

**DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN NO INVASIVA Y EVALUACIÓN
DE PRODUCTOS DESPIGMENTANTES EN PIEL**

CARLOS ALFONSO HERNANDEZ ESCUDERO

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA



Magister en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Medellín, 2013

**DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE MEDICIÓN NO INVASIVA Y EVALUACIÓN
DE PRODUCTOS DESPIGMENTANTES EN PIEL**

CARLOS ALFONSO HERNANDEZ ESCUDERO

**Trabajo de Investigación presentado para optar al título de Magister en Ciencias
Farmacéuticas y Alimentarias, realizado bajo la dirección
de la Dra. GLORIA ELENA TOBÓN ZAPATA.**

Universidad de Antioquia

Facultad de Química Farmacéutica



Medellín, Julio de 2013

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Ciudad y fecha:

AGRADECIMIENTOS

A la profesora Gloria Elena Tobón Zapata por su paciencia, apoyo y valioso acompañamiento de este proceso.

A mi familia en especial a mi madre por su amor y apoyo incondicional

A los compañeros del grupo de Diseño y Formulación de Medicamentos Cosméticos y Afines por toda su colaboración.

CONTENIDO

	pgs
INTRODUCCIÓN	17
1. MARCO CONCEPTUAL	20
1.1 La piel y su estructura	20
1.1.1 Epidermis	20
1.1.1.1 Melancitos	20
1.1.1.2 Células de langerhans	22
1.1.1.3 Células de merkel	23
1.1.1.4 Queratinocitos	23
1.1.2 Capas de la epidermis	24
1.1.2.1 Estrato corneo	24
1.1.2.2 Estrato lucido	26
1.1.2.3 Estrato granuloso	26
1.1.2.4 Estrato espinoso	27

1.1.2.5 Estrato germinativo	27
1.1.3 Dermis	27
1.1.4 Tejido subcutáneo	28
1.2 TIPOS DE PIEL	28
1.2.1 Escala de clasificación de fitzpatrick	28
1.2.2 Envejecimiento de la piel y discromías	29
1.2.2.1 Factores asociados al foto-envejecimiento	30
1.2.2.2 Fotobiología cutánea	31
1.2.2.3 Propiedades ópticas de la piel	32
1.2.3 Efectos precoces a agudos	33
1.2.3.1 Acción calórica	33
1.2.3.2 Pigmentación inmediata	33
1.2.3.3 Acción antirraquítica	33
1.2.4 Efectos retardados	33
1.2.4.1 Eritema actínico	33
1.2.4.2 Pigmentación retardada o tardía	34
1.2.4.3 Hiperplasia epidémica	34

1.2.5 Efectos crónicos	34
1.2.5.1 Envejecimiento cutáneo precoz o foto-envejecimiento	34
1.2.5.2 Fotocarcinogenesis	34
1.2.6 Discromías	35
1.2.6.1 Clasificación del foto-envejecimiento	36
1.2.7 Etiología y clasificación de las manchas en la piel	38
1.2.7.1 Lentigos o manchas solares	38
1.2.7.2 Cloasma o melasma	38
1.2.7.3 Vitíligo	38
1.2.8 Prevención y tratamiento de manchas solares	38
1.3 Antecedentes	40
1.3.1 Métodos de evaluación de piel y productos cosméticos	43
1.3.2 Principios relacionados con las técnicas de medición	45
1.4 Conceptos del Análisis de Imágenes digitales	47
1.4.1 Etapas del Análisis Digital de Imágenes	47
1.4.1.1 La primera etapa (Adquisición)	49
1.4.1.2 La segunda etapa (Pre-procesamiento)	54

1.4.1.3 La tercera etapa (segmentación)	61
1.4.1.4 La cuarta etapa (medición de características)	64
1.4.1.5 La quinta etapa (clasificación)	66
1.5 SISTEMA DE ADQUISICIÓN	66
1.5.1 Cámara fotográfica	67
1.5.1.1 Apertura del diafragma	68
1.5.1.2 Distancia focal	68
1.5.1.3 Perspectiva	68
1.5.1.4 Tiempo de exposición	69
1.5.1.5 Sensor y sensibilidad	69
1.5.1.6 Sensibilidad	69
1.5.1.7 El objetivo	69
1.5.1.8 Enfoque	70
1.5.2 Sensor	70
1.5.3 Computador	70
1.5.4 Software	70
1.6 Conceptos de imagen digital	73

1.6.1 Representación espacial de la imagen	74
16.1.1 Niveles de representación	74
1.6.2 Formatos de imagen	76
1.6.2.1 Formato BMP	76
1.6.2.2 Formato JPEG	76
1.6.2.3 Formato GIFF	77
1.6.2.4 Formato DICOM	77
1.6.2.5 Formato TIFF	78
1.6.2.6 Formato PNG	78
1.6.2.7 Formato RAW	78
1.7 CONCEPTOS DE VARIABILIDAD	78
1.7.1 PRINCIPIOS DE VARIABILIDAD	79
1.7.2 TIPOS DE VARIABILIDAD	79
1.7.2.1 Variabilidad Sistemática y Planificada	79
1.7.2.2 Variabilidad sistemática y no planificada	79
1.7.3 Causas de variación	80
1.8 Histograma de una imagen	81
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	83
2.1 HIPOTESIS	84

2.2 OBJETIVO	84
2.2.1 Objetivos específicos	84
2.3 METODOLOGÍA	85
2.3.1 PROCEDIMIENTO GENERAL	87
2.3.1.1 Adquisición	87
2.3.1.2 Pre-tratamiento	87
2.3.1.3 Segmentación por Umbralización	88
2.3.1.4 Medición de características	89
2.3.2. ANALISIS 1	89
2.3.2.1 Adquisición de imágenes de manchas de óxido	89
2.3.3 ANALISIS 2	91
2.3.3.1 Adquisición de imágenes de manchas en piel	91
2.3.3.2 Modelo de cálculo	91
2.4 DESARROLLO DEL ADITAMENTO DE MEDICIÓN	92
2.5 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	94
2.6 CONCLUSIONES	122

LISTA DE TABLAS

	Pgs
Tabla 1. Escala de Fitzpatrick	31
Tabla2. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha de óxido 1	94
Tabla 3. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha de óxido 2	100
Tabla 4. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha de óxido 3	106
Tabla 5. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la la mancha en piel 1.	112
Tabla 7. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha en piel 2	117

LISTA DE FIGURAS

	Pgs
Figura 1. Metalogénesis.	23
Figura 2. Tarjeta para medir color escala de Taylor.	39
Figura 3. Esquema de etapas de análisis de imágenes.	49
Figura 4. Etapas procesamiento de imágenes en el dominio de la frecuencia.	59
Figura 5. Imagen tratada con detector de bordes.	66
Figura 6. Representación esquemática del espacio vectorial de colores.	74
Figura 7. Esquema del sistema de adquisición de imágenes.	80
Figura 8. Esquema de manipulación de imágenes.	86
Figura 9. Esquema de iluminación.	90
Figura 10. Aditamento de adquisición.	93
Figura 11. Imagen de mancha de óxido.	94
Figura 12. Gráfico de tendencia de área de la disminución de la mancha.	94

Figura 13. Gráfico de moda de los valores de gris	96
Figura 14. Gráfico de tendencia de moda de valores de gris	98
Figura 15. Imagen de manchas de óxido en escala de grises	100
Figura 16. Gráfico de tendencia de disminución de área	101
Figura 17. Gráfico de tendencia de media de valores de gris	102
Figura 18. Gráfico de media de valores de grises	105
Figura 19. Imágenes de manchas de óxido	105
Figura 20. Gráfico de tendencia de área	106
Figura 21. Gráfico de media de valores de gris	109
Figura 22. Gráfico de tendencia de moda de valores de gris	110
Figura 23. Imágenes de zonas hiperpigmentadas	111
Figura 24. Gráfico de tendencia de área	113
Figura 25. Gráfico de tendencia de moda de valores de gris	115
Figura 26. Gráfico de tendencia de disminución del tamaño de la mancha.	117
Figura 27. Gráfico de tendencia de Moda de valores de gris	120

GLOSARIO

ÁREA: El principal descriptor de tamaño es el área, seleccionada en píxeles cuadrados. Se calibra el área en unidades como por ejemplo milímetros cuadrados.

CIRCULARIDAD: Indica el círculo perfecto, da un valor entre cero y uno, a medida que el valor se acerca a uno la forma se será más redonda, a medida que el valor se acerca a cero, indica una elongación de la forma.

CLAIM o PROCLAMA: Una afirmación cosmética es cualquier información pública, principalmente provista con fines de marketing, sobre el contenido, naturaleza, efecto, propiedades o eficacia del producto.

CURTOSIS: Cuarto momento con respecto de la media. (curtosis), si es positiva representa una distribución elevada, si es negativa representa una distribución relativamente plana.

DESVIACIÓN ESTÁNDAR: Desviación de los valores de gris utilizados para generar la media.

DIÁMETRO DE FERET: Distancia más larga entre dos puntos cualesquiera a lo largo del límite del área seleccionada.

HISTOGRAMA: Una herramienta para la interpretación aproximada de los niveles de gris y su distribución dentro de la imagen es decir, su contraste. El histograma son rectángulos que en las abscisas representa cada uno de los niveles de gris y en las ordenadas representa la frecuencia relativa de aparición de sus niveles de gris en particular.

MODA DE VALORES DE GRIS: Valor de niveles de gris que ocurre con mayor frecuencia, corresponde al punto más alto dentro del histograma.

MEDIA DE LOS VALORES DE GRIS: Promedio de los valores de gris dentro del área seleccionada. Esto es la suma de los valores de gris de todos los píxeles dentro del área seleccionada, dividida por el número de píxeles.

MEDIANA: Valor central de los píxeles en la imagen o selección.

NIVEL MÁXIMO Y MÍNIMO DE VALORES DE GRIS: Valores de gris mínimo y máximo dentro de la selección.

PERÍMETRO: Longitud del límite exterior de la selección, se usa para hacer la discriminación entre objetos de forma simple y objetos de forma compleja, un objeto de forma simple necesita un menor perímetro para encerrar su área.

PÍXEL: Abreviatura de Picture element. Es el punto único más pequeño que compone la imagen digital. 1 Mega píxel = 1.000.000 de píxeles.

REDONDEZ: Inverso de la relación de aspecto.

RELACIÓN DE ASPECTO: La proporción de aspecto de la elipse equipada de la partícula

RESOLUCIÓN: La capacidad de la cámara para discriminar el detalle. La resolución depende de los píxeles de los sensores, pero también de la calidad de las lentes y los procesos electrónicos de la cámara.

RUIDO: Todos los píxeles que están presentes en la imagen y que se considera que dan una información falsa del objeto de estudio.

SOLIDEZ: Área convexa en selección.

VARIABILIDAD: Determina el grado de acercamiento o distanciamiento de los valores de una distribución frente a su promedio de localización.

INTRODUCCIÓN

La constante degradación de la capa de ozono, la ubicación geográfica de nuestro país y la falta de cultura en el uso de productos para la protección solar, son causantes de la alta incidencia de problemas de hiperpigmentación en nuestra población, estos producen en las personas disminución de la autoestima, por lo que recurren a tratamientos algunas veces sugeridos por profesionales y muchas otras por iniciativa propia o por personas cercanas que sin ninguna formación, indican productos para la despigmentación basándose en información subjetiva, casi siempre producto de campañas publicitarias.

Los productos cosméticos con principios activos despigmentantes, en su gran mayoría no son probados adecuadamente, es decir, no son evaluados de manera científica y bajo protocolos debidamente soportados que sustenten al claim o proclama que se les da. Los productores se limitan a los estudios que los proveedores de los principios activos, hacen de ellos sin tener en cuenta que la matriz en la cual se incorporan estos activos puede afectar de alguna forma su eficacia.

Las pruebas para sustentar las proclamas de los productos despigmentantes, principalmente se fundamentan en la utilización de equipos como el mexámetro, este equipo da la medida de melanina y eritema, el principio de la medición se basa en la absorción y la reflexión de rayos de luz a tres diferentes longitudes de onda.

Otros dispositivos empleados hoy en día en dermatología experimental, farmacología cutánea, toxicología y cosmetología para medir los cambios de color en la piel pertenecen a dos tipos de instrumentos. En una clasificación están los colorímetros de tres estímulos, que se basan en un espacio de color de tres dimensiones: el $L^*a^*b^*$ (CIELAB). El $L^*a^*b^*$ permite describir cada color matemáticamente en función de su tono (posición en la rueda de color), valor (luminosidad) y croma (saturación). Entre los dispositivos que utilizan este sistema están el *Minolta ChromaMeter* y el *Micro Color del Dr. Bruno Lange GmbH & Co.*, que se ha utilizado ampliamente para cuantificar el eritema en un estudio de dermatitis irritativa debida a la exposición a detergentes, para medir la

actividad de los corticoides tópicos en la prueba de la vasoconstricción y para determinar la penetración percutánea de vasodilatadores como el ácido nicótico.

Otro tipo de instrumentos son el *Derma Spectrophotometer*® y el *Erythema Meter*®, que se basan en el método de dos longitudes de onda de Diffey y col.⁽²³⁾

Estos instrumentos emiten luz verde y roja y miden la luz reflejada en la superficie cutánea. Los cambios en el enrojecimiento facial influirán en la absorción de la luz verde, pero tendrán muy poco efecto en la absorción de la luz roja, por lo que se puede calcular el índice de eritema. Si aumenta la pigmentación debido a la melanina se producirá una absorción de ambas luces, la verde y la roja, por lo que es posible calcular un índice de melanina.

Estos equipos tienen la ventaja que permiten cuantificar el color, pero tiene varias desventajas, entre ellas que el diámetro de medida es de tan solo unos pocos milímetros, esto hace que la medición sea demasiado puntual por lo tanto no permite hacer la medición y seguimiento de variables tales como forma y tamaño, además son equipos que no se comercializan en nuestro medio por lo que hay que importarlos y son de alto costo.

Los protocolos aprobados y validados por Cosmetic Europe- The personal Care Association, antes COLIPA, para determinación de color en piel, son métodos colorimétricos basados en el espacio cielab, pero la constante evolución de los métodos computacionales permite desarrollar nuevas herramientas o dar nuevas aplicaciones a algunas ya existentes, para dar solución a variados problemas en muchísimas áreas de estudio, la medicina por ejemplo ha hecho uso de este tipo de herramientas para resolver problemas en el análisis y diagnóstico de enfermedades.

Los grandes avances en la ciencia cosmética y cosmeceútica, han marcado un auge de formulaciones, que bajo diversas proclamas promulgan sus beneficios. Las proclamas de los productos son relevantes en este campo ya que se constituyen, la mayoría de las veces, en el único referente para la elección de un producto por parte del consumidor o del médico que formula un tratamiento para algún tipo de patología de la piel. Si bien en Colombia se siguen los lineamientos de la European trade association for the cosmetic, toiletry and perfumery industry y se aceptan los ingredientes y principios activos que esta respalda, basándose en pruebas clínicas o no clínicas; no se cuenta con un sistema que permita una medición objetiva y a bajo costo de la eficacia de los productos.

Esta situación no es exclusiva de nuestro país, y si bien en otras regiones se han realizado mediciones topológicas de la piel, no existen protocolos (excepto los basados en inspección visual y comparación) para describir y clasificar superficies de piel afectadas por la hiperpigmentación que sean de fácil consecución y bajo costo. La hiperpigmentación confiere un aspecto desagradable a la piel, puede reflejar una condición patológica o no, y afecta psicológicamente a los individuos que la padecen.

En este trabajo se pretende mediante el análisis de imágenes, aportar una alternativa de metodología para la evaluación de la eficacia de productos cosméticos; mediante el planteamiento de un método basado en el procesamiento de imágenes, que permitiría realizar mediciones cualitativas y cuantitativas de la piel afectada, proporcionando una herramienta alternativa para el diagnóstico y verificación de la eficacia de los tratamientos empleados para tratar la hiperpigmentación. La importancia de este método radica en que se trata de una prueba no invasiva, reproducible, de fácil manejo y que permite medir más características que los métodos utilizados actualmente, adicionalmente es considerablemente más económico.

1. MARCO CONCEPTUAL

1.1. LA PIEL Y SU ESTRUCTURA

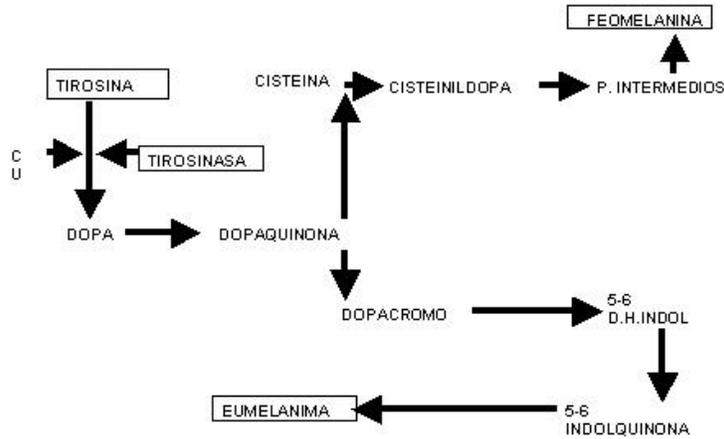
1.1.1 Epidermis:

La capa superior de la piel, la epidermis, es la capa externa, que provee resistencia y protección. Tiene el espesor de una hoja de papel en la mayor parte del cuerpo. La epidermis tiene cuatro capas de células que se descaman y renuevan constantemente, su función es proteger y regular la hidratación.⁽³²⁾ En estos cuatro planos se encuentran los siguientes tipos especiales de células: melanocitos, queratinocitos, células de langerhans, células de merkel.⁽³⁹⁾

1.1.1.1 Melanocitos :

Son células dendríticas originadas en la cresta neural que están localizadas en la capa basal, intercaladas con las células epiteliales en proporción aproximada de 1 a 10 y distribuidas irregularmente en toda la piel, con concentraciones regionales mínimas y máximas, independientes del factor racial, cuya función primordial es la síntesis de un pigmento llamado melanina, polímero indólico de elevado peso molecular, de composición química y estructura física muy compleja que, posee gran capacidad para absorber la energía radiante de la luz ultravioleta y cuyo objetivo primordial es la protección cutánea frente a la deletérea acción de la radiación lumínica ambiental. Para tal fin, ellas sintetizan una proteína enzimática llamada tirosinasa que, actuando sobre el aminoácido tirosina lo convierte en melanina, tras una serie de pasos que tienen lugar en el interior de estructuras intracelulares especializadas llamadas melanosomas y de acuerdo al siguiente esquema:

Figura 1. Melanogénesis



Embriología Médica Lagman J.2ª ed.

Mientras esto ocurre, dichos melanosomas van desplazándose por las dendritas de los melanocitos que las contienen, para luego ser transferidas a un número determinado de células epiteliales adyacentes y suprayacentes, dentro de las cuales estos sáculos experimentarán la desintegración granular de su contenido o se agruparán en conjuntos más o menos numerosos, de tamaño variable denominados complejos melanosómicos. Independientemente de que adopten una u otra disposición terminarán siempre localizándose en la porción apical de dichas células, en la capa basal y estratos más inferiores de la capa espinosa (de acuerdo al grado de pigmentación de una piel determinada), adoptando la típica disposición en capuchón supra nuclear donde se comportará como una verdadera pantalla o filtro protector lumínico.⁽⁵⁴⁾

Los melanocitos son células especializadas en la producción de melanina, el principal pigmento responsable de la coloración de la piel, los ojos y el pelo. Son críticos en la respuesta a los rayos UV, protegiendo a las células de la piel de un potencial daño al ADN, uno de los mayores factores de riesgo para el cáncer de piel, la melanina filtra la radiación UV disminuyendo su nivel de energía y por ende su potencial daño sobre la dermis y epidermis. Durante el desarrollo embrionario en vertebrados se forma la cresta neural (CN) en los extremos dorsales del epitelio neural, dando lugar

a células migratorias que colonizan un amplio rango de tejidos embrionarios para dar lugar a diferentes linajes celulares. Entre ellos, neuronas y células de la glía del sistema nervioso periférico (SNP); melanocitos y células endocrinas de las glándulas adrenales, tiroides y células mesenquimales que forman cartílagos cranofaciales, huesos, dermis, tejido adiposo y células del músculo liso. La formación de la cresta neural y la migración de sus células, comienza alrededor de las seis semanas en los embriones humanos.⁽⁶⁹⁾ Ahí es cuando los precursores de los melanocitos, los melanoblastos, migran a varios destinos como el iris, el corioide del ojo, el oído interno, la dermis y la epidermis. Además, los precursores se distribuyen en la región del bulbo en los folículos pilosos en desarrollo, donde persisten como células *stem*, con capacidad de auto renovación. Se han realizado estudios en preparaciones de piel humana en estadios progresivos del desarrollo, para estudiar la migración de los melanocitos, los resultados obtenidos apoyan la progresión de los melanocitos desde el estrato intradérmico al estrato suprabasal epidérmico, y de ahí al estrato intraepidérmico basal, seguido de la colonización folicular,⁽⁶¹⁾ completando este proceso alrededor de las semanas 15-17. Este patrón de migración es consistente con estudios de migración de melanoblastos durante el desarrollo embrionario murino.

1.1.1.2 Células de langerhans

Son las células dendríticas suprabasales de la epidermis humana.

Las células de Langerhans intervienen en las respuestas inflamatorias de la piel, participando activamente en la fase de inmunoestimulación de la respuesta inmunitaria mediante su interacción con los linfocitos T, la cual ocurre en los órganos linfoides secundarios. Las células de Langerhans, durante el desarrollo de la respuesta inmunitaria, pueden generar tres tipos de señales: 1) Señal 1- factores asociados con captura, procesamiento y asociación a moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC-II); 2) Señal 2- factores asociados con presentación antigénica ej. moléculas de adhesión y coestimulación; 3) Señal 3- factores asociados con la inmunidad local como son la migración y el anidamiento, con su consecuente producción de citocinas, quimiocinas, y receptores a componentes de la matriz extracelular.

1.1.1.3 Células de merkel

Son células capaces de actuar como receptores sensitivos a la presión. Son células especializadas del epitelio estratificado de la epidermis, concentradas en la palma de la mano y la planta de los pies. Las células de Merkel se ubican entre las células de la capa germinativa y se asocian a las células epiteliales vecinas por medio de desmosomas y su citoplasma se caracteriza por su abundancia en filamentos intermedios de citoqueratina. Su cara basal se asocia a una terminal nerviosa que adopta una forma de disco y que corresponde a la terminal de una fibra aferente, que corresponde al axón de una neurona sensitiva. El citoplasma de las células de Merkel es capaz de sintetizar y acumular vesículas membranosas que contienen un material denso a los electrones que contienen cromograninas asociadas a moléculas pequeñas parecidas a las catecolaminas. La célula de Merkel al ser deformada por una compresión de la epidermis, sería estimulada a liberar sus vesículas que contienen una sustancia capaz de actuar como un neurotransmisor y podría inducir la depolarización del terminal nervioso asociada a ella, la cual eventualmente generaría la descarga de un potencial de acción en el axón de la neurona sensitiva.

Por su característica de ser capaz de liberar una sustancia química, capaz de ejercer su acción al unirse a una molécula específica en la superficie de la membrana del terminal nervioso, se considera que la célula de merkel pertenece al sistema APUD (o sistema neuroendocrino difuso).

1.1.1.4 Queratinocitos

Son las células más abundantes en la epidermis (representan el 80% de las células epidérmicas). Los queratinocitos son las células que producen queratina y además producen citocinas que son moléculas solubles con funciones de regulación de las células epiteliales y células dérmicas. Los queratinocitos forman las 4 capas de la epidermis: capa basal, estrato espinoso, estrato granuloso y capa córnea. El paso desde las células de la capa basal hasta la queratina tiene una duración de unos 15 días.

- a. La capa basal es la más profunda y está constituida por una sola capa de células cuboidales que se disponen por encima de la unión dermo-epidérmica. En la capa basal, los queratinocitos expresan las queratinas K5 y K14.

- b. El estrato espinoso o de Malphigio está constituido por múltiples hileras de queratinocitos que expresan las queratinas K1/K10, de citoplasma eosinófilo, aplanados y unidos entre sí por los desmosomas
- c. La capa granulosa está por encima y está constituida por una o varias hileras de células que contienen los gránulos de queratina (queratinas K2/K11)
- d. Por encima de la capa granulosa se encuentra la capa córnea en la que las células han perdido el núcleo y conforman la queratina blanda.⁽⁹⁸⁾
- e. En ciertas localizaciones (palmas y plantas), existe una capa visible, amorfa, entre la capa granulosa y la capa córnea que se denomina estrato lúcido.

1.1.2 Capas de la Epidermis

1.1.2.1 Estrato córneo

Uno de sus aspectos más significativos se refiere al mantenimiento de la barrera que desempeña el estrato córneo para regular la permeabilidad de la epidermis. Es evidente que existe un complejo mecanismo capaz de mantener unos valores adecuados de hidratación, ya que el tejido cutáneo debe evitar que el estrato córneo presente tanto una intensa deshidratación como una excesiva hidratación. Esta última situación ha sido revisada y estudiada por Warner⁽⁸⁸⁾. En realidad, desde hace años se sabe que un exceso de agua superficial puede incrementar la permeabilidad de la piel, lo que supone una disminución de la función barrera cutánea y por tanto, se favorece la penetración de potenciales irritantes externos. Diversos autores, como Halkier-Sorensen⁽⁴²⁾, han podido comprobar que un contacto prolongado del agua con la piel puede provocar una dermatitis de contacto de tipo irritativo.

Muerte de las células córneas: Diversos autores han resaltado el hecho de que las células córneas, esclerosadas debido a su peculiar queratinización y a su nula vitalidad, se caracterizan por su bajo contenido acuoso. En condiciones normales, los corneocitos superpuestos no retienen en peso, más de un 15% de agua. Debido a ello, se considera que la muerte de estas células está ligada a una notable hidrofobicidad de las diversas proteínas y lípidos que se acumulan respectivamente en su interior y en los espacios extracelulares.

Un estudio publicado por Caspers⁽¹⁴⁾, sitúa el contenido acuoso de la zona de transición entre el estrato granuloso y el estrato córneo, en un 30%. Pero es bien sabido que las células vivas de la epidermis, tanto las células granulosas más profundas como las células espinosas y basales, contienen un 70% de agua.

Janeke⁽⁴⁹⁾, ha investigado el mecanismo mediante el cual, las células epidérmicas logran estabilizar este gradiente acuoso tan intenso en un espacio que no supera 0,2 mm de grosor. Consideran que la superficie cutánea se ve sometida de forma alternativa, a condiciones de una grave sequedad y de una elevada humedad, lo que forzosamente, debe crear fluctuaciones en el gradiente acuoso, responsables de perturbaciones osmóticas potencialmente nocivas para los queratinocitos de la epidermis. Se han identificado mecanismos que equilibran los cambios osmóticos, que provocan las fluctuaciones de la actividad acuosa en diferentes tipos de células extracutáneas. Según afirma Beck⁽¹⁰⁾, existen células que frenan la pérdida de agua (causada por el incremento de la concentración de soluto extracelular) mediante la acumulación de osmolitos orgánicos como la betaína, el inositol y la taurina. Y destaca que estos osmolitos orgánicos, en especial la taurina, son muy compatibles con el mantenimiento de las estructuras de las proteínas, una cuestión de gran importancia biológica que no se produciría si se acumulasen electrólitos inorgánicos en el interior de las células.

Acidificación del estrato córneo (Stratum Corneum): Es bien sabido que la piel presenta una superficie ácida (tradicionalmente denominada «manto ácido»), pero los numerosos trabajos publicados acerca de esta realidad, cuando intentan explicar cuáles son sus funciones y su origen, presentan algunas lagunas y diversas contradicciones. En un estudio publicado por Hachem⁽⁴¹⁾, se demuestra que el pH regula la homeostasis de la permeabilidad de la barrera cutánea y la cohesión e integridad del estrato córneo.

Durante muchos años, se ha atribuido a las secreciones cutáneas (sebácea y sudorípara ecrina) el origen de esta acidez detectada en la superficie del estrato córneo. Asimismo, diversos trabajos han permitido asignar a esta acidez una función antimicrobiana: La acidez favorece la persistencia de una flora saprófita en la superficie de la piel, que compite muy eficazmente con los microorganismos gramnegativos patógenos, impidiendo su proliferación en el sustrato cutáneo.

Diversos estudios han demostrado que la acidez de la superficie del estrato córneo también depende de algunas vías metabólicas endógenas y propias de la epidermis.

El metabolismo de la histidina en la epidermis puede conducir a situaciones conflictivas, como la síntesis de histamina, pero normalmente se activa una histidasa para sintetizar ácido trans-urocánico. Esta molécula se considera un filtro solar eficaz, aunque su conversión en *cis*-urocánico podría estar implicada en la inmunosupresión que provoca la radiación ultra violeta. También se valora su hidrofilia para incrementar la eficacia del factor natural de hidratación, que se acumula en determinadas células del estrato córneo. La filagrina, presente en el interior de los corneocitos, es una proteína «rica en histidina» que cohesiona la trama de queratinas, aunque su degradación parcial en la mitad superior del estrato córneo, libera numerosos aminoácidos que en parte, son metabolizados para convertirse en moléculas higroscópicas.

1.1.2.2 Estrato lúcido (Stratum lucidum)

Algunos autores llaman también a este estrato capa brillante o capa clara. Representa la zona de transición entre el estrato granuloso y el estrato córneo, está formado por una sola capa de células homogéneas y transparentes, ya sin núcleo, completamente infiltradas de queratina, la cual reseca las células y por este proceso de envejecimiento las reducirá a capa córnea, este estrato existe solo en las zonas de piel gruesa, no en las de piel delgada.

Aporta elasticidad en los puntos de estrés mecánico particularmente intensos.

1.1.2.3 Estrato granuloso (Stratum Granulosum)

Tiene un espesor de una a tres hileras de células de forma más o menos romboide y aplanada.

En este estrato mueren las células originadas en el estrato basal: el citoplasma de estas células sufre alteraciones y su núcleo se atrofia para desaparecer en la capa más superficial del propio estrato granuloso. En el citoplasma de estas células aparecen unos gránulos de una sustancia llamada queratina. Permite que las capas subyacentes se nutran y sirve como barrera de los fluidos corporales.

1.1.2.4 Estrato espinoso (Stratum Spinosum)

Está formado por un promedio de dos a seis capas de células, que van tomando forma de cubo y aplanándose a medida que se acercan a la capa siguiente, es decir, hacia la superficie. Estas células están repletas de sustancias nutritivas y tienen un importante papel biológico, se encuentran conectadas por puentes intercelulares espinosos. Los espacios intersticiales contienen fluido linfático.

1.1.2.5 Estrato germinativo o Basal (Stratum basale)

El estrato germinativo, también llamado estrato basal, es el más profundo de todos y se asienta sobre la dermis. Tiene forma ondulada y está formado por una capa de células de forma más o menos cilíndrica.

Estas células son altas y están muy apretadas unas con otras, penetrando su base dentada en la dermis. Este dentado junto con la perfecta unión de las células basales entre sí, asegura la adherencia perfecta de la epidermis con la dermis.

El nombre estrato germinativo proviene de que en esta capa “germinan” constantemente células nuevas, que son desplazadas hacia la superficie cutánea. Las células más externas van muriendo y son reemplazadas por otras recién formadas, que siguen el mismo proceso de emigración hacia el exterior.

Las células del estrato germinativo muestran una intensa actividad de división o mitosis celular, en la que cada célula madre se divide en dos células, aunque este proceso de renovación es constante y continuo, desde el nacimiento hasta la muerte del individuo, hay una serie de circunstancias que hacen que se acelere o se disminuya. Por ejemplo, la edad, el estado de salud, estación del año, etc. En este estrato existen en menor proporción otras células de forma irregular, los melanocitos, encargadas de elaborar melanina.

1.1.3 Dermis

Es el tejido conjuntivo donde se apoya la epidermis y que sirve como punto de unión entre el tejido celular subcutáneo y la hipodermis. Es de superficie irregular a lo largo de su localización, observándose protuberancias llamadas papilas dérmicas. La dermis está constituida por dos capas de células, sin límites precisos, la más superficial se llama capa papilar y la más profunda, capa

reticular. Ambas capas poseen fibras elásticas que le otorga a la piel su característica elástica. La gran mayoría de las fibras de la piel son de colágeno, que es responsable de la resistencia de la misma

1.1.4 Tejido subcutáneo

Es la capa inferior de la piel, formada por tejido conectivo, glándulas sudoríparas, vasos sanguíneos y células que almacenan grasa. ^(18,55)

1.2 TIPOS DE PIEL

Existen escalas para la clasificación de la piel, que consideran diversas variables, a continuación se enumeran las más utilizadas.

1.2.1 Escala de clasificación del tipo de piel de Fitzpatrick

Fue desarrollada en 1975, por el dermatólogo Thomas Fitzpatrick, esta escala clasifica la complejión de las personas y su tolerancia a la luz solar. Esta clasificación se utiliza comúnmente para determinar cómo puede responder una persona a un tratamiento específico y la susceptibilidad al desarrollo de cáncer de piel. ⁽¹⁸⁾

Tabla 1. Escala de Fitzpatrick

Tipo de piel	Color de piel	Características
I	Piel muy blanca, cabello rubio o pelirrojo; ojos azules; pecas.	Siempre se quema, nunca se broncea.
II	Piel muy blanca, cabello rubio o pelirrojo; ojos azules, castaños o verdes.	Generalmente se quema, se broncea con dificultad.
III	Piel morena clara; con ojos o cabello de cualquier color.	Algunas veces se quema, se broncea gradualmente.
IV	Piel morena, típicamente caucásica mediterránea.	Raramente se quema, se broncea con facilidad.
V	Piel morena oscura; piel típica del oriente medio	Se quema muy raramente, se broncea muy fácilmente.
VI	Piel negra.	Nunca se quema, se broncea muy fácilmente.

1.2.2 ENVEJECIMIENTO DE LA PIEL Y DISCROMIAS

El envejecimiento producido por la edad (cronoenvejecimiento), así como el inducido por el sol (fotoenvejecimiento), origina diversas alteraciones en la piel. Habitualmente en la cara se observa la suma de ambos tipos de envejecimiento (fotocronoenvejecimiento), que se manifiesta con: Arrugas (de finas a profundas); sequedad, aspereza, atrofia y/o fragilidad de la piel; textura de la piel no uniforme, sin luminosidad, piel amarillenta; flacidez, pérdida de firmeza y elasticidad; poros

más grandes y visibles, tendencia a quistes y comedones; telangiectasias; y discromías (cambios no uniformes en la tonalidad de la piel).⁽¹⁸⁾

1.2.2.1 Factores asociados al fotoenvejecimiento

El envejecimiento intrínseco afecta universalmente a todas las personas, sin embargo, los cambios debidos al fotoenvejecimiento son dramáticos ya que el daño que provoca el sol en la piel es acumulativo.

La radiación solar que llega al planeta tiene una amplia gama de longitudes de onda y en su conjunto se conoce como espectro electromagnético, la radiación lumínica se ubica por definición entre los 400 y 700 nm, el resto de radiaciones forman parte de la porción no lumínica del espectro. Dentro de las radiaciones no lumínicas o no visibles, la radiación ultravioleta es la de mayor interés en fotodermatología. Está conformada por tres regiones: la región A (UVA) entre los 320 a 400 nm; la región B (UVB) entre los 290 y 320 nm; y la región C (UVC) con longitudes de onda por debajo de 290 nm.^(43,44,56)

Los efectos generales de la radiación no ionizante sobre el cuerpo son complejos, como por ejemplo, la síntesis de vitamina D en la piel inducidos por irradiación ultravioleta a partir de precursores como esteroides, cambios en los constituyentes químicos y celulares de la sangre, acción sobre la psique⁽⁹⁰⁾, acción fisiológica de la luz en animales, actuando a través de los ojos y de la glándula pineal⁽³⁰⁾. Hay efectos locales y son los que se ejercen sobre la piel. Este concepto es fundamental en fotobiología para definir el nivel de riesgo de la piel normal y fotosensible frente a una porción dada del espectro de radiación ultravioleta (RUV) *El Espectro de Acción* normal mejor estudiado en la piel humana es para el eritema.⁽⁶⁸⁾

Dentro de la radiación ultravioleta que llegan a la superficie cutánea, las UVB (longitud de onda media) son las de mayor actividad biológica pero poco penetrantes, mientras que las UVA (longitud de onda larga) , son menos potentes pero tienen mayor capacidad de penetración, llegando hasta la dermis media. En la epidermis estas radiaciones producen atrofia, pigmentación irregular y

sequedad. Sobre fibras dérmicas promueven cambios en el colágeno. Las alteraciones en la pigmentación son las más frecuentes entre asiáticos, afroamericanos y caucásicos.^(18,45)

1.2.2.2 Fotobiología Cutánea

La Fotobiología dermatológica es la parte de la Fotobiología que se ocupa del estudio de los cambios en la piel por efecto de la radiación no ionizante ambiental, especialmente de la radiación solar y dentro del espectro solar, de la fracción ultravioleta y la luz visible. La calidad de la radiación directa que recibe la superficie del planeta varía según la altitud, la latitud, la estación climática, la hora del día, la humedad y la polución atmosférica. A esta radiación directa, cuando se considera al individuo, hay que sumar las radiaciones difuminadas por las partículas en suspensión de la atmósfera; así en atmósfera nubosa los altos cúmulos absorben la mayor parte de la radiación UV. Además hay que considerar la radiación reflejada por la nieve, 80%; por la arena, 20%; por el agua, 5%; por el césped, 3%. En total, la energía solar que llega a la superficie se divide de la siguiente forma: 50% en radiación infrarroja (RIR), 40% en luz y 10% en RUV siendo la porción RUV la más activa biológicamente. La piel interactúa con la radiación solar dando protección al ser vivo de las radiaciones biológicamente importantes que son la RUV y la luz. Esta función la cumple gracias a su constitución física que le confiere determinadas propiedades ópticas y a las moléculas absorbentes de energía llamados cromóforos.

Cuantitativamente la radiación se expresa en energía (Quantum), asociada a un fotón y se expresa en Joules (J), Ergios (ergs) o Electronvoltios. La unidad de energía que incide sobre una zona, en el campo de la Fotobiología, según el Sistema Internacional de medida, es el Joule; siendo la unidad de área el centímetro cuadrado (J por un cm²).⁽⁴⁴⁾ La medición de la exposición a la RUV es llamada Dosimetría y puede ser hecha por métodos físicos mediante el uso de dispositivos o radiómetros que miden la intensidad de la RUV en cuestión, dicha intensidad es llamada *irradiancia* y se expresa en (unidades de irradiancia) vatios por cm². La dosis de exposición que se expresa en Joules por cm² y se calcula multiplicando la irradiancia por el tiempo en segundos. La dosimetría biológica hace uso de la unidad Dosis Mínima de Eritema (DME) para indicar la dosis

de ultravioleta (UV) que produce el mínimo eritema perceptible en 24 horas. Por ejemplo, la Dosis Mínima de Eritema de ultra violeta B (UVB) en piel tipo I o II es de 30 mili-joules por centímetro cuadrado. Los protocolos de exposición se definen en Joules por centímetro cuadrado.

1.2.2.3 Propiedades ópticas de la piel

Se rigen por cuatro procesos fundamentales. ^(22, 23,30)

Reflexión, principalmente difusa, se ejerce a nivel de la capa córnea y de manera fracción visible y la RIR, no así para la UVB variable, siendo importante para la

Difusión, se ejerce a nivel del estrato córneo y por la melanina, sobre todo de la fracción UVB.

Absorción, que se realiza a nivel de la capa cornea que absorbe el 70% de UVB debido a los aminoácidos polares de la queratina, al ácido urocánico de la melanina, a los carotenoides que absorben la RUV y la luz; y a la hemoglobina que absorbe la luz.

Transmisión, corresponde a la fracción del haz que ha escapado a los tres procesos anteriores y que penetra en la piel. Así de la UVB, 20% llega al cuerpo mucoso de Malpigio y 10% a la dermis. La mayoría de la luz y UVA atraviesan la epidermis siendo en parte detenidos por la melanina. La luz roja y la RIR llegan hasta la hipodermis.

Los *cromóforos* de la piel^(22,92) son moléculas específicas que al absorber la RUV y la visible, aseguran los efectos biológicos de estas sobre la piel. Estas moléculas tienen un espectro de absorción característico que depende de su estructura molecular. Los cromóforos son "energizados" (excitados) por absorción de radiación y este hecho puede llevar a una reorganización molecular y/o a una acción con las moléculas vecinas (reacciones fotoquímicas). Por tanto, ninguna reacción fotoquímica tiene lugar en la piel si la longitud de onda a la que se exponerla persona no es específicamente absorbida por sus cromóforos. La piel posee cromóforos endógenos normales o fisiológicos como son el ADN, las proteínas que contienen gran cantidad de aminoácidos aromáticos, esteroides, y los liposomas que dan lugar a reacciones cutáneas obligatorias, las

porfirinas y el ácido urocánico en el estrato córneo. La melanina es un absorbente de la radiación lumínica y es el recurso fundamental de protección. Al absorber al fotón es convertida a estados excitados, los cuales en su mayor parte los pierde en forma de calor al volver a estados normales, pero algunas de las moléculas activadas juegan un rol en el daño celular y es así que en las quemaduras solares las células tienen mucha melanina. Otra función fisiológica de la melanina es atrapar y desactivar estados excitados. Además pueden estar los cromóforos anormales o fotosensibilizadores que pueden llevar a consecuencias no esperadas. Las porfirinas expuestas a una fuente lumínica apropiada de UVA, se activan y reaccionan con el oxígeno. El oxígeno en estado singulete, reacciona con el lípido de la membrana celular y forma un peróxido lipídico que produce daño en dicha membrana. El antraceno actúa sobre organelas citoplasmáticas. Los efectos biológicos de la exposición a la radiación solar son consecuencia de reacciones fotoquímicas, producidas por la interacción de los fotones con los cromóforos normales de la piel. Clásicamente se dividen en función del tiempo que tarda la aparición de estos efectos.

1.2.3 EFECTOS PRECOCES O AGUDOS

1.2.3.1 Acción calórica: Debido a la fracción RIR que provoca vasodilatación cutánea responsable del eritema con elevación de la temperatura cutánea; por mecanismo reflejo la secreción sudoral asegura la regulación térmica. Una sobre exposición puede conducir al tope de calor, por saturación de las posibilidades de termorregulación, especialmente en los infantes.

1.2.3.2 Pigmentación inmediata, directa, primaria o fenómeno de Meirowski, producido por la UVA aparece pocos minutos después de la exposición y dura pocas horas. La reacción fotoquímica parece ser una foto-oxidación de la melanina.

1.2.3.3 Acción antirraquítica de los UVB que inducen la transformación en la epidermis del 7-dehidrocalciferol en colecalciferol, el que a nivel del hígado y riñón será hidrolizado para formar el 1,25 dihidrocolecalciferol.

1.2.4 EFECTOS RETARDADOS ^(63,94)

1.2.4.1 El eritema actínico, es producido por UVA. Su mecanismo de acción planteado está entre una acción de la RUV sobre los cromóforos dérmicos (lisosomas endoteliales, membrana de las células endoteliales con liberación de prostaglandinas y membranas de mastocitos peri vasculares con liberación de serotonina e histamina) y una acción indirecta por liberación de mediadores epidérmicos que se difunden hacia la dermis (las prostaglandinas parecen ser mediadores responsables de la vasodilatación).⁽⁶³⁾

1.2.4.2 Pigmentación retardada o tardía, muy conocida, que se inicia dos días después de la exposición, alcanzando su máximo a las 3 semanas y disminuye progresivamente. Su mecanismo de acción es por neosíntesis melánica.

1.2.4.3 Hiperplasia epidérmica: Consecuencia de la interacción de los fotones con el ADN epidérmico. Después de la inhibición inicial sigue un aumento en las mitosis de los queratinocitos a partir de las 48 horas, conduciendo al engrosamiento de la capa cornea. Esta es interpretada como una reacción de fotoprotección.

1.2.5 EFECTOS CRÓNICOS^(51,95)

La dosis de irradiación lumínica recibida por la piel es acumulativa. La aparición de los efectos crónicos depende tanto de la forma en que las dosis son recibidas como de la fotoprotección natural del individuo.

1.2.5.1 Envejecimiento cutáneo precoz o fotoenvejecimiento. Esto es particularmente visible en zonas expuestas (nuca, dorso de manos, frente, pómulos). Se observa la acción espectral máxima al UVB que actúa primero sobre la epidermis y luego de la UVA que penetra hasta la dermis actuando sobre sustancias que intervienen en la parte estructural. La RIR parece potenciar el efecto de las RUV al menos en la elastosis.

1.2.5.2 Fotocarcinogénesis. El rol de la radiación no iónica sobre la carcinogénesis cutánea no melanoma, está claramente establecida con argumentos clínicos y epidemiológicos como son la localización en áreas cutáneas más expuestas a la luz, mayor frecuencia de presentación en personas que realizan trabajos en áreas abiertas, en sujetos con fotosensibilidad especial (xerodermia

pigmentosa, albinismo). La frecuencia se duplica en zonas cercanas al ecuador y se multiplica por 10 en las personas de fototipo de piel I y II que viven en Australia, en comparación con personas del mismo fototipo de piel que viven en Gran Bretaña. La relación es dependiente a la dosis acumulativa de UV en el curso de la vida. Las exposiciones precoces jugarían un papel agravante. La RUVB tiene acción casi directa sobre la carcinogénesis mientras que la UVA tiene papel inductor. La luz y la RIR tendrían un efecto promotor. El mecanismo íntimo de acción no está bien establecido y respecto al melanoma maligno cutáneo (MMC) el rol oncogénico del sol tampoco está bien establecido. Existen ciertos argumentos, tales como la ausencia de correlación entre la dosis requerida y la aparición de melanoma, la localización frecuente en zonas cubiertas, su aparición a una edad más precoz, su aparición en áreas urbanas y la falta de elastosis solar asociada a MMC que descartarían la radiación solar como causante directo del MMC. Sin embargo, sí se puede decir que el MMC es inducido por la exposición solar en razón de los siguientes hechos: 1) Antecedentes de exposiciones intensas y traumáticas (por ejemplo, las observadas en las vacaciones de verano) y el de exposiciones precoces en la vida; 2) La mayor frecuencia de MMC en las pieles de tipos I y II; 3) Que el melanoma léntigo maligno está localizado casi exclusivamente en zonas expuestas.

1.2.6 DISCROMÍAS

El color de la piel está determinado por una serie de factores, que combinados originan las distintas tonalidades de la piel humana, entre ellos están la melanina (pigmento oscuro originado en los melanocitos), el factor vascular (dado por la red capilar de las papilas dérmicas), y otros pigmentos como los carotenos, la hemosiderina, y los pigmentos biliares, entre otros.^(18,45) Las discromías son alteraciones en la coloración de la piel; pueden ser melánicas o no melánicas, las primeras están restringidas a las enfermedades de la piel que se caracterizan por la alteración en la melanina, mientras que la no melánica se asocia a pigmentos exógenos (p.e. tatuajes, fármacos, metales, carotenos) o endógenos (p.e. las debidas al hierro, por depósito amiloide).⁽³¹⁾ Se pueden clasificar en varios tipos: Localizadas, diseminadas o generalizadas, hiperpigmentaciones (aumento de melanina) y leucodermias (cuando hay hipopigmentación o acromía). Otra clasificación se basa en aspectos etiopatogénicos: Genéticas, de origen químico, físico, traumático. Aunque se ignora la etiología de muchas de ellas.^(18,31)

La hiperpigmentación se caracteriza por oscurecimiento de la piel, aunque afecta a todas las razas, los individuos con descendencia hispana, asiática o africana son más vulnerables. Las causas de la hiperpigmentación incluyen el fotoenvejecimiento, y algunas condiciones clínicas preexistentes. La hiperpigmentación se clasifica en epidérmica (manchas oscuras en la capa superficial de la piel), dérmicas (mancha gris-azul capa media de la piel) y mixtas (mancha gris-marrón).^(18,30)

Las zonas de la cara se pueden clasificar en:

Centro-facial: Frente.

Malar (zona del pómulos): Mejillas y dorso de la nariz.

Mandibular: Alrededor de la boca.

De acuerdo con esta clasificación, es posible ubicar las discromías según el sitio de aparición.

Las manchas son relativamente homogéneas, de bordes bien definidos y son de color marrón en diferentes tonalidades.

1.2.6.1 Clasificaciones del fotoenvejecimiento:

Existen varias clasificaciones del fotoenvejecimiento, que no siempre van unidas a una determinada edad; la más utilizada es *Escala de Glogau*⁽¹⁸⁾ que lo divide en

Tipo I: Leves cambios pigmentarios sin queratosis. Pocas o ninguna arruga.

Tipo II: Algunas manchas marrones de lentigos y queratosis. Cambios en la textura de piel. Arrugas en movimiento y en reposo, principalmente en líneas de sonrisa.

Tipo III: Cambios de coloración en la piel, manchas, eritema y telangiectasias. Queratosis. Arrugas en reposo. Flacidez y descolgamiento, pérdida del óvalo facial.

Tipo IV: Fotoenvejecimiento severo. Color de la piel amarillo Queratosis actínicas y seboreicas. Arrugas profundas en toda la piel. Piel muy flácida.

Fitzpatrick también reporta un clasificación para el fotoenvejecimiento

- Clase I – Arrugas finas.
- Clase II – Arrugas entre finas y moderadas, número de líneas de expresión moderadas.
- Clase III – Arrugas finas y profundas, numerosas líneas de expresión, y presencia de pliegues.

Escala de hiperpigmentación de Taylor. ⁽⁸⁵⁾

Es una escala validada para describir el color de la piel y monitorear tratamientos relacionados con la hiperpigmentación de la piel, consta de 15 tarjetas plásticas, que representan los diferentes tonos en los fototipos IV al VI de la escala de Fitzpatrick de clasificación del tipo de piel, cada tarjeta contiene hasta 10 bandas de degradación de tonos. Esta escala también se emplea para caracterizar la piel antes del tratamiento despigmentante.

Figura 2. Tarjeta para medir color en la escala de Taylor



Cosmetic Dermatology Principles and Practice 2^a ed. Bauhman

Escala étnica de Lance: (LES). ^(9,55)

Fue desarrollada específicamente para evaluar el riesgo y los resultados en el paciente con láser cosmético, asigna un valor entre 1 y 5 de acuerdo con el origen de la persona (Ej. africano 5, nórdico 1) el resultado de la sumatoria determinará el alto o bajo riesgo para desarrollar manchas (valor alto gran posibilidad, bajo poco probable)

Sistema de baumann ^(9,55)

Incluye 16 síndromes diferentes, esta clasificación ha sido usada en investigaciones genéticas orientadas a la identificación de genes relacionados con características de la piel como sequedad, envejecimiento, pigmentación y sensibilidad, esta escala relaciona los 16 síndromes con atributos individuales que permiten identificar distintos fenotipos de piel, con el fin de elegir productos cosmecéuticos apropiados para cada fenotipo.

1.2.7 ETIOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN DE LAS MANCHAS EN LA PIEL

En general las manchas son debidas a un cambio por aumento o por disminucion de la coloracion de la piel, debida a diferentes causas, principalmente estan ubicadas en las zonas más expuestas o desprotegidas como son cara, manos y escote. Podemos encontrar diferentes tipos.

1.2.7.1 Lentigos o manchas solares: Manchas pequeñas de color marrón o negro. Cuando se produce como consecuencia de la exposición al sol se le denomina lentigo solar o senil y se caracteriza por manifestarse en personas de edad avanzada, principalmente en el dorso de las manos y en la cara.

1.2.7.2 Cloasma o melasma: Son manchas irregulares en forma de placas de color amarillo oscuras. Es especialmente frecuente en las mujeres jóvenes localizándose en la frente, las mejillas y el labio superior. Estas manchas se oscurecen en verano y se aclaran durante el invierno. Se producen sobre todo durante cambios hormonales como el embarazo y con el uso de anticonceptivos.

1.2.7.3 Vitiligo: Manchas blancas derivadas de la pérdida de pigmento. Aunque pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo, principalmente se localizan en cara, labios, manos, brazos y piernas, además pueden aparecer otras manchas como pecas, lunares, manchas de nacimiento etc.

Tambien existen diferentes factores que pueden desencadenar la aparicion de manchas en piel como son la herencia genetica, exposición solar, envejecimiento, cambios hormonales como embarazo y menopausia, uso de ciertos medicamentos como anticonceptivos, deficiencias nutricionales de calcio, vitamias A, B y E, exceso o deficiencia de hierro.

1.2.8 PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS MANCHAS SOLARES

La prevención de la aparición de las manchas en piel cuando estas resultan como consecuencia de la exposición a los rayos solares, se hace utilizando productos de protección solar alto, que protejan contra los rayos UV, en forma rutinaria y sin tener en cuenta si el día es soleado o no, además siguiendo diferentes pautas para evitar la exposición.

Cuando se habla de tratamiento, se habla de utilizar productos encaminados a eliminar o a atenuar las manchas que ya han aparecido, en ambos casos se requiere constancia en la aplicación para lograr los efectos deseados.

Existen diferentes principios activos que actúan bajo diferentes mecanismos para inhibir la formación de melanina o disminuir la intensidad de la misma, los mecanismos pueden incluir inhibición de la oxidación enzimática de la tirosina, inhibición de la formación de radicales libres, acción quelante sobre el cobre e inhibición enzimática de la tirosinasa, inhibición del transporte de la tirosinasa hacia los premelanosomas.

1.3 ANTECEDENTES

La tendencia actual en las técnicas de mediciones en piel se basa en métodos no invasivos; estos métodos son atraumáticos e incruentos, no involucran instrumentos que penetren o rompan la piel. En el área cosmética existen numerosos métodos que a pesar de su uso generalizado presentan inconvenientes como: escasa reproducibilidad, alto costo, alto grado de entrenamiento del personal que aplica el método. Las técnicas empleadas van desde la observación directa o con lupa, la elaboración de moldes (replicas) de la piel, hasta aquellas en las que debe emplearse un instrumento de medición más sofisticado (corneometría, sonometría, colorimetría, etc.), las técnicas existentes permiten medir diversidad de características de la piel tanto funcionales como estéticas, entre ellas se podría mencionar: visión directa o con lupa, epiluminiscencia directa o con lupa, replicas, fotografías, digitalización de imagen, pHmetro, colorimetría, termografía, sonometría con ultrasonidos, resonancia magnética de imagen, flujometría, corneometría, sebometría, evaporimetría, elastometría, etc.

El método más frecuente e inmediato de evaluación de la piel es el de la visión directa o con lupa. Con el paso del tiempo se utilizan mayores aumentos y mejor iluminación facilitando observar las lesiones elementales dermatológicas, además, las arrugas y líneas primarias y secundarias que según la localización y la edad se puede valorar su intensidad y profundidad en relación con una media de la población regional. La normativa es que primero se examine la superficie cutánea con luz natural y a ojo desnudo, para evitar artefactos de coloración, y después aumentar la imagen con lupa y mejor si está iluminada, como en el dermoscopio, por ejemplo, que permite comenzar por pequeños aumentos y seguir con aproximaciones de x100 lo que alcanza las líneas terciarias, es decir los límites de las escamas.

La medición del color de la piel tradicionalmente se ha hecho basándose en la escala de clasificación de Fitzpatrick, este es un método de medición subjetivo que requiere alto grado de entrenamiento, consiste en una determinación visual del color de la piel en partes que no están expuestas a la radiación solar o con exposición mínima; no es aconsejable el análisis de zonas que

han sido expuestas repetida y prolongadamente a la radiación lumínica, debido a que su color ha sido alterado, y este método pretende clasificar la piel de acuerdo a la sensibilidad cutánea a la luz y la forma de reaccionar ante ella. En la actualidad existen equipos que ayudan a medir el color de la piel y el grado de eritema en ella y que disminuyen el grado de subjetividad de la medición visual.

La coloración de la piel depende de diferentes factores como raza, localización, estado de salud, composición del suero, etc. pero los dos factores más importantes son la actividad melanocitaria para producir melanina y la riqueza y actividad vascular para producir eritema, ambos factores son indicativos de agresión externa.

La colorimetría de la piel se puede llevar a cabo mediante diferentes aparatos y técnicas que en esencia se basan en la detección mediante células fotoeléctricas de la luz seleccionada en un emisor para que al reflejarse en la piel nos indique las bandas de absorción y por consiguiente la mayor o menor cantidad de pigmento cutáneo que las ha absorbido, teniendo en cuenta los factores de corrección, como la temperatura y la luz ambiental. Las bandas de absorción de la melanina está en el rojo (655 nm), y de la hemoglobina en el verde (560 nm).

La valoración colorimétrica de la piel no sólo se puede hacer por los pigmentos estables sino también, secundariamente, por el ritmo e intensidad de la circulación sanguínea que tanta hemoglobina transporta. Este método consiste en valorar el grado de dispersión que se produce por el efecto Doppler en una luz monocromática láser reflejada en los tejidos estables de la piel y en los hematíes en movimiento de los vasos sanguíneos que es proporcional al número de hematíes y la velocidad de circulación.

Como ejemplos de instrumentos que se utilizan para esta técnica están:

Colorímetro de piel (Skin Colorimeter):

Mide el color de la Piel mediante leds que emiten luz blanca, dispuestos circularmente para iluminar de manera uniforme en la piel. La luz emitida se dispersa en todas direcciones, parte atraviesa la piel y otra parte se dispersa fuera. La sonda mide la luz reflejada

El Mexámetro (Mexameter):

Proporciona una clasificación más precisa de color de la piel que el sistema de Fitzpatrick. El Mexámetro es un espectrofotómetro de reflectancia de banda estrecha, que mide los niveles de melanina y la hemoglobina, los dos componentes más importantes en la determinación de color de la piel. Además, permite una rápida, reproducible y objetiva cuantificación de color en diferentes tipos de piel. Métodos tales como el sistema de Fitzpatrick presentan inconvenientes para la clasificación de algunos tipos de piel (p.e la piel negra) debido a su subjetividad. Aunque muchos dermatólogos creen que el sistema de Fitzpatrick no está actualizado, no ha habido ninguna alternativa para reemplazarlo.

Con el Mexámetro es posible medir, como ya se mencionó, los niveles de melanina y hemoglobina de diferentes tipos de piel, sin embargo, no hay una variación significativa en la concentración de hemoglobina entre diferentes grupos étnicos (por similitud en el flujo sanguíneo), esto indica la pobre discriminación que hace el Mexámetro respecto a la clasificación del color de la piel, ya que uno de los dos parámetros de medición que utilizan no es tan determinante para hacer una diferenciación.^(19,20)

En dermatología, se utiliza el Mexámetro para la realización de diagnósticos clínicos objetivos, pruebas de alergia y de contacto, mediciones del melanoma y color de cicatrices. Resulta indispensable en pruebas de eficacia y como apoyo a publicidad en productos cosméticos y farmacéuticos (en especial protectores solares y productos para el aclarado de la piel).

El principio de medición del Mexámetro se basa en la absorción y reflexión de la radiación. La sonda del Mexámetro emite luz de tres longitudes de onda específicas. Un receptor mide la luz reflejada por la piel. Las posiciones del emisor y el receptor garantizan que únicamente se mide la luz difusa y dispersa. Al definirse la cantidad de luz emitida, es posible calcular la cantidad de luz absorbida por la piel. La melanina se mide mediante longitudes de onda específicas. Para la medición del eritema también se utilizan longitudes de onda específicas, correspondientes al máximo nivel de absorción espectral de la hemoglobina y evitando otras influencias de colores (por ejemplo, la bilirrubina).

Otros métodos no invasivos involucran los test *in vitro* y los test *in vivo*; los primeros se realizan sobre melanocitos humanos y se evalúa la disminución de la actividad tirosinasa y la disminución de melanina, también se pueden realizar en epidermis humana reconstituida donde se evalúa la melanogénesis. Los tests *in vivo* se realizan en voluntarios, a los cuales se les realizan mediciones de piel con o sin aplicación de algún principio activo, se utiliza el Mexámetro para evaluar la disminución o no de la coloración de la piel.

Las imágenes digitales se emplean en la dermatoscopia digital, que es una técnica de diagnóstico *in vivo*, para la observación de lesiones cutáneas, fundamentalmente tumores pigmentados.

La dermatoscopia digital se define como la adquisición y manipulación de imágenes dermatoscópicas en un formato digital, los primeros aparatos utilizados eran de gran tamaño y alto costo, en la actualidad se utilizan equipos especialmente diseñados para esta técnica llamados dermatoscopios, básicamente se componen de una fuente de iluminación y un sistema óptico de amplificación de imagen.

Pese a que el sistema ha evolucionado sólo puede emplearse en áreas muy pequeñas (aprox. 25 mm), otra limitante es que no se producen en el país y sólo se adquieren bajo importación.⁽⁵⁷⁾

1.3.1 METODOS DE EVALUACIÓN DE PIEL Y PRODUCTOS COSMÉTICOS

Se evidencian dos grupos: Métodos invasivos y no invasivos, los primeros requieren la intervención de personal médico, se destacan los métodos histopatológicos.

Métodos no invasivos: Se refiere a “un procedimiento o instrumento que causa solo cambios mínimos o temporales en la estructura o función, y en particular, no involucran dolor, incisiones o pérdida de sangre”.⁽⁷¹⁾ Los métodos no invasivos no representan un dilema desde el punto de vista de la ética, pero deben estandarizarse para garantizar la eficacia del test.

Medición de melanina y hemoglobina: El Mexámetro (espectrofotómetro de reflectancia), - El Mexámetro es un espectrofotómetro de reflectancia de banda estrecha, que mide los niveles de melanina y la hemoglobina, es un equipo de alto costo y de difícil consecución.

Las técnicas para analizar el estrato córneo⁽²⁸⁾ incluyen la corneografometría y escamometría, mínimamente invasivos, consisten en la recolección de la parte superficial de la capa córnea, con el fin de producir un registro de la tolerancia de productos de aplicación tópica. Se utiliza una cinta que se adhiere a la piel retirando una leve capa, luego se evalúa mediante análisis de imágenes.

Medición de pérdida de agua transepitelial

Existen varios instrumentos, los cuales proporcionan resultados en términos de $\text{g/m}^2/\text{hora}$. Métodos eléctricos (no invasivos) para estimar la humectación del estrato córneo basados en la medida de la impedancia, o su inversa la conductancia, en función de una o más frecuencias^(28,29).

Medidas de microrelieve

La apariencia de la superficie de la piel y sus características geométricas son dependientes de la presencia de epidermis viva y del estrato córneo que la cubre; de tal manera que los cambios en el espesor, composición y estructura de estas capas afectan el microrelieve. En esta técnica no invasiva se emplean, la mayoría de las veces, réplicas (negativas) o contrarréplicas (positivas) de la superficie cutánea que luego se escanea por diversos métodos y técnicas por las cuales se evalúa mediante software de análisis de imágenes. La ventaja de estos métodos tiene que ver con el análisis de múltiples parámetros (rugosidad, profundidad de arrugas, en algunos casos vista en 3D) las desventajas de estos métodos tienen que ver con la producción de las réplicas, generalmente de silicona, (daños en la réplica por aparición de burbujas, movimientos del sujeto etc.) y con el alto requerimiento de tiempo⁽⁷¹⁾.

Existen instrumentos de alto costo que permiten evaluar el microrelieve de la piel, tales como el visioscan^{®(87)}, que permiten mediciones no invasivas de piel.

Técnicas de análisis de imágenes

Estas técnicas son diversas y se clasifican de acuerdo a la fecha de aparición en la literatura científica. Incluyen el método ultrasónico B-scan, imágenes de resonancia magnética, microscopia confocal y tomografía óptica coherente. Actualmente solo la técnica de ultrasonido se acepta ampliamente en pruebas de seguridad de productos; este método se basa en las propiedades de las

ondas de ultrasonido (frecuencia mayor de 20 KHz), al reflejarse parcialmente cuando pasan a través de la interface existente entre dos medios con diferentes propiedades mecánicas. Las imágenes obtenidas por esta técnica, proporcionan información relacionada con la morfología de la piel y el grosor de varias capas. También brinda información cualitativa respecto al tipo de tejido. Este método se emplea principalmente en investigaciones clínicas, farmacología de la piel y estudios de toxicidad local (irritación /alergias).⁽⁸⁴⁾

La medición de la eficacia de un producto cosmético o cosmeceútico se realiza comúnmente, mediante el empleo de los siguientes instrumentos: Cornéometro (determina humectación de la piel), Tewametro (medición de la pérdida de agua transepidermal), cutómetro (medición de parámetros viscoelásticos de la piel)⁽³⁴⁾, Mexámetro (medición de melanina y hemoglobina).

1.3.2 PRINCIPIOS RELACIONADOS CON LAS TÉCNICAS DE MEDICIÓN

Aspectos éticos de la evaluación cosmética

Las investigaciones en este campo se dividen en dos categorías principales: Investigación básica (no terapéutica o no clínica), e investigación médica o aplicada. La primera implica voluntarios sanos y se lleva a cabo con el fin de incrementar el conocimiento de los principios fundamentales y así contribuir a la investigación clínica o aplicada. La segunda involucra personas no sanas e intenta evaluar nuevas formas de diagnóstico o métodos terapéuticos de seguridad y eficacia.^(18,26,31)

Los métodos para probar productos en piel se asemejan a la investigación médica, por involucrar seres humanos, pero también caen en la investigación básica porque su primer propósito es contribuir al conocimiento de la fisiología de la piel y de las sustancias activas. Cuando se evalúa seguridad y eficacia de nuevos cosméticos o cosmeceúticos se trata de investigación aplicada.⁽¹⁸⁾ El empleo de métodos no invasivos, no representa un dilema, desde el punto de vista de la ética.

Aspectos regulatorios

En Europa las proclamas del producto deben estar sustentadas en datos científicos y disponibles en los archivos de información del producto. Esta información puede estar sustentada en estudios tanto clínicos como no clínicos. En los Estados Unidos, también las proclamas de eficacia deben

estar sustentadas para evitar sanciones, estas justificaciones se depositan en la FDA (Food and Drug Administration) o la FTC (Federal Trade Commission).

En Colombia: se siguen los lineamientos europeos y, adicionalmente, se admiten los ingredientes activos contemplados en la base de datos de la COSMETICS EUROPE-THE PERSONAL CARE ASSOCIATION.

En 2008 la COSMETIC EUROPE-THE PERSONAL CARE ASSOCIATION emitió una versión revisada de la "Guía para la evaluación de la eficacia de los productos cosméticos" ⁽²⁶⁾, esta contiene los principios generales para las pruebas de la eficacia, los requisitos para los protocolos de prueba e informes, así como algunos ensayos de eficacia de la muestra en humanos y no humanos. Según esta guía, los estudios deben ser relevantes y estar compuestos de métodos confiables y reproducibles. Los criterios empleados para la evaluación del desempeño de un producto deben definirse con exactitud y elegirse de acuerdo con el propósito de la prueba.

En la última década se han implementado diversos tests para sustentar las proclamas, pero actualmente se están direccionando en el entendimiento de la fisiología de la piel. Los progresos en las mediciones biofísicas y métodos estandarizados de foto documentación proporcionan nuevas oportunidades para el desarrollo de pruebas.

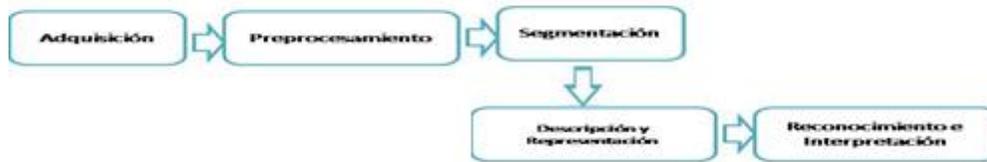
1.4 CONCEPTOS DEL ANALISIS DE IMÁGENES DIGITALES

Para la obtención de las características de las zonas de interés (ROI), de las imágenes digitales, se utilizó el Análisis Digital de Imágenes, a continuación se mencionan los aspectos más importantes de este tratamiento.

1.4.1 Etapas del Análisis Digital de Imágenes

El análisis digital de imágenes es un proceso que tiene varias etapas que se desarrollan secuencialmente, en general puede decirse que son cinco (adquisición, preprocesamiento, segmentación, descripción y representación y reconocimiento e interpretación), pero no siempre se pueden utilizar de la misma forma, esto depende de la calidad de la imagen a tratar y de los objetivos propuestos.

Figura 3. Esquema etapas análisis de imágenes



La manipulación de las imágenes digitales se debe hacer siempre sobre el duplicado de la imagen original no procesada, los archivos originales data raw deben ser comparados con el archivo estándar de la imagen original, así el investigador puede revisar en caso de que descubra algún error en el procesamiento de imágenes.

Un análisis de las diferentes etapas se considera a continuación.

La primera etapa (Adquisición)

Requiere los sensores adecuados que pueden ser una cámara de color o monocromática, o un escáner. Si la imagen de salida de la cámara no está en formato digital, es necesario usar un

conversor analógico-digital para digitalizarla, el escáner, por su diseño ya entrega directamente una imagen digital.

Segunda etapa (preprocesamiento)

Una vez obtenida la imagen en forma digital, la etapa siguiente es el preprocesamiento, si fuese necesario. Consta de todas aquellas acciones tendientes a mejorar la calidad de la imagen tales como modificación del contraste, del brillo, del tamaño y supresión del ruido, entre otros. El preprocesamiento aplicado a una imagen dada depende del objetivo final que se quiere lograr, es por ello que para realizar un análisis posterior de la imagen puede llegar a requerirse de varias acciones.

La tercera etapa (segmentación de la imagen)

Su función es separar de la imagen la región de interés (ROI) del resto de ella (fondo). La salida del proceso de segmentación es una imagen que contiene la frontera de la región de interés, o los píxeles que conforman esa región.

La cuarta etapa (descripción y representación)

La imagen segmentada es sometida a un proceso denominado descripción y representación, cuyo objetivo es caracterizar las áreas de interés diferenciándolas del resto de la imagen. La representación asigna una etiqueta a cada objeto basándose en la información numérica que proporcionan los descriptores previamente establecidos.

La quinta etapa (reconocimiento e interpretación)

En esta etapa se asigna una etiqueta con un significado a los objetos encontrados en la segmentación con ayuda de sus rasgos y descriptores^(77,46,74)

El procesamiento digital de imágenes (PDI), permite mejorar las características de una imagen o hacer la extracción de información significativa de ella para realizar posteriormente algún tipo de análisis.⁽³⁸⁾

1.4.1.1 Primera etapa Adquisición

En general, los métodos de adquisición consisten en variaciones de las cámaras ópticas clásicas. Los elementos fundamentales para el proceso de adquisición contienen un dispositivo sensible a una parte específica del espectro electromagnético (en este caso el espectro visible) capaz de producir una señal eléctrica proporcional a la energía incidente, un digitalizador que convierta esa señal de salida en un conjunto discreto de localizaciones del plano de la imagen. El digitalizador toma el valor de la imagen continua en cada localización discreta de la imagen y asigna un valor discreto representativo del rango en que varía la muestra, cuando la señal está cuantizada, en el dominio espacial y en la amplitud, se obtiene la imagen digital.⁽⁶²⁾

Un aspecto fundamental lo constituyen las condiciones ambientales bajo las cuales se obtienen las imágenes, pese a que esta etapa es crítica pocas veces es considerada en los trabajos habituales, y por ello no se dispone de bibliografía suficiente. Estas condiciones influyen en el procesamiento de la imagen y en los resultados de los parámetros (en cuanto a sensibilidad, precisión y exactitud) del método de análisis de imagen (AI) seleccionado. En este aspecto es importante seleccionar la distancia a la cual se sitúa la cámara del objeto de interés, la iluminación y la posición del objeto de interés respecto a la fuente lumínica y a la cámara. Una vez obtenidas las condiciones óptimas, que se consiguen variando la posición de los brazos del aditamento de captura y variando la posición de las fuentes de iluminación, debe asegurarse una mínima variación entre ellas con el fin de obtener resultados confiables.

Durante esta etapa del tratamiento, la entrada es una fuente de luz que pasa a través del objetivo y llega al sensor para transformar esta información en una imagen digital que se obtiene como salida, para transformar esta información se requiere de uno o varios sensores, el propósito de estos sensores es transformar la fuente perceptible entrante en un diferencial de potencial eléctrico, que dependerá de la observación realizada por los sensores a la fuente perceptible.

La cuantía de la diferencia de potencial eléctrico dependerá de la observación realizada por los sensores a la fuente perceptible. Tanto la diferencia de potencial eléctrico que indica la amplitud de la señal de la fuente perceptible, como la ubicación espacial de dicha captura en la imagen que se

está representando con los resultados de la captura, pertenecen cada uno a un dominio continuo. Por tanto, ambos han de discretizarse para obtener una imagen digital. La digitalización de las coordenadas espaciales se llama muestreo, y la digitalización de la señal percibida se llama cuantificación. Para el muestreo y la cuantificación hay que definir funciones respectivamente de un dominio continuo a un conjunto discreto y finito. Lo convencional en el muestreo es, definir una unidad básica indivisible, y hacer que dados los valores de cada una de las componentes de los elementos ordenados del conjunto de destino ordenados, se separen en intervalos de igual tamaño a dicha unidad. Lo mismo se suele hacer con la cuantificación.

Un problema que se suele presentar en la adquisición de imágenes es el del ruido. El ruido en un píxel puede definirse como la perturbación que conlleva el hecho de que el valor del píxel no corresponda con la realidad que pretende representar. Esta perturbación viene producida por el sensor receptor de la magnitud física medible a la que reacciona, o por el método físico del tratamiento de los datos posterior a la percepción mediante el sensor.⁽⁷⁰⁾

Factores externos que afectan la adquisición

Iluminación.

La importancia de la intensidad y fuente de iluminación se relaciona con la deficiencia o exceso que puede dar lugar a ruido o a un aumento del contraste de la imagen seleccionada. Por tratarse aquí de toma de fotografías de piel en la región facial con multiplicidad de formas y contornos, se hace necesario un buen sistema de iluminación ya que desde el inicio es posible reducir la complejidad de la forma a capturar eliminando sombras, brillos y contrastes que afectan el AI posterior.

Fuentes de iluminación

Los más usuales son: fibra óptica, lámparas fluorescentes, LED, iluminación laser, iluminación con lámparas UV. En este trabajo se han considerado las tres primeras fuentes descartándose la fuente laser y la UV debido al riesgo que implica su manipulación para el paciente y para el analista. Si bien las fuentes UV se emplean en mediciones de piel, aquí se propone un sistema simple, de bajo costo y mínimo riesgo para la evaluación no invasiva de piel.

Iluminación por fibra óptica: Esta proporciona una luz muy intensa. La luz procedente de una bombilla halógena, o de xenón, que se encuentra en una fuente de iluminación, se conduce a través de un haz de fibras ópticas que termina en un adaptador específico para cada tipo de aplicación. Estos adaptadores pueden tener forma circular, lineal, puntual o de panel, y puede ser de distintos tamaños y dimensiones.

La fibra óptica proporciona luz fría, que es una ventaja si se el área a iluminar es piel de humano. El tiempo de vida útil de las lámparas halógenas utilizadas con este tipo de iluminación oscila entre 1000 y 2000 horas. Aunque la iluminación por fibra óptica presenta mínima variación, se requieren varios dispositivos ya que la zona que ilumina no es considerablemente grande. Esto hace que existan sombras y brillos más debidos a la iluminación que a las características de la zona en estudio.

Iluminación por lámparas fluorescentes: Utilizada para iluminación industrial o doméstica, con alta eficiencia energética, está compuesta por tubo de vidrio sellado al vacío, dentro del cual se encuentran vapores de Hg y que está revestido con algún compuesto fluorescente. Con filamentos en ambos extremos del tubo, la descarga eléctrica induce la emisión de fluorescencia del compuesto con el cual está recubierto el tubo.

Los tubos fluorescentes estándar no presentan un balance de color uniforme, incorporando longitudes de onda mayoritariamente azules.

Con el uso de este tipo de iluminación se obtiene una mejor respuesta del color real del objeto a estudiar, presenta una amplia zona de iluminación constante y uniforme, no produce calor apreciable.

Iluminación por LED (Light-Emitting Diode): Es un tipo especial de diodo, que trabaja como uno común, pero que al ser atravesado por la corriente eléctrica emite luz monocromática.

Existen diodos LED de varios colores que dependen del material con el cual se fabrican. Los LED tienen luz de intensidad media y baja, alto tiempo de vida útil, luz continua, no tiene sistemas de refrigeración, existen múltiples diseños y variedad de colores. Aquí se eligió luz blanca.

La iluminación por LED puede dirigirse a una zona específica, un arreglo óptimo requiere pocas lámparas.⁽⁴⁷⁾

Calidad de la luz reflejada

La luz se refleja por los objetos de dos maneras diferentes: Reflexión especular y reflexión difusa. En la reflexión especular, cada rayo incidente se refleja en una única dirección (los rayos reflejados son paralelos). En la reflexión difusa los rayos incidentes son dispersados en un rango de ángulos salientes.

Los objetos exhiben todas las clases de conductas entre los extremos de la reflexión especular y la difusa, sin embargo existe un componente predominante, por ejemplo una superficie pulida, tienen un componente direccional dominante (reflexión especular), pero se difunde parcialmente por irregularidades de la superficie dando lugar a una reflexión difusa. La piel en sí misma puede presentar algunas propiedades especulares, que se observan con una luz muy intensa, pero por tratarse de una superficie altamente irregular su componente dominante es la reflexión difusa.

Reflexiones Especulares

Esta es muy brillante debido a que la intensidad de la reflexión es comparable con la intensidad de la luz que proviene de la fuente. Esta reflexión puede llegar incluso a saturar el sensor de la cámara. Un cambio pequeño en el ángulo formado por la fuente de luz, el objeto y la cámara puede causar que la reflexión especular desaparezca completamente. Es por esto que las reflexiones especulares son poco confiables y a menos que estos ángulos estén bien controlados, deben evitarse estas reflexiones.

Reflexión Difusa

Es tenue y estable. Con una intensidad entre 10 a 1000 veces menor que la intensidad de la fuente de luz. La intensidad de la luz reflejada cambia lentamente con el ángulo.

Es de resaltar aquí que la piel es una superficie en la que domina la radiación difusa, aunque puede existir reflexión especular, así que considerando el hecho que para regiones especulares se considera mejor utilizar iluminación difusa y que las superficies difusas pueden ser iluminadas correctamente usando fuentes de luz difusas o fuentes de luz puntuales.^(75,82)

Ubicación de las fuentes lumínicas

Iluminación posterior (back light)

La iluminación posterior permite delinear el contorno de las piezas y permite observar perforaciones o huecos que pasen de un lado a otro. Brinda alto contraste y pueden emplearse fuentes puntuales o difusas. El método se aplica para medir dimensiones exteriores, ubicación de puntos de sujeción (en perforaciones para tornillos) la opacidad de materiales traslúcidos o de su espesor. Este tipo de iluminación carece de importancia práctica el desarrollo de este trabajo.

Iluminación Frontal Oblicua y Direccional

La dirección de la iluminación se conoce como el ángulo de incidencia, este es el ángulo formado por el plano normal a la superficie y el rayo incidente. El contraste de una superficie con relieves se logra maximizar cuando los haces de luz forman un ángulo aproximado de 20 grados con la superficie, de esta manera las salientes aparecen brillantes y las superficies planas aparecen como un fondo oscuro. Por otro lado, la iluminación frontal direccional con un ángulo entre los rayos incidentes y la superficie de aproximadamente 30 grados reduce el contraste e incrementa la cantidad de información obtenible de las superficies planas.

Iluminación Frontal Axial (difusa)

Mediante esta técnica se puede iluminar desde el mismo eje de la cámara con luz uniforme, incluyendo el centro de la imagen. Permite iluminar uniformemente superficies reflectivas, realza detalles grabados y crea contraste entre superficies especulares y difusas.

Los dispositivos comerciales envían luz mediante el divisor de haces prácticamente a 90 grados. Proveen iluminación uniforme para superficies reflectivas planas.

Iluminación de Día Nublado (cloudy day illumination, CDI)

Suministra iluminación difusa en la misma dirección que el eje de la cámara. Ha sido diseñada para las aplicaciones más complejas y difíciles con superficies especulares irregulares que necesitan luz completamente uniforme.

Iluminación de Campo Oscuro (dark field)

Es luz directa de alta intensidad que se hace incidir sobre el objeto con un ángulo muy pequeño respecto a la superficie donde descansa. Así que las hendiduras o elevaciones presentes en la superficie interfieren en la trayectoria de la luz produciéndose zonas brillantes. Este tipo de iluminación de campo oscuro realza el contraste de los detalles superficiales rugosos.

Arreglo de luces

La luz producida llega directamente al objeto, produciendo buen contraste y resaltando las texturas, relieves y fisuras de la superficie, el ángulo de incidencia de la luz respecto al plano de iluminación determina el grado de resalte, de tal manera que ángulos muy pequeños respecto a la horizontal producen más sombras en los relieves. Ángulos aproximadamente de 90 grados respecto a la horizontal producirán sombra solo en los relieves más profundos.

Para esta iluminación se emplean fuentes directas de diversas formas y tamaños. Se pueden emplear tanto para superficies especulares (método del campo oscuro) o difusas (método del campo claro)

Iluminación de campo claro (o brillante)

La fuente de luz es uniforme y difusa (suave) e incide con un pequeño ángulo sobre la superficie reflectante del objeto a inspeccionar. Las imperfecciones originan manchas oscuras (debidas a la variación del ángulo de reflexión que produce la imperfección con respecto al ángulo de la luz incidente) en la imagen captada por la cámara. Este método está indicado para detectar rayas, fisuras y deformaciones en objetos con superficies planas y brillantes.⁽⁶⁶⁾

1.4.1.2 Segunda etapa preprocesamiento

Disminución del tamaño de la imagen

La razón para disminuir el tamaño de una imagen digital mediante el recorte de algunas de sus partes, es eliminar el exceso de fondo o regiones de la imagen que no son interés, al realizar este proceso hay que tener la precaución de guardar una copia de la imagen original en un formato que no permita la pérdida de información al comprimir la imagen para almacenarla, en caso de que la

modificación no sea la deseada, dichos formatos pueden ser RAW o TIFF, estos formatos ocupan gran cantidad de espacio en la memoria donde son almacenados, pero mantienen la calidad de la imagen es decir, no se pierde información cada vez que son comprimidos o descomprimidos.^(4,79,25)

Cambio de color de la imagen a escala de grises

Con esta técnica se busca transformar los píxeles de la imagen original en una imagen nueva, manteniendo la ubicación que tienen en la imagen original, el valor del píxel transformado depende del valor del píxel original, dependiendo de la utilización que se le pretenda dar a la imagen modificada, se debe elegir la función de transformación a los niveles de gris, el objetivo de transformar una imagen a niveles de gris es resaltar el valor de los píxeles de interés aumentando la luz sobre ellos y disminuir el valor de los píxeles que no lo son disminuyendo la luz sobre ellos.⁽⁷⁰⁾

La forma más usual de adquirir las imágenes es en canales RGB con 8 o más bits por canal, pero mediante un software adecuado es posible convertir estas imágenes con sus coordenadas de color a una imagen en escala de grises, para hacer esto hay más de una forma, el objetivo es obtener un mejor contraste de las estructuras presentes en la imagen, el método más simple consiste en promediar los canales rojo, verde y azul, esta no es la forma en que el ojo humano percibe mejor la imagen, dado que es primordialmente sensible a las longitud de onda verde, menos sensible a la roja y todavía menos a la azul, mezclando estos canales en proporciones aproximadas de 65% de verde, 25% de rojo y 10% de azul se consigue este resultado, pero se puede conseguir un mejor contraste de escala de grises a partir de una mezcla arbitraria de estos canales.

Filtrado

Es el conjunto de técnicas agrupadas dentro del preprocesamiento de imágenes cuyo objetivo fundamental es obtener, a partir de una imagen origen, otra final cuyo resultado sea más adecuado para una aplicación específica mejorando ciertas características de la misma que posibilite efectuar operaciones del procesado sobre ella.

Los principales objetivos que se persiguen con la aplicación de filtros son:

Suavizar la imagen: Reducir la cantidad de variaciones de intensidad entre píxeles vecinos.

Eliminar ruido: Eliminar aquellos píxeles cuyo nivel de intensidad es muy diferente al de sus vecinos y cuyo origen puede estar tanto en el proceso de adquisición de la imagen como en el de transmisión.

Realzar bordes: Destacar los bordes que se localizan en una imagen.

Detectar bordes: Detectar los píxeles donde se produce un cambio brusco en la función intensidad.

Por tanto, se consideran los filtros como operaciones que se aplican a los píxeles de una imagen digital para optimizarla, enfatizar cierta información o conseguir un efecto especial en ella.

El proceso de filtrado puede llevarse a cabo sobre los dominios de frecuencia y/o espacio

Filtrado en el dominio de la frecuencia

Los filtros de frecuencia procesan una imagen trabajando sobre el dominio de la frecuencia en la Transformada de Fourier de la imagen. Para ello, ésta se modifica siguiendo el Teorema de la Convolución correspondiente:

- Se aplica la Transformada de Fourier.
- Se multiplica posteriormente por la función del filtro que ha sido escogido,
- Para concluir re-transformándola al dominio espacial empleando la Transformada Inversa de Fourier.

Teorema de la Convolución (frecuencia): $\mathbf{G}(\mathbf{u},\mathbf{v}) = \mathbf{F}(\mathbf{u},\mathbf{v}) * \mathbf{H}(\mathbf{u},\mathbf{v})$

$F(u,v)$: transformada de Fourier de la imagen original.

$H(u,v)$: filtro atenuador de frecuencias.

Como la multiplicación en el espacio de Fourier es idéntica a la convolución en el dominio espacial, todos los filtros podrían, en teoría, ser implementados como un filtro espacial.

Figura 4. Etapas del procesamiento de imágenes en el dominio de la frecuencia



Existen básicamente tres tipos distintos de filtros que pueden aplicarse

Filtro paso bajo: Atenúa las frecuencias altas y mantiene sin variaciones las bajas. El resultado en el dominio espacial es equivalente al de un filtro de suavizado, donde las altas frecuencias que son filtradas se corresponden con los cambios fuertes de intensidad. Consigue reducir el ruido suavizando las transiciones existentes.

Filtro paso alto: Atenúa las frecuencias bajas manteniendo invariables las frecuencias altas. Puesto que las altas frecuencias corresponden en las imágenes a cambios bruscos de densidad, este tipo de filtros es usado, porque entre otras ventajas, ofrece mejoras en la detección de bordes en el dominio espacial, ya que estos contienen gran cantidad de dichas frecuencias. Refuerza los contrastes que se encuentran en la imagen.

Filtro paso banda: Atenúa frecuencias muy altas o muy bajas manteniendo una banda de rango medio.

Ventajas

Método simple y sencillo de implementar.

Fácil asociación del concepto de frecuencia con ciertas características de la imagen; cambios de tonalidad suaves implican frecuencias bajas y cambios bruscos frecuencias altas.

Proporciona flexibilidad en el diseño de soluciones de filtrado.

Rapidez en el filtrado al utilizar el Teorema de la Convolución.

Desventajas

Se necesitan conocimientos en varios campos para desarrollar una aplicación para el procesamiento de imágenes.

El ruido no puede ser eliminado completamente.

Filtrado en el dominio del espacio

Las operaciones de filtrado se llevan a cabo directamente sobre los píxeles de la imagen. En este proceso se relaciona, para todos y cada uno de los puntos de la imagen, un conjunto de píxeles próximos al píxel objetivo con la finalidad de obtener una información útil, dependiente del tipo de filtro aplicado, que permita actuar sobre el píxel concreto en que se está llevando a cabo el proceso de filtrado para, de este modo, obtener mejoras sobre la imagen y/o datos que podrían ser utilizados en futuras acciones o procesos de trabajo sobre ella.

Los filtros en el dominio del espacio pueden clasificarse en:

Filtros lineales (filtros basados en *kernels* o *máscaras de convolución*).

Filtros no lineales.

El concepto de *kernel* se entiende como una matriz de coeficientes donde el entorno del punto (x,y) que se considera en la imagen para obtener $g(x,y)$ está determinado por el tamaño y forma del kernel seleccionado. Aunque la forma y tamaño de esta matriz es variable y queda a elección de cada usuario, es común el uso de kernels cuadrados $n \times n$. Dependiendo de la implementación, en los límites de la imagen se aplica un tratamiento especial (se asume un marco exterior de ceros o se

repite los valores del borde) o no se aplica ninguno. Es por ello, que el tipo de filtrado queda establecido por el contenido de dicho kernel utilizado.

Para realizar un filtrado en el dominio del espacio se realiza una convolución (barrido) del kernel sobre la imagen. Para ello se sigue el Teorema de Convolución en el espacio: $g(x,y) = h(x,y) * f(x,y)$

Cada píxel de la nueva imagen se obtiene mediante la sumatoria de la multiplicación del kernel por los píxeles contiguos: $g(x,y) = \sum_i \sum_j f(i,j) w(i,j)$

Generalmente se divide sobre cierto valor constante para normalizar que suele obtenerse de la suma de los valores del kernel empleado.

Tipos de filtros

Filtro paso bajo (suavizamiento): utilizados para eliminar ruido o detalles pequeños de poco interés puesto que sólo afecta a zonas con muchos cambios. La frecuencia de corte se determina por el tamaño del kernel y sus coeficientes. Se emplean diversos kernels:

Promedio: Promedio de píxeles vecinos (kernel de unos).

Paso bajo en frecuencia.

Media: Reemplaza cada píxel por el valor medio de sus contiguos.

Mediana: Sustituye por el valor de la mediana de los píxeles vecinos (normalmente se comporta mejor que el de promedio).

Gaussiano: Aproximación a la distribución gaussiana. (Distribución normal)

Filtro paso alto (atenuamiento): Intensifica los detalles, bordes y cambios de alta frecuencia, mientras que atenúa las zonas de tonalidad uniforme. Esto permite una mejor identificación posterior de los objetos que se encuentren en la imagen, puesto que el brillo se hace mayor en las

zonas con frecuencias más altas, al mismo tiempo que se oscurecen las zonas de frecuencias bajas. Es común la aparición de ruido tras el proceso.

Realce de bordes por desplazamiento y diferencia: Sustrae de la imagen original una copia desplazada de la misma. Así, es posible localizar y hacer resaltar los bordes existentes y que se quieran obtener según el modelo de kernel aplicado

Horizontal.

Vertical.

Horizontal/Vertical (diagonal).

Realce de bordes por desplazamiento y diferencia: Este tipo de filtros realiza los bordes en todas direcciones (los resultados que se obtienen pueden considerarse como una “suma” de los obtenidos tras aplicar todos los modelos del tipo anterior). En esta ocasión se trabaja con la segunda derivada, que permite obtener unos mejores resultados, a pesar del aumento del ruido que se produce en la imagen.

Resalte de bordes con gradiente direccional: Empleado para destacar y resaltar con mayor precisión los bordes que se localizan en una dirección determinada. Trabaja con los cambios de intensidad existentes entre píxeles contiguos.

Detección de bordes y filtros de contorno (Prewitt y Sobel): Al igual que los anteriores, se centra en las diferencias de intensidad que se dan pixel a pixel. Son utilizados para obtener los contornos de objetos y de este modo clasificar las formas existentes dentro de una imagen. Este tipo de filtros requieren un menor coste computacional.⁽⁵⁸⁾

ELIMINACIÓN DE RUIDO

Con la palabra ruido se hace referencia a diferentes significados en diferentes circunstancias, en general, cuando se habla de imágenes, significa alguna parte de la imagen que no representa el objeto real y que ha sido introducido por el sistema de adquisición de imágenes.

En general se puede decir que el tamaño de una característica es mayor que el tamaño de un píxel individual, lo que significa que la mayoría de los píxeles representan la misma estructura que sus píxeles vecinos y deberían tener el mismo valor, así entonces el promedio temporal es poco práctico y el promedio espacial debería proporcionar una vía para reducir el ruido, esto es un ejemplo de operación de vecindad.

En lugar de un simple promedio en la que todos los píxeles en la zona se añaden igualmente, el suavizado Gaussiano utiliza la ponderación para los píxeles que varían con la distancia del píxel central. La representación de los valores de peso utilizado por el núcleo muestra que describen una curva de Gauss o en forma de campana. La desviación estándar de la gaussiana controla la cantidad de suavizado y reducción de ruido. Lo ideal sería que los valores de peso debería ser números reales y el diámetro del vecindario debe ser alrededor de seis veces

1.4.1.3 TERCERA ETAPA SEGMENTACIÓN DE LA IMAGEN

Umbralización: Este procedimiento ES apropiado para diferentes fines como dar a la imagen una apariencia visual que ayude al investigador a detectar diferentes detalles del área de interés que de otra manera no pudiera ser posible, mejorar la imagen para hacer publicaciones al hacer más evidentes algunas características que se quieran resaltar, umbralizar para después cuantificar algunas características presentes en la estructura, asignando color brillo específicamente a esas estructuras.

Umbralizar es un procedimiento sencillo para asignar a los píxeles de una determinada región un brillo y un color que estén en un rango apropiado, asignando un color determinado a la estructura de interés y otro color al fondo de la imagen, convencionalmente el primer plano es coloreado en negro y el fondo en blanco, pero en algunos sistemas lo hacen de manera contraria por lo que hay que

tener la precaución de saber de antemano con que sistema asigna los colores a ambos lados del umbral.

Todo sistema de análisis de imagen tiene incorporado alguna clase de umbralización (algunas veces llamado segmentación), la forma más simple de umbralización es el ajuste manual del nivel de brillo, para distinguir los píxeles brillantes de los píxeles oscuros, esto se hace normalmente sobre una imagen que esta referenciada en un histograma.

El ajuste manual del nivel de umbral se hace generalmente por ajustes deslizantes que se hacen sobre el histograma, esto se hace mientras se observa sobre la imagen los píxeles que han sido elegidos, mover el deslizador hasta el punto preciso puede ser difícil sobre todo si la imagen es de gran tamaño y hay que desplazarla para ver una región en particular, esta técnica tiene la dificultad de que lo que es justo para una persona puede que no lo sea para otra persona, o no lo sea para la misma persona en diferentes días, además si existen problemas con la adquisición de la imagen.

Esta etapa del análisis de imágenes es la que más errores imparte a las mediciones, debido a que se recurre al juicio del investigador, es importante que haya un muy buen conocimiento de la imagen, como se debe preparar la imagen, se tenga claro que estructuras son de interés y que cuales características deben estar presentes en ellas.⁽⁷²⁾

Los programas de análisis de imágenes tienen diferentes algoritmos para establecer el umbral y evitar al máximo la falta de objetividad del investigador, en el presente trabajo se eligió el algoritmo default, debido a que se obtuvieron mejores resultados en cuanto a la segmentación de las regiones de interés, este es el algoritmo original del software Imagej y es una variación del algoritmo iso-data.

El procedimiento divide la imagen en objetos y el fondo mediante la adopción de un umbral inicial, entonces las medias de los píxeles en o por debajo del umbral y por encima de píxeles se calculan. Las medias de estos valores se calcula, el umbral se incrementa y se repite el proceso hasta que el umbral es mayor que el promedio compuesto. Es decir, $\text{umbral} = (\text{media de fondo} + \text{objetos promedio}) / 2$.

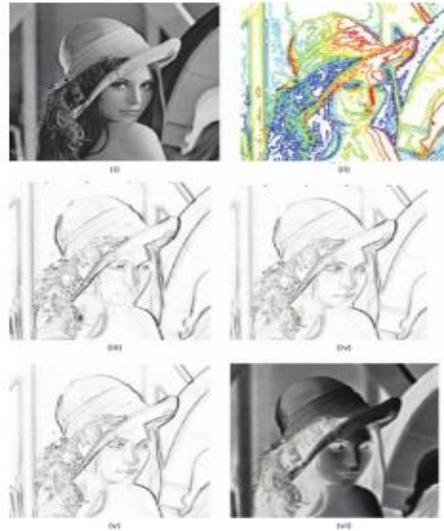
En general el umbralizado en la imágenes de color se hace mediante el establecimiento del umbral en uno o varios canales de color (RGB), en los casos en que se requiera más de un canal, se debe hacer uso de un booleano AND, cuando se quiere umbralizar una imagen de color, el investigador debe entender los diferentes espacio en que se puede representar una imagen, el histograma del canal individual RGB, no presta ninguna ayuda, porque no contiene información sobre la combinación del valor del color de varios pixeles, este espacio de color esta en tres dimensión , entonces una forma de representarlo es mediante un histograma tridimensional.

El umbral interactivo puede ser ajustado fijando los limites en el display del histograma, mientras se puede observar como cambia la imagen, se debe entender cuál es la representación del espacio del color para no hacer una interpretación equivocada del resultado, por el contrario se debe elegir el área de interés que está representado por el color, el programa a continuación selecciona los pixeles que son vecinos a este color, en general la restricción que se da a los pixeles seleccionados, se hace a través de un camino de pixeles unidos al punto original y que tienen el mismo rango de color, una vez seleccionado el color inicial, es sencillo hacer la restricción a los pixeles que están dentro de la misma gama de color, este procedimiento de cultivo de regiones interactivo desde el punto de vista de la selección de los pixeles que se van adicionando a la región de interés que va creciendo en función de la coincidencia del color, se debe ir examinando hasta qué punto se siguen adicionando pixeles, la forma correcta de indicar este procedimiento seria como cultivo de región seleccionando un valor de color.

Este método presenta dificultad en cuanto a que hay que tomar la decisión de si se iguala el color o no, teniendo en cuenta un solo parámetro, esto porque se trabaja en el espacio RGB, debido a que así está almacenado en el computador y hay diferencia en el valor de intensidad entre el punto inicial seleccionado y el pixel que está siendo probado, que valor de umbral seleccionar para pixeles que están en un pequeño cubo del espacio RGB?

Otro método para mejorar el contraste de la imagen y facilitar la selección del ROI es utilizar operadores para detección de bordes. Existen varios operadores como Roberts, Prewitt, Sobel, Frei-Chen, los cuales tienen la limitación que no funcionan bien con imágenes con ruido.

Figura 5. Imagen tratada con detectores de bordes



Digital Image processing for medical applications, Geoff Dougherty 2009.

Como se observa en la figura 5, una imagen se puede tratar con diferentes operadores o algoritmos, cada uno tiene un efecto diferente sobre la imagen y es el investigador quien con su experiencia y conocimiento, elige cual la mejor elección, esto depende del objetivo del estudio y de las etapas siguientes del análisis.

1.4.1.4 CUARTA ETAPA DESCRIPCIÓN Y REPRESENTACIÓN (MEDICIÓN DE CARACTERÍSTICAS)

Una vez se ha detectado y separado el área de interés, el paso a seguir es la medición de las características, en términos generales la medición de estas se puede clasificar como: Medidas geométricas, Medidas basadas en el histograma de la Imagen y Medidas de intensidad del objeto, para esto se hace uso de los descriptores como son el área, la circularidad, perímetro, diámetro, relación de aspecto, redondez, solidez, dimensión fractal, media, desviación estándar, kurtosis, ángulo de Feret.⁽¹⁷⁾

El principal descriptor de tamaño es el Área – Es la más simple y más natural propiedad de una región, está dada por el número de píxeles que la conforman, se expresa en píxeles cuadrados pero es posible calibrar el área en unidades conocidas.

Los más importantes descriptores estadísticos de intensidad de los niveles de grises son

Media de los niveles de gris – Promedio de los valores de gris dentro del área seleccionada. Esto es la suma de los valores de gris de todos los píxeles dentro del área seleccionada, dividida por el número de píxeles. Para imágenes RGB, la media es calculada por conversión de cada píxel a escala de grises usando la fórmula

Gris=0.299rojo+0.587verde+0.114azul o la fórmula $Gris = (rojo+verde+azul)/3$

Desviación Standard –Desviación estándar de los niveles de gris utilizados para calcular la media.

Moda de los niveles de gris –El valor más frecuente de los niveles de gris dentro de la selección, corresponde al mayor punto dentro del histograma.

Mínimo y máximo niveles de gris - Mínimo y máximo valores de gris dentro de la selección.

La forma es una propiedad y es un factor crítico en la correlación del tamaño. Dentro de los descriptores de forma tenemos:

Perímetro – Es la longitud de la frontera exterior de la selección. Es otro parámetro geométrico que puede ser obtenido del código de cadena de la frontera de la región, solo se necesita contar la longitud del código de cadena, es necesario contar la longitud de la cadena y hacer la consideración que las etapas donde la dirección es diagonal, tiene un factor mayor de raíz de dos. Al contrario del área el perímetro es un parámetro sensible al ruido de la imagen, es una serie de datos para representar el contorno de un objeto mediante una secuencia de segmentos conectados consecutivamente, de longitud y orientación específica, que conecta píxeles adyacentes.

Circularidad: $4\pi*(\text{área}/\text{perímetro}^2)$. El área y la circularidad, son dos parámetros que describen el tamaño y la forma, con el fin de comparar los objetos que se miden desde diferentes distancias, es importante la utilización de parámetros de forma que no dependen del tamaño del objeto en el plano de la imagen, la circularidad C es uno de los descriptores más simples de este tipo, un valor cercano a 1.0 indica a perfecto círculo. Valores cercanos a 0.0, indican un incremento en la forma alargada. Estos valores podrían no ser válidos para partículas muy pequeñas.

AR (relación de aspecto): eje mayor/eje menor

Redondez: $4*\text{área}/(\pi*\text{major_axis}^2)$, o el inverso de la relación de aspecto.

Solidez: área/área convexa.

Diámetro de Feret – Es la distancia más larga entre dos puntos a lo largo de un límite de selección, también es conocido como el máximo calibre.

Estos descriptores son aportados por el Software utilizado y son almacenados en tablas de Excel para su posterior análisis y clasificación.

1.4.1.5 QUINTA ETAPA RECONOCIMIENTO E INTERPRETACIÓN (CLASIFICACIÓN)

En esta fase cada región es caracterizada mediante el análisis con un software, las características extraídas se asignan a una clase definida, la cual representa todos los tipos posibles de regiones esperadas en la imagen, se pueden utilizar clasificadores simples como los estadísticos para hacer la *comparación*.

1.5 SISTEMA DE ADQUISICIÓN

Para realizar el procesamiento de una imagen se requieren cuatro componentes básicos

Una cámara o sistema de adquisición.

Un sensor, que es un dispositivo para convertir la señal eléctrica del sistema de adquisición a una imagen digital que puede ser almacenada.

Un computador que provee la fuente de almacenamiento.

Un software que provee las herramientas para manipular y analizar las imágenes.

1.5.1 Cámara fotográfica

Es un dispositivo que deja pasar la luz el tiempo preciso para que la imagen enfocada a través del objetivo sea registrada por un sensor digital. Se hace la elección según el presupuesto y la exigencia o necesidad de entre la amplia oferta de cámaras que existe en el mercado donde difieren en precio y calidad, dependiendo de la tecnología, resolución, interfases de conexión y capacidad de captura en tiempo real. La mayoría de ellas pueden utilizarse a mano alzada o insertadas en un trípode para evitar movimientos bruscos durante su utilización, también pueden ser ensambladas con microscopios para hacer microfotografía digital.

Las cámaras digitales varían su resolución en términos de megapíxeles, esto afecta la calidad de la imagen y el costo de la cámara; a mayor resolución mejor calidad de la imagen y mayor costo. Un megapíxel está constituido por un millón de píxeles o puntos. La resolución de los sensores se mide en dicha unidad por tanto se refiere al número de puntos o píxeles que contendrá una imagen producida por un sensor.

Está compuesta básicamente por un objetivo en un extremo, que dirige los rayos de luz hacia un sensor digital en el otro extremo, el sensor digital capta la imagen. En el objetivo, una abertura variable o diafragma, limita el tamaño del rayo de luz que penetra (apertura de diafragma), entre el objetivo y el sensor existe también un obturador, que controla el tiempo que el sensor está expuesto a la luz (tiempo de exposición). Para componer la escena se observa a través de un visor o a través de una pantalla incorporada en la cámara digital.

Para elegir el momento de la exposición posee un botón disparador. La imagen recogida por el sensor es procesada por un chip y se almacena en un soporte de almacenamiento digital (tarjeta de memoria). Una batería alimenta los circuitos electrónicos durante todo el proceso. Un fotómetro

mide la luz proyectada a través del objetivo para que la cámara pueda calcular la exposición correcta.

Las cámaras se pueden clasificar en función de: soporte en que se almacenan las imágenes (Analógico o digital), tamaño del sensor o película, tamaño (compactas, bridge, DSLR) o también en función del grado de automatismo (esto más bien en la era analógica en la que había cámaras manuales y cámaras automáticas).

Las cámaras digitales las podemos distinguir básicamente según su tamaño, el tamaño del sensor y por su funcionalidad.

Por el tamaño del sensor tenemos de menor a mayor: Compactas, intermedias o bridge, réflex o DSLR, medio formato, a medida que aumenta el tamaño aumenta la nitidez y la calidad de la imagen.

1.5.1.1 Apertura de diafragma

El diafragma parte del objetivo que limita el rayo de luz que penetra en la cámara, abriéndose o cerrándose para permitir que entre más o menos luz según sea necesario, lo abierto que está el diafragma es lo que se llama apertura de diafragma, esto se mide en números f. El salto de un valor al siguiente se denomina paso.

La escala de números f típica dependen del diseño del objetivo: La relación entre los números f es que por cada paso la luminosidad se duplica o se divide por dos si la aumentamos o la reducimos respectivamente, el menor número f es la mayor apertura y el mayor número f es la menor apertura. Según la cámara el diafragma se ajusta automáticamente o se puede ajustar de manera manual.

1.5.1.2 Distancia focal

La distancia focal de una lente es la distancia entre el centro óptico de la lente y el foco (o punto focal). El foco es el punto donde se concentran los rayos de luz, en un objetivo la distancia focal es la distancia entre el diafragma de éste y el foco, los objetivos de las cámaras tienen una distancia focal fija o variable, dependiendo del tipo de objetivo. Al variar la distancia focal conseguimos un menor o mayor acercamiento. Es lo que comúnmente llamamos zoom.

1.5.1.3 Perspectiva

Al modificar la distancia focal, se modifica el campo de visión, al aumentarla se acerca y al reducirla nos aleja, como consecuencia se modifica la proporción de los objetos que ocupan la imagen. Igualmente ocurre con el fondo, cuando nos acerca con el zoom a un objeto, también se acerca al fondo. Este efecto modifica la perspectiva de los objetos.

1.5.1.4 Tiempo de exposición

Es el tiempo que la luz está alcanzando el sensor digital y está limitado por el obturador que es una cortinilla que se abre al momento de disparar, el obturador es un mecanismo muy preciso que permite limitar la exposición a tiempos muy pequeños que varían desde segundos (para condiciones de luz muy malas), hasta milisegundos (para fotografías muy rápidas).

1.5.1.5 Sensor y sensibilidad

El sensor de las cámaras fotográficas está compuesto por millones de pequeños semiconductores de silicio, los cuales captan los fotones (elementos que componen la luz, y la electricidad). A mayor intensidad de luz, más carga eléctrica existirá, estos fotones desprenden electrones dentro del sensor, los cuales se transformarán en una serie de valores digitales creando un píxel. Por lo tanto cada célula que desprenda el sensor de imagen se corresponde a un píxel o punto. El resultado del sensor, ya traducidos a formato binario, se guarda en las tarjetas de memoria en forma de archivos de imagen.

1.5.1.6 Sensibilidad

Los sensores de las cámaras pueden graduar a diferentes sensibilidades. A mayor sensibilidad, mayor cantidad de luz que son capaces de captar. La sensibilidad es un parámetro que se puede modificar en cada foto que se dispara.

Sensibilidades típicas 100, 200, 400, 800, 1600. En cada uno de estos saltos se obtiene el doble de sensibilidad. Al aumentar la sensibilidad se pierde definición y aumenta el nivel de ruido. El ruido son puntos de colores que van apareciendo, especialmente en zonas oscuras.

1.5.1.7 El objetivo

El objetivo es la parte de la cámara que dirige los rayos de luz hacia el sensor, consta de una o varias lentes de forma convexa que proyecta los rayos de luz que lo atraviesan en un punto llamado foco, cuando se enfoca con la cámara, lo que se hace es hacer coincidir el foco con el sensor de la cámara para obtener una imagen nítida.

1.5.1.8 *Enfoque*

Enfocar es hacer coincidir los rayos de luz que inciden en la cámara en un punto llamado foco, que a su vez coincidirá con el sensor de la cámara, enfocar es dejar nítido aquello que está a una distancia concreta.

1.5.2 *El sensor*

El sensor de las cámaras fotográficas está compuesto por millones de pequeños semiconductores de silicio, los cuales captan los fotones. A mayor intensidad de luz, más carga eléctrica existirá. Estos fotones desprenden electrones dentro del sensor, los cuales se transformarán en una serie de valores digitales creando un píxel. Por lo tanto cada fotón que desprenda el sensor de imagen se corresponde a un píxel o punto. El sensor hace las veces de película en la fotografía digital. El resultado del sensor, ya traducido a formato binario, se guarda en las tarjetas de memoria en forma de archivo de imagen.

1.5.3 *Un computador*

Este debe tener la suficiente capacidad para almacenar los archivos de las imágenes que ocupan gran cantidad de espacio, debido a que se trabajan en formatos de gran tamaño sin compresión, además debe estar lo suficientemente actualizado para que corran bien los programas para la manipulación de las imágenes.

1.5.4 *Software*

Debe tener todas las herramientas necesarias para hacer todos los tratamientos que la imagen requiera para su análisis y caracterización, puede ser uno o la mezcla de varios para conseguir el resultado esperado.

1.6 IMÁGEN DIGITAL

REPRESENTACIÓN

A diferencia de la imagen analógica o continua la imagen digital está conformada por un conjunto de píxeles, códigos discretos bajo los cuales opera la tecnología computarizada.

La información contenida en una imagen se puede representar de varias formas (representación de número de onda y representación espacial), estas representaciones tratan los datos espaciales desde diferentes puntos de vista, pueden interconvertirse y por esto se consideran prácticamente equivalentes. La conversión entre la representación de número de onda y la espacial se realiza mediante la transformada de Fourier.

Una imagen digital, en términos generales, puede definirse como la representación de una imagen analógica mediante una matriz 2D, la imagen está representada entonces por una matriz de puntos (un conjunto de píxeles) con una dimensión dada.

1.6.1 REPRESENTACION ESPACIAL DE LA IMAGEN.

Las imágenes constituyen una distribución espacial de la irradianza en un plano que matemáticamente puede describirse como una función de dos variables espaciales.

Los computadores trabajan con números digitales, no con imágenes continuas, esto hace necesaria una representación 2D de la imagen. Los puntos que constituyen la matriz 2D son llamados píxeles (o, picture element). Un pixel entonces representa una irradianza determinada que corresponde a su posición en la matriz.

Representar una imagen de $n \times n$ píxeles mediante una matriz requiere

- n^2 bits si es binaria
- $n^2 \log_2(L)$ bits si la imagen es en niveles de gris, con L niveles.
- $3n^2 \log_2(L)$ bits si la imagen es a color (RGB) con L niveles.

(L = número de bits para cada uno de los píxeles empleados en la cuantificación).

El tamaño de la imagen se expresa como ancho \times alto, de manera que el número de columnas de la matriz hace referencia al ancho de la imagen, el número de filas al alto de la imagen, el eje horizontal al eje X, el vertical al Y.

Si se considera una imagen dada, $i(x, y)$ es el valor del pixel en la columna x , fila y . Cada pixel representa entonces el valor de una magnitud física relacionada con la cantidad de luz en ese punto, color, nivel de radiación y absorción específica del espectro electromagnético, profundidad, entre otros⁽⁹⁹⁾.

El termino dominio espacial se refiere al agregado de píxeles que componen una imagen. Los métodos de dominio espacial son procedimientos que operan directamente sobre esos píxeles, estos se pueden denotar por la expresión: $G(x,y)= T[f(x,y)]$

Donde $f(x,y)$ es la entrada de la imagen y $g(x,y)$ representa la imagen procesada. T es un operador sobre f definido sobre algunos sectores vecinos de (x,y) , además T puede operar sobre un conjunto de imágenes de entradas (por ejemplo en procesos de suma o resta de imágenes).

1.6.1.1 NIVELES DE REPRESENTACIÓN

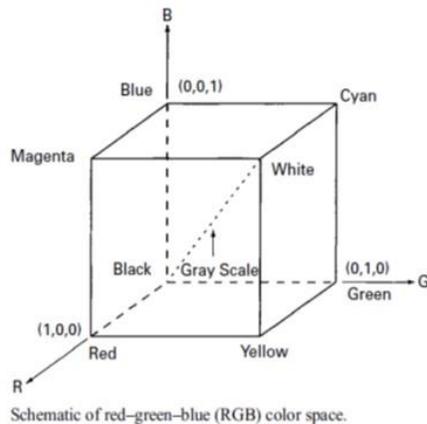
La representación primaria de una imagen contiene los datos originales, las salidas de las operaciones de preprocesamiento empleadas para resaltar algún aspecto de relevancia para un tratamiento posterior también son de este tipo.

El segundo nivel de representación está constituido por las imágenes segmentadas y corresponden a una parte de la imagen inicial (una región de interés, ROI).

En un tercer nivel se encuentran las representaciones geométricas que aun contiene información sobre las formas 2D y 3D, es de destacar que la cuantificación de la forma es muy importante pero ofrece un alto grado de dificultad.

En el cuarto nivel de representación de una imagen están los modelos relacionales que hacen posible tratar los datos de manera eficiente y con un alto nivel de abstracción.

Figura 6. Representación esquemática del espacio vectorial de colores.



Color Space and Its Divisions Color, Rolf G. Kuehni A, 2003

La escala de grises (grayscale)

En el espacio de colores, los vectores en la dirección del vector $(1, 1, 1)$, ver figura 6, representan diferentes tonalidades de gris. Así, cualquier píxel (R, G, B) de una imagen, que se proyecte sobre este vector da su contribución en tonos de gris a una nueva imagen que estará conformada con todas las proyecciones de los píxeles originales.

Las imágenes se pueden caracterizar por sus histogramas en escala de grises, de él se pueden determinar sus cualidades globales (tales como brillo, contraste, relación señal ruido). Los histogramas se calculan de una manera relativamente sencilla y son la base para las técnicas de procesamiento de imágenes en tiempo real.

La modificación del brillo de la imagen consiste en la suma o resta de una constante a los colores que constituyen un píxel, es decir, se aumenta o disminuye la ordenada de origen de la recta con pendiente de 45 grados que representa los grises, obviamente los límites de esta operación están entre 0 y 255 niveles de intensidad de gris.

La Convolución es otra matriz que se aplica a una imagen, cuyos elementos tienen valores enteros, como resultado se obtiene una imagen filtrada. La convolución modifica el color de un píxel en función del color de los píxeles vecinos, ya que multiplica el color de un píxel y el de los píxeles vecinos por una matriz. La matriz por la cual se multiplican los píxeles es la llamada “Kernel de convolución”, el Kernel se mueve por cada uno de los píxeles de la imagen original, cada píxel que

se encuentra bajo la matriz se multiplica por un valor de la matriz, el resultado se suma y divide después por un valor específico. Como resultado se obtiene un color nuevo del pixel que está en el centro de la matriz. Es de anotar que pese a que al Kernel se le pueden dar valores arbitrarios, los usados generalmente son de 3x3 (toma el valor del pixel considerado y de sus 8 vecinos). Para cada matriz de convolución se obtiene como ya se dijo, una imagen filtrada, un ejemplo es la Unsharp Mask, esta resta una copia borrosa de la imagen y la reescala para obtener el mismo contraste de estructuras grandes como en la imagen de entrada.

1.6.2 FORMATO DE IMÁGENES

1.6.2.1 FORMATO BMP

Un archivo de imagen en BMP, está hecho de una serie de coordenadas y colores de cada pixel de la imagen. Este formato es una descripción punto a punto de la imagen, esta es la razón para que se tome como imagen de referencia, tiene como ventaja principalmente su absoluta correspondencia con la imagen original y la menos perdida de por naturaleza. Puede tener alta profundidad de color, pero no contempla algoritmos de compresión, tiene muy buena compatibilidad con software diferentes al con que fue creado. Es poco utilizado debido al excesivo tamaño de las imágenes.

1.6.2.2 FORMATO JPEG

El formato jpeg fue desarrollado para optimizar el almacenamiento y transferencia de imágenes fotográficas. Es probablemente el más conocido y más ampliamente distribuido. La mayor ventaja del JPEG es que el usuario puede especificar el grado de compresión y desarrollar la efectividad de la compresión, desafortunadamente cada programa maneja la efectividad de la compresión de diferente manera.

Se debe tener en cuenta que el formato JPEG emplea un algoritmo de compresión con perdida que implica la pérdida de datos, aunque la degradación es apenas perceptible por el ojo humano cuando la relación de compresión es baja, a altas relaciones de compresión es evidente la degradación en la imagen de salida especialmente en los bordes de las imágenes. El formato permite gran profundidad de color y puede tener varios millones de colores. La fortaleza de este tipo de algoritmo es su

habilidad para reducir el tamaño de la imagen en el disco. Una relación de compresión de 5 a 10 veces es casi imperceptible, es compatible con casi todos los programas de edición de fotografía.

1.6.2.3 FORMATO GIFF

El formato GIFF es considerado actualmente obsoleto, sus características han sido fuertemente reconsideradas, sin embargo es muy utilizado en Internet y todavía puede tener algunos usos. El formato tiene limitaciones en cuanto a la profundidad del color y emplea un algoritmo que es limitado en compresión y que no es muy eficaz en imágenes fotográficas que tienen una pérdida considerable de detalles en el proceso de reducción de color

Aunque en teoría este formato tiene un algoritmo sin pérdida, en la práctica cuando se utiliza para convertir imágenes como fotografías o radiografías, se producen imágenes totalmente diferentes al original por la sustancial pérdida de profundidad del color, sin embargo el formato es muy eficiente en la disminución del tamaño del archivo de la imagen que contienen colores sólidos como rectángulos, flechas o diagramas, además es capaz de manejar cierto tipo de transparencias y algunos tipos de animaciones por lo que se maneja con alguna frecuencia en páginas web.

1.6.2.4 FORMATO DICOM

El formato DICOM es un formato de estándar industrial, es un formato que no introduce ningún algoritmo de compresión, simplemente encapsula o contiene la imagen en el formato en el que se ha creado, esto significa que un archivo DICOM puede contener una imagen totalmente detallada en BMP, una imagen comprimida con algoritmo JPEG o uno cualquiera en otro formato. Típicamente las imágenes DICOM producidas por equipos radiológicos son reproducciones no comprimidas del original y son comparables con imágenes BMP cuyas características tienen inherentes. La principal diferencia entre los dos formatos es que DICOM es capaz de memorizar una serie de datos no necesariamente vinculados a la imagen, como información demográfica del paciente, tipo de examen, fecha y la hora del examen y así sucesivamente. Por esta razón, Imágenes DICOM son particularmente adecuados para su uso en el manejo integral estaciones de trabajo o reconstrucciones basadas en software de presentación de informes, pero no hay diferencia en la calidad de la imagen en sí. Como BMP, el formato DICOM también genera imágenes muy grandes que ocupan mucho espacio en discos de almacenamiento.

1.6.2.5 FORMATO TIFF

Este es otro formato estándar, es muy utilizable para la distribución de imágenes de alta calidad, soporta una muy alta profundidad de color y múltiples algoritmos de compresión y tiene la capacidad de mantener todos los detalles de la imagen original, esto explica porque es considerado superior a otros formatos para impresión de publicaciones profesionales. Otra ventaja de este formato es que puede contener varias imágenes en un archivo simple, desafortunadamente los archivos TIFF son muy grandes y se usan solo para almacenar imágenes muy importantes para los cuales ellos son la primera línea de elección.

1.6.2.6 FORMATO PNG

Es el más nuevo de los formatos, fue desarrollado específicamente para combinar la fortaleza de varios formatos en uno solo. La principal cualidad de este formato incluye la eficiente compresión sin pérdida, muy alta profundidad de color y la habilidad para manejar transparencias. En muchos aspectos PNG es considerado una evolución del TIFF, aunque no se considerarán algunas características futuras. Un gran número de programas soporta este formato y es probable que en un futuro sea considerado una opción valiosa de almacenamiento e impresión de publicaciones⁽⁶⁰⁾.

1.6.2.7 FORMATO RAW

Es el formato de salida de algunas cámaras digitales, siendo un formato sin pérdida tiene un factor de tres o cuatro menos que el TIFF de la misma imagen, este formato no está estandarizado y cada marca tiene su propia versión, esto limita al software de la misma cámara para visualizar.

1.7 CONCEPTOS DE VARIABILIDAD

Variabilidad es el nombre que se da a las diferencias en el comportamiento de todo fenómeno observable que se repite bajo iguales condiciones, debidas a cambios en factores no controlables, que influyen sobre él, son los cambios inevitables que modifican una actividad y afectan posteriormente el resultado producido por un proceso.

Las diferencias pueden ser casi imperceptibles, como en el caso de experimentos de laboratorio, donde hay un alto grado de control sobre los factores que influyen sobre el fenómeno; pueden ser

pequeñas, como en el caso de en procesos industriales, y pueden ser grandes, como en el caso de fenómenos en que está involucrado el comportamiento humano.

La variabilidad existente en los fenómenos se puede reducir, se puede explicar parcialmente, pero no se puede eliminar.

La variabilidad es el fenómeno que afecta cualquier actividad, por lo que hay que controlarla, la teoría de la causalidad plantea que todo efecto tiene una causa y de todo defecto también. El control de la variación solo puede hacerse en sus causas, principalmente en su causa raíz.

El estudio de la variabilidad se logra mediante su estudio y medición.

Mediante el control de la variabilidad se puede definir cuando esta es debida a causas propias de la actividad (causas normales o comunes) y cuando obedece a causas anormales o externas. La variabilidad se puede medir en términos de desviación estándar, generalmente se puede establecer que un valor aceptable de el de más o menos 3 desviaciones estándar.

1.7.1 PRINCIPIO DE VARIABILIDAD

El principio de variabilidad es inevitable en cualquier tipo de actividad, aunque se trate de la misma operación, el mismo método de trabajo, la misma herramienta, el mismo equipo e incluso el mismo operador, a simple vista y sin hacer ninguna medición pueden parecer iguales, incluso al sacar mediciones una misma pieza, estas no serán completamente iguales, aunque funcionalmente sea posible hacer uso de ellas, esto se debe a la variabilidad, que aunque sea imposible evitar que exista, si puede controlarse, aunque no pueda hacerse en forma perfecta si puede lograrse a un nivel donde se cumpla con unos niveles permitidos.

Las variaciones en las mediciones son susceptibles de ser medidas y por lo tanto es posible determinar su comportamiento. Las mediciones obtenidas de todo tipo de proceso, varían según una forma bien definida, los procesos que tienen un comportamiento normal tienen forma de campana, ya que tienden a agruparse alrededor de un valor promedio con lo cual la forma de la curva puede ser calculada, esto se conoce como distribución normal y su frecuencia va disminuyendo a medida que se acerca a los extremos y se va alejando del promedio.

1.7.2 TIPOS DE VARIABILIDAD

Existen dos tipos de variabilidad, la variabilidad aleatoria y la variabilidad identificable.

1.7.2.1 Variabilidad Sistemática y Planificada: Originada por la posible dispersión de los resultados debida a diferencias sistemáticas entre las distintas condiciones experimentales impuestas por deseo del investigador. El diseño estadístico busca identificar este tipo de variabilidad. Cuando se presenta este tipo de variabilidad y tiene un tamaño considerable, las respuestas tienden a agruparse formando *clusters*.

Cuando se presenta este tipo de variabilidad, debe ser identificada y cuantificada por el modelo

Variabilidad típica de la naturaleza del problema y del experimento.

Este tipo de variabilidad es debida al ruido aleatorio, Este término incluye entre otros la componente de variabilidad no planificada denominada error de medida, es impredecible e inevitable. Este tipo de variabilidad tiene un patrón regular de comportamiento que fluctúa alrededor del valor central siguiendo un modelo de probabilidad. Esta variabilidad es imposible de evitar pero bajo una buena planificación, es posible estimar su valor, que sirve para obtener conclusiones y poder hacer predicciones.

1.7.2.2 Variabilidad sistemática y no planificada: Esta variabilidad causa una variación sistemática en los resultados, se debe a causas desconocidas y no planificadas, cuando está presente causa sesgo sobre los datos en forma sistemática, este tipo de variabilidad debe tratar de evitarse debido a que su presencia puede llevar a errores en las conclusiones.

1.7.3 Causas de variación

Dentro de las causas de variación se puede tener las materias primas, mano de obra, medio ambiente y el cambio de operación, este tipo de factores pueden aportar variabilidad a un proceso debido a que pueden no ser cómodos para una persona que tiene que adaptarse a ellos. ^(101,102)

Se llama medidas de tendencia central a los valores que tienden a ubicarse en el centro del conjunto de datos ordenados respecto a su magnitud, las medidas de tendencia central más importantes son La media aritmética, la moda, la mediana. La media aritmética, es la medida de tendencia central conocida popularmente como “promedio” y es fácil de calcular.

Ventajas e inconvenientes de la Media Aritmética:

Ventajas: El cálculo se realiza con todos los valores de la variable. Tiene un cálculo sencillo, que aportan los calculadores actuales. Su resultado es único.

Inconvenientes: Los efectos que sobre ella producen los valores extremos, que muchas veces son poco significativos por su rareza.

La moda se refiere al dato que más se repite y se representa por M_o , el valor de la variable con mayor frecuencia absoluta. En cierto sentido la definición matemática corresponde con la locución "estar de moda", esto es, ser lo que más se lleva.

Su cálculo es extremadamente sencillo, pues sólo necesita un recuento. En variables continuas, expresadas en intervalos, existe el denominado intervalo modal o, en su defecto, si es necesario obtener un valor concreto de la variable, se recurre a la interpolación.

Evidentemente este parámetro no es tan representativo como la media, pero es útil en muchas ocasiones. Por ejemplo cuando la moda se destaca preferentemente. Por otro lado es el único valor central que puede calcularse en las series nominales.⁽¹⁰²⁾

Se llama mediana de una variable estadística, y se representa por M_e , a un valor de la variable, tal que existen igual número de observaciones mayores que menores de M_e . Es decir, el número de datos que preceden a la media es igual al número de datos que le siguen, por lo tanto, es el valor central en caso de que el número de valores a tomar sea impar, o los dos centrales si es par.

Ventajas y usos de la mediana:

La mediana se utiliza especialmente en los siguientes casos

Cuando se vea que los valores extremos son excepcionales.

Cuando los datos están agrupados en clases y las clases extremas son (al menos una de ellas) abiertas⁽¹⁰²⁾.

1.8 Histograma de una imagen

El histograma es una herramienta para la interpretación aproximada de los niveles de gris y su distribución dentro de la imagen o sea su contraste. El histograma es una serie de rectángulos que en las abscisas representa cada uno de los niveles de gris y en las ordenadas representa la frecuencia relativa de aparición de sus niveles de gris en particular. Si observamos un histograma donde la mayor parte de sus niveles de gris este concentrado dentro de un pequeño rango de valores, lo más probable es que la imagen tiene poco contraste, pero si los niveles de gris están distribuidos de una manera más o menos uniforme a lo largo de todo el rango dinámico, esto representara una imagen fuertemente contrastada. Si los niveles de gris están concentrados hacia el extremo izquierdo del

rango dinámico (cero), estaremos frente a una imagen oscura, pero si por el contrario los niveles de gris están concentrados al extremo derecho del rango dinámico (255), estaremos frente a una imagen brillante. En el caso de que la imagen sea en colores, se tendrán tres histogramas, de forma que el tratamiento de imágenes en colores se complicará por la aparición de nuevos componentes, en este caso el histograma no representará el número de píxeles con los tonos del negro al blanco, sino del negro al color correspondiente (rojo, verde o azul para el caso RGB). ^(103,104,105,106)

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION

La presencia zonas hiperpigmentadas en la piel del rostro es muy común en nuestro medio, debido al origen étnico de la población y al fotoenvejecimiento.⁽¹⁸⁾

Si bien existen reportes y pruebas relacionados con la rugosidad de la piel y relacionándolos con la caracterización de arrugas producidas por el cronoenvejecimiento o por el fotoenvejecimiento^(1,15), los estudios relacionados con los cambios no uniformes en la coloración de la piel (hiperpigmentación), son limitados y casi siempre subjetivos, basandose en las escalas, ya mencionadas, de clasificación de la piel, esto se debe en gran medida a que los métodos y técnicas empleados definen el microrelieve de la piel, mas no se diferencia su tonalidad en forma objetiva.

No se cuenta con una herramienta económica y de facil acceso que permita establecer la diferencia entre la piel sana e hiperpigmentada del mismo sujeto, y por lo tanto la eficacia de los tratamientos relacionados con la hiperpigmentación se miden de manera subjetiva, y no existe un protocolo o método establecido que permita evaluar la evolución del tratamiento que sea de facil acceso.

Existen sin embargo distintos tipos de software que, basándose en la intensidad del color en imágenes médicas, pueden identificar lesiones tumorales y estructuras corporales, algunos de estos software son de uso libre.⁽⁸¹⁾ Otros paquetes computacionales, basándose en un principio similar, son empleados en las áreas de Ingeniería y Química para evaluar parámetros como textura, rugosidad y aspecto de una superficie.⁽²⁹⁾

2.1 HIPÓTESIS

Es posible utilizando el análisis de imágenes, identificar las zonas hiperpigmentadas de la piel.

Es posible caracterizar las zonas hiperpigmentadas de la piel mediante el análisis de imágenes.

Es posible cuantificar las zonas hiperpigmentadas de la piel mediante el análisis de imágenes.

2.2 OBJETIVO

Desarrollar una técnica de medición confiable, no invasiva, de fácil acceso y a bajo costo, que permita evaluar la hiperpigmentación de la piel tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el análisis de imágenes y evaluar la eficacia de productos despigmentantes a través de ella.

2.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1.1 Establecer las condiciones óptimas de adquisición de imágenes de manchas de óxido y relacionarlas con las de zonas hiperpigmentadas de piel.

2.2.1.2 Evaluar software de procesamiento y análisis de imagen y saber seleccionar el apropiado.

2.2.1.3 Establecer y evaluar con el software elegido los correspondientes parámetros.

2.2.1.4 Diseñar el instrumento que permita la adquisición de imágenes bajo las condiciones óptimas definidas.

En este proyecto se consideró la información pertinente, de acuerdo con los lineamientos de la COLIPA, para ello se incluyó la información general, el objetivo del estudio, la descripción de la técnica testeada, el procedimiento de la prueba, la adquisición y procesamiento de datos y el análisis de resultados.⁽¹⁹⁾ Se realizó un diseño que abarcó las etapas de adquisición, procesamiento y análisis de imágenes, para caracterizar objetivamente las diferencias tonales de la piel. Se seleccionaron, dos personas con las características buscadas (hiperpigmentación en el rostro), de sexo femenino, mayores de 40 años, una de piel clara y la otra de piel morena.

Dado que el objetivo del estudio se centró en el desarrollo de la técnica de medición y la evaluación de productos despigmentantes a través de ella, se seleccionaron dos personas que estaban utilizando por su cuenta productos cosméticos despigmentantes con Notificación Sanitaria INVIMA y de venta libre en el mercado local, a los cuales se les suministro productos cosméticos con FPS mayor de 50 para que fuera aplicado varias veces al día, y se les capacito acerca del uso adecuado de los despigmentantes y de los protectores solares.

2.3 METODOLOGÍA

La variabilidad en los datos obtenidos al inicio del estudio fue ampliamente estudiada, se determinó una a una las variables que incidían en la calidad requerida de las fotografías, y en la homogeneidad de los datos, se probó la influencia que tenían la posición y distancia de las fuentes de luz, la distancia entre el objeto y la cámara, la cámara tiene un sensor CCD de 1/2,5 pulgadas, resolución de 8.3 MP, filtro RGB, distancia focal 4,6-82.8 mm, zoom óptico de 18x, el ángulo de captura de la imagen, el ZOOM utilizado, el modo de captura de la cámara, la influencia de la luz externa. Cuando se tuvo identificadas las variables, se tomaron grupos de 4 fotos bajo las mismas condiciones y en diferente momento, al comprobar que los datos obtenidos tenían un baja variabilidad, se determinó que las condiciones de la etapa de adquisición estaban controladas y que eran aptas para comenzar el estudio. Inicialmente se realizó el seguimiento a manchas de y luego se realizó un procedimiento similar con dos mujeres de diferente tono de piel y que se prestaron en forma voluntaria para participar del estudio, estas dos personas estaban utilizando productos despigmentantes por iniciativa propia.

Las condiciones establecidas para ambos procedimientos después de hacer varias pruebas fueron las siguientes.

Distancia de la cámara a la superficie de interés: 10 cm.

Iluminación: Se realizó en habitación con luz artificial, ángulo de las luces: 45° laterales (A1 y A2), de las fuentes de luz blanca y luz halógena 90 °, vertical (B).

La cámara seleccionada fue una Panasonic lumix Modelo DMC-FZ18, serie F8SP00765.

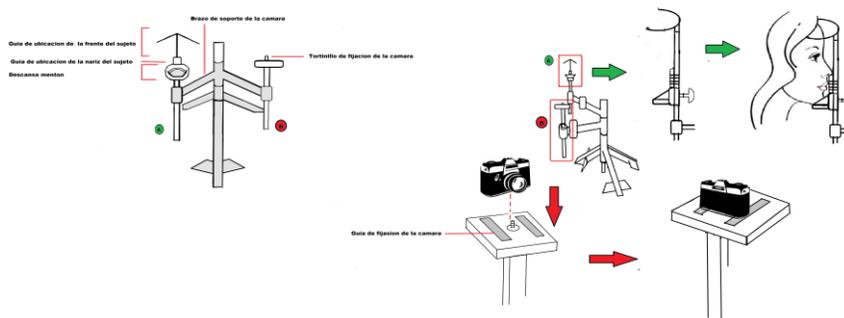
ZOOM: 1 X

Modo de Captura: Modo Retrato, piel delicada.

Disposición de la cámara: perpendicular a la superficie de interés, se conservó durante todo el tiempo del estudio, para lograr esto se diseñó un aditamento que permite fijar la cámara en uno de sus brazos, en el otro brazo se fija el objeto con el área de interés, ambos brazos son independientes y móviles lo que permite graduar individualmente el ángulo y la altura para así permitir según el objeto la mejor ubicación tanto de la cámara como del objeto.

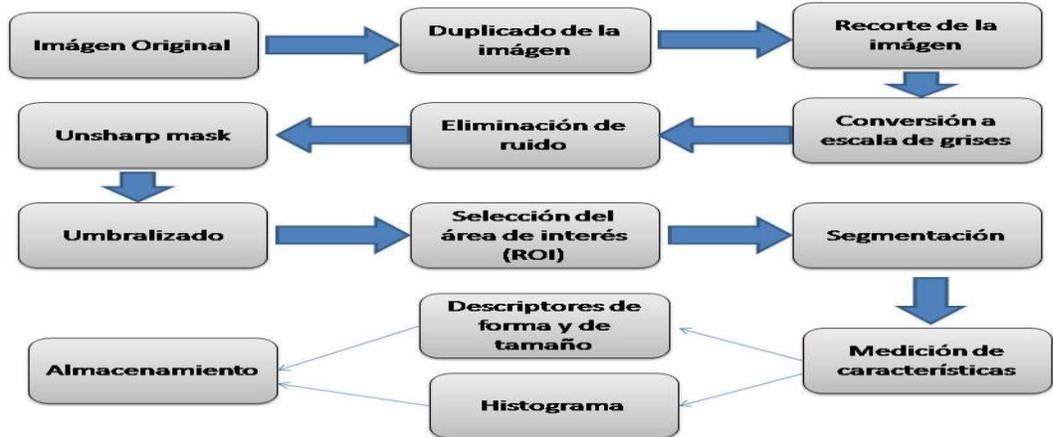
Se observó que para superficies más claras la fuente de luz puede estar dirigida directamente sobre el área de interés, mientras que para superficies más oscuras, la fuente de luz no podía estar ubicada directamente sobre la mancha, porque se perdía definición sobre los detalles, que generaba dificultades en la etapa de segmentación.

Figura 7. Esquema del sistema de adquisición



La metodología para el análisis de las imágenes se realizó según el siguiente esquema

Figura 8. Esquema manipulación de imágenes



2.3.1 PROCEDIMIENTO GENERAL

2.3.1.1 Adquisición

La superficie a ser analizada se prepara adecuadamente y se verifican todas las condiciones pre-establecidas de adquisición, para asegurar que no se introducirá variación debida a causas externas.

2.3.1.2 Pre-tratamiento

Las imágenes obtenidas se almacenaron en formatos RAW (sin modificar) y JPG (Joint *Photographic Experts Group*) en la cámara, ambos formatos no son aptos para el tratamiento digital: El JPG o JPEG, es un formato de compresión con pérdida de información, lo que lo inhabilita para este tipo de tratamiento. Debido a que el RAW que es un formato de compresión sin pérdida de información y que es conocido como el negativo de la fotografía digital, tiene la desventaja de que solo se puede manipular en cierto tipo de software, se transformaron las imágenes a formato TIFF, este otro formato también es de compresión que conserva la información, lo que permite guardar la imagen sin importar el número de ocasiones y que las imágenes conserven todos los datos. La transformación se hizo con el software Contenta RAW converter 5.96 versión de prueba.

Una vez se transformaron las imágenes al formato TIFF, fueron tratadas con el software Imagej 1.45s, donde fueron recortadas para obtener imágenes reducidas que tuvieran la menor cantidad de información que no fuera de interés.

Las imágenes recortadas fueron transformadas a escala de grises en formato de 8 bits (256 niveles de escala de grises) para hacer más simple las etapas posteriores del tratamiento, debido a que con este formato solo se tiene un histograma y con el formato en color se obtienen tres histogramas, uno por cada canal de color RGB.

La etapa siguiente es la eliminación de ruido, que significa hacer un suavizado de la imagen, reemplazando el valor de los niveles de gris de los píxeles que por el sistema de adquisición o por el tratamiento de la imagen, tienen valores alejados del valor normal y que pueden influenciar negativamente en las etapas posteriores de tratamiento, por la media de los píxeles de la vecindad, si este se desvía de la media por encima de un valor determinado.

El mejor resultado se obtuvo con un radio de 10 píxeles, determina el área en píxeles para calcular la media que es el valor por el cual serán reemplazados los píxeles que estén alejados de un valor determinado

El valor Threshold (umbral) escogido para este filtro fue 50, determina qué valor del píxel debería ser reemplazado.

“Which outliers”, determina si valores más brillantes o más oscuros que la media deben ser reemplazados, en este trabajo se eligió reemplazar los outliers más brillantes.

A continuación la imagen se trató con el filtro “Unsharp mask” (máscara de enfoque), que realza los bordes del área de interés (ROI), para facilitar la etapa posterior de umbralización, incrementando el contraste de manera local por sustracción de una versión borrosa de la imagen original y reescalando la imagen para obtener el mismo contraste de grandes estructuras como en la imagen original, esto es equivalente a adicionar un filtro de paso alto a la imagen y así agudizar los bordes.

El valor de desviación estándar del radio de desenfoque que es sustraído de la imagen que se eligió fue de 90.

Peso de la máscara, determina la fuerza del filtrado, va desde 0.1 hasta 0.9, incrementando el peso de la máscara se le da un realce adicional a los bordes. Se eligió trabajar con 0.9.

2.3.1.3 Segmentación por Umbralización

Con la herramienta “threshold” se umbralizó la imagen que tiene los bordes previamente resaltados y bien definidos, la imagen es coloreada bajo la elección del investigador en el fondo o en el área de interés dependiendo del valor umbral que los diferencia. Se coloreó el ROI, para luego seleccionarlo con la herramienta del programa “WAND”.

Con la imagen umbralizada se seleccionó el área de interés con la herramienta del software destinada para esto, una vez se verificó que todo el ROI está dentro de la selección, se descartó el resto de la imagen. Esta nueva imagen se etiquetó y se almacenó adecuadamente.

2.3.1.4 *Medición de característica*

La etapa posterior al proceso de segmentación es la medición de las características del ROI, inicialmente se seleccionó el área a medir y se hizo la medición del histograma. El histograma obtenido se etiquetó y se almacenó.

Se hizo la selección de las características de forma y de intensidad en la pestaña “set de medición”, seguidamente se dió “click” en la pestaña Análisis y en la pestaña “medidas”,

Se obtiene una tabla que contiene una fila y varias columnas con cada uno de los descriptores elegidos, esta tabla se etiquetó y se almacenó.

Una vez obtenidas las mediciones con cada uno de los descriptores elegidos, se consignó en una tabla que se etiquetó y almacenó.

Se asignó arbitrariamente el nombre a las unidades de medición como unidades de intensidad de color de los píxeles, en cada mancha se tomó como patrón la porción más clara, ese nivel de intensidad se tomó como el 100% de claridad o nivel a ser alcanzado después del tratamiento, se hizo una relación entre zona clara, mancha oscura antes del tratamiento y mancha después del tratamiento para determinar el porcentaje de evolución.

2.3.2. ANÁLISIS 1

2.3.2.1 Adquisición de imágenes de manchas de óxido

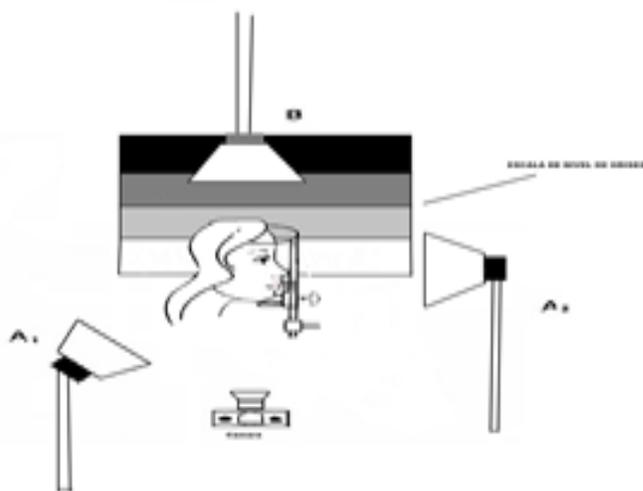
Preparación de las manchas de Óxido:

Las manchas de óxido se prepararon en placas de madera con enchape blanco, colocando piezas de metal que anteriormente fueron puestas en contacto con líquido oxidante, al retirar las piezas de la superficie blanca, quedaron las manchas correspondientes a las siluetas de las piezas de metal.

Después de la captura inicial de la imagen, las manchas fueron tratadas con 0,5 ml. solución de bisulfito de sodio al 5%, dejándolas en contacto con la mancha por 30 segundos, para secarlas posteriormente con aire frío por 5 minutos, inmediatamente después del secado se tomó la foto. Este tratamiento se hizo en repetidas ocasiones con el fin de disminuir gradualmente la intensidad de la mancha de óxido; obteniéndose una serie de imágenes con características medibles, es decir con regiones o bordes que permiten hacer la segmentación o separación del fondo de la imagen, con el fin de ser tratadas posteriormente. El seguimiento se llevó a cabo hasta que el sistema no detectara las manchas. El seguimiento se hace a una sola mancha hasta que el sistema ya no fue capaz de seguir captando la evolución; posteriormente se hizo el seguimiento a tres manchas adicionales para verificar la capacidad del método.

Una vez obtenidas las imágenes, se siguió el procedimiento general.

Figura 9. Esquema de iluminación



2.3.3 ANÁLISIS 2

2.3.3.1 Adquisición de imágenes de manchas en piel

La piel de las voluntarias se preparó siempre haciendo limpieza previa de la zona de interés con una loción para retirar el maquillaje, el exceso de grasa y sudor que pudieran afectar la adquisición o posterior tratamiento de la imagen. Antes de tomar las fotografías, las voluntarias tomaron un tiempo de reposo de 15 minutos para obtener las condiciones normales de su piel. A las voluntarias se les capacitó acerca del uso correcto de los productos despigmentantes que utilizaban y la necesidad de utilizar productos con factor de protección alto por lo menos dos veces al día.

A cada una de las voluntarias se le hizo el seguimiento de una mancha durante varios días y se analizó la evolución

Una vez obtenidas las imágenes se siguió el procedimiento general.

2.3.3.2 Modelo de cálculo

El modelo de cálculo para determinar la evolución de la despigmentación es:

$$IIR = \frac{VIM \times 100\%}{IMPS}$$

dónde:

IIR: Intensidad inicial del ROI

VIM: Valor intensidad de la moda

IMPS: Intensidad máxima de piel sana

Este cálculo se hace antes de iniciar el tratamiento (IC_i), en un momento determinado del tratamiento o al final del mismo (IC_f), para saber qué porcentaje de evolución tiene la mancha.

Al hacer la diferencia de los resultados

$$IC_i - IC_f = \% \text{ de despigmentación en un momento dado.}$$

Para hacer la relación entre los diferentes ROI y la diferencia con la piel sana, se consideró como el 100% la intensidad de color de los pixeles de piel sana y es la intensidad de color tomado como

estándar, la piel pigmentada sufre una disminución de la intensidad de su coloración y es esa diferencia la que se calcula con ese modelo de cálculo, con este criterio se

Se tomó como criterio para establecer que las condiciones de captura estaban estandarizadas, la captura de series de 4 fotos bajo las mismas condiciones y en el mismo instante, a cada fotografía de la serie se le aplicó el mismo tratamiento con el software y se le realizó un análisis estadístico el cual estableció que la variabilidad estaba en un rango que se consideró normal, este se hizo al considerarse si el rango afectaba o no la el análisis de los resultados.

Se estableció como patrón para la captura de las imágenes ubicar una cinta con diferentes tonalidades gris en la parte posterior de la habitación donde se llevó a cabo la toma de las imágenes, esta queda exactamente detrás de la cara de la voluntaria en la fotografía, esta escala sirve para calibrar la medición del software al poder establecer una diferencia entre los diferentes segmentos de la cinta.

Se buscó la relación entre las tendencias de las manchas de óxido y las manchas en piel de las voluntarias para determinar si la metodología de medición era consecuente en ambos casos.

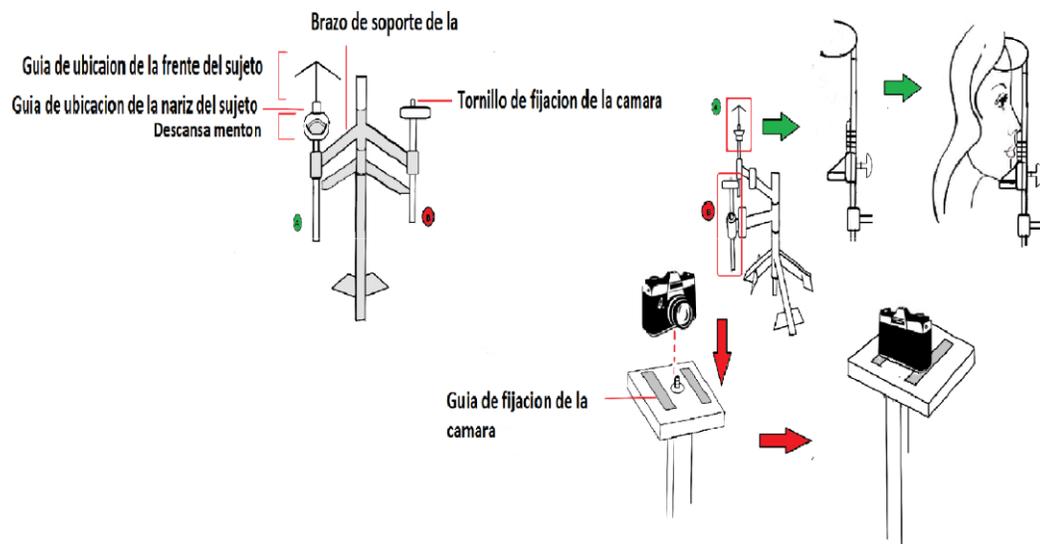
2.4 DESARROLLO DEL ADITAMENTO DE MEDICIÓN

Con el fin de definir las condiciones óptimas de adquisición de imágenes, se realizó un diseño del montaje, con el que se buscó minimizar la influencia de las variables externas que podrían afectar la medición y posteriormente, su análisis, de la imagen, estandarización de las condiciones de adquisición de imágenes y formatos de salida.

Este consta de una plataforma cuyo soporte es un trípode que tiene un eje central, este tiene dos brazos horizontales que se pueden ecualizar a voluntad del investigador en forma vertical a lo largo del eje y en forma horizontal para ampliar o disminuir el ángulo entre los brazos y así modular la distancia entre los extremos de estos, los brazos también se pueden modificar en cuanto a su extensión en caso de ser requerida una mayor longitud. Los extremos de los brazos también son susceptibles de modificarse en cuanto al ángulo de inclinación. Uno de los brazos tiene en su extremo un tubo que en la parte superior tiene una plataforma en la cual hay un tornillo central en la que se ensambla la cámara fotográfica, también tiene unas guías para que la cámara siempre este en

la misma posición sobre esta plataforma. En el extremo del otro brazo horizontal hay un tubo que en la parte superior tiene un receptáculo inspirado en los equipos de optometría que permite descansar sobre una superficie anatómica el mentón de la persona a ser fotografiada, para asegurar que mantenga el rostro en la misma posición para todas las fotos no importando el día de la adquisición, se instaló una guía para la posición de la nariz y otra para la posición de la frente

Figura 10. Aditamento de Adquisición



2.5 RESULTADOS Y ANÁLISIS

Figura 11. Imágenes de manchas de óxido en escala de gris

f. Imagen antes de iniciar el tratamiento b. Imagen después de terminar el tratamiento

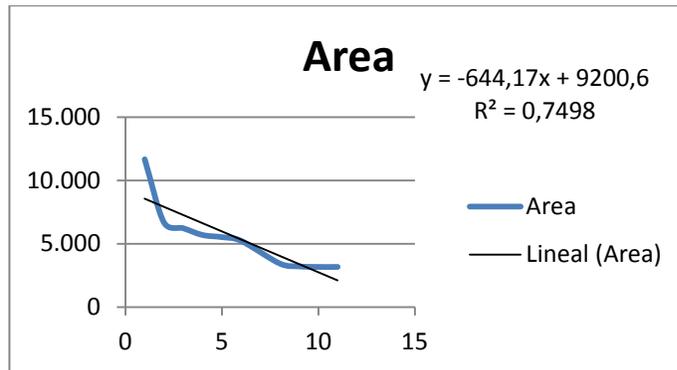


Tabla 2. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha de óxido 1

EVOLUCIÓN DE LA MANCHA DE ÓXIDO 1				
No. de replicas	Área	Media	Std. Dev	Moda
1	11.667	133.055	26.499	114
2	6.676	122.179	17.136	118
3	6.223	126.134	16.527	127
4	5.690	120.992	16.318	120
5	5.522	126.738	18.571	126
6	5.227	122.978	16.976	123
8	3.439	102.702	16.464	135
9	3.214	137.841	15.058	143
10	3.170	144.072	13.338	137
11	3.172	133.466	24.279	156

Disminución de los valores de área y aumento de los valores de moda, los valores de media y desviación estándar no muestran una tendencia.

Figura 12. Gráfico de tendencia de área en la disminución de la mancha de óxido 1



El gráfico muestra una disminución en el tamaño de la mancha a medida que avanza el tratamiento de despigmentación.

Modelos de Calibración - Tratamiento versus Área

Y (medida): Tratamiento

X (actual): Área

Modelo Y-cuadrada X-Inversa: $Y = \left(\sqrt{\frac{a+b}{x}} \right)^2$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	-60,5654	14,1606	-4,27704	0,0027
Pendiente	488130,	61155,8	7,98175	0,0000

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	14826,3	1	14826,3	63,71	0,0000
Residuo	1861,78	8	232,722		
Total (Corr.)	16688,1	9			

Coeficiente de correlación = 0,942569

R-Cuadrada = 88,8437 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 87,4492 por ciento

Error estándar = 15,2552

Error medio absoluto = 3286,36

Estadístico Durbin-Watson = 1,00052 (P=0,0124)

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,000260586

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-cuadrada X-Inversa para describir la relación entre Tratamiento y Área. La ecuación del modelo ajustado es

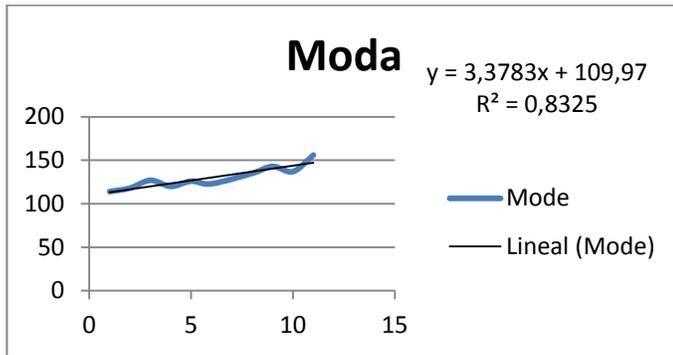
Tratamiento = $\sqrt{-60,5654 + 488130/\text{Área}}$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Tratamiento y Área con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 88,8437% de la variabilidad en Tratamiento. El coeficiente de correlación es igual a 0,942569, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 15,2552. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 3286,36 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es menor que 0,05, esto es indicativo de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%. Grafique los residuos versus el orden de las filas para ver si hay algún patrón que pueda detectarse.

Figura 13. Gráfico de moda de los valores de gris de la mancha de óxido 1



El gráfico muestra un incremento en los valores de moda de los pixeles, lo que indica una disminución de la intensidad de la mancha de óxido con el tratamiento.

Modelos de Calibración - Tratamiento versus Área

Y (medida): Tratamiento

X (actual): Área

Y-Inversa X-cuadrada: $Y = 1/(a + b \cdot X^2)$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,0311574	0,0267711	1,16384	0,2780
Pendiente	7,29088E-9	5,33423E-10	13,6681	0,0000

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,680748	1	0,680748	186,82	0,0000
Residuo	0,0291515	8	0,00364394		
Total (Corr.)	0,7099	9			

Coefficiente de correlación = 0,979253

R-Cuadrada = 95,8936 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 95,3803 porciento

Error estándar = 0,060365

Error medio absoluto = 0,0351966

Estadístico Durbin-Watson = 1,76637 (P=0,2460)

Auto correlación residual de retardo 1 = 0,1041

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa X-cuadrada para describir la relación entre Tratamiento y Área. La ecuación del modelo ajustado es

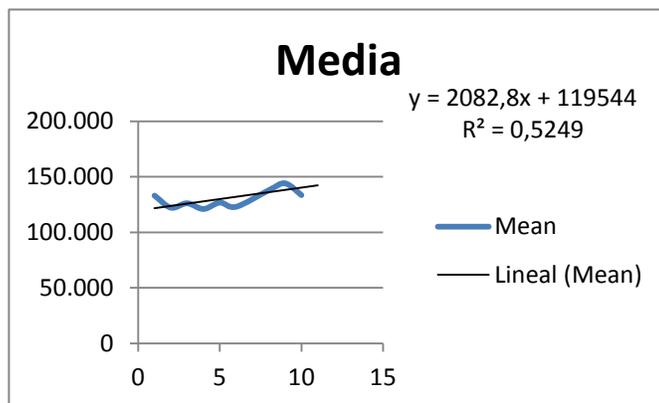
$$\text{Tratamiento} = 1/(0,0311574 + 7,29088E-9*\text{Area}^2)$$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Tratamiento y Área con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 95,8936% de la variabilidad en Tratamiento. El coeficiente de correlación es igual a 0,979253, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 0,060365. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 0,0351966 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

Figura 14. Gráfico de tendencia de media de valores de gris de la mancha de óxido 1



Se observa un leve incremento en los valores de la media de a medida que avanza el tratamiento, este parámetro no da información definitiva acerca de la tendencia del comportamiento de la mancha.

Modelo de cálculo:

En las manchas de óxido se tomó como valor estándar 255 (nivel de blanqueado a alcanzar),

IIR (intensidad inicial del ROI): $114(\text{moda}) \times 100 / 255 = 44.7 \% \approx 45\%$

IFR (intensidad final del ROI): $156(\text{moda}) \times 100 / 255 = 61.2\% \approx 61\%$

% Despigmntación = $61 - 45 = 22.9\% \approx 16\%$

Se eligió como parámetro de medición de intensidad de las manchas la moda, ya que esta representa la tendencia de aumento o disminución de los valores de gris, la media depende en gran medida de la desviación estándar para ser representativa, debería ser muy pequeña y esta varía mucho de una imagen a otra.

La moda es el valor que más aparece y por eso debe ser el valor a ser tomado en cuenta para el análisis.

La media, la moda y el área se comportan como se espera, además la moda tiene un R^2 alto, la media no tanto.

Disminución del área de la mancha

Área inicial: 11607 Área final: 3172

Porcentaje de disminución de área: $3172 \times 100 / 11607 = 27.3\% \approx 100\% - 27.3\% = 72.6\%$



a. Imagen antes de iniciar el tratamiento b. Imagen después del tratamiento

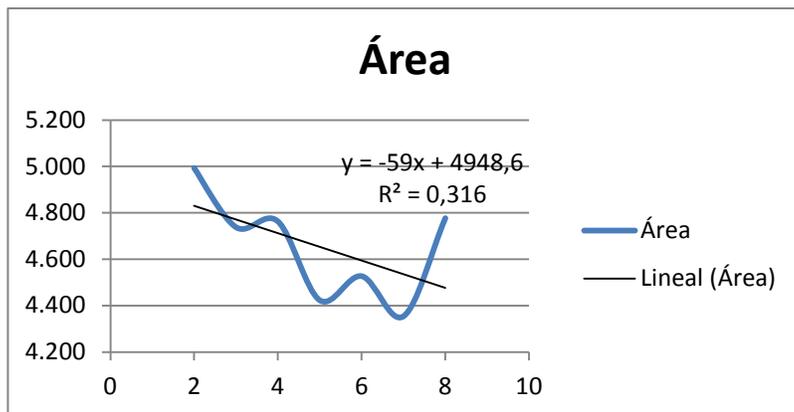
Figura 15. Imágenes de manchas de óxido en escala de gris

Tabla 3. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha de óxido 2

EVOLUCIÓN DE LA MANCHA DE ÓXIDO 2				
Tratamiento	Área	Media	Std. Dev	Moda
1	4.993	96.173	20.473	96
2	4.993	106.482	22.308	98
3	4.738	105.711	17.513	104
4	4.763	112.795	17.967	110
5	4.423	110.002	17.977	110
6	4.527	114.315	18.002	111
7	4.354	109.512	17.419	106
8	4.777	114.549	17.286	124
9	4.287	107.704	16.741	

Se observa la tendencia en la disminución en el área de la mancha y aumento de la moda a medida que avanza el tratamiento de despigmentación.

Figura 16. Gráfico tendencia disminución de área de la mancha de óxido 2



Se observa la tendencia a disminuir el tamaño de la mancha con el avance del tratamiento de despigmentación.

Modelos de Calibración - Área versus Tratamiento

Y (medida): Área

X (actual): Tratamiento

Modelo Y-cuadrada Log-X: $Y = \text{sqrt}(a + b \cdot \ln(X))$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	2,55895E7	1,21136E6	21,1246	0,0000
Pendiente	-2,74168E6	768727,	-3,56652	0,0091

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	3,11099E13	1	3,11099E13	12,72	0,0091
Residuo	1,71201E13	7	2,44573E12		
Total (Corr.)	4,823E13	8			

Coefficiente de correlación = -0,803139

R-Cuadrada = 64,5032 por ciento
R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 59,4322 por ciento
Error estándar = 1,56388E6
Error medio absoluto = 1,12662E6
Estadístico Durbin-Watson = 2,97764 (P=0,8953)
Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,542673

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-cuadrada Log-X para describir la relación entre Área y Tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

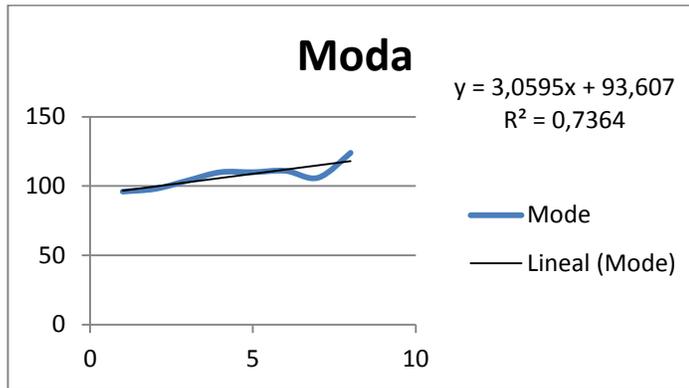
$$\text{Área} = \text{sqrt}(2,55895E7 - 2,74168E6 * \ln(\text{Tratamiento}))$$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Área y Tratamiento con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 64,5032% de la variabilidad en Área. El coeficiente de correlación es igual a -0,803139, indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 1,56388E6. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 1,12662E6 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

Figura 17. Gráfico de tendencia moda de valores de gris de la mancha de óxido 2



Se observa la tendencia en el aumento de los valores de la moda, significa que la intensidad disminuye con el avance del tratamiento de despigmentación.

Se hizo transformación de los datos para verificar cual modelo se ajustaba mejor a los datos, encontrándose que el mejor modelo es Y-inversa Raíz cuadrada-X

Y-Inversa Raíz cuadrada-X: $Y = 1/(a + b \cdot \sqrt{X})$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,0114804	0,000485869	23,6286	0,0000
Pendiente	-0,00103753	0,000229041	-4,52987	0,0040

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,00000297566	1	0,00000297566	20,52	0,0040
Residuo	8,70086E-7	6	1,45014E-7		
Total (Corr.)	0,00000384574	7			

Coefficiente de correlación = -0,879633

R-Cuadrada = 77,3754 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 73,6046 por ciento

Error estándar = 0,000380807

Error medio absoluto = 0,000239883

Estadístico Durbin-Watson = 2,34658 (P=0,5160)

Auto correlación residual de retardo 1 = -0,306824

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa Raíz cuadrada-X para describir la relación entre Moda y Tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

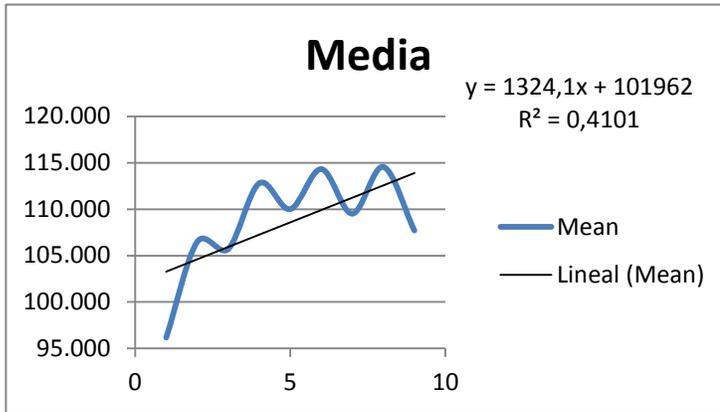
$$\text{Moda} = 1/(0,0114804 - 0,00103753*\text{sqrt}(\text{Tratamiento}))$$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Moda y Tratamiento con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 77,3754% de la variabilidad en Moda después de transformar a una escala de raíz cuadrada para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación es igual a -0,879633, indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 0,000380807. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 0,000239883 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

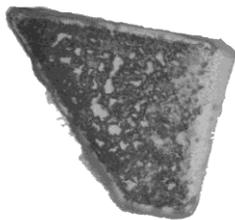
Figura 18. Gráfico de media de valores de gris de la mancha de óxido 2



Se observa el incremento de la media con el avance del tratamiento, este parámetro no se puede relacionar con el comportamiento de la mancha.

Figura 19. Imágenes de manchas de óxido

a. Imágen antes del tratamiento



b. Imágen despues del tratamiento

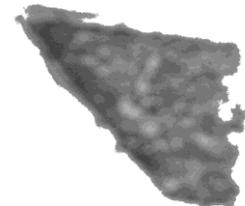
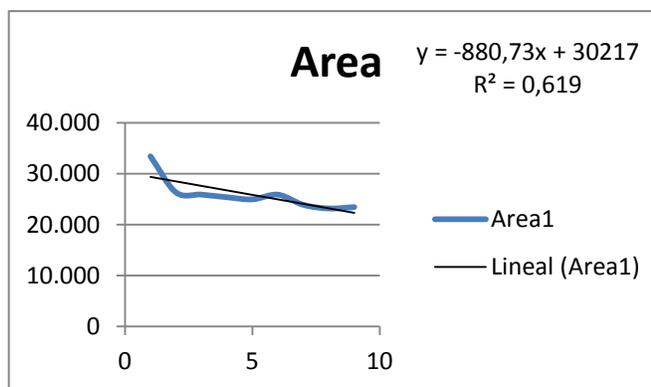


Tabla 4. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha de óxido 3

EVOLUCIÓN DE LA MANCHA DE ÓXIDO 3			
Tratamiento	Área	Moda	Media
1	33.405	83	111.100
2	26.327	83	103.475
3	25.889	85	106.045
4	25.379	85	105.430
5	24.952	84	107.147
6	25.879	88	107.584
7	23.884	103	103.286
8	23.169	116	118.699
9	23.440	122	115.982
10		122	118.322

La tabla muestra la disminución del tamaño de la mancha y la disminución de la intensidad con el avance del tratamiento.

Figura 20. Gráfico de tendencia de área de la mancha de óxido 3



El gráfico muestra la tendencia a la disminución del tamaño de la mancha a medida que se trata con un despigmentante.

Modelos de Calibración - Área versus Tratamiento

Y (medida): Área

X (actual): Tratamiento

Modelo Y-Inversa: $Y = 1/(a + b*X)$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,0000331375			
Pendiente	0,0000012027			

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	1,23538E-10	1	1,23538E-10		
Residuo	0,0	7	0,0		
Total (Corr.)	1,23538E-10	8			

Coefficiente de correlación = 1,0

R-Cuadrada = 100,0 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 100,0 porciento

Error estándar = 0,0

Error medio absoluto = 0,00000164814

Estadístico Durbin-Watson = 1,67624 (P=0,1572)

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,125064

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa para describir la relación entre Área y Tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Área} = 1/(0,0000331375 + 0,0000012027*\text{Tratamiento})$$

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 100,0% de la variabilidad en Área. El coeficiente de correlación es igual a 1,0, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables.

El error absoluto medio (MAE) de 0,00000164814 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

Esta tabla muestra los resultados de ajustar varios modelos curvilíneos a los datos. De los modelos ajustados, el modelo Y-Inversa X-cuadrada arroja el valor más alto de R-Cuadrada con 91,1653%. Este es 14,8624% mayor que el modelo actualmente seleccionado.

Modelos de Calibración - Moda versus Tratamiento

Y (medida): Moda

X (actual): Tratamiento

Y-Inversa X-cuadrada: $Y = 1/(a + b \cdot X^2)$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,0124938	0,000256008	48,8023	0,0000
Pendiente	-0,0000527144	0,00000620241	-8,49901	0,0001

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,0000175287	1	0,0000175287	72,23	0,0001
Residuo	0,00000169868	7	2,42668E-7		
Total (Corr.)	0,0000192274	8			

Coeficiente de correlación = -0,954805

R-Cuadrada = 91,1653 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 89,9032 por ciento

Error estándar = 0,000492614

Error medio absoluto = 0,000357955

Estadístico Durbin-Watson = 1,05503 (P=0,0169)

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,426835

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa X-cuadrada para describir la relación entre Moda y Tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

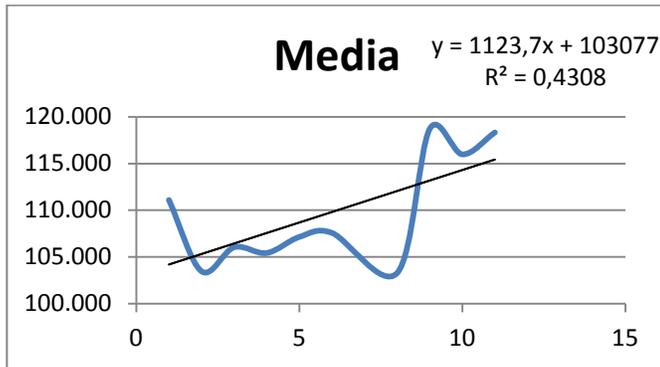
$$\text{Moda} = 1/(0,0124938 - 0,0000527144 * \text{Tratamiento}^2)$$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Moda y Tratamiento con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 91,1653% de la variabilidad en Moda. El coeficiente de correlación es igual a -0,954805, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 0,000492614. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

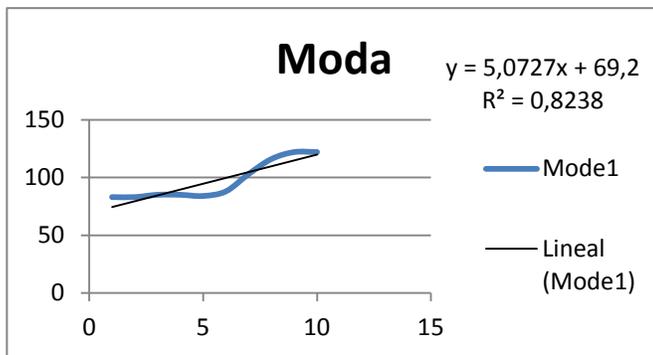
El error absoluto medio (MAE) de 0,000357955 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es menor que 0,05, esto es indicativo de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%. Grafique los residuos versus el orden de las filas para ver si hay algún patrón que pueda detectarse.

Figura 21. Grafico media de valores de gris de la mancha de óxido 3



El gráfico muestra la tendencia al aumento de la media, esto no permite interpretar la tendencia del comportamiento de la mancha.

Figura 22. Grafico tendencia de moda de valores de gris de la mancha de óxido 3



Se observa el aumento en los valores de la moda con el avance del tratamiento, significa que la intensidad va disminuyendo.

En general se observa que en todos los casos el área y la moda tuvieron el comportamiento esperado, es decir siguieron las tendencias que en teoría debían seguir, se esperaba que el área disminuyera con el paso del tiempo relacionado con la aplicación de un tratamiento con una solución para eliminar la mancha de óxido. También se esperaba que los valores de la moda aumentaran al disminuir la intensidad de las manchas, acercándose al valor de 255 que es el valor ideal de alcanzar.

Se tomó como valor a evaluar para determinar la evolución de la intensidad de la mancha a la moda, debido a que esta representa el valor que aparece con mayor frecuencia en el histograma, a medida que se aplica un tratamiento este valor se desplaza hacia valores superiores y estadísticamente mostró un valor de estadístico R^2 , lo que indica que tiene una correlación estadísticamente significativa con el tratamiento aplicado.

Se descartó hacer el seguimiento de la media como indicador de la despigmentación, debido a que solo es representativa y es de tenerse en cuenta cuando está acompañada de valores de dispersión son muy bajos, sin embargo la media muestra una tendencia a aumentar con el paso del tiempo, debido a ella tiende a acompañar el cambio de la mayoría de los datos del histograma.

En los gráficos de tendencia de las áreas, se observa una buena correlación entre el tiempo y la disminución del área de la mancha relacionado con los tratamientos.

Los gráficos del descriptor moda, muestran una tendencia a aumentar de valor a medida que pasan los tratamientos, el estadístico R^2 es alto lo que demuestra que hay una muy buena correlación entre el aumento del valor de la moda que indica que hay una disminución en la intensidad de los valores de gris con el tratamiento aplicado.

Los gráficos de tendencia de la media no tienen coeficientes de correlación adecuados pero muestran una tendencia lógica si se relacionan con los gráficos de la moda, a medida que la mayoría de los valores tienden a aumentar los valores de la media también tienden a aumentar.

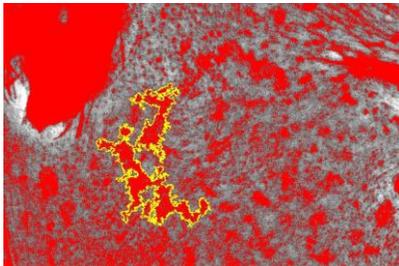
Se observó que la evolución de los parámetros elegidos, no siempre siguen el mismo modelo, por lo que hay que evaluar cuál es el que mejor se ajusta a los datos y así poder concluir de la mejor manera.

Si el modelo es adecuado, se podría hacer la predicción del comportamiento de la mancha en el tiempo, esto se podría aplicar para sustentar la proclama de un producto dado, o dárselo a uno que este en etapa de diseño, ya que se podría decir con un alto porcentaje de confianza que porcentaje de intensidad puede disminuir o aumentar en un tiempo dado.

ANÁLISIS 2

TRATAMIENTO IMÁGENES DE ZONAS HIPERPIGMENTADAS DE LA PIEL

Figura 23. Imágenes de zonas hiperpigmentadas



Las imágenes muestran la foto en formato RGB (superior izquierda), escala de grises (superior derecha), umbralizada y con selección del área de interés (inferior izquierda), ROI segmentado (inferior derecha).

Tabla 5. Datos de unidades de tamaño e intensidad de la mancha en piel 1

EVOLUCION DE MANCHA EN PIEL 1			
Tiempo (semanas)	Moda	Media	Area
1	72	67.107	3.574
2	77	68.364	3.760
3	74	65.715	3.523
4	82	66.784	3.520
5	89	74.001	3.558

La tabla muestra la disminución del tamaño de la mancha y el aumento de valores de la moda, lo que se interpreta como disminución de la intensidad, la media presenta una variación que no se puede relacionar con el comportamiento de la mancha.

Modelo de cálculo:

En las manchas de piel se tomó como valor estándar el nivel de intensidad de gris de una zona de piel sana (nivel de blanqueado a alcanzar: 97).

IIR (intensidad inicial del ROI): $94(\text{moda}) \times 100/97 = 96.9\% \approx 97\%$

IFR (intensidad final del ROI): $107(\text{moda}) \times 100/97 = 110.3\% \approx 110\%$

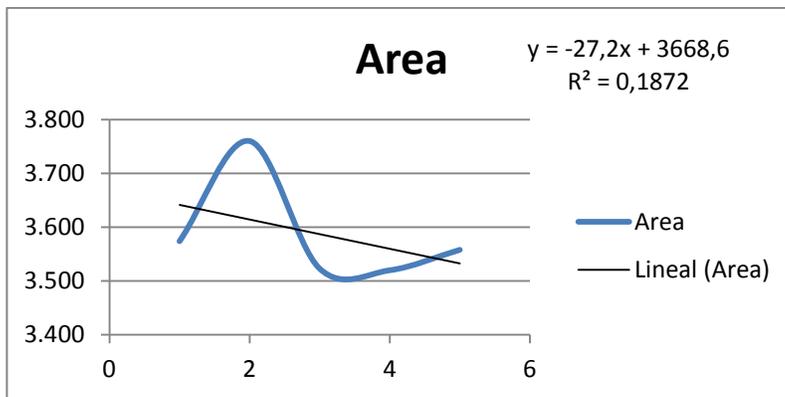
% Despigmentación = $110 - 97 = 13\%$ de disminución de unidades de intensidad de valores de gris.

Disminución del área de la mancha

Área inicial: 9358 pixeles Área final: 9131 pixeles

Porcentaje de disminución de área: $9131 \times 100 / 97.57 = 97.6\% \approx 100\% - 97.6 = 2.4\%$

Figura 24. Gráfico de tendencia de área de la mancha en piel 1



El gráfico muestra la tendencia a la disminución del tamaño de la mancha en la piel con el transcurso del tratamiento despigmentante.

Modelos de Calibración - Área versus Tratamiento

Y (medida): Área

X (actual): Tratamiento

Y-Inversa X-cuadrada: $Y = 1/(a + b \cdot X^2)$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,00027519	0,00000561519	49,0081	0,0000
Pendiente	3,41882E-7	4,0129E-7	0,851957	0,4568

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	4,37143E-11	1	4,37143E-11	0,73	0,4568
Residuo	1,8068E-10	3	6,02266E-11		
Total (Corr.)	2,24394E-10	4			

Coefficiente de correlación = 0,441373

R-Cuadrada = 19,4811 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = -7,3586 por ciento

Error estándar del est. = 0,00000776058

Error medio absoluto = 0,00000531201

Estadístico Durbin-Watson = 2,90489 (P=0,7189)

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,522704

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa X-cuadrada para describir la relación entre Área y Tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Área} = 1/(0,00027519 + 3,41882E-7 \cdot \text{Tratamiento}^2)$$

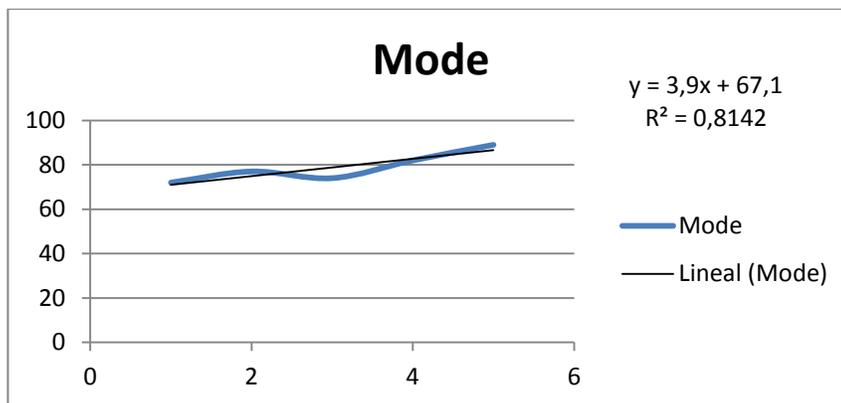
Como el valor-P en la tabla ANOVA es mayor o igual que 0,05 no hay una relación estadísticamente significativa entre Área y Tratamiento con un nivel de confianza del 95,0% o mayor.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 19,4811% de la variabilidad en Área. El coeficiente de correlación es igual a 0,441373, indicando una relación relativamente débil entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los

residuos es de 0,00000776058. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 0,00000531201 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

Figura 25. Gráfico de tendencia de moda de valores de gris de la mancha en piel 1



El gráfico muestra la tendencia de la moda a aumentar con el transcurso del tratamiento, esta tendencia es consecuente con los resultados esperados de disminución de intensidad.

Modelos de Calibración - Moda versus Tiempo

Y (medida): Moda

X (actual): Tratamiento

Doble-cuadrado: $Y = \sqrt{a + b \cdot X^2}$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	5063,89	304,205	16,6463	0,0005
Pendiente	107,537	21,7401	4,94651	0,0159

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	4,32505E6	1	4,32505E6	24,47	0,0159
Residuo	530291,	3	176764,		
Total (Corr.)	4,85534E6	4			

Coefficiente de correlación = 0,943812

R-Cuadrada = 89,0782 porciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 85,4376 porciento

Error estándar del est. = 420,433

Error medio absoluto = 246,485

Estadístico Durbin-Watson = 2,74877 (P=0,6224)

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,401362

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Doble cuadrado para describir la relación entre Moda y Tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Mode} = \text{sqrt}(5063,89 + 107,537 * \text{Tratamiento}^2)$$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Moda y Tratamiento con un nivel de confianza del 95,0%.

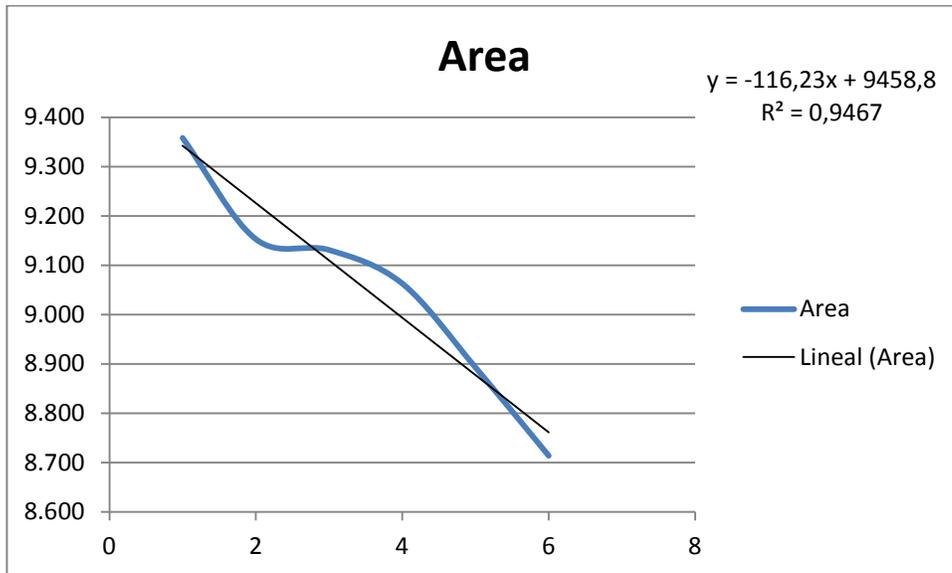
El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 89,0782% de la variabilidad en Moda. El coeficiente de correlación es igual a 0,943812, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 420,433. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 246,485 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 6. Datos de Tamaño en pixeles e intensidad de niveles de gris de la mancha en piel 2

EVOLUCIÓN DE MANCHA EN PIEL				
Tiempo (semanas)	Área	Media	Std. Dev	Moda
1	9.370	89.290	25.216	94
2	9.153	88.363	25.211	100
3	9.131	98.456	24.648	107
4	9.063	110.064	27.654	118
5	8.893	111.327	28.224	115
6	8.714	111.166	28.324	127

Figura 26. Grafico Tendencia de disminuci3n del tama1o de la mancha en piel 1



El grafico muestra la tendencia a la disminuci3n r1pida de tama1o de la mancha, relacionada con el tratamiento despigmentante.

Modelo de c1culo:

En este tipo de piel se tom3 como valor est1ndar una zona de piel sana (nivel de blanqueado a alcanzar 157),

IIR (intensidad inicial del ROI): $99(\text{moda}) \times 100 / 157 = 63 \%$

IFR (intensidad final del ROI): $127(\text{moda}) \times 100 / 157 = 80 \%$

% Despigmntaci3n = $80 - 63 = 17\%$

Disminuci3n del 1rea de la mancha

1rea inicial: 9370

1rea final: 8714

Porcentaje de disminución de área: $8714 \times 100 / 9370 = 92.9\% \approx 100\% - 92.9\% = 7.1\%$

Modelos de Calibración - Área versus tiempo

Y (medida): Área

X (actual): tratamiento

Modelo Y-Inversa: $Y = 1/(a + b \cdot X)$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,00010554			
Pendiente	0,00000142547			

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	3,77106E-11	1	3,77106E-11		
Residuo	0,0	4	0,0		
Total (Corr.)	3,77106E-11	5			

Coefficiente de correlación = 1,0

R-Cuadrada = 100,0 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 100,0 por ciento

Error estándar del est. = 0,0

Error medio absoluto = 5,0919E-7

Estadístico Durbin-Watson = 1,81377 (P=0,1623)

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,0122014

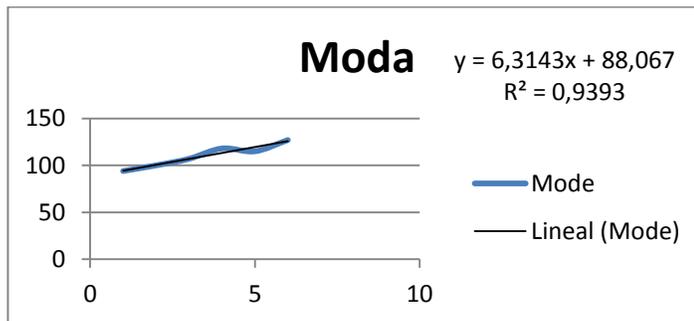
La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa para describir la relación entre Área y tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Área} = 1/(0,00010554 + 0,00000142547 \cdot \text{tratamiento})$$

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 100,0% de la variabilidad en Área. El coeficiente de correlación es igual a 1,0, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables.

El error absoluto medio (MAE) de 5,0919E-7 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

Figura 27. Gráfico de tendencia de Moda de valores de gris



El gráfico muestra la tendencia esperada de aumento de valor de la media relacionada con el tratamiento

Modelos de Calibración - Mode versus tratamiento

Y (medida): Mode

X (actual): tratamiento

Y-Inversa Raíz cuadrada-X: $Y = 1/(a + b*\text{sqrt}(X))$

	<i>Estimado de</i>	<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0,0125371	0,000381512	32,8617	0,0000
Pendiente	-0,00186435	0,000203926	-9,14226	0,0008

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,00000502347	1	0,00000502347	83,58	0,0008
Residuo	2,40412E-7	4	6,01031E-8		
Total (Corr.)	0,00000526389	5			

Coeficiente de correlación = -0,976897

R-Cuadrada = 95,4328 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 94,291 por ciento

Error estándar del est. = 0,000245159

Error medio absoluto = 0,000154892

Estadístico Durbin-Watson = 3,23031 (P=0,9141)

Autocorrelación residual de retardo 1 = -0,636947

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo Y-Inversa Raíz cuadrada-X para describir la relación entre Moda y tratamiento. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Moda} = 1/(0,0125371 - 0,00186435*\text{sqrt}(\text{tratamiento}))$$

Como el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05 hay una relación estadísticamente significativa entre Moda y tratamiento con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 95,4328% de la variabilidad en Moda después de transformar a una escala de raíz cuadrada para linealizar el modelo. El coeficiente de correlación es igual a -0,976897, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar para los residuos es de 0,000245159. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 0,000154892 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentaron en su archivo de datos. Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay indicación de una posible correlación serial con un nivel de confianza del 95,0%.

2.6 CONCLUSIONES

- Las técnicas de análisis de imágenes digitales son una herramienta que aunque se han utilizado ampliamente en otras áreas, son aplicables en la evaluación de zonas hiperpigmentadas de la piel, los resultados muestran que al establecer cuáles son las condiciones que afectan la variabilidad normal del método, es factible determinar, segmentar y caracterizar zonas hiperpigmentadas que difieren del fondo por la intensidad del color.
- Variables tales como distancia, iluminación, ángulo entre la cámara y la superficie de interés, condiciones de la cámara como el ZOOM y el modo de captura, aportan variabilidad y por tanto deben evaluarse y controlarse en las etapas previas.
- Las manchas de óxido se comportaron en forma similar a las manchas evaluadas de piel, ya que al observar el comportamiento de los parámetros como área, moda, mediana, presentan tendencias similares, disminuyendo en valores por ejemplo en área y aumentando en valores como la moda cuando se aplica una sustancia que tiene como función despigmentar o eliminar una mancha de óxido, por tanto son útiles para definir variables y condiciones críticas.
- Del software evaluado, el que mejores resultados arrojó fue el Imagej. Este permite cuantificar tanto parámetros de forma como intensidad; acepta casi cualquier formato de imagen y es de uso libre, permite almacenar las imágenes en formatos que no pierden información y no se necesita de otro paquete informático para complementarlo. Otros programas considerados y que no ofrecieron todas esas ventajas fueron: el Mango, Gwyddion, y el Mazda.

- El parámetro a tener en cuenta en cuanto al tamaño para la caracterización de un ROI determinado que mostró mejores resultados es el área, se observó que la disminución del parámetro área tiene una alta correlación con el tiempo. En cuanto a la intensidad de los niveles de gris, el parámetro más importante es la moda, debido a que es el valor que más se repite y es el que muestra de la mejor manera la tendencia a aclarar en este caso del área de interés, se observa como la media aunque no es la medida más representativa, muestra una tendencia a desplazarse a hacia donde se desplazan la mayoría de los valores, una herramienta que muestra visualmente esto es el histograma. Otros descriptores dados por el programa como son diámetro de feret, redondez, circularidad, pueden evaluarse para hacer el seguimiento de la forma de manera cualitativa, acompañado de la observación de la imagen que se puede aislar eficientemente.
- Se establecieron las etapas del análisis de imágenes para caracterizar las zonas hiperpigmentadas, cada una con unas condiciones específicas y en un orden lógico, utilizando el software Imagej como herramienta que aporta las condiciones adecuadas para caracterizar las zonas de interés.
- La adquisición es una etapa crítica del proceso de análisis de imágenes digitales, la variabilidad del proceso depende de que se puedan controlar las variables de entrada, la solución a este aspecto fue el diseño de un instrumento que permite fijar tanto la cámara como la superficie que tiene un área de interés a evaluar, el aditamento permite fijar la distancia deseada de entre la cámara y el ROI, además permite fijar el ángulo más adecuado para hacer la captura, es susceptible de armarse o desarmarse fácil y completamente, es portátil y en el momento de la adquisición aporta la estabilidad necesaria para hacer reproducibles estas condiciones.

BIBLIOGRAFIA

1. Alcalde MT, Del Pozo A. Despigmentantes (III). *Offarm* 2002; 21(1):144-6 .
2. Alcalde MT, Del Pozo A. Despigmentantes (II). *Offarm* 2001;20(11):151-2.
3. Alcalde MT, Del Pozo A. Despigmentantes (I). *Offarm* 2001;20(10):167-70 .
4. Alvira N, Digital imaging theory American Society of Clinical Pathology National Meeting 2000.
5. Amblard P, 136ani JC, Reymond JL, Didier-Roberto B. Photocarcinogénese. *Ann Dermatol Vénérel* 1980; 107: 537-41.
6. Anderson RR, Parrish JA. Optical properties of human skin. In *The Science of Photo medicine*. New York: Plenum; 1982: 147-94.
7. Ando H, Hashimoto A, Masamoto Y, Ichihashi M, Mishima Y. Inhibitory effects of linoleic acid on melanogenesis. Yokohama (Japón): Preprints of the 17th IFSCC International Congress, 1992; 2:908-18.
8. Ando H, Ryu A, Hashimoto A, Oka M, Ichihashi M. Linoleic acid and (-linolenic acid lightens ultraviolet-induced hyperpigmentation of the skin. *Arch Dermatol Res* 1998;290:375-81
9. Baumann Leslie, Understanding and Treating Various Skin Types: The Baumann Skin Type Indicator, *Dermatologic Clinics*, 26 (3): 359–73, (2008).
10. Beck FX, Burger-Kentisher A, Muller E. Cellular response to osmotic stress in the renal medulla. *Pflugers Arch* 1998;436:814-27.
11. Behne MJ, Meyer JW, Hanson KM. NHE 1 regulates the stratum corneum permeability barrier homeostasis. *J Biol Chem* 2002; 277.
12. Monica C. T. Bloemen et al. An objective device for measuring surface roughness of skin and scars, *Journal American Academy Dermatology* 64, No 4, 2011.
13. Ed. Springer. *Digital Image Processing*, 6th ed., Bernd Jähne, , New York, 2005.

14. Caspers PJ, Lucassen GW, Bruining HA, Puppels GJ. In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: noninvasive determination of molecular concentration profiles. *J Invest Dermatol* 2001;116:434-42.
15. Castro A. Hyperpigmentation: cosmeceutical treatment. Acapulco (México): Preprints del XIII Latin-American and Iberian Congress of Cosmetic Chemists and IFSCC International Conference, 1997;205-17.
16. Catálogo de Parafarmacia. Madrid: Consejo General de COF, 2001;977.
17. Chan -jin., Da- went (2004).
18. Cheryl M. Burgess (Ed.). *Cosmetic Dermatology*. Springer-Verlag Berlin, 2005.
19. Criteria for assessing the tools of disability outcomes research. E.M. Andresen, *Arch Phys Med Rehabil*, supl 81 S15-20, 2000.
20. Daniels F Jr. Optics of the skin as related to ultraviolet radiation. In *the Biologic Effects of Ultraviolet Radiation*. Oxford: Urback Pergamon Press, 1969; 151-8.
21. Diffey BL, Larkö O. *Clinical Climatology*. *Photodermatol* 1984; 1: 30-7.
22. Diffey, B. L. (2002). Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods* 28(1): 4-1.
23. Douglas W. Cromey, M.S. - Digital Imaging: Ethics Manager, Cellular Imaging Facility Core Southwest Environmental Health Sciences Center, University of Arizona, Tucson, Arizona.

24. COLIPA European cosmetics association. Guidelines for the evaluation of the efficacy of cosmetic products, Rev. Efficacy Evaluation Guidelines. 2008.
25. L. G. Arango Isaza .Evaluación del enfisema pulmonar mediante análisis cuantitativo de imagen en tomografía computarizada y variables fisiológicas, tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2004.
26. Z. D. Draelos, L.A.Thaman .Cosmetic Formulation of Skin Care Products, editado por. Ed. Taylor &Francis, New York, 2006.ç
27. E. A. Holm, H. C. Wulf, L. Thomassen, G. B. E. Jemec. Instrumental assessment of atopic eczema: Validation of transepidermal water loss, stratum corneum hydration, erythema, scaling, and edema, Journal American Academy Dermatology, VOLUME 55, No 5, 2006.
28. Everett MA, Yeagers E, Sayre RM, Olson RL. Penetration of epidermis by ultraviolet rays. Photochem Photobiol 1966; 5: 533-37.
29. Ferrándiz, C. Alteraciones de la pigmentación. Dermatología clínica. Ed. Elsevier. Madrid, 1996.
30. Fitzpatrick y Col. Dermatología en Medicina General. 5ta Edición Editorial Médica Panamericana Buenos Aires –Argentina.
31. Fluhr JW, Kao J, Jain H, Ahn SK, Feingold KR, Elias PM. Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. J Invest Dermatol 2001;117:44-51.
32. G. Dougherty. Digital Image Processing for Medical Applications, , Cambridge University Press, New York, 2009.

33. Gautron R, Jardon P, Amblard P Beani JC. Techniques d'études physicochimiques de la photosensibilisation. *Nouv Dermatol* 1986; 5(3): 186-7.
34. Gleason BC, Crum CP, Murphy GF. Expression patterns of MITF during human cutaneous embryogenesis: evidence for bulge epithelial expression and persistence of dermal melanoblasts. *J Cutan Pathol* 2008; 35: 615-22.
35. GNU Operating system, <http://www.gnu.org>, marzo/2011.
36. González R. C., Woods R. E., "Tratamiento digital de imágenes", Editorial Addison-Wesley/Díaz de Santos, 1996.
37. Gómez Orbaneja J. *Dermatología*. Aguilar S.A. de Ediciones Madrid – España.
38. H. Sossa (1989). An improved parallel Algorithm for Thinning Digytal Patterns. *Pattern Recognition Letters*, pp.7-80.
39. Hachem JP, Crumrine D, Fluhr J, Brown BE, Feingold KR, Elias PM. pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity/cohesion. *J Invest Dermatol* 2003;121:345-53.
40. Halkier-Sorensen L. Peterson BH, Thestrup-Pedersen K. Epidemiology of occupational skin diseases in Denmark: notification, recognition and compensation. The irritant contact dermatitis syndrome. CRC Press, 1995; p. 23.
41. Harber LC, Bickers DR. *Photosensitivity Diseases. Principles of Diagnosis and Treatment*. Philadelphia: W. B.Saunders, 1981.
42. Harber LC, Beckers DR. Units of measurement. In *Photosensitive Diseases*. Philadelphia: WB. Saunders, 1981.

43. Henneth A, Walters, Michael Roberts. Dermatologic, Cosmeceutic and Cosmetic development. Therapeutic and novel approaches. Ed. Informa Healthcare. New York, 2008.
44. H. Sossa. An improved parallel Algorithm for Thinning Digital Patterns. Pattern Recognition Letters, pp.7-80. 1989.
45. Iluminación para las aplicaciones de Visión Artificial, Universidad Nacional de Quilmes, Ing. en Automatización y Control Industrial, Agosto 2005.
46. J.M. Mellado. Fotografía digital de alta calidad. Ed Artual, Barcelona, 2006.
47. Janeke G, Siekfen W, Carstensen S, Springmann G, Bleck O, Steinhart H, et al. Role of taurine accumulation in keratinocytes hydration. J Invest Dermatol 2003;121:354-61.
48. Kligman LH, Kligman AM. The nature of photo aging: Its prevention and repair Photodermatol 1986; 3: 215-17.
49. Kripke ML. Immunology and Photo carcinogenesis: New light and old problem. J Am Acad Dermatol 1986; 14: 149-55.
50. Kripke ML. Immunologic Mechanisms in UV radiation. Carcinogenesis. Adv Cancer Res 1981; 34: 69-106.
51. L. Kurz, m. H. Bentetifa. Analysis of variance in statistical image processing, Cambridge University Press, New York, 1997.
52. Lagman J. Embriología Médica. 2da Edición Editorial Interamericana México D.F. – México.
53. Leslie Baumann Cosmetic Dermatology, principles and practice, 2 edición. Ed. Mc Graw Hill. New York, 2009.
54. Magnus LA. Dermatological Photobiology. Oxford: Blackwell Scientific, 1976.
55. Malvey J, Llambrich A, Puig S. Signos guía en el diagnóstico diferencial en dermatoscopia. Piel 2003;18:85-91.

56. Quiang Wu, Fatima A. Merchan, Kenneth R. Castleman. Microscope image Processing. 2008
57. Michael Mercandetti. Facial Analysis for Skin Resurfacing. Editor: Arlen D Meyers, Reference; drugs, conditions & procedures, 2009.
58. N. Faccioli • S. Perandini • A. Comai • M. D'Onofrio • R. Pozzi Mucelli Istituto di Radiologia, Policlinico G.B. Rossi. Proper use of common image file formats in handling radiological images .Uso efficace dei comuni formati di file immagine nella gestione di immagini radiologiche, Università di Verona, P.le L.A. Scuro, 37134 Verona, Italy/ Published online: 27 March 2009 © Springer-Verlag 2009.
59. Nishimura EK, Granter SR, Fisher DE. Mechanisms of hair graying: incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche. Science 2005; 307: 720-4.
60. Pajares Martinsanz G., De la Cruz García J. M., Molina Pascual J. M., Cuadrado Pardo J., López Correa A., "Imágenes Digitales, Procesamiento practico con java", Editorial Alfaomega/Ra-Ma, 2004
61. Parrish A Jaenicke KF. Erythema and melanogenesis action of spectra of normal human skin. Photochem Photobiol 1982; 36: 187-91.
62. Pathak MA. Topical and systemic approaches to protection of human skin against harmful effects of solar radiation. J Amer Dermatol 1982; 7(3): 285-312.
63. PE Shrout, JL. Fleiss. Intraclass correlations: uses in assessing reliability. Psychol Bull, 2:420-8. 1979.
64. Practical Handbook on IMAGE PROCESSING for SCIENTIFIC and TECHNICAL APPLICATIONS.
65. R.C. González y R.E. Woods. DigytalImageProcessing. AdissonWessley. 1992.
66. Regan JD, Parrish JA. The Science of Photo medicine. New York: Plenum, 1982.

67. Raible DW. Development of the neural crest: achieving specificity in regulatory pathways. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18: 698-703.

68. R. C. González R. E. Woods *Digital Image Processing [Libro]*. - Upper Saddle River : Pearson Prentice-Hall, 2002. - 2ª Edición.

69. The potential use of non-invasive methods in the safety assessment of cosmetic products. Rogiers, V., Balls, M., Basketter, D., et al., *ATLA* 27, 515–537 (1999).

70. Russ John C. Boca Raton Florida 2005, *Image Analisis of Food microstructure* cap.3.

71. David R. Falk, Dieter R. Brill , John Wiley & sons, 1986, EU. (*Seeing the Light: Optics in Nature, Photography , Color, Vision, and Holography*).

72. R. C. González R. E. Woods *Digital Image Processing [Libro]*. - Upper Saddle River : Pearson Prentice-Hall, 2002. - 2ª Edición.

73. Richard J. D. Tilley , 2011 John Wiley & sons *Colour and The Optical Properties of Materials: An Exploration of the Relationship Between Light, the Optical Properties of Materials and Colour [Paperback]*, india, Pag 16-20.

74. Mechanical methods for evaluating skin surface architecture in relation to wrinkling, S. Akazakia, G. Imokawa, *Journal of dermatological science*, 77, 2001.

75. Separación de redes vasculares arterial y venosa en imágenes oftalmoscópicas de retina humana tesis.

76. R.C. González y R.E. Woods. (1992). *DigitalImageProcessing*. AdissonWessley.

77. Shireman PK: Digitizing and digitizers *American Society of Clinical Pathology National Meeting* 2000.
78. Skin segmentation using color pixel classification: analysis and comparison, S. L. Phung, A. Bouzerdoum, D. Chai, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol. 27, No. 1, 2005.
79. Scheuplein R. Site variations in diffusion and permeability. *The physiology and pathophysiology of the skin*. Academic Press 1978;1731-52.
80. Optics demystified, Stan Gibilisco, ed. Mc Graw-Hill, 2009, EU.
81. Suder E, Bruzewicz S. Melanocytes of fetal dermis - studies with anti-HMB-45 antibody. *Med Sci Monit* 2004; 10: BR229-32.
82. Recent trends in surface metrology, T.G. Mathia, P.Pawlus, M.Wieczorowski, *Wear*, articulo en prensa.
83. The Taylor Hyperpigmentation Scale: a new visual assessment tool for the evaluation of skin color and pigmentation. Taylor SC, Arsonnaud S, Czernielewski J; *Cutis* ;76(4):270-4, 2005.
84. Van der Leun JC. Delayed pigmentation and ultraviolet erythems. *Photochem Photobiol* 4: 459-61.
85. Visioscan®, Microcaya, España.
86. Warner R, Stone KJ, Boissy YL. Hydration disrupts human stratum corneum ultraestructure. *J Invest Dermatol* 2003;120:275-84.[[Medline](#)]

87. Warner RR, Boissy YL, Lilly NA, Spears MJ, McKillop K, Marshal JL, et al. Water disrupts stratum corneum lipid lamellae: damage is similar to surfactants. *J Invest Dermatol* 1999;113:960-6.
88. Wetterberg L, Beck-Friss J, Kjellman BF, Junggren JG. The Circadian Rhythms in melatonin and control secretion in the depression. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1984; 39: 197-205.
89. Wilkie AL, Jordan SA, Jackson IJ. Neural crest progenitors of the melanocyte lineage: coat colour patterns revisited. *Development* 2002; 129: 3349-57
90. Young AR. Chromophores in Human Skin- *Phys Med Biol* 1997; 242: 789-802.
91. Young AR. Principles of Photobiology. Resúmenes del I Congreso Latinoamericano de Fotobiología. Lima, Perú. 2002, p. 7.
92. Young AR. The similarity of action spectra for thymine dimers in human epidermis and erythema suggests that DNA is the chromophore for erythema. *J Invest Dermatol* 1988; 111: 982-88.
93. Ziegler A. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature* 1994; 372: 773-76.
94. Zimmerman AA CT. The development of epidermal pigmentation in the Negro fetus. *J Invest Dermatol* 1948; 11: 383-95.
95. Zuidhoff HW, Van Rijsbergen JM. Whitening efficacy of frequently used whitening ingredients. *Cosm & Toiletries* 2001;116(1):53-9.
96. <http://www.uv.es/~vicalagr/CLindex/CLdermatopat/CLdermatopatologia.html#queratina>.

97. Rafael C, Gonzalez/Richard E. Woods .Digytal image processing 2ed.
98. Geoff Dougherti. Digital Image Processing For Medical Applications.
99. http://www.jorgegalbiati.cl/ejercicios_4/ConceptosBasicos.pdf.
100. [http://centros.edu.xunta.es/iesasagoas/metodosesta/0documentos/T01_1_Estadistica Descriptiva.pdf](http://centros.edu.xunta.es/iesasagoas/metodosesta/0documentos/T01_1_Estadistica%20Descriptiva.pdf).
101. Miguel Jiménez Juan Manuel, Procesado de Imagen Introducción al tratamiento Digital y Clustering de imágenes Departamento de Electrónica. Universidad de Alcalá.
102. C. González Rafael, E. Woods Richard, “Digital Image Processing”, Addison-Wesley, Massachusetts, 1992.
103. Domingo Ajenjo, “Tratamiento digital de imágenes”, Anaya, Madrid, 1993.
104. Jian Yu, “General c-means clustering model and its application”, Computer Vision and Pattern Recognition, 2003. Proceedings. 2003 IEEE Computer Society Conference.

