

Desarrollo de un modelo inverso luz-tejido aplicado al procesamiento de imágenes multiespectrales para la caracterización de la formación y seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas causadas por Leishmaniasis en hámsteres dorados

Deivid Johan Botina Monsalve

DESARROLLO DE UN MODELO INVERSO LUZ-TEJIDO APLICADO AL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES MULTIESPECTRALES PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA FORMACIÓN Y SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO DE ÚLCERAS CUTÁNEAS CAUSADAS POR LEISHMANIASIS EN HÁMSTERES DORADOS

Por

Deivid Johan Botina Monsalve

Requisito parcial para optar a título de

Magister
en Automatización y Control Industrial

Instituto Tecnológico Metropolitano
Facultad de Ingeniería
Medellín, 2017

Supervisoras: Ph.D. July Andrea Galeano
Ph.D. Maria Constanza Torres



Institución Universitaria

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a todas las personas y entidades que me han acompañado durante el tiempo que se desarrolló esta tesis, a mis amigos y familia que siempre me han apoyado, y a mis asesoras que han permitido el desarrollo de esta tesis.

Finalmente agradezco a el Instituto Tecnológico Metropolitano por haberme dado la oportunidad de cursar esta maestría, y a COLCIENCIAS por el patrocinio del proyecto “Desarrollo y evaluación de un sistema portátil no invasivo basado en imágenes multiespectrales para el diagnóstico y seguimiento de tratamiento de úlceras cutáneas causadas por Leishmaniasis” con el código 57186, en el cual fue desarrollada esta tesis de maestría, a la Universidad de Antioquia, a la Universidad Pontifica Bolivariana, y a Kinetics.

RESUMEN

Latinoamérica junto a otros lugares del mundo cuentan con regiones tropicales, de las cuales emergen múltiples enfermedades. La Leishmaniasis cutánea (LC) es una de las patologías más comunes que atacan a las poblaciones de estas zonas, generando una úlcera y dejando marcas de por vida. El difícil acceso a una atención médica apropiada de las poblaciones afectadas plantea la necesidad de nuevos instrumentos y técnicas que faciliten el diagnóstico y seguimiento a tratamientos de esta enfermedad. El desarrollo de esta tesis de maestría es parte del proyecto de investigación “Desarrollo y evaluación de un sistema portátil no invasivo basado en imágenes multiespectrales para el diagnóstico y seguimiento de tratamiento de úlceras cutáneas causadas por Leishmaniasis” registrado en Colciencias con el código 57186. Esta tesis de maestría busca definir un modelo inverso de interacción luz-tejido, que permita entender los fenómenos que ocurren en la piel de hámsteres dorados debido a úlceras causadas por Leishmaniasis, así como los cambios en la úlcera una vez se aplica un tratamiento. Los modelos inversos de interacción luz-tejido buscan estimar el comportamiento de los componentes biológicos en un tejido blando como la piel. Para ello se parte de un modelo matemático directo, que para esta tesis de maestría se plantea como un modelo de 3 capas que incluya epidermis, dermis e hipodermis; a partir de firmas espectrales adquiridas sobre piel sana, borde de la úlcera y centro de la úlcera capturados desde hámsteres con LC, se buscará estimar los principales componentes de la piel, tanto durante la transición de la enfermedad como en la aplicación y seguimiento al tratamiento. Finalmente se realiza el seguimiento al tratamiento de 10 hámsteres con *Leishmaniasis Brasiliensis* concluyendo cuáles de los parámetros adquiridos por medio del modelo inverso, son de mayor utilidad para la diferenciación de los tejidos.

Palabras clave: Leishmaniasis Cutánea, Modelo inverso, Algoritmos genéticos, Seguimiento al tratamiento, Hámster dorado, ASCLEPIOS.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	III
Resumen	V
Índice de Figuras	IX
Índice de Tablas	XIII
Referencias.	XIX
1 MARCO CONCEPTUAL Y TRABAJOS PREVIOS	1
1.1 Introducción	1
1.2 Espectroscopía e imágenes espectrales	1
1.3 Sistemas de adquisición de imágenes espectrales.	2
1.3.1 ASCLEPIOS	2
1.4 Reflectancia difusa de tejido cutáneo	3
1.4.1 Modelos directos de interacción luz-tejido.	3
1.5 Método inverso de interacción luz-tejido (modelo inverso).	4
1.6 Sistemas y métodos invasivos y no invasivos con potencial para el estudio de úlceras cutáneas	4
1.7 <i>Leishmaniasis</i> cutánea y sus etapas	9
Referencias.	11
2 METODOLOGÍA	17
2.1 Introducción	17
2.2 Procedimiento de toma de datos espectrales en hámsteres dorados	19
2.3 Modelo exponencial de reflectancia difusa	23
2.3.1 Absorción en epidermis	25
2.3.2 Absorción en dermis	27
2.3.3 Absorción en hipodermis	29
2.3.4 Dispersión en epidermis	30
2.3.5 Dispersión en dermis	30
2.3.6 Dispersión en hipodermis	33
2.3.7 Reflectancia total	33
2.4 Modelo inverso	33
2.4.1 Algoritmos genéticos.	33
2.4.2 Análisis de varianza - ANOVA	36
Referencias.	37
3 RESULTADOS	38
3.1 Introducción	39
3.2 Base de datos espectrales	39
3.2.1 Firmas espectrales adquiridas	39
3.2.2 Selección de firmas correctamente optimizadas	42
3.2.3 Firmas espectrales seleccionadas	45
3.2.4 Hipercubos espectrales adquiridos	47
3.3 Estimación de parámetros biológicos en firmas espectrales.	49
3.3.1 Parámetros biológicos en tejido Sano	49
3.3.2 Parámetros biológicos en borde de úlcera	50
3.3.3 Parámetros biológicos en centro de úlcera	51

3.4	Modelo directo de tres capas en hámsteres dorados	53
3.4.1	Variación espesor epidermis z_1	53
3.4.2	Variación espesor dermis z_2	54
3.4.3	Variación keratinocitos D_{kera}	54
3.4.4	Variación colágeno D_{col}	55
3.4.5	Variación fracción volumétrica de colágeno $Fvol_{col}$	55
3.4.6	Variación fibroblastos D_{fibro}	56
3.4.7	Variación macrófagos D_{macro}	56
3.4.8	Variación fracción volumétrica de melanina f_{mel}	57
3.4.9	Variación fracción volumétrica de hemoglobina f_{blood}	57
3.4.10	Variación saturación de oxígeno SO_2	58
3.5	Seguimiento al tratamiento mediante firmas espectrales	58
3.5.1	Análisis de la forma de firmas espectrales de tejido sano, borde y centro de úlcera.	58
3.5.2	Test de ANOVA como seguimiento al tratamiento	60
3.6	Seguimiento al tratamiento mediante mapas de concentración.	74
3.6.1	Seguimiento a tratamiento experimental en G1C2H1	74
3.6.2	Seguimiento a tratamiento comercial en G2C4H1	76
3.6.3	Seguimiento sin tratamiento en G1C3H1	78
	Referencias.	82
4	DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS	83
4.1	Base de datos	83
4.2	Modelo directo de reflectancia difusa en piel de hámster dorado	83
4.2.1	Trabajos futuros y perspectivas	84
4.3	Modelo inverso por medio de algoritmos genéticos.	84
4.3.1	Trabajos futuros y perspectivas	84
4.4	Evaluación del modelo inverso en la formación y seguimiento al tratamiento	84
4.4.1	En firmas espectrales	84
4.4.2	En mapas de concentración	85
4.4.3	Trabajos futuros y perspectivas	85
A	Apéndice: Test de Anova en parámetros biológicos	86
A.0.1	Análisis de varianza en G1C2H1	86
A.0.2	Análisis de varianza en G1C2H3	89
A.0.3	Análisis de varianza en G1C3H1	92
A.0.4	Análisis de varianza en G1C3H3	96
A.0.5	Análisis de varianza en G1C6H2	99
A.0.6	Análisis de varianza en G2C4H1	102
A.0.7	Análisis de varianza en G4C1H2	106
A.0.8	Análisis de varianza en G4C2H1	109
A.0.9	Análisis de varianza en G4C2H2	112
A.0.10	Análisis de varianza en G4C5H1	116
	Referencias	120
	Capítulo 0	120
	Capítulo 1	121
	Capítulo 2	127
	Capítulo 3	128

ÍNDICE DE FIGURAS

1.1. Descripción de hipercubo de reflectancia. Adaptado de [13]	2
1.2. Proceso interno del sistema ASCLEPIOS. Adaptado de [13]	3
1.3. Representación gráfica de los cambios presentes en el tejido cutáneo durante la formación de una úlcera cutánea causada por LC. Adaptado de [88].	9
2.1. Adquisición de datos espectrales .	18
2.2. Simulación - Modelo directo de reflectancia difusa.	19
2.3. Estimación de parámetros por modelo inverso.	19
2.4. Identificación de parámetros relevantes y seguimiento al tratamiento y clasificación de tejidos: Sano, borde y centro de úlcera.	20
2.5. Procedimiento de anestesia y depilación en hámsteres dorados.	20
2.6. Adquisición y almacenamiento de firmas espectrales en hámsteres.	22
2.7. Patrones de calibración certificados de reflectancia blancos y negros con su respuesta espectral.	22
2.8. Calibración y almacenamiento de firmas espectrales.	23
2.9. Tipos de firmas espectrales: Tejido sano, borde, y centro de úlcera.	23
2.10. Adquisición de hipercubo espectral con el sistema ASCLEPIOS.	24
2.11. Hipercubo espectral generado con sistema ASCLEPIOS.	24
2.12. Coeficiente de absorción por melanina.	26
2.13. Coeficiente de absorción por fondo en epidermis.	26
2.14. Absorción en epidermis.	27
2.15. Coeficiente de extinción molar de la oxihemoglobina y desoxihemoglobina [8].	28
2.16. Absorción por hemoglobina [8].	28
2.17. Absorción en dermis.	29
2.18. Absorción en hipodermis [10].	29
2.19. Coeficiente de dispersión reducido por keratina.	30
2.20. Coeficiente de dispersión reducido por Colágeno.	31
2.21. Coeficiente de dispersión reducido por Fibroblastos.	31
2.22. Coeficiente de dispersión reducido por Macrófagos.	32
2.23. Dispersión en dermis.	32
2.24. Reflectancia total en tejido humano.	33
2.25. Esquema de algoritmo genético utilizado.	34
2.26. Selección de número de iteraciones en AG.	35
2.27. Selección de número de individuos en AG.	35
3.1. Firmas bien optimizadas para tejido sano.	42
3.2. Firmas mal optimizadas para tejido sano.	43
3.3. Firmas bien optimizadas para borde de úlcera.	43
3.4. Firmas mal optimizadas para borde de úlcera.	44
3.5. Firmas bien optimizadas para centro de úlcera.	44
3.6. Firmas mal optimizadas para centro de úlcera.	45
3.7. Parámetros biológicos estimados en tejido sano.	50
3.8. Parámetros biológicos estimados en borde de úlcera.	51
3.9. Parámetros biológicos estimados en centro de úlcera.	52
3.10. Variación de espesor epidermis z_1 .	53
3.11. Variación de espesor dermis z_2 .	54
3.12. Variación del diámetro de keratinocitos D_{ker} .	54

3.13. Variación del diámetro de colágeno D_{col}	55
3.14. Variación de la fracción volumétrica de colágeno $Fvol_{col}$	55
3.15. Variación del diámetro de fibroblastos D_{fibro}	56
3.16. Variación del diámetro de macrófagos D_{macro}	56
3.17. Variación de la fracción volumétrica de melanina f_{mel}	57
3.18. Variación de la fracción volumétrica de hemoglobina f_{blood}	57
3.19. Variación de la saturación de oxígeno en la sangre SO_2	58
3.20. Evolución de la úlcera cutánea del G1C3H3 durante el estudio.	59
3.21. Evolución firmas espectrales en tejido sano en G1C3H3.	59
3.22. Evolución firmas espectrales en borde de úlcera en G1C3H3.	60
3.23. Evolución firmas espectrales en centro de úlcera en G1C3H3.	61
3.24. Rangos de las 4 fechas tomadas para el seguimiento al tratamiento.	61
3.25. Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C2H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	62
3.26. Selección de tejidos por fecha diferentes en G2C4H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	63
3.27. Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C3H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	63
3.28. Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C2H3 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	64
3.29. Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C3H3 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	64
3.30. Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C6H2 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	65
3.31. Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C2H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	65
3.32. Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C2H2 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	66
3.33. Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C1H2 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	66
3.34. Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C5H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.	67
3.35. Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos durante la etapa de formación de úlcera. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.	68
3.36. Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos durante la etapa de tratamiento de úlcera. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.	69
3.37. Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos durante la etapa de pos-tratamiento de úlcera. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.	70
3.38. Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos en última fecha de pos-tratamiento. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.	71
3.39. Resultado de histologías para los 10 hámsteres analizados.	72
3.40. Relación de parámetros histológicos con variables estimadas por modelo inverso.	73
3.41. Mapas de concentración G1C2H1 día 30 (E1). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{kera}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, Y $J=SO_2$	75
3.42. Mapas de concentración G1C2H1 día 55 (E2). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{kera}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, Y $J=SO_2$	75
3.43. Mapas de concentración G1C2H1 día 154 (E3b). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{kera}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, Y $J=SO_2$	76
3.44. Mapas de concentración G2C4H1 día 15 (E1). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{kera}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, Y $J=SO_2$	77
3.45. Mapas de concentración G2C4H1 día 66 (E2). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{kera}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, Y $J=SO_2$	78

3.46. Mapas de concentración G2C4H1 día 164 (E3b). Imagen real arriba y mapas de concentración de-
 bajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_kera$, $D=D_Col$, $E=Fvol_Col$, $F=D_fibro$, $G=D_macro$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$,
 y $J=SO_2$ 79

3.47. Mapas de concentración G1C3H1 día 30 (E1). Imagen real arriba y mapas de concentración de-
 bajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_kera$, $D=D_Col$, $E=Fvol_Col$, $F=D_fibro$, $G=D_macro$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, y
 $J=SO_2$ 80

3.48. Mapas de concentración G1C3H1 día 66 (E2). Imagen real arriba y mapas de concentración de-
 bajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_kera$, $D=D_Col$, $E=Fvol_Col$, $F=D_fibro$, $G=D_macro$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, y
 $J=SO_2$ 80

3.49. Mapas de concentración G1C3H1 día 154 (E3b). Imagen real arriba y mapas de concentración de-
 bajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_kera$, $D=D_Col$, $E=Fvol_Col$, $F=D_fibro$, $G=D_macro$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$,
 y $J=SO_2$ 81

ÍNDICE DE TABLAS

1.1. Modelos inversos interacción luz-tejido aplicado a tejido humano. Primera parte	6
1.2. Modelos inversos interacción luz-tejido aplicado a tejido humano. Segunda parte	7
1.3. Análisis espectrales sobre tejido murino	8
2.1. Variables de absorción en tejido humano	30
2.2. Diámetro de células dispersivas en piel humana	33
3.1. Firmas espectrales adquiridas en G1	40
3.2. Firmas espectrales adquiridas en G2	40
3.3. Firmas espectrales adquiridas en G3	41
3.4. Firmas espectrales adquiridas en G4	41
3.5. Firmas espectrales adquiridas correctamente optimizadas en G1	45
3.6. Firmas espectrales adquiridas correctamente optimizadas en G2	46
3.7. Firmas espectrales adquiridas correctamente optimizadas en G3	46
3.8. Firmas espectrales adquiridas en G4	47
3.9. Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 1	47
3.10. Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 2	48
3.11. Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 3	48
3.12. Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 4	49
3.13. Rangos de parámetros biológicos en modelo animal	53
3.14. Relación entre las afecciones del tejido presentes en una histología y las variables del modelo inverso.	71
A.1. Test de Anova en hámster G1C2H1, z_1	86
A.2. Test de Anova en hámster G1C2H1, z_2	86
A.3. Test de Anova en hámster G1C2H1, D_{kera}	87
A.4. Test de Anova en hámster G1C2H1, D_{col}	87
A.5. Test de Anova en hámster G1C2H1, $Fvol_{col}$	87
A.6. Test de Anova en hámster G1C2H1, D_{fibro}	88
A.7. Test de Anova en hámster G1C2H1, D_{macro}	88
A.8. Test de Anova en hámster G1C2H1, f_{mel}	88
A.9. Test de Anova en hámster G1C2H1, f_{blood}	89
A.10. Test de Anova en hámster G1C2H1, SO_2	89
A.11. Test de Anova en hámster G1C2H3, z_1	89
A.12. Test de Anova en hámster G1C2H3, z_2	90
A.13. Test de Anova en hámster G1C2H3, D_{kera}	90
A.14. Test de Anova en hámster G1C2H3, D_{col}	90
A.15. Test de Anova en hámster G1C2H3, $Fvol_{col}$	91
A.16. Test de Anova en hámster G1C2H3, D_{fibro}	91
A.17. Test de Anova en hámster G1C2H3, D_{macro}	91
A.18. Test de Anova en hámster G1C2H3, f_{mel}	92
A.19. Test de Anova en hámster G1C2H3, f_{blood}	92
A.20. Test de Anova en hámster G1C2H3, SO_2	92
A.21. Test de Anova en hámster G1C3H1, z_1	93
A.22. Test de Anova en hámster G1C3H1, z_2	93
A.23. Test de Anova en hámster G1C3H1, D_{kera}	93
A.24. Test de Anova en hámster G1C3H1, D_{col}	94

A.25. Test de Anova en hámster G1C3H1, $Fvol_col$	94
A.26. Test de Anova en hámster G1C3H1, D_fibro	94
A.27. Test de Anova en hámster G1C3H1, D_macro	95
A.28. Test de Anova en hámster G1C3H1, f_{mel}	95
A.29. Test de Anova en hámster G1C3H1, f_{blood}	95
A.30. Test de Anova en hámster G1C3H1, SO_2	96
A.31. Test de Anova en hámster G1C3H3, z_1	96
A.32. Test de Anova en hámster G1C3H3, z_2	96
A.33. Test de Anova en hámster G1C3H3, D_kera	97
A.34. Test de Anova en hámster G1C3H3, D_col	97
A.35. Test de Anova en hámster G1C3H3, $Fvol_col$	97
A.36. Test de Anova en hámster G1C3H3, D_fibro	98
A.37. Test de Anova en hámster G1C3H3, D_macro	98
A.38. Test de Anova en hámster G1C3H3, f_{mel}	98
A.39. Test de Anova en hámster G1C3H3, f_{blood}	99
A.40. Test de Anova en hámster G1C3H3, SO_2	99
A.41. Test de Anova en hámster G1C6H2, z_1	99
A.42. Test de Anova en hámster G1C6H2, z_2	100
A.43. Test de Anova en hámster G1C6H2, D_kera	100
A.44. Test de Anova en hámster G1C6H2, D_col	100
A.45. Test de Anova en hámster G1C6H2, $Fvol_col$	101
A.46. Test de Anova en hámster G1C6H2, D_fibro	101
A.47. Test de Anova en hámster G1C6H2, D_macro	101
A.48. Test de Anova en hámster G1C6H2, f_{mel}	102
A.49. Test de Anova en hámster G1C6H2, f_{blood}	102
A.50. Test de Anova en hámster G1C6H2, SO_2	102
A.51. Test de Anova en hámster G2C4H1, z_1	103
A.52. Test de Anova en hámster G2C4H1, z_2	103
A.53. Test de Anova en hámster G2C4H1, D_kera	103
A.54. Test de Anova en hámster G2C4H1, D_col	104
A.55. Test de Anova en hámster G2C4H1, $Fvol_col$	104
A.56. Test de Anova en hámster G2C4H1, D_fibro	104
A.57. Test de Anova en hámster G2C4H1, D_macro	105
A.58. Test de Anova en hámster G2C4H1, f_{mel}	105
A.59. Test de Anova en hámster G2C4H1, f_{blood}	105
A.60. Test de Anova en hámster G2C4H1, SO_2	106
A.61. Test de Anova en hámster G4C1H2, z_1	106
A.62. Test de Anova en hámster G4C1H2, z_2	106
A.63. Test de Anova en hámster G4C1H2, D_kera	107
A.64. Test de Anova en hámster G4C1H2, D_col	107
A.65. Test de Anova en hámster G4C1H2, $Fvol_col$	107
A.66. Test de Anova en hámster G4C1H2, D_fibro	108
A.67. Test de Anova en hámster G4C1H2, D_macro	108
A.68. Test de Anova en hámster G4C1H2, f_{mel}	108
A.69. Test de Anova en hámster G4C1H2, f_{blood}	109
A.70. Test de Anova en hámster G4C1H2, SO_2	109
A.71. Test de Anova en hámster G4C2H1, z_1	109
A.72. Test de Anova en hámster G4C2H1, z_2	110
A.73. Test de Anova en hámster G4C2H1, D_kera	110
A.74. Test de Anova en hámster G4C2H1, D_col	110
A.75. Test de Anova en hámster G4C2H1, $Fvol_col$	111
A.76. Test de Anova en hámster G4C2H1, D_fibro	111
A.77. Test de Anova en hámster G4C2H1, D_macro	111

A.78. Test de Anova en hámster G4C2H1, f_{mel}	112
A.79. Test de Anova en hámster G4C2H1, f_{blood}	112
A.80. Test de Anova en hámster G4C2H1, SO_2	112
A.81. Test de Anova en hámster G4C2H2, z_1	113
A.82. Test de Anova en hámster G4C2H2, z_2	113
A.83. Test de Anova en hámster G4C2H2, D_{kera}	113
A.84. Test de Anova en hámster G4C2H2, D_{col}	114
A.85. Test de Anova en hámster G4C2H2, $Fvol_{col}$	114
A.86. Test de Anova en hámster G4C2H2, D_{fibro}	114
A.87. Test de Anova en hámster G4C2H2, D_{macro}	115
A.88. Test de Anova en hámster G4C2H2, f_{mel}	115
A.89. Test de Anova en hámster G4C2H2, f_{blood}	115
A.90. Test de Anova en hámster G4C2H2, SO_2	116
A.91. Test de Anova en hámster G4C5H1, z_1	116
A.92. Test de Anova en hámster G4C5H1, z_2	116
A.93. Test de Anova en hámster G4C5H1, D_{kera}	117
A.94. Test de Anova en hámster G4C5H1, D_{col}	117
A.95. Test de Anova en hámster G4C5H1, $Fvol_{col}$	117
A.96. Test de Anova en hámster G4C5H1, D_{fibro}	118
A.97. Test de Anova en hámster G4C5H1, D_{macro}	118
A.98. Test de Anova en hámster G4C5H1, f_{mel}	118
A.99. Test de Anova en hámster G4C5H1, f_{blood}	119
A.100. Test de Anova en hámster G4C5H1, SO_2	119

INTRODUCCIÓN

La *Leishmaniasis* es una enfermedad que se puede presentar en tres formas: visceral, cutánea y mucocutánea, siendo la cutánea la más frecuente. Según la Organización Mundial de la Salud, se calcula que cada año, en todo el mundo se presentan entre 600.000 y 1 millón de casos nuevos [1]. Esta enfermedad se presenta en regiones tropicales, subtropicales, e inclusive en valles interandinos de 19 de los 21 países de Latinoamérica [2]. La *Leishmaniasis* es endémica en más de 98 países afectando a 12 millones de personas mientras que 350 millones están en riesgo [3]. En el Perú, por ejemplo, la *Leishmaniasis* cutánea es endémica en el 75% de la nación [4], en Colombia de igual manera es una enfermedad endémica en casi todo el territorio, que se encuentra presente en zonas boscosas y selváticas (generalmente en regiones de bajos recursos). Esto implica por lo tanto a comunidades alejadas de centros médicos que puedan tratar esta enfermedad. No obstante, en zonas periurbanas de países de América latina se han reportado últimamente casos de *Leishmaniasis* cutánea. En el caso de Colombia, esta enfermedad se ha reportado en ciudades como Villeta, Bucaramanga, Carmen de Bolívar, Cartagena de Indias, Sincelejo y Medellín [5–9]. En el país se han estimado alrededor de 10.000 casos por año, además de 10 millones de personas con riesgos de adquirir la infección, en su mayoría en áreas rurales [10]. Estos datos referentes a la manifestación de úlceras cutáneas por *Leishmaniasis* demuestran que aún falta investigar esta problemática desde diferentes áreas del saber, específicamente apuntando hacia el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. Esta falencia ha sido identificada durante la 60ª Asamblea Mundial de la Salud realizada en mayo de 2007, en donde se aprobó la Resolución 60.13 [11], en la cual los países miembros se comprometen a aumentar los esfuerzos para intensificar las acciones de vigilancia y control de la *Leishmaniasis*. Por ello, en marzo de 2010, la Organización Mundial de la Salud (OMS) convocó al Comité de Expertos sobre *Leishmaniasis* para trabajar en este tema. Producto de dicha reunión se publicó el Informe técnico 949 “Control de la *leishmaniasis*” [3]. En este informe se resalta la necesidad de actualizar los datos epidemiológicos y definir estrategias apropiadas para el control de la *Leishmaniasis* en las diferentes regiones geográficas. Entre las acciones de control identificadas se resalta la importancia de: 1) un diagnóstico adecuado, temprano y oportuno, 2) un tratamiento adecuado de las personas enfermas y 3) el control de vectores.

Para el desarrollo de nuevos medicamentos y procedimientos médicos en humanos, la literatura propone una etapa de prueba en animales [12]. Lo mencionado indica que es una opción válida investigar los efectos de la *Leishmaniasis* en la piel de hámster dorado, con el fin de analizar el comportamiento de la piel durante la formación de una úlcera cutánea y tratamiento de la misma con medicamentos específicos [13]. Específicamente, el hámster dorado es el modelo animal que más se ha utilizado en la comunidad científica para el análisis de enfermedades como la *Leishmaniasis* [13]. Lo anterior, debido a las cualidades genéticas que posee esta especie [14–16].

Cuando la luz interactúa con un tejido ocasiona que los parámetros biológicos de éste reaccionen generando absorción, dispersión y reflexión de la luz para cada longitud de onda. Este proceso no invasivo ha sido tratado por la comunidad científica para estudiar la variación de componentes biológicos antes, durante y después de sufrir una úlcera, por ejemplo, la variación en el nivel de oxigenación en la sangre [17]. La variación de estos parámetros podrían permitir el diagnóstico de una úlcera [18, 19]. Sin embargo, la mayoría de los casos estudiados se remiten a úlceras causadas por diabetes. Junto a los sistemas ópticos no invasivos, sensores espectrales y modelos matemáticos de reflectancia difusa, es posible explorar la diferencia que presenta la interacción de la luz en piel sana y piel con úlceras causadas bien sea por diabetes o *Leishmaniasis*.

Algunos autores han trabajado en modelos de reflectancia en piel de ratones [20–25]; proponiendo modelos de interacción luz-tejido como el de Kubelka-Munk, mientras que el modelo exponencial implementado en piel humana no ha sido probado aún [26]. El estudio de un modelo de interacción luz-tejido exponencial de tres capas que abarque la epidermis, dermis e hipodermis y que sea aplicado a la piel de hámster dorado podría

permitir un análisis para identificar y dar seguimiento a las principales etapas de formación y curación por tratamiento de las úlceras causadas por *Leishmaniasis*. Lo anterior, constituye así el objeto de trabajo principal de la presente tesis.

Esta tesis de maestría se realiza bajo el proyecto “Desarrollo y evaluación de un sistema portátil no invasivo basado en imágenes multiespectrales para el diagnóstico y seguimiento de tratamiento de úlceras cutáneas causadas por *Leishmaniasis*” registrado en Colciencias con el código 57186, como la etapa de análisis de la enfermedad de *Leishmaniasis* en hámsteres dorados por medio de un modelo de interacción luz-tejido inverso sobre imágenes espectrales.

OBJETIVO GENERAL

Proponer un modelo inverso para el procesamiento de imágenes multiespectrales de tejido cutáneo animal y evaluar su desempeño para la caracterización de la formación y seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas causadas por *Leishmaniasis* en hámsteres dorados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A. Desarrollar un modelo de interacción luz-tejido para hámster dorado a partir de un modelo de tres capas de piel humana.
- B. Implementar un método de optimización basado en algoritmos genéticos para la inversión del modelo de interacción luz-tejido.
- C. Evaluar el modelo inverso en firmas e imágenes multiespectrales de tejido cutáneo de hámster dorado para caracterizar la formación y seguimiento al tratamiento de úlceras causadas por *Leishmaniasis*.

ESTRUCTURA GENERAL DE LA TESIS

En el primer capítulo se introducen todos los conceptos básicos sobre espectroscopía, enfocado al análisis de tejidos blandos, también se mencionan los modelos matemáticos de interacción luz-tejido utilizados en la literatura, junto con los sistemas de información de adquisición de información espectral y la definición de modelo inverso. Finalmente se exponen los estudios realizados sobre úlceras cutáneas, concluyendo con las diferentes etapas presentes en la *Leishmaniasis*.

En el segundo capítulo se abarca la metodología utilizada en desarrollo de esta tesis. Para ello, se explican los procedimientos utilizados para la adquisición de datos espectrales en hámsteres dorados, tanto para las firmas espectrales como para los hiper cubos espectrales. Posteriormente, se mencionan los diferentes coeficientes de absorción y dispersión para la epidermis, dermis e hipodermis. De igual manera, se explica la metodología del modelo inverso implementado por medio de algoritmos genéticos, los parámetros elegidos para dicho algoritmo, su funcionamiento y el procedimiento para hallar el rango de búsqueda. Finalmente se hace una breve explicación del test de varianza (ANOVA del inglés *Analysis of variance*) utilizado sobre los resultados arrojados por el modelo inverso.

En el tercer capítulo se presentan los resultados obtenidos a lo largo de la tesis. Empezando por la base de datos realizada en el bioterio de la Universidad de Antioquia, obteniendo firmas espectrales e hiper cubos de tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera. Se presenta la simulación del modelo directo de reflectancia difusa de tres capas propuesto, con variaciones en sus parámetros. Con ayuda del modelo inverso se estiman los parámetros biológicos para los tres tipos de tejidos utilizados. Se realiza un test de ANOVA a 10 hámsteres durante el seguimiento al tratamiento en 4 fechas: La primera durante la formación de la úlcera, una segunda toma durante el tratamiento, la tercera en la primera fecha pos-tratamiento y la última fecha en la última adquisición realizada. Esta última fecha es posteriormente comparada con datos histológicos (Las tablas del valor p arrojado por el test de ANOVA se presentan en el apéndice A). Para analizar el seguimiento al tratamiento por medio de imágenes multiespectrales al utilizar modelo inverso, es decir, por medio de mapas de concentración,

se toman 3 hámsteres infectados con *Leishmaniasis Brasiliensis*, a los cuáles se les hace el seguimiento a: tratamiento experimental, tratamiento comercial y sin tratamiento, de modo que se analizan los cambios en las variables arrojadas por el método inverso a lo largo del tratamiento. En la última fecha se hace una relación con los datos histológicos, demostrando la potencialidad de este método para realizar un seguimiento al tratamiento no solo a úlceras causadas por *Leishmaniasis* sino, probablemente a todo tipo de úlceras.

Como último, se deja una sección de discusión, conclusiones y trabajos futuros, en la cual se realiza un análisis de los resultados presentados en el capítulo 3, y de como se dio alcance a cada objetivo específico por medio de ellos, y por lo tanto de igual forma, al objetivo general de esta tesis.

REFERENCIAS

- [1] World-Health-Organization, “Leishmaniasis,” url <https://goo.gl/2YCFS5>, 2018.
- [2] C. Rios-González, J. Flores, and M. Calvopiña, “Conocimientos sobre leishmania spp. y leishmaniasis en estudiantes de medicina de latinoamérica, 2016,” *Revista chilena de infectología*, vol. 33, no. 4, pp. 481–482, 2016.
- [3] W. H. Organization *et al.*, “Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the who expert committee on the control of leishmaniasis.” in *Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniasis*. World Health Organization, 2010.
- [4] L. Casas, B. Castaneda, and S. Treuillet, “Imaging technologies applied to chronic wounds: a survey,” in *Proceedings of the 4th International Symposium on Applied Sciences in Biomedical and Communication Technologies*. ACM, 2011, p. 167.
- [5] M. Herrera, Y. A. Aguilar, Z. V. Rueda, C. Muskus, and L. A. Vélez, “Comparison of serological methods with pcr-based methods for the diagnosis of community-acquired pneumonia caused by atypical bacteria,” *Journal of negative results in biomedicine*, vol. 15, no. 1, p. 3, 2016.
- [6] A. M. Montalvo, J. Fraga, I. Montano, L. Monzote, G. V. d. Auwera, M. Marín, and C. Muskus, “Molecular identification of leishmania spp. in clinical isolates from colombia based on hsp 70 gene,” *Biomédica*, vol. 36, pp. 37–44, 2016.
- [7] M. J. Pedras, M. Orsini, M. Castro, V. M. Passos, and A. Rabello, “Antibody subclass profile against leishmania braziliensis and leishmania amazonensis in the diagnosis and follow-up of mucosal leishmaniasis,” *Diagnostic microbiology and infectious disease*, vol. 47, no. 3, pp. 477–485, 2003.
- [8] A. Teixeira-Carvalho, F. M. F. Campos, S. M. Geiger, R. D. R. Rocha, F. F. de Araújo, D. M. Vitelli-Avelar, M. C. Andrade, M. S. S. Araújo, E. M. Lemos, A. B. d. F. C. Proietti *et al.*, “Fc-triplex chagas/leish igg1: a multiplexed flow cytometry method for differential serological diagnosis of chagas disease and leishmaniasis,” *PloS one*, vol. 10, no. 4, p. e0122938, 2015.
- [9] S. Telles, T. Abate, T. Slezzynger, and D. A. Henriquez, “Trypanosoma cruzi ubiquitin as an antigen in the differential diagnosis of chagas disease and leishmaniasis,” *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 37, no. 1, pp. 23–28, 2003.
- [10] J. Marín, D. Urrea, C. Muskus, M. C. Echeverry, A. M. Mejía, and O. Triana, “Curvas de fusión de regiones genómicas específicas: una herramienta prometedor para el diagnóstico y tipificación de las especies causantes de la leishmaniasis cutánea en colombia,” *Biomédica*, vol. 37, no. 4, pp. 538–547, 2017.
- [11] N. sesión plenaria. (2007) WHA60.13 Control de la leishmaniasis. [Online]. Available: https://www.who.int/neglected_diseases/mediacentre/WHA_60.13_Esp.pdf
- [12] P. Avci, M. Sadasivam, A. Gupta, W. C. D. Melo, Y.-Y. Huang, R. Yin, R. Chandran, R. Kumar, A. Otufowora, T. Nyame, and M. R. Hamblin, “Animal models of skin disease for drug discovery,” *Expert Opinion on Drug Discovery*, vol. 8, no. 3, pp. 331–355, 2013, PMID: 23293893. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.761202>

- [13] S. M. Robledo, L. M. Carrillo, A. Daza, A. M. Restrepo, D. L. Muñoz, J. Tobón, J. D. Murillo, A. López, C. Ríos, C. V. Mesa *et al.*, “Cutaneous leishmaniasis in the dorsal skin of hamsters: a useful model for the screening of antileishmanial drugs,” 2012.
- [14] R. Laboratories. (2018) LVG Golden Syrian Hamster. [Online]. Available: <https://www.criver.com/products-services/find-model/lvg-golden-syrian-hamster?region=3611>
- [15] J. R. Matias and N. Orentreich, “The hamster ear sebaceous glands. i. examination of the regional variation by stripped skin planimetry,” *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 81, no. 1, pp. 43–46, 1983.
- [16] A. Weissmann, J. Bowden, B. Frank, S. N. Horwitz, and P. Frost, “Morphometric studies of the hamster flank organ: an improved model to evaluate pharmacologic effects on sebaceous glands,” *Journal of investigative dermatology*, vol. 82, no. 5, pp. 522–525, 1984.
- [17] S. Anand, N. Sujatha, V. Narayanamurthy, V. Seshadri, and R. Poddar, “Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer—a pilot study,” *Optics and Lasers in Engineering*, vol. 53, pp. 1–5, 2014.
- [18] T. Dinh, S. Panasyuk, C. Jiang, J. Freeman, A. PANASYUK, M. Nerney, R. Lew, D. Brand, C. Lima, J. GIURINI *et al.*, “The use of medical hyperspectral imaging (mhsi) to evaluate microcirculatory changes in diabetic foot ulcers and predict clinical outcomes,” *Diabetes*, vol. 55, 2006.
- [19] A. Veves, L. Khaodhiar, L. Panasyuk, C. Jiang, J. Freeman, A. Panasyuk *et al.*, “The use of medical hyperspectral imaging (mhsi) to evaluate microcirculatory changes and predict clinical outcomes: application to diabetic foot ulcers. poster p-16 at the society of vascular medicine and biology 17th annual scientific session, may 2006, philadelphia, pa,” *Vascular Medicine*, vol. 11, no. S1, p. S7, 2006.
- [20] L. Azzi, M. El-Alfy, C. Martel, and F. Labrie, “Gender differences in mouse skin morphology and specific effects of sex steroids and dehydroepiandrosterone,” *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 124, no. 1, pp. 22–27, 2005.
- [21] K. Calabro, A. Curtis, J.-R. Galarneau, T. Krucker, and I. J. Bigio, “Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models,” *Journal of biomedical optics*, vol. 16, no. 1, p. 011008, 2011.
- [22] A. Curtis, K. Calabro, J.-R. Galarneau, I. J. Bigio, and T. Krucker, “Temporal variations of skin pigmentation in c57bl/6 mice affect optical bioluminescence quantitation,” *Molecular Imaging and Biology*, vol. 13, no. 6, pp. 1114–1123, 2011.
- [23] C. Sabino, A. Deana, D. Silva, C. França, T. Yoshimura, and M. Ribeiro, “Optical properties of mice skin for optical therapy relevant wavelengths: influence of gender and pigmentation,” in *Mechanisms for Low-Light Therapy X*, vol. 9309. International Society for Optics and Photonics, 2015, p. 93090D.
- [24] C. P. Sabino, A. M. Deana, T. M. Yoshimura, D. F. da Silva, C. M. França, M. R. Hamblin, and M. S. Ribeiro, “The optical properties of mouse skin in the visible and near infrared spectral regions,” *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 160, pp. 72–78, 2016.
- [25] X. Zhong, J. Wang, R. Shi, and D. Zhu, “Reflectance spectroscopy for evaluating optical clearing efficacy of skin *in vivo*,” no. February, p. 85800P, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2006011>
- [26] G. Zonios and A. Dimou, “Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties,” *Optics Express*, vol. 14, no. 19, p. 8661, 2006. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-14-19-8661>

1

MARCO CONCEPTUAL Y TRABAJOS PREVIOS

Contenido

1.1	Introducción	1
1.2	Espectroscopía e imágenes espectrales	1
1.3	Sistemas de adquisición de imágenes espectrales	2
1.3.1	ASCLEPIOS	2
1.4	Reflectancia difusa de tejido cutáneo	3
1.4.1	Modelos directos de interacción luz-tejido	3
1.5	Método inverso de interacción luz-tejido (modelo inverso)	4
1.6	Sistemas y métodos invasivos y no invasivos con potencial para el estudio de úlceras cutáneas	4
1.7	<i>Leishmaniasis</i> cutánea y sus etapas	9
	Referencias	11

1.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se presentan los conceptos preliminares de espectroscopía, tanto para firmas espectrales como para sistemas de adquisición de imágenes espectrales. De igual manera se mencionan los diferentes enfoques que se han utilizado en la literatura para modelar matemáticamente la interacción de la luz con tejidos blandos. También se menciona el uso de modelos inversos para la estimación de parámetros biológicos en diferentes tejidos, los diferentes sistemas y métodos utilizados actualmente por los médicos, para el diagnóstico de úlceras cutáneas. Finalmente se explica como el parásito de *Leishmania* genera una úlcera cutánea y las etapas que conlleva.

1.2. ESPECTROSCOPÍA E IMÁGENES ESPECTRALES

La espectroscopía ha sido utilizada en múltiples áreas como en la conservación del arte [1–3], control de agua y vegetación [4, 5], calidad de alimentos [6, 7], arqueología [8, 9], entre otros. La espectroscopía estudia la respuesta de la materia ante una radiación electromagnética; dicha respuesta puede ser medida con una sonda óptica o espectrómetro [10]. También es posible realizar esta medición en dos dimensiones por medio de sistemas de adquisición de imágenes espectrales. Recientemente los sistemas de adquisición de imágenes multi e hiper-espectrales se han empleado en aplicaciones clínicas [11, 12]. En estos procedimientos se toman un conjunto de imágenes de una misma escena a diferentes longitudes de onda. El número de imágenes (y por lo tanto longitudes de onda) varía de acuerdo con el tipo de sistema. Si el sistema es multiespectral se capturan entre 4 y 20 imágenes, o hiperespectral de más de 20 imágenes. En adelante en este documento se hablará de

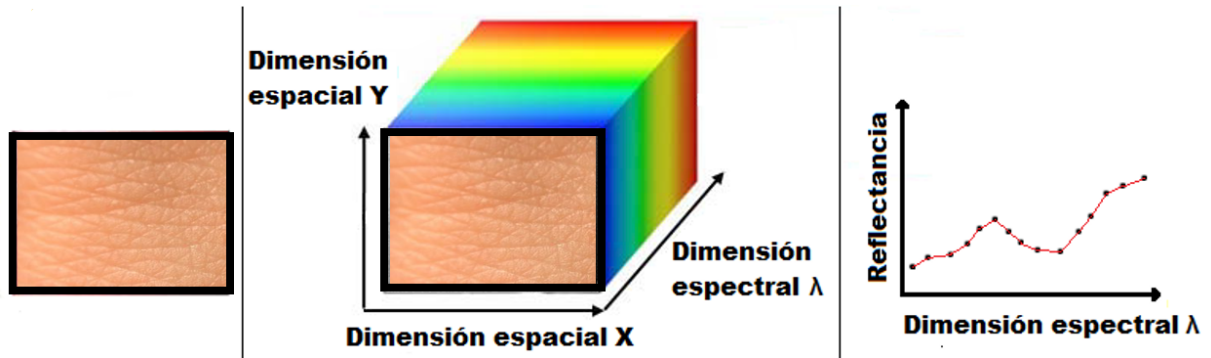


Figura 1.1: Descripción de hipercubo de reflectancia. Adaptado de [13]

sistemas espectrales al abarcar ambos tipos de sistemas. El conjunto de imágenes permitirá recrear una imagen médica espectral que representará la reflectancia difusa del tejido biológico a longitudes de onda discretas (λ_k). El conjunto de imágenes también es llamado hipercubo denotado por $H(x, y, \lambda_k)$, donde (x, y) son las coordenadas espaciales y λ_k es la dimensión espectral. Cada píxel de las imágenes a lo largo del eje λ_k formará una firma espectral con información sobre las características del tejido [13, 14]. La parte izquierda de la Figura 1.1, presenta una imagen RGB de piel, luego se presenta el hipercubo espectral de la misma imagen, y finalmente la firma espectral de un único píxel. La reflectancia adquirida en el hipercubo puede ser tratada matemáticamente por modelos que representen la interacción de la luz-piel con cada uno de los componentes que conforman el tejido bajo estudio [14–20].

Finalmente es importante mencionar las ventajas y desventajas de las firmas espectrales tomadas tanto por un espectrómetro como por un sistema de adquisición de imágenes espectrales. Un espectrómetro puede adquirir una firma en un rango espectral continuo de manera muy precisa y de mayor resolución; sin embargo, dicha firma se remite a un área de observación pequeña. Un sistema de adquisición de imágenes espectrales presenta menor resolución que la de un espectrómetro, pero abarca información de un área mayor.

1.3. SISTEMAS DE ADQUISICIÓN DE IMÁGENES ESPECTRALES

Existen diversos sistemas de adquisición de imágenes espectrales cuya diferencia radica principalmente en el instrumento dispersivo dentro del sistema, que segmentará la luz visible a diferentes longitudes de onda. Entre los instrumentos dispersivos se encuentra el prisma, la rueda de filtros, el LCTF (*Liquid crystal tunable filter*), el AOTF (*Acousto-optic tunable filter*), entre otros, [11, 21–28]. Entre las múltiples aplicaciones de los sistemas de adquisición de imágenes espectrales, en la literatura se pueden encontrar autores que los han utilizado para clasificar, diagnosticar y/o monitorear patologías en la piel [13, 29–31].

1.3.1. ASCLEPIOS

Un ejemplo de un sistema novedoso de adquisición de imágenes hiperespectrales, desarrollado y validado en dermatología por el laboratorio Le2i *Laboratoire Electronique, Informatique et Image*, en la *Université de Bourgogne* en Dijon-Francia, es ASCLEPIOS, siglas de: “*Analysis of Skin Characteristics by Light Emission and Processing Of Image of Spectrum*”. ASCLEPIOS es un sistema que consta de una fuente de luz halógena, diez filtros de interferencia en el rango visible y cercano infrarrojo, una guía de onda líquida y un objetivo unido a una cámara CCD. Los filtros tienen un FWHM (*Full Width at Half Maximum*) de 80 nm, cuyas longitudes de onda centrales se encuentran entre los 420 y los 840 nm. Al utilizar los diez filtros a diferentes longitudes de onda se obtiene el mismo número de imágenes, las cuales son procesadas por un algoritmo basado en redes neuronales que permite obtener una imagen hiperespectral con 33 bandas en el rango de 430 y 780 nm con una resolución de 10 nm. A cada píxel de la imagen hiper-espectral le corresponde una firma espectral de reflectancia difusa

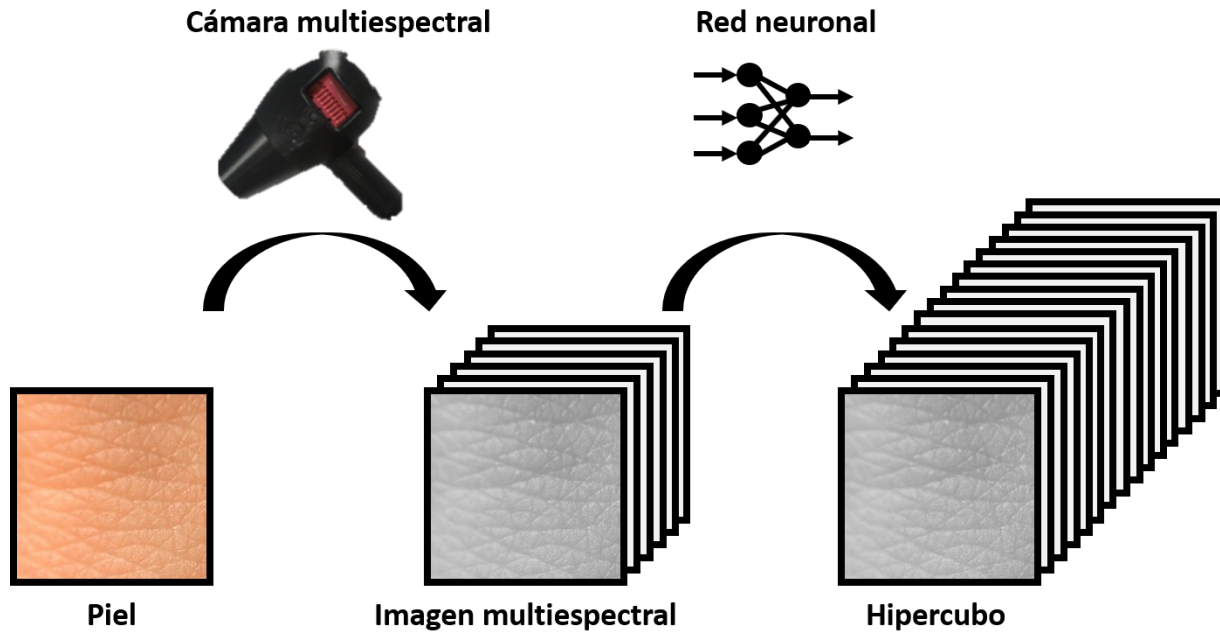


Figura 1.2: Proceso interno del sistema ASCLEPIOS. Adaptado de [13]

obtenida tras la interacción de cada longitud de onda con el tejido [13, 15] (Figura 1.2). El sistema ASCLEPIOS ha permitido el desarrollo de proyectos de investigación en dermatología y gastroenterología, obteniendo firmas espectrales de reflectancia difusa en tejidos sanos y patológicos [13, 32–35]. Sin embargo, este dispositivo no ha sido utilizado aún en la adquisición de imágenes espectrales sobre tejido animal.

1.4. REFLECTANCIA DIFUSA DE TEJIDO CUTÁNEO

Cuando la luz interactúa con la piel, parte de la luz incidente es absorbida en el tejido (debido a los cromóforos propios del tejido cutáneo), mientras que la parte restante se somete a una dispersión múltiple dentro del tejido debido al componente celular, hasta finalmente emerger a la superficie del tejido como reflectancia difusa [19]. Por lo tanto, la espectroscopía de reflectancia difusa consiste en determinar las propiedades de radiación de una muestra absorbente y dispersante a partir de mediciones de la reflectancia [16]. Los modelos de reflectancia difusa han sido utilizados para analizar y caracterizar diferentes tipos de piel (sana y patológica), incluyendo esófago [36], colon [37], cérvix [12], cavidad oral [38], seno [39], ovarios [40], entre otros [41]. El análisis de la reflectancia difusa permite estudiar los parámetros biológicos encargados de darle la composición al tejido en cuestión. La disminución o aumento de ellos puede indicar una posible alteración del tejido por alguna patología en particular [42, 43].

1.4.1. MODELOS DIRECTOS DE INTERACCIÓN LUZ-TEJIDO

Una herramienta fundamental para el análisis y evaluación de tejidos con sistemas espectrales, es la implementación de modelos matemáticos de propagación de la luz en el tejido; estos modelos son esenciales para guiar las aplicaciones actuales y promover nuevos desarrollos en la óptica biomédica. Los enfoques matemáticos más comunes para el estudio de la propagación de la luz en la piel y otros tejidos se basan en los modelos Kubelka-Munk junto a las ecuaciones de Fresnel, ecuación de transferencia radiativa, ley modificada Beer-Lambert y modelo de difusión de fotones [44–49]. A parte de los métodos analíticos para realizar un modelo de interacción luz-tejido, existe el método Monte Carlo, el cual es una técnica estadística para simular las variables de un proceso aleatoriamente, y ha sido utilizado en el modelamiento de la interacción luz-tejido bajo una variedad de situaciones [16, 48, 50, 51]. Junto a esta técnica y los modelos de reflectancia difusa (o mode-

los directos), es posible simular firmas espectrales de un tejido, y al igual que con los hipercubos hallados con los sistemas de adquisición de imágenes hiper-espectrales, se puede extraer información del tejido a partir de dichas firmas. Para ello hace falta la implementación de un método inverso del modelo de reflectancia, para cuantificar parámetros del modelo.

Los modelos de interacción luz-tejido en piel humana parten del hecho de que esta consta de tres capas principales que comienzan por la superficie: la epidermis con alrededor de $100\ \mu\text{m}$ de espesor, la dermis de aproximadamente $1000\text{-}4000\ \mu\text{m}$ de grosor y la grasa subcutánea o hipodermis de aproximadamente $1000\text{-}6000\ \mu\text{m}$ de grosor [42]. Cuando se utiliza una fuente de luz para iluminar el tejido de la piel, la luz se difunde por la dermis, pasa parcialmente hasta llegar al tejido subcutáneo. En el espectro visible ($400\text{-}700\ \text{nm}$), la mayor parte de la luz incidente se refleja en el tejido epidérmico y dérmico; sin embargo, la luz puede alcanzar la capa más profunda del tejido cutáneo cuando se incrementa la longitud de onda de la luz incidente (infrarrojo cercano $800\text{-}2500\ \text{nm}$) [42]. En los modelos encontrados en la literatura es normal notar suposiciones referentes a las naturalezas físicas de la piel, con el fin de acotar el modelo a un número N de capas. Entre ellos existen modelos de interacción luz-tejido de 1 capa [15, 18, 19], 2 capas [13, 14, 16, 17, 20, 37, 45, 52–54], 3 capas, [46, 51, 55], 5 capas [56], 6 capas [45], 7 capas [57], 10 capas [10, 43, 58], y hasta 22 capas [59]. Los modelos con más de tres capas corresponden a las subdivisiones de las tres capas principales de la piel.

Como se aprecia, aunque existe múltiple variedad de capas a seleccionar para realizar un modelo, se suele elegir en mayor medida un modelo de dos capas ya que los parámetros biológicos más influyentes en la región visible de la luz se encuentran en las dos primeras capas de la piel: la melanina en la epidermis y la hemoglobina en la dermis. A la vez, los sistemas de adquisición de imágenes espectrales utilizados no suelen llegar hasta el infrarrojo cercano, evitando la penetración necesaria de la luz para poder alcanzar la hipodermis [42].

1.5. MÉTODO INVERSO DE INTERACCIÓN LUZ-TEJIDO (MODELO INVERSO)

Por medio de un modelo inverso basado en optimización, se pueden estimar los componentes de un tejido bajo estudio, todo a partir del espectro de reflectancia difusa obtenida por un hipercubo o un espectrómetro. En el caso de la piel, esos valores pueden ser relacionados con la hemoglobina, melanina, colágeno, entre otros [15]. En un modelo inverso se parte de los espectros medidos de reflectancia difusa como entrada, y dicho modelo proporciona como resultado las propiedades de absorción y dispersión del tejido en estudio [19, 60]. Para este cometido, la literatura proporciona varios algoritmos que cumplen con un método inverso de interacción luz-tejido. Algunos algoritmos utilizados son los basados en algoritmos genéticos [13, 15, 37], por los k vecinos más cercanos (KNN) [58], por *Levenberg-Marquardt* [14, 16], por *Newton-Raphson* [50], por Máquinas de soporte vectorial (SVM) [10, 58, 61], *random forest* [48], entre otros [62]. Por otra parte, aunque las simulaciones Monte Carlo sean una buena herramienta para modelos directos, son difíciles de usar en los métodos inversos asociados con la espectroscopía de reflectancia difusa debido al costo computacional que implican [16].

Ahora bien, teniendo un modelo directo de interacción luz-tejido, junto a un modelo inverso, es posible realizar un estudio sobre un tejido determinado bajo alguna circunstancia en particular. Es decir, si se conoce el comportamiento de la luz sobre un tejido sano, al analizar un tejido enfermo se podrá evaluar qué parámetros biológicos se ven afectados debido a la enfermedad. Esta información permitirá evaluar la enfermedad en particular. La siguiente sección presenta una explicación de estos procedimientos aplicados a úlceras cutáneas.

1.6. SISTEMAS Y MÉTODOS INVASIVOS Y NO INVASIVOS CON POTENCIAL PARA EL ESTUDIO DE ÚLCERAS CUTÁNEAS

La piel, siendo el órgano más grande del ser humano, se encarga de presentar la primera defensa del cuerpo ante el exterior, pero como cualquier otro órgano, puede enfermar. Las úlceras cutáneas por pequeñas que sean, si no son tratadas adecuadamente pueden empeorar hasta obligar la amputación de un miembro del cuerpo, inclusive pueden causar la muerte [63]. Las úlceras pueden aparecer como manifestación clínica de múltiples enfermedades, como lo es la diabetes. Los pacientes con diabetes generalmente desarrollan úlceras en los pies.

Existen úlceras venosas, arteriales, neurotróficas, linfáticas, malignas, infecciosas, inducidas por presión e inflamatorias [64]. Con el fin de diagnosticar heridas crónicas como lo son las úlceras cutáneas, se implementan diversas metodologías, entre ellas se encuentra el uso de signos clínicos, biopsia clínica o con punción por aspiración con aguja. Aunque estas metodologías suelen ser efectivas también acarrear grandes riesgos. El principal de ellos es que los dos últimos métodos son invasivos, lo que conlleva a que el paciente deba asumir dolor y que la herida pueda empeorar [65, 66].

Para evitar el uso de sistemas invasivos en la piel, se han desarrollado estrategias no invasivas que permiten el diagnóstico de heridas. Dentro de estas se encuentran dispositivos que ayudan al especialista en diferentes procedimientos médicos. Dichos dispositivos permiten evaluar características en la piel tales como: morfología del tejido mediante un microscopio o por tomografía de coherencia óptica “OCT” [67], textura por perfilometría 3D [68], dimensiones de una herida por imágenes 3D [69, 70], espesor de la piel por ultrasonografía [71], glándulas sebáceas (niveles de lípidos) utilizando un sebómetro [72], barreras de la piel por pérdida de agua transepidérmica “TEWL” [73], pigmentación por espectroscopía, entre otros. En conclusión, existen múltiples elementos no invasivos en el área de la medicina que permiten extraer diversas características de la piel (sana y enferma). Dentro de los parámetros mecánicos se incluyen la flexibilidad y la elasticidad de la piel; entre los parámetros anatómicos se encuentra la pigmentación, el espesor, textura, morfología del tejido y dimensiones de la herida. Y en las características fisiológicas se tienen las glándulas sebáceas, espesor de las capas de la piel y flujo sanguíneo [74]. La naturaleza no invasiva de estos procesos representa un aporte valioso en el diagnóstico y seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas.

Varios autores han investigado sobre los principales parámetros biológicos afectados en los bordes y dentro de úlceras cutáneas en humanos [75]. De igual manera han desarrollado sistemas para detección temprana de úlceras a partir de la saturación de oxígeno en la piel, pigmentación, grosor de la epidermis, clasificación de piel sana, tejido epitelial y granuloso, entre otros factores [76, 77]. Todo a partir de un modelo directo de interacción luz-tejido, un sistema de adquisición de firmas espectrales y un método inverso. De esta manera pueden ver el comportamiento de varias propiedades biológicas de la zona en cuestión y las principales diferencias entre una zona sana, una zona en peligro de úlcera, una zona enferma y una zona en proceso de cicatrización [78, 79]. Gracias a esto se han logrado grandes avances en la detección, clasificación y evaluación de enfermedades en la piel [42, 80–82].

Las Tablas 1.1 y 1.2 presentan de una forma ordenada los autores encontrados en la literatura que han obtenido resultados favorables al utilizar un modelo inverso de interacción luz tejido aplicado a humanos. En ella se presentan los principales aspectos utilizados en sus investigaciones como lo son: sistema de adquisición de firmas espectrales con su rango espectral, tejido al cual aplicaron el modelo (sano o patológico), algoritmos utilizados tanto para modelo directo como para el inverso y finalmente los resultados obtenidos como la concentración de ciertas propiedades biológicas del tejido.

Ref.	Rango espectral	Tejido analizado	Modelo directo	Algoritmos	Resultados
[50]	Espectrómetro [350-850]nm	Phantom	Simulación por Monte Carlo. (No especifican número de capas)	Monte Carlo (Modelo directo), Mínimos cuadrados no lineales Gauss-Newton (Modelo inverso)	Coefficiente de absorción y dispersión
[16]	OxyVu (HyperMed Inc. Burlington) [490-650]nm	Tejido in vivo – Humano: dedo sano	Kubelka-Munk. 1 capa semi-infinita	Lenverg-Marquardt (Modelo inverso)	Concentración de melanina, hemoglobina, saturación de oxígeno y espesor de piel
[14]	OxyVu [500-600]nm	Tejido in vivo – Humano: pie con úlcera por diabetes	Kubelka-Munk. 2 capas	Lenverg-Marquardt (Modelo inverso)	Concentración de melanina, hemoglobina, saturación de oxígeno, espesor epidérmico y coeficiente de dispersión de transporte
[37]	Rueda de filtros [420-960]nm	Tejido ex vivo – Humano: colon. Sano y con pólipo	Exponencial. 1 capa semi-infinita	Algoritmos genéticos (Modelo inverso)	Concentración de colágeno, hemoglobina, tamaño fibras colágenas y saturación de oxígeno
[61]	Simulación modelo directo [450-800]nm	NA – Datos simulados con modelo directo	Kubelka-Munk con ecuaciones de Fresnel. N capas	Regresión por máquinas de soporte vectorial SVR (Modelo inverso)	Concentración de melanina, colágeno y saturación de oxígeno

Ref: referencia, NA: No aplica.

Tabla 1.1: Modelos inversos interacción luz-tejido aplicado a tejido humano. Primera parte

Tabla 1.2: Modelos inversos interacción luz-tejido aplicado a tejido humano. Segunda parte

Ref.	Rango espectral	Tejido analizado	Modelo directo	Algoritmos	Resultados
[58]	Simulaciones entre [450-1800]nm. Datos adquiridos entre [400-800]nm	Tejido in vivo – Humano: Antebrazo, brazo, espalda, mejilla y palma. Sano	Kubelka-Munk con ecuaciones de Fresnel. 10 capas	Vecinos más cercanos KNN (Modelo inverso)	Concentración de melanina, colágeno y saturación de oxígeno
[43]	Simulaciones entre [450-1800]nm. Datos adquiridos entre [400-800]nm	Tejido in vivo – Humano: Antebrazo, brazo, espalda, mejilla y palma. Sano	Kubelka-Munk con ecuaciones de Fresnel. 10 capas	Regresión por máquinas de soporte vectorial SVR (Modelo inverso)	Concentración de melanina, colágeno, sangre y saturación de oxígeno
[10]	Espectrómetro ASD LabSpec 4 [450-1800]nm y Ultrasonix XonixTablet (Analogic Ultrasound, MA, USA)	Tejido in vivo – Humano: Antebrazo, brazo, espalda, mejilla y palma. Sano	Kubelka-Munk con ecuaciones de fresnel. 10 capas	Regresión por máquinas de soporte vectorial SVR (Modelo inverso)	Concentración de melanina, colágeno, sangre, saturación de oxígeno y espesor de piel
[48]	5Mpix Spectrocam [470-700]nm	Tejido in vivo – Porcino: colon. Sano	Monte Carlo. N capas	Beer-Lambert law (Modelo directo). Regresión random forest, SVR, KNN (Modelo inverso)	Concentración de sangre y saturación de oxígeno
[15]	ASCLEPIOS [430-780]nm	Tejido in vivo – Humano: úlcera por <i>leishmaniasis</i>	Exponencial. 1 capa semi-infinita	Algoritmos genéticos (Modelo inverso)	Concentración de melanina, sangre, melanosomas y diámetro partículas de colágeno

Ref: referencia, NA: No aplica.

Por otro lado, en la Tabla 1.3 se presenta la información encontrada en la literatura sobre modelos de reflectancia difusa en murinos o análisis espectrales realizados en los mismos. Como puede verse, aún falta explorar tanto los modelos directos como los modelos inversos en murinos. De allí que en esta tesis de maestría se proponga aplicar un modelo directo e inverso a tejido de hámsteres dorados durante una enfermedad como lo es la úlcera cutánea por *Leishmaniasis*.

Tabla 1.3: Análisis espectrales sobre tejido murino

Ref.	Rango espectral	Tejido analizado	Modelo directo	Algoritmos	Resultados
[83]	Esfera integradora Internal DRA-2500, Agilent, Australia [400-1400]nm	Tejido ex vivo – Ratonés C57BL/6 y BALB/c: Región dorsal. Sanos	Kubelka-Munk	NA (No modelo inverso)	Firmas características de reflectancia y transmitancia
[84]	Espectroscopia de dispersión elástica (EES) [400-750]nm	Tejido ex vivo – Ratonés C57BI/6 y atómico desnudo: Región dorsal, omoplato izquierdo y derecho, cadera. Sanos	Monte Carlo. 3 capas	Mínimos cuadrados por Levenberg-Marquardt (Modelo directo). (No modelo inverso)	Tamaño de epidermis, dermis e hipodermis de ratones machos y hembras
[85]	Espectrómetro USB-4000 Ocean Optics	Tejido in vivo – Ratonés BALB/c: Región dorsal. Sanos.	Monte Carlo 1 capa	NA	Al utilizar agentes de limpieza óptica (OCAs) la luz penetra más el tejido.
[86]	Esfera integradora con espectrómetro [630-905]nm	Tejido ex vivo – Ratonés BALB/c y C57BL/6: Región dorsal. Sanos	Kubelka-Munk	NA	Grosos de epidermis, dermis, tejido adiposo, músculo, tejidos conectivos en machos y hembras
[87]	Bioluminiscencia con Xenogen IVIS 200 y Reflectancia difusa con espectrómetro Ocean Optics S2000 [400-700]nm	Tejido in vivo y ex vivo – Ratonés C57BI/6	NA	NA	Comparan y correlacionan datos de bioluminiscencia y reflectancia en la piel de ratones concluyendo que la concentración de melanina afecta la bioluminiscencia y la reflectancia

Ref: referencia, NA: No aplica.

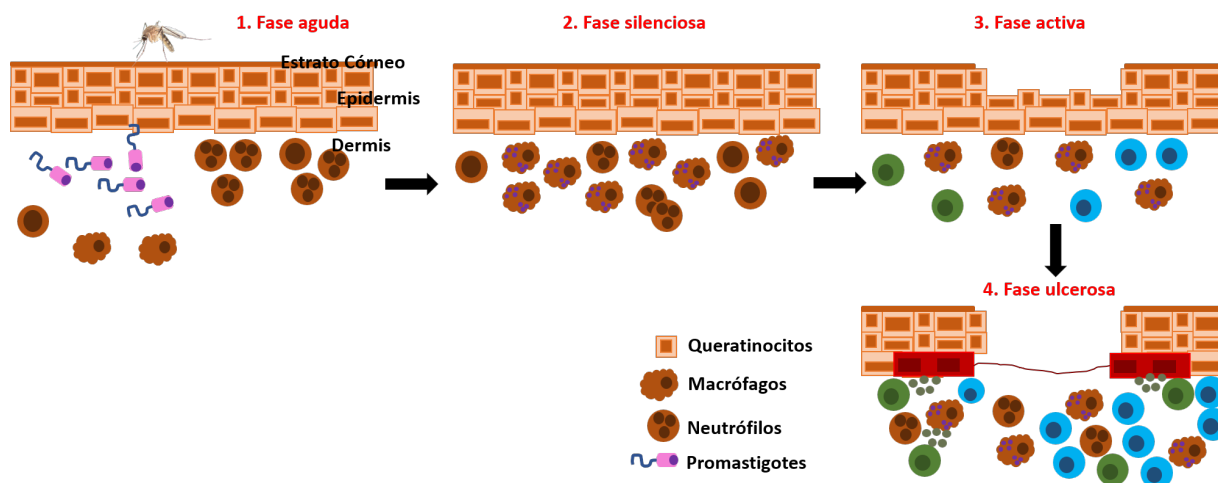


Figura 1.3: Representación gráfica de los cambios presentes en el tejido cutáneo durante la formación de una úlcera cutánea causada por LC. Adaptado de [88].

1.7. *Leishmaniasis* CUTÁNEA Y SUS ETAPAS

Existen numerosas investigaciones sobre el tratamiento de úlceras por diabetes, pero ésta no es la única causa conocida para el desarrollo de una úlcera cutánea. La *Leishmaniasis* cutánea (LC) es una infección, creada por parásitos transmitidos por la picadura de flebótomos hembra infectados, lo que genera una respuesta inflamatoria mediada por los macrófagos de la dermis. Esta infección resulta en inflamación del tejido y formación de úlceras en la piel. La mayoría de los casos de LC cicatrizan espontáneamente. Sin embargo, existen casos en los cuales las úlceras se vuelven crónicas y llegan a generar daños severos en el tejido [89].

Las infecciones de la piel resultan en un extenso cambio del tejido. En el caso de la LC, la infección está asociada con inflamación crónica de la piel. El desarrollo de la LC pasa así por una serie de fases que, dependiendo del fenotipo, incluyen cambios tanto en la epidermis como en la dermis. Sin embargo, en sus fases iniciales, la LC no presenta cambios aparentes en la epidermis. En estas fases, los cambios se presentan a nivel de la dermis, los cuales están asociados con reacciones inflamatorias locales [89]. Sin embargo, se encuentra poca literatura alrededor de dispositivos no invasivos que permitan evaluar este tipo de úlceras.

Una vez que el parásito *Leishmania* se inocula en la piel, ya sea de forma experimental o debido a la picadura de un mosquito, se forma una úlcera cutánea de acuerdo con las siguientes cuatro fases: fase aguda, fase silenciosa, fase activa y fase ulcerosa [88] (en caso de que la úlcera sane, se agrega una fase más llamada fase de cicatrización). Durante estas fases, los parámetros biológicos o las células que pertenecen a la epidermis y la dermis presentan diferentes reacciones o cambios. Entre esas reacciones, es posible nombrar las siguientes (Figura 1.3)

- Fase aguda: no hay cambios en la epidermis. En el caso de la dermis, hay una reacción inflamatoria debido a la infiltración de neutrófilos, células dendríticas y células monocíticas.
- Fase silenciosa: no hay cambios en la epidermis. En el caso de la dermis, está presente la mayor carga de parásitos, así como un infiltrado inflamatorio debido a monocitos/macrófagos.
- Fase activa: se produce una proliferación de queratinocitos en la epidermis. Para la dermis, está presente un signo de áreas necróticas con neutrófilos apoptóticos; Además, está presente la infiltración de células inmunológicas, como las células T y las células Langerhans.

- Fase ulcerosa: la muerte de las células de queratinocitos está presente en la epidermis. En la dermis, los granulomas dérmicos están presentes junto con los neutrófilos, así como también un aumento de la infiltración de células inmunológicas como las células B y plasmáticas.
- Fase de cicatrización: Decrecimiento gradual de macrófagos y parásitos, fibrosis dérmica.

Además de las fases mencionadas anteriormente, la formación de costra es parte del proceso de desarrollo de úlceras cutáneas, esta se forma por coagulación de sangre o exudado. Las costras se encuentran en heridas superficiales o de espesor parcial, suele ser marrón oxidada, seca y se forma sobre cualquier superficie lesionada en la piel [90]. Esta costra afecta la reflectancia difusa debido a su constitución y color opaco, afectando no solo la forma de la firma espectral sino también la magnitud de la reflectancia difusa.

REFERENCIAS

- [1] C. Cucci, J. K. Delaney, and M. Picollo, "Reflectance Hyperspectral Imaging for Investigation of Works of Art: Old Master Paintings and Illuminated Manuscripts," *Accounts of Chemical Research*, vol. 49, no. 10, pp. 2070–2079, 2016.
- [2] S. Legrand, F. Vanmeert, G. Van der Snickt, M. Alfeld, W. De Nolf, J. Dik, and K. Janssens, "Examination of historical paintings by state-of-the-art hyperspectral imaging methods: from scanning infra-red spectroscopy to computed X-ray laminography," *Heritage Science*, vol. 2, no. 1, p. 13, 2014. [Online]. Available: <http://heritagesciencejournal.springeropen.com/articles/10.1186/2050-7445-2-13>
- [3] F. Rosi, C. Miliani, R. Braun, R. Harig, D. Sali, B. G. Brunetti, and A. Sgamellotti, "Noninvasive analysis of paintings by mid-infrared hyperspectral imaging," *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 52, no. 20, pp. 5258–5261, 2013.
- [4] M. Mirzaie, R. Darvishzadeh, A. Shakiba, A. A. Matkan, C. Atzberger, and A. Skidmore, "Comparative analysis of different uni- and multi-variate methods for estimation of vegetation water content using hyper-spectral measurements," *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, vol. 26, no. 1, pp. 1–11, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jag.2013.04.004>
- [5] C. Zhang and Z. Pan, "Remote Estimation of Leaf Water Content Using Spectral Index Derived From Hyperspectral Data," no. Iset, pp. 20–23, 2015.
- [6] H. Huang, L. Liu, and M. Ngadi, "Recent Developments in Hyperspectral Imaging for Assessment of Food Quality and Safety," *Sensors*, vol. 14, no. 4, pp. 7248–7276, 2014. [Online]. Available: <http://www.mdpi.com/1424-8220/14/4/7248/>
- [7] D. Wu and D.-W. Sun, "Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review — Part I: Fundamentals," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 19, pp. 1–14, 2013. [Online]. Available: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856413000775>
- [8] V. Miljković and D. Gajski, "Adaptation of industrial hyperspectral line scanner for archaeological applications," *International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences - ISPRS Archives*, vol. 41, no. July, pp. 343–345, 2016.
- [9] D. Vincke, R. Miller, É. Stassart, M. Otte, P. Dardenne, M. Collins, K. Wilkinson, J. Stewart, V. Baeten, and J. A. Fernández Pierna, "Analysis of collagen preservation in bones recovered in archaeological contexts using NIR Hyperspectral Imaging," *Talanta*, vol. 125, pp. 181–188, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.044>
- [10] S. Vyas, J. Meyerle, and P. Burlina, "Non-invasive estimation of skin thickness from hyperspectral imaging and validation using echography," *Computers in Biology and Medicine*, vol. 57, pp. 173–181, 2015. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compbiomed.2014.12.010>
- [11] G. Lu and B. Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 19, no. 1, p. 10901, 2014. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.19.1.010901>
- [12] N. Shaikh, Rubina and Prabitha, Vasumathi G and Dora, Tapas Kumar and Chopra, Supriya and Maheshwari, Amita and Deodhar, Kedar and Rekh, Bharat and Sukumar, Nita and Krishna, C Murali and Subhash, "A comparative evaluation of diffuse reflectance and Raman spectroscopy in the detection of cervical cancer," *Journal of Biophotonics*, vol. 10, no. 2, pp. 242–252, 2017.
- [13] R. Jolivot, "Development of an imaging system dedicated to the acquisition, analysis and multispectral characterisation of skin lesions," Ph.D. dissertation, Université de Bourgogne, 2011.

- [14] D. Yudovsky, A. Nouvong, K. Schomacker, and L. Pilon, "Monitoring temporal development and healing of diabetic foot ulceration using hyperspectral imaging," *Journal of Biophotonics*, vol. 4, no. 7-8, pp. 565–576, 2011.
- [15] J. Galeano, P. Jose Tapia-Escalante, S. M. Pérez-Buitrago, Y. Hernández-Hoyos, L. F. Arias-Muñoz, A. Zarzycki, J. Garzón-Reyes, and F. Marzani, "Light-Tissue Interaction Model for the Analysis of Skin Ulcer Multi-spectral Images," vol. 27, 2017. [Online]. Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-68195-5>
- [16] D. Yudovsky and L. Pilon, "Simple and accurate expressions for diffuse reflectance of semi-infinite and two-layer absorbing and scattering media," *Applied optics*, vol. 48, no. 35, pp. 6670–6683, 2009. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20011007>
- [17] D. Yudovsky, A. Nouvong, and L. Pilon, "Hyperspectral Imaging in Diabetic Foot Wound Care," vol. 4, no. 5, pp. 1099–1113, 2010.
- [18] G. Zonios, J. Bykowski, and N. Kollias, "Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 117, no. 6, pp. 1452–1457, 2001. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.01577.x>
- [19] G. Zonios and A. Dimou, "Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties," *Optics Express*, vol. 14, no. 19, p. 8661, 2006. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-14-19-8661>
- [20] —, "Simple two-layer reflectance model for biological tissue applications: lower absorbing layer," *Applied Optics*, vol. 49, no. 27, pp. 5026–5031, 2010. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ao-49-27-5026>
- [21] Z. Chen, X. Wang, and R. Liang, "RGB-NIR multispectral camera," *Optics Express*, vol. 22, no. 5, pp. 4985–4994, 2014. [Online]. Available: <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-22-5-4985>
- [22] L. Fauch, E. Nippolainen, V. Teplov, and A. A. Kamshilin, "Recovery of reflection spectra in a multispectral imaging system with light emitting diodes," *Optics Express*, vol. 18, no. 22, p. 23394, 2010. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-18-22-23394>
- [23] W. Feng, R. Shi, C. Zhang, T. Yu, and D. Zhu, "Lookup-table-based inverse model for mapping oxygen concentration of cutaneous microvessels using hyperspectral imaging," *Optics Express*, vol. 25, no. 4, p. 3481, 2017. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=oe-25-4-3481>
- [24] J. Herrera-Ramírez, M. Vilaseca, and J. Pujol, "Portable multispectral imaging system based on light-emitting diodes for spectral recovery from 370 to 1630 nm," *Applied Optics*, vol. 53, no. 14, pp. 3131–3141, 2014. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ao-53-14-3131>
- [25] S. L. Jacques, R. Samatham, and N. Choudhury, "Rapid spectral analysis for spectral imaging," *Biomed Opt Express*, vol. 1, no. 1, pp. 157–164, 2010. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21258455>
- [26] L. Kong, S. Sprigle, D. Yi, F. Wang, C. Wang, and F. Liu, "Developing handheld real time multispectral imager to clinically detect erythema in darkly pigmented skin," *Multimodal Biomedical Imaging V*, vol. 7557, 2010. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.843943>
- [27] L. Kong, D. Yi, S. Sprigle, F. Wang, C. Wang, F. Liu, A. Adibi, and R. Tummala, "Single sensor that outputs narrowband multispectral images," *Journal of biomedical optics*, vol. 15, no. 1, p. 10502, 2010. [Online]. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2917461&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- [28] O. Lee, J. Kim, G. Park, M. Kim, S. Son, S. Ha, and C. Oh, "Non-invasive assessment of cutaneous wound healing using fluorescent imaging," *Skin Research and Technology*, vol. 21, no. 1, pp. 108–113, 2015.

- [29] M. A. Calin, S. V. Parasca, R. Savastru, and D. Manea, "Characterization of burns using hyperspectral imaging technique - A preliminary study," *Burns*, vol. 41, no. 1, pp. 118–124, 2015. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2014.05.002>
- [30] M. S. Chin, B. B. Freniere, Y.-C. Lo, J. H. Saleeby, S. P. Baker, H. M. Strom, R. A. Ignatz, J. F. Lalikos, and T. J. Fitzgerald, "Hyperspectral imaging for early detection of oxygenation and perfusion changes in irradiated skin," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 17, no. 2, p. 26010, 2012. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.17.2.026010>
- [31] L. L. Denstedt, M., Pukstad, B. S., Paluchowski, L. A., Hernandez-Palacios, J. E., & Randeberg, "Hyperspectral imaging as a diagnostic tool for chronic skin ulcers," *Photonic Therapeutics and Diagnostics IX*, vol. 8565, p. 85650N, 2013.
- [32] M. A. Fadzil, H. Nugroho, R. Jolivot, F. Marzani, N. Shamsuddin, and R. Baba, "Modelling of reflectance spectra of skin phototypes iii," in *International Visual Informatics Conference*. Springer, 2011, pp. 352–360.
- [33] F. Galeano, J., Jolivot, R., Marzani, "Analysis of human skin hyper-spectral images by non-negative matrix factorization," in *Advances in Soft Computing*, 2011, pp. 431–442.
- [34] R. Jolivot, Y. Benezeth, and F. Marzani, "Skin parameter map retrieval from a dedicated multispectral imaging system applied to dermatology/cosmetology," *International Journal of Biomedical Imaging*, vol. 2013, 2013.
- [35] P. Mitra, J., Jolivot, R., Marzani, F., Vabres, "Source separation on hyperspectral cube applied to dermatology," in *SPIE Medical Imaging meeting Vol. 7624*, 2010, pp. 762 431–1.
- [36] N. and others Douplik, Alexandre and Zanati, Simon and Saiko, Guennadi and Streutker, Catherine and Loshchenov, Maxim and Adler, Desmond and Cho, Sarah and Chen, Dean and Cirocco, Maria and Marcon, "Diffuse reflectance spectroscopy in Barrett's Esophagus: developing a large field-of-view screening method discriminating dysplasia from metaplasia," *Journal of biophotonics*, vol. 7, no. 5, pp. 304–311, 2014.
- [37] F. Galeano, JA and Jolivot, Romuald and Marzani, "Quantification of melanin and hemoglobin in human skin from multispectral image acquisition: use of a neuronal network combined to a non-negative matrix factorization," *Applied and Computational Mathematics*, vol. 11, no. 2, pp. 257–270, 2012.
- [38] K. Bailey, Maria J and Verma, Nishant and Fradkin, Leonid and Lam, Sylvia and MacAulay, Calum and Poh, Catherine and Markey, Mia K and Sokolov, "Detection of precancerous lesions in the oral cavity using oblique polarized reflectance spectroscopy: a clinical feasibility study," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 22, no. 6, pp. 065 002–065 002, 2017.
- [39] T. J. De Boer, LL and Molenkamp, BG and Bydlon, TM and Hendriks, BHW and Wesseling, J and Sterenborg, HJCM and Ruers, "Fat/water ratios measured with diffuse reflectance spectroscopy to detect breast tumor boundaries," *Breast cancer research and treatment*, vol. 152, no. 3, pp. 509–518, 2015.
- [40] Q. Wang, Tianheng and Yang, Yi and Alqasemi, Umar and Kumavor, Patrick D and Wang, Xiaohong and Sanders, Melinda and Brewer, Molly and Zhu, "Characterization of ovarian tissue based on quantitative analysis of photoacoustic microscopy images," *Biomedical optics express*, vol. 4, no. 12, pp. 2763–2768, 2013.
- [41] S. Anand, N. Sujatha, V. B. Narayanamurthy, V. Seshadri, and R. Poddar, "Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer - A pilot study," *Optics and Lasers in Engineering*, vol. 53, pp. 1–5, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.optlaseng.2013.07.020>
- [42] O.-h. Lin, J.-y. Lai, and H.-y. Tsai, "Preventing Diabetes Extremity Vascular Disease with Blood Oxygen Saturation Images," *International Journal of Instrumentation Science*, vol. 2A, no. A, pp. 1–7, 2013.
- [43] S. Vyas, A. Banerjee, L. Garza, S. Kang, and P. Burlina, "Hyperspectral signature analysis of skin parameters," *Proc*, vol. 8670, p. 867002, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2001428>

- [44] R. R. Anderson and J. A. Parrish, "The optics of human skin," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 77, no. 1, pp. 13–19, 1981. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1111/1523-1747.ep12479191>
- [45] J. L. Reuss, "Multilayer modeling of reflectance pulse oximetry," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 52, no. 2, pp. 153–159, 2005.
- [46] J. M. Schmitt, G. X. Zhou, E. C. Walker, and R. T. Wall, "Multilayer model of photon diffusion in skin," *Journal of the Optical Society of America. A, Optics and image science*, vol. 7, no. 11, pp. 2141–2153, 1990.
- [47] R. H. Wilson, "Mathematical models of light transport in biological tissues for quantitative clinical diagnostic applications," Ph.D. dissertation, University of Michigan, 2012.
- [48] S. J. Wirkert, H. Kenngott, B. Mayer, P. Mietkowski, M. Wagner, P. Sauer, N. T. Clancy, D. S. Elson, and L. Maier-Hein, "Robust near real-time estimation of physiological parameters from megapixel multispectral images with inverse Monte Carlo and random forest regression," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, vol. 11, no. 6, pp. 909–917, 2016.
- [49] R. X. Xu, D. W. Allen, J. Huang, S. Gnyawali, J. Melvin, H. Elgharably, G. Gordillo, K. Huang, V. Bergdall, M. Litorja, J. P. Rice, J. Hwang, and C. K. Sen, "Developing digital tissue phantoms for hyperspectral imaging of ischemic wounds," *Biomedical Optics Express*, vol. 3, no. 6, p. 1433, 2012. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/boe/abstract.cfm?uri=boe-3-6-1433>
- [50] G. M. Palmer and N. Ramanujam, "Monte Carlo-based inverse model for calculating tissue optical properties . Part I : Theory and validation on synthetic phantoms," *Applied optics*, vol. 45, no. 5, pp. 1062–1071, 2006.
- [51] S. V. Patwardhan, A. P. Dhawan, and P. A. Relue, "Monte Carlo simulation of light-tissue interaction: Three-dimensional simulation for trans-illumination-based imaging of skin lesions," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 52, no. 7, pp. 1227–1236, 2005.
- [52] A. D. Kim and M. Moscoso, "Light transport in two-layer tissues," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, no. 3, p. 034015, 2005. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.1925227>
- [53] S. Moon, S. Lee, and S. Chin, "Physiological parameters for skin rendering using spectrophotometer," *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, vol. 6, no. 1, pp. 185–194, 2014.
- [54] S. Takatani and M. D. Graham, "Theoretical analysis of diffuse reflectance from a two-layer tissue model," *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol. 26, no. 12, pp. 656–664, 1979.
- [55] L. O. Svaasand, L. T. Norvang, E. J. Fiskerstrand, E. K. Stopps, M. W. Berns, and J. S. Nelson, "Tissue parameters determining the visual appearance of normal skin and port-wine stains," *Lasers In Medical Science*, vol. 10, no. 1, pp. 55–65, 1995.
- [56] L. F. A. Douven and G. W. Lucassen, "Retrieval of optical properties of skin from measurement and modeling the diffuse reflectance," vol. 3914, pp. 312–323, 2000. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1117/12.388058>
- [57] I. V. Meglinski and S. J. Matcher, "Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions," *Physiological Measurement*, vol. 23, no. 4, pp. 741–753, 2002.
- [58] S. Vyas, A. Banerjee, and P. Burlina, "Machine learning methods for in vivo skin parameter estimation," *Proceedings of the 26th IEEE International Symposium on Computer-Based Medical Systems*, pp. 524–525, 2013.

- [59] C. Magnain, M. Elias, and J.-M. Frigerio, "Skin color modeling using the radiative transfer equation solved by the auxiliary function method: inverse problem." *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision*, vol. 25, no. 7, pp. 1737–43, 2008. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18594632>
- [60] J. V. Beck and K. A. Woodbury, "Inverse problems and parameter estimation: Integration of measurements and analysis," *Measurement Science and Technology*, vol. 9, no. 6, pp. 839–847, 1998.
- [61] S. Vyas, H. Van Nguyen, P. Burlina, A. Banerjee, L. Garza, and R. Chellappa, "Computational modeling of skin reflectance spectra for biological parameter estimation through machine learning," *Proceedings of SPIE*, vol. 8390, pp. 83 901B–83 901B–7, 2012. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?articleid=1354565>
- [62] S. Vyas, "Physics-based Computational Modeling of Human Skin using Machine Learning for Physiological Parameter Estimation," Ph.D. dissertation, Johns Hopkins University, 2014.
- [63] L. Casas, B. Castaneda, and S. Treuillet, "Imaging technologies applied to chronic wounds: a survey," in *Proceedings of the 4th International Symposium on Applied Sciences in Biomedical and Communication Technologies*. ACM, 2011, p. 167.
- [64] G. Spentzouris and N. Labropoulos, "The evaluation of lower-extremity ulcers," *Seminars in Interventional Radiology*, vol. 26, no. 4, pp. 286–295, 2009.
- [65] S. A. Eming, P. Martin, and M. Tomic-Canic, "Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation," *Science Translational Medicine*, vol. 6, no. 265, 2014.
- [66] L. Rodriguez-Menocal, S. Shareef, M. Salgado, A. Shabbir, and E. Van Badiavas, "Role of whole bone marrow, whole bone marrow cultured cells, and mesenchymal stem cells in chronic wound healing," *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 6, no. 1, p. 24, 2015. [Online]. Available: <http://stemcellres.com/content/6/1/24>
- [67] M. Kuck, H. Strese, S. A. Alawi, M. C. Meinke, J. W. Fluhr, G. J. Burbach, M. Krah, W. Sterry, and J. Lademann, "Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing," *Skin Research and Technology*, vol. 20, no. 1, pp. 1–7, 2014.
- [68] J. Liu, G. Chinga-Carrasco, F. Cheng, W. Xu, S. Willför, K. Syverud, and C. Xu, "Hemicellulose-reinforced nanocellulose hydrogels for wound healing application," *Cellulose*, vol. 23, no. 5, pp. 3129–3143, 2016.
- [69] M. Callieri, P. Cignoni, P. Pingi, and R. Scopigno, "Derma : Monitoring the Evolution of Skin Lesions with a 3D System," *Vision, Model. Visualizat*, pp. 167–174, 2003. [Online]. Available: http://vcg.isti.cnr.it/publications/papers/derma{}_vmv.pdf
- [70] S. Ud-Din, A. Sebastian, P. Giddings, J. Colthurst, S. Whiteside, J. Morris, R. Nuccitelli, C. Pullar, M. Baguneid, and A. Bayat, "Angiogenesis is induced and wound size is reduced by electrical stimulation in an acute wound healing model in human skin," *PLoS ONE*, vol. 10, no. 4, pp. 1–22, 2015.
- [71] A. Yadollahpour, J. Mostafa, R. Samaneh, and R. Zohreh, "Ultrasound therapy for wound healing: A review of current techniques and mechanisms of action," *Journal of Pure and Applied Microbiology*, vol. 8, no. 5, pp. 4071–4085, 2014.
- [72] A. Rowledge, N. Frescos, C. Miller, E. Perry, and W. McGuiness, "The diabetic foot ulcer periwound: a comparison of visual assessment and a skin diagnostic device." *Wound Practice & Research*, vol. 24, no. 3, pp. 160–168, 2016. [Online]. Available: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=rzh&AN=118452485&lang=nl&site=ehost-live&scope=site>
- [73] G. M. Zomerlei, T. A., Gordillo, "Mixed-Species Biofilm Compromises Wound Healing by Disrupting Epidermal Barrier Function," 2017.

- [74] S. Ud-Din and A. Bayat, "Non-invasive objective devices for monitoring the inflammatory, proliferative and remodelling phases of cutaneous wound healing and skin scarring," *Experimental Dermatology*, vol. 25, no. 8, pp. 579–585, 2016.
- [75] W. J. Jeffcoate, D. J. Clark, N. Savic, P. I. Rodmell, R. J. Hinchliffe, A. Musgrove, and F. L. Game, "Use of HSI to measure oxygen saturation in the lower limb and its correlation with healing of foot ulcers in diabetes," *Diabetic Medicine*, vol. 32, no. 6, pp. 798–802, 2015.
- [76] D. Nouri, Y. Lucas, S. Treuillet, R. Jolivot, and F. Marzani, "Colour and multispectral imaging for wound healing evaluation in the context of a comparative preclinical study," p. 866923, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2003943>
- [77] M. G. Sowa, W.-C. Kuo, A. C.-T. Ko, and D. G. Armstrong, "Review of near-infrared methods for wound assessment," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 21, no. 9, p. 91304, 2016. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.21.9.091304>
- [78] M. Ewerlöf, E. G. Salerud, T. Strömberg, and M. Larsson, "Estimating skin blood saturation by selecting a subset of hyperspectral imaging data," *SPIE Photonics West BIOS*, vol. 9328, no. March 2, p. 93280J, 2015. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2075292>
- [79] N. Pazyar, R. Yaghoobi, E. Rafiee, A. Mehrabian, and A. Feily, "Skin wound healing and phytomedicine: A review," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 27, no. 6, pp. 303–310, 2014.
- [80] N. Neittaanmäki-Perttu, *Diagnosis and treatment of premalignant changes of photodamaged skin: Novel hyperspectral imaging and new therapeutical aspects*, 2015, vol. 20, no. 2.
- [81] S. Prigent, X. Descombes, D. Zugaj, and J. Z. S. Analy, "Spectral Analysis and Unsupervised Svm Classification for Skin Hyper-Pigmentation Classification," in *In Hyperspectral Image and Signal Processing: Evolution in Remote Sensing (WHISPERS)*, 2010, pp. 1–4.
- [82] F. Vasefi, N. MacKinnon, R. B. Saager, A. J. Durkin, R. Chave, E. H. Lindsley, and D. L. Farkas, "Polarization-sensitive hyperspectral imaging in vivo: A multimode dermoscope for skin analysis," *Scientific Reports*, vol. 4, pp. 1–10, 2014.
- [83] C. P. Sabino, A. M. Deana, T. M. Yoshimura, D. F. da Silva, C. M. França, M. R. Hamblin, and M. S. Ribeiro, "The optical properties of mouse skin in the visible and near infrared spectral regions," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 160, pp. 72–78, 2016.
- [84] K. Calabro, A. Curtis, J.-R. Galarneau, T. Krucker, and I. J. Bigio, "Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models," *Journal of biomedical optics*, vol. 16, no. 1, p. 011008, 2011.
- [85] X. Zhong, J. Wang, R. Shi, and D. Zhu, "Reflectance spectroscopy for evaluating optical clearing efficacy of skin *in vivo*," no. February, p. 85800P, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2006011>
- [86] C. Sabino, A. Deana, D. Silva, C. França, T. Yoshimura, and M. Ribeiro, "Optical properties of mice skin for optical therapy relevant wavelengths: influence of gender and pigmentation," in *Mechanisms for Low-Light Therapy X*, vol. 9309. International Society for Optics and Photonics, 2015, p. 93090D.
- [87] A. Curtis, K. Calabro, J.-R. Galarneau, I. J. Bigio, and T. Krucker, "Temporal variations of skin pigmentation in c57bl/6 mice affect optical bioluminescence quantitation," *Molecular Imaging and Biology*, vol. 13, no. 6, pp. 1114–1123, 2011.
- [88] S. Nylén and L. Eidsmo, "Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis," *Parasite immunology*, vol. 34, no. 12, pp. 551–561, 2012.
- [89] S. Nylén and L. Eidsmo, "Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis," *Parasite Immunology*, vol. 34, no. 12, pp. 551–561, 2012.
- [90] "Knowing the difference between scabs and eschar," <https://www.woundsource.com/blog/knowing-difference-between-scabs-and-eschar>, accessed: 2019-06-30.

2

METODOLOGÍA

Contenido

2.1	Introducción	17
2.2	Procedimiento de toma de datos espectrales en hámsteres dorados	19
2.3	Modelo exponencial de reflectancia difusa	23
2.3.1	Absorción en epidermis	25
2.3.2	Absorción en dermis	27
2.3.3	Absorción en hipodermis	29
2.3.4	Dispersión en epidermis	30
2.3.5	Dispersión en dermis	30
2.3.6	Dispersión en hipodermis	33
2.3.7	Reflectancia total	33
2.4	Modelo inverso	33
2.4.1	Algoritmos genéticos	33
2.4.2	Análisis de varianza - ANOVA	36
	Referencias	37

2.1. INTRODUCCIÓN

En la Figura 2.1 se presenta la primera parte de la metodología utilizada en la presente tesis de maestría para realizar el seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas causadas por *Leishmaniasis*. La imagen hace referencia a la adquisición de datos espectrales, partiendo de un grupo de hámsteres dorados, a quienes se les toman datos espectrales con la ayuda de un espectrómetro y el sistema de adquisición de datos ASCLEPIOS. El espectrómetro toma firmas espectrales de tejido sano, borde, y centro de úlcera, a la vez que el ASCLEPIOS adquiere el hipercubo de la misma escena. Estos datos son adquiridos y almacenados a lo largo de la enfermedad, partiendo desde el tejido totalmente sano, pasando por una úlcera cutánea completa, el inicio del tratamiento y finalizando con la posible mejora de la úlcera. Tanto el procedimiento para adquirir los datos espectrales en hámsteres como los instrumentos utilizados y la base de datos generada, son explicados en detalle en las siguientes secciones de este capítulo.

La Figura 2.2 hace referencia al modelo matemático (también llamado modelo directo en este documento). Se parte de la definición de un modelo matemático exponencial de reflectancia difusa, para realizar la simulación de reflectancia en tejido sano de un ser humano. Posteriormente, en el siguiente capítulo se realiza un ajuste a este modelo para la simulación de reflectancia de tejido sano animal, específicamente en piel de hámster.

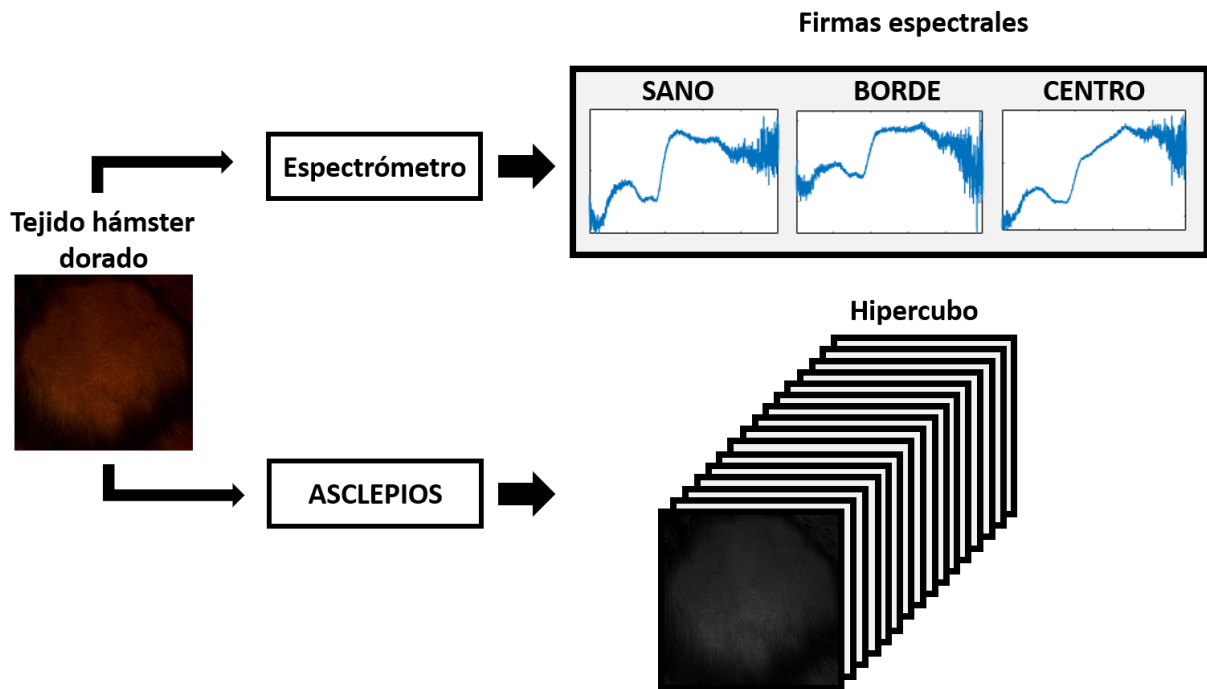


Figura 2.1: Adquisición de datos espectrales .

La Figura 2.3 representa la estimación de parámetros por el método inverso (también llamado modelo inverso o inversión de modelo), en esta etapa se parte de la base de datos generada en la primera parte de la metodología (Figura 2.1). Como entrada a un algoritmo de optimización por algoritmos genéticos (AG), se tienen: firmas espectrales e hiper cubos por un lado y el modelo directo por otro, este modelo directo tendrá la reflectancia difusa total R_t compuesta de los diferentes coeficientes de absorción μ_a y dispersión μ'_s del tejido, los cuales son explicados más adelante en este documento. El objetivo del AG es minimizar el error cuadrático medio (MSE del inglés *Mean squared error*) entre la firma espectral medida (señal medida por espectrómetro o cada pixel del hiper cubo), y la señal simulada por el modelo directo. A cada iteración del algoritmo, el MSE va disminuyendo, de modo que al llegar al número final de iteraciones se tiene una firma simulada muy similar a la firma espectral medida. Para el caso de las firmas espectrales tomadas por medio del espectrómetro, los resultados son los parámetros estimados por el modelo directo en la última iteración. En el caso del hiper cubo adquirido por ASCLEPIOS, los resultados serán mapas de concentración; los cuales serán una representación visual de la magnitud de cada parámetro estimado en cada pixel del hiper cubo, de esta forma un mapa de concentración será una imagen representando la concentración de un parámetro específico a lo largo del hiper cubo, por lo tanto habrá un mapa de concentración por cada variable o parámetro del modelo directo.

Finalmente, en la Figura 2.4 se aprecian dos resultados a partir de la tercera etapa (Figura 2.3). El recuadro izquierdo hace referencia a la identificación de los parámetros biológicos relevantes para evaluar el comportamiento de tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera en el tiempo. En el segundo recuadro por medio de los mapas de concentración se realiza un análisis y seguimiento al tratamiento para definir la evolución de la úlcera a través del tiempo, pasando por las etapas de: Formación de úlcera, tratamiento de úlcera y pos-tratamiento.

En las siguientes subsecciones se explican los métodos utilizados en la adquisición de la base de datos de datos espectrales en hámsteres dorados, la adaptación del modelo directo en humanos a uno aplicado a tejido de hámster, el procedimiento para el método inverso, y el procedimiento para el seguimiento al tratamiento de los hiper cubos de la base de datos analizada.

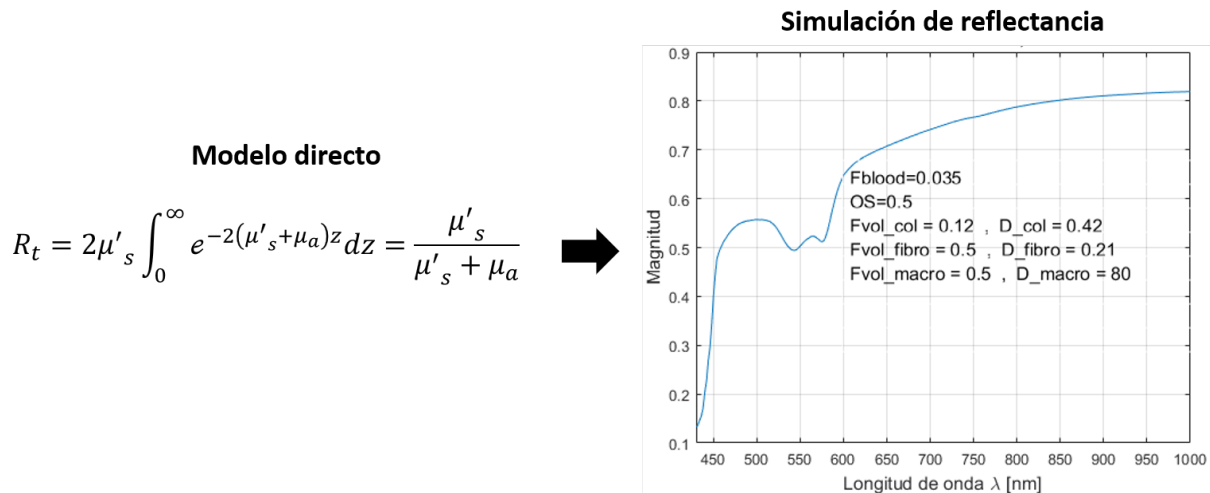


Figura 2.2: Simulación - Modelo directo de reflectancia difusa.

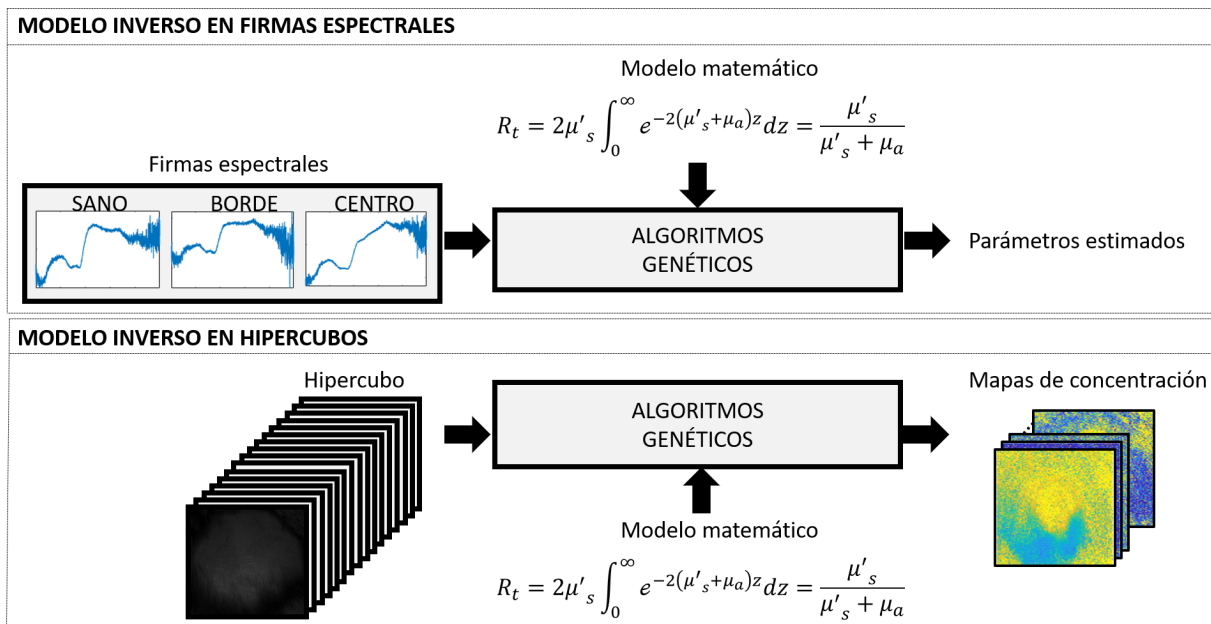


Figura 2.3: Estimación de parámetros por modelo inverso.

2.2. PROCEDIMIENTO DE TOMA DE DATOS ESPECTRALES EN HÁMSTERES DORADOS

En este trabajo se usaron un total de 89 hámsteres dorados distribuidos en cuatro grupos: 18 en el primero, 21 en el segundo, 18 en el tercero, y 32 en el cuarto. Los hámsteres corresponden a la colonia SPF obtenida del vivero del PECET. Dichos hámsteres se alojaron al destete en el vivero bajo las siguientes condiciones controladas: temperatura de $22^{\circ}C \pm 0^{\circ}C$, humedad relativa de 40-65%, 16 a 20 intercambios de aire por hora, luz blanca artificial con ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas. Los animales se alojaron individualmente o en grupos separados por sexo (máximo cuatro animales por caja). Las cajas donde se alojan los animales son transparentes, esterilizadas con luz Ultra Violeta (UV). Las dimensiones de las cajas son: 30 cm de largo \times 25 cm de ancho \times 20 cm de alto. El piso o la cama de la caja, para brindar comodidad, está hecho por una capa de viruta de madera

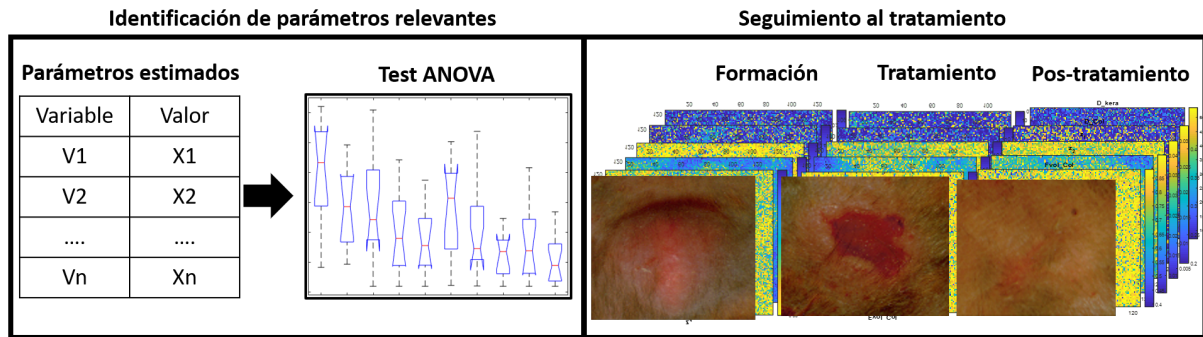


Figura 2.4: Identificación de parámetros relevantes y seguimiento al tratamiento y clasificación de tejidos: Sano, borde y centro de úlcera.



Figura 2.5: Procedimiento de anestesia y depilación en hámsteres dorados.

no tratada de tres centímetros de grosor, que se autoclavó previamente. Los cambios de cajas se hacen dos veces por semana. La alimentación de los hámsteres se realiza con alimentos para roedores de laboratorio, marca Lab-Diet, autoclavados y a voluntad, servidos en dispensadores esterilizados por UV que evitan el contacto directo con el lecho de la caja. El agua es de grifo, tratada en autoclave y a voluntad, servida en canales esterilizados con luz UV que evitan el contacto directo con el lecho de la caja.

Para la anestesia se utilizó una mezcla de ketamina (50 mg) y Xilazina (20 mg) en una proporción de 9:1. A cada animal se le administró 300 mililitros por vía intraperitoneal, con una aguja de calibre 27. Para ello, el hámster se colocó en decúbito dorsal, inclinándolo cranealmente para favorecer el desplazamiento de las vísceras y evitar su punción. El volumen mencionado se inyecta lentamente por succión previamente en el lugar de la inyección para verificar que no salga sangre. Una vez que los animales están anestesiados, se elimina un área de aproximadamente $3 \times 3 \text{ cm}^2$ de piel en la zona dorsal mediante un dispositivo de afeitado. Esto se hace con mucha precaución para evitar la irritación o laceración de la piel. Este protocolo cuenta con la aprobación de la Junta de Ética de la Universidad de Antioquia. En la Figura 2.5 parte izquierda se aprecia el procedimiento de anestesia mientras que a la derecha se ve el procedimiento para remover el pelaje en la zona de interés. Todo el proceso de cuidado de los hámsteres, aplicación de anestesia, y depilación fue realizado por un médico veterinario del laboratorio PECET de la Universidad de Antioquia.

La toma de datos se realizó en el bioterio del Laboratorio PECET de la Universidad de Antioquia. La toma de datos consiste de 5 etapas: 1) Aplicación de anestesia, 2) Rasuración de hámsteres, 3) Toma de datos en patrones de calibración para el espectrómetro, 4) Adquisición de firmas espectrales por medio de un espectrómetro, 5) Adquisición de imágenes hiperespectrales (o hipercono) con el sistema ASCLEPIOS. Durante la toma de datos se

utilizó protección en pies, torso, manos, boca y cabeza para evitar contaminar el espacio con suciedades traídas del exterior.

Primero, 10 a 15 firmas espectrales en piel sana son adquiridas en todos los hámsteres antes de la inoculación de la *Leishmaniasis*. Inmediatamente después a esta toma de datos en piel sana, los hámsteres fueron inoculados. Una vez realizada la inoculación, se toman firmas espectrales en cada hámster cada dos semanas durante un mes en las siguientes zonas: piel sana, borde y centro de la úlcera. Para cada una de estas zonas se toman de 10 a 15 firmas espectrales. La toma de datos en borde y centro de la úlcera depende de la evolución de la formación y de que parte de estas áreas se van formando con el desarrollo de la enfermedad. Cabe resaltar que en algunos hámsteres, previo a la formación de una úlcera se forma un lesión nodular. Pasado el mes de formación de la úlcera o fase de antes de tratamiento, se procede a la aplicación de tratamiento. La aplicación del tratamiento se realiza durante un mes, tiempo en el cual se adquieren datos cada dos semanas en cada hámster y en cada una de las siguientes áreas: piel sana, borde y centro de la úlcera. Nuevamente, la toma de datos en borde y centro de la úlcera depende de la evolución de la curación de la úlcera y de la respuesta del individuo al tratamiento. Finalmente, una vez termina la etapa de aplicación de tratamiento, se procede a la etapa de seguimiento pos-tratamiento la cual tiene una duración de tres meses. Durante esta etapa se adquieren datos cada dos semanas en las mismas regiones que en las etapas anteriores: piel sana, borde y centro de la úlcera. La toma de datos en estas dos últimas regiones depende de la evolución de la úlcera ante el tratamiento. En cuanto a la adquisición de imágenes hiperespectrales, una imagen es adquirida en cada hámster en cada fecha de toma de datos. Se adquiere una imagen que cubra tanto área sana como área con úlcera cutánea. La aplicación del tratamiento fue realizado por un médico Veterinario del laboratorio PECET de la Universidad de Antioquia.

Los espectros de reflectancia difusa de piel de hámster se adquirieron con un espectrómetro. El sistema de adquisición de firmas espectrales se compuso de: una lámpara halógena, una guía de luz, un sistema óptico de colimación, una fibra óptica conectada a un espectrómetro con un detector de CCD (Ocean Optics HR4C3337) y el software dedicado para la adquisición de datos. Tanto la iluminación como la adquisición se llevaron a cabo en el rango espectral VIS-NIR (400 - 800 nm), sin embargo, el rango espectral analizado fue de 430 a 800 nm.

La piel sana se iluminó con la lámpara halógena a través de la guía de luz y el sistema de colimación, en un área de alrededor de 3 mm de diámetro. Después de la iluminación, se adquirieron las firmas espectrales a través de la fibra óptica conectada al espectrómetro. Para cada hámster. En la Figura 2.6 parte izquierda se aprecia el modo en que se adquieren las firmas espectrales sobre el hámster (no se muestra el dispositivo debido a que no se desarrolló en esta tesis y se está evaluando su posible protección por los autores correspondientes que son co-investigadores del proyecto macro), en la parte derecha de la misma figura se presenta la observación de la firma espectral adquirida con el respectivo software del espectrómetro.

Las firmas espectrales adquiridas se calibraron utilizando estándares de reflectancia difusa blanca y negra, que reflejan más del 90% y menos del 2% de la luz, respectivamente (Spectralon Lab Sphere). La Figura 2.7 se divide en tres partes, de izquierda a derecha, la primera imagen hace referencia a los patrones de calibración certificados: blanco y negro, la segunda imagen tiene dos figuras: las 10 adquisiciones del patrón blanco superpuestas y el promedio de estas respectivamente, la tercera imagen contiene dos figuras: 10 adquisiciones del patrón negro superpuestas y el promedio de estas, respectivamente.

Primero, se adquirieron espectros de reflectancia difusa de los estándares mencionados, con el fin de obtener espectros de referencia de blanco R_w y de referencia de negro R_b . Luego, los datos de reflectancia difusa de la piel R_{raw} , así la calibración se realiza por medio de la siguiente ecuación Eq.2.1 [1, 2]:

$$R_m = \frac{R_{raw} - R_b}{R_w - R_b} \quad (2.1)$$

Donde: R_m es la reflectancia difusa medida calibrada. En la figura 2.8 se presenta a la izquierda una interfaz gráfica diseñada para tomar las firmas espectrales sin calibrar adquiridas por el espectrómetro, aplicar la ecuación 2.1 y obtener un conjunto de 10 a 15 firmas espectrales. Las señales utilizadas en el modelo inverso (que se explica más adelante), fueron las 10 o 15 firmas espectrales calibradas; el software fue utilizado para seleccionar

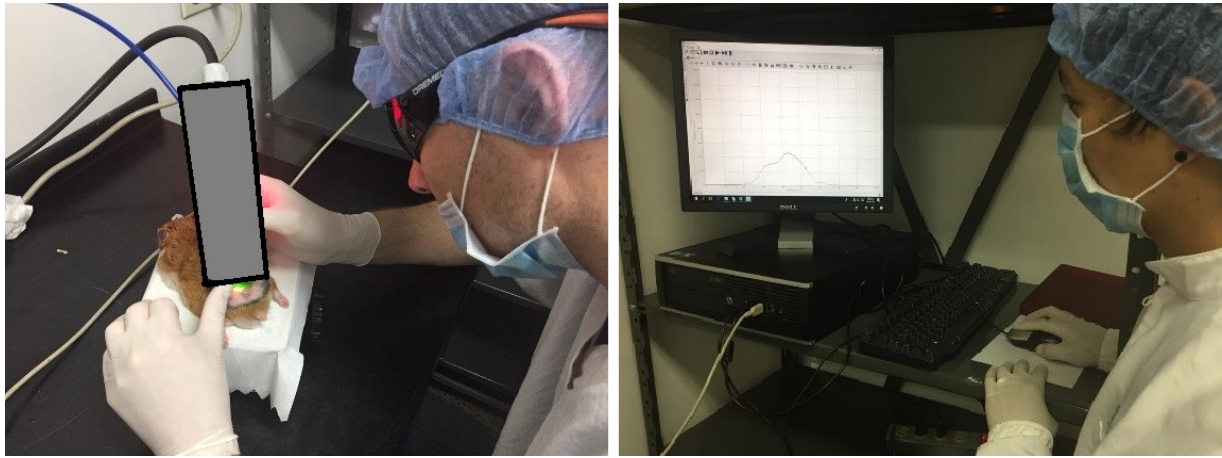


Figura 2.6: Adquisición y almacenamiento de firmas espectrales en hámsteres.

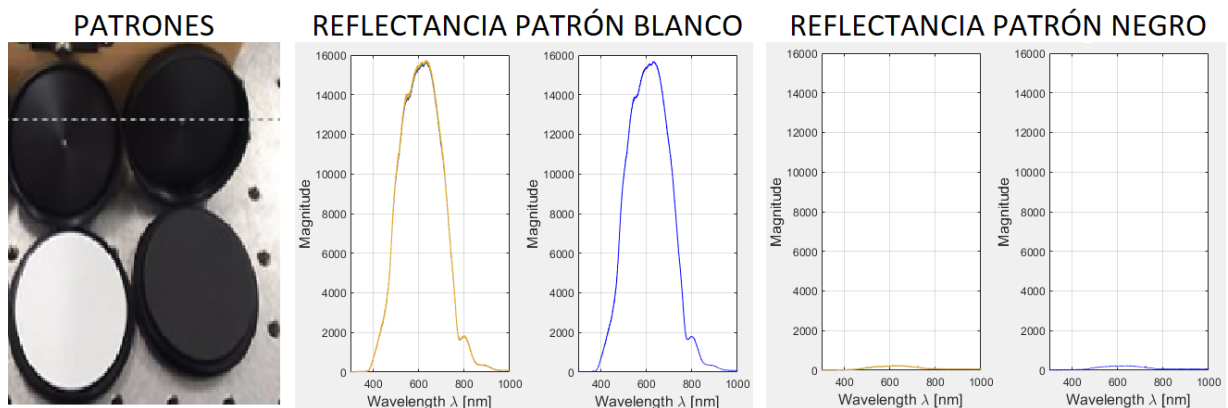


Figura 2.7: Patrones de calibración certificados de reflectancia blancos y negros con su respuesta espectral.

de las 10 a 15 firmas, únicamente aquellas que fueron bien adquiridas, ya que debido a que algunos hámsteres tenían movimientos involuntarios durante las adquisiciones, era necesario descartar estos resultados erróneos.

Dependiendo de la etapa de la enfermedad en la que se encuentre el hámster, se evalúan tres tipos de tejidos: Sano, borde, y centro de úlcera. Cada tejido presenta una respuesta de reflectancia difusa diferente. En la Figura 2.9 se presenta un hámster que se encuentra en la etapa activa de la úlcera causada por *Leishmaniasis*, de modo que se encuentra la respuesta de reflectancia difusa para tejido sano, borde y centro de úlcera.

Durante la toma de datos espectrales, además de la toma de firmas espectrales sobre los hámsteres, se tomaron imágenes hiperespectrales o hiper cubos por medio del sistema ASCLEPIOS. La adquisición se realizó posicionando el sistema ASCLEPIOS sobre la superficie del tejido evaluado del hámster, como se ve en la Figura 2.10 parte izquierda, en la parte derecha de esta figura se observa el software dedicado a la adquisición del hiper cubo espectral.

Como se mencionó en el primer capítulo, el sistema ASCLEPIOS físicamente posee un total de 10 filtros espectrales entre longitudes de onda de 420 y 840 nm , como se aprecia en la Figura 2.11 parte izquierda, en la parte derecha se ve el hiper cubo resultado al aplicar redes neuronales para tener un total de 32 bandas en un rango entre 430 y 780 nm . Este hiper cubo tendrá una firma espectral por cada pixel y estas serán las entradas en el modelo inverso. Esto es necesario para poder adquirir los mapas de concentración como resultado.

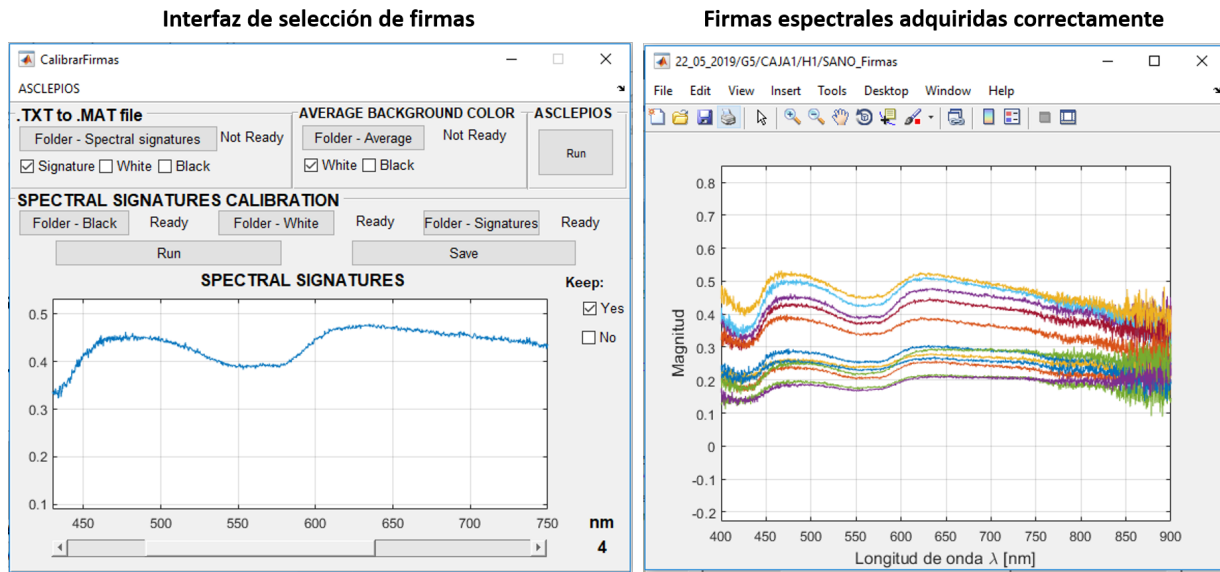


Figura 2.8: Calibración y almacenamiento de firmas espectrales.

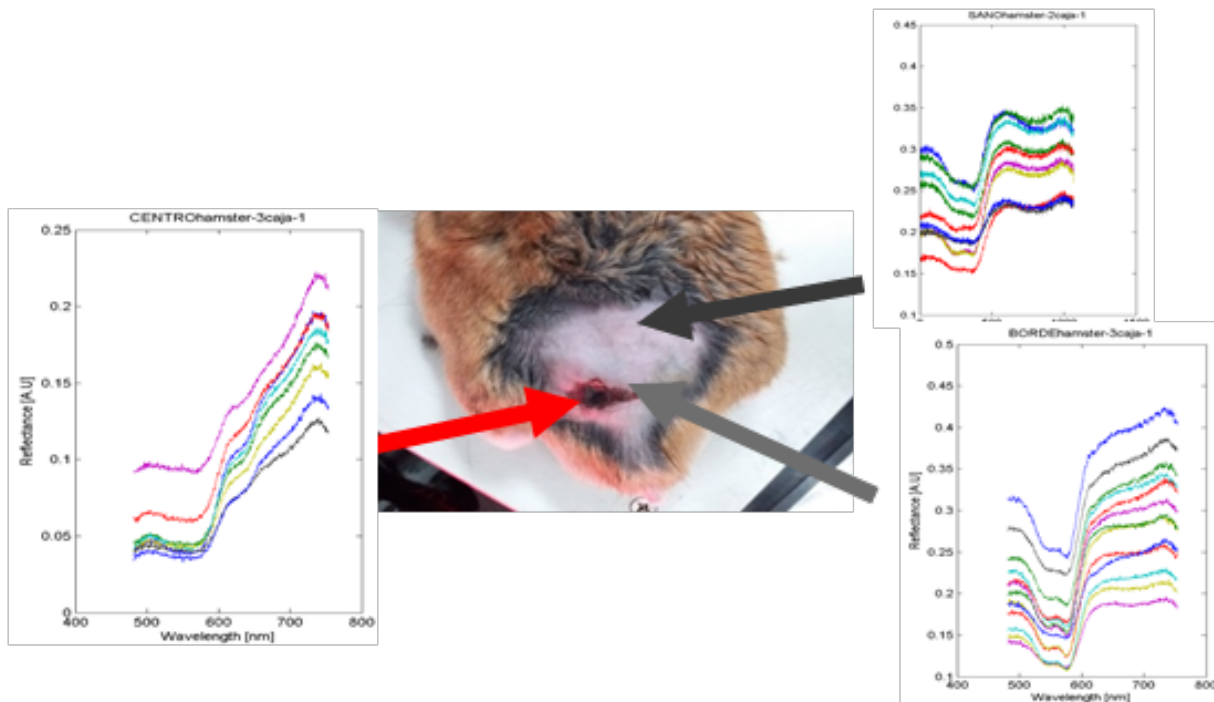


Figura 2.9: Tipos de firmas espectrales: Tejido sano, borde, y centro de úlcera.

2.3. MODELO EXPONENCIAL DE REFLECTANCIA DIFUSA

Cuando la luz interactúa con un tejido blando, los componentes biológicos del tejido absorben y dispersan la luz, estos componentes pueden ser expresados matemáticamente como coeficientes de absorción y dispersión μ_a y μ_s , respectivamente. Estos dos fenómenos producen reflectancia difusa que emerge de la superficie del tejido. Las variaciones en el espectro de reflectancia difusa dependen de la longitud de onda incidente y las propiedades del tejido. Zonios y Dimou propusieron un modelo matemático exponencial de reflectancia difusa



Figura 2.10: Adquisición de hipercono espectral con el sistema ASCLEPIOS.

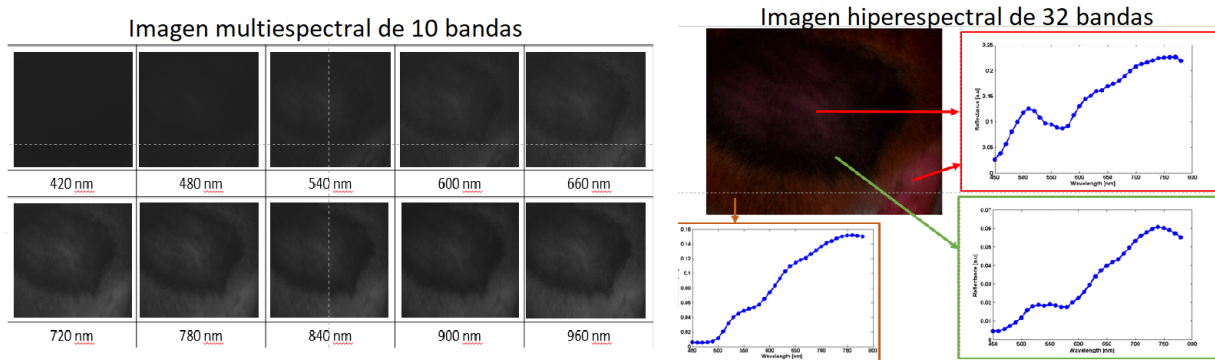


Figura 2.11: Hipercono espectral generado con sistema ASCLEPIOS.

de un medio homogéneo semi-infinito [3, 4], donde la reflectancia difusa es dada por Eq.2.2. Al solucionar esta ecuación mediante las ecuaciones 2.3, 2.4, 2.5 se tiene la ecuación 2.6.

$$R_t = 2\mu'_s \int_0^\infty e^{-2(\mu'_s + \mu_a)z} dz \quad (2.2)$$

$$R_t = -2\mu'_s \left\{ \frac{1}{2(\mu'_s + \mu_a)} \left[e^{-2(\mu'_s + \mu_a)\infty} - e^{-2(\mu'_s + \mu_a)0} \right] \right\} \quad (2.3)$$

$$R_t = - \left\{ \frac{\mu'_s}{(\mu'_s + \mu_a)} [e^{-\infty} - e^0] \right\} \quad (2.4)$$

$$R_t = - \left\{ \frac{\mu'_s}{(\mu'_s + \mu_a)} [-1] \right\} \quad (2.5)$$

$$R_t = \frac{\mu'_s}{\mu'_s + \mu_a} \quad (2.6)$$

Donde R_t es la reflectancia difusa total, μ'_s es el coeficiente de dispersión reducido, μ_a es el coeficiente de absorción, y z es el espesor del tejido. Con el fin de tener en cuenta los principales componentes biológicos de las tres capas de la piel (epidermis, dermis e hipodermis), en esta tesis se propone un modelo matemático de tres capas en el cual los componentes biológicos son representados en forma de variables de absorción y dispersión. Así entonces, la reflectancia difusa está dada por la ecuación. 2.7:

$$R_t(\lambda, \mu_a, \mu'_s) = R_{epi}(\lambda, \mu_{a,epi}, \mu'_{s,epi}) + R_{der}(\lambda, \mu_{a,der}, \mu'_{s,der}) + R_{hip}(\lambda, \mu_{a,hip}, \mu'_{s,hip}). \quad (2.7)$$

Los subíndices “epi, der e hip” remplazan las capas epidermis, dermis e hipodermis, respectivamente. Basados en las ecuaciones 2.6 y 2.7, se puede presentar una ecuación por partes, donde cada una de ellas corresponde a cada capa. Ecuaciones 2.8 a 2.10):

$$R_{epi} = 2\mu'_{s,epi} \int_0^{z_1} e^{-2(\mu'_{s,epi} + \mu_{a,epi})z} dz \quad (2.8)$$

$$R_{der} = 2\mu'_{s,der} \int_{z_1}^{z_2} e^{-2(\mu'_{s,der} + \mu_{a,der})z} dz \quad (2.9)$$

$$R_{hip} = 2\mu'_{s,hip} \int_{z_2}^{\infty} e^{-2(\mu'_{s,hip} + \mu_{a,hip})z} dz \quad (2.10)$$

Donde z_1 y $(z_2 - z_1)$ son los espesores de la epidermis y dermis respectivamente; la hipodermis es considerada como un plano semi-infinito. Resolviendo de la ecuación Eq. 2.8 a la Eq. 2.10, se obtienen las ecuaciones Eq. 2.11, 2.12 y 2.13:

$$R_{epi} = -\frac{\mu'_{s,epi}}{\mu'_{s,epi} + \mu_{a,epi}} \left[e^{-2(\mu'_{s,epi} + \mu_{a,epi})z_1} - 1 \right] \quad (2.11)$$

$$R_{der} = -\frac{\mu'_{s,der}}{\mu'_{s,der} + \mu_{a,der}} \left[e^{-2(\mu'_{s,der} + \mu_{a,der})z_2} - e^{-2(\mu'_{s,der} + \mu_{a,der})z_1} \right] \quad (2.12)$$

$$R_{hip} = \frac{\mu'_{s,hip}}{\mu'_{s,hip} + \mu_{a,hip}} \left[e^{-2(\mu'_{s,hip} + \mu_{a,hip})z_2} \right] \quad (2.13)$$

Donde R_{epi} , R_{der} y R_{hip} son las contribuciones a la reflectancia difusa total por cada una de las capas: epidermis, dermis e hipodermis respectivamente; $\mu'_{s,epi}$, $\mu'_{s,der}$ y $\mu'_{s,hip}$ son los coeficientes de dispersión reducidos por capa; $\mu_{a,epi}$, $\mu_{a,der}$ y $\mu_{a,hip}$ son los coeficientes de absorción por capa; z_1 es el espesor de la epidermis y $(z_2 - z_1)$ el espesor de la dermis.

2.3.1. ABSORCIÓN EN EPIDERMIS

El coeficiente de absorción en la epidermis se presenta como $\mu_{a,epi}$. Dicho coeficiente de absorción está dado por la ecuación 2.14 [5]:

$$\mu_{a,epi} = \mu_{a,mel}(\lambda) f_{mel} + \mu_{a,back}(\lambda)(1 - f_{mel}) \quad (2.14)$$

Donde $\mu_{a,mel}(\lambda)$ corresponde al espectro de absorción de melanina, presente en la ecuación 2.15 [5], f_{mel} representa la fracción volumétrica de melanina, y $\mu_{a,back}(\lambda)$ la absorción en la epidermis debido al fondo, es decir, las otras variables que absorben dentro de esta capa que no son tenidas en cuenta, la fórmula de $\mu_{a,back}(\lambda)$ se presenta en la ecuación 2.16 [5]:

$$\mu_{a,mel}(\lambda) = 6,6 \times 10^{11} \lambda^{-3,33} \quad (2.15)$$

$$\mu_{a,back}(\lambda) = 7,84 \times 10^8 \lambda^{-3,255} \quad (2.16)$$

Las Figuras 2.12 y 2.13 son los coeficientes de absorción por melanina y fondo de epidermis ($\mu_{a,mel}(\lambda)$ y $\mu_{a,back}(\lambda)$), respectivamente. La Figura 2.14 es la absorción total en la epidermis.

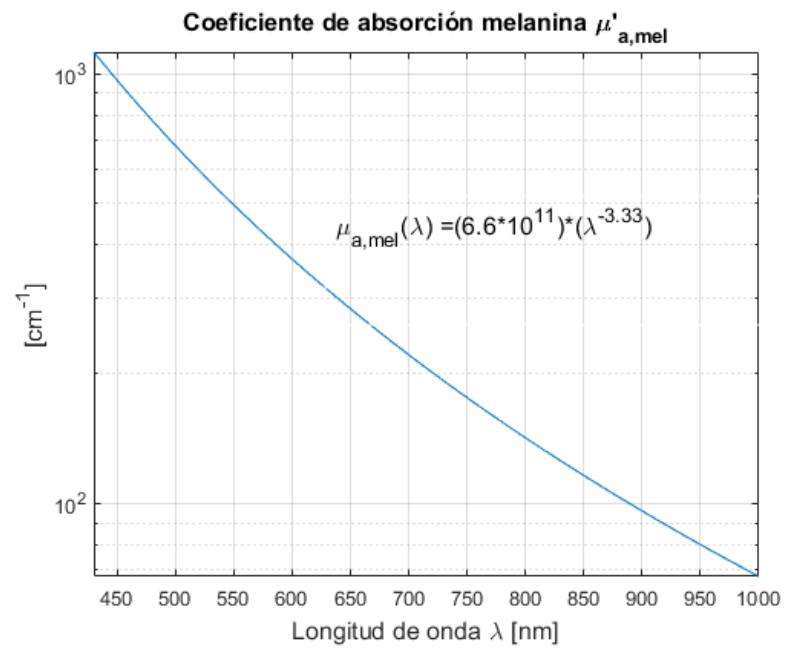


Figura 2.12: Coeficiente de absorción por melanina.

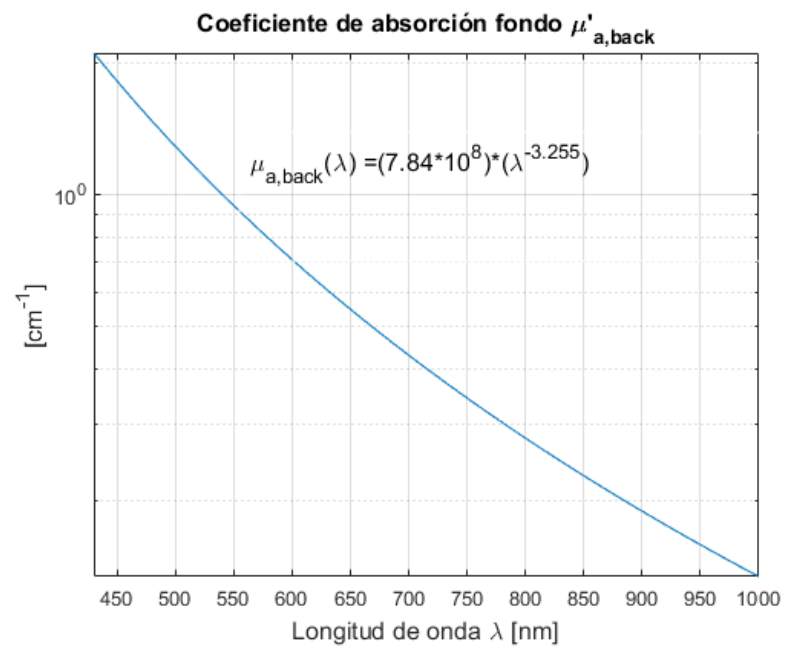


Figura 2.13: Coeficiente de absorción por fondo en epidermis.

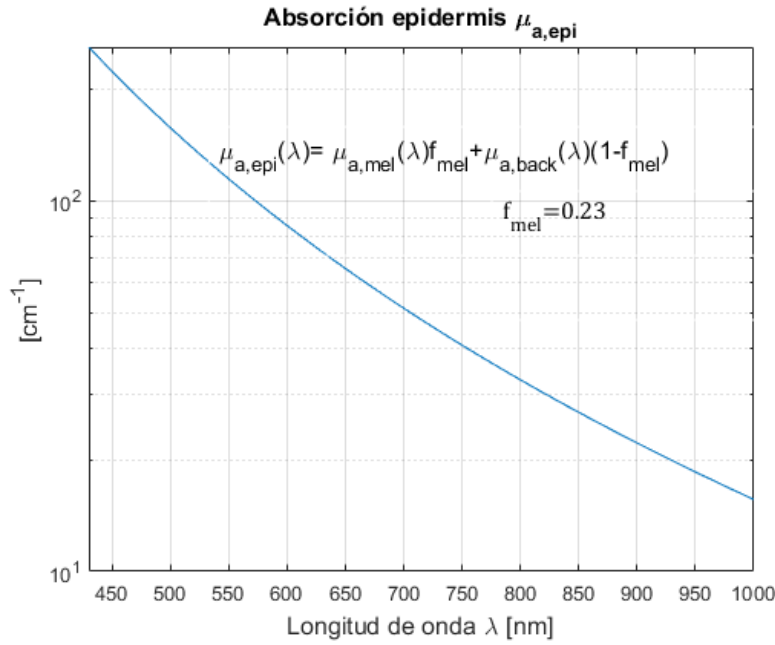


Figura 2.14: Absorción en epidermis.

2.3.2. ABSORCIÓN EN DERMIS

El coeficiente de absorción en la dermis se presenta como $\mu_{a,der}$. Dicho coeficiente de absorción está dado por la ecuación 2.17 [5]:

$$\mu_{a,der} = \mu_{a,blood}(\lambda)f_{blood} + \mu_{a,back}(\lambda)(1 - f_{blood}) \quad (2.17)$$

Donde f_{blood} es la fracción volumétrica de sangre, $\mu_{a,back}(\lambda)$ la absorción dermis debido al fondo, al igual que en la epidermis se da por la ecuación 2.16 (Figura 2.13). $\mu_{a,blood}(\lambda)$ es la absorción de la sangre debido a la oxihemoglobina y desoxihemoglobina: $\mu_{a,blood}(\lambda) = \mu_{a,oxy} + \mu_{a,deoxy}$. Los coeficientes de absorción de oxihemoglobina y desoxihemoglobina son dados por las ecuaciones 2.18 y 2.19, respectivamente [5]:

$$\mu_{a,oxy} = \epsilon_{oxy}(\lambda)C_{heme}SO_2/66500 \quad (2.18)$$

$$\mu_{a,deoxy} = \epsilon_{deoxy}(\lambda)C_{heme}(1 - SO_2)/66500 \quad (2.19)$$

Donde ϵ_{oxy} y ϵ_{deoxy} son los coeficientes de extinción molar de la hemoglobina y la desoxihemoglobina respectivamente [$cm^{-1}/(mol/litro)$], con peso molecular de 66500 gr/mol. Estos coeficientes de extinción molar pueden ser encontrados en la literatura [6, 7]. C_{heme} es la concentración de hemoglobina en la sangre [gr/litro] mientras que SO_2 es la saturación de oxígeno en la sangre.

En la Figura 2.15 se presenta tanto el coeficiente de extinción molar de la oxihemoglobina como el de la desoxihemoglobina. De igual manera se presenta en la Figura 2.16 la absorción en la dermis debida a la hemoglobina mientras que en la Figura 2.17 se encuentra la absorción total en la dermis.

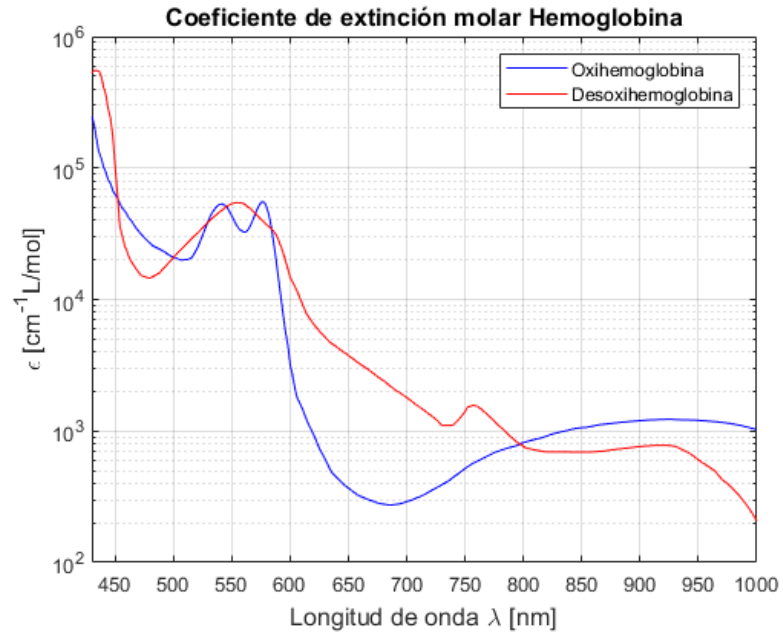


Figura 2.15: Coeficiente de extinción molar de la oxihemoglobina y desoxihemoglobina [8].

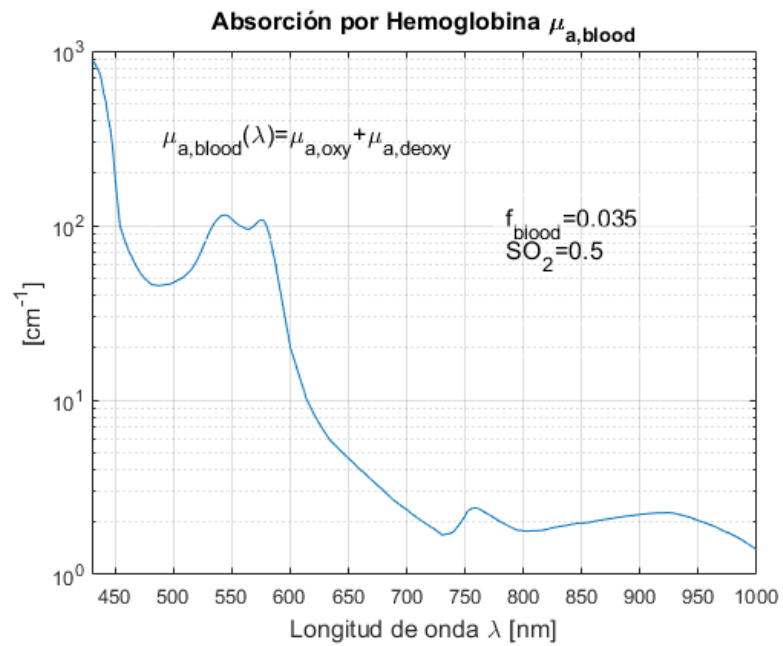


Figura 2.16: Absorción por hemoglobina [8].

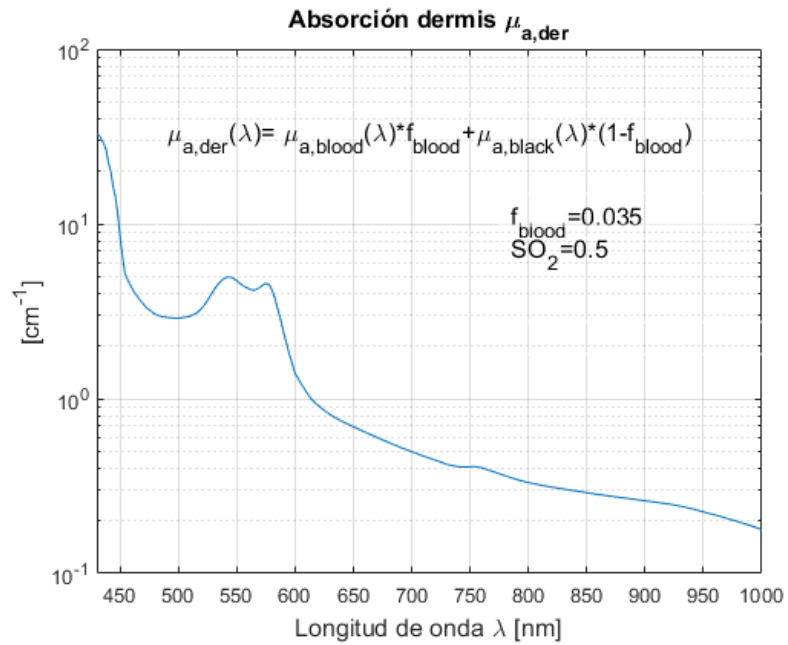


Figura 2.17: Absorción en dermis.

2.3.3. ABSORCIÓN EN HIPODERMIS

El componente de absorción en la hipodermis ($\mu_{a,hip}$), fué medido por Van Veen et al [9] y se presenta en la Figura 2.18.

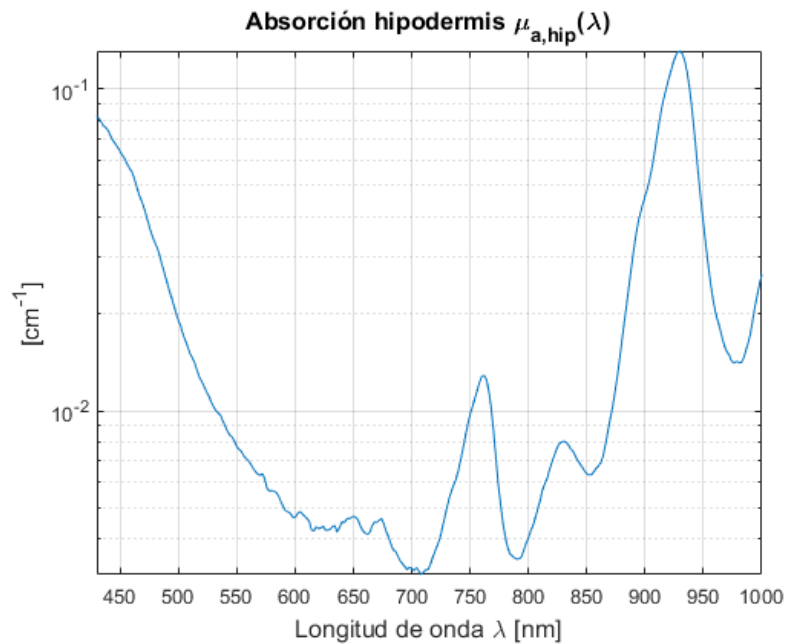


Figura 2.18: Absorción en hipodermis [10].

La Tabla 2.1 contiene los valores de absorción en piel humana.

Tabla 2.1: Variables de absorción en tejido humano

Variable	Capa	Valor	Referencia
f_{mel}	Epidermis	0.01-0.43	[5]
f_{blood}	Dermis	0.002-0.07	[5, 6]
SO_2	Dermis	0-1	[5]
C_{heme}	Dermis	150	[5, 6]

2.3.4. DISPERSIÓN EN EPIDERMIS

La Figura 2.19 contiene un ejemplo del coeficiente de dispersión reducido debido a partículas de queratina ($\mu'_{s,ker}$). Específicamente, para este ejemplo, se utiliza una fracción volumétrica de queratinocitos $Fvol_kera = 0,5$, y un diámetro de $D_kera = 0,015\mu m$. La dispersión total en la epidermis es la misma debido a que en el modelo propuesto en esta tesis, el único parámetro encargado de dispersar la luz incidente en la epidermis fue la queratina. Para el cálculo de esta dispersión se utiliza la teoría de dispersión de Mie como se expone en la referencia [11].

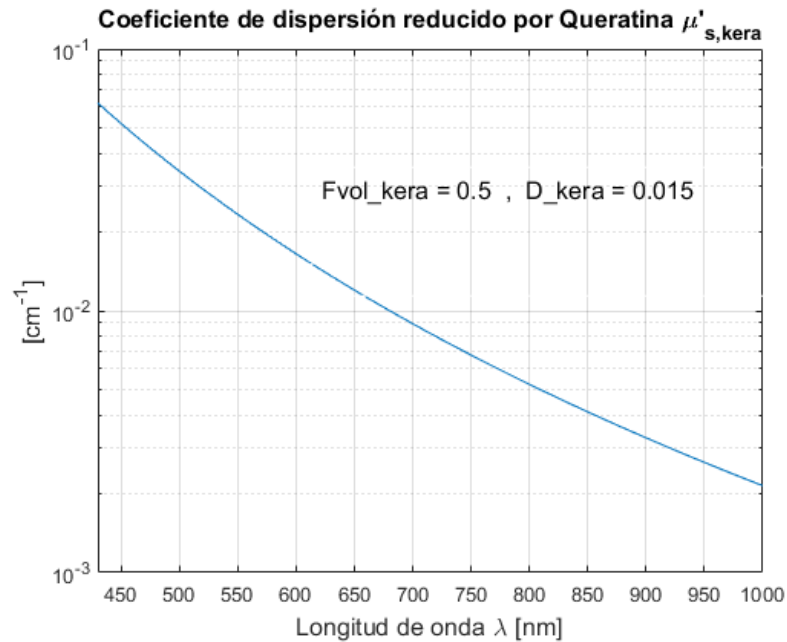


Figura 2.19: Coeficiente de dispersión reducido por keratina.

2.3.5. DISPERSIÓN EN DERMIS

La Figura 2.20 contiene un ejemplo del coeficiente de dispersión reducido debido a partículas colágenas ($\mu'_{s,col}$). Específicamente, para este ejemplo, se utiliza una fracción volumétrica de colágeno $Fvol_col = 0,12$, y un diámetro de $D_col = 0,42\mu m$. Para el cálculo de esta dispersión se utiliza la teoría de dispersión de Mie como se expone en la referencia [11].

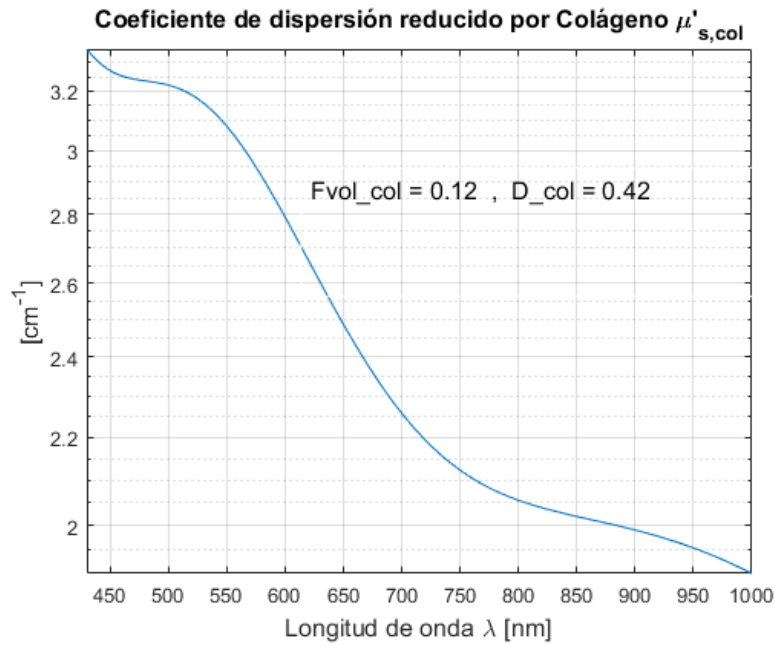


Figura 2.20: Coeficiente de dispersión reducido por Colágeno.

La Figura 2.21 contiene un ejemplo del coeficiente de dispersión reducido debido a partículas de fibroblastos ($\mu'_{s,fibro}$). Específicamente, para este ejemplo, se utiliza una fracción volumétrica de fibroblastos $Fvol_{fibro} = 0,5$, y un diámetro de $D_{fibro} = 0,21\mu m$.

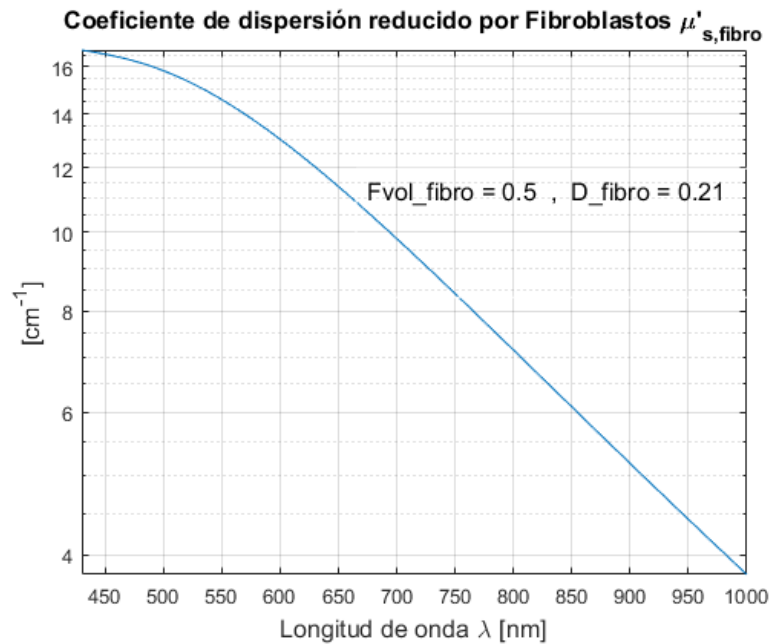


Figura 2.21: Coeficiente de dispersión reducido por Fibroblastos.

La Figura 2.22 contiene un ejemplo del coeficiente de dispersión reducido debido a partículas de macrófagos ($\mu'_{s,macro}$). Específicamente, para este ejemplo, se utiliza una fracción volumétrica de macrófagos $Fvol_{macro} =$

0,5, y un diámetro de $D_{macro} = 80\mu m$.

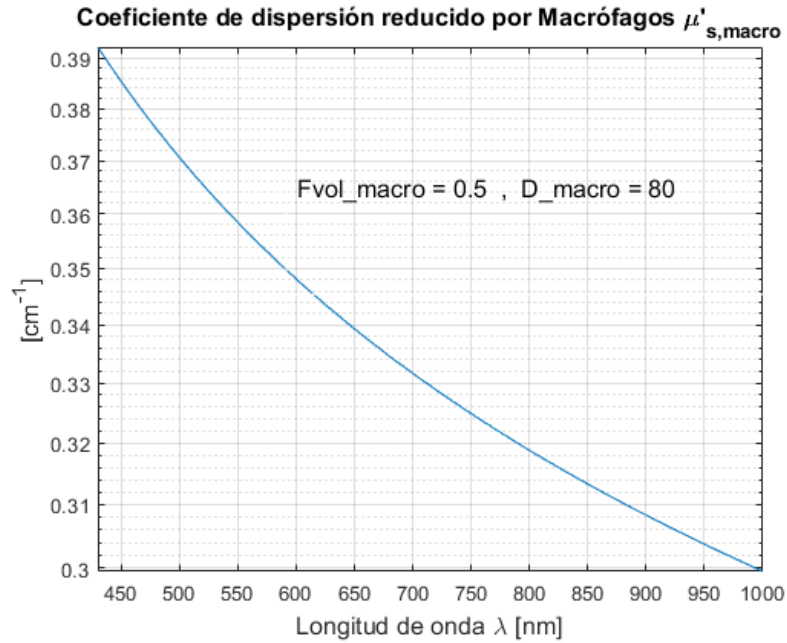


Figura 2.22: Coeficiente de dispersión reducido por Macrófagos.

La Figura 2.23 contiene un ejemplo de la dispersión total en dermis con : $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $Fvol_{fibro} = 0,5$, $D_{macro} = 80\mu m$ y $Fvol_{macro} = 0,5$.

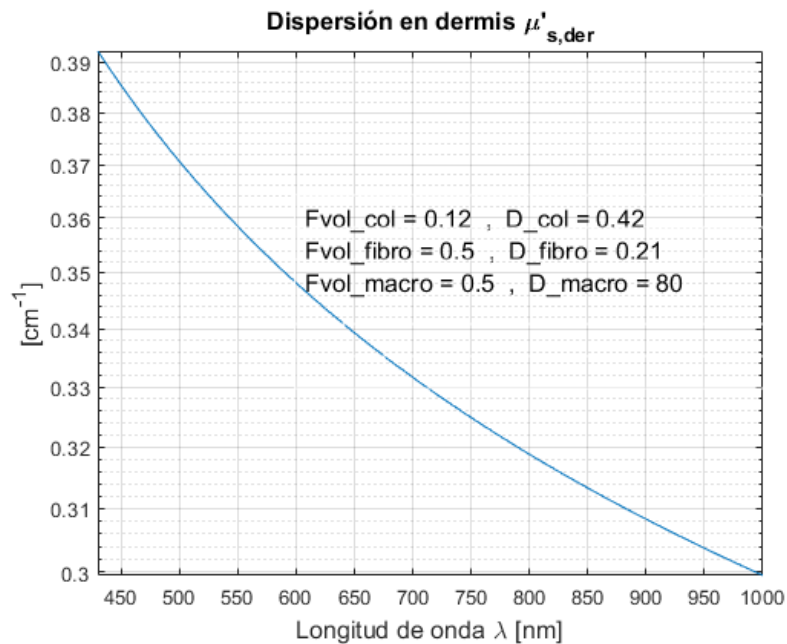


Figura 2.23: Dispersión en dermis.

La Tabla 2.2 contiene los rangos del diámetro de las células dispersivas en piel humana utilizadas en este

modelo.

Tabla 2.2: Diámetro de células dispersivas en piel humana

Células	Capa	Diámetro [um]	Referencia
Queratinocitos	Epidermis	15-50	[12]
Colágeno	Dermis	0.03-0.3	[13]
Fibroblastos	Dermis/Hipodermis	10-15	[14]
Macrófagos	Dermis/Hipodermis	20-80	[14]

2.3.6. DISPERSIÓN EN HIPODERMIS

Debido a que tanto los fibroblastos como los macrófagos se encuentran en dermis e hipodermis, se eligió tenerlos en cuenta solo en el tejido dérmico, por lo tanto la dispersión en la hipodermis se considera nula en este modelo.

2.3.7. REFLECTANCIA TOTAL

Habiendo simulado los coeficientes de dispersión y absorción de cada capa, utilizando la ecuación 2.7 es posible hallar la reflectancia difusa del tejido bajo estudio, para este ejemplo de reflectancia difusa en tejido humano, la Figura 2.24 contiene la simulación de reflectancia al utilizar los siguientes parámetros: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $f_{mel} = 0,23$, $Fvol_kera = 0,5$, $D_kera = 0,015\mu m$, $f_{blood} = 0,035$, $SO_2 = 0,5$, $Fvol_col = 0,12$, $D_col = 0,42\mu m$, $Fvol_fibro = 0,5$, $D_fibro = 0,21\mu m$, $Fvol_macro = 0,5$, y $D_macro = 80\mu m$.

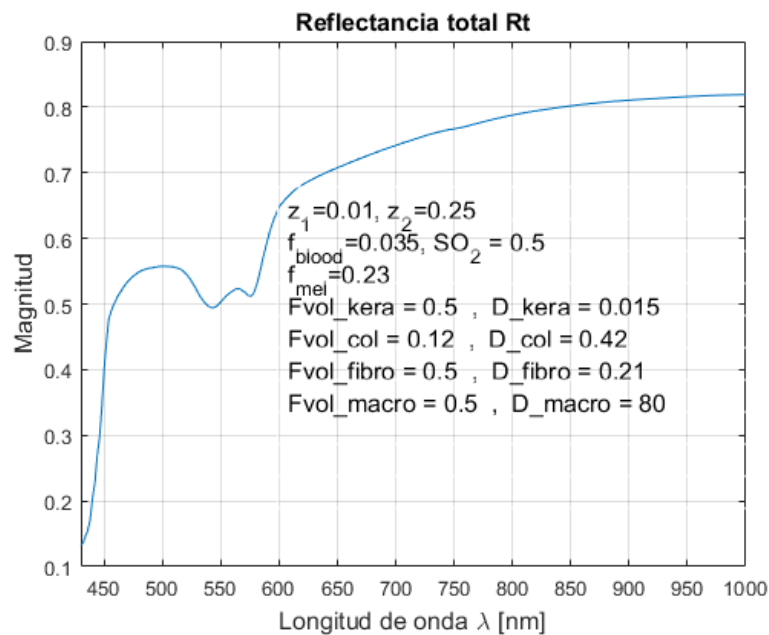


Figura 2.24: Reflectancia total en tejido humano.

2.4. MODELO INVERSO

2.4.1. ALGORITMOS GENÉTICOS

El algoritmo genético (GA) es un conjunto de técnicas basadas en la evolución biológica de los seres vivos, fundamentada por la teoría de evolución de Charles Darwin. Esta teoría postula que la selección natural tiende

a progresar en dirección a la perfección. Con esta base, la aplicación del algoritmo genético es: codificar variables, seleccionar, combinar y mutar hasta encontrar los individuos (posibles soluciones) mejores adaptados en el sistema. Esto implica encontrar soluciones que satisfacen la función objetivo (maximizar o minimizar una función) sujetas a restricciones de diseño. Un algoritmo genético funciona independientemente del problema convirtiéndolo en un algoritmo robusto al poder ser aprovechado en una amplia gama de aplicaciones [15]. Este algoritmo ha sido utilizado previamente en el análisis de reflectancia difusa en tejidos blandos permitiendo obtener características del tejido como: Fracción volumétrica de melanina, fracción volumétrica de sangre, fracción volumétrica de hemoglobina, diámetro de partículas colágenas, entre otros [16–18].

Para el desarrollo del modelo inverso o método inverso, se propuso la implementación de un algoritmo genético. En la Figura 2.25 se presenta el esquema del funcionamiento del algoritmo genético utilizado. Como primer paso se generó una población aleatoria de 20 individuos, quienes son las firmas simuladas o cromosoma P (R_s =Reflectancia simulada), estos individuos son comparados con la firma espectral medida (R_m =Reflectancia medida), se calcula el error cuadrático medio MSE (*Mean square error*), donde los mejores individuos serán los que tengan el valor más cercano a 0. Luego de evaluar los primeros 20 individuos se entra a una etapa de evolución de esta población, para ello se escogen los mejores individuos, se reproducen, se mutan y se seleccionan unos nuevos 20, esta será la nueva generación que nuevamente será evaluada en la función de aptitud (MSE). Este proceso se repite un número N de iteraciones (generaciones). Se realizó un 70% de cruce de los individuos, y un 80% de mutación en cada generación, hasta un total de 200 generaciones.

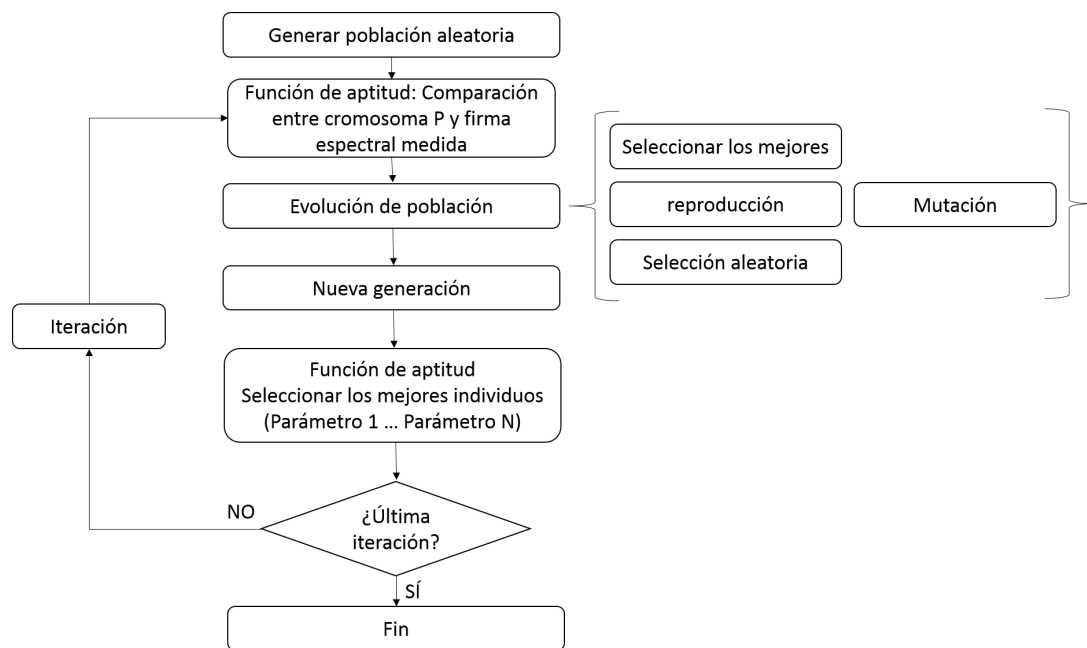


Figura 2.25: Esquema de algoritmo genético utilizado.

NÚMERO DE GENERACIONES

Para seleccionar el número de generaciones o iteraciones pertinentes para el modelo inverso implementado, se realizaron pruebas sobre múltiples valores. La Figura 2.26 contiene el historial de minimización del MSE al utilizar como parámetros del AG 100, 200, y 300 generaciones. Para 100 generaciones el historial de minimización no llega a $0,2 \times 10^{-3}$ por lo que se descarta este valor, además que su comportamiento parece mostrar mejoría para un mayor número de generaciones. En el caso de las 300 generaciones se llega a valores de MSE menores a $0,2 \times 10^{-3}$ aunque parece estabilizarse en esos valores incluso antes; debido a esto se eligen 200 generaciones, donde se nota un buen descenso en la minimización y se llega a un valor estable.

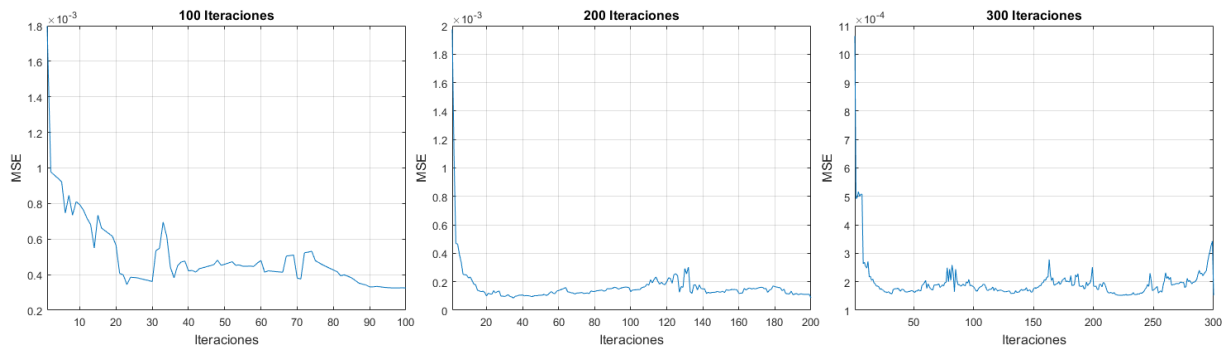


Figura 2.26: Selección de número de iteraciones en AG.

NÚMERO DE INDIVIDUOS

En el caso del número de individuos, se realizaron varias simulaciones con diferentes valores. La Figura 2.27 contiene el historial de minimización del MSE al utilizar como parámetros del AG 10, 20, y 30 individuos. Puede notarse como con un total de 10 individuos, la minimización parece no estar estable en un punto mínimo, al utilizar 30 individuos la minimización no es óptima y parece inclusive aumentar. Al utilizar 20 individuos se llega a un buen valor mínimo y no se presenta una oscilación representativa. Por lo tanto se opta por utilizar 20 individuos.

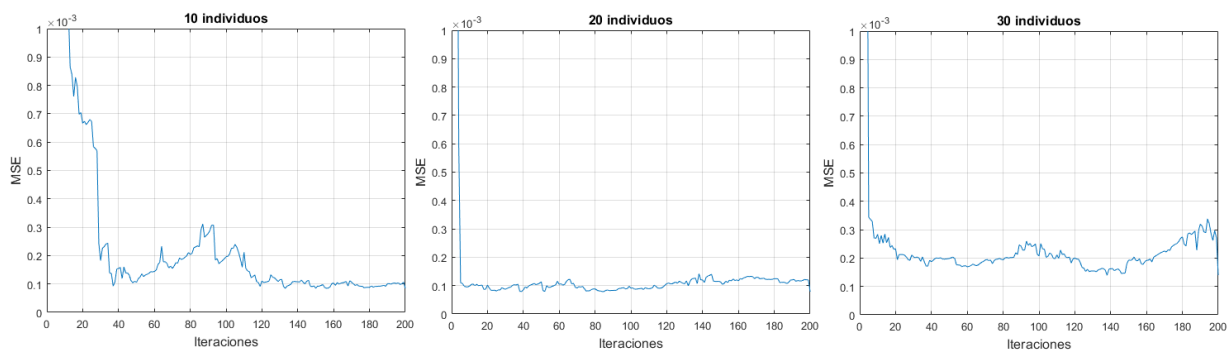


Figura 2.27: Selección de número de individuos en AG.

RANGO DE BÚSQUEDA

Para encontrar el rango de búsqueda de los parámetros biológicos del modelo inverso con algoritmos genéticos, se realizan los siguientes pasos:

- Se toman los valores establecidos en la literatura para tejido humano (Tablas 2.1 y 2.2). Se ingresan los datos al modelo inverso en conjunto con firmas espectrales adquiridas en piel sana de los hámsteres, y se grafican los histogramas de los parámetros biológicos estimados.
- Se analizan los histogramas por variable buscando un comportamiento normal, se identifican las variables con grupo de datos acumulados en los extremos de los histogramas.
- Se amplían los rangos de las variables identificadas en el punto anterior.

El proceso se repite hasta que los histogramas de cada variable tengan un comportamiento normal o que se llegue a su rango máximo (en caso de estar delimitado). El rango de búsqueda de cada parámetro fue utilizado en el modelo inverso para el procesamiento de todas las firmas adquiridas de los hámsteres, y sus rangos se encuentran en la siguiente sección, Tabla 3.13.

2.4.2. ANÁLISIS DE VARIANZA - ANOVA

En el campo de la estadística, el análisis de varianza, también conocido como ANOVA, es una técnica utilizada para estudiar observaciones dependientes de varios factores, con el objetivo de determinar si los datos tomados en varios grupos de un factor tienen una media común. Durante el análisis, la variabilidad total de los datos (SST) se descompone en dos términos (Ecuación 2.20), la variación de las medias grupales respecto a la media global (SSR) y la variación de las observaciones en cada grupo respecto a su media (SSE), para rechazar la hipótesis nula de que todas las medias de los diferentes grupos son iguales (Ecuación 2.21) y probando la hipótesis alternativa que sugiere la existencia de desigualdad de las medias en por lo menos dos de los grupos [19], (Ecuación 2.22).

$$\sum_i \sum_j (y_{ij} - \bar{y})^2 = \sum_j n_j (\bar{y}_j - \bar{y})^2 + \sum_i \sum_j (y_{ij} - \bar{y}_j)^2 \quad (2.20)$$

$$SST = SSR + SSE$$

donde, \bar{y}_j es la media del grupo j , \bar{y} es la media general de la muestra y n_j es el tamaño de la muestra del j^{th} grupo, $j = 1, 2, \dots, k$. i es el número de observaciones.

$$H_0 : \bar{y}_1 = \bar{y}_2 = \dots = \bar{y}_k \quad (2.21)$$

$$H_1 : \text{No todas las medias son iguales} \quad (2.22)$$

Para la comparación de la variación entre los grupos, se busca determinar si la relación entre cada grupo y dentro de cada grupo es significativamente alta, dado que esto indica que las medias de los grupos son significativamente diferentes entre sí. Esta variación puede ser medida mediante la prueba de Fisher o prueba F, que consiste en el cociente de cada suma de cuadrados (SSR y SSE) dividida por sus grados de libertad ($[k - 1$ y $N - K]$, $N =$ número de observaciones), para obtener los estadísticos denominados cuadrados medios 2.23 que nos indica la existencia o no de un efecto del grupo sobre la población.

Teniendo en cuenta el p -value de la prueba de Fisher, se puede concluir que si este es menor que el nivel significativo (0,05) la hipótesis nula es rechazada y se concluye que por lo menos la media de dos de los grupos son diferentes.

$$F = \frac{SSR/k - 1}{SSE/N - k} = \frac{MRS}{MSE} \sim F_{k-1, N-k} \quad (2.23)$$

De los hámsteres utilizados dentro del proyecto macro, en esta tesis se analizan los 10 únicos hámsteres que llegaron hasta el final del experimento, infectados con *Leishmaniasis Brasiliensis*. En esta tesis, son tomados como factores para el análisis de ANOVA: tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera, en diferentes instantes de tiempo, en los cuales se mide cada uno de los parámetros biológicos estimados por el método inverso ($z_1, z_2, D_kera, D_Col, Fvol_Col, D_Fibro, D_Macro, f_{mel}, f_{blood}$ y SO_2), obteniendo así una tabla con los valores p por cada una de las variable para cada uno de los 10 hámsteres analizados, obteniendo un total de 100 tablas, las cuales se presentan en el Apéndice A.

REFERENCIAS

- [1] G. Lu and B. Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 19, no. 1, p. 10901, 2014. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.19.1.010901>
- [2] J. Galeano, S. Perez, Y. Montoya, D. Botina, and J. Garzón, "Blind source separation of ex-vivo aorta tissue multispectral images," *Biomedical Optics Express*, vol. 6, no. 5, p. 1589, 2015. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=boe-6-5-1589>
- [3] G. Zonios and A. Dimou, "Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties," *Optics Express*, vol. 14, no. 19, p. 8661, 2006. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-14-19-8661>
- [4] —, "Modeling diffuse reflectance from homogeneous semi-infinite turbid media for biological tissue applications: a monte carlo study," *Biomedical optics express*, vol. 2, no. 12, pp. 3284–3294, 2011.
- [5] D. Yudovsky and L. Pilon, "Simple and accurate expressions for diffuse reflectance of semi-infinite and two-layer absorbing and scattering media," *Applied optics*, vol. 48, no. 35, pp. 6670–6683, 2009. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20011007>
- [6] P. Scott, "Optical absorption of hemoglobin," <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin>, 1999.
- [7] S. L. Jacques, R. Samatham, and N. Choudhury, "Rapid spectral analysis for spectral imaging," *Biomedical optics express*, vol. 1, no. 1, pp. 157–164, 2010.
- [8] "Optical absorption of hemoglobin," <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>, accessed: 2019-06-30.
- [9] R. Van Veen, H. J. Sterenborg, A. Pifferi, A. Torricelli, E. Chikoidze, and R. Cubeddu, "Determination of visible near-ir absorption coefficients of mammalian fat using time-and spatially resolved diffuse reflectance and transmission spectroscopy," *Journal of biomedical optics*, vol. 10, no. 5, p. 054004, 2005.
- [10] "Optical absorption of fat," <https://omlc.org/spectra/fat/>, accessed: 2019-06-30.
- [11] C. Mätzler, "Matlab functions for mie scattering and absorption, version 2," *IAP Res. Rep*, vol. 8, no. 1, p. 9, 2002.
- [12] B. Yann and G. Howard, "Cell size as a determinant of the clone-forming ability of human keratinocytes," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 82, no. 16, pp. 5390–5394, 1985.
- [13] T. Ushiki, "The three-dimensional ultrastructure of the collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers: a review," *Kaibogaku zasshi. Journal of anatomy*, vol. 67, no. 3, pp. 186–199, 1992.
- [14] R. A. Freitas Jr, "Nanomedicine, volume i: Basic capabilities. landes bioscience, georgetown, tx, 1999," *Google Scholar*, 1999.
- [15] J. Arranz de la Peña and A. Parra Truyol, "Algoritmos genéticos," *Universidad Carlos III*, 2007.
- [16] F. Galeano, JA and Jolivot, Romuald and Marzani, "Quantification of melanin and hemoglobin in human skin from multispectral image acquisition: use of a neuronal network combined to a non-negative matrix factorization," *Applied and Computational Mathematics*, vol. 11, no. 2, pp. 257–270, 2012.
- [17] J. Galeano, P. JoseTapia-Escalante, S. M. Pérez-Buitrago, Y. Hernández-Hoyos, L. F. Arias-Muñoz, A. Zarzycki, J. Garzón-Reyes, and F. Marzani., "Light-Tissue Interaction Model for the Analysis of Skin Ulcer Multi-spectral Images," vol. 27, 2017. [Online]. Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-68195-5>
- [18] R. Jolivot, "Development of an imaging system dedicated to the acquisition, analysis and multispectral characterisation of skin lesions," Ph.D. dissertation, Université de Bourgogne, 2011.
- [19] D. C. Montgomery, G. C. Runger, and N. F. Hubele, *Engineering statistics*. John Wiley & Sons, 2009.

3

RESULTADOS

Contenido

3.1	Introducción	39
3.2	Base de datos espectrales	39
3.2.1	Firmas espectrales adquiridas	39
3.2.2	Selección de firmas correctamente optimizadas	42
3.2.3	Firmas espectrales seleccionadas	45
3.2.4	Hipercubos espectrales adquiridos	47
3.3	Estimación de parámetros biológicos en firmas espectrales	49
3.3.1	Parámetros biológicos en tejido Sano	49
3.3.2	Parámetros biológicos en borde de úlcera	50
3.3.3	Parámetros biológicos en centro de úlcera	51
3.4	Modelo directo de tres capas en hámsteres dorados	53
3.4.1	Variación espesor epidermis z_1	53
3.4.2	Variación espesor dermis z_2	54
3.4.3	Variación keratinocitos D_{kera}	54
3.4.4	Variación colágeno D_{col}	55
3.4.5	Variación fracción volumétrica de colágeno $Fvol_{col}$	55
3.4.6	Variación fibroblastos D_{fibro}	56
3.4.7	Variación macrófagos D_{macro}	56
3.4.8	Variación fracción volumétrica de melanina f_{mel}	57
3.4.9	Variación fracción volumétrica de hemoglobina f_{blood}	57
3.4.10	Variación saturación de oxígeno SO_2	58
3.5	Seguimiento al tratamiento mediante firmas espectrales	58
3.5.1	Análisis de la forma de firmas espectrales de tejido sano, borde y centro de úlcera.	58
3.5.2	Test de ANOVA como seguimiento al tratamiento	60
3.6	Seguimiento al tratamiento mediante mapas de concentración	74
3.6.1	Seguimiento a tratamiento experimental en G1C2H1	74
3.6.2	Seguimiento a tratamiento comercial en G2C4H1	76
3.6.3	Seguimiento sin tratamiento en G1C3H1	78
	Referencias	82

3.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos. En primera estancia se explica la base de datos de tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera, generada a partir de la adquisición de firmas espectrales e hiper-cubos, por medio de un espectrómetro y el sistema de adquisición de imágenes espectrales ASCLEPIOS, respectivamente. Como segunda parte se presenta la simulación del modelo directo de reflectancia difusa de tres capas propuesto, con variaciones en sus parámetros que representan variables biológicas en el tejido. Con ayuda del modelo inverso se estiman los parámetros biológicos para los tres tipos de tejidos utilizados.

Se realiza un test de ANOVA a 10 hámsteres durante el seguimiento al tratamiento en 4 fechas: La primera durante la formación de la úlcera, una segunda toma durante el tratamiento, la tercera en la primera fecha post-tratamiento y la última fecha en la última adquisición realizada. Esta última fecha es posteriormente comparada con datos histológicos.

Para analizar el seguimiento al tratamiento por medio de imágenes multiespectrales al utilizar modelo inverso, es decir, por medio de mapas de concentración, se toman 3 hámsteres infectados con *Leishmaniasis Brasiliensis*, a los cuáles se les hace el seguimiento a: tratamiento experimental, tratamiento comercial y sin tratamiento, de modo que se analizan los cambios en las variables arrojadas por el método inverso a lo largo del tratamiento. En la última fecha se hace una relación con los datos histológicos, demostrando la potencialidad de este método para realizar un seguimiento al tratamiento no solo a úlceras causadas por *Leishmaniasis* sino, probablemente a todo tipo de úlceras.

3.2. BASE DE DATOS ESPECTRALES

Para el desarrollo de esta tesis se tuvieron cuatro grupos de hámsteres G1, G2, G3 y G4, donde cada grupo tuvo de 6 a 8 cajas C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, y C8. Dentro de cada caja se dispusieron de 2 a 4 hámsteres H1, H2, H3 y H4. Para referirse a un hámster específico se optará por una mezcla consecutiva de las letras y números anteriormente mencionados, por ejemplo, en vez de decir "hámster 1 de la caja 3 del grupo 4" se indicará "G4C3H1".

Se tomaron datos espectrales durante la evolución de la enfermedad. Dependiendo del grado de la enfermedad se tomaron datos en tejido sano, borde, y centro de úlcera. De igual forma es importante resaltar que los hámsteres como cualquier ser vivo, tienen un sistema inmunológico diferente entre cada individuo, esto y otros factores hacen que la respuesta de cada uno ante una enfermedad como la *Leishmaniasis*, sea diferente. Es decir, no todos los hámsteres desarrollaron su úlcera en la misma fecha ni sanaron al mismo tiempo. Algunos hámsteres murieron durante la toma de datos evitando tener el mismo número de adquisiciones por hámster.

Aunque se tome tejido sano, borde y centro de úlcera como tres firmas independientes, su firma espectral difiere entre la misma clase, inclusive dentro del mismo hámster. Es decir, una firma de tejido sano en la fecha 1 en G1C1H1 no será necesariamente igual a una firma de tejido sano del mismo hámster en la misma fecha solo por el hecho de tomarla en una zona sana diferente. Esto se notó aún más en el tejido centro de úlcera, debido a que el diámetro y profundidad del centro de la úlcera puede tener una mayor variación, incluyendo el espesor y color de la costra (en caso de tener una).

3.2.1. FIRMAS ESPECTRALES ADQUIRIDAS

La Tabla 3.1 contiene la información con el número de firmas espectrales adquiridas por cada hámster para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 1. Para un total de 2420 firmas de tejido sano, 1294 de borde de úlcera, y 1845 de centro de úlcera.

Grupo 1				
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	143	71	126
	2	127	76	118
	3	77	62	62
2	1	140	89	115
	2	50	38	39
	3	140	86	100
3	1	144	52	103
	2	144	87	131
	3	147	59	114
4	1	146	87	103
	2	145	105	120
	3	139	120	117
5	1	148	78	139
	2	142	102	127
	3	144	106	143
6	1	138	10	35
	2	147	22	74
	3	141	44	79

Tabla 3.1: Firmas espectrales adquiridas en G1

La Tabla 3.2 contiene la información con el número de firmas espectrales adquiridas por cada hámster para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 2. Para un total de 2192 firmas de tejido sano, 663 de borde de úlcera, y 998 de centro de úlcera.

Grupo 2				
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	141	0	0
	2	147	0	0
	3	138	0	0
2	1	143	0	0
	2	121	49	105
	3	47	11	22
3	1	145	95	125
	2	110	85	91
	3	84	54	55
4	1	134	58	130
	2	139	75	122
	3	129	82	110
	4	137	40	118
5	1	138	0	0
	2	133	0	0
	3	144	0	0
	4	142	0	0
6	1	100	58	83
	2	89	49	69
	3	110	47	86
	4	104	24	63

Tabla 3.2: Firmas espectrales adquiridas en G2

La Tabla 3.3 contiene la información con el número de firmas espectrales adquiridas por cada hámster para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 3. Para un total de 1932 firmas de tejido sano, 1018 de borde de úlcera, y 1539 de centro de úlcera.

Grupo 3				
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	44	10	22
	2	109	62	88
	3	41	10	20
2	1	150	78	113
	2	51	17	18
	3	68	41	44
3	1	144	41	124
	2	84	54	59
	3	149	53	124
4	1	146	85	144
	2	70	50	53
	3	84	55	65
5	1	64	39	44
	2	148	76	121
	3	149	85	124
6	1	141	79	128
	2	146	92	116
	3	144	91	132

Tabla 3.3: Firmas espectrales adquiridas en G3

La Tabla 3.4 contiene la información con el número de firmas espectrales adquiridas por cada hámster para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 4. Para un total de 1733 firmas de tejido sano, 662 de borde de úlcera, y 1048 de centro de úlcera.

Grupo 4									
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO	Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	73	22	18	5	1	119	77	101
	2	118	73	72		2	117	22	102
	3	108	55	63		3	122	68	78
	4	111	55	86		4	112	57	91
2	1	128	30	100	6	1	72	22	32
	2	123	42	92		2	126	0	0
	3	57	10	20		3	60	0	20
	4	118	0	36		4	42	10	20
3	1	72	27	29	7	1	98	56	56
	2	101	75	78		2	117	44	83
	3	85	39	50		3	77	34	43
	4	69	42	35		4	49	0	20
4	1	61	30	29	8	1	123	24	68
	2	121	34	100		2	114	51	86
	3	115	59	93		3	32	0	0
	4	121	69	90		4	121	74	103

Tabla 3.4: Firmas espectrales adquiridas en G4

3.2.2. SELECCIÓN DE FIRMAS CORRECTAMENTE OPTIMIZADAS

En la anterior sección se presentaron el total de firmas adquiridas durante las tomas de datos. Sin embargo, no todas ellas fueron optimizadas correctamente. Para ello se establecieron unos umbrales de selección entre las firmas espectrales medidas y las simuladas, específicamente el error cuadrático medio y la correlación (r). Tanto para tejido sano, borde y centro de úlcera las condiciones fueron las siguientes: 1) El MSE entre R_m y R_s debe ser menor a 0.0005 y r debe ser mayor a 0.955. Si la firma espectral cumple con las dos condiciones anteriores, se considera como una firma correctamente optimizada, de lo contrario es descartada. Estos rangos de MSE y r fueron escogidos al analizar visualmente los rangos para los cuales las firmas coincidían. El error cuadrático medio fue calculado por la ecuación Ecuación 3.1[1]:

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{\lambda=480}^{800} (R_{m\lambda} - R_{s\lambda})^2 \quad (3.1)$$

Donde: n corresponde al número de puntos en el espectro de reflectancia difusa. En nuestro caso, n corresponde a 321 puntos (480-800 nm); R_m es el vector de reflectancia difusa medido, y R_s el simulado. El coeficiente de correlación r calculado entre R_m y R_s fue calculado por la Ecuación 3.2 [4].

$$r = \frac{\sum_{\lambda=480}^{800} (R_{m\lambda} - \overline{R_m})(R_{s\lambda} - \overline{R_s})}{\sqrt{\left(\sum_{\lambda=480}^{800} (R_{m\lambda} - \overline{R_m})^2\right) \left(\sum_{\lambda=480}^{800} (R_{s\lambda} - \overline{R_s})^2\right)}} \quad (3.2)$$

Donde r es el coeficiente de correlación, R_m el espectro de reflectancia difusa medido, $\overline{R_m}$ el valor medio de R_m , R_s el espectro de reflectancia simulado y $\overline{R_s}$ su valor medio. La Figura 3.1 contiene tres ejemplos de firmas espectrales de tejido sano correctamente optimizadas. Las tres se encuentran dentro del rango especificado y se puede notar como R_s es similar a R_m .

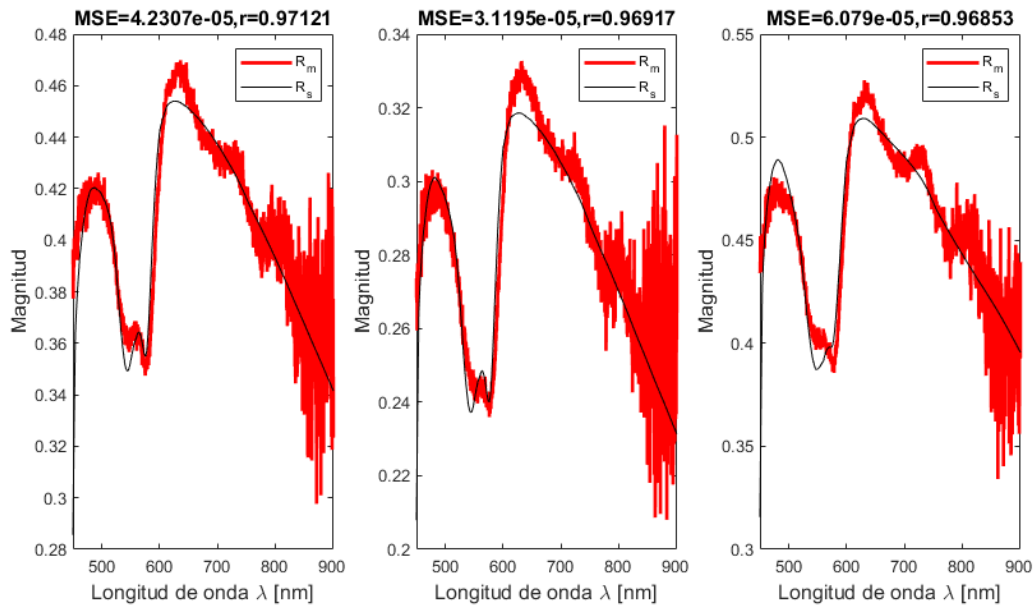


Figura 3.1: Firmas bien optimizadas para tejido sano.

La Figura 3.2 contiene tres ejemplos de firmas espectrales de tejido sano cuya optimización no fue la esperada. El ejemplo de la izquierda tiene una R_s con una forma similar a R_m con diferente magnitud, sin embargo, la correlación r es inferior a 0.955 y por eso no es tomada en cuenta. El ejemplo del centro y de la derecha también cumplen con el MSE estipulado pero por tener un r menor a 0.955 son descartadas.

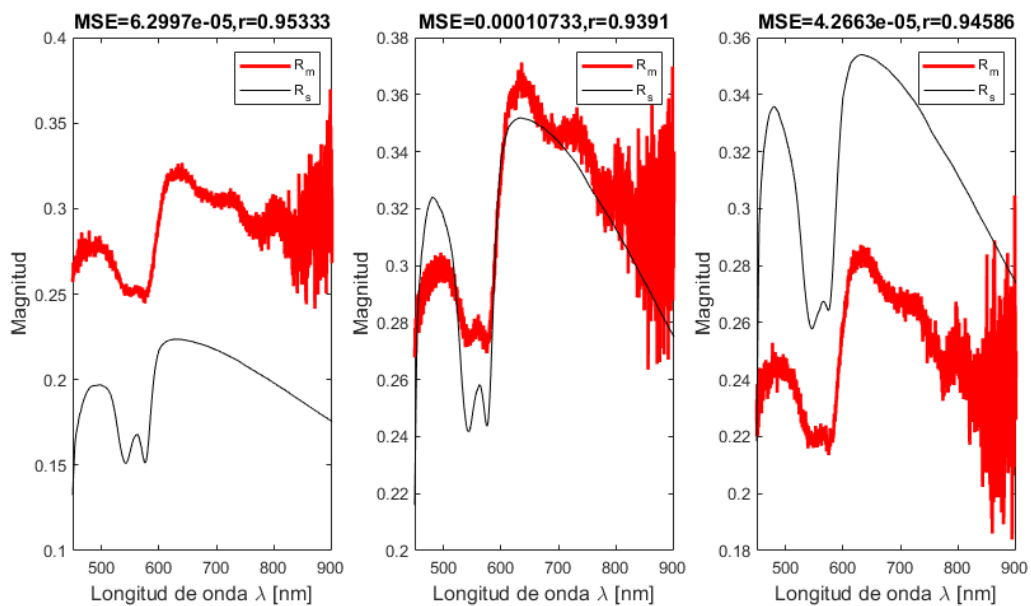


Figura 3.2: Firmas mal optimizadas para tejido sano.

La figura 3.3 contiene tres ejemplos de firmas espectrales de borde de úlcera correctamente optimizadas. Las tres se encuentran dentro del rango especificado y se puede notar como R_s es similar a R_m .

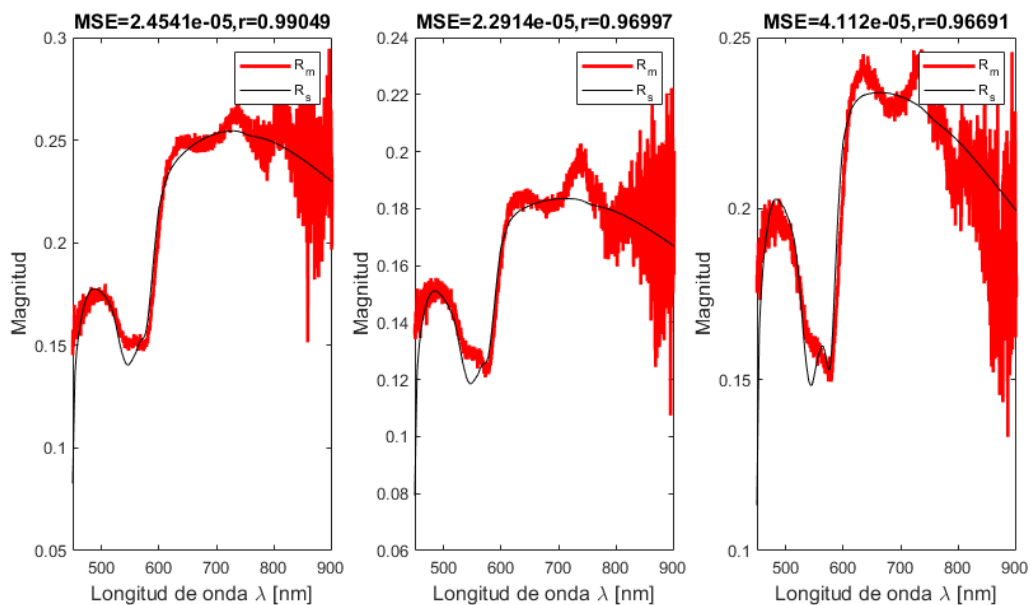


Figura 3.3: Firmas bien optimizadas para borde de úlcera.

La figura 3.4 contiene tres ejemplos de firmas espectrales de borde de úlcera que no optimizaron bien, como se aprecia en la figura, entre los 450 y 600 nm, R_s difiere en cuanto a R_m tanto en forma como en magnitud, esto se ve reflejado en que r tiene valores inferiores al umbral de 0.955, por lo tanto se descartan como resultados.

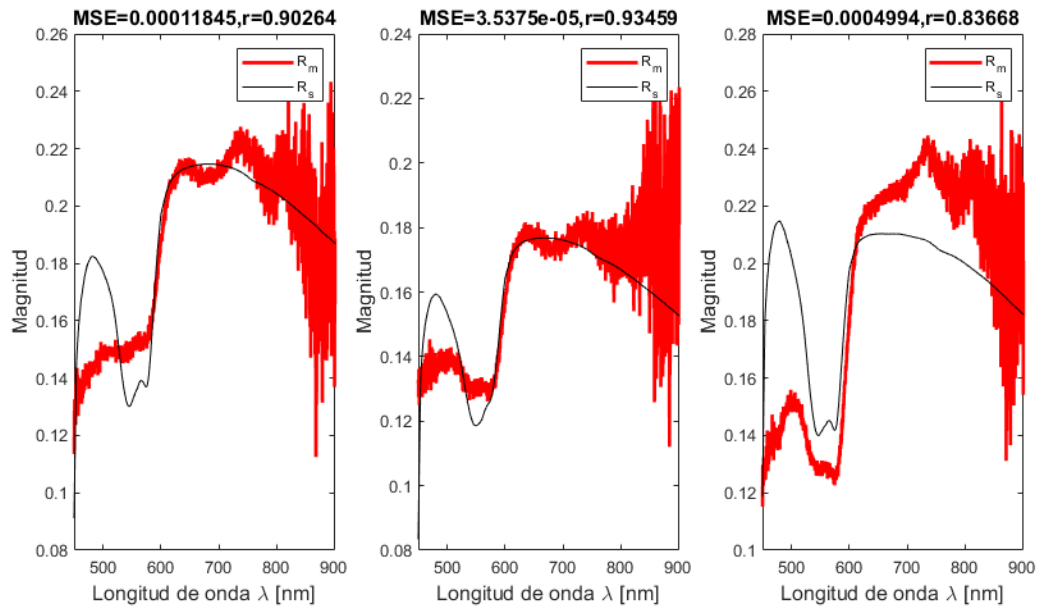


Figura 3.4: Firmas mal optimizadas para borde de úlcera.

En la figura 3.5 se presentan tres ejemplos de firmas espectrales del centro de úlcera que cumplen con los umbrales definidos.

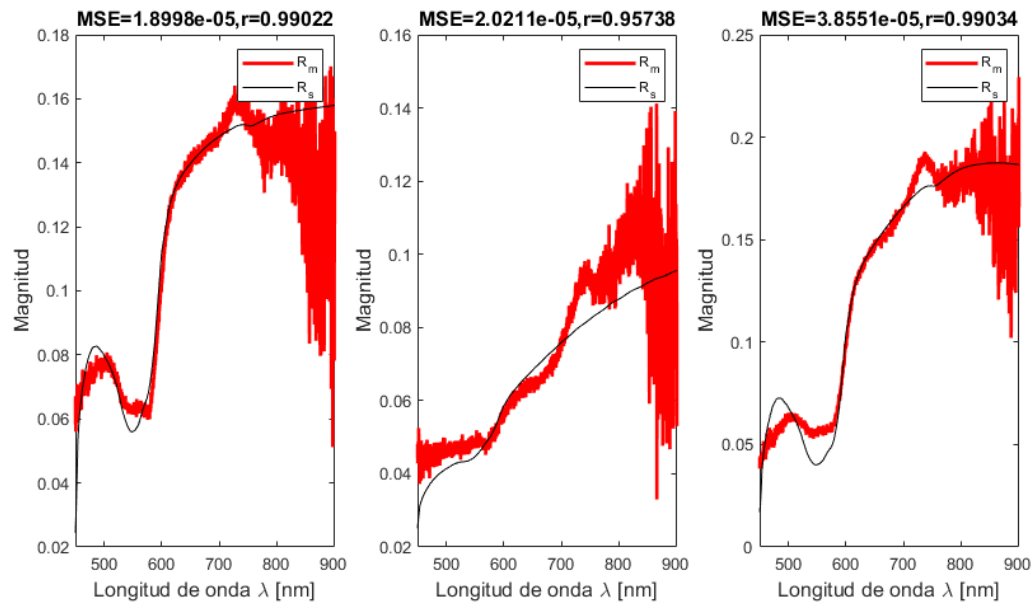


Figura 3.5: Firmas bien optimizadas para centro de úlcera.

La figura 3.6 contiene tres ejemplos de firmas espectrales de centro de úlcera que no optimizaron bien. El método inverso implementado tuvo mayores dificultades en este tipo de tejido sobre todo en aquellas úlceras que presentaron una costra sobre su superficie, ya que al ser una capa oscura no tenida en cuenta en el modelo directo, presenta una inconsistencia para el método inverso. También es importante aclarar que una vez se presentó una úlcera en un hámster se midió el centro hasta la última fecha, inclusive si la úlcera cicatrizó, ya que

este tejido no puede ser tenido en cuenta como sano, por otro lado se espera que a medida que la úlcera vaya cicatrizando, la firma espectral vaya siendo más parecida al tejido sano.

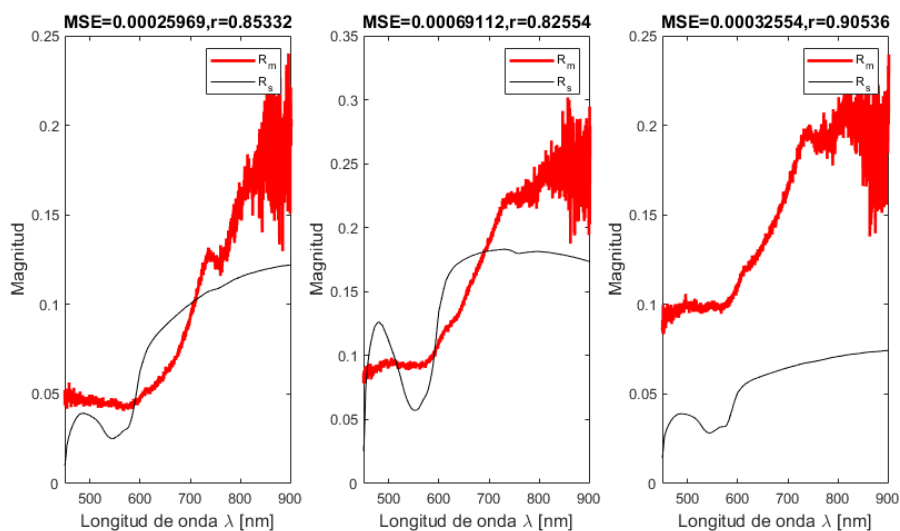


Figura 3.6: Firmas mal optimizadas para centro de úlcera.

3.2.3. FIRMAS ESPECTRALES SELECCIONADAS

Teniendo en cuenta que de las firmas espectrales adquiridas y presentadas en la sección [Firmas espectrales adquiridas](#), no todas fueron correctamente optimizadas, en esta sección se presentan nuevamente la cantidad de firmas espectrales adquiridas por cada tipo de tejido, donde cada una cumplió con los umbrales propuestos en la sección [Selección de firmas correctamente optimizadas](#).

La Tabla 3.5 contiene el número de firmas espectrales correctamente optimizadas para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 1: 1541 firmas de tejido sano, 1064 de borde de úlcera, y 1201 de centro de úlcera.

Grupo 1				
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	87	61	75
	2	89	60	69
	3	63	62	26
2	1	88	73	89
	2	33	29	16
	3	87	79	75
3	1	79	45	71
	2	93	79	78
	3	86	49	58
4	1	95	61	67
	2	85	74	65
	3	90	97	94
5	1	96	71	95
	2	100	82	72
	3	89	87	104
6	1	85	8	33
	2	97	19	53
	3	99	28	61

Tabla 3.5: Firmas espectrales adquiridas correctamente optimizadas en G1

La Tabla 3.6 contiene el número de firmas espectrales correctamente optimizadas para tejido sano, borde y

centro de úlcera en el grupo 2: 1000 firmas de tejido sano, 436 de borde de úlcera, y 573 de centro de úlcera.

Grupo 2				
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	63	0	0
	2	79	0	0
	3	62	0	0
2	1	77	0	0
	2	50	33	69
	3	29	11	16
3	1	75	52	71
	2	41	54	33
	3	39	33	20
4	1	48	46	83
	2	59	55	72
	3	42	33	87
	4	57	16	59
5	1	51	0	0
	2	57	0	0
	3	51	0	0
	4	66	0	0
6	1	61	56	35
	2	58	38	44
	3	58	25	43
	4	65	19	40

Tabla 3.6: Firmas espectrales adquiridas correctamente optimizadas en G2

La Tabla 3.7 contiene el número de firmas espectrales correctamente optimizadas para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 3: 668 firmas de tejido sano, 590 de borde de úlcera, y 903 de centro de úlcera.

Grupo 3				
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	14	1	12
	2	44	31	62
	3	11	9	14
2	1	45	45	77
	2	17	10	6
	3	25	31	21
3	1	61	30	83
	2	30	39	29
	3	74	26	79
4	1	42	34	61
	2	14	25	31
	3	29	38	34
5	1	18	20	31
	2	62	46	67
	3	47	52	64
6	1	49	46	83
	2	43	48	71
	3	43	59	78

Tabla 3.7: Firmas espectrales adquiridas correctamente optimizadas en G3

La Tabla 3.8 contiene el número de firmas espectrales correctamente optimizadas para tejido sano, borde y centro de úlcera en el grupo 4: 621 firmas de tejido sano, 326 de borde de úlcera, y 502 de centro de úlcera.

Grupo 4									
Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO	Caja	Hámster	SANO	BORDE	CENTRO
1	1	10	9	10	5	1	41	45	46
	2	48	40	30		2	35	11	61
	3	46	33	18		3	51	39	38
	4	39	33	23		4	47	24	69
2	1	56	18	51	6	1	31	10	4
	2	45	21	58		2	35	0	0
	3	22	7	17		3	30	0	4
	4	40	0	11		4	18	2	3
3	1	35	10	8	7	1	31	24	33
	2	35	29	39		2	36	24	30
	3	30	19	22		3	31	14	24
	4	24	20	18		4	31	0	5
4	1	34	19	8	8	1	32	5	43
	2	38	20	42		2	36	27	46
	3	43	30	54		3	17	0	0
	4	41	45	50		4	40	31	46

Tabla 3.8: Firmas espectrales adquiridas en G4

3.2.4. HIPERCUBOS ESPECTRALES ADQUIRIDOS

Durante cada toma de datos se hizo la adquisición de un hipercubo espectral sobre cada hámster. En el caso del grupo 1, la Tabla 3.9 contiene el número de hipercubos adquiridos por hámster durante su estudio, para un total de 235 hipercubos.

Grupo 1		
Caja	Hámster	Adquisiciones
1	1	14
	2	13
	3	7
2	1	14
	2	5
	3	14
3	1	14
	2	14
	3	14
4	1	14
	2	14
	3	14
5	1	14
	2	14
	3	14
6	1	14
	2	14
	3	14

Tabla 3.9: Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 1

La Tabla 3.10 contiene el número de hipercubos por hámster para el grupo 2, para un total de 210.

Grupo 2		
Caja	Hámster	Adquisiciones
1	1	11
	2	11
	3	11
2	1	11
	2	10
	3	4
3	1	12
	2	9
	3	7
4	1	12
	2	12
	3	11
	4	12
5	1	11
	2	11
	3	11
	4	11
6	1	9
	2	7
	3	9
	4	8

Tabla 3.10: Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 2

La Tabla 3.11 contiene el número de adquisiciones de hipercubos espectrales por hámster para el grupo 3, para un total de 179.

Grupo 3		
Caja	Hámster	Adquisiciones
1	1	4
	2	10
	3	4
2	1	13
	2	5
	3	7
3	1	13
	2	8
	3	13
4	1	13
	2	8
	3	9
5	1	7
	2	13
	3	13
6	1	13
	2	13
	3	13

Tabla 3.11: Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 3

La Tabla 3.12 contiene el número de adquisiciones de hipercubos espectrales por hámster para el grupo 4, para un total de 313.

Grupo 4					
Caja	Hámster	Adquisiciones	Caja	Hámster	Adquisiciones
1	1	6	5	1	12
	2	12		2	12
	3	12		3	12
	4	12		4	12
2	1	12	6	1	9
	2	12		2	12
	3	6		3	8
	4	12		4	5
3	1	7	7	1	9
	2	10		2	12
	3	8		3	8
	4	7		4	5
4	1	6	8	1	12
	2	12		2	12
	3	12		3	3
	4	12		4	12

Tabla 3.12: Número de hipercubos adquiridos por hámster en el grupo 4

3.3. ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN FIRMAS ESPECTRALES

En el anterior capítulo de esta tesis se habló sobre el procedimiento realizado para encontrar el rango de búsqueda de cada una de las variables de modelo inverso, con estos rangos y el modelo inverso se hace la estimación de parámetros biológicos en las firmas espectrales medidas. A continuación se presentan los resultados mediante histogramas de cada una de las variables en tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera:

3.3.1. PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN TEJIDO SANO

Al realizar la estimación de parámetros biológicos en tejido sano de hámster dorado, por medio del modelo inverso propuesto, se tiene la Figura 3.7 donde:

- z_1 en su mayor medida presenta valores cercanos a $0 \mu m$.
- z_2 Tiene una distribución normal cuyo valor central se encuentra en espesores intermedios.
- D_{kera} tiene un comportamiento no normal, con mayor cantidad de individuos en el diámetro más pequeño establecido, mientras que contiene una cantidad fija de individuos para el resto del rango de esta variable, esto podría indicar una no relevancia de esta variable en tejido sano.
- D_{col} tiene un comportamiento normal hacia valores intermedios.
- $Fvol_{col}$ contiene en su mayoría, valores uniformes sin ser una distribución normal, indicando una posible no relevancia en tejido sano.
- D_{fibro} tiene la mayoría de valores cercanos a $0 \mu m$ y va disminuyendo a medida que aumenta el diámetro.
- D_{macro} tiene la mayoría de valores cercanos a $0 \mu m$ y tiende a mantenerse en un valor fijo en valores superiores.
- f_{mel} tiene un comportamiento normal hacia valores intermedios.

- f_{blood} contiene en su mayoría valores cercanos a 0.
- SO_2 presenta un comportamiento normal hacia valores intermedios.

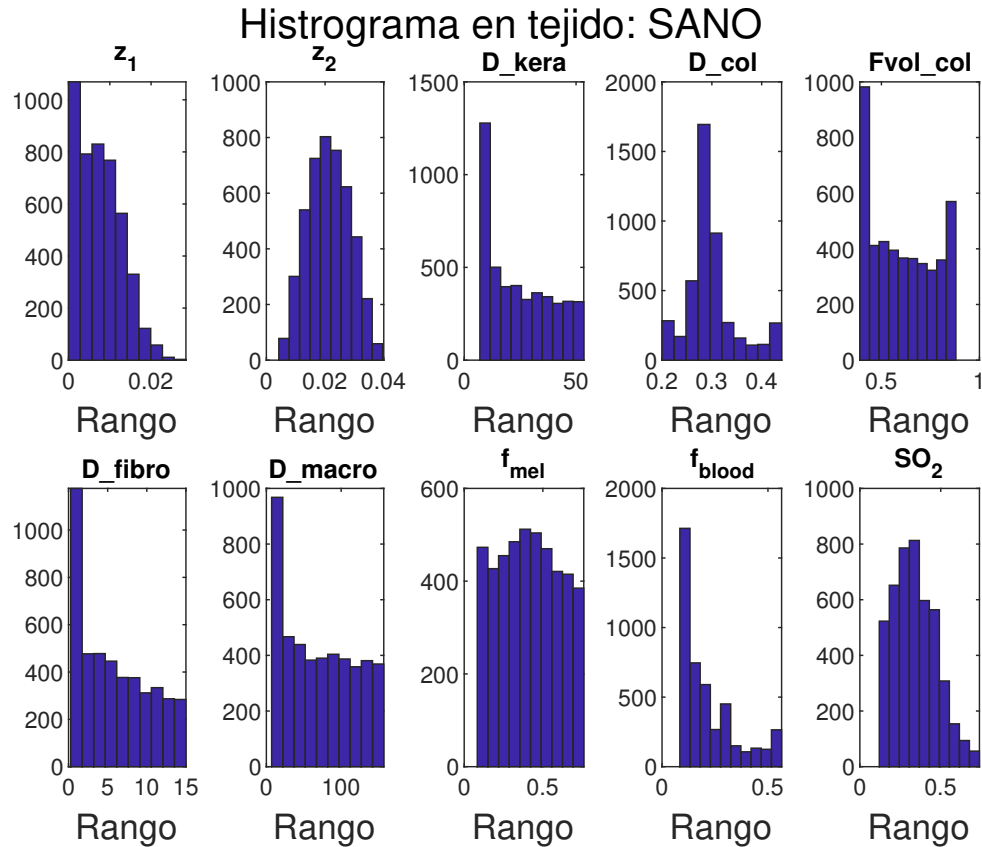


Figura 3.7: Parámetros biológicos estimados en tejido sano.

3.3.2. PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN BORDE DE ÚLCERA

Al realizar la estimación de parámetros biológicos en borde de úlcera por medio del modelo inverso propuesto, se tiene la Figura 3.8 donde:

- z_1 comparado con el tejido sano, sus valores aumentan teniendo un comportamiento normal tendiendo a valores intermedios.
- z_2 comparado con tejido sano, mantiene un comportamiento normal hacia valores intermedios.
- D_{kera} comparado con tejido sano, el comportamiento sigue siendo similar.
- D_{col} comparado con tejido sano, se mantiene con un comportamiento normal hacia valores intermedios.
- $Fvol_{col}$ comparado con tejido sano, continúa con un comportamiento no normal.
- D_{fibro} comparado con el tejido sano, mantiene su mismo comportamiento.
- D_{macro} comparado con el tejido sano, mantiene su mismo comportamiento.

- f_{mel} comparado con el tejido sano, incrementa su cantidad en valores pequeños.
- f_{blood} comparado con el tejido sano, mantiene su mismo comportamiento.
- SO_2 comparado con el tejido sano, sus valores empiezan a tender a valores cercanos a 0, lo cual se puede relacionar con el incremento de células muertas en este tejido.

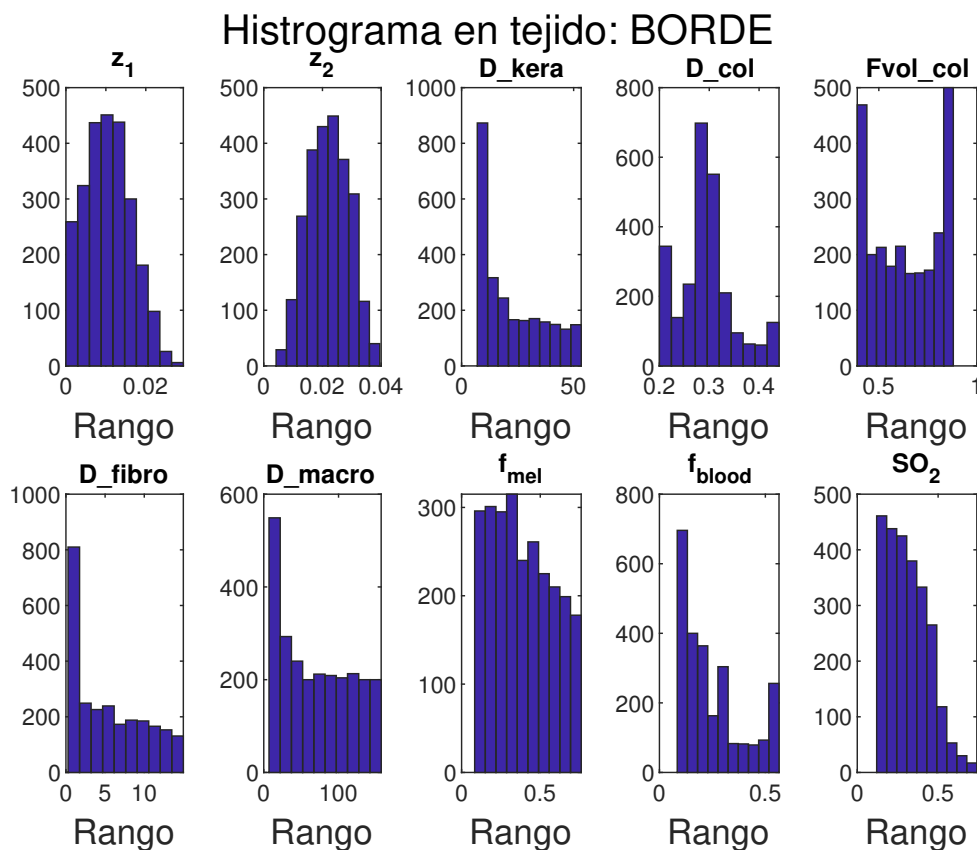


Figura 3.8: Parámetros biológicos estimados en borde de úlcera.

3.3.3. PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN CENTRO DE ÚLCERA

Al realizar la estimación de parámetros biológicos en el centro de la úlcera por medio del modelo inverso propuesto, se tiene en la Figura 3.9 donde:

Figura 3.9

- z_1 comparado con el tejido sano y el borde de úlcera, aumenta. Esto puede ser relacionado con la formación de costra que para el modelo inverso puede ser considerado como una capa gruesa similar a la epidermis, por lo tanto esta razón explica el porqué z_1 no es 0 en la etapa ulcerativa de la *Leishmaniasis*.
- z_2 comparada con el tejido sano y borde de úlcera, puede notarse que se incrementa el valor de esta variable, lo cual puede ser relacionado con la fibrosis que se presenta en la capa dérmica.
- D_{kera} Al igual que con los otros dos tipos de tejido, esta variable no presenta un comportamiento normal.

- D_{col} comparado con los tejidos ya expuestos, aumenta la cantidad de individuos con valores cercanos al mínimo.
- $Fvol_{col}$ comparado con los dos tejidos ya expuestos, aumenta su cantidad de valores cercanos al valor máximo.
- D_{fibro} Al igual que con los otros dos tipos de tejido, esta variable no presenta un comportamiento normal.
- D_{macro} Al igual que con los otros dos tipos de tejido, esta variable no presenta un comportamiento normal.
- f_{mel} comparado con los dos tejidos ya expuestos, los individuos tienden a estar en su mayoría en valores cercanos al mínimo.
- f_{blood} a diferencia de los dos tejidos anteriores, aumenta la cantidad de individuos en los valores máximos.
- SO_2 comparado con los tejidos ya expuestos, tiene su mayoría de individuos en el valor mínimo, esto puede ser relacionado con el mayor número de células muertas en este tipo de tejido.

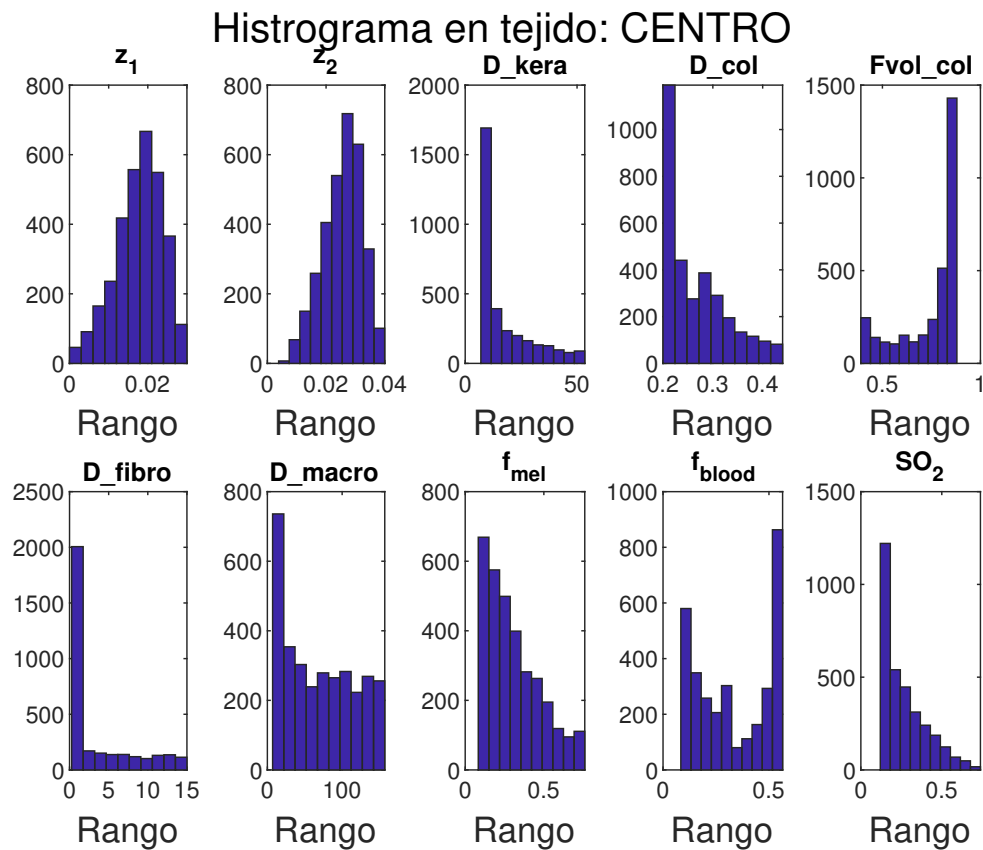


Figura 3.9: Parámetros biológicos estimados en centro de úlcera.

3.4. MODELO DIRECTO DE TRES CAPAS EN HÁMSTERES DORADOS

Retomando la ecuación establecida en esta tesis como modelo directo de reflectancia difusa (Ecuación 2.7), es posible realizar una adaptación a un modelo animal, específicamente para esta tesis se trabaja sobre un modelo de reflectancia difusa de tres capas en tejido de hámster dorado. Sin embargo, debido a que los parámetros biológicos responsables de la absorción y dispersión de la luz en piel de hámster no están definidos, se asume una aproximación con los parámetros biológicos encargados de la absorción y dispersión en piel humana. La Tabla 3.13 indica los rangos de dichas variables utilizados en el desarrollo del modelo directo e inverso. Además, los rangos se obtienen a partir de histogramas: partiendo del modelo y parámetros para humanos se hacen las variaciones respectivas hasta obtener los rango usados en hámsteres.

Tabla 3.13: Rangos de parámetros biológicos en modelo animal

Parámetro	Capa	Rango	Referencia
z_1	Epidermis	0-0.03	[2]
z_2	Dermis	0-0.04	[2]
D_{kera}	Epidermis	7-53.45	[6]
$Fvol_{kera}$	Epidermis	0.5	[6]
D_{col}	Dermis	0.2-0.44	[5]
$Fvol_{col}$	Dermis	0.39-0.88	[5]
D_{fibro}	Dermis/Hipodermis	0.27-15	[3]
$Fvol_{fibro}$	Dermis/Hipodermis	0.5	[3]
D_{macro}	Dermis/Hipodermis	7-157	[3]
$Fvol_{macro}$	Dermis/Hipodermis	0.5	[3]
f_{mel}	Epidermis	0.083-0.76	[7]
f_{blood}	Dermis	0.084-0.5644	[7]
SO_2	Dermis	0.12-0.74	[7]

3.4.1. VARIACIÓN ESPESOR EPIDERMIS z_1

En el modelo directo implementado, el espesor de la epidermis aumenta y disminuye la magnitud de la reflectancia total, esto puede visualizarse en la figura 3.10. Además, aumenta el grado de inclinación en el rango espectral entre 600 y 100 nm. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

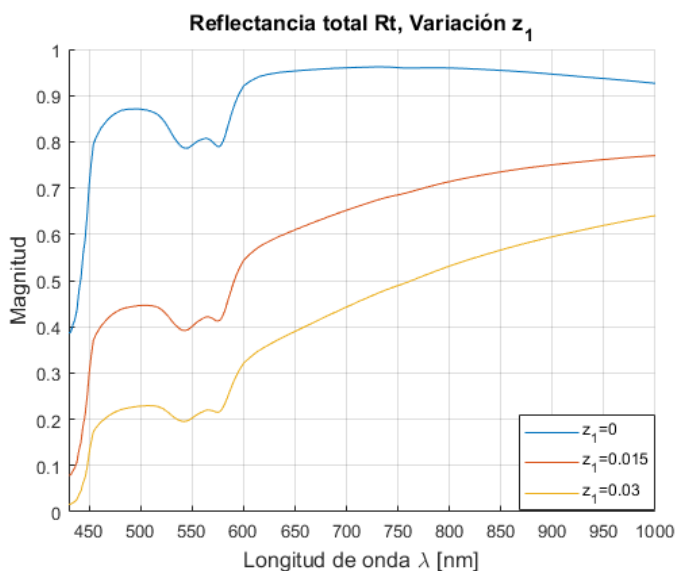


Figura 3.10: Variación de espesor epidermis z_1 .

3.4.2. VARIACIÓN ESPESOR DERMIS z_2

El espesor de la dermis dentro del modelo directo permite aumentar y disminuir la magnitud de la reflectancia total, esto es apreciable en la figura 3.11. Los parámetros variables utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

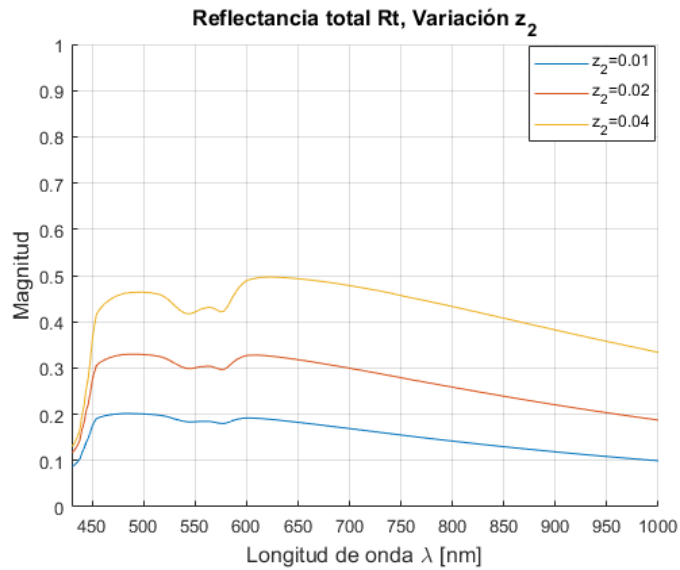


Figura 3.11: Variación de espesor dermis z_2 .

3.4.3. VARIACIÓN KERATINOCITOS D_{kera}

La variación del diámetro de los keratinocitos, permite aumentar y disminuir levemente la inclinación de la firma espectral entre los 600 y 1000 nm, la figura 3.12 permite notar este comportamiento. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

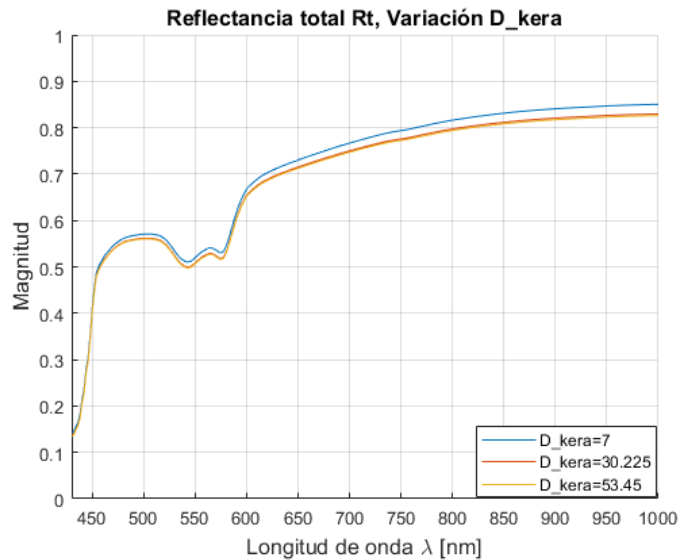


Figura 3.12: Variación del diámetro de keratinocitos D_{kera} .

3.4.4. VARIACIÓN COLÁGENO D_{col}

La variación del diámetro de las partículas colágenas afecta la firma espectral entre los 600 y 1000 nm, tanto en su inclinación como en su curva. En la figura 3.13 a los 950 nm se puede notar como la firma espectral con un valor de $D_{col} = 0,2$ es más cóncava que la de $D_{col} = 0,32$. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

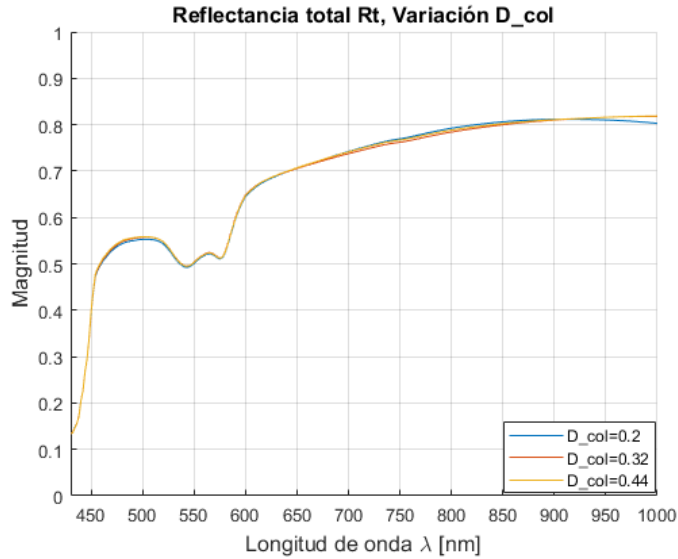


Figura 3.13: Variación del diámetro de colágeno D_{col} .

3.4.5. VARIACIÓN FRACCIÓN VOLUMÉTRICA DE COLÁGENO $Fvol_{col}$

Al variar la fracción volumétrica de colágeno en el modelo directo, se aprecia en la figura 3.14 que se puede aumentar y disminuir la magnitud de la reflectancia difusa total. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

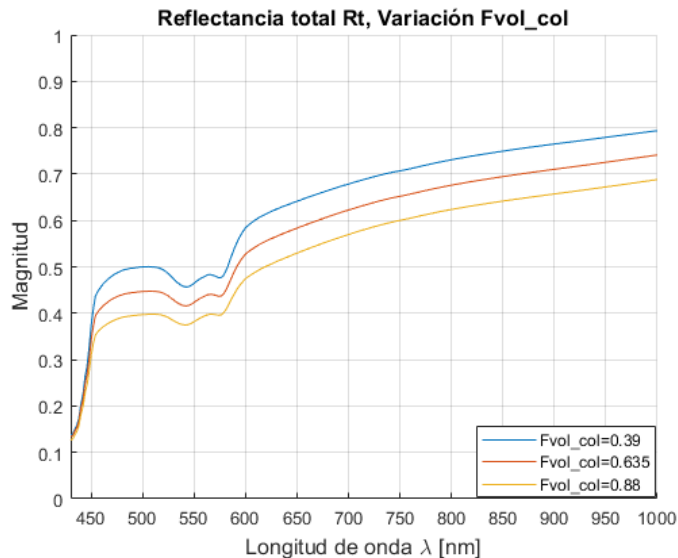


Figura 3.14: Variación de la fracción volumétrica de colágeno $Fvol_{col}$.

3.4.6. VARIACIÓN FIBROBLASTOS D_{fibro}

En la figura 3.15 se observa como el diámetro de las partículas de los fibroblastos, aumenta la magnitud de la reflectancia difusa total entre los 450 y 600 nm aproximadamente, y también puede cambiar el sentido de la inclinación entre los 600 y 1000 nm como se nota en la firma espectral con $D_{fibro} = 0,27$. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

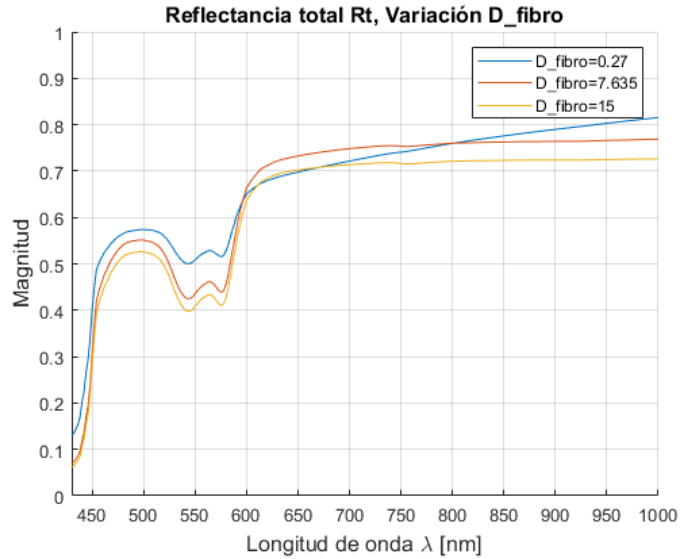


Figura 3.15: Variación del diámetro de fibroblastos D_{fibro} .

3.4.7. VARIACIÓN MACRÓFAGOS D_{macro}

Variar el diámetro de los macrófagos se refleja en el cambio de magnitud en las firmas espectrales de reflectancia difusa. La figura 3.16 permite observar este comportamiento. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

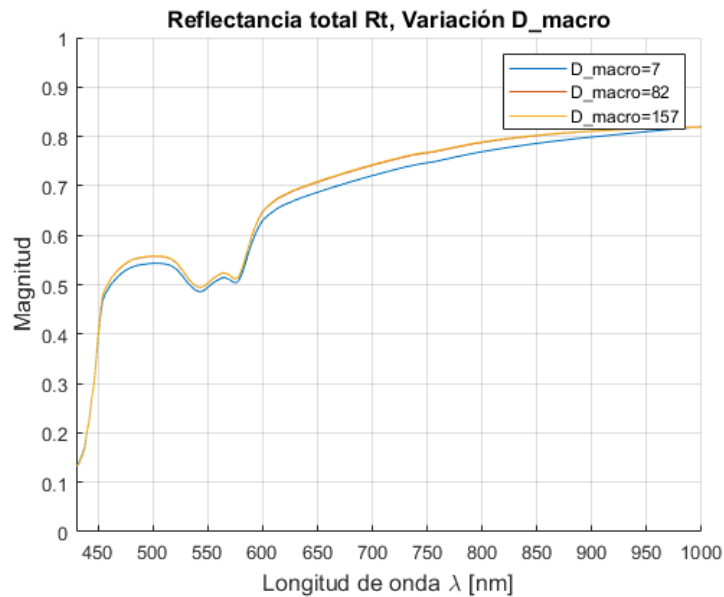


Figura 3.16: Variación del diámetro de macrófagos D_{macro} .

3.4.8. VARIACIÓN FRACCIÓN VOLUMÉTRICA DE MELANINA f_{mel}

Variar la fracción volumétrica de melanina parece no tener un aporte significativo en la reflectancia difusa de esta simulación, figura 3.17. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{blood} = 0,035$, y $SO_2 = 0,5$.

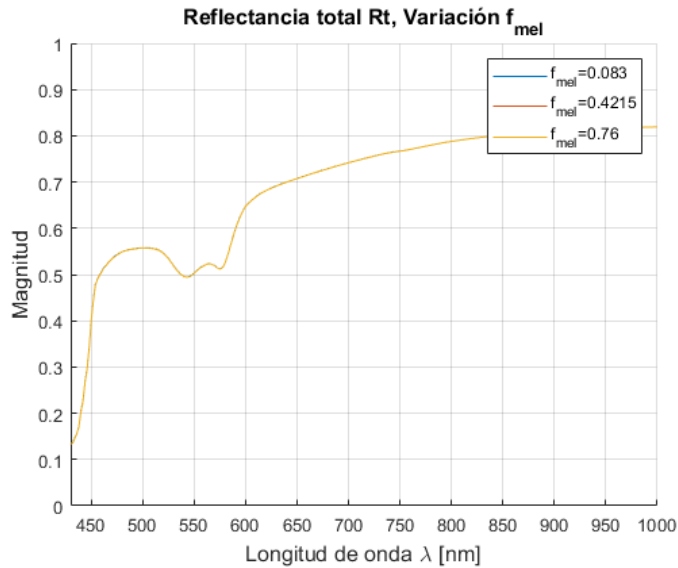


Figura 3.17: Variación de la fracción volumétrica de melanina f_{mel} .

3.4.9. VARIACIÓN FRACCIÓN VOLUMÉTRICA DE HEMOGLOBINA f_{blood}

La figura 3.18 demuestra como la fracción volumétrica de hemoglobina afecta en gran medida la reflectancia difusa total, por un lado puede notarse el cambio de magnitud y por otro el cambio de forma, los principales cambios de forma se dan entre los 750 y 800 nm, y entre los 900 y 1000 nm. Los parámetros variables utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, y $SO_2 = 0,5$.

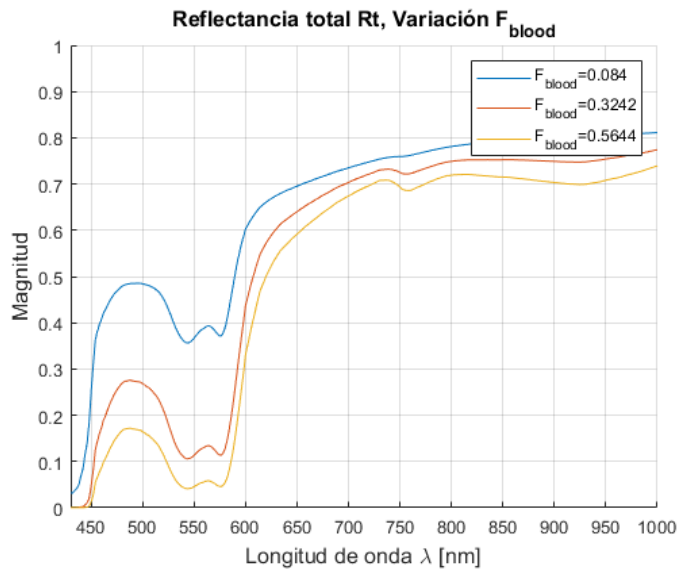


Figura 3.18: Variación de la fracción volumétrica de hemoglobina f_{blood} .

3.4.10. VARIACIÓN SATURACIÓN DE OXÍGENO SO_2

La figura 3.19 permite ver la variación de la "m" característica de los 550 nm debido a la saturación de oxígeno. Los valores de los demás parámetros utilizados en esta simulación fueron: $z_1 = 0,01$, $z_2 = 0,25$, $D_{kera} = 0,015\mu m$, $D_{col} = 0,42\mu m$, $Fvol_{col} = 0,12$, $D_{fibro} = 0,21\mu m$, $D_{macro} = 80\mu m$, $f_{mel} = 0,23$, y $f_{blood} = 0,035$.

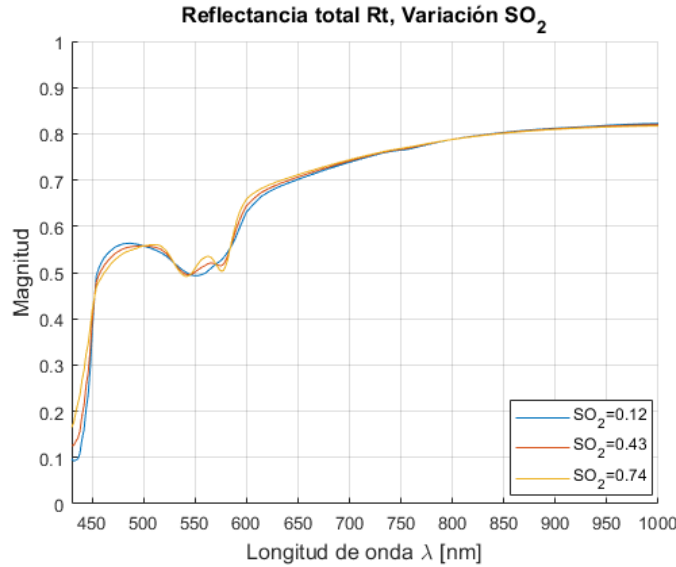


Figura 3.19: Variación de la saturación de oxígeno en la sangre SO_2 .

3.5. SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO MEDIANTE FIRMAS ESPECTRALES

Debido a que en la literatura no existen métodos de seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas causadas por *Leishmaniasis* en hámsteres dorados, basados en firmas espectrales, en esta tesis se analizan las firmas obtenidas y se proponen algunos métodos para el análisis de firmas espectrales, para a su vez ser utilizadas como una herramienta para el seguimiento al tratamiento.

3.5.1. ANÁLISIS DE LA FORMA DE FIRMAS ESPECTRALES DE TEJIDO SANO, BORDE Y CENTRO DE ÚLCERA

Todos los hámsteres son diferentes entre sí, así mismo su respuesta espectral. A lo largo de la adquisición de firmas espectrales se notó que existía una diferencia en la forma de ellas tanto al cambiar de tejido como al avanzar el tiempo (y por lo tanto la enfermedad). Por lo tanto para este análisis, se toma el individuo G1C3H3 para el análisis de la evolución de firmas espectrales a través del tiempo. G1C3H3 fue un individuo con *Leishmaniasis braziliensis*, al cual no se le aplicó ningún tratamiento, pero el cual curó su úlcera cutánea por sí mismo. En la Figura 3.20 se presentan la evolución de la úlcera a lo largo del estudio para el hámster en cuestión, estos datos fueron compartidos por el personal veterinario de la Universidad de Antioquia. De igual forma es importante resaltar que en la Figura 3.20 se aprecia la forma actual como los médicos y veterinarios realizan el seguimiento al tratamiento de una úlcera causada por *Leishmaniasis*, es decir, midiendo el diámetro de la úlcera.

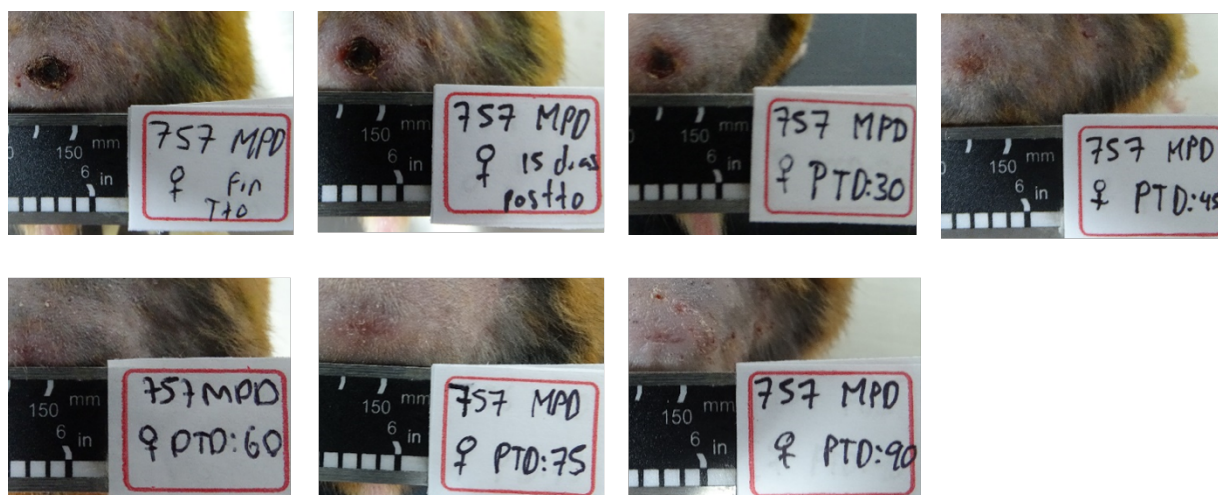


Figura 3.20: Evolución de la úlcera cutánea del G1C3H3 durante el estudio.

Sin tener en cuenta el día 0 (inoculación) para el hámster G1C3H3, durante 12 fechas se adquirieron firmas espectrales sobre tejido sano. La Figura 3.21 contiene una de las firmas adquiridas por cada fecha en orden cronológico. De esta forma se ve la evolución de la firma espectral de este tipo de tejido en el tiempo durante la enfermedad. De esta Figura, se puede notar como la forma de la firma suele ser similar en la mayoría de tomas, su mayor diferencia radica en la magnitud de cada una de ellas, sin embargo la inclinación de la firma es muy similar en todas ellas. Otro factor que puede verse es que la M característica a los 550 nm , es más clara en las primeras tomas de datos; con el tiempo, esta forma tiende a perderse, sin embargo, al final del estudio parece volver a ser visible, esto puede ser relacionado con la saturación de oxígeno en la sangre (SO_2), la cual parece disminuir a medida que la úlcera cutánea se forma, y al curarse parece volver a su estado inicial.

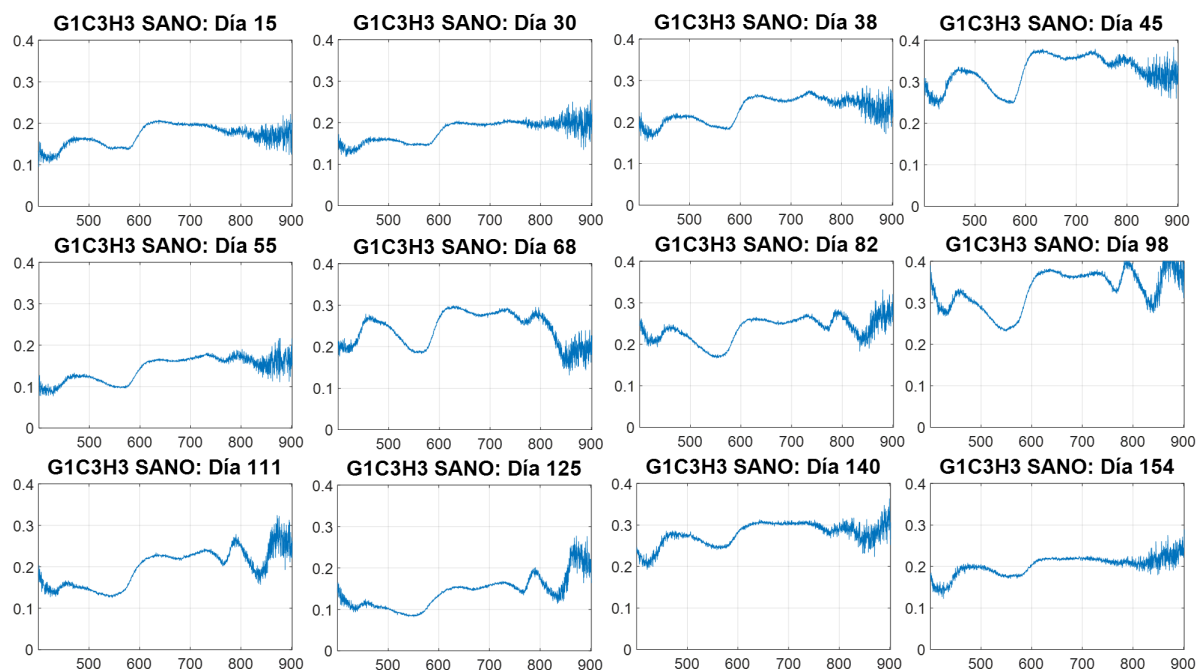


Figura 3.21: Evolución firmas espectrales en tejido sano en G1C3H3.

En el caso de los datos adquiridos para el borde de úlcera, se tomaron en 5 fechas en total. La Figura 3.22

presenta una de las firmas adquiridas por cada toma de datos en orden cronológico. Puede notarse como la inclinación de las firmas espectrales aumenta en sentido antihorario y al mejorar el estado de la úlcera, retorna a una inclinación similar a la inicial. Según se presentó en el modelo directo, esta inclinación podría indicar una variación en el espesor de la epidermis, y al diámetro de partículas de colágeno.

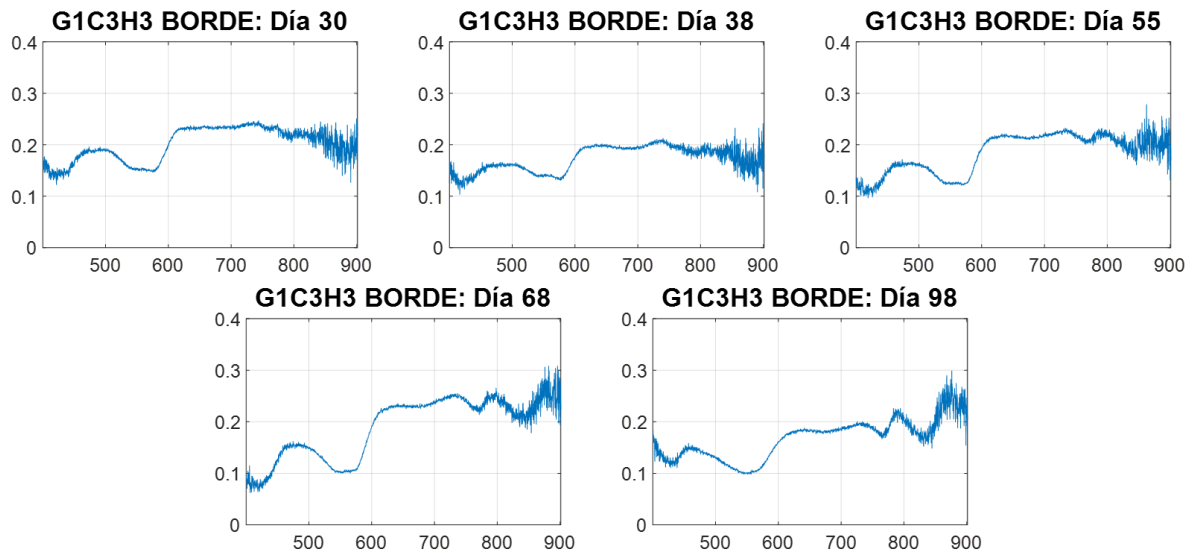


Figura 3.22: Evolución firmas espectrales en borde de úlcera en G1C3H3.

En 10 tomas de datos se adquirieron firmas espectrales sobre el centro de la úlcera. La Figura 3.23 contiene una firma espectral de cada una de estas tomas; en ellas puede notarse como en la primera fecha adquirida la forma se parece a una firma espectral del borde de la úlcera. A medida que se avanza en el tiempo y la úlcera parece empeorar, la reflectancia empieza a tener valores muy cercanos a 0 entre los 400 y 580 nm, y la inclinación antihoraria de los 580 a los 900 nm parece aumentar. Luego, cuando la úlcera cutánea va progresando en su curación, la firma espectral empieza a aumentar su reflectancia entre los 400 y 580 nm, mientras que entre los 580 y 900 nm la inclinación antihoraria decrece. Así, en la última adquisición donde se sabe que la úlcera cutánea se encuentra curada, la reflectancia es similar en forma a la que podría representar un tejido sano (aunque se sabe que no importa que tan buena sea la recuperación, la piel no volverá a ser igual al tejido sano original, sino a un tejido bien cicatrizado).

Analizando el comportamiento de las firmas espectrales para tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera, puede notarse que las firmas sanas aunque no cambian representativamente en inclinación, la magnitud es cambiante al igual que la "M" característica de los 550 nm. El borde, podría ser indicador de la mejoría o el deterioro del tejido sano, al encontrar una inclinación en el rango de los 580 y 900 nm. Las firmas espectrales del centro de úlcera, presentan una mayor variación durante el desarrollo y la mejoría de la enfermedad. Tanto su magnitud como su forma pueden ser buenos indicadores para categorizar el desarrollo de la úlcera. Que exista una variación en la reflectancia difusa en los tejidos bajo estudio, demuestra que el enfoque propuesto en esta tesis para el análisis de la enfermedad de *Leishmaniasis* (y muy probablemente otro tipo de úlceras), es adecuado, ya que se demuestra que hay procesos biológicos sucediendo debajo de la piel que no logran ser medidos con el diámetro de la úlcera. Además, se abre la puerta a la utilización de algoritmos de clasificación para diferenciar las etapas de la ulceración y cicatrización debidas a no solo *Leishmaniasis*, sino posiblemente todo tipo de úlceras; todo a partir de la forma de firmas espectrales del tejido.

3.5.2. TEST DE ANOVA COMO SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO

A la totalidad de firmas espectrales expuestas en la sección 3.2.3 se les aplicó el modelo inverso propuesto, de esta forma se estimaron los 10 parámetros biológicos para cada firma espectral: z_1 , z_2 , D_{kera} , D_{Col} , $Fvol_{Col}$, D_{fibro} , D_{macro} , f_{met} , f_{blood} , y SO_2 . Realizar el test ANOVA a los parámetros biológicos de es-

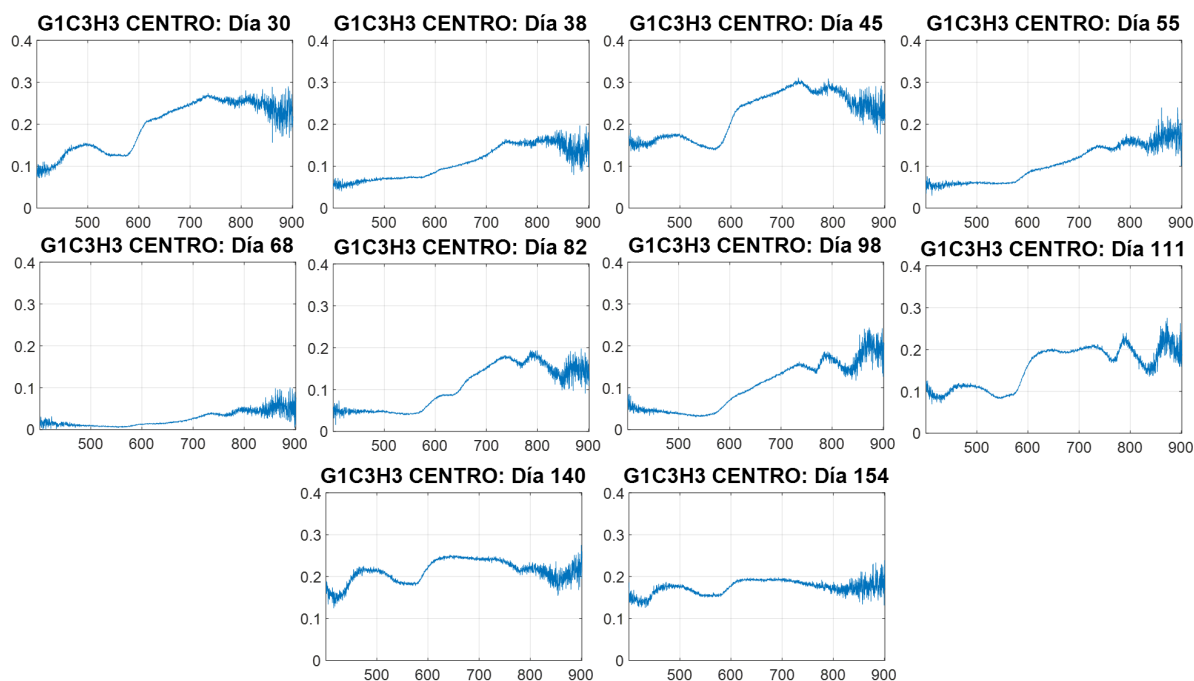


Figura 3.23: Evolución firmas espectrales en centro de úlcera en G1C3H3.

tos tejidos en sus diferentes fechas del tratamiento permite definir entre cuales de éstos existe una diferencia estadística, y por tanto una forma de realizar el seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas causadas por *Leishmaniasis*.

Para realizar los test ANOVA durante el seguimiento al tratamiento, se presenta la Figura 3.24, en la cual se propone mediante un esquema, la forma en la cual tomando 4 fechas específicas durante el tratamiento por hámster, se podría notar una diferencia estadística. En el tramo de formación de la úlcera cutánea, se toma una fecha entre el día 0 y el 40, también llamado en este texto como Etapa 1 (E1). Durante el tratamiento de la úlcera se toma una fecha entre el día 41 y el 80, Etapa 2 (E2). Finalmente durante la etapa de pos-tratamiento se toman 2 fechas, una entre los días 81 y 125, Etapa 3-primera fecha (E3a) y la última fecha donde se tomaron datos para el hámster en estudio, Etapa 3-última fecha (E3b), aproximadamente entre los días 126 y 180. En total se tomaron 10 hámsteres para realizar este análisis por test ANOVA para el seguimiento al tratamiento: G1C2H1, G1C2H3, G1C3H1, G1C3H3, G1C6H2, G2C4H1, G4C2H1, G4C2H2, G4C1H2 y G4C5H1. Estos hámsteres fueron inoculados con *Leishmaniasis*, completando todo el estudio.

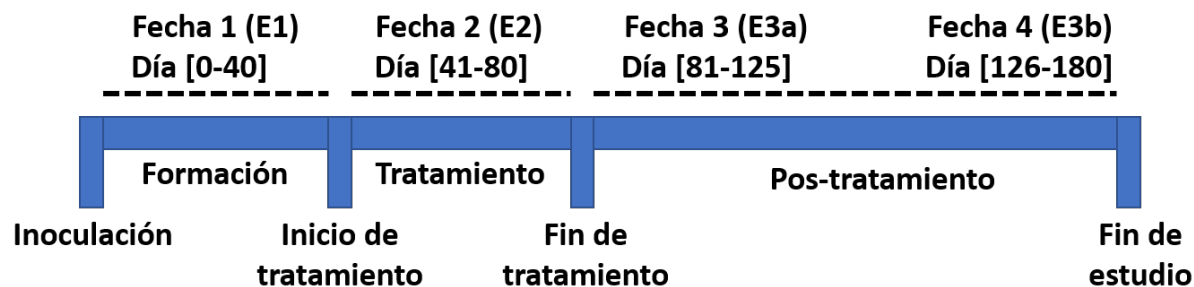


Figura 3.24: Rangos de las 4 fechas tomadas para el seguimiento al tratamiento.

Durante estas fechas dependiendo de la etapa de la úlcera, se tomaron datos de tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera. Se tomaron los 10 parámetros biológicos adquiridos por medio del modelo inverso en las firmas espectrales. Para hacer referencia al tipo de tejido y fecha del estudio en el que se encontraba el hámster (indicado por el día, siendo día 0 la inoculación de la enfermedad), se utilizan las contracciones S, B, y C relacionadas con tejido sano, borde de úlcera y centro de úlcera, respectivamente; seguido de esta letra inicial se asigna el día que fue tomado el dato. Ejemplos: S11 tejido sano día 11, B114 borde de úlcera día 114, C180 centro de úlcera día 180.

En cada hámster, a los 10 parámetros biológicos adquiridos de cada tejido en su respectiva fecha, se les realizó el test ANOVA contra el resto de tejidos en su respectiva fecha, para encontrar el valor p entre ellos y establecer cuáles son estadísticamente diferentes, para que esta diferencia existiera, el valor de p tuvo que ser inferior a 0.05. A continuación se presenta los resultados con $p < 0.05$ (y por lo tanto estadísticamente diferentes), obtenidos del test ANOVA en tablas organizadas donde: Sano-Borde misma fecha es 'S-B' color azul, Sano-Centro misma fecha 'S-C' color amarillo, y Borde-Centro misma fecha es 'B-C' color Naranja, representando cambios significativo entre dos tejidos distintos en una misma fecha; y Sano-Sano diferentes fechas es 'S-S' color verde, Borde-Borde diferentes fechas es 'B-B' con color gris, y Centro-Centro diferentes fechas es 'C-C' color rojo, representando cambios significativos de un mismo tejidos en distintas fechas. Los valores numéricos completos del test ANOVA se presentan en el apéndice A.

G1C2H1

El hámster G1C2H1 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*, y se aplicó un tratamiento experimental sobre su respectiva úlcera cutánea durante la etapa de tratamiento. Para este hámster se analizaron los tres tipos de tejidos presentes en la LC en los días: 30, 55, 111, y 154. Figura 3.25.

G1C2H1											
z_1	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--B111'	'S55--C55'	'S55--C111'	'S111--B55'	'S111--B111'	'S111--C55'	'S111--C111'	'S154--C55'	'C55--C154'
	'S154--C111'	'B55--C55'	'B55--C111'								
z_2	'S30--S111'	'S30--S154'	'S30--B55'	'S30--C154'	'S55--B111'	'S55--C55'	'S55--C154'	'S111--B111'	'S111--C55'	'S111--C111'	'C111--C154'
	'S154--B111'	'S154--C55'	'S154--C111'	'B55--B111'	'B55--C55'	'B55--C111'	'B111--C154'	'C55--C154'			
D_Kera	'S30--C154'	'S55--C154'	'S154--C154'	'B55--C154'							
D_Col	'S30--C55'	'S55--S111'	'S55--C55'	'S111--B55'	'S111--C55'	'S111--C154'	'S154--C55'	'B55--C55'	'B111--C55'		
Fvol_Col	'S30--B55'	'S30--B111'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--B55'	'S55--B111'	'S55--C55'	'S55--C111'			
D_Fibro	'S30--C111'	'S55--C111'	'S111--C111'	'S154--C111'	'B55--C111'	'B111--C111'	'C55--C111'	'C111--C154'			
D_Macro	'B55--C154'	'B111--C154'	'C55--C154'								
fmel	'S55--C111'	'S55--C154'	'S111--C111'	'S111--C154'							
fblood	'S30--S55'	'S30--S111'	'S30--B55'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S30--C154'	'B55--C111'	'B111--C111'			
SO2	'S30--C55'	'S55--C55'	'S55--C154'	'S111--B55'	'S111--B111'	'S111--C55'	'S111--C111'	'S154--C55'	'B55--C154'	'B111--C154'	'C111--C154'
	'C55--C154'										
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.25: Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C2H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G2C4H1

El hámster G2C4H1 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*, y se aplicó un tratamiento comercial sobre su respectiva úlcera cutánea durante la etapa de tratamiento. Para este hámster se analizaron los tres tipos de tejidos presentes en la LC en los días: 36, 50, 108, y 164. Figura 3.26.

G2C4H1											
z_1	'S36--S108'	'S36--B36'	'S36--C36'	'S36--C108'	'S36--C164'	'S50--S108'	'S50--B36'	'S50--C36'	'S50--C108'	'S50--C164'	'S108--S164'
	'S108--B36'	'S108--B108'	'S108--C36'	'S108--C50'	'S108--C108'	'S108--C164'	'S164--B36'	'S164--C36'	'S164--C108'	'S164--C164'	'B36--B108'
z_2	'B36--C50'	'B108--C36'	'B108--C108'	'B108--C164'	'C36--C50'	'C36--C108'	'C50--C108'	'C50--C164'			
	'S36--S164'	'S50--S164'	'S108--S164'	'S108--C108'	'S164--B36'	'S164--B108'	'S164--C36'	'S164--C50'	'S164--C108'	'S164--C164'	'C50--C108'
D_Kera	'S36--S164'	'S36--C36'	'S36--C164'	'S50--S164'	'S50--B36'	'S50--C36'	'S50--C164'	'S108--S164'	'S108--C36'	'S108--C164'	'S164--B108'
D_Col	'S36--S164'	'S36--B36'	'S36--B108'	'S36--C50'	'S50--S164'	'S50--B36'	'S50--B108'	'S50--C50'			
Fvol_Col	'S36--C36'	'S36--C108'	'S36--C164'	'S50--B108'	'S50--C108'	'S108--C36'	'S108--C108'	'S108--C164'	'S164--C108'	'S164--C164'	'B36--B108'
	'B36--C108'	'B108--C36'	'B108--C108'	'B108--C164'	'C36--C50'	'C50--C108'	'C50--C164'				
D_Fibro	'S36--C36'	'S36--C50'	'S36--C108'	'S36--C164'	'S50--C36'	'S50--C50'	'S50--C108'	'S50--C164'	'S108--C108'	'S108--C164'	'B108--C108'
D_Macro	'S36--S50'	'S50--S164'	'S50--B108'	'S50--C36'	'S50--C50'	'S50--C108'	'S50--C164'	'B108--C108'			
fmel	'S164--C164'	'B108--C164'	'C50--C164'								
fblood	'S36--S164'	'S108--C50'	'S108--C108'	'S164--C50'	'S164--C108'	'B108--C50'	'B108--C108'				
SO2	'S36--S108'	'S36--S164'	'S36--B36'	'S36--B108'	'S36--C36'	'S36--C50'	'S36--C108'	'S50--C36'	'S164--C36'	'B108--C36'	'C36--C50'
	'C36--C108'	'C36--C164'									
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.26: Selección de tejidos por fecha diferentes en G2C4H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G1C3H1

El hámster G1C3H1 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Ningún tratamiento fue aplicado durante su estudio, y aún así logró mejoría en la cicatrización de la úlcera. Para este hámster se analizaron los tres tipos de tejidos presentes en la LC en los días: 30, 55, 111, y 154. Figura 3.27.

G1C3H1											
z_1	'S30--S111'	'S30--B55'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--C55'	'S55--C111'	'S111--S154'	'S111--C55'	'S154--B55'	'S154--C55'	'S154--C111'
	'B55--C55'	'C55--C111'	'C55--C154'								
z_2	'S30--S111'	'S30--B55'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--S111'	'S55--B55'	'S55--C55'	'S55--C111'	'S111--S154'	'S111--C154'	'S154--C55'
	'S154--C111'	'C55--C154'	'C111--C154'								
D_Kera	'S55--C55'	'B55--C55'	'C55--C154'								
D_Col	'S30--S154'										
Fvol_Col	'S30--S111'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--S111'	'S55--B55'	'S55--C55'	'S55--C111'	'S111--S154'	'S111--C55'	'S111--C154'	'S154--C55'
	'B55--C55'	'C55--C111'	'C55--C154'								
D_Fibro	'S30--S111'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--C55'	'S55--C111'	'S154--C55'	'S154--C111'	'B55--C55'	'B55--C111'	'C55--C154'	'C111--C154'
D_Macro	'S154--C55'										
fmel	'B55--C55'										
fblood	'S55--C55'	'S111--C55'	'S154--B55'	'S154--C55'	'B55--C154'	'C55--C154'					
SO2	'S30--C55'	'S55--C55'	'S111--C55'	'S154--C55'	'B55--C55'	'C55--C111'	'C55--C154'				
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.27: Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C3H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G1C2H3

El hámster G1C2H3 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Un tratamiento experimental fue utilizado durante su estudio. Para este hámster se analizaron los tres tipos de tejidos presentes en la LC en los días: 30, 55, 111, y 154. Figura 3.28.

G1C2H3											
z_1	'S30--B55'	'S30--B111'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--S154'	'S55--C55'	'S55--C111'	'S111--C55'	'S111--C111'	'S154--B55'	'S154--B111'
	'S154--C55'	'S154--C111'	'S154--C154'	'B111--C55'	'C55--C154'						
z_2	'S30--S154'	'S55--S154'	'S55--C111'	'S111--S154'	'S111--C154'	'S154--B55'	'S154--B111'	'S154--C55'	'S154--C111'	'B111--C154'	'C55--C154'
	'C111--C154'										
D_Kera											
D_Col	'S30--S55'	'S30--S111'	'S55--S154'	'S55--C55'	'S55--C154'	'S111--C154'	'B111--C154'				
Fvol_Col	'S30--B55'	'S30--B111'	'S30--C55'	'S30--C111'	'S55--C55'	'S111--B55'	'S111--C55'	'S111--C111'	'C55--C154'	'C111--C154'	
D_Fibro	'S111--B55'										
D_Macro											
fmeI	'S55--C154'										
fblood											
SO2	'S30--C55'	'S55--C55'	'S111--C55'	'S111--C154'	'B55--C55'	'B111--C55'	'C55--C111'	'C55--C154'			
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.28: Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C2H3 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G1C3H3

El hámster G1C3H3 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Ningún tratamiento fue utilizado durante su estudio. Los días analizados para este hámster fueron: 30, 55, 111, y 154. Figura 3.29.

G1C3H3											
z_1	'S30--S55'	'S30--S154'	'S30--C30'	'S30--C55'	'S55--S111'	'S55--S154'	'S55--B30'	'S55--B55'	'S55--C154'	'S111--S154'	'S111--C30'
	'S111--C55'	'S154--B55'	'S154--C30'	'S154--C55'	'S154--C111'	'B30--B55'	'B30--C30'	'B30--C55'	'B30--C111'	'B55--C30'	'B55--C55'
	'C30--C154'	'C55--C111'	'C55--C154'	'C111--C154'							
z_2	'S30--S154'	'S30--B30'	'S30--C154'	'S55--S154'	'S55--B30'	'S55--C154'	'S111--S154'	'S111--B30'	'S154--B55'	'S154--C30'	'S154--C55'
	'S154--C111'	'B30--B55'	'B30--C30'	'B30--C55'	'B30--C111'	'C30--C154'	'C55--C154'				
D_Kera	'S55--C30'	'S55--C55'	'S111--C30'								
D_Col	'S55--C55'	'S111--C55'	'B55--C55'								
Fvol_Col	'S30--S55'	'S30--S111'	'S30--C30'	'S30--C55'	'S55--C55'	'S111--C55'	'S154--C55'	'B30--C55'	'B55--C30'	'B55--C55'	'C55--C111'
	'C55--C154'										
D_Fibro	'S154--C55'	'B30--C55'	'C55--C154'								
D_Macro											
fmeI	'S30--C55'	'S30--C111'	'S30--C154'								
fblood	'S30--B55'	'S30--C30'	'S30--C111'	'S55--B55'	'S55--C30'	'S55--C111'	'B55--C154'	'C30--C154'	'C111--C154'		
SO2	'S30--C30'	'S30--C55'	'S30--C154'	'S55--C30'	'S55--C111'	'S111--C30'	'S154--C30'	'S154--C111'	'B30--C30'	'B30--C55'	'B55--C30'
	'B55--C111'	'C30--C111'	'C55--C111'	'C111--C154'							
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.29: Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C3H3 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G1C6H2

El hámster G1C6H2 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Ningún tratamiento fue utilizado durante su estudio. Los días analizados para este hámster fueron: 30, 55, 111, y 154. Figura 3.30.

G1C6H2								
z_1	'S30--C111'	'S55--S154'	'S55--C111'	'S55--C154'	'S111--C111'	'S154--C111'	'C111--C154'	
z_2	'S30--S154'	'S30--C154'	'S55--C111'	'S55--C154'	'S111--S154'	'S111--C154'	'S154--C111'	'C111--C154'
D_Kera	'S30--C111'	'S55--C111'	'S111--C111'	'S154--C111'	'C111--C154'			
D_Col								
Fvol_Col	'S30--S55'	'S30--S111'	'S30--C111'	'S154--C111'	'C111--C154'			
D_Fibro	'S30--C111'	'S55--S154'	'S111--C111'	'S154--C111'	'C111--C154'			
D_Macro								
fmel								
fblood	'S30--S55'	'S30--S111'	'S30--C111'	'S30--C154'	'S55--C111'	'S111--C111'	'S154--C111'	'C111--C154'
SO2	'S55--S111'	'S111--S154'	'S111--C111'					
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	
B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro					

Figura 3.30: Selección de tejidos por fecha diferentes en G1C6H2 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G4C2H1

El hámster G4C2H1 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Un tratamiento comercial fue utilizado durante su estudio. Los días analizados para este hámster fueron: 28, 70, 101, y 157. Figura 3.31.

G4C2H1											
z_1	'S28--S70'	'S28--S157'	'S28--C28'	'S28--C70'	'S28--C157'	'S70--S101'	'S70--C28'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S101--S157'	'S101--C28'
	'S101--C70'	'S101--C157'	'S157--C28'	'S157--C70'	'S157--C101'	'B70--C28'	'B70--C70'	'C28--C157'	'C70--C101'	'C70--C157'	'C101--C157'
z_2	'S28--S70'	'S28--B70'	'S28--C101'	'S28--C157'	'S70--S157'	'S70--C28'	'S101--C28'	'S157--C28'	'B70--C28'	'C28--C70'	'C28--C101'
	'C28--C157'										
D_Kera	'S101--C157'	'S157--B70'	'B70--C157'								
D_Col	'S28--S70'	'S28--S157'									
Fvol_Col	'S28--C28'	'S70--C28'	'S101--C28'	'S157--C28'	'B70--C28'	'C28--C101'	'C28--C157'				
D_Fibro	'B70--C28'	'C28--C101'									
D_Macro											
fmel											
fblood	'S28--C70'	'S70--C70'	'S157--C70'								
SO2	'S28--B70'	'S28--C101'	'S70--B70'	'S157--B70'							
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.31: Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C2H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G4C2H2

El hámster G4C2H2 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Un tratamiento comercial fue utilizado durante su estudio. Los días analizados para este hámster fueron: 28, 70, 101, y 157. Figura 3.32.

G4C2H2											
z_1	'S28--C70'	'S28--C101'	'S28--C157'	'S70--S157'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S101--C70'	'S101--C101'	'S101--C157'	'S157--B70'	'S157--C70'
	'S157--C101'	'S157--C157'	'B70--C70'	'C70--C101'	'C70--C157'						
z_2	'S28--C70'	'S28--C157'	'S70--S157'	'S70--C70'	'S101--S157'	'S101--C70'	'S157--B70'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'	'B70--C70'
	'C70--C101'										
D_Kera	'S28--C70'	'S70--C70'	'S101--C70'	'S157--C70'	'B70--C70'	'C70--C101'	'C70--C157'				
D_Col	'S28--S157'	'S70--S157'	'S101--S157'								
Fvol_Col	'S28--C70'	'S70--C70'	'S101--C70'	'S157--C70'	'B70--C157'	'C70--C101'	'C70--C157'				
D_Fibro	'S28--C70'	'S70--C70'	'S101--C70'	'S157--C70'	'B70--C70'	'C70--C101'	'C70--C157'				
D_Macro											
fmel	'S70--C70'	'S101--C70'	'S157--C70'	'B70--C70'	'C70--C101'						
fblood	'S28--C70'	'S70--C70'	'S157--C70'								
SO2	'S28--C70'	'S70--C101'	'S101--C70'	'S157--C70'	'C70--C101'	'C70--C157'					
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.32: Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C2H2 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G4C1H2

El hámster G4C1H2 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Ningún tratamiento fue utilizado durante su estudio. Los días analizados para este hámster fueron: 28, 70, 101, y 157. Figura 3.33.

G4C1H2											
z_1	'S28--S70'	'S28--S157'	'S28--C70'	'S28--C101'	'S28--C157'	'S70--B70'	'S70--B101'	'S70--B157'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S70--C157'
	'S101--S157'	'S101--B101'	'S101--C70'	'S101--C101'	'S101--C157'	'S157--B70'	'S157--B101'	'S157--B157'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'
z_2	'B70--C70'	'B70--C101'	'B70--C157'	'B101--C70'	'B101--C101'	'B101--C157'	'B157--C70'	'B157--C101'	'B157--C157'		
	'S28--C70'	'S28--C101'	'S28--C157'	'S70--B157'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S70--C157'	'S157--B157'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'
D_Kera	'S28--C101'	'S28--C157'	'S70--C101'	'S70--C157'	'S101--C70'	'S101--C101'	'S101--C157'	'S157--B101'	'S157--B157'	'S157--C70'	'S157--C101'
D_Col	'S70--B101'	'S101--B101'	'S157--B101'	'S157--C70'	'B70--B101'	'B70--C70'					
Fvol_Col	'S28--C101'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S70--C157'	'S101--C70'	'S101--C101'	'S101--C157'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'	'B70--C101'
D_Fibro	'S28--C157'	'S157--B101'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'						
D_Macro											
fmel	'S70--S101'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S70--C157'	'S101--B157'	'B157--C157'					
fblood	'S28--S157'	'S28--C101'	'S70--S157'	'S70--C101'	'S101--S157'	'S101--C101'	'S157--B70'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'	'B70--C101'
SO2	'S28--S157'	'S28--B70'	'S28--B157'	'S28--C70'	'S28--C101'	'S28--C157'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S70--C157'	'S101--C70'	'S101--C157'
	'S157--C157'	'B101--C70'	'B101--C157'	'B157--C157'							
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.33: Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C1H2 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

G4C5H1

El hámster G4C5H1 fue inoculado con *Leishmaniasis Brasiliensis*. Un tratamiento experimental fue utilizado durante su estudio. Los días analizados para este hámster fueron: 28, 70, 101, y 157. Figura 3.34.

DIFERENCIA ESTADÍSTICA EN FORMACIÓN DE ÚLCERA

De la información obtenida en las figuras anteriores, solo se toman los cambios significativos entre dos tejidos distintos en una misma etapa (S-B,S-C,B-C). Esta vez, esta información estará agrupada en tablas para la totalidad de los hámsteres en las 4 etapas definidas anteriormente. En estas tablas se especifica el día en el cual se está haciendo el análisis, de igual forma los 10 hámsteres analizados. Frente a cada hámster se disponen tres recuadros: Uno azul llamado "Sano-Borde", otro amarillo "Sano-Centro" y un último color naranja "Borde-Centro" especificando los tejidos comparados. Frente a ellos se encuentran las 10 variables adquiridas y cuando alguna de las variables es estadísticamente significativa para diferenciar los tejidos referidos en los recuadros de colores, se marca la casilla con color verde y un número 1. De esta forma se puede notar cuáles

G4C5H1											
z_1	'S28--S157'	'S28--C28'	'S70--S157'	'S70--B70'	'S70--B101'	'S70--C28'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S70--C157'	'S101--S157'	'S101--C28'
	'S101--C70'	'S101--C101'	'S157--B70'	'S157--B101'	'S157--B157'	'S157--C28'	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'	'B70--B157'	'B70--C28'
z_2	'B101--B157'	'B101--C28'	'B157--C28'	'B157--C70'	'B157--C101'	'C28--C157'	'C70--C157'				
	'S157--C28'	'B101--C28'									
D_Kera	'S28--C28'	'S28--C70'	'S28--C101'	'S70--C28'	'S70--C70'	'S70--C101'	'S101--S157'	'S157--B70'	'S157--B101'	'S157--C28'	'S157--C70'
	'S157--C101'	'S157--C157'	'B101--B157'	'B157--C28'	'B157--C70'	'B157--C101'					
D_Col	'S70--B101'	'S70--C28'	'S101--C28'	'S157--B101'	'S157--C28'	'S157--C157'	'B101--C28'	'B157--C28'	'C28--C101'		
Fvol_Col	'S28--C28'	'S28--C70'	'S70--C28'	'S101--C28'	'S101--C70'	'S157--C28'	'B101--C28'	'B101--C70'	'B157--C28'	'C28--C157'	
D_Fibro	'S28--C28'	'S70--C28'	'S101--C28'	'S157--C28'	'B101--C28'	'B157--C28'	'B157--C70'	'B157--C157'			
D_Macro	'S70--S157'	'S70--C70'	'S157--B101'	'S157--C157'	'B101--C70'	'C70--C157'					
fmel	'S70--S101'	'S101--B101'	'S101--C101'	'B101--B157'	'B157--C101'						
fblood	'S28--S70'	'S28--B70'	'S28--B157'	'S28--C101'							
SO2	'S28--S157'	'S28--B157'	'S70--S101'	'S70--S157'	'S101--S157'	'S101--B70'	'S101--B101'	'S101--B157'	'S101--C28'	'S101--C70'	'S157--B70'
	'S157--C70'	'S157--C101'	'S157--C157'	'B157--C101'	'B157--C157'	'C28--C157'					
S-S	Sano-Sano	S-B	Sano-Borde	S-C	Sano-Centro	B-B	Borde-Borde	B-C	Borde-Centro	C-C	Centro-Centro

Figura 3.34: Selección de tejidos por fecha diferentes en G4C5H1 por parámetro p menor a 0.05 en test ANOVA.

variables fueron las más aportantes en la diferenciación de tejidos de una misma fecha, y por ende, para comprender qué variables son afectadas durante la etapa evaluada. Durante la formación de úlcera, la Figura 3.35 contiene a los 10 hámsteres analizados durante su respectiva fecha de la etapa de formación de úlcera, sus 10 parámetros biológicos y las combinaciones de los tres tejidos presentes en la LC. De los hámsteres analizados, solo 2 evidencian diferencia entre **tejido sano** y **borde** en las siguientes variables: **espesor de epidermis** (1 hámster), **espesor de dermis** (1 hámster), **diámetro de partículas de colágeno** (1 hámster), y **saturación de oxígeno** (1 hámster). 4 hámsteres evidencian diferencia entre **tejido sano** y **centro**, entre las variables: **espesor de epidermis** (4 hámsteres), **diámetro de queratinocitos** (2 hámsteres), **fracción volumétrica de colágeno** (en los 4 hámsteres), y **diámetro de fibroblastos** (en 2 hámsteres), y **fracción volumétrica de melanina** junto con **fracción volumétrica de hemoglobina**, y **saturación de oxígeno** (en 1 hámster). Sólo un hámster presentó cambios entre **borde** y **centro de úlcera** en las variables: **espesor de epidermis**, **dermis**, y **saturación de oxígeno**.

En la etapa de formación de la úlcera se obtiene una mayor diferencia entre el **tejido sano** y **centro de úlcera**, mayormente en las variables: **espesor de epidermis**, **fracción volumétrica de colágeno**, **diámetro de partículas de queratinocitos**, y **diámetro de fibroblastos**. Estas variables están mayormente presentes en las fases activa y ulcerativa de la formación de la LC. Un ligero cambio se puede observar entre **tejido sano** y **borde de úlcera**, en las variables: **espesor de epidermis**, **dermis**, y **diámetro de partículas de colágeno**. Estos cambios podrían ser representativos entre la fase silenciosa y activa de la formación de la LC.

DIFERENCIA ESTADÍSTICA EN TRATAMIENTO DE ÚLCERA

La Figura 3.36 contiene a los 10 hámsteres analizados durante su respectiva fecha de la etapa de tratamiento de úlcera, sus 10 parámetros biológicos y las combinaciones de los tres tejidos presentes en la LC. De los hámsteres analizados, 5 evidencian diferencia entre **tejido sano** y **borde de úlcera** en las variables: **fracción volumétrica de colágeno** y **espesor epidermis** (2 hámsteres en cada variable), **espesor dermis** y **saturación de oxígeno** (1 hámster en cada variable). 9 hámsteres evidencian diferencia entre **tejido sano** y **centro de úlcera**, entre las variables: **espesor de epidermis** y **fracción volumétrica de colágeno** (6 hámsteres); **espesor de dermis**, **diámetro de queratinocitos**, **diámetro de colágeno**, **saturación de oxígeno**, y **diámetro de fibroblastos** (en 4 hámsteres); **fracción volumétrica de melanina**, **diámetro de macrófagos**, y **fracción volumétrica de hemoglobina** (en 2 hámster). 5 hámsteres evidencian diferencia entre **tejido borde** y **centro de úlcera** en las variables: **espesor epidermis** (4 hámsteres); **diámetro de colágeno** (3 hámsteres); **espesor dermis** (1 hámster); **diámetro de queratinocitos**, **fracción volumétrica de colágeno**, **diámetro de fibroblastos**, **fracción volumétrica de melanina**, y **saturación de oxígeno** (2 hámster). En la etapa de formación de la úlcera se obtiene una mayor diferencia entre el **tejido sano** y del **centro de las úlceras**, mayormente en las variables: **espesor de epidermis**, **fracción volumétrica de colágeno**, **espesor de dermis**, **diámetro de queratinocitos**, **diámetro de colágeno**, **saturación de oxígeno**, y **diámetro de fibroblastos**. Estas variables están mayormente presentes en las fases activa y ulcera-

Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos													
FECHA	Hámster		z_1	z_2	D_Kera	D_Col	Fvol_Col	D_Fibro	D_Macro	fmel	fblood	SO2	
Día 30 Formación	G1C2H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G1C2H3	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G1C3H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G1C3H3	Sano-Borde		1									
		Sano-Centro	1				1				1	1	
		Borde-Centro	1	1									1
G1C6H2	Sano-Borde												
	Sano-Centro												
	Borde-Centro												
Día 36 Formación	G2C4H1	Sano-Borde	1			1						1	
		Sano-Centro	1		1		1	1		1			
		Borde-Centro											
Día 28 Formación	G4C2H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1				1						
		Borde-Centro											
	G4C2H2	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G4C1H2	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G4C5H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1		1		1	1					
		Borde-Centro											

Figura 3.35: Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos durante la etapa de formación de úlcera. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.

tiva de la formación de la LC. A diferencia de la etapa de formación, se resalta el cambio en el oxígeno, el cual podría estar relacionado con procesos de necrosis en la úlcera en su etapa ulcerativa. Igualmente se destaca el aumento de los cambios de la **fracción volumétrica de colágeno**, lo cual podría estar igualmente asociado a las primeras etapas de cicatrización de la úlcera. Por otro lado, se observan cambios entre tejido **sano-borde y borde-centro**, en las variables **espesor de epidermis** y las relacionadas con el **colágeno**. Estos cambios podrían ser representativos entre la fase silenciosa y activa de la formación de la LC.

DIFERENCIA ESTADÍSTICA EN POS-TRATAMIENTO PRIMERA FECHA

La Figura 3.37 contiene a los 10 hámsteres analizados durante su respectiva fecha de la etapa de pos-tratamiento primera fecha, sus 10 parámetros biológicos y las combinaciones de los tres tejidos presentes en la LC. De los hámsteres analizados, 3 evidencian diferencia entre **tejido sano y borde de úlcera** en las variables **espesor de epidermis** (3 hámsteres), **espesor de dermis** (1 hámster), **saturación de oxígeno** (2 hámsteres), y **fracción volumétrica de melanina** (1 hámster). 7 hámsteres evidencian diferencia entre **tejido sano y centro de úlcera**, entre las variables: **espesor de epidermis** (7 hámsteres), **espesor de dermis** (2 hámsteres), y **fracción volumétrica de colágeno** (3 hámsteres), **diámetro de partículas de queratina** (2 hámsteres) y **diámetro de fibroblastos** (en 2 hámsteres), **fracción volumétrica de melanina** y **saturación de oxígeno** (en 2 hámsteres). Solo 2 hámsteres presentaron cambios entre **tejido de borde y centro** en las variables **espesor de epidermis y dermis**, **fracción volumétrica de colágeno**, **diámetro de fibroblastos**, **diámetro de macrófagos**, y **fracción volumétrica de hemoglobina**.

Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos:													
FECHA	Hamster		z_1	z_2	D_Kera	D_Col	Fvol_Col	D_Fibro	D_Macro	fmel	fblood	SO2	
Día 55 Tratamiento	G1C2H1	Sano-Borde					1						
		Sano-Centro	1	1		1	1					1	
		Borde-Centro	1	1		1							
	G1C2H3	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1			1	1						1
		Borde-Centro											1
	G1C3H1	Sano-Borde		1				1					
		Sano-Centro	1	1	1			1	1			1	1
		Borde-Centro	1		1			1	1		1		1
	G1C3H3	Sano-Borde	1									1	
		Sano-Centro			1	1	1						
		Borde-Centro	1			1	1						
G1C6H2	Sano-Borde												
	Sano-Centro												
	Borde-Centro												
Día 50 Tratamiento	G2C4H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro				1		1	1				
		Borde-Centro											
Día 70 Tratamiento	G4C2H1	Sano-Borde										1	
		Sano-Centro	1								1		
		Borde-Centro											
	G4C2H2	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1	1	1			1	1		1	1	
		Borde-Centro	1		1				1		1		
	G4C1H2	Sano-Borde											
		Sano-Centro		1				1	1		1		1
		Borde-Centro	1				1						
	G4C5H1	Sano-Borde	1										
		Sano-Centro	1		1					1			
		Borde-Centro											

Figura 3.36: Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos durante la etapa de tratamiento de úlcera. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.

DIFERENCIA ESTADÍSTICA EN POS-TRATAMIENTO ÚLTIMA FECHA

La Figura 3.38 contiene a los 10 hámsteres analizados durante su respectiva fecha de la etapa de pos-tratamiento última fecha, sus 10 parámetros biológicos y las combinaciones de los tres tejidos presentes en la LC. De los hámsteres analizados, solos 2 hámsteres presentan diferencias entre **tejido sano y borde de úlcera** en las variables: **espesor de epidermis** (2 hámsteres), **espesor de dermis** (1 hámster), y **diámetro de queratinocitos** (1 hámster). 6 hámsteres presentan diferencias entre **tejido sano y centro de úlcera**, entre las variables: **espesor de epidermis** (5 hámsteres), **espesor de dermis** (3 hámsteres), **diámetro de queratinocitos** (3 hámsteres), **diámetro de partículas colágenas** (1 hámster), **fracción volumétrica de colágeno** (1 hámster), **diámetro de fibroblastos** (1 hámster), **diámetro de macrófagos** (1 hámster), **fracción volumétrica de melanina** (1 hámster), y **saturación de oxígeno** (2 hámsteres). Solo 2 hámsteres presentaron diferencias entre **tejido borde y centro**, entre las variables: **diámetro de epidermis** (1 hámster), **diámetro de queratinocitos** (1 hámster), **diámetro de fibroblastos** (1 hámster), **fracción volumétrica de melanina** (1 hámster), **fracción volumétrica de hemoglobina** (1 hámster), y **saturación de oxígeno** (2 hámsteres).

Puede notarse que en cada etapa existen posibles parámetros biológicos diferenciadores extraídos por el modelo inverso que podrían caracterizar las etapas de la úlcera y diferenciarlas de las otras, sin embargo, los posibles parámetros biológicos diferenciadores no coinciden para todos los hámsteres, esto era de esperarse puesto que la respuesta espectral del tejido está ligada a la respuesta biológica propia de hámsteres, por lo que es necesaria otra forma de agrupar las firmas espectrales para realizar el seguimiento al tratamiento.

Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos:													
FECHA	Hamster		z_1	z_2	D_Kera	D_Col	Fvol_Col	D_Fibro	D_Macro	fmel	fblood	SO2	
Día 111 Pos-tratamiento	G1C2H1	Sano-Borde	1	1								1	
		Sano-Centro	1	1				1		1		1	
		Borde-Centro									1		
	G1C2H3	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1				1						
		Borde-Centro											
	G1C3H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G1C3H3	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
G1C6H2	Sano-Borde												
	Sano-Centro	1		1							1	1	
	Borde-Centro												
Día 108 Pos-tratamiento	G2C4H1	Sano-Borde	1										
		Sano-Centro	1	1			1	1			1		
		Borde-Centro	1				1	1	1		1		
Día 101 Pos-tratamiento	G4C2H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G4C2H2	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1										
		Borde-Centro											
	G4C1H2	Sano-Borde	1										
		Sano-Centro	1		1			1				1	
		Borde-Centro	1	1				1				1	
	G4C5H1	Sano-Borde									1		1
		Sano-Centro	1								1		
		Borde-Centro											

Figura 3.37: Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos durante la etapa de pos-tratamiento de úlcera. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.

RELACIÓN DE MODELO INVERSO CON DATOS HISTOLÓGICOS

Si bien para realizar un análisis del desempeño de las firmas espectrales arrojadas por el método inverso, es necesario tener información real de cada uno de las variables en cada etapa analizada, esto no es posible por dos razones: la primera es que en la literatura no se encuentran estos parámetros definidos para el hámster dorado, y la segunda razón es que las histologías se realizan únicamente cuando un hámster es sacrificado, así pues, sería imposible llevar un seguimiento histológico a un hámster específico, es por esto, que en esta sección se propone evaluar las firmas espectrales realizando una comparación entre los datos arrojados por la histología y los datos reunidos en la figura 3.38, ya que la etapa E3b fue realizada justo antes del sacrificio de los hámsteres.

DATOS HISTOLÓGICOS

Al finalizar la toma de datos sobre los hámsteres, dentro del equipo del proyecto Colciencias se solicitaron los datos histológicos de los 10 hámsteres analizados en esta sección de resultados. Estos resultados se presentan como afecciones presentes en el tejido como: Degeneración turbia, degeneración vacuolar, degeneración de grasa, fibrosis, hiperplasia, cariomegalia, binucleación, pigmento, necrosis, hemorragia, presencia de eosinófilos, presencia de linfocitos, presencia de plasmocitos, presencia de macrófagos, tejido con granulación, y *Leishmania*, esta relación fue realizada por un médico general dentro del proyecto. La tabla 3.14 contiene las posibles relaciones de estas afecciones con las variables arrojadas por el modelo inverso.

Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos:													
FECHA	Hamster		z ₁	z ₂	D_Kera	D_Col	Fvol_Col	D_Fibro	D_Macro	f _{mel}	f _{blood}	SO ₂	
Día 154 Pos-tratamiento	G1C2H1 756-MAD	Sano-Borde											
		Sano-Centro			1								
		Borde-Centro											
	G1C2H3 756-MPD	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1										
		Borde-Centro											
	G1C3H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G1C3H3	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
G1C6H2	Sano-Borde												
	Sano-Centro												
	Borde-Centro												
Día 164 Pos-tratamiento	G2C4H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1	1			1			1			
		Borde-Centro											
Día 157 Pos-tratamiento	G4C2H1	Sano-Borde											
		Sano-Centro											
		Borde-Centro											
	G4C2H2	Sano-Borde											
		Sano-Centro	1	1									
		Borde-Centro											
	G4C1H2	Sano-Borde	1	1	1								
		Sano-Centro	1	1	1				1				1
		Borde-Centro	1		1						1	1	1
	G4C5H1	Sano-Borde	1										
		Sano-Centro	1		1	1				1			1
		Borde-Centro							1				1

Figura 3.38: Diferencias estadísticamente significativas entre diferentes tipos de tejidos en última fecha de pos-tratamiento. El valor 1 en verde indica que sí hay diferencia entre los tipos de tejidos indicados en la fecha correspondiente.

Afecciones	Parámetro biológico
Hiperplasia y degeneración vacuolar	z_1 y D_{kera}
Degeneración turbia, degeneración de grasa, cariomegalia, bionucleación, presencia de eosinófilos, presencia de linfocitos, presencia de plasmocitos, y tejido con granulación	z_2
Fibrosis	D_{Col} , $Fvol_{Col}$, y D_{fibro}
Presencia de macrófagos	D_{macro}
Pigmento	f_{mel}
Hemorragia	f_{blood}
Necrosis	SO_2

Tabla 3.14: Relación entre las afecciones del tejido presentes en una histología y las variables del modelo inverso.

En la Figura 3.39 se presentan los resultados arrojados por la histología en los hámsteres analizados.

Los valores iguales a 1 en las histologías indican que no hubo cambio en ese parámetro. Los valores mayores a 1 indican que sí hubo cambio en ese parámetro, en un grado de 2 a 5. En la figura 3.39 se marca en color diferente al gris aquellos cambios que sí se detectaron con el modelo matemático, el cambio detectado se marca con el respectivo color del parámetro histológico (rojo para z_1 y D_{kera} , verde para z_2 , azul claro para D_{Col} , $Fvol_{Col}$, y D_{fibro} , beige para f_{mel} , azul oscuro para SO_2 , amarillo claro para f_{blood} , y amarillo oscuro para D_{macro} . Estos mismos colores se mantienen para la Figura 3.40 en la siguiente sección). La presencia de *Leishmania* en la histología se presenta de color amarillo fosforescente. Los valores marcados con color gris corresponden a parámetros histológicos en los cuales se esperaba observar un cambio en su respectiva variable óptica, pero que no se observó variación alguna. Los resultados no coloreados en esta tabla corresponden a re-

Resultados Histologías										
Parametros histológicos	G1C2H1 756-MAD LBTE	G1C2H3 756-MPD LBTE	G4C5H1 800-MAD LBTE	G2C4H1 764-MAD LBTC	G4C2H1 797-MAD LBTC	G4C2H2 797-MAI LBTC	G1C3H1 757-MAD LBST	G1C3H3 757-MPD LBST	G1C6H2 760-MAI LBST	G4C1H2 796-MAI LBST
Deg. Turbia	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
Deg. Vacuolar	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
Deg. Grasa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fibrosis	3	1	5	4	3	2	3	4	3	4
Hiperplasia	1	1	1	4	1	1	1	1	1	1
Cariomegalia	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Binucleación	1	1	3	3	1	1	1	1	1	2
Pigmento	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Necrosis	2	4	3	3	1	1	2	2	3	2
Hemorragia	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
Eosinófilos	1	1	2	2	1	1	1	1	1	2
Linfocitos	4	4	5	5	2	2	4	2	3	4
Plasmocitos	4	4	5	5	2	2	3	2	2	4
Macrófagos	5	5	5	6	2	2	5	3	4	4
Tej. Granulación	1	1	5	5	3	2	1	1	1	4
Leishmania	1	3	2	4	1	1	1	1	1	4

Los resultados van en grado de 1 a 5, siendo 1 el más bajo y 5 el más alto. LBTE: Leishmaniasis Brasiliensis Tratamiento Experimental, LBTC: Leishmaniasis Brasiliensis Tratamiento Comercial, LBST: Leishmaniasis Brasiliensis Sin Tratamiento

Figura 3.39: Resultado de histologías para los 10 hámsteres analizados.

sultados no detectados por nuestro método en la respectiva histología.

En las histologías con *Leishmania* mayor a 3 (última fila de la Figura 3.39), hay diferencia entre los parámetros ópticos correspondientes al espesor de la dermis, epidermis, y colágeno o fibroblastos. Los grados mayores a 2 en fibrosis sólo fueron detectados en el modelo óptico en aquellos hámsteres en los cuales hubo cambio de parámetros ópticos de epidermis. La necrosis podría ser asociada a los parámetros ópticos de niveles de oxigenación y a los cambios en la epidermis; aunque en el hámster 4 (G2C4H1 764-MAD) no se detecta tal vez por los cambios en melanina.

No en todos los hámsteres se presentaron cambios en las variables ópticas relacionadas con cambios en la dermis y que presentaron cambios histológicos en las respectivas células. Sólo se detectaron los cambios en aquellos hámsteres que presentaron cambios en los parámetros ópticos relacionados con la epidermis y dermis a la vez.

RELACIÓN DE PARÁMETROS HISTOLÓGICOS CON MODELO MATEMÁTICO

En la Figura 3.40 se presenta la relación entre los parámetros histológicos y los del modelo matemático, denotados con los mismos colores que la figura 3.39. Los parámetros que se marcan en un mismo color indican que están relacionados. Esta relación fue realizada por especialista en medicina. Así entonces, puede verse como los hámsteres G4C5H1, G2C4H1, y G4C1H2 son los que tuvieron más parámetros relacionados con los datos histológicos, es decir, que si el parámetro óptico cambió, también lo hizo su respectivo parámetro histológico.

Por lo tanto, gracias a las dos últimas figuras (3.39 y 3.40), donde se hace un análisis entre datos histológicos y los parámetros biológicos estimados por el modelo inverso (en la etapa E3b), se puede determinar que el modelo inverso por medio de firmas espectrales, logró asociar cambios en el tejido de **degeneración vacuolar un 100%** (1 solo caso: **G4C5H1**), **Fibrosis un 33%** de las veces (3 hámsteres de 9: **G4C5H1**, **G2C4H1**, **G4C1H2**, **G1C2H1**, **G4C2H1**, **G4C2H2**, **H1C3H1**, **G1C3H3** Y **G1C6H2**), **Hiperplasia un 100%** de las veces (1 solo caso: **G2C4H1**), **binucleación un 67%** (2 de tres casos: **G2C4H1**, **G4C1H2**, y **G4C5H1**), **Pigmentación un 0%** (Para

Parámetros del modelo matemático												
L y TTO.	Hamster	TEJIDO	z_1	z_2	D_Kera	D_Col	Fvol_Col	D_Fibro	D_Macro	fmel	fblood	SO2
LBTE	G1C2H1 756-MAD	Sano-Borde										
		Sano-Centro			1							
		Borde-Centro										
LBTE	G1C2H3 756-MPD	Sano-Borde										
		Sano-Centro	1									
		Borde-Centro										
LBTE	G4C5H1 800-MAD	Sano-Borde	1									
		Sano-Centro	1		1	1			1			1
		Borde-Centro						1				
LBTC	G2C4H1 764-MAD	Sano-Borde										
		Sano-Centro	1	1			1			1		
		Borde-Centro										
LBTC	G4C2H1 797-MAD	Sano-Borde										
		Sano-Centro										
		Borde-Centro										
LBTC	G4C2H2 797-MAI	Sano-Borde										
		Sano-Centro	1	1								
		Borde-Centro										
LBST	G1C3H1 757-MAD	Sano-Borde										
		Sano-Centro										
		Borde-Centro										
LBST	G1C3H3 757-MPD	Sano-Borde										
		Sano-Centro										
		Borde-Centro										
LBST	G1C6H2 760-MAI	Sano-Borde										
		Sano-Centro										
		Borde-Centro										
LBST	G4C1H2 796-MAI	Sano-Borde	1	1	1							
		Sano-Centro	1	1	1			1				1
		Borde-Centro	1		1					1	1	1

Figura 3.40: Relación de parámetros histológicos con variables estimadas por modelo inverso.

1 caso: G1C2H1), **Necrosis en 25%** (2 hámsteres de 8: **G4C5H1, G4C1H2**, G1C2H1, G1C2H3, G2C4H1, G1C3H1, G1C3H3, y G1C6H2), **Hemorragia 0%** (1 hámster, G2C4H1), **Presencia de eosinófilos en 50%** (2 de 4 hámsteres: **G2C4H1, G4C1H2**, G4C5H1, y G4C2H1), **Presencia de linfocitos en 30%** (3 de 10 hámsteres: **G2C4H1, G4C2H2, G4C1H2**, G1C2H1, G1C2H3, G4C5H1, G4C2H1, G1C3H1, G1C3H3, y G1C6H2), **Presencia de plasmocitos en 30%** (3 de 10 hámsteres: **G2C4H1, G4C2H2, G4C1H2**, G1C2H1, G1C2H3, G4C5H1, G4C2H1, G1C3H1, G1C3H3, y G1C6H2), **Presencia de macrófagos en 11%** (1 de 9 hámsteres: **G4C5H1, G2C4H1, G4C1H2, G1C2H1, G1C2H3, G4C2H1, G1C3H1, G1C3H3, y G1C6H2**), **Tejido con granulación en 60%** (3 de 5 hámsteres: **G2C4H1, G4C2H2, G4C1H2, G4C5H1, y G4C2H1**). Aunque no se logran detectar todas las afecciones para la totalidad de los hámsteres, se muestra un inicio de lo que podría ser un caracterizador de etapas de úlcera por variación de parámetros biológicos en la piel, y por afecciones presentes en el tejido, durante el seguimiento al tratamiento.

3.6. SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO MEDIANTE MAPAS DE CONCENTRACIÓN

Para finalizar el último objetivo específico de esta tesis, es necesario evaluar el modelo inverso con los mapas de concentración arrojados al realizar el modelo inverso sobre los hipercubos espectrales adquiridos con ASCLEPIOS. En esta sección se mostrará el primer enfoque realizado en la literatura al seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas causadas por *Leishmaniasis* por medio de mapas de concentración de un modelo de reflectancia difusa de tres capas. Esta evaluación consiste en analizar cuáles mapas de concentración permiten percibir un cambio en la piel de cada hámster a medida que la *Leishmaniasis* surge, y posteriormente disminuye (llegado el caso), es decir durante el seguimiento al tratamiento.

Para este análisis se toman tres de los hámsteres anteriormente evaluados, uno de ellos con tratamiento experimental, otro con tratamiento comercial y otro al cuál no se le aplicó ningún tratamiento. Se procede con el análisis a los 10 mapas de concentración para tres etapas: E1, E2, y E3b. El análisis es realizado para las 3 fechas seleccionadas pero al igual que con las firmas espectrales, la única etapa que es relacionada con los datos histológicos (Figura 3.39), es la E3b.

3.6.1. SEGUIMIENTO A TRATAMIENTO EXPERIMENTAL EN G1C2H1

ETAPA DE FORMACIÓN DE ÚLCERA (E1): DÍA 30

En la Figura 3.41 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercubo espectral para el día 30 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*. z_1 en pequeña medida, tiene valores cercanos al rango inferior de la variable en la zona inferior del nódulo presente en el tejido, esto puede relacionarse con la disminución del tejido epidérmico en el lugar donde iniciará la úlcera cutánea. z_2 cercano al lugar donde se presenta la variación de z_1 , presenta valores altos, esto puede relacionarse con el inicio de una granulación en el tejido dérmico debido a la infección. D_{ker} resalta la forma circular del nódulo con valores más altos mostrando una posible hiperplasia. D_{col} igual que $Fvol_{Col}$ y parece tener valores altos a medida que se acerca a la zona nodular, esto puede relacionarse con el estiramiento de las fibras colágenas debido al nódulo. aporta información al tener valores cercanos al rango mínimo de esta variable en la zona central de donde estará la úlcera. D_{fibro} presenta valores altos en la zona central del nódulo, pudiéndose relacionar como un indicador de la zona donde iniciará la úlcera. D_{macro} parece no ser aportante de información. f_{mel} en la parte superior de la zona nodular muestra un incremento, el cual puede ser relacionado con el color rojizo que toma el tejido en ese lugar. Al analizar f_{blood} denota su valor máximo casi que al rededor de toda la imagen, aunque parece tener tendencia a la morfología del nódulo. Finalmente SO_2 contiene valores cercanos al rango mínimo en la zona nodular, lo cual puede relacionarse con el inicio de células muertas debido a la LC.

ETAPA DE TRATAMIENTO DE ÚLCERA (E2): DÍA 55

En la Figura 3.42 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercubo espectral para el día 55 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*, cuando la enfermedad se encuentra en su fase ulcerosa. z_1 presenta valores pequeños para el borde de la úlcera pero altos para el centro de la misma, esto puede deberse a que el tejido se encuentra haciendo una pequeña costra que el modelo puede confundir como el espesor de la primera capa. z_2 de una forma difusa muestra valores altos al rededor de la úlcera, pero en la forma circular de la misma es donde presenta los valores de mayor magnitud y concentración. D_{ker} permite diferenciar el centro de la úlcera al resto del tejido, sin embargo no diferencia borde a centro. D_{col} parece presentar valores aleatorios o ruidosos a lo largo de todo el tejido, pero sí existe una mayor concentración de estos datos en la zona ulcerosa. $Fvol_{Col}$ puede ser relacionado con las fibras colágenas, con valores pequeños para el centro de la úlcera, tanto el borde como tejido sano presentan valores altos. En D_{fibro} se puede diferenciar la parte central de la úlcera. D_{macro} , aunque parece tener una concentración de valores altos donde se encuentra la úlcera, no permite diferenciar ningún tejido en específico, por lo que no es aportante para el análisis de esta etapa de la enfermedad. f_{mel} tiene valores altos para el centro de la úlcera, permitiendo diferenciarla completamente del resto del tejido. Al analizar f_{blood} se nota como existen valores altos en la úlcera y en zonas cercanas a ella. Finalmente SO_2 presenta valores cercanos al rango mínimo en el centro de la úlcera, lo cual puede relacionarse con las células muertas que hay en la etapa analizada de la úlcera.

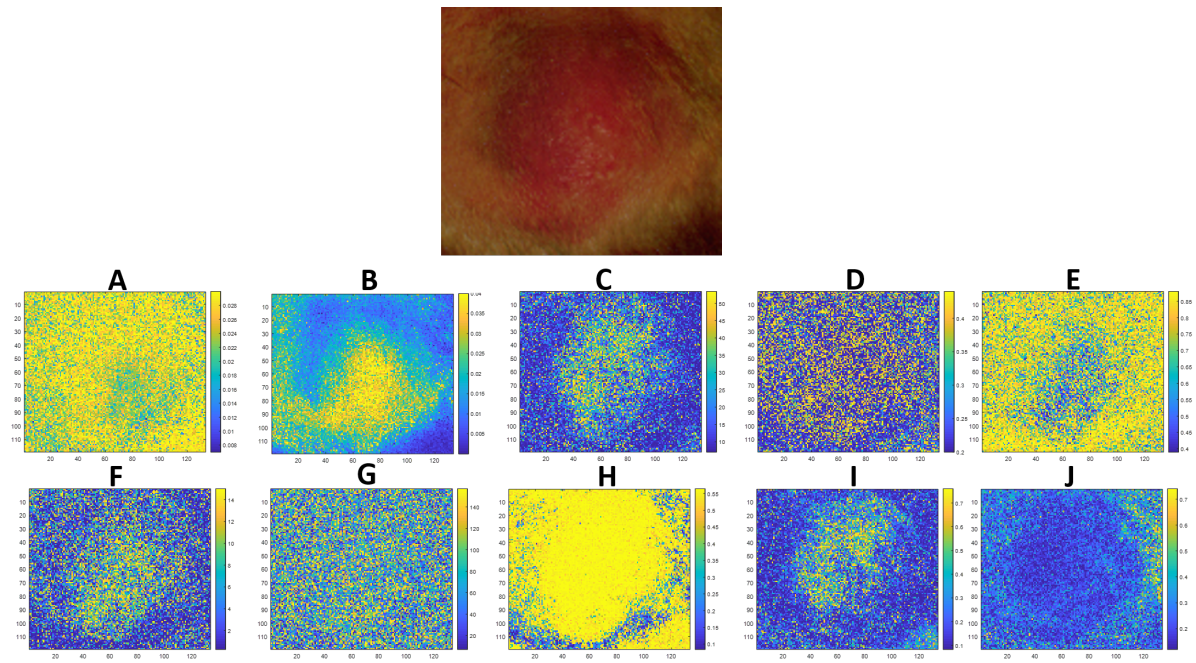


Figura 3.41: Mapas de concentración G1C2H1 día 30 (E1). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A= z_1 , B= z_2 , C= D_{kera} , D= D_{Col} , E= $Fvol_{Col}$, F= D_{fibro} , G= D_{macro} , H= f_{mel} , I= f_{blood} , y J= SO_2 .

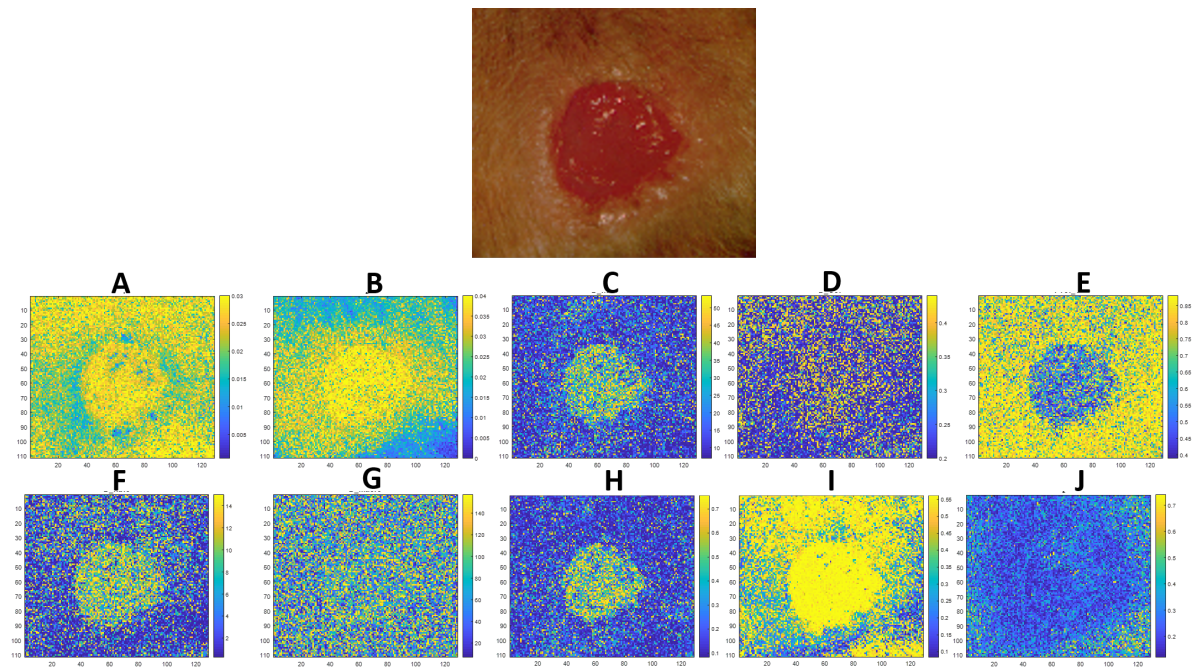


Figura 3.42: Mapas de concentración G1C2H1 día 55 (E2). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A= z_1 , B= z_2 , C= D_{kera} , D= D_{Col} , E= $Fvol_{Col}$, F= D_{fibro} , G= D_{macro} , H= f_{mel} , I= f_{blood} , y J= SO_2 .

ETAPA DE POS-TRATAMIENTO DE ÚLCERA (E3B): Día 154

En la Figura 3.43 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercono espectral para el día 154 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*, fase pos-tratamiento,

imagen original en parte superior izquierda e relación histológica en parte superior derecha (Color rojo para afecciones mal detectadas, color verde para afecciones correctamente detectadas). Para este hámster la úlcera no cicatrizó completamente, pero el diámetro y profundidad disminuyeron. D_{col} , F_{vol_Col} , y D_{fibro} (D, E, y F) son las variables encargadas de indicar un posible fibrosis; aunque D_{fibro} (F) no parece ser representativa, D_{col} y F_{vol_Col} (D y E) logran diferenciar la parte central de la úlcera, esto podría por lo tanto relacionarse con la **fibrosis grado 3** que presentó en la histología. f_{mel} (H) presenta claramente la forma de la úlcera con valores altos de melanina, pudiéndose relacionar con el **pigmento grado 3** que presentó en la histología. La variable SO_2 (J) alcanza a representar una diferencia con el resto del tejido en la parte izquierda de la úlcera, en pequeña medida, esto podría relacionarse con el **nivel 2 de necrosis** presente en la histología. La variable z_2 (B) parece ser no muy relevante a la hora de identificar los niveles 4 de presencia de **linfocitos y plasmocitos**, esto podría deberse a que las otras afecciones también representadas por esta variable (Degeneración turbia, degeneración de tejido graso, cariomegalia, binucleación, eosinófilos, y tejido con granulación), presentan un grado de 1 en la histología. D_{macro} (G) tampoco muestra una variación adecuada para ser relacionada con el **nivel 5 de macrófagos** que presenta en la histología. Las variables z_1 , D_{kera} , y f_{blood} (A, C, e I) no presentan una variación considerable por lo que no arrojan una estimación errónea de alguna otra afección en el tejido, concorde con lo que se aprecia en la histología.

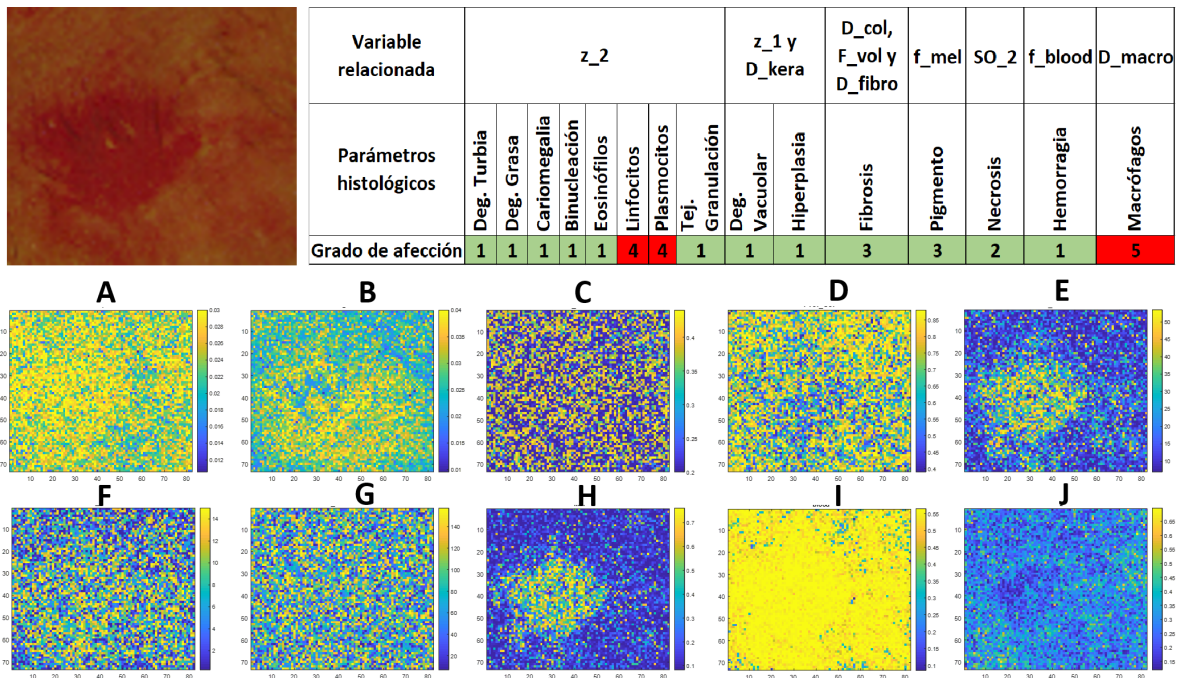


Figura 3.43: Mapas de concentración G1C2H1 día 154 (E3b). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A= z_1 , B= z_2 , C= D_{kera} , D= D_{col} , E= F_{vol_Col} , F= D_{fibro} , G= D_{macro} , H= f_{mel} , I= f_{blood} , y J= SO_2 .

3.6.2. SEGUIMIENTO A TRATAMIENTO COMERCIAL EN G2C4H1

ETAPA DE FORMACIÓN DE ÚLCERA (E1): Día 15

En la Figura 3.44 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hiper cubo espectral para el día 15 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*. z_1 presenta valores pequeños en la zona inferior del nódulo, esto puede relacionarse con la disminución del tejido epidérmico en el lugar donde iniciará la úlcera cutánea. z_2 presenta valores altos en la zona central del nódulo donde se empieza a abrir paso la úlcera, esto puede relacionarse con el inicio de una fibrosis en el tejido dérmico debido a la infección. D_{kera} deja ver valores similares para tejido nodular y sano, por lo que no es discriminante para esta etapa de la enfermedad. D_{col} muestra una concentración de valores altos cercanos a la parte del nódulo donde

se ve el inicio de la úlcera, al igual que se ve en $Fvol_Col$, ambos datos pueden relacionarse a la enfermedad actuando sobre las fibras colágenas. D_fibro presenta valores altos en la zona central del nódulo, pudiéndose relacionar como el indicador de la zona donde iniciará la úlcera. D_macro no permite diferenciar ningún tejido en específico, por lo que no es aportante para el análisis de esta etapa de la enfermedad. f_mel parece circundar la zona cercana a la úlcera. Al analizar f_blood se nota como en la zona nodular del tejido se encuentran valores mucho más altos que en zonas sanas, y más aún en la zona donde inicia la úlcera. Finalmente SO_2 no parece tener resultados apreciables a simple vista para etapa.

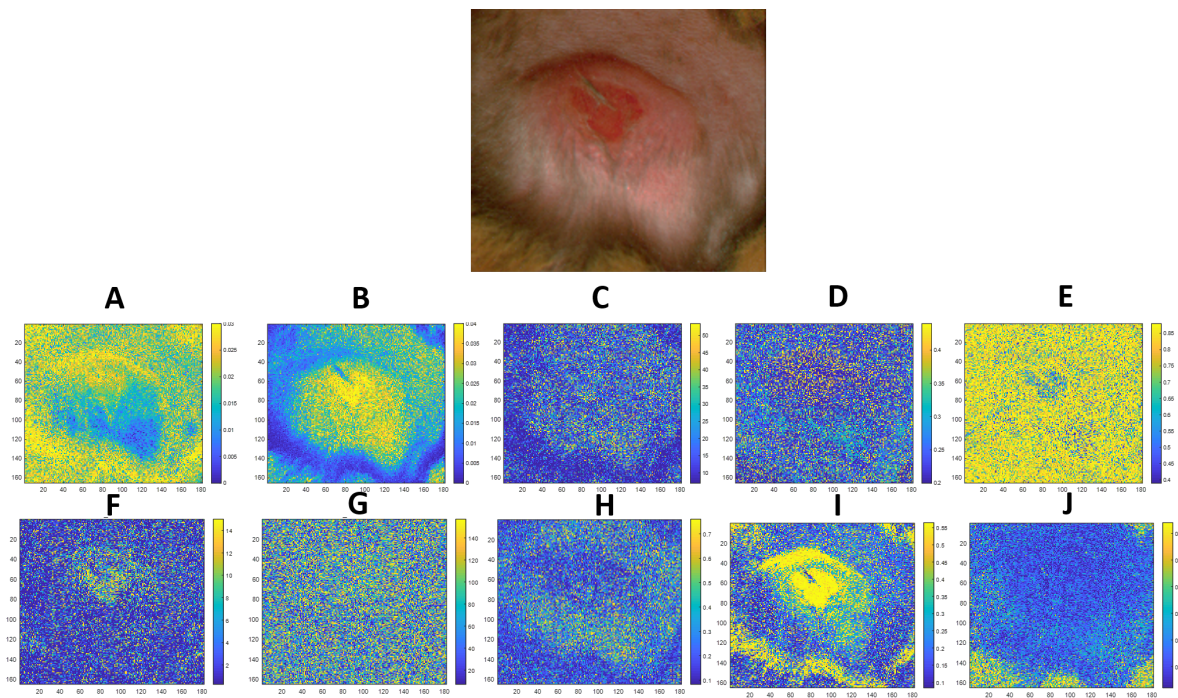


Figura 3.44: Mapas de concentración G2C4H1 día 15 (E1). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A= z_1 , B= z_2 , C= D_kera , D= D_Col , E= $Fvol_Col$, F= D_fibro , G= D_macro , H= f_mel , I= f_blood , y J= SO_2 .

ETAPA DE TRATAMIENTO DE ÚLCERA (E2): Día 66

En la Figura 3.45 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercubo espectral para el día 66 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*, cuando la enfermedad se encuentra en su fase ulcerosa. z_1 y z_2 permiten ver una concentración de valores altos para el lugar donde se encuentra la úlcera, esto puede relacionarse con la fibrosis del tejido dérmico y la costra que se forma sobre la dermis. D_kera , D_col , y $Fvol_Col$ no parecen aportar mapas de concentración claros de donde se pueda extraer información de la etapa de la úlcera. En D_fibro se puede diferenciar la parte central de la úlcera. D_macro no permite diferenciar ningún tejido en específico, por lo que no es aportante para el análisis de esta etapa de la enfermedad. f_mel permite relacionar los valores pequeños de la variable con el borde de la úlcera. Al analizar f_blood se nota como existen valores altos en la úlcera y en el borde de la misma. Finalmente SO_2 contiene valores uniformes a lo largo del tejido, por lo cual no puede relacionarse con alguna parte de la úlcera.

ETAPA DE POS-TRATAMIENTO DE ÚLCERA (E3B): Día 164

En la Figura 3.46 se encuentran 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercubo espectral para el día 164 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*, fase pos-tratamiento, imagen original en parte superior izquierda e relación histológica en parte superior derecha (Color rojo para afecciones mal detectadas, color verde para afecciones correctamente detectadas).

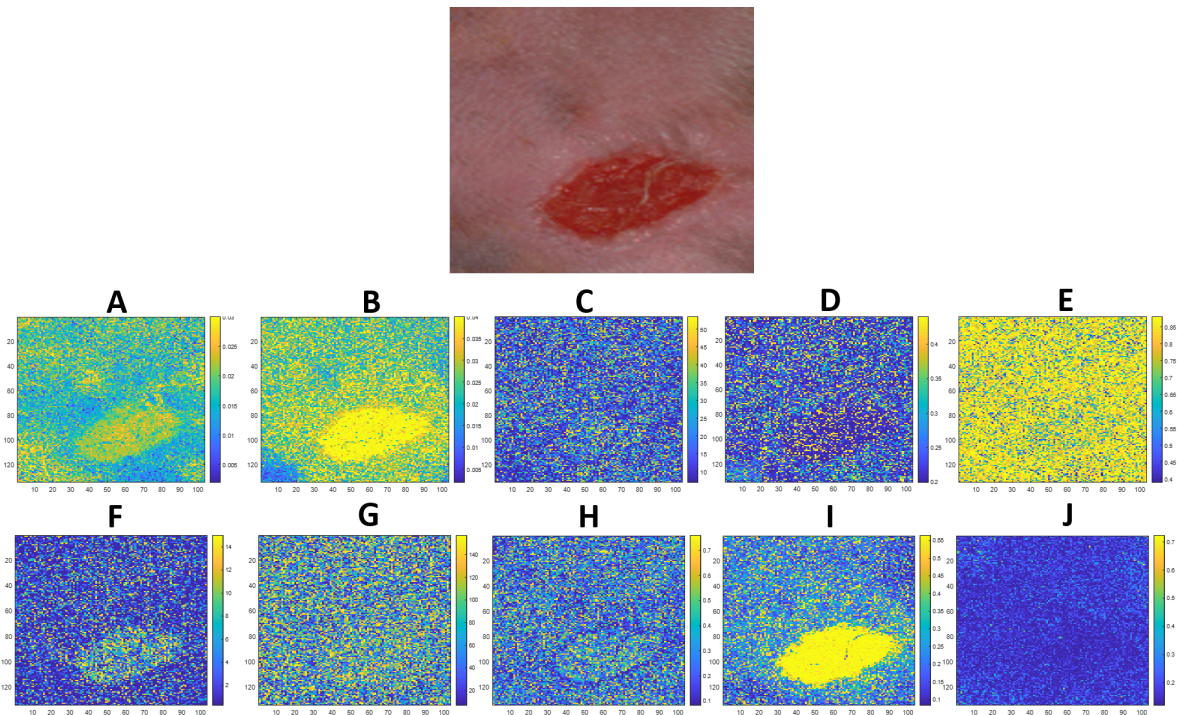


Figura 3.45: Mapas de concentración G2C4H1 día 66 (E2). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A= z_1 , B= z_2 , C= D_ker_a , D= D_Col , E= $Fvol_Col$, F= D_fibro , G= D_macro , H= f_{mel} , I= f_{blood} , y J= SO_2 .

D_col , $Fvol_Col$, y D_fibro (D, E, y F) deberían mostrar un cambio de **nivel 4 debido a una fibrosis** presente en la histología; aunque D_col (D) no es representativo para diferenciar esta fibrosis del resto del tejido, tanto $Fvol_Col$ como D_fibro (E y F), muestran un cambio en la zona donde se encuentra la úlcera cicatrizada. z_1 (A) muestra una pequeña diferencia en el centro de la úlcera cicatrizada mientras que D_ker_a (C) no, ambas variables deben representar el **grado 4 de hiperplasia**, que D_ker_a (C) no muestre un cambio considerable podría deberse a que tanto ella como z_1 (A) no solo presentan cambios en hiperplasia sino también en degeneración vacuolar, cuyo valor en la histología fue de 1 (sin variación). z_2 (B) logra diferenciar el centro de la úlcera debido a que la mayoría de las afecciones en la histología relacionadas a esta variable (6 de 8) se encuentran con un nivel alto: **nivel 3 de binucleación, nivel 2 de eosinófilos, nivel 5 de linfocitos, nivel 5 de plasmocitos, nivel 5 de tejido con granulación, y nivel 2 de Degeneración turbia**. mientras que Degeneración de tejido graso y cariomegalia no presentan variación. SO_2 (J) no parece encontrar diferencia para el **nivel 3 de necrosis** de la histología. f_{blood} (I) muestra claramente el **nivel 2 de hemorragia** en el centro de la úlcera. D_macro (G) nuevamente no logra definir adecuadamente un cambio en la úlcera debido a su **grado 6 de macrófagos**. Finalmente f_{mel} (H) no define una variación relevante en el tejido debido a que el **nivel del pigmento es 1**.

3.6.3. SEGUIMIENTO SIN TRATAMIENTO EN G1C3H1

ETAPA DE FORMACIÓN DE ÚLCERA (E1): DÍA 30

En la Figura 3.47 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hiper cubo espectral para el día 30 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*. z_1 presenta valores pequeños en la zona central del nódulo presente en el tejido, esto puede relacionarse con la disminución del tejido epidérmico en el lugar donde iniciará la úlcera cutánea. z_2 presenta valores altos en la misma zona central del nódulo, esto puede relacionarse con el inicio de una fibrosis en el tejido dérmico debido a la infección. D_ker_a permite diferenciar la morfología circular del nódulo al tener valores más altos en dicha zona. D_col aunque presenta diferentes valores para algunas zonas, no es realmente claro al tener valores específicos para la zona circundante al nódulo. $Fvol_Col$ aporta información al tener valores cercanos al rango mínimo de esta varia-

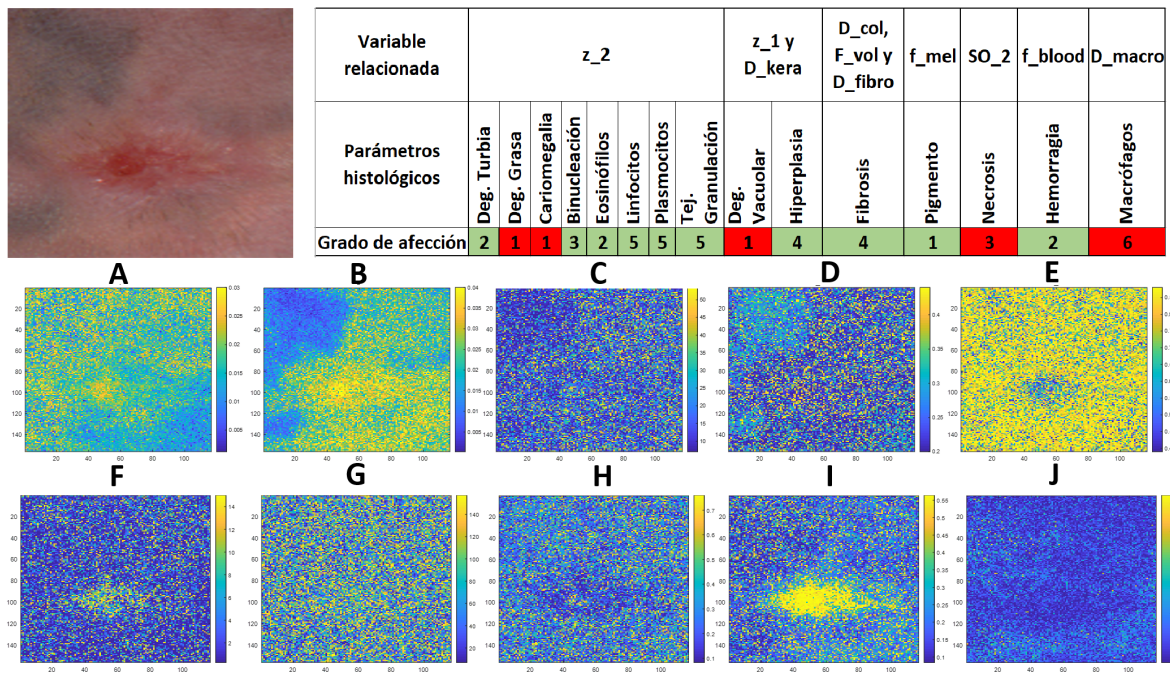


Figura 3.46: Mapas de concentración G2C4H1 día 164 (E3b). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A= z_1 , B= z_2 , C= D_{ker} , D= D_{Col} , E= F_{vol}_{Col} , F= D_{fibro} , G= D_{macro} , H= f_{mel} , I= f_{blood} , y J= SO_2 .

ble en la zona central de donde estará la úlcera. D_{fibro} presenta valores altos en la zona central del nódulo, pudiéndose relacionar como un indicador de la zona donde iniciará la úlcera. D_{macro} no permite diferenciar ningún tejido en específico, por lo que no es aportante para el análisis de esta etapa de la enfermedad. f_{mel} no permite apreciar una diferencia entre los tejidos, por lo que tampoco se considera aportante para el análisis de la formación de la úlcera. Al analizar f_{blood} se nota como en la zona nodular del tejido se encuentran valores mucho más altos que en zonas sanas. Finalmente SO_2 contiene valores cercanos al rango mínimo en la zona nodular, lo cual puede relacionarse con el incremento de células muertas debido a la futura úlcera.

ETAPA DE TRATAMIENTO DE ÚLCERA (E2): DÍA 66

Es importante recordar que aunque la etapa que se está analizando se llama "tratamiento", a este hámster no se le aplicó ningún tratamiento, aún así pudo mejorar por sí mismo. En la Figura 3.48 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercono espectral para el día 66 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*, cuando la enfermedad se encuentra en su fase ulcerosa. z_1 presenta valores altos en general, sin embargo, en la zona donde se encuentra la úlcera, los valores son superiores, esto puede relacionarse con la costra que empiezan a formar los anticuerpos, lo que para el modelo inverso es interpretado como una capa epidérmica. z_2 permite delimitar el borde y el centro de la úlcera, teniendo valores superiores a los bordes e inferiores en el centro. D_{ker} permite diferenciar el centro de la úlcera al resto del tejido, sin embargo no diferencia borde a centro. D_{col} presenta variedad de valores en la zona central de la úlcera, variando entre el rango mínimo y máximo, esto puede relacionarse con la ruptura de las fibras colágenas en ciertas partes de la úlcera. F_{vol}_{Col} también puede ser relacionado con las fibras colágenas, con valores pequeños para el centro de la úlcera. En D_{fibro} se puede diferenciar la parte central de la úlcera. D_{macro} no permite diferenciar ningún tejido en específico, por lo que no es aportante para el análisis de esta etapa de la enfermedad. f_{mel} tiene valores altos para el centro de la úlcera, permitiendo diferenciarla completamente del resto del tejido. Al analizar f_{blood} se nota como existen valores altos en la úlcera y en zonas cercanas a ella. Finalmente SO_2 contiene valores cercanos al rango mínimo en el centro de la úlcera, lo cual puede relacionarse con las células muertas que hay en la úlcera.

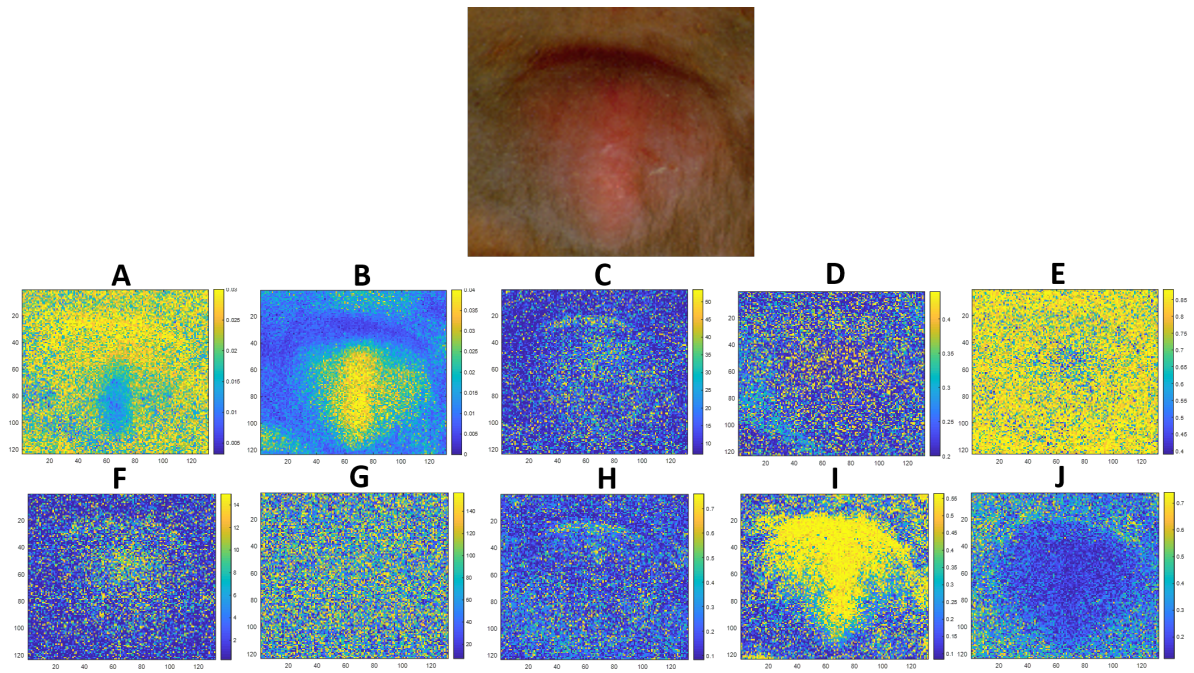


Figura 3.47: Mapas de concentración G1C3H1 día 30 (E1). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{ker}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, y $J=SO_2$.

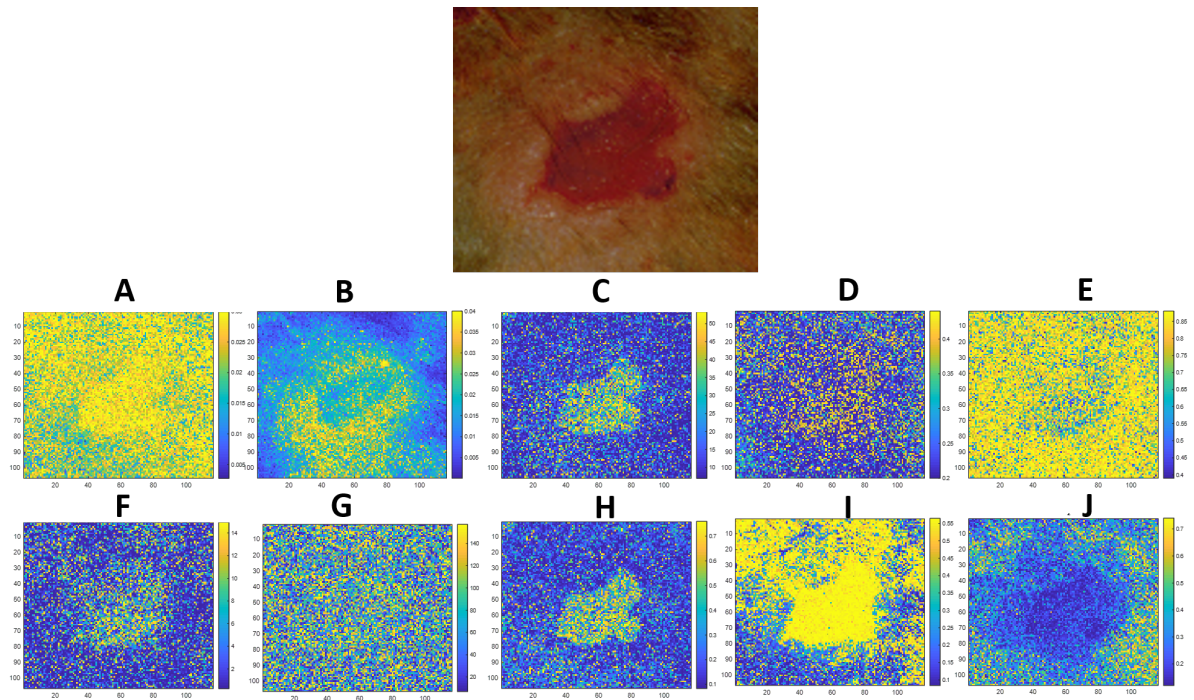


Figura 3.48: Mapas de concentración G1C3H1 día 66 (E2). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: $A=z_1$, $B=z_2$, $C=D_{ker}$, $D=D_{Col}$, $E=Fvol_{Col}$, $F=D_{fibro}$, $G=D_{macro}$, $H=f_{mel}$, $I=f_{blood}$, y $J=SO_2$.

ETAPA DE POS-TRATAMIENTO DE ÚLCERA (E3B): DÍA 154

En la Figura 3.49 se encuentran los 10 mapas de concentración adquiridos por el modelo inverso, partiendo del hipercono espectral para el día 154 después de la inoculación de la *Leishmaniasis*, fase pos-tratamiento, imagen original en parte superior izquierda e relación histológica en parte superior derecha (Color rojo para afecciones mal detectadas, color verde para afecciones correctamente detectadas), a este punto la úlcera se considera cicatrizada. De *D_col*, *Fvol_Col*, y *D_fibro*(D, E, y F), solamente *D_fibro* (F) logra detectar un cambio en la parte cercana a la úlcera cicatrizada que puede ser relacionada con el **nivel 3 de fibrosis** que presentó el tejido en la histología. *SO₂*(J) parece no detectar el **nivel 2 de necrosis**, posiblemente a que la afección es muy poca sobre el tejido. *z₂*(B) no parece mostrar cambios relevantes cercanos a la úlcera, esto podría deberse a que solo 2 de sus 8 afecciones están presentando un nivel de **4 en linfocitos** y **3 en plasmocitos**, para las otras 6 afecciones el nivel es 1. *D_macro*(G) nuevamente presenta un ruido que no puede ser relacionado con el **nivel 6 de macrófagos**. Finalmente *z₁* y *D_kera*(A y C) no presentan un cambio debido a que el nivel de **hiperplasia y degeneración vacuolar es de 1**, lo cual es correcto con los datos histológicos. De igual forma *f_{mel}*(H) no presenta un cambio en el tejido debido a que su valor en la histología es de **pigmento nivel 1**. Por otro lado, *f_{blood}*(I) presenta un falso positivo, detectando una hemorragia que no se encuentra presente en la histología.

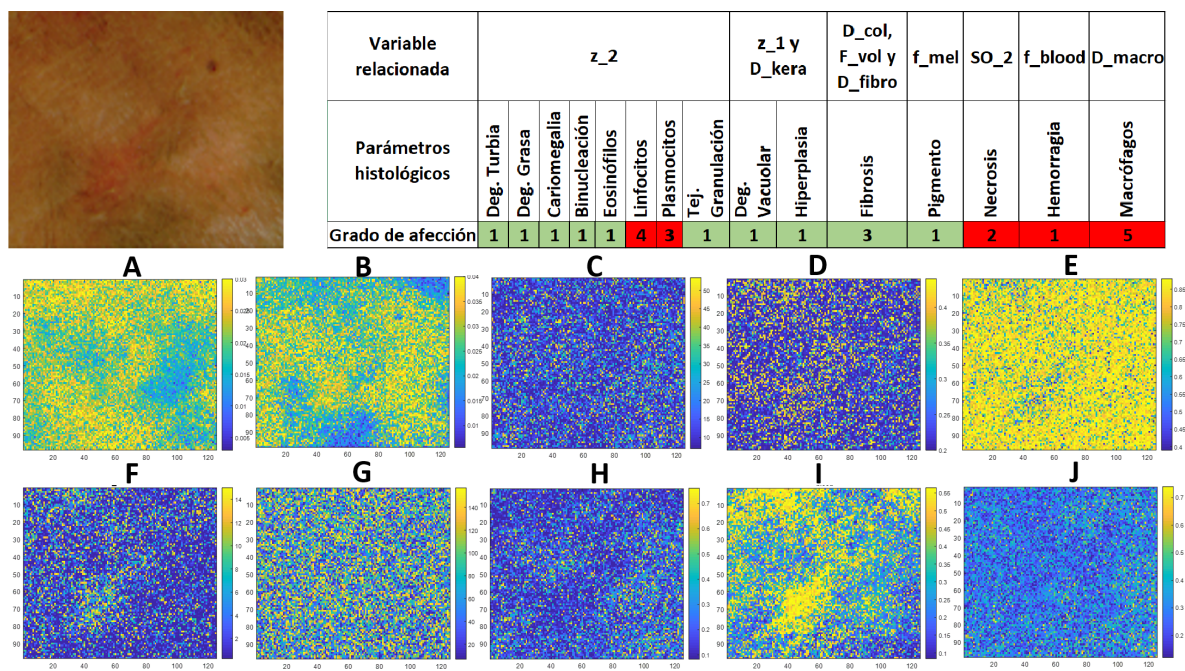


Figura 3.49: Mapas de concentración G1C3H1 día 154 (E3b). Imagen real arriba y mapas de concentración debajo: A=*z₁*, B=*z₂*, C=*D_{ker}*, D=*D_{col}*, E=*Fvol_Col*, F=*D_{fibro}*, G=*D_{macro}*, H=*f_{mel}*, I=*f_{blood}*, y J=*SO₂*.

La comparación con datos histológicos muestra que para la última fecha del hámster **G1C2H1**, se detecta 12 de 15 afecciones presentes en la histología. Que no se detecte el cambio en linfocitos ni plasmocitos se puede ser debido a que las otras 6 afecciones también relacionadas con la variable *z₂* no fueron detectadas en la histología. Tampoco se detecta ningún falso positivo entre los mapas de concentración restantes cuyos afecciones fueron de grado 1. En la última fecha del hámster **G2C4H1**, se detectan 10 de 15 afecciones presentes en la histología y no se relaciona ninguna afección inexistente con ningún parámetro del modelo. Para la última fecha del hámster **G1C3H1**, se logran detectar 10 de 15 afecciones presentes en la histología, En este hámster se presenta el único falso positivo detectado para el caso de hemorragia que no presentaba un grado de afección pero que el modelo detectó. En conclusión, el desempeño del modelo inverso es bueno a la hora de proponer un método de seguimiento al tratamiento, debido a que como se comprobó en los datos histológicos, puede detectar cambios en el tejido, y por lo tanto afecciones en la piel, que antes no habían podido ser detectadas en este tipo de problemas con el único dato del diámetro de la úlcera.

REFERENCIAS

- [1] David M Allen. Mean square error of prediction as a criterion for selecting variables. *Technometrics*, 13(3):469–475, 1971.
- [2] Katherine Calabro, Allison Curtis, Jean-Rene Galarneau, Thomas Krucker, and Irving J Bigio. Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models. *Journal of biomedical optics*, 16(1):011008, 2011.
- [3] Robert A Freitas Jr. Nanomedicine, volume i: Basic capabilities. landes bioscience, georgetown, tx, 1999. *Google Scholar*, 1999.
- [4] Zayed M Ramadan. Using entropy and 2-d correlation coefficient as measuring indices for impulsive noise reduction techniques. *International Journal of Applied Engineering Research*, 12(21):11101–11106, 2017.
- [5] T Ushiki. The three-dimensional ultrastructure of the collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers: a review. *Kaibogaku zasshi. Journal of anatomy*, 67(3):186–199, 1992.
- [6] Barrandon Yann and Green Howard. Cell size as a determinant of the clone-forming ability of human keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(16):5390–5394, 1985.
- [7] Dmitry Yudovsky and Laurent Pilon. Simple and accurate expressions for diffuse reflectance of semi-infinite and two-layer absorbing and scattering media. *Applied optics*, 48(35):6670–6683, 2009.

4

DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

Contenido

4.1 Base de datos	83
4.2 Modelo directo de reflectancia difusa en piel de hámster dorado	83
4.2.1 Trabajos futuros y perspectivas	84
4.3 Modelo inverso por medio de algoritmos genéticos	84
4.3.1 Trabajos futuros y perspectivas	84
4.4 Evaluación del modelo inverso en la formación y seguimiento al tratamiento	84
4.4.1 En firmas espectrales	84
4.4.2 En mapas de concentración	85
4.4.3 Trabajos futuros y perspectivas	85

En esta última sección de la presente tesis, se discuten los resultados adquiridos a lo largo del documento, teniendo como fin, explicar como se dio solución a cada uno de los objetivos específicos y por ende al objetivo general planteado.

4.1. BASE DE DATOS

Aunque en la propuesta de esta tesis de maestría no se mencionó la creación de una base de datos de información espectral sobre piel de hámster dorado, es necesario mencionar que tanto las firmas espectrales como los hipercubos adquiridos, pretenden no solo ser usados en esta tesis de maestría, sino en todo el proyecto Colciencias en general, el carácter público o privado de la base de datos propuesta se encuentra en discusión con el comité del proyecto macro. El haber generado una base de datos espectral sobre piel de hámster dorado, pretende también incentivar la creación de nuevas bases de datos públicas, de diferentes úlceras cutáneas, como por ejemplo las ocasionadas por diabetes o por presión. De esta forma se podrían realizar comparaciones de métodos como el propuesto en esta tesis sobre otras afecciones, abriendo la posibilidad de generar nuevas propuestas de investigación y trabajos conjuntos para el desarrollo de nuevos métodos no invasivos en la detección y seguimiento al tratamiento de úlceras cutáneas tanto en modelo animal como humano.

4.2. MODELO DIRECTO DE REFLECTANCIA DIFUSA EN PIEL DE HÁMSTER DORADO

En el primero objetivo específico de la tesis se habla del desarrollo de un modelo de interacción luz-tejido para hámster dorado a partir de un modelo de tres capas de piel humana. Por lo cual, se consultaron diversos autores que han propuesto modelos de reflectancia difusa sobre piel humana, en esta información se encontraron

diferentes enfoques matemáticos además de información útil sobre mediciones reales de algunas componentes de la piel encargadas de la absorción y dispersión de la luz. Como solución al primer objetivo específico, en la sección 3.4 se presentó el modelo de tres capas de reflectancia difusa en piel de hámster dorado, demostrando su potencialidad para ser utilizado como fundamento del modelo inverso propuesto.

4.2.1. TRABAJOS FUTUROS Y PERSPECTIVAS

Para el caso del hámster dorado, ratones o roedores en general, la información encontrada sobre las partículas encargadas de dispersar y absorber la luz en la piel, fue poca; los únicos datos hallados hacían referencia a espesores de piel, nada referente a los diámetros de las partículas tenidas en cuenta en el modelo. Este factor impide focalizar un rango específico de las variables utilizada en el modelo inverso. De modo que es necesario investigaciones cuyo enfoque sea la estandarización de estos parámetros para ser utilizados en futuros modelos de reflectancia difusa.

De igual forma, se espera en trabajos futuros realizar nuevas propuestas sobre el modelo directo, por medio de Kubelka-Munk para realizar una comparación de cuál modelo podría ser más adecuado para realizar una detección y seguimiento al tratamiento en úlceras cutáneas. Dependiendo de la información que vaya surgiendo sobre los componentes de la piel, se podrían considerar más o menos número de capas para el modelo.

4.3. MODELO INVERSO POR MEDIO DE ALGORITMOS GENÉTICOS

El segundo objetivo específico consistió en la implementación de un método de optimización basado en algoritmos genéticos para la inversión del modelo directo. Este objetivo fue realizado al programar el algoritmo explicado en la figura 2.25 con los espacios de búsqueda propuestos (Sección 2.4.1). Por otro lado, ya que el modelo inverso busca encontrar los valores del modelo directo que simulen una firma espectral que coincida con una medida real, el no contar con información en la literatura de los rangos de las variables, puede evitar que el algoritmo genético converja correctamente, el tener los rangos de búsqueda con valores exactos a los reales, también podría mejorar el algoritmo para optimizar más firmas espectrales correctamente.

4.3.1. TRABAJOS FUTUROS Y PERSPECTIVAS

Al igual que algoritmos genéticos, existen otra variedad de algoritmos de optimización que podrían ser explorados como algoritmos base en un modelo inverso. En trabajos futuros se espera realizar un análisis detallado de algoritmos de optimización junto con diferentes funciones de costo, de esta forma se espera hallar un algoritmo que pueda ser más rápido y preciso en un modelo inverso.

4.4. EVALUACIÓN DEL MODELO INVERSO EN LA FORMACIÓN Y SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO

4.4.1. EN FIRMAS ESPECTRALES

En la sección 3.5.1 se demostró visualmente, que existe una variación en la forma de las firmas espectrales en tejido sano, borde, y centro, en el tiempo. Esto abre la puerta a la utilización de algoritmos de clasificación en las diferentes etapas presentes en cualquier enfermedad que provoque una úlcera cutánea. Esto en un futuro podría servir como diferenciación entre distintos tipos de úlceras.

En la sección 3.5.2, se demostró que por medio del test de ANOVA es posible notar que las firmas espectrales pueden diferenciar tanto tejidos similares en diferentes fechas (Sano-Sano, Borde-Borde y Centro-Centro en diferentes fechas), como tejidos diferentes en misma fecha (Sano-Borde, Sano-Centro y Borde-Centro misma fecha). Con estos últimos datos se realizaron análisis a lo largo del seguimiento al tratamiento durante cuatro fechas, pero fue solo con la última con la que se logró realizar una relación con datos histológicos, dejando como resultado la detección de algunas de las afecciones presentes en las histologías, sin embargo, varias de ellas no fueron detectadas, pero como se mencionará a continuación, los mapas de concentración mejoran esta situación.

4.4.2. EN MAPAS DE CONCENTRACIÓN

En la sección 3.6 se demostró en la última fecha (relacionada con datos histológicos) de los tres hámsteres, que el modelo inverso es apto para ser utilizado como método de seguimiento al tratamiento, esto debido a que logra detectar la mayoría de afecciones presentes en la histología. La variable D_macro mostró una imagen ruidosa en los tres hámsteres en todas las fechas, y no fue detectada en ninguno de los tres hámsteres última fecha, esto puede deberse a que el diámetro de fibroblastos y el de macrófagos se encuentran en un rango muy cercano, por lo que el modelo podría estar variando únicamente el diámetro de fibroblastos (variable que detectó exitosamente fibrosis en el tejido), tanto para encontrar fibrosis como presencia de macrófagos, teniendo éxito en la primera y fallando en la última.

4.4.3. TRABAJOS FUTUROS Y PERSPECTIVAS

Como trabajos futuros dentro del proyecto Colciencias se espera utilizar este método de seguimiento al tratamiento no solo en hámsteres sino en humanos y en otro tipo de úlceras, para una posible caracterización o clasificación de las mismas.



APÉNDICE: TEST DE ANOVA EN PARÁMETROS BIOLÓGICOS

A.0.1. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G1C2H1

TEST DE ANOVA EN z_1

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.2952	0.0944	0.7123	0.9929	0.2611	0.0090	0.0448	0.9071
S55	0.2952	1.0000	0.4355	0.5496	0.1941	0.0279	0.0006	0.0021	0.2275
S111	0.0944	0.4355	1.0000	0.2210	0.0412	0.0066	0.0002	0.0004	0.0680
S154	0.7123	0.5496	0.2210	1.0000	0.6476	0.1574	0.0069	0.0257	0.6276
B55	0.9929	0.1941	0.0412	0.6476	1.0000	0.1809	0.0025	0.0170	0.8925
B111	0.2611	0.0279	0.0066	0.1574	0.1809	1.0000	0.0739	0.3563	0.3091
C55	0.0090	0.0006	0.0002	0.0069	0.0025	0.0739	1.0000	0.2784	0.0130
C111	0.0448	0.0021	0.0004	0.0257	0.0170	0.3563	0.2784	1.0000	0.0553
C154	0.9071	0.2275	0.0680	0.6276	0.8925	0.3091	0.0130	0.0553	1.0000

Tabla A.1: Test de Anova en hámster G1C2H1, z_1

TEST DE ANOVA EN z_2

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0684	0.0094	0.0338	0.0398	0.9156	0.3839	0.9049	0.0012
S55	0.0684	1.0000	0.2601	0.4052	0.7731	0.0499	0.0182	0.0658	0.0274
S111	0.0094	0.2601	1.0000	0.9527	0.4052	0.0049	0.0032	0.0076	0.2614
S154	0.0338	0.4052	0.9527	1.0000	0.5398	0.0246	0.0130	0.0316	0.3541
B55	0.0398	0.7731	0.4052	0.5398	1.0000	0.0293	0.0095	0.0387	0.0589
B111	0.9156	0.0499	0.0049	0.0246	0.0293	1.0000	0.3051	0.9839	0.0004
C55	0.3839	0.0182	0.0032	0.0130	0.0095	0.3051	1.0000	0.3132	0.0008
C111	0.9049	0.0658	0.0076	0.0316	0.0387	0.9839	0.3132	1.0000	0.0007
C154	0.0012	0.0274	0.2614	0.3541	0.0589	0.0004	0.0008	0.0007	1.0000

Tabla A.2: Test de Anova en hámster G1C2H1, z_2

TEST DE ANOVA EN *D_kea*

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.6563	0.3361	0.7460	0.7897	0.4096	0.4515	0.1225	0.0197
S55	0.6563	1.0000	0.5570	0.9209	0.4421	0.6735	0.7135	0.2304	0.0327
S111	0.3361	0.5570	1.0000	0.5225	0.1908	0.8542	0.8380	0.6098	0.1670
S154	0.7460	0.9209	0.5225	1.0000	0.5359	0.6234	0.6637	0.2190	0.0334
B55	0.7897	0.4421	0.1908	0.5359	1.0000	0.2410	0.2794	0.0503	0.0053
B111	0.4096	0.6735	0.8542	0.6234	0.2410	1.0000	0.9747	0.4577	0.0941
C55	0.4515	0.7135	0.8380	0.6637	0.2794	0.9747	1.0000	0.4615	0.1065
C111	0.1225	0.2304	0.6098	0.2190	0.0503	0.4577	0.4615	1.0000	0.2871
C154	0.0197	0.0327	0.1670	0.0334	0.0053	0.0941	0.1065	0.2871	1.0000

Tabla A.3: Test de Anova en hámster G1C2H1, *D_kea*TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.4388	0.2748	0.8408	0.4362	0.6845	0.0316	0.5456	0.3252
S55	0.4388	1.0000	0.0166	0.2326	0.9961	0.2079	0.0221	0.9571	0.6108
S111	0.2748	0.0166	1.0000	0.0709	0.0189	0.5310	0.0005	0.0657	0.0120
S154	0.8408	0.2326	0.0709	1.0000	0.3391	0.4847	0.0028	0.5519	0.0799
B55	0.4362	0.9961	0.0189	0.3391	1.0000	0.2027	0.0278	0.9603	0.6524
B111	0.6845	0.2079	0.5310	0.4847	0.2027	1.0000	0.0128	0.3074	0.1571
C55	0.0316	0.0221	0.0005	0.0028	0.0278	0.0128	1.0000	0.0799	0.0689
C111	0.5456	0.9571	0.0657	0.5519	0.9603	0.3074	0.0799	1.0000	0.7137
C154	0.3252	0.6108	0.0120	0.0799	0.6524	0.1571	0.0689	0.7137	1.0000

Tabla A.4: Test de Anova en hámster G1C2H1, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.8238	0.1520	0.1187	0.0135	0.0397	0.0023	0.0041	0.2662
S55	0.8238	1.0000	0.1805	0.1351	0.0147	0.0447	0.0020	0.0042	0.3118
S111	0.1520	0.1805	1.0000	0.8126	0.3443	0.4875	0.0862	0.0868	0.8386
S154	0.1187	0.1351	0.8126	1.0000	0.5375	0.6808	0.1725	0.1676	0.6863
B55	0.0135	0.0147	0.3443	0.5375	1.0000	0.8724	0.3282	0.2854	0.2777
B111	0.0397	0.0447	0.4875	0.6808	0.8724	1.0000	0.3144	0.2789	0.4064
C55	0.0023	0.0020	0.0862	0.1725	0.3282	0.3144	1.0000	0.8561	0.0780
C111	0.0041	0.0042	0.0868	0.1676	0.2854	0.2789	0.8561	1.0000	0.0825
C154	0.2662	0.3118	0.8386	0.6863	0.2777	0.4064	0.0780	0.0825	1.0000

Tabla A.5: Test de Anova en hámster G1C2H1, *Fvol_col*

TEST DE ANOVA EN D_{fibro}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.4126	0.3300	0.1448	0.1399	0.2594	0.9320	0.0003	0.4110
S55	0.4126	1.0000	0.8341	0.5007	0.5118	0.6711	0.3914	0.0044	0.9694
S111	0.3300	0.8341	1.0000	0.6722	0.6855	0.8257	0.3178	0.0152	0.8703
S154	0.1448	0.5007	0.6722	1.0000	0.9641	0.8686	0.1462	0.0261	0.5403
B55	0.1399	0.5118	0.6855	0.9641	1.0000	0.8905	0.1389	0.0262	0.5579
B111	0.2594	0.6711	0.8257	0.8686	0.8905	1.0000	0.2545	0.0478	0.7127
C55	0.9320	0.3914	0.3178	0.1462	0.1389	0.2545	1.0000	0.0005	0.3928
C111	0.0003	0.0044	0.0152	0.0261	0.0262	0.0478	0.0005	1.0000	0.0059
C154	0.4110	0.9694	0.8703	0.5403	0.5579	0.7127	0.3928	0.0059	1.0000

Tabla A.6: Test de Anova en hámster G1C2H1, D_{fibro} TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.8876	0.3905	0.9368	0.0809	0.1942	0.3070	0.8529	0.2756
S55	0.8876	1.0000	0.3282	0.8403	0.0658	0.1612	0.2607	0.9657	0.3569
S111	0.3905	0.3282	1.0000	0.5026	0.3414	0.6363	0.7958	0.3066	0.0506
S154	0.9368	0.8403	0.5026	1.0000	0.1440	0.2904	0.4100	0.8102	0.3042
B55	0.0809	0.0658	0.3414	0.1440	1.0000	0.6257	0.5448	0.0597	0.0060
B111	0.1942	0.1612	0.6363	0.2904	0.6257	1.0000	0.8681	0.1485	0.0181
C55	0.3070	0.2607	0.7958	0.4100	0.5448	0.8681	1.0000	0.2441	0.0469
C111	0.8529	0.9657	0.3066	0.8102	0.0597	0.1485	0.2441	1.0000	0.3796
C154	0.2756	0.3569	0.0506	0.3042	0.0060	0.0181	0.0469	0.3796	1.0000

Tabla A.7: Test de Anova en hámster G1C2H1, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.2535	0.3541	0.8485	0.9704	0.9245	0.7415	0.2938	0.2838
S55	0.2535	1.0000	0.9028	0.4090	0.2390	0.2483	0.1408	0.0197	0.0173
S111	0.3541	0.9028	1.0000	0.5159	0.3303	0.3371	0.2202	0.0469	0.0468
S154	0.8485	0.4090	0.5159	1.0000	0.8204	0.7915	0.6288	0.2517	0.2463
B55	0.9704	0.2390	0.3303	0.8204	1.0000	0.9508	0.7668	0.3107	0.3054
B111	0.9245	0.2483	0.3371	0.7915	0.9508	1.0000	0.8295	0.3811	0.3746
C55	0.7415	0.1408	0.2202	0.6288	0.7668	0.8295	1.0000	0.4944	0.4745
C111	0.2938	0.0197	0.0469	0.2517	0.3107	0.3811	0.4944	1.0000	0.9635
C154	0.2838	0.0173	0.0468	0.2463	0.3054	0.3746	0.4745	0.9635	1.0000

Tabla A.8: Test de Anova en hámster G1C2H1, f_{mel}

TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0346	0.0057	0.0552	0.0377	0.0930	0.0277	0.0004	0.0371
S55	0.0346	1.0000	0.3603	0.7990	0.8324	0.6596	0.7522	0.0749	0.9419
S111	0.0057	0.3603	1.0000	0.6105	0.2386	0.1922	0.5852	0.4134	0.3337
S154	0.0552	0.7990	0.6105	1.0000	0.6567	0.5456	0.9822	0.2229	0.7600
B55	0.0377	0.8324	0.2386	0.6567	1.0000	0.7900	0.5944	0.0355	0.8938
B111	0.0930	0.6596	0.1922	0.5456	0.7900	1.0000	0.4772	0.0316	0.7119
C55	0.0277	0.7522	0.5852	0.9822	0.5944	0.4772	1.0000	0.1790	0.7055
C111	0.0004	0.0749	0.4134	0.2229	0.0355	0.0316	0.1790	1.0000	0.0676
C154	0.0371	0.9419	0.3337	0.7600	0.8938	0.7119	0.7055	0.0676	1.0000

Tabla A.9: Test de Anova en hámster G1C2H1, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.4717	0.6043	0.7952	0.1588	0.0639	0.0089	0.1542	0.1418
S55	0.4717	1.0000	0.1484	0.6997	0.3861	0.1256	0.0073	0.3205	0.0033
S111	0.6043	0.1484	1.0000	0.4347	0.0291	0.0088	0.0005	0.0408	0.2676
S154	0.7952	0.6997	0.4347	1.0000	0.2943	0.1307	0.0219	0.2690	0.0814
B55	0.1588	0.3861	0.0291	0.2943	1.0000	0.4600	0.0606	0.7410	0.0004
B111	0.0639	0.1256	0.0088	0.1307	0.4600	1.0000	0.2791	0.7846	0.0001
C55	0.0089	0.0073	0.0005	0.0219	0.0606	0.2791	1.0000	0.2606	0.0000
C111	0.1542	0.3205	0.0408	0.2690	0.7410	0.7846	0.2606	1.0000	0.0026
C154	0.1418	0.0033	0.2676	0.0814	0.0004	0.0001	0.0000	0.0026	1.0000

Tabla A.10: Test de Anova en hámster G1C2H1, SO_2

A.0.2. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G1C2H3

TEST DE ANOVA EN z_1

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0748	0.1639	0.7115	0.0097	0.0143	0.0002	0.0002	0.0593
S55	0.0748	1.0000	0.8502	0.0297	0.1638	0.4083	0.0079	0.0116	0.7114
S111	0.1639	0.8502	1.0000	0.0889	0.1507	0.3587	0.0095	0.0160	0.6204
S154	0.7115	0.0297	0.0889	1.0000	0.0054	0.0051	0.0001	0.0001	0.0271
B55	0.0097	0.1638	0.1507	0.0054	1.0000	0.4585	0.2703	0.4128	0.3381
B111	0.0143	0.4083	0.3587	0.0051	0.4585	1.0000	0.0426	0.0680	0.7141
C55	0.0002	0.0079	0.0095	0.0001	0.2703	0.0426	1.0000	0.7328	0.0350
C111	0.0002	0.0116	0.0160	0.0001	0.4128	0.0680	0.7328	1.0000	0.0522
C154	0.0593	0.7114	0.6204	0.0271	0.3381	0.7141	0.0350	0.0522	1.0000

Tabla A.11: Test de Anova en hámster G1C2H3, z_1

TEST DE ANOVA EN z_2

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.9379	0.4840	0.0420	0.7338	0.0936	0.2930	0.0574	0.1322
S55	0.9379	1.0000	0.4182	0.0381	0.6745	0.0687	0.2412	0.0399	0.1299
S111	0.4840	0.4182	1.0000	0.0116	0.8028	0.2858	0.6894	0.1965	0.0396
S154	0.0420	0.0381	0.0116	1.0000	0.0478	0.0019	0.0072	0.0012	0.5304
B55	0.7338	0.6745	0.8028	0.0478	1.0000	0.2450	0.5584	0.1848	0.1254
B111	0.0936	0.0687	0.2858	0.0019	0.2450	1.0000	0.5128	0.8223	0.0061
C55	0.2930	0.2412	0.6894	0.0072	0.5584	0.5128	1.0000	0.3843	0.0234
C111	0.0574	0.0399	0.1965	0.0012	0.1848	0.8223	0.3843	1.0000	0.0037
C154	0.1322	0.1299	0.0396	0.5304	0.1254	0.0061	0.0234	0.0037	1.0000

Tabla A.12: Test de Anova en hámster G1C2H3, z_2 TEST DE ANOVA EN D_{kera}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.7303	0.2860	0.5714	0.7545	0.8647	0.7202	0.9422	0.5759
S55	0.7303	1.0000	0.1511	0.3545	0.9569	0.8578	0.9853	0.7717	0.3594
S111	0.2860	0.1511	1.0000	0.5776	0.1369	0.2080	0.1523	0.2103	0.5840
S154	0.5714	0.3545	0.5776	1.0000	0.3440	0.4538	0.3532	0.4772	1.0000
B55	0.7545	0.9569	0.1369	0.3440	1.0000	0.8925	0.9421	0.7983	0.3498
B111	0.8647	0.8578	0.2080	0.4538	0.8925	1.0000	0.8452	0.9152	0.4586
C55	0.7202	0.9853	0.1523	0.3532	0.9421	0.8452	1.0000	0.7610	0.3580
C111	0.9422	0.7717	0.2103	0.4772	0.7983	0.9152	0.7610	1.0000	0.4842
C154	0.5759	0.3594	0.5840	1.0000	0.3498	0.4586	0.3580	0.4842	1.0000

Tabla A.13: Test de Anova en hámster G1C2H3, D_{kera} TEST DE ANOVA EN D_{col}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0015	0.0014	0.3927	0.1639	0.0639	0.8365	0.1438	0.3664
S55	0.0015	1.0000	0.2932	0.0237	0.1926	0.3977	0.0287	0.5756	0.0025
S111	0.0014	0.2932	1.0000	0.0677	0.5458	0.9408	0.0823	0.9585	0.0047
S154	0.3927	0.0237	0.0677	1.0000	0.4666	0.2443	0.5619	0.3330	0.2057
B55	0.1639	0.1926	0.5458	0.4666	1.0000	0.6764	0.2700	0.6732	0.0937
B111	0.0639	0.3977	0.9408	0.2443	0.6764	1.0000	0.1511	0.9276	0.0418
C55	0.8365	0.0287	0.0823	0.5619	0.2700	0.1511	1.0000	0.2088	0.7566
C111	0.1438	0.5756	0.9585	0.3330	0.6732	0.9276	0.2088	1.0000	0.0970
C154	0.3664	0.0025	0.0047	0.2057	0.0937	0.0418	0.7566	0.0970	1.0000

Tabla A.14: Test de Anova en hámster G1C2H3, D_{col}

TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.2290	0.6645	0.1550	0.0274	0.0376	0.0013	0.0103	0.5769
S55	0.2290	1.0000	0.3771	0.7536	0.3233	0.3079	0.0288	0.1078	0.5632
S111	0.6645	0.3771	1.0000	0.2478	0.0487	0.0614	0.0020	0.0150	0.8382
S154	0.1550	0.7536	0.2478	1.0000	0.5537	0.5121	0.0798	0.2193	0.4086
B55	0.0274	0.3233	0.0487	0.5537	1.0000	0.8808	0.1638	0.3969	0.1294
B111	0.0376	0.3079	0.0614	0.5121	0.8808	1.0000	0.2722	0.5289	0.1413
C55	0.0013	0.0288	0.0020	0.0798	0.1638	0.2722	1.0000	0.7034	0.0106
C111	0.0103	0.1078	0.0150	0.2193	0.3969	0.5289	0.7034	1.0000	0.0484
C154	0.5769	0.5632	0.8382	0.4086	0.1294	0.1413	0.0106	0.0484	1.0000

Tabla A.15: Test de Anova en hámster G1C2H3, *Fvol_col*TEST DE ANOVA EN *D_fibro*

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.8447	0.3757	0.9049	0.3045	0.5556	0.3805	0.3157	0.4769
S55	0.8447	1.0000	0.6486	0.7784	0.2871	0.4843	0.5443	0.4953	0.4307
S111	0.3757	0.6486	1.0000	0.3540	0.0367	0.1399	0.7353	0.6305	0.1229
S154	0.9049	0.7784	0.3540	1.0000	0.4161	0.6701	0.3646	0.3101	0.5834
B55	0.3045	0.2871	0.0367	0.4161	1.0000	0.7100	0.0814	0.0596	0.8776
B111	0.5556	0.4843	0.1399	0.6701	0.7100	1.0000	0.1768	0.1452	0.8638
C55	0.3805	0.5443	0.7353	0.3646	0.0814	0.1768	1.0000	0.9396	0.1685
C111	0.3157	0.4953	0.6305	0.3101	0.0596	0.1452	0.9396	1.0000	0.1408
C154	0.4769	0.4307	0.1229	0.5834	0.8776	0.8638	0.1685	0.1408	1.0000

Tabla A.16: Test de Anova en hámster G1C2H3, *D_fibro*TEST DE ANOVA EN *D_macro*

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.2370	0.1273	0.9858	0.9398	0.4159	0.7140	0.9754	0.5604
S55	0.2370	1.0000	0.6542	0.2210	0.1659	0.7230	0.2643	0.1827	0.5164
S111	0.1273	0.6542	1.0000	0.1133	0.0789	0.4501	0.1151	0.0842	0.2903
S154	0.9858	0.2210	0.1133	1.0000	0.9221	0.4097	0.7129	0.9900	0.5514
B55	0.9398	0.1659	0.0789	0.9221	1.0000	0.3320	0.6164	0.9055	0.4685
B111	0.4159	0.7230	0.4501	0.4097	0.3320	1.0000	0.5296	0.3789	0.7969
C55	0.7140	0.2643	0.1151	0.7129	0.6164	0.5296	1.0000	0.6921	0.7254
C111	0.9754	0.1827	0.0842	0.9900	0.9055	0.3789	0.6921	1.0000	0.5182
C154	0.5604	0.5164	0.2903	0.5514	0.4685	0.7969	0.7254	0.5182	1.0000

Tabla A.17: Test de Anova en hámster G1C2H3, *D_macro*

TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.9202	0.2942	0.5084	0.3336	0.2700	0.1044	0.2528	0.0844
S55	0.9202	1.0000	0.1811	0.3622	0.2290	0.1714	0.0555	0.1638	0.0340
S111	0.2942	0.1811	1.0000	0.6310	0.9764	0.8741	0.3766	0.7283	0.3401
S154	0.5084	0.3622	0.6310	1.0000	0.6645	0.5605	0.2202	0.4789	0.1522
B55	0.3336	0.2290	0.9764	0.6645	1.0000	0.9096	0.4362	0.7739	0.4286
B111	0.2700	0.1714	0.8741	0.5605	0.9096	1.0000	0.4861	0.8462	0.4783
C55	0.1044	0.0555	0.3766	0.2202	0.4362	0.4861	1.0000	0.6605	0.9428
C111	0.2528	0.1638	0.7283	0.4789	0.7739	0.8462	0.6605	1.0000	0.6744
C154	0.0844	0.0340	0.3401	0.1522	0.4286	0.4783	0.9428	0.6744	1.0000

Tabla A.18: Test de Anova en hámster G1C2H3, f_{mel} TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.8242	0.8791	0.5682	0.1948	0.7193	0.5714	0.3975	0.7128
S55	0.8242	1.0000	0.9266	0.4232	0.2771	0.9172	0.7339	0.5248	0.5647
S111	0.8791	0.9266	1.0000	0.4183	0.2028	0.8229	0.6405	0.4302	0.5850
S154	0.5682	0.4232	0.4183	1.0000	0.0537	0.2788	0.2339	0.1430	0.8984
B55	0.1948	0.2771	0.2028	0.0537	1.0000	0.2587	0.4351	0.6803	0.1172
B111	0.7193	0.9172	0.8229	0.2788	0.2587	1.0000	0.7789	0.5275	0.4509
C55	0.5714	0.7339	0.6405	0.2339	0.4351	0.7789	1.0000	0.7423	0.3663
C111	0.3975	0.5248	0.4302	0.1430	0.6803	0.5275	0.7423	1.0000	0.2559
C154	0.7128	0.5647	0.5850	0.8984	0.1172	0.4509	0.3663	0.2559	1.0000

Tabla A.19: Test de Anova en hámster G1C2H3, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S30	S55	S111	S154	B55	B111	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.5867	0.3081	0.3143	0.4730	0.7803	0.0078	0.9826	0.3315
S55	0.5867	1.0000	0.5830	0.1176	0.1802	0.7394	0.0009	0.6001	0.1094
S111	0.3081	0.5830	1.0000	0.0546	0.0753	0.3717	0.0004	0.3344	0.0475
S154	0.3143	0.1176	0.0546	1.0000	0.6740	0.1558	0.1220	0.3643	0.8634
B55	0.4730	0.1802	0.0753	0.6740	1.0000	0.2561	0.0257	0.5242	0.7718
B111	0.7803	0.7394	0.3717	0.1558	0.2561	1.0000	0.0008	0.7789	0.1443
C55	0.0078	0.0009	0.0004	0.1220	0.0257	0.0008	1.0000	0.0151	0.0401
C111	0.9826	0.6001	0.3344	0.3643	0.5242	0.7789	0.0151	1.0000	0.3874
C154	0.3315	0.1094	0.0475	0.8634	0.7718	0.1443	0.0401	0.3874	1.0000

Tabla A.20: Test de Anova en hámster G1C2H3, SO_2

A.0.3. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G1C3H1

TEST DE ANOVA EN z_1

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.1115	0.0019	0.2747	0.0041	0.0000	0.0013	0.1480
S55	0.1115	1.0000	0.0875	0.5406	0.0877	0.0000	0.0333	0.9891
S111	0.0019	0.0875	1.0000	0.0146	0.8670	0.0002	0.4794	0.1105
S154	0.2747	0.5406	0.0146	1.0000	0.0421	0.0000	0.0097	0.5661
B55	0.0041	0.0877	0.8670	0.0421	1.0000	0.0008	0.6374	0.1355
C55	0.0000	0.0000	0.0002	0.0000	0.0008	1.0000	0.0056	0.0000
C111	0.0013	0.0333	0.4794	0.0097	0.6374	0.0056	1.0000	0.0542
C154	0.1480	0.9891	0.1105	0.5661	0.1355	0.0000	0.0542	1.0000

Tabla A.21: Test de Anova en hámster G1C3H1, z_1 TEST DE ANOVA EN z_2

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.9376	0.0010	0.3098	0.0347	0.0002	0.0082	0.8057
S55	0.9376	1.0000	0.0006	0.2607	0.0222	0.0001	0.0049	0.7414
S111	0.0010	0.0006	1.0000	0.0023	0.2586	0.3928	0.9500	0.0022
S154	0.3098	0.2607	0.0023	1.0000	0.1989	0.0015	0.0339	0.4479
B55	0.0347	0.0222	0.2586	0.1989	1.0000	0.0617	0.3713	0.0778
C55	0.0002	0.0001	0.3928	0.0015	0.0617	1.0000	0.4579	0.0008
C111	0.0082	0.0049	0.9500	0.0339	0.3713	0.4579	1.0000	0.0187
C154	0.8057	0.7414	0.0022	0.4479	0.0778	0.0008	0.0187	1.0000

Tabla A.22: Test de Anova en hámster G1C3H1, z_2 TEST DE ANOVA EN D_{kera}

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.5279	0.6363	0.5288	0.5068	0.1285	0.9943	0.4475
S55	0.5279	1.0000	0.9189	0.2278	0.9873	0.0259	0.5342	0.9202
S111	0.6363	0.9189	1.0000	0.3122	0.9241	0.0508	0.6356	0.8415
S154	0.5288	0.2278	0.3122	1.0000	0.1987	0.5035	0.5306	0.1624
B55	0.5068	0.9873	0.9241	0.1987	1.0000	0.0175	0.5120	0.9010
C55	0.1285	0.0259	0.0508	0.5035	0.0175	1.0000	0.1162	0.0077
C111	0.9943	0.5342	0.6356	0.5306	0.5120	0.1162	1.0000	0.4151
C154	0.4475	0.9202	0.8415	0.1624	0.9010	0.0077	0.4151	1.0000

Tabla A.23: Test de Anova en hámster G1C3H1, D_{kera}

TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.1518	0.0833	0.0322	0.4241	0.4701	0.3635	0.4442
S55	0.1518	1.0000	0.7492	0.9501	0.0718	0.1303	0.8642	0.6737
S111	0.0833	0.7492	1.0000	0.7824	0.0541	0.1205	0.6874	0.5153
S154	0.0322	0.9501	0.7824	1.0000	0.0588	0.1540	0.8263	0.6177
B55	0.4241	0.0718	0.0541	0.0588	1.0000	0.8182	0.2074	0.2578
C55	0.4701	0.1303	0.1205	0.1540	0.8182	1.0000	0.2779	0.3320
C111	0.3635	0.8642	0.6874	0.8263	0.2074	0.2779	1.0000	0.8536
C154	0.4442	0.6737	0.5153	0.6177	0.2578	0.3320	0.8536	1.0000

Tabla A.24: Test de Anova en hámster G1C3H1, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.5258	0.0016	0.4462	0.1056	0.0000	0.0184	0.8652
S55	0.5258	1.0000	0.0004	0.2116	0.0305	0.0000	0.0055	0.4935
S111	0.0016	0.0004	1.0000	0.0416	0.1004	0.0466	0.4873	0.0118
S154	0.4462	0.2116	0.0416	1.0000	0.5005	0.0000	0.1776	0.6239
B55	0.1056	0.0305	0.1004	0.5005	1.0000	0.0001	0.3899	0.2231
C55	0.0000	0.0000	0.0466	0.0000	0.0001	1.0000	0.0050	0.0000
C111	0.0184	0.0055	0.4873	0.1776	0.3899	0.0050	1.0000	0.0670
C154	0.8652	0.4935	0.0118	0.6239	0.2231	0.0000	0.0670	1.0000

Tabla A.25: Test de Anova en hámster G1C3H1, *Fvol_col*TEST DE ANOVA EN *D_fibro*

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.1041	0.0236	0.6979	0.5346	0.0037	0.0052	0.5769
S55	0.1041	1.0000	0.1706	0.2453	0.3923	0.0485	0.0251	0.2763
S111	0.0236	0.1706	1.0000	0.0578	0.0924	0.8308	0.6339	0.0545
S154	0.6979	0.2453	0.0578	1.0000	0.8378	0.0117	0.0108	0.8823
B55	0.5346	0.3923	0.0924	0.8378	1.0000	0.0280	0.0345	0.9419
C55	0.0037	0.0485	0.8308	0.0117	0.0280	1.0000	0.7167	0.0094
C111	0.0052	0.0251	0.6339	0.0108	0.0345	0.7167	1.0000	0.0062
C154	0.5769	0.2763	0.0545	0.8823	0.9419	0.0094	0.0062	1.0000

Tabla A.26: Test de Anova en hámster G1C3H1, *D_fibro*

TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.7265	0.3302	0.2799	0.2991	0.3110	0.7686	0.9211
S55	0.7265	1.0000	0.5184	0.1913	0.4991	0.5544	0.5609	0.6941
S111	0.3302	0.5184	1.0000	0.0794	0.9472	0.8471	0.2762	0.3609
S154	0.2799	0.1913	0.0794	1.0000	0.0555	0.0399	0.5025	0.4103
B55	0.2991	0.4991	0.9472	0.0555	1.0000	0.8899	0.2369	0.3237
C55	0.3110	0.5544	0.8471	0.0399	0.8899	1.0000	0.2329	0.3324
C111	0.7686	0.5609	0.2762	0.5025	0.2369	0.2329	1.0000	0.8700
C154	0.9211	0.6941	0.3609	0.4103	0.3237	0.3324	0.8700	1.0000

Tabla A.27: Test de Anova en hámster G1C3H1, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.6733	0.6882	0.9428	0.1871	0.2812	0.6288	0.6984
S55	0.6733	1.0000	0.4457	0.6651	0.3948	0.1559	0.4148	0.9958
S111	0.6882	0.4457	1.0000	0.7810	0.1028	0.5157	0.9190	0.4717
S154	0.9428	0.6651	0.7810	1.0000	0.2224	0.3868	0.7244	0.6909
B55	0.1871	0.3948	0.1028	0.2224	1.0000	0.0176	0.0996	0.4412
C55	0.2812	0.1559	0.5157	0.3868	0.0176	1.0000	0.6068	0.1854
C111	0.6288	0.4148	0.9190	0.7244	0.0996	0.6068	1.0000	0.4408
C154	0.6984	0.9958	0.4717	0.6909	0.4412	0.1854	0.4408	1.0000

Tabla A.28: Test de Anova en hámster G1C3H1, f_{mel} TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.6888	0.2674	0.0725	0.3204	0.0678	0.8113	0.2314
S55	0.6888	1.0000	0.4682	0.1641	0.1608	0.0250	0.9040	0.3987
S111	0.2674	0.4682	1.0000	0.4754	0.0519	0.0049	0.4354	0.8639
S154	0.0725	0.1641	0.4754	1.0000	0.0131	0.0006	0.1531	0.6381
B55	0.3204	0.1608	0.0519	0.0131	1.0000	0.4485	0.2668	0.0486
C55	0.0678	0.0250	0.0049	0.0006	0.4485	1.0000	0.0598	0.0053
C111	0.8113	0.9040	0.4354	0.1531	0.2668	0.0598	1.0000	0.3815
C154	0.2314	0.3987	0.8639	0.6381	0.0486	0.0053	0.3815	1.0000

Tabla A.29: Test de Anova en hámster G1C3H1, f_{blood}

TEST DE ANOVA EN SO_2

	S30	S55	S111	S154	B55	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.1142	0.1958	0.8462	0.2697	0.0001	0.8319	0.8614
S55	0.1142	1.0000	0.8595	0.1384	0.7734	0.0000	0.2589	0.1454
S111	0.1958	0.8595	1.0000	0.2221	0.7260	0.0048	0.3486	0.2550
S154	0.8462	0.1384	0.2221	1.0000	0.2652	0.0007	0.7329	0.7447
B55	0.2697	0.7734	0.7260	0.2652	1.0000	0.0011	0.4584	0.3723
C55	0.0001	0.0000	0.0048	0.0007	0.0011	1.0000	0.0008	0.0001
C111	0.8319	0.2589	0.3486	0.7329	0.4584	0.0008	1.0000	0.9557
C154	0.8614	0.1454	0.2550	0.7447	0.3723	0.0001	0.9557	1.0000

Tabla A.30: Test de Anova en hámster G1C3H1, SO_2

A.0.4. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G1C3H3

TEST DE ANOVA EN z_1

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0009	0.6428	0.0464	0.1668	0.3151	0.0022	0.0000	0.0651	0.3862
S55	0.0009	1.0000	0.0059	0.0000	0.0001	0.0137	0.5882	0.1962	0.1242	0.0005
S111	0.6428	0.0059	1.0000	0.0270	0.0934	0.6304	0.0133	0.0001	0.1902	0.2313
S154	0.0464	0.0000	0.0270	1.0000	0.5164	0.0061	0.0000	0.0000	0.0011	0.2767
B30	0.1668	0.0001	0.0934	0.5164	1.0000	0.0269	0.0001	0.0000	0.0049	0.6420
B55	0.3151	0.0137	0.6304	0.0061	0.0269	1.0000	0.0315	0.0002	0.3558	0.0870
C30	0.0022	0.5882	0.0133	0.0000	0.0001	0.0315	1.0000	0.0566	0.2504	0.0008
C55	0.0000	0.1962	0.0001	0.0000	0.0000	0.0002	0.0566	1.0000	0.0058	0.0000
C111	0.0651	0.1242	0.1902	0.0011	0.0049	0.3558	0.2504	0.0058	1.0000	0.0190
C154	0.3862	0.0005	0.2313	0.2767	0.6420	0.0870	0.0008	0.0000	0.0190	1.0000

Tabla A.31: Test de Anova en hámster G1C3H3, z_1 TEST DE ANOVA EN z_2

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.4488	0.8954	0.0012	0.0110	0.7967	0.8626	0.1363	0.9980	0.0309
S55	0.4488	1.0000	0.4308	0.0010	0.0061	0.3745	0.5953	0.5494	0.5265	0.0175
S111	0.8954	0.4308	1.0000	0.0052	0.0318	0.9096	0.7870	0.1489	0.9106	0.0718
S154	0.0012	0.0010	0.0052	1.0000	0.3524	0.0076	0.0026	0.0001	0.0058	0.2519
B30	0.0110	0.0061	0.0318	0.3524	1.0000	0.0438	0.0167	0.0006	0.0313	0.7796
B55	0.7967	0.3745	0.9096	0.0076	0.0438	1.0000	0.7035	0.1236	0.8274	0.0939
C30	0.8626	0.5953	0.7870	0.0026	0.0167	0.7035	1.0000	0.2390	0.8864	0.0416
C55	0.1363	0.5494	0.1489	0.0001	0.0006	0.1236	0.2390	1.0000	0.2109	0.0022
C111	0.9980	0.5265	0.9106	0.0058	0.0313	0.8274	0.8864	0.2109	1.0000	0.0687
C154	0.0309	0.0175	0.0718	0.2519	0.7796	0.0939	0.0416	0.0022	0.0687	1.0000

Tabla A.32: Test de Anova en hámster G1C3H3, z_2

TEST DE ANOVA EN *D_kea*

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.2826	0.5492	0.7447	0.8021	0.4592	0.1392	0.3269	0.8149	0.9721
S55	0.2826	1.0000	0.6172	0.1717	0.2017	0.0698	0.0128	0.0455	0.4667	0.3383
S111	0.5492	0.6172	1.0000	0.3528	0.4020	0.1596	0.0291	0.1090	0.7648	0.5976
S154	0.7447	0.1717	0.3528	1.0000	0.9454	0.6833	0.2281	0.5079	0.5995	0.7307
B30	0.8021	0.2017	0.4020	0.9454	1.0000	0.6397	0.2188	0.4759	0.6513	0.7868
B55	0.4592	0.0698	0.1596	0.6833	0.6397	1.0000	0.3463	0.7539	0.3562	0.4463
C30	0.1392	0.0128	0.0291	0.2281	0.2188	0.3463	1.0000	0.6184	0.1077	0.1280
C55	0.3269	0.0455	0.1090	0.5079	0.4759	0.7539	0.6184	1.0000	0.2632	0.3305
C111	0.8149	0.4667	0.7648	0.5995	0.6513	0.3562	0.1077	0.2632	1.0000	0.8512
C154	0.9721	0.3383	0.5976	0.7307	0.7868	0.4463	0.1280	0.3305	0.8512	1.0000

Tabla A.33: Test de Anova en hámster G1C3H3, *D_kea*TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.4064	0.1384	0.6313	0.7955	0.5132	0.6054	0.1268	0.6458	0.5507
S55	0.4064	1.0000	0.6521	0.7354	0.5062	0.7862	0.2321	0.0410	0.9392	0.9769
S111	0.1384	0.6521	1.0000	0.3837	0.1421	0.3691	0.0700	0.0088	0.7219	0.7189
S154	0.6313	0.7354	0.3837	1.0000	0.7724	0.9149	0.3700	0.0752	0.8856	0.8213
B30	0.7955	0.5062	0.1421	0.7724	1.0000	0.6320	0.4337	0.0751	0.7481	0.6531
B55	0.5132	0.7862	0.3691	0.9149	0.6320	1.0000	0.2735	0.0444	0.9297	0.8667
C30	0.6054	0.2321	0.0700	0.3700	0.4337	0.2735	1.0000	0.3391	0.4721	0.3764
C55	0.1268	0.0410	0.0088	0.0752	0.0751	0.0444	0.3391	1.0000	0.1754	0.1140
C111	0.6458	0.9392	0.7219	0.8856	0.7481	0.9297	0.4721	0.1754	1.0000	0.9673
C154	0.5507	0.9769	0.7189	0.8213	0.6531	0.8667	0.3764	0.1140	0.9673	1.0000

Tabla A.34: Test de Anova en hámster G1C3H3, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0074	0.0059	0.2734	0.0602	0.2668	0.0029	0.0000	0.0770	0.3501
S55	0.0074	1.0000	0.9425	0.1739	0.5250	0.1409	0.4016	0.0282	0.7020	0.1260
S111	0.0059	0.9425	1.0000	0.1554	0.4822	0.1226	0.4355	0.0301	0.6623	0.1082
S154	0.2734	0.1739	0.1554	1.0000	0.4871	0.9702	0.0633	0.0020	0.4596	0.8824
B30	0.0602	0.5250	0.4822	0.4871	1.0000	0.4431	0.1985	0.0110	0.8833	0.3991
B55	0.2668	0.1409	0.1226	0.9702	0.4431	1.0000	0.0496	0.0010	0.4214	0.9053
C30	0.0029	0.4016	0.4355	0.0633	0.1985	0.0496	1.0000	0.3252	0.3261	0.0510
C55	0.0000	0.0282	0.0301	0.0020	0.0110	0.0010	0.3252	1.0000	0.0417	0.0011
C111	0.0770	0.7020	0.6623	0.4596	0.8833	0.4214	0.3261	0.0417	1.0000	0.3919
C154	0.3501	0.1260	0.1082	0.8824	0.3991	0.9053	0.0510	0.0011	0.3919	1.0000

Tabla A.35: Test de Anova en hámster G1C3H3, *Fvol_col*

TEST DE ANOVA EN D_{fibro}

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.7959	0.7296	0.2858	0.4223	0.7338	0.6534	0.0819	0.9770	0.3932
S55	0.7959	1.0000	0.9264	0.1844	0.2599	0.5647	0.5056	0.1222	0.8006	0.2536
S111	0.7296	0.9264	1.0000	0.1620	0.2167	0.5167	0.4667	0.1445	0.7430	0.2170
S154	0.2858	0.1844	0.1620	1.0000	0.6703	0.5207	0.6347	0.0076	0.3722	0.8093
B30	0.4223	0.2599	0.2167	0.6703	1.0000	0.7298	0.8610	0.0052	0.5057	0.8650
B55	0.7338	0.5647	0.5167	0.5207	0.7298	1.0000	0.9052	0.0592	0.7903	0.6645
C30	0.6534	0.5056	0.4667	0.6347	0.8610	0.9052	1.0000	0.0619	0.7188	0.7853
C55	0.0819	0.1222	0.1445	0.0076	0.0052	0.0592	0.0619	1.0000	0.1233	0.0090
C111	0.9770	0.8006	0.7430	0.3722	0.5057	0.7903	0.7188	0.1233	1.0000	0.4769
C154	0.3932	0.2536	0.2170	0.8093	0.8650	0.6645	0.7853	0.0090	0.4769	1.0000

Tabla A.36: Test de Anova en hámster G1C3H3, D_{fibro} TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.1937	0.6149	0.8757	0.5336	0.2966	0.1679	0.8354	0.7182	0.8897
S55	0.1937	1.0000	0.4555	0.2504	0.5118	0.8477	0.9769	0.2853	0.0868	0.2568
S111	0.6149	0.4555	1.0000	0.7216	0.9175	0.6001	0.4204	0.7686	0.3782	0.7177
S154	0.8757	0.2504	0.7216	1.0000	0.6349	0.3690	0.2146	0.9558	0.5767	0.9885
B30	0.5336	0.5118	0.9175	0.6349	1.0000	0.6642	0.4745	0.6839	0.3036	0.6316
B55	0.2966	0.8477	0.6001	0.3690	0.6642	1.0000	0.8205	0.4083	0.1550	0.3752
C30	0.1679	0.9769	0.4204	0.2146	0.4745	0.8205	1.0000	0.2541	0.0560	0.2139
C55	0.8354	0.2853	0.7686	0.9558	0.6839	0.4083	0.2541	1.0000	0.5651	0.9459
C111	0.7182	0.0868	0.3782	0.5767	0.3036	0.1550	0.0560	0.5651	1.0000	0.5707
C154	0.8897	0.2568	0.7177	0.9885	0.6316	0.3752	0.2139	0.9459	0.5707	1.0000

Tabla A.37: Test de Anova en hámster G1C3H3, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.7037	0.2303	0.0589	0.4885	0.3500	0.0587	0.0315	0.0150	0.0403
S55	0.7037	1.0000	0.4691	0.1860	0.7849	0.5952	0.1654	0.1010	0.0710	0.1239
S111	0.2303	0.4691	1.0000	0.5306	0.6422	0.9026	0.4454	0.3009	0.2112	0.3266
S154	0.0589	0.1860	0.5306	1.0000	0.2744	0.5108	0.8088	0.5865	0.4617	0.6119
B30	0.4885	0.7849	0.6422	0.2744	1.0000	0.7733	0.2423	0.1538	0.0980	0.1756
B55	0.3500	0.5952	0.9026	0.5108	0.7733	1.0000	0.4336	0.3031	0.2560	0.3413
C30	0.0587	0.1654	0.4454	0.8088	0.2423	0.4336	1.0000	0.7853	0.7384	0.8194
C55	0.0315	0.1010	0.3009	0.5865	0.1538	0.3031	0.7853	1.0000	0.9887	0.9696
C111	0.0150	0.0710	0.2112	0.4617	0.0980	0.2560	0.7384	0.9887	1.0000	0.9501
C154	0.0403	0.1239	0.3266	0.6119	0.1756	0.3413	0.8194	0.9696	0.9501	1.0000

Tabla A.38: Test de Anova en hámster G1C3H3, f_{mel}

TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.8201	0.1767	0.3866	0.0950	0.0048	0.0262	0.2364	0.0243	0.8836
S55	0.8201	1.0000	0.2752	0.5248	0.1765	0.0114	0.0473	0.3501	0.0453	0.9347
S111	0.1767	0.2752	1.0000	0.7078	0.9908	0.1364	0.2635	0.8966	0.2739	0.2333
S154	0.3866	0.5248	0.7078	1.0000	0.6453	0.0836	0.1744	0.8051	0.1835	0.4805
B30	0.0950	0.1765	0.9908	0.6453	1.0000	0.0597	0.2048	0.8669	0.1868	0.1011
B55	0.0048	0.0114	0.1364	0.0836	0.0597	1.0000	0.9627	0.1174	0.8731	0.0075
C30	0.0262	0.0473	0.2635	0.1744	0.2048	0.9627	1.0000	0.2242	0.9318	0.0496
C55	0.2364	0.3501	0.8966	0.8051	0.8669	0.1174	0.2242	1.0000	0.2384	0.3133
C111	0.0243	0.0453	0.2739	0.1835	0.1868	0.8731	0.9318	0.2384	1.0000	0.0394
C154	0.8836	0.9347	0.2333	0.4805	0.1011	0.0075	0.0496	0.3133	0.0394	1.0000

Tabla A.39: Test de Anova en hámster G1C3H3, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S30	S55	S111	S154	B30	B55	C30	C55	C111	C154
S30	1.0000	0.0914	0.4203	0.0985	0.9573	0.2548	0.0001	0.0164	0.2940	0.0471
S55	0.0914	1.0000	0.4666	0.9066	0.1256	0.3511	0.0038	0.2950	0.0048	0.5368
S111	0.4203	0.4666	1.0000	0.4438	0.4809	0.9342	0.0026	0.1258	0.0818	0.2549
S154	0.0985	0.9066	0.4438	1.0000	0.1337	0.3406	0.0128	0.3886	0.0085	0.6465
B30	0.9573	0.1256	0.4809	0.1337	1.0000	0.3115	0.0002	0.0274	0.2980	0.0691
B55	0.2548	0.3511	0.9342	0.3406	0.3115	1.0000	0.0000	0.0605	0.0049	0.1309
C30	0.0001	0.0038	0.0026	0.0128	0.0002	0.0000	1.0000	0.1586	0.0000	0.0528
C55	0.0164	0.2950	0.1258	0.3886	0.0274	0.0605	0.1586	1.0000	0.0015	0.7033
C111	0.2940	0.0048	0.0818	0.0085	0.2980	0.0049	0.0000	0.0015	1.0000	0.0035
C154	0.0471	0.5368	0.2549	0.6465	0.0691	0.1309	0.0528	0.7033	0.0035	1.0000

Tabla A.40: Test de Anova en hámster G1C3H3, SO_2

A.0.5. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G1C6H2

TEST DE ANOVA EN z_1

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.4540	0.8576	0.0659	0.0004	0.0717
S55	0.4540	1.0000	0.6092	0.0323	0.0083	0.0321
S111	0.8576	0.6092	1.0000	0.0800	0.0018	0.0949
S154	0.0659	0.0323	0.0800	1.0000	0.0001	0.8016
C111	0.0004	0.0083	0.0018	0.0001	1.0000	0.0000
C154	0.0717	0.0321	0.0949	0.8016	0.0000	1.0000

Tabla A.41: Test de Anova en hámster G1C6H2, z_1

TEST DE ANOVA EN z_2

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.2411	0.6529	0.0052	0.1181	0.0002
S55	0.2411	1.0000	0.4758	0.0702	0.0194	0.0047
S111	0.6529	0.4758	1.0000	0.0170	0.0598	0.0009
S154	0.0052	0.0702	0.0170	1.0000	0.0008	0.2794
C111	0.1181	0.0194	0.0598	0.0008	1.0000	0.0001
C154	0.0002	0.0047	0.0009	0.2794	0.0001	1.0000

Tabla A.42: Test de Anova en hámster G1C6H2, z_2 TEST DE ANOVA EN D_{kera}

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.5477	0.4647	0.5684	0.0293	0.7313
S55	0.5477	1.0000	0.1064	0.9545	0.0020	0.8248
S111	0.4647	0.1064	1.0000	0.1605	0.0061	0.2234
S154	0.5684	0.9545	0.1605	1.0000	0.0092	0.8117
C111	0.0293	0.0020	0.0061	0.0092	1.0000	0.0077
C154	0.7313	0.8248	0.2234	0.8117	0.0077	1.0000

Tabla A.43: Test de Anova en hámster G1C6H2, D_{kera} TEST DE ANOVA EN D_{col}

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.7896	0.8318	0.0600	0.7237	0.5942
S55	0.7896	1.0000	0.9700	0.1916	0.8639	0.8787
S111	0.8318	0.9700	1.0000	0.2027	0.8355	0.8566
S154	0.0600	0.1916	0.2027	1.0000	0.5474	0.1162
C111	0.7237	0.8639	0.8355	0.5474	1.0000	0.9301
C154	0.5942	0.8787	0.8566	0.1162	0.9301	1.0000

Tabla A.44: Test de Anova en hámster G1C6H2, D_{col}

TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.0271	0.0405	0.4128	0.0001	0.1560
S55	0.0271	1.0000	0.8544	0.2523	0.0601	0.4730
S111	0.0405	0.8544	1.0000	0.3227	0.0504	0.5955
S154	0.4128	0.2523	0.3227	1.0000	0.0064	0.6376
C111	0.0001	0.0601	0.0504	0.0064	1.0000	0.0113
C154	0.1560	0.4730	0.5955	0.6376	0.0113	1.0000

Tabla A.45: Test de Anova en hámster G1C6H2, *Fvol_col*TEST DE ANOVA EN *D_fibro*

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.0660	0.2728	0.5093	0.0006	0.4522
S55	0.0660	1.0000	0.5681	0.0300	0.0714	0.2622
S111	0.2728	0.5681	1.0000	0.1336	0.0466	0.6990
S154	0.5093	0.0300	0.1336	1.0000	0.0005	0.2044
C111	0.0006	0.0714	0.0466	0.0005	1.0000	0.0032
C154	0.4522	0.2622	0.6990	0.2044	0.0032	1.0000

Tabla A.46: Test de Anova en hámster G1C6H2, *D_fibro*TEST DE ANOVA EN *D_macro*

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.6910	0.3969	0.1075	0.4970	0.8027
S55	0.6910	1.0000	0.8052	0.3693	0.8333	0.8935
S111	0.3969	0.8052	1.0000	0.3588	0.9906	0.6629
S154	0.1075	0.3693	0.3588	1.0000	0.4743	0.2736
C111	0.4970	0.8333	0.9906	0.4743	1.0000	0.7225
C154	0.8027	0.8935	0.6629	0.2736	0.7225	1.0000

Tabla A.47: Test de Anova en hámster G1C6H2, *D_macro*

TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.1851	0.1460	0.1701	0.7392	0.6508
S55	0.1851	1.0000	0.7907	0.7461	0.0863	0.0656
S111	0.1460	0.7907	1.0000	0.9380	0.0836	0.0777
S154	0.1701	0.7461	0.9380	1.0000	0.1007	0.0914
C111	0.7392	0.0863	0.0836	0.1007	1.0000	0.8907
C154	0.6508	0.0656	0.0777	0.0914	0.8907	1.0000

Tabla A.48: Test de Anova en hámster G1C6H2, f_{mel} TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.0439	0.0252	0.2349	0.0000	0.0147
S55	0.0439	1.0000	0.8708	0.5176	0.0193	0.7073
S111	0.0252	0.8708	1.0000	0.4124	0.0258	0.8233
S154	0.2349	0.5176	0.4124	1.0000	0.0050	0.3181
C111	0.0000	0.0193	0.0258	0.0050	1.0000	0.0396
C154	0.0147	0.7073	0.8233	0.3181	0.0396	1.0000

Tabla A.49: Test de Anova en hámster G1C6H2, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S30	S55	S111	S154	C111	C154
S30	1.0000	0.8125	0.1475	0.7359	0.2428	0.9319
S55	0.8125	1.0000	0.0172	0.8497	0.2134	0.6587
S111	0.1475	0.0172	1.0000	0.0459	0.0026	0.0902
S154	0.7359	0.8497	0.0459	1.0000	0.4015	0.6236
C111	0.2428	0.2134	0.0026	0.4015	1.0000	0.1553
C154	0.9319	0.6587	0.0902	0.6236	0.1553	1.0000

Tabla A.50: Test de Anova en hámster G1C6H2, SO_2

A.0.6. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G2C4H1

TEST DE ANOVA EN z_1

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.5158	0.0017	0.3959	0.0087	0.0601	0.0003	0.8465	0.0147	0.0070
S50	0.5158	1.0000	0.0018	0.8931	0.0013	0.1588	0.0001	0.6297	0.0008	0.0022
S108	0.0017	0.0018	1.0000	0.0000	0.0000	0.0171	0.0000	0.0009	0.0000	0.0000
S164	0.3959	0.8931	0.0000	1.0000	0.0002	0.0940	0.0000	0.4799	0.0000	0.0008
B36	0.0087	0.0013	0.0000	0.0002	1.0000	0.0000	0.1355	0.0045	0.4213	0.5606
B108	0.0601	0.1588	0.0171	0.0940	0.0000	1.0000	0.0000	0.0671	0.0000	0.0002
C36	0.0003	0.0001	0.0000	0.0000	0.1355	0.0000	1.0000	0.0002	0.0130	0.5126
C50	0.8465	0.6297	0.0009	0.4799	0.0045	0.0671	0.0002	1.0000	0.0045	0.0056
C108	0.0147	0.0008	0.0000	0.0000	0.4213	0.0000	0.0130	0.0045	1.0000	0.2205
C164	0.0070	0.0022	0.0000	0.0008	0.5606	0.0002	0.5126	0.0056	0.2205	1.0000

Tabla A.51: Test de Anova en hámster G2C4H1, z_1 TEST DE ANOVA EN z_2

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.7492	0.3338	0.0017	0.8615	0.8507	0.6268	0.2752	0.3292	0.7082
S50	0.7492	1.0000	0.4500	0.0011	0.5905	0.8708	0.3577	0.3951	0.1433	0.9453
S108	0.3338	0.4500	1.0000	0.0037	0.1976	0.3220	0.0747	0.9081	0.0206	0.5165
S164	0.0017	0.0011	0.0037	1.0000	0.0002	0.0003	0.0000	0.0112	0.0000	0.0023
B36	0.8615	0.5905	0.1976	0.0002	1.0000	0.6800	0.7253	0.1703	0.3690	0.5585
B108	0.8507	0.8708	0.3220	0.0003	0.6800	1.0000	0.4080	0.2865	0.1577	0.8195
C36	0.6268	0.3577	0.0747	0.0000	0.7253	0.4080	1.0000	0.0740	0.5462	0.3445
C50	0.2752	0.3951	0.9081	0.0112	0.1703	0.2865	0.0740	1.0000	0.0208	0.4535
C108	0.3292	0.1433	0.0206	0.0000	0.3690	0.1577	0.5462	0.0208	1.0000	0.1425
C164	0.7082	0.9453	0.5165	0.0023	0.5585	0.8195	0.3445	0.4535	0.1425	1.0000

Tabla A.52: Test de Anova en hámster G2C4H1, z_2 TEST DE ANOVA EN D_{kera}

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.2390	0.6955	0.0228	0.2368	0.5612	0.0044	0.9642	0.5216	0.0042
S50	0.2390	1.0000	0.4912	0.0007	0.0233	0.6119	0.0001	0.2828	0.0767	0.0000
S108	0.6955	0.4912	1.0000	0.0119	0.1480	0.8702	0.0018	0.7408	0.3358	0.0015
S164	0.0228	0.0007	0.0119	1.0000	0.2691	0.0091	0.3181	0.0259	0.0937	0.4495
B36	0.2368	0.0233	0.1480	0.2691	1.0000	0.1062	0.0675	0.2444	0.5836	0.0801
B108	0.5612	0.6119	0.8702	0.0091	0.1062	1.0000	0.0019	0.6125	0.2550	0.0016
C36	0.0044	0.0001	0.0018	0.3181	0.0675	0.0019	1.0000	0.0051	0.0184	0.5174
C50	0.9642	0.2828	0.7408	0.0259	0.2444	0.6125	0.0051	1.0000	0.5154	0.0048
C108	0.5216	0.0767	0.3358	0.0937	0.5836	0.2550	0.0184	0.5154	1.0000	0.0198
C164	0.0042	0.0000	0.0015	0.4495	0.0801	0.0016	0.5174	0.0048	0.0198	1.0000

Tabla A.53: Test de Anova en hámster G2C4H1, D_{kera}

TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.4714	0.9246	0.0328	0.0331	0.0012	0.2008	0.0475	0.0891	0.4700
S50	0.4714	1.0000	0.7657	0.0245	0.0246	0.0024	0.1183	0.0327	0.0588	0.2937
S108	0.9246	0.7657	1.0000	0.3032	0.2407	0.1212	0.4637	0.2813	0.2966	0.6081
S164	0.0328	0.0245	0.3032	1.0000	0.6257	0.1078	0.7370	0.7971	0.7529	0.6583
B36	0.0331	0.0246	0.2407	0.6257	1.0000	0.5376	0.5233	0.8407	0.9606	0.5003
B108	0.0012	0.0024	0.1212	0.1078	0.5376	1.0000	0.1884	0.3715	0.6044	0.2747
C36	0.2008	0.1183	0.4637	0.7370	0.5233	0.1884	1.0000	0.6370	0.6274	0.8531
C50	0.0475	0.0327	0.2813	0.7971	0.8407	0.3715	0.6370	1.0000	0.9098	0.5833
C108	0.0891	0.0588	0.2966	0.7529	0.9606	0.6044	0.6274	0.9098	1.0000	0.5665
C164	0.4700	0.2937	0.6081	0.6583	0.5003	0.2747	0.8531	0.5833	0.5665	1.0000

Tabla A.54: Test de Anova en hámster G2C4H1, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.1684	0.9555	0.8737	0.1541	0.1811	0.0180	0.6122	0.0001	0.0048
S50	0.1684	1.0000	0.2366	0.2189	0.9981	0.0243	0.4752	0.1255	0.0491	0.2562
S108	0.9555	0.2366	1.0000	0.8560	0.2173	0.1936	0.0304	0.6210	0.0001	0.0104
S164	0.8737	0.2189	0.8560	1.0000	0.2068	0.3805	0.0507	0.7856	0.0018	0.0192
B36	0.1541	0.9981	0.2173	0.2068	1.0000	0.0199	0.4598	0.1153	0.0399	0.2407
B108	0.1811	0.0243	0.1936	0.3805	0.0199	1.0000	0.0013	0.5471	0.0000	0.0003
C36	0.0180	0.4752	0.0304	0.0507	0.4598	0.0013	1.0000	0.0216	0.1199	0.6237
C50	0.6122	0.1255	0.6210	0.7856	0.1153	0.5471	0.0216	1.0000	0.0004	0.0073
C108	0.0001	0.0491	0.0001	0.0018	0.0399	0.0000	0.1199	0.0004	1.0000	0.3435
C164	0.0048	0.2562	0.0104	0.0192	0.2407	0.0003	0.6237	0.0073	0.3435	1.0000

Tabla A.55: Test de Anova en hámster G2C4H1, *Fvol_col*TEST DE ANOVA EN *D_fibro*

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.8242	0.6963	0.1197	0.0775	0.7677	0.0278	0.0423	0.0037	0.0017
S50	0.8242	1.0000	0.8117	0.1352	0.0919	0.9111	0.0305	0.0416	0.0026	0.0010
S108	0.6963	0.8117	1.0000	0.3288	0.2380	0.9063	0.1143	0.1640	0.0284	0.0159
S164	0.1197	0.1352	0.3288	1.0000	0.7417	0.2270	0.3999	0.6625	0.1662	0.0985
B36	0.0775	0.0919	0.2380	0.7417	1.0000	0.1546	0.6238	0.9549	0.3545	0.2401
B108	0.7677	0.9111	0.9063	0.2270	0.1546	1.0000	0.0636	0.0959	0.0115	0.0058
C36	0.0278	0.0305	0.1143	0.3999	0.6238	0.0636	1.0000	0.6200	0.7330	0.5568
C50	0.0423	0.0416	0.1640	0.6625	0.9549	0.0959	0.6200	1.0000	0.3132	0.1937
C108	0.0037	0.0026	0.0284	0.1662	0.3545	0.0115	0.7330	0.3132	1.0000	0.7582
C164	0.0017	0.0010	0.0159	0.0985	0.2401	0.0058	0.5568	0.1937	0.7582	1.0000

Tabla A.56: Test de Anova en hámster G2C4H1, *D_fibro*

TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.0267	0.5267	0.4184	0.5203	0.6161	0.7778	0.9170	0.1257	0.2539
S50	0.0267	1.0000	0.1707	0.0042	0.1422	0.0485	0.0259	0.0375	0.0014	0.0008
S108	0.5267	0.1707	1.0000	0.1941	0.9765	0.8114	0.4250	0.6002	0.0693	0.1005
S164	0.4184	0.0042	0.1941	1.0000	0.1774	0.1804	0.6556	0.3772	0.4265	0.7863
B36	0.5203	0.1422	0.9765	0.1774	1.0000	0.8302	0.4105	0.5999	0.0545	0.0903
B108	0.6161	0.0485	0.8114	0.1804	0.8302	1.0000	0.4592	0.7026	0.0493	0.0764
C36	0.7778	0.0259	0.4250	0.6556	0.4105	0.4592	1.0000	0.7160	0.2638	0.4677
C50	0.9170	0.0375	0.6002	0.3772	0.5999	0.7026	0.7160	1.0000	0.1213	0.2207
C108	0.1257	0.0014	0.0693	0.4265	0.0545	0.0493	0.2638	0.1213	1.0000	0.5338
C164	0.2539	0.0008	0.1005	0.7863	0.0903	0.0764	0.4677	0.2207	0.5338	1.0000

Tabla A.57: Test de Anova en hámster G2C4H1, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.5591	0.6319	0.7666	0.7767	0.6216	0.8932	0.4857	0.3073	0.0848
S50	0.5591	1.0000	0.9560	0.3075	0.8166	0.1888	0.6383	0.1922	0.6129	0.1982
S108	0.6319	0.9560	1.0000	0.3807	0.8692	0.2503	0.7073	0.2554	0.6097	0.2160
S164	0.7666	0.3075	0.3807	1.0000	0.5652	0.8109	0.6279	0.6168	0.1426	0.0154
B36	0.7767	0.8166	0.8692	0.5652	1.0000	0.4435	0.8717	0.3699	0.5203	0.2074
B108	0.6216	0.1888	0.2503	0.8109	0.4435	1.0000	0.4622	0.7231	0.0798	0.0042
C36	0.8932	0.6383	0.7073	0.6279	0.8717	0.4622	1.0000	0.3981	0.3579	0.0852
C50	0.4857	0.1922	0.2554	0.6168	0.3699	0.7231	0.3981	1.0000	0.0949	0.0155
C108	0.3073	0.6129	0.6097	0.1426	0.5203	0.0798	0.3579	0.0949	1.0000	0.5060
C164	0.0848	0.1982	0.2160	0.0154	0.2074	0.0042	0.0852	0.0155	0.5060	1.0000

Tabla A.58: Test de Anova en hámster G2C4H1, f_{mel} TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.7494	0.0824	0.0271	0.9892	0.0709	0.8934	0.3175	0.5545	0.4824
S50	0.7494	1.0000	0.2085	0.0908	0.8005	0.1907	0.8783	0.2433	0.4201	0.6954
S108	0.0824	0.2085	1.0000	0.5453	0.1738	0.9861	0.1727	0.0201	0.0455	0.5615
S164	0.0271	0.0908	0.5453	1.0000	0.0763	0.5544	0.0751	0.0058	0.0150	0.3488
B36	0.9892	0.8005	0.1738	0.0763	1.0000	0.1498	0.9209	0.3959	0.6132	0.5578
B108	0.0709	0.1907	0.9861	0.5544	0.1498	1.0000	0.1553	0.0141	0.0351	0.5377
C36	0.8934	0.8783	0.1727	0.0751	0.9209	0.1553	1.0000	0.3324	0.5342	0.6165
C50	0.3175	0.2433	0.0201	0.0058	0.3959	0.0141	0.3324	1.0000	0.7124	0.1706
C108	0.5545	0.4201	0.0455	0.0150	0.6132	0.0351	0.5342	0.7124	1.0000	0.2865
C164	0.4824	0.6954	0.5615	0.3488	0.5578	0.5377	0.6165	0.1706	0.2865	1.0000

Tabla A.59: Test de Anova en hámster G2C4H1, f_{blood}

TEST DE ANOVA EN SO_2

	S36	S50	S108	S164	B36	B108	C36	C50	C108	C164
S36	1.0000	0.1410	0.0007	0.0158	0.0005	0.0104	0.0000	0.0102	0.0100	0.1955
S50	0.1410	1.0000	0.0842	0.4963	0.0933	0.4308	0.0051	0.3907	0.4176	0.8999
S108	0.0007	0.0842	1.0000	0.1809	0.7542	0.2025	0.1995	0.2668	0.2162	0.0725
S164	0.0158	0.4963	0.1809	1.0000	0.2368	0.9099	0.0074	0.8253	0.8855	0.4237
B36	0.0005	0.0933	0.7542	0.2368	1.0000	0.2711	0.0778	0.3511	0.2890	0.0777
B108	0.0104	0.4308	0.2025	0.9099	0.2711	1.0000	0.0076	0.9083	0.9742	0.3651
C36	0.0000	0.0051	0.1995	0.0074	0.0778	0.0076	1.0000	0.0160	0.0089	0.0047
C50	0.0102	0.3907	0.2668	0.8253	0.3511	0.9083	0.0160	1.0000	0.9334	0.3315
C108	0.0100	0.4176	0.2162	0.8855	0.2890	0.9742	0.0089	0.9334	1.0000	0.3538
C164	0.1955	0.8999	0.0725	0.4237	0.0777	0.3651	0.0047	0.3315	0.3538	1.0000

Tabla A.60: Test de Anova en hámster G2C4H1, SO_2

A.0.7. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G4C1H2

TEST DE ANOVA EN z_1

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0354	0.6943	0.0020	0.2298	0.0601	0.3191	0.0001	0.0000	0.0000
S70	0.0354	1.0000	0.1092	0.3656	0.0028	0.0005	0.0038	0.0000	0.0000	0.0000
S101	0.6943	0.1092	1.0000	0.0129	0.1272	0.0271	0.1643	0.0000	0.0000	0.0000
S157	0.0020	0.3656	0.0129	1.0000	0.0001	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
B70	0.2298	0.0028	0.1272	0.0001	1.0000	0.4721	0.7796	0.0010	0.0001	0.0004
B101	0.0601	0.0005	0.0271	0.0000	0.4721	1.0000	0.2847	0.0038	0.0004	0.0022
B157	0.3191	0.0038	0.1643	0.0001	0.7796	0.2847	1.0000	0.0002	0.0000	0.0000
C70	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0010	0.0038	0.0002	1.0000	0.7943	0.6729
C101	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0001	0.0004	0.0000	0.7943	1.0000	0.4283
C157	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0004	0.0022	0.0000	0.6729	0.4283	1.0000

Tabla A.61: Test de Anova en hámster G4C1H2, z_1 TEST DE ANOVA EN z_2

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.6639	0.5881	0.6982	0.3516	0.4799	0.0608	0.0139	0.0054	0.0136
S70	0.6639	1.0000	0.3719	0.3303	0.1567	0.2232	0.0196	0.0045	0.0012	0.0042
S101	0.5881	0.3719	1.0000	0.7117	0.8596	0.9656	0.3016	0.1041	0.0766	0.0909
S157	0.6982	0.3303	0.7117	1.0000	0.4090	0.6260	0.0487	0.0045	0.0013	0.0069
B70	0.3516	0.1567	0.8596	0.4090	1.0000	0.7516	0.3023	0.0579	0.0354	0.0759
B101	0.4799	0.2232	0.9656	0.6260	0.7516	1.0000	0.1592	0.0243	0.0121	0.0305
B157	0.0608	0.0196	0.3016	0.0487	0.3023	0.1592	1.0000	0.2732	0.2754	0.3407
C70	0.0139	0.0045	0.1041	0.0045	0.0579	0.0243	0.2732	1.0000	0.8395	0.8255
C101	0.0054	0.0012	0.0766	0.0013	0.0354	0.0121	0.2754	0.8395	1.0000	0.9589
C157	0.0136	0.0042	0.0909	0.0069	0.0759	0.0305	0.3407	0.8255	0.9589	1.0000

Tabla A.62: Test de Anova en hámster G4C1H2, z_2

TEST DE ANOVA EN *D_kea*

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.8744	0.4779	0.3240	0.6001	0.2694	0.2648	0.1151	0.0032	0.0031
S70	0.8744	1.0000	0.5581	0.3950	0.4883	0.1856	0.1786	0.0657	0.0009	0.0010
S101	0.4779	0.5581	1.0000	0.9318	0.2363	0.0686	0.0564	0.0295	0.0005	0.0003
S157	0.3240	0.3950	0.9318	1.0000	0.1236	0.0183	0.0146	0.0031	0.0000	0.0000
B70	0.6001	0.4883	0.2363	0.1236	1.0000	0.6360	0.6636	0.3590	0.0329	0.0311
B101	0.2694	0.1856	0.0686	0.0183	0.6360	1.0000	0.9248	0.5834	0.0515	0.0553
B157	0.2648	0.1786	0.0564	0.0146	0.6636	0.9248	1.0000	0.4968	0.0308	0.0314
C70	0.1151	0.0657	0.0295	0.0031	0.3590	0.5834	0.4968	1.0000	0.1164	0.1648
C101	0.0032	0.0009	0.0005	0.0000	0.0329	0.0515	0.0308	0.1164	1.0000	0.9727
C157	0.0031	0.0010	0.0003	0.0000	0.0311	0.0553	0.0314	0.1648	0.9727	1.0000

Tabla A.63: Test de Anova en hámster G4C1H2, *D_kea*TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.7357	0.5056	0.4204	0.3044	0.2421	0.8728	0.3441	0.6351	0.8746
S70	0.7357	1.0000	0.5715	0.4350	0.2415	0.0407	0.7787	0.0835	0.7499	0.9125
S101	0.5056	0.5715	1.0000	0.9155	0.6066	0.0347	0.4547	0.0751	0.9903	0.6345
S157	0.4204	0.4350	0.9155	1.0000	0.6414	0.0177	0.3473	0.0442	0.9559	0.5546
B70	0.3044	0.2415	0.6066	0.6414	1.0000	0.0171	0.1998	0.0422	0.7453	0.3970
B101	0.2421	0.0407	0.0347	0.0177	0.0171	1.0000	0.0717	0.9232	0.1423	0.1807
B157	0.8728	0.7787	0.4547	0.3473	0.1998	0.0717	1.0000	0.1366	0.6181	0.9571
C70	0.3441	0.0835	0.0751	0.0442	0.0422	0.9232	0.1366	1.0000	0.2241	0.2749
C101	0.6351	0.7499	0.9903	0.9559	0.7453	0.1423	0.6181	0.2241	1.0000	0.7046
C157	0.8746	0.9125	0.6345	0.5546	0.3970	0.1807	0.9571	0.2749	0.7046	1.0000

Tabla A.64: Test de Anova en hámster G4C1H2, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.3848	0.4731	0.7802	0.6632	0.8068	0.7320	0.0835	0.0110	0.1464
S70	0.3848	1.0000	0.8094	0.4487	0.2044	0.2633	0.1824	0.0107	0.0006	0.0209
S101	0.4731	0.8094	1.0000	0.5847	0.2427	0.3212	0.2321	0.0102	0.0005	0.0216
S157	0.7802	0.4487	0.5847	1.0000	0.4334	0.5691	0.4704	0.0212	0.0012	0.0491
B70	0.6632	0.2044	0.2427	0.4334	1.0000	0.8349	0.8620	0.2063	0.0427	0.3323
B101	0.8068	0.2633	0.3212	0.5691	0.8349	1.0000	0.9471	0.1268	0.0194	0.2097
B157	0.7320	0.1824	0.2321	0.4704	0.8620	0.9471	1.0000	0.0946	0.0101	0.1774
C70	0.0835	0.0107	0.0102	0.0212	0.2063	0.1268	0.0946	1.0000	0.5099	0.6840
C101	0.0110	0.0006	0.0005	0.0012	0.0427	0.0194	0.0101	0.5099	1.0000	0.2552
C157	0.1464	0.0209	0.0216	0.0491	0.3323	0.2097	0.1774	0.6840	0.2552	1.0000

Tabla A.65: Test de Anova en hámster G4C1H2, *Fvol_col*

TEST DE ANOVA EN D_{fibro}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.3806	0.5610	0.6186	0.2730	0.0571	0.2490	0.0561	0.0572	0.0185
S70	0.3806	1.0000	0.7343	0.1484	0.8819	0.2792	0.8478	0.2114	0.2650	0.1303
S101	0.5610	0.7343	1.0000	0.2482	0.6041	0.1447	0.5637	0.1144	0.1377	0.0542
S157	0.6186	0.1484	0.2482	1.0000	0.0882	0.0112	0.0719	0.0134	0.0116	0.0024
B70	0.2730	0.8819	0.6041	0.0882	1.0000	0.3055	0.9634	0.2203	0.2896	0.1414
B101	0.0571	0.2792	0.1447	0.0112	0.3055	1.0000	0.3100	0.7028	0.9353	0.6948
B157	0.2490	0.8478	0.5637	0.0719	0.9634	0.3100	1.0000	0.2108	0.2857	0.1341
C70	0.0561	0.2114	0.1144	0.0134	0.2203	0.7028	0.2108	1.0000	0.7633	0.9340
C101	0.0572	0.2650	0.1377	0.0116	0.2896	0.9353	0.2857	0.7633	1.0000	0.7699
C157	0.0185	0.1303	0.0542	0.0024	0.1414	0.6948	0.1341	0.9340	0.7699	1.0000

Tabla A.66: Test de Anova en hámster G4C1H2, D_{fibro} TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.4818	0.7832	0.6697	0.4888	0.8930	0.9974	0.3466	0.8223	0.6641
S70	0.4818	1.0000	0.2908	0.7695	0.8547	0.3836	0.4050	0.7969	0.2473	0.6649
S101	0.7832	0.2908	1.0000	0.4498	0.2687	0.8886	0.7476	0.1888	0.9138	0.4126
S157	0.6697	0.7695	0.4498	1.0000	0.8608	0.5542	0.6093	0.5896	0.4470	0.9368
B70	0.4888	0.8547	0.2687	0.8608	1.0000	0.3852	0.4228	0.5948	0.1806	0.7488
B101	0.8930	0.3836	0.8886	0.5542	0.3852	1.0000	0.8757	0.2665	0.9519	0.5346
B157	0.9974	0.4050	0.7476	0.6093	0.4228	0.8757	1.0000	0.2681	0.7971	0.6061
C70	0.3466	0.7969	0.1888	0.5896	0.5948	0.2665	0.2681	1.0000	0.1330	0.4601
C101	0.8223	0.2473	0.9138	0.4470	0.1806	0.9519	0.7971	0.1330	1.0000	0.3998
C157	0.6641	0.6649	0.4126	0.9368	0.7488	0.5346	0.6061	0.4601	0.3998	1.0000

Tabla A.67: Test de Anova en hámster G4C1H2, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.4708	0.1641	0.5262	0.7529	0.5242	0.5737	0.2341	0.2237	0.1534
S70	0.4708	1.0000	0.0284	0.1912	0.3448	0.1829	0.9082	0.0304	0.0449	0.0217
S101	0.1641	0.0284	1.0000	0.5005	0.3602	0.4910	0.0437	0.7401	0.8576	0.9054
S157	0.5262	0.1912	0.5005	1.0000	0.7858	0.9946	0.2177	0.6978	0.6116	0.5221
B70	0.7529	0.3448	0.3602	0.7858	1.0000	0.7895	0.3986	0.5059	0.4471	0.3596
B101	0.5242	0.1829	0.4910	0.9946	0.7895	1.0000	0.2190	0.6834	0.6026	0.5125
B157	0.5737	0.9082	0.0437	0.2177	0.3986	0.2190	1.0000	0.0829	0.0657	0.0342
C70	0.2341	0.0304	0.7401	0.6978	0.5059	0.6834	0.0829	1.0000	0.8892	0.8105
C101	0.2237	0.0449	0.8576	0.6116	0.4471	0.6026	0.0657	0.8892	1.0000	0.9358
C157	0.1534	0.0217	0.9054	0.5221	0.3596	0.5125	0.0342	0.8105	0.9358	1.0000

Tabla A.68: Test de Anova en hámster G4C1H2, f_{mel}

TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.7335	0.6225	0.0067	0.8854	0.2414	0.2543	0.2643	0.0000	0.3580
S70	0.7335	1.0000	0.4395	0.0355	0.8692	0.4214	0.4487	0.1921	0.0000	0.2402
S101	0.6225	0.4395	1.0000	0.0059	0.5614	0.1227	0.1166	0.4699	0.0001	0.6520
S157	0.0067	0.0355	0.0059	1.0000	0.0343	0.3229	0.2499	0.0037	0.0000	0.0027
B70	0.8854	0.8692	0.5614	0.0343	1.0000	0.3549	0.3695	0.2555	0.0000	0.3238
B101	0.2414	0.4214	0.1227	0.3229	0.3549	1.0000	0.9192	0.0548	0.0000	0.0529
B157	0.2543	0.4487	0.1166	0.2499	0.3695	0.9192	1.0000	0.0441	0.0000	0.0441
C70	0.2643	0.1921	0.4699	0.0037	0.2555	0.0548	0.0441	1.0000	0.0087	0.7180
C101	0.0000	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0087	1.0000	0.0005
C157	0.3580	0.2402	0.6520	0.0027	0.3238	0.0529	0.0441	0.7180	0.0005	1.0000

Tabla A.69: Test de Anova en hámster G4C1H2, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0720	0.0934	0.0060	0.0024	0.0711	0.0019	0.0003	0.0009	0.0000
S70	0.0720	1.0000	0.9713	0.2441	0.0880	0.9602	0.1354	0.0080	0.0451	0.0005
S101	0.0934	0.9713	1.0000	0.3131	0.1603	0.9924	0.1908	0.0331	0.0868	0.0034
S157	0.0060	0.2441	0.3131	1.0000	0.5975	0.2812	0.7813	0.1328	0.3948	0.0254
B70	0.0024	0.0880	0.1603	0.5975	1.0000	0.1249	0.7773	0.2583	0.7437	0.0725
B101	0.0711	0.9602	0.9924	0.2812	0.1249	1.0000	0.1624	0.0185	0.0639	0.0014
B157	0.0019	0.1354	0.1908	0.7813	0.7773	0.1624	1.0000	0.1855	0.5342	0.0403
C70	0.0003	0.0080	0.0331	0.1328	0.2583	0.0185	0.1855	1.0000	0.4500	0.5762
C101	0.0009	0.0451	0.0868	0.3948	0.7437	0.0639	0.5342	0.4500	1.0000	0.1690
C157	0.0000	0.0005	0.0034	0.0254	0.0725	0.0014	0.0403	0.5762	0.1690	1.0000

Tabla A.70: Test de Anova en hámster G4C1H2, SO_2

A.0.8. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G4C2H1

TEST DE ANOVA EN z_1

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0006	0.6689	0.0001	0.1173	0.0424	0.0109	0.7423	0.0003
S70	0.0006	1.0000	0.0117	0.9338	0.2737	0.0000	0.0000	0.0142	0.4257
S101	0.6689	0.0117	1.0000	0.0050	0.2613	0.0483	0.0081	0.9452	0.0030
S157	0.0001	0.9338	0.0050	1.0000	0.2083	0.0000	0.0000	0.0063	0.4173
B70	0.1173	0.2737	0.2613	0.2083	1.0000	0.0058	0.0020	0.2540	0.1056
C28	0.0424	0.0000	0.0483	0.0000	0.0058	1.0000	0.1536	0.0720	0.0000
C70	0.0109	0.0000	0.0081	0.0000	0.0020	0.1536	1.0000	0.0117	0.0000
C101	0.7423	0.0142	0.9452	0.0063	0.2540	0.0720	0.0117	1.0000	0.0036
C157	0.0003	0.4257	0.0030	0.4173	0.1056	0.0000	0.0000	0.0036	1.0000

Tabla A.71: Test de Anova en hámster G4C2H1, z_1

TEST DE ANOVA EN z_2

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0021	0.1994	0.2903	0.0333	0.0653	0.1918	0.0476	0.0069
S70	0.0021	1.0000	0.0781	0.0265	0.5771	0.0000	0.1056	0.3623	0.8371
S101	0.1994	0.0781	1.0000	0.7430	0.3068	0.0051	0.9377	0.4303	0.1305
S157	0.2903	0.0265	0.7430	1.0000	0.1712	0.0062	0.6926	0.2532	0.0562
B70	0.0333	0.5771	0.3068	0.1712	1.0000	0.0009	0.3691	0.7773	0.7203
C28	0.0653	0.0000	0.0051	0.0062	0.0009	1.0000	0.0061	0.0009	0.0001
C70	0.1918	0.1056	0.9377	0.6926	0.3691	0.0061	1.0000	0.5026	0.1736
C101	0.0476	0.3623	0.4303	0.2532	0.7773	0.0009	0.5026	1.0000	0.4872
C157	0.0069	0.8371	0.1305	0.0562	0.7203	0.0001	0.1736	0.4872	1.0000

Tabla A.72: Test de Anova en hámster G4C2H1, z_2 TEST DE ANOVA EN D_{kera}

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.8058	0.2223	0.6901	0.1504	0.8973	0.7055	0.9951	0.2274
S70	0.8058	1.0000	0.3250	0.4938	0.2410	0.7156	0.8965	0.8099	0.1463
S101	0.2223	0.3250	1.0000	0.0740	0.9685	0.1940	0.3851	0.2207	0.0157
S157	0.6901	0.4938	0.0740	1.0000	0.0311	0.8163	0.3997	0.6850	0.3239
B70	0.1504	0.2410	0.9685	0.0311	1.0000	0.1385	0.2940	0.1730	0.0077
C28	0.8973	0.7156	0.1940	0.8163	0.1385	1.0000	0.6232	0.8912	0.2997
C70	0.7055	0.8965	0.3851	0.3997	0.2940	0.6232	1.0000	0.7100	0.1115
C101	0.9951	0.8099	0.2207	0.6850	0.1730	0.8912	0.7100	1.0000	0.2151
C157	0.2274	0.1463	0.0157	0.3239	0.0077	0.2997	0.1115	0.2151	1.0000

Tabla A.73: Test de Anova en hámster G4C2H1, D_{kera} TEST DE ANOVA EN D_{col}

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0192	0.0812	0.0362	0.0911	0.2971	0.0980	0.4042	0.1561
S70	0.0192	1.0000	0.9397	0.6876	0.9576	0.7684	0.5138	0.0917	0.9772
S101	0.0812	0.9397	1.0000	0.6956	0.9863	0.8197	0.4980	0.2346	0.9394
S157	0.0362	0.6876	0.6956	1.0000	0.7225	0.6070	0.6627	0.1086	0.8146
B70	0.0911	0.9576	0.9863	0.7225	1.0000	0.8217	0.5367	0.2448	0.9540
C28	0.2971	0.7684	0.8197	0.6070	0.8217	1.0000	0.4806	0.5468	0.7999
C70	0.0980	0.5138	0.4980	0.6627	0.5367	0.4806	1.0000	0.1633	0.5841
C101	0.4042	0.0917	0.2346	0.1086	0.2448	0.5468	0.1633	1.0000	0.3236
C157	0.1561	0.9772	0.9394	0.8146	0.9540	0.7999	0.5841	0.3236	1.0000

Tabla A.74: Test de Anova en hámster G4C2H1, D_{col}

TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.6300	0.8909	0.9660	0.6853	0.0114	0.3097	0.8260	0.8461
S70	0.6300	1.0000	0.6381	0.5718	0.9321	0.0214	0.5349	0.7987	0.4495
S101	0.8909	0.6381	1.0000	0.9028	0.7100	0.0022	0.2544	0.8938	0.6869
S157	0.9660	0.5718	0.9028	1.0000	0.6392	0.0019	0.2240	0.8216	0.7701
B70	0.6853	0.9321	0.7100	0.6392	1.0000	0.0173	0.4845	0.8599	0.5025
C28	0.0114	0.0214	0.0022	0.0019	0.0173	1.0000	0.1187	0.0178	0.0026
C70	0.3097	0.5349	0.2544	0.2240	0.4845	0.1187	1.0000	0.4079	0.1819
C101	0.8260	0.7987	0.8938	0.8216	0.8599	0.0178	0.4079	1.0000	0.6562
C157	0.8461	0.4495	0.6869	0.7701	0.5025	0.0026	0.1819	0.6562	1.0000

Tabla A.75: Test de Anova en hámster G4C2H1, *Fvol_col*TEST DE ANOVA EN *D_fibro*

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.3698	0.8253	0.9390	0.3991	0.1042	0.7964	0.5336	0.9897
S70	0.3698	1.0000	0.4942	0.3251	0.0757	0.3504	0.5702	0.1283	0.3353
S101	0.8253	0.4942	1.0000	0.7593	0.2784	0.1368	0.9536	0.3857	0.8199
S157	0.9390	0.3251	0.7593	1.0000	0.4339	0.0826	0.7354	0.5716	0.9229
B70	0.3991	0.0757	0.2784	0.4339	1.0000	0.0187	0.2943	0.8293	0.3510
C28	0.1042	0.3504	0.1368	0.0826	0.0187	1.0000	0.1890	0.0295	0.0784
C70	0.7964	0.5702	0.9536	0.7354	0.2943	0.1890	1.0000	0.3954	0.7873
C101	0.5336	0.1283	0.3857	0.5716	0.8293	0.0295	0.3954	1.0000	0.4885
C157	0.9897	0.3353	0.8199	0.9229	0.3510	0.0784	0.7873	0.4885	1.0000

Tabla A.76: Test de Anova en hámster G4C2H1, *D_fibro*TEST DE ANOVA EN *D_macro*

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.6447	0.6057	0.0589	0.3723	0.8708	0.9510	0.1722	0.1890
S70	0.6447	1.0000	0.9720	0.1665	0.6974	0.7491	0.6936	0.4301	0.4500
S101	0.6057	0.9720	1.0000	0.1559	0.7123	0.7119	0.6551	0.4354	0.4545
S157	0.0589	0.1665	0.1559	1.0000	0.2923	0.0749	0.0715	0.4150	0.4165
B70	0.3723	0.6974	0.7123	0.2923	1.0000	0.4495	0.4165	0.7069	0.7260
C28	0.8708	0.7491	0.7119	0.0749	0.4495	1.0000	0.9238	0.2200	0.2394
C70	0.9510	0.6936	0.6551	0.0715	0.4165	0.9238	1.0000	0.2045	0.2219
C101	0.1722	0.4301	0.4354	0.4150	0.7069	0.2200	0.2045	1.0000	0.9862
C157	0.1890	0.4500	0.4545	0.4165	0.7260	0.2394	0.2219	0.9862	1.0000

Tabla A.77: Test de Anova en hámster G4C2H1, *D_macro*

TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.4491	0.0582	0.1433	0.1316	0.7714	0.1405	0.1415	0.2087
S70	0.4491	1.0000	0.2138	0.3791	0.3848	0.5628	0.4561	0.4489	0.5882
S101	0.0582	0.2138	1.0000	0.8675	0.7550	0.0630	0.5512	0.5934	0.4713
S157	0.1433	0.3791	0.8675	1.0000	0.9135	0.1735	0.7490	0.7769	0.6535
B70	0.1316	0.3848	0.7550	0.9135	1.0000	0.1470	0.8143	0.8554	0.7151
C28	0.7714	0.5628	0.0630	0.1735	0.1470	1.0000	0.1509	0.1682	0.2574
C70	0.1405	0.4561	0.5512	0.7490	0.8143	0.1509	1.0000	0.9592	0.8732
C101	0.1415	0.4489	0.5934	0.7769	0.8554	0.1682	0.9592	1.0000	0.8380
C157	0.2087	0.5882	0.4713	0.6535	0.7151	0.2574	0.8732	0.8380	1.0000

Tabla A.78: Test de Anova en hámster G4C2H1, f_{mel} TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.7690	0.2477	0.6094	0.5312	0.5496	0.0389	0.8065	0.8323
S70	0.7690	1.0000	0.3252	0.3585	0.6753	0.7128	0.0428	0.9930	0.9545
S101	0.2477	0.3252	1.0000	0.0710	0.6380	0.5437	0.2611	0.3755	0.3354
S157	0.6094	0.3585	0.0710	1.0000	0.2345	0.2229	0.0061	0.4461	0.4546
B70	0.5312	0.6753	0.6380	0.2345	1.0000	0.9292	0.1481	0.7055	0.6641
C28	0.5496	0.7128	0.5437	0.2229	0.9292	1.0000	0.0983	0.7502	0.7053
C70	0.0389	0.0428	0.2611	0.0061	0.1481	0.0983	1.0000	0.0681	0.0540
C101	0.8065	0.9930	0.3755	0.4461	0.7055	0.7502	0.0681	1.0000	0.9657
C157	0.8323	0.9545	0.3354	0.4546	0.6641	0.7053	0.0540	0.9657	1.0000

Tabla A.79: Test de Anova en hámster G4C2H1, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S28	S70	S101	S157	B70	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.4451	0.4126	0.4397	0.0104	0.1590	0.0779	0.0409	0.1363
S70	0.4451	1.0000	0.8970	0.9969	0.0173	0.4279	0.1861	0.1149	0.3801
S101	0.4126	0.8970	1.0000	0.8923	0.0675	0.6000	0.2657	0.1915	0.5084
S157	0.4397	0.9969	0.8923	1.0000	0.0239	0.4453	0.1794	0.1133	0.3780
B70	0.0104	0.0173	0.0675	0.0239	1.0000	0.0584	0.6294	0.5922	0.1716
C28	0.1590	0.4279	0.6000	0.4453	0.0584	1.0000	0.4262	0.3276	0.8504
C70	0.0779	0.1861	0.2657	0.1794	0.6294	0.4262	1.0000	0.9750	0.5433
C101	0.0409	0.1149	0.1915	0.1133	0.5922	0.3276	0.9750	1.0000	0.4588
C157	0.1363	0.3801	0.5084	0.3780	0.1716	0.8504	0.5433	0.4588	1.0000

Tabla A.80: Test de Anova en hámster G4C2H1, SO_2

A.0.9. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G4C2H2

TEST DE ANOVA EN z_1

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.2967	0.7937	0.1224	0.1442	0.0000	0.0023	0.0355
S70	0.2967	1.0000	0.1893	0.0097	0.5565	0.0000	0.0356	0.3026
S101	0.7937	0.1893	1.0000	0.2344	0.0794	0.0000	0.0007	0.0143
S157	0.1224	0.0097	0.2344	1.0000	0.0041	0.0000	0.0000	0.0001
B70	0.1442	0.5565	0.0794	0.0041	1.0000	0.0000	0.1915	0.7832
C70	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0001	0.0000
C101	0.0023	0.0356	0.0007	0.0000	0.1915	0.0001	1.0000	0.1932
C157	0.0355	0.3026	0.0143	0.0001	0.7832	0.0000	0.1932	1.0000

Tabla A.81: Test de Anova en hámster G4C2H2, z_1 TEST DE ANOVA EN z_2

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.4186	0.6338	0.1759	0.2746	0.0003	0.1829	0.0361
S70	0.4186	1.0000	0.6429	0.0268	0.7051	0.0061	0.6310	0.1891
S101	0.6338	0.6429	1.0000	0.0406	0.3970	0.0003	0.2984	0.0516
S157	0.1759	0.0268	0.0406	1.0000	0.0159	0.0000	0.0042	0.0002
B70	0.2746	0.7051	0.3970	0.0159	1.0000	0.0352	0.9736	0.4100
C70	0.0003	0.0061	0.0003	0.0000	0.0352	1.0000	0.0145	0.1256
C101	0.1829	0.6310	0.2984	0.0042	0.9736	0.0145	1.0000	0.3609
C157	0.0361	0.1891	0.0516	0.0002	0.4100	0.1256	0.3609	1.0000

Tabla A.82: Test de Anova en hámster G4C2H2, z_2 TEST DE ANOVA EN D_{kera}

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.4182	0.4350	0.4670	0.8954	0.0108	0.7507	0.8837
S70	0.4182	1.0000	0.0756	0.8288	0.4892	0.0004	0.5921	0.4556
S101	0.4350	0.0756	1.0000	0.0746	0.3406	0.0227	0.2283	0.3042
S157	0.4670	0.8288	0.0746	1.0000	0.5564	0.0003	0.6893	0.5227
B70	0.8954	0.4892	0.3406	0.5564	1.0000	0.0071	0.8532	0.9973
C70	0.0108	0.0004	0.0227	0.0003	0.0071	1.0000	0.0035	0.0057
C101	0.7507	0.5921	0.2283	0.6893	0.8532	0.0035	1.0000	0.8419
C157	0.8837	0.4556	0.3042	0.5227	0.9973	0.0057	0.8419	1.0000

Tabla A.83: Test de Anova en hámster G4C2H2, D_{kera}

TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.9298	0.0520	0.0033	0.4315	0.2687	0.6672	0.5969
S70	0.9298	1.0000	0.0979	0.0046	0.4038	0.2756	0.7116	0.5625
S101	0.0520	0.0979	1.0000	0.0474	0.8281	0.0570	0.1354	0.9712
S157	0.0033	0.0046	0.0474	1.0000	0.4664	0.0055	0.0082	0.3434
B70	0.4315	0.4038	0.8281	0.4664	1.0000	0.1543	0.3027	0.8610
C70	0.2687	0.2756	0.0570	0.0055	0.1543	1.0000	0.4184	0.1899
C101	0.6672	0.7116	0.1354	0.0082	0.3027	0.4184	1.0000	0.4155
C157	0.5969	0.5625	0.9712	0.3434	0.8610	0.1899	0.4155	1.0000

Tabla A.84: Test de Anova en hámster G4C2H2, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.6995	0.5426	0.5557	0.1433	0.0021	0.4056	0.4158
S70	0.6995	1.0000	0.7241	0.7258	0.0792	0.0007	0.2436	0.5886
S101	0.5426	0.7241	1.0000	0.9872	0.0725	0.0026	0.1940	0.8915
S157	0.5557	0.7258	0.9872	1.0000	0.0707	0.0030	0.1955	0.9057
B70	0.1433	0.0792	0.0725	0.0707	1.0000	0.2450	0.4335	0.0389
C70	0.0021	0.0007	0.0026	0.0030	0.2450	1.0000	0.0280	0.0007
C101	0.4056	0.2436	0.1940	0.1955	0.4335	0.0280	1.0000	0.1206
C157	0.4158	0.5886	0.8915	0.9057	0.0389	0.0007	0.1206	1.0000

Tabla A.85: Test de Anova en hámster G4C2H2, *Fvol_col*TEST DE ANOVA EN *D_fibro*

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.2499	0.4998	0.3048	0.9282	0.0112	0.8567	0.3357
S70	0.2499	1.0000	0.4442	0.7256	0.2413	0.0044	0.3484	0.6150
S101	0.4998	0.4442	1.0000	0.6193	0.4811	0.0015	0.7094	0.7208
S157	0.3048	0.7256	0.6193	1.0000	0.2852	0.0018	0.4358	0.8666
B70	0.9282	0.2413	0.4811	0.2852	1.0000	0.0367	0.8014	0.3216
C70	0.0112	0.0044	0.0015	0.0018	0.0367	1.0000	0.0325	0.0011
C101	0.8567	0.3484	0.7094	0.4358	0.8014	0.0325	1.0000	0.5044
C157	0.3357	0.6150	0.7208	0.8666	0.3216	0.0011	0.5044	1.0000

Tabla A.86: Test de Anova en hámster G4C2H2, *D_fibro*

TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.7868	0.5740	0.6465	0.1101	0.2774	0.2187	0.4241
S70	0.7868	1.0000	0.7649	0.8606	0.2055	0.4230	0.3680	0.6013
S101	0.5740	0.7649	1.0000	0.8802	0.3573	0.6216	0.5840	0.8352
S157	0.6465	0.8606	0.8802	1.0000	0.2510	0.4940	0.4479	0.6987
B70	0.1101	0.2055	0.3573	0.2510	1.0000	0.6772	0.6274	0.4485
C70	0.2774	0.4230	0.6216	0.4940	0.6772	1.0000	0.9927	0.7509
C101	0.2187	0.3680	0.5840	0.4479	0.6274	0.9927	1.0000	0.7280
C157	0.4241	0.6013	0.8352	0.6987	0.4485	0.7509	0.7280	1.0000

Tabla A.87: Test de Anova en hámster G4C2H2, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0738	0.1075	0.0520	0.3327	0.1618	0.3895	0.5413
S70	0.0738	1.0000	0.7977	0.8038	0.3537	0.0029	0.1843	0.2105
S101	0.1075	0.7977	1.0000	0.9567	0.4809	0.0046	0.2803	0.2902
S157	0.0520	0.8038	0.9567	1.0000	0.3782	0.0008	0.1834	0.2015
B70	0.3327	0.3537	0.4809	0.3782	1.0000	0.0215	0.7767	0.7366
C70	0.1618	0.0029	0.0046	0.0008	0.0215	1.0000	0.0144	0.0642
C101	0.3895	0.1843	0.2803	0.1834	0.7767	0.0144	1.0000	0.9130
C157	0.5413	0.2105	0.2902	0.2015	0.7366	0.0642	0.9130	1.0000

Tabla A.88: Test de Anova en hámster G4C2H2, f_{mel} TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.9128	0.0823	0.8515	0.1036	0.0156	0.1106	0.4007
S70	0.9128	1.0000	0.0881	0.7697	0.1084	0.0229	0.1139	0.3685
S101	0.0823	0.0881	1.0000	0.0708	0.9128	0.4783	0.9142	0.4024
S157	0.8515	0.7697	0.0708	1.0000	0.0849	0.0117	0.0974	0.4155
B70	0.1036	0.1084	0.9128	0.0849	1.0000	0.6047	0.8392	0.3950
C70	0.0156	0.0229	0.4783	0.0117	0.6047	1.0000	0.4252	0.1438
C101	0.1106	0.1139	0.9142	0.0974	0.8392	0.4252	1.0000	0.4702
C157	0.4007	0.3685	0.4024	0.4155	0.3950	0.1438	0.4702	1.0000

Tabla A.89: Test de Anova en hámster G4C2H2, f_{blood}

TEST DE ANOVA EN SO_2

	S28	S70	S101	S157	B70	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.3223	0.4181	0.5944	0.5838	0.0019	0.1738	0.5432
S70	0.3223	1.0000	0.0963	0.1613	0.7913	0.0508	0.0260	0.1582
S101	0.4181	0.0963	1.0000	0.8217	0.2295	0.0006	0.7400	0.9307
S157	0.5944	0.1613	0.8217	1.0000	0.3142	0.0019	0.5768	0.9012
B70	0.5838	0.7913	0.2295	0.3142	1.0000	0.0600	0.1083	0.2970
C70	0.0019	0.0508	0.0006	0.0019	0.0600	1.0000	0.0000	0.0029
C101	0.1738	0.0260	0.7400	0.5768	0.1083	0.0000	1.0000	0.7034
C157	0.5432	0.1582	0.9307	0.9012	0.2970	0.0029	0.7034	1.0000

Tabla A.90: Test de Anova en hámster G4C2H2, SO_2

A.0.10. ANÁLISIS DE VARIANZA EN G4C5H1

TEST DE ANOVA EN z_1

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.1476	0.8540	0.0055	0.3685	0.3823	0.1860	0.0032	0.0509	0.1194	0.7474
S70	0.1476	1.0000	0.1260	0.0482	0.0344	0.0324	0.8739	0.0000	0.0010	0.0050	0.0310
S101	0.8540	0.1260	1.0000	0.0019	0.2273	0.2367	0.1729	0.0004	0.0149	0.0493	0.5461
S157	0.0055	0.0482	0.0019	1.0000	0.0014	0.0011	0.0498	0.0000	0.0000	0.0001	0.0003
B70	0.3685	0.0344	0.2273	0.0014	1.0000	0.9409	0.0368	0.0451	0.3655	0.5760	0.4317
B101	0.3823	0.0324	0.2367	0.0011	0.9409	1.0000	0.0344	0.0279	0.2988	0.4974	0.4624
B157	0.1860	0.8739	0.1729	0.0498	0.0368	0.0344	1.0000	0.0000	0.0011	0.0048	0.0502
C28	0.0032	0.0000	0.0004	0.0000	0.0451	0.0279	0.0000	1.0000	0.1834	0.0939	0.0014
C70	0.0509	0.0010	0.0149	0.0000	0.3655	0.2988	0.0011	0.1834	1.0000	0.6982	0.0423
C101	0.1194	0.0050	0.0493	0.0001	0.5760	0.4974	0.0048	0.0939	0.6982	1.0000	0.1264
C157	0.7474	0.0310	0.5461	0.0003	0.4317	0.4624	0.0502	0.0014	0.0423	0.1264	1.0000

Tabla A.91: Test de Anova en hámster G4C5H1, z_1 TEST DE ANOVA EN z_2

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.6965	0.3468	0.1049	0.3148	0.1597	0.3208	0.3626	0.9705	0.5260	0.7905
S70	0.6965	1.0000	0.6654	0.2627	0.5521	0.3665	0.5928	0.2585	0.6935	0.8122	0.5283
S101	0.3468	0.6654	1.0000	0.3877	0.7686	0.5510	0.8645	0.0922	0.3635	0.8778	0.2206
S157	0.1049	0.2627	0.3877	1.0000	0.6665	0.7921	0.5280	0.0316	0.1202	0.3753	0.0577
B70	0.3148	0.5521	0.7686	0.6665	1.0000	0.8364	0.8964	0.1136	0.3299	0.7031	0.2114
B101	0.1597	0.3665	0.5510	0.7921	0.8364	1.0000	0.7022	0.0468	0.1779	0.5125	0.0928
B157	0.3208	0.5928	0.8645	0.5280	0.8964	0.7022	1.0000	0.0970	0.3356	0.7733	0.2077
C28	0.3626	0.2585	0.0922	0.0316	0.1136	0.0468	0.0970	1.0000	0.4083	0.1735	0.4589
C70	0.9705	0.6935	0.3635	0.1202	0.3299	0.1779	0.3356	0.4083	1.0000	0.5270	0.8367
C101	0.5260	0.8122	0.8778	0.3753	0.7031	0.5125	0.7733	0.1735	0.5270	1.0000	0.3750
C157	0.7905	0.5283	0.2206	0.0577	0.2114	0.0928	0.2077	0.4589	0.8367	0.3750	1.0000

Tabla A.92: Test de Anova en hámster G4C5H1, z_2

TEST DE ANOVA EN *D_kea*

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.8139	0.5509	0.1231	0.4968	0.0726	0.8453	0.0286	0.0212	0.0056	0.3527
S70	0.8139	1.0000	0.4217	0.2148	0.3893	0.0536	0.9397	0.0243	0.0180	0.0048	0.2610
S101	0.5509	0.4217	1.0000	0.0342	0.9010	0.2613	0.3976	0.1672	0.1080	0.0541	0.7738
S157	0.1231	0.2148	0.0342	1.0000	0.0376	0.0010	0.1312	0.0003	0.0003	0.0000	0.0126
B70	0.4968	0.3893	0.9010	0.0376	1.0000	0.3561	0.3550	0.2319	0.1596	0.0880	0.8920
B101	0.0726	0.0536	0.2613	0.0010	0.3561	1.0000	0.0304	0.7736	0.5040	0.3892	0.3631
B157	0.8453	0.9397	0.3976	0.1312	0.3550	0.0304	1.0000	0.0093	0.0068	0.0012	0.2212
C28	0.0286	0.0243	0.1672	0.0003	0.2319	0.7736	0.0093	1.0000	0.5836	0.4296	0.2119
C70	0.0212	0.0180	0.1080	0.0003	0.1596	0.5040	0.0068	0.5836	1.0000	0.9531	0.1346
C101	0.0056	0.0048	0.0541	0.0000	0.0880	0.3892	0.0012	0.4296	0.9531	1.0000	0.0679
C157	0.3527	0.2610	0.7738	0.0126	0.8920	0.3631	0.2212	0.2119	0.1346	0.0679	1.0000

Tabla A.93: Test de Anova en hámster G4C5H1, *D_kea*TEST DE ANOVA EN *D_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.5235	0.6741	0.1221	0.9889	0.5697	0.3685	0.0568	0.9904	0.7781	0.4413
S70	0.5235	1.0000	0.8173	0.1700	0.5604	0.0242	0.5831	0.0017	0.5082	0.7506	0.0565
S101	0.6741	0.8173	1.0000	0.1318	0.6853	0.1853	0.4975	0.0071	0.6611	0.9051	0.1479
S157	0.1221	0.1700	0.1318	1.0000	0.1363	0.0194	0.4120	0.0024	0.1183	0.1352	0.0178
B70	0.9889	0.5604	0.6853	0.1363	1.0000	0.6228	0.3891	0.0785	0.9978	0.7800	0.4881
B101	0.5697	0.0242	0.1853	0.0194	0.6228	1.0000	0.0872	0.0311	0.5770	0.3205	0.6743
B157	0.3685	0.5831	0.4975	0.4120	0.3891	0.0872	1.0000	0.0068	0.3597	0.4718	0.0741
C28	0.0568	0.0017	0.0071	0.0024	0.0785	0.0311	0.0068	1.0000	0.0566	0.0188	0.1188
C70	0.9904	0.5082	0.6611	0.1183	0.9978	0.5770	0.3597	0.0566	1.0000	0.7666	0.4463
C101	0.7781	0.7506	0.9051	0.1352	0.7800	0.3205	0.4718	0.0188	0.7666	1.0000	0.2411
C157	0.4413	0.0565	0.1479	0.0178	0.4881	0.6743	0.0741	0.1188	0.4463	0.2411	1.0000

Tabla A.94: Test de Anova en hámster G4C5H1, *D_col*TEST DE ANOVA EN *Fvol_col*

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.5594	0.9735	0.4508	0.0642	0.5136	0.4290	0.0022	0.0196	0.1547	0.3526
S70	0.5594	1.0000	0.5751	0.8582	0.1586	0.9432	0.8602	0.0077	0.0565	0.3695	0.6852
S101	0.9735	0.5751	1.0000	0.4540	0.0553	0.5450	0.4385	0.0018	0.0160	0.1425	0.3436
S157	0.4508	0.8582	0.4540	1.0000	0.1973	0.7758	0.9880	0.0113	0.0741	0.4559	0.8052
B70	0.0642	0.1586	0.0553	0.1973	1.0000	0.0832	0.1714	0.2801	0.6764	0.5330	0.3154
B101	0.5136	0.9432	0.5450	0.7758	0.0832	1.0000	0.7710	0.0012	0.0196	0.2594	0.5862
B157	0.4290	0.8602	0.4385	0.9880	0.1714	0.7710	1.0000	0.0071	0.0581	0.4257	0.7850
C28	0.0022	0.0077	0.0018	0.0113	0.2801	0.0012	0.0071	1.0000	0.4947	0.0667	0.0307
C70	0.0196	0.0565	0.0160	0.0741	0.6764	0.0196	0.0581	0.4947	1.0000	0.2706	0.1428
C101	0.1547	0.3695	0.1425	0.4559	0.5330	0.2594	0.4257	0.0667	0.2706	1.0000	0.6436
C157	0.3526	0.6852	0.3436	0.8052	0.3154	0.5862	0.7850	0.0307	0.1428	0.6436	1.0000

Tabla A.95: Test de Anova en hámster G4C5H1, *Fvol_col*

TEST DE ANOVA EN D_{fibro}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.8467	0.8237	0.2278	0.2553	0.3089	0.7010	0.0147	0.0824	0.1963	0.0913
S70	0.8467	1.0000	0.9891	0.2652	0.2890	0.3681	0.5144	0.0115	0.0835	0.2316	0.0967
S101	0.8237	0.9891	1.0000	0.2421	0.2660	0.3436	0.4737	0.0073	0.0653	0.1991	0.0795
S157	0.2278	0.2652	0.2421	1.0000	0.9737	0.8306	0.0589	0.0499	0.3369	0.7983	0.4858
B70	0.2553	0.2890	0.2660	0.9737	1.0000	0.8177	0.0749	0.0713	0.3873	0.8351	0.5371
B101	0.3089	0.3681	0.3436	0.8306	0.8177	1.0000	0.0978	0.0399	0.2700	0.6642	0.3801
B157	0.7010	0.5144	0.4737	0.0589	0.0749	0.0978	1.0000	0.0014	0.0161	0.0564	0.0155
C28	0.0147	0.0115	0.0073	0.0499	0.0713	0.0399	0.0014	1.0000	0.3845	0.1366	0.1691
C70	0.0824	0.0835	0.0653	0.3369	0.3873	0.2700	0.0161	0.3845	1.0000	0.5337	0.7160
C101	0.1963	0.2316	0.1991	0.7983	0.8351	0.6642	0.0564	0.1366	0.5337	1.0000	0.7280
C157	0.0913	0.0967	0.0795	0.4858	0.5371	0.3801	0.0155	0.1691	0.7160	0.7280	1.0000

Tabla A.96: Test de Anova en hámster G4C5H1, D_{fibro} TEST DE ANOVA EN D_{macro}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.6711	0.3924	0.0661	0.5172	0.7471	0.3529	0.2901	0.0844	0.3001	0.8683
S70	0.6711	1.0000	0.1845	0.0152	0.2775	0.8765	0.1305	0.1108	0.0175	0.1124	0.7261
S101	0.3924	0.1845	1.0000	0.3314	0.8848	0.1909	0.9674	0.8437	0.4110	0.9217	0.2397
S157	0.0661	0.0152	0.3314	1.0000	0.2964	0.0131	0.2538	0.4380	0.8772	0.3341	0.0173
B70	0.5172	0.2775	0.8848	0.2964	1.0000	0.2917	0.9021	0.7448	0.3610	0.8041	0.3527
B101	0.7471	0.8765	0.1909	0.0131	0.2917	1.0000	0.1402	0.1132	0.0161	0.1167	0.8392
B157	0.3529	0.1305	0.9674	0.2538	0.9021	0.1402	1.0000	0.7891	0.3135	0.8761	0.1831
C28	0.2901	0.1108	0.8437	0.4380	0.7448	0.1132	0.7891	1.0000	0.5183	0.9050	0.1434
C70	0.0844	0.0175	0.4110	0.8772	0.3610	0.0161	0.3135	0.5183	1.0000	0.4131	0.0207
C101	0.3001	0.1124	0.9217	0.3341	0.8041	0.1167	0.8761	0.9050	0.4131	1.0000	0.1525
C157	0.8683	0.7261	0.2397	0.0173	0.3527	0.8392	0.1831	0.1434	0.0207	0.1525	1.0000

Tabla A.97: Test de Anova en hámster G4C5H1, D_{macro} TEST DE ANOVA EN f_{mel}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.2547	0.2695	0.8078	0.6569	0.2271	0.6924	0.7746	0.5282	0.1812	0.7702
S70	0.2547	1.0000	0.0174	0.1202	0.4199	0.9624	0.0566	0.4158	0.6510	0.8495	0.3468
S101	0.2695	0.0174	1.0000	0.3199	0.0893	0.0107	0.3150	0.1643	0.0781	0.0092	0.1286
S157	0.8078	0.1202	0.3199	1.0000	0.4343	0.0982	0.8896	0.5733	0.3404	0.0780	0.5499
B70	0.6569	0.4199	0.0893	0.4343	1.0000	0.4026	0.2915	0.9068	0.7927	0.3193	0.8707
B101	0.2271	0.9624	0.0107	0.0982	0.4026	1.0000	0.0424	0.3943	0.6494	0.7982	0.3245
B157	0.6924	0.0566	0.3150	0.8896	0.2915	0.0424	1.0000	0.4542	0.2365	0.0385	0.4210
C28	0.7746	0.4158	0.1643	0.5733	0.9068	0.3943	0.4542	1.0000	0.7353	0.3131	0.9779
C70	0.5282	0.6510	0.0781	0.3404	0.7927	0.6494	0.2365	0.7353	1.0000	0.5224	0.6849
C101	0.1812	0.8495	0.0092	0.0780	0.3193	0.7982	0.0385	0.3131	0.5224	1.0000	0.2488
C157	0.7702	0.3468	0.1286	0.5499	0.8707	0.3245	0.4210	0.9779	0.6849	0.2488	1.0000

Tabla A.98: Test de Anova en hámster G4C5H1, f_{mel}

TEST DE ANOVA EN f_{blood}

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.0271	0.4478	0.1757	0.0092	0.1182	0.0155	0.1659	0.0577	0.0278	0.1256
S70	0.0271	1.0000	0.2049	0.4153	0.4054	0.8202	0.9293	0.6852	0.8587	0.8188	0.6055
S101	0.4478	0.2049	1.0000	0.6143	0.0531	0.3584	0.1474	0.4782	0.2936	0.1401	0.4560
S157	0.1757	0.4153	0.6143	1.0000	0.1208	0.6262	0.3349	0.7736	0.5474	0.3062	0.7880
B70	0.0092	0.4054	0.0531	0.1208	1.0000	0.3351	0.4102	0.2757	0.3396	0.5319	0.2018
B101	0.1182	0.8202	0.3584	0.6262	0.3351	1.0000	0.7463	0.8678	0.9490	0.6591	0.8124
B157	0.0155	0.9293	0.1474	0.3349	0.4102	0.7463	1.0000	0.6074	0.7824	0.8707	0.5207
C28	0.1659	0.6852	0.4782	0.7736	0.2757	0.8678	0.6074	1.0000	0.8115	0.5445	0.9612
C70	0.0577	0.8587	0.2936	0.5474	0.3396	0.9490	0.7824	0.8115	1.0000	0.6943	0.7457
C101	0.0278	0.8188	0.1401	0.3062	0.5319	0.6591	0.8707	0.5445	0.6943	1.0000	0.4616
C157	0.1256	0.6055	0.4560	0.7880	0.2018	0.8124	0.5207	0.9612	0.7457	0.4616	1.0000

Tabla A.99: Test de Anova en hámster G4C5H1, f_{blood} TEST DE ANOVA EN SO_2

	S28	S70	S101	S157	B70	B101	B157	C28	C70	C101	C157
S28	1.0000	0.3948	0.1090	0.0028	0.5252	0.3563	0.0068	0.1202	0.4085	0.9149	0.2282
S70	0.3948	1.0000	0.0189	0.0446	0.8247	0.9208	0.1292	0.4171	0.9295	0.5444	0.0632
S101	0.1090	0.0189	1.0000	0.0000	0.0307	0.0192	0.0000	0.0044	0.0140	0.1891	0.9525
S157	0.0028	0.0446	0.0000	1.0000	0.0231	0.0632	0.3292	0.3851	0.0254	0.0162	0.0002
B70	0.5252	0.8247	0.0307	0.0231	1.0000	0.7512	0.0676	0.3124	0.8833	0.6765	0.0912
B101	0.3563	0.9208	0.0192	0.0632	0.7512	1.0000	0.1884	0.4651	0.8491	0.4770	0.0521
B157	0.0068	0.1292	0.0000	0.3292	0.0676	0.1884	1.0000	0.7871	0.0766	0.0491	0.0005
C28	0.1202	0.4171	0.0044	0.3851	0.3124	0.4651	0.7871	1.0000	0.3547	0.1909	0.0168
C70	0.4085	0.9295	0.0140	0.0254	0.8833	0.8491	0.0766	0.3547	1.0000	0.5797	0.0600
C101	0.9149	0.5444	0.1891	0.0162	0.6765	0.4770	0.0491	0.1909	0.5797	1.0000	0.2551
C157	0.2282	0.0632	0.9525	0.0002	0.0912	0.0521	0.0005	0.0168	0.0600	0.2551	1.0000

Tabla A.100: Test de Anova en hámster G4C5H1, SO_2

REFERENCIAS

CAPÍTULO 0

- [1] World-Health-Organization, “Leishmaniasis,” url <https://goo.gl/2YCFS5>, 2018.
- [2] C. Rios-González, J. Flores, and M. Calvopiña, “Conocimientos sobre leishmania spp. y leishmaniasis en estudiantes de medicina de latinoamérica, 2016,” *Revista chilena de infectología*, vol. 33, no. 4, pp. 481–482, 2016.
- [3] W. H. Organization *et al.*, “Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the who expert committee on the control of leishmaniasis.” in *Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniasis*. World Health Organization, 2010.
- [4] L. Casas, B. Castaneda, and S. Treuillet, “Imaging technologies applied to chronic wounds: a survey,” in *Proceedings of the 4th International Symposium on Applied Sciences in Biomedical and Communication Technologies*. ACM, 2011, p. 167.
- [5] M. Herrera, Y. A. Aguilar, Z. V. Rueda, C. Muskus, and L. A. Vélez, “Comparison of serological methods with pcr-based methods for the diagnosis of community-acquired pneumonia caused by atypical bacteria,” *Journal of negative results in biomedicine*, vol. 15, no. 1, p. 3, 2016.
- [6] A. M. Montalvo, J. Fraga, I. Montano, L. Monzote, G. V. d. Auwera, M. Marín, and C. Muskus, “Molecular identification of leishmania spp. in clinical isolates from colombia based on hsp 70 gene,” *Biomédica*, vol. 36, pp. 37–44, 2016.
- [7] M. J. Pedras, M. Orsini, M. Castro, V. M. Passos, and A. Rabello, “Antibody subclass profile against leishmania braziliensis and leishmania amazonensis in the diagnosis and follow-up of mucosal leishmaniasis,” *Diagnostic microbiology and infectious disease*, vol. 47, no. 3, pp. 477–485, 2003.
- [8] A. Teixeira-Carvalho, F. M. F. Campos, S. M. Geiger, R. D. R. Rocha, F. F. de Araújo, D. M. Vitelli-Avelar, M. C. Andrade, M. S. S. Araújo, E. M. Lemos, A. B. d. F. C. Proietti *et al.*, “Fc-triplex chagas/leish igg1: a multiplexed flow cytometry method for differential serological diagnosis of chagas disease and leishmaniasis,” *PloS one*, vol. 10, no. 4, p. e0122938, 2015.
- [9] S. Telles, T. Abate, T. Slezzynger, and D. A. Henriquez, “Trypanosoma cruzi ubiquitin as an antigen in the differential diagnosis of chagas disease and leishmaniasis,” *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 37, no. 1, pp. 23–28, 2003.
- [10] J. Marín, D. Urrea, C. Muskus, M. C. Echeverry, A. M. Mejía, and O. Triana, “Curvas de fusión de regiones genómicas específicas: una herramienta prometedora para el diagnóstico y tipificación de las especies causantes de la leishmaniasis cutánea en colombia,” *Biomédica*, vol. 37, no. 4, pp. 538–547, 2017.
- [11] N. sesión plenaria. (2007) WHA60.13 Control de la leishmaniasis. [Online]. Available: https://www.who.int/neglected_diseases/mediacentre/WHA_60.13_Esp.pdf
- [12] P. Avci, M. Sadasivam, A. Gupta, W. C. D. Melo, Y.-Y. Huang, R. Yin, R. Chandran, R. Kumar, A. Otufowora, T. Nyame, and M. R. Hamblin, “Animal models of skin disease for drug discovery,” *Expert Opinion on Drug Discovery*, vol. 8, no. 3, pp. 331–355, 2013, pMID: 23293893. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.761202>
- [13] S. M. Robledo, L. M. Carrillo, A. Daza, A. M. Restrepo, D. L. Muñoz, J. Tobón, J. D. Murillo, A. López, C. Ríos, C. V. Mesa *et al.*, “Cutaneous leishmaniasis in the dorsal skin of hamsters: a useful model for the screening of antileishmanial drugs,” 2012.

- [14] R. Laboratories. (2018) LVG Golden Syrian Hamster. [Online]. Available: <https://www.criver.com/products-services/find-model/lvg-golden-syrian-hamster?region=3611>
- [15] J. R. Matias and N. Orentreich, "The hamster ear sebaceous glands. i. examination of the regional variation by stripped skin planimetry," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 81, no. 1, pp. 43–46, 1983.
- [16] A. Weissmann, J. Bowden, B. Frank, S. N. Horwitz, and P. Frost, "Morphometric studies of the hamster flank organ: an improved model to evaluate pharmacologic effects on sebaceous glands," *Journal of investigative dermatology*, vol. 82, no. 5, pp. 522–525, 1984.
- [17] S. Anand, N. Sujatha, V. Narayanamurthy, V. Seshadri, and R. Poddar, "Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer—a pilot study," *Optics and Lasers in Engineering*, vol. 53, pp. 1–5, 2014.
- [18] T. Dinh, S. Panasyuk, C. Jiang, J. Freeman, A. PANASYUK, M. Nerney, R. Lew, D. Brand, C. Lima, J. GIURINI *et al.*, "The use of medical hyperspectral imaging (mhsi) to evaluate microcirculatory changes in diabetic foot ulcers and predict clinical outcomes," *Diabetes*, vol. 55, 2006.
- [19] A. Veves, L. Khaodhiar, L. Panasyuk, C. Jiang, J. Freeman, A. Panasyuk *et al.*, "The use of medical hyperspectral imaging (mhsi) to evaluate microcirculatory changes and predict clinical outcomes: application to diabetic foot ulcers. poster p-16 at the society of vascular medicine and biology 17th annual scientific session, may 2006, philadelphia, pa," *Vascular Medicine*, vol. 11, no. S1, p. S7, 2006.
- [20] L. Azzi, M. El-Alfy, C. Martel, and F. Labrie, "Gender differences in mouse skin morphology and specific effects of sex steroids and dehydroepiandrosterone," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 124, no. 1, pp. 22–27, 2005.
- [21] K. Calabro, A. Curtis, J.-R. Galarneau, T. Krucker, and I. J. Bigio, "Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models," *Journal of biomedical optics*, vol. 16, no. 1, p. 011008, 2011.
- [22] A. Curtis, K. Calabro, J.-R. Galarneau, I. J. Bigio, and T. Krucker, "Temporal variations of skin pigmentation in c57bl/6 mice affect optical bioluminescence quantitation," *Molecular Imaging and Biology*, vol. 13, no. 6, pp. 1114–1123, 2011.
- [23] C. Sabino, A. Deana, D. Silva, C. França, T. Yoshimura, and M. Ribeiro, "Optical properties of mice skin for optical therapy relevant wavelengths: influence of gender and pigmentation," in *Mechanisms for Low-Light Therapy X*, vol. 9309. International Society for Optics and Photonics, 2015, p. 93090D.
- [24] C. P. Sabino, A. M. Deana, T. M. Yoshimura, D. F. da Silva, C. M. França, M. R. Hamblin, and M. S. Ribeiro, "The optical properties of mouse skin in the visible and near infrared spectral regions," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 160, pp. 72–78, 2016.
- [25] X. Zhong, J. Wang, R. Shi, and D. Zhu, "Reflectance spectroscopy for evaluating optical clearing efficacy of skin *in vivo*," no. February, p. 85800P, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2006011>
- [26] G. Zonios and A. Dimou, "Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties," *Optics Express*, vol. 14, no. 19, p. 8661, 2006. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-14-19-8661>

CAPÍTULO 1

- [1] C. Cucci, J. K. Delaney, and M. Picollo, "Reflectance Hyperspectral Imaging for Investigation of Works of Art: Old Master Paintings and Illuminated Manuscripts," *Accounts of Chemical Research*, vol. 49, no. 10, pp. 2070–2079, 2016.

- [2] S. Legrand, F. Vanmeert, G. Van der Snickt, M. Alfeld, W. De Nolf, J. Dik, and K. Janssens, "Examination of historical paintings by state-of-the-art hyperspectral imaging methods: from scanning infra-red spectroscopy to computed X-ray laminography," *Heritage Science*, vol. 2, no. 1, p. 13, 2014. [Online]. Available: <http://heritagesciencejournal.springeropen.com/articles/10.1186/2050-7445-2-13>
- [3] F. Rosi, C. Miliani, R. Braun, R. Harig, D. Sali, B. G. Brunetti, and A. Sgamellotti, "Noninvasive analysis of paintings by mid-infrared hyperspectral imaging," *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 52, no. 20, pp. 5258–5261, 2013.
- [4] M. Mirzaie, R. Darvishzadeh, A. Shakiba, A. A. Matkan, C. Atzberger, and A. Skidmore, "Comparative analysis of different uni- and multi-variate methods for estimation of vegetation water content using hyper-spectral measurements," *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, vol. 26, no. 1, pp. 1–11, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jag.2013.04.004>
- [5] C. Zhang and Z. Pan, "Remote Estimation of Leaf Water Content Using Spectral Index Derived From Hyperspectral Data," no. Iset, pp. 20–23, 2015.
- [6] H. Huang, L. Liu, and M. Ngadi, "Recent Developments in Hyperspectral Imaging for Assessment of Food Quality and Safety," *Sensors*, vol. 14, no. 4, pp. 7248–7276, 2014. [Online]. Available: <http://www.mdpi.com/1424-8220/14/4/7248/>
- [7] D. Wu and D.-W. Sun, "Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review — Part I: Fundamentals," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 19, pp. 1–14, 2013. [Online]. Available: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856413000775>
- [8] V. Miljković and D. Gajski, "Adaptation of industrial hyperspectral line scanner for archaeological applications," *International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences - ISPRS Archives*, vol. 41, no. July, pp. 343–345, 2016.
- [9] D. Vincke, R. Miller, É. Stassart, M. Otte, P. Dardenne, M. Collins, K. Wilkinson, J. Stewart, V. Baeten, and J. A. Fernández Pierna, "Analysis of collagen preservation in bones recovered in archaeological contexts using NIR Hyperspectral Imaging," *Talanta*, vol. 125, pp. 181–188, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.044>
- [10] S. Vyas, J. Meyerle, and P. Burlina, "Non-invasive estimation of skin thickness from hyperspectral imaging and validation using echography," *Computers in Biology and Medicine*, vol. 57, pp. 173–181, 2015. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compbiomed.2014.12.010>
- [11] G. Lu and B. Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 19, no. 1, p. 10901, 2014. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.19.1.010901>
- [12] N. Shaikh, Rubina and Prabitha, Vasumathi G and Dora, Tapas Kumar and Chopra, Supriya and Maheshwari, Amita and Deodhar, Kedar and Rekhi, Bharat and Sukumar, Nita and Krishna, C Murali and Subhash, "A comparative evaluation of diffuse reflectance and Raman spectroscopy in the detection of cervical cancer," *Journal of Biophotonics*, vol. 10, no. 2, pp. 242–252, 2017.
- [13] R. Jolivot, "Development of an imaging system dedicated to the acquisition, analysis and multispectral characterisation of skin lesions," Ph.D. dissertation, Université de Bourgogne, 2011.
- [14] D. Yudovsky, A. Nouvong, K. Schomacker, and L. Pilon, "Monitoring temporal development and healing of diabetic foot ulceration using hyperspectral imaging," *Journal of Biophotonics*, vol. 4, no. 7-8, pp. 565–576, 2011.
- [15] J. Galeano, P. JoseTapia-Escalante, S. M. Pérez-Buitrago, Y. Hernández-Hoyos, L. F. Arias-Muñoz, A. Zarzycki, J. Garzón-Reyes, and F. Marzani, "Light-Tissue Interaction Model for the Analysis of Skin Ulcer Multi-spectral Images," vol. 27, 2017. [Online]. Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-68195-5>

- [16] D. Yudovsky and L. Pilon, "Simple and accurate expressions for diffuse reflectance of semi-infinite and two-layer absorbing and scattering media," *Applied optics*, vol. 48, no. 35, pp. 6670–6683, 2009. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20011007>
- [17] D. Yudovsky, A. Nouvong, and L. Pilon, "Hyperspectral Imaging in Diabetic Foot Wound Care," vol. 4, no. 5, pp. 1099–1113, 2010.
- [18] G. Zonios, J. Bykowski, and N. Kollias, "Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 117, no. 6, pp. 1452–1457, 2001. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.01577.x>
- [19] G. Zonios and A. Dimou, "Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties," *Optics Express*, vol. 14, no. 19, p. 8661, 2006. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-14-19-8661>
- [20] —, "Simple two-layer reflectance model for biological tissue applications: lower absorbing layer," *Applied Optics*, vol. 49, no. 27, pp. 5026–5031, 2010. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ao-49-27-5026>
- [21] Z. Chen, X. Wang, and R. Liang, "RGB-NIR multispectral camera," *Optics Express*, vol. 22, no. 5, pp. 4985–4994, 2014. [Online]. Available: <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-22-5-4985>
- [22] L. Fauch, E. Nippolainen, V. Teplov, and A. A. Kamshilin, "Recovery of reflection spectra in a multispectral imaging system with light emitting diodes," *Optics Express*, vol. 18, no. 22, p. 23394, 2010. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-18-22-23394>
- [23] W. Feng, R. Shi, C. Zhang, T. Yu, and D. Zhu, "Lookup-table-based inverse model for mapping oxygen concentration of cutaneous microvessels using hyperspectral imaging," *Optics Express*, vol. 25, no. 4, p. 3481, 2017. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=oe-25-4-3481>
- [24] J. Herrera-Ramírez, M. Vilaseca, and J. Pujol, "Portable multispectral imaging system based on light-emitting diodes for spectral recovery from 370 to 1630 nm," *Applied Optics*, vol. 53, no. 14, pp. 3131–3141, 2014. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ao-53-14-3131>
- [25] S. L. Jacques, R. Samatham, and N. Choudhury, "Rapid spectral analysis for spectral imaging," *Biomed Opt Express*, vol. 1, no. 1, pp. 157–164, 2010. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21258455>
- [26] L. Kong, S. Sprigle, D. Yi, F. Wang, C. Wang, and F. Liu, "Developing handheld real time multispectral imager to clinically detect erythema in darkly pigmented skin," *Multimodal Biomedical Imaging V*, vol. 7557, 2010. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.843943>
- [27] L. Kong, D. Yi, S. Sprigle, F. Wang, C. Wang, F. Liu, A. Adibi, and R. Tummala, "Single sensor that outputs narrowband multispectral images," *Journal of biomedical optics*, vol. 15, no. 1, p. 10502, 2010. [Online]. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2917461&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- [28] O. Lee, J. Kim, G. Park, M. Kim, S. Son, S. Ha, and C. Oh, "Non-invasive assessment of cutaneous wound healing using fluorescent imaging," *Skin Research and Technology*, vol. 21, no. 1, pp. 108–113, 2015.
- [29] M. A. Calin, S. V. Parasca, R. Savastru, and D. Manea, "Characterization of burns using hyperspectral imaging technique - A preliminary study," *Burns*, vol. 41, no. 1, pp. 118–124, 2015. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2014.05.002>
- [30] M. S. Chin, B. B. Freniere, Y.-C. Lo, J. H. Saleeby, S. P. Baker, H. M. Strom, R. A. Ignatz, J. F. Lalikos, and T. J. Fitzgerald, "Hyperspectral imaging for early detection of oxygenation and perfusion changes in irradiated skin," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 17, no. 2, p. 26010, 2012. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.17.2.026010>

- [31] L. L. Denstedt, M., Pukstad, B. S., Paluchowski, L. A., Hernandez-Palacios, J. E., & Randeberg, "Hyperspectral imaging as a diagnostic tool for chronic skin ulcers," *Photonic Therapeutics and Diagnostics IX*, vol. 8565, p. 85650N, 2013.
- [32] M. A. Fadzil, H. Nugroho, R. Jolivot, F. Marzani, N. Shamsuddin, and R. Baba, "Modelling of reflectance spectra of skin phototypes iii," in *International Visual Informatics Conference*. Springer, 2011, pp. 352–360.
- [33] F. Galeano, J., Jolivot, R., Marzani, "Analysis of human skin hyper-spectral images by non-negative matrix factorization," in *Advances in Soft Computing*, 2011, pp. 431–442.
- [34] R. Jolivot, Y. Benezeth, and F. Marzani, "Skin parameter map retrieval from a dedicated multispectral imaging system applied to dermatology/cosmetology," *International Journal of Biomedical Imaging*, vol. 2013, 2013.
- [35] P. Mitra, J., Jolivot, R., Marzani, F., Vabres, "Source separation on hyperspectral cube applied to dermatology," in *SPIE Medical Imaging meeting Vol. 7624*, 2010, pp. 762 431–1.
- [36] N. and others Douplik, Alexandre and Zanati, Simon and Saiko, Guennadi and Streutker, Catherine and Loshchenov, Maxim and Adler, Desmond and Cho, Sarah and Chen, Dean and Cirocco, Maria and Marcon, "Diffuse reflectance spectroscopy in Barrett's Esophagus: developing a large field-of-view screening method discriminating dysplasia from metaplasia," *Journal of biophotonics*, vol. 7, no. 5, pp. 304–311, 2014.
- [37] F. Galeano, JA and Jolivot, Romuald and Marzani, "Quantification of melanin and hemoglobin in human skin from multispectral image acquisition: use of a neuronal network combined to a non-negative matrix factorization," *Applied and Computational Mathematics*, vol. 11, no. 2, pp. 257–270, 2012.
- [38] K. Bailey, Maria J and Verma, Nishant and Fradkin, Leonid and Lam, Sylvia and MacAulay, Calum and Poh, Catherine and Markey, Mia K and Sokolov, "Detection of precancerous lesions in the oral cavity using oblique polarized reflectance spectroscopy: a clinical feasibility study," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 22, no. 6, pp. 065 002–065 002, 2017.
- [39] T. J. De Boer, LL and Molenkamp, BG and Bydlon, TM and Hendriks, BHW and Wesseling, J and Sterenborg, HJCM and Ruers, "Fat/water ratios measured with diffuse reflectance spectroscopy to detect breast tumor boundaries," *Breast cancer research and treatment*, vol. 152, no. 3, pp. 509–518, 2015.
- [40] Q. Wang, Tianheng and Yang, Yi and Alqasemi, Umar and Kumavor, Patrick D and Wang, Xiaohong and Sanders, Melinda and Brewer, Molly and Zhu, "Characterization of ovarian tissue based on quantitative analysis of photoacoustic microscopy images," *Biomedical optics express*, vol. 4, no. 12, pp. 2763–2768, 2013.
- [41] S. Anand, N. Sujatha, V. B. Narayanamurthy, V. Seshadri, and R. Poddar, "Diffuse reflectance spectroscopy for monitoring diabetic foot ulcer - A pilot study," *Optics and Lasers in Engineering*, vol. 53, pp. 1–5, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.optlaseng.2013.07.020>
- [42] O.-h. Lin, J.-y. Lai, and H.-y. Tsai, "Preventing Diabetes Extremity Vascular Disease with Blood Oxygen Saturation Images," *International Journal of Instrumentation Science*, vol. 2A, no. A, pp. 1–7, 2013.
- [43] S. Vyas, A. Banerjee, L. Garza, S. Kang, and P. Burlina, "Hyperspectral signature analysis of skin parameters," *Proc*, vol. 8670, p. 867002, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2001428>
- [44] R. R. Anderson and J. A. Parrish, "The optics of human skin," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 77, no. 1, pp. 13–19, 1981. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1111/1523-1747.ep12479191>
- [45] J. L. Reuss, "Multilayer modeling of reflectance pulse oximetry," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 52, no. 2, pp. 153–159, 2005.
- [46] J. M. Schmitt, G. X. Zhou, E. C. Walker, and R. T. Wall, "Multilayer model of photon diffusion in skin," *Journal of the Optical Society of America. A, Optics and image science*, vol. 7, no. 11, pp. 2141–2153, 1990.

- [47] R. H. Wilson, "Mathematical models of light transport in biological tissues for quantitative clinical diagnostic applications," Ph.D. dissertation, University of Michigan, 2012.
- [48] S. J. Wirkert, H. Kenngott, B. Mayer, P. Mietkowski, M. Wagner, P. Sauer, N. T. Clancy, D. S. Elson, and L. Maier-Hein, "Robust near real-time estimation of physiological parameters from megapixel multispectral images with inverse Monte Carlo and random forest regression," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, vol. 11, no. 6, pp. 909–917, 2016.
- [49] R. X. Xu, D. W. Allen, J. Huang, S. Gnyawali, J. Melvin, H. Elgharably, G. Gordillo, K. Huang, V. Bergdall, M. Litorja, J. P. Rice, J. Hwang, and C. K. Sen, "Developing digital tissue phantoms for hyperspectral imaging of ischemic wounds," *Biomedical Optics Express*, vol. 3, no. 6, p. 1433, 2012. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/boe/abstract.cfm?uri=boe-3-6-1433>
- [50] G. M. Palmer and N. Ramanujam, "Monte Carlo-based inverse model for calculating tissue optical properties . Part I : Theory and validation on synthetic phantoms," *Applied optics*, vol. 45, no. 5, pp. 1062–1071, 2006.
- [51] S. V. Patwardhan, A. P. Dhawan, and P. A. Relue, "Monte Carlo simulation of light-tissue interaction: Three-dimensional simulation for trans-illumination-based imaging of skin lesions," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 52, no. 7, pp. 1227–1236, 2005.
- [52] A. D. Kim and M. Moscoso, "Light transport in two-layer tissues," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, no. 3, p. 034015, 2005. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.1925227>
- [53] S. Moon, S. Lee, and S. Chin, "Physiological parameters for skin rendering using spectrophotometer," *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, vol. 6, no. 1, pp. 185–194, 2014.
- [54] S. Takatani and M. D. Graham, "Theoretical analysis of diffuse reflectance from a two-layer tissue model," *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol. 26, no. 12, pp. 656–664, 1979.
- [55] L. O. Svaasand, L. T. Norvang, E. J. Fiskerstrand, E. K. Stopps, M. W. Berns, and J. S. Nelson, "Tissue parameters determining the visual appearance of normal skin and port-wine stains," *Lasers In Medical Science*, vol. 10, no. 1, pp. 55–65, 1995.
- [56] L. F. A. Douven and G. W. Lucassen, "Retrieval of optical properties of skin from measurement and modeling the diffuse reflectance," vol. 3914, pp. 312–323, 2000. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1117/12.388058>
- [57] I. V. Meglinski and S. J. Matcher, "Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions," *Physiological Measurement*, vol. 23, no. 4, pp. 741–753, 2002.
- [58] S. Vyas, A. Banerjee, and P. Burlina, "Machine learning methods for in vivo skin parameter estimation," *Proceedings of the 26th IEEE International Symposium on Computer-Based Medical Systems*, pp. 524–525, 2013.
- [59] C. Magnain, M. Elias, and J.-M. Frigerio, "Skin color modeling using the radiative transfer equation solved by the auxiliary function method: inverse problem." *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision*, vol. 25, no. 7, pp. 1737–43, 2008. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18594632>
- [60] J. V. Beck and K. A. Woodbury, "Inverse problems and parameter estimation: Integration of measurements and analysis," *Measurement Science and Technology*, vol. 9, no. 6, pp. 839–847, 1998.
- [61] S. Vyas, H. Van Nguyen, P. Burlina, A. Banerjee, L. Garza, and R. Chellappa, "Computational modeling of skin reflectance spectra for biological parameter estimation through machine learning," *Proceedings of SPIE*, vol. 8390, pp. 83 901B–83 901B–7, 2012. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?articleid=1354565>

- [62] S. Vyas, “Physics-based Computational Modeling of Human Skin using Machine Learning for Physiological Parameter Estimation,” Ph.D. dissertation, Johns Hopkins University, 2014.
- [63] L. Casas, B. Castaneda, and S. Treuillet, “Imaging technologies applied to chronic wounds: a survey,” in *Proceedings of the 4th International Symposium on Applied Sciences in Biomedical and Communication Technologies*. ACM, 2011, p. 167.
- [64] G. Spentzouris and N. Labropoulos, “The evaluation of lower-extremity ulcers,” *Seminars in Interventional Radiology*, vol. 26, no. 4, pp. 286–295, 2009.
- [65] S. A. Eming, P. Martin, and M. Tomic-Canic, “Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation,” *Science Translational Medicine*, vol. 6, no. 265, 2014.
- [66] L. Rodriguez-Menocal, S. Shareef, M. Salgado, A. Shabbir, and E. Van Badiavas, “Role of whole bone marrow, whole bone marrow cultured cells, and mesenchymal stem cells in chronic wound healing,” *Stem Cell Research & Therapy*, vol. 6, no. 1, p. 24, 2015. [Online]. Available: <http://stemcellres.com/content/6/1/24>
- [67] M. Kuck, H. Strese, S. A. Alawi, M. C. Meinke, J. W. Fluhr, G. J. Burbach, M. Krah, W. Sterry, and J. Lademann, “Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing,” *Skin Research and Technology*, vol. 20, no. 1, pp. 1–7, 2014.
- [68] J. Liu, G. Chinga-Carrasco, F. Cheng, W. Xu, S. Willför, K. Syverud, and C. Xu, “Hemicellulose-reinforced nanocellulose hydrogels for wound healing application,” *Cellulose*, vol. 23, no. 5, pp. 3129–3143, 2016.
- [69] M. Callieri, P. Cignoni, P. Pingi, and R. Scopigno, “Derma : Monitoring the Evolution of Skin Lesions with a 3D System,” *Vision, Model. Visualizat*, pp. 167–174, 2003. [Online]. Available: http://vcg.isti.cnr.it/publications/papers/derma{}_vmv.pdf
- [70] S. Ud-Din, A. Sebastian, P. Giddings, J. Colthurst, S. Whiteside, J. Morris, R. Nuccitelli, C. Pullar, M. Baguneid, and A. Bayat, “Angiogenesis is induced and wound size is reduced by electrical stimulation in an acute wound healing model in human skin,” *PLoS ONE*, vol. 10, no. 4, pp. 1–22, 2015.
- [71] A. Yadollahpour, J. Mostafa, R. Samaneh, and R. Zohreh, “Ultrasound therapy for wound healing: A review of current techniques and mechanisms of action,” *Journal of Pure and Applied Microbiology*, vol. 8, no. 5, pp. 4071–4085, 2014.
- [72] A. Rowledge, N. Frescos, C. Miller, E. Perry, and W. McGuinness, “The diabetic foot ulcer periwound: a comparison of visual assessment and a skin diagnostic device.” *Wound Practice & Research*, vol. 24, no. 3, pp. 160–168, 2016. [Online]. Available: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=rzh&AN=118452485&lang=nl&site=ehost-live&scope=site>
- [73] G. M. Zomerlei, T. A., Gordillo, “Mixed-Species Biofilm Compromises Wound Healing by Disrupting Epidermal Barrier Function,” 2017.
- [74] S. Ud-Din and A. Bayat, “Non-invasive objective devices for monitoring the inflammatory, proliferative and remodelling phases of cutaneous wound healing and skin scarring,” *Experimental Dermatology*, vol. 25, no. 8, pp. 579–585, 2016.
- [75] W. J. Jeffcoate, D. J. Clark, N. Savic, P. I. Rodmell, R. J. Hinchliffe, A. Musgrove, and F. L. Game, “Use of HSI to measure oxygen saturation in the lower limb and its correlation with healing of foot ulcers in diabetes,” *Diabetic Medicine*, vol. 32, no. 6, pp. 798–802, 2015.
- [76] D. Nouri, Y. Lucas, S. Treuillet, R. Jolivot, and F. Marzani, “Colour and multispectral imaging for wound healing evaluation in the context of a comparative preclinical study,” p. 866923, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2003943>
- [77] M. G. Sowa, W.-C. Kuo, A. C.-T. Ko, and D. G. Armstrong, “Review of near-infrared methods for wound assessment,” *Journal of Biomedical Optics*, vol. 21, no. 9, p. 91304, 2016. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.21.9.091304>

- [78] M. Ewerlöf, E. G. Salerud, T. Strömberg, and M. Larsson, “Estimating skin blood saturation by selecting a subset of hyperspectral imaging data,” *SPIE Photonics West BIOS*, vol. 9328, no. March 2, p. 93280J, 2015. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2075292>
- [79] N. Pazyar, R. Yaghoobi, E. Rafiee, A. Mehrabian, and A. Feily, “Skin wound healing and phytomedicine: A review,” *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 27, no. 6, pp. 303–310, 2014.
- [80] N. Neittaanmäki-Perttu, *Diagnosis and treatment of premalignant changes of photodamaged skin: Novel hyperspectral imaging and new therapeutical aspects*, 2015, vol. 20, no. 2.
- [81] S. Prigent, X. Descombes, D. Zugaj, and J. Z. S. Anly, “Spectral Analysis and Unsupervised Svm Classification for Skin Hyper-Pigmentation Classification,” in *In Hyperspectral Image and Signal Processing: Evolution in Remote Sensing (WHISPERS)*, 2010, pp. 1–4.
- [82] F. Vasefi, N. MacKinnon, R. B. Saager, A. J. Durkin, R. Chave, E. H. Lindsley, and D. L. Farkas, “Polarization-sensitive hyperspectral imaging in vivo: A multimode dermoscope for skin analysis,” *Scientific Reports*, vol. 4, pp. 1–10, 2014.
- [83] C. P. Sabino, A. M. Deana, T. M. Yoshimura, D. F. da Silva, C. M. França, M. R. Hamblin, and M. S. Ribeiro, “The optical properties of mouse skin in the visible and near infrared spectral regions,” *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 160, pp. 72–78, 2016.
- [84] K. Calabro, A. Curtis, J.-R. Galarneau, T. Krucker, and I. J. Bigio, “Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models,” *Journal of biomedical optics*, vol. 16, no. 1, p. 011008, 2011.
- [85] X. Zhong, J. Wang, R. Shi, and D. Zhu, “Reflectance spectroscopy for evaluating optical clearing efficacy of skin *in vivo*,” no. February, p. 85800P, 2013. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.2006011>
- [86] C. Sabino, A. Deana, D. Silva, C. França, T. Yoshimura, and M. Ribeiro, “Optical properties of mice skin for optical therapy relevant wavelengths: influence of gender and pigmentation,” in *Mechanisms for Low-Light Therapy X*, vol. 9309. International Society for Optics and Photonics, 2015, p. 93090D.
- [87] A. Curtis, K. Calabro, J.-R. Galarneau, I. J. Bigio, and T. Krucker, “Temporal variations of skin pigmentation in c57bl/6 mice affect optical bioluminescence quantitation,” *Molecular Imaging and Biology*, vol. 13, no. 6, pp. 1114–1123, 2011.
- [88] S. Nylén and L. Eidsmo, “Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis,” *Parasite immunology*, vol. 34, no. 12, pp. 551–561, 2012.
- [89] S. Nylén and L. Eidsmo, “Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis,” *Parasite Immunology*, vol. 34, no. 12, pp. 551–561, 2012.
- [90] “Knowing the difference between scabs and eschar,” <https://www.woundsource.com/blog/knowing-difference-between-scabs-and-eschar>, accessed: 2019-06-30.

CAPÍTULO 2

- [1] G. Lu and B. Fei, “Medical hyperspectral imaging: a review,” *Journal of Biomedical Optics*, vol. 19, no. 1, p. 10901, 2014. [Online]. Available: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?doi=10.1117/1.JBO.19.1.010901>
- [2] J. Galeano, S. Perez, Y. Montoya, D. Botina, and J. Garzón, “Blind source separation of ex-vivo aorta tissue multispectral images,” *Biomedical Optics Express*, vol. 6, no. 5, p. 1589, 2015. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=boe-6-5-1589>

- [3] G. Zonios and A. Dimou, “Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties,” *Optics Express*, vol. 14, no. 19, p. 8661, 2006. [Online]. Available: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-14-19-8661>
- [4] —, “Modeling diffuse reflectance from homogeneous semi-infinite turbid media for biological tissue applications: a monte carlo study,” *Biomedical optics express*, vol. 2, no. 12, pp. 3284–3294, 2011.
- [5] D. Yudovsky and L. Pilon, “Simple and accurate expressions for diffuse reflectance of semi-infinite and two-layer absorbing and scattering media,” *Applied optics*, vol. 48, no. 35, pp. 6670–6683, 2009. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20011007>
- [6] P. Scott, “Optical absorption of hemoglobin,” <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin>, 1999.
- [7] S. L. Jacques, R. Samatham, and N. Choudhury, “Rapid spectral analysis for spectral imaging,” *Biomedical optics express*, vol. 1, no. 1, pp. 157–164, 2010.
- [8] “Optical absorption of hemoglobin,” <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>, accessed: 2019-06-30.
- [9] R. Van Veen, H. J. Sterenborg, A. Pifferi, A. Torricelli, E. Chikoidze, and R. Cubeddu, “Determination of visible near-ir absorption coefficients of mammalian fat using time-and spatially resolved diffuse reflectance and transmission spectroscopy,” *Journal of biomedical optics*, vol. 10, no. 5, p. 054004, 2005.
- [10] “Optical absorption of fat,” <https://omlc.org/spectra/fat/>, accessed: 2019-06-30.
- [11] C. Mätzler, “Matlab functions for mie scattering and absorption, version 2,” *IAP Res. Rep*, vol. 8, no. 1, p. 9, 2002.
- [12] B. Yann and G. Howard, “Cell size as a determinant of the clone-forming ability of human keratinocytes,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 82, no. 16, pp. 5390–5394, 1985.
- [13] T. Ushiki, “The three-dimensional ultrastructure of the collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers: a review,” *Kaibogaku zasshi. Journal of anatomy*, vol. 67, no. 3, pp. 186–199, 1992.
- [14] R. A. Freitas Jr, “Nanomedicine, volume i: Basic capabilities. landes bioscience, georgetown, tx, 1999,” *Google Scholar*, 1999.
- [15] J. Arranz de la Peña and A. Parra Truyol, “Algoritmos genéticos,” *Universidad Carlos III*, 2007.
- [16] F. Galeano, JA and Jolivot, Romuald and Marzani, “Quantification of melanin and hemoglobin in human skin from multispectral image acquisition: use of a neuronal network combined to a non-negative matrix factorization,” *Applied and Computational Mathematics*, vol. 11, no. 2, pp. 257–270, 2012.
- [17] J. Galeano, P. Jose Tapia-Escalante, S. M. Pérez-Buitrago, Y. Hernández-Hoyos, L. F. Arias-Muñoz, A. Zarzycki, J. Garzón-Reyes, and F. Marzani, “Light-Tissue Interaction Model for the Analysis of Skin Ulcer Multi-spectral Images,” vol. 27, 2017. [Online]. Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-68195-5>
- [18] R. Jolivot, “Development of an imaging system dedicated to the acquisition, analysis and multispectral characterisation of skin lesions,” Ph.D. dissertation, Université de Bourgogne, 2011.
- [19] D. C. Montgomery, G. C. Runger, and N. F. Hubele, *Engineering statistics*. John Wiley & Sons, 2009.

CAPÍTULO 3

- [1] David M Allen. Mean square error of prediction as a criterion for selecting variables. *Technometrics*, 13(3):469–475, 1971.
- [2] Katherine Calabro, Allison Curtis, Jean-Rene Galarneau, Thomas Krucker, and Irving J Bigio. Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models. *Journal of biomedical optics*, 16(1):011008, 2011.

-
- [3] Robert A Freitas Jr. Nanomedicine, volume i: Basic capabilities. Landes bioscience, georgetown, tx, 1999. *Google Scholar*, 1999.
 - [4] Zayed M Ramadan. Using entropy and 2-d correlation coefficient as measuring indices for impulsive noise reduction techniques. *International Journal of Applied Engineering Research*, 12(21):11101–11106, 2017.
 - [5] T Ushiki. The three-dimensional ultrastructure of the collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers: a review. *Kaibogaku zasshi. Journal of anatomy*, 67(3):186–199, 1992.
 - [6] Barrandon Yann and Green Howard. Cell size as a determinant of the clone-forming ability of human keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(16):5390–5394, 1985.
 - [7] Dmitry Yudovsky and Laurent Pilon. Simple and accurate expressions for diffuse reflectance of semi-infinite and two-layer absorbing and scattering media. *Applied optics*, 48(35):6670–6683, 2009.