

# Método Diagnóstico no Invasivo en Dermatología: Espectrofotometría de Reflexión Difusa

Sandra Vivas,<sup>1,2</sup> Elsa Pardo,<sup>3</sup> Clara Martínez,<sup>3</sup> Iriana Álvarez,<sup>3</sup> Aaron Muñoz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Postgrado de Dermatología, Universidad de Carabobo, Valencia-Venezuela. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela. <sup>3</sup>Posgrado de Dermatología, Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

Correspondencia: sandravivastoro@gmail.com, elsamaria.1983@hotmail.com

## Resumen

La piel es un tejido complejo y su actividad biológica depende de la citoarquitectura, de los sistemas de señalización inmunomoleculares y de la interacción de las mismas, influenciadas por señales autocrinas y por radiaciones (de cualquier longitud de onda). El conocimiento del espectro electromagnético proporciona información objetiva de los cambios que ocurren en la piel al interactuar con la luz, tales como: absorción y esparcimiento. La absorción está determinada fundamentalmente por los cromóforos, la melanina y hemoglobina; actores principales en la absorción de luz de la piel (rango de longitud de onda visible). La parte de luz no absorbida es reflejada o esparcida en la dermis por las fibras de colágeno; dicha reflexión trae consigo los datos de las estructuras dinámicas y complejas que constituyen la piel. Como fenómeno óptico, la Espectrofotometría de Reflexión Difusa (ERD) puede describir de manera objetiva y medible la piel con sus alteraciones en tiempo real. La ERD puede ser potencialmente útil para la caracterización de los tipos de piel, facilitaría el diagnóstico dermatológico y permitiría la evaluación de la eficacia terapéutica.

**PALABRAS CLAVE:** Espectrofotometría, Propiedades ópticas de la piel, Cromóforos.

## Abstract

### NONINVASIVE DIAGNOSTIC METHOD IN DERMATOLOGY: DIFFUSE REFLECTION SPECTROPHOTOMETRY

Skin is recognized as a complex tissue, its biological activity depends on its cytoarchitecture, signaling systems and immunomolecular interactions, influenced by autocrine and radiation signals (of any wavelength) impinging on it. The knowledge of the electromagnetic spectrum provides objective information about the changes that occur in the skin by light interactions, such as absorption and scattering. Light absorption is mainly determined by the chromophores, melanin and hemoglobin, key players in skin light absorption of visible wavelength. Unabsorbed light is reflected or scattered into the dermis by collagen fibers. In that sense, reflected light brings data of the dynamic and complex structures comprising the skin. Concerning this optical phenomenon, the application of techniques such as Diffuse Reflection Spectroscopy (ERD) allow to describe and measure objective changes, in real time, occurring in the skin. RDE may be potentially useful for the characterization of skin types, enabling diagnosis and allowing the assessment of therapeutic procedures.

**KEY WORDS:** Spectroscopy, Optical properties of skin chromophores.

## Introducción

La piel es un tejido complejo con múltiples actividades, que para fines didácticos se puede dividir en: 1) Actividad celular que depende de la arquitectura celular.<sup>1</sup> 2) Actividad molecular, relacionada con los sistemas de señalización inmunomoleculares, cuyos protagonistas son los melanocitos ubicados en la capa basal de la epidermis, rodeados de 5 a 6 queratinocitos. Los mismos poseen orgánulos unidos a una membrana denominados melanosomas donde tiene lugar la melanogénesis.<sup>2,3</sup>

La interacción entre estas dos actividades corresponde a la actividad funcional o transactividad. La transactividad puede ser modificada por señales autocrinas o factores ambientales, entre ellos la radiación ultravioleta.<sup>1-3</sup>

En cuanto a la radiación ultravioleta (UV) la siguiente figura (**Figura 1**) demuestra las diferentes longitudes de ondas en las que está dividido el espectro.<sup>2</sup>

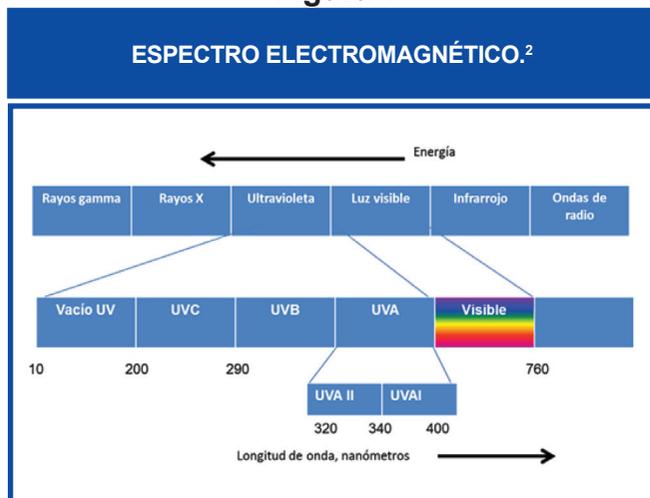
La menor longitud de onda se asocia a radiación de máxima energía, la mayor longitud con la mínima energía. En el espectro de luz visible, las longitudes de ondas oscilan entre 400 y 700 nanómetros (nm); percibidos como color por la retina, sin causar efectos perjudiciales sobre la piel. Por el contrario, las radiaciones Ultravioletas C (UVC) poseen una longitud de onda más corta, son filtradas por la capa de ozono y el oxígeno molecular de la estratósfera.<sup>2,4</sup>

Al dañarse la capa de ozono, estas radiaciones penetran la piel y causan modificaciones en la síntesis de ADN y muerte celular.<sup>1,3,5</sup> Las radiaciones ultravioletas A y B pe-

netran las diferentes capas de la piel y son los responsables de los efectos eritematogénicos, fotosensibilización, fotoenvejecimiento y fotosensibilidad.<sup>6</sup>

El conocimiento del espectro electromagnético permite comprender los eventos fisiopatológicos que ocurren en la piel al interactuar con la luz.<sup>6</sup>

**Figura 1**



En el diagnóstico de lesiones pigmentarias de piel, la agudeza visual requiere del reconocimiento del método ABCD (asimetría, borde, color, diámetros).<sup>7</sup> Si bien el diagnóstico clínico es esencial, la biopsia se mantiene como regla de oro para obtener el diagnóstico confiable. Al realizar ésta aseveración surge el dilema de la temporalidad diagnóstica: ¿Podemos tener certeza diagnóstica con técnicas ópticas no invasivas en tiempo real?; ¿Puede ser útil la espectrofotometría de reflexión difusa en el consultorio dermatológico?<sup>1-3</sup>

En el último siglo se han propuesto estudios de técnicas no invasivas que relacionan los fenómenos de luz con los tejidos biológicos.<sup>8</sup> Entre los cuales podemos mencionar los siguientes:

- La dermatoscopia: método óptico no invasivo que requiere del entrenamiento visual para el reconocimiento de lesiones pigmentarias melanocíticas y no melanocíticas.<sup>2,3</sup>
- La microscopía confocal, una técnica de observación microscópica, que cuando es usada como técnica no invasiva permite obtener secciones ópticas de una muestra, para procesar su estudio tridimensional.<sup>9</sup>
- La profundización en los fenómenos ópticos ha permitido la aplicación de técnicas como la Espectrofotometría de Reflexión Difusa para el estudio del estado de la piel, de manera inocua y en tiempo real.<sup>8</sup>

**Espectrofotometría de Reflexión Difusa.** Para aplicar esta técnica, es necesaria la utilización de un espectro-

fotómetro, el cual está constituido por una fuente de luz y un dispositivo monocromático. La fuente de luz genera luz blanca, la cual al incidir sobre la piel refleja la luz de manera difusa y es captada por un dispositivo monocromático que la descompone en sus diferentes longitudes de onda. Esta información es transmitida a un computador que contiene un programa universal Hunterlab (software basado en java que funciona con los sistemas operativos de Windows) y la traduce en la curva espectral (Figura 2).<sup>10-11</sup>

**Figura 2**



La Espectrofotometría de Reflexión Difusa en el consultorio dermatológico pudiera ser una herramienta útil desde varios puntos de vista:

- Clínico: para el diagnóstico precoz y en tiempo real de las lesiones
- Epidemiológico: se pueden realizar despistajes de lesiones de piel a distancia. Además, puede mejorar las condiciones biométricas en el ejercicio de la teledermatología, con un nivel de error predecible.
- Investigación médica: puede generar prototipos espectrales de enfermedades dermatológicas.<sup>12,13</sup>

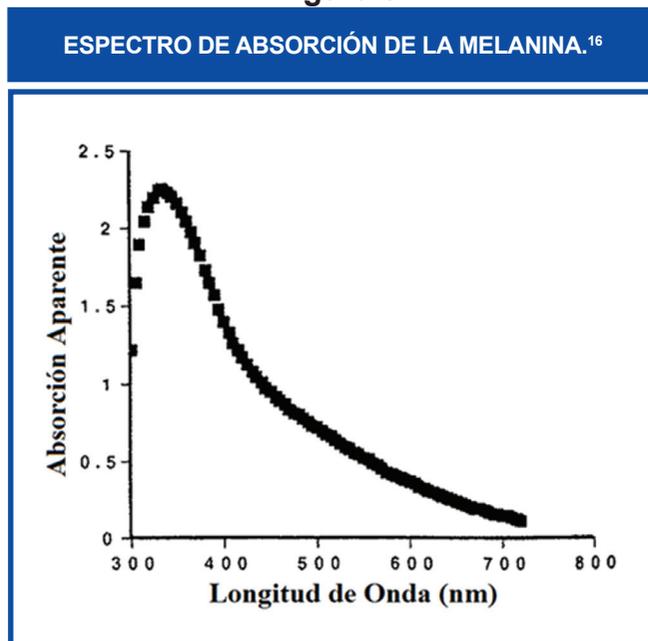
### Propiedades Ópticas

Cuando una onda electromagnética incide sobre la piel con una longitud medible, de 400 a 700 nm, ocurren varios fenómenos ópticos: absorción, esparcimiento, reflexión y transmisión.<sup>14,15</sup> Estos conceptos son fundamentales en óptica biomédica para comprender la interacción de la luz con la piel, para evaluar la aplicación del Espectrofotómetro de Reflexión Difusa.

La absorción está determinada fundamentalmente por los cromóforos, los cuales son estructuras que absorben la luz en sus diferentes longitudes de ondas y esto depende del espesor y la cantidad de elementos presentes en las distintas capas de la piel.<sup>6,10</sup> En el espectro de luz visible, los principales cromóforos de la piel son la melanina y la hemoglobina.<sup>1,3</sup>

La melanina es un compuesto que absorbe principalmente las radiaciones ultravioletas y luz visible en relación directamente proporcional, a mayor cantidad de melanina mayor absorción de luz.<sup>10</sup>

**Figura 3**



La curva muestra el valor de máxima absorción de luz por la melanina, ubicado en 320 nm (**Figura 3**).<sup>16</sup>

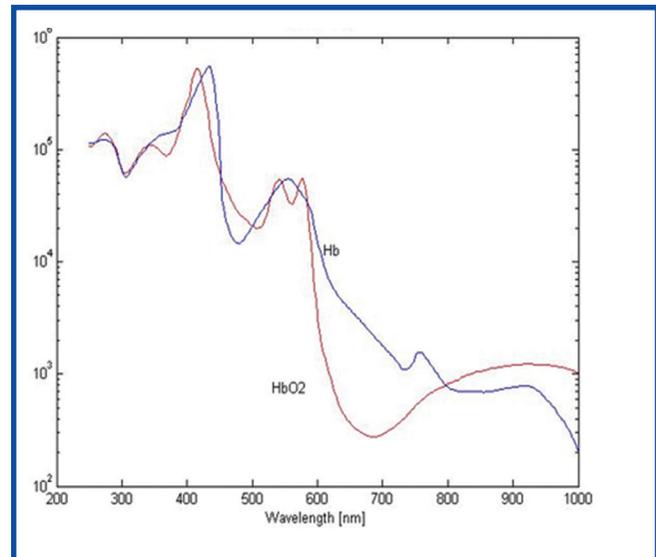
La cantidad de luz que no es absorbida por la melanina alcanza la microvasculatura de la dermis y es absorbida por la hemoglobina, tiene un espectro de absorción de luz visible en un rango de 545 a 575 nm solo cuando transporta oxígeno y exhibe ondas de absorción distinta si es desoxigenada (**Figura 4**).<sup>10</sup>

Las curvas de reflectancia de la hemoglobina son distintas, si se trata de hemoglobina oxigenada o desoxigenada.<sup>10</sup>

Un elemento a tener en cuenta al momento de realizar la Espectrofotometría de Reflexión Difusa es el agua, que constituye aproximadamente el 70% del peso corporal total y muestra curvas de absorción de luz mayor a 1000 nm (**Figura 5**), por lo tanto no va a interferir en la interpretación de los resultados obtenidos con el Espectrofotómetro.<sup>10,13</sup>

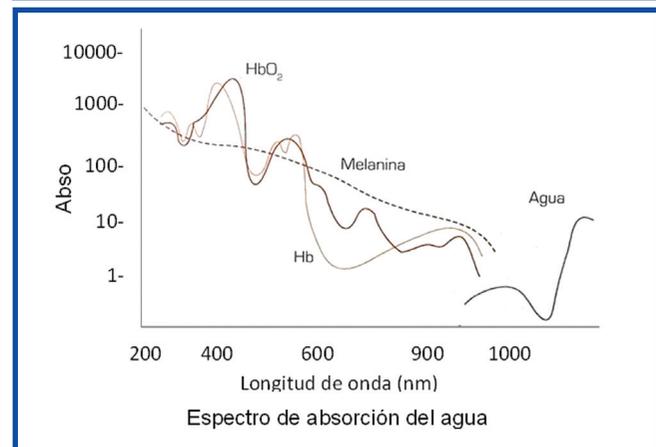
**Figura 4**

**ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LA HEMOGLOBINA.<sup>10</sup>**



**Figura 5**

**ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL AGUA.<sup>16</sup>**



La siguiente propiedad óptica es el Esparcimiento. Consiste en el cambio de dirección que tenía la luz inicialmente en el tejido. La luz puede ser esparcida por las fibras colágeno, vasos sanguíneos y moléculas de la piel.<sup>16</sup>

La luz que no es absorbida por los cromóforos, ni esparcida por las fibras de colágeno es reflejada nuevamente a la superficie cutánea. Esta reflexión trae consigo información objetiva y medible de las estructuras que constituyen las diferentes capas de la piel. Esta es la información obtenida con el Espectrofotómetro de Reflexión Difusa.<sup>8,11</sup>

En varios sitios del mundo se están realizando estudios experimentales utilizando técnicas no invasivas para el

diagnóstico en tiempo real de las lesiones dermatológicas benignas y malignas.

Entre ellos podemos mencionar un estudio realizado en España por Cordo y colaboradores quienes evaluaron la diferenciación de la piel sana y lesiones cutáneas pigmentadas mediante espectroscopia de reflexión óptica difusa. En este estudio demostraron las diferentes curvas espectrales obtenidas en áreas de piel sana comparadas con áreas de lesiones pigmentadas.<sup>17</sup>

Un estudio estadounidense realizado por Suneetha y colaboradores, comparó la espectrofotometría de reflexión difusa y colorimetría en pacientes con diagnóstico de acantosis nigricans. Ellos demostraron la precisión diagnóstica de éstas técnicas de ERD con sensibilidad de 87,7% y especificidad del 94,8%; y la colorimetría con sensibilidad del 97% y sensibilidad del 96,4%.<sup>18</sup>

Existe un equipo de investigadores venezolanos y mexicanos que han realizado múltiples estudios sobre los fundamentos de la aplicación de técnicas ópticas no invasivas como la ERD en los tejidos biológicos.<sup>8,10,19,20</sup>

En el Servicio de Dermatología de la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera", Valencia - Estado Carabobo- Venezuela, estamos realizando estudios de biometría y óptica médica en conjunto con el Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC), con la finalidad de establecer patrones de fototipos cutáneos de la población venezolana.

A continuación se presenta un caso modelo, experimental, realizado en el Servicio de Dermatología de la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera". Valencia-Estado Carabobo- Venezuela.

### Procedimiento

Se trata de paciente masculino de 48 años de edad, sin antecedentes patológicos pertinentes. Fototipo cutáneo IV/VI quien fue sometido a exposición solar durante 75 minutos (**Figura 6**).

**Figura 6**

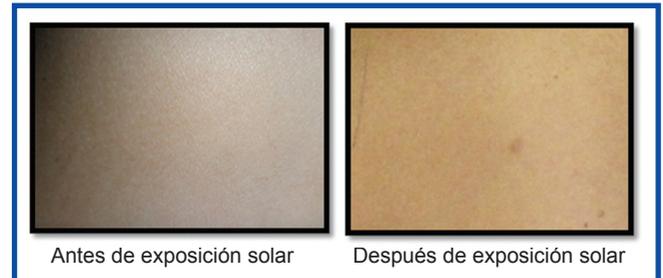
**FOTOTIPO CUTÁNEO IV/VI. FOTOS OBTENIDAS PREVIO CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE**



Las imágenes (**Figuras 7 y 8**) de abajo representan el color de la piel antes y después de la exposición solar, sin fotoprotección.

**Figuras 7 y 8**

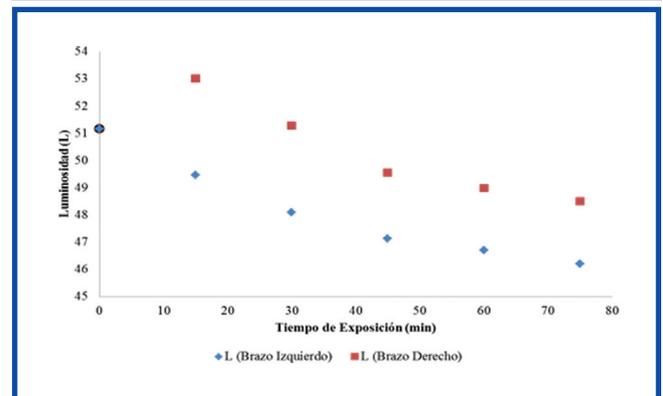
**FOTOTIPO CUTÁNEO IV/VI. FOTOS OBTENIDAS PREVIO CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE**



Primero se realizó la colorimetría (**Figura 9**). La curva de color azul muestra la disminución de la luminosidad de la piel en un área sin fotoprotección; luego de transcurridos los 75 minutos de exposición solar; se repite el procedimiento que se muestra en la curva de color rojo que representa un área de piel con fotoprotección (**Figura 9**).

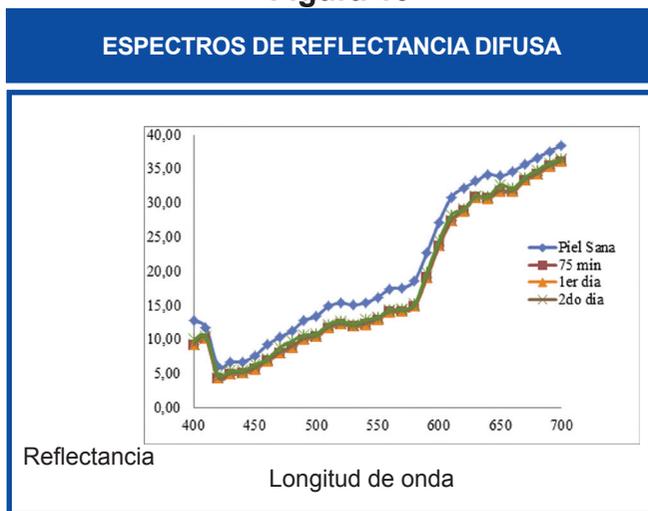
**Figura 9**

**ESPECTROS DE REFLECTANCIA DIFUSA**



El seguimiento del paciente se realizó mediante mediciones espectrales cada 24 horas, utilizando el espectrofotómetro de reflexión difusa. El primer día, representado por la curva de color rojo se encuentra cercano a la basal (**Figura 10**).

Figura 10



A medida que transcurren los días, las curvas se acercan al estado inicial de la piel.

Con el análisis de estas curvas espectrales podemos constatar la precisión diagnóstica de las lesiones dermatológicas al momento de ser evaluadas con el espectrofotómetro de reflexión difusa.

### Conclusiones

La Espectrofotometría de Reflexión Difusa se vislumbra como una técnica de acompañamiento diagnóstico en dermatología, útil, novedosa y de fácil acceso; se realiza el estudio de lesiones de piel sin causar daño al paciente y en tiempo real. Con el empleo de esta técnica se pueden obtener curvas de reflectancia específicas para cada lesión dermatológica y se puede producir un diagnóstico precoz tanto de lesiones benignas como de lesiones malignas que se corroboran con la prueba estándar de la dermatología que es la biopsia, esto permitiría instaurar un protocolo de tratamiento apropiado y en el menor tiempo posible evaluar la evolución satisfactoria del paciente.

La ERD puede ser utilizado por personal de salud entrenado, por lo tanto se garantiza la pesquisa de lesiones dermatológicas en comunidades que tienen difícil acceso a las consultas especializadas y mediante redes comunicacionales establecer la transmisión de la información obtenida con el espectrofotómetro para que sea analizado por personal médico, un dermatólogo, que realiza el diagnóstico preciso de lesiones de piel que deben ser atendidas a la brevedad.

Al correlacionar los prototipos espectrales de cada enfermedad dermatológica mejoraría el acceso a la comunicación internacional entre dermatólogos porque se pueden iniciar videoconferencias proyectando los espectros de reflexión obtenidos y se pueden debatir las opciones terapéuticas disponibles en cada entidad.

Con el uso del Espectrofotómetro de Reflexión Difusa se puede realizar el seguimiento de lesiones pigmentarias de piel en tiempo real, lo cual permitiría establecer diagnósticos objetivos y precisos, por lo cual es interesante crear grupos de investigación en óptica biomédica a nivel nacional para la profundización en esta técnica.

### Referencias

- Burns T, Breathnach S et al. Rook. Rook's Textbook of Dermatology. 8ª edición. 2010.
- Wolff K, Goldsmith L, Stephen K, Gilchrist B, Paller A, Leffell D. Fitzpatrick Dermatología en Medicina General. 7ª edición. España: Editorial Médica Panamericana; 2010.
- Bolognia J. Dermatología. 1ª edición. Mosby. 2004.
- Irwin W, Sherman G. Biología 3ª Edición. Editorial Mc Graw Hill. 1990.
- Skoog, D, Leary J. Análisis instrumental. 4ª edición. Editorial Mc Graw-Hill. 1994.
- Baranoski G, Krishnaswamy A. Introduction to Light Interaction with Human Skin. Natural phenomena. Simulation Group; School of Computer Science. University of Waterloo, Canadá. 2004;11:33-44.
- Bharti K, Nguyen M, Skuntz S, Nakayama A, Bertuzzi S and Arnheiter H. The other pigment cell: Specification and development of the pigmented epithelium of the vertebrate eye. Pigment Cell Research. 2006;19:380-394.
- Orozco E, Iruretagoyena G, Vázquez S, Delgado J, Castro J, Gutierrez F. Métodos de clasificación para identificar lesiones en piel a partir de espectros de reflexión difusa. Rev. Ing Biomédica. 2010;4:34-40.
- Art J, Goodman M. Rapid Scanning Confocal Microscopy. Cell Biological Applications of Confocal Microscopy. Methods in cell biology. 1993;38:47-51.
- Narea F, Porras L, Muñoz R, Muñoz A. Diseño de interfaz gráfica para determinar los índices de pigmentación y eritema de la piel humana; Memorias Congreso Internacional de Investigación de la Universidad de Carabobo. Página web: <http://hdl.handle.net/123456789/124>.
- Angelopoulou E. The reflectance Spectrum of Human Skin; Technical reports MS CIS-99-29. 1999; 1-5. Página web: <http://www.repository.upenn.edu>
- Cooper S, Heckenberg N. Plane-wave theory of a Michelson laser coupler with a dielectric slab beam splitter; Appl Opt. 1996;35:1395-1398.
- Martelli F, Ismaelli A, Zaccanti G. Light propagation through biological tissue and other difusive media: Chapter 2 Scattering and Absorption Properties of Diffusive Media. SpiePress Book 1era Ed. 2009; USA. Pp 10-18. Página web: <http://spie.org/Publications/Book/824746>.
- Meglinsky I, Matcher S. Modelling the sampling volume for skin blood oxygenation measurements; Med. Biol. Eng. Comput. 2001;39:44-50.
- Boumpas D, Austin H, Fessler B. Systemic Lupus Erythematosus: Emerging concepts. Part 1. Ann Intern

Med. 1995;122:940-950.

16. Zonios G, Bykowski J, Kollias N. Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of Investigative Dermatology*. 2001;117:1452-1457.

17. Cordo M, Sendra J, Viera A. Diferenciación de piel sana y lesiones cutáneas pigmentadas mediante espectroscopia de reflectancia difusa. 2006.

18. Suneetha Devpura and col. Critical comparison of diffuse reflectance spectroscopy and colorimetry as dermatological diagnostic tools for acanthosis nigricans: a chemometric approach. *Biomedical Optics Express*. 2011;2:1666-1673.

19. Muñoz A, Vázquez S. Comparative Study of Approximation Models by Diffusion Theory and Adjustments of the Fourier Series by Characterization of the Response of Diffused Reflectance radially Resolved. *Biomedical Optics Express*. 2012;1494:127-130.

20. Muñoz A, Vázquez S. Relationship between Reflection spectra of breast Adipose Tissue with Histological Grade. *Proc of SPIE*. 2011. 8011:1-7. DOI: 10.1117/12.902167.