

ARTÍCULO ORIGINAL

Prueba potencial colorimétrica no invasiva para el análisis de lágrimas humanas

GABRIEL EDUARDO CAMACHO F.¹, ADRIANA FIERRO V.², MÓNICA BRICEÑO³

Resumen

Objetivos: mostrar diferencias entre los patrones colorimétricos correspondientes a las sustancias estudiadas con un programa de análisis de imágenes e identificar el estado de lágrimas humanas normales y lágrimas anormales **Métodos:** se analizaron coloriméricamente fotografías digitales de diferentes sustancias (agua corriente, agua destilada, solución salina normal, dextrosa al 5%, lágrimas artificiales, aceite vegetal, etanol de uso comercial y plasma humano) contenidas en tubos de hematocrito, mediante Photoshop CS2. Las fotografías se sometieron a análisis comparativo colorimétrico así: 1) entre las fotografías de los tubos vacíos, 2) entre las fotografías de los tubos de una misma sustancia, 3) entre las fotografías de los tubos de diferentes sustancias y 4) entre las fotografías de los tubos vacíos y las fotografías de los tubos con las diferentes sustancias utilizadas. **Resultados:** 1) se encontraron semejanzas cualitativas entre los patrones colorimétricos correspondientes a los tubos vacíos; 2) existen semejanzas cualitativas entre los patrones colorimétricos correspondientes a los tubos con la misma sustancia; 3) hay diferencias cualitativas entre los patrones colorimétricos correspondientes a las diferentes sustancias utilizadas, y 4) existen diferencias cualitativas entre los patrones colorimétricos correspondientes a los tubos vacíos y los patrones colorimétricos de todas las sustancias analizadas. **Conclusiones:** con la metodología trabajada se establecieron diferencias entre sustancias que varían en su composición, mediante el análisis de su patrón colorimétrico característico. El *software* propuesto, alimentado por fotografías digitales, podrá realizar una rápida, económica y precisa identificación de diferentes sustancias, y aplicado específicamente a las lágrimas humanas, permitirá determinar su estado.

Palabras clave: colorimétrica, prueba, análisis.

-
- 1 Médico cirujano oftalmólogo y óptica. Profesor asistente, Unidad de Oftalmología, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
 - 2 Médica residente de Oftalmología, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
 - 3 Interna especial del Servicio de Oftalmología, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Recibido: 12/11/2012.

Revisado: 06/02/2013.

Aceptado: 10/03/2013

Title: Potential Non-Invasive Colorimetric Test for Analysis of Human Tears

Abstract

Objetives: To demonstrate differences in colorimetric patterns between different substances tested with a program for colorimetric image analysis. The ultimate goal of this work is to identify the state of human normal tears versus abnormal tears. **Methods:** Digital photographs of different substances (current water, distilled water, normal saline solution, dextrose 5 %, artificial tears, vegetable oil, current used ethanol, and human plasma) in hematocrit tubes were analyzed by using the program Photoshop CS2. The photographs were subjected to comparative colorimetric analysis, comparing the photographs of the tubes of the same substance and comparing between different substances. **Results:** Were achieved to establish different colorimetric patterns for different used substances, similar colorimetric patterns for the tubes of the same substance, similar colorimetric patterns for all empty tubes and different colorimetric patterns between empty tubes and all analyzed substances. **Conclusions:** With the exposed method it is possible to determine the type of substance through analysis of colorimetric patterns, by a program of colorimetric image analysis, and will allow through the same method to differentiate between normal and abnormal tears to develop a program, powered by digital photos, that allows a fast, economical and efficient way to identify a substance and that applied specifically to human tears, to establish their state.

Key words: Colorimetric, test, analysis.

Introducción

Es conveniente motivar el uso de la ciencia y la tecnología actuales para producir metodologías de bajo costo, entendibles, pertinentes, accesibles a la

mayoría de los especialistas y de resultados confiables, en vista de que algunas de las ya existentes no cumplen con ello, lo que genera que su uso y aporte en el campo médico sea limitado.

En el campo de la oftalmología, el ojo seco es una enfermedad multifactorial de las lágrimas y de la superficie ocular que resulta en síntomas de disconfort, trastornos visuales e inestabilidad de la película lagrimal con potencial daño de la superficie ocular [1-3]. La prevalencia de ojo seco se ha estimado, según los estudios de los últimos veinte años, entre el 5 % y el 30 % en las diferentes edades, lo que significa que 4,91 millones de americanos mayores de 50 años tienen ojo seco [1,3,4].

Para su diagnóstico se dispone de diversas pruebas, unas que han demostrado ser poco precisas y otras de tecnología avanzada que requieren alto presupuesto, como la interferometría, la meniscometría, la videofotografía y la tomografía óptica coherente [3]. El diagnóstico corriente de ojo seco se realiza a través de diferentes tipos de pruebas, por ejemplo, cuestionarios con elementos comunes, como frecuencia e intensidad de los síntomas, efecto de los síntomas en las actividades diarias, efecto de los desencadenantes ambientales en los síntomas, presencia de boca seca, efecto de las tareas visuales en los síntomas, efecto del tratamiento, medicaciones y alergia, entre otros [3]; examen con tinciones

de la superficie ocular con fluoresceína, rosa de bengala y verde lisamina; test de Shirmer, tiempo de ruptura lagrimal y osmometría [5].

Por lo anterior, resulta oportuno y pertinente el diseño de una prueba diagnóstica sencilla, mediante el desarrollo de un *software*, de bajo costo, practicable en cualquier consultorio con lámpara de hendidura adecuada para el propósito, que permita hacer un tamizaje que registre la diferencia entre lágrima normal y lágrima anormal [6].

Materiales y métodos

Tipo de estudio: observacional descriptivo.

Se utilizaron tubos de hematocrito con diferentes sustancias en su interior. Las sustancias empleadas fueron agua corriente, agua destilada, solución salina normal, dextrosa al 5 %, lágrimas

artificiales, aceite vegetal, etanol de uso comercial y plasma humano.

Para tomar las fotografías se usó la cámara digital DC-1 de 32 megapíxeles incorporada a una lámpara de hendidura Topcon (SL-D/DC1). Inicialmente se tomaron fotografías de 30 tubos vacíos; posteriormente, cada una de las sustancias empleadas fue envasada en 30 tubos diferentes y se tomaron fotografías de cada uno de los tubos con su contenido. Resultaron 30 fotografías para agua corriente, 30 para agua destilada, 30 para solución salina normal, 30 para dextrosa al 5 %, 30 para lágrimas artificiales, 30 para aceite vegetal, 30 para etanol y 30 para plasma humano, para un total de 270 fotografías digitales.

La obtención de las fotografías fue estandarizada en cuanto a posición y distancia del tubo, aumento de la lámpara de hendidura, color del fondo, ángulo de incidencia e intensidad de la luz (figura 1).

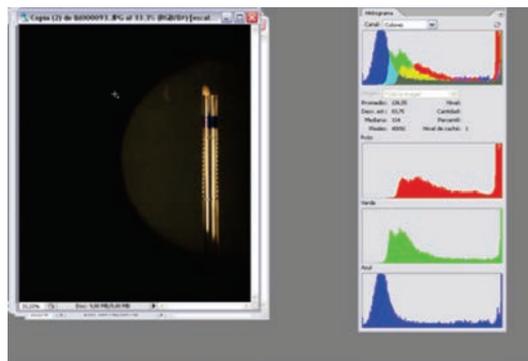


Figura 1. Izquierda: tubo donde se resalta el área analizada de la fotografía, dentro del rectángulo punteado. Derecha: en la parte superior, histograma total de los colores primarios y debajo se aprecia el histograma diferencial para cada color

Cada una de las 270 fotografías tomadas se sometió a análisis colorimétrico cualitativo mediante el histograma de los colores primarios (RGB), a través del programa Photoshop CS2® de Adobe Systems. Este *software* está destinado a la edición, retoque fotográfico y pintura a base de imágenes de mapa de bits, y aunque no se diseñó para el uso que le dimos en este estudio, ha demostrado un rendimiento satisfactorio para las necesidades generadas durante la primera fase del trabajo.

El análisis de las fotografías se estandarizó tomando igual número de píxeles para todos los tubos utilizados y se realizó en el siguiente orden:

- a. Comparación de las fotografías de los 30 tubos vacíos, entre sí.
- b. Comparación de las fotografías de los 30 tubos con una misma sustancia, entre sí.
- c. Comparación entre las 270 fotografías de los tubos con diferentes sustancias.
- d. Comparación entre las fotografías de los 30 tubos vacíos y las fotografías de los tubos de todas las sustancias empleadas.

Resultados

1. Las 30 fotografías de los tubos vacíos muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos de la figura 2. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos vacíos.
2. Las 30 fotografías de los tubos con agua corriente muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos de la figura 3. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con agua corriente. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos y del patrón correspondiente a las otras sustancias analizadas.

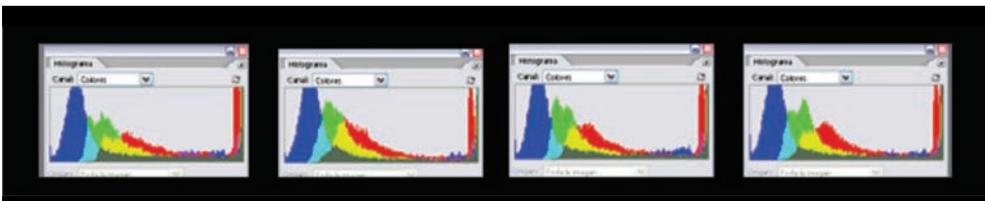


Figura 2. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos vacíos

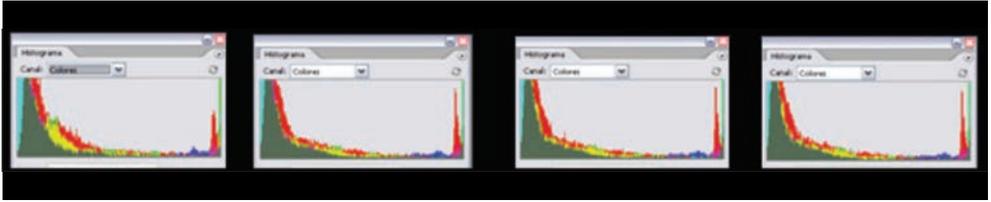


Figura 3. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con agua corriente

3. Las 30 fotografías de los tubos con agua destilada muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos de la figura 4. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con agua destilada. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos y del patrón correspondiente a las otras sustancias analizadas.
4. Las 30 fotografías de los tubos con solución salina muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos de la figura 5. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con solución salina. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos y del patrón correspondiente a las otras sustancias analizadas.

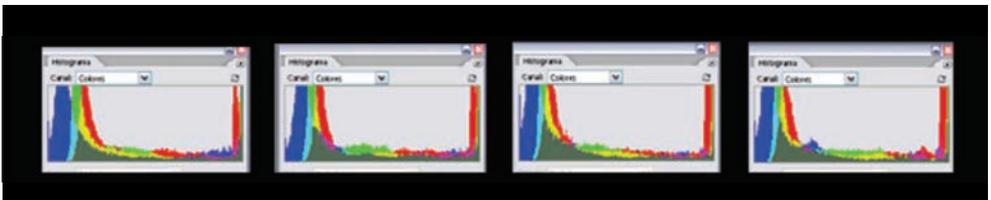


Figura 4. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con agua destilada en su interior

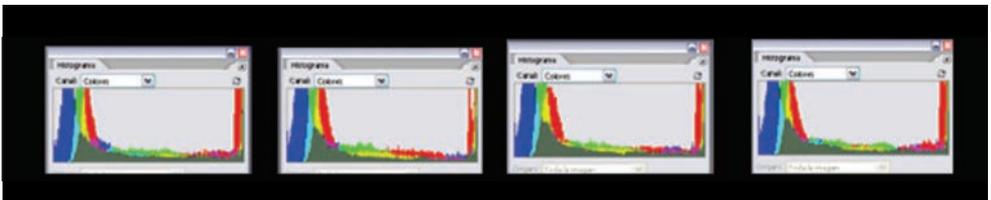


Figura 5. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con solución salina en su interior

5. Las 30 fotografías de los tubos con dextrosa al 5% muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos presentados en la figura 6. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con dextrosa al 5%. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos, y diferente de los patrones de las otras sustancias analizadas.
6. Las 30 fotografías de los tubos con lágrimas artificiales muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos planteados en la figura 7. Con la metodología aplicada es posible establecer

un patrón específico para identificar los tubos con las lágrimas artificiales usadas. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos y diferente de los patrones de las otras sustancias analizadas.

7. Las 30 fotografías de los tubos con aceite vegetal muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos que de la figura 8. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con aceite vegetal. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos, y diferente de los patrones de las otras sustancias analizadas.

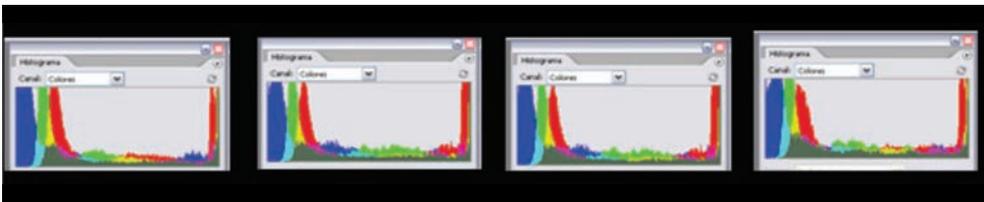


Figura 6. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con dextrosa al 5% en su interior

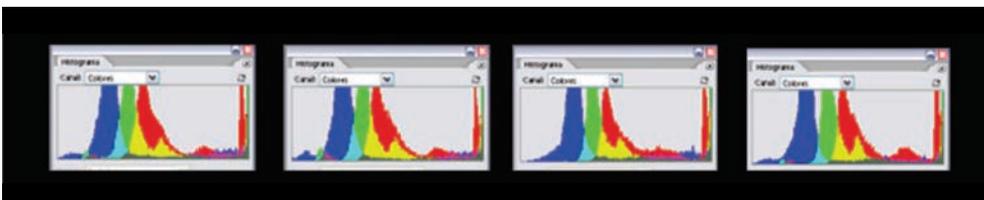


Figura 7. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con lágrimas artificiales en su interior

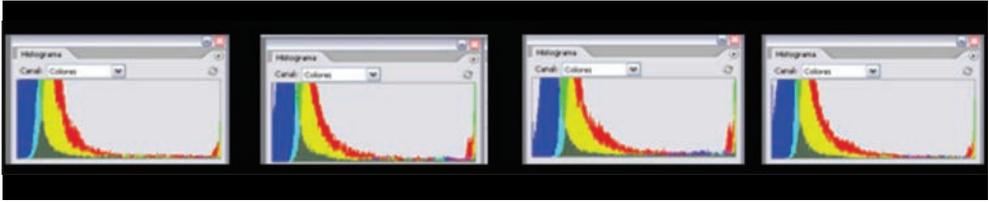


Figura 8. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con aceite vegetal en su interior

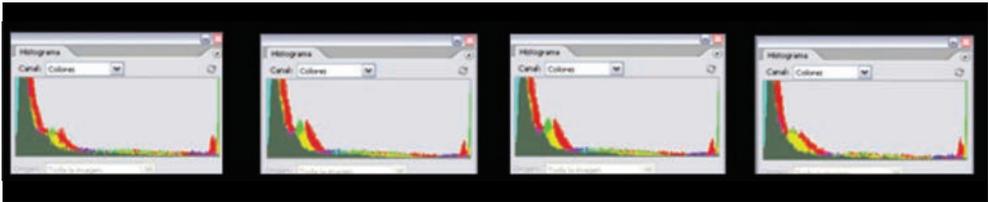


Figura 9. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con alcohol en su interior

8. Las 30 fotografías de los tubos con etanol de uso comercial muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos que se muestran en la figura 9. Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con el alcohol usado. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos, y diferente de los patrones de las otras sustancias analizadas.
9. Las 30 fotografías de los tubos con plasma humano muestran, todas, su correspondiente histograma con un patrón colorimétrico semejante a los cuatro ejemplos de la figura 10.

Con la metodología aplicada es posible establecer un patrón específico para identificar los tubos con plasma humano. Se observa que este patrón colorimétrico es diferente del patrón correspondiente a los tubos vacíos, y diferente de los patrones de las otras sustancias analizadas.

10. La comparación de los histogramas correspondientes a las sustancias analizadas muestra un patrón colorimétrico característico para cada una de ellas, patrón que a su vez es diferente entre una sustancia y otra. La comparación también evidencia que los patrones de todas las sustancias estudiadas son diferentes del patrón correspondiente a los tubos vacíos (figura 11).

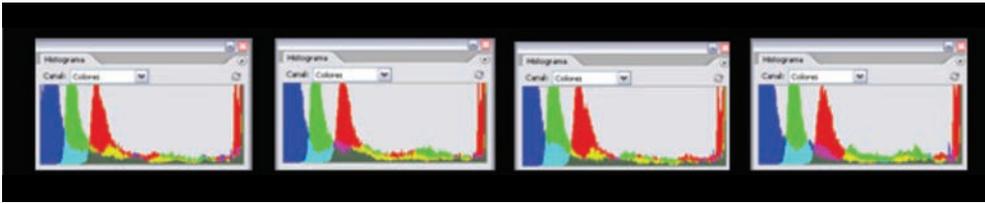


Figura 10. Histogramas correspondientes a fotografías de cuatro tubos con plasma humano en su interior

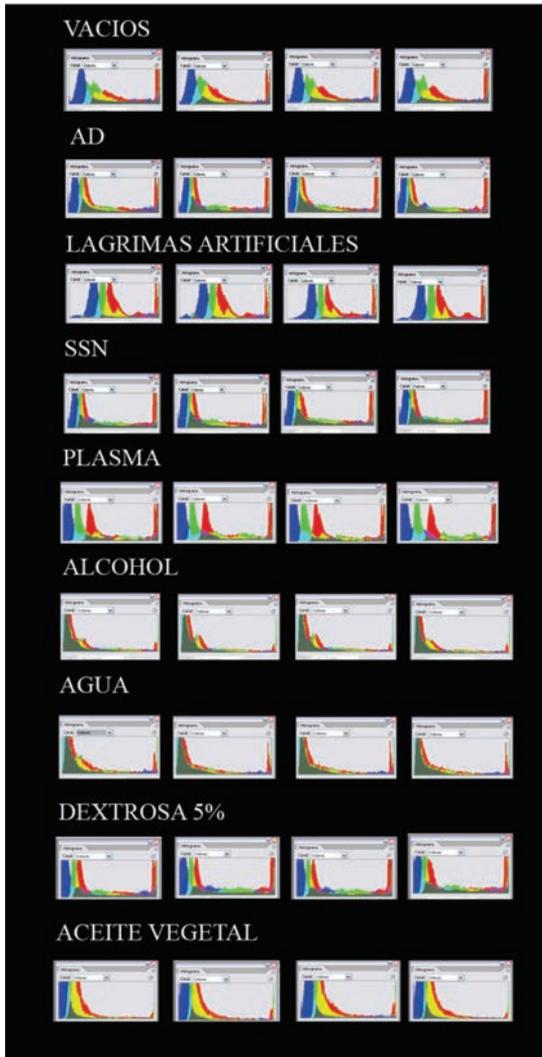


Figura 11. Histogramas característicos de los tubos vacíos y de cada una de las sustancias analizadas

Discusión

La metodología usada en el presente trabajo para el análisis de diferentes sustancias nos ha mostrado resultados confiables, hecho que nos ha permitido aplicarla al análisis de las lágrimas humanas para determinar en principio la diferencia entre lágrimas previamente definidas como normales y las definidas como anormales, de manera objetiva.

La imagen colorimétrica, con los tres colores (rojo-verde-azul) mezclados proporcionalmente, nos caracteriza cada una de las sustancias analizadas. Dentro del rango correspondiente a las lágrimas definidas anormales, encontramos histogramas con algunas diferencias. Si el programa nos informa las diferentes proporciones de cada color que existen dentro de ese rango de lágrimas anormales, un minucioso trabajo de corrección nos permitiría también diseñar una prueba más específica para particularizar la anormalidad de la película lagrimal.

La teoría de la colorimetría es una vieja argumentación, se perfecciona con Newton y se practica hace unos pocos años con fines de cuantificación. En investigación científica existen programas especiales para el análisis de sustancias, entre ellos uno muy avanzado de la casa Zeiss, que cuenta dentro de sus progra-

mas componentes con Photoshop, diseñado para trabajar imagen. Utilizar este programa para fines diagnósticos nos ha dado rendimiento suficiente para continuar diferentes pruebas que nos permitan proponer metodologías diagnósticas de bajo costo, precisas, no generadoras de desechos e incluyentes en los aspectos financiero e intelectual.

Conclusiones

Terminada esta primera fase del presente estudio, se concluye que es posible identificar sustancias diferentes con la metodología usada para el análisis de los patrones colorimétricos mostrados.

Aplicada la misma metodología para el análisis de las lágrimas, los resultados cualitativos serán complementados con resultados cuantitativos que sustenten la elaboración de un *software* que, alimentado por fotografías digitales, permita una rápida, económica y confiable forma para identificar diferentes sustancias y que aplicado a las lágrimas humanas permita establecer su estado de normalidad o anormalidad.

Agradecimientos

Comité de Investigación de la Unidad de Oftalmología de la Facultad de Medicina de la Universidad Javeriana y Hospital Universitario de San Ignacio.

Referencias

1. Lemp MA. Advances in understanding and managing dry eye disease. Am J Ophthalmol. 2008;146(2):350-6.
2. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on Clinical Trials in Dry Eye. CLAO J. 1995;21(4):221-32.
3. Begley CG, Chalmers RL, Ab Etz L, et al. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. Invest Ophthalmol. 2003;44:4753-61.
4. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. Am J Ophthalmol. 2003;136:318-26.
5. Bron AJ. Diagnosis of dry eye. Surv Ophthalmol. 2001;45 Suppl 2:S221-6.
6. Baudouin C. The pathology of dry eye. Surv Ophthalmol. 2001;45 Suppl 2:S211-20.

Correspondencia

Mónica Briceño

monikb_16@yahoo.com