ESCALA DE FITZPATRICK A DIFERENTES TEMPERATURAS, RANGO DE 14.9 A 40 °C.	97
FIGURA 5.9. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE TRES VOLUNTARIOS A UNA TEMPERATURA DE 25 °C.	97
FIGURA 5.10. ARREGLO EXPERIMENTAL PARA LA MEDICIÓN DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN VARIABLE EN EL TIEMPO.	99
FIGURA 5.11. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE UNA MUESTRA DE PARTÍCULAS DE POLIESTIRENO, TINTA Y AGUA. ...	99
FIGURA 5.12. MONITOREO DEL COEFICIENTE DE ESPARCIMIENTO DE LA PARAFINA.	101
FIGURA 5.13. ESPECTRO DE COEFICIENTE DE ESPARCIMIENTO DE PARAFINA.	101
FIGURA 5.14. MONITOREO DEL COEFICIENTE DE ESPARCIMIENTO A UNA LONGITUD DE 533 NM.	102
FIGURA 5.15. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE DOS VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL IV, DESPUÉS DE SER SUMERGIDA EN AGUA FRÍA.	103
FIGURA 5.16. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE DOS VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL IV, DESPUÉS DE SER SUMERGIDA EN AGUA CALIENTE.	103
FIGURA 5.17. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE UN VOLUNTARIO A UNA LONGITUD DE ONDA DE 577 NM, DESPUÉS DE SER SUMERGIDA EN AGUA CALIENTE.	104
FIGURA 5.18. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE UN VOLUNTARIO A UNA LONGITUD DE ONDA DE 577 NM, DESPUÉS DE SER SUMERGIDA EN AGUA FRÍA.	105
FIGURA 5.19. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO A DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA.	106
FIGURA 5.20. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO A DIFERENTES TEMPERATURAS.	106
FIGURA 5.21. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DESPUÉS DE EXPOSICIÓN A AIRE FRIO DE VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL II Y III.	111
FIGURA 5.22. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DESPUÉS DE EJERCICIO DE VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL II Y III.	111
FIGURA 5.23. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DESPUÉS DE EXPOSICIÓN A AIRE FRIO DE VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL IV.	112
FIGURA 5.24. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DESPUÉS DE EJERCICIO DE VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL IV.	112

FIGURA 5.25. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DESPUÉS DE EJERCICIO DE VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL IV.	113
FIGURA 5.26. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DESPUÉS DE EJERCICIO DE VOLUNTARIOS CON TIPO DE PIEL V.	113
FIGURA 5.27. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE UN VOLUNTARIO.	114
FIGURA 5.29. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE UN VOLUNTARIO; (A) EXPERIMENTO 1 Y (B) EXPERIMENTO 2.	115
FIGURA 5.28. COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE LA PALMA DE LA MANO DE UN VOLUNTARIO.	115

INTRODUCCIÓN

El cáncer de piel es un problema de salud a nivel mundial. Se ha reportado que cada año alrededor del mundo se detectan aproximadamente 132,000 nuevos casos de melanoma maligno y aproximadamente 66,000 personas mueren debido a algún tipo de cáncer de piel. En los últimos años se ha observado que el número de personas con este padecimiento está incrementando, por ejemplo, de cada tres casos nuevos de cáncer detectados uno es cáncer de piel [1].

Hasta el momento hay una variedad de técnicas para tratar el cáncer, entre las principales se encuentran: cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal, trasplante de células madre, etc. El tratamiento que una persona puede recibir depende del tipo de cáncer diagnosticado y de lo avanzado que se encuentre, siendo necesaria la combinación de uno o más tratamientos. La mayoría de estos tratamientos son invasivos y pueden causar efectos secundarios graves durante y después de la terapia, como: anemia, caída de cabello, diarrea, náuseas, problemas de los nervios, problemas de memoria, problemas de fecundidad, problemas urinarios y de vejiga, entre otros [2].

Durante años se ha estado trabajando en busca de nuevos tratamientos que sean: más amigables con el paciente, no invasivos y con menos efectos secundarios. Como resultado de esta búsqueda surgió la terapia fotodinámica (TFD).

La TFD, es una técnica no invasiva, sin o con poca cicatrización, sin efectos secundarios cuando se aplica correctamente y poco dolor. Esta terapia utiliza un fármaco llamado fotosensibilizador y un tipo particular de luz que cuando se combinan y en presencia de oxígeno producen daño a las células cancerosas. Para que este tratamiento tenga éxito es necesaria la presencia de estos tres componentes en dosis correctas [3].

La TFD en cáncer de piel tiene una alta eficiencia y ha sido aprobada para un gran número de tumores cutáneos debido al fácil acceso de la luz a la lesión.

Una de las desventajas de la TFD es que algunos de los fotosensibilizadores utilizados producen sensibilidad cutánea u ocular después del tratamiento como resultado del fotosensibilizador acumulado en la piel, debido a esto los pacientes deben evitar la exposición a la luz solar durante algunos días o semanas. Por ejemplo cuando se aplican fotosensibilizadores en crema como ácido δ -aminolevulínico (ALA) o metil éster de ácido levulínico (MAL), existe fotosensibilidad local que puede durar entre 24 y 48 horas [4]. Actualmente no se ha reportado una herramienta que sea capaz de asegurar en qué instante el paciente ha eliminado completamente el fotosensibilizador de su cuerpo y sin esta herramienta los pacientes deben tomar precauciones por periodos largos de tiempo. Además, el monitoreo de la concentración de fármaco en el tumor puede ayudar a mejorar la eficiencia en el tratamiento mediante la regulación de las dosis de luz suministradas para compensar la falta o exceso de fármaco en el tumor. A nivel de investigación *in vitro*, se utiliza un biomarcador llamado sensor de oxígeno singulete verde (SOSG por sus siglas en inglés) que es altamente selectivo para el oxígeno singulete, SOSG reacciona con el oxígeno singulete y emiten fluorescencia verde, que puede ser detectada por sondas comerciales. La emisión de fluorescencia es un indicativo de la generación de oxígeno singulete durante la fotosensibilización [5]. Sin embargo, no existe una herramienta para uso *in vivo*.

Se ha estado trabajando en diferentes técnicas que permitan medir la concentración de fármaco en el tumor durante la terapia fotodinámica [6-8]. Las técnicas que actualmente se están desarrollando son poco efectivas, por ejemplo, los métodos basados en fluorescencia que aprovechan el hecho de que ciertos fotosensibilizadores tienen la propiedad de fluorescencia cuando absorben luz. Estas técnicas son limitadas para uso en pacientes con tipos de piel morena ya que los fotones son absorbidos por la melanina y no logran ser detectados.

El monitoreo del coeficiente de absorción en tiempo real durante la TFD es un indicativo para determinar cuánto fotosensibilizador se ha fotoblanqueado, es decir, cuánto fotosensibilizador ha sido eliminado o ha disminuido en el tejido debido a las reacciones con luz y oxígeno. El objetivo general y objetivos específicos se presentan a continuación:

Objetivo general:

Implementar una técnica de bajo costo que mida instantáneamente el coeficiente de absorción de la piel a una longitud de onda durante la aplicación de la terapia fotodinámica.

Objetivos específicos:

- Estado del arte.
- Implementar un algoritmo de recuperación de parámetros ópticos basado en IAD.
- Validar el algoritmo contra el método Monte Carlo.
- Construir el arreglo experimental.
- Entrenar en el manejo de equipo de laboratorio.
- Preparar muestras con agua, poliestireno y tinta.
- Caracterizar muestra en función de sus propiedades ópticas (μ_a, μ_s).
- Medir espectros de reflexión difusa de voluntarios.
- Recuperar μ_a a partir de los datos experimentales.
- Implementar algoritmo computacional para leer datos del espectrofotómetro, procesarlos de acuerdo con la ETR, tal que sea capaz de entregar valores de μ_a en función del tiempo.
- Preparar muestras de μ_a variable en el tiempo.
- Aplicar el algoritmo generado en el procesamiento de datos obtenidos.
- Validar el algoritmo mediante la comparación con los resultados esperados.

La presente tesis se divide en 5 capítulos. En el capítulo 1 se hace una descripción de las principales técnicas para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades basadas en la interacción de luz con los tejidos biológicos. En el capítulo 2 se hace una revisión detallada del funcionamiento de la TFD para tratar el cáncer de piel. En el capítulo 3 se describen las propiedades ópticas de los medios turbios, la ecuación de transferencia radiativa que describe como se propaga la luz en un medio turbio y el algoritmo Inverse Adding Doubling que recupera las propiedades ópticas a partir del conocimiento de otras características medibles del medio. En el capítulo 4 se detalla el desarrollo y validación del algoritmo computacional "Recuperación de Espectros de Coeficiente de Absorción (RDECA)" para la

obtención del coeficiente de absorción de la piel humana *in vivo* a partir de la medición de luz reflejada. Finalmente, en el capítulo 5 se presentan algunos experimentos que se realizaron utilizando muestras *in vivo* y *ex vivo* para recuperar sus propiedades ópticas utilizando el algoritmo RDECA.

CAPÍTULO 1. LA LUZ COMO HERRAMIENTA PARA DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES.

El uso de la luz en ciertos tratamientos y diagnóstico de enfermedades es actualmente una modalidad en creciente desarrollo debido a que proporciona buenos resultados cosméticos, poco dolor y es no invasiva. A continuación, se presentan algunas técnicas para tratamiento de enfermedades y diagnóstico que basan su funcionamiento en la interacción de luz con tejidos biológicos.

1.1 TOMOGRAFÍA ÓPTICA DIFUSA (TOD)

La TOD es una técnica usada principalmente en el diagnóstico de cáncer de mama y monitoreo de funciones cerebrales mediante imágenes médicas. La técnica utiliza radiación en la región del infrarrojo cercano (700 nm a 1100 nm) para irradiar el tejido y caracterizar sus propiedades ópticas (coeficiente de absorción y esparcimiento). La técnica consiste en irradiar la muestra bajo estudio con fuentes colocadas en diferentes posiciones y utilizar detectores para medir la intensidad transmitida y reflejada sobre la superficie de la muestra. Las imágenes obtenidas son usadas para reconstruir una sola imagen [9]. En la TOD se tienen diferentes configuraciones de fuente y detector que se ajustan a las exigencias de cada aplicación. En la figura 1.1 se muestran tres configuraciones usadas para tejidos cerebrales y de mama [10].

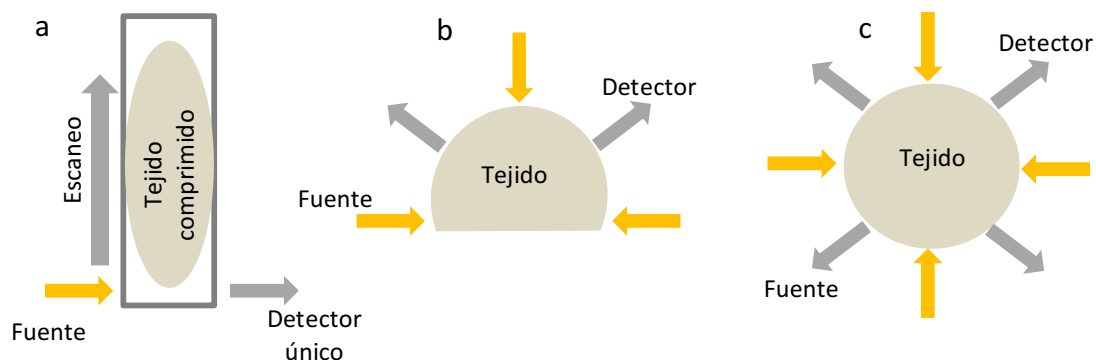


Figura 1.1. Geometrías usadas en la TOD: (a) usada para mamografía óptica, (b) usada en tejidos sub-superficiales (c) usada para tejidos mamarios y cerebrales (imagen tomada y adaptada de [10]).

En la TOD se utilizan fuentes de luz para irradiar el tejido a diagnosticar, cada una de estas fuentes presenta diferentes características que dependen del tipo de aplicación, en general esta técnica se puede clasificar en varios grupos según el tipo de señal de la fuente que se utiliza en la técnica, a continuación, se mencionan tres sistemas:

- Modo de dominio de tiempo: Este sistema entrega pulsos láser al tejido (frecuentemente de diodos láser) con duraciones muy cortas (10-50 ps), cuando la luz pasa a través del tejido, la irradiación se atenúa y el pulso se ensancha. Esta luz transmitida es medida y registrada como una función del tiempo [11].
- Modo de dominio de frecuencia: Este sistema usa fuentes de luz moduladas en frecuencia en un rango que va de 100-1000 MHz para irradiar el tejido. La luz transmitida por el tejido es recolectada por diodos fotoeléctricos, convertida en un voltaje en el dominio de frecuencia, después la señal obtenida es demodulada y amplificada. Finalmente la información obtenida es recopilada por la computadora (con tarjetas analógicas) para realizar el cálculo de la función de fase y amplitud [9], [11].
- Modo de corriente continua: En este sistema la luz es suministrada continuamente sobre el tejido y después se mide la intensidad de luz transmitida por diferentes detectores. Frecuentemente se usa como fuente de iluminación algún tipo de laser el cual primero pasa a través de un galvanómetro que contiene una lente en su salida y que sirve para enfocar la luz en un plano. La luz es detectada por un detector CCD (dispositivo de carga acoplada)[9].

Para obtener las propiedades ópticas en la TOD se requiere solucionar dos problemas: un problema directo y uno inverso. El problema directo consiste en resolver un modelo de propagación de luz en un medio turbio usando propiedades ópticas conocidas para encontrar la reflexión y transmisión en los límites. En el método directo generalmente se usa la ecuación de difusión que es resuelta mediante métodos numéricos (método de la diferencia finita, método de elementos finitos y método de elemento límite); también es usado el método Monte Carlo que soluciona la ecuación de transferencia radiativa [9]. El problema inverso consiste en generar la distribución de propiedades ópticas del tejido

mediante datos medidos (fotones dispersados detectados). Las propiedades ópticas obtenidas pueden ser absolutas o relativas [9, 12]. Para solucionar el problema inverso se utilizan diversos algoritmos, a continuación, se muestra una clasificación de los principales:

- Algoritmos basados en métodos de inversión numérica lineal: se basan en la solución de la ecuación de difusión que es convertida en un conjunto de ecuaciones lineales para resolverla numéricamente [13].
- Algoritmos basados en métodos de inversión basados en Fourier: al igual que el método anterior resuelve la ecuación de difusión pero mediante métodos de Fourier [13].
- Algoritmos basados en métodos iterativos no lineales: Este tipo de algoritmos utiliza técnicas de optimización no lineal en el cual se busca reducir un error global iterativamente [13].

Las variaciones de las propiedades ópticas en el tejido se pueden utilizar para cuantificar la concentración de hemoglobina y oxígeno en la sangre y así diagnosticar mediante la comparación de espectros característicos de los cromóforos en el tejido en condiciones normales contra los medidos. Un cromóforo también conocido como fotoceptor es la parte de un sistema que proporciona el color a dicho sistema por esa razón son capaces de absorber luz en longitudes de onda determinadas [14]. En los tumores se ha observado un mayor suministro de sangre en comparación con los tejidos sanos circundantes esto produce una inhomogeneidad en la imagen. En el caso del cerebro, la actividad cerebral está asociada con un aumento de oxígeno debido al aumento de flujo sanguíneo sobre el área cerebral activa. TOD ofrece una imagen 3D de las variaciones espaciales de los parámetros sanguíneos (concentración de hemoglobina, saturación de oxígeno y características de esparcimiento del tejido) [15, 16].

1.2 TERAPIA LÁSER DE BAJA POTENCIA (TLBP)

La TLBP es una modalidad de tratamiento terapéutico que incrementa la rapidez y calidad de curación respecto de cuando no se utilizar ningún método para estimular los tejidos. Este tratamiento utiliza dispositivos láser o LED que emiten en el espectro visible e infrarrojo cercano a bajas potencias proporcionando poca energía incapaz de producir daño al tejido, pero que sí es suficiente para estimular una respuesta en los tejidos [17].

Esta terapia es frecuentemente utilizada para la cicatrización de heridas, reparación del hueso, atenuación de dolor, disminución de inflamación, modulación del sistema inmune y restauración de la función neural normal después de una lesión, reparación y regeneración de tejido. Los efectos que se producen durante la TLBP son fotoquímicos y no térmicos [17]. En la figura 1.2 se muestra un ejemplo de aplicación de la TLBP en acné.

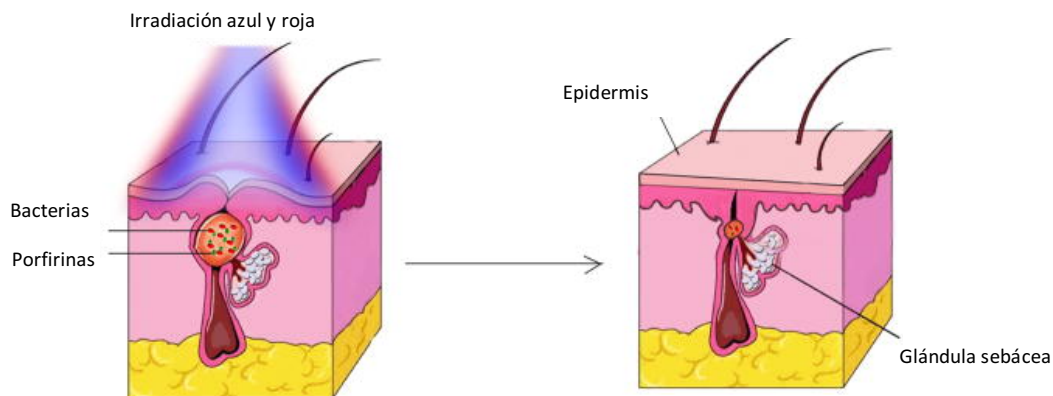


Figura 1.2. Aplicación de la TLBP. Una gran cantidad de porfirinas es almacenada y sintetizada por el bacilo propionibacterium acnés. Cuando la porfirina es expuesta a irradiación azul es químicamente activa y genera daños en la membrana. El proceso inflamatorio se reduce mediante irradiación roja. (Imagen tomada y adaptada de [20]).

Para producir una respuesta en un sistema biológico vivo debe existir absorción de fotones que correspondan al espectro de absorción de un fotoceptor molecular contenido en el sistema biológico como se establece en la primera ley de la fotobiología.

Las mitocondrias son estructuras contenidas en las células cuya principal función es suministrar energía para la respiración celular [18]. Las mitocondrias tienen un papel importante en la TLBP debido a que estudios recientes muestran que ellas son las que alteran el metabolismo celular como resultado de la absorción de fotones por los

fotoceptores contenidos en las mitocondrias como el citocromo c oxidasa (CcO) un tipo de proteína [19, 20]. En la figura 1.3 se muestra un diagrama esquemático de la absorción de fotones por fotoceptores localizados en la cadena respiratoria mitocondrial [14].

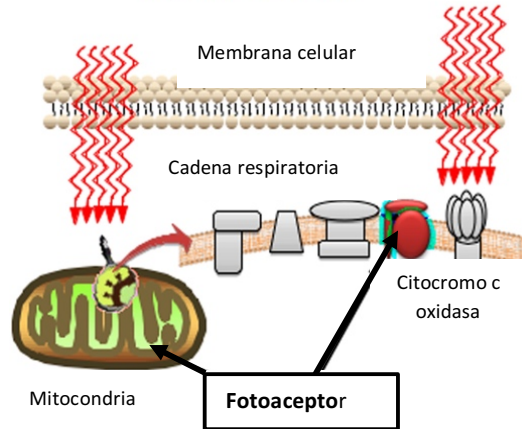


Figura 1.3. Absorción de fotoceptores en la cadena respiratoria mitocondrial (Imagen adaptada de [14]).

La cadena respiratoria mitocondrial tiene la función de transferir electrones que son donados del NADH (Nicotinamida adenina dinucleótido) y FADH₂ (Flavín adenín dinucleótido) hasta el oxígeno para formar agua, todo este proceso ocurre en la membrana mitocondrial interna [18].

Como consecuencia de la absorción de fotones se observa un aumento en diversos procesos biológicos, primero se observa un desplazamiento del óxido nítrico (NO) de la cadena respiratoria provocando más producción de trifosfato de adenosina (ATP) y especies reactivas de oxígeno (ROS) que conducen a otros procesos químicos beneficiosos de la TLBP [21].

Los principales mecanismos que se pueden producir en las células después de un tratamiento de TLBP son 4: prevención de apoptosis, proliferación celular, migración y adhesión (ver figura 1.4).

- Prevención de la apoptosis: Durante el tratamiento de TLBP se observa una disminución de apoptosis debido a que el citocromo c oxidasa (CcO) mejora su actividad cuando absorbe fotones.
- Proliferación: La TLBP permite una mayor multiplicación de células según algunos

estudios realizados in vitro en diversos sistemas celulares (fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales y linfocitos).

- Migración: La TLBP ayuda a la estimulación de la migración en los fibroblastos esto acelera el cierre de heridas.
- Adherencia: La TLBP mejora la adhesión entre células; esto también es beneficioso para el cierre de heridas [18].

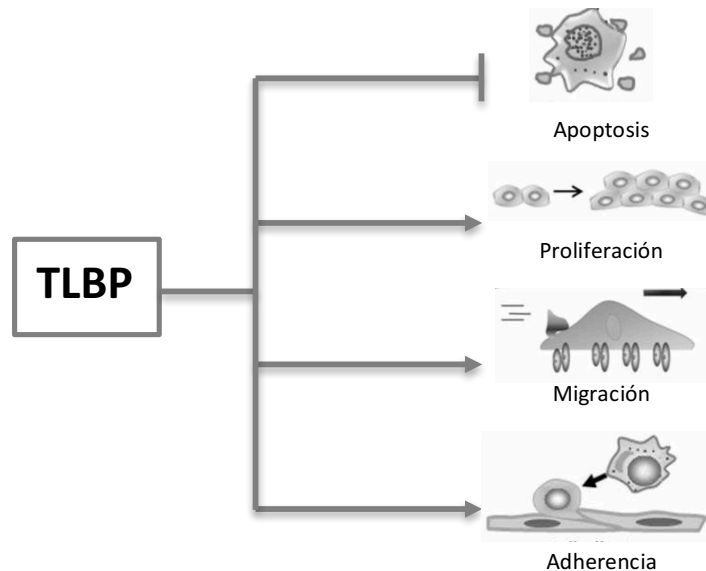


Figura 1.4. Efecto celular de la TLBP (imagen adaptada de [18]).

Los dos tipos de láser más frecuentemente usados en TLBP son el láser de helio-neón (láser de gas que usa como medios activos al helio y al neón) y láser IR (láser sólido que usa como medio activo al arseniuro de galio) [22].

La TLBP es utilizada por fisioterapeutas, dentistas, dermatólogos, reumatólogos y médicos generales [13].

Los dos elementos clave en la TLBP son: el parámetro de irradiación (densidad de energía) y tiempo de irradiación. La densidad de energía (J/cm^2) es la energía incidente por unidad de área. La combinación de estos dos parámetros en cantidades diferentes puede producir diferentes resultados [14]. En la TLBP son usadas potencias entre 10 y 90 mW con longitudes de onda entre 500 y 1100 nm y dosis de irradiación de $1-4 J/cm^2$ [17].

1.3 TERAPIA FOTODINÁMICA (TFD)

La TFD es un tratamiento para cáncer que consiste en aplicar una sustancia fotosensibilizadora de manera tópica o en inyección intravenosa al paciente y después incidir luz a ciertas longitudes de onda sobre el tumor, la longitud de onda utilizada dependerá del tipo de fotosensibilizador aplicado [3]. Se busca que los fotosensibilizadores utilizados en TFD sean activados a longitudes de onda entre 600 y 800 nm, este intervalo se debe a que longitudes de onda mayores a 800 nm aportan insuficiente energía para llevar a cabo el fotoblanqueamiento y longitudes menores de 600nm pueden causar mayor fotosensibilidad en el paciente [23, 24]. La mayoría de los fotosensibilizadores de última generación son activados entre 630 y 690 nm [25].

La fuente de luz proporciona energía que es absorbida por el fotosensibilizador y transferida al oxígeno que se encuentra en el tejido para formar oxígeno reactivo y provocar la muerte en las células cancerosas [3]. La TFD tiene aplicaciones en oncología (cáncer de vejiga, cáncer obstructivo de esófago, cáncer de pulmón, cáncer de cuello y cabeza, cáncer de piel y enfermedades ginecológicas) [25]. En dermatología su principal indicación es el carcinoma vascular, enfermedad de Bowen y en algunos casos dermatosis [4].

Cuando se utiliza TFD en el rejuvenecimiento de piel se busca provocar daño en la dermis (sin dañar o eliminar la epidermis) y así estimular una reparación del colágeno y fibra elástica dando como resultado una reducción de arrugas en la piel. En algunos estudios realizados se observó que utilizando metil éster de ácido levulínico (MAL) como fotosensibilizador durante tres horas y después irradiar con luz a una longitud de onda de 630 nm y dosis de 37 J/cm^2 se obtenían buenos resultados [26].

El tratamiento de acné con TFD es muy usado en los E.U. con fotosensibilizador ácido δ -aminolevulínico (ALA). Cuando se aplica ALA (generalmente a 630 nm) sobre la piel éste penetra en las células epidérmicas y se convierte en un compuesto fotosensible llamado protoporfirina IX (PpIX), este compuesto es selectivo ya que sólo se acumula en ciertas células y tejidos [26].



Figura 1.5. Aplicación terapia fotodinámica para el tratamiento de acné a una longitud de onda de 415 nm que activa PpIX. Imagen tomada y adaptada de [26].

En la siguiente tabla se muestran las características de algunos de los fotosensibilizadores utilizados clínicamente. En la tabla 1.1, DLI representa el intervalo de tiempo entre la administración del fotosensibilizador y la irradiación de luz.

Tabla 1.1. Características de los fotosensibilizadores utilizados clínicamente [27].

Sensibilizador	λ_{max}	Dosis (mg/kg)	Dosis de luz (J/cm ²)	DLI (h)	Indicaciones en cáncer
Porfímero sódico	630	2-5	100-200	24-48	Pulmón y vejiga
Temoporfin	652	0.1-0.3	8-12	24-48	Cabeza, cuello y pulmón
Verteporfina	688	0.1-2	100-200	0.5-3	Piel y páncreas
Talaporfin	660	0.5-3.5	25-100	24-72	Hígado y páncreas
Padeliporfin	762	4	200	0.25	Próstata
Redaporfin	743	0.5	50	0.25	Cabeza y cuello

Los fotosensibilizadores utilizados en TFD tienen la propiedad de emitir fluorescencia cuando se activan con luz, debido a que la mayor parte del fotosensibilizador se concentra en las lesiones, esta fluorescencia es aprovechada por muchos investigadores para diferentes usos: permite localizar lesiones malignas y premalignas *in vivo* que ayudan a guiar al médico durante la TFD o en cirugías, además ayuda a medir el fotoblanqueamiento del

fotosensibilizador durante la TFD [25]. El método de fluorescencia es dependiente de la concentración de fármaco en el tejido esto limita su detección, del mismo modo de las propiedades ópticas, que varían durante el tratamiento de TFD y que no son consideradas para corregir las distorsiones en los espectro de fluorescencia [6]. La técnica desarrollada en este trabajo de tesis tiene ventajas sobre la técnica de fluorescencia, es una técnica no invasiva, puede usarse para cualquier tipo de piel, para diferentes tipos de fotosensibilizadores aplicados y el arreglo experimental utilizado para medir la luz reflejada por el tumor permite suministrar una distribución de luz uniforme sobre el área tratada.

1.4 CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

El uso de luz para diagnóstico y tratamiento de enfermedades ha tenido un gran impacto en diversas áreas médicas debido a las ventajas que ofrece respecto a otras técnicas, desafortunadamente en México existe poca investigación en el desarrollo e implementación de nuevas tecnologías que permitan tener una mejor eficiencia.

La terapia fotodinámica es una técnica relativamente nueva y a pesar de que ha mejorado mucho en los últimos años, aún falta mucho que investigar sobre todo en el tema de la dosimetría. Mediante este trabajo de tesis se busca aportar una técnica para observar el proceso de fotoblanqueamiento *in vivo* durante un tratamiento de terapia fotodinámica.

CAPÍTULO 2. TERAPIA FOTODINÁMICA PARA TRATAR CÁNCER DE PIEL

2.1 DEFINICIÓN DE TERAPIA FOTODINÁMICA

La terapia fotodinámica (TFD) es una modalidad de tratamiento utilizado por diversas áreas médicas sin embargo en dermatología es donde tiene más aplicaciones, es frecuentemente utilizada para algunos cánceres no melanomas como: queratosis actínica, enfermedad de Bowen y carcinomas basales [28]. Esta terapia requiere de la presencia de tres elementos: luz (visible o en el infrarrojo cercano) que puede ser proporcionada por láseres o fuentes de luz visible, fotosensibilizador y oxígeno [29]. El fotosensibilizador es activado por luz y produce reacciones químicas que destruyen las células cancerosas como resultado de la producción de compuestos fototóxicos transitorios [30, 31].

2.2 HISTORIA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA

La TFD es una técnica relativamente nueva, a pesar de que hace miles de años ya se conocían las propiedades terapéuticas de la luz para diversas enfermedades. Hace aproximadamente 100 años se descubrió que la combinación de ciertos químicos con luz producía la muerte celular. En 1903 se realizaron los primeros experimentos en pacientes con tumores de piel utilizando luz blanca y eosina, sin embargo, fue hasta la década de 1960 que se inició la época moderna de la TFD y su mayor avance fue en el año de 1975, en donde se descubrió que al administrar hematoporfirina derivada (HPD) y luz roja se eliminaba por completo el tumor de mama en ratones. Para el año de 1976 en Londres, Inglaterra se realizaron los primeros experimentos en humanos con cáncer de vejiga y en el año de 1984 se trataron los primeros pacientes con cáncer de esófago y pulmón, finalmente para el año de 1993 se aprueba por primera vez la TFD para tratar cáncer de vejiga en Canadá [32].

2.3 APLICACIÓN CLÍNICA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA Y MECANISMOS DE ACCIÓN

La aplicación clínica de la TFD consiste en los siguientes pasos:

- 2 Se administra el fármaco al paciente de forma intravenosa o directamente en la piel cuando se trata de un fotosensibilizador cutáneo.
- 3 Se deja transcurrir un periodo de tiempo (3 ~ 96 horas) hasta que el fotosensibilizador se haya eliminado de las células sanas, pero aún permanece en las células cancerosas [29]. Esto se logra debido a que el fotosensibilizador es selectivo y siempre se acumula y permanece por más tiempo en las células cancerosa que en las sanas. La mayor rapidez de eliminación del fotosensibilizador de las células normales se debe al mayor número de vasos sanguíneos y mayor permeabilidad. Las células neoplásicas eliminan con menos velocidad el fotosensibilizador principalmente por su mayor lentitud para eliminar desechos (drenaje linfático) de las células que además se dividen muy rápido [33].
- 4 Se irradia la zona a tratar con luz a una longitud de onda específica para activar el fotosensibilizador.

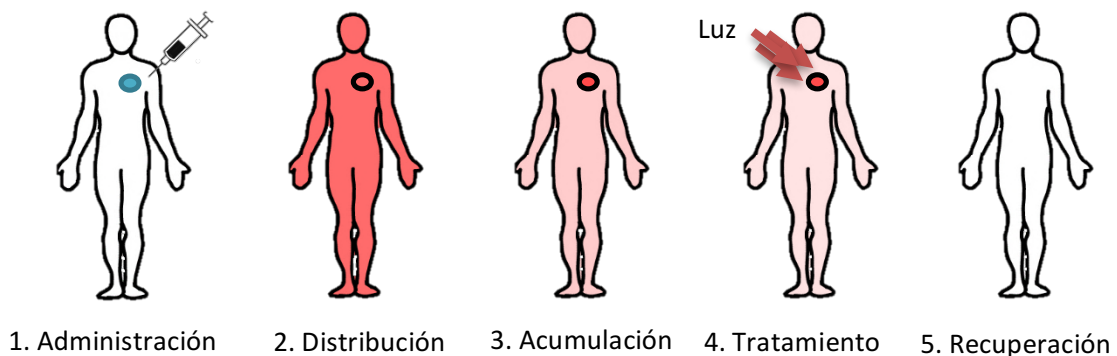


Figura 2.1. Pasos de la aplicación clínica de la terapia fotodinámica (imagen adaptada de [37]).

- 5 Cuando el fotosensibilizador entra en contacto con las células cancerosas se encuentra en un estado basal (singulete), después interacciona con la luz y absorbe energía que le permite cambiar su estado inicial a un estado electrónicamente excitado (singulete excitado), en este estado el fotosensibilizador puede regresar a su estado inicial o

puede cambiar a un estado triplete. En el estado triplete se producen tres tipos de reacciones (I, II y III). En la figura 2.2 se muestra un esquema de los procesos foto físicos durante la TFD [4, 25].

Reacción tipo I: Existe una generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) principalmente peróxidos de hidrógeno, anión superóxido y radicales hidroxilos, debido a alguno de estos dos procesos: 1) El fotosensibilizador en estado excitado triplete transfiere un electrón a sustratos como el agua o alguna biomolécula; 2) El fotosensibilizador en estado excitado triplete extrae un átomo de hidrogeno de un sustrato como el AH_2 [4, 25].

Reacción tipo II: Se genera el oxígeno singulete como resultado de la energía que se transfiere al oxígeno molecular que se encuentra en el tejido [4, 25].

Reacción tipo III: Esta reacción no depende del oxígeno sino que es resultado de las reacciones con las biomoléculas y provoca toxicidad indirecta [4, 34].

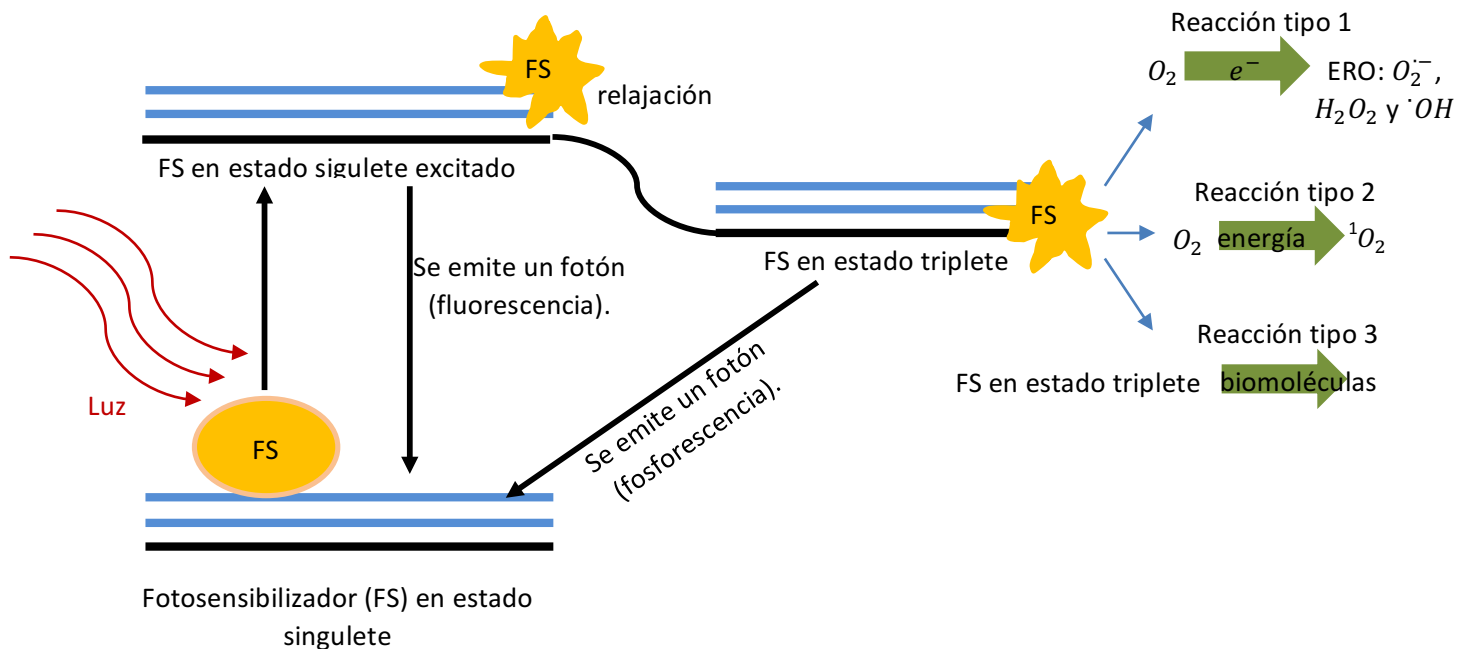


Figura 2.2. Mecanismo de acción de la terapia fotodinámica que incluye el diagrama de Jablonsky (imagen adaptada de [35]). O_2 oxígeno molecular, ERO especies reactivas de oxígeno, 1O_2 oxígeno singulete, $O_2^{\cdot-}$ anión superóxido, H_2O_2 peróxido de hidrógeno y $\cdot OH$ radical hidroxilo.

La reacción tipo II es la principal responsable del daño a las células cancerosas, aun así los otros dos tipos de reacción también contribuyen al deterioro de las células cancerosas [4, 34].

2.4 EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA

La TFD genera efectos biológicos debido al daño oxidativo. El oxígeno singlete puede dañar o matar las células tumorales directamente y evitar la administración de nutrientes dentro de ellas debido al daño vascular que es provocado o también las células tumorales pueden ser atacadas por el sistema inmunitario que es activado durante la TFD. En la figura 2.3 se muestran los principales efectos fotodinámicos [13].

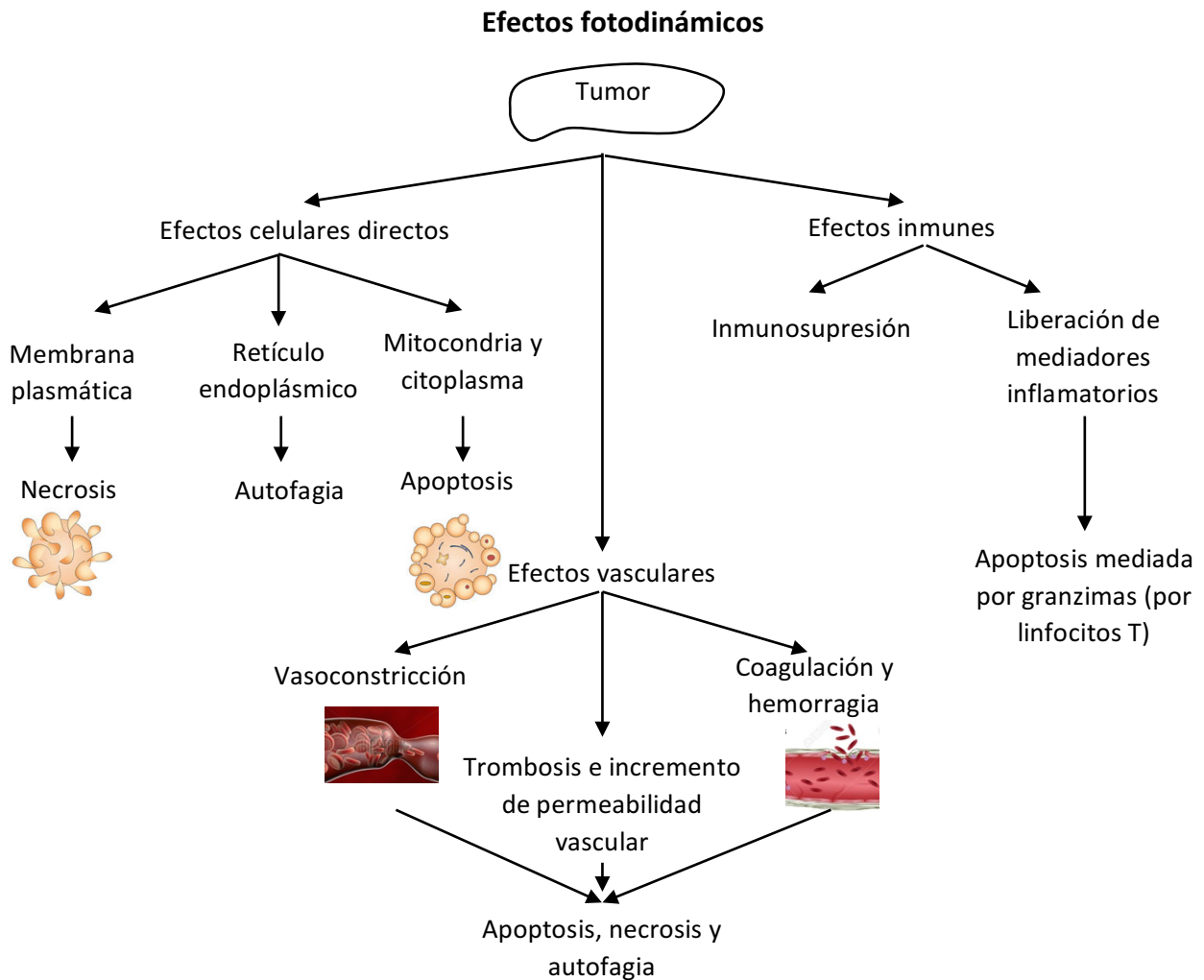


Figura 2.3. Efectos fotodinámicos (imagen adaptada de [13]).

Se ha demostrado *in vitro* que la vía de destrucción (apoptosis o necrosis) va a depender de la concentración del fotosensibilizador, intensidad de la luz, localización intracelular del fotosensibilizador, velocidad de irradiación y concentración de oxígeno [36]. Cuando el fotosensibilizador se concentra en las mitocondrias existe una liberación de mediadores que conducen a la apoptosis y pérdida de permeabilidad de la membrana, por otro lado, cuando el fotosensibilizador se localiza en los lisosomas se produce una liberación de enzimas proteolíticas (cuya función es digerir proteínas). Varias vías de muerte se pueden producir al mismo tiempo como resultado de la concentración de fármaco en varios componentes de la célula tumoral [37].

2.4.1 Efectos Directos

Los efectos directos se clasifican en tres tipos: necrosis, apoptosis y autofagia. Estos son provocados principalmente por las reacciones tipo 1 (especies reactivas de oxígeno). Dependiendo del tipo de componente molecular que sea afectado por la formación de especies reactivas de oxígeno, producirá un tipo de muerte directa como se observa en la figura 2.3 [13]. El principal componente reactivo es el oxígeno singulete que afecta directamente componentes celulares como membranas plasmáticas, mitocondrias y lisosomales por el efecto de oxidación. Tres especies reactivas de oxígeno: radical hidroxilo, peróxido de hidrogeno y oxígeno singulete provocan un proceso de lipoperoxidación que ataca a los lípidos de las membranas de los organelos. Las especies reactivas de oxígeno además afectan a moléculas como los glucósidos y en las proteínas genera algunas alteraciones [25].

2.4.2 Efectos inmunes

Dos efectos son los que se pueden presentar durante la TFD: estimulación del sistema inmunológico (efecto inmunoestimulante) e inactivación de células del sistema inmunitario (inmunosupresión) como los macrófagos [25]. La reacción inflamatoria inducida en el tejido es activada por metabolitos de lípidos que son liberados mediante los daños fototóxicos en la membrana celular [38].

Los mecanismo de acción que originan diferentes respuestas inmunes son: liberación de citosinas proinflamatorias; liberación de neutrofilia sanguínea; reclutamiento de neutrófilos, mastocitos y macrófagos en el tumor y activación de anticuerpos [27]. Los neutrófilos liberan enzimas lisosomiales y especies reactivas de oxígeno que matan las células tumorales [4].

2.4.3 Efectos vasculares

Las células cancerosas no se destruyen sólo por los efectos fotodinámicos directos también influyen otros tipos de mecanismos como los efectos vasculares. Los vasos sanguíneos son afectados por la TFD debido al daño generado en las células endoteliales que producen la formación de coágulos y evitan flujo sanguíneo, así mismo se origina una modificación en la construcción del endotelio. Debido a que el tumor no recibe los nutrientes necesarios mediante el flujo sanguíneo ocurre la muerte celular [27, 39].

Algunos estudios informaron que la TFD causa colapso microvascular lo que induce una disminución de oxígeno (hipoxia tisular y anoxia) esto también es asociado a un retraso en el crecimiento tumoral [40].

2.5 ELEMENTOS DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA: FOTOSENSIBILIZADOR, LUZ Y OXÍGENO.

El fotosensibilizador, la luz y la generación de oxígeno son elementos importantes durante la TFD, sin la presencia de alguno de ellos en las concentraciones correctas el tratamiento no tiene éxito.

2.5.1 Oxígeno

La cantidad de oxígeno presente en el tumor puede limitar la efectividad del tratamiento. La muerte de las células cancerosas es causada principalmente por la producción de oxígeno singulete que va a depender de la cantidad de oxígeno en el tumor [32]. Cuando la concentración de oxígeno en el tumor es menor al 2% no se produce suficiente daño a las células cancerosas [25].

El oxígeno en el tumor se reduce debido a dos causas: 1) las reacciones entre luz, oxígeno y fotosensibilizador; 2) al daño causado a los vasos tumorales produciendo una disminución

en la reoxigenación de los tejidos mediante la sangre [25]. Este problema se puede abordar fraccionando la administración de luz por periodos cortos de tiempo (150- 200 s) y así permitir la reoxigenación tisular [27, 32].

2.5.2 Fotosensibilizador

El fotosensibilizador es una molécula que absorbe luz para producir un cambio químico en otras moléculas.

Los fotosensibilizadores se pueden clasificar en tres familias: porfirinas, clorinas y colorantes.

- **Porfirinas:** Es un compuesto con una estructura de tetrapirrólico de cadena cerrada [41]. La porfirina se encuentra en la naturaleza y es parte de la clorofila. La máxima absorción se encuentra entre 360 y 400 nm pero contiene otros picos de absorción entre 500 y 635 nm [42]. Dentro de la familia de las porfirinas se encuentran los derivados de la hematoporfirina (HpD), benzoporfirina (BPD), ALA (Ácido 5-aminolevulínico) y Texafirinas [43].
- **Clorinas:** Es un compuesto que se deriva de la clorofila, presenta mayor absorción a 650 nm [42]. La familia de Clorinas se compone por las Clorins, Purpurins y Bacteriochlorins [43].
- **Colorantes:** Los colorantes tienen picos de absorción en el rango de 650-850 nm y son activados con energía de alrededor de 100 J/cm^2 . En la familia de los colorantes se encuentran las Ftalocianinas y Naftalocianinas [43].

Los fotosensibilizadores actualmente comercializados son: Fotofrin® (HpD derivado de hematoporfirina), Levulan® (ALA), Metvix® (ALA), Visudyne® (Vertiporfina), Foscan® (Temoporfina), Antrin® (Lutexafirina), LS11 (Talaporfina) y fotosens® (Ftalocianina) [43].

En dermatología los fotosensibilizadores más usados son el MAL y ALA. Estos dos fotosensibilizadores presentan una alta eficiencia en el tratamiento de queratosis actínica, carcinoma celular basales y carcinoma celular escamoso [24, 28].

- Metil éster de ácido levulínico (MAL): Este fotosensibilizador tópico se transforma a protoporfirina IX por vía intracelular, tiene una mayor penetración comparado contra ALA y se concentra en las células neoplásicas [44, 45].

- Ácido δ -aminolevulínico (ALA): Este fotosensibilizador es de origen natural y es activado a una longitud de onda de 630 nm. Debido a que ALA no es muy activo necesita de dosis de luz elevada o tratamiento de larga duración [43].

Las características deseables del fotosensibilizador para lograr una mayor eficiencia durante el tratamiento son las siguientes:

1. Habilidad para distribuirse homogéneamente en el tejido dañado [4, 34].
2. El tiempo entre la administración del fármaco y la acumulación de éste en los tejidos debe ser el mínimo posible [4, 34].
3. Eliminación rápida de los tejidos sanos para evitar fotosensibilidad cutánea [4, 23, 34].
4. Activación del fotosensibilizador en longitudes de onda largas para tener una mayor penetración [23].
5. El fotosensibilizador no debe absorber luz preferentemente en la región de 400 - 600 nm ya que hay riesgo de producir fotosensibilidad debido a la luz solar [23].
6. Producción óptima de oxígeno singulete [4, 34].

El intervalo de tiempo entre la aplicación del fotosensibilizador y la irradiación de luz va a depender del tipo de fotosensibilizador, la concentración del fármaco y tipo de tumor [43].

La generación de nuevos fotosensibilizadores que cumplan con la mayoría de las características deseables todavía está en investigación.

2.5.3 Luz

Para elegir una fuente de luz adecuada se debe considerar la ubicación del tumor, tipo de fotosensibilizador y la dosis de luz que se necesita administrar [31]. La potencia requerida en la TFD se encuentra en un intervalo de 1-5 W en un rango de longitudes de onda de 630-850 nm con irradiaciones de cientos de mW/cm^2 en tiempos de 10 minutos aproximadamente [30].

La penetración de luz en el tejido va a depender de la longitud de onda de la luz utilizada, las propiedades ópticas del tejido (coeficiente de absorción y esparcimiento) y la concentración del fotosensibilizador [4]. La absorción de luz en el tejido es debida principalmente a la hemoglobina que se encuentra en la sangre y la melanina que depende del color de la piel. Es importante considerar las dosis de luz adecuadas de manera personalizada, según el tipo de fuente de luz usada, tipo de patología y tipo de piel.

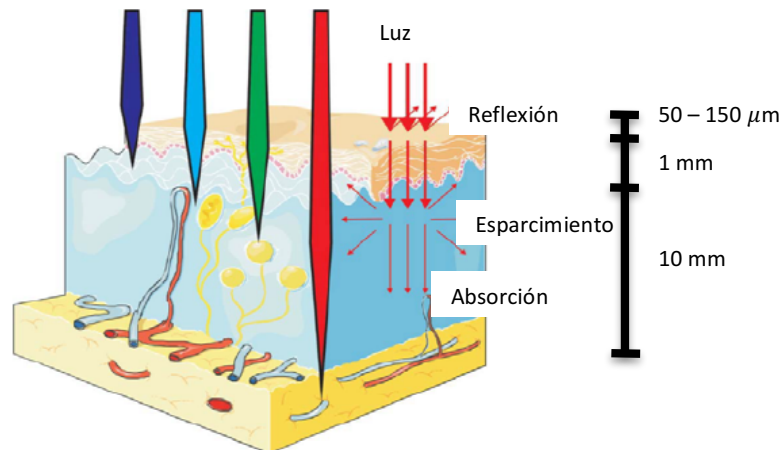


Figura 2.4. Penetración de luz en un tejido biológico (imagen adaptada de [100]).

Las fuentes utilizadas en dermatología son láseres y lámparas de luz no coherente (lámparas de arco de xenón, lámparas con filamentos incandescentes y diodos emisores de luz).

Las características con las que debe contar una fuente de luz adecuada son:

1. Potencia adecuada para generar la energía adecuada.
2. La fuente debe proporcionar luz a la longitud de onda óptima para activar el fotosensibilizador.
3. Penetración suficiente para alcanzar el tejido canceroso [4].

Los láseres tienen la ventaja de que pueden ser usados para áreas pequeñas con mucha precisión, se puede elegir con exactitud a la longitud de onda para activar el fotosensibilizador y se pueden acoplar a fibras ópticas para ser usados en cánceres internos con endoscopios [4].

- Láser pulsado de colorante bombeado por otro láser de argón: Estos tipos de láseres

utilizan colorantes como rodamina B, rodamina101 y sulforrodamina 640 con emisión en la región del 600-650 nm o en el 488 nm y 514 nm. Proporciona una irradiancia de 10-500 mW/cm². A pesar del alto nivel de soporte técnico que requieren son los láseres más utilizados en TFD [31].

- Láser de vapor de oro: Emiten a una longitud de onda de 627.8 nm. La ventaja de este tipo de láseres es que son portátiles, no necesitan un suministro de electricidad especializado sin embargo son un poco costosos y requieren largos periodos de enfriamiento y calentamiento, esto es poco práctico [46].

Las lámparas tienen una alta potencia de salida, son de fácil mantenimiento, emiten un amplio espectro, son portátiles, fáciles de usar y ofrecen luz sobre áreas grandes. Una desventaja es que es difícil conectarlas a fibras ópticas sin afectar la potencia de salida debido a esto las lámparas son poco usadas en lesiones internas que necesiten endoscopia frecuentemente son usadas en lesiones cutáneas [31].

- Lámparas de arco de xenón: Estas lámparas utilizan electrodos y en presencia de xenón forman un arco eléctrico para producir luz. Su emisión espectral se encuentra entre 300 y 1200 nm con un alto rendimiento que va de 8 W cuando la exposición es directa y se puede reducir hasta 1 W cuando se usa una guía de luz líquida (instrumento óptico que sirve para la conducción de luz, consiste de un tubo de plástico, que contiene un núcleo líquido por donde se transporta luz). Las tasas de irradiación que generan son de varios cientos de mW/cm². Para elegir las longitudes de onda se usan filtros de color [31].
- Lámparas con filamentos incandescentes: Este tipo de lámparas funcionan con un filamento que es calentado mediante corriente eléctrica en un contenedor de vidrio al vacío [25]. Una lámpara de tungsteno por ejemplo puede llegar a emitir hasta 250 mW/cm² en un espectro de 350-850 nm y son generalmente usadas para carcinoma de células basales [31].



Figura 2.5. Ejemplo de funcionamiento de lámpara de filamento de tungsteno [31].

- Diodos emisores de luz (LED): Las ventajas que presenta el uso de led son su bajo precio, son ligeros, compactos y pueden organizarse en diferentes arreglos, por ejemplo cuando se tienen lesiones en la cabeza donde se necesitan curvaturas para irradiar toda el área [25, 31]. La potencia que proporcionan son de hasta 150 mW/cm² en longitudes de onda de 350 nm hasta el infrarrojo cercano [31].

2.6 ENFERMEDADES TRATADAS CON TERAPIA FOTODINÁMICA

2.6.1 Queratosis actínica

La queratosis actínica es una enfermedad ocasionada por la exposición prolongada a radiación ultravioleta, en este padecimiento se puede observar un crecimiento escamoso de la piel y se presenta en áreas que son expuestas al sol (cuello cabelludo, cara, orejas, labios, manos, antebrazos, hombros etc.) y es considerado un precáncer de piel [47]. Este tratamiento ya está aprobado en EU, Canadá y la Unión Europea [24].

En este tratamiento se aplica MAL 3 horas antes de irradiar el tumor con luz a una longitud de onda de 630 nm y dosis de 75 J/cm² pero si se usa ALA entonces se debe dejar pasar un tiempo de 14 a 18 horas antes de irradiar con luz a 417 nm en dosis de 10 J/cm² y se desea una mayor penetración con ALA puede ser activado con luz a una longitud de onda de 630 nm [4, 43, 47].

2.6.2 Carcinoma basocelular

El carcinoma basocelular también conocido como carcinoma de células basales es un crecimiento anormal de células malignas en la capa de células basales y es considerado un cáncer de piel muy común en todo el mundo, frecuentemente se presenta en la cabeza y cuello. Este cáncer puede ser ocasionado por la exposición prolongada al sol y a sustancias químicas carcinogénicas [47].

En el tratamiento de este padecimiento mediante terapia fotodinámica se utiliza ALA en combinación con dosis de luz entre 30.5 y 540 J/cm². Cuando se utiliza MAL es activada a una longitud de onda de 630 nm con dosis de 75 J/cm² [4, 43, 47].

El tratamiento de TFD para carcinomas basocelulares solo está aprobado en Canadá y la Unión Europea [24].

2.6.3 Enfermedad de Bowen

La enfermedad de Bowen también conocida como enfermedad de carcinoma escamocelular es una enfermedad cutánea precancerosa. Se presenta como una placa escamosa descamativa. Puede ser causada por la exposición diaria y prolongada al sol, químicos carcinógenos y someterse a muchas radiografías [48]. Se han realizado algunas investigaciones para ver la efectividad del tratamiento con terapia fotodinámica en algunas pruebas se administró 5-ALA 4 horas antes de exponer la zona a tratar con dosis de luz de 100 J/cm². También se ha aplicado MAL por 4 horas antes de la iluminación a 630 nm [49, 50].

2.7 DOSIMETRÍA

En general un tratamiento de TFD considera tres aspectos: dosis de fotosensibilizador, dosis de luz y tiempo de irradiación, pero existen otros aspectos que son importantes y que afectan las dosis que son realmente entregadas al tumor o células cancerosas, por ejemplo existe una diferencia entre las cantidades de fotosensibilizador que retiene un tumor entre diferentes pacientes, el coeficiente de absorción y esparcimiento también varía a diferentes longitudes de onda, entre pacientes y hasta en tumores de un mismo paciente. Todas estas

variables determinan la penetración y distribución de luz en el tumor. Se está trabajando en el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan medir estos parámetros en forma individual o en conjunto para poder entender mejor cómo afectan en la eficiencia del tratamiento [51].

La dosimetría explícita consiste en medir los tres parámetros que afectan el tratamiento de TFD (luz, fotosensibilizador y oxígeno) y después predecir la dosis de oxígeno singulete [30, 52]. En las siguientes secciones se describirán algunos métodos para medir estos parámetros que forman parte de la dosimetría explícita.

2.7.1 Dosimetría del fotosensibilizador

La cuantificación de fotosensibilizador en el tejido es un tema que se está estudiando debido a que la respuesta tumoral depende en gran medida de la concentración de fotosensibilizador en el tumor. Mediante este parámetro se pueden ajustar las dosis de luz a administrar de forma personalizada para compensar las diferencias entre las concentraciones de fotosensibilizador entre pacientes [8]. Hasta el momento se han reportado principalmente dos técnicas para cuantificar la concentración de fotosensibilizador en el tejido: biopsia y métodos basados en fluorescencia [53].

- Biopsia

Esta técnica presenta diversos métodos para medir la concentración del fotosensibilizador en el tejido *ex vivo*, el proceso primero consiste en extraer la muestra, para después separar el fotosensibilizador del tejido *ex vivo* mediante alcohol, éter u otro solvente y finalmente, mediante otro método se cuantifica la concentración de fotosensibilizador (espectrofotometría o fluorescencia). La principal limitación que presenta este método es que a veces es necesario repetir el procedimiento porque no se extrae por completo el fotosensibilizador del tejido *ex vivo* debido a esto el método es poco preciso [53, 54].

- Métodos basados en fluorescencia

Estas técnicas aprovechan la propiedad de fluorescencia de los fotosensibilizadores para medir *in vivo* la concentración del fármaco. Cuando se hace incidir luz sobre un tejido las

moléculas absorben energía y son excitadas. El exceso de energía contenida en ellas se libera en fotones que son emitidos en forma de fluorescencia con menor energía [55]. Para medir la fluorescencia generalmente se usa una fibra óptica que está conectada a un sistema de fluorímetro [56]. Los métodos basados en fluorescencia proporcionan mediciones de un solo punto o el promedio de ciertas áreas en lugar del mapa completo [30]. El tipo de equipos utilizados para medir fluorescencia son muy costosos debido a que la señal es muy débil y se debe amplificar para poder detectarla.

Esta técnica está limitada para su uso en pacientes con pieles morenas debido a que el número de fotones que fluorescen durante el tratamiento de TFD es bajo y esos pocos fotones son absorbidos por la melanina antes de ser detectados.

- Radiomarcado

Este método permite una cuantificación no invasiva del fotosensibilizador. La técnica consiste en marcar ciertos fotosensibilizadores a través de radiofármacos que no alteran la composición ni la absorción del medio y fotosensibilizador, estos compuestos sirven como marcadores.

Para medir la concentración de fármaco marcado se utilizan técnicas como la tomografía por emisión de positrones (esta técnica detecta fotones gamma generados como resultado del producto de reacciones entre el radiofármaco y el cuerpo del paciente, los fotones detectados son convertidos en señales eléctricas para someterse a un procesamiento y obtener una imagen) y la tomografía computarizada de emisión de fotón único (esta técnica genera rayos gamma mediante isótopos introducidos en el cuerpo humano que son usados para generar imágenes) [8, 54, 57, 58]. A pesar de que la técnica ha mostrado buenos resultados aún no hay resultados definitivos, estos métodos son complicados de implementar durante la TFD. La técnica de emisión de positrones es inestable al fotoblanqueamiento esto afecta la concentración del fotosensibilizador activo [30].

2.8 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA

Las ventajas de utilizar un tratamiento de TFD en comparación con otros tratamientos son: 1) Se observan pocos daños en los tejidos cercanos al tumor, ya que sólo se irradia la zona a tratar. 2) Es un tratamiento muy sencillo, por lo que no es necesario hospitalización. 3) No se observan efectos secundarios graves, sólo una pequeña inflamación en la zona tratada, cuando se aplica correctamente. 4) Se observan buenos resultados cosméticos, no deja cicatriz. 5) Este tratamiento puede repetirse en corto tiempo. 6) Puede combinarse con otros tratamientos después o antes del tratamiento. 7) Pueden ser tratadas mujeres embarazadas [4, 25].

Sin embargo, se observan algunas limitaciones: 1) Los fotosensibilizadores usados actualmente son activados con luz que no puede penetrar más de 1 cm, esto limita el uso de la TFD sólo a tumores de piel o tumores que se encuentran en el revestimiento de órganos. 2) La TFD sólo se puede usar para tratar cánceres locales. 3) El tratamiento aún no es personalizado debido a la falta de dosimetría. 4) La eficiencia del tratamiento depende en gran medida de la concentración de oxígeno en el tumor 5) Debido a la acumulación del fotosensibilizador en las células, después del tratamiento se puede observar fotosensibilidad cutánea en piel y ojos cuando el paciente se expone a luz artificial o intensa, este problema se puede observar durante un periodo de cuatro a seis semanas cuando se aplican ciertos fotosensibilizadores [4, 25, 59].

Se está trabajando en mejorar los fotosensibilizadores, una forma es con el uso de nanopartículas que se acoplen al fotosensibilizador y optimizar el tratamiento. El uso de nanopartículas ayuda a manipular propiedades físicas y químicas para hacer más eficiente el tratamiento [34].

Actualmente en todo el mundo se tratan pacientes con TFD y en los últimos años ha aumentado este número. El tratamiento de TFD para cáncer de piel ya está bien establecido y aprobado por la ADA (Administración de Drogas y Alimentos) [25, 34].

2.9 CONCLUSIONES DE CAPÍTULO

En este capítulo se realizó una explicación de los aspectos más importantes del tratamiento de TFD, sus ventajas y desventajas respecto a otros tratamientos, así como las técnicas actuales para determinar la concentración de fotosensibilizador.

La terapia fotodinámica es una técnica que promete ser en un futuro, un tratamiento al alcance de todos, a pesar de que actualmente se ha aplicado a un gran número de pacientes en Latinoamérica aún no está muy establecida.

Las técnicas con las que se cuenta actualmente para cuantificar la cantidad de fotosensibilizador no son tan buenas, cada una tiene desventajas o no presentan aún resultados definitivos.

CAPÍTULO 3. PROPIEDADES ÓPTICAS DE LOS MEDIOS TURBIOS Y TEORÍA DEL TRANSPORTE RADIATIVO.

En la terapia fotodinámica (TFD), el conocimiento de las propiedades ópticas de la piel es de suma importancia ya que éstas describen la propagación de la luz en el tejido. En este tipo de tratamientos se busca que la mayor parte de la luz incidente penetre la piel hasta llegar a la zona afectada, pero debido a los efectos de absorción y esparcimiento, la intensidad inicial de la luz se reduce al pasar por las capas de la piel. Mediante el conocimiento de los coeficientes de absorción y esparcimiento, se pueden elegir las dosis de luz adecuadas de manera personalizada y lograr mejores resultados en el tratamiento. El coeficiente de esparcimiento depende de la cantidad de colágeno e hidratación de la piel, por lo que no depende de la raza y se puede mantener constante para personas de edades similares.

Las propiedades ópticas típicamente se obtienen solucionando, de manera inversa, la Ecuación de Transferencia Radiativa (ETR) con datos medibles como la luz transmitida y reflejada por la muestra [60].

3.1 RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

La luz tiene naturaleza de onda electromagnética y por medio de ella trasmite energía continuamente. Este transporte de energía también puede ser interpretado en términos de partículas que no contienen masa llamadas fotones. La doble naturaleza de la luz se debe a que se comporta como onda electromagnética cuando viaja a través del espacio, pero en los procesos de absorción y emisión se comporta como partícula. La energía que transporta un conjunto de fotones es equivalente a la energía que transfiere una onda electromagnética [61]. La energía que proporciona un fotón está dada por la ecuación 3.1:

$$E = \frac{hc}{\lambda} = h\nu, \quad [J] \quad (3.1)$$

donde: h es la constante de Planck ($6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$), λ es la longitud de onda, ν es la frecuencia de la onda (Hz) y c es la velocidad de la luz ($3 \times 10^8 \text{ m/s}$). Cuando hablamos de la luz como una onda electromagnética nos referimos a que consiste de ondas eléctricas y magnéticas oscilantes [13].

3.2 PROPIEDADES ÓPTICAS

La piel humana es un tejido compuesto por diferentes capas que contienen una variedad de estructuras heterogéneas. Cada uno de estos componentes tiene diferentes tamaños, formas, densidad e índice de refracción que hace difícil el estudio de la interacción de la luz en este medio. Frecuentemente se tienen que realizar simplificaciones para su estudio, generalmente sus estructuras se consideran partículas esféricas distribuidas homogéneamente [62].

Cuando se hace incidir luz sobre la piel se pueden observar diferentes eventos, parte de la luz es reflejada debido a la diferencia entre el índice de refracción de la piel y el aire, la otra parte de luz que logra atravesar la frontera puede ser absorbida internamente o esparcida por el medio múltiples veces. El esparcimiento es el cambio de la dirección inicial de la luz debido a las inhomogeneidades que se encuentran en el medio. Finalmente la luz que sufrió múltiples eventos de esparcimiento puede ser transmitida o reflejada difusamente [63].

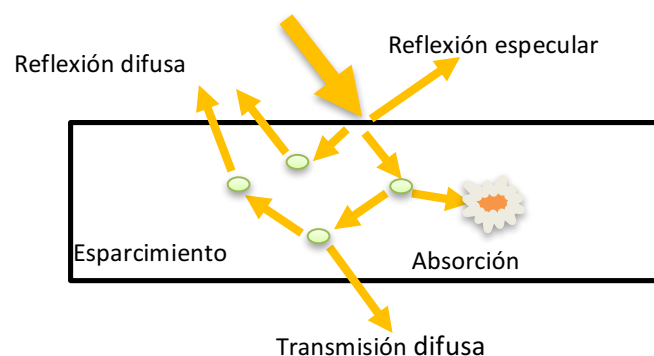


Figura 3.1. Propagación de luz en un medio turbio.

Las propiedades ópticas que describen la propagación de la luz en el tejido son: el coeficiente de esparcimiento, el coeficiente de absorción y el factor de anisotropía [64].

3.2.1 Coeficiente de absorción

La absorción de fotones en el tejido biológico se debe a la presencia de moléculas cromóforas (hemoglobina, melanina, agua, etc.). Idealmente se puede considerar un cromóforo como esférico. Cuando la luz incide sobre un cromóforo este genera una sombra que puede proporcionar el concepto de coeficiente de absorción (a pesar de que no represente esquemáticamente la situación real). La sección transversal eficaz (σ_a [cm^2]) es el área de la sombra que se forma cuando la luz incide sobre el cromóforo (figura 3.2), Q_a es la eficiencia de absorción y A [cm^2] es el tamaño del cromóforo [60]. La sección eficaz se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\sigma_a = Q_a A \quad (3.2)$$

El coeficiente de absorción depende de la concentración de cromóforos en el tejido (ρ_a [cm^{-3}]) [60] y se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$\mu_a = \rho_a \sigma_a \quad [\text{cm}^{-1}] \quad (3.3)$$

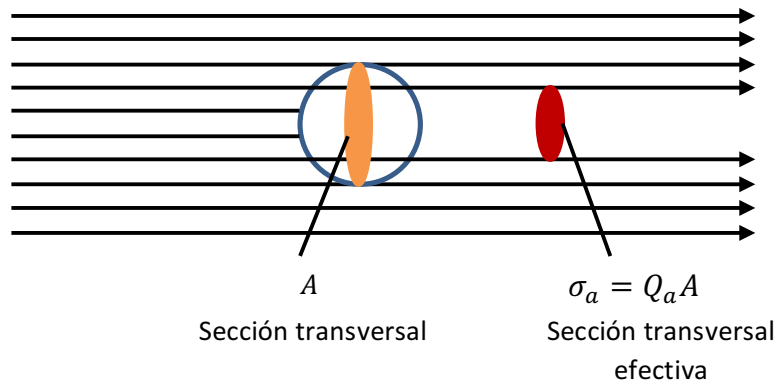


Figura 3.2. Absorción de luz por un cromóforo (imagen adaptada de [60])

El coeficiente de absorción (μ_a) se define como la probabilidad de que un fotón sea absorbido en un medio por unidad de longitud [65]. El inverso de μ_a representa la distancia promedio que recorre un fotón dentro de un medio antes de sufrir un evento de absorción [66].

El coeficiente de absorción también se puede definir utilizando la siguiente relación:

$$dI = -\mu_a I dz, \quad (3.4)$$

donde: dI representa el cambio de intensidad a través del medio, I representa la intensidad inicial y dz es el espesor de la muestra por la cual atraviesa la luz. Al integrar la Ec. 3.4 sobre el espesor z se obtiene la Ec. 3.5, mejor conocida como ley de Beer-Lambert [13].

$$I = I_0 \exp[-\mu_a z] \quad (3.5)$$

3.2.2 Coeficiente de esparcimiento

El esparcimiento de luz a través del tejido biológico se debe a la presencia de componentes con diferentes índices de refracción que provocan el cambio de dirección de la luz. De manera similar a la sección 3.2.1, se puede considerar un partícula esparcidora ideal esférica con área de sección transversal A [cm^2] la cual cambia la dirección de la luz incidente y genera una sombra conocida como sección transversal eficaz (σ_s [cm^2]) y además está relacionada con la eficiencia de esparcimiento Q_s mediante la ecuación 3.6, como se observa en la figura 3.3 [60]:

$$\sigma_s = Q_s A_s [\text{cm}^2] \quad (3.6)$$

El coeficiente de esparcimiento depende de la concentración de inhomogeneidades en el tejido (ρ_s [cm^{-3}]) [60] y se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$\mu_s = \rho_s \sigma_s [\text{cm}^{-1}] \quad (3.7)$$

El coeficiente de esparcimiento (μ_s) se define como la probabilidad de que un fotón sea esparcido en un medio por unidad de longitud [65]. El inverso de μ_s representa la distancia promedio que recorre un fotón dentro de un medio antes de sufrir un evento de esparcimiento [66].

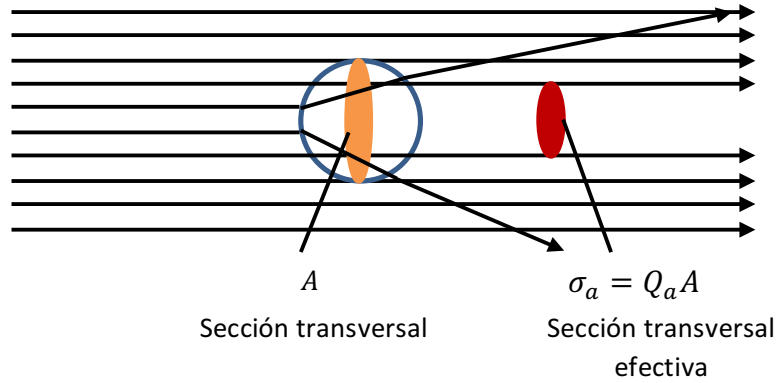


Figura 3.3. Esparcimiento de luz (Imagen adaptada de [60]).

El coeficiente de esparcimiento también se puede expresar mediante la ley de Beer-Lambert mediante la Ec. 3.8 [13].

$$I = I_0 \exp[-\mu_s z] \quad (3.8)$$

El valor representativo del coeficiente de esparcimiento para un tejido biológico es aproximadamente $\mu_s = 100 \text{ cm}^{-1}$ [66]. En la figura 3.4 se muestran los espectros de absorción en el infrarrojo cercano de oxihemoglobina (HbO), desoxihemoglobina (Hb), citocromo c oxidasa (Cyt. Oxidase), agua y lípidos para valores de concentración tisular nominal de $50 \mu\text{M}$ (para HbO y Hb), $10 \mu\text{M}$ (para la citocromo c oxidasa), 80% por volumen (para agua), y 50% por volumen (para lípidos) [65].

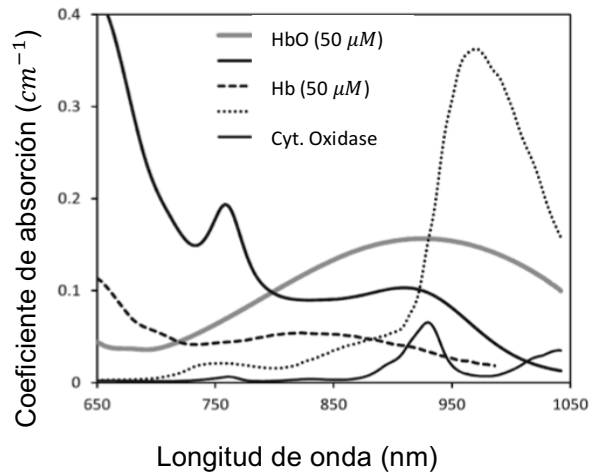


Figura 3.4. Espectros de absorción en el infrarrojo cercano (imagen adaptada de [65]).

3.2.3 Factor de anisotropía

Cuando la luz incide sobre una partícula es esparcido en diferentes direcciones alrededor de la partícula. La función de fase $P(\hat{s}', \hat{s})$ describe la probabilidad de que la luz sea esparcida desde la dirección \hat{s}' en la dirección \hat{s} dentro del ángulo sólido $d\Omega$ figura 3.5 [13].

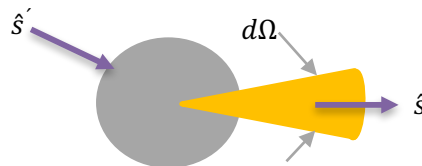


Figura 3.5. Esparcimiento de luz por una partícula.

Si la luz es esparcida uniformemente en todas las direcciones, se dice que el esparcimiento es isotrópico ya que la luz tiene la misma probabilidad de ser esparcida en cualquier dirección. De lo contrario se tiene que el esparcimiento es anisotrópico debido a que éste se dará en una dirección determinada. La función de fase (Ec. 3.9) es una distribución de probabilidad y está normalizada [67]:

$$\int_{4\pi} P(\hat{s}', \hat{s}) d\Omega = 1 \tag{3.9}$$

El factor de anisotropía g es un parámetro que nos dice cuantitativamente que tan isotrópico o anisotrópico es un tejido y está definido como [67]:

$$g = \int_{4\pi} (\hat{s}' \cdot \hat{s}) P(\hat{s}' \cdot \hat{s}) d\Omega \quad (3.10)$$

Debido a que la función de fase frecuentemente sólo depende del ángulo de incidencia y del ángulo de esparcimiento, la función de fase se puede expresar como [67]:

$$P(\hat{s}', \hat{s}) = P(\hat{s}' \cdot \hat{s}) = P(\cos(\theta)) \quad (3.11)$$

Debido a que los vectores \hat{s}' y \hat{s} son unitarios se puede decir que el producto punto entre ellos es igual al coseno del ángulo formado entre ellos. Un valor de $g = 0$ indica que solo existe esparcimiento isotrópico, $g = 1$ indica que el esparcimiento es preferentemente hacia adelante y es anisotrópico, $g = -1$ indica que el esparcimiento es hacia atrás y anisotrópico (figura 3.6). El tejido humano tiene valores de g entre 0.8 a 0.99 [68].

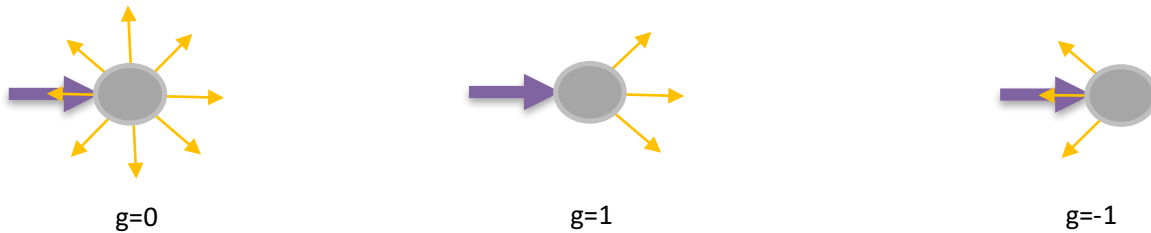


Figura 3.6. Factor de anisotropía.

3.2.4 Otros coeficientes y parámetros adimensionales

El coeficiente de esparcimiento y factor de anisotropía se pueden agrupar para generar el coeficiente de esparcimiento reducido (μ'_s) definido como [64]:

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (3.12)$$

El coeficiente de atenuación total (μ_t) inverso nos da la distancia promedio que recorrerá un fotón libremente [69]:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (3.13)$$

Coefficiente de transporte de atenuación (μ_{tr}):

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu'_s \quad (3.14)$$

Los parámetros μ_a , μ_s y g se pueden expresar en términos de otras cantidades adimensionales: albedo (a) y grosor óptico (τ).

$$\tau = d(\mu_a + \mu_s) \quad (3.15)$$

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (3.16)$$

De donde a representa el espesor de la muestra. El exponencial del valor negativo del grosor óptico ($e^{-\tau}$) representa el porcentaje de distancia que la luz probablemente recorrerá sin ser esparcida o absorbida. Por ejemplo, para un grosor óptico de 1 existe una probabilidad de $e^{-1} = 37\%$ de que la luz recorrerá esa distancia libremente. El albedo sólo puede tomar valores entre 0 y 1, cuando el albedo es igual 1, el tejido no absorbe luz y cuando el albedo es igual a 0 el tejido no esparce luz [67].

3.2.5 Esparcimiento de Mie y Rayleigh

El esparcimiento de luz por una partícula puede ser descrito por modelos como la teoría de esparcimiento de Rayleigh o la de Mie, los dos casos se basan en las ecuaciones de Maxwell. La teoría de esparcimiento de Rayleigh es usada cuando las partículas son mucho más pequeñas que la longitud de onda de la luz, el esparcimiento generado se considera elástico debido a que la energía del fotón que incidente es igual a la del fotón esparcido [13].

En el régimen de Rayleigh [66] existe una dependencia entre la longitud de onda y la distribución de la intensidad de luz esparcida ($I(r, \theta) \propto 1/\lambda^4$), mediante la Ec. 3.17 se calcula la sección transversal de esparcimiento:

$$\sigma_s = \frac{8\pi a^2 x^4}{3} \left| \frac{n_{rel}^2 - 1}{n_{rel}^2 + 2} \right|^2 \quad (3.17)$$

Y la eficiencia de esparcimiento se calcula mediante la ecuación 3.18:

$$Q_s = \frac{8x^4}{3} \left| \frac{n_{rel}^2 - 1}{n_{rel}^2 + 2} \right|^2 \quad (3.18)$$

En las ecuaciones 3.17 y 3.18 los términos: a es el radio de la esfera, x es un parámetro definido por la Ec. 3.19, k es una constante de propagación (Ec. 3.21), λ es la longitud de onda en el vacío, n_{rel} es el índice de refracción relativo de la partícula (Ec. 3.20), n_s es el índice de refracción de la partícula y n_b es el índice de refracción del medio.

$$x = ka \quad (3.19)$$

$$n_{rel} = \frac{n_s}{n_b}, \quad (3.20)$$

$$k = \frac{2\pi n_b}{\lambda} \quad (3.21)$$

La teoría de esparcimiento Mie se utiliza generalmente cuando la partícula es del orden la longitud de onda, aunque puede modelar cualquier tamaño de partícula. La teoría de Mie consiste en una solución exacta a las ecuaciones de Maxwell de una onda monocromática [68].

En la teoría de esparcimiento Mie [66] la eficiencia de esparcimiento Q_s y el factor de anisotropía g se puede calcular con las ecuaciones 3.22 y 3.23:

$$Q_s = \frac{2}{x^2} \sum_{l=1}^{\infty} (2l+1) (|a_l|^2 + |b_l|^2), \quad (3.22)$$

$$g = \frac{4}{Q_s x^2} \sum_{l=1}^{\infty} \left[\frac{l(l+2)}{l+1} \text{Re}(a_l a_{l+1}^* + b_l b_{l+1}^*) + \frac{2l+1}{l(l+1)} \text{Re}(a_l b_l^*) \right], \quad (3.23)$$

donde el parámetro $x = ka$, l es un número entero, los coeficientes a_l y b_l están dados por las siguientes ecuaciones:

$$a_l = \frac{\psi'_l(y)\psi_l(x) - n_{rel}\psi_l(y)\psi'_l(x)}{\psi'_l(y)\zeta_l(x) - n_{rel}\psi_l(y)\zeta'_l(x)} \quad (3.24)$$

$$b_l = \frac{n_{rel}\psi'_l(y)\psi_l(x) - \psi_l(y)\psi'_l(x)}{n_{rel}\psi'_l(y)\zeta_l(x) - \psi_l(y)\zeta'_l(x)} \quad (3.25)$$

En las ecuaciones 3.24 y 3.25 el primer superíndice denota diferenciación de primer orden y el parámetro y está definido por [66]:

$$y = n_{rel}x = \frac{2\pi n_s a}{\lambda} \quad (3.26)$$

Las funciones de Riccati-Bessel representan soluciones a la ecuación de Helmholtz por el método de separación por variables en coordenadas esféricas y están definidas por las siguientes ecuaciones [66]:

$$\psi_l(z) = zj_l(z) = \left(\frac{\pi z}{2}\right)^{\frac{1}{2}} J_{l+\frac{1}{2}}(z) = S_l(z) \quad (3.27)$$

$$X_l(z) = -zy_l(z) = -\left(\frac{\pi z}{2}\right)^{\frac{1}{2}} Y_{l+\frac{1}{2}}(z) = C_l(z) \quad (3.28)$$

$$\zeta_l(z) = \psi_l(z) + iX_l(z) = zh_l^{(2)}(z) = \left(\frac{\pi z}{2}\right)^{\frac{1}{2}} H_{l+\frac{1}{2}}^{(2)}(z) \quad (3.29)$$

Aquí, l y $l + \frac{1}{2}$ son los ordenes; $j_l()$ y $y_l()$ denotan las funciones de Bessel esféricas de primera y segunda clase, respectivamente; $J_l()$ y $Y_l()$ denotan las funciones de Bessel de primera y segunda clase, respectivamente; $h_l^{(2)}()$ denotan la función de Hankel esférica de segunda clase; $H_l^{(2)}()$ denota la función de Hankel de segunda clase; y $S_l()$ y $C_l()$ son símbolos alternativos que son comúnmente usados [66].

$$h_l^{(2)}() = j_l() - iy_l() \quad (3.30)$$

$$H_l^{(2)}() = J_l() - iY_l() \quad (3.31)$$

En la página web del Dr. Scott Prah (http://omlc.org/calc/mie_calc.html) se encuentra disponible una calculadora para obtener el factor de anisotropía y el coeficiente de esparcimiento, esta calculadora se basa en la teoría de esparcimiento de Mie. Para los cálculos sólo es necesario ingresar el diámetro de las partículas esparcidoras, la longitud de onda de la luz incidente, el índice de refracción del medio, el índice de refracción y

concentración de las partículas esparcidoras. La teoría de esparcimiento de Mie del algoritmo es válida sólo, si no hay absorción.

3.2.6 Refracción y Reflexión

La refracción es el cambio de dirección y velocidad de la luz cuando pasa de un medio a otro con diferente índice de refracción como se observa en la figura 3.7, este fenómeno se puede explicar usando la ley de Snell (Ec. 3.32). El índice de refracción (n) es la relación entre la velocidad de propagación de la onda en el vacío y su velocidad en el medio [13].

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (3.32)$$

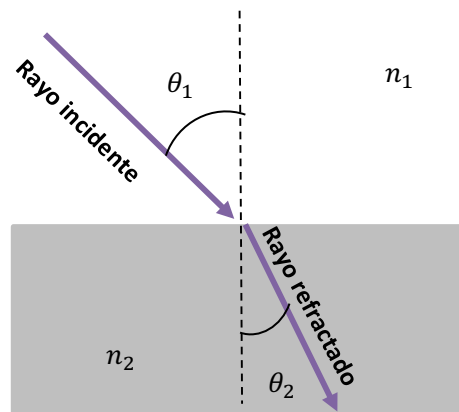


Figura 3.7. Refracción de luz.

La luz reflejada por la piel se puede considerar como la suma de dos tipos de reflexión, la reflexión especular y la reflexión difusa. La reflexión especular es debido a la diferencia entre los índices de refracción del aire y la piel, esta se rige por las leyes de Fresnel y es aproximadamente 2.4 % de la luz incidente. La reflexión de Fresnel, la incidencia normal a la superficie, se calcula mediante la siguiente ecuación [13]:

$$R_{Fresnel} = \frac{(n_1 - n_2)^2}{(n_1 + n_2)^2} \quad (3.33)$$

La reflexión difusa es aquella que logró entrar al tejido y después de sufrir algunos eventos de esparcimiento y absorción es retroesparcida por la piel.

3.2.7 Transmisión

La transmisión se define como la relación entre la intensidad de luz transmitida y la intensidad de luz incidente sobre el material [13].

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3.34)$$

Cuando la luz que pasa por la muestra sufre de eventos de esparcimiento y aun así logra ser transmitida se dice que se trata de transmitancia difusa. Si la luz pasa directamente sin sufrir esparcimiento, se dice que es transmisión directa o colimada.

3.3 ECUACIÓN DE TRANSFERENCIA RADIATIVA

Hay dos maneras de abordar la propagación de luz en un tejido biológico, por una parte, tenemos la solución analítica que se basa en el uso de las ecuaciones de Maxwell y por otro lado se tiene la ETR. La solución analítica no es factible ya que las aproximaciones que se tienen que utilizar son muy complejas [13, 62].

La ETR describe cómo se propaga la luz en un medio donde existen múltiples eventos de esparcimiento y absorción. Esta ecuación consiste en un balance de energía, el balance consiste de 4 términos, dos contribuciones negativas y dos positivas ver ecuación 3.35 [66].

$$\frac{\partial L(\vec{r}, \hat{s}, t)/c}{\partial t} = -\hat{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, \hat{s}, t) - (\mu_a + \mu_s)L(\vec{r}, \hat{s}, t) + \mu_s \int_{4\pi} L(\vec{r}, \hat{s}', t)p(\hat{s}', \hat{s})d\Omega' + S(\vec{r}, \hat{s}, t) \quad (3.35)$$

De la ecuación anterior se tienen los siguientes términos:

$L(\vec{r}, \hat{s}, t)$: Representa la irradiancia que fluye desde la posición \vec{r} en la dirección \hat{s} en un tiempo t y cuyas unidades son $Wm^{-2} sr^{-1}$.

$d\Omega'$: Es el ángulo sólido diferencial en la dirección \hat{s}' .

$p(\hat{s}', \hat{s})$: Es la función de fase.

Consideremos un elemento diferencial de volumen en el que se hace incidir luz perpendicular a dA en dirección \hat{s} en un tiempo t desde la posición \vec{r} (ver figura 3.8).

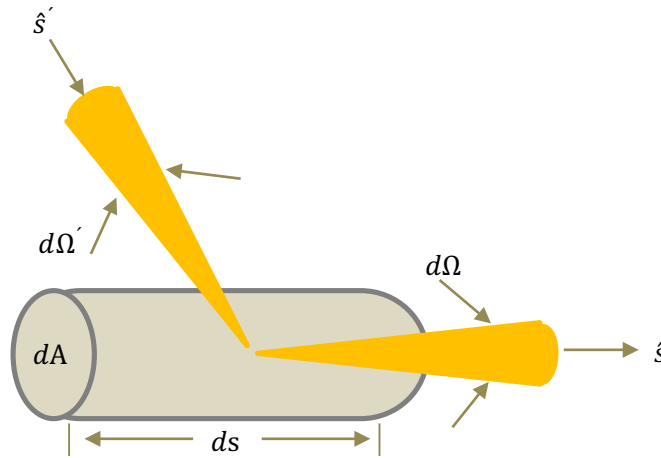


Figura 3.8. Esquema diferencial de un elemento de volumen al que se le hace incidir luz.

El cambio de energía en el elemento de volumen es igual a 4 contribuciones de energía [66]:

$$dP = -dP_{div} - dP_{ext} + dP_{esp} + dP_{fuente} \quad (3.36)$$

1. Divergencia dP_{div} : Representa la energía perdida cuando el haz de luz incidente sobre el elemento de volumen no está colimado. Debido a esto habrá luz divergente hacia fuera del elemento de volumen que se debe considerar como energía perdida $\hat{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, \hat{s}, t)$ [66].
2. Extinción dP_{ext} : Representa la energía perdida debido a la absorción y esparcimiento de luz dentro del elemento de volumen $(\mu_a + \mu_s)L(\vec{r}, \hat{s}, t)$ [66].
3. Esparcimiento dP_{esp} : Energía que entra al elemento de volumen desde cualquier otra dirección \hat{s}' y es esparcida en la dirección \hat{s} , $\mu_s \int_{4\pi} L(\vec{r}, \hat{s}', t)p(\hat{s}', \hat{s})d\Omega'$ [66].
4. Fuente dP_{fuente} : Es aquella energía generada internamente dentro del elemento de volumen y ángulo sólido $S(\vec{r}, \hat{s}, t)$ [66].

La ETR asume que las partículas esparcidoras y absorbentes están distribuidas uniformemente dentro del tejido biológico además de que no hay interacción entre ellas [70, 71].

3.4 INVERSE ADDING DOUBLING (IAD)

La técnica Inverse Adding Doubling (IAD), es un método iterativo que usa el algoritmo Adding Doubling para resolver la ETR de manera inversa hasta que los valores calculados de reflexión y transmisión de luz son igualados a los experimentales. IAD recupera las propiedades ópticas de absorción y esparcimiento a partir del conocimiento de otros datos: reflectancia total, transmitancia y factor de anisotropía [66].

La técnica IAD inicialmente asume un valor de reflexión y otro de transmisión conocidos para una muestra infinitamente delgada. En seguida para conocer las propiedades ópticas de una rebanada al doble de grueso, se añaden las contribuciones de reflexión y transmisión de otra muestra exactamente igual a la inicial [70, 71]. Es decir, la aproximación sugiere que la energía que entra a la muestra se atenúa en un 50% cuando ha recorrido la mitad de su grosor. Esta es la principal aproximación de IAD y debido a esto es computacionalmente muy rápido. IAD consiste de los siguientes pasos [71] :

- 1) Propone un grupo propiedades ópticas.
- 2) Mediante Adding Doubling calcula la reflexión y transmisión.
- 3) Los valores calculados de reflexión y transmisión son comparados con los medidos.
- 4) Se repite el procedimiento hasta igualar los datos medidos con los calculados.

Cuando se iguala los valores de reflexión y transmisión se toman las propiedades ópticas propuestas como las de la muestra.

3.4.1 Adding Doubling

El método adding doubling (AD) resuelve numéricamente la ETR y fue desarrollado por Van de Hulst. Este método hace las siguientes suposiciones: los límites de la muestra están gobernados por las leyes de Fresnel, la distribución de luz no depende del tiempo, el medio cuenta con propiedades óptica homogéneas, la geometría de la muestra es una lámina plana infinita y de espesor limitado, la muestra tiene un índice de refracción uniforme y la luz es no polarizada [72].

Cuando se hace incidir luz sobre una muestra a un ángulo ν habrá una reflexión de luz y transmisión en diversas cantidades que dependerá del ángulo de partida, de aquí surgen dos conceptos conocidos como la función de reflexión ($R(\nu', \nu)$) y función de transmisión ($T(\nu', \nu)$). La función de reflexión y transmisión se definen como la radiación reflejada o transmitida, respectivamente, por la muestra en la dirección ν cuando la luz incidente tiene una dirección ν' (figura 3.9). Estas funciones son normalizadas para un flujo difuso incidente y así mejorar la precisión [72].

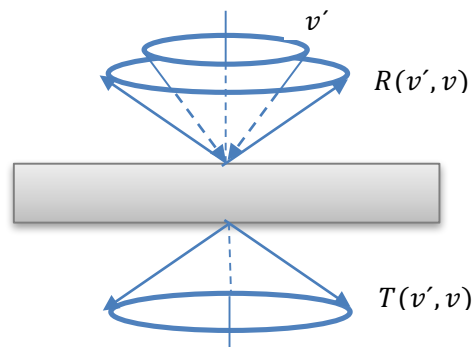


Figura 3.9. Luz incidente en un ángulo ν' que es reflejada y transmitida por la lámina a un ángulo ν (imagen adaptada de [68]).

La distribución de intensidad reflejada $I_{ref}(\nu)$ para una intensidad incidente $I_{in}(\nu')$ se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$I_{ref}(\nu) = \int_0^1 I_{in}(\nu') R(\nu', \nu) 2\nu' d\nu' \quad (3.37)$$

Mediante el cálculo de las funciones de reflexión y transmisión se pueden calcular la reflexión y transmisión total cuando la irradiación incidente es colimada (ecuaciones 3.38 y 3.40) o difusa (ecuaciones 3.39 y 3.41) [72]:

$$R_c = \int_0^1 R(1, \nu) 2\nu d\nu \quad (3.38)$$

$$R_d = \iint_0^1 R(\nu', \nu) 2\nu' d\nu' 2\nu d\nu \quad (3.39)$$

$$T_c = \int_0^1 T(1, v) 2v dv \quad (3.40)$$

$$T_d = \iint_0^1 T(v', v) 2v' dv' 2v dv \quad (3.41)$$

Resolviendo un conjunto de matrices se pueden conocer los operadores de transmisión y reflexión:

$$R(v', v) \rightarrow R_{ij}; \quad T(v', v) \rightarrow T_{ij} \quad (3.42)$$

AD primero comienza con una capa delgada inicial de la cual se calculan los operadores de reflexión y transmisión (Ec. 3.42), después la capa inicial se duplica hasta alcanzar el espesor deseado [73]. Para encontrar las ecuaciones que ayuden a calcular los operadores de transmisión y reflexión de capas yuxtapuestas, se realiza el razonamiento que se explica a continuación.

En la figura 3.10 se muestra una capa inicial en la que el vector L_0^+ es la radiancia incidente en el lado 0 de la capa01 en dirección hacia abajo (signo positivo) y el vector L_1^- es la radiancia incidente en el lado 1 de una capa01 con dirección hacia arriba (signo negativo). Del mismo modo L_0^- y L_1^+ son las radiancias en las fronteras 0 y 1 respectivamente con sus correspondientes direcciones.

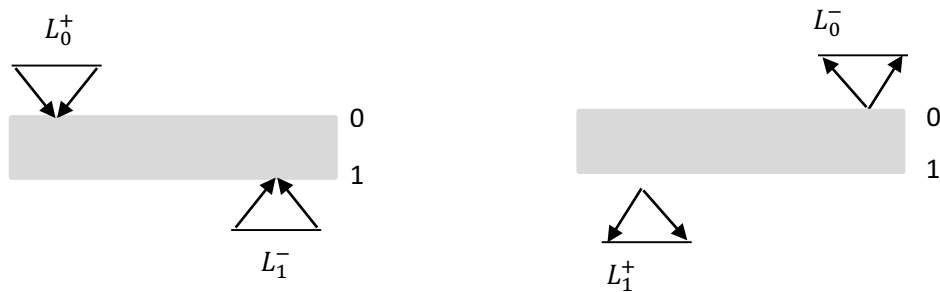


Figura 3.10. Representación gráfica de la incidencia de radiancia.

La radiancia L_1^+ es la suma de la radiancia incidente transmitida desde el lado 0 y la reflejada desde la frontera 1 como se observa en la figura 3.11.

$$L_1^+ = T_{01}L_0^+ + R_{10}L_1^- \quad (3.43)$$

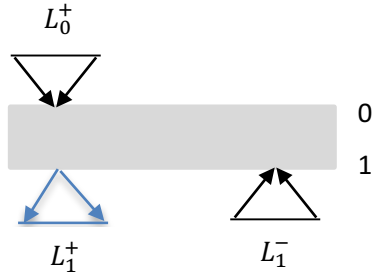


Figura 3.11. Radiancia hacia abajo de la frontera 1.

La radiancia hacia arriba (L_0^-) en la frontera 0 es la suma de la radiancia transmitida en el lado 1 más la reflejada en el lado 0, figura 3.12.

$$L_0^- = R_{01}L_0^+ + T_{10}L_1^- \quad (3.44)$$

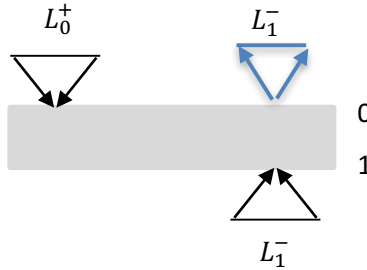


Figura 3.12. Radiancia hacia arriba en la frontera 0.

De manera similar se pueden encontrar las radiancias para una capa con fronteras 12 (ecuaciones 3.45 y 3.46).

$$L_2^+ = T_{12}L_1^+ + R_{21}L_2^- \quad (3.45)$$

$$L_1^- = R_{12}L_1^+ + T_{21}L_2^- \quad (3.46)$$

Si se yuxtaponen las capas 01 y 12 se genera una capa con límites 02, cuyas radiancias son:

$$L_2^+ = T_{02}L_0^+ + R_{20}L_2^- \quad (3.47)$$

$$L_0^- = R_{02}L_0^+ + T_{20}L_2^- \quad (3.48)$$

Usando las ecuaciones anteriores se pueden obtener la transmitancia y reflectancia de la capa compuesta por dos capas individuales en términos de los operadores de reflexión y transmisión para cada capa.

$$T_{02} = T_{12}(E - R_{10}R_{12})^{-1}T_{12} \quad (3.49)$$

$$R_{20} = T_{12}(E - R_{10}R_{12})^{-1}R_{10}T_{21} + R_{21} \quad (3.50)$$

$$T_{20} = T_{10}(E - R_{12}R_{10})^{-1}T_{21} \quad (3.51)$$

$$R_{02} = T_{10}(E - R_{12}R_{10})^{-1}R_{12}T_{01} + R_{01} \quad (3.52)$$

De donde E es la matriz identidad y se expresa de la siguiente manera:

$$E_{ij} = \frac{1}{2\nu_i w_i} \delta_{ij} \quad (3.53)$$

De la Ec. 3.53: ν_i es el ángulo de incidencia, w_i es el peso (constante que ayuda a minimizar el error dentro de las integrales en el método de cuadratura Ec. 3.54) correspondiente al i -ésimo punto de cuadratura y δ_{ij} es la función delta de Kroneker (toma valores de 0 cuando $i = j$ y 1 cuando $i \neq j$).

Los pasos que sigue adding doubling son los siguientes:

1. Selección de cuadratura.
2. Crear capa de inicio.
3. Crear las capas límite.
4. Se duplica la capa inicial hasta alcanzar el espesor deseado.
5. Añadir capas límite.
6. Calculo la reflexión y transmisión.

3.4.1.1 Cuadratura

Para solucionar las integrales en las ecuaciones 3.38-3.41 se utilizan métodos de cuadratura (Ec. 3.54). La mayor parte de las integrales usadas en el método adding doubling se encuentran en el rango de 0 a 1 debido a que el ángulo varia de 0 a $\pi/2$. Los métodos de cuadratura que se pueden utilizar son: Gaussian, Lobatto y Radau [72]. El método utilizado

dependerá del rango de integración. La cuadratura Gaussiana elige los puntos donde se tiene que evaluar la integral de manera óptima. En AD se puede configurar el número de puntos de cuadratura para aproximar las integrales.

$$\int_0^1 f(v, v') dv' = \sum_{i=1}^n w_i f(x_i) \quad (3.54)$$

De la ecuación 3.54: x_i representa los valores de los puntos de cuadratura, w_i son los pesos o coeficientes ponderados (Ec.57) y se eligen de tal manera que la integral se aproxime a un polinomio de orden $2n-1$ ó $2n-2$, finalmente n representa los puntos de cuadratura. Mediante el polinómico de Legendre (Ec. 3.55) se calculan las raíces (x_1, x_2, \dots, x_n) , estas raíces son los puntos en donde se evaluará la aproximación de la integral.

$$P_{n-1}(x_i) + \frac{x_i - 1}{n} P'_{n-1}(x_i) = 0, \quad (3.55)$$

donde $P_n(x)$ es el polinomio de Legendre de grado n (Ec. 3.56) y $P'_{n-1}(x_i)$ es la derivada del polinomio de Legendre de grado $n - 1$.

$$P_n(x) = \frac{1}{2^n n!} \frac{d^n}{dx^n} (x^2 - 1)^n \quad (3.56)$$

$$w_i = \frac{1 - v_c}{(1 - x_i) \sqrt{P'_{n-1}(x_i)}} \quad (3.57)$$

v_c es el coseno del ángulo crítico (ángulo máximo en el que la luz puede salir de la lámina delgada) para la reflexión total interna en la capa límite.

La Ec. 3.23 puede ser expresada de la siguiente manera cuando se usa cuadratura [72]:

$$R_c = \int_0^1 R(1, v) 2v dv \approx \sum_{i=1}^n 2v_i w_i R_{in} \quad (3.58)$$

Cuando se tienen dos funciones en la integral, ésta se puede expresar como [72]:

$$\int_0^1 A(v, v') B(v, v'') 2v' dv' \approx \sum_{j=1}^n A_{ij} 2v_j w_j B_{ik} \quad (3.59)$$

Existe una relación entre la integración numérica y la multiplicación matricial (Ec. 3.57) [72]:

$$(AB)_{ik} = \sum_{j=1}^n A_{ij} 2v_j w_j B_{jn} = \int_0^1 A(v, v') B(v, v'') 2v' dv' \quad (3.60)$$

Cuando se tienen diferentes índices de refracción en los límites, es necesario añadir una capa adicional para cada límite. Debido a que la reflexión y transmisión de esta capa es 0 y 1 cuando la luz incidente supera el ángulo crítico es necesario cambiar el rango de integración. El intervalo de integración se puede cambiar, este cambio reduce el intervalo de integración de v_c a 1. La integral entonces tiene que ser dividida en dos partes (Ec. 3.61) [72].

$$\int_0^1 A(v, v') B(v, v'') 2v' dv' = \int_0^{v_c} A(v, v') B(v, v'') 2v' dv' + \int_{v_c}^1 A(v, v') B(v, v'') 2v' dv' \quad (3.61)$$

De la Ec. 3.61 los términos $A(v, v')$ y $B(v, v'')$ representan las funciones de reflexión y transmisión. El método de integración Gaussiana se puede usar en el rango de 0 a v_c y cuadratura Radau en el rango de v_c a 1. Si no existe ángulo crítico se puede usar cuadratura Radau en el rango de 0 a 1 [72].

3.4.1.2 Inicialización

Existen diferentes técnicas para inicializar el método AD (inicialización de diamante, generador infinitesimal y esparcimiento sucesivo), estos métodos consisten en determinar los operadores de reflexión y transmisión para una capa inicial delgada [72]. Algunos estudios han demostrado que la inicialización de diamante es el mejor método, este método consiste en reescribir la ETR en forma unidimensional, azimutal e independiente del tiempo (Ec. 3.62).

$$v \frac{\partial L(\tau, v)}{\partial \tau} + L(\tau, v) = \frac{a^*}{2} \int_{-1}^1 h(v, v') L(\tau, v') dv' \quad (3.62)$$

El siguiente paso consiste en reescribir la ecuación anterior en su forma discreta:

$$\pm v_i \frac{\partial L(\tau, \pm v_i)}{\partial \tau} + L(\tau, \pm v_i) = \frac{a^*}{2} \sum_{j=1}^M w_j [h(v_i, v_j) L(\tau, \pm v_i) + h(v_i, -v_j) L(\tau, \pm v_i)] \quad (3.63)$$

Integrando la ecuación anterior en un rango de τ_0^* a τ_1^* se llega a la Ec. 3.64 esta ecuación puede ser reemplazada por un promedio de radiancias en los límites superior e inferior de la capa (Ec. 3.65):

$$L_{1/2}(\nu) = \frac{1}{\Delta\tau^*} \int_{\tau_0^*}^{\tau_1^*} L(\tau, \nu) d\tau, \quad (3.64)$$

donde $\Delta\tau^* = \tau_1^* - \tau_0^*$.

$$L_{1/2}(\nu) = \frac{1}{2} [L(\tau_0^*, \nu) + L(\tau_1^*, \nu)] \quad (3.65)$$

Después de manipulaciones algebraicas en la ecuación 3.64 se obtiene las ecuaciones 3.66 y 3.67 que expresan la reflexión y transmisión de una capa con espesor $\Delta\tau^*$ [72]:

$$R_{\Delta\tau^*} = 2GB(\delta_{ij} + A)^{-1} \quad (3.66)$$

$$T_{\Delta\tau^*} = 2G - \delta_{ij} \quad (3.67)$$

Los términos A, B, G y c son:

$$A = \left[\frac{1}{\nu_i} \delta_{ij} \right] \left(\delta_{ij} - \frac{a^*}{2} h^{++c} \right) \frac{\Delta\tau^*}{2} \quad (3.68)$$

$$B = \frac{a^*}{2} \left[\frac{1}{\nu_i} \delta_{ij} \right] h^{+-c} \frac{\Delta\tau^*}{2} \quad (3.69)$$

$$G = [\delta_{ij} + A - B(\delta_{ij} + A)^{-1}B]^{-1} \quad (3.70)$$

$$c = [w_i \delta_{ij}] \quad (3.71)$$

El término h representa una función de redistribución que determina la fracción de luz que es esparcida desde un cono de luz incidente con ángulo ν_i hasta otro con ángulo ν_j . Los signos en la función de redistribución representan la dirección de los ángulos ν_i y ν_j , el primer signo indica la dirección del ángulo incidente y el segundo la dirección de la luz esparcida.

3.4.1.3 Capas límite

Cuando se tienen condiciones de contorno se añade una capa adicional, las matrices resultantes van a depender de la física de la interacción de la luz en la interfaz. En el caso de tener diferentes índices de refracción en la capa límite se utiliza la Ec. 3.72 y 3.73 [72].

$$R_{01}(v_i, v_j) = \frac{r(v_i)}{2v_i} \delta_{ij} \quad (3.72)$$

$$T_{01}(v_i, v_j) = \frac{1 - r(v_i)}{2v_i} \left(\frac{n_{12}}{n_{01}} \right)^2 \delta_{ij} \quad (3.73)$$

donde n_{01} y n_{12} representan los índices de refracción de los dos medios y $r(v_i)$ es el coeficiente de reflexión de Fresnel.

3.4.2 Funcionamiento IAD

IAD es una técnica desarrollada por Scott Prah para obtener propiedades ópticas de un material, la técnica requiere de mediciones de reflexión y/o transmisión de la muestra bajo estudio que son introducidas en el programa IAD. IAD se basa en el método adding-doubling para obtener las propiedades ópticas que generan los valores de reflexión y transmisión medidos, esto es posible debido a que existe una solución única, es decir para un conjunto de mediciones (reflexión y/o transmisión), existe un conjunto único de propiedades ópticas [74]. IAD realiza un conjunto de iteraciones usando un algoritmo de minimización para encontrar las propiedades ópticas basado en el método simplex Nelder-Mead [74]. Este método ayuda a encontrar una solución óptima para la función objetivo, realizando una comparación de valores obtenidos de la función objetivo evaluada en los vértices de un simplex (geometría que encierra un conjunto de $n+1$ puntos, donde n es el número de dimensiones del problema, por ejemplo en el caso de dos dimensiones ($n=2$) el simplex es un triángulo), los peores valores obtenidos de la función se reemplazan por nuevos vértices generando un nuevo simplex, la búsqueda continua hasta encontrar las coordenadas del punto mínimo [75].

Mediante la Ecuación 3.74 se pueden definir qué tan lejos o cerca están los valores medidos de los calculados y está basada en suma de errores relativos [74]:

$$M(\alpha, \tau, g) = \frac{|R_{calc} - R_{med}|}{R_{med} + 10^{-6}} + \frac{|T_{calc} - T_{med}|}{T_{med} + 10^{-6}} \quad (3.74)$$

R_{calc} y T_{calc} son la reflexión y transmisión calculadas, R_{med} y T_{med} son la reflexión y transmisión medidas y el factor 10^{-6} se añade a la fórmula para evitar una división por cero. El código del programa IAD se encuentra disponible en: <http://omlc.org/software/iad/>. Para ejecutar el programa se tiene que generar un archivo con los datos apropiados del experimento y las mediciones correspondientes, el programa tiene la capacidad de recuperar una o dos propiedades ópticas. Cuando se tienen las mediciones de reflexión y transmisión de la muestra se pueden determinar dos propiedades ópticas, para el caso en el que sólo se disponga de una medición (reflexión o transmisión), sólo se puede recuperar una propiedad óptica. A continuación, se presenta el formato del archivo de entrada a IAD [74].

```

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

1.0 # [mm] Espesor muestra
1.0 # [mm] Espesor celdas
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 de la esfera usada para las mediciones de transmitancia

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

2 # Número de mediciones, M_R, M_T

#lambda M_R M_T

```

800 0.16830 0.24974

810 0.16271 0.26479

820 0.16289 0.25530

Si el archivo de entrada generado se llama datos, el programa IAD se puede ejecutar desde la línea de comando, introduciendo el nombre del archivo:

```
iad datos.txt
```

Cuando se tienen dos mediciones (transmitancia y reflexión) se pueden recuperar dos propiedades ópticas (coeficiente de absorción y esparcimiento), el programa debe ejecutarse con un dato de entrada (factor de anisotropía) y las dos mediciones de reflexión y transmisión:

```
iad -g 0.97 datos.txt
```

En el caso de que sólo se cuente con una sola medición por ejemplo reflexión, para ejecutar el programa se deben introducir además dos propiedades (coeficiente de esparcimiento (-F) y factor de anisotropía (-g)):

```
iad -g 0.97 -F 0.87 datos.txt
```

IAD genera un archivo de salida, cuyo nombre es el mismo que el archivo de entrada con extensión .txt. Este archivo contiene un resumen de las condiciones experimentales y el conjunto de propiedades ópticas con sus respectivas mediciones (transmitancia y reflectancia). El archivo de salida tiene el siguiente formato:

#	Meas	Calc	Meas	Calc	Calc	Calc	Calc	Calc
##wave	M_R	M_R	M_T	M_T	mu_a	mu_s'	g	número
# [nm]	[---]	[---]	[---]	[---]	[1/mm]	[1/mm]	[---]	[---]
600.0	0.4378	0.4378	0.1808	0.1808	0.0190	0.8708	0.0000	0
601.0	0.4319	0.4319	0.1754	0.1754	0.0199	0.8702	0.0000	0
602.0	0.4265	0.4265	0.1706	0.1706	0.0208	0.8681	0.0000	0

donde la primera columna contiene la longitud de onda, las columnas 2 y 3 son la reflectancia medida y simulada respectivamente, las columnas 4 y 5 son la transmitancia medida y simulada respectivamente, la columna 6 es el coeficiente de absorción calculado,

la columna 7 es el coeficiente de esparcimiento reducido, la columna 8 representa el factor de anisotropía y la columna 9 muestra el estado de la simulación (convergencia).

El tiempo de cómputo de IAD va a depender del procesador de la computadora, del tipo de muestra y grosor óptico, por ejemplo, cuando se desean recuperar las propiedades ópticas de una muestra con muchos elementos esparcidos, IAD tarda más tiempo que con una muestra con menos elementos esparcidos. Para una muestra como la piel, conociendo su coeficiente de esparcimiento, factor de anisotropía y la luz que es reflejada por dicha muestra, el tiempo que tarda IAD para recuperar un solo dato es de 1.03 segundos aproximadamente, con un procesador Intel(R) Core(TM) i5 CPU M 540 @2.53GHz (4CPUs), ~2.5GHz.

En la siguiente sección se realiza un análisis del desempeño de Monte Carlo y una comparación de la eficiencia del IAD contra Monte Carlo.

3.4.3 Monte Carlo

El método Monte Carlo simula la propagación de fotones en tejidos biológicos debido a una fuente de luz, el de transporte de los fotones se rigen por normas como distribuciones de probabilidad que describen las distancias de propagación de fotones entre los sitios de interacción con los tejidos (coeficiente de absorción y esparcimiento) y ángulos de desviación en la trayectoria del fotón cuando se produce el esparcimiento (factor de anisotropía). Monte Carlo calcula transmitancia, reflectancia y absorbancia a partir del conocimiento de otros datos: coeficiente de absorción, coeficiente de esparcimiento y factor de anisotropía [76]. El software Monte Carlo Multi-Layered (MCML) desarrollado por Steven Jacques se encuentra en la página web <http://omlc.org/software/mc/mcml/index.html>. Este programa no tiene aproximaciones debido a que su funcionamiento es estadístico, por lo tanto, es capaz de calcular la reflectancia y la transmitancia de una muestra a partir de sus propiedades ópticas con suficiente precisión a costa de tiempo computacional.

3.4.4 Desempeño Monte Carlo vs IAD

Para evaluar el desempeño del método Monte Carlo, se realizó un análisis de la precisión en los resultados, ejecutando la misma simulación varias veces con MCML para diferentes números de fotones. Se graficaron los valores medios obtenidos en la simulación y su desviación estándar en cada caso. Para este análisis se consideró una muestra simplificada que consiste en una sola capa de material turbio contenida en una celda de vidrio, cuyas especificaciones se describen en la tabla 3.1

Tabla 3.1. Datos para simulación en Monte Carlo.

Coefficiente de absorción μ_a	1.0 [cm ⁻¹]
Coefficiente de esparcimiento μ_s	80.0 [cm ⁻¹]
Factor de anisotropía g	0.8
Índice de refracción de la muestra	1.4
Índice de refracción de los vidrios	1.5
Espesor físico de la muestra	0.2 [cm]
Espesor de los vidrios	0.1 [cm]

El programa MCML se ejecutó 15 veces para 6 diferentes números de fotones, los valores medios se observan en la figura 3.13, donde es claro que la barra de error disminuye significativamente con el aumento en el número de fotones.

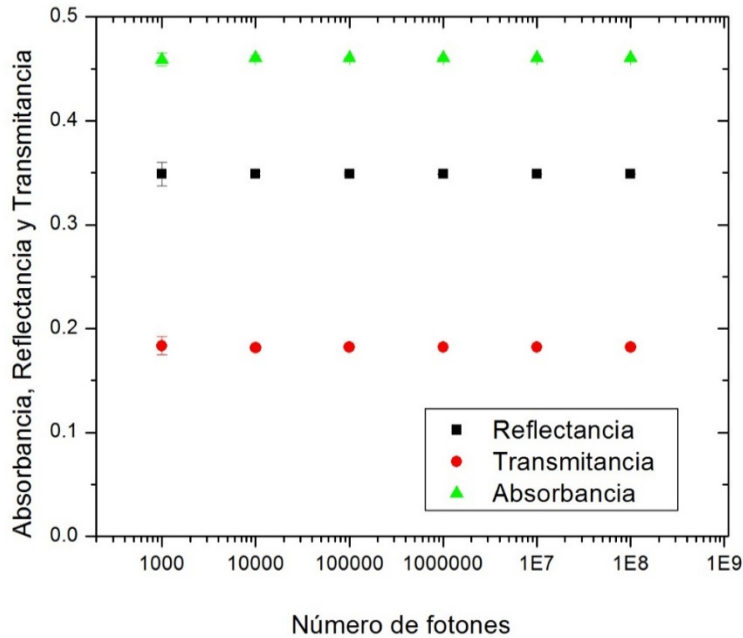


Figura 3.13. Transmitancia, Reflectancia y Absorbancia calculadas con Monte Carlo para diferente número de fotones.

Debido a que, entre mayor estadística, los resultados de MCML mejoran y dado que para 1×10^8 fotones, la barra de error es despreciable, los valores de reflectancia y transmitancia se pueden considerar como una referencia confiable. De esta manera, se realizó la recuperación de parámetros ópticos mediante IAD utilizando los valores de transmitancia y reflectancia con 100,000,000 fotones obtenidos de MCML. Las propiedades ópticas obtenidas por IAD se compararon con los valores propuestos inicialmente en la tabla 3.1 el error obtenido se muestra en la tabla 3.2. En dicha tabla se observa que los resultados obtenidos por IAD son buenos ya que los errores son considerablemente pequeños.

Tabla 3.2. Comparación de resultados obtenidos mediante IAD contra teóricos.

	IAD	Teórico	Error
Coeficiente de esparcimiento	79.65 [cm^{-1}]	80 [cm^{-1}]	0.43 %
Coeficiente de absorción	1.03 [cm^{-1}]	1 [cm^{-1}]	3 %

En este trabajo de tesis se eligió trabajar con IAD principalmente por que el tiempo de cálculo es pequeño comparado con Monte Carlo, si se realizaran estos cálculos con Monte Carlo inverso se tardaría aproximadamente 8 horas con 10,000 fotones para recuperar las

propiedades ópticas para un solo dato, esto es demasiado tiempo computacional, considerando que nuestro objetivo es implementar una técnica que muestre las propiedades ópticas de una muestra con el menor retraso posible, IAD es un algoritmo adecuado.

3.5 CONCLUSIONES DE CAPÍTULO

En este capítulo se hizo una descripción de las propiedades ópticas que son de suma importancia para ciertos tratamientos como la TFD, mediante el conocimiento del coeficiente de absorción por ejemplo se pueden suministrar dosis de luz de manera personalizada y así mejorar la eficiencia del tratamiento. Para conocer las propiedades ópticas se recurre a la solución de la ETR que también fue descrita en este capítulo. La ETR es un balance de energía que se puede resolver mediante métodos numéricos como AD o estocásticos como Monte Carlo. IAD es un método que invierte el proceso AD que comienza calculando la reflexión y transmisión de una capa delgada y después obtiene las propiedades ópticas duplicando la capa inicial hasta alcanzar el espesor especificado.

Mediante IAD se pueden calcular las propiedades ópticas a partir del conocimiento de mediciones como la transmisión y reflexión de la muestra.

CAPÍTULO 4. DESARROLLO DEL ALGORITMO COMPUTACIONAL “RECUPERACIÓN DE ESPECTROS DE COEFICIENTE DE ABSORCIÓN (RDECA)”.

En este capítulo se describe el algoritmo computacional RDECA para la recuperación del coeficiente de absorción, el cual utiliza un arreglo experimental para medir la reflexión de la muestra. Debido a esto, en las primeras secciones de este capítulo se explica el arreglo experimental utilizado, se proporciona una breve descripción de los componentes que lo integran, cómo se toman las mediciones de reflexión y transmisión, el funcionamiento del algoritmo y las secciones de la interfaz gráfica del algoritmo.

4.1 ARREGLO EXPERIMENTAL

Para recuperar las propiedades ópticas de una muestra mediante el algoritmo Inverse Adding Doubling (IAD), es necesario conocer datos iniciales de la muestra. Estos datos dependerán del número de propiedades ópticas que se desean recuperar. Cuando se pretende recuperar únicamente el coeficiente de absorción de una muestra, se necesitan como datos de entrada el coeficiente de esparcimiento, el factor de anisotropía y la reflexión de luz a través de la muestra. Mediante el arreglo experimental mostrado en la figura 4.1 se puede medir la cantidad de luz que es reflejada por una muestra. Cuando se desea medir la luz transmitida sólo se cambia la muestra al puerto de entrada y se cierra el puerto de salida con el tapón que sirve como estándar de calibración, dado que su recubrimiento permite una reflexión isotrópica de aproximadamente el 98% en la región visible del espectro electromagnético.

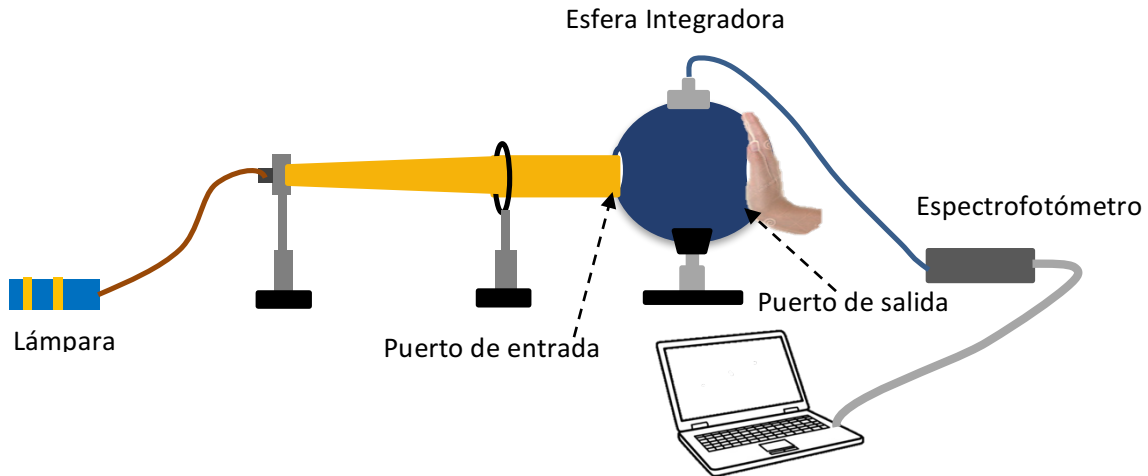


Figura 4.1. Arreglo experimental para medir reflectancia.

El arreglo utilizado para realizar las mediciones de reflexión y transmisión consta de los siguientes componentes: una esfera integradora Newport modelo 819C-SF-6 con sus aditamentos, una lámpara de tungsteno OceanOptics modelo HL-2000, dos fibras ópticas, un espectrofotómetro OceanOptics modelo USB4000, una lente colimadora y una computadora.

A continuación, se realiza una breve descripción de los principales componentes del arreglo experimental mostrado en la figura 4.1 esto ayudará a entender mejor las secciones de la interfaz gráfica del algoritmo computacional "RDECA".

4.1.1 Fibra óptica

Una fibra óptica conduce la luz de un componente óptico a otro, está compuesta de un núcleo dieléctrico (vidrio o polímeros acrílicos), un forro de plástico y revestimiento. Usa los fenómenos de reflexión total interna y la ley de Snell [61] para conducir la luz (figura 4.2). Para que la luz sea completamente transportada por la fibra óptica, la luz incidente debe llegar a la interfase entre el núcleo y el revestimiento a un ángulo mayor que el ángulo crítico, además el índice de refracción del revestimiento debe ser menor que el del núcleo y así producir una reflexión total interna en la fibra óptica. La luz rebota múltiples veces sin perder su intensidad cuando se desplaza [77]. El ángulo crítico es el ángulo de incidencia

mínimo en el que la luz llegará a la interfaz (núcleo-revestimiento) y además tendrá una refracción de 90° o mayor, el ángulo crítico se calcula mediante la siguiente Ec. 4.1 [78]:

$$\text{sen}^{-1}\left(\frac{n_2}{n_1}\right) = \theta_c \quad (4.1)$$

donde n_1 y n_2 son los índices de refracción del núcleo y el revestimiento respectivamente.

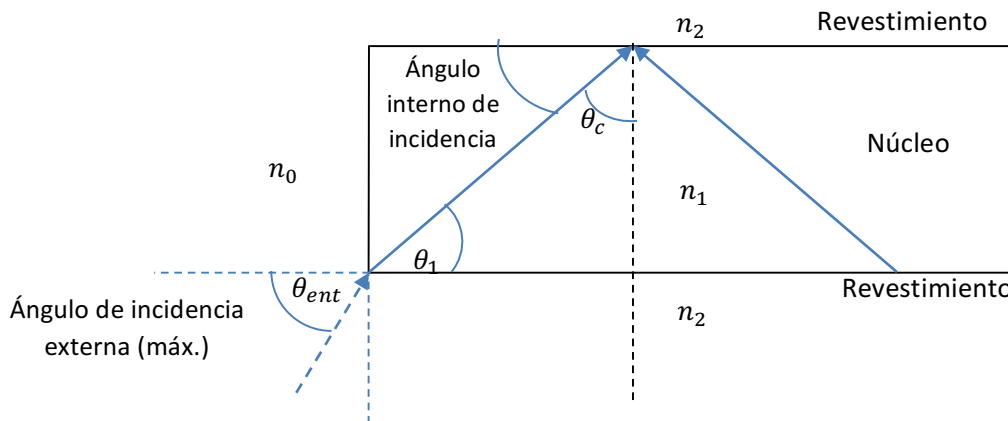


Figura 4.2. Propagación de luz en una fibra óptica (imagen adaptada de [78]).

El ángulo de aceptación θ_{ent} es el ángulo máximo que puede formar la luz incidente para que se pueda propagar en la fibra óptica, se calcula mediante la Ec. 4.2 [78].

$$\theta_{ent} = \text{sen}^{-1}\left(\frac{\sqrt{n_1^2 - n_2^2}}{n_0}\right) \quad (4.2)$$

4.1.2 Espectrofotómetro (USB4000 Ocean Optics)

Un espectrofotómetro es un componente óptico que recibe luz mediante una fibra óptica, la luz es dividida en componentes espectrales por una rejilla de difracción. Esta información es digitalizada en función de su longitud de onda y se muestra a través de un ordenador (ver figura 4.3).

Todo el proceso descrito anteriormente consiste de los siguientes pasos: primero la luz ingresa al banco óptico (región donde se encuentran alineados todos los componentes internos del espectrofotómetro USB4000) a través del conector SMA 905 (componente 1),

enseguida la luz es dirigida a la abertura (componente 2) la cual regula la cantidad de luz que ingresa al banco óptico, después la luz pasa por un filtro (componente 3) en donde se limita el rango de radiación óptico a sólo longitudes de onda predeterminadas. Una vez que la luz pasó por el filtro es dirigida hacia el espejo colimador (componente 4), éste dirige la luz hacia la rejilla de difracción (componente 5), la rejilla difracta la luz proveniente del espejo colimador y la divide en sus componentes espectrales [79]. La rejilla de difracción es un componente óptico hecho de vidrio y recubierto por líneas finas que permite separar la luz (por difracción) en sus diferentes longitudes de onda, la separación entre las líneas marcadas en la rejilla son del mismo orden que la longitud de onda de la luz a dispersar. La separación de la luz se produce debido a las interferencias de los frentes de onda que se generan al interactuar con las líneas finas.

La luz proveniente de la rejilla de difracción se dirige al espejo de enfoque (componente 6), el espejo de enfoque recibe la luz y la dirige al plano detector ultravioleta (250-400 nm) o visible (400-800 nm) (componente 8), el detector recolecta la luz recibida desde el espejo de enfoque y convierte la señal óptica en una señal digital. El detector para el espectrofotómetro USB-4000 es de matriz CCD (dispositivo de carga acoplada, componente 8). El CCD es un circuito integrado y formado por un conjunto de elementos llamados pixeles que son sensibles a la luz. El CCD está compuesto por 3648 pixeles, cada uno de los pixeles responde a la longitud de onda de la luz que incide sobre ella generando una respuesta digital. Esta señal es transmitida a una aplicación de software [79].

El detector L4 (componente 7) es un componente opcional que permite tener una mayor eficiencia en la captación de luz respecto al detector de matriz CCD esto porque reduce los efectos de luz dispersa y va conectado al detector de matriz CCD, el filtro pasa largas variable "VLPOS por sus siglas en inglés" (componente 9) también es un componente opcional y su función es bloquear la luz de segundo y tercer orden, finalmente el componente UV4 es una ventana de cuarzo que reemplaza la ventana estándar del detector (componente 8) y ayuda a mejora el rendimiento del detector, este componente también es opcional y transmite la señal digital a la aplicación del software [79].

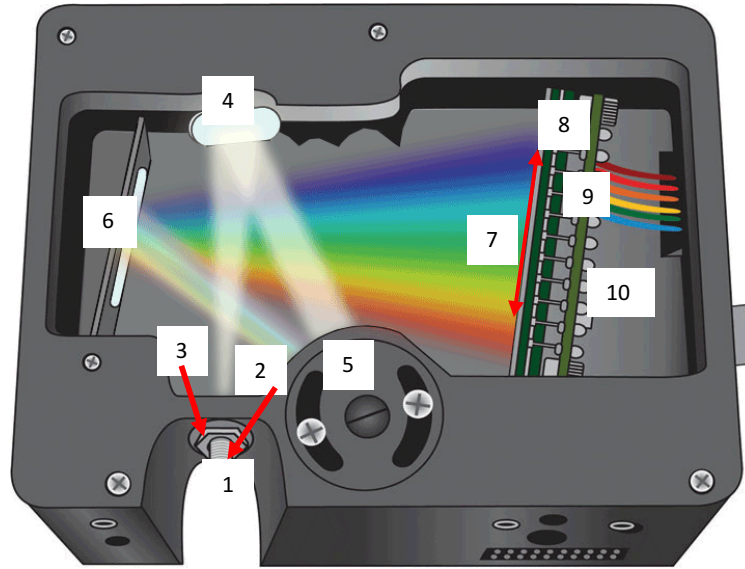


Figura 4.3. Componentes de un banco óptico del espectrofotómetro (Imagen adaptada de [79]).

El espectrofotómetro USB4000 cubre un rango de 344.8 - 1036.68 nm y un tiempo de integración de 3.8 ms – 10 s. El espectrofotómetro se puede configurar para la adquisición de espectros. Los parámetros que se pueden configurar son los siguientes:

- El tiempo de integración es un parámetro que define el tiempo que se deja pasar luz al detector del espectrofotómetro, este parámetro se puede ajustar dependiendo del nivel de iluminación que se tenga, por ejemplo, cuando existe un nivel bajo de iluminación, el tiempo de integración se tiene que alargar para obtener un espectro significativo (que no se confunda con el ruido electrónico del detector). Por el contrario, cuando se tiene un alto nivel de iluminación se debe acortar el tiempo para evitar la saturación del detector. La saturación es resultado de un exceso de fotones en uno o más píxeles que han sobrepasado la capacidad del pozo (pixel polarizado), por lo que los fotones adicionales que entran al pozo no tienen ningún efecto y el espectro obtenido se distorsiona. Las unidades del tiempo de integración deben ser dadas en milisegundos [80].

- El promedio de escaneo es un parámetro que ayuda a reducir el ruido y por lo tanto mejora los espectros obtenidos. Con esta herramienta se toman varios espectros secuenciales y se promedian para entregar un solo espectro. Si el tiempo de integración es elevado y el promedio de escaneo también, entonces el tiempo que tardará en entregar un espectro será mayor [80].
- El ancho *boxcar* ayuda a suavizar el espectro y reducir el ruido, este parámetro promedia un rango especificado de pixeles contiguos del mismo espectro. Cada uno de los pixeles del espectro se promedia con un número determinado de pixeles por ambos lados del pixel para generar un nuevo espectro con los valores promediados [80].

El costo del espectrofotómetro USB4000 es bajo comparado con otros tipos de espectrofotómetros debido al tipo de detector que contiene.

4.1.3 Lámpara

La fuente utilizada en el arreglo experimental es una lámpara de tungsteno HL-2000 (ver figura 4.4) que proporciona radiación en el visible e infrarrojo cercano, la potencia de salida mínima es de 0.00088 W y la máxima es de 0.0045 W y esta potencia se encuentra distribuida en todo el espectro (ver figura 4.5). La lámpara contiene un ventilador que ayuda a mantener una temperatura estable [81].



Figura 4.4. Lámpara de tungsteno
(Imagen extraída de [81]).

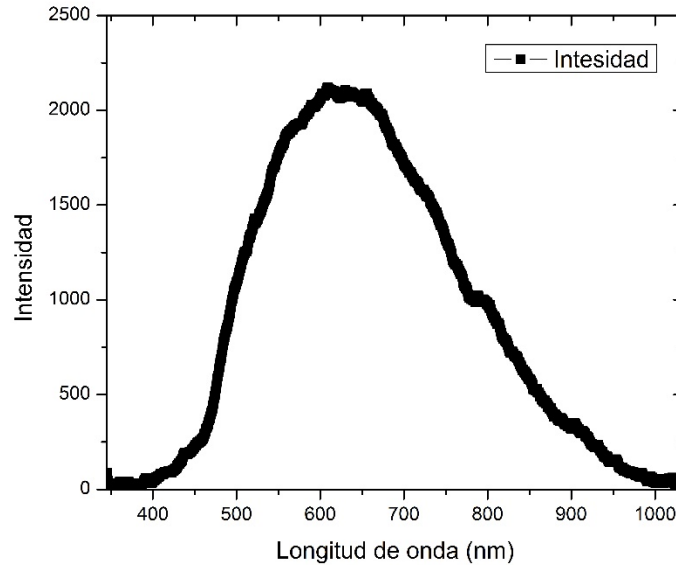


Figura 4.5. Espectro de la lámpara de tungsteno HL-2000, la intensidad está dada en unidades arbitrarias.

4.1.4 Esfera integradora

La esfera integradora es un componente óptico que recolecta toda la luz proveniente de una muestra y la envía a un detector [82]. Interiormente está recubierta de un material altamente reflejante (idealmente 100%, sin embargo, el recubrimiento Spectrareflect ofrece una reflexión isotrópica de aproximadamente 98% en la región visible del espectro electromagnético) esto permite un esparcimiento de luz uniforme sobre toda la superficie (figura 4.6). La esfera integradora Newport modelo 819C-SF-6 consta de 4 puertos distribuidos por la superficie de la esfera, cada puerto es usado para el acoplamiento de sensores de luz y para posicionar la muestra. También contiene un deflector que impide la iluminación directa de la fuente de luz al puerto del detector. Mediante el deflector se evita la saturación y daño del detector [83, 84].

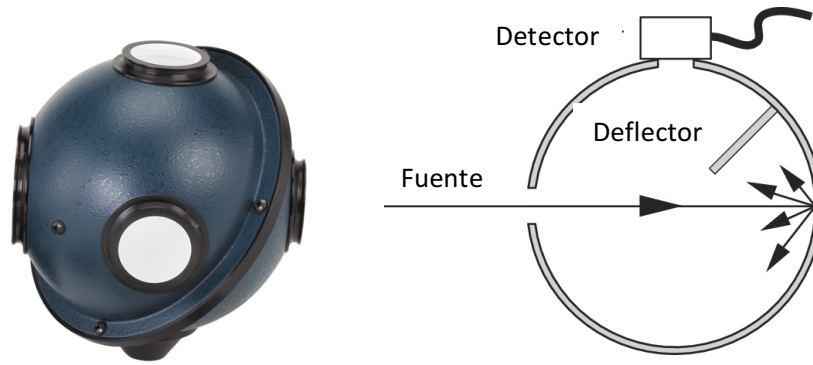


Figura 4.6. Esfera integradora Newport modelo 819C-SF-6 (Imagen adaptada de [84]).

Las principales características de la esfera integradora son el diámetro de la esfera (D_1), diámetro del puerto de la muestra (D_2 o D_3), diámetro de puerto de entrada (D_2 o D_3), diámetro del detector (D_4) y reflectividad de la pared de la esfera integradora (r_{std}), en la figura 4.7 se muestran estas características.

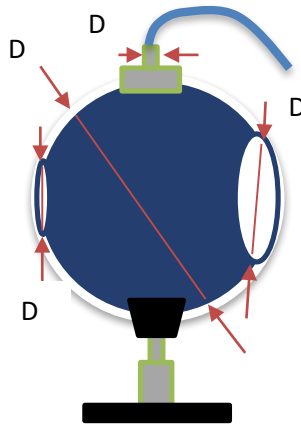


Figura 4.7. Características principales de la esfera integradora.

En la siguiente sección se explica cómo se realizan las mediciones de reflexión y transmisión de una muestra utilizando el arreglo experimental descrito en las secciones anteriores (ver figura 4.1).

4.1.5 Medición de reflexión y transmisión

Para la medición de la luz transmitida y reflejada por una muestra, se utiliza una fuente de iluminación que es dirigida hacia la muestra pasando por una lente colimadora. La luz que es transmitida o reflejada por la muestra es recolectada por una fibra óptica que se encuentra en la parte superior de la esfera integradora y es llevada al espectrofotómetro. El espectrofotómetro detecta la luz blanca, la divide en sus diferentes longitudes de onda y entrega la información de la intensidad en función de la longitud de onda mediante una computadora (figura 4.1).

Las mediciones de reflexión y transmisión se normalizan respecto a la luz incidente y se les resta el ruido que pudiera existir en el arreglo experimental, las ecuaciones 4.3 y 4.4 describen la manera en que se realiza el cálculo.

$$MR = r_{std} \cdot \frac{R_R - R_0}{R_1 - R_0} + R_{Fresnel}, \quad (4.3)$$

$$MT = \frac{T_T - T_0}{T_1 - T_0} \quad (4.4)$$

donde: r_{std} es el factor de reflexión de la pared de la esfera integradora (que a su vez sirve como estándar de calibración cuando se mide el espectro de reflexión máximo, ya que tanto la esfera como su tapón tienen el mismo recubrimiento). R_R y T_T son la reflexión y transmisión de la muestra respectivamente. R_0 y T_0 corresponden a la reflexión y transmisión mínimas que se pueden medir, éstas representan el ruido electrónico y la luz que es reflejada por los objetos que se encuentran lejos de la esfera. R_1 y T_1 corresponden a la reflexión y transmisión máximas que pueden ser medidas (para su medición se coloca el tapón estándar de calibración en el puerto de salida) y corresponden al espectro de la lámpara. El término $R_{Fresnel}$ corresponde a la reflexión de Fresnel debida a la diferencia de índices de refracción entre el aire y la muestra [61]. En ocasiones las muestras son colocadas en una celda de vidrio (figura 4.8), principalmente cuando se trata de líquidos, como pueden ser los coloides.

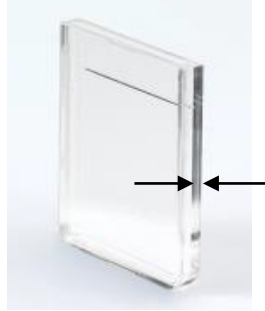


Figura 4.8. Celda para muestra.

En la figura 4.9 se muestra cómo se toman las mediciones de R_R , T_T , R_0 , T_0 , R_1 y T_1 de manera adecuada.

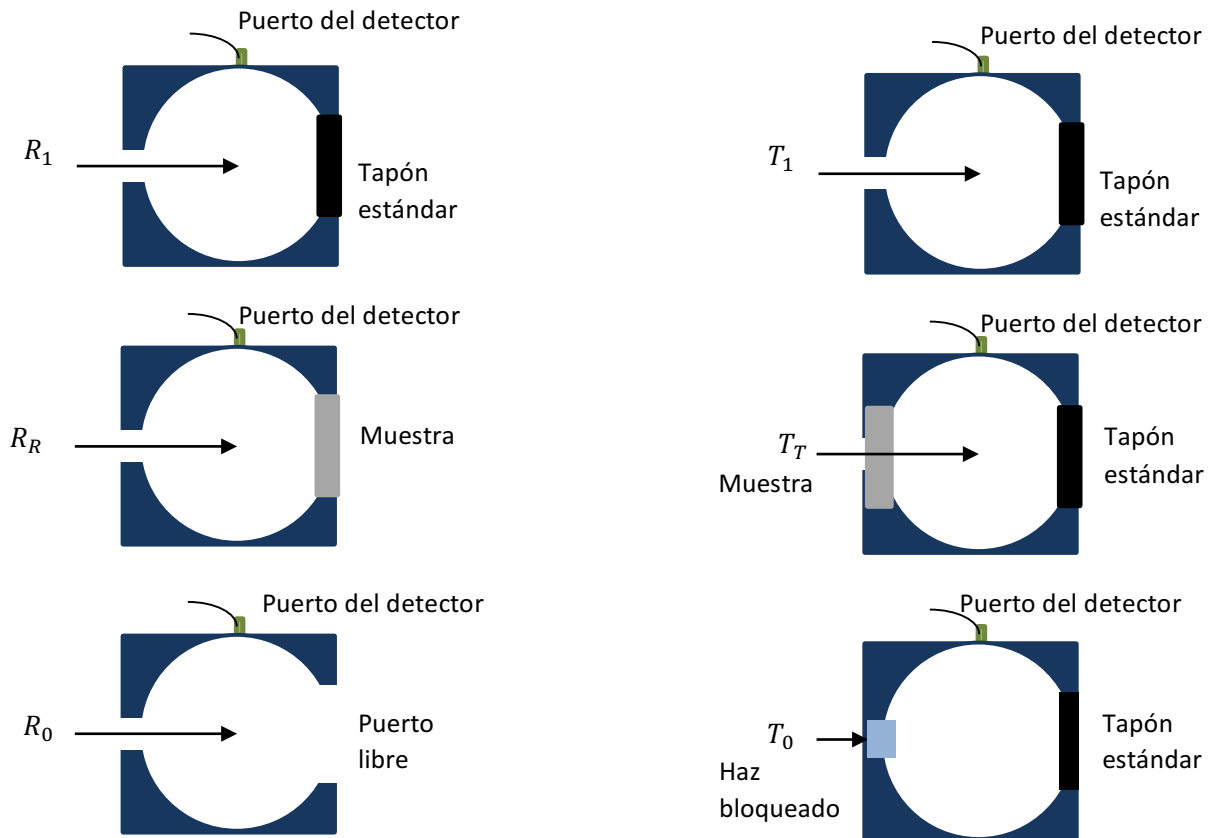


Figura 4.9. Descripción de las medidas necesarias para medir M_R y M_T en las ecuaciones 1 y 2.

4.2 ALGORITMO COMPUTACIONAL "RECUPERACIÓN DE ESPECTROS DE COEFICIENTE DE ABSORCIÓN (RDECA)":

Se desarrolló un algoritmo para recuperar el coeficiente de absorción en tiempo real basado en IAD, el desarrollo del algoritmo consistió en acoplar un conjunto de secuencias que van desde la lectura de la luz reflejada por la muestra hasta la recuperación del coeficiente de absorción mediante IAD. En la figura 4.10 se muestra la interfaz gráfica del algoritmo RDECA.

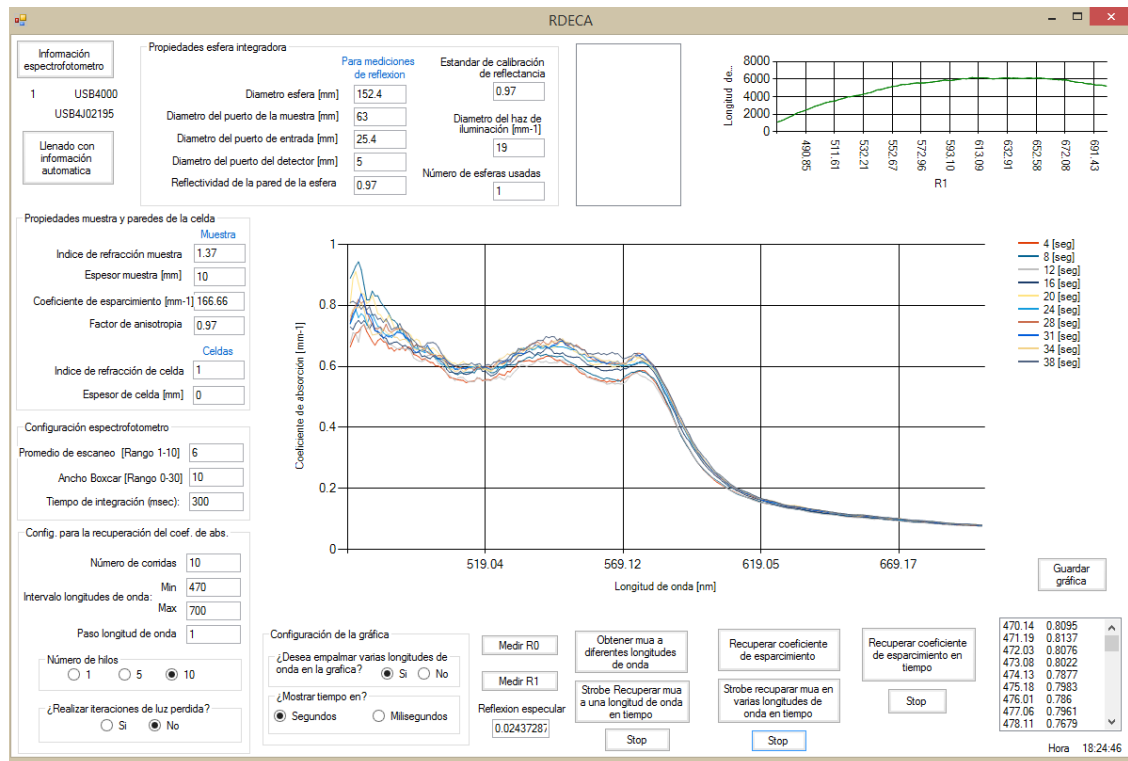


Figura 4.10. Interfaz gráfica del programa RDECA.

4.2.1 Funcionamiento de algoritmo

El algoritmo desarrollado recupera el coeficiente de absorción en tiempo real a una longitud de onda o en un intervalo de longitudes de onda, es decir, se puede monitorear el cambio del coeficiente de absorción durante un periodo de tiempo. El programa grafica el coeficiente de absorción contra el tiempo cuando se elige una longitud de onda y cuando se selecciona un rango de longitudes de onda, además el programa puede graficar el coeficiente de absorción respecto a la longitud de onda y añadir una leyenda que indica el tiempo al que pertenece cada espectro. El programa también puede recuperar el

coeficiente de esparcimiento a una longitud de onda en tiempo real, pero cuando se elige en un intervalo de longitudes de onda no lo puede hacer continuamente en el tiempo.

Antes de desarrollar el algoritmo "RDECA" se realizaban manualmente los siguientes pasos para recuperar el coeficiente de absorción de una muestra cuando sólo se contaba con la medición de reflexión:

1. Configuración del espectrofotómetro (tiempo de integración, intervalo de longitudes de onda, ancho boxcar y promedio de escaneo).
2. Medición de R_0 como lo muestra el arreglo experimental (ver figura 4.9).
3. Medición de R_1 como lo muestra el arreglo experimental (ver figura 4.9).
4. Medición de R_R como lo muestra el arreglo experimental (ver figura 4.9).
5. Cálculo de la reflexión de Fresnel.
6. Cálculo de M_R .
7. Se genera un archivo de entrada en formato .txt con los siguientes datos de entrada: índice de refracción de la muestra, índice de refracción de las celdas (sólo en caso de que la muestra este contenida en una celda de lo contrario se coloca el índice de refracción del aire), espesor de la muestra, espesor de las celdas (sólo en caso que la muestra este contenida en una celda de lo contrario se pone 0), diámetro del haz de iluminación, reflectividad de la pared de la esfera integradora, número de esferas usadas, diámetros característicos de la esfera integradora (ver figura 4.7) y M_R en función de la longitud de onda.
8. Se ejecuta el programa IAD con datos de entrada (coeficiente de esparcimiento, factor de anisotropía y el archivo .txt generado en el paso 6).
9. IAD entrega el coeficiente de absorción en un formato .txt.
10. Lectura del coeficiente de absorción del archivo .txt.
11. Graficado del coeficiente de absorción.

Los pasos anteriores se programaron en Microsoft Visual Studio 2008, de manera que el programa fuera capaz de entregar el coeficiente de absorción de forma continua en tiempo real. Para los objetivos de este trabajo, el tiempo real es el tiempo que tarda en responder

el programa RDECA y no debe de sobrepasar más de un minuto para recuperar un espectro de absorción. El programa se comunica con el espectrofotómetro para obtener R_0 , R_1 y R_R y utiliza el algoritmo Inverse Adding Doubling (IAD) para recuperar el coeficiente de absorción o esparcimiento. Para la programación de RDECA se tomó como base el algoritmo desarrollado por el Dr. Erick Sarmiento Gómez para comunicar una computadora con el espectrofotómetro y obtener mediciones de reflexión y transmisión de una muestra, de manera continua.

Para compilar el programa se necesita instalar Visual Studio 2008 con la distribución de Visual Basic Microsoft .NET Framework 3.5 SP1, Add-on de Microsoft Visual Studio 2008, Chart y plug para Visual Basic. El programa además necesita un conjunto de Drivers y referencias para que el espectrofotómetro se logre comunicar con el programa RDECA, estos drives se encuentran en <http://oceanoptics.com/support/software-downloads/#omnidriver>.

Tabla 4.1. Resumen de las rutinas usadas en el programa RDECA.

No. de rutina	Función
Rutina 1	Adquiere información de espectrofotómetro.
Rutina 2	Adquiere R_0 .
Rutina 3	Adquiere R_1 .
Rutina 4	Estas secuencias recuperan el coeficiente de absorción en un intervalo de longitud de onda.
Rutina 5	
Rutina 6	Llena todos los campos de la interfaz gráfica con valores por default para una muestra sólida, el coeficiente de esparcimiento reducido en el espectro visible se consideró de 50 cm^{-1} [85] y factor de anisotropía (0.97) son datos constantes y corresponde a los de la piel humana obtenidos de la literatura.
Rutinas 7-10	Estas secuencias recuperan el coeficiente de absorción en un intervalo de longitudes de onda en tiempo real.
Rutinas 11-15	Estas secuencias recuperan el coeficiente de absorción a una longitud de onda en tiempo real.
Rutinas 16 y 17	Recupera el coeficiente de esparcimiento en un intervalo de longitudes de onda.
Rutina 18	Permite copiar datos desde la interfaz.
Rutina 19	Permite copiar datos desde la interfaz.
Rutina 20	Permite guardar la gráfica.

Rutina 21	Secuencia para borrar las gráficas en la interfaz.
Rutina 22-25	Estas secuencias recuperan el coeficiente de esparcimiento continuamente en el tiempo.
Rutinas 26-47	Evitar errores de escritura en las casillas de la interfaz gráfica.

El programa ejecutable RDECA se encuentra disponible en <https://sites.google.com/site/bettymoralescr/home/rdecaprogram>. Para ejecutar el programa se abre la interfaz de Visual Basic y se debe agregar la referencia de Omnidiver en la pestaña Menu >Project>Add Reference y se elige la pestaña Browse, posteriormente se busca el archivo NETOmniDriver-NET20.dll en la carpeta OmniDriver\OOI_HOME del directorio Ocean Optics en Program Files. Esto es suficiente para ejecutar el programa. Todos los archivos generados con los resultados se guardan en la carpeta del programa en codigo>bin>debug.

El programa contiene un total de 25 rutinas principales y 22 rutinas para evitar errores de escritura en las casillas de la interfaz gráfica. En la tabla 4.1 se muestra un resumen de las 47 rutinas utilizadas para generar el algoritmo RDECA.

Debido a que la recuperación del coeficiente de absorción y esparcimiento requiere de secuencias muy parecidas, sólo se explicarán las secuencias para recuperar el coeficiente de absorción en tiempo real.

Rutina1: Esta rutina adquiere información técnica del espectrofotómetro conectado y lo muestra en la interfaz gráfica (modelo, número de serie y la cantidad de espectrofotómetros conectados). Las funciones que utiliza para la adquisición de esta información son: `numberOfSpectrometers` (obtiene el número de espectrofotómetros conectados), `wrapper.getName(0)` (obtiene el modelo del espectrofotómetro) y `wrapper.getSerialNumber(0)` (obtiene el número serial del espectrofotómetro) [80].

Rutina2: Esta rutina mide R_0 , pero antes de medirlo primero configura el espectrofotómetro, las funciones que utiliza para configurar el espectrómetro son [80]:

- `wrapper.setIntegrationTime(0, integrationTime)` configura el tiempo de integración en el espectrofotómetro.
- `wrapper.setCorrectForElectricalDark(0, Enabled)` elimina errores debido a fugas de luz en los pixeles oscuros. Un pixel oscuro es un pixel activo en el detector pero que ha sido recubierto físicamente para evitar la entrada de luz.
- `wrapper.setCorrectForDetectorNonlinearity(0, Enabled)` corrige la no linealidad del detector.
- `wrapper.setScansToAverage(0, TextBox25.Text)` realiza un suavizado de los espectros adquiridos, promediando múltiples espectros secuenciales para producir un único espectro. En nuestro caso la medición corresponde al promedio de 6 lecturas consecutivas y así evitar errores debidos a fluctuaciones en la fuente de iluminación.
- `wrapper.setBoxcarWidth(0, TextBox26.Text)` promedia una gama de pixeles juntos, cada pixel en el espectro se promedia con n pixeles vecinos.

Después de la configuración del espectrofotómetro, esta rutina mide R_0 utilizando la función `pixels = wrapper.getSpectrum(0)` y su correspondiente longitud de onda mediante la función `wavelengths = wrapper.getWavelengths(0)`. La rutina se termina cuando se cierra el espectrofotómetro mediante la rutina `wrapper.closeAllSpectrometers()` [80].

Rutina3: La rutina 3 adquiere R_1 de manera similar a la rutina 2.

Rutina11: Esta rutina ejecuta las operaciones de la rutina 12 mediante un componente llamado `BackgroundWorker2.RunWorkerAsync()` este componente permite que todas las secuencias incluidas en la rutina 12 se realicen en subprocesos para evitar que la interfaz gráfica se bloquee mientras se está ejecutando. Cuando este subproceso termina se alerta al `BackgroundWorker` [86]. Dentro de esta rutina también se desactivan todos los botones en la interfaz para evitar que se usen mientras se ejecuta el programa.

Rutina12: Esta rutina se encarga de leer R_R , calcular la reflexión de Fresnel, calcular M_R , ejecutar la función `exeIAD2` (rutina13 que se explica en el siguiente párrafo) y ejecutar la función `BackgroundWorker2.ReportProgress` (rutina15). La rutina12 se repite el número de veces que el usuario especificó en la interfaz gráfica.

Rutina13: Esta rutina es una función llamada `exeIAD2` y se encarga de generar el archivo de entrada para el programa IAD en formato `.txt`, ejecuta el programa IAD mediante la función `Shell()` [87], lee el archivo de salida generado por IAD mediante la función `StreamReader` [88] y guarda el valor leído en la variable `mua(1)`.

Rutina14: Esta rutina se encarga de graficar el coeficiente de absorción en función del tiempo en la interfaz gráfica.

Rutina15: Esta rutina verifica que la función `BackgroundWorker2` (rutina 12) aun este trabajando, de lo contrario detiene todos los subprocesos y activa todos los botones de la interfaz.

Rutina26-47: Este conjunto de rutinas evita errores de escritura. Se añadieron secuencias en las casillas de la interfaz gráfica para que solo aceptará números, un solo punto decimal y quitara los espacios de más entre los dígitos en las casillas.

En la figura 4.11 se muestra un diagrama con las rutinas descritas anteriormente, en el diagrama se pueden apreciar los datos de entrada a cada proceso y las salidas. Los datos de entrada son definidos por el usuario en la interfaz gráfica.

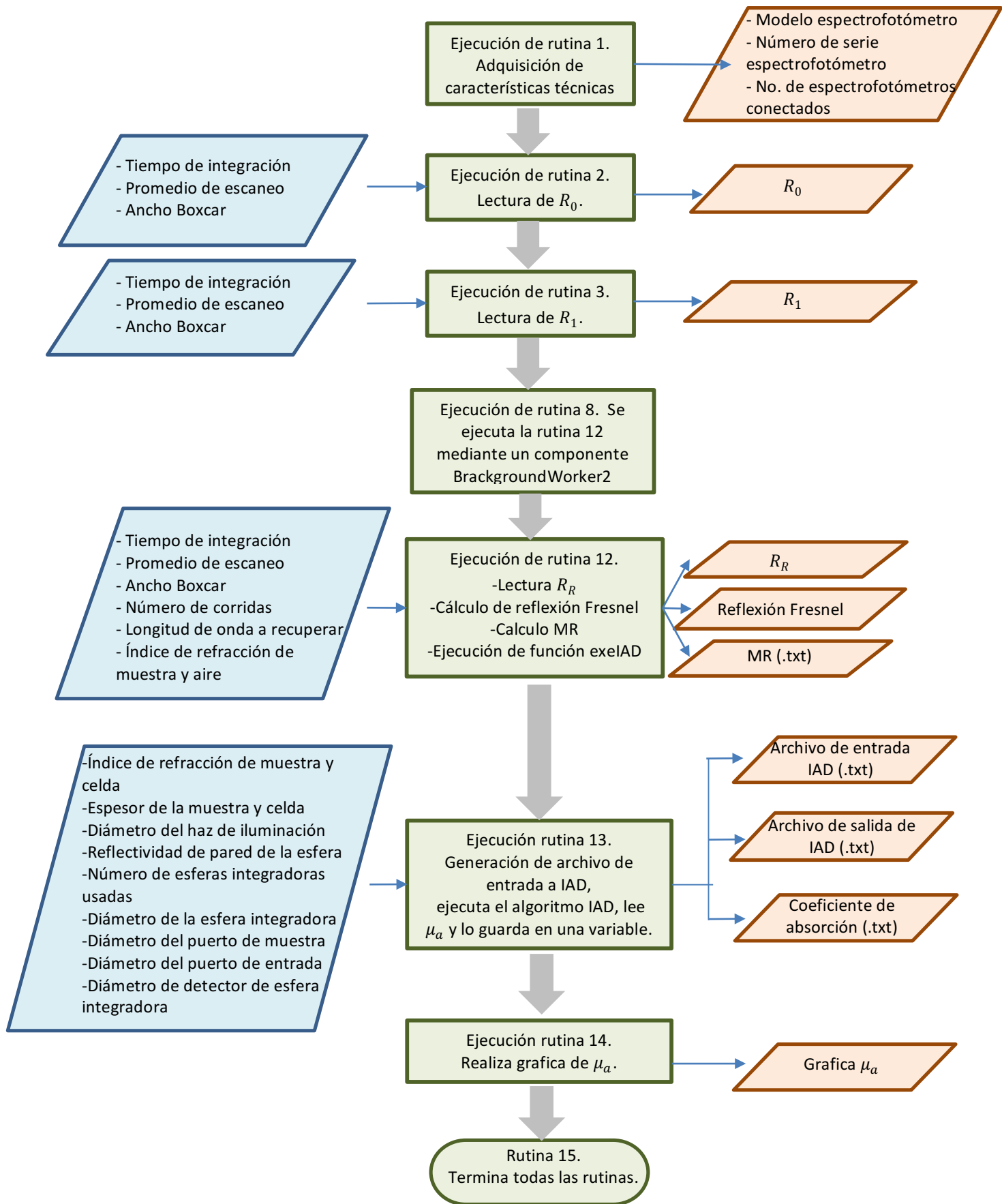


Figura 4.11. Diagrama de rutinas para recuperar el coeficiente de absorción a una longitud de onda en el tiempo.

4.2.2 Secciones de la Interfaz gráfica

La interfaz gráfica desarrollada se puede dividir en 10 secciones, la función que desempeña cada sección se explicará a continuación (figura 4.12).

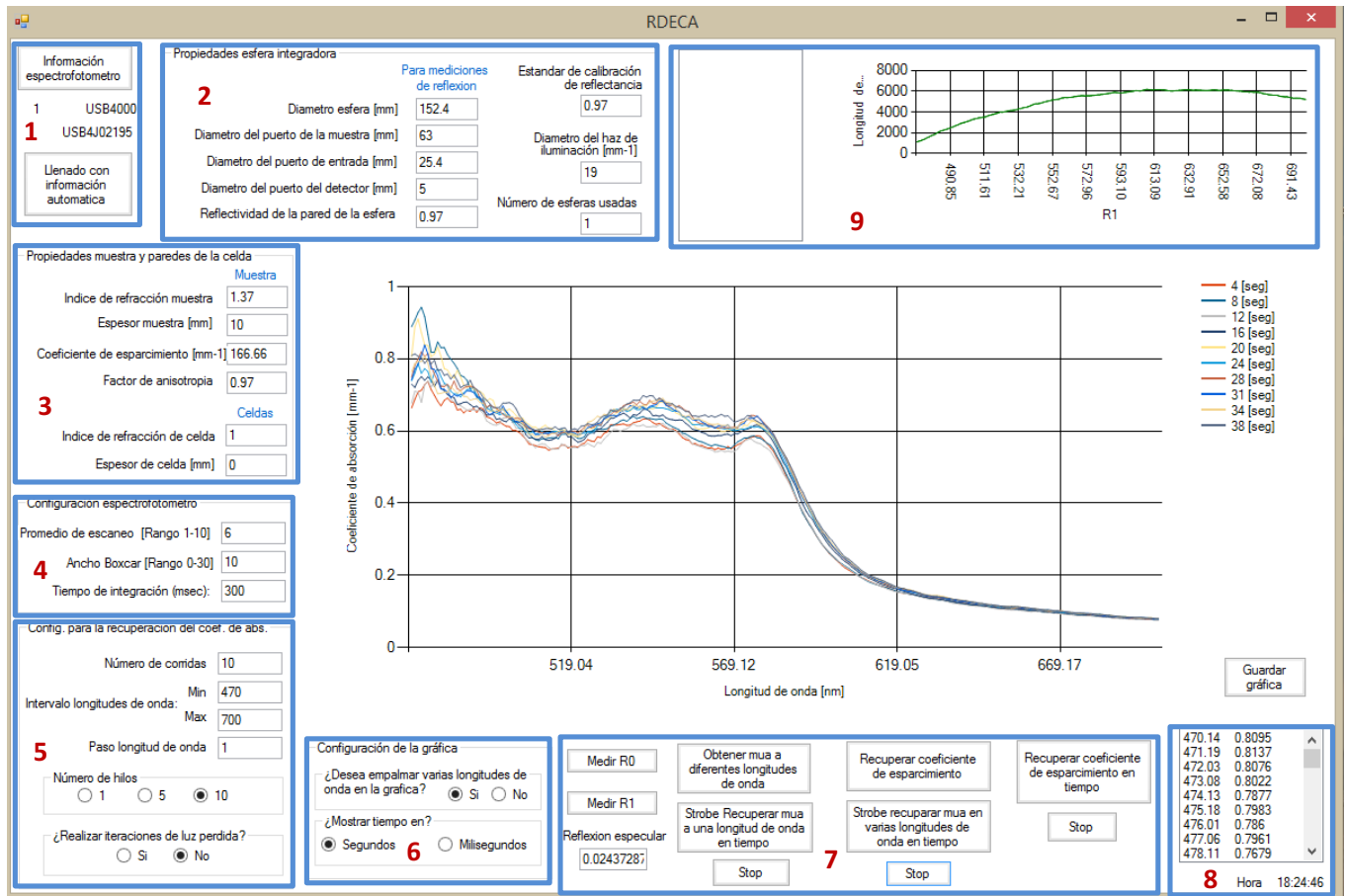


Figura 4.12. Secciones de la interfaz gráfica.

Información espectrofotómetro (sección 1): En esta sección se obtiene información del espectrofotómetro.

Propiedades de la esfera integradora (sección 2): En esta sección se definen las dimensiones y propiedades de la esfera integradora para medir la reflexión de la muestra (diámetro de la esfera, diámetro del puerto de la muestra, diámetro de puerto de entrada, diámetro del detector y reflectividad de la pared de la esfera integradora).

Propiedades de la muestra y celda (sección 3): En esta sección se introducen las propiedades de la muestra (índice de refracción, espesor, coeficiente de esparcimiento o

absorción y factor de anisotropía). Si la muestra está contenida en una celda también se introducen sus características (índice de refracción y anisotropía). Cuando no se utiliza celda se colocan las propiedades del aire.

Configuración espectrofotómetro (sección 4): En esta sección se configuran parámetros del espectrofotómetro, mediante estos parámetros se mejora la calidad de los espectros adquiridos (promedio de escaneo, ancho boxcar y tiempo de integración).

Configuración para la recuperación del coeficiente de esparcimiento y absorción (sección 5): En esta sección el usuario puede configurar el número de corridas a ejecutar que se refiere al número de veces que se va a recuperar el coeficiente de absorción en tiempo real. Se puede definir un intervalo de longitudes de onda en las cuales se recuperará el coeficiente de absorción. También se puede definir el paso entre cada longitud de onda del espectro a recuperar. Se puede elegir el número de hilos para recuperar las propiedades ópticas, este parámetro determinará la rapidez con que se recuperarán dichas propiedades, que además dependerá del número de longitudes de onda a recuperar y del cálculo de iteraciones de luz pérdida.

Finamente en esta sección se puede elegir si el programa IAD considerará realizar iteraciones de luz perdida. Las iteraciones de luz pérdida son un cálculo que realiza IAD usando subrutinas basadas en el método Monte Carlo debido a que siempre existirá una pequeña cantidad de luz perdida por escape lateral en la muestra (figura 4.13).

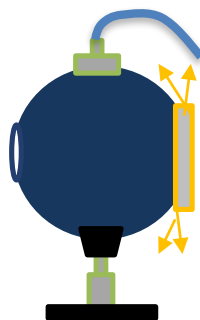


Figura 4.13. Escape de luz lateral.

Si lo que interesa es obtener el coeficiente de absorción en menor tiempo a costa de menor precisión se puede elegir la opción de no realizar las iteraciones de pérdida de luz.

Configuración gráfica (sección 6): En esta sección se puede definir si se desean empalmar varias graficas en el tiempo o sólo ir actualizando (figura 4.14). También se tiene la opción de elegir si la gráfica mostrada en la interfaz se grafique respecto del tiempo en segundos o milisegundos.

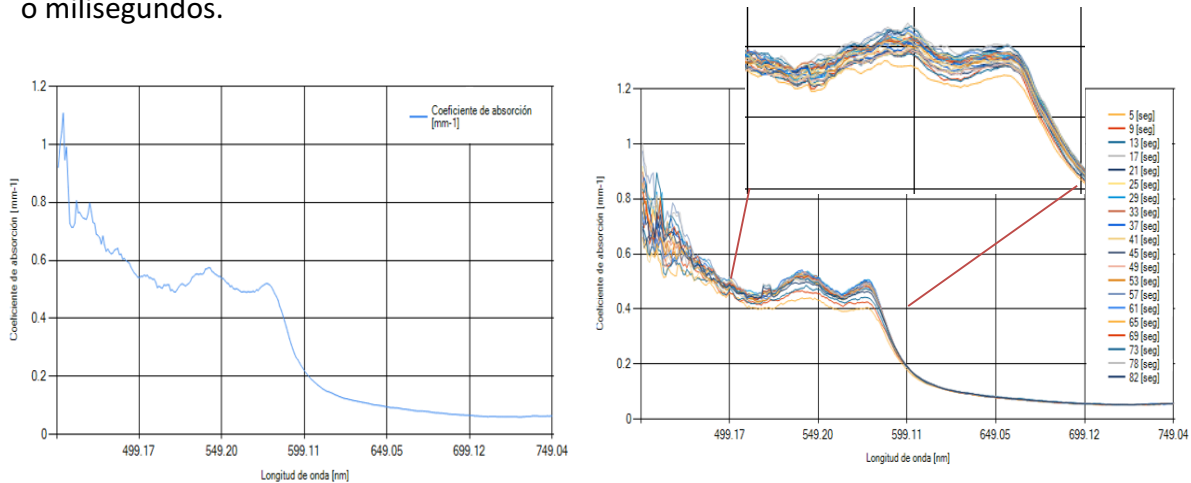


Figura 4.14. Configuración gráfica.

Botones para recuperación de propiedades ópticas (sección 7): En esta sección se tienen los botones para medir R_0 y R_1 , recuperar el coeficiente de absorción en varias longitudes de onda, recuperar el coeficiente de absorción a una longitud de onda en el tiempo (mediante el comando strobe), recuperar el espectro del coeficiente de absorción en el tiempo, recuperar el espectro del coeficiente de esparcimiento y recuperar el coeficiente de esparcimiento a una longitud de onda en el tiempo. Los botones en esta sección inicialmente se encuentran desactivados excepto R_0 y R_1 , estos se activan hasta que se midan la reflexión máxima (R_1) y mínima (R_0). El coeficiente de absorción se puede recuperar a una longitud de onda o todo el espectro continuamente en el tiempo. El coeficiente de esparcimiento sólo se puede recuperar a una longitud de onda en el tiempo.

Resultados del coeficiente de absorción o esparcimiento (sección 8): En esta sección se incluye una ventana donde se muestran las propiedades ópticas recuperadas a una longitud de onda en el tiempo o cuando se recupera un espectro una sola vez.

Mediciones de espectrofotómetro (Sección 9): En esta sección se muestran las mediciones de R_0 , R_1 y R_R así como su gráfica (figura 4.15).

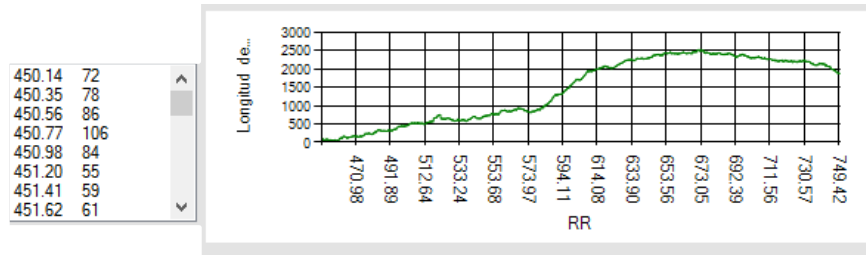


Figura 4.15. Reflexión medida por espectrofotómetro.

El programa puede recuperar el coeficiente de absorción en un intervalo de longitudes de onda de 344.8 nm a 1036.68 nm, esto debido a la resolución del espectrofotómetro. En la siguiente tabla se muestra el tiempo de cómputo de RDECA con sus características involucradas.

Tabla 4.2. Características involucradas en la recuperación del coeficiente de absorción y tiempo de cómputo.

Número de datos a recuperar	1 longitud de onda (1 dato)	1 espectro (280 datos)
Tiempo de integración	300 milisegundos	300milisegundos
Calculo de escape de luz	No	No
Número de hilos	1 hilo	5 hilos
Promedio de escaneo	6	6
Tiempo de recuperación μ_a	3 s	5 s

En la siguiente sección se realizará la validación del algoritmo RDECA.

4.2.3 Validación de funcionamiento de RDECA

En el capítulo 3 se realizó un análisis del desempeño de IAD contra Monte Carlo en donde se demostró que IAD es eficiente comparado contra Monte Carlo. En esta sección sólo se realizará una validación del funcionamiento del programa que nos permita observar si el algoritmo RDECA está haciendo los cálculos correctamente y que no se hayan alterado los valores por algún error dentro del código. Para la validación primero se recuperó el coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario a una longitud de onda de 588.08 nm mediante el algoritmo RDECA y enseguida mediante Monte Carlo se obtuvo

la reflexión utilizando el coeficiente de absorción obtenido por RDECA. Los datos utilizados se muestran en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. DATOS PARA SIMULACIÓN EN RDECA E IAD.

Coeficiente de esparcimiento μ_s	166.66 [mm ⁻¹]
Factor de anisotropía g	0.97 [13]
Índice de refracción de la muestra	1.37
Espesor físico de la muestra	10 [mm]

Se comparó la reflexión calculada por IAD con la obtenida con Monte Carlo. Los resultados se muestran en la tabla 4.4 con un error máximo de 1.4%. Con estos resultados se puede asegurar que el algoritmo RDECA está trabajando correctamente.

Tabla 4.4. Comparación de M_R obtenida mediante RDECA y MCML.

M_{R_RDECA} (588.08 nm)	M_{R_MCML} (588.08 nm)	Error (%)
0.2061	0.2060	0.0598
0.2075	0.2062	0.6544
0.2083	0.2065	0.8737
0.2096	0.2093	0.1219
0.2081	0.2082	0.0307
0.2101	0.2126	1.1968
0.2110	0.2104	0.2752
0.2086	0.2096	0.4837
0.1999	0.2016	0.8216
0.2024	0.2042	0.8848
0.2075	0.2045	1.4854
0.2013	0.2037	1.1786
0.2040	0.2028	0.5838
0.2095	0.2078	0.8143
0.2093	0.2080	0.6328
0.2085	0.2094	0.4217
0.2093	0.2080	0.6052
0.2051	0.2041	0.4674
0.2110	0.2091	0.9232
0.2036	0.2020	0.7876

RDECA genera un archivo de salida con los valores de M_R calculados, para la validación se utilizaron los datos de M_R , los cuales fueron introducidos directamente en el programa IAD y se verificó el coeficiente de absorción obtenido por RDECA e IAD. Los resultados se muestran en la tabla 4.5.

Tabla 4.5. Comparación de coeficiente de absorción obtenido mediante RDECA e IAD.

μ_a -RDECA mm ⁻¹ (588.08 nm)	μ_a -IAD mm ⁻¹ (588.08 nm)	Error (%)
0.8912	0.8914	0.0224
0.8821	0.8818	0.0340
0.8764	0.8764	0.0000
0.8674	0.8677	0.0346
0.8774	0.8777	0.0342
0.8642	0.8645	0.0347
0.8588	0.8586	0.0233
0.8742	0.8744	0.0229
0.9350	0.9353	0.0321
0.9168	0.9171	0.0327
0.8821	0.8818	0.0340
0.9252	0.9251	0.0108
0.9061	0.9058	0.0331
0.8685	0.8683	0.0230
0.8697	0.8697	0.0000
0.8753	0.8751	0.0229
0.8697	0.8697	0.0000
0.8980	0.8982	0.0223
0.8588	0.8586	0.0233
0.9085	0.9086	0.0110

El programa RDECA también puede recuperar el coeficiente de esparcimiento variable en el tiempo a una longitud de onda, debido a esto también se validó RDECA contra Monte Carlo e IAD para la obtención del coeficiente de esparcimiento a una longitud de onda de 533 nm.

Los datos utilizados son los mostrados en la tabla 4.6. En las tablas 4.7 y 4.8 se muestran los resultados de reflectancia y coeficiente de esparcimiento obtenidos mediante el uso de los programas RDECA y MCML, en ambas tablas se observa un error mínimo.

Tabla 4.6. Datos para simulación en RDECA e IAD.

Coeficiente de absorción μ_a	0 [mm ⁻¹]
Factor de anisotropía g	0.7
Índice de refracción de la muestra	1.48
Espesor físico de la muestra	1 [mm]
Índice de refracción de la celda	1.5
Espesor físico de la celda	1 [mm]

Tabla 4.7. Comparación de M_R obtenida mediante RDECA y MCML.

M_{R_RDECA} (533 nm)	M_{R_MCML} (533 nm)	Error (%)
0.1239	0.1250	0.8561
0.1270	0.1275	0.4033
0.1341	0.1358	1.2843
0.1417	0.1442	1.7102
0.1331	0.1318	0.9634
0.1412	0.1447	2.3879
0.1407	0.1396	0.8052
0.1341	0.1352	0.7936
0.1270	0.1243	2.1344
0.1341	0.1314	2.0324
0.1382	0.1409	1.9609
0.1336	0.1332	0.3263
0.1285	0.1313	2.1534
0.1387	0.1412	1.8007
0.1361	0.1352	0.7116
0.1316	0.1293	1.7320
0.1295	0.1295	0.0102
0.1417	0.1432	1.0521
0.1295	0.1349	3.9757
0.1321	0.1315	0.4110

Tabla 4.8. Comparación de coeficiente de esparcimiento obtenido mediante IAD y RDECA.

μ_s _RDECA mm ⁻¹ (533 nm)	μ_s _IAD mm ⁻¹ (533 nm)	Error (%)
0.3175	0.3175	0
0.3390	0.3390	0
0.3890	0.3890	0
0.4437	0.4437	0
0.3820	0.3820	0
0.4400	0.4400	0
0.4363	0.4363	0
0.3890	0.3890	0
0.3390	0.3390	0
0.3890	0.3890	0
0.4183	0.4183	0
0.3857	0.3857	0
0.3497	0.3497	0
0.4217	0.4217	0
0.4037	0.4037	0
0.3710	0.3710	0
0.3567	0.3567	0
0.4437	0.4437	0
0.3567	0.3567	0
0.3747	0.3747	0

Por otra parte, también se realizaron diversos estudios para observar cómo afectaba considerar los cálculos de iteración de luz perdida. La prueba consistió en recuperar el coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario. En la prueba 1 se consideraron las pérdidas de luz por escape lateral y en la prueba 2 no se consideró el cálculo de escape de luz. Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 4.9. Resultados del coeficiente de absorción considerando y sin considerar pérdidas de luz por escape lateral.

Longitud de onda (nm)	PRUEBA1 Coeficiente de absorción (mm ⁻¹)	PRUEBA2 Coeficiente de absorción (mm ⁻¹)	Error (%)
455.708	1.27E+00	1.27E+00	0.00
466.263	1.03E+00	1.03E+00	0.00
476.162	9.81E-01	9.81E-01	0.04
486.106	8.66E-01	8.66E-01	0.05
535.812	1.03E+00	1.03E+00	0.00
545.756	1.04E+00	1.04E+00	0.00
555.69	9.03E-01	9.03E-01	0.04
566.293	8.40E-01	8.40E-01	0.05
605.334	3.36E-01	3.37E-01	0.38
615.923	2.72E-01	2.74E-01	0.51
695.393	1.11E-01	1.14E-01	2.16
706.013	1.13E-01	1.15E-01	2.31
Tiempo de procesamiento:	13.85 segundos	3 segundo	

En la prueba 1 se obtuvo un tiempo total de procesamiento de 13.85 segundos y en la prueba 2 se obtuvo un tiempo de 3 segundo, con un error muy pequeño. Por lo tanto, se decidió omitir el cálculo de pérdidas de luz por escape lateral durante el monitoreo del coeficiente de absorción en tiempo real. Sin embargo, el programa RDECA tiene la opción de incluir estos cálculos en caso de que se requiera mayor precisión en los resultados.

4.2.4 RDECA en terapia fotodinámica (TFD)

El programa fue desarrollado para monitorear el cambio del coeficiente de absorción durante un tratamiento de TFD. Con este programa primero se pretende medir el coeficiente de absorción en el área afectada del paciente antes de que se le administre el fotosensibilizador y así tener una referencia de su coeficiente de absorción normal. Cuando el fotosensibilizador es administrado, el coeficiente de absorción del paciente comenzará a aumentar y durante la irradiación de luz comenzará a disminuir debido a las reacciones entre el fotosensibilizador, la luz y el oxígeno, cuando el coeficiente de absorción de la lesión empate con el coeficiente de absorción medido antes de la aplicación del fármaco se podrá decir que el paciente ha eliminado completamente el fármaco. El alcance de este proyecto se limitó al desarrollo del algoritmo y se lograron monitorear cambios del coeficiente de

absorción y esparcimiento en muestras con propiedades ópticas variables en el tiempo, pero aún no se implementa el algoritmo RDECA en terapia fotodinámica.

4.3 CONCLUSIONES CAPÍTULO

En este capítulo se realizó una explicación de los componentes del arreglo experimental para medir la reflexión y transmisión de una muestra, se dio una descripción de las rutinas que fueron programadas para recuperar el coeficiente de absorción en tiempo real y se explicaron las secciones que componen la interfaz gráfica del programa RDECA. La principal contribución de este trabajo de tesis fue lograr programar un conjunto de secuencias que se realizaban manualmente para recuperar μ_s y μ_a a una longitud de onda. Las secuencias permiten obtener mediciones de reflexión de una muestra consecutivamente, calcular la reflexión normalizada, generar un archivo de entrada con estas mediciones y otros datos, ejecutar IAD, leer los valores obtenidos y mostrarlos en una gráfica en tiempo real. El tiempo de recuperación de RDECA es de aproximadamente 3 segundos por dato cuando se recupera el coeficiente de absorción, para un tiempo de integración de 300 milisegundos, una muestra con un $\mu_s = 166.66 \text{ mm}^{-1}$ y $g = 0.97$ [13]. En el siguiente capítulo se presentan algunos resultados del monitoreo del coeficiente de absorción y esparcimiento de muestras con propiedades ópticas variables en el tiempo.

CAPÍTULO 5. MONITOREO EXPERIMENTAL DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN *IN VIVO* E *IN VITRO*.

En este capítulo se presenta un conjunto de experimentos en los que se recuperaron parámetros ópticos, los cuales fueron divididos en dos secciones: la primera parte consiste en experimentos realizados utilizando directamente el programa Inverse Adding Doubling (IAD) y el arreglo experimental de esfera integradora. La segunda sección consta de un conjunto de experimentos en los que se utilizó el programa Recuperación de espectros de coeficiente de absorción (RDECA) junto con el arreglo experimental de esfera integradora.

5.1 EXPERIMENTOS REALIZADOS UTILIZANDO DIRECTAMENTE IAD PARA LA RECUPERACIÓN DE PARÁMETROS ÓPTICOS

Parte de los experimentos de esta sección se realizaron para implementar el algoritmo IAD junto con el arreglo experimental en la recuperación de parámetros ópticos con muestras a base de partículas de poliestireno y agua (sección 5.1.1). Otra parte de los experimentos fueron realizados para observar si se lograba activar la clorofila mediante la exposición a la luz solar y más adelante utilizarla como muestra variable en el tiempo en la implementación del funcionamiento del algoritmo RDECA (sección 5.1.2). Se eligió la clorofila ya que es un pigmento que contiene en su estructura molecular, un anillo de porfirina capaz de absorber luz en las regiones UV y roja del espectro visible. También se realizaron dos estudios de la variación del coeficiente de absorción en diferentes voluntarios: uno fue para observar la variación del coeficiente de absorción en función del tipo de piel (sección 5.1.3) y otro para estudiar el efecto de la temperatura sobre dicho parámetro (sección 5.1.4).

5.1.1 Muestra de partículas de poliestireno estática en el tiempo

Para verificar que la implementación del algoritmo junto con el arreglo experimental fuera adecuada, se prepararon muestras de agua y partículas de poliestireno no absorbentes (5153A, Thermo Scientific). De estas muestras se conocía la concentración exacta de las partículas de poliestireno, diámetro de las partículas e índice de refracción de las partículas

(η_{part}). Con los datos anteriores, mediante la aproximación de Mie para sistemas sin absorción [66], se calculó el factor de anisotropía (g) y el coeficiente de esparcimiento (μ_s), estos resultados se compararon con los obtenidos mediante IAD. El procedimiento que se siguió para obtener el coeficiente de esparcimiento mediante IAD fue: primero se midió, mediante el arreglo de esfera integradora, la transmisión y reflexión de la muestra a una longitud de onda de 650 nm. Se consideró que la muestra tenía un coeficiente de absorción (μ_a) despreciable ya que es únicamente la absorción del agua. Los datos utilizados para el experimento 1 se muestran en la tabla 5.1.

Tabla 5.1. Datos de la muestra de agua con partículas de poliestireno.

Longitud de onda	$\lambda = 650 \text{ nm}$
Diámetro de partículas (d)	$1.5 \text{ }\mu\text{m}$
Fracción de volumen (ϕ)	0.00415
Factor de anisotropía (g)	0.929

La fracción de volumen ϕ es el cociente entre el volumen de las partículas y el volumen total y se puede calcular mediante la siguiente ecuación:

$$\phi = \frac{V_{part}}{V_{total}} = \frac{C_p * V_p}{V_a + V_p} \quad (5.75)$$

$$V_p = \frac{m_p}{\rho_p} \quad (5.76)$$

$$V_a = \frac{m_a}{\rho_a} \quad (5.77)$$

De donde: C_p es la concentración de la suspensión original de partículas, V_p , m_p y ρ_p son el volumen, masa y densidad de la partícula respectivamente, V_a , m_p y ρ_p son el volumen, masa y densidad del agua respectivamente. La fracción de volumen es un parámetro clave en la preparación de las muestras, pues se utiliza para calcular la concentración final de partículas a partir de las especificaciones de la suspensión original y es un dato necesario para conocer el coeficiente de esparcimiento, donde r es el radio de la partícula.

$$\text{concentración}[\#\text{particulas/volumen}] = \frac{\phi}{\frac{3}{4}\pi r^3} \quad (5.78)$$

La muestra fue colocada en una celda de vidrio para realizar la medición de reflexión y transmisión. Para la recuperación del coeficiente de esparcimiento mediante IAD (con la corrección para escape lateral de luz) se consideró la muestra con un índice de refracción de 1.33 ya que la mayor parte de la muestra consistió en agua, para la celda un índice de refracción de 1.5 y el coeficiente de absorción igual a cero. En la tabla 5.2 se muestran los resultados por IAD y aproximación de Mie:

Tabla 5.2. Resultados obtenidos de IAD y Mie.

	Coeficiente de esparcimiento
Mie	159.88 cm ⁻¹
IAD	154.59 cm ⁻¹

Los resultados mostrados en la tabla 5.2 muestran que el arreglo experimental junto con IAD es confiable ya que se muestra un pequeño error de 3.31%. Este error puede ser producto de la falta de precisión en la medición de la concentración de partículas cuando se preparó la muestra.

5.1.2 Clorofila

En este experimento se realizó un estudio de la variación del coeficiente de absorción de la clorofila en diferentes tiempos mientras perdía su capacidad de absorber luz. La estructura molecular de la clorofila es un anillo de porfirinas que contienen magnesio y cuya función es absorber luz en el espectro visible excepto en el verde. Los fotosensibilizadores también están hechos de porfirinas debido a esto se pensó en realizar un estudio para ver como varía el coeficiente de absorción en función del tiempo de exposición a la luz y determinar si la clorofila podría servir como muestra para modelar el cambio de propiedades ópticas en tiempo real.

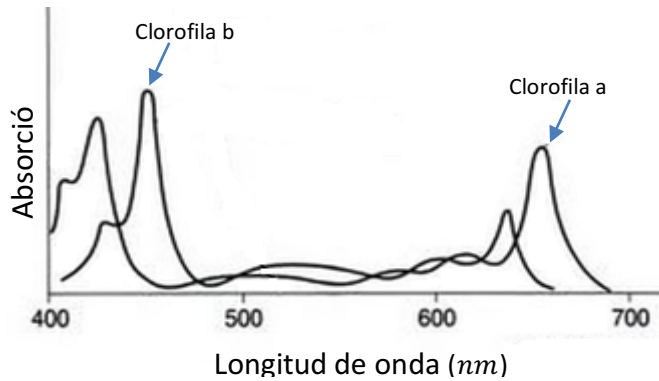


Figura 5.1. Espectro de absorción de la clorofila a y b (Imagen extraída y adaptada de [101]).

En la primera parte del experimento se midieron la transmitancia y la reflectancia de la muestra sin ser expuesta al sol y enseguida se midió después de ser expuesta por aproximadamente 4 horas al sol, debido a que la radiación solar contiene tanto luz UV como roja que son las principales longitudes de onda que absorbe la clorofila. Con las mediciones obtenidas y considerando $g=0$ (dado que consideramos cero elementos de esparcimiento y por lo tanto $\mu'_s=0$), mediante IAD se recuperó su coeficiente de absorción, considerando que la muestra tiene un índice de refracción de 1.33.

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 5.2, donde se observa que el pico de absorción ubicado en 626 nm decae debido a que la clorofila se “fotoactiva”.

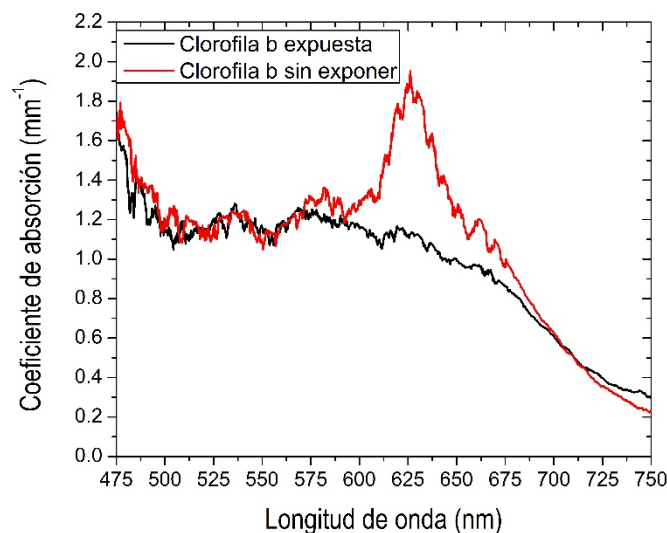


Figura 5.2. Coeficiente de absorción de la clorofila sin exponer al sol y después de 4 horas expuesta al sol.

En la segunda parte del experimento se expuso la muestra al sol durante 70 minutos y cada 10 minutos se midieron su transmitancia y reflectancia, a partir de estas mediciones se recuperó el coeficiente de absorción en función de la longitud de onda. Con este experimento se buscó determinar el tiempo máximo de exposición para que la muestra se fotoactivara, es decir, para que el coeficiente de absorción se mantuviera constante a pesar de seguir siendo expuesta al sol, los resultados obtenidos se muestran en la figura 5.3.

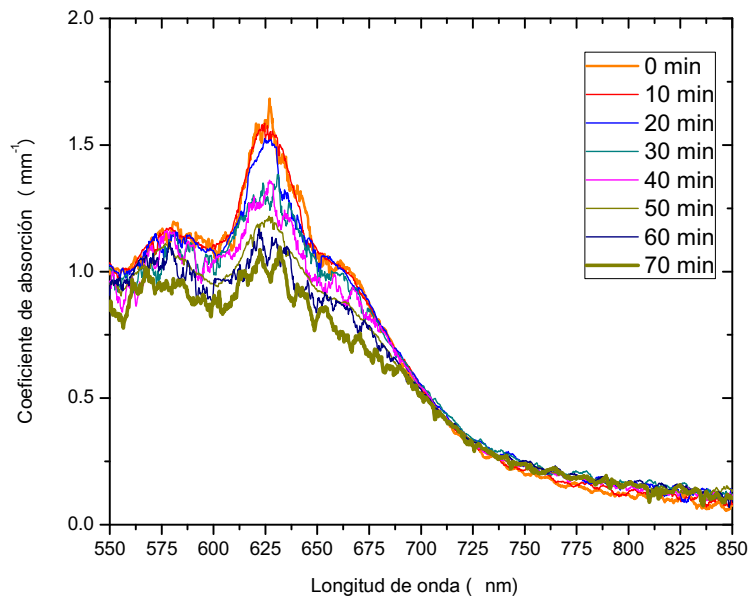


Figura 5.3. Coeficiente de absorción de la Clorofila a diferentes tiempos.

A pesar de que se verificó que la clorofila podría servir como muestra variable en el tiempo durante el proceso de irradiación (con luz de 620 nm a 650 nm aproximadamente), no se pudo activar de manera controlada con la fuente de luz disponible en el laboratorio. Se necesita una fuente que provea mayor potencia en ese rango de longitudes de onda. Sin embargo, los datos del experimento fueron de gran utilidad para comparar el desempeño de un algoritmo de recuperación analítico con otro estadístico.

Los datos obtenidos de transmitancia y reflectancia de la clorofila para una longitud de onda de 637.64 nm se utilizaron para recuperar el coeficiente de absorción mediante dos métodos (IAD y Genetic Algorithms and Monte Carlo Multi-Layered "GA- MCML" [68]) con el objetivo de validar los datos obtenidos por el algoritmo IAD. GA- MCML es un algoritmo

considerado como Monte Carlo inverso, debido a que los datos de entrada son la transmitancia y la reflectancia y los valores que regresa son μ_a y μ_s . El Monte Carlo directo necesita el conocimiento de μ_a y μ_s para entregar transmisión y reflexión.

En la figura 5.4 se puede observar que los resultados obtenidos por los dos algoritmos se encuentran en el mismo orden de magnitud.

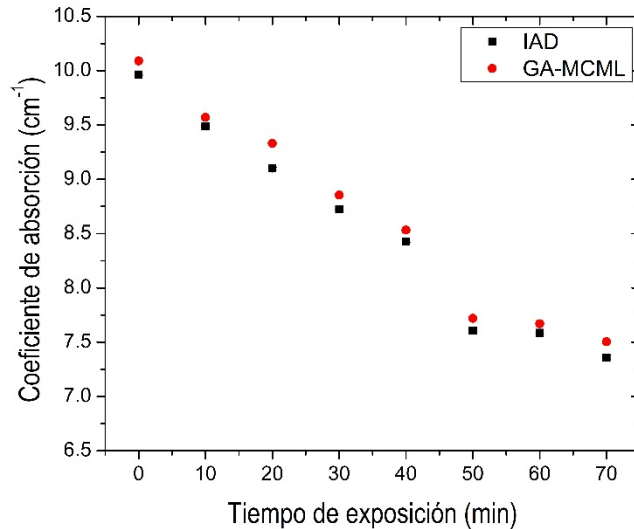


Figura 5.4. Coeficiente de absorción obtenido mediante IAD y GA-MCML.

5.1.3 Variación del coeficiente de absorción en diferentes tipos de piel

Este experimento consistió en un estudio de la variación del coeficiente de absorción de la piel de diferentes voluntarios. Debido a que los principales responsables de la absorción de la piel son la melanina y la hemoglobina, se consideró como una variable de estudio la pigmentación de la piel. Dependiendo de la concentración de la melanina en la piel se tendrán ciertos cambios en la reflexión difusa y absorción que son muy predecibles.

Se reunieron 12 voluntarios con edades entre 20 y 34 años, 7 hombres y 5 mujeres a los cuales se les midió el espectro de reflexión difusa de la palma de la mano. Los voluntarios fueron clasificados por tipo de piel según la escala Fitzpatrick [89] tabla 5.3.

Tabla 5.3. Clasificación de tipos de piel según la escala de Fitzpatrick [90].

Tipo de piel	Reacción a la exposición del sol
I	Siempre se quema, nunca se broncea. Piel muy clara.
II	Frecuentemente se quema, pero generalmente nunca se broncea. Piel clara.
III	En ocasiones tiene quemaduras leves y un bronceado promedio. Piel clara intermedio.
IV	Se quema levemente y se broncea con facilidad. Piel morena clara.
V	Rara vez se quema. Piel morena oscura.
VI	No se broncea ni se quema.

Para la recuperación del coeficiente de absorción, se tomó constante el coeficiente de esparcimiento reducido (μ'_s) de la piel en el espectro visible con un valor de 50 cm^{-1} [85] para todos los voluntarios. Con los valores medidos de reflectancia difusa para cada uno de los voluntarios, el coeficiente de esparcimiento y el factor de anisotropía, se recuperó el coeficiente de absorción de la piel mediante IAD. Se consideró un factor de anisotropía para la piel de 0.97 [13], un índice de refracción de la piel de 1.37 y un espesor de 10 mm.

En la figura 5.5 se muestran los espectros de reflectancia difusa de la piel situada en la palma de la mano de todos los voluntarios.

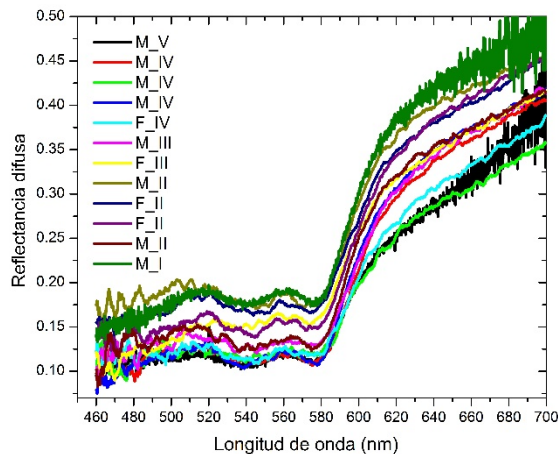


Figura 5.5. Espectros de reflectancia difusa de 12 voluntarios con diferentes tonos de piel. La letra F es para femenino y la M para masculino.

En la figura 5.6 se muestra el coeficiente de absorción de los 12 voluntarios. En la mayoría de los voluntarios se cumple que pieles más claras absorben menos luz y pieles más

oscurecen absorben más luz. El voluntario F_III (línea amarilla) sale de este esquema, junto con el voluntario M_III (línea magenta) y M_II (línea guinda) que se empalman en la región de 600 a 700 nm. Esto se debe a que existen otros parámetros que no fueron controlados como la temperatura de la palma de la mano que afecta el coeficiente de absorción. Otra característica que se observa en la figura 5.5 es la presencia de dos picos de absorción a una longitud de onda de aproximadamente 542 y 576 nm, siendo este comportamiento justo la absorción típica de la hemoglobina oxigenada [91].

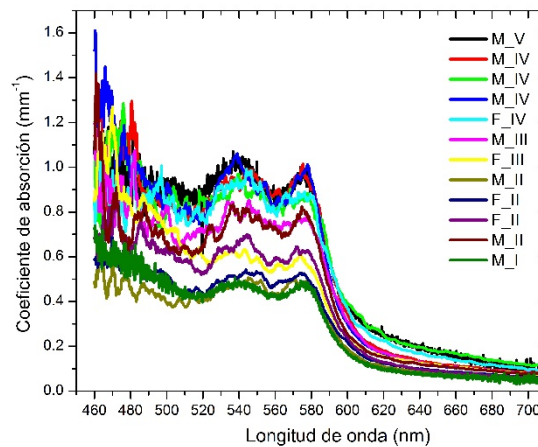


Figura 5.6. Coeficiente de absorción de 12 voluntarios con diferentes tonos de piel.

En la siguiente sección se realiza un estudio del coeficiente de absorción en diferentes voluntarios controlando la temperatura de la palma de la mano.

5.1.4 Estudio del coeficiente de absorción de la piel en función de la temperatura

El coeficiente de absorción de la piel depende principalmente de tipo de color de piel (concentración de melanina) y de la concentración de sangre, pero estas dos características no son las únicas que determinan la absorción de la piel, hay otras variables como la rugosidad de la piel, hidratación, temperatura, etc. Así que además de considerar como variable la pigmentación en este estudio también se controló la temperatura. La importancia de observar cual es la dependencia de la temperatura en las propiedades ópticas es que la variación de ésta puede alterar la distribución de luz absorbida y esparcida. Durante la aplicación de tratamientos con luz como la terapia fotodinámica, la absorción de luz es un factor importante que determina la eficacia del tratamiento, en consecuencia, las dosis de luz deben ser personalizadas según el tipo de piel. Si las propiedades ópticas

cambian con la temperatura entonces este efecto debe ser considerado en el cálculo de dosis de luz que se debe administrar durante la terapia fotodinámica [92].

Para observar el efecto de la temperatura en el coeficiente de absorción se consideraron tres voluntarios con diferentes tipos de piel. El experimento consistió en los siguientes pasos:

1. La temperatura de la palma de la mano se midió con una cámara térmica (FLIR i5 LM-CT-01) a temperatura ambiente. El valor de emisividad de la piel introducido en la cámara IR fue de 0.97 [93], valor reportado para una temperatura de 26.8 °C y para este estudio se consideró constante.

2. El espectro de reflexión difusa de la mano se adquirió a temperatura ambiente usando el arreglo de esfera integradora.

3. El voluntario sumergió su mano en agua fría a 10° C durante 5 minutos intermitentemente hasta que la temperatura de la piel se estabilizó.

4. La temperatura de la mano se midió nuevamente con la cámara FLIR i5 LM-CT-01.

5. El espectro de reflexión difusa de la mano se adquirió varias veces mientras la temperatura de la mano aumentaba hasta la temperatura inicial; la temperatura se midió justo antes de la adquisición del espectro de reflexión.

6. El voluntario sumergió su mano en agua tibia a 40 ° C durante 1 minuto hasta que la temperatura de la piel se estabilizó.

7. Nuevamente, se midió la temperatura de la mano y el espectro de reflexión se adquirió varias veces hasta que la temperatura disminuyó al valor inicial.

Se recuperó el coeficiente de absorción de la palma de la mano utilizando IAD. El coeficiente de esparcimiento reducido se consideró variable con la temperatura y la longitud de onda. La variación del coeficiente de esparcimiento reducido en función de la temperatura se consideró variable. Cuando la temperatura aumentó se consideró un incremento de (0.4%) / °C y cuando la temperatura disminuyó se consideró de (-0.3%) / °C [92, 94], estas tasas

se reportaron para una longitud de onda de 960 *nm* y se asumió esta variación para este estudio.

A continuación, se muestra la reflectancia difusa para los tres voluntarios con tipos de piel I, III y V. En la figura 5.7a se muestra la reflexión difusa de un voluntario con tipo de piel I su temperatura varió de 20.4 a 35.3 °C, para el voluntario con tipo de piel III (ver figura 5.7b) la temperatura varió de 19 a 40 °C y para el voluntario con tipo de piel V (ver figura 5.7c) la temperatura varió de 14.9 a 38.3 °C.

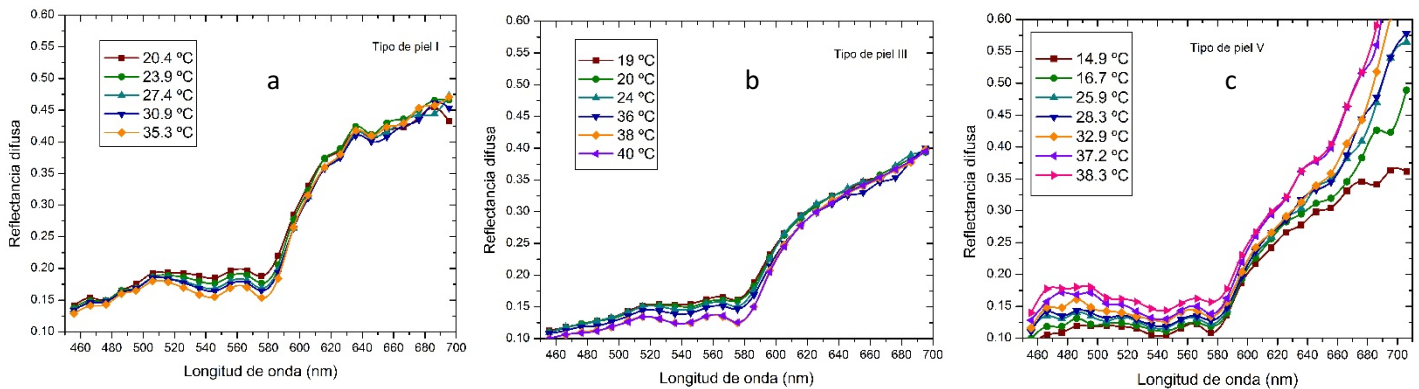


Figura 5.7. Espectros de reflectancia Difusa de tres voluntarios: (a) tipo I, (b) tipo III and (c) tipo V según la escala Fitzpatrick a diferentes temperaturas, en un rango de 14.9 to 40 °C.

Los resultados obtenidos en los experimentos con tipo de piel I y III revelan que, a mayor temperatura, la piel absorbe más, sin embargo, para el tipo de piel V los resultados no fueron los esperados puesto que el comportamiento fue el contrario, tal como se muestra en la figura 5.8. Lo que se ha reportado en la literatura hasta el momento es que el coeficiente de absorción y esparcimiento aumentan cuando la temperatura aumenta en pieles claras [92].

Estos resultados apoyan la misma aseveración para pieles I y III, en cambio para el tipo de piel V se observa lo contrario y en la literatura no se ha encontrado información sobre estudios en pieles oscuras.

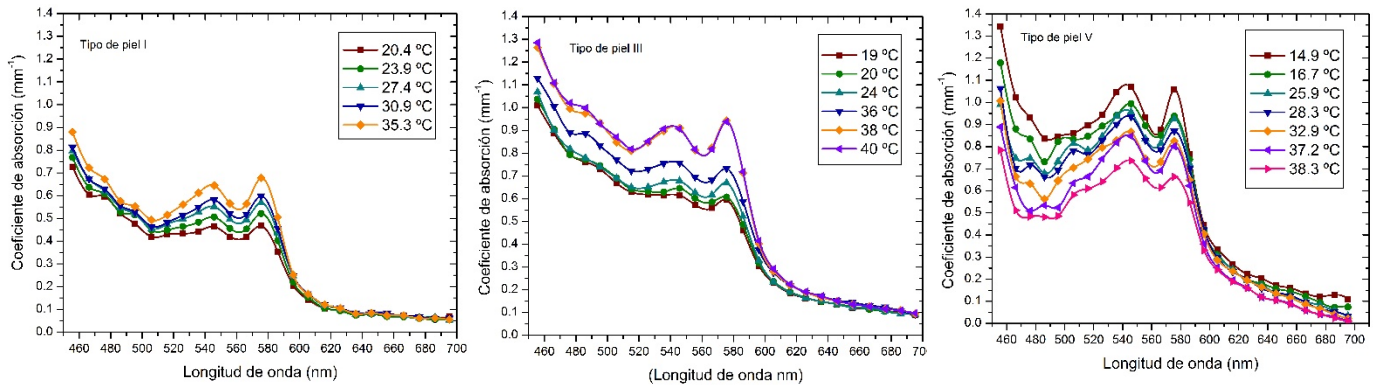


Figura 5.8. Coeficiente de absorción de tres voluntarios: (a) tipo I, (b) tipo III y (c) tipo V acorde a la escala de Fitzpatrick a diferentes temperaturas, rango de 14.9 a 40 °C.

En la figura 5.9 se muestra el coeficiente de absorción de los tres voluntarios a una temperatura de 25°C, en donde se observa claramente que el tipo de piel V absorbe más luz que los otros dos tipos de piel.

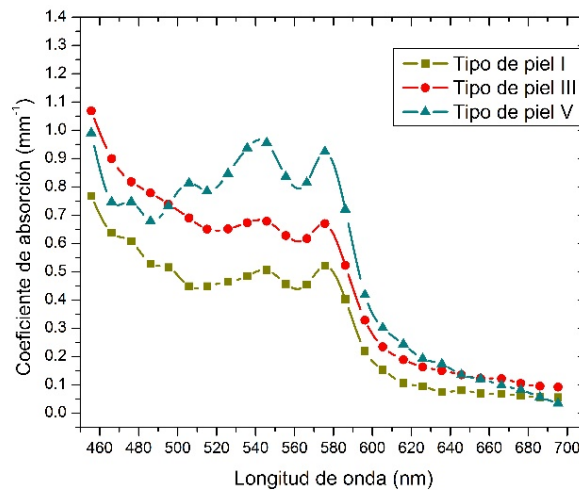


Figura 5.9. Coeficiente de absorción de tres voluntarios a una Temperatura de 25 °C.

5.2 EXPERIMENTOS REALIZADOS UTILIZANDO EL PROGRAMA RDECA PARA LA RECUPERACIÓN DE PROPIEDADES ÓPTICAS

En esta sección se presentan un conjunto de experimentos en los cuales se recuperaron las propiedades ópticas utilizando el programa RDECA. Los primeros experimentos fueron realizados para observar la funcionalidad del programa RDECA en la obtención del coeficiente de absorción y esparcimiento en tiempo real. También se detalla un estudio de

la variación del coeficiente de absorción, en diferentes voluntarios con distintos tipos de piel y variando la temperatura de los voluntarios, para observar el efecto de la temperatura en el coeficiente de absorción utilizando una metodología diferente a la de la sección anterior y con un mayor número de voluntarios. Es importante destacar que en todas las gráficas mostradas en esta sección cada dato obtenido corresponde al promedio de 6 mediciones tomadas por el programa RDECA.

5.2.1 Muestra variable en el tiempo

5.2.1.1 Muestra de partículas de poliestireno, agua y tinta

La muestra variable en el tiempo consistió en partículas de poliestireno, agua y tinta. Con este experimento se observó en tiempo real, la variación del coeficiente de absorción. El experimento consistió en los siguientes pasos:

1. Se caracterizó la muestra que contenía solamente partículas de poliestireno y agua para conocer el coeficiente de esparcimiento y factor de anisotropía. En este caso primero se calculó mediante la aproximación de Mie (absorción despreciable) el factor de anisotropía (el diámetro de las partículas fue de $2\ \mu\text{m}$ a una longitud de onda de $700\ \text{nm}$), enseguida mediante el arreglo de esfera integradora se midió la reflexión y transmisión de la muestra para después recuperar su coeficiente de esparcimiento mediante IAD. El factor de anisotropía y el coeficiente de esparcimiento de la muestra obtenidos fueron 0.92147 y $3.27\ \text{mm}^{-1}$, respectivamente para una longitud de onda de $700\ \text{nm}$.
2. Con los valores anteriores y la medición en tiempo real de la reflectancia de la muestra, se recuperó el coeficiente de absorción variable en el tiempo de la mezcla de partículas de poliestireno y agua a la que se le fue añadiendo tinta durante 2150 segundos. La tinta fue proporcionada por la bomba de infusión KDScientific modelo KDS-100, como se muestra en la figura 5.10. La mezcla se agitaba frecuentemente para homogeneizarla.



Figura 5.10. Arreglo experimental para la medición del coeficiente de absorción variable en el tiempo.

Los resultados se muestran en la figura 5.11 en donde se observa que conforme se añadió una gota de tinta a la muestra, el coeficiente de absorción fue aumentando, estos resultados fueron los esperados. Las líneas rojas muestran los intervalos en los que se añadió tinta y se agitó la muestra. Se puede observar una gran cantidad de ruido, debido a que la muestra no fue homogénea a lo largo del tiempo, sin embargo, la tendencia del coeficiente de absorción a aumentar es clara.

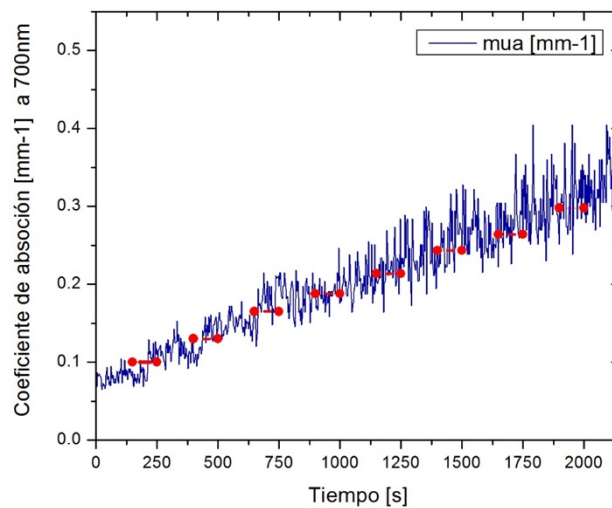


Figura 5.11. Coeficiente de absorción de una muestra de partículas de poliestireno, tinta y agua.

5.2.1.2 Parafina

Puesto que el algoritmo desarrollado también tiene la opción de recuperar el coeficiente de esparcimiento en tiempo real a una longitud de onda, se pensó en trabajar en una muestra como la parafina para monitorear dicho parámetro. La parafina es un compuesto que cuando se encuentra en estado líquido es en teoría completamente transparente y conforme se va solidificando existe una formación de cristales que son esparcidores de luz. Gracias a estas características se eligió esta muestra para monitorear el coeficiente de esparcimiento en tiempo real y recuperar su espectro en un intervalo de longitudes de onda de 475 a 700 nm. El experimento consistió en los siguientes pasos:

1. Se calentó la muestra hasta que la parafina fuera completamente líquida.
2. Se colocó la muestra en el arreglo experimental de la esfera integradora.
3. Se recuperó μ_s de la parafina mientras la muestra se fue solidificando, utilizando el programa RDECA.

Los datos utilizados para la recuperación de μ_s son los mostrados en la tabla 5.4.

Tabla 5.4. Propiedades de la muestra de parafina.

Propiedad de la muestra	Valor
Coefficiente de absorción μ_a	0 [mm ⁻¹]
Factor de anisotropía g	0.7
Índice de refracción de la muestra	1.48 [95]
Espesor físico de la muestra	1 [mm]
Índice de refracción de la celda	1.5
Espesor físico de la celda	1 [mm]

En la figura 5.12 se muestra el monitoreo del coeficiente de esparcimiento de la parafina a una longitud de onda de 533 nm durante su solidificación. En dicha gráfica se observa como el coeficiente de esparcimiento aumenta debido a que el número de partículas esparcidoras comienza a aumentar mientras la parafina se solidifica. Es importante mencionar que el factor de anisotropía se consideró constante y en realidad este valor varía conforme la parafina se solidifica, sin embargo, no fue posible medir la tasa de variación con el equipo disponible.

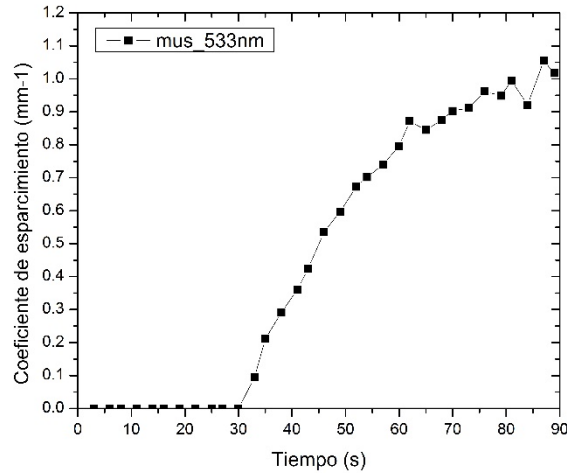


Figura 5.12. Monitoreo del coeficiente de esparcimiento de la parafina.

En la figura 5.13 se muestra el espectro del coeficiente de esparcimiento de la parafina y se observa lo mismo que en la gráfica anterior conforme la parafina se comienza a solidificar el coeficiente de esparcimiento comienza a aumentar.

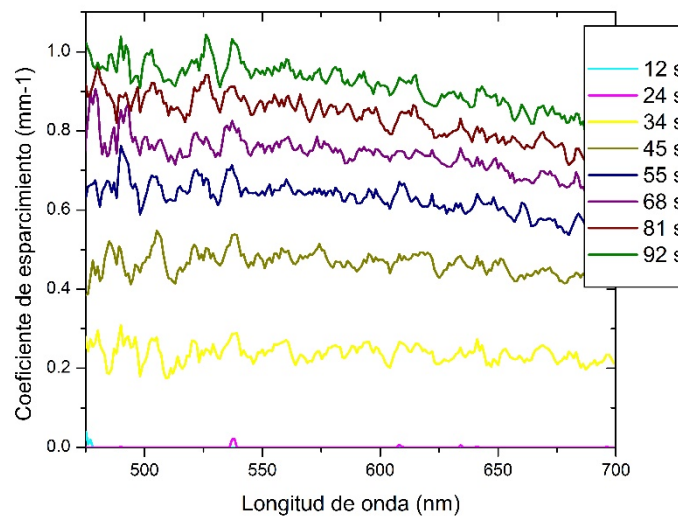


Figura 5.13. Espectro de coeficiente de esparcimiento de parafina.

El experimento anterior se repitió, pero esta vez también se midió la temperatura de la muestra durante la solidificación mediante el uso de un termopar colocado en una esquina de la celda. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 5.14, cada punto marcado con un número en la gráfica corresponde a la secuencia conforme se recuperó dicho parámetro. La secuencia de números es consecutiva, pero en la gráfica no se observan todos los números ya que se empalman puesto que la temperatura fluctúa. En la gráfica se

observa como la temperatura comienza a elevarse en los primeros puntos y después se mantiene aproximadamente en la misma temperatura mientras se solidifica la parafina y finalmente la temperatura comienza a disminuir.

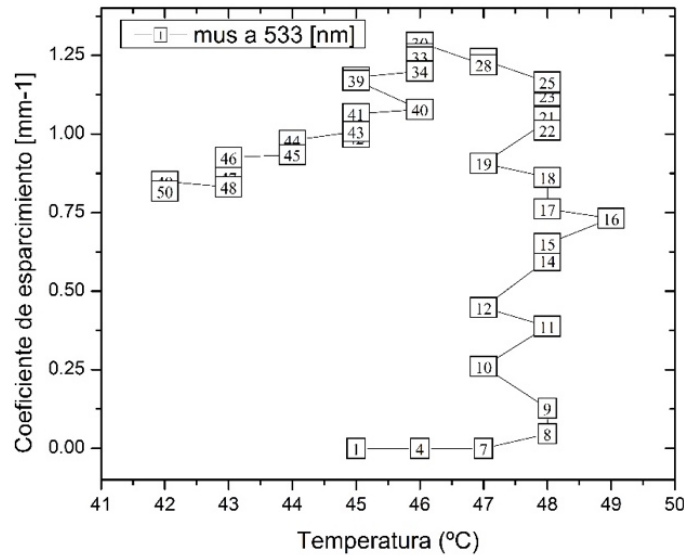


Figura 5.14. Monitoreo del coeficiente de espárcimiento a una longitud de 533 nm.

5.2.2 Estudio del coeficiente de absorción en dos tipos de piel mediante RDECA

Se utilizó el programa RDECA para recuperar el coeficiente de absorción de la palma de la mano de dos voluntarios con tipo de piel IV. El voluntario 1 sumergió la mano en agua fría a una temperatura de 13 °C durante 10 segundos e inmediatamente se recuperó el coeficiente de absorción mientras la temperatura de la palma de la mano se estabilizaba a su temperatura ambiente. Con el voluntario 2 se repitió el mismo procedimiento con la diferencia de que este voluntario sumergió la mano en agua a una temperatura de 11 °C durante 12 segundos. En la figura 5.15 se muestran los espectros del coeficiente de absorción en un intervalo de longitudes de onda de 450 a 750 nm. Para los dos voluntarios, los primeros 4 espectros recuperados muestran un cambio respecto del otro y se observa que conforme la temperatura de la mano aumenta el coeficiente de absorción también aumenta hasta un punto máximo. Después de los 22 segundos el coeficiente de absorción

ya no cambia con respecto a los otros espectros, los mayores cambios se observan en los primeros 18 segundos.

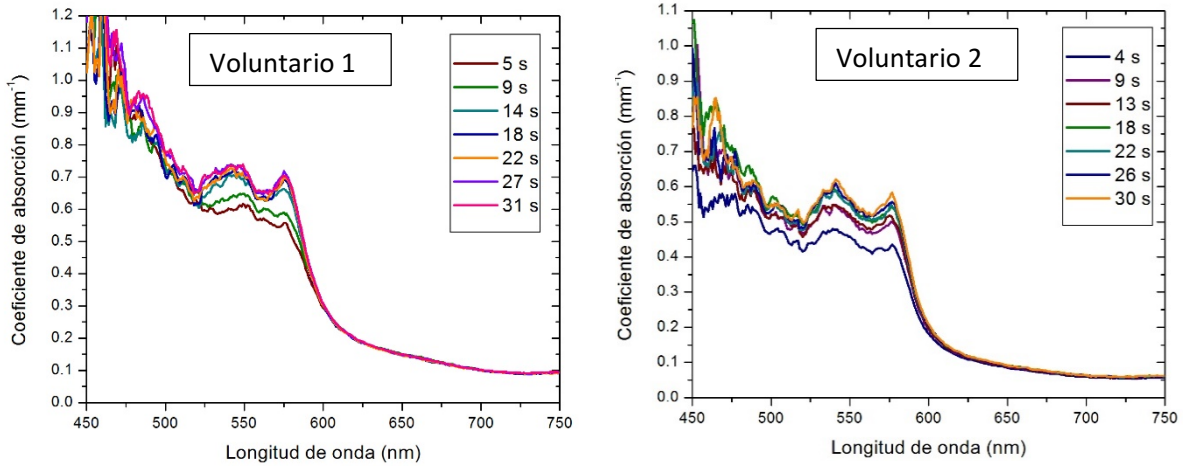


Figura 5.15. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de dos voluntarios con tipo de piel IV, después de ser sumergida en agua fría.

Se repitió el experimento, pero esta vez se sumergió la mano del voluntario 1 en agua caliente a una temperatura de 45 °C durante 10 segundos (ver figura 5.16), en dicha gráfica se observa que en los primeros 7 espectros no hay gran cambio ya que las gráficas están casi empalmadas, pero después de los 34 segundos, el coeficiente de absorción comienza a disminuir como resultado de la disminución de la temperatura al pasar el tiempo. El voluntario 2 sumergió la mano en agua caliente a 42 °C durante 15 segundos aproximadamente, en este caso el voluntario mostró un comportamiento diferente al

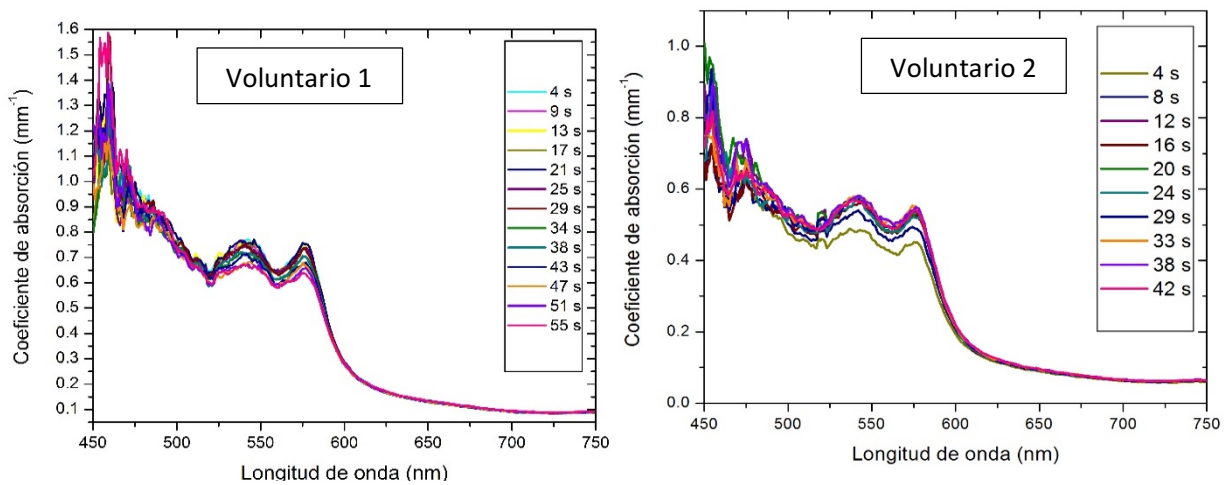


Figura 5.16. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de dos voluntarios con tipo de piel IV, después de ser sumergida en agua caliente

voluntario 1 ya que se observó que conforme la temperatura de la mano disminuyó el coeficiente de absorción aumentó.

Durante el proceso de enfriamiento de la piel, se eligió observar el valor del coeficiente de absorción a una sola longitud de onda, de los dos voluntarios. En las figuras 5.17 y 5.18 se muestra el coeficiente de absorción a una longitud de onda de 577 nm con respecto al tiempo en que se recuperó dicho parámetro. Se eligió observar el comportamiento a una longitud de onda de 577 nm, ya que es uno de los picos característicos de absorción de la hemoglobina y en donde se presentan los mayores cambios en el μ_a .

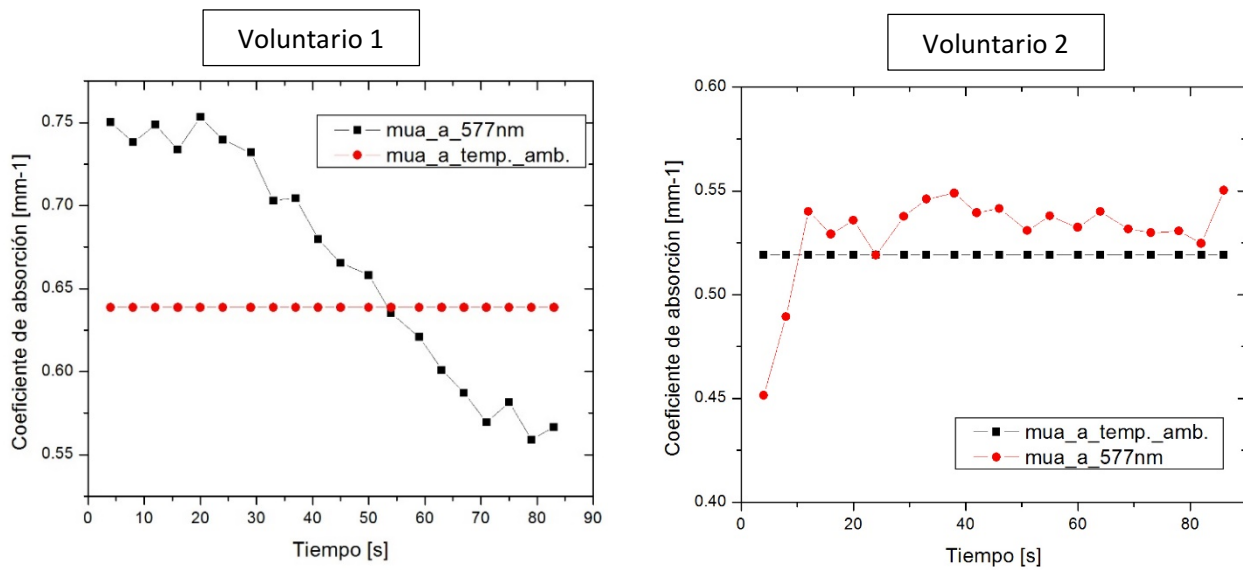


Figura 5.17. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario a una longitud de onda de 577 nm, después de ser sumergida en agua caliente.

En las gráficas 5.17 y 5.18, los puntos rojos muestran el coeficiente de absorción de los voluntarios a su temperatura regular. En estas graficas se aprecia mejor como es el cambio del coeficiente de absorción conforme la temperatura de la palma de la mano disminuye (Figura 5.17) o aumenta (Figura 5.18).

Durante el aumento de temperatura de la piel, se observa que el coeficiente de absorción tiende a un máximo y a pesar de que la temperatura de la mano sigue subiendo el coeficiente de absorción comienza a disminuir en ambos casos.

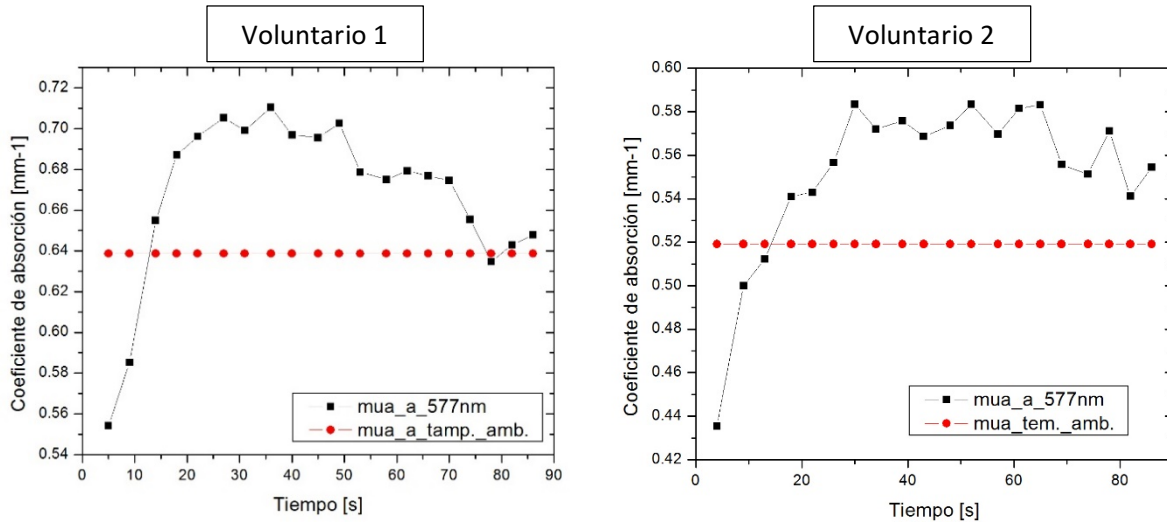


Figura 5.18. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario a una longitud de onda de 577 nm, después de ser sumergida en agua fría.

Los experimentos se repitieron con el voluntario 2, pero esta vez se utilizó la cámara térmica (FLIR i5 LM-CT-01) para medir la temperatura de la palma de la mano. El voluntario sumergió la mano en agua fría a 8 °C durante 20 segundos. Se obtuvieron 30 graficas del coeficiente de absorción durante 139 segundos inmediatamente después de sumergir la mano en agua fría, de las cuales solo se muestran 9 a diferentes temperaturas en el rango de temperaturas mínimo y máximo obtenido durante los 139 segundos (ver figura 5.19). En la figura 5.19 se observa que para este voluntario el rango de temperaturas que se alcanzó se encuentra entre 24 °C y 33.9 °C. En los primeros segundos de monitoreo se observa un mayor cambio en el coeficiente de absorción.

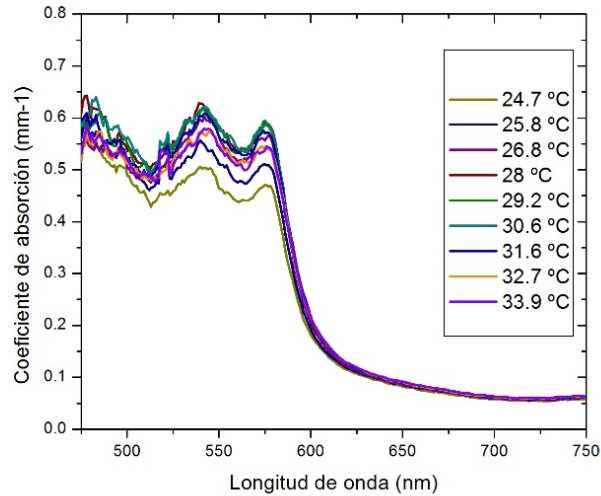


Figura 5.19. Coeficiente de absorción de la palma de la mano a diferentes longitudes de onda.

El voluntario también sumergió la mano en agua caliente a una temperatura de 41 °C durante 40 segundos. Se recuperaron 30 espectros durante 115 segundos, de los cuales solo se seleccionaron 5 resultados a diferentes temperaturas en el rango máximo y mínimo de temperaturas obtenido durante los 115 segundos de recuperación, esto para una mejor apreciación de la tendencia de los resultados (ver figura 5.20).

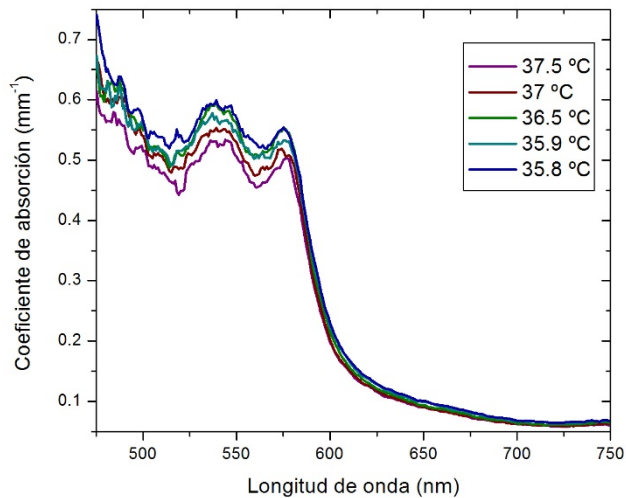


Figura 5.20. Coeficiente de absorción de la palma de la mano a diferentes temperaturas.

El comportamiento para el voluntario 2 se repite, a mayor temperatura menor coeficiente de absorción, contrario a lo que se encontró en la literatura. Mediante este estudio se trató de encontrar un comportamiento similar al voluntario 1 pero no se logró encontrar una tendencia similar en este caso los dos voluntarios se comportaron diferente.

Los dos principales componentes de absorción en la piel son la hemoglobina y la melanina, la concentración de sangre en la piel puede variar debido a las respuestas termorreguladoras de la piel cuando se expone al frío o al calor. Se ha estudiado el proceso de termorregulación de la piel y los reportes indican que cuando existe una disminución local de temperatura existe una disminución de flujo sanguíneo, por otra parte cuando existe un aumento local de temperatura existe un aumento del flujo sanguíneo para eliminar el exceso de calor [96]. Con estas suposiciones se pensaría que cuando se disminuye la temperatura local de la mano del voluntario debería existir una disminución del coeficiente de absorción debido a la disminución de la concentración de sangre y cuando existe un aumento de temperatura el coeficiente debería aumentar por el aumento de la concentración de sangre. En el experimento cuando se enfrió la mano de los dos voluntarios, se observa como el coeficiente de absorción disminuye drásticamente respecto a su temperatura ambiente (ver figura 5.18) y esto es lo que se esperaba; pero cuando se expuso la mano de los voluntarios al calor se observan diferentes comportamientos en los dos voluntarios, para el voluntario 1 se observa lo esperado ya que su coeficiente de absorción aumenta respecto al coeficiente de absorción a temperatura ambiente, pero para el voluntario 2 se observa un comportamiento diferente (ver figura 5.17). Esto se atribuye a que existen factores que alteran la respuesta al calor y al frío, por ejemplo algunas personas sufren aclimatación y generalmente se da en ambientes cálidos cuando existe una exposición frecuente al calor, o desordenes dermatológicos como quemaduras, consumo de medicamentos como los antidepresivos y antihistamínicos [96].

Por otra parte se han reportado algunos estudios del efecto de la temperatura en las propiedades ópticas en un estudio realizado por Yeh et al. [97] se encontró que al variar la temperatura del antebrazo de 9 voluntarios en un rango de 22 °C a 38 °C en 9 a longitudes de onda de 590 a 950 nm, se observó que el coeficiente de absorción aumento conforme la

temperatura aumento aproximadamente en 1%/°C. Los valores típicos encontrados a 590 nm fueron de 0.2 a 0.3 mm⁻¹ a temperatura ambiente y la variación encontrada fue de 0.04±0.012 mm⁻¹ para el rango de temperaturas de 22 °C a 38 °C.

En otro estudio realizado por Hayward et al. [94] se controló la temperatura local de la piel en 7 voluntarios a longitudes de onda de 960nm, 1060nm y 1250nm. Los resultados mostraron que el coeficiente de absorción aumentó con la temperatura y disminuyó con la temperatura. Cabe destacar que en estos estudios los voluntarios fueron con tipos de piel clara.

5.2.3 Estudio del coeficiente de absorción de la piel en 20 voluntarios mediante RDECA

En este nuevo estudio se cambió la metodología para aumentar y disminuir la temperatura de los voluntarios, en este caso se afectó la temperatura del cuerpo completamente a diferencia del estudio anterior en donde solo se variaba la temperatura de la mano. La nueva metodología consistió en los siguientes pasos:

1. Se midió la temperatura de la palma de la mano del voluntario mediante la cámara térmica (FLIR i5 LM-CT-01) a temperatura ambiente y se recuperó su coeficiente de absorción.
2. El voluntario realizó ejercicio por un periodo corto de tiempo (el ejercicio consistió en realizar sentadillas y abdominales por aproximadamente 4 minutos en algunos casos fue menos debido a la condición física del voluntario y con excepción de tres voluntarios (4, 11 y 16)) quienes realizaron rutinas de ejercicio antes de llegar al laboratorio.
3. Se midió nuevamente la temperatura de la palma de la mano del voluntario.
4. Se recuperó el coeficiente de absorción con el programa RDECA consecutivamente y al mismo tiempo se midió la temperatura de la otra palma de la mano.
5. Se dejó reposar al voluntario para estabilizar su temperatura.

6. Se encendió el aire acondicionado a una temperatura aproximadamente de 15 °C para que el voluntario se enfriara (por un tiempo de 6 minutos aproximadamente en algunos casos también fue menos tiempo debido al tipo de voluntario).
7. Se midió la temperatura de la palma de la mano.
8. Se recuperó el coeficiente de absorción y al mismo tiempo se midió la temperatura de la otra palma de la mano.

Los voluntarios fueron clasificados por tipo de piel según la escala de Fitzpatrick [89], el índice de masa corporal (IMC) y sexo. El índice de masa corporal se calculó con el peso y estatura de los voluntarios mediante la siguiente ecuación:

$$IMC = \frac{\textit{peso}}{(\textit{estatura})^2} \quad (5.79)$$

Según la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) el IMC se puede clasificar como se muestra en la siguiente tabla [98], para este estudio nosotros clasificamos a los voluntarios solo en 4 categorías: peso insuficiente (B), peso normal(N), sobrepeso(S) y obesidad (O).

Tabla 5.5 Clasificación del peso según el índice de masa corporal [98].

IMC	Clasificación	
IMC < 18.5	Peso insuficiente	B
18.5-24.9	Peso normal	N
25-26.9	Sobrepeso grado I	S
27-29.9	Sobrepeso grado II	
30-34.9	Obesidad tipo I	O
35-39.9	Obesidad tipo II	
40-49.9	Obesidad tipo III	
IMC>50	Obesidad tipo IV (extrema)	

Los resultados se agruparon en tres grupos clasificados por tipo de piel. En el primer grupo se encuentran los tipos de piel II y III, en el segundo grupo se encuentran los tipos de piel IV

y en el tercer grupo los tipos de piel V. En las gráficas 5.20 a 5.25, las líneas horizontales muestran el coeficiente de absorción del voluntario a temperatura ambiente, las líneas verticales muestran la temperatura de la palma de mano del voluntario sin haber efectuado ninguna actividad física ni ser enfriadas. En las leyendas de las gráficas, el primer número representa el número de voluntario, el segundo representa el tipo de piel, el tercer término representa el IMC y el cuarto término representa el sexo (M=mujer y H=hombre). En total, el estudio se realizó con 9 mujeres y 11 hombres que se encuentran en un rango de edad de 19-34 años. En todas las gráficas (figuras 5.21 a 5.26) se muestran 10 datos tomados consecutivamente y cada dato corresponde al promedio de 6 mediciones.

Lo que se puede observar en las figuras 5.21 y 5.22 es que para las pieles con tipo II y III, aumenta el coeficiente de absorción para los 4 voluntarios esto puede ser consecuencia de la disminución de temperatura que provoca una disminución del flujo sanguíneo y al mismo tiempo por intervalos cortos aumenta el flujo para evitar daño en la piel por el frío (ver figura 5.21). Por otra parte, se observa que el calor no afecta demasiado el coeficiente de absorción, en estas condiciones todos los puntos se mantienen en el cruce de las líneas del coeficiente de absorción a temperatura ambiente (ver figura 5.22). Las temperaturas que alcanzaron los voluntarios respecto a la temperatura ambiente fueron variables; se observa que el voluntario con menor temperatura fue el voluntario 6 que cuenta con un IMC bajo. Esto tiene que ver con el porcentaje de grasa corporal de los voluntarios, aquellos con IMC normal tienen mayor grasa que actúa como aislante térmico, por lo que el voluntario 6 tiene mayor capacidad para disipar calor [99].

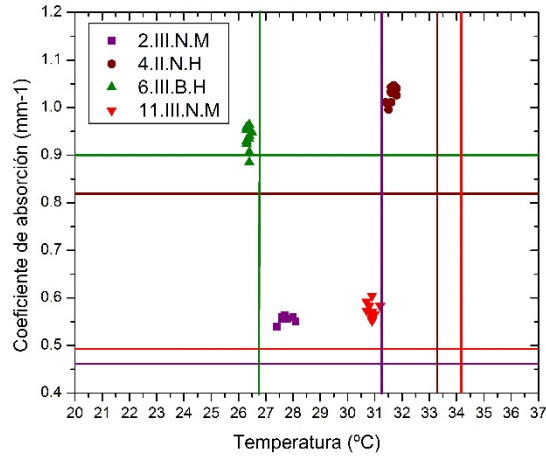


Figura 5.21. Coeficiente de absorción después de exposición a aire frío de voluntarios con tipo de piel II y III.

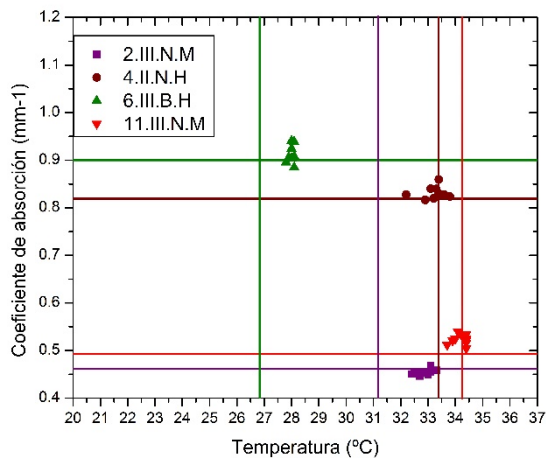


Figura 5.22. Coeficiente de absorción después de ejercicio de voluntarios con tipo de piel II y III.

Para los tipos de piel IV se observa que el frío les afecta un poco menos que a los voluntarios con tipo de piel II y III. El coeficiente de absorción para algunos de los voluntarios con tipo de piel IV aumenta con el frío, mientras que para otros se observa lo contrario (ver figuras 5.23 y 5.24) esto puede ser debido al IMC de estos voluntarios que es mayor que el de los demás y también a las temperaturas alcanzadas que no fueron suficientes para producir un efecto sobre el coeficiente de absorción. En las gráficas 5.23 y 5.24 el coeficiente de absorción a temperatura ambiente para los voluntarios 9 y 16 se empalma. El calor para estos voluntarios les afecta de diferentes maneras y no se observa una tendencia, para 5 voluntarios el coeficiente de absorción aumenta, 2 se mantiene en la línea de coeficiente de absorción a temperatura ambiente y 2 dos por debajo de esta línea.

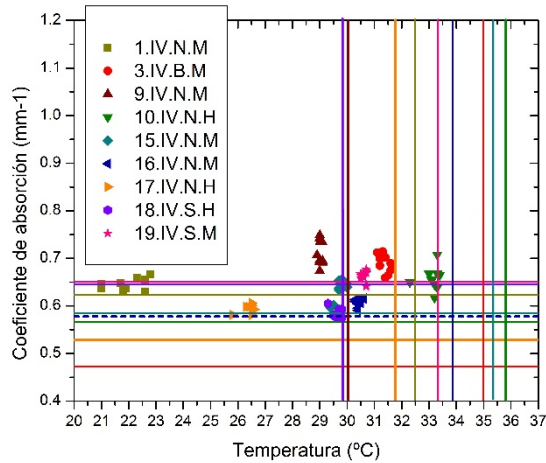


Figura 5.23. Coeficiente de absorción después de exposición a aire frío de voluntarios con tipo de piel IV.

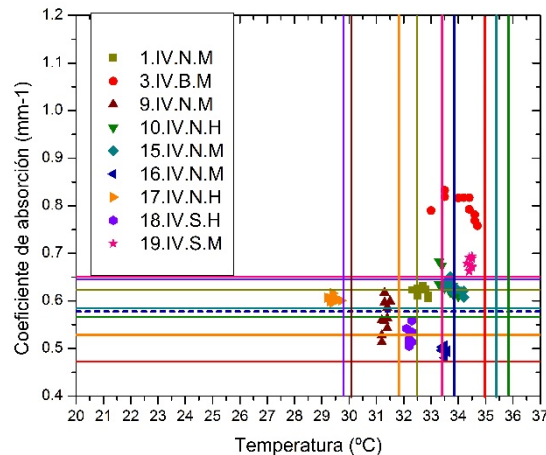


Figura 5.24. Coeficiente de absorción después de ejercicio de voluntarios con tipo de piel IV.

Para los voluntarios con tipo de piel V el frío les afecta en menor medida que a los voluntarios con tipo de piel II, III y IV, en este caso para la mayoría de los voluntarios con tipo de piel V los puntos cruzan las líneas del coeficiente de absorción a temperatura ambiente con excepción del voluntario 14 en donde se observa que este voluntario disminuye su coeficiente de absorción (ver figura 5.25), este efecto no está relacionado con el IMC pues se encuentra dentro de un rango normal; probablemente se deba a su condición física o a otro factor que no se consideró en este estudio. Por lo tanto, se puede concluir que el calor les afecta de diferente manera y no se observa una tendencia clara (ver figura 5.26).

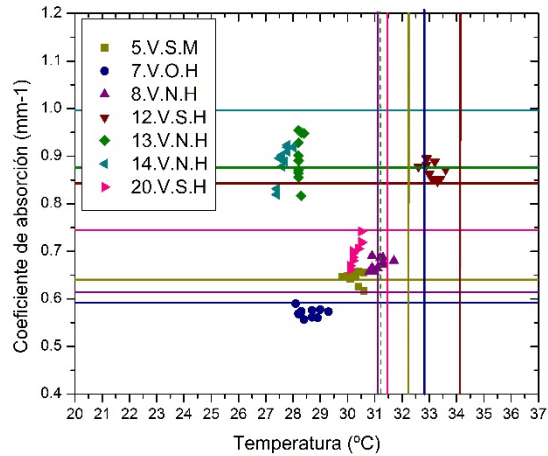


Figura 5.25. Coeficiente de absorción después de ejercicio de voluntarios con tipo de piel IV.

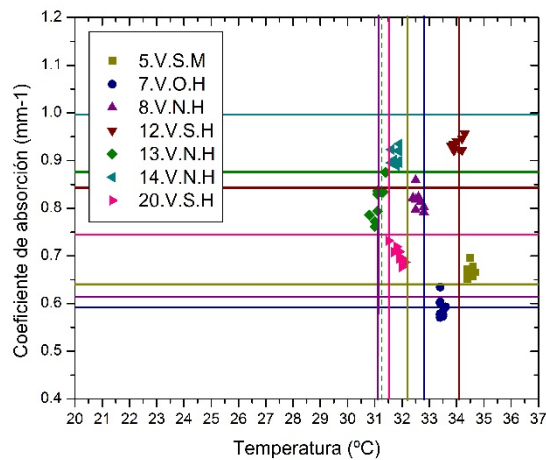


Figura 5.26. Coeficiente de absorción después de ejercicio de voluntarios con tipo de piel V.

El coeficiente de absorción a temperatura ambiente de los voluntarios 4 y 6 (tipo de piel II y III respectivamente) es del orden de los del tipo de piel V debido a que el voluntario 4 tiene una temperatura muy baja y el voluntario 6 a pesar de tener una temperatura no tan baja su mano se encontraba muy roja por el frío.

Mediante estos experimentos se puede observar que el proceso de enfriar y calentar de manera local se puede controlar mejor debido a que el enfriamiento y calentamiento general del cuerpo involucra muchos más factores que no se pueden controlar y hace más difícil la interpretación de resultados.

5.2.4 Estudio del efecto de la concentración de sangre en el coeficiente de absorción de la piel en 20 voluntarios mediante RDECA

Se realizaron dos experimentos en los que se buscó observar el efecto que produce el aumento o disminución de la cantidad de sangre en el coeficiente de absorción de la palma de la mano. Antes de realizar el experimento se midió el coeficiente de absorción del voluntario para tenerlo como referencia, en las gráficas mostradas más adelante este coeficiente de absorción es la línea horizontal. En el experimento 1, se mantuvo la mano del voluntario elevada por 2 minutos, después de los 2 minutos se recuperó el espectro del coeficiente de absorción con la mano elevada (ver figura 5.27 a), al finalizar la recuperación se bajó la mano e inmediatamente se volvió a recuperar el espectro del coeficiente de absorción (ver figura 5.27 b). En la figura 5.27 se muestra el coeficiente de absorción a una longitud de onda de 577 nm y se observa que mientras la mano se mantuvo arriba, el coeficiente de absorción disminuyó debido a la falta de sangre en la mano, en cambio cuando la mano se bajó el coeficiente de absorción comienza a aumentar debido al incremento de sangre en la mano.

El siguiente experimento consistió en mantener la mano del voluntario abajo durante un tiempo de 3 minutos, después se elevó la mano e inmediatamente se recuperó el coeficiente de absorción a una longitud de onda de 577 nm. Los resultados se muestran en la figura 5.28.

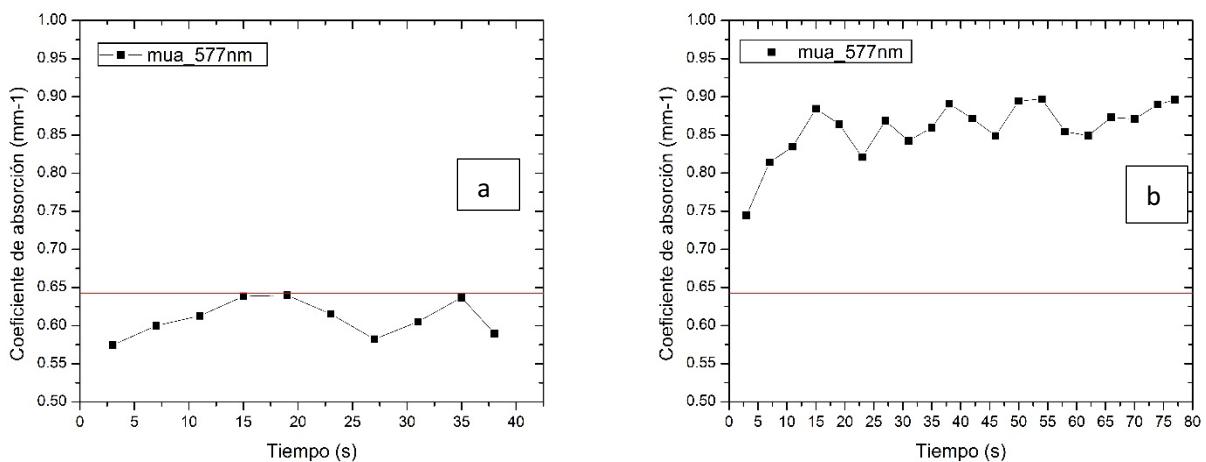


Figura 5.27. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario.

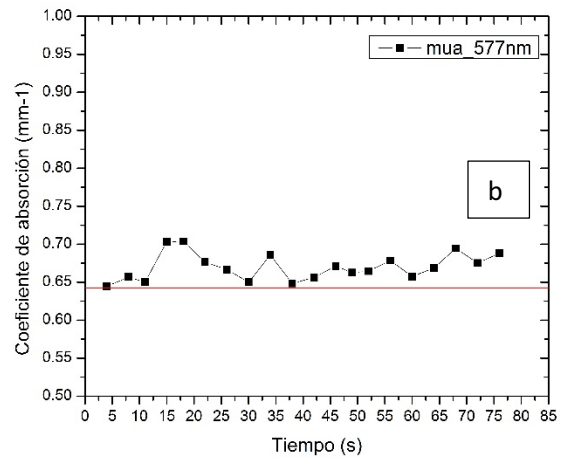
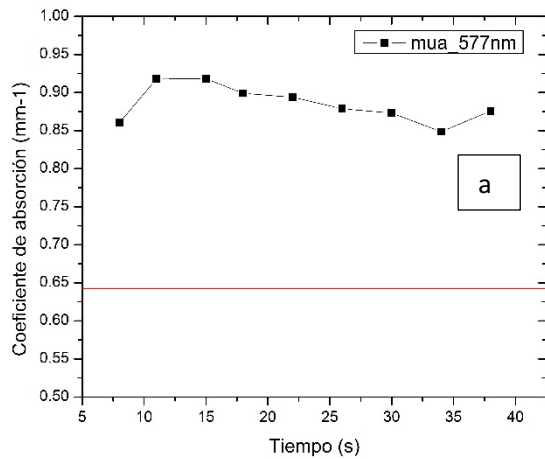


Figura 5.29. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario.

En la gráfica 5.29 se muestran tres espectros del coeficiente de absorción que corresponden a los experimentos explicados anteriormente. La gráfica 5.29a corresponde al primer experimento y la gráfica 5.29b corresponde al segundo experimento.

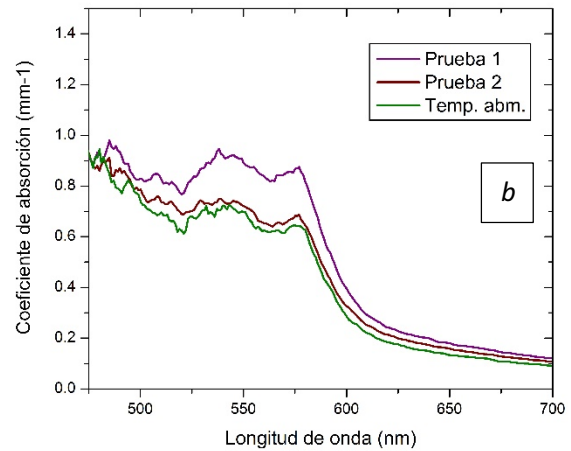
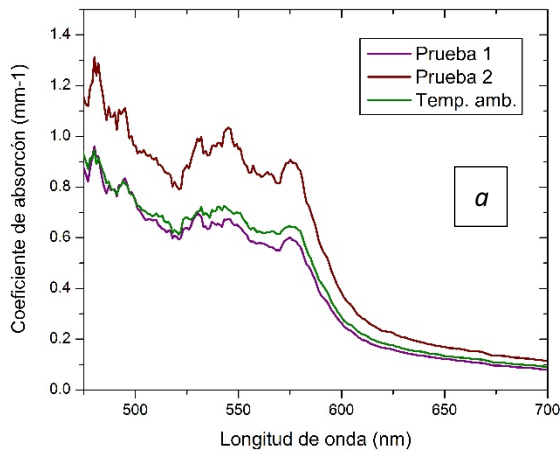


Figura 5.28. Coeficiente de absorción de la palma de la mano de un voluntario; (a) Experimento 1 y (b) Experimento 2.

Mediante estos experimentos se pudo constatar que la concentración de sangre afecta de manera directa el coeficiente de absorción y que debe ser considerado cuando se realicen las mediciones de este parámetro sobre todo se debe cuidar la posición de la mano.

5.3 CONCLUSIONES DE CAPÍTULO

En este capítulo se muestra un conjunto de experimentos que sirvieron para la implementación de IAD junto con el arreglo experimental de esfera integradora. La segunda parte de experimentos permitió ver el funcionamiento del algoritmo RDECA y constatar que el programa RDECA realiza los cálculos de manera adecuada.

También se incluyó un estudio del coeficiente de absorción en función de la pigmentación de la piel, la temperatura y la concentración de sangre. Mediante los resultados se puede observar que son varios los parámetros que influyen en el coeficiente de absorción. No solo la pigmentación es un factor determinante, también hay que considerar la temperatura, por esto es importante personalizar los tratamientos de TFD, ya que de este parámetro depende la eficacia del tratamiento.

CONCLUSIONES

La terapia fotodinámica (TFD) es un tratamiento que se encuentra en creciente desarrollo debido a sus grandes beneficios respecto a otras técnicas. La principal desventaja en este tratamiento es que el fotosensibilizador produce sensibilidad en piel y ojos cuando se expone a la luz solar o artificial intensa debido a que el paciente no eliminó completamente el fotosensibilizador durante la terapia. Mediante el monitoreo del coeficiente de absorción se puede garantizar que el paciente ha eliminado completamente el fotosensibilizador. Debido a que actualmente no se ha reportado una técnica que permita el monitoreo del coeficiente de absorción en tiempo real, el desarrollo de este trabajo de tesis se centró en esta necesidad.

En este trabajo se logró desarrollar un programa para monitorear el coeficiente de absorción o esparcimiento a una longitud de onda en tiempo real a partir de mediciones experimentales de reflexión difusa. Dicha técnica es de bajo costo principalmente por el tipo de espectrofotómetro utilizado. RDECA (Recuperación de coeficiente de absorción) es el software que se desarrolló que se comunica una computadora con el espectrofotómetro para medir la reflexión de una muestra y después utiliza el algoritmo IAD para la recuperación del coeficiente de absorción o esparcimiento. El programa RDECA logró reducir el tiempo de cómputo cuando se recupera el coeficiente de absorción o esparcimiento en un intervalo de longitudes de onda, ya que RDECA puede utilizar 1, 5 o 10 hilos para recuperar dichos parámetros. Estos hilos permiten al programa dividir el número total de datos a recuperar entre el número de hilos en procesos simultáneos. El tiempo que tarda el programa para recuperar un dato del coeficiente de absorción a una longitud de onda es de aproximadamente 3 segundos (con un tiempo de integración de 300 milisegundos y sin considerar pérdidas de luz por escape lateral), a pesar de que este tiempo es grande, para los fines del presente trabajo, es un tiempo adecuado. Se logró visualizar el funcionamiento del programa en muestras con propiedades ópticas variables en tiempo real y en los resultados obtenidos se constató que el programa realiza correctamente sus cálculos. Se observó el cambio del coeficiente de absorción de una muestra con partículas

de poliestireno, agua y tinta a concentración variable. Además, se monitoreó el coeficiente de esparcimiento de parafina durante un proceso de solidificación.

Se presentó un conjunto de experimentos que fueron realizados utilizando directamente IAD para la implementación del arreglo experimental. La metodología propuesta para recuperar el coeficiente de absorción en tiempo real tiene ventajas sobre otro tipo de técnicas como el de fluorescencia, que es poco efectivo en pieles morenas. La metodología utilizada por RDECA permitirá un suministro de luz homogénea sobre el tumor debido al uso de la esfera integradora, es no invasiva y se puede utilizar en cualquier tipo de piel.

Otro conjunto de experimentos se realizaron utilizando el programa RDECA. También se realizó un estudio del efecto de la temperatura y la concentración de sangre sobre el coeficiente de absorción. Este estudio se realizó por la importancia que tiene este parámetro en un tratamiento de TFD ya que de este parámetro dependen las dosis de luz que se deben suministrar en el tratamiento. En general los resultados muestran la importancia que tiene medir el coeficiente de absorción de manera personalizada porque existen muchos factores que alteran el valor de este coeficiente, ya que los agentes que determinan principalmente el coeficiente de absorción en la piel son la melanina y la hemoglobina. Si la concentración de melanina permanece constante entonces el único factor que puede variar es la hemoglobina en la sangre. La variación de la concentración de sangre es consecuencia de la termorregulación del organismo cuando se expone a temperaturas altas y bajas. Cuando la temperatura del cuerpo es expuesta al frío se observa una disminución del flujo sanguíneo que se puede traducir como una disminución del coeficiente de absorción, por el contrario cuando se expone al calor se observa un aumento en el flujo sanguíneo que se traduce en un aumento del coeficiente de absorción. Existen otros parámetros que no se pueden controlar y que determinan la respuesta de la termorregulación de la piel, a pesar de que la piel esté expuesta al frío o al calor no se observan los cambios esperados en el coeficiente de absorción.

Trabajo a futuro

Se puede ampliar la técnica implementada en el presente trabajo para que sea capaz de monitorear más de una propiedad óptica a la vez, por lo que se plantea modificar el programa RDECA para que utilice dos esferas integradoras que midan simultáneamente la reflexión y transmisión de una muestra, esto permitiría recuperar dos propiedades ópticas en tiempo real, por ejemplo, el coeficiente de absorción y el coeficiente de esparcimiento.

Otro punto importante es cambiar la fuente de iluminación por otra con potencia superior y agregar un carrusel de filtros de color para utilizar la técnica en un tratamiento real de terapia fotodinámica, esto permitirá mejorar el tratamiento en dos vertientes principales: 1) suministro homogéneo de radiación y 2) dosis personalizadas para cada paciente. Por otro lado, existen investigadores que han modificado los fotosensibilizadores agregando cierto tipo de nano partículas con la idea de que sean más eficientes que los actuales. Por lo que la herramienta desarrollada puede servir para determinar la fotoactivación *in vitro* de los fotosensibilizadores de la siguiente generación. También se puede iniciar una colaboración con dermatólogos para probar el programa en un tratamiento de TFD.

REFERENCIAS

- [1] Organización Mundial de la Salud, "La Organización Mundial de la Salud desaconseja el uso de camas solares a las personas menores de 18 años," *Centro de prensa*, 2005. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2005/np07/es/>. [Accessed: 23-Nov-2017].
- [2] Instituto Nacional del Cáncer, "Efectos secundarios - National Cancer Institute," *Instituto nacional del cáncer*, 2015. [Online]. Available: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/efectos-secundarios>. [Accessed: 23-Nov-2017].
- [3] S. B. Brown, E. A. Brown, and I. Walker, "The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment.," *Lancet Oncol.*, vol. 5, no. 8, pp. 497–508, 2004.
- [4] Y. Gilaberte *et al.*, "Terapia fotodinámica en dermatología," *Actas Dermosifiliogr.*, vol. 97, no. 2, pp. 83–102, 2006.
- [5] L. Li, B. C. H., W. D., B. C., and Y. Gu, "singlet oxygen detection during," *J. Innov. Opt. Health Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 1330002-1-1330002–9, 2013.
- [6] M. Canpolat and J. R. Mourant, "Monitoring photosensitizer concentration by use of a fiber-optic probe with a small source–detector separation," *Appl. Opt.*, vol. 39, no. 34, p. 6508, 2000.
- [7] W. M. Star, "Light dosimetry in vivo," *Phys. Med. Biol.*, vol. 42, no. 5, pp. 763–787, 1997.
- [8] M. S. Patterson, B. C. Wilson, J. W. Feather, D. M. Burns, and W. Pushka, "The measurement of dihematoporphyrin ether concentration in tissue by reflectance spectrophotometry," *Photochem. Photobiol.*, vol. 46, no. 3, pp. 337–343, 1987.
- [9] Y. Deng, Z. Huang, Y. Li, D. Xing, and Z. Zhang, *Advances in Molecular Biophotonics*, Walter de. 2014.
- [10] B. W. Pogue, T. O. McBride, U. L. Osterberg, and K. D. Paulsen, "Comparison of imaging geometries for diffuse optical tomography of tissue," *Opt. Express*, vol. 4, no. 8, p. 270, 1999.
- [11] A. H. Hielscher *et al.*, "Near-infrared diffuse optical tomography.," *Dis. Markers*, vol. 18, no. 5–6, pp. 313–337, 2002.
- [12] W. Xie, Y. Deng, L. Lian, K. Wang, Z. Luo, and H. Gong, "Boundary Element Method for Diffuse Optical Tomography," *2013 Seventh Int. Conf. Image Graph.*, vol. 0, no. 3, pp. 5–8, 2013.
- [13] T. Vo-Dinh, *Biomedical photonics handbook*, Illustrate. CRC Press, 2003.
- [14] Y.-Y. Huang, A. C.-H. Chen, J. D. Carroll, and M. R. Hamblin, "Biphasic Dose Response

- in Low Level Light Therapy," *Dose-Response*, vol. 7, no. 4, p. dose-response, 2009.
- [15] D. A. Boas *et al.*, "Imaging the body with diffuse optical tomography," vol. 18, pp. 57–75, 2001.
- [16] B. Kolb and I. Q. Wishaw, *Neuropsicología humana*, Reprint. Ed. Médica Panamericana, 2006.
- [17] D. Hawkins, N. Houreld, and H. Abrahamse, "Low level laser therapy (LLLT) as an effective therapeutic modality for delayed wound healing," in *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, vol. 1056, pp. 486–493.
- [18] V. V. Tuchin, *Handbook of Photonics for Biomedical Science*, Illustrate. CRC Press, 2010.
- [19] T. I. Karu, "Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 84, no. 5. pp. 1091–1099, 2008.
- [20] P. Avci, A. Gupta, and M. Sadasivam, "Low-Level Laser (Light) Therapy (LLLT) in Skin: Stimulating, Healing, Restoring," *Front. Med. Commun.*, vol. 32, no. 1, pp. 41–52, 2013.
- [21] J. D. Carroll, M. R. Milward, P. R. Cooper, M. Hadis, and W. M. Palin, "Developments in low level light therapy (LLLT) for dentistry," *Dental Materials*, vol. 30, no. 5. The Academy of Dental Materials, pp. 465–475, 2014.
- [22] H. Thiel, "Low power laser therapy — an introduction and a review of some biological effects," *J. Can. Chiropr. Assoc.*, vol. 30, no. 3, pp. 133–138, 1986.
- [23] E. S. Nyman and P. H. Hynninen, "Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 73, no. 1–2. pp. 1–28, 2004.
- [24] P. Agostinis *et al.*, "Photodynamic Therapy of Cancer : An Update," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 61, no. 4, pp. 250–281, 2011.
- [25] E. Ramón Gallegos, *Terapia fotodinámica: teoría y práctica*. Primera edición. México: Instituto Politécnico Nacional, 2015.
- [26] M. H. Gold, *Photodynamic therapy in dermatology*, Illustrate. Springer, 2011.
- [27] J. M. Dąbrowski and L. G. Arnaut, "Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment," *Photochem. Photobiol. Sci.*, vol. 14, no. 10, pp. 1765–1780, 2015.
- [28] L. R. Braathen *et al.*, "Guidelines on the use of photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer: An international consensus," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 56, no. 1, pp. 125–143, 2007.
- [29] R. Bonnett, *Chemical aspects of photodynamic therapy*. Gordon and Breach Science Publishers, 2000.

- [30] B. C. Wilson and M. S. Patterson, "The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy," *Phys. Med. Biol.*, vol. 53, no. 9, pp. R61–R109, 2008.
- [31] L. Brancalion and H. Moseley, "Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy .," *Lasers Med. Sci.*, vol. 17, no. 3, pp. 173–186, 2002.
- [32] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, and R. K. Jain, "Photodynamic therapy for cancer," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 3, no. 5, pp. 380–387, May 2003.
- [33] M. P. Goldman, *Terapia fotodinámica*, Illustrate. España: Elsevier Saunders, 2006.
- [34] G. V. Roblero Bartolón and E. Ramón Gallegos, "Uso de nanopartículas (NP) en la terapia fotodinámica (photodynamic therapy [PDT]) contra el cáncer," *Gac. Med. Mex.*, vol. 151, pp. 85–98, 2015.
- [35] T. Dai *et al.*, "Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform," *Front. Microbiol.*, vol. 3, pp. 1–16, 2012.
- [36] A. P. Castano, P. Mroz, and M. R. Hamblin, "Photodynamic therapy and anti-tumour immunity," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 6, no. 7, pp. 535–545, 2006.
- [37] P. Mroz, A. Yaroslavsky, G. B. Kharkwal, and M. R. Hamblin, "Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer," *Cancers (Basel)*, vol. 3, no. 2, pp. 2516–2539, 2011.
- [38] I. Wang, "Photodynamic therapy and laser-based diagnostic studies of malignant tumours," Doctoral Thesis, Department of Oncology, Lund University Hospital, ISBN 91-628-3352-9, 1999.
- [39] M. Tampa, C. Matei, M. Neagu, and S. R. Georgescu, "the effects of photodynamic therapy in biological systems," *Acta Medica Transilvanica*, vol. 17, no. 4, 2012.
- [40] D. E. J. G. J. Dolmans *et al.*, "Vascular Accumulation of a Novel Photosensitizer, MV6401, Causes Selective Thrombosis in Tumor Vessels after Photodynamic Therapy," *Cancer Res.*, vol. 62, no. 7, pp. 2151–2156, 2002.
- [41] J. A. Reyes Lemus, "Colorantes organicos de origen natural utilizados como sensibilizadores de celdas solares, Master's Thesis, Universidad Nacional de Colombia," 2015.
- [42] K. Kalka, H. Merk, and H. Mukhtar, "Photodynamic Therapy in Dermatology," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 42, no. 3, pp. 389–413, 2000.
- [43] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X. H. Hu, C. J. H. Childs, and C. H. Sibata, "Photosensitizers in clinical PDT," *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 1, no. 1. pp. 27–42, 2004.
- [44] D. M. Pariser *et al.*, "Photodynamic therapy with topical methyl aminolevulinate for actinic keratosis: Results of a prospective randomized multicenter trial," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 48, no. 2 SUPPL., pp. 227–232, 2003.

- [45] M. Fernández-Guarino, A. Harto, and P. Jaén, "Studies of methyl aminolevulinate photodynamic therapy for actinic keratosis," *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Ed.,* vol. 101, no. 4, pp. 315–322, 2010.
- [46] T. S. Mang, "Lasers and light sources for PDT: Past, present and future," *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 1, no. 1. pp. 43–48, 2004.
- [47] J. Ruíz Ávila and N. Rebollo Domínguez, "Terapia fotodinámica en dermatología," *Dermatología Rev. Mex.*, vol. 53, no. 4, pp. 178–186, 2009.
- [48] E. Virginia Martínez, G. Alberto Ramos, and Á. Marisela Valencia, "Enfermedad de Bowen," *Rev. del Cent. Dermatológico Pascua*, vol. 20, no. 3, pp. 104–109, 2011.
- [49] G. A. M. Arias, A. E. Luna, A. A. Delgadillo, and A. Camps-Fresneda, "Terapia fotodinámica," *Med Cutan Iber Lat Am*, vol. 35, no. 6, pp. 255–268, 2007.
- [50] T. Kormeili, P. S. Yamauchi, and N. J. Lowe, "Topical photodynamic therapy in clinical dermatology," *British Journal of Dermatology*, vol. 150, no. 6. pp. 1061–1069, 2004.
- [51] B. C. Wilson, M. S. Patterson, and L. Lilge, "Implicit and explicit dosimetry in photodynamic therapy: a new paradigm," *Lasers Med. Sci.*, vol. 12, no. 3, pp. 182–199, 1997.
- [52] T. C. Zhu and J. C. Finlay, "The role of photodynamic therapy (PDT) physics," *Med. Phys.*, vol. 35, no. 7, pp. 3127–3136, 2008.
- [53] T. Hasan, B. Ortel, A. C. E. Moor, and B. W. Pogue, "Photodynamic therapy of Cancer," *Cancer Med.*, vol. 7, pp. 605–622, 2003.
- [54] L. Lilge, C. O'Carroll, and B. C. Wilson, "A solubilization technique for photosensitizer quantification in ex vivo tissue samples," *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, vol. 39, no. 3, pp. 229–235, 1997.
- [55] P. L. Medina Vásquez, "Técnicas matemáticas para reconstrucción de imágenes de fluorescencia con aplicaciones en biomedicina," Doctoral Thesis, Universidad Carlos III de Madrid, 2009.
- [56] C. Sheng, B. W. Pogue, E. Wang, J. E. Hutchins, and P. J. Hoopes, "Assessment of photosensitizer dosimetry and tissue damage assay for photodynamic therapy in advanced-stage tumors.," *Photochem. Photobiol.*, vol. 79, no. 6, pp. 520–526, 2004.
- [57] D. Kharroubi Lakouas, D. Huglo, S. Mordon, and M. Vermandel, "Nuclear medicine for photodynamic therapy in cancer: Planning, monitoring and nuclear PDT," *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 18, pp. 236–243, 2017.
- [58] B. C. Wilson and J. E. V. A. N. Lieber, "Radiolabelled photosensitizers for tumour imaging and photodynamic therapy.," *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, vol. 3, no. 3, pp. 459–463, 1989.
- [59] Instituto Nacional del Cáncer, "Terapia fotodinámica para el cáncer - National Cancer

- Institute,” *Instituto nacional del cáncer*, 2011. [Online]. Available: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/cirugia/hoja-informativa-terapia-fotodinamica>. [Accessed: 01-Aug-2017].
- [60] S. A. Prahl and L. J. Steven, “ECE 532, 3. Optical Properties.” [Online]. Available: <http://omlc.org/classroom/ece532/class3/index.html>. [Accessed: 06-Oct-2017].
- [61] E. Hecht, *Optics*, 4ed, Addison-Wesley, 2002.
- [62] J. Campoy, R. Alcarria, and A. P. González-Marcos, “Estudio del comportamiento óptico de pieles utilizando técnicas de Monte Carlo,” *Rev. Int. Metod. Numer. para Calc. y Disen. en Ing.*, vol. 31, no. 3, pp. 161–170, 2015.
- [63] A. E. Karsten, A. Singh, P. A. Karsten, and M. W. H. Braun, “Diffuse reflectance spectroscopy as a tool to measure the absorption coefficient in skin: system calibration,” *Lasers Med. Sci.*, vol. 28, no. 2, pp. 437–444, 2013.
- [64] T. J. Pfefer *et al.*, “Reflectance-based determination of optical properties in highly attenuating tissue,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 8, no. 2, p. 206, 2003.
- [65] I. J. Bigio and S. Fantini, *Quantitative biomedical optics: theory, methods, and applications*, Cambridge University Press, ISBN 9780521876568, 2016.
- [66] L. V. Wang and H. I. Wu, *Biomedical optics: principles and imaging*, Illustrate. John Wiley & Sons, 2012.
- [67] S. A. Prahl, “Light transport in tissue,” PhD Thesis, University of Texas at Austin, 1988.
- [68] B. Morales Cruzado, “Diagnósticos médicos no-invasivos usando radiación electromagnética”, Tesis Doctoral, INAOE, 2012.
- [69] W. F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch, “A review of the optical properties of biological tissues,” *IEEE J. Quantum Electron.*, vol. 26, no. 12, pp. 2166–2185, 1990.
- [70] N. H. Markolf, *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*, Springer S. 2007.
- [71] S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert, and A. J. Welch, “Determining the optical properties of turbid media by using the adding–doubling method,” *Appl. Opt.*, vol. 32, no. 4, p. 559, 1993.
- [72] S. A. Prahl, “The Adding-Doubling Method,” in *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, Boston, MA: Springer US, 1995, pp. 101–129.
- [73] D. A. Boas, C. Pitris, and N. Ramanujam, *Handbook of Biomedical Optics*, Illustrate. CRC Press, 2016.
- [74] S. A. Prahl, M. J. van Gemert, and A. J. Welch, “Determining the Optical Properties of Turbid Media by Using the Adding – Doubling Method,” *Appl. Opt.*, vol. 32, no. 4, pp. 559–568, 1993.

- [75] J. A. Nelder and R. Mead, "A Simplex Method for Function Minimization," *Comput. J.*, vol. 7, no. 4, pp. 308–313, Jan. 1965.
- [76] S. A. Prahl, M. Keijzer, S. L. Jacques, and A. J. Welch, "A Monte Carlo Model of Light Propagation in Tissue," *Dosim. Laser Radiat. Med. Biol.*, vol. 1, no. 1, pp. 102–111, 1989.
- [77] R. A. Serway, J. W. Jewett, and G. Sánchez García, *Física para ciencias e ingenierías*. Thomson, 2005.
- [78] W. Tomasi, *Sistemas de comunicaciones electrónicas*. Pearson educación, 2003.
- [79] Ocean Optics, "Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual," 2005.
- [80] O. Optics, *Programming Guide*, Ocean Optics Inc., 2010.
- [81] Ocean Optics, "Fuente luminosa con lámpara de tungsteno halógena / de visible / NIR / de alta potencia - HL-2000 - Ocean Optics." [Online]. Available: <http://www.directindustry.es/prod/ocean-optics/product-18485-989491.html>. [Accessed: 13-Dec-2017].
- [82] J. M. Albella Martín, *Introducción a la ciencia de materiales : técnicas de preparación y caracterización*, Illustrate. CSIC - CSIC Press, 1993.
- [83] S. A. Prahl, "Everything I think you should know about inverse adding doubling," Technical Report, Oregon Medical Laser Center, pp. 1–74, 2011.
- [84] Newport Corporation, "819C-SF-4," 2017. [Online]. Available: <https://www.newport.com/p/819C-SF-4>. [Accessed: 09-Dec-2017].
- [85] T. P. Moffitt and S. A. Prahl, "Determining the reduced scattering of skin in vivo using sized-fiber reflectometry," *En Opt. Biopsy IV. Int. Soc. Opt. Photonics*, vol. 4613, no. 503, pp. 254–263, 2002.
- [86] MSDN Microsoft, "Información general sobre el componente BackgroundWorker." [Online]. Available: [https://msdn.microsoft.com/es-es/library/8xs8549b\(v=vs.110\).aspx](https://msdn.microsoft.com/es-es/library/8xs8549b(v=vs.110).aspx). [Accessed: 15-Jul-2017].
- [87] MSDN Microsoft, "Shell Function." [Online]. Available: <https://msdn.microsoft.com/en-us/vba/language-reference-vba/articles/shell-function>. [Accessed: 15-Apr-2017].
- [88] MSDN Microsoft, "StreamReader (Clase) (System.IO)." [Online]. Available: [https://msdn.microsoft.com/es-es/library/system.io.streamreader\(v=vs.90\).aspx](https://msdn.microsoft.com/es-es/library/system.io.streamreader(v=vs.90).aspx). [Accessed: 01-Apr-2017].
- [89] T. B. Fitzpatrick, "The Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI," *Arch. Dermatol.*, vol. 124, no. 6, p. 869, Jun. 1988.
- [90] R. C. Tung and M. G. Rubin, *Exfoliación química*. Segunda Edición, Elsevier España, ISBN 8480868910, 2011.

- [91] T. Lister, P. A. Wright, and P. H. Chappell, "Optical properties of human skin," *J. Biomed. Opt.*, vol. 17, no. 9, p. 909011, 2012.
- [92] S. Kim and 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.*, vol. 29, no. 2, pp. 637–644, Mar. 2014.
- [93] F. P. Incropera, D. P. DeWitt, and R. Cruz, *Fundamentos de transferencia de calor*. Prentice-Hall, 1999.
- [94] J. E. Hayward, J. T. Bruulsema, M. S. Patterson, and M. Essenpreis, "In vivo temperature dependence of human skin optical properties in the NIR," in *Biomedical Optics*, 1999, p. ATuA3.
- [95] A. Oil and Colour Chemists' Association, *Surface Coatings : Vol I-Raw Materials and Their Usage*. Springer Netherlands, 1983.
- [96] K. Wolff, *Fitzpatrick dermatología en medicina general*. Editorial Médica Panamericana, 2009.
- [97] S.-J. Yeh *et al.*, "Temperature dependence of optical properties of in-vivo human skin," *Proceedings of SPIE*, vol. 4250, pp. 455–461, 2001.
- [98] SEEDO, "SEEDO - IMC." [Online]. Available: <http://www.seedo.es/index.php/imc>. [Accessed: 15-Nov-2018].
- [99] N. I. Ambrioso, E. Galicia, J. A. Mejía, and K. . García-Pelagio, "Influencia del IMC en mujeres jóvenes al realizar ejercicio a temperatura extrema de 38C," *LX Congr. Nac. física*, 2017.
- [100] M. Patait RR, S. Natrajan, S. Rajderkar, and A. Khairnar, "Management of Oral Premalignant Lesions Using Topical Photodynamic Therapy: An Overview," *International Journal of Medical and Health Research*, vol. 1, no. 3, pp. 93–97, 2015.
- [101] K. Byrne, *Environmental science*, Illustrate. Nelson Thornes, 2001.